



HAL
open science

Développement de capteurs à fibre optique dédiés à la mesure in situ du pH du béton

Ayedah Tariq

► **To cite this version:**

Ayedah Tariq. Développement de capteurs à fibre optique dédiés à la mesure in situ du pH du béton. Autre. Université Paris-Saclay, 2022. Français. NNT : 2022UPASF002 . tel-03592536

HAL Id: tel-03592536

<https://theses.hal.science/tel-03592536v1>

Submitted on 1 Mar 2022

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.

Développement de capteurs à fibre optique dédiés à la mesure *in situ* du pH du béton

Thèse de doctorat de l'université Paris-Saclay

École doctorale n° 571, Sciences chimiques : molécules, matériaux,
instrumentation et biosystèmes (2MIB)

Spécialité de doctorat : Chimie

Unité de recherche : Université Paris-Saclay, ENS Paris-Saclay, CNRS, PPSM, 91190, Gif-
sur-Yvette, France

Référent : ENS Paris-Saclay.

Thèse présentée et soutenue à Gif-sur-Yvette, le 10/01/2022, par

Ayedah TARIQ

Composition du Jury

Denis Doizi Docteur, CEA	Président
Dario BASSANI Directeur de recherche, Univ. Bordeaux	Rapporteur
Olivier SOPPERA Directeur de recherche, Univ. Haute Alsace	Rapporteur
Jérémy BELL Docteur, BAM (Allemagne)	Examineur
Fayna MAMMERI Maîtresse de conférences, Univ. de Paris	Examinatrice
Isabelle LERAY Directrice de recherche, ENS Paris-Saclay	Directrice de thèse
Alexandre DAUZERES Docteur, IRSN	Co-Directeur de thèse
Cédric MONGIN Maître de conférences, ENS Paris-Saclay	Co-encadrant de thèse

Université Paris-Saclay

Espace Technologique / Immeuble Discovery

Route de l'Orme aux Merisiers RD 128 / 91190 Saint-Aubin, France

À mes parents,

*« On vous dit aussi que la vie est obscurité, et dans votre fatigue vous répétez ce que
disent les las.*

*Et je vous dis que la vie est réellement obscurité sauf là où il y a élan,
Et tout élan est aveugle sauf là où il y a savoir,
Et tout savoir est vain sauf là où il y a travail,
Et tout travail est vide sauf là où il y a amour. »*

*« Aucun homme ne peut rien vous révéler sinon ce qui repose déjà à demi endormi
dans l'aube de votre connaissance. [...] Car la vision d'un homme ne prête pas ses ailes
à un autre homme. »*

Khalil Gibran

Remerciements

Cette thèse a été financée par l'Institut de Radioprotection et de Sûreté Nucléaire et a été réalisée dans le service des déchets radioactifs et des transferts dans la géosphère (SEDRE). Mes premiers remerciements s'adressent au *Dr. Delphine Pellegrini* pour m'y avoir accueillie. Ces travaux ont été réalisés au sein du laboratoire de Photophysique et de Photochimie Supramoléculaires et Macromoléculaires (PPSM) à l'ENS Paris-Saclay, et au Laboratoire d'Etude et de recherche sur les Transferts et les Interactions dans les Sous-sols (LETIS) de l'IRSN. Je remercie donc le *Pr. Fabien Miomandre* pour m'avoir accueillie au PPSM.

Je voudrais remercier le *Pr. Dario Bassani* et le *Dr. Olivier Soppera* qui me font l'honneur d'évaluer ce travail de thèse en qualité de rapporteurs.

Pour leur participation à mon jury de thèse, je suis très reconnaissante envers le *Dr. Jérémy Bell*, de l'institut fédéral allemand de recherche et d'essais de matériaux (BAM) et le *Dr. Denis Doizi*, du Commissariat à l'Energie Atomique et aux énergies alternatives (CEA). J'adresse mes sincères remerciements au *Dr. Fayna Mammeri*, maîtresse de conférence à l'Université de Paris, que j'ai eu la chance de connaître durant ma formation.

Au *Dr. Isabelle Leray* qui a dirigé cette thèse, je te remercie pour ta disponibilité, ton implication et ta bienveillance. Tu m'as offert un excellent cadre de travail me permettant de découvrir le monde de la photochimie et de la synthèse organique. J'ai tant appris à tes côtés. J'exprime ici toute ma gratitude au *Dr. Alexandre Dauzères* pour avoir co-dirigé cette thèse. Je te remercie pour la confiance et l'autonomie que tu m'as accordées ainsi que tes encouragements durant ces trois années de thèse. Je suis véritablement reconnaissante d'avoir eu la chance de découvrir le monde de la recherche à vos côtés. Les enseignements dont j'ai bénéficié, tant d'un point de vue scientifique que personnel, m'aideront sans aucun doute par la suite.

Je remercie bien évidemment *Dr. Cédric Mongin* dont la présence, les conseils et l'accompagnement pendant ces années m'ont été indispensables. Ta patience, ta précieuse aide et enfin ta bonne humeur m'ont grandement aidée. Je tiens aussi à remercier *Jean-Pierre Lefèvre* pour l'ensemble des montages optiques. Cette thèse n'aurait pu être réalisée sans ton savoir-faire, ton expertise et tes nombreuses idées.

Je remercie l'ensemble des membres du PPSM pour les différents moments passés ensemble et les discussions, scientifiques ou non, ainsi que tous les conseils que vous m'avez donnés. Je remercie notamment les doctorants et post-doctorants que j'ai eu la chance de connaître durant cette thèse. Merci à *Céline*, *Nicolas* et *Jonathan* pour les pauses, le soutien et toute l'entraide. Un grand merci également à *Clément*, *Suzanne*, *Margarita*, *Jinbiao*, *Yang*, *Benjamin*, *Luca*, *Lou* et *Issam*, sans oublier tout le reste de l'équipe. J'ai également eu le plaisir d'encadrer *Ulysse* lors de son stage, je te remercie et te félicite pour ton travail. Je remercie très chaleureusement *Elise Michel* pour son aide quotidienne au laboratoire, ainsi que l'ensemble des permanents du laboratoire. Je souhaite sincèrement remercier *Dr. Rasta Ghasemi* pour son aide inestimable pour le MEB et *Jeff Audibert* pour les mesures d'angles de contact.

Je remercie l'ensemble des membres du LETIS pour l'accueil que vous m'avez réservé durant cette thèse. Merci notamment au *Dr. Mejdj Neji* et *Dr. Sylvain Bassot* pour leur aide et leur disponibilité. Je ne pourrais évidemment pas oublier les doctorants et stagiaires croisés au LETIS (*Rafael*, *Abdellah*, *Marine*, *Julie*, *Yara*, *Charlotte*, *Jad*, *Rémy* et *Perrine*). Votre enthousiasme, votre bonne humeur et les

sorties me manquent déjà. Merci aussi à *Emmanuel Ormea* pour la microtomographie. Un grand merci également à l'équipe du *LELI* pour leur aide et les discussions que l'on a pu avoir.

Enfin, je ne pourrais clôturer ces remerciements sans mentionner ma famille et mes amis, dont le soutien et les encouragements ont rendu cette thèse possible. Je remercie en premier lieu mes parents, pour m'avoir encouragée et supportée depuis toujours. Le privilège d'acquérir une éducation n'a été possible que par vos choix et sacrifices ; pour cela je vous en serai toujours reconnaissante. Merci à ma petite fratrie qui constitue mon pilier et dont l'amour, le soutien et les conseils me sont indispensables. Je mesure la chance de vous avoir à mes côtés. Merci à ma petite nièce *Aisha*, dont l'arrivée au monde pendant cette thèse nous a tant apporté ; tu nous as redonné le sourire. Merci à mes amis aux quatre coins du monde, pour tous les bons moments passés ensemble et pour votre soutien infailible. Je remercie surtout *Sam* et *Camille* pour leur amitié depuis toutes ces années, sans oublier *Priss*, *Nihal* et *Ihssan*.

Table des matières

Introduction générale.....	1
CHAPITRE I – MESURE DU pH DE MATÉRIAUX CIMENTAIRE.....	17
I. Le potentiel d'hydrogène ou pH: définition et mesure.....	17
I.1. pH: définitions et intérêt de la mesure	17
I.2. Méthodes commerciales de mesure du pH.....	18
II. Mesure du pH des matériaux cimentaires.....	26
II.1. Chimie des matériaux cimentaires : mécanismes et réactions.....	26
II.2. Évolution chimique probable des matériaux cimentaires dans un scénario de stockage géologique profond de déchets nucléaires.....	32
II.3. Mesure du pH de matériaux cimentaires.....	35
II.4. Mesure du pH de matériaux cimentaires : conclusion.....	43
III. Mesure du pH par fluorescence.....	44
III.1. Fluorescence moléculaire : mécanismes d'absorption et d'émission.....	44
III.2. La fluorescence moléculaire comme outil analytique.....	50
III.3. Mesure du pH par fluorescence : conclusion.....	64
IV. Optodes dédiées à la mesure du pH.....	66
IV.1. Les capteurs optiques mesurant des substances spécifiques ou optode optodes.....	66
IV.2. Nature du mesurande.....	67
IV.3. Choix de la matrice pour le développement d'optodes de pH.....	70
IV.3. Premières optodes développées pour la mesure du pH.....	87
IV.4. Optodes développées pour la mesure de pH basiques.....	88
IV.5. Développement d'optodes de pH planaires.....	100
IV.6. Optodes dédiées à la mesure du pH : conclusion.....	103
V. Mesure du pH de matériaux cimentaires : conclusion.....	104

CHAPITRE II – DÉVELOPPEMENT D'UNE OPTODE DE pH BASÉE SUR UN DÉRIVÉ NAPHTHALIMIDE.....123

I.	Introduction : sondes de pH développées à partir du motif naphthalimide.....	123
II.	Etude d'un dérivé naphthalimide : le Naphth-AlkyneOMe.....	126
	II.1. Choix de la sonde moléculaire de pH fluorescente.....	126
	II.2. Etude du Naphth-AlkyneOMe en solution.....	128
	II.3. Etude du dérivé naphthalimide Naphth-AlkyneOMe : conclusion.....	131
III.	Choix de la matrice solide.....	132
	III. 1. Hydrogel d'alcool polyvinylique – glutaraldéhyde (GA -PVA).....	132
	III. 2. Hydrogel polyuréthane commercial : l'HydroMed™ D4.....	140
	III. 3. Choix de la matrice solide : conclusion.....	143
IV.	Conception de l'optode de pH.....	144
	IV. 1. Caractérisations photochimiques préliminaires des hydrogels dopés.....	144
	IV. 2. Conception d'une optode pour une mesure du pH in situ : méthodologie et instrumentation.....	148
	IV. 3. Optimisation de la sensibilité de l'optode.....	155
	IV. 4. Conception de l'optode de pH : conclusion.....	157
V.	Optode de pH développée à partir du Naphth-AlkyneOMe : résultats obtenus en solution.....	159
	V. 1. Réversibilité de la réponse aux variations de pH et temps de réponse de l'optode	159
	V. 2. Calibration de l'optode.....	160
	V. 3. Optimisation de l'optode de pH : vers une mesure ratiométrique.....	165
	V. 4. Résultats obtenus en solution avec l'optode de pH développée à partir du Naphth-AlkyneOMe : conclusion.....	168
VI.	Optode de pH développée à partir du Naphth-AlkyneOMe : mesure en surface de pâtes de ciment durcies (PCD) bas pH.....	169
	VI. 1. Calibration spécifique à la mesure du pH en surface du matériau et mesures.....	169
	VI. 2. Résultats obtenus et discussions.....	170
	VI. 3. Essais de mesure du pH dans une PCD bas pH.....	171
	VI. 4. Mesure du pH en surface de PDC bas pH avec l'optode développée à partir du Naphth-AlkyneOMe : conclusion.....	174

CHAPITRE III – DÉVELOPPEMENT D’OPTODES DE pH BASÉES SUR DES SONDÉS PÉRYLÈNE.....186

I.	Synthèse et étude de sondes de pH pérylène amine.....	189
I. 1.	Synthèse des sondes pérylène amine.....	189
I. 2.	Etude en solution des sondes de pH pérylène amine.....	190
I. 3.	Synthèse et étude de sondes de pH pérylène amine : conclusion.....	199
II.	Synthèse et étude d’une sonde de pH pérylène guanidine.....	200
II.1.	Synthèse de la sonde pérylène guanidine.....	200
II. 2.	Etude en solution de la sonde de pH pérylène guanidine.....	204
II.3.	Synthèse et étude d’une sonde de pH pérylène guanidine : conclusion.....	206
III.	Hydrogels dopés avec les sondes pérylène.....	207
III. 1.	Hydrogels dopés avec les sondes pérylène amine.....	207
III. 2.	Hydrogels dopés avec la sonde pérylène guanidine.....	216
III.3.	Elaboration et caractérisation d’hydrogels dopés avec les sondes de pH basées sur un pérylène : conclusion.....	217
IV.	Cellulose greffée avec les sondes pérylène.....	219
IV.1.	Modification de la cellulose pour un greffage de la sonde de pH par chimie click.....	219
IV.2.	Fonctionnalisation de la cellulose-N3 par chimie click.....	222
IV.3.	Augmentation de l’hydrophilicité de la cellulose greffée avec une sonde de pH pérylène.....	230
IV.4.	Fonctionnalisation de la cellulose avec des sondes de pH : conclusion.....	235
V.	Développement d’une optode de pH basée sur des sondes pérylène : conclusion.....	237

Conclusion générale.....242

Partie expérimentale.....251

Liste des sigles et abréviations

Solvants et réactifs

APTS : acide paratoluène sulfonique

Boc : tert-butoxycarboxyle

BODIPY : bore-dipyrrrométhène

DCM : dichlorométhane

DMF : N,N'-diméthylformamide

DMSO : diméthylsulfoxyde

EtOH : éthanol

GA : glutaraldéhyde

MeOH : méthanol

PVA : polyvinyl alcohol (alcool polyvinylique en français)

TFA : trifluoroacetic acid (acide trifluoroacétique en français)

THF : tétrahydrofurane

Méthodes, techniques et caractérisations

ATG : analyse thermogravimétrique

DLS : dynamic light scattering (diffusion dynamique de la lumière en français)

DFT : density functional theory (théorie de la fonctionnelle de la densité en français)

FTIR : Fourier transform infrared spectroscopy (spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier)

HR : haute résolution

MEB : microscope électronique à balayage

NIR : near infrared (infrarouge proche en français)

RMN : résonance magnétique nucléaire

XPS : X-Ray photoelectron spectrometry (spectrométrie photoélectronique X)

Unités

°C : degré Celsius

g : gramme

J : Joules

mg : milligramme

mL : millilitre

mM : millimole par litre

mmole : millimole

nM : nanomole par litre

ns : nanoseconde

s : seconde

μ M : micromole par litre

μ s : microseconde

Abréviations et symboles

ANDRA : agence nationale pour la gestion des déchets radioactifs

ASN : autorité de sûreté nucléaire

COX : callovo-oxfordien

CuAAC : copper(I)-catalysed alkyne-azide cycloaddition (cycloaddition alcyne-azoture catalysé par le cuivre(I) en français)

FA : faible activité

FMA : faible à moyenne activité

FRET : fluorescence resonance energy transfer (transfert d'énergie entre molécules fluorescentes en français)

GBF : générateur basse fréquence

HA : haute activité

HDPE : high density polyethylene (polyéthylène haute densité en français)

ICT : intramolecular charge transfer (transfert de charge intramoléculaire en français)

IF : intensité de fluorescence

ISFET : ion sensitive field effect transistor (transistor à effet de champ sensible aux ions en français)

IUPAC : international union of pure and applied chemistry (union internationale de la chimie pure et appliquée en français)

LED : light-emitting diode (diode électroluminescente en français)

MA : moyenne activité

MOF : metal-organic framework (structures métallo-organiques en français)

MOSFET : metal oxide semiconductor field effect transistor (transistor à effet de champ à oxydes métalliques en français)

PCD : pâte de ciment durcie

PET : photoinduced electron transfer (transfert (transfert d'électron photoinduit en français)

PTFE : polytétrafluoroéthylène

TFA : très faible activité

SMA : subminiature version A

TICT : twisted intramolecular charge transfer (transfert de charge intramoléculaire par déformation en français)

VC : vie courte

VL : vie longue

VTC : vie très courte

Introduction générale –

INTRODUCTION GÉNÉRALE

1. Contexte : le stockage géologique profond des déchets radioactifs

Les déchets radioactifs sont définis comme toute matière radioactive pour laquelle aucune revalorisation n'est prévue ou envisagée dans l'état technique et économique actuel (article L. 542-1-1 du code de l'environnement). La majorité de ces déchets radioactifs provient du secteur de l'électronucléaire, mais également de la défense, de l'industrie non électronucléaire, de la recherche et du secteur médical. Afin de déterminer l'issue de ces déchets, ceux-ci sont classifiés en six catégories en fonction de leur durée de vie et de leur activité (Figure 1) : ainsi les filières de gestion des déchets dits VTC (Vie Très Courte), TFA (Très Faible Activité) et FMA-VC (Faible à Moyenne Activité – Vie Courte) sont définies et effectives depuis des dizaines d'années, tandis que celles des déchets dits FA-VL (Faible Activité – Vie Longue), MA-VL (Moyenne Activité – Vie Longue) et HA (Haute Activité) sont actuellement en cours d'étude.

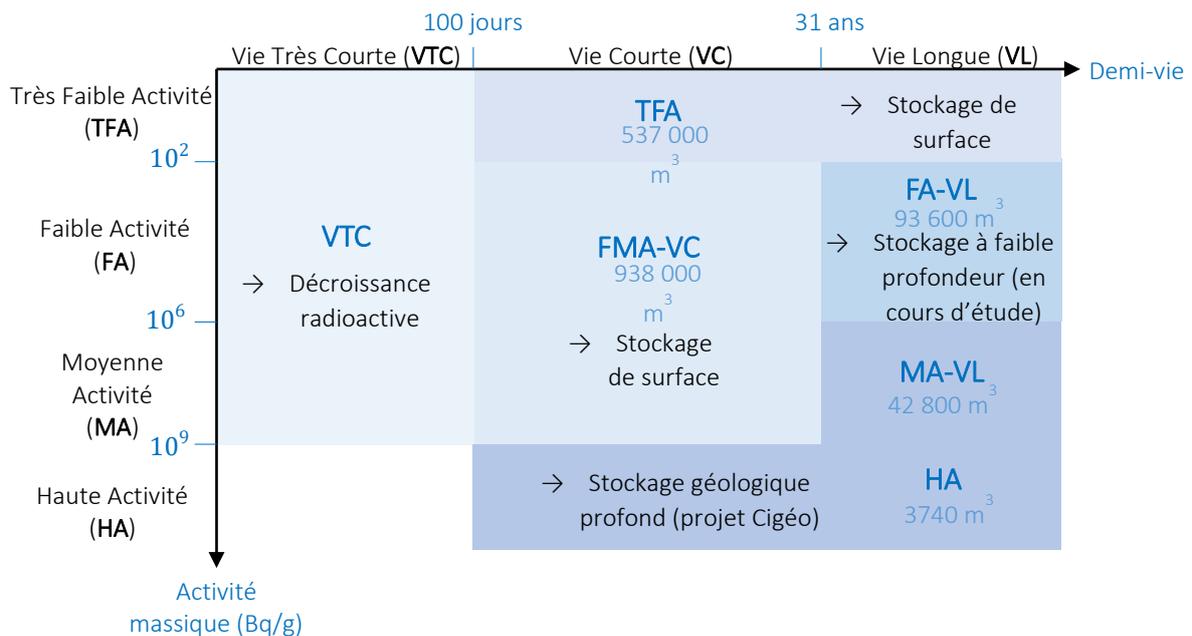


Figure 1 : Classification des déchets radioactifs et leurs filières de gestion correspondantes. Les volumes de déchets indiqués correspondent aux volumes de la fin de l'année 2017[1]

Suite au programme de recherche lancé par la loi Bataille n°91-1381 de 1991 suivie par la loi du 28 juin 2006, l'ANDRA (Agence Nationale pour la gestion des Déchets Radioactifs) a été chargée d'étudier l'option du stockage géologique profond des déchets radioactifs. Le principe du stockage géologique profond consiste à freiner la dissémination des radionucléides et substances toxiques des déchets radioactifs dans la biosphère par l'action d'une formation géologique profonde, sur une durée pouvant atteindre plusieurs centaines de milliers d'années et sans nécessiter toute maintenance et surveillance après sa fermeture[2].

Le projet Cigéo prévoit l'entreposage de 10 000 m³ de déchets haute activité (HA) et 75 000 m³ de déchets moyenne activité à vie longue (MA-VL), dans une roche argileuse située à 500 m de profondeur à Bure (Nord-Est de la France, département Meuse-Haute Marne) et datée du Callovo-Oxfordien (Figure 2)[3]. La construction d'une infrastructure telle que Cigéo nécessiterait d'importants volumes de matériaux cimentaires, aussi bien pour la construction des alvéoles de stockage des colis de déchets, que pour les conteneurs de déchets MA-VL ou le scellement des galeries après exploitation (Figure 3-Figure 4).

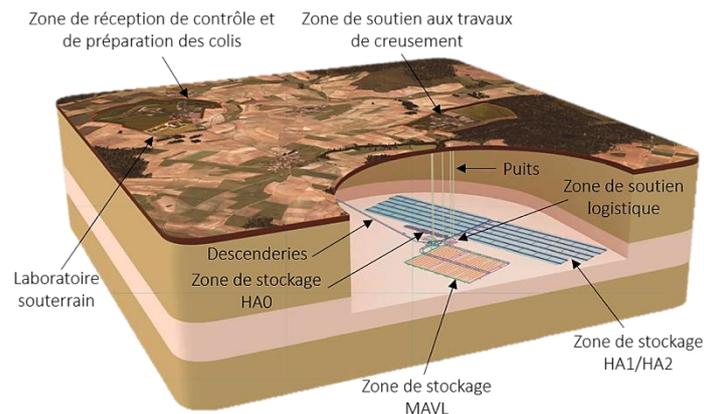


Figure 2 : Schéma des installations de surface et souterraines de Cigéo, reliées par des liaisons surface-souterrain. Adapté de la figure CIM.0EKS.15.0005.C[3]

Comprendre comment ces matériaux cimentaires vont évoluer, d'un point de vue mécanique, sous les différentes contraintes environnementales durant et après l'exploitation du site constitue alors un enjeu de sûreté majeur. L'évolution du comportement mécanique des structures cimentaires est principalement la résultante des perturbations physico-chimiques, sur lesquelles les connaissances continuent de progresser. La composition chimique de l'eau porale contenue dans la microporosité des matériaux cimentaires est un indicateur de l'état de dégradation du matériau. Le pH notamment, est un paramètre fiable et puissant de l'évolution chimique des structures cimentaires et sa mesure demeure d'un intérêt majeur dans le cadre du suivi en continu de l'hydratation et du vieillissement. L'acquisition de données expérimentales est donc essentielle afin de valider les modèles d'hydratation ou de vieillissement développés à l'IRSN et dans la communauté scientifique. Par ailleurs, l'IRSN dans le cadre de l'ouverture de son programme de recherche à la surveillance des ouvrages de stockage profond, présente un intérêt aux développements de capteurs chimiques robustes pouvant renseigner sur l'évolution des structures cimentaires afin de les tester in situ dans son laboratoire souterrain de Tournemire.

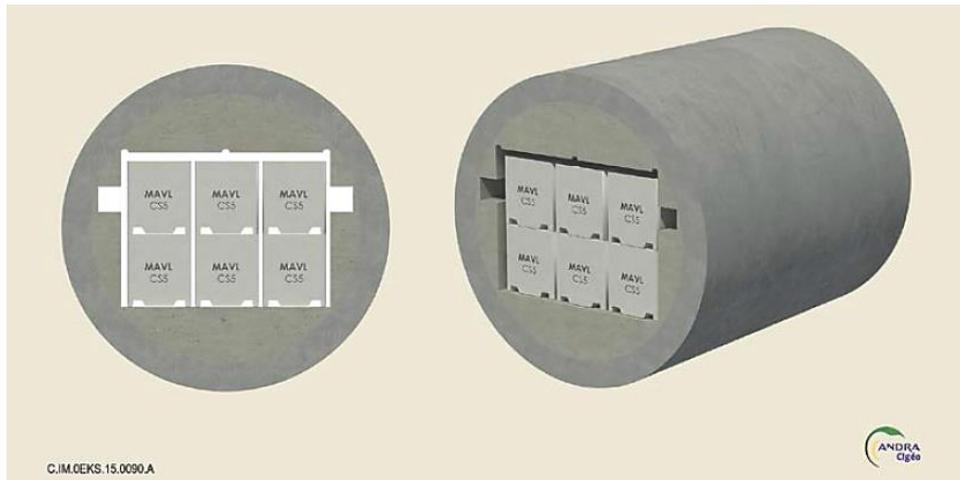


Figure 3 : Représentation d'une alvéole MA-VL avec l'arrangement envisagé des colis de stockage des déchets MA-VL – Différents matériaux cimentaires seront utilisés au niveau de la conception de l'alvéole et pour l'élaboration des colis ANDRA [3]

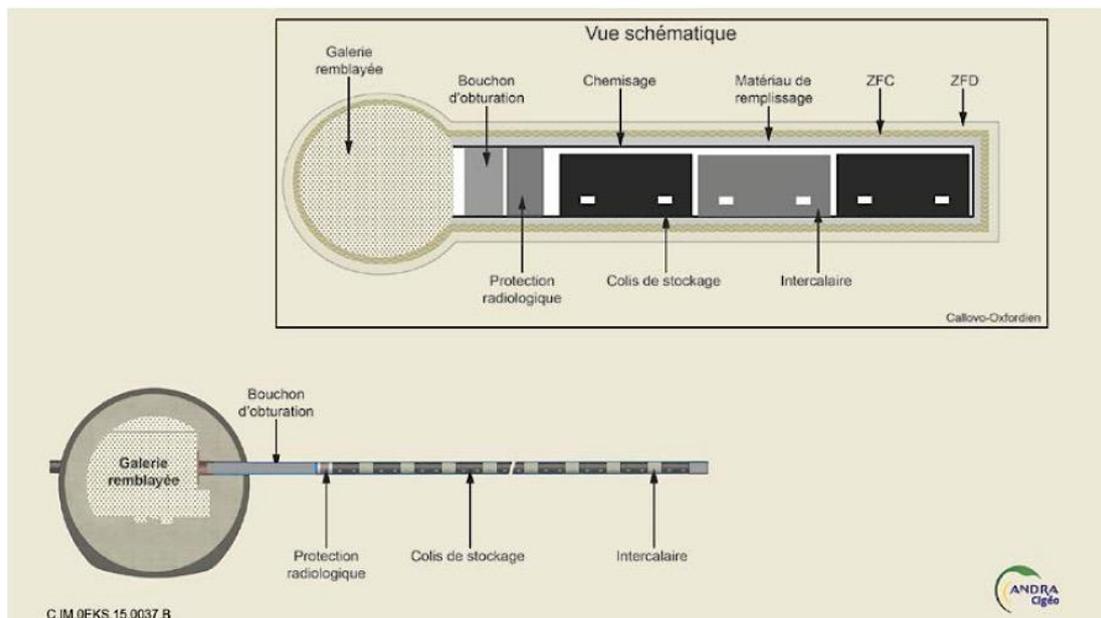


Figure 4 : Représentation d'une alvéole HA pour la réception des déchets HA1 et HA2 - Différents matériaux cimentaires seront utilisés pour la conception de l'alvéole[3]

2. Objectif : élaboration d'une optode dédiée à la mesure du pH du béton

Plusieurs outils de mesure du pH ont été développés afin de répondre à des demandes spécifiques des secteurs de la recherche et de l'industrie. En raison de leur précision, les méthodes électrochimiques sont conventionnellement employées mais les électrodes induisent des mesures peu fiables pour des pH extrêmes et deviennent instables sur des durées longues. Les sondes optiques exploitant un transducteur chimique, ou optodes, constituent

une option intéressante pour le suivi *in situ* de la variation du pH des bétons, sur des durées longues. Néanmoins, les systèmes décrits dans la littérature ne sont pas applicables pour le suivi en temps réel de variation de hauts pH (> 13).

Dans ce contexte, les objectifs fixés sont de concevoir et de réaliser une optode de pH afin de suivre l'hydratation et le vieillissement de matériaux cimentaires *in situ*, depuis la prise jusqu'à plusieurs mois/années, dans une perspective de stockage géologique profond de déchets radioactifs. Dans le cadre de cette thèse, la nature des transducteurs chimiques employés pour le développement des optodes se limite à des sondes moléculaires de pH fluorescentes. A terme, l'élaboration d'un tel outil permettrait de confronter les résultats expérimentaux nouvellement acquis aux modèles mathématiques d'hydratation et de vieillissement des matériaux cimentaires préexistants.

3. Approche expérimentale et méthodologie

L'élaboration d'optodes de pH basées sur des sondes moléculaires fluorescentes nécessite plusieurs étapes de développement (Figure 5):

- Une sélection et une synthèse de la sonde moléculaire de pH fluorescente précède l'étude du composé en solution. La réponse de la sonde fluorescente aux variations de pH est notamment étudiée afin de valider la structure moléculaire ;
- Le piégeage de la sonde de pH dans une matrice solide permet d'inclure celle-ci dans l'optode. La seconde étape est alors constituée d'une sélection de la matrice solide permettant le piégeage chimique ou physique de la sonde de pH. L'étude des propriétés photochimiques de la matrice dopée en fonction des variations de pH permet de valider la pertinence du matériau synthétisé ;
- Le choix de l'instrumentation et du système d'acquisition permettant de constituer un système de mesure optique du pH, adapté aux matériaux cimentaires. Cette étape de développement d'un banc optique constitue un travail rigoureux afin d'obtenir un outil de mesure précis, avec un signal peu bruité et découplé des perturbations extérieures ;
- Une étape finale de validation de l'optode de pH et la preuve de concept appliquée aux matériaux cimentaires permet de confirmer ou d'infirmer la pertinence de l'outil développé en fonction de l'application visée.

Ce manuscrit de thèse s'applique à résumer la littérature portant sur la mesure du pH de matériaux cimentaires afin de définir les spécificités des matériaux étudiés. Un focus sur la mesure du pH par fluorescence dans le premier chapitre permet d'introduire les notions de sondes moléculaires de pH fluorescentes et de capteurs optiques de pH – ou optodes – développés à partir des sondes fluorescentes de pH. Un second chapitre décrit le développement d'une optode de pH à partir d'un dérivé naphthalimide ; le NaphthAlkyne-OMe. La synthèse de matériaux polymères dopés avec le NaphthAlkyne-OMe est décrite, ainsi que le développement de l'optode de pH. Les limites de cette première optode de pH développée sont également discutées dans ce chapitre et justifient les choix effectués pour la suite de la thèse. Un troisième chapitre décrit le développement d'optodes à partir de sondes de pH basée sur un pérylène. De la même manière, les matrices solides synthétisées à partir de ces sondes de pH sont décrites et les résultats obtenus y sont discutés. Une conclusion générale

clôture ce manuscrit et détermine les axes de recherche pouvant découler de ce travail de développement d'un outil de mesure du pH pour les matériaux cimentaires.

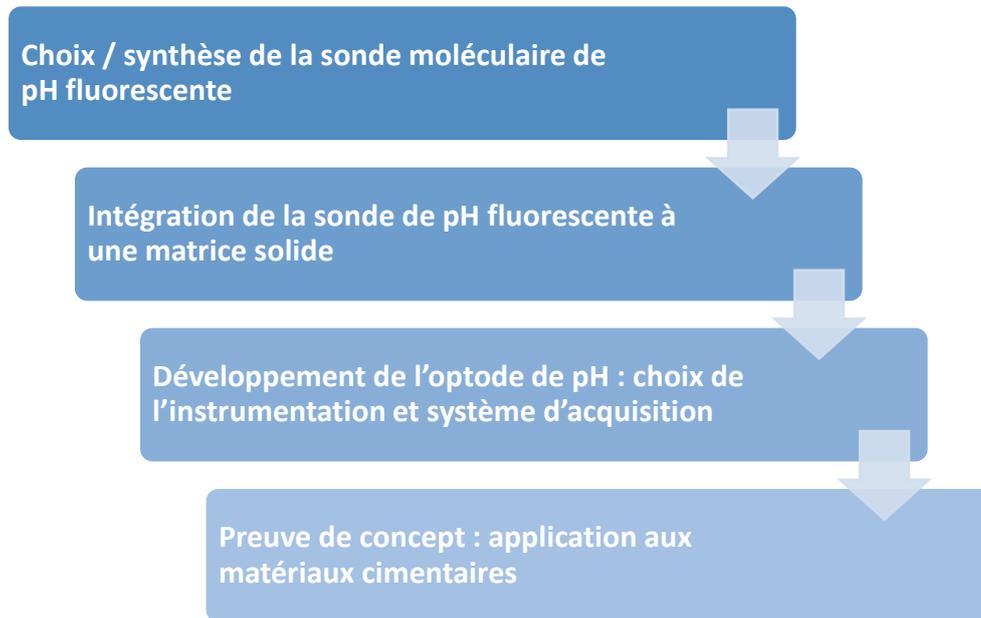


Figure 5 : Méthodologie suivie pour le développement d'optodes de pH basées sur des sondes moléculaires fluorescentes, pour une mesure dans les matériaux cimentaires

Références

1. ANDRA, Inventaire national des matières et déchets radioactifs. *Les essentiels* **2019**.
2. ASN, Guide de sûreté relatif au stockage définitif des déchets radioactifs en formation géologique profonde. **2008**, § 4.1, Objectif.
3. ANDRA, Rapport CG-TE-D-NTE-AMOA-SR1-0000-15-0060 –«Dossier d'options de sûreté -Partie exploitation» (DOS-Expl). **2016**.

Chapitre I –

Mesure du pH de matériaux cimentaires

Table des matières

CHAPITRE I – MESURE DU PH DE MATÉRIAUX CIMENTAIRES	17
I. Le potentiel d'hydrogène ou pH : définition et mesure	17
I.1. pH : définitions et intérêt de la mesure.....	17
I.2. Méthodes commerciales de mesure du pH	18
I.2.a. Méthodes électrochimiques.....	18
I.2.b. Méthodes optiques.....	24
II. Mesure du pH des matériaux cimentaires.....	26
II.1. Chimie des matériaux cimentaires : mécanismes et réactions.....	26
II.1.a. Notation cimentaire ou CCN (Cement Chemistry Notation)	26
II.1.b. Ciment et matériaux cimentaires.....	27
II.1.c. Hydratation du ciment.....	28
II.1.d. Eau porale des matériaux cimentaires : rôle, évolution chimique et pH	30
II.2. Évolution chimique probable des matériaux cimentaires dans un scénario de stockage géologique profond de déchets nucléaires.....	32
II.2.a. Matériaux cimentaires envisagés	32
II.2.b. Carbonatation des matériaux cimentaires.....	33
II.2.c. Hydrolyse des matériaux cimentaires	33
II.2.d. Perturbations magnésiennes et attaques sulfatiques	34
II.3. Mesure du pH de matériaux cimentaires	35
II.3.a. Mesure du pH de matériaux cimentaires au jeune âge.....	35
II.3.b. Mesure du pH de matériaux cimentaires durant la phase d'hydratation	35
II.4. Mesure du pH de matériaux cimentaires : conclusion.....	43
III. Mesure du pH par fluorescence	44
III.1. Fluorescence moléculaire : mécanismes d'absorption et d'émission	44
III.1.a. Absorption UV-Visible.....	44
III.1.b. Émission de fluorescence	45
III.1.c. Fluorescence : terminologie et définitions.....	47
III.1.d. Extinction de fluorescence	49
III.2. La fluorescence moléculaire comme outil analytique.....	50
III.2.a. Sondes moléculaires fluorescentes	51
III.2.b. Sondes moléculaires de pH fluorescentes	55
III.3. Mesure du pH par fluorescence : conclusion	64
IV. Optodes dédiées à la mesure du pH.....	66
IV.1. Les capteurs optiques mesurant des substances spécifiques ou optodes.....	66
IV.2. Nature du mesurande.....	67
IV.2.a. Optodes mesurant l'absorbance ou la réflectance.....	67
IV.2.b. Optodes mesurant la luminescence	68
IV.3. Choix de la matrice pour le développement d'optodes de pH.....	70
IV.2.a. Matrices organiques inertes.....	71
IV.2.b. Matrices inorganiques inertes	77
IV.2.c. Matériaux réactifs aux variations du pH de l'environnement	80
IV.3. Premières optodes développées pour la mesure du pH	87
IV.4. Optodes développées pour la mesure de pH basiques	88
IV.5. Développement d'optodes de pH planaires	100

IV.6. Optodes dédiées à la mesure du pH : conclusion	103
V. Mesure du pH de matériaux cimentaires : conclusion	104

Liste des figures

Figure I - 1 : Echelle de pH et concentrations en ions $[H^+]$ et $[OH^-]$ correspondantes	18
Figure I - 2 : Représentation schématique d'une électrode combinée de pH en verre: l'électrode de référence Ag/AgCl est immergée dans une solution saturée de KCl et est associée à une électrode en verre.....	19
Figure I - 3 : Comparaison des incertitudes liées à une calibration en deux points (gauche) et une calibration en trois points (droite) par une électrode de pH potentiométrique	20
Figure I - 4 : Décomposition de la quinhydrone en hydroquinone et benzoquinone dans une solution aqueuse.....	22
Figure I - 5 : Comparaison des architectures d'un composant MOSFET et d'un capteur de pH ISFET en SiO_2	23
Figure I - 6 : Formes acide, neutre et basique du 7-hydroxyphenoxazone ou litmus et couleurs correspondantes	24
Figure I - 7 : Nombre de publications décrivant le développement de capteurs optiques de pH basés sur la fluorescence (données extraites de Web of Science™)	25
Figure I - 8 : Illustration du procédé de fabrication du ciment Portland (source :redecouvrirlebeton.ca)	27
Figure I - 9 : Modélisation de la microstructure d'une pâte de ciment formée par des particules icosaédriques en début et après 48 h d'hydratation[29]	28
Figure I - 10 : Evolution générale du pH de l'eau interstitielle d'un matériau cimentaire au contact d'un environnement carbonaté, au cours des différentes phases d'hydratation et de vieillissement du matériau [32]	32
Figure I - 11 : Localisation des interfaces matériaux cimentaires – matériaux argileux envisagés au niveau des alvéoles de stockage de déchets MA-VL [36]	34
Figure I - 12 : Dispositif d'extraction de l'eau porale du béton[44].....	36
Figure I - 13 : Illustration de la méthode ISL (In Situ Leaching) permettant de mesurer le pH de l'eau porale de matériaux cimentaires[47].....	37
Figure I - 14 : Effet du temps de lixiviation sur la concentration en $[OH^-]$ d'un béton avec $w/c=0,50$, rapport massique poudre/eau=1[45]	37
Figure I - 15 : A-Couple électrode de travail en oxyde d'iridium et électrode de référence en AgCl sur un substrat en polyimide, B -Réponse expérimentale du capteur en fonction du pH en solution [53]	38
Figure I - 16 : A - Temps de réponse de l'électrode de pH développée par Huang et al. et B - preuve de la réversibilité [53].....	39
Figure I - 17 : A - Réponse de l'électrode de pH Ir/IrO ₂ avec une électrode de référence au calomel saturée et B - Electrode combinée pH/Cl ⁻ [54]	39
Figure I - 18 : A - Montage expérimental pour le suivi du pH et de la concentration en Cl ⁻ à l'interface armature en acier-béton immergé dans une solution NaCl 3,5% et B - pH mesuré durant 60 jours [54]	40
Figure I - 19 : Montage permettant de mesurer le pH et la concentration en Cl ⁻ à l'interface acier/béton développé par Dong et al. Vue de profil (A) et de haut (B)[55]	40

Figure I - 20 : A - Suivi du pH et de la concentration en Cl^- à l'interface béton/acier d'un échantillon périodiquement immergé dans une solution NaCl 3,5% grâce à l'électrode combinée développée par Dong et al. et B - dans un échantillon coulé dans la cavité d'un tunnel (droite)[55]	41
Figure I - 21 : Schéma général d'un capteur EIS	42
Figure I - 22 : Interactions lumière-matière et représentation des transitions électroniques autorisées pour un système monomoléculaire excité.....	45
Figure I - 23 : Diagramme de Perrin-Jablonski représentant les différentes transitions électroniques entre les états d'une molécule accompagné de leurs temps caractéristiques et des positions relatives des spectres d'absorption, de fluorescence et de phosphorescence (adapté de [70])	46
Figure I - 24 : Diagramme d'énergie de Franck-Condon pour une excitation favorisant une transition électronique entre les états vibrationnels (0,2) et spectres d'absorbance et de fluorescence déduits (adapté de [72]).....	47
Figure I - 25 : Constantes de vitesse de désexcitation de l'état S_1 (adapté de [70])	47
Figure I - 26 : Paramètres extrinsèques et intrinsèques d'un fluorophore	50
Figure I - 27 : Principe général d'une sonde moléculaire fluorescente. La détection de l'analyte étudié par l'unité de détection induit une variation des propriétés photophysiques du fluorophore.....	50
Figure I - 28 : Représentation des profils d'énergie potentielle lors du mécanisme de transfert de charge intramoléculaire (ICT) : la molécule de géométrie accepteur-donneur π -conjuguée (A- π -D) dans son état fondamental S_0 est excitée à l'état S_2 . La conversion interne (IC) permet d'atteindre l'état localement excité (LE- S_1) avant l'état ICT- S_1 (adapté de [82]).....	51
Figure I - 29 : Structure de DMABN et diagramme d'énergie potentielle lors de la rotation du groupement diméthylamino accompagnée de la relaxation de la sphère de solvation polaire (gauche). Spectre de fluorescence de DMABN dans l'hexane et le THF à température ambiante (droite) [70]	52
Figure I - 30 : Illustration du mécanisme de transfert d'électron photoinduit (PET) dans le cas d'un transfert d'électron réducteur : le fluorophore de géométrie donneur-espaceur-accepteur (D-E-A) voit son potentiel redox modifié en présence de l'analyte X et émet une fluorescence d'énergie $E_0 = hv_0$ car le transfert d'électron de D vers A est inhibé. A l'inverse en absence d'analyte X, le mécanisme PET induit une séparation de charges et une extinction de fluorescence.	53
Figure I - 31 : Structure de la sonde PET constituée d'un motif anthracène substitué par un groupement couronne, synthétisée par De Silva et al. [84]	54
Figure I - 32 : Structure de la sonde PET constituée de deux motifs anthracène substitués par des groupements chélatants, synthétisée par Qiu et al. [85]	54
Figure I - 33 : Structure de la sonde de pH "caméléon" synthétisée par Lee et al. a) Évolution du spectre d'absorption entre pH=3,2-10 : la sonde présente une fluorescence orange en milieu acide qui évolue progressivement vers une fluorescence verte en milieu basique b) En raison de cette évolution de la signature spectrale en fonction du pH, un raisonnement ratiométrique permet de mettre en évidence une linéarité de la réponse dans la gamme pH=4-8 [94].....	56

Figure I - 34 : Amino-coumarines synthétisées par Long et al. : les deux sondes ont été synthétisées pour le développement de capteurs ratiométriques de pH acides et présentent un mécanisme ICT lié à la protonation de l'amino-pyridine [100].....	56
Figure I - 35 : structure de la sonde de pH fluorescente synthétisée par Wu et al. [101].....	57
Figure I - 36 : Série de sondes de pH fluorescentes basées sur le motif coumarine développées par Vasylevska et al. (2007) : l'association de plusieurs sondes au sein d'une membrane polymère permet de couvrir une large gamme de pH = 1-9 [74].....	58
Figure I - 37 : Structures des trois sondes de pH synthétisées par Nguyen et al., diagramme énergétique probables et équilibre de protonation-déprotonation en solution aqueuse[103].....	58
Figure I - 38 : Evolution du spectre d'émission de SIC en fonction du pH en solution aqueuse, λ_{ex} = 330 nm[103].....	59
Figure I - 39 : Série de sondes de pH fluorescentes basées sur le motif rhodamine développées par Aigner et al. [93].....	60
Figure I - 40 : Structure de la pyranine utilisée comme sonde de pH pour l'étude de phénomènes intracellulaires.....	61
Figure I - 41 : Structures des sondes de pH BODIPY synthétisées par Gotor et al.[110].....	61
Figure I - 42 : Série de sondes de pH aza-BODIPY synthétisée par Strobl et al.[112].....	62
Figure I - 43 : Courbes de calibration d'hydrogels polyuréthane (HydroMed™ D4) dopés avec les sondes aza-BODIPY 1 à 8 (gauche) et courbe de calibration d'un hydrogel polyuréthane (HydroMed™ D4) dopé avec les sondes aza-BODIPY 1, 2, 3 et 5 synthétisées par Strobl et al.[112].....	63
Figure I - 44 : Structures des sondes de pH aza-BODIPY synthétisées par Staudinger et al.[113].....	64
Figure I - 45 : Schéma général des composants d'une optode.....	66
Figure I - 46 : Illustration de la première optode d'oxygène développée par Kautsky et Hirsh en 1939. Un gaz contenant de l'oxygène est introduit dans la cellule à travers la valve H1 et l'extinction de fluorescence de la sonde déposée sur un gel de silice au fond de la cellule est suivi par fluorimétrie[117].....	66
Figure I - 47 : Absorbance à $\lambda=572$ nm de la diacetylcellulose greffée avec le composé phénolphtaléine-formaldéhyde (PPF) en fonction du pH, et structure de la sonde de pH correspondante (modifié [118]).....	67
Figure I - 48 : Courbe de calibration d'une membrane en agarose greffée avec l'indicateur de pH coloré Orange (II), à $\lambda=490$ nm[121].....	68
Figure I - 49 : Représentation d'un module optoélectronique pour un suivi du pH en continu par réflectance [24].....	68
Figure I - 50 : Principe de la méthode DLR (Dual Lifetime Referencing) illustrée pour les deux états d'une sonde de pH fluorescente (haut et bas)[24].....	70
Figure I - 51 : Degré de réticulation d'hydrogels PVA – glutaraldéhyde (A), évolution de la rétention d'eau et du gonflement (B) et évolution de la conductivité protonique (C) en fonction du taux de réticulation [149].....	75
Figure I - 52 : Protocoles de greffage covalent d'une sonde isothiocyanate (gauche) et d'une sonde ester succinimide (droite) sur des nanocristaux de cellulose[162].....	76

Figure I - 53 : Trois réactions du procédé sol-gel à partir de précurseurs d'alcoxyde de silicium. Hydrolyse des groupements alcoyles en groupements silanols avec libération d'un alcool (1), suivie d'une condensation de deux silanols avec libération d'eau (2a) ou condensation d'un silanol avec un alcoyle (2b)[171]	77
Figure I - 54 : Surfaces de matrices sol-gels obtenues à partir de précurseurs Si(OMe) ₄ avec une catalyse basique (gauche) et acide (droite), observées au MEB[176]	78
Figure I - 55 : Greffage covalent d'une molécule comportant une amine primaire aromatique sur un substrat en verre par le procédé GraftFast®[183]	79
Figure I - 56 : Image MET d'un film mince de silice mésoporeuse avec une structure cubique (échelle : 50nm)[186].....	80
Figure I - 57 : Différentes variations d'architectures de polymères liées au pH de l'environnement :: a) Monomère↔micelle b) Micelle↔micelle inverse c) Gonflement↔dégonflement d'un nanogel ou microgel d) Micelle vésicule↔micelle vésicule inverse e) Gonflement↔dégonflement de dendrimères f) Gonflement↔dégonflement d'un polymère hyper-ramifié g) Variation de la morphologie des micelles h) Polymères avec une morphologie en brosse[187]	81
Figure I - 58 : Formation d'un hydrogel par complexation de chaînes PEG comportant des groupements catéchols terminaux avec l'acide 1,3-benzenediboronique en milieu basique[190]	84
Figure I - 59 : Différentes formes et couleurs de la polyaniline en fonction de l'état de protonation	85
Figure I - 60 : Courbe de calibration d'une optode de pH développée à partir de polyaniline (PANI) greffée en surface d'une fibre optique ($\lambda_{abs} = 575 \text{ nm}$). Les cercles vides correspondent au chemin de protonation, tandis que les cercles pleins correspondent au chemin de déprotonation[193]	85
Figure I - 61 : Variation de l'intensité de luminescence du MOF [Eu ₃ (C ₁₄ H ₆ N ₂ O ₄) ₄ (OH)(H ₂ O) ₄]c·2H ₂ O en fonction du pH, synthétisé par Harbuzaru et al.[201]	86
Figure I - 62 : Synthèse de MOFs constitués de clusters Zr ₆ et de ligands bpydc (A) et évolution de leur fluorescence en fonction du pH en solution aqueuse ($\lambda_{excitation} = 365 \text{ nm}$)[202]	87
Figure I - 63 : Evaluation in-vivo du fonctionnement de l'optode par son insertion dans la veine jugulaire d'un mouton. Les résultats de l'optode (trait plein) sont comparés à ceux d'une électrode en verre (pointillés)[125]	88
Figure I - 64 : Intensité de fluorescence de l'isothiocyanate de fluorescéine en fonction du pH ($\lambda_{exc} = 250 \text{ nm}$ et $\lambda_{ém} = 362 \text{ nm}$) et espèces chimiques présentes en solution pour les gammes de pH 3-10 et 10-12,5 (adapté de [206])	89
Figure I - 65 : Emission de la sonde de pH CIPPA (= 550nm) et de la référence interne MFY-10GN (=389 nm)[207]	90
Figure I - 66 : Gauche : Illustration des nanocapsules poreuses contenant la sonde de pH et piégées dans un gel de polyvinyl alcool (PVA), le gel PVA dopé est alors placé dans un capillaire en verre . Droite : Photographie du capillaire en verre contenant le gel PVA dopé[208]	90

Figure I - 67: Structures des sondes moléculaires fluorescentes de pH synthétisées et les courbes de calibration obtenues après piégeage physique de la sonde dans un polymère[113]	91
Figure I - 68 : Synthèse de sondes pérylène bismides (gauche). Valeurs des pKa des sondes en solution et piégées dans une matrice polymère (droite)[141]	91
Figure I - 69 : Profils de photodégradation des sondes 2a,b,c et 3a dans leur forme neutre, et 2a dans sa forme déprotonée [141]	91
Figure I - 70 : Montage de l'optode développée par Dantan et al. destinée à une mesure de l'absorbance en fonction du pH par réflexion (figure adaptée de [209])	92
Figure I - 71 : Variation du spectre d'absorbance de membranes préparées par un procédé de frittage de particules PS-Amberlite XAD4 divinylbenzène adsorbées d'un indicateur coloré de pH azoïque en fonction du pH (gauche) et courbe de calibration correspondante (droite)[209].....	93
Figure I - 72 : Suivi du signal de l'optode immergée dans un échantillon de béton (inset : photo de l'unité de détection immergée dans l'échantillon)[209]	93
Figure I - 73 : Voies d'élaboration explorées par Dantan et al.[209] afin de développer une optode de pH pour le béton basée sur une mesure d'absorbance	95
Figure I - 74 : Voies d'élaboration explorées par Dantan et al.[209] afin de développer une optode de pH pour le béton basée sur une mesure de durée de vie.....	96
Figure I - 75 : Configuration classique d'une unité de détection pour une mesure par réflexion (A) comparée à la configuration planaire développée par Blumentritt et al. pour une mesure du pH du béton in situ (B)[211]	97
Figure I - 76 : Calibration de cinq optodes de pH planaires élaborées par Blumentritt et al.[211].....	97
Figure I - 77 : Mesure du pH à l'intérieur de cavités percées dans un échantillon carbonaté constitué de ciment Portland ordinaire avec un ratio <i>ec</i> = 0,42 et un ratio <i>aggrégats/ciment</i> = 1,67, à l'aide d'une optode de pH élaborée par McPolin et al. [212].....	98
Figure I - 78 : Evolution de la fluorescence de la sonde de pH 7-(4-vinylbenzylamino)-4-((2-méthyl-4-nitro-1H-imidazol-1-yl)méthyl)-coumarine copolymérisée dans le Pluronic P84, l'acide méthacrylique et le 1,4-Bis(acryloyl)piperazine (gauche) et étude de la photostabilité (droite) [103]	99
Figure I - 79 : Configuration de l'optode élaborée par Nguyen et al. pour la mesure de pH basiques[213].....	99
Figure I - 80 : Etude de la fluorescence de la sonde 7-(4-vinylbenzylamino)-4-((2-méthyl-4-nitro-1H-imidazol-1-yl)méthyl)-coumarine copolymérisée dans le Pluronic P84, l'acide méthacrylique et le 1,4-Bis(acryloyl)piperazine à l'aide de l'optode de pH élaborée par Nguyen et al.[213]	100
Figure I - 81 : Principe de la méthode et instrumentation t-DLR (time-domain Dual Lifetime Referencing) utilisée pour l'imagerie de gradients de pH en surface du béton[138]	101
Figure I - 82 : Mesure du pH en surface d'un échantillon de béton carbonaté avec la méthode t-DLR (A). Photographie de la surface étudiée (B) et pH mesuré à l'aide d'une électrode de pH plane (C)[138].....	101

Figure I - 83 : Montages expérimentaux utilisés pour la cartographie du pH de sédiments.
 Gauche : Larsen et al.[114] (Exf. : filtre d'excitation et Emf. : filtre d'émission),
 droite : Moßhammer et al.[139].....102

Figure I - 84 : Pâtes de ciment Portland fracturées à 0, 30, 80 jours de carbonatation (A,B,C) et
 après application d'une solution de phénolphthaléine PHPHT (colonne gauche) ou de
 T^FPLPt (colonne centrale) sous lumière blanche. Colonne droite : cartographie du
 pH obtenue par la méthode de Liu et al.[214].....102

Liste des tableaux

Tableau I - 1 : Principaux oxydes composant le ciment - Notations cimentaires et appellations correspondantes	26
Tableau I - 2 : Principales phases minérales composant le ciment, formules chimiques, notations cimentaires et appellations correspondantes	27
Tableau I - 3 : Composition chimique en mmol/L des eaux interstitielles d'un béton CEM I après 90 jours d'hydratation, d'un matériau cimentaire bas-pH après 330 jours d'hydratation et de l'argile datant du COX [11].....	34
Tableau I - 4 : Caractéristiques de capteurs de pH EIS fonctionnels jusque pH = 12	43
Tableau I - 5 : Rendements quantiques de fluorescence de quelques références[73]	49
Tableau I - 6 : Propriétés photophysiques des sondes de pH coumarine-imidazole synthétisées par Nguyen et al. Les valeurs de λ et de pKa sont déterminées dans H ₂ O-EtOH 98,5 :1,5 [103].....	59
Tableau I - 7 : Propriétés photophysiques des sondes de pH BODIPY en solution H ₂ O/EtOH 1:1 v/v synthétisées par Gotor et al. dont les structures sont présentées en Figure I - 41 [110].....	62
Tableau I - 8 : Propriétés photophysiques des sondes aza-BODIPY synthétisés par Strobl et al., déterminées dans une solution EtOH/H ₂ O (1 :1).....	63
Tableau I - 9 : Propriétés photophysiques des sondes aza-BODIPY synthétisés par Staudinger et al. ^(a) THF, ^(b) EtOH/H ₂ O (1 :1) pour les composés solubles, ^(c) composés solubilisés dans polyuréthane HydroMed™ D4 [113]	64
Tableau I - 10 : Principales matrices organiques utilisées pour le développement d'optodes de pH.....	72
Tableau I - 11 : Polymères basiques sensibles aux variations de pH[187]	83

CHAPITRE I – MESURE DU pH DE MATÉRIAUX CIMENTAIRES

I. Le potentiel d'hydrogène ou pH : définition et mesure

I.1. pH : définitions et intérêt de la mesure

L'introduction du terme 'acide' date de l'Antiquité avec le constat que certaines solutions comme le vinaigre possèdent un goût aigre (en latin *acidus* : aigre et *acetum* : vinaigre). Le terme 'alcalin', dérivé de l'arabe *al-kali* (cendre de plantes), est quant à lui introduit par l'alchimiste Geber (Abu usa Jâbir Ibn Hayyan Al-Sufi) qui décrit la préparation d'alkali végétal catabastique correspondant à l'hydroxyde de potassium KOH[1]. Le concept de pH a été introduit plus tardivement en 1909 par le biochimiste Sören P. L. Sørensen lors de ses travaux portant sur l'effet des ions H^+ sur l'activité des enzymes[2]. S'intéressant à l'utilisation d'une électrode $H^+/Pt/H_2$ afin de mesurer l'acidité de solutions, il introduit le terme initialement noté p_H afin de simplifier l'écriture de l'équation régissant le potentiel de l'électrode (Eq. I - 1), avec $E^\circ=0$ le potentiel d'électrode standard mesuré par rapport au couple H^+/H_2 et une pression $P(H_2)$ fixée à 1 atm. Le potentiel de l'électrode étant proportionnel à $-\log([H^+])$, Sørensen propose de noter cette valeur $p_H = -\log([H^+])$. En d'autres termes, Sørensen propose de noter la concentration $[H^+]$ comme une puissance négative de 10, soit $10^{-[H^+]}$ d'où la notation 'p' référant à la puissance (*potenz* en allemand ou *power* en anglais)[3]. En 1924, Sørensen met en évidence le fait que le pH ne dépend pas uniquement de la concentration en ions H^+ mais plutôt de l'activité des ions en solution. Cette seconde définition sera publiée et rejoint le concept moderne du pH : $p_H = -\log(a(H^+))$. La première notation p_H sera progressivement remplacée par des notations alternatives comme p_{H^+} ou Ph avant que le terme pH soit adopté par le Journal of Biological Chemistry[3].

$$E = E^\circ + 2,3 \times \frac{RT}{F} \times \log\left(\frac{1}{[H^+]}\right) \quad \text{Eq. I - 1}$$

Actuellement, le pH ou potentiel d'hydrogène correspond à une mesure de l'activité des hydrons H^+ en solution. En solution aqueuse, les ions hydrons se trouvent sous la forme d'ions hydronium H_3O^+ et le pH correspond alors à la mesure de l'activité de ces derniers, on retrouve la définition :

$$pH = -\log(a(H_3O^+)) \quad \text{Eq. I - 2}$$

L'IUPAC (Union Internationale de Chimie Pure et Appliquée) définit également le pH comme :

$$pH = -\log(a(H^+)) = -\log\left(\frac{m_{H^+} \times \gamma_{H^+}}{m^\circ}\right) \quad \text{Eq. I - 3}$$

avec γ_{H^+} le coefficient d'activité molale de l'ion H^+ pour une molalité m_{H^+} et m° la molalité standard[4]. D'après l'IUPAC, la difficulté rencontrée pour définir le pH provient de l'impossibilité de mesurer la grandeur définissant la notion de pH : en effet, l'activité de l'ion H^+ ne constitue pas une grandeur thermodynamique mesurable. Dans son compendium de terminologie, l'IUPAC fournit alors une définition théorique du pH, complétée par une méthode primaire de mesure [5]. Une échelle de pH logarithmique et adimensionnelle peut être définie en fonction des concentrations des ions $[H^+]$ ou $[HO^-]$: plus le pH augmente et plus une solution est dite basique ou alcaline (Figure I - 1). Généralement

définie en solution aqueuse, cette échelle se limite à la gamme pH=0-14 en raison de la réaction d'autoprotolyse de l'eau, pour laquelle une constante d'équilibre $K_e = 10^{-14}$ est définie.

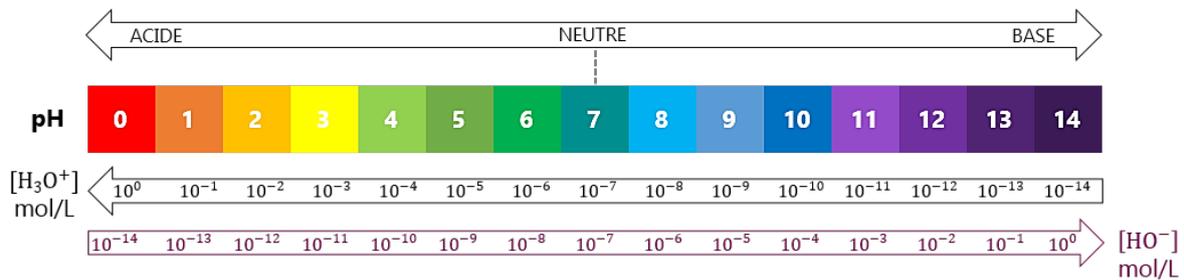


Figure I - 1 : Echelle de pH et concentrations en ions $[H^+]$ et $[OH^-]$ correspondantes

Le pH constitue un paramètre essentiel suivi dans une multitude de domaines comme l'analyse des eaux potables[6], la production de biomasse dans les photobioréacteurs,[7] l'étude des sols,[8] le suivi de l'efficacité de traitements en médecine,[9] ou encore le suivi de la corrosion dans l'industrie pétrolière par exemple[10]. Sa mesure demeure également d'un intérêt majeur dans le domaine des matériaux cimentaires, par exemple pour le développement de nouveaux liants hydrauliques pour les bétons bas pH¹[11]. Durant la phase d'hydratation du ciment, caractérisée par la mise en contact du ciment avec l'eau, le pH reflète la cinétique des réactions chimiques se produisant et son suivi permettra de mieux appréhender l'évolution de ces réactions durant les phases de maturation et de vieillissement du béton. Le suivi du pH durant une lixiviation du béton pourrait permettre de suivre la cinétique de dilution des ions présents dans le béton étudié, de suivre la vitesse de dégradation du béton ou l'augmentation de porosité, afin de confronter les données expérimentales acquises avec les modèles numériques proposés par Mainguy et al.[12] ou Carde et al.[13] par exemple.

I.2. Méthodes commerciales de mesure du pH

Plusieurs outils de mesure de pH sont présentés dans le commerce et se divisent principalement en deux catégories : les méthodes électrochimiques et les méthodes optiques. La sélection d'une méthode de mesure repose sur plusieurs critères comme la compatibilité de l'outil avec la nature physico-chimique du milieu étudié, la précision recherchée pour l'application visée, le temps de réponse de l'outil, sa facilité de mise en place ou des critères de coût. La majorité des mesures précises de pH sont réalisées à l'aide d'un pH-mètre composé d'une sonde de mesure spécifique préalablement calibrée dans plusieurs solutions tampons d'activités $a(H^+)$ connues. D'après la loi de Nernst (Eq. I - 6), une mesure de pH n'est valable qu'à une température donnée, ce qui justifie la présence d'une sonde de température généralement associée à l'électrode de pH.

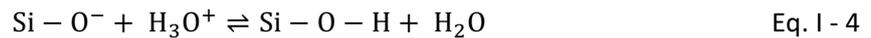
I.2.a. Méthodes électrochimiques

ÉLECTRODES DE pH EN VERRE

Les électrodes de pH en verre sont largement utilisées pour des mesures de contrôle de pH en recherche comme en production industrielle. Les électrodes de pH en verre sont constituées d'un couple d'électrode : une électrode en verre en contact avec la solution de mesure est associée à une

¹ Les matériaux cimentaires dits 'bas pH' ont été développés pour les applications de stockage géologique profond de déchets radioactifs. Ces formulations répondent à plusieurs critères : la solution interstitielle possède un pH proche de 11 après un an d'hydratation, l'échauffement due à l'hydratation du ciment est inférieur à 20°C, le retrait est modéré et la résistance mécanique à la compression est élevée.

électrode de référence dans un dispositif de mesure appelé 'électrode de pH combinée', ou plus généralement 'électrode de pH en verre'. Les électrodes en verre mesurent une différence de potentiel entre l'électrode de référence et l'électrode sensible aux variations de $a(H^+)$. Comme illustré en Figure I - 2, une électrode combinée est composée d'une membrane en verre de composition définie : pour les solutions de laboratoire standard cette membrane est composée de SiO_2 enrichi d'oxydes métalliques comme Na_2O et CaO [14]. L'ajout d'atomes d'oxygène non liés à des atomes de silicium dans la matrice SiO_2 permet d'obtenir des charges négatives grâce auxquelles les ions H_3O^+ de la solution vont pouvoir diffuser. Cette hydratation de la membrane en verre se produit uniquement en surface de l'électrode en verre selon l'équilibre :



Une différence de potentiel ΔE_m entre la surface de la membrane en verre et l'intérieur du verre non hydraté est créée. Cette électrode en verre est remplie d'une solution interne standard d'activité $a(H^+)$ connue, typiquement une solution tampon à pH = 7, en contact direct avec l'électrode interne qui peut être un fil d'argent recouvert d'un sel $AgCl$ par exemple. L'électrode de référence peut également correspondre à une électrode $Ag/AgCl$ en contact avec une solution saturée de KCl par exemple, dont le potentiel reste constant. La présence d'un diaphragme entre la solution sondée et la solution saturée en KCl permet d'isoler l'électrode de référence de la solution sondée, sans rompre la connexion électrique entre les deux solutions : une différence de potentiel ΔE_{ij} y est mesurable.

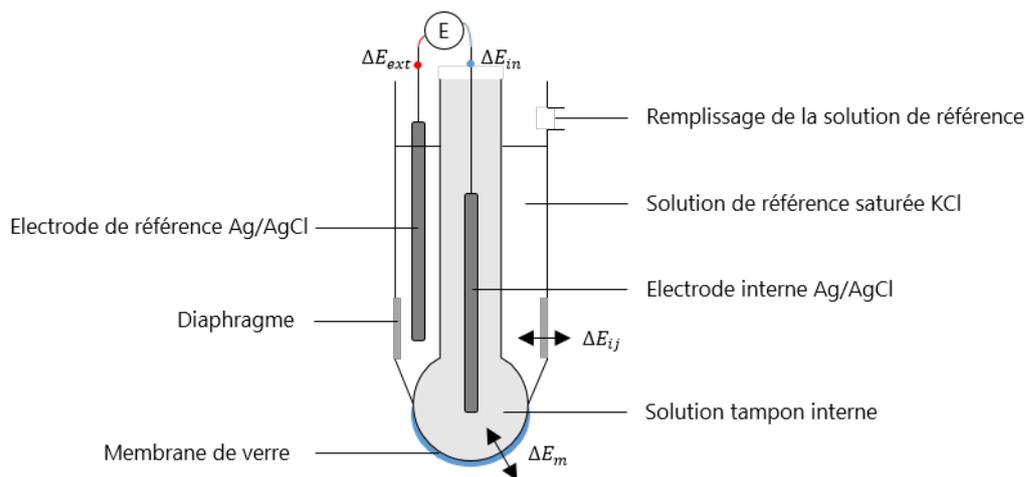


Figure I - 2 : Représentation schématique d'une électrode combinée de pH en verre: l'électrode de référence $Ag/AgCl$ est immergée dans une solution saturée de KCl et est associée à une électrode en verre

Une électrode de verre correspond alors à une cellule électrochimique notée comme :



avec une double barre verticale symbolisant une jonction électrolytique par opposition aux barres verticales simples symbolisant une interface entre deux phases. La différence de potentiel mesurée entre l'électrode de référence et l'électrode de verre peut être définie par l'équation suivante, d'après les notations indiquées sur la Figure I - 2 [14] :

$$E = E_{in} - \Delta E_{em} - \Delta E_{ij} - E_{ext} \quad \text{Eq. I - 5}$$

avec E_{in} et E_{ext} les potentiels des électrodes interne et externe, ΔE_{em} la différence de potentiel de part et d'autre de la membrane en verre et ΔE_{ij} la différence de potentiel de part et d'autre du diaphragme

(Figure I - 2). L'équation de Nernst pour une solution diluée dans les conditions standards permet alors d'écrire ΔE_{em} en fonction du rapport logarithmique des concentrations en ions H^+ :

$$\Delta E_{em} = 2,303 \times \frac{RT}{F} \times \log \frac{[H^+]_{in}}{[H^+]_{ext}} \quad \text{Eq. I - 6}$$

avec R la constante des gaz parfaits, T la température, F la constante de Faraday, $[H^+]_{in}$ et $[H^+]_{ext}$ les concentrations en ions dans la solution tampon interne et dans la solution sondée respectivement. Or, $[H^+]_{in}$, E_{in} , E_{ext} , et E_{ij} étant constantes, les deux équations précédentes permettent de prouver que la différence de potentiel mesurée est une fonction linéaire du pH de la solution sondée $pH_s = -\log[H^+]_s$, avec E' une constante :

$$E = E' - 2,303 \times \frac{RT}{F} \times pH_s \quad \text{Eq. I - 7}$$

D'après cette équation, une calibration en deux points est suffisante et permet de déduire la droite de calibration de l'électrode en verre. Une calibration en deux points permet de déterminer la pente de la droite de calibration k' (à comparer avec le facteur théorique de Nernst) et le paramètre pH_0 correspondant à la valeur de pH pour laquelle la différence de potentiel lue est nulle. Les relations suivantes sont alors vérifiées [15]:

$$k' = \frac{E_1 - E_2}{pH(S_1) - pH(S_2)} \quad \text{Eq. I - 8}$$

avec E_1 , E_2 les différences de potentiels mesurés dans les solutions de calibration 1 et 2 respectivement, $pH(S_1)$, $pH(S_2)$ les valeurs de pH des solutions de calibration 1 et 2 respectivement, et :

$$pH_0 = pH \times \left(S_1 + E_1 \times \left| \frac{pH(S_1) - pH(S_2)}{E_1 - E_2} \right| \right) \quad \text{Eq. I - 9}$$

Cependant une calibration en deux points peut entraîner une incertitude de détermination sur k' comme illustré par la Figure I - 3 (adaptée de [15]) : augmenter le nombre de points de calibration permet d'obtenir un facteur d'efficacité électromotrice $\beta = \frac{k'}{k}$ proche de 1, témoignant d'une électrode pertinente.

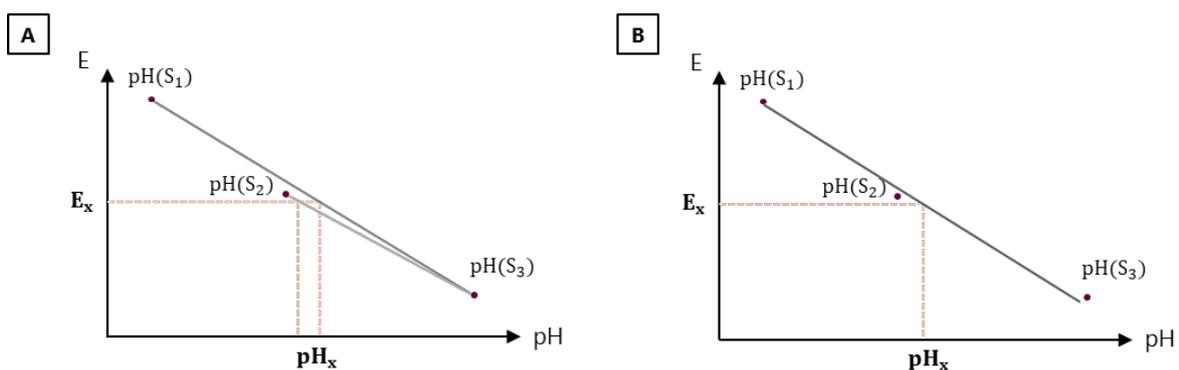


Figure I - 3 : Comparaison des incertitudes liées à une calibration en deux points (gauche) et une calibration en trois points (droite) par une électrode de pH potentiométrique

Les électrodes de pH en verre présentent cependant quelques limites :

- **ERREUR ALCALINE** : les électrodes en verre présenteront invariablement une erreur alcaline pour les solutions concentrées. En effet la sélectivité de la membrane en verre vis-à-vis des ions H_3O^+ n'est pas absolue, par conséquent les ions de taille comparable K^+ ou Na^+ généralement

présents dans les solutions alcalines occuperont quelques sites $\text{Si} - \text{O}^-$ de la membrane et modifieront le potentiel en surface de l'électrode en verre. Typiquement, lorsque la solution sondée possède un $\text{pH} \sim 11$, l'erreur alcaline doit être considérée [14]. L'erreur alcaline peut être limitée grâce à l'utilisation d'une électrode de pH alcaline, pour laquelle la formulation de la membrane en verre est modifiée, par exemple la composition 22% Na_2O , 6% CaO , 72% SiO_2 en pourcentage molaire permet d'améliorer la sélectivité vis-à-vis des ions H^+ [16]. Au-delà de la sélectivité de l'électrode, sa durabilité et son hydrophilicité restent des critères clés lors de la formulation du verre hydraté.

- **POLLUTION DE LA MEMBRANE EN VERRE** : les solutions contenant de nombreuses particules, des protéines, des tensio-actifs ou des métaux nobles conduisent à un dépôt sur la membrane, entraînant une modification de la différence de potentiel lue par le pH-mètre. Dans certains cas, un simple nettoyage de la membrane dans une solution acide entre chaque mesure permet de limiter l'incertitude liée à cette pollution.
- **INCOMPATIBILITÉ AVEC LES MILIEUX AGRESSIFS** : les électrodes en verre sont incompatibles avec les solutions contenant de l'acide fluorhydrique HF et leur utilisation prolongée dans des solutions hautement alcalines conduit à leur dégradation. De plus, les électrodes en verre ne sont pas résistantes aux pressions et aux températures élevées. Des formulations de verre spécifiques sont désormais commercialisées mais l'orientation vers différents outils de mesure reste à considérer en fonction de l'application visée.

ÉLECTRODES DE pH MÉTALLIQUES

Les électrodes de pH métalliques offrent une alternative lorsque l'utilisation d'électrodes en verre n'est pas envisageable. Leur utilisation correspond également à une mesure potentiométrique et plusieurs systèmes existent parmi lesquels l'électrode à hydrogène, l'électrode à quinquhydrone et l'électrode d'antimoine sont les plus utilisées. L'électrode à hydrogène seule peut servir d'électrode de référence pour l'élaboration de différentes électrodes combinées. Elle a été utilisée pour déterminer le pH de solutions depuis les années 20, avec un protocole optimisé de détermination du pH à l'aide d'une électrode à hydrogène publié par Harry M. Jones en 1919 par exemple [17]. L'électrode à hydrogène est obtenue par électrodéposition d'une grille en noir de platine sur un fil ou une feuille de platine. Une saturation en H_2 par adsorption des molécules en surface du noir de platine est assurée par un barbotage continu de H_2 dans la solution acide entourant l'électrode (solution avec une concentration $[\text{H}_3\text{O}^+] = 1\text{M}$) [18]. Les réactions électrochimiques suivantes se produisent alors au niveau de l'électrode à hydrogène :



Le potentiel au niveau de l'électrode à hydrogène est déterminé par l'équation de Nernst, avec P_{H_2} la pression partielle en H_2 :

$$E_{\text{H}^+/\text{H}_2} = E_{\text{H}^+/\text{H}_2}^\circ + \frac{RT}{nF} \times \log \left(\frac{a_{\text{H}^+}}{P_{\text{H}_2}} \right) \quad \text{Eq. I - 12}$$

Lorsque $P_{\text{H}_2} = 1\text{atm}$, $a_{\text{H}^+} = 1$ et $E_{\text{H}^+/\text{H}_2} = 0$ par définition, l'Eq. I - 12 peut être exprimée directement en fonction du pH de la solution :

$$E_{\text{H}^+/\text{H}_2} = 0,059 \times \log(a_{\text{H}^+}) = -0,059 \times \text{pH} \quad \text{Eq. I - 13}$$

Le système composé d'une électrode à hydrogène associée à une électrode de référence de type Ag-AgCl permet de mesurer le pH d'une solution : celui-ci est proportionnel à la différence de potentiel

mesurée entre les deux électrodes d'après l'équation de Nernst. Nécessitant l'utilisation de dihydrogène H₂ pur, l'emploi d'une électrode à hydrogène reste limitée à des opérations de calibration et son usage constitue une méthode de référence grâce à la reproductibilité des mesures et un faible offset de tension [18].

L'électrode à quinhydrone a été développée comme alternative à l'électrode à hydrogène dont l'utilisation était complexe. Historiquement, elle a été utilisée pour mesurer le pH de solution faiblement acides contenant des protéines et des matières grasses, comme les produits laitiers par exemple [19]. L'électrode à quinhydrone consiste en un fil de platine devant être immergé dans la solution de mesure. La solution aqueuse est saturée en quinhydrone qui se décompose en hydroquinone et benzoquinone selon la réaction décrite en Figure I - 4. La solution sondée contient alors un mélange équimolaire d'hydroquinone (HQ) et benzoquinone (BQ) et l'équation de Nernst s'écrit alors :

$$E = E^{\circ} + \frac{RT}{2F} \times \left(\log \left(\frac{a_{BQ}}{a_{HQ}} \right) + \log (a_{H^+}^2) \right) \quad \text{Eq. I - 14}$$

Pour une solution de (HQ) et (BQ) équimolaire, le potentiel mesuré entre l'électrode de quinhydrone et une électrode de référence dépend alors de l'activité des ions H⁺ en solution et permet d'en déduire le pH [20]. La quinhydrone pouvant être oxydée ou réduite en solution, l'utilisation de l'électrode est limitée aux solutions faiblement acides ne contenant pas d'agent oxydants ou réducteurs. De plus, pour un pH > 8, l'équilibre définissant la mesure du pH (Eq. I - 15) est perturbé et l'utilisation de l'électrode à quinhydrone n'est plus recommandée.

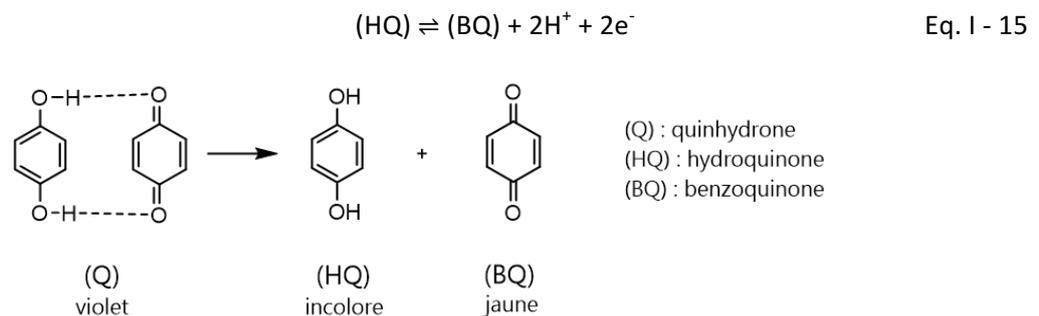
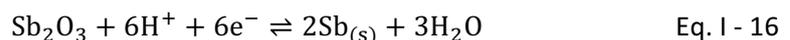


Figure I - 4 : Décomposition de la quinhydrone en hydroquinone et benzoquinone dans une solution aqueuse

L'électrode à antimoine est largement décrite dans la littérature pour son utilisation dans la gamme pH = 3-11 [20]. Elle est constituée d'un fil d'antimoine poli plongé dans la solution dont le pH doit être déterminé, et son association à une électrode de référence permet de mesurer la différence de potentiel entre les électrodes et d'en déduire le pH après application de l'équation de Nernst. La réaction de l'antimoine avec une solution aqueuse dépend de la concentration en ions H₃O⁺ et est décrite par la réaction suivante :



Cependant, une incertitude liée au degré de polissage du fil en antimoine restreint son utilisation à des mesures peu précises. Elle constitue la méthode de choix en industrie pour une détermination non précise dans des solutions contenant de l'acide fluorhydrique en raison de sa compatibilité chimique avec ce dernier, sa facilité d'utilisation et sa miniaturisation [21].

CAPTEURS DE pH BASÉS SUR UN SEMI-CONDUCTEUR

Les capteurs de pH ISFET (Ion-Sensitive Field-Effect Transistor) ont été développés pour les milieux non compatibles avec les électrodes de pH en verre. Ils se basent sur la technologie MOSFET (Metal Oxide Field-Effect Transistor) utilisée en électronique. L'architecture d'un capteur de pH ISFET est comparable à l'architecture d'un dispositif MOSFET (Figure I - 5 adaptée de [14]). Le principe d'un capteur ISFET repose sur le remplacement de la grille habituellement retrouvée dans les dispositifs MOSFETs par une électrode de référence miniaturisée. La solution dont le pH doit être déterminé est en contact avec cette électrode de référence et l'oxyde métallique isolant (par exemple SiO_2 , Al_2O_3 ou Ta_2O_5) dont le potentiel dépend de l'activité des ions H^+ en solution. De manière comparable au fonctionnement d'un dispositif MOSFET, l'application d'une tension de grille V_G induit une tension de drain V_D . Par conséquent, dans le cas des capteurs de pH, le courant de drain I_D sera fonction de l'activité des ions H^+ en solution, et donc du pH de la solution étudiée. La miniaturisation des capteurs ISFET est un domaine en plein essor. Cui et al. ont par exemple développé un nanofil en silicium dopé en bore et greffé avec un groupement 3-aminopropyltri-ethoxysilane[22]. Le nanofil présente des groupements $-\text{NH}_2$ et $-\text{SiOH}$ terminaux. La déprotonation des groupements $-\text{SiOH}$ en $-\text{SiO}^-$ conduit à l'augmentation de la conductance du nanofil de type p , et inversement la protonation des groupements $-\text{NH}_2$ en $-\text{NH}_3^+$ conduit à une diminution de la conductance. La conductance du nanofil est alors directement liée au pH de la solution et cette propriété est exploitée pour développer un capteur de pH ISFET miniaturisé pour une gamme de pH = 2-9. Les auteurs suggèrent une utilisation dans le domaine de la biologie et des diagnostics in vivo. A cette possibilité de miniaturisation s'ajoutent les avantages d'un coût de production réduit par rapport aux électrodes en verre et un temps de réponse court de quelques secondes. MICROSENS a par exemple développé une électrode de pH ISFET 'MSFET 3330 pH-ISFET sensor' adaptée à la gamme de pH = 1-12 et cite un temps de réponse inférieur à la seconde, une sensibilité de 50 mV/pH. Des désavantages liés à l'utilisation de capteurs ISFET sont tout de même cités, notamment une dérive de la réponse du composant conduisant à une sensibilité dégradée au cours du temps[23]. De plus, les oxydes métalliques généralement utilisés pour le développement des capteurs ISFET ne suivent pas la loi de Nernst vis-à-vis des protons H_3O^+ , ce qui résulte en une sensibilité faible du capteur : le développement d'oxydes métalliques spécifiques pour l'application, de type $\text{Si}_3\text{N}_4\text{O}_x$ ou Ta_2O_5 , est alors nécessaire pour se rapprocher d'un comportement suivant la loi de Nernst [14].

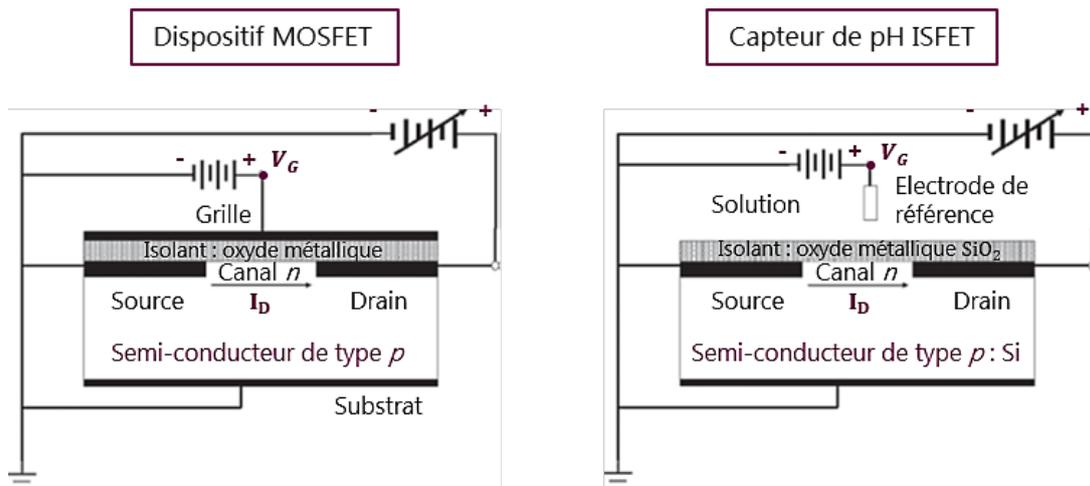


Figure I - 5 : Comparaison des architectures d'un composant MOSFET et d'un capteur de pH ISFET en SiO_2

I.2.b. Méthodes optiques

MESURE DE L'ABSORBANCE OU DE LA RÉFLECTANCE

L'utilisation d'espèces chimiques dont l'absorbance varie en fonction du pH correspond à la première méthode optique développée (voir III.1. pour la définition de la notion d'absorbance). En effet, la première utilisation connue du litmus, une solution fermentée extraite de lichens, date du XVI^{ème} siècle et permettait de tester l'acidité de différents milieux[24]. Le 7-hydroxyphenoxazone composant le litmus présente une couleur rouge lorsque le pH est inférieur à 4,5 et une couleur bleue lorsque le pH est supérieur à 8,3 en raison de la présence d'un hydroxybenzène associé à l'oxazine (Figure I - 6). Ainsi, l'une des premières méthodes optiques de mesure du pH était basée sur l'adsorption du litmus sur des bandelettes de papier afin de constituer un papier pH.

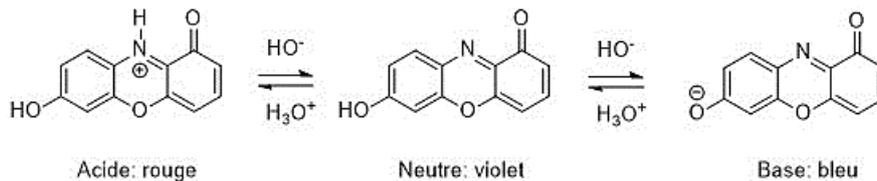


Figure I - 6 : Formes acide, neutre et basique du 7-hydroxyphenoxazone ou litmus et couleurs correspondantes

Plus généralement, les indicateurs colorés de pH sont des composés halochromiques permettant d'évaluer le pH grâce à un changement de couleur. Ce changement de couleur résulte de leur modification de structure due à leur protonation/déprotonation, et conduit alors à une modification de leur spectre d'absorption. Les premiers indicateurs colorés étaient des espèces naturelles extraites de plantes mais des composés synthétiques plus stables sont généralement utilisés de nos jours [25]. Ils sont commercialisés sous forme de solutions pouvant être additionnés à une solution dont le pH doit être déterminé, ou de papier pH consistant en une série d'indicateurs colorés greffée sur une bandelette de papier. Les indicateurs colorés correspondent à des acides ou des bases faibles se dissociant dans une solution aqueuse, dont la dissociation entraîne un changement de couleur. Pour un indicateur coloré de pH correspondant à un acide faible noté HA, la réaction de dissociation s'écrit :



avec A^- la base conjuguée de l'acide faible HA. La constante de dissociation est définie par :

$$K_a = \frac{[A^-] \times [H^+]}{[HA]} \quad \text{Eq. I - 18}$$

L'équation d'Henderson-Hasselback permet alors de relier le pH de la solution au ratio des concentrations entre les espèces HA et A^- , avec la notation :

$$pK_a = -\log(K_a) \quad \text{Eq. I - 19}$$

$$pH = pK_a + \log \frac{[A^-]}{[HA]} \quad \text{Eq. I - 20}$$

Pour le cas de cet acide faible, trois situations peuvent se présenter :

- pH < pKa : alors $[HA] > [A^-]$ et la couleur de l'espèce acide est perçue
- pH = pKa : $[HA] = [A^-]$, les concentrations des espèces acide et basique sont égales et la zone de virage de l'indicateur est atteinte. La couleur perçue dans la zone de virage est appelée teinte sensible
- pH > pKa : alors $[A^-] > [HA]$ et la couleur de l'espèce basique est perçue.

Un indicateur coloré donné est destiné à une gamme de pH déterminée par son pKa : cette gamme de pH correspond à l'intervalle $[pK_a - 1; pK_a + 1]$ [25]. Les indicateurs colorés ne peuvent pas être utilisés pour des solutions elles-mêmes colorées ou troubles, pour lesquelles la lecture du virage de pH serait perturbée.

MESURE DE LA LUMINESCENCE

Le terme 'luminescence' regroupe l'ensemble des phénomènes d'émission de photons résultant d'une excitation électrique (électroluminescence), chimique (chimiluminescence), enzymatique (bioluminescence), thermique (thermoluminescence ou cryoluminescence), mécanique (mécaluminescence), par irradiation de rayons X (radioluminescence) ou par absorption de photons (photoluminescence). La photoluminescence peut être un phénomène photophysique lent ou rapide ; on parle de phosphorescence et de fluorescence respectivement. Les caractéristiques de ces derniers phénomènes photophysiques sont développés en partie III.

La phosphorescence et la fluorescence de composés organiques et inorganiques ont été exploitées afin de développer des méthodes de mesure du pH, notamment pour la mesure du pH sanguin ou le suivi de pH de bioprocédés[24]. Un effort de recherche et développement conséquent et croissant est fourni pour le développement de capteurs optiques de pH basés sur la fluorescence durant la dernière décennie (Figure I - 7).

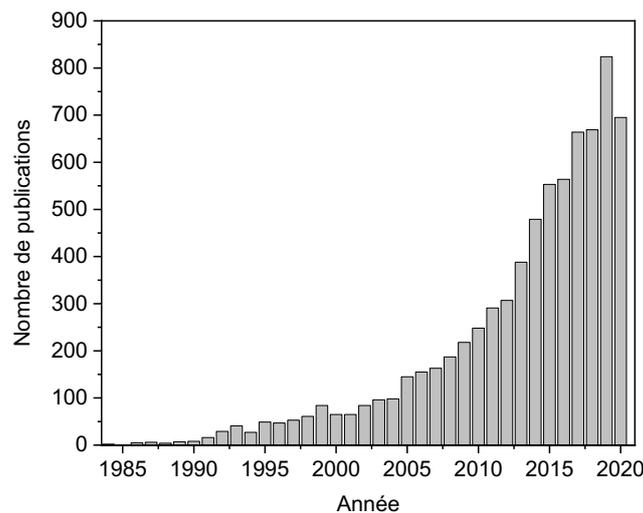


Figure I - 7 : Nombre de publications décrivant le développement de capteurs optiques de pH basés sur la fluorescence (données extraites de Web of Science™)

II. Mesure du pH des matériaux cimentaires

La mesure du pH demeure d'un intérêt majeur dans le domaine des matériaux cimentaires. Durant la phase d'hydratation du ciment, caractérisée par la mise en contact du ciment avec l'eau, le pH reflète la cinétique des réactions chimiques entre les grains anhydres et l'eau, suivi de la formation des hydrates. Son suivi permettrait de mieux appréhender l'évolution de ces réactions durant les phases d'hydratation et de vieillissement du béton. Connaître l'évolution du pH durant une lixiviation du béton pourrait permettre de suivre la cinétique de dilution des ions présents dans le béton étudié, de suivre la vitesse de dégradation du béton ou l'augmentation de porosité, afin de confronter les données expérimentales acquises avec les modèles numériques proposés par Mainguy et al. [12] ou Carde et al. [13] par exemple. Le suivi du pH de bétons armés est un autre exemple : en effet un seuil de $\text{pH}=11,3\text{-}12,1$ en dessous duquel la corrosion de l'armature du béton armé débute a été défini par Liu et al. [26], le suivi du pH in situ permettrait alors de définir ce seuil de corrosion avec précision en fonction de la nature chimique du béton étudié et de son environnement physico-chimique.

II.1. Chimie des matériaux cimentaires : mécanismes et réactions

Bien que connus de l'Homme depuis l'époque romaine et ayant connu une industrialisation conduisant à leur utilisation largement répandue de nos jours, les matériaux cimentaires ne sont pas totalement appréhendés, notamment d'un point de vue physico-chimique. En effet, en raison de la nature interdépendante et complexe des phénomènes physico-chimiques enclenchés par l'hydratation du ciment, la résolution des mécanismes individuels et de leur cinétique est rendue difficile.

II.1.a. Notation cimentaire ou CCN (Cement Chemistry Notation)

Une nomenclature spécifique au domaine des matériaux cimentaires est employée : elle consiste à abrégé chaque oxyde par son initiale afin d'alléger la lecture. Les anhydres et hydrates sont alors simplement écrits par association des notations des oxydes correspondants. Le Tableau I - 1 présente les notations de quelques oxydes communs, tandis que le Tableau I - 2 présente celles des principales phases minérales anhydres composant le ciment.

Oxydes	Notation CCN	Appellation
H_2O	H	Eau
CaO	C	Oxyde de calcium ou chaux vive
SiO_2	S	Silice
Al_2O_3	A	Alumine
Fe_2O_3	F	Oxyde de fer ou hématite
MgO	M	Oxyde de magnésium ou périclase
CO_2	$\bar{\text{C}}$	Dioxyde de carbone

Tableau I - 1 : Principaux oxydes composant le ciment - Notations cimentaires et appellations correspondantes

Phase minérale anhydre	Formule chimique	Notation CCN	Appellation
Silicate tricalcique	$3\text{CaO}\cdot\text{SiO}_2$	C_3S	Alite
Silicate de dicalcium	$2\text{CaO}\cdot\text{SiO}_2$	C_2S	Bélite
Aluminate de tricalcium	$3\text{CaO}\cdot\text{Al}_2\text{O}_3$	C_3A	Célite
Aluminoferrite tétracalcique	$4\text{CaO}\cdot\text{Al}_2\text{O}_3\cdot\text{Fe}_2\text{O}_3$	C_4AF	Ferrite

Tableau I - 2 : Principales phases minérales composant le ciment, formules chimiques, notations cimentaires et appellations correspondantes

II.1.b. Ciment et matériaux cimentaires

La norme NF EN 197-1 définit le mot 'ciment' comme « un liant hydraulique, c'est-à-dire un matériau minéral finement moulu qui, gâché avec de l'eau, forme une pâte qui fait prise et durcit par suite de réactions et de processus d'hydratation et qui, après durcissement conserve sa résistance et sa stabilité, même sous l'eau ». Les ciments sont généralement obtenus par la combinaison de silice SiO_2 , de chaux CaO , d'alumine Al_2O_3 et d'oxyde de fer Fe_2O_3 extraits de roches calcaires et d'argiles. Les roches calcaires et les argiles sont extraites de carrières, broyées, puis calcinées à haute température dans un four à ciment ($T \approx 1450^\circ\text{C}$) afin d'obtenir une décarbonatation totale des différents éléments [27] (Figure I - 8). Le produit extrait du four de calcination est appelé *clinker* et confère les propriétés hydrauliques au ciment.

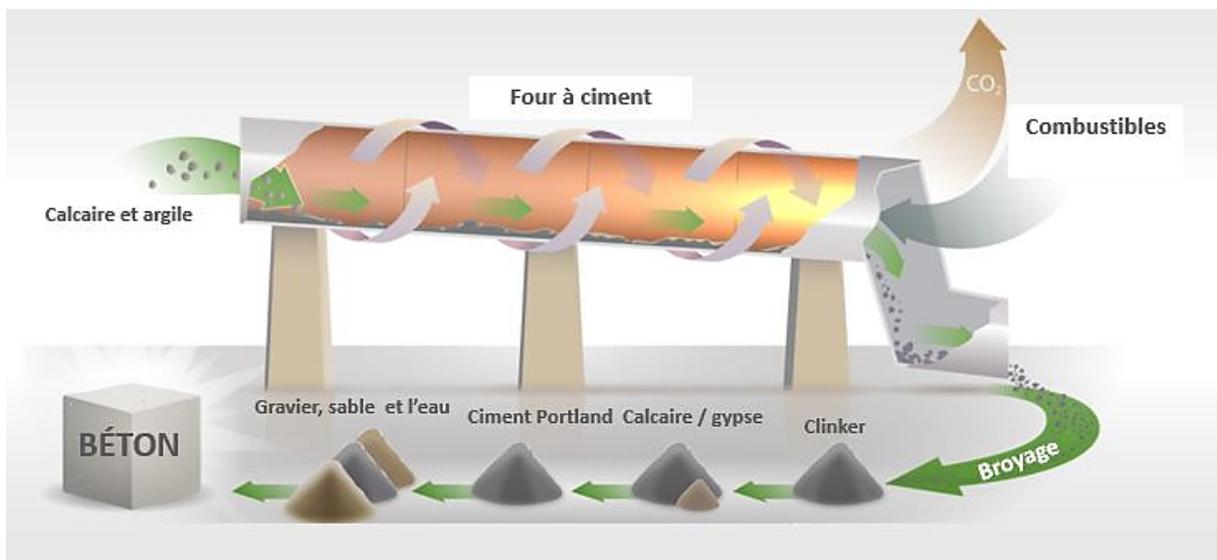


Figure I - 8 : Illustration du procédé de fabrication du ciment Portland (source : redécouvrirlebeton.ca)

De manière générale, quatre phases minérales sont retrouvées dans les ciments, celles-ci sont présentées dans le [27]. Les différents clinkers composant les ciments varient alors en fonction de leur composition : ainsi le clinker ordinaire ou clinker Portland est composé d'un rapport massique de 50-70% de C_3S , 15-30% de C_2S , 2-15% de C_3A et 5-15% de C_4AF , alors que le clinker Portland blanc contient moins de 1% de C_4AF [28]. Des composés réactifs additionnels peuvent être ajoutés afin de moduler les propriétés hydrauliques ou pouzzolaniques : ainsi l'ajout de laitier de haut fourneau modifie les propriétés hydrauliques correspondant à la capacité d'un matériau à former un liant en présence d'eau et à durcir, alors que l'ajout de fumée de silice impact les propriétés pouzzolaniques correspondant à

la capacité d'un matériau à former un liant en se combinant à la chaux, en présence d'eau et à température ambiante. Des ajouts inertes dits fillers peuvent également être effectués : ceux-ci ne réagissent pas avec le clinker lors de son hydratation mais vont modifier les propriétés mécaniques du matériau cimentaire obtenu.

L'addition de sable, de gravier et d'eau dans le ciment permet d'obtenir un béton. Des adjuvants ou ajouts cimentaires peuvent également être incorporés afin de modifier la rhéologie du mélange ou de conférer des propriétés spécifiques au matériau.

II.2.c. Hydratation du ciment

L'hydratation du ciment est définie comme l'ensemble des réactions chimiques résultant du contact entre l'eau additionnée aux phases minérales composant le ciment. En d'autres termes, les quatre phases anhydres composant le ciment citées précédemment vont subir des réactions d'hydratation pouvant durer plusieurs mois en fonction de la composition minérale du ciment. Ces réactions conduisent à la formation d'une pâte de ciment composée de phases solides hydratées et d'une phase liquide alcaline piégée dans un réseau de capillaires et de pores. La microstructure de la pâte de ciment évolue en fonction de l'état d'avancement de l'hydratation du ciment et conduit à une diminution rapide de la porosité du matériau, comme modélisé par Zhu et al. dans le cas de particules non sphériques (Figure I - 9)[29].

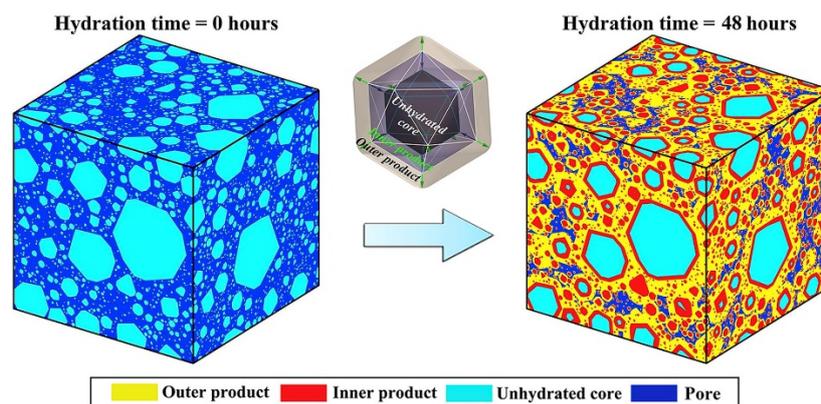


Figure I - 9 : Modélisation de la microstructure d'une pâte de ciment formée par des particules icosaédriques en début et après 48 h d'hydratation[29]

L'hydratation d'un ciment englobe en réalité un ensemble de mécanismes chimiques couplés pouvant se produire de manière simultanée ou successive. Six mécanismes peuvent être distingués :

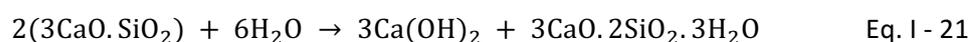
- La **dissolution** des phases anhydres du ciment : les molécules en surface d'un solide se désolidarisent de celui-ci en contact de l'eau ;
- La **diffusion** des différents éléments en surface des hydrates formés et dans l'eau porale de la pâte de ciment ;
- L'**adsorption** des ions en solution et des molécules au niveau des interfaces solide-liquide ;
- La **croissance** des phases cristallines et amorphes grâce à un mécanisme d'adsorption en surface des différentes phases solides ;
- La **nucléation** entraînant une précipitation des solides présents en solution mais également en surface des phases solides ;

- La **complexation** des ions en solution et des molécules adsorbées en surface des phases solides.

En raison de la nature couplée de ces mécanismes, il est difficile d'étudier leur cinétique de manière indépendante et de définir leurs caractéristiques dans le cas de l'hydratation d'un ciment donné. L'intérêt d'associer des mesures expérimentales pertinentes à des modèles numériques développés prend alors sens. Différentes études ont cependant permis de comprendre la majorité des mécanismes gouvernant l'hydratation des principales phases anhydres du ciment.

HYDRATATION DE LA PHASE C₃S

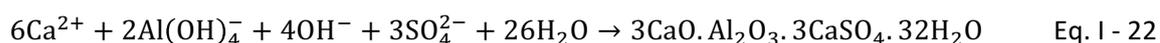
Dès les premières secondes de mise en contact de l'eau et du ciment, la phase C₃S réagit avec l'eau selon l'équation suivante pour conduire à la précipitation de portlandite Ca(OH)₂ et de silicates de calcium hydratés C-S-H [30] :



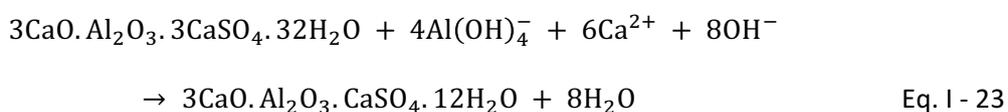
Dans le cas du ciment Portland, les phases C₃S et C₃A impactent majoritairement les premiers mécanismes de l'hydratation du ciment [30].

HYDRATATION DE LA PHASE C₃A

Contrairement à l'hydratation de la phase C₃S, l'hydratation de la phase C₃A est une réaction rapide. Les premiers hydrates formés sont des hydroxydes d'aluminium métastables faiblement cristallins qui précèdent la formation de C₃AH₆ stables. La rapidité de ce mécanisme n'est pas une caractéristique recherchée pour la prise du ciment, d'où l'ajout d'une source de sulfate de calcium permettant de contrôler la cinétique d'hydratation de la phase C₃A. Le sulfate de calcium additionné provient généralement du gypse CaSO₄·2H₂O. La réaction d'hydratation est alors perturbée et se produit en deux étapes : une réaction initiale rapide de dissolution du C₃A et du gypse conduit à la formation de cristaux d'ettringite² C₃A·3CaSO₄·32H₂O jusqu'à la consommation totale du sulfate de calcium ajouté, selon l'équation suivante.



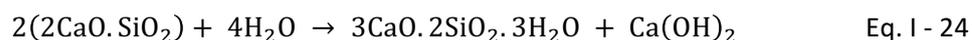
Une seconde étape consiste en la dissolution de l'ettringite en raison de la sous-saturation de la solution interstielle provoquée par la consommation totale du gypse. L'ettringite est remplacée par le monosulfoaluminate de calcium selon l'équation :



HYDRATATION DE LA PHASE C₂S

L'hydratation de la phase C₂S conduit également à la précipitation de portlandite, mais avec une cinétique plus lente que celle de la phase C₃S :

² L'ettringite est une espèce minérale se présentant sous forme d'aiguilles ou d'oursins et dont la précipitation peut conduire à un gonflement et une fissuration du béton.



HYDRATATION DE LA PHASE C₄AF

La réaction d'hydratation de la phase C₄AF en présence de gypse est comparable à celle de la phase C₃A. De l'ettringite ferrifère est formée selon un long mécanisme pouvant durer plusieurs années, selon l'équation :



Bien que la majorité des mécanismes d'hydratation soient appréhendés, Bullard et al. mettent en évidence plusieurs lacunes concernant les spécificités physico-chimiques de ces mécanismes d'hydratation [30]. Au-delà d'un enrichissement de la théorie concernant les phénomènes d'hydratation du ciment, l'objectif d'une meilleure compréhension de ces phénomènes est multiple puisqu'elle devrait permettre d'améliorer la formulation de ciments, d'obtenir des structures en matériaux cimentaires maîtrisées et de prévoir le comportement de matériaux cimentaires dès leur plus jeune âge. Il est alors essentiel de comprendre les différentes cinétiques des mécanismes d'hydratation en terme de constantes de vitesse des réactions et de réactions limitantes, en présence des différents ajouts effectués dans les formulations de ciments de plus en plus complexes. Une meilleure compréhension de cette cinétique d'hydratation permettrait alors une meilleure appréhension de la dépendance entre la cinétique d'hydratation et la morphologie des hydrates formés, en tenant compte des facteurs tels que la composition chimique et la température. À ces problématiques s'ajoute le questionnement nous concernant plus directement, à savoir l'évolution chimique de l'eau interstitielle des matériaux cimentaires. L'évolution de la composition chimique de cette eau interstitielle a intéressée plusieurs études et certaines méthodes décrites par la suite ont permis d'identifier partiellement cette composition chimique. Cependant, un aspect essentiel n'a à ce jour pas été suffisamment approfondi : l'évolution du pH de cette eau interstitielle, qui reflète pourtant directement la composition chimique de certains hydrates et qui peut être mise en relation avec les propriétés mécaniques des matériaux cimentaires.

II.2.d. Eau porale des matériaux cimentaires : rôle, évolution chimique et pH

La solution interstitielle piégée dans le réseau formé par les phases solides d'un matériau cimentaire est en équilibre avec ces phases solides. L'eau ajoutée au ciment est progressivement enrichie en ions lors de la dissolution des phases anhydres, son évolution chimique reflète donc directement l'évolution physico-chimique du matériau à tout moment. L'ensemble de la solution interstitielle n'est pas directement accessible car elle se présente sous trois formes :

- Solution interstitielle **libre** : il s'agit de la solution piégée dans les pores du matériaux cimentaire et retenue par des forces capillaires
- Solution interstitielle **liée** : il s'agit de la solution incorporée dans les hydrates lors de leur formation
- Solution interstitielle **adsorbée** : il s'agit de la solution adsorbée en surface des minéraux et retenue par des forces type forces de Van der Waals.

La composition ionique de la solution interstitielle est nécessairement dépendante de la composition du ciment sélectionné, mais des tendances sont vérifiées pour l'ensemble des ciments. La solution porale évolue en fonction de l'âge du matériau cimentaire. Durant une première phase, la composition ionique est largement dominée par les ions hautement solubles Na⁺ et K⁺, ne précipitant pas par association aux hydrates. Leurs concentrations ioniques largement supérieures à celle des autres ions

ne reflète donc pas un équilibre chimique avec les hydrates. Afin de préserver l'électroneutralité de la solution interstitielle, les phases solides relarguent massivement des anions OH^- : une valeur élevée de $\text{pH} \approx 13$ est alors attendue durant cette première phase. La seconde phase est gouvernée par la dissolution de la portlandite ayant une action tampon et imposant un $\text{pH} = 12,45$. La dissolution complète de la portlandite enclenche la troisième phase : le pH décroît continuellement jusque $\text{pH} \approx 10,8$. Cette dernière étape est gouvernée par le rapport $\frac{C}{S}$ du matériau considéré [31]. La composition ionique de la solution interstitielle présente également des ions Ca^{2+} provenant de la portlandite, des ions aluminium, des ions sulfates SO_4^{2-} pouvant provenir de l'ettringite ou du monosulfoaluminate.

Plusieurs paramètres permettent de caractériser la solution interstitielle :

- La composition ionique présentant les concentrations des ions en solution et donc les réactions chimiques prenant place aux interfaces liquide-solide ;
- La force ionique gouvernant les mécanismes d'équilibre chimique entre les phases liquides et solides ;
- Le potentiel rédox E_h régissant l'état d'oxydation des éléments chimiques ;
- Le pH gouvernant l'hydrolyse des ions en solution et reflétant les équilibres chimiques entre les phases liquides et solides.

Une évolution générale du pH de l'eau interstitielle des matériaux cimentaires peut être prédite à partir des phases minérales présentes au cours des différentes étapes d'hydratation et de vieillissement du matériau (Figure I - 10[32]). Ainsi, pour le cas spécifique d'un matériau cimentaire subissant une carbonatation, on peut distinguer quatre phases d'évolution pour un matériau cimentaire :

- **Phase I** : l'hydratation des phases minérales anhydres constituant le ciment par l'eau additionnée conduit à la formation d'un matériau poreux. Cette hydratation rapide implique une dissolution des ions Na^+ et K^+ dans l'eau interstitielle, induisant un relargage d'ions HO^- afin de maintenir l'électroneutralité de la solution interstitielle. Ce relargage important d'ions HO^- implique un pH élevé proche de 13,5 ;
- **Phase II** : la phase minérale majoritaire d'un matériau cimentaire à un jeune âge est l'hydroxyde de calcium $\text{Ca}(\text{OH})_2$ également appelé portlandite. La portlandite possède une action tampon contre l'acidification du matériau cimentaire. En effet, l'hydratation de la portlandite libère des ions alcalins HO^- et tamponne le pH du matériau à une valeur $\text{pH} = 12,45$;
- **Phase III** : la consommation de la portlandite mène à la formation de silicate de calcium hydraté (CSH). Le pH diminue progressivement durant cette phase ;
- **Phase IV** : le pH de la solution interstitielle est en équilibre avec son environnement et les propriétés mécaniques du matériau cimentaire principalement constitué de calcite CaCO_3 sont dégradées.

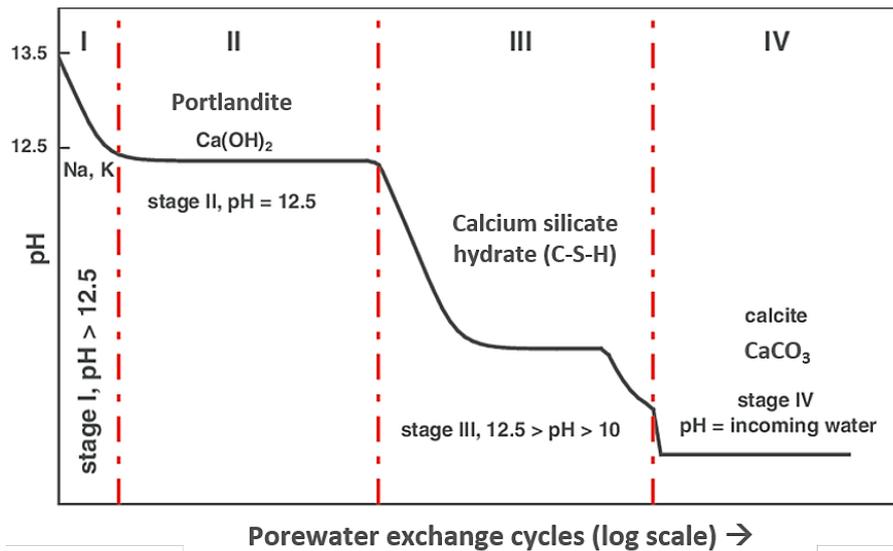


Figure I - 10 : Evolution générale du pH de l'eau interstitielle d'un matériau cimentaire au contact d'un environnement carbonaté, au cours des différentes phases d'hydratation et de vieillissement du matériau [32]

Un échantillon de béton peut présenter plusieurs gradients de pH en raison de son environnement. Par exemple pour un béton exposé à l'air ambiant, une carbonatation naturelle survient et est dirigée de la surface de l'échantillon directement exposé à son environnement, vers l'intérieur de l'échantillon. Ce gradient de pH croissant mis en évidence par Liu et al. pour le cas de plusieurs bétons armés par exemple, incite au développement d'une mesure de pH in situ localisée pour un échantillon de béton étudié [26]. La juste caractérisation de la solution interstitielle pour un échantillon de matériau cimentaire donné, dans un environnement étudié et à l'instant de l'étude, permet alors de suivre les réactions chimiques prenant place dans les matériaux cimentaires, les équilibres chimiques existant entre la solution interstitielle et les hydrates ainsi que la nature des phases minérales présentes. Plusieurs méthodes de caractérisation ont été développées pour atteindre cet objectif. Ces méthodes de caractérisation et les principaux résultats obtenus sont détaillés par la suite.

II.2. Évolution chimique probable des matériaux cimentaires dans un scénario de stockage géologique profond de déchets nucléaires

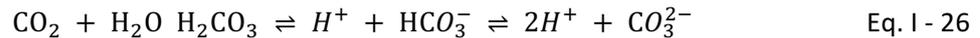
II.2.a. Matériaux cimentaires envisagés

Dans le cadre du stockage géologique profond, plusieurs matériaux cimentaires ont été sélectionnés en fonction de leurs propriétés et de leurs fonctions clés dans l'architecture du site de stockage. Deux matériaux cimentaires nous intéressent dans le cadre de notre étude : le béton CEM I et le béton bas pH. Le ciment Portland CEM I, dont la composition est régie par la norme NF EN 197-1, est composé d'un rapport massique d'au moins 95 % de clinker Portland. Une addition d'un maximum de 5 % de sulfate de calcium sous forme de gypse afin de régulariser la prise, et de fillers calcaires chimiquement quasi-inerte vis-à-vis du clinker Portland est autorisé. Le béton bas pH a spécifiquement été développé afin d'obtenir un pH réduit par rapport à un béton classique de type CEM I ainsi qu'une chaleur d'hydratation réduite. Afin de réduire l'alcalinité, la formulation d'un ciment bas pH nécessite une réduction de la concentration en calcium, ainsi qu'une dilution de la concentration en cations Na^+ et K^+ . Afin de réduire la chaleur d'hydratation, le ratio massique de clinker est réduit : seuls des ajouts n'impliquant pas une augmentation de l'alcalinité peuvent être intégrés à cette fin. Les composés

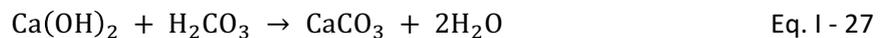
pouzzolaniques³ et hydrauliques⁴ permettent de remplacer une fraction du clinker sans augmenter l'alcalinité du matériau. Une valeur de pH = 11 est visée à terme pour un béton bas pH, plusieurs formulations permettent d'obtenir cette valeur cible. Par exemple, l'incorporation de 40% de fumée de silice⁵ à un clinker Portland permet d'obtenir un béton bas pH ayant un pH = 11 [31].

II.2.b. Carbonatation des matériaux cimentaires

La carbonatation des matériaux cimentaires se produit invariablement en raison de la présence de dioxyde de carbone CO₂ pouvant se dissoudre dans la solution interstitielle selon l'équation:



La dissolution du CO₂ dans la solution porale conduit alors à son acidification et entraîne la formation de phases carbonatées. L'ensemble de ces mécanismes de carbonatation sont ralentis par la présence d'espèces alcalines dans la solution porale. Le carbonate de calcium se forme et précipite par réaction entre la portlandite en phase de précipitation et le dioxyde de carbone dissout dans la solution porale, selon l'équation :



Les autres phases minérales se carbonatent également : un gel de silicium accompagné de carbonate de calcium précipité est formé par réaction entre les C-S-H et le CO₂ [33], tandis que la carbonatation de l'ettringite forme un gel alumineux accompagné de carbonate de calcium et de gypse[34]. Le CO₂ dissous possédant des propriétés acides, la carbonatation des matériaux cimentaires induit une diminution du pH de sa solution interstitielle. Pu et al. mettent en évidence une décroissance linéaire du pH principalement durant les 15 premiers jours d'une carbonatation accélérée dans un environnement avec 5% de CO₂ et 40% d'humidité relative, à 20°C pour divers échantillons de bétons composés de ciment Portland et de cendres volantes[35]. Les échantillons étudiés correspondent à des disques de 3 mm d'épaisseur et de 10 cm de diamètre. Le pH initial proche de 13 diminue linéairement jusque pH ≈ 7,5 - 8,5 en fonction des échantillons étudiés. Une corrélation quasi-linéaire est alors établie entre le pH de la solution interstitielle et le nombre de jours de carbonatation. Les échantillons étudiés sont considérés entièrement carbonatés lorsqu'une stabilisation du pH est observée. Pu et al. prouvent également que les bétons carbonatés composés d'une fraction massique de ciment élevé possèdent des pH supérieurs en raison de leur concentration supérieure en portlandite, agissant comme tampon contre la carbonatation.

II.2.c. Hydrolyse des matériaux cimentaires

Les interfaces matériaux cimentaires – matériaux argileux doivent également être considérés dans le cadre du projet Cigéo (Figure I - 11). Au niveau de l'interface matériaux cimentaires – roche argileuse datant du COX, le contact entre l'eau interstitielle de la roche argileuse possédant un pH neutre et les

³ Un matériau pouzzolanique possède la propriété de former un liant en se combinant à la chaux, en présence d'eau et à des températures ordinaires. Exemples : pouzzolanes volcaniques et cendres volantes silico-alumineuses provenant de la combustion de la houille.

⁴ Un matériau hydraulique possède la propriété de former un liant en se combinant à l'eau, à des températures ordinaires. Exemples : ciments et cendres volantes provenant de la combustion du lignite.

⁵ La fumée de silice est un déchet de l'industrie métallurgique du silicium ou d'alliages de silicium et se présente sous forme de nanosphères. La fumée de silice s'insère entre les particules de ciments et les agrégats en comblant la porosité, et possède des propriétés pouzzolaniques en se liant aux CH pour former des CSH.

structures en matériaux cimentaires va conduire à des réactions d'hydrolyse de ces derniers. Une comparaison des compositions chimiques des eaux interstitielles permet d'évaluer les perturbations chimiques à caractériser (Tableau I - 3) [11]. Un panache alcalin orienté des matériaux cimentaires vers la roche argileuse conduira à une lixiviation des matériaux cimentaires accompagnée d'une diminution du pH de l'eau porale et affectera nécessairement les propriétés mécaniques de deux matériaux. La concentration en ions carbonates étant plus élevée dans l'eau interstitielle de l'argile, une décalcification de la phase C-S-H pouvant conduire à la formation de silice amorphe est également à prendre en compte. La mesure *in situ* du pH des matériaux cimentaires soumis à des contraintes environnementales comparables, sur un temps long, permettrait de caractériser la cinétique et l'impact de ces réactions d'hydrolyse sur les propriétés mécaniques et de rétention des deux matériaux.

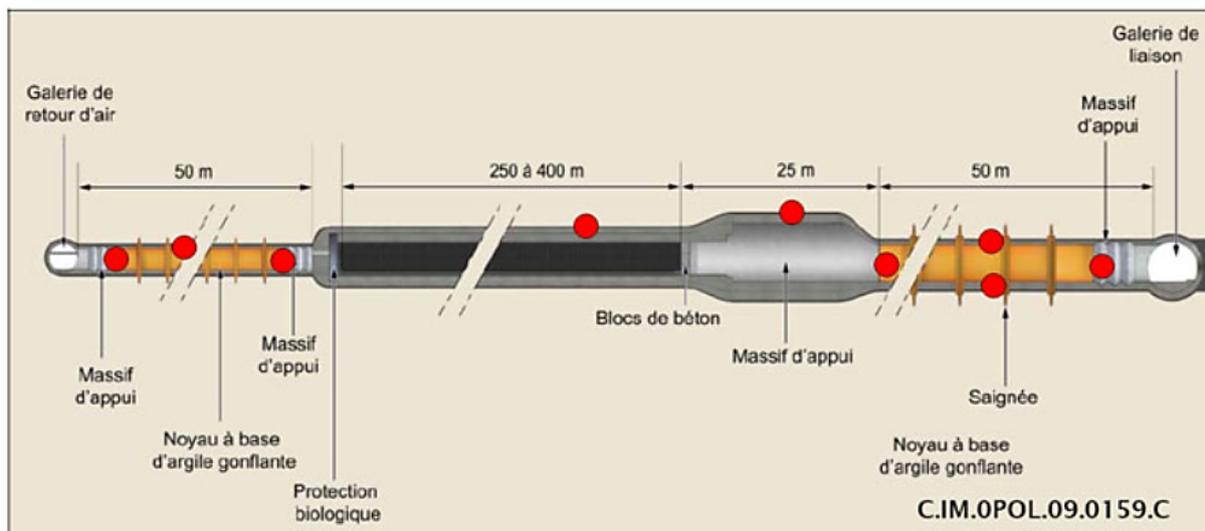


Figure I - 11 : Localisation des interfaces matériaux cimentaires – matériaux argileux envisagés au niveau des alvéoles de stockage de déchets MA-VL [36]

	pH	[Na ⁺]	[K ⁺]	[Ca ²⁺]	[Mg ²⁺]	[Sr ²⁺]	[Cl ⁻]	[S ²⁻]	Si	NH ₃
CEM I	13,6	50,4	474,2	1,6	-	-	0,6	6,7	-	-
Bas-pH	10,8	11,9	2,9	15,4	-	-	15,4	17	0,7	3,8
Argile COX	7,1	45,6	1,0	7,4	6,7	0,2	41,0	15,6	0,2	-

Tableau I - 3 : Composition chimique en mmol/L des eaux interstitielles d'un béton CEM I après 90 jours d'hydratation, d'un matériau cimentaire bas-pH après 330 jours d'hydratation et de l'argile datant du COX [11]

II.2.d. Perturbations magnésiennes et attaques sulfatiques

D'autres scénarios d'évolution des matériaux cimentaires dans le cadre du projet Cigéo sont à mettre en relation avec l'étude du pH de l'eau interstitielle. Ainsi, l'eau interstitielle de l'argile datant du COX étant riche en magnésium (Tableau I - 3), une précipitation de magnésium à l'interface matériaux cimentaires – argile a été mise en évidence [11, 37]. Cette perturbation magnésienne est caractérisée par la formation d'une phase riche en magnésium et en calcite à la surface des matériaux cimentaires, identifiée comme des phases M-C-S-H ou M-S-H associée à des C-S-H, pouvant limiter les échanges entre l'argile et le béton [11]. La formation des M-S-H déstabilise les gels C-S-H et peut conduire à la formation d'autres espèces minérales telles que la brucite dans le cas de concentrations élevées en magnésium. La stabilité à long terme de ces phases enrichies en magnésium constitue un sujet d'intérêt afin d'évaluer la sûreté du site de stockage, et comprendre quelles conditions physico-

chimiques (i.e. quelle gamme de pH, de température et de composition chimique) favorise leur formation constitue un axe de recherche à l'IRSN.

Enfin, les attaques sulfatiques internes et externes doivent être considérées afin de comprendre l'évolution des matériaux cimentaires dans un contexte de stockage géologique des déchets nucléaires. Ces attaques sulfatiques peuvent conduire à la formation de gypse et d'ettringite, associée à une détérioration chimio-mécanique en affectant la microstructure (porosité, microfissures) et les propriétés de transport. A terme, elles peuvent induire un gonflement du matériau, une fissuration et une dégradation des propriétés mécaniques. Comme les autres scénarios, les réactions sulfatiques sont multiparamétriques et dépendent directement de l'environnement (humidité, espèces chimiques présentes dans l'environnement et dans le matériau). Liu et al. démontrent par exemple l'influence du pH sur la formation de gypse dans le cas d'un mortier conçu avec un ratio ciment:sable égal à 1:2,75 et un ratio ciment Portland:eau égal à 0,65, en présence d'agrégats de quartz de taille 0,5-1 mm[38]. Le mortier est démoulé après 24h d'hydratation et immergé durant 28 jours dans de l'eau de chaux à 20°C avant de subir une attaque sulfatique à 25°C par addition de sulfate de sodium (3000 mg/L) et du gypse est formé lorsque le pH de la solution est inférieur à 12,6. La diminution du pH conduit à l'augmentation de la quantité et de la taille des cristaux de gypse, accompagné par une nette dégradation des propriétés mécaniques.

II.3. Mesure du pH de matériaux cimentaires

II.3.a. Mesure du pH de matériaux cimentaires au jeune âge

Les méthodes de mesure du pH du béton durant sa première phase d'hydratation, c'est-à-dire lors des premières heures suivant la mise en contact du ciment avec l'eau, diffèrent des méthodes utilisées pour les bétons âgés en raison de l'état physique de l'échantillon étudié. Une méthode répandue consiste à évaluer le pH du béton à un jeune âge à l'aide de papier-pH mais conduit à une approximation grossière du pH. Une seconde méthode décrite consiste à immerger une électrode en verre alcaline destinée à réduire l'erreur alcaline dans l'échantillon étudié, mais cet usage est déconseillé en raison de la fragilité de l'électrode et de la dégradation inévitable du fritté qui en résulte[39]. Néanmoins, une méthode indirecte de mesure du pH dans le béton à un jeune âge est l'extraction de l'eau porale de la pâte de ciment. Cette extraction peut être effectuée par filtration sous pression[40], filtration sous vide[41] ou par centrifugation[42]. Le pH de l'eau porale extraite peut alors être mesuré avec une électrode en verre ou par dosage des ions hydroxydes en présence d'acide HNO_3 avec la phénophtaléine comme indicateur coloré par exemple[43].

II.3.b. Mesure du pH de matériaux cimentaires durant la phase d'hydratation

Plusieurs méthodes permettant de mesurer le pH du béton ont été décrites, les méthodes conventionnelles sont les suivantes : Pore Water Extraction (PWE), In Situ Leaching (ISL) et Ex Situ Leaching (ESL). Ces méthodes consistent en des analyses destructives de l'eau porale des matériaux étudiés, le développement de méthodes de mesure du pH non destructives relève alors d'un intérêt majeur. Parmi les méthodes innovantes, le développement d'une électrode potentiométrique basée sur un couple métal/oxyde métallique et le développement de capteurs EIS (Electrolyte-Insulator-Semiconductor) constituent des méthodes en cours de développement. Les optodes de pH constitue la troisième option en cours de développement et correspond à la méthode explorée durant cette thèse.

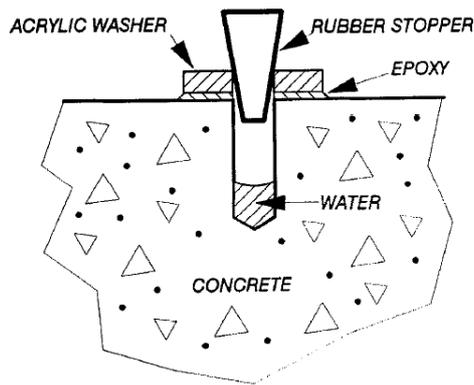


Figure I - 13 : Illustration de la méthode ISL (In Situ Leaching) permettant de mesurer le pH de l'eau porale de matériaux cimentaires[47]

MÉTHODE ESL (EX-SITU LEACHING)

L'ESL est une méthode plus rapide à mettre en place que l'ISL et ne nécessite pas une phase de pré-saturation en eau de l'échantillon. Li et al.[45] comparent les méthodes ESL et PWE : les deux méthodes sont appliqués sur les mêmes bétons et trois rapport e/c (rapport massique eau/ciment) de 0,37, 0,41 et 0,50 sont testés afin d'étudier la compatibilité de ces méthodes avec différentes formulations de béton. Pour la méthode ESL, les échantillons sont broyés puis pulvérisés, et la poudre obtenue est mise en suspension dans l'eau distillée. Il est démontré que pour un ratio massique poudre:eau de 1:1, un minimum de 3 jours de lixiviation est nécessaire avant de pouvoir mesurer le pH de la solution filtrée (Figure I - 14). Comme les méthodes décrites précédemment, il n'y a pas de protocole communément adopté et des variations de temps de lixiviation, de ratio poudre/eau, de température de l'eau distillée ou d'agitation de la suspension sont fréquentes entre les études. Ainsi, Alonso et al. recommandent de saturer l'échantillon en eau et de disperser le matériau broyé dans de l'eau distillée avec un ratio poudre/eau de 1:0,67[48]. La suspension est agitée pendant 30 s puis un délai de 24 h est respecté avant une autre période d'agitation de 30 s. De plus, ce protocole est mené en purgeant le récipient contenant la suspension avec du N_2 [48]. A l'inverse, Arya et Newman[49] n'utilisent pas de gaz permettant de minimiser la carbonatation liée au CO_2 , le béton est immergée durant 7 jours dans l'eau distillée avant son broyage, le ratio poudre/eau est égal à 1:2 et le temps de lixiviation est d'une heure.

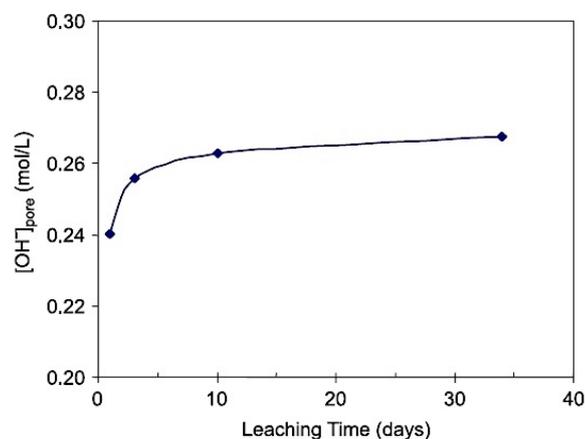


Figure I - 14 : Effet du temps de lixiviation sur la concentration en $[OH^-]$ d'un béton avec $w/c=0,50$, rapport massique poudre/eau=1[45]

DÉVELOPPEMENT D'UNE ÉLECTRODE POTENTIOMÉTRIQUE MÉTAL/OXYDE MÉTALLIQUE

Le piégeage d'une électrode de pH en verre dans un matériau cimentaire étant exclu en raison de sa fragilité, sa stabilité à long terme, et son erreur alcaline dans la gamme de pH considérée, le développement d'une électrode potentiométrique métallique spécifiquement développée pour une mesure du pH in situ est une approche à considérer. Les électrodes métal/oxyde métallique permettent de répondre à certaines contraintes soulevées par les matériaux cimentaires en raison de leur stabilité, robustesse, temps de réponse rapide et leur miniaturisation[50]. En effet, les réactions redox réversibles se produisant à l'interface métal – oxyde métallique permet de suivre le pH en solution grâce à une mesure potentiométrique. Parmi la multitude d'oxydes métalliques utilisés dont les oxydes de ruthénium, platine et palladium[51-52], l'oxyde d'iridium est le plus fréquemment utilisé pour le développement d'électrodes de pH innovantes. Ce choix est justifié par la stabilité de l'oxyde d'iridium sur une large gamme de pH et dans des conditions extrêmes telles que de températures élevées, des milieux agressifs et des pressions élevées. Les électrodes en iridium offrent également un temps de réponse court lié à une stabilisation rapide de l'électrode en contact avec l'environnement étudié[50].

La miniaturisation des électrodes potentiométriques basées sur des oxydes métalliques est un réel avantage. Les électrodes de pH peuvent être imprimées directement sur un substrat flexible comme décrit par Huang et al., afin de constituer un couple d'électrode de travail - électrode de référence souple avec une taille d'environ 4×2 cm² (Figure I - 15) [53]. Le substrat utilisé est un film de polyimide flexible sur lequel l'électrode de travail en oxyde d'iridium est déposée par un procédé sol-gel, et est associée à une électrode de référence AgCl déposée par des procédés de photolithographie classiques. La réponse théorique de l'électrode suit la loi de Nernst et est liée à son potentiel redox par l'équation :

$$E = E^0 - 2,303 \frac{RT}{F} \text{pH} = E^0 - 0,05916 \text{pH} \quad [53] \quad \text{Eq. I - 28}$$

Cette réponse est déterminée expérimentalement et les écarts par rapport à la réponse théorique sont attribuées à la variation de la stœchiométrie des oxydes d'iridium et de leur état d'oxydation (Figure I - 15). L'hypothèse d'échanges ioniques en surface de l'électrode micro ou nano- poreuse contenant des ions HO⁻ est également formulée. L'électrode ainsi développée a un temps de réponse rapide d'environ 2 secondes dans le sens de la déprotonation et la réversibilité est prouvée en solution (Figure I - 16).

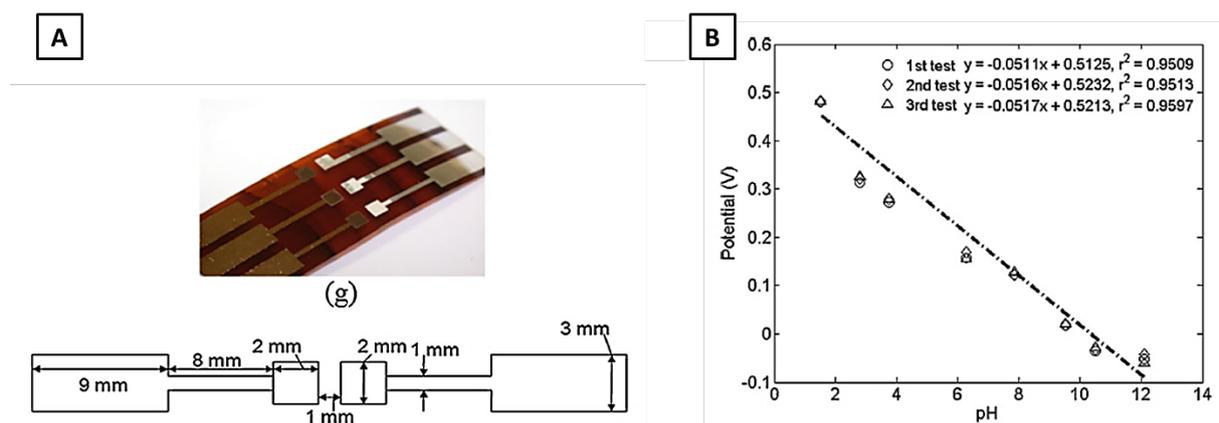


Figure I - 15 : A-Couple électrode de travail en oxyde d'iridium et électrode de référence en AgCl sur un substrat en polyimide, B -Réponse expérimentale du capteur en fonction du pH en solution [53]

Les avantages de l'électrode en oxyde d'iridium développée par Huang et al. sont le coût faible, la résistance et la flexibilité, associés à une taille réduite, un temps de réponse court, une sensibilité, réversibilité et sélectivité de l'électrode. Le système est testé en solution jusqu'à un pH = 13,1 mais la résistance de l'électrode aux pH élevés n'est pas connue.

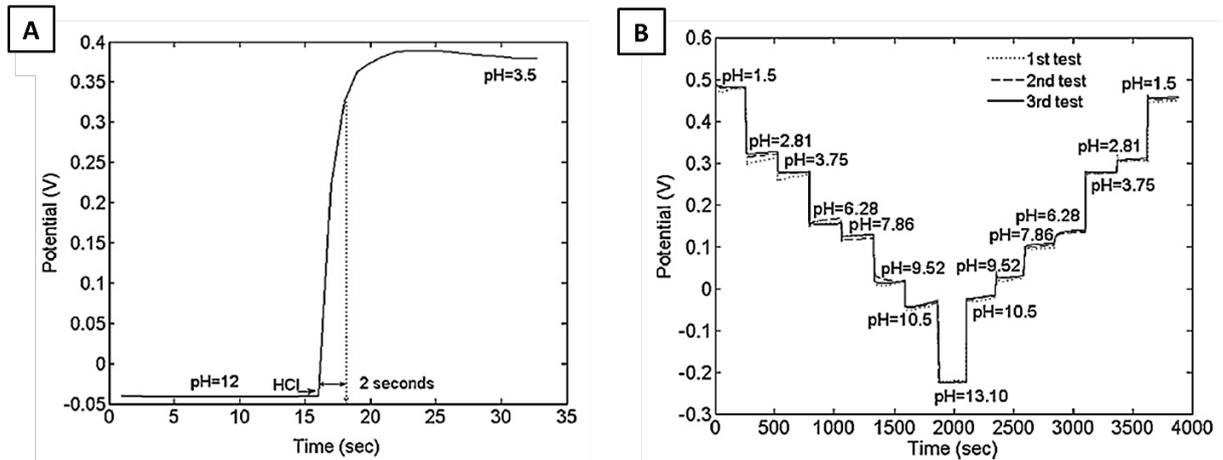


Figure I - 16 : A - Temps de réponse de l'électrode de pH développée par Huang et al. et B - preuve de la réversibilité [53]

Du et al. réussissent à obtenir une réponse idéale suivant la loi de Nernst en solution grâce à une étape de stabilisation de l'électrode potentiométrique[54]. Une électrode Ir/IrO₂ est préparée par oxydation thermique en milieu carbonate afin de mesurer les fluctuations de pH à l'interface d'une armature en acier et un mortier, immergé dans une solution NaCl 3,5% durant 60 jours. L'électrode est élaborée à partir de fils d'iridium chauffés à 700°C dans une poudre de Na₂CO₃ placée dans un creuset en aluminium. Une couche homogène et compacte d'IrO₂ est formée en surface après une heure et l'électrode Ir/IrO₂ est soudée à un fil en cuivre avant d'être immergée dans une eau porale synthétique régulièrement renouvelée durant 30 jours avant d'être utilisée. Cette immersion durant 30 jours permet de stabiliser le potentiel de l'électrode par formation d'un film hydraté IrO_x stable en surface, et une solution de Ca(OH)₂ saturée ou de l'eau aurait pu être utilisées. Associée à une électrode au calomel saturée (SCE), l'électrode possède une réponse Nernstienne idéale sur la gamme pH = 1-14 en solution (Figure I - 17). L'électrode de pH est combinée avec une seconde électrode pour mesurer la concentration en ions Cl⁻ (Figure I - 17).

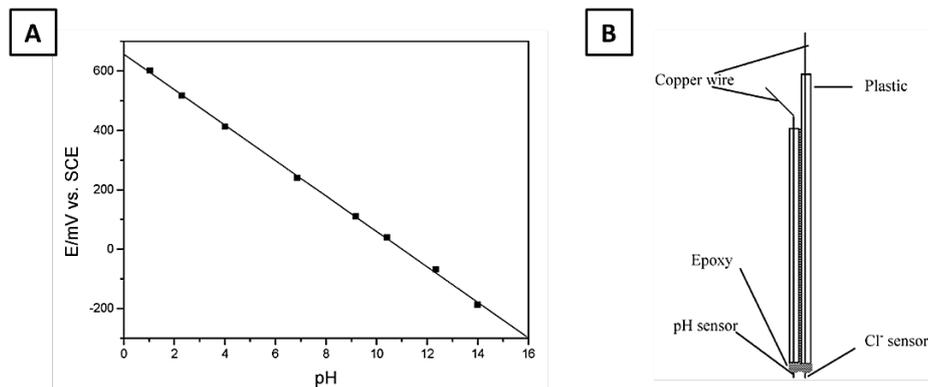


Figure I - 17 : A - Réponse de l'électrode de pH Ir/IrO₂ avec une électrode de référence au calomel saturée et B - Electrode combinée pH/Cl⁻ [54]

Un fil en Cu est soudé sur une barre cylindrique en acier R235 de taille 12×10 mm dont les extrémités sont ensuite recouvertes de résine époxy. (Figure I - 18). L'électrode combinée pH/Cl⁻ est fixée sur l'acier grâce à une couche de béton d'épaisseur 0,5 mm afin de créer l'interface d'étude acier/béton et l'ensemble est immergé de façon à obtenir un échantillon de béton renforcé au centre de taille 27×30 mm. La formulation du béton étudiée est obtenue par mélange d'un ciment Portland avec du sable de taille inférieure à 1,5 mm, avec un ratio $\frac{e}{c} = 0,6$ et $\frac{\text{sable}}{\text{ciment}} = 3$. Les mesures sont menées après immersion de l'échantillon de béton contenant l'électrode combinée dans une solution NaCl 3,5%, à

température ambiante ($25 \pm 2^\circ\text{C}$). Le suivi du pH à l'interface béton/acier durant 60 jours est montré en Figure I - 18, et la diminution rapide du pH durant la première semaine est attribuée à la différence de pH entre la solution d'immersion et l'eau porale du béton, impliquant une lixiviation rapide des ions HO^- et H_3O^+ . Le suivi simultané du pH et de la concentration en ions Cl^- à l'interface acier/béton, associé au suivi du potentiel et de la densité de courant de corrosion permettent de définir les paramètres de corrosion de l'échantillon étudié dans un environnement donné.

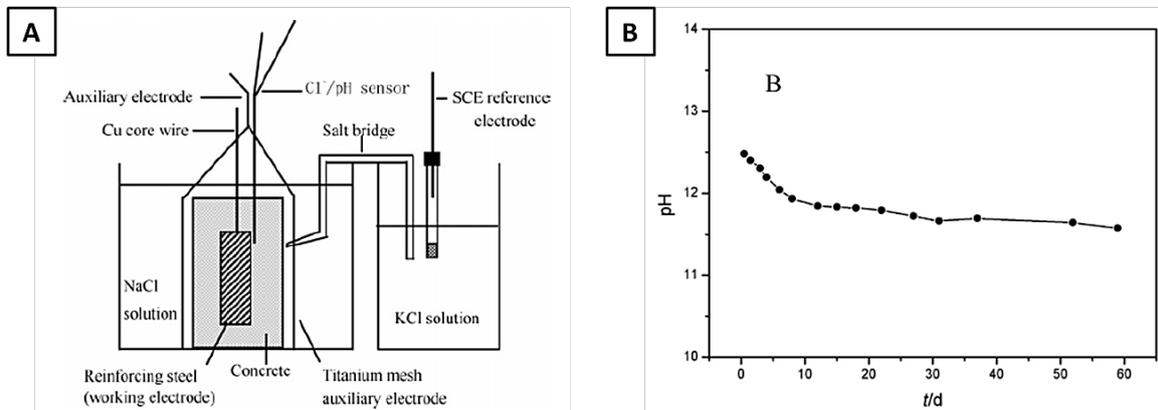


Figure I - 18 : A - Montage expérimental pour le suivi du pH et de la concentration en Cl^- à l'interface armature en acier-béton immergé dans une solution NaCl 3,5% et B - pH mesuré durant 60 jours [54]

De manière similaire, Dong et al. élaborent une électrode combinée pH/ Cl^- pour l'étude de la corrosion à l'interface acier/béton[55]. L'électrode de pH est une électrode Ti/IrO_2 fabriquée par oxydation thermique d'une tige en titane. Le procédé consiste à traiter la tige en Ti avec une solution d'acide oxalique, avant de la recouvrir avec une solution d'acide chlorhydrique et d'alcool isopropylique. La tige est ensuite séchée sous lampe infra-rouge et placée à 450°C pendant 20 min. Ces étapes excluant le nettoyage dans l'acide oxalique sont répétées 20 fois avant un dernier traitement thermique à 450°C durant 120 min. Ce procédé permet d'obtenir une couche uniforme et compacte d' IrO_2 en surface du Ti. Un fil conducteur est soudé à une extrémité de l'électrode avant de recouvrir toute les faces excluant la partie supérieure avec une résine époxy. L'électrode est stabilisée durant un mois dans une solution saturée de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ avant d'être calibrée et une réponse linéaire en fonction du pH est obtenue en solution en accord avec la réponse théorique. Une seconde électrode Ag/AgCl permettant de mesurer la concentration en Cl^- est associée à l'électrode Ti/IrO_2 de façon à concevoir une électrode combinée pH/ Cl^- . Une mesure du pH et de la concentration en Cl^- est réalisée à l'interface béton/acier en utilisant une électrode de référence en MnO_2 selon le montage détaillé en Figure I - 19.

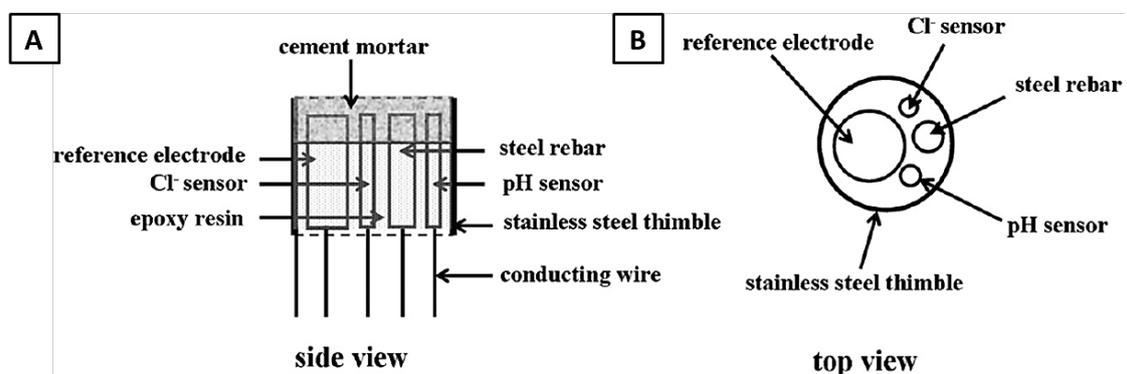


Figure I - 19 : Montage permettant de mesurer le pH et la concentration en Cl^- à l'interface acier/béton développé par Dong et al. Vue de profil (A) et de haut (B)[55]

L'échantillon en béton est élaboré à partir de ciment Portland avec un ratio ciment : eau : sable : agrégats égal à 1:0,4:1,57:2,36 et les électrodes sont placées à une profondeur d'environ 10 mm dans

le béton. Le béton renforcé muni des électrodes est soumis à des cycles d'immersion dans une solution de NaCl 3,5% durant 2 jours suivis de 2 jours de séchage, avec un suivi régulier durant les phases d'immersion du pH, de la concentration en Cl^- , du potentiel de corrosion, de la densité de courant de corrosion et du spectre d'impédance électrochimique[55]. La Figure I - 20 (A) montre l'évolution du pH et de la concentration en Cl^- au cours du temps mesuré grâce à l'électrode combinée et la diminution progressive du pH durant les premiers jours est attribuée à la lixiviation des ions HO^- dans la solution d'immersion possédant un pH inférieur. La diminution brusque du pH à 120 jours est interprétée par une carbonatation du béton ayant atteint la tige en acier. L'augmentation de la concentration en Cl^- correspond à un enrichissement du béton en ions chlorure due à l'immersion de l'échantillon dans une solution NaCl, et contribue à l'accélération de la corrosion. Un suivi de ces paramètres est réalisé dans un échantillon de béton coulé dans une cavité creusée dans un tunnel (Figure I - 20-B). L'échantillon n'étant pas immergé dans une solution NaCl, la concentration en ions Cl^- dans le béton reste faible et constante au cours de la mesure. En revanche, une valeur de pH élevée en début de mesure devrait être attendue et une diminution progressive de ce pH lors de la mesure correspondrait à une réponse en adéquation avec la théorie. Ces mesures constantes reflètent cependant la stabilité de l'électrode combinée au cours du temps.

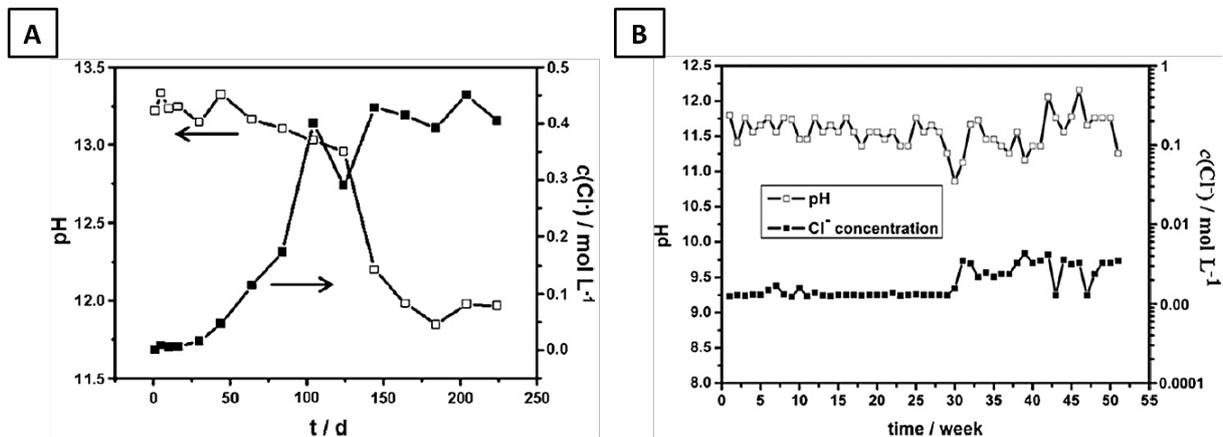


Figure I - 20 : A - Suivi du pH et de la concentration en Cl^- à l'interface béton/acier d'un échantillon périodiquement immergé dans une solution NaCl 3,5% grâce à l'électrode combinée développée par Dong et al. et B - dans un échantillon coulé dans la cavité d'un tunnel (droite)[55]

Behnood et al. formulent plusieurs doutes concernant l'utilisation de ces électrodes potentiométriques basées sur des oxydes métalliques, notamment concernant l'effet de force ionique puisque cette méthode ne constitue pas une mesure de concentration en ion hydroxide ou hydronium et sont généralement développées pour des applications *in-vivo*[50]. De plus, un doute subsiste sur la nécessité d'une recalibration de l'électrode, rendue impossible dans le cas d'un piégeage de l'électrode dans un matériau cimentaire, ainsi que sur la conservation du contact entre l'électrode et les matériaux cimentaires au cours du temps.

Par ailleurs, plusieurs montages expérimentaux concernant le suivi de la corrosion d'armatures en acier renforçant des bétons ou mortiers ont été reportés et se basent sur le principe de l'électrode potentiométrique[56-58]. Ces études de spectroscopie d'impédance électrochimique correspondent à des mesures indirectes du pH des matériaux cimentaires. En effet, le pH des matériaux cimentaires gouverne les mécanismes et cinétiques de corrosion des bétons armés.

DÉVELOPPEMENT DE CAPTEURS EIS (ÉLECTROLYTE-ISOLANT-SEMI CONDUCTEUR)

De nombreux capteurs à effet de champ basés sur des matériaux semi-conducteurs ont été développés durant les deux dernières décennies en raison des attraits qu'ils présentent, dont leur miniaturisation, leur temps de réponse rapide et la possibilité de créer des plateformes de détection grâce aux

technologies de micro- et nano-fabrication[59]. Parmi ces capteurs à effet de champ, les capteurs EIS sont caractérisés par leur géométrie électrolyte-isolant-semi-conducteur et mesurent les variations de potentiel à l'interface électrolyte/isolant (Figure I - 21). Les capteurs EIS représentent une des géométries les plus simples avec un coût de fabrication réduit. Historiquement, le premier matériau utilisé pour constituer la porte ou l'isolant des capteurs EIS est le SiO_2 , mais ce dernier ne correspond pas à l'option de premier choix pour l'étude du pH en raison de sa faible sensibilité vis-à-vis des ions H_3O^+ et HO^- , sa faible plage linéaire de réponse aux variations de pH, sa dérive au cours du temps et son large hystérèse[59].

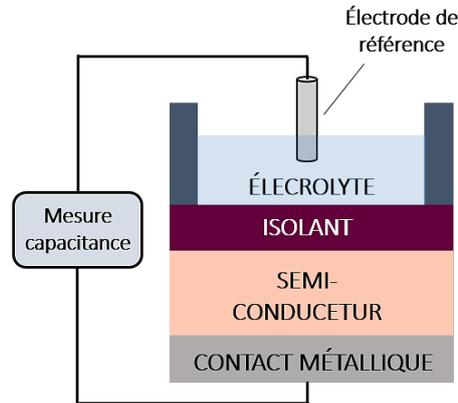


Figure I - 21 : Schéma général d'un capteur EIS

En conséquence, une grande variété d'oxydes a été étudiée afin d'élaborer des capteurs de pH EIS et certains de ces matériaux ont permis d'obtenir des capteurs fonctionnels en solution jusqu'à un pH = 12. En général, le matériau semi-conducteur est déposé en surface d'un substrat SiO_2 par une grande variété de techniques telle que l'oxydation thermique, le dépôt chimique en phase vapeur, le dépôt par laser pulsé ou par un procédé sol-gel[59]. Le matériau semi-conducteur constitue alors le matériau sensible aux variations de pH. Le principe de fonctionnement d'un capteur de pH EIS peut être illustré dans le cas d'un capteur Ta_2O_5 présentant des groupements TaOH : l'hydratation de l'oxyde en surface induit la formation de groupements hydroxyles neutres capables de se déprotonner (TaO^-) ou se protonner (TaOH_2^+) en fonction du pH de l'environnement étudié[59]. Un pH de point de charge nulle PZC (ou zero-point charge) est défini comme le pH auquel les espèces présentes en surface du matériau semi-conducteur sont présentes sous forme neutre. On a alors pour un pH de l'environnement étudié :

- $\text{pH} > \text{pH}_{\text{pzc}}$: l'oxyde est chargé négativement
- $\text{pH} < \text{pH}_{\text{pzc}}$: l'oxyde est chargé positivement.

Par conséquent, la capacitance de la structure dépendra du pH de l'électrolyte en contact avec le capteur à effet de champ EIS. Les caractéristiques de quelques capteurs EIS sont cités dans le Tableau I - 4. Bien que non appliqués dans le cadre du suivi du pH de matériaux cimentaires pour le moment, l'étude de la stabilité des capteurs EIS à long terme à $\text{pH} > 12,0$ et le suivi du pH de matériaux cimentaires constituent des pistes à explorer.

Matériau semi-conducteur	Gamme de pH	Sensibilité (mV/unité de pH)	Dérive (mV/h)	Référence
Si ₃ N ₄	3 -12	50	4 - 6	[60-61]
Al ₂ O ₃	3 -12	54 - 56	1 – 5,5	[61-63]
HfO ₂	2 - 12	58 - 60	0,7 - 1	[64-65]
YTi _x O _y	2 - 12	58,5	0,1	[66]
Er ₂ TiO ₅	2 - 12	58,4	1,2	[67]
Yb ₂ O ₃	2 - 12	55,5	1,5	[68]
Dy ₂ TiO ₅	2 - 12	57,6	0,4	[69]

Tableau I - 4 : Caractéristiques de capteurs de pH EIS fonctionnels jusque pH = 12

II.4. Mesure du pH de matériaux cimentaires : conclusion

Le pH de l'eau interstitielle des matériaux cimentaires constitue un paramètre reflétant les équilibres chimiques au sein du matériau, dans un environnement physico-chimique et à un temps d'hydratation donnés. Son suivi *in situ* et dès le plus jeune âge permettrait d'acquérir des données expérimentales afin de compléter les modèles théoriques de vieillissement du béton développés à l'IRSN par exemple. Les techniques standards de mesure du pH des matériaux cimentaires correspondent à des mesures destructives et/ou *ex situ*, et la majorité des données acquises l'ont été à un état d'hydratation ou de dégradation avancé des matériaux. La difficulté d'une mesure du pH *in situ*, depuis le début de la phase d'hydratation jusqu'au vieillissement du matériau, réside en plusieurs points :

- i. La valeur élevée du pH de l'eau interstitielle durant la première phase d'hydratation du ciment : une valeur proche de 13,5 est relevée lors de l'hydratation du ciment Portland. Ce pH diminue progressivement jusqu'à atteindre une valeur proche de 11-10,5 en fonction de l'environnement du matériau cimentaire et de sa composition chimique. Cette gamme de pH ne correspond pas à la majorité des méthodes de mesure standards utilisées en laboratoire ou en industrie ;
- ii. Les matériaux cimentaires constituent un environnement agressif, éliminant par exemple l'utilisation des électrodes de pH en verre dont la fragilité ne permet pas de réaliser des mesures *in situ* ;
- iii. L'évolution de la microstructure lors des réactions d'hydratation : la formation des phases hydratées stables conduit à une diminution du volume des pores et de l'eau libre, complexifiant la mesure du pH au cours du temps ;
- iv. Une mesure du pH *in situ* durant un temps long exclue l'option d'une recalibration de l'électrode de pH qui serait piégée dans le matériau. La dérive de la réponse des électrodes de pH observée classiquement doit donc être évitée.

L'ensemble de ces raisons expliquent la nécessité de développer un capteur de pH spécifique pour l'étude des matériaux cimentaires. L'option d'un capteur optique semble répondre à plusieurs de ces problématiques, dont la mesure *in situ* non destructive, sur des temps longs, dans un environnement physico-chimique agressif et sans nécessiter de recalibration. Le choix du développement d'un capteur optique basé sur des sondes moléculaires fluorescentes a été effectué car, à l'inverse de l'absorbance, la fluorescence correspond à la mesure d'un paramètre photochimique absolu et spécifique à l'analyte étudié. La partie suivante de ce chapitre concerne la définition du terme 'fluorescence' et détaille le principe des sondes moléculaires fluorescentes afin de développer un capteur optique de pH.

III. Mesure du pH par fluorescence

III.1. Fluorescence moléculaire : mécanismes d'absorption et d'émission

III.1.a. Absorption UV-Visible

Les photons composant la lumière sont capables d'interagir avec les atomes constituant la matière : la nature de cette interaction dépend principalement de la longueur d'onde des photons et des atomes composant la matière. Ainsi, une absence d'interaction, un phénomène de diffusion (élastique ou inélastique) ou un phénomène d'absorption peuvent se produire (Figure I - 22). En solution, l'absorbance correspondant à la capacité d'une molécule à absorber la lumière est régie par la loi de Beer-Lambert, avec $A(\lambda)$ l'absorbance à la longueur d'onde λ , I_0 et I l'intensité de lumière incidente et transmise respectivement, ε le coefficient d'absorption molaire propre à la molécule (en $L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$, l la longueur du trajet optique dans le milieu (en cm) et c la concentration de la molécule en solution (en $mol \cdot L^{-1}$) :

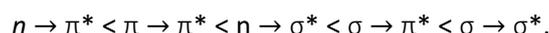
$$A(\lambda) = \log\left(\frac{I}{I_0}\right) = \varepsilon(\lambda) l c \quad \text{Eq. I - 29}$$

L'absorption d'un photon se produit si l'énergie apportée est égale à la différence d'énergie entre un état fondamental S_0 et un état vacant de plus haute énergie dit excité, et nécessairement instable. D'après le principe de Franck-Condon, l'absorption d'un photon entraîne alors une réorganisation des électrons sans déplacement des noyaux [70]. Relativement aux autres phénomènes décrits en Figure I - 23, l'absorption est un phénomène rapide (temps caractéristique : 10^{-15} s) et conduit à une transition électronique : un électron dans l'état d'énergie fondamentale transite vers un état excité. En transposant ce raisonnement au cas particulier d'une molécule, la transition électronique se produit entre la plus haute orbitale moléculaire occupée (notée HO : Haute Occupée) et une orbitale moléculaire d'énergie supérieure. La transition électronique peut se produire entre l'orbitale HO et l'orbitale moléculaire inoccupée de plus basse énergie (notée BV : Basse Vacante).

Trois conditions doivent être réunies afin de permettre une transition électronique :

- i. L'énergie apportée au système doit être au moins égale à la différence d'énergie entre l'état fondamental S_0 et l'état excité S_1
- ii. La multiplicité de spin des niveaux d'énergie moléculaire impliqués doit être conservée.
- iii. La symétrie des orbitales moléculaires impliquées doit être conservée.

Cependant, deux exceptions enfreignent ces règles : le couplage spin-orbite permettant les transitions d'un état singulet à un état triplet (multiplicité de spin non conservée), et le couplage vibronique prenant en compte l'interaction des états vibrationnels et électroniques d'une molécule (symétrie non conservée). Les transitions électroniques autorisées peuvent être classées par ordre d'énergie croissante et sont représentées sur la Figure I - 22 :



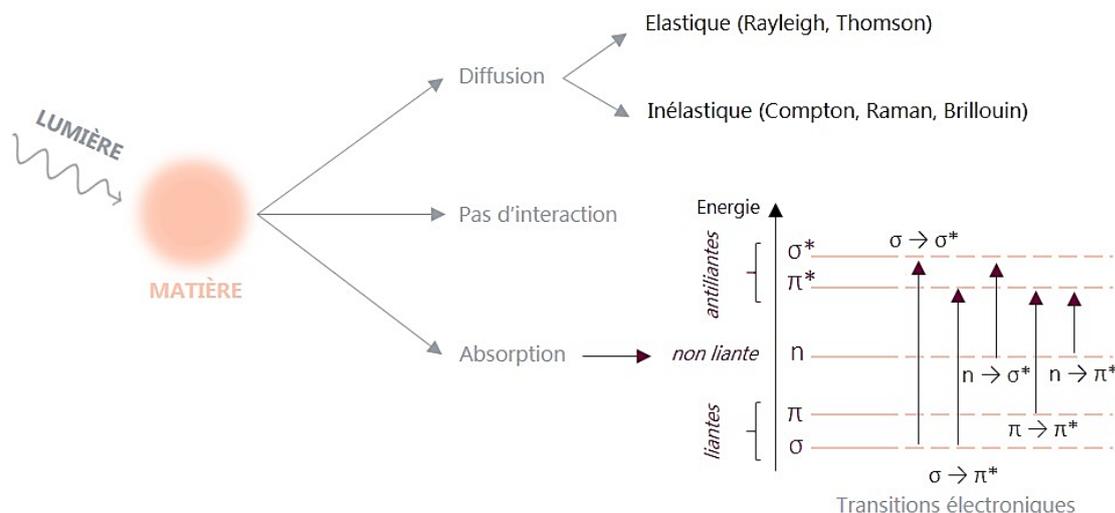


Figure I - 22 : Interactions lumière-matière et représentation des transitions électroniques autorisées pour un système monomoléculaire excité

Un spectre d'absorbance représente alors l'ensemble des transitions verticales des électrons du niveau fondamental vers des niveaux de plus haute énergie. Le niveau d'énergie vibrationnelle atteint par un électron excité dépend de l'énergie de la radiation apportée. La radiation peut être décrite comme un ensemble fini composé de longueurs d'onde, et chaque longueur d'onde est associée à une probabilité de transition d'un électron.

III.1.b. Émission de fluorescence

Dans un état excité, une molécule cherche à restituer l'énergie reçue par excitation photonique grâce à différents phénomènes photophysiques représentés sur le diagramme de Perrin-Jablonski (Figure I - 23 adaptée de [70]). Ces processus peuvent être catégorisés en fonction de leur nature radiative ou non radiative, mais également en fonction de leur temps caractéristiques ou temps de vie. Ainsi, la fluorescence et la phosphorescence sont des phénomènes radiatifs car ils émettent des photons lors de leur désexcitation, tandis que la relaxation vibrationnelle, la conversion interne et la conversion inter-système sont des phénomènes non radiatifs car ils émettent de la chaleur. L'absorption est un phénomène rapide (temps caractéristique : 10^{-15} s) tandis que la phosphorescence est un phénomène long (temps caractéristique : 10^{-6} - 1 s). Les temps caractéristiques des différents processus sont bien inférieurs à l'échelle de temps du mouvement des atomes, comme stipulé par l'approximation de Born-Oppenheimer : l'excitation d'un électron par l'absorption d'un photon se produit à une échelle de temps beaucoup plus courte que celle du mouvement des noyaux. Les transitions électroniques sont représentées à partir de l'état singulet fondamental de plus faible énergie S_0 . Les états singulets sont notés S (S_0, S_1, S_2) et les états triplets T (T_1, T_2).

Une molécule excitée à un état S_n peut suivre plusieurs voies de désexcitation avant de rejoindre l'état fondamental S_0 . Par exemple, la relaxation vibrationnelle correspond à une désexcitation d'une molécule dans un état énergétique vibrationnel excité vers un état vibrationnel d'énergie inférieure, par transfert d'énergie vibrationnelle (phonons ou chaleur). Cette redistribution d'énergie peut être dirigée vers d'autres modes vibrationnels de la molécule : on parle de transfert d'énergie vibrationnelle intramoléculaire. Un transfert d'énergie vibrationnelle intermoléculaire peut également avoir lieu entre la molécule et son environnement (généralement son solvant). La relaxation vibrationnelle est un phénomène non radiatif rapide (temps caractéristique : 10^{-12} - 10^{-10} s) et n'entraîne pas de variation

de l'état électronique de la molécule : un état vibrationnel d'énergie supérieur est désexcité en un état vibrationnel d'énergie inférieur. Une autre voie également largement empruntée par les molécules excitées est la conversion interne : celle-ci correspond à une désexcitation non radiative par couplage d'un état vibrationnel avec un second état vibrationnel de plus basse énergie. La conversion $S_2 \rightarrow S_1$ de niveaux énergétiques plus proches que $S_1 \rightarrow S_0$ est plus favorable. La conversion interne conserve donc le spin de la molécule contrairement au phénomène de conversion intersystème. En effet, la conversion intersystème correspond à une transition d'un état électronique vers un second état T_1 ou T_2 mais de multiplicité de spin différente. Par exemple, une molécule excitée de niveau S_1 peut passer au même niveau d'énergie de l'état triplet si un couplage spin-orbite existe, avant de suivre une autre voie de désexcitation comme la phosphorescence lui permettant de retrouver son état fondamental S_0 . La conversion intersystème est un phénomène relativement rapide (temps caractéristique $10^{-10} - 10^{-8}$ s) lui permettant d'être un phénomène compétitif par rapport à la conversion interne et la fluorescence. Elle est d'autant plus favorisée que le couplage spin-orbite est important. Une molécule dans un état triplet T_1 présente une probabilité importante de se désexciter de manière non radiative. Cependant dans le cas d'un couplage spin-orbite dans un environnement limitant la relaxation par collisions (par exemple un milieu rigide à basse température), la voie de désexcitation radiative lente $T_1 \rightarrow S_0$ correspondant à la phosphorescence peut être suivie. Le phénomène de phosphorescence se produit à une énergie inférieure à celle de l'absorption, donc à une longueur d'onde supérieure à celle de l'absorption : ce décalage entre les spectres d'absorption et d'émission est appelé déplacement de Stokes. En effet, une perte d'énergie sous forme de vibration ou de chaleur liée à la relaxation vibrationnelle précède le phénomène de phosphorescence entraîne ce déplacement de Stokes vers des longueurs d'ondes plus élevées.

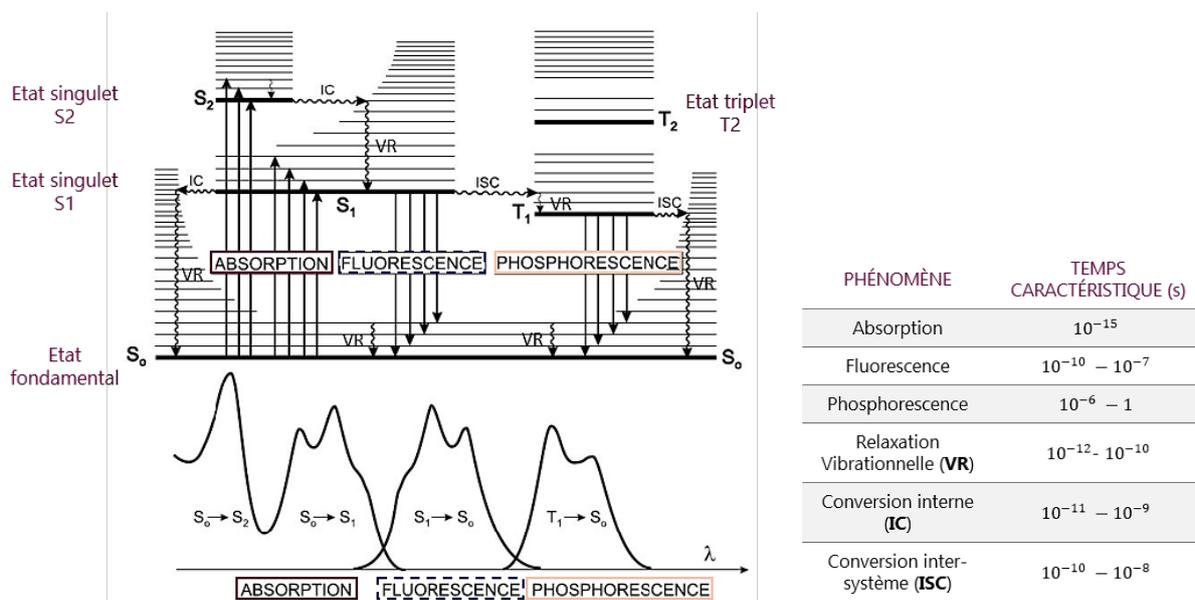


Figure I - 23 : Diagramme de Perrin-Jablonski représentant les différentes transitions électroniques entre les états d'une molécule accompagné de leurs temps caractéristiques et des positions relatives des spectres d'absorption, de fluorescence et de phosphorescence (adapté de [70])

Le phénomène de fluorescence est induit par l'absorption d'un photon par un électron résultant en une transition vers une orbitale moléculaire de niveau supérieur. Cette transition est suivie d'une relaxation vibrationnelle jusqu'au niveau énergétique S_1 puis d'une désexcitation $S_1 \rightarrow S_0$ par émission de photons. Cette dernière désexcitation $S_1 \rightarrow S_0$ correspond à la fluorescence et comme pour le cas de la phosphorescence décrit précédemment, un déplacement de Stokes vers les longueurs d'ondes élevées est observé. D'après la loi de Vavilov, les propriétés de fluorescence seront peu influencées par la longueur d'onde d'excitation (λ_{exc}) car la désexcitation se produit à partir du niveau S_1 [71]. Le spectre d'émission de fluorescence d'un fluorophore excité avec un rayonnement de longueur d'onde

λ_{exc} représente alors le nombre de photons émis pour chaque longueur d'onde. D'après le diagramme d'énergie de Franck-Condon permettant de déduire les intensités des bandes d'absorption et d'émission, le spectre de fluorescence est le symétrique du spectre d'absorbance selon un axe vertical correspondant à la transition entre les niveaux vibrationnels de plus basse énergie des états S_1 et S_0 notée $0 \rightarrow 0$ (Figure I - 24).

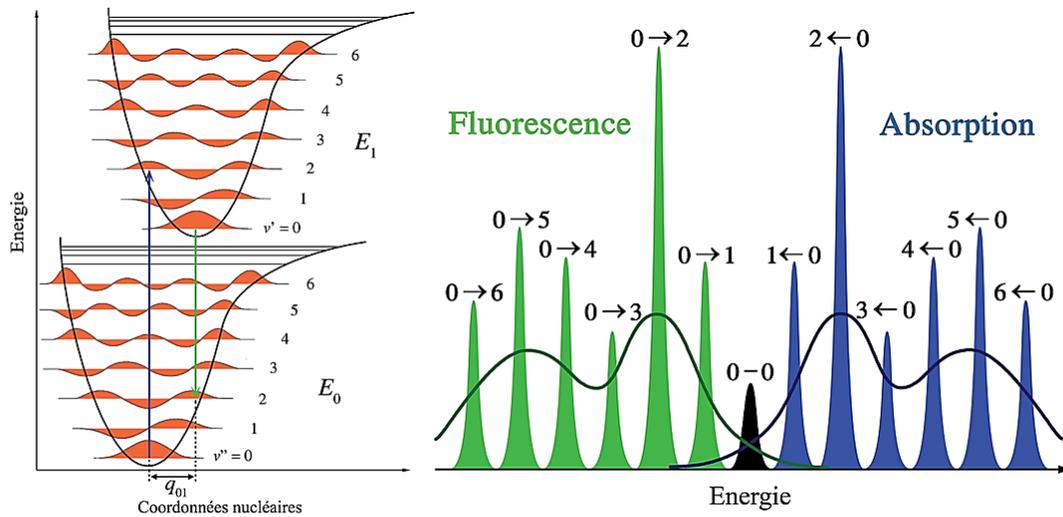


Figure I - 24 : Diagramme d'énergie de Franck-Condon pour une excitation favorisant une transition électronique entre les états vibrationnels (0,2) et spectres d'absorbance et de fluorescence déduits (adapté de [72])

III.1.c. Fluorescence : terminologie et définitions

La voie de désexcitation de l'état S_1 peut-être décomposée en étapes distinguées par différentes constantes de vitesses (Figure I - 25).

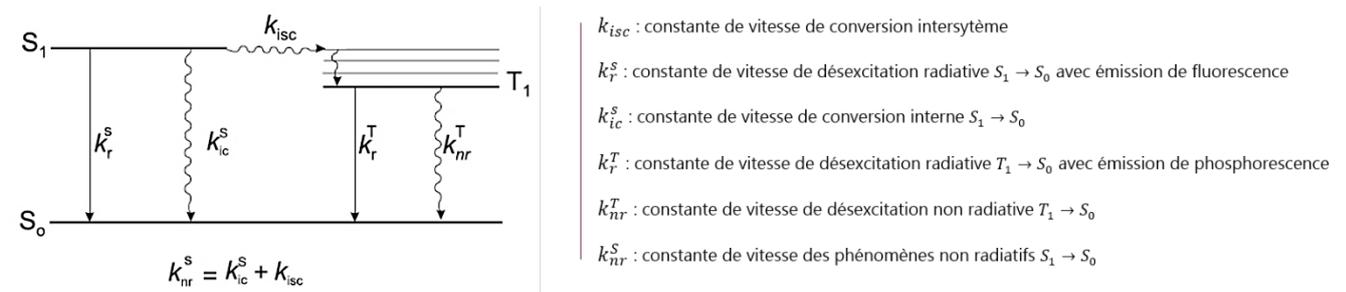


Figure I - 25 : Constantes de vitesse de désexcitation de l'état S_1 (adapté de [70])

Toute substance chimique émettant de la fluorescence après excitation à une longueur d'onde λ_{exc} est appelée fluorophore. En considérant une solution diluée d'un fluorophore F à une concentration [F] exprimée en mol.L⁻¹, la vitesse de désexcitation du fluorophore dans un état excité S_1 noté F^* s'exprime en fonction des constantes de vitesse k_r^S et k_{nr}^S :

$$-\frac{d[F^*]}{dt} = (k_r^S + k_{nr}^S) [F^*] \quad \text{Eq. I - 30}$$

La durée de vie de l'état excité S_1 notée τ_s est un paramètre essentiel permettant de définir la plage temporelle durant laquelle le phénomène sera observable :

$$\tau_S = \frac{1}{k_r^S + k_{nr}^S} \quad \text{Eq. I - 31}$$

La concentration $[F^*]$ à un temps t peut alors être déduite en fonction de τ_S et de $[F^*_0]$ la concentration de F^* au temps t_0 :

$$[F^*] = [F^*_0] \exp\left(-\frac{t}{\tau_S}\right) \quad \text{Eq. I - 32}$$

Suite à l'excitation de F par un pulse de lumière au temps t_0 de courte durée δ , relativement aux constantes de vitesse considérées, l'intensité de fluorescence correspond à la quantité de photons (en mol) émise par unité de temps (en s) et par unité de volume (en L). Elle correspond au produit de k_r^S et de $[F^*]$. En pratique, l'intensité de fluorescence est mesurée sur une échelle arbitraire propre à l'appareil de mesure et la valeur mesurée I_F est proportionnelle à i_F avec un facteur de proportionnalité dépendant de l'appareil.

$$i_F(t) = k_r^S [F^*] = k_r^S [F^*_0] \exp\left(-\frac{t}{\tau_S}\right) \quad \text{Eq. I - 33}$$

Un second paramètre essentiel permettant de caractériser un fluorophore est le rendement quantique Φ_F , qui correspond au rapport entre le nombre de photons émis et le nombre de photons absorbés, sur la période totale de durée de vie du fluorophore. En d'autres termes :

$$\Phi_F = \frac{1}{[F^*_0]} \int_0^\infty i_F(t) dt \quad \text{Eq. I - 34}$$

Le rendement quantique de fluorescence correspond également au nombre effectif de molécules se désexcitant pour retourner à l'état fondamental S_0 de manière radiative, avec émission de fluorescence :

$$\Phi_F = k_r^S \tau_S = \frac{k_r^S}{k_r^S + k_{nr}^S} \quad \text{Eq. I - 35}$$

En pratique, le rendement de fluorescence d'un composé est mesuré relativement au rendement quantique connu d'une référence. L'étalon sélectionné possède une longueur d'onde d'excitation λ_{exc} égale à celle du fluorophore étudié.

$$\Phi_F = \Phi_{F,R} \times \frac{A_R}{A} \times \frac{S}{S_R} \times \left(\frac{n}{n_R}\right) \quad \text{Eq. I - 36}$$

avec $\Phi_{F,R}$ le rendement quantique de fluorescence de la référence A et A_R les absorbances à la longueur d'onde d'excitation, S et S_R les aires sous les courbes d'émission, et n et n_R les indices de réfraction des solvants utilisés pour le composé et pour la référence respectivement. Le Tableau I - 5 liste quelques valeurs de rendement quantiques de références couramment utilisées :

Référence	Excitation (nm)	λ_{exc} (nm)	Emission (nm)	Solvant	Φ_F
Sulfate de quinine	280-380	350	380-580	H ₂ SO ₄ 0,5M	0,52±0,02
Fluorescéine	470-490	470	490-620	NaOH 0,1M	0,91±0,05
Rhodamine 101	500-600	535	600-700	MeOH (acide)	0,96
Rhodamine 6G	470-510	530	510-700	H ₂ O	0,92±0,02
Pérylène	360-420	366	430-530	EtOH	0.92

Tableau I - 5 : Rendements quantiques de fluorescence de quelques références[73]

La loi de Parker définit l'intensité de fluorescence I_F d'un fluorophore en solution diluée en fonction du rendement quantique de fluorescence Φ_F :

$$I_F = k \times I_0(\lambda_{exc}) \times \varepsilon(\lambda_{exc}) \times C \times \Phi_F \times l \quad \text{Eq. I - 37}$$

avec :

- k : la constante géométrique de l'appareil de mesure ;
- $I_0(\lambda_{exc})$: l'intensité incidente à la longueur d'onde d'excitation ;
- $\varepsilon(\lambda_{exc})$: le coefficient d'extinction molaire à la longueur d'onde d'excitation ;
- C : la concentration en fluorophore ;
- l : la profondeur de pénétration de l'excitation.

III.1.d. Extinction de fluorescence

Des paramètres intrinsèques et extrinsèques au fluorophore peuvent moduler l'émission de fluorescence, ils sont résumés par la Figure I - 26. En effet, la fluorescence des fluorophores est sensible à leur micro-environnement, ce qui justifie leur utilisation comme sondes moléculaires fluorescentes. L'extinction de fluorescence désigne la diminution de l'intensité de fluorescence liée à un phénomène extérieur au fluorophore. L'extinction de fluorescence collisionnelle est un phénomène largement observé ; le temps de vie de l'état excité d'un fluorophore ($10^{-10} - 10^{-8}$ s) est suffisamment élevé afin qu'une molécule appelée 'inhibiteur' (ou *quencher* en anglais) entre en collision avec le fluorophore dans son état excité. Cette collision entraîne une désexcitation non radiative décrite par l'équation de Stern-Volmer avec I_F^0 l'intensité de fluorescence mesurée en absence d'inhibiteur Q, I_F l'intensité de fluorescence mesurée en présence d'inhibiteur Q, k_q la constante du taux d'extinction de fluorescence (en s^{-1}) et τ_s le temps de vie de l'état excité du fluorophore (en s). Le coefficient de la vitesse d'extinction de fluorescence k_{sv} caractérise l'extinction de fluorescence et dépend de la température et de la viscosité de la solution.

$$\frac{I_F^0}{I_F} = 1 + k_{sv} \tau_s [Q] \quad \text{Eq. I - 38}$$

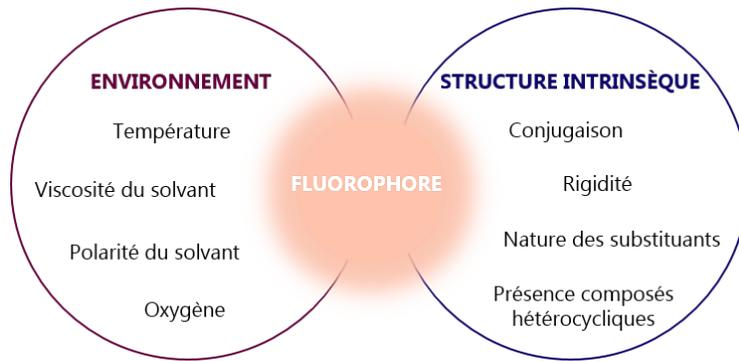


Figure I - 26 : Paramètres extrinsèques et intrinsèques d'un fluorophore

L'extinction de fluorescence dynamique est à distinguer de l'extinction statique : dans le second cas le fluorophore dans son état fondamental forme un complexe avec l'inhibiteur et peut voir ses propriétés d'absorption et d'émission modifiées. Dans le cas d'une extinction de fluorescence dynamique, une désexcitation non radiative se produit (transfert d'énergie, transfert d'électron, croisement intersystème). La formation d'excimères est également un mécanisme dynamique d'extinction induit par un couplage faible fluorophore-fluorophore : un excimère résulte du couplage de deux (ou plusieurs) molécules dont l'une au moins est dans son état excité. Ce couplage résulte en un transfert de charge entre les deux monomères, et donc à une extinction de la fluorescence. La formation d'excimères est favorisée par une concentration élevée en monomères.

III.2. La fluorescence moléculaire comme outil analytique

Le développement d'outils analytiques privilégie la détection par fluorescence plutôt que la détection par absorbance ou transmission du fait de la sensibilité de cette technique, ne correspondant pas à une mesure d'intensité relative à celle de la source et permettent la détection d'analytes en faible concentration [74-75]. Deux méthodes de mesure fluorimétriques sont distinguées : d'une part les mesures fluorimétriques directes appliquées lorsque l'analyte est fluorescent, et d'autre part les mesures fluorimétriques indirectes appliquées pour les analytes non fluorescents. Ce dernier cas est plus répandu car la majorité des ions et molécules ne sont pas fluorescents : des sondes moléculaires fluorescentes sont alors développées afin de les détecter. La Figure I - 27 décrit le principe général appliqué pour la synthèse de sondes moléculaires fluorescentes innovantes : un fluorophore est associé à une unité de détection, éventuellement en présence d'un espaceur. L'unité de détection est spécifique à l'analyte étudié et peut correspondre à une fonction chimique. L'association analyte-unité de détection génère une variation des propriétés photophysiques du fluorophore et plusieurs mécanismes photophysiques permettent de discriminer les sondes moléculaires fluorescentes.



Figure I - 27 : Principe général d'une sonde moléculaire fluorescente. La détection de l'analyte étudié par l'unité de détection induit une variation des propriétés photophysiques du fluorophore

III.2.a. Sondes moléculaires fluorescentes

Les sondes moléculaires fluorescentes sont majoritairement basées sur deux mécanismes : le transfert de charge intramoléculaire (noté ICT pour Intramolecular Charge Transfer en anglais) et le transfert d'électrons photoinduit (noté PET pour Photoinduced Electron Transfer en anglais) [76].

MÉCANISME ICT (INTRAMOLECULAR CHARGE TRANSFER) ou TCI (TRANSFERT DE CHARGE INTRAMOLÉCULAIRE)

Bien que s'appliquant aux molécules inorganiques et organiques, le phénomène ICT a majoritairement suscité un intérêt pour les molécules organiques π -conjuguées du fait de leur application potentielle dans le domaine de l'électronique organique [77-81]. Le principe du mécanisme ICT repose sur une géométrie donneur-accepteur π -conjugués : la sonde moléculaire dans son état fondamental est excitée par l'absorption d'énergie à une longueur d'onde λ_{exc} , favorisant un transfert de charge d'une région de la molécule vers une autre grâce à la conjugaison, et formant un moment dipolaire supérieur dans l'état excité. Ce transfert de charge intramoléculaire différencie la distribution de charge électronique de la molécule dans son état fondamental de celle dans son état excité (Figure I - 28). La molécule dans un état énergétique instable LE se stabilise dans un état ICT, grâce à une variation de conformation comme une rotation ou une élongation de liaison. Cette variation de conformation dépend de l'environnement de la molécule, et notamment de la polarité et de la viscosité du solvant environnant [70]. Les deux états moléculaires LE et ICT induisent une émission de fluorescence et permettent d'atteindre les états E(FC,LE) et E(FC,ICT) respectivement, à des nombre d'ondes $\bar{\nu}_{max}(LE)$ et $\bar{\nu}_{max}(ICT)$ respectivement avec :

$$\bar{\nu}_{max} = \frac{1}{\lambda_{max}} \quad \text{Eq. I - 39}$$

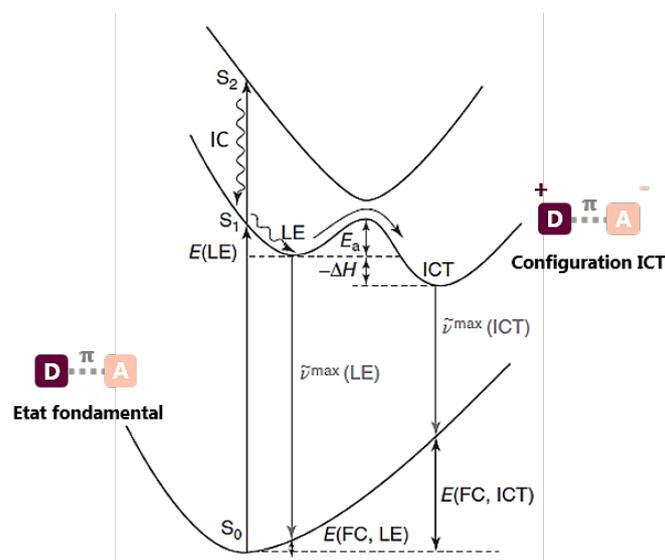


Figure I - 28 : Représentation des profils d'énergie potentielle lors du mécanisme de transfert de charge intramoléculaire (ICT) : la molécule de géométrie accepteur-donneur π -conjuguée (A- π -D) dans son état fondamental S_0 est excitée à l'état S_2 . La conversion interne (IC) permet d'atteindre l'état localement excité (LE- S_1) avant l'état ICT- S_1 (adapté de [82])

Ainsi, pour une molécule solubilisée dans un solvant de faible viscosité, l'état stable ICT pourra être atteint par rotation des molécules de solvant afin de minimiser l'énergie d'interaction fluorophore-solvant, c'est-à-dire afin que la sphère de solvation de la molécule atteigne un équilibre thermodynamique. De même, une rotation interne du fluorophore peut permettre une stabilisation de l'état LE en état TICT (Twisted Intramolecular Charge Transfer). Un cas largement étudié et

démontrant l'action conjointe du fluorophore et du solvant afin d'atteindre l'état TICT est le 4-N,N-(diméthylamino)benzonitrile (DMABN) solubilisé dans un solvant polaire (Figure I - 29 [70]). Le fluorophore DMABN dans son état fondamental montre un maximum de conjugaison du fait de sa planéarité. Dans le cas d'un solvant apolaire tel que l'hexane, aucune énergie de stabilisation n'est fournie par le solvant. L'état LE conserve cette planéarité mais l'état TICT est atteint par une rotation du groupement diméthylamino par rapport au groupement phényle, accompagné par une perte de planéarité et donc une diminution de la conjugaison. En conséquence, le moment dipolaire exacerbé du fluorophore génère une bande d'émission additionnelle à la bande d'émission LE, et le rôle du solvant polaire dans le phénomène TICT est mis en évidence par la comparaison des spectres d'émission du DMABN dans des solvants de polarité opposée (Figure I - 29).

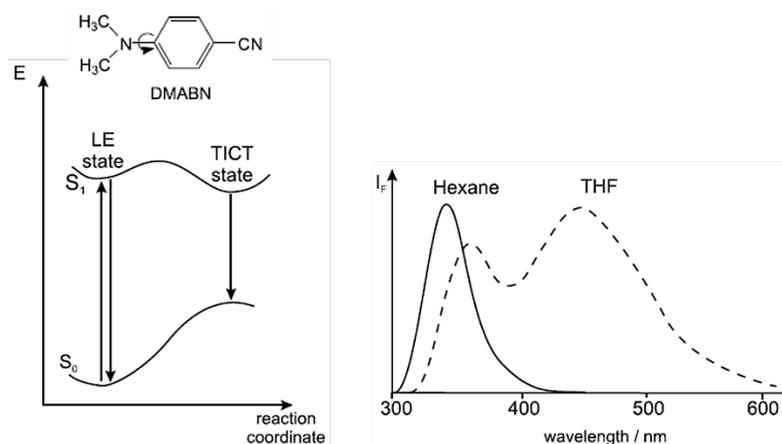


Figure I - 29 : Structure de DMABN et diagramme d'énergie potentielle lors de la rotation du groupement diméthylamino accompagnée de la relaxation de la sphère de solvation polaire (gauche). Spectre de fluorescence de DMABN dans l'hexane et le THF à température ambiante (droite) [70]

MÉCANISME PET (PHOTOINDUCED ELECTRON TRANSFER) OU TEP (TRANSFERT D'ÉLECTRON PHOTOINDUIT)

Le mécanisme PET est présent dans les procédés impliquant une conversion d'énergie solaire puisqu'il permet la séparation photoinduite de charges [70] ; il est ainsi retrouvé dans le domaine de l'énergie photovoltaïque et de la photosynthèse naturelle et artificielle. Le PET concerne les molécules de géométrie donneur-espaceur-accepteur, avec l'un des deux groupements accepteur ou donneur correspondant à un groupement récepteur d'analyte ou groupement ayant une affinité avec un analyte. Le mécanisme PET est comparable à une réaction intramoléculaire d'oxydo-réduction photoinduite : dans le cas d'un transfert d'électron réducteur et en absence d'analyte, une excitation de la molécule avec une énergie $E = h\nu$ permet d'atteindre le potentiel de réduction du groupement accepteur et le potentiel d'oxydation du groupement donneur. Un transfert d'électron est alors thermodynamiquement favorisé entre le groupement donneur et le groupement accepteur. Le mécanisme PET est thermodynamiquement favorisé si la variation d'enthalpie libre standard est négative lors du processus de transfert d'électrons. L'équation de Rehm-Weller permet de calculer cette variation d'enthalpie libre standard, en distinguant les cas de transferts d'électrons réductifs et oxydatifs :

$$\Delta G^0 = F[E^0(D^{\bullet+}/D) - E^0(A/A^{\bullet-}) - \Delta E_{00}(D)] - \Delta H_{solv} - w \quad [Ox] \quad \text{Eq. I - 40}$$

$$\Delta G^0 = F[E^0(D^{\bullet+}/D) - E^0(A/A^{\bullet-}) - \Delta E_{00}(A)] - \Delta H_{solv} - w \quad [Red] \quad \text{Eq. I - 41}$$

avec :

- F : constante de Faraday, $F = 9,65 \cdot 10^4 \text{ C} \cdot \text{mol}^{-1}$
- $E^0(D^{•+}/D)$: potentiel standard d'oxydation du donneur, exprimé en V
- $E^0(A/A^{•-})$: potentiel standard de réduction de l'accepteur, exprimé en V
- $\Delta E_{00}(D)$: énergie de l'état excité fluorescent du donneur, exprimée en eV
- $\Delta E_{00}(A)$: énergie de l'état excité fluorescent de l'accepteur, exprimée en eV
- ΔH_{solv} : enthalpie de solvatation, exprimée en $\text{J} \cdot \text{mol}^{-1}$
- w : énergie coulombienne de la paire d'ion formée, exprimée en $\text{J} \cdot \text{mol}^{-1}$.

Un mécanisme PET est favorisé si $\Delta G^0 < 0$.

Ce transfert d'électron photoinduit entraîne une séparation de charge pour former le groupement accepteur cationique et le groupement donneur anionique (Figure I - 30). En revanche, en présence d'un analyte lié au groupement récepteur d'analyte, le potentiel redox est modifié et l'énergie $h\nu$ apportée par l'excitation n'est pas suffisante ; le mécanisme PET n'est pas thermodynamiquement favorisé. Par conséquent, la molécule émet une radiation d'énergie $E_0 = h\nu_0$ afin d'atteindre son état fondamental. En d'autres termes, le mécanisme PET nécessite un potentiel d'oxydation du groupement récepteur d'analyte inférieur au potentiel d'oxydation du groupement fluorophore [83].

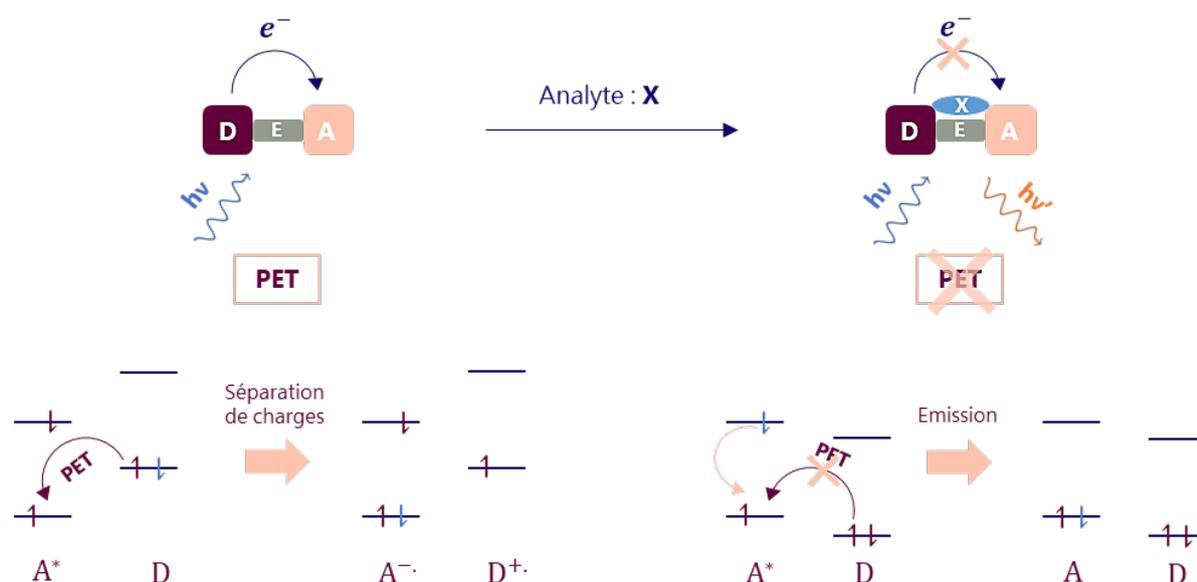


Figure I - 30 : Illustration du mécanisme de transfert d'électron photoinduit (PET) dans le cas d'un transfert d'électron réducteur : le fluorophore de géométrie donneur-espaceur-accepteur (D-E-A) voit son potentiel redox modifié en présence de l'analyte X et émet une fluorescence d'énergie $E_0 = h\nu_0$ car le transfert d'électron de D vers A est inhibé. A l'inverse en absence d'analyte X, le mécanisme PET induit une séparation de charges et une extinction de fluorescence.

Grâce à l'ingénierie moléculaire, les sondes moléculaires PET offrent la possibilité d'élaborer des sondes spécifiquement adaptées à l'analyte étudié. Les sondes PET présentent également l'avantage de pouvoir constituer des sondes ON-OFF-ON du fait de leur réponse ou absence de réponse en présence ou en absence de l'analyte étudié. Les sondes PET ont donc suscité un intérêt majeur dans le domaine de la chimie analytique et on peut citer l'exemple des sondes PET de cations qui ont été largement développées. Un unique fluorophore permet de développer différentes sondes PET répondant à différentes problématiques. Un fluorophore largement exploité pour les sondes PET est l'anthracène : plusieurs sondes PET contenant des groupements couronnes, mais également des groupements cryptants, des chaînes polyamines, des groupements chélatants, ou des calixarènes ont été développées.

De Silva et al. ont par exemple synthétisé une sonde PET constituée d'un anthracène substitué d'un groupement couronne, dont la structure est présentée en Figure I - 31 [84]. Cette sonde a été développée pour la détection des cations K^+ et Na^+ . En absence de cations K^+ ou Na^+ au niveau du groupement récepteur couronne, un transfert d'électron vers l'anthracène (fluorophore) résulte en une émission faible de fluorescence. En présence des cations K^+ ou Na^+ , l'électron est attiré vers le récepteur chargé positivement, le potentiel d'oxydation du récepteur lié augmente et le PET n'est pas favorisé ce qui induit une augmentation de fluorescence. Ainsi, pour la détection des cations K^+ , un rapport des rendements quantiques de fluorescence en absence (Φ_F) et en présence ($\Phi_{F,cation}$) de l'analyte est défini : $\frac{\Phi_F}{\Phi_{F,cation}} = \frac{0,14}{0,003}$. Les auteurs suggèrent l'utilisation de cette sonde en mode ON-OFF-ON. Une certaine sélectivité de la sonde est prouvée par l'absence de réponse avec le cation Li^+ , mais la fluorescence est pH-dépendante.

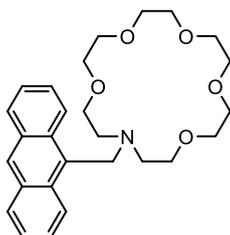


Figure I - 31 : Structure de la sonde PET constituée d'un motif anthracène substitué par un groupement couronne, synthétisée par De Silva et al. [84]

Qiu et al. associent l'anthracène à des groupements chélatants afin de constituer une sonde PET pour les cations Fe^{3+} , Al^{3+} et Cr^{3+} (Figure I - 32)[85]. Le groupement N-(2-Hydroxyethyl)ethylenediamine a le rôle d'agent chélatant pour les analytes étudiés, et l'ajout de deux hydroxyethyl permet d'augmenter la spécificité de la sonde vis-à-vis des ions Fe^{3+} . La sonde synthétisée est spécifique aux ions Fe^{3+} , mais répond également aux ions Al^{3+} et Cr^{3+} , avec des facteurs d'augmentation d'intensité de fluorescence de 5,6, 2,3 et 0,9 respectivement pour ces trois cations. Le spectre d'émission obtenu en présence de Fe^{3+} a une signature spectrale typique des anthracènes, avec la présence d'une bande excimère. En raison de la présence des fonctions amines, la fluorescence de la sonde est pH-dépendante : pour la gamme $6,5 < pH < 12$, la sonde est dans son état déprotonée et le mécanisme PET entre les anthracènes et les groupes amine induit une faible fluorescence, quasi-stable à partir de $pH=6,5$. Pour la gamme $6,5 < pH < 12$, la sonde est sous forme protonée et le mécanisme PET entre les anthracènes et les groupes amine est inhibé, induisant une augmentation de fluorescence d'un facteur 12. Qiu et al. prouvent ainsi qu'au-delà d'un $pH = 6,5$, toute variation d'intensité de fluorescence est liée à la coordination de Fe^{3+} avec la sonde Chel-1, bloquant le mécanisme PET [85].

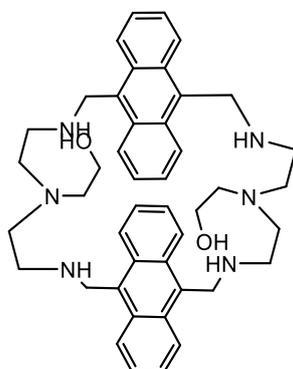


Figure I - 32 : Structure de la sonde PET constituée de deux motifs anthracène substitués par des groupements chélatants, synthétisée par Qiu et al. [85]

III.2.b. Sondes moléculaires de pH fluorescentes

Plusieurs sondes moléculaires fluorescentes de pH ont été synthétisées dans le but de palier à l'incertitude de mesure liée à l'utilisation d'indicateurs colorés de pH, mais également pour développer des capteurs de pH optiques pour les applications non compatibles avec les électrodes de pH en verre ou en oxydes métalliques. Ces sondes de pH sont employées dans différents domaines tels que la mesure du pH intracellulaire en biologie moléculaire [86-88], le suivi des patients dans le secteur médical [89], l'industrie agro-alimentaire [90] ou encore la surveillance de l'environnement [91]. Les sondes moléculaires fluorescentes offrent la possibilité d'élaborer des systèmes optiques de monitoring du pH à distance avec une précision de mesure adaptée à l'application, d'obtenir une information sur la présence de gradients de pH dans un volume étudié, ou encore de concevoir des capteurs de pH pour les milieux agressifs où les électrodes de pH classiques ne sont pas adaptées. Cependant, la fluorescence des sondes de pH peut varier en fonction de la force ionique et leur sélectivité doit être établie. L'utilisation de sondes monochargées associées à des matrices non ioniques permet généralement d'éliminer l'effet de la force ionique sur la fluorescence [92].

Il existe plusieurs composés occupant le rôle de brique élémentaire pour la synthèse de sondes moléculaires de pH fluorescentes. Les grandes familles de sondes moléculaires de pH fluorescentes sont détaillées ci-dessous.

SONDES DEVELOPPÉES À PARTIR DU MOTIF FLUORESCÉINE

La fluorescéine, ou uranine, est l'une des molécules fluorescentes les plus connues depuis sa découverte par A. von Baeyer en 1871. Elle correspond à un cycle pyrane lié à deux cycles phénols et un acide benzoïque. Il s'agit d'un colorant fluorescent communément utilisé en raison de son caractère hydrophile afin de suivre un écoulement d'eau, comme une fuite ou une pollution anthropique. La fluorescéine n'étant pas photostable, elle est adaptée aux mesures de pH ponctuelles [93]. La fluorescéine est utilisée pour la mesure du pH intracellulaire en raison de sa biocompatibilité et de son $pK_a \approx 9,2$ adapté à l'étude de phénomènes pathologiques intracellulaires [94]. Lee et al. proposent par exemple une sonde fluorescente "caméléon" associant une rhodamine à la fluorescéine avec un diethylentriamine occupant le rôle d'espaceur (Figure I - 33), dans le but de couvrir une plus large gamme de pH [94]. La sonde synthétisée présente alors une fluorescence orange en milieu acide en raison de l'ouverture du noyau lactame de la rhodamine, et verte en milieu basique en raison de l'ouverture du noyau lactame de la fluorescéine. La Figure I - 33 montre l'évolution du spectre d'émission de la sonde en fonction du pH. La sonde répond aux variations de pH dans la gamme $pH=3,2-10$ avec une réponse linéaire entre $pH=4$ et $pH=8$, et une réversibilité de sa réponse prouvée entre $pH=4$ et $pH=10$. Chan et al. ont synthétisé une sonde de pH à partir de la fluorescéine avec un groupement pyrrole-2,5-dione. La sonde de pH obtenue est greffée en surface de nanoparticules de polymère semi-conducteur (Pdots) et un mécanisme FRET (Förster Resonance Energy Transfer) gouverne la réponse aux variations de pH de la sonde moléculaire ainsi synthétisée [95]. Le mécanisme FRET correspond à un transfert d'énergie par résonance Förster entre l'entité Pdot dont la variation ne varie pas en fonction du pH et l'entité fluorescéine correspondant à la sonde de pH fluorescente. Ce transfert d'énergie est ici favorisé par le recouvrement des spectres d'émission des Pdots donneurs dont le spectre d'émission recouvre par le spectre d'absorption de la fluorescéine, occupant le rôle d'accepteur. Ce recouvrement spectral conduit au phénomène FRET : un couplage de type dipôle-dipôle entre le couple donneur-accepteur permet une transition d'énergie entre le donneur et l'accepteur, sous forme non radiative. Une telle géométrie permet alors d'obtenir une sonde de pH ratiométrique. La sonde synthétisée présente une réponse linéaire aux variations de pH pour la gamme $pH=5,0-8,0$, avec d'excellentes reproductibilité et réversibilité des mesures. Les auteurs démontrent l'efficacité de la mesure du pH intracellulaire grâce à l'observation de cellules HeLa lors d'un phénomène d'endocytose.

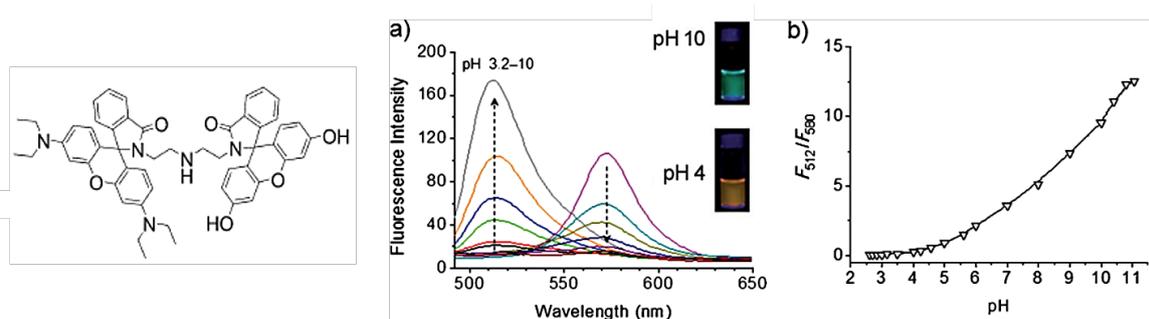


Figure I - 33 : Structure de la sonde de pH "caméléon" synthétisée par Lee et al. a) Évolution du spectre d'absorption entre pH=3,2-10 : la sonde présente une fluorescence orange en milieu acide qui évolue progressivement vers une fluorescence verte en milieu basique b) En raison de cette évolution de la signature spectrale en fonction du pH, un raisonnement ratiométrique permet de mettre en évidence une linéarité de la réponse dans la gamme pH=4-8 [94]

SONDES DEVELOPPÉES À PARTIR DU MOTIF COUMARINE

La coumarine (2H-1-benzopyrane-2-one) est un motif retrouvé dans plusieurs sondes moléculaires fluorescentes en raison de la sensibilité de sa fluorescence à l'environnement (polarité et viscosité), un déplacement de Stokes large, ainsi qu'une photostabilité justifiant l'utilisation de coumarines pour le développement de laser à colorants ou de cellules solaires [96] [97]. Plusieurs coumarines existent et diffèrent par leur poids moléculaire, leur structure et leur hydrophobicité, permettant ainsi de développer des sondes adaptées à différentes applications [98]. La fluorescence des coumarines est due à une transition $\pi \rightarrow \pi^*$ et l'étude de structures rigides et flexibles a permis de corrélérer la structure des coumarines étudiées au solvatochromisme observé, par le biais d'un mécanisme TICT (Twisted Intramolecular Charge Transfer) [99]. L'utilisation d'amino-coumarines comme sonde de pH fluorescentes a été reporté par plusieurs équipes : Long et al. ont développés deux sondes de pH dont les structures sont présentées en Figure I - 34 [100]. La protonation de l'amino-pyridine conduit à un accroissement de son caractère électro attracteur, induisant à son tour un mécanisme ICT entre le motif coumarine et l'amino-pyridine. Ce mécanisme a été confirmé par des calculs théoriques associés à des spectres RMN des sondes dans leur états protoné et déprotoné. La diminution du pH induisant le mécanisme ICT est reflété sur le spectre d'émission de la sonde **a.** par un déplacement bathochrome significatif de 87 nm, accompagné d'un déplacement hypochrome important avec un ratio $\frac{I_{522}}{I_{586}}$ diminuant de 8,38 à 2,41. Long et al. montrent une linéarité de la réponse de la sonde **a.** entre pH 4,0 et 6,5. Les structures **a.** et **b.** diffèrent par leurs valeurs de pKa de 5,36 et 4,92 respectivement en raison de la position de la fonction amine dans le cycle pyridine. Ces sondes peuvent être employées pour le développement de capteurs de pH ratiométriques en raison de la présence d'un point isobestique. De plus, la sélectivité de la sonde par rapport aux ions H_3O^+ est prouvée par l'absence de variation de l'émission à pH 5,70 et 4,45 en présence de différents ions et molécules, dont Li^+ , Cu^{2+} , K^+ , le glucose, la vitamine C et le glutathion.

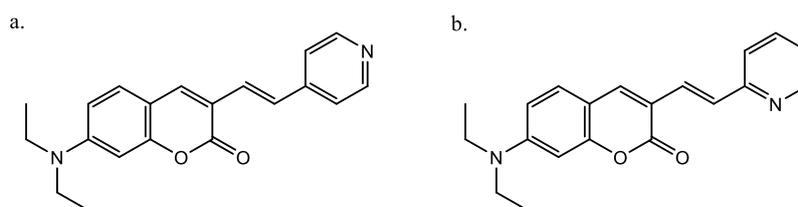


Figure I - 34 : Amino-coumarines synthétisées par Long et al. : les deux sondes ont été synthétisées pour le développement de capteurs ratiométriques de pH acides et présentent un mécanisme ICT lié à la protonation de l'amino-pyridine [100]

Un autre exemple de sonde de pH fluorescente basée sur un motif coumarine a été présenté par Wu et al. et la structure de la sonde est présentée en Figure I - 35[101]. Cette sonde est également une sonde de pH ICT, adaptée à la gamme de pH = 5 – 8,5 avec un pKa = 5,88 et un rendement quantique de fluorescence $\Phi_F = 0,0584$ et $\Phi_F = 0,0159$ à pH=4,0 et pH=9,0 respectivement. Le spectre d'absorbance de la sonde présentant un point isobestique, celle-ci offre également l'avantage de pouvoir effectuer des mesures ratiométriques. Des études de sélectivité de la sonde ont prouvé l'absence d'interactions de la sonde avec d'autres espèces telles que S^{2-} et SO_3^{2-} susceptibles d'être présentes dans le milieu cellulaire étudié. Une réversibilité de la sonde entre pH=4,0 et pH=8,0 est également démontrée sur huit cycles et les auteurs présentent la possibilité d'un monitoring continu du pH de mitochondries.

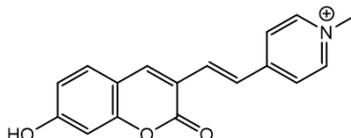


Figure I - 35 : structure de la sonde de pH fluorescente synthétisée par Wu et al. [101]

Le développement de sondes spécifiques à une application donnée est prouvé par les travaux de Lee et al. se basant sur l'association d'un motif hydroxy-coumarine halogéné, occupant le rôle de sonde de pH, à un groupement aminoéthyl permettant d'identifier les transporteurs vésiculaire de monoamines (VMAT) des neurones présynaptiques [102]. La sonde a été développée pour sa sélectivité vis-à-vis des VMAT, pour une gamme de pH acide pH = 5 - 6. Des groupements halogénés électroattracteurs (Cl et F) ont été introduits afin de diminuer le pKa du motif hydroxycoumarine. La structure synthétisée permet d'obtenir une sonde de pH ratiométrique possédant deux fonctions : une fonction de transport par les VMAT associée à une fonction de monitoring de pH. Lee et al. présentent donc la possibilité de suivre des phénomènes intracellulaires spécifiques. Un tel niveau d'ingénierie moléculaire est également démontrée par Vasylevska et al. qui ont développé une série de sondes moléculaires fluorescentes basées sur le motif coumarine, dont l'association permet de couvrir une large de gamme de pH = 1-11 (Figure I - 36 [74]). Le motif coumarine est ici associé à un groupement N,N-Diethylmethylamine pour l'ensemble des sondes proposées, et l'association de différents groupements permet de moduler le pKa des sondes. Les sondes sont immobilisées dans des billes de polymère par une réaction de Mannich puis elles sont dispersées dans un hydrogel pour obtenir des membranes répondant aux variations de pH. Les membranes associant plusieurs sondes ainsi obtenues sont calibrées et une large gamme de pH est couverte. Ces sondes de pH sont intéressantes pour leur intégration dans un capteur de pH ratiométrique en raison de leur photostabilité et leur sélectivité pour des valeurs de force ionique faibles de l'ordre de 140 mM. La comparaison avec une électrode de pH en verre met tout de même en évidence une erreur pouvant atteindre ± 1 unité de pH.

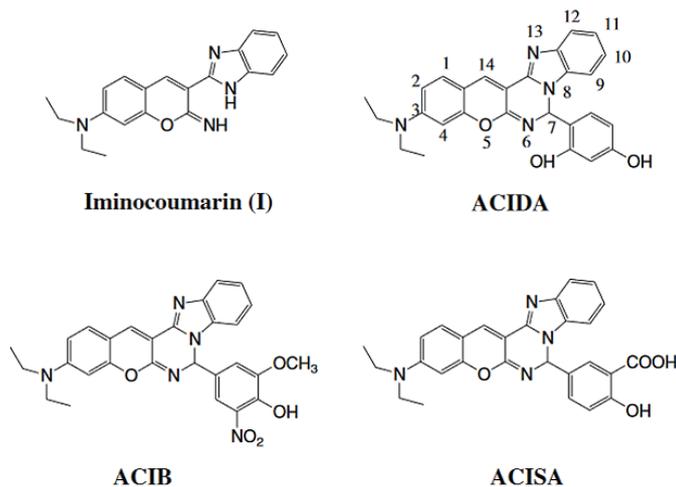


Figure I - 36 : Série de sondes de pH fluorescentes basées sur le motif coumarine développées par Vasylevska et al. (2007) : l'association de plusieurs sondes au sein d'une membrane polymère permet de couvrir une large gamme de pH = 1-9 [74]

Nguyen et al. décrivent la synthèse d'une série de trois sondes de pH coumarine-imidazole spécifiquement développées pour les pH basiques[103]. Les structures des sondes ainsi que l'équilibre de protonation-déprotonation en solution sont présentées en Figure I - 37. Les sondes VIC (vinylbenzylamino imidazolylmethyl coumarine), AIC (acrylamido imidazolylmethyl coumarine) et SIC (styryl imidazolylmethyl coumarine) ont été synthétisées afin de constituer des sondes de pH fluorescentes possédant un $pK_a \sim 11-12,5$, une photostabilité à pH élevé, un rendement quantique de fluorescence relativement élevé pour une application de capteur optique, et incluent une ou plusieurs fonctions permettant leur immobilisation dans une matrice polymère par liaison covalente.

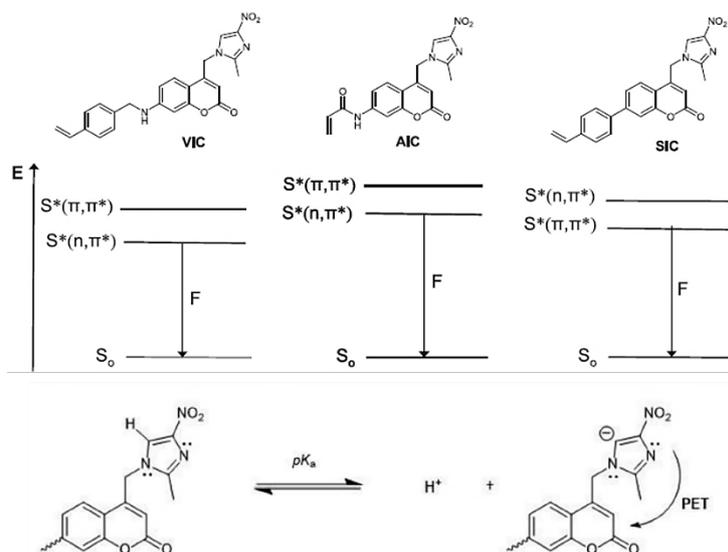


Figure I - 37 : Structures des trois sondes de pH synthétisées par Nguyen et al., diagramme énergétiques probables et équilibre de protonation-déprotonation en solution aqueuse[103]

Les composés absorbent dans l'UV et sont caractérisés par une seule bande d'émission correspondant à la transition $S^*(n,\pi^*) \rightarrow S_0$ pour les sondes VIC, AIC et $S^*(\pi,\pi^*) \rightarrow S_0$ pour la sonde SIC (Figure I - 37, Tableau I - 6). En effet, les coumarines présentent des états π,π^* et n,π^* d'énergies proches impliquant que l'état excité S_1 avec un caractère π,π^* et n,π^* . L'état n,π^* de la sonde VIC a probablement une énergie inférieure à son état π,π^* en raison de la conjugaison du doublet non liant de l'amine en position 7 avec le cœur aromatique. Cette conjugaison est réduite dans le cas d'AIC en

raison de la présence de l'imide. SIC présente un groupement styryle substitué permettant d'augmenter la conjugaison et la transition $S^*(\pi,\pi^*) \rightarrow S_0$ de durée de vie supérieure explique le rendement quantique supérieur (Figure I - 37). Le déplacement de Stokes proche de 100 nm pour chaque sonde est intéressant pour le développement d'un capteur optique puisque l'excitation et l'émission des sondes pourraient être aisément filtrées (Tableau I - 6). Les valeurs des pKa de chaque sonde est déterminé en solution aqueuse et les valeurs sont listées dans le Tableau I - 6. Un exemple d'une courbe de dosage de SIC est montré en Figure I - 38 et un mécanisme PET entre l'imidazole et la coumarine est responsable de la diminution d'IF lors de la déprotonation, comme illustré en Figure I - 37. Par ailleurs, la photostabilité de la sonde VIC piégée dans une matrice polymère a été prouvée dans une solution à pH = 10 : une faible photodégradation est relevée après 3500 s d'illumination continue avec une lampe au Xénon ($\lambda_{ex} = 375\text{nm}$).

Sonde de pH	$\lambda_{\text{absorbance,max}}$ (nm)	$\lambda_{\text{émission,max}}$ (nm)	pKa	$\Phi_{F,\text{eau}}$ (%)	$\Phi_{F,\text{EtOH}}$ (%)
VIC	370	470	12,48±0,06	0,8	2,6
AIC	330	416	12,22±0,07	0,6	1,7
SIC	334	458	12,40±0,24	2,0	25,0

Tableau I - 6 : Propriétés photophysiques des sondes de pH coumarine-imidazole synthétisées par Nguyen et al. Les valeurs de λ et de pKa sont déterminées dans $\text{H}_2\text{O-EtOH}$ 98,5 :1,5 [103]

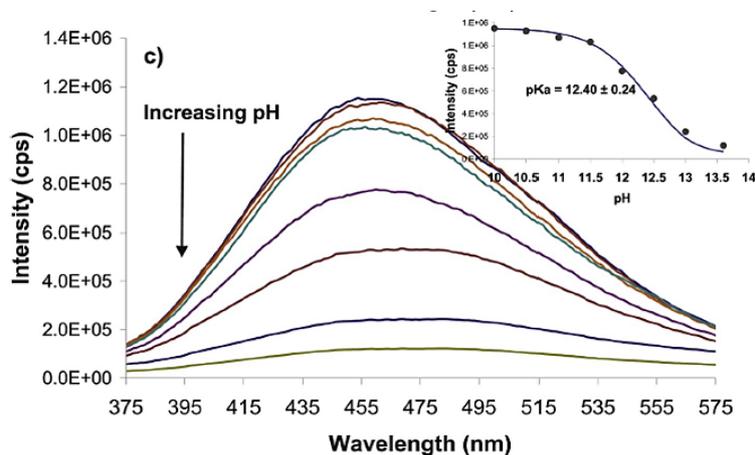


Figure I - 38 : Evolution du spectre d'émission de SIC en fonction du pH en solution aqueuse, $\lambda_{ex} = 330\text{ nm}$ [103]

SONDES DÉVELOPPÉES À PARTIR DU MOTIF RHODAMINE

Les rhodamines sont des composés organiques hétérocycliques fluorescents photostables et possédant généralement des rendements quantiques élevés ($\Phi_F = 0,7-1$) ainsi qu'une solubilité élevée dans l'eau, ce qui justifie leur utilisation comme colorants fluorescents pour diverses applications [93]. Les rhodamines permettent de développer des sondes de mesure du pH intracellulaire en raison de leur biocompatibilité et leur réponse linéaire aux variations de pH dans la gamme pH=5-7 [94]. Aigner et al. ont par exemple développé plusieurs sondes de pH basées sur le motif rhodamine (Figure I - 39 [93]) pour la gamme de pH=5-7. Un mécanisme PET entre les groupements amines déprotonés et le chromophore (rhodamine) comme représenté pour la structure a. sur la Figure I - 39 conduit à une extinction de fluorescence significative. Ainsi les rapports $\frac{\Phi_{F,\text{acide}}}{\Phi_{F,\text{basique}}}$ sont égaux à $\frac{0,40}{<0,01}$, $\frac{0,67}{0,02}$ et $\frac{0,69}{<0,01}$ pour les sondes a, b et c respectivement. Le greffage covalent de ces sondes en surface de billes de silice puis leur inclusion dans un hydrogel permet d'obtenir un gel sensible aux variations de pH sur la gamme pH=3-8. Les sondes développées ne sont cependant pas photostables sous illumination continue, mais il faut considérer que la majorité des applications ne nécessitent pas une illumination continue de la sonde. Les auteurs notent une dépendance de la fluorescence des sondes à la force ionique de l'environnement conduisant à des erreurs de l'ordre de $\pm 0 - 0,2$ unités de pH. Zhang et al. ont

développé une sonde de pH synthétisée à partir d'une rhodamine B en se basant sur un changement de structure entre la forme déprotonée spirocyclique non fluorescente et la forme protonée ouverte présentant une fluorescence intense rouge [104]. Une importante diminution de l'intensité de fluorescence d'un facteur 100 est alors décrite lors du passage d'un pH 4,2 à 6,0. La sonde synthétisée est sélective, photostable et possède un $pK_a = 4,85$ adapté pour le suivi du pH des organelles constituant les cellules. Wu et al. présentent une sonde de pH synthétisée à partir d'une rhodamine-lactam (R6G-lactam) [105]. Contrairement à sa forme déprotonée spirocyclique, la R6G-lactam sous forme protonée est hautement fluorescente en raison de sa structure ouverte [106]. R6G-lactam est associée à la fluorescéine dont la fluorescence décroît en milieu acide, les deux sondes sont greffées de manière covalente en surface de silice mésoporeuse. L'association des variations inverses de fluorescence permet d'observer une augmentation de la fluorescence de R6G-lactam lors d'une diminution de pH de pH=3,5 à pH=7,5, et inversement une augmentation de fluorescence pour la fluorescéine associée. Un raisonnement ratiométrique entre les deux sondes de pH permet d'observer de grandes variations de ratios d'intensité de fluorescence pour de faibles modifications de pH. Ce comportement n'est pas observé pour un fluorophore isolé et permet d'augmenter la sensibilité du système aux variations de pH.

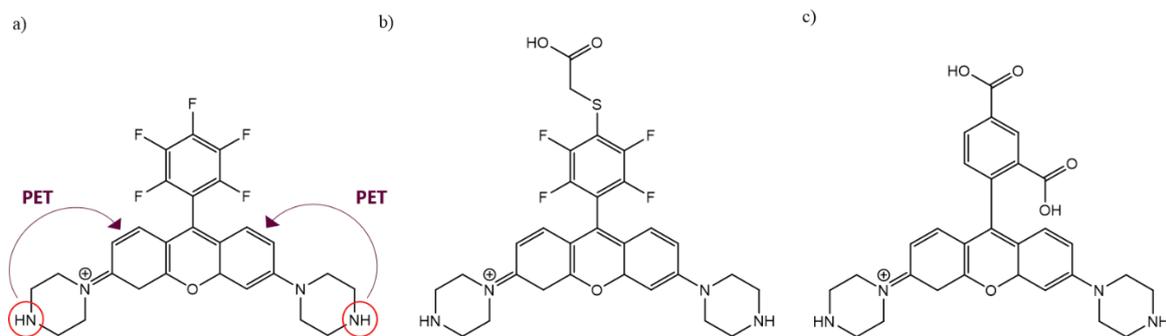


Figure 1 - 39 : Série de sondes de pH fluorescentes basées sur le motif rhodamine développées par Aigner et al. [93]

SONDES DEVELOPPÉES À PARTIR DU MOTIF PYRANINE

La pyranine correspond à un arylsulfonate composé d'un pyrène et peut être utilisé comme sonde de pH fluorescente (Figure I - 40). Dans une solution de faible force ionique, la pyranine possède un $pK_a = 7,2$ et est donc adaptée pour l'étude de phénomènes intracellulaires [70]. Un dérivé de la pyranine, le DHDP (l'acide 1,3-dihydroxypyrene-6,8- disulfonique), présente également une grande sensibilité aux variations de pH mais possède l'avantage d'être peu sensible à la force ionique de l'environnement et possède deux pK_a : $pK_{a,1} = 7,33$ et $pK_{a,2} = 8,55$ [70]. De nombreuses sondes fluorescentes de pH ont été développées à partir de la pyranine dans les années 1970 à 1990. On peut notamment citer les travaux de Kano et Fendler en 1977 visant à étudier le pH en surface et à l'intérieur de liposomes [107]. La pyranine est utilisée comme sonde de pH fluorescente afin de s'affranchir de la problématique de liaison des sondes employées traditionnellement avec la surface des liposomes chargée négativement. La présence d'un gradient de pH traversant la membrane des liposomes est alors mis en évidence. Overly et al. se sont intéressés à la mesure quantitative du pH dans les organelles lors du transport endosomal et lysosomal de neurones [108]. Les auteurs utilisent la pyranine comme sonde de pH ratiométrique avec $\lambda_{exc} = 405$ et 450 nm et établissent des courbes de calibration sur la gamme de pH=4,5-8,0, en incubant les cellules étudiées dans des solutions tampons de potassium de pH connus. Ces travaux mettent en évidence l'importance d'une calibration effectuée dans les conditions physico-chimiques les plus proches de celles de la mesure. Pfundel et al. ont également employé la pyranine comme sonde de pH fluorescente afin d'estimer le pH du lumen de thylakoïdes contenus dans des chloroplastes, avec une précision de $\pm 0,1$ unité de pH [109].

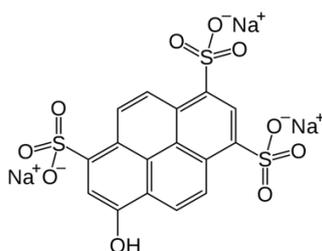


Figure I - 40 : Structure de la pyranine utilisée comme sonde de pH pour l'étude de phénomènes intracellulaires

SONDES DEVELOPPÉES À PARTIR DU MOTIF BODIPY

La famille des BODIPY ou bore-dipyrrométhane présente des caractéristiques photochimiques intéressantes pour le développement de sondes de pH fluorescentes en raison de leur absorbance élevée dans l'UV-visible associée à une émission de fluorescence étroite et un rendement quantique de fluorescence élevé. Enfin, leur fonctionnalisation accessible avec des groupements répondant aux variations de pH les rend attrayants.

Gotor et al. ont synthétisés une série de sondes de pH BODIPY afin de couvrir l'ensemble de la gamme de pH = 0 – 14[110]. Les structures des sondes développées sont présentées en Figure I - 41 et quelques propriétés photophysiques de ces sondes en solution sont présentées dans le Tableau I - 7. Ainsi, l'addition en méso d'un groupement pyridine ou phénol substitué avec une variété de groupements électroattracteurs ou électrodonneurs permet de moduler le pKa de la sonde. Un mécanisme PET entre le groupement R et le motif BODIPY permet d'induire une extinction de fluorescence. Chaque sonde de pH a été également piégée dans une matrice polyuréthane et l'extinction de fluorescence conserve son efficacité. Les matrices solides ainsi constituées ont permis de réaliser des mesures ponctuelles répétitives de pH sur la gamme pH = 2,51 – 10,20 et aucune lixiviation des sondes n'a été relevée. L'utilisation des sondes BODIPY pour des valeurs de pH supérieures à 10,5 pendant un temps prolongé est cependant limité en raison du manque de photostabilité des BODIPY à pH basique[111].

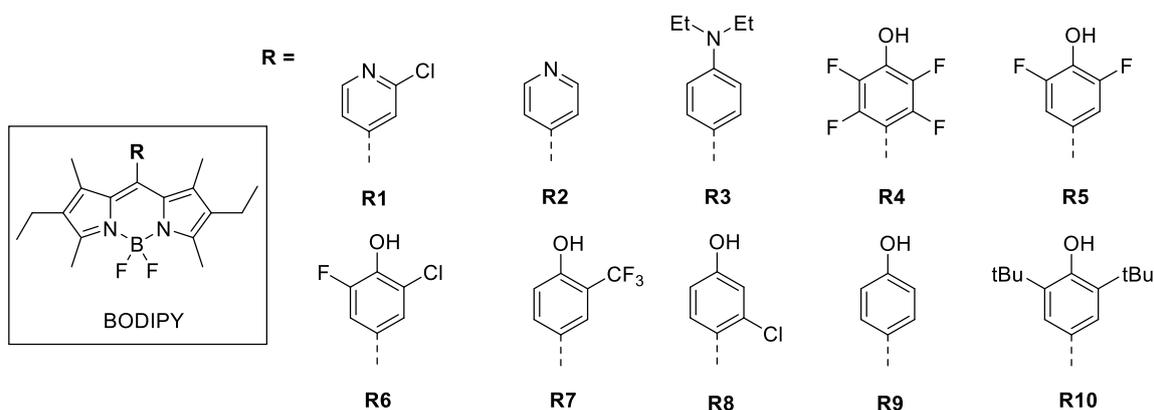


Figure I - 41 : Structures des sondes de pH BODIPY synthétisées par Gotor et al.[110]

Substituant	$\lambda_{\text{abs,max}}$ (nm)	$\lambda_{\text{ém,max}}$ (nm)	$\Phi_{\text{F}}^{\text{ON}}$	$\Phi_{\text{F}}^{\text{OFF}}$	pKa
R1	531	550	0,55	0,01	0,95
R2	529	545	0,64	0,15	2,15
R3	529	540	0,98	<0,01	4,62
R4	540	553	0,96	<0,01	5,13
R5	528	540	0,85	<0,01	7,40
R6	528	541	0,98	<0,01	7,13
R7	526	538	0,89	<0,01	8,75
R8	530	541	0,96	<0,01	9,33
R9	523	532	0,90	<0,01	9,98
R10	522	533	0,93	<0,01	13,10

Tableau I - 7 : Propriétés photophysiques des sondes de pH BODIPY en solution H₂O/EtOH 1:1 v/v synthétisées par Gotor et al. dont les structures sont présentées en Figure I - 41 [110]

Parmi la famille des composés BODIPY, la classe des aza-BODIPY, ou BF₂-tetraarylazadipyrométhène, est intéressante en raison de la photostabilité supérieure, comme prouvée par Strobl et al. avec le développement d'une série de sondes de pH (Figure I - 42)[112]. Un mécanisme PET entre le groupement phénol ou amine et l'aza-BODIPY induit une extinction de fluorescence lors de la déprotonation. Le pKa des sondes est déterminé en solution EtOH/H₂O (1 :1) et la série développée couvre la gamme de pH = 2,6-11,9 (Tableau I - 8). Ainsi, la substitution du phénol par un ou deux atomes électroattracteurs conduit à une diminution du pKa de la sonde (structures 1 à 4), tandis que la substitution de l'aza-BODIPY par un groupement électrodonneur de type butoxy permet d'augmenter le pKa de la sonde (structures 2, 4, 6). L'originalité des structures 7 et 8 réside dans la présence d'une liaison ne possédant pas un caractère π -conjugué entre le groupement répondant aux variations de pH (un groupement amide ici) et le cœur aza-BODIPY, permettant d'atteindre des valeurs de pKa extrêmes. Aucune variation du spectre d'absorbance lors de la déprotonation des sondes 7 et 8 confirme un mécanisme PET caractérisé par une extinction de fluorescence totale. Pour les sondes 1 à 6, le déplacement bathochromique en absorbance lors de la déprotonation suggère la présence d'un mécanisme ICT en complément du mécanisme PET (Tableau I - 8). Le rendement quantique de fluorescence des sondes est déterminé pour les espèces protonées et est compris entre 17 et 23%. Il n'est pas mesurable pour les sondes déprotonées en raison d'une extinction quasi-totale de la fluorescence après déprotonation.

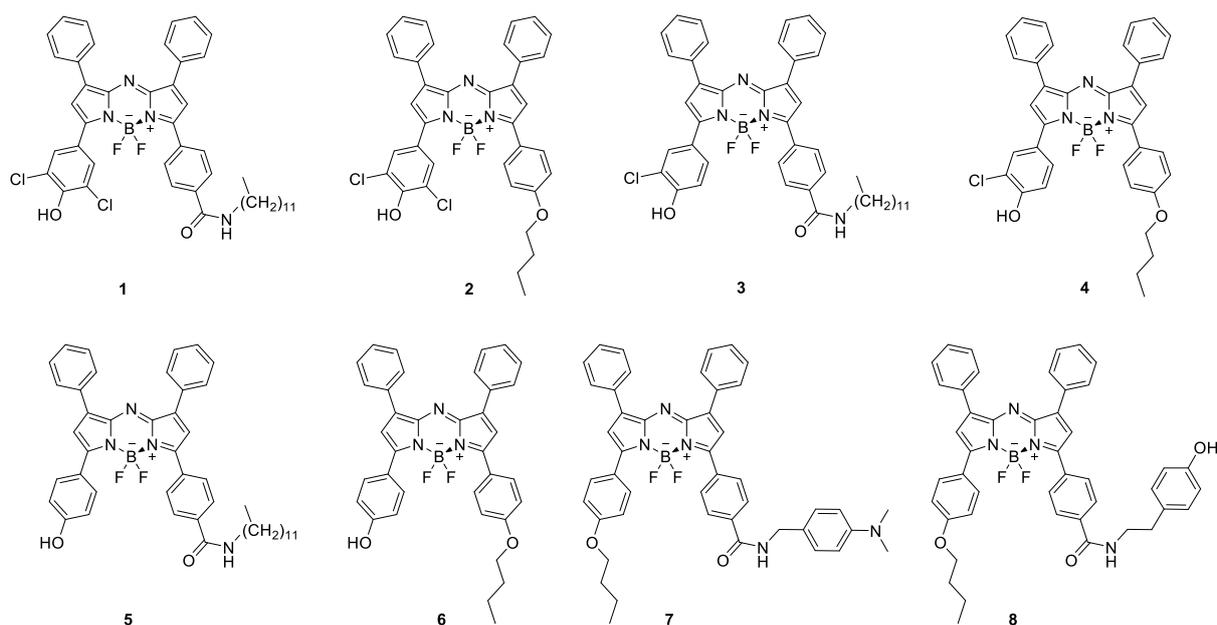


Figure I - 42 : Série de sondes de pH aza-BODIPY synthétisée par Strobl et al.[112]

Sonde de pH	$\lambda_{\text{abs, max-acide}} \text{ (nm)}$	$\lambda_{\text{abs, max-base}} \text{ (nm)}$	$\lambda_{\text{ém, max}} \text{ (nm)}$	$\Phi_{\text{F,acide}} \text{ (\%)}$	$\text{pKa}_{\text{ém}}$
1	670	744	697	17	3,87
2	683	755	715	19	4,72
3	677	738	703	20	6,47
4	687	750	724	20	6,54
5	678	730	708	22	8,02
6	690	743	729	23	8,78
7	675	675	704	22	3,31
8	675	675	703	19	11,13

Tableau I - 8 : Propriétés photophysiques des sondes aza-BODIPY synthétisés par Strobl et al., déterminées dans une solution EtOH/H₂O (1 :1)

Une illumination continue des sondes aza-BODIPY en solution à l'aide d'une LED ($P=10 \text{ W}$, $\lambda_{\text{ex}} = 642 \text{ nm}$) confirme la photostabilité des sondes protonées. La synthèse d'une série de sondes présentant des spectres d'absorbance et d'émission similaires offre la possibilité d'associer plusieurs sondes au sein d'une matrice afin de constituer une membrane répondant aux variations de pH sur une large gamme. Strobl et al. illustrent cette possibilité en piégeant physiquement les sondes 1,2,3 et 5 dans une matrice polyuréthane (HydroMed™ D4) ; la membrane ainsi développée couvre la gamme de pH = 2 – 10 (Figure I - 43). Il faut noter une diminution du pKa des sondes d'environ 0,4 à 0,6 unités après piégeage dans la matrice polyuréthane. Cette diminution est attribuée à une concentration en sonde plus élevée dans la matrice relativement à la solution, induisant un mécanisme non radiatif FRET (Fluorescence Resonance Energy Transfer) en raison de la proximité des sondes[112].

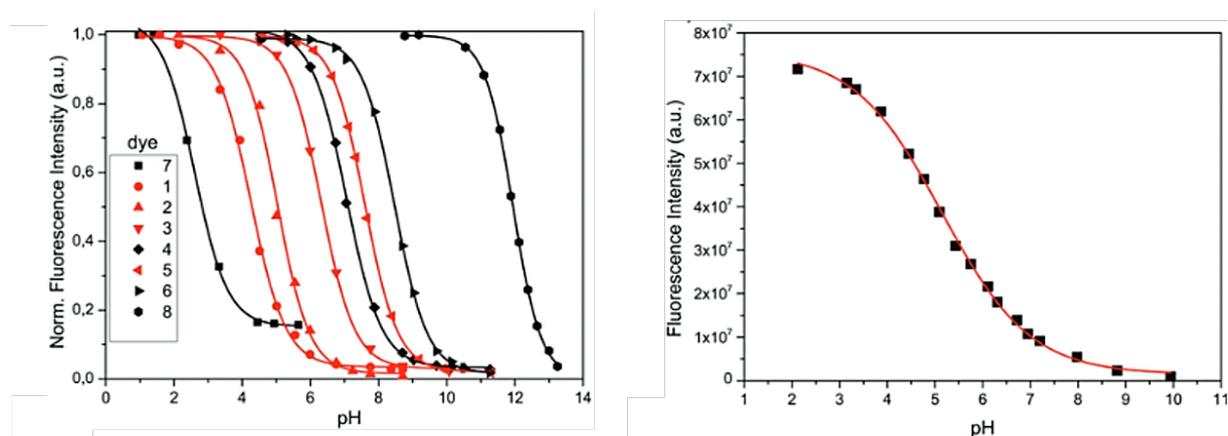


Figure I - 43 : Courbes de calibration d'hydrogels polyuréthane (HydroMed™ D4) dopés avec les sondes aza-BODIPY 1 à 8 (gauche) et courbe de calibration d'un hydrogel polyuréthane (HydroMed™ D4) dopé avec les sondes aza-BODIPY 1, 2, 3 et 5 synthétisées par Strobl et al.[112]

Cette hypothèse est confirmée par Staudinger et al. qui synthétisent une série de sondes de pH aza-BODIPY dont la fluorescence est purement modulée par un mécanisme PET (Figure I - 44)[113]. Pour l'ensemble des sondes de pH, le groupement sensible aux variations du pH est situé en position méta d'un substituant phényle par rapport au cœur aza-BODIPY et la substitution du phényle permet de moduler le pKa de chaque sonde synthétisée (Figure I - 44). La substitution du BODIPY en position méta au lieu de la position para parfois privilégiée est un choix conscient. En effet, une substitution de l'aza-BODIPY en para avec un phénol ou une amine induit une extinction de fluorescence liée à un mécanisme PET et est accompagné d'un déplacement bathochromique du spectre d'absorption prouvant un mécanisme ICT[113]. Ce double mécanisme peut impliquer un comportement complexe des sondes de pH en solution et dans des matrices solides. Le Tableau I - 9 liste quelques propriétés photophysiques des sondes aza-BODIPY synthétisées[113], et les sondes 1 et 5 n'étant pas solubles

dans une solution EtOH/H₂O leur pKa est défini après solubilisation dans une matrice polyuréthane commerciale (HydroMed™ D4).

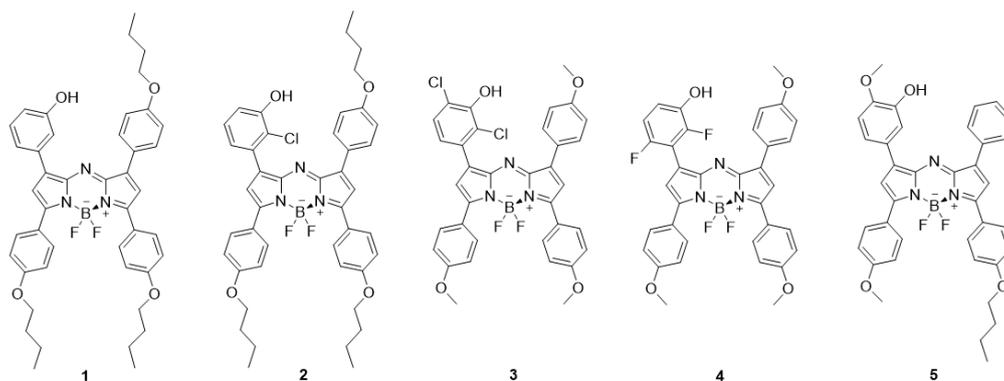


Figure I - 44 : Structures des sondes de pH aza-BODIPY synthétisées par Staudinger et al. [113]

Sonde de pH	$\lambda_{\text{absorbance, max}}^{(a)}$	$\lambda_{\text{émission, max}}^{(a)}$	$\Phi_{F,\text{acide}} (\%)^{(a)}$	$\text{pKa}_{\text{solution}}^{(b)}$	$\text{pKa}_{\text{polyuréthane}}^{(c)}$
1	696	720	24	-	11,7
2	696	721	27	11,1	10,8
3	695	721	26	7,8	7,5
4	694	720	27	10,3	10,3
5	698	722	14	-	11,6

Tableau I - 9 : Propriétés photophysiques des sondes aza-BODIPY synthétisés par Staudinger et al. ^(a) THF, ^(b) EtOH/H₂O (1 :1) pour les composés solubles, ^(c) composés solubilisés dans polyuréthane HydroMed™ D4 [113]

III.3. Mesure du pH par fluorescence : conclusion

La fluorescence constitue une propriété photophysique puissante afin d'élaborer des sondes moléculaires spécifiques, permettant de développer des outils analytiques sensibles et précis. Une sonde moléculaire fluorescente est caractérisée par un ensemble de propriétés photophysiques dont :

- Le spectre d'absorbance ;
- Le spectre d'émission ;
- Le rendement quantique de fluorescence Φ_F dont la valeur élevée et proche de 1 permet d'obtenir un signal élevé au niveau de la détection de l'outil développé ;
- Une photostabilité, essentielle au développement d'un outil analytique.

Une multitude de sondes moléculaires fluorescentes ont été développées pour une variété d'analytes, notamment pour la détection de cations. Une variété de sondes moléculaires fluorescentes de pH ont également été synthétisées. Ces sondes de pH sont constituées d'une fonction spécifique aux analytes H₃O⁺ et HO⁻, et sont donc caractérisées par un pKa définissant la gamme de mesure. Ces sondes sont généralement caractérisées par un mécanisme ICT ou PET régissant l'extinction de fluorescence en fonction du pH.

La synthèse de sondes de pH fluorescentes pour la gamme de pH visée, i.e. pH = 10,5-13,5, est complexe car la majorité des sondes organiques développées ne sont pas photostables sur cette gamme. Ainsi, les motifs fluorescéine, rhodamine et pyranine sont adaptés à la mesure de pH physiologiques, tandis que les sondes BODIPY, bien que présentant des Φ_F élevés, ne sont pas photostables pour des valeurs de pH > 11. Strobl et al. [112] et Staudinger et al. [113] se sont alors

orientés vers des sondes aza-BODIPY plus photostables mais présentant tout de même une faible photodégradation à pH basique pour des temps d'irradiations longs.

La synthèse de sondes de pH spécifiques à la gamme de pH = 10,5-13,5 est donc nécessaire et la caractérisation de leurs propriétés photophysiques en solution permettront de valider la pertinence de la sonde pour le développement d'une optode dédiée à la mesure du pH du béton.

IV. Optodes dédiées à la mesure du pH

IV.1. Les capteurs optiques mesurant des substances spécifiques ou optodes

Les capteurs optiques mesurant une substance à l'aide d'un transducteur chimique, également appelés optodes, ont connus de nombreux développements ces dernières années en raison d'une stabilité au long terme par comparaison avec les électrodes, de leur faible coût, de leur faible consommation énergétique et d'une facilité de miniaturisation[114]. Le développement d'une optode nécessite trois composants : une sonde sensible à l'analyte à détecter, une matrice permettant d'inclure cette sonde et de former un matériau sensible à l'analyte, et un dispositif permettant de lire le signal électrique ou numérique (Figure I - 45)[115].

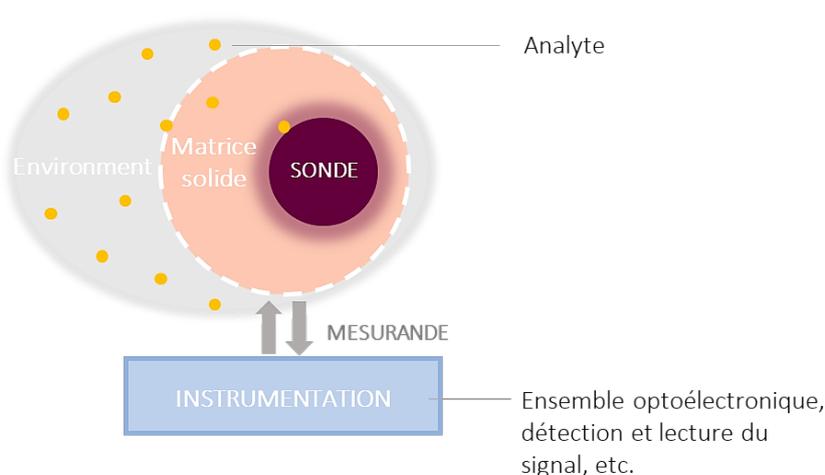


Figure I - 45 : Schéma général des composants d'une optode

En 1939, Hans Kautsky identifie le phénomène d'extinction de luminescence en présence d'oxygène pour différentes substances chimiques dont la tryptaflavine, la chlorophylle et les porphyrines[116]. Kautsky et Hirsh présentaient déjà la première optode d'oxygène en 1930 (Figure I - 46)[117] et leurs travaux pionniers serviront de base pour développer les premières optodes d'oxygène.

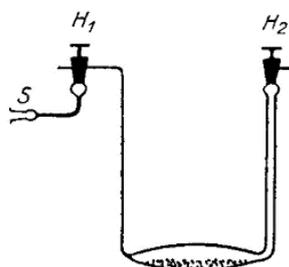


Figure I - 46 : Illustration de la première optode d'oxygène développée par Kautsky et Hirsh en 1939. Un gaz contenant de l'oxygène est introduit dans la cellule à travers la valve H1 et l'extinction de fluorescence de la sonde déposée sur un gel de silice au fond de la cellule est suivi par fluorimétrie[117]

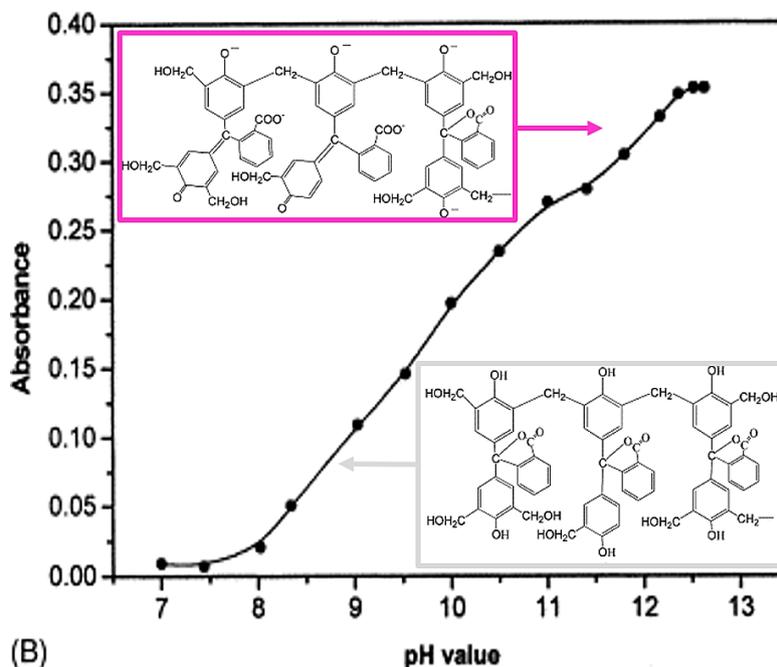
De nombreux développements concernant les sondes moléculaires, les matrices solides ainsi que l'instrumentation et les méthodes de mesure vont suivre ces premiers travaux.

IV.2. Nature du mesurande

La nature du mesurande est imposé par la sonde moléculaire sélectionnée et on distingue principalement les optodes basées sur une mesure d'absorbance ou de réflectance, et les optodes basées sur une mesure de luminescence. Par conséquent, la nature du mesurande dicte l'instrumentation et la méthode de détection à inclure dans l'optode.

IV.2.a. Optodes mesurant l'absorbance ou la réflectance

Quelques capteurs optiques de pH basés sur des indicateurs colorés sont décrits dans la littérature. Ainsi, la phénolphthaléine possédant un $pK_a \approx 9,5$ en solution a été largement utilisée en solution afin de mettre en évidence les fronts de carbonatation de matériaux cimentaires. Liu et al. décrivent la polymérisation de la phénolphthaléine avec l'introduction de groupements hydroxy méthyles afin de constituer un composé phénolphthaléine-formaldéhyde (PPF)(Figure I - 47)[118]. Le composé PPF est greffé sur une matrice diacétylcellulose afin de constituer une membrane dont l'absorbance varie en fonction du pH.



La réponse linéaire de la membrane sur la gamme $pH = 8 - 12$ prouve que la matrice développée est intéressante pour le développement d'une optode de pH. Des temps de réponse courts (2 à 30 s) ont été obtenus par hydrolyse de la diacétylcellulose en milieu basique (NaOH 0,1 M), mais la diacétylcellulose étant instable à $pH > 13$ [119], les études ont été effectuées sur la gamme $pH = 7 - 13$. Une optode pour la gamme physiologique de pH a également été développée à partir du rouge de phénol ($pK_a \approx 8,0$ en solution) pour des mesures de pH dans des petits volumes (microlitres)[120]. Heydari et al. prouvent que le greffage covalent d'un indicateur coloré tel que l'Orange (II) ou Tropaeolin OOO1 sur une membrane agarose permet d'étendre le domaine de réponse du capteur développé [121]. Ainsi l'Orange II utilisé pour la gamme de $pH = 7,4 - 8,6$ a permis de développer une membrane dont l'absorbance diminue en fonction du pH (Figure I - 48), avec une bonne réversibilité et un temps de réponse court (150 – 200 s).

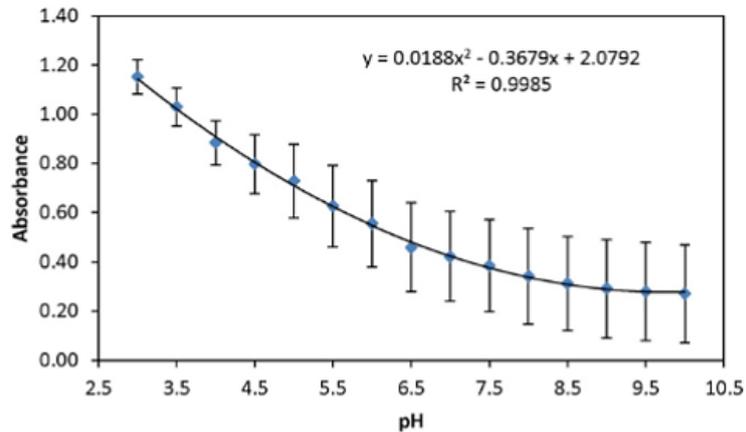


Figure I - 48 : Courbe de calibration d'une membrane en agarose greffée avec l'indicateur de pH coloré Orange (II), à $\lambda=490$ nm[121]

Le développement d'optodes de pH basées sur des indicateurs colorés seuls reste limité à certaines applications en raison de la sensibilité faible et des interférences optiques liées à l'environnement par exemple. Une mesure continue en absorbance (par transmission) implique nécessairement que l'indicateur coloré soit piégé dans une matrice transparente et que l'environnement étudié soit transparent, peu réfléchissant et peu diffusant. L'éventuel coloration de l'environnement étudié ne doit pas interférer avec les variations d'absorbance de l'indicateur coloré en fonction du pH. En pratique, la mesure par réflectance est plus largement mise en place et la relation de Kubelka et Munk permet d'établir une relation entre la concentration en indicateur coloré c , l'intensité de la lumière réfléchi par diffusion R_{diff} et le coefficient d'extinction molaire de l'indicateur coloré ϵ [24]. Un coefficient caractéristique de la matrice de l'indicateur coloré noté S est également introduit :

$$c = \frac{S(1 - R_{diff})^2}{2\epsilon R_{diff}} \quad \text{Eq. I - 42}$$

L'instrumentation pour une mesure par réflectance est peu coûteuse et transportable. La Figure I - 49 représente une configuration type pour une mesure continue du pH par réflectance. La matrice sensible aux variations de pH est optiquement isolée afin d'éliminer les interactions optiques avec l'environnement sondé. La détection du signal est assurée par une photodiode tandis que l'excitation est obtenue à l'aide d'une diode électroluminescente (LED). Une seconde LED, excitant l'indicateur coloré à une seconde longueur d'onde, permet d'obtenir un signal de référence interne.

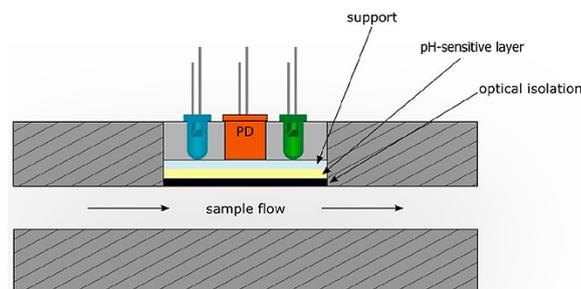


Figure I - 49 : Représentation d'un module optoélectronique pour un suivi du pH en continu par réflectance [24]

IV.2.b. Optodes mesurant la luminescence

Plusieurs méthodes de mesure de la phosphorescence et de la fluorescence existent :

MESURE DE L'INTENSITÉ : il s'agit de la méthode la plus décrite pour le développement de capteurs de pH basés sur la luminescence de composés. La loi de Parker permet de définir l'intensité de

luminescence mesurée F comme le produit de l'intensité de la source d'excitation I , du coefficient d'extinction molaire ϵ , du rendement quantique de luminescence Φ , de la concentration en sonde luminescente c , de la longueur de pénétration de l'excitation l , et d'un facteur géométrique k lié à l'instrumentation (Eq. I - 37). La loi de Parker ne s'applique que pour les concentrations en sonde c faibles avec des absorbances telles que $A < 0.05$ [24], mais une calibration initiale du capteur permet de relier l'intensité de luminescence au pH de l'environnement dans le cas plus général. L'instrumentation pour la mesure d'intensité de luminescence est peu coûteuse, robuste et portable. Bien que largement employé, le suivi de l'intensité de luminescence doit prendre compte des variations de géométrie de l'échantillon, de l'instabilité de la source d'excitation ainsi que d'une variation de la concentration en sonde au cours de la mesure. L'ajout d'une référence interne permet de compenser ces limitations.

MESURE RATIONOMÉTRIQUE BASÉE SUR L'INTENSITÉ : certaines sondes de pH présentent une émission permettant de réaliser une mesure ratiométrique. L'intensité de luminescence peut être mesurée à deux longueurs d'onde et le suivi du rapport des intensités constitue une mesure permettant de s'affranchir de l'instabilité de la source d'excitation ainsi que d'une variation de la concentration en sonde au cours de la mesure. L'instrumentation à mettre en place reste peu coûteuse, robuste et portable. L'ajout d'une référence interne dont la luminescence ne varie pas en fonction du pH permet également de corriger l'instabilité de la source d'excitation et une variation de la géométrie de l'instrumentation ou de la matrice luminescente[24].

MESURE DE LA DURÉE DE VIE : le déclin de luminescence d'une sonde de pH varie en fonction de son état de protonation. La mesure du temps de décroissance constitue alors une méthode présentant une précision de la mesure et ne nécessitant pas de référence interne. La fluorimétrie de phase ou alors la fluorimétrie pulsée permet de mesurer le temps de décroissance de luminescence d'une sonde en fonction du pH, mais cette instrumentation est coûteuse et il semble difficile de développer un outil de mesure portable et robuste.

MESURE BASÉE SUR DEUX DURÉES DE VIE : généralement appelée 'dual lifetime referencing' ou DLR cette méthode repose sur l'association de deux espèces luminescentes dont les ordres de grandeur des temps de vie sont différents. Dans le cas d'une sonde de pH fluorescente, celle-ci est associée à une espèce phosphorescente possédant un temps de vie bien supérieur. L'intensité de luminescence est alors mesurée durant l'excitation, lorsque la fluorescence et la phosphorescence sont détectables. La source d'excitation est alors éteinte et l'intensité de luminescence est mesurée après un temps δt correspondant au temps de vie de fluorescence de la sonde de pH. Cette seconde mesure correspond alors à une mesure du temps de vie de la phosphorescence. Comme illustré en Figure I - 50, une variation du pH affecte uniquement la première phase de la mesure, et le composé phosphorescent agit comme une référence interne. Un raisonnement similaire peut être appliqué dans le domaine des fréquences. Le méthode DLR constitue une méthode uniquement affectée par une lixivation ou un photoblanchiment des composés luminescents.

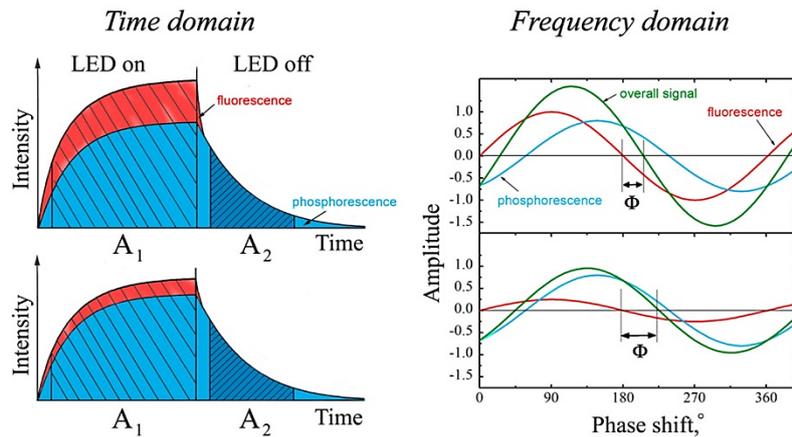


Figure 1 - 50 : Principe de la méthode DLR (Dual Lifetime Referencing) illustrée pour les deux états d'une sonde de pH fluorescente (haut et bas)[24]

Liebsch et al. décrivent le développement d'un capteur optique de pH exploitant la méthode DLR dans le domaine du temps ou t-DLR en associant la fluoescéine dont la fluorescence dépend du pH au ruthenium(II)-4,7-diphenyl-1,10-phenanthroline dont la phosphorescence est indépendante du pH[122]. Ainsi, les auteurs dressent un cahier des charges permettant d'appliquer la méthode t-DLR pour le développement d'un capteur optique de pH :

- Le fluorophore et la référence phosphorescente doivent posséder des durées de vie largement différentes
- La phosphorescence de la référence ne doit pas être affectée par le pH
- Les spectres d'excitation des deux composés doivent se recouvrir afin de permettre l'excitation simultanée des deux composants à une même longueur d'onde
- Les phénomènes de lixiviation et de photoblanchiment de la sonde et de la référence doivent être évités car ils ne sont pas compensés par la méthode t-DLR[122].

IV.3. Choix de la matrice pour le développement d'optodes de pH

Comme détaillé dans la section III.2.b., la sélection de la sonde moléculaires de pH fluorescente se base sur le pKa de la sonde et ses propriétés photochimiques dans l'environnement étudié. Le choix de la matrice permettant de piéger la sonde n'en demeure pas moins essentiel. En effet le rôle de la matrice est double : elle doit constituer un support dans lequel la sonde moléculaire est physiquement piégée ou greffée de manière covalente, afin de constituer une matrice dopée avec une concentration en sonde c constante au cours de la mesure. Elle peut également constituer une membrane sélective permettant de détecter uniquement l'analyte à mesurer. Il faut noter le cas particulier des matrices solides dont les propriétés photophysiques dépendent directement du pH de l'environnement sondé. Pour le cas particulier des optodes de pH, la matrice doit être sélectivement perméable aux ions H_3O^+ et HO^- et ne doit pas être hydrophobe afin de permettre un contact entre l'environnement sondé et la matrice. Comme vu précédemment, la fluorescence des sondes de pH peut varier en fonction de la force ionique. L'utilisation des matrices non ioniques associées à des sondes monochargées permet généralement d'éliminer l'effet de la force ionique sur la fluorescence[92].

Les sections suivantes listent les matrices inertes couramment utilisées pour le développement d'optodes de pH, ainsi que quelques matrices dont les propriétés photophysiques dépendent du pH.

IV.2.a. Matrices organiques inertes

La majorité des matrices utilisées pour le développement d'optodes de pH correspondent à des polymères organiques non ioniques. Le Tableau I - 10 présente les polymères organiques couramment utilisés pour le développement d'optodes de pH. Les propriétés et caractéristiques de ces matrices sont discutées dans un but de comparaison.

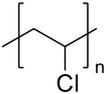
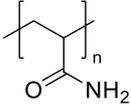
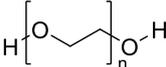
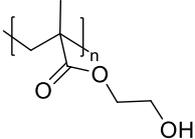
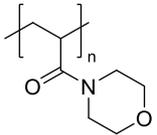
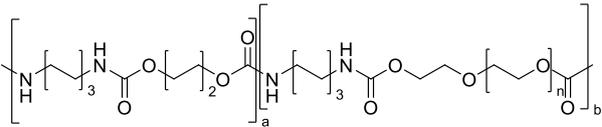
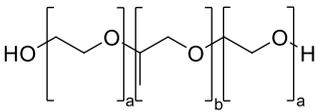
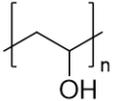
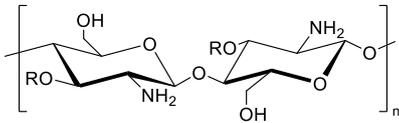
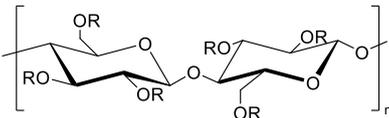
Nom	Abréviation	Structure
Polyvinyle de chlorure plastifié	PVC plastifié	
Polyacrylamide	PAM	
Polyéthylène glycol	PEG	
poly(2-hydroxyethyl méthacrylate) ou Hydron	pHEMA	
Polyacryloylmorpholine	PAMP	
Polyuréthane	-	
Polaxomère	-	
Alcool polyvinylique	PVA	
Chitosane	-	
Cellulose	-	

Tableau I - 10 : Principales matrices organiques utilisées pour le développement d'optodes de pH

- **PVC plastifié** : Bien que le PVC ne soit pas un polymère perméable aux protons, ceux-ci peuvent être transportés dans la matrice en se basant sur le principe d'échange ion/proton, en incluant une sonde de pH lipophile. Rivera et al. développent une optode de pH basée sur des mesures d'absorbance de cyanines solubilisées dans des membranes PVC en présence d'un plastifiant (bis(2-ethylhexyl)sebacate) et d'un additif lipophile anionique (potassium tetrakis(4-

chlorophenyl)borate)[123]. Une photodécomposition des sondes de pH solubilisées dans la membrane PVC se produit tout de même. L'étude d'une série de porphyrines lipophiles solubilisées dans des membranes plastifiées de PVC en absence ou présence d'un additif anionique (tetrakis(p-chlorophenyl)borate ou TCPB) permet de prouver que les porphyrines peuvent être déprotonées dans les membranes PVC[124]. Cependant le rôle de l'additif anionique joue un rôle important dans la valeur du pKa des porphyrines solubilisées, avec une diminution du pKa entre 4 et 6 unités de pKa par rapport à la valeur déterminée en solution en absence de TCPB.

- **PAM** : Peterson et al. mettent en évidence la copolymérisation en une étape du PAM avec le rouge de phénol, le jaune brillant et l'acide rosolique en 1980[125]. Netto, Peterson et al. copolymérisent deux sonde de pH dans des microsphères de PAM réticulé afin de développer une optode de pH pour une large gamme de pH (pH = 0,5-7) avec un temps de réponse compris entre 1 à 3 min. Song et al. présentent la copolymérisation de sondes carboxynaphthofluorescéine dans une matrice PAM sur l'extrémité d'une fibre optique préalablement silanisée[126]. L'optode de pH ainsi développée possède une taille réduite (diamètre 2 à 125 μm) intéressante pour les applications in vivo et les mesures en volumes réduits. Pathak et Singh mettent en évidence une variation linéaire du volume d'un hydrogel PAM réticulé sur une fibre optique silanisée sur la gamme pH = 3-10 et exploitent cette propriété afin de développer un capteur optique de pH sans sonde de pH[127]. Le capteur se base sur la transmission de la fibre optique fonctionnalisée en fonction du pH.
- **PEG** : la réticulation de chaînes PEG permet d'obtenir des hydrogels amphiphiles avec l'introduction de méthyle siloxane cycliques. Ainsi, les domaines hydrophobes formés par le siloxane permet un piégeage physique efficace de sondes de pH $[\text{Ru}(\text{phen})_2[\text{phen}(\text{OH})_2]^{2+}$ et $[\text{Ru}(\text{Ph}_2\text{phen})_2[\text{phen}(\text{OH})_2]^{2+}$ lipophiles, empêchant la lixiviation de la sonde sans recourir à un greffage covalent. La présence de chaînes PEG permet de former des domaines hydrophiles et l'optode de pH ainsi développée a un temps de réponse de 4 à 10 minutes[128]. La copolymérisation de tetracarboxy porphyrines avec des chaînes PEG diamines permet de former des hydrogels dont la fluorescence est sensible au pH sur une gamme pH = 6-8, particulièrement intéressante pour des applications in vivo comme prouvé par Huang et al.[129].
- **pHEMA ou Hydron** : le pHEMA constitue une matrice hydrophile capable d'absorber jusque 30% en poids d'eau[130]. Sa biocompatibilité justifie son utilisation pour le développement d'optodes en biologie. Hisamoto et al. décrivent la copolymérisation du pHEMA avec l'acide acrylique en présence d'un initiateur de polymérisation UV afin d'obtenir des matrices hydrophiles sur lesquelles des indicateurs de pH présentant une fonction amine peuvent être greffés par amidation[131]. L'optode de pH ainsi obtenue présente une réversibilité et une déviation standard faible proche de 1% après 10 cycles de protonation-déprotonation. Le pHEMA peut être copolymérisé avec une sonde de pH : ainsi, Meldrum et al. synthétisent une série de dérivés naphthalimide présentant des groupements méthacrylates pouvant être greffés avec le pHEMA[132]. La copolymérisation de pHEMA avec un aminoacrylamide (N-aminoethylacrylamide) permet de greffer des sondes de pH possédant des fonctions sulfonamide ou amide[133]. Cependant, une hydrolyse des groupements esters se produit à pH élevé.
- **PAMP** : les matrices réticulées PAMP permettent la photo polymérisation de sondes présentant des fonctions acrylamides, acrylate et allyliques[24]. Aigner et al. développent la première optode de pH en se basant sur une matrice poly(acryloylmorpholine) en raison de son caractère hydrophile avec une rétention massique d'eau de 50%[134]. Le développement de l'optode de pH est basé sur des sondes 1-aminoperylene bisimides et les auteurs comparent

le piégeage physique d'une sonde de pH dans une matrice HydroMed™ D4 à la photocopolymérisation de la même sonde afin de former une matrice PAMP réticulée. Ainsi, la copolymérisation de la sonde de pH permet d'obtenir une matrice hydrophile homogène ne présentant pas de domaines hydrophobes qui induirait la migration de la sonde entre les domaines en fonction de sa polarité. L'optode de pH développée à partir de la matrice PAMP possède des temps de réponse rapides inférieurs à 90 s avec une réponse dynamique supérieure, définie comme le rapport entre la réponse maximale et minimale du capteur[134]. Staudinger et al. comparent également un piégeage physique d'une sonde de pH aza-BODIPY dans une matrice HydroMed™ D4 au greffage covalent d'une sonde identique dans une matrice réticulée PAMP[135]. Ainsi, l'option du piégeage physique dans une matrice amphiphile conduit à des temps de réponse longs ($t_{95} \sim 5$ min à température ambiante) et une dépendance entre la température et le temps de réponse est établie en raison de la cinétique de migration de la sonde ($t_{95} \sim 3$ h à $T = 4^\circ\text{C}$). Le greffage covalent de la sonde de pH hydrophobe dans une matrice PAMP implique des étapes de synthèse additionnelles complexes mais aboutit à des temps de réponse rapides ($t_{95} \sim 15$ s à température ambiante). Il faut noter la complexité de la synthèse des matrices présentées par Staudinger et al., nécessitant des étapes de protection puis déprotection de la sonde de pH aza-BODIPY en raison de son instabilité en présence de radicaux[135].

- **Polyuréthane** : les hydrogels polyuréthane sont biocompatibles, présentent une grande résistance chimique et mécanique. Ils sont commercialisés (polyuréthanes HydroMed™ commercialisés par AdvanSource Biomaterials) et facilement mis en forme en raison de leur solubilité dans un grand nombre de solvants organiques. Ils sont composés d'un bloc A hydrophobe associé à un bloc B hydrophile. L'insolubilité de l'hydrogel dans l'eau associée à leur capacité de rétention d'eau suggère une réticulation de la matrice[24]. Hoarea et Kohane précisent qu'une séparation de phase liée à la diminution de la surface d'interaction des domaines hydrophobes avec les milieux aqueux est attendue dans le cas des polymères amphiphiles[136]. L'HydroMed™ D4 est l'hydrogel le plus couramment utilisé[24, 113-114, 135, 137-142] et présente une capacité de rétention d'eau de 50% en masse d'après AdvanSource Biomaterials. L'HydroMed™ D4 possède une bonne résistance chimique et mécanique en milieu basique [113, 138-139].
- **Polaxomère** : les hydrogels de type polaxomère correspondent à des polymères triblocs composés de blocs hydrophobes entourés de blocs hydrophiles d'éthylène glycols. Les polaxomères sont des hydrogels thermogélifiants et biocompatibles. Leur mise en forme et utilisation reste donc accessible pour les applications ne présentant pas des températures élevées ou de grandes variations de température. Wang et al. utilisent un polaxomère commercial nommé Pluronic™ F-127 afin de former des micelles dont le cœur hydrophobe piège une sonde de pH fluorescente lipophile (fluorescéine H-110) ainsi qu'une porphyrine servant de référence[143]. Les micelles sont ensuite piégées dans des particules de silice afin de constituer des nanosondes entourées de chaînes polymères biocompatibles et injectables dans des cellules. La présence du motif PEG (polyéthylène glycol) induit une variation de la solubilité en fonction du pH en raison de la déprotonation des blocs hydrophiles. Une transition de phase peut donc être observée aux pH élevés[144].
- **PVA** : l'alcool polyvinylique est largement utilisé dans le secteur biomédical en raison son caractère hydrophile, biodégradable et biocompatible. Une multitude d'agents réticulants sont utilisés dont l'hexaméthylène[145] diisocyanate[146], l'acide sulfosuccinique[145] ou l'acide sulfophtalique[147-148]. Le glutaraldéhyde est l'agent réticulant le plus cité en raison de son coût faible, sa réactivité élevée et sa toxicité faible après réticulation[149-154]. Une réticulation des chaînes hydrosolubles de PVA se produit également après plusieurs cycles de congélation-décongélation en raison de la formation de cristallites de PVA occupant le rôle de

réticulant physique[155-156] ou par irradiation gamma[156]. Les hydrogels PVA ont été utilisés en industrie pour la séparation de solvants organiques tels que l'éthanol en raison de leur sélectivité vis-à-vis de l'eau ; les mécanismes et cinétiques de réticulation du PVA en présence de réticulants tels que le glutaraldéhyde sont donc extensivement décrits[152]. Les hydrogels PVA réticulés avec le glutaraldéhyde sont particulièrement intéressants en raison de leur conductivité protonique élevée ($\sigma=7,5\times 10^{-3} \text{ S.cm}^{-1}$ avec un degré de réticulation de 2,8%), qui explique leur utilisation pour le développement de piles à combustible bactérienne[149]. La résistance mécanique des hydrogels PVA augmente avec la concentration en réticulant mais leur hydrophilicité diminue[150]. L'augmentation de la concentration en glutaraldéhyde est accompagnée d'une diminution de la conductivité protonique et de la capacité de rétention d'eau (Figure I - 51)[149]. La solubilisation du PVA dans le DMSO jusqu'à un ratio massique de 20% permet d'obtenir des hydrogels transparents tout en maintenant une résistance mécanique[155], ce qui les rend pertinents pour le développement de capteurs optiques. La microstructure d'hydrogels PVA dépend de la méthode de réticulation : ainsi, une réticulation par trois cycles de congélation-décongélation conduit à une microstructure en nid d'abeille[155] tandis que la réticulation chimique du PVA avec le glutaraldéhyde forme une structure poreuse[153].

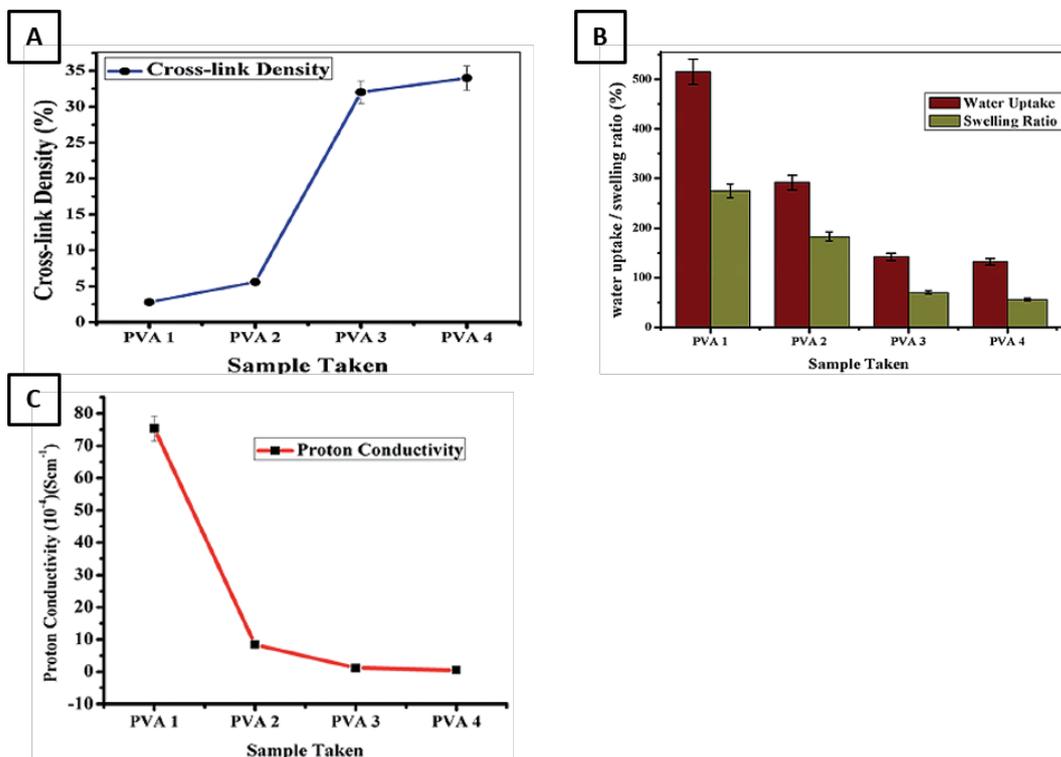


Figure I - 51 : Degré de réticulation d'hydrogels PVA – glutaraldéhyde (A), évolution de la rétention d'eau et du gonflement (B) et évolution de la conductivité protonique (C) en fonction du taux de réticulation [149]

- **Chitosane** : le chitosane est un polysaccharide généralement extrait de sources fongiques. Son utilisation dans le secteur de l'agroalimentaire afin de constituer un matériau indicateur de l'altération d'aliments est alors justifié. La majorité de ces matériaux se basent sur des indicateurs colorés afin de constituer un packaging intelligent : par exemple, Yoshida et al. solubilisent l'anthocyane AC-2-12R-WS-P dans des hydrogels de chitosane acétylés et observent une variation de coloration du rose (pH ~ 2), au bleu-vert (pH ~ 7), au jaune (pH ~ 13)[157]. De manière similaire, des hydrogels de chitosane acétylés et réticulés avec du glutaraldéhyde peuvent être teintés avec des indicateurs colorés extraits de plantes (*Bauhinia blakeana* Dunn) afin de constituer un film intelligent avec une variation de coloration du rouge

au vert sur la gamme de pH = 2,2 – 9,0[158]. Kenney et al. décrivent la préparation de particules d'oligosaccharide de chitosane greffées avec l'isothiocyanate de fluorescéine[159]. Les particules sont ensuite dispersées dans l'HydroMed™ D4 afin de constituer des membranes avec une épaisseur moyenne de 100 µm. La présence d'enzymes susceptibles de dégrader la chitosane, ainsi que la présence de groupements amine se déprotonant à pH élevés et augmentant la solubilité de la chitosane limitent cependant l'utilisation de ce polymère.

- **Cellulose** : cet homo-polymère hydrophile, naturel et abondant sur Terre constitue une plateforme organique intéressante pour le développement d'optodes de pH en raison de sa versatilité mais également grâce aux nombreux protocoles simplifiés, accessibles et innovants disponibles dans la littérature. La cellulose a par exemple été utilisée afin de constituer une optode pour la détection et la quantification de polyquaterniums ou de F⁻/HF, avec un procédé d'impression jet d'encre d'un chromoionophore directement sur la cellulose[160-161]. Une optode développée avec le même type de chromoionophore piégé dans une matrice polymère classique présente des temps de réponse d'environ 15 minutes, tandis qu'une optode imprimée sur la cellulose a un temps de réponse d'environ 5 minutes en raison de l'accessibilité du chromoionophore[160]. Des nanocristaux de cellulose peuvent être greffés avec des sondes de pH de type fluorescéine isothiocyanates (FITC) en formant des liaisons thiocarbamate (Figure I - 52)[162]. Une molécule dont la fluorescence n'est pas fonction du pH peut également être greffée afin de constituer une référence interne pour l'optode. Au vu du faible nombre de fluorophores commerciaux présentant des fonctions isothiocyanates, Nielsen et al. proposent également de fonctionnaliser les nanocristaux de cellulose avec des groupements amine primaire. Ainsi, une estérification permet d'introduire un groupement comportant une double liaison en surface des nanocristaux, et une addition de Michael avec un thiolène permet ensuite de coupler une sonde de pH comportant un groupement ester succinimide (Figure I - 52)[162]. Des fibres d'aminocellulose ont été greffées avec une variété de sondes de pH basées sur le 4-amino-1,8-naphthalimide comportant un acide carboxylique, avant d'être dispersées dans une matrice HydroMed™ D4[163]. L'optode de pH ainsi développée couvre une très large gamme de pH = 1-14. Le greffage des sondes de pH de type FITC ou iminocoumarin sur des particules microniques d'aminocellulose est également décrit[74, 164], avec une stratégie de dispersion des particules dans des hydrogels comme l'HydroMed™ D4. Enfin, le dépôt de films minces d'acétylcellulose greffés avec des sondes de pH via des groupement ethyl-sulfonyle sur des supports transparents de polyéthylène téréphtalate constitue une méthode de choix pour le développement d'optodes[165-169].

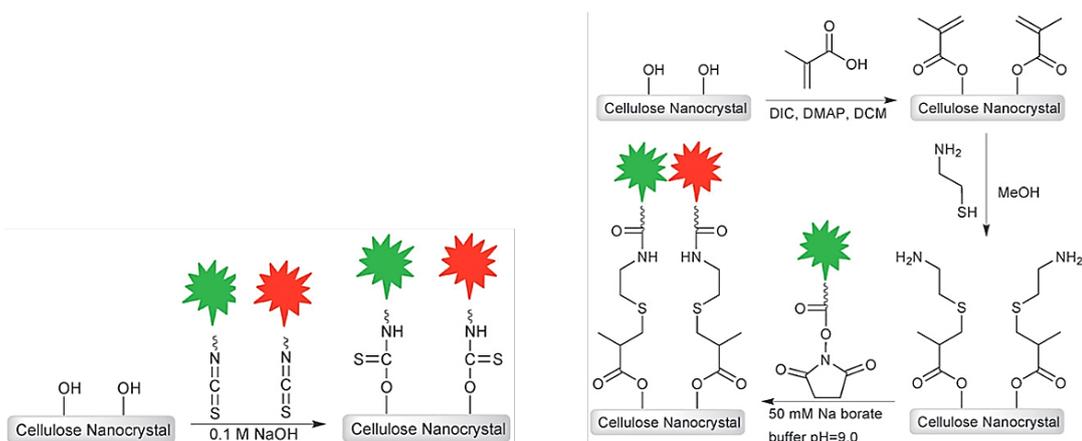


Figure I - 52 : Protocoles de greffage covalent d'une sonde isothiocyanate (gauche) et d'une sonde ester succinimide (droite) sur des nanocristaux de cellulose[162]

IV.2.b. Matrices inorganiques inertes

Les matrices inorganiques peuvent également être utilisées pour le développement d'optode de pH. Deux catégories de matrices inorganiques sont retrouvées : les matériaux sol-gels et les autres matériaux mésoporeux inorganiques.

MATÉRIAUX SOL-GELS

Les matériaux sol-gels sont obtenus par procédé solution-gélification (ou sol-gel) et permettent d'obtenir des matériaux inorganiques ou hybrides (organiques-inorganiques) tels que le verre, les céramiques ou des composés organo-minéraux innovants. Les matériaux obtenus sont vitreux et poreux et peuvent être mis en forme afin d'obtenir des films, couches minces et revêtements. Le procédé sol-gel correspond à l'enchaînement de réactions d'hydrolyse, condensation et polycondensation (Figure I - 53) à partir d'une solution de précurseurs, à température modérée, afin de former un réseau d'oxydes poreux[170]. Les précurseurs correspondent généralement à des alcoxydes métalliques solubles comme l'alcoxyde de silicium. La gélification de la solution correspond à une polymérisation inorganique tridimensionnelle des oligomères colloïdaux, accompagnée d'une production de molécules d'eau et d'alcool piégées dans les pores formés.

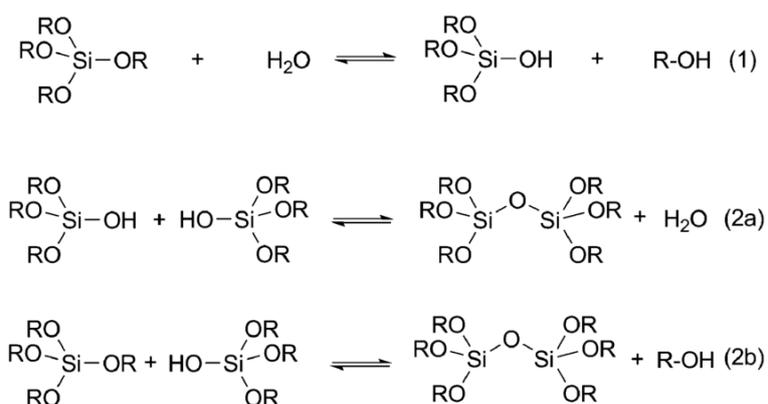
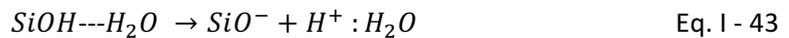


Figure I - 53 : Trois réactions du procédé sol-gel à partir de précurseurs d'alcoxyde de silicium. Hydrolyse des groupements alcoyles en groupements silanols avec libération d'un alcool (1), suivie d'une condensation de deux silanols avec libération d'eau (2a) ou condensation d'un silanol avec un alcoyle (2b)[171]

L'une des premières optodes de pH développée à partir d'un procédé sol-gel est décrite par Wolfbeis et al. : une sonde de pH carboxynaphthofluorescéine est greffée sur des fibres d'aminocellulose, piégées à leur tour dans un sol-gel synthétisé à partir de précurseurs tetraethoxysilane (TEOS). La gélification est catalysée par un acide (HCl) et dure 48h, puis l'évaporation des solvants est poursuivie durant 24-48h[172]. Ce procédé permet de former des films de sol-gel sur des surfaces en verre : pour cela des lames de verre sont immergées dans le sol-gel durant 10 min et une évaporation des solvants à 100°C durant 24h, suivie de trois jours d'équilibre permet d'obtenir des surfaces homogènes. Le pKa de la sonde carboxynaphthofluorescéine n'est pas significativement modifié entre la forme libre de la sonde (pKa = 7,62±0.03), la forme greffée sur l'aminocellulose (pKa = 7,41±0.11) et la forme greffée sur l'aminocellulose puis piégée dans le sol-gel (pKa = 7,46±0.11). Une membrane constituée d'aminocellulose piégée dans un hydrogel polyuréthane est étudiée pour comparaison : ainsi l'inclusion de l'aminocellulose dans un sol-gel permet de limiter la photodégradation de la sonde mais une lixiviation est observée, à l'inverse l'hydrogel conduit à une photodégradation de la sonde à pH > 9 sans lixiviation. D'après Wolfbeis et al., l'avantage principal du sol-gel est la possibilité de former des films sur des surfaces en verre mais la dispersion de l'aminocellulose dans un hydrogel est la méthode retenue[172]. De plus, l'utilisation d'une matrice sol-gel conduit à des temps de réponse longs (10 à 12 min) rationalisé par les mécanismes de

transfert de protons mis en jeu. En effet, le transfert de protons dans les hydrogels hydratés est régi par le mécanisme de Grotthuss (transmission d'un proton à travers les liaisons hydrogène des molécules d'eau, par formation et rupture de liaison covalente). A l'inverse, le transfert de protons dans les matériaux sol-gels se produit par 'diffusion structurelle' [173-174]: par exemple, dans le cas des sol-gels dérivés du verre un proton se dissocie d'une liaison SiOH et est transféré à une molécule d'eau avant de s'en dissocier selon l'équation suivante :



Cette diffusion structurelle est nécessairement régie par le nombre de molécules d'eau liées aux groupements silanols SiOH : les liaisons H entre la sonde de pH et les groupements silanols, ainsi que le nombre de molécules d'eau liées aux groupements silanols dictent donc la cinétique de transfert de protons dans une matrice sol-gel. Le temps de réponse est négativement impacté par la présence de groupements lipophiles de type alkyle ou aryle, mais l'augmentation du caractère hydrophile de la matrice permet de limiter la lixiviation de la sonde de pH[175]. Il est également démontré que la catalyse acide d'un sol-gel conduit à une taille de pores inférieure à 2 nm, tandis qu'une catalyse basique forme des pores de taille supérieure[176].

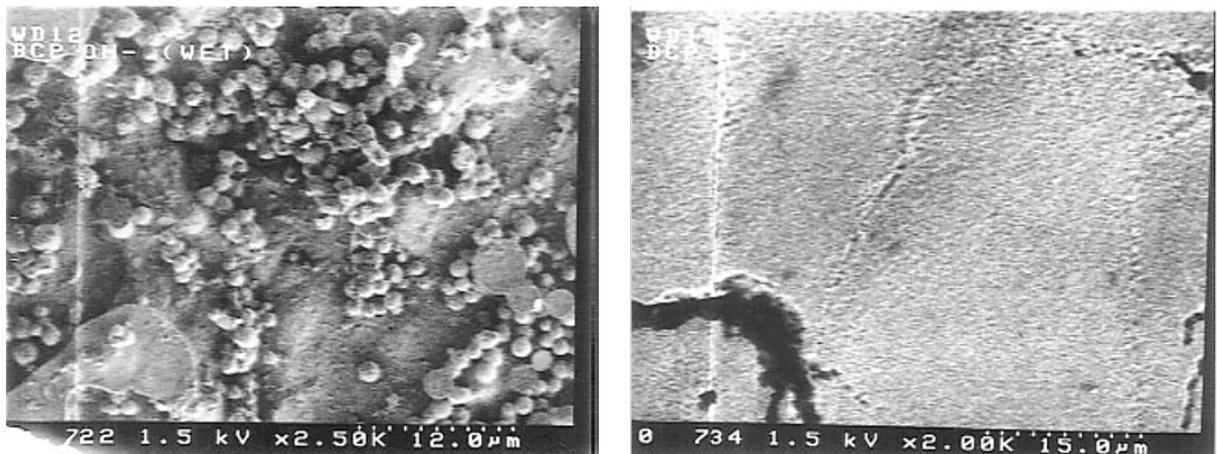


Figure I - 54 : Surfaces de matrices sol-gels obtenues à partir de précurseurs $\text{Si}(\text{OMe})_4$ avec une catalyse basique (gauche) et acide (droite), observées au MEB[176]

Hench et West prouvent que la stabilisation de la structure d'un sol-gel est de l'ordre de plusieurs jours avec une évolution de la porosité du matériau et de sa surface spécifique observée après 1 à 2 mois[170]. L'augmentation du pKa d'une sonde de pH jusque 0,75 unités dans une matrice sol-gel hybride PVA-TEOS après deux mois prouve que la cinétique des réactions de polycondensation est lente[177]. Li et al. obtiennent cependant une optode de pH stable en piégeant un sonde de pH 10-(4-aminophenyl)-5,15,-dimesitylcorrole dans un sol-gel de 4 µm d'épaisseur, préparé à partir de précurseurs TEOS sur une lame de verre[178]. L'optode ainsi développée a un temps de réponse de 120 s, reste stable durant 1 mois lorsqu'elle est conservée dans une solution aqueuse et est photostable à pH ~ 10. De plus, une variation de température de 50°C n'influe pas l'intensité de fluorescence de la matrice et sa réponse linéaire sur une gamme de pH = 2-10 rendent l'application intéressante. Lobnik et al. démontrent également que la conservation d'un sol-gel TMOS (tetraméthoxysilane) dopé avec une sonde de pH aminofluorescéine dans une solution aqueuse avec un pH > 8 permet de stabiliser le pKa et le temps de réponse de l'optode[179]. Cependant, après 6 mois de conservation une lixiviation de la sonde de pH est observée et une conservation du sol-gel à T=70°C ou dans une solution aqueuse avec un pH > 8 conduit à une modification structurelle du matériau.

Une modification du pKa de la sonde de pH entre sa forme libre en solution et sa forme piégée dans une matrice sol-gel est courante : une augmentation de 1-3 unités de pKa pour des indicateurs colorés de pH piégés dans des matrices sol-gel hybrides peut se produire[180-181], tandis que l'association d'un indicateur de pH comme le rouge de méthyle et d'un surfactant lipophile (bromure de cetyltriméthylammonium ou CTAB) afin de limiter la lixiviation de la sonde conduit à une diminution du pKa de la sonde de 1-3 unités de pKa[182].

Un greffage des sondes de pH directement en surface de fibres optiques en verre constitue une alternative attrayante pour le développement d'optodes de pH miniaturisées. Fages, Doizi et Deniau décrivent par exemple un procédé innovant appelé GraftFast® permettant de greffer des molécules comportant une amine primaire aromatique dans sa structure moléculaire sur une fibre optique[183]. Ainsi, le rouge neutre a été greffé en surface d'une lame de verre présentant une couche mince d'or mais peu de détails concernant les performances de l'optodes sont fournies. Mesnage et al. prouvent que deux mécanismes coexistent lors du greffage covalent du diazonium sur un substrat en or : le diazonium cationique forme un groupement azo en réagissant avec le substrat et une hétérolyse favorise la dédiazotation formant un aromatique cation[184].

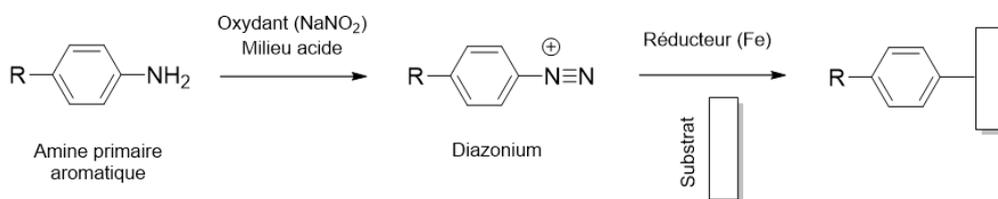


Figure I - 55 : Greffage covalent d'une molécule comportant une amine primaire aromatique sur un substrat en verre par le procédé GraftFast®[183]

AUTRES MATÉRIAUX MÉSOPOREUX

Différents matériaux mésoporeux peuvent être synthétisés afin de constituer des matrices pour les sondes de pH. Une synthèse basée sur un procédé sol-gel avec l'ajout d'un composé éliminé en fin de synthèse permet par exemple d'obtenir une matrice mésoporeuse : Wirnsberger et al. synthétisent un film par catalyse acide de précurseurs TEOS en présence d'un polaxomère (Pluronic F127) et d'une sonde fluorescéine isothiocyanate-APTS (3-aminopropyltriéthoxysilane)[185]. Le polaxomère est solubilisé dans l'éthanol après stabilisation du sol-gel, obtenue suite à 10 jours à température ambiante et 3-5 jours à T=70°C. Comme pour les sol-gels, la dispersion de la sonde de pH dans le matériau conduit à un élargissement de la réponse de l'optode sur la gamme pH = 4-11. Un temps de réponse court $t_{95} = 7$ s est attribué à la structure mésoporeuse de la matrice. De manière similaire, Hiruta et al. ont décrit la synthèse de films minces de silice mésoporeuse par un procédé sol-gel basé sur des précurseurs TEOS catalysé par HCl en présence d'un surfactant polyoxyéthylène cétyle éther (Brij®56)[186]. La dissolution du surfactant dans le toluène à chaud permet d'obtenir un film mésoporeux de silice greffé avec une sonde de pH triéthoxysilane-BODIPY (Figure I - 56). L'optode développée est caractérisée par un temps de réponse court $t_{95} = 20-30$ s. La sonde de pH possédant un groupement diméthylamine protonable, une diminution importante du pKa de la sonde greffée sur la matrice est à noter puisque l'optode de pH est sensible sur la gamme pH = 0,8-4,1.

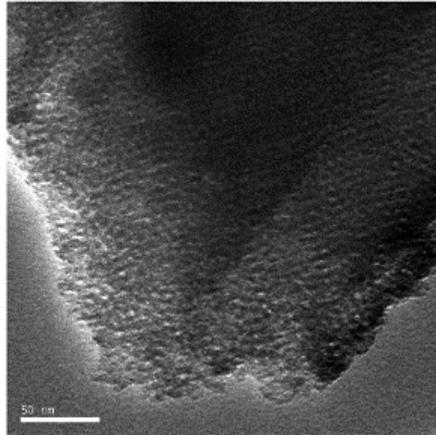


Figure I - 56 : Image MET d'un film mince de silice mésoporeuse avec une structure cubique (échelle : 50nm)[186]

IV.2.c. Matériaux réactifs aux variations du pH de l'environnement

Les matériaux réagissant directement au pH de leur environnement offrent la possibilité de développer des optodes de pH sans l'intervention d'une sonde de pH moléculaire. Ces matériaux occupent alors un double rôle et peuvent être classés en différentes catégories : les polymères, les polymères conjugués et les MOFs (Metal-Organic Framework).

POLYMÈRES NON CONJUGUÉS

Les polymères peuvent voir leurs propriétés structurales et/ou leurs propriétés optochimiques changer sous l'action d'une variation de pH. En effet, une variation de pH peut induire une variation de la morphologie des polymères structurés, impactant le signal optique transmis par le polymère. Kocak, Tuncer et Bütün distinguent huit variations de morphologies pour les polymères structurés dans une revue recensant les polymères sensibles aux variations de pH (Figure I - 57)[187]. Kocak et al. classifient ces polymères en fonction de leurs groupements caractéristiques: d'une part, les polymères acides caractérisés par une protonation/déprotonation dans la gamme de pH acide, et d'autre part les polymères basiques caractérisés par une protonation/déprotonation dans la gamme de pH basique[187]. Le Tableau I - 11 liste quelques structures de polymères basiques sensibles aux variations de pH. Cette protonation/déprotonation à l'échelle du matériau correspond à une ionisation/déionisation du polymère qui accepte ou relargue des protons en fonction de son pKa. Cette transition entre un matériau ionique et un matériau non-ionique s'accompagne d'une variation des propriétés chimiques du matériau comme une diminution de solubilité ou du caractère hydrophile par exemple, pouvant engendrer une restructuration ou un gonflement du matériau (Figure I - 57).

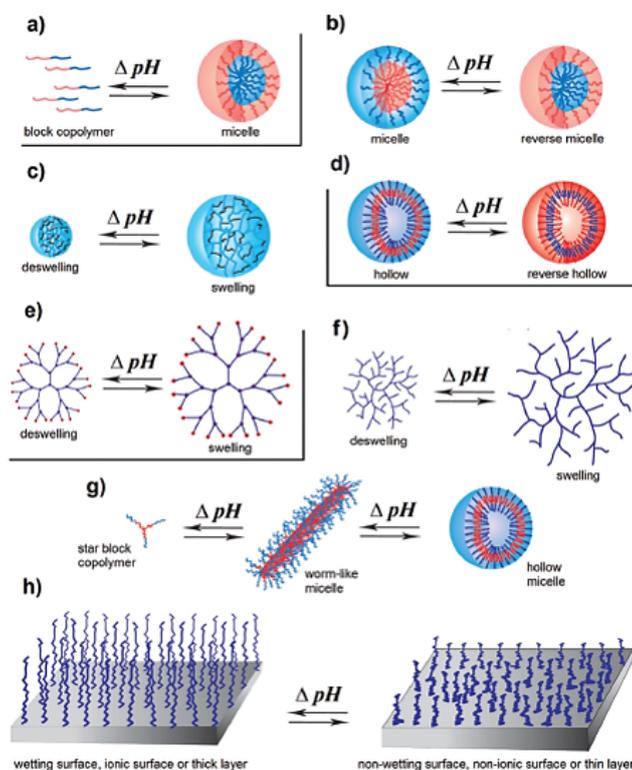


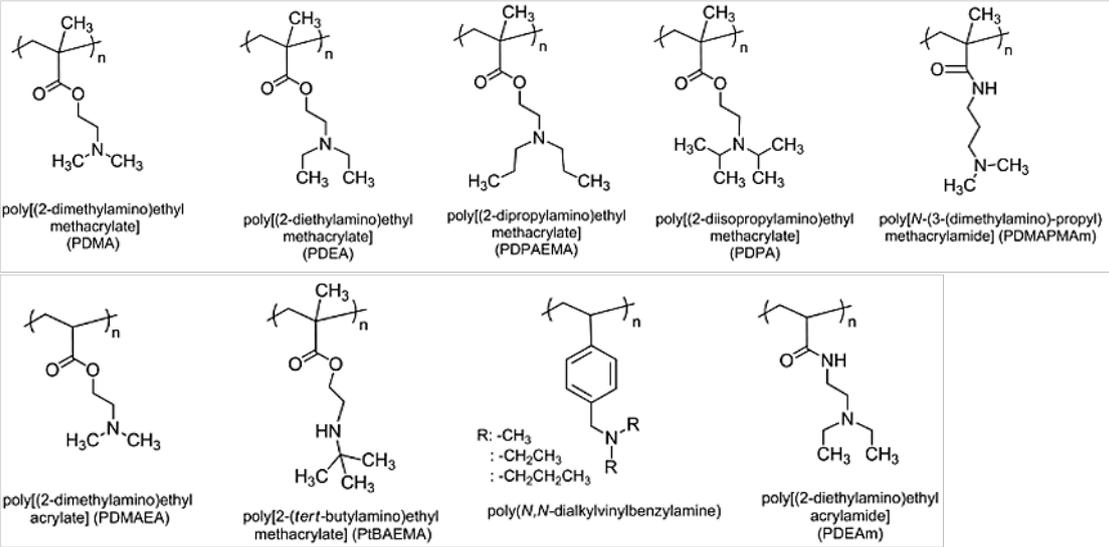
Figure 1 - 57 : Différentes variations d'architectures de polymères liées au pH de l'environnement :: a) Monomère \leftrightarrow micelle b) Micelle \leftrightarrow micelle inverse c) Gonflement \leftrightarrow dégonflement d'un nanogel ou microgel d) Micelle vésicule \leftrightarrow micelle vésicule inverse e) Gonflement \leftrightarrow dégonflement de dendrimères f) Gonflement \leftrightarrow dégonflement d'un polymère hyper-ramifié g) Variation de la morphologie des micelles h) Polymères avec une morphologie en brosse[187]

Le développement d'optodes de pH se basant sur ces polymères reste complexe lorsque la réponse du matériau aux variations de pH s'accompagne d'une grande variation des propriétés physiques du matériau, comme une transition de phase par exemple. Les optodes de pH développées peuvent se baser sur une variation du volume du matériau en fonction du pH. Ainsi, Herber et al. développent une optode de pH et de CO₂ miniaturisée basée sur un hydrogel DMAEMA-HEMA (diméthylaminoéthyl méthacrylate – 2-hydroxyéthyl méthacrylate)[188]. Le gonflement de l'hydrogel dépendant du pH mais également de la force ionique de l'environnement, l'hydrogel DMAEMA-HEMA est déposé en contact d'un capteur de pression et est recouvert d'une solution de NaCl-NaHCO₃ dont la force ionique est optimisée afin de maximiser la variation de volume en fonction du pH. Le recouvrement du capteur par une membrane en PDMS présentant des pores de taille 50×50 μm² associé à la conservation du capteur dans un milieu avec une humidité relative de 100% permet d'éviter l'évaporation de l'électrolyte tout en conservant une perméabilité aux gaz et aux solutions. A terme, le capteur miniaturisé est destiné à être placé dans un cathéter afin de suivre l'évolution du pH et du CO₂ d'un environnement humide comme l'estomac. La variation de volume d'un hydrogel conduit également à une variation de l'indice de réfraction du matériau. Cette propriété peut être exploitée afin de développer une optode de pH mesurant la résonance en mode de pertes d'une fibre optique recouverte d'un hydrogel PAH-PAA (polyhydrochlorure d'allylamine - acide polyacrylique)[189]. Zubieta et al. utilisent une méthode de nanofabrication couche par couche basée sur l'adsorption de composés de charges opposées. Une fibre optique subit un premier traitement KOH afin d'obtenir des charges négatives en surface, puis la première couche nanométrique déposée est obtenue par immersion dans une solution de PAH puis dans une solution de PAA. Le pKa du film formé dépend du nombre de bicouches déposées et les deux optodes décrites permettent de détecter des variations de pH sur les gammes pH = 4-5 et pH = 7-8 avec une grande sensibilité[189].

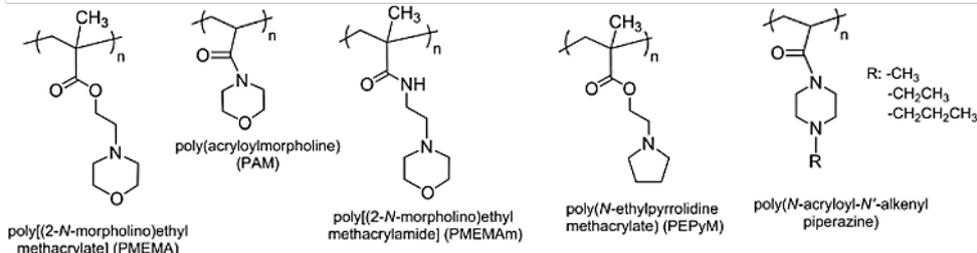
D'autres optodes peuvent être développées à partir de polymères dont l'absorbance est fonction du pH. He et al. décrivent par exemple la complexation de chaînes PEG comportant des groupements catéchols terminaux avec l'acide 1,3-benzenediboronique en milieu basique (pH ~ 9), formant un hydrogel[190]. Cette complexation n'a pas lieu en milieu acide car les groupements catéchols terminaux et l'acide 1,3-benzenediboronique sont sous forme protonée (pKa = 9,3 et 8,7 respectivement). En milieu acide, l'absence d'un réseau tridimensionnel conduit donc à la formation d'une solution, possédant une absorbance différente comme illustré en Figure I - 58.

Le caractère hydrophile du PVP (poly(4-vinylpyridine)) varie en fonction du pH et d'autres variations de son microenvironnement. En effet, les groupements pyridine du PVP se déprotonent en milieu acide (pKa ~ 4), rendant la polymère soluble en milieu aqueux. Wang et al. synthétisent un polymère PVP multicouche grâce à une polymérisation sélective d'un copolymère PVP-NH₂ – PMAA (poly(4-vinylpyridine-co-(aminopropyl) methacrylamide – poly(acide méthacrylique))[191]. L'hydrogel multicouche présente une diminution d'épaisseur d'environ 200 nm lorsqu'il est exposé à une solution à pH = 2 puis une solution à pH = 6, accompagné d'une variation d'angle de contact de 50°. Wang et al. démontrent également que la capacité du matériau à gonfler dépend de sa mise en forme; ainsi la méthode adoptée du 'spin-coating' (ou enduction par centrifugation) permet d'obtenir une variation du volume d'un facteur 10 alors qu'un procédé de 'dip-coating' (ou enduction par immersion) diminue cette variation de volume à un facteur 2,6. En effet, le procédé de spin-coating permet un arrangement des chaînes PVP alors que le dip-coating promeut une organisation désordonnée des chaînes PVP induisant une réduction du volume libre de l'hydrogel[191].

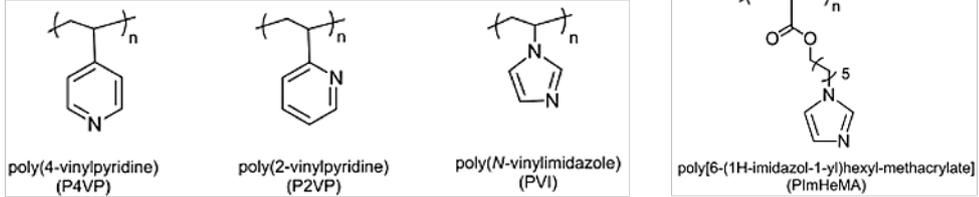
GROUPEMENT AMINE TERTIAIRE



GROUPEMENT MORPHOLINO, PYRROLIDINE OU PIPÉRAZINE



GROUPEMENT PYRIDINE OU IMIDAZOLE



DENDRIMÈRES

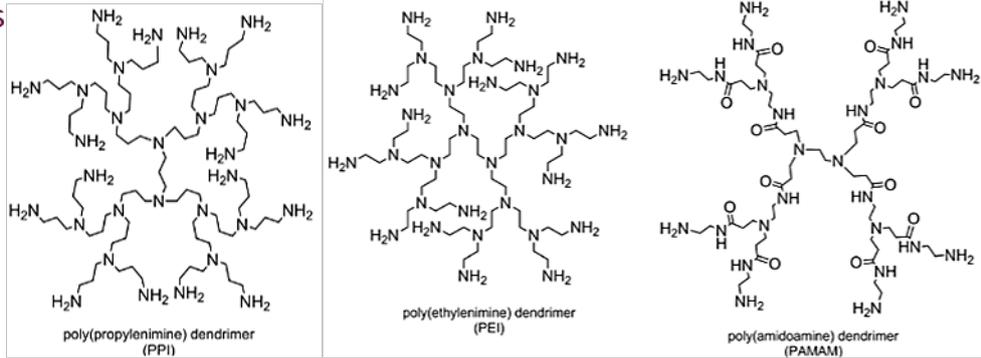


Tableau I - 11 : Polymères basiques sensibles aux variations de pH[187]

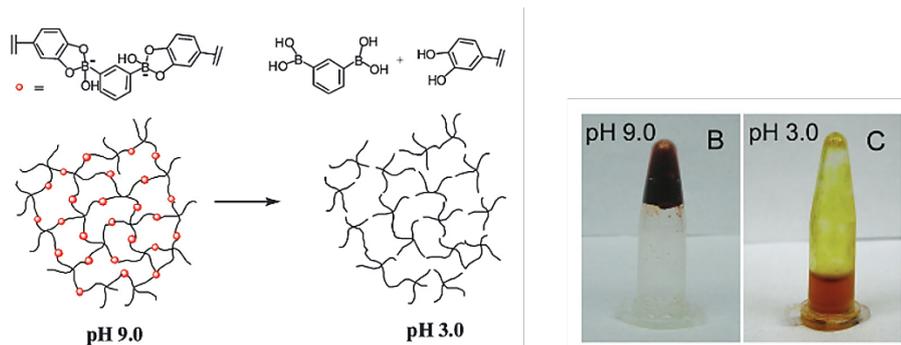


Figure 1 - 58 : Formation d'un hydrogel par complexation de chaînes PEG comportant des groupements catéchols terminaux avec l'acide 1,3-benzenediboronique en milieu basique[190]

POLYMÈRES CONJUGUÉS

Les polymères conjugués ou polymères conducteurs intrinsèques présentent des électrons π capables de se délocaliser, ce qui leur confère des propriétés opto-électroniques. Dans le domaine du développement d'optodes de pH, les polymères conjugués présentant des groupements (dé)protonables sont intéressants. Carey et Jorgensen ont développé une optode de pH pour les milieux hautement acides en formant un film de poly(phenylquinoline), poly(bi-phenylquinoline) ou poly(phenylquinoxaline) sur l'extrémité d'une fibre optique[192]. La fibre optique est préalablement nettoyée avec de l'acide sulfurique puis silanisée afin d'augmenter l'adhésion du polymère. L'agent silanisant 3-chloropropyltriméthoxysilane permet une adhésion du film polymère pendant au moins neuf mois. Les films polymères sont formés en immergeant 1-2 mm d'une fibre optique dénudée dans une solution contenant un des polymères à chaud, puis en coagulant la couche formée dans une solution éthanol-triéthylamine avant de placer la fibre à 110°C pendant 30 min. Plusieurs cycles de dépôt sont nécessaires afin de constituer l'optode. Les trois polymères présentent une fluorescence dépendant du pH et les auteurs réussissent à relier l'intensité de fluorescence lue à la concentration en acide nitrique. Les auteurs relèvent cependant une extinction de fluorescence en présence d'ions ferrique et cérium.

La polyaniline (PANI) constitue un polymère intéressant pour le suivi du pH sur une large gamme en raison de ses multiples états de protonation (Figure 1 - 59). Sous forme protonée, la PANI est caractérisée par une absorption dans l'infrarouge ($\lambda_{\max} = 840 \text{ nm}$), tandis que sous forme déprotonée l'absorption maximale se situe dans le rouge ($\lambda_{\max} = 600 \text{ nm}$)[24]. De nombreuses optodes de pH se basent sur un polymère de type PANI mais l'instabilité du polymère exposé à l'air ambiant, à l'ozone et aux NO_x limite les applications[24]. Jin, Su et Duan ont par exemple développé une optode de pH stable pour la gamme pH = 2-12 ($\text{pK}_a \sim 7$) [193]. En effet, la PANI étant peu stable dans l'air ambiant en raison de la présence de groupements imines, un protocole d'oxydation pendant 12h a été mis en place afin de former un film PANI stable jusqu'un mois dans l'air ambiant et plusieurs mois dans l'eau. La formation d'un film mince de 110 nm d'épaisseur permet d'obtenir des temps de réponse courts autour de la seconde. Les auteurs mettent en évidence la présence d'une hystérèse lors de la protonation et de la déprotonation des films PANI.

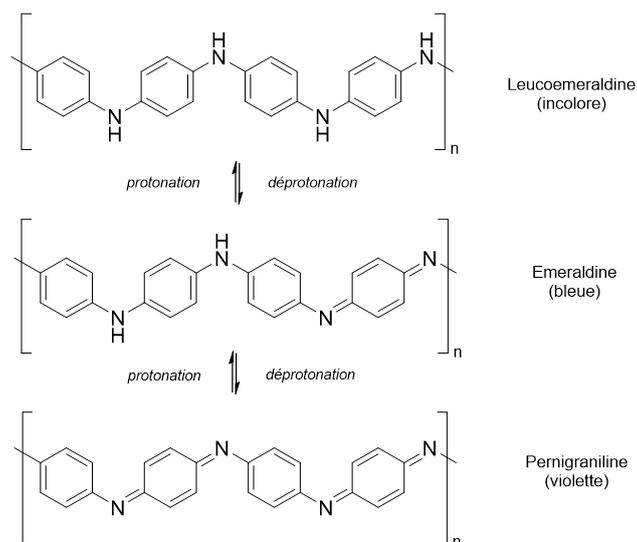


Figure I - 59 : Différentes formes et couleurs de la polyaniline en fonction de l'état de protonation

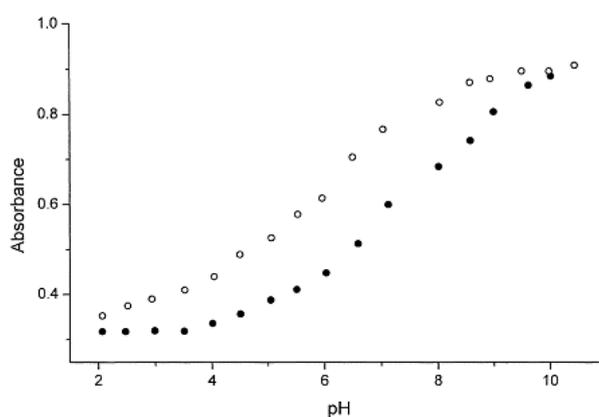


Figure I - 60 : Courbe de calibration d'une optode de pH développée à partir de polyaniline (PANI) greffée en surface d'une fibre optique ($\lambda_{abs} = 575 \text{ nm}$). Les cercles vides correspondent au chemin de protonation, tandis que les cercles pleins correspondent au chemin de déprotonation[193]

Le polypyrrole permet également de développer des optodes de pH : de Marcos et Wolfbeis forment des films de polypyrrole dans des cuvettes en polystyrène pour étudier leur absorbance en fonction du pH. Cependant la protonation du polypyrrole d'un pH = 12,0 vers un pH = 4,0 s'accompagne d'une variation faible de l'absorbance ($A \sim 0,9$ vers $A \sim 0,65$) et une régénération de l'optode en milieu HCl 0,1 M est nécessaire après une déprotonation totale du polymère[194].

MOF (METAL-ORGANIC FRAMEWORK)

Les MOFs correspondent à des structures de coordination d'ions métalliques ou de clusters avec des ligands organiques. Ces structures à une, deux ou trois dimensions sont caractérisées par une porosité intrinsèque élevée. Les MOFs offrant une grande flexibilité pour le choix des composés organiques et inorganiques, ils ont été utilisés afin de constituer des sondes pour différents ions et molécules tels que Cu^{2+} [195], Al^{3+} et Ca^{2+} [196], H_2S [197], CO_2 [198] ou encore des composés nitrés explosifs[199-200]. Les travaux de Harbuzaru et al. publiés en 2009 dictent le développement des optodes de pH à partir de MOFs ; l'association d'ions Eu^{3+} et du composé 1,10-phenanthroline-2,9-acide dicarboxylique permet d'obtenir un premier matériau dont la luminescence varie en fonction du pH[201]. La luminescence du matériau est dû à la transition ${}^5\text{D}_0 \rightarrow {}^7\text{F}_0$ et l'intensité à $\lambda \sim 579 \text{ nm}$ varie d'environ 30% sur la gamme de pH = 5,0-7,5 (Figure I - 61). L'émission du MOF décrit présente deux pics proches Eu1 et Eu2, avec Eu2

ne variant pas en fonction du pH. Une mesure ratiométrique semble envisageable en premier abord mais l'instrumentation choisie devra permettre de distinguer l'émission des deux pics dont les maxima sont distants de 2 nm. Enfin, une protonation des groupements acides carboxyliques à pH < 4 et la formation d'hydroxide d'euporium à pH > 8 limitent l'utilisation du matériau à une gamme de pH = 4,0 – 8,0.

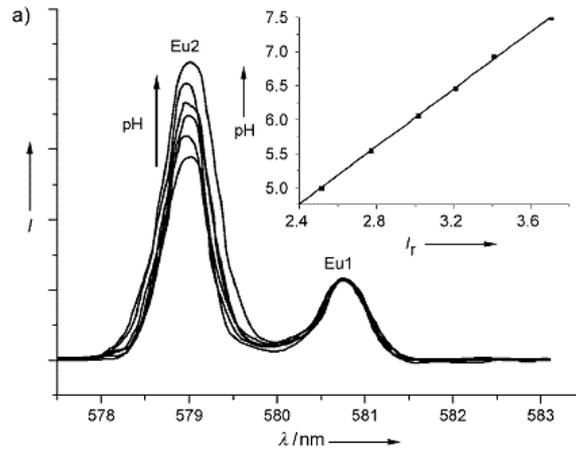


Figure I - 61 : Variation de l'intensité de luminescence du MOF $[Eu_3(C_{14}H_6N_2O_4)_4(OH)(H_2O)_4]c \cdot 2H_2O$ en fonction du pH, synthétisé par Harbuzaru et al. [201]

Wu et al. synthétisent un MOF fluorescent stable à partir de clusters Zr_6 associés à des ligands 2,2-bipyridine-5-5'-acide dicarboxylique (bpydc) dont la synthèse et la structure sont décrites en Figure I - 62 [202]. Les MOFs synthétisés restent stables à pH = 1,0 et pH = 9,0 ainsi qu'après adsorption de N_2 . La stabilité thermique des MOFs est également exceptionnelle avec une dégradation de la structure à partir de 500°C. Une excitation à $\lambda_{exc}=365$ nm met en évidence une fluorescence de la structure et une réponse linéaire en fonction du pH est obtenue sur la gamme pH = 4,0 – 6,5 (Figure I - 62). Cette augmentation de l'intensité de fluorescence est attribuée à la diminution de la conjugaison du système lors de la protonation des ligands bipyridine, induisant une variation de la géométrie en raison de la gêne stérique imposée. La réversibilité du système est également prouvée par la répétition de quatre cycles de protonation-déprotonation des MOFs entre pH = 3,0 et pH = 6,0. Une application pour la mesure du pH d'échantillons d'urine prouve la pertinence de ces structures innovantes pour des applications biologiques.

De manière similaire, Meng et al. se basent sur l'euporium pour synthétiser des MOFs fluorescents à partir de ligands 3,3'-5,5'-biphenyltetracarboxylate (BPTC) [203]. La fluorescence des MOFs dépend du pH sur la gamme pH = 7,5-11,5. Sur la gamme de pH = 7,5 – 10, une réponse linéaire des MOFs est observée et attribuée à l'interaction des ions HO^- avec les ligands BPTC, limitant la conjugaison et le transfert d'électron et impactant les transitions caractéristiques d' Eu^{3+} (extinction de fluorescence). Pour des valeurs de pH supérieures à 10, le mécanisme proposé est une déprotonation des groupements carboxylates annulant la conjugaison du système et le transfert d'électron [203].

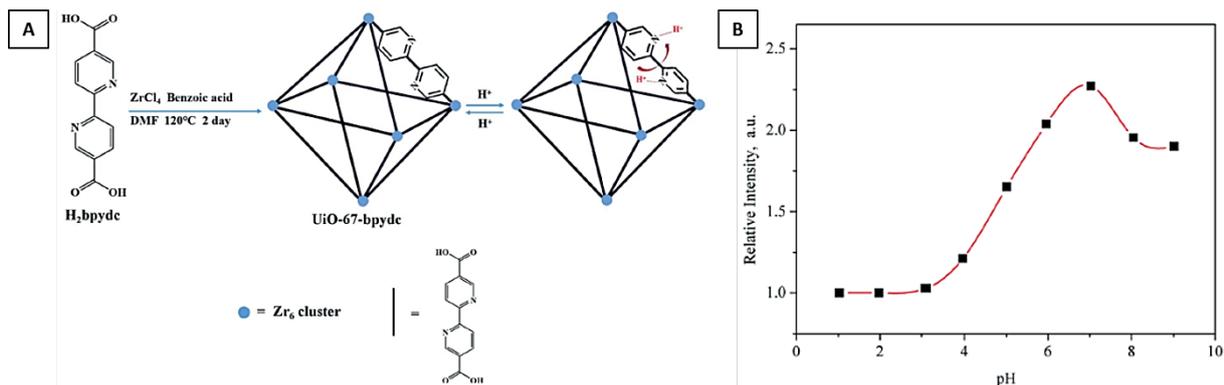


Figure I - 62 : Synthèse de MOFs constitués de clusters Zr_6 et de ligands $bpydc$ (A) et évolution de leur fluorescence en fonction du pH en solution aqueuse ($\lambda_{excitation} = 365 \text{ nm}$)[202]

Malgré les nombreux MOFs sensibles au pH décrits dans la littérature, leur utilisation pour le développement d'optodes de pH reste limité pour plusieurs raisons :

- Il est parfois compliqué de comprendre l'influence du pH sur les propriétés optochimiques des MOFs, ce qui rend leur utilisation complexe ;
- Par comparaison avec d'autres matériaux, la réponse des MOFs aux variations de pH est faible ce qui impliquerait une sensibilité faible des optodes de pH ;
- L'excitation et l'émission se produit généralement à des longueurs d'ondes faibles ce qui rendrait la conception de l'optode plus complexe ;
- Les rendements quantiques de luminescence sont généralement faibles ;
- La stabilité des MOFs est limitée à une gamme de pH réduite.

IV.3. Premières optodes développées pour la mesure du pH

Historiquement, la majorité des sondes de pH développées l'ont été pour les gammes de pH neutres et physiologiques. Il est tout de même intéressant d'étudier les premières sondes de pH décrites.

Le développement de la première optode de pH au sens moderne du terme est attribué à Peterson, Goldstein et Fitzgerald en 1980[125]. La sonde de pH sélectionnée est le rouge de phénol ou phénolsulfonephtaléine (PSP) correspondant à un indicateur coloré de pH utilisé en microbiologie. Cette sonde est caractérisée par un $pK_a=7,9$ en solution et un déplacement bathochrome de son spectre d'absorption pour la forme déprotonée de la sonde. Le rouge de phénol est copolymérisé avec un polyacrylamide afin d'obtenir un polymère sensible aux variations de pH, et le pK_a du rouge de phénol diminue de 7,9 pour sa forme libre en solution à 7,57 lorsqu'il est lié de façon covalente au polyacrylamide en raison de la modification de configuration de la sonde. Le polymère dopé ainsi obtenu est excité à travers une fibre optique à l'aide d'une lampe tungstène et l'émission de la sonde est collectée en sélectionnant le filtre adéquat sur une roue à filtres. Les auteurs définissent une gamme d'utilisation de leur optode très restreinte de $pH = 7,0-7,4$, ce qui leur permet de définir une précision de 0,01 unité de pH. Ils admettent cependant que l'optode peut être utilisée sur une gamme plus étendue de pH mais qu'une calibration en plusieurs points est nécessaire et qu'une perte en précision du système sera engendrée. Malgré cette plage d'utilisation de 0,4 unités de pH, l'optode développée se démarque par sa miniaturisation (diamètre de 0,4 mm). De plus, un test in vivo a été effectué par insertion de l'optode dans la veine jugulaire d'un mouton et les résultats de l'optode ont été comparées aux mesures de pH effectuées à l'aide d'une électrode de pH en verre (Figure I - 63). Malgré des différences de mesures parfois proches de 0,1 unité de pH entre l'électrode en verre et l'optode, les mesures de pH restent proches. Les auteurs n'ont pas conclu par rapport à la justesse des mesures de l'optode comparées à celles de l'électrode, ni sur l'apparente sous-estimation du pH par l'optode testée in vivo.

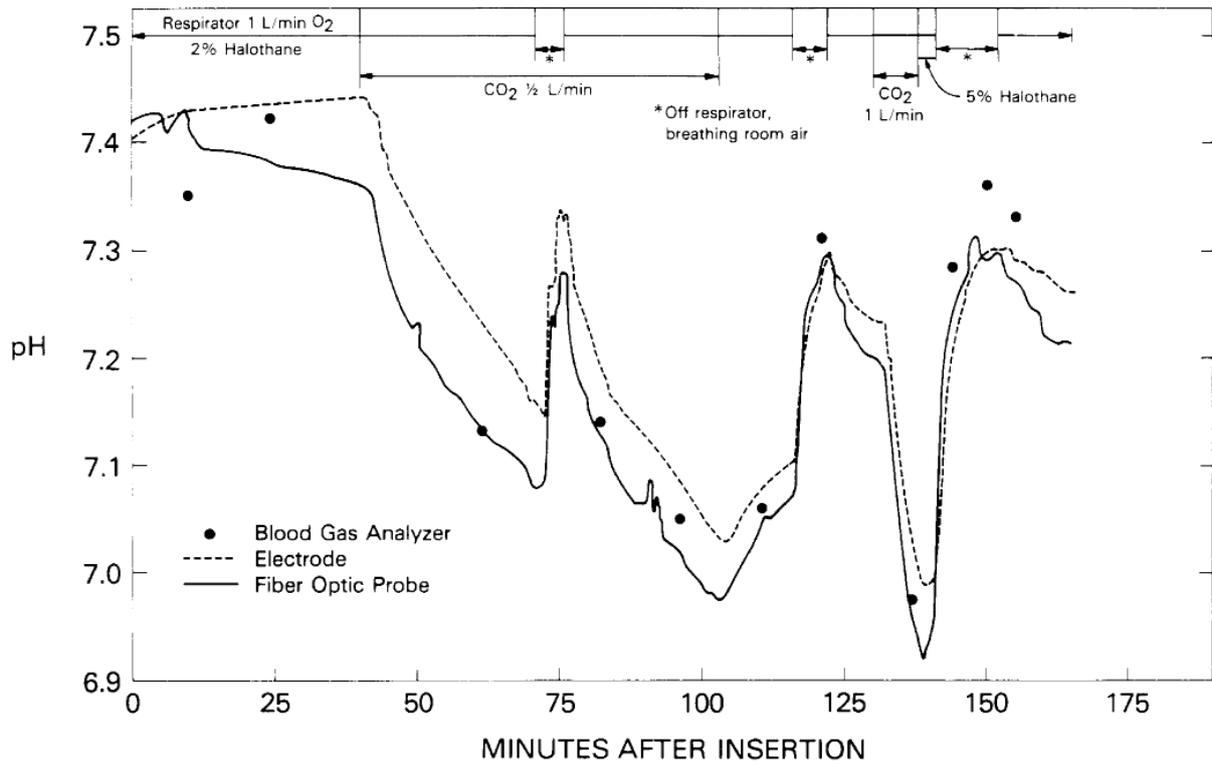


Figure 1 - 63 : Evaluation in-vivo du fonctionnement de l'optode par son insertion dans la veine jugulaire d'un mouton. Les résultats de l'optode (trait plein) sont comparés à ceux d'une électrode en verre (pointillés)[125]

En 1985, Offenbacher, Wolfbeis et Furlinger [204] décrivent une optode de pH adaptée à une gamme plus étendue $\text{pH} = 6,4-7,7$ avec une précision remarquable de 0,01 unité de pH et un temps de réponse court d'environ 1 minute. La sonde moléculaire de pH sélectionnée est également une sonde commerciale : le 1-hydroxypyren-3,6,8-trisulphonate (HPTS), et la matrice d'immobilisation de la sonde est le verre. Le pK_a de la sonde HPTS varie de 7,3 pour la forme libre à 6,8 pour la forme liée à la matrice. Cette étude se distingue par un faible effet de force ionique lié au fait que la sonde de pH liée au verre se situe dans un environnement chargé ; l'impact de la charge de l'environnement sondé est alors moindre.

IV.4. Optodes développées pour la mesure de pH basiques

La gamme de pH visée dans le cadre de l'étude des matériaux cimentaires étant le gamme $\text{pH}=10-13,5$, les optodes spécifiquement développées pour la mesure de pH alcalins nous intéressent davantage. Quelques optodes ont été spécifiquement développées pour le béton et seront décrites dans cette partie.

En 1997, Panova, Pantano et Walt proposent une optode de pH pour un suivi local de la corrosion de différents matériaux. Cette optode est constituée d'une fibre optique dont l'extrémité est greffée avec un film mince de poly(acrylamide-co-N-acyloxysuccinimide) (PAN) dopé avec l'isothiocyanate de fluorescéine (isomère I)[205]. Une fonctionnalisation de la fibre optique avec des groupements (3-aminopropyl)triéthoxysilane est nécessaire afin de greffer le polymère PAN de manière covalente. Une lampe à arc au xénon permet d'exciter la sonde de pH à travers la fibre optique et l'émission est collectée à l'aide d'une caméra CCD précédée d'un miroir dichroïque. L'optode ainsi constituée a permis de mettre en évidence des phénomènes de corrosion galvanique, fissurante et par piqûres de surfaces métalliques enrésinées puis immergées dans des solutions aqueuses afin d'éviter une déshydratation de la matrice polymère. Bien que généralement exploitée pour des mesures de pH sur

la gamme pH= 5-8, la fluorescence de l'isothiocyanate de fluorescéine varie également aux pH élevés en raison des groupements phénols comme illustré en Figure I - 64. En effet, plusieurs espèces coexistent en solution en fonction de la gamme de pH considérée et la concentration de chacune des espèces varie en fonction du pH[206]. Le rendement quantique de fluorescence variant d'une espèce à l'autre, la fluorescence de la solution dépend alors directement de la concentration en espèce prédominante à un pH donné. Panova et al. n'exploitent cependant pas ces propriétés pour la gamme pH > 10 et ne précisent pas les temps de réponse ou la stabilité de l'optode conçue à long terme[205]. En revanche, l'étude de Ma et al. consistant à déposer une solution d'isothiocyanate de fluorescéine solubilisée dans une solution de cire et de benzène sur des lames de verre permet de montrer que la fluorescence à pH = 5 de la membrane ainsi constituée reste stable durant 70 jours, la membrane étant conservée à température ambiante sans précautions particulières[206]. La stabilité de la sonde de pH et des membranes pour des valeurs de pH supérieures à 10 n'a pas été étudiée.

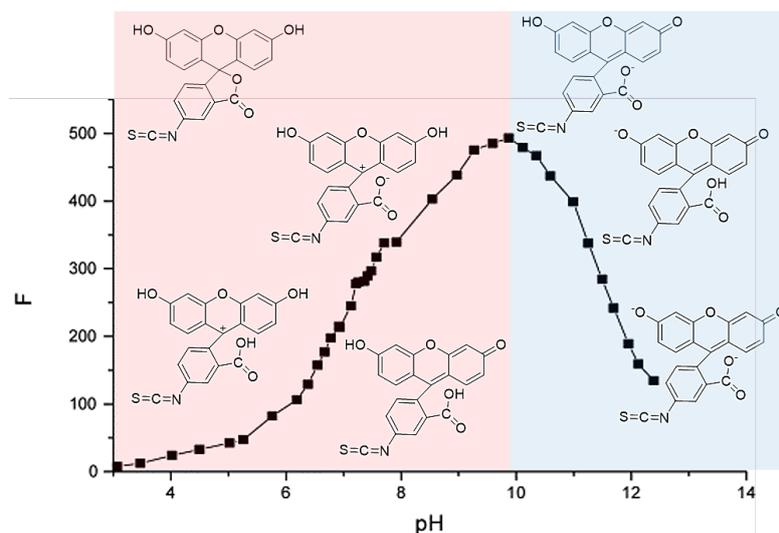


Figure I - 64 : Intensité de fluorescence de l'isothiocyanate de fluorescéine en fonction du pH ($\lambda_{exc} = 250 \text{ nm}$ et $\lambda_{ém} = 362 \text{ nm}$) et espèces chimiques présentes en solution pour les gammes de pH 3-10 et 10-12,5 (adapté de [206])

Les travaux de Han et al. se basent sur l'association d'une sonde de pH, la chloro phenyl imino propenyl aniline (CPIPA) et d'un colorant de coumarine Macrolex® (MFY-10GN), afin de développer une optode de pH ratiométrique adaptée à la gamme pH = 7,5-10,5[207]. Afin de remédier aux principales problématiques de l'optode, tels que le photoblanchiment de la sonde ou sa dissolution en dehors de la matrice, une technique consiste à lui associer une molécule servant de référence interne à l'optode et non sensible aux variations de pH sur la gamme considérée, en d'autres termes, à développer une optode ratiométrique. Les spectres d'émission de la sonde de pH CPIPA et de la références interne MFY-10GN à pH=8,0 et à pH=9,2 (Figure I - 65) prouvent que le choix de ces molécules est justifié par l'insensibilité de la fluorescence de la référence au pH. Les deux molécules ont été intégrées dans un film polymère perméable aux protons (polychlorure de vinyle PVC), et l'optode présente une réversibilité et des temps de réponse courts de 120 s.

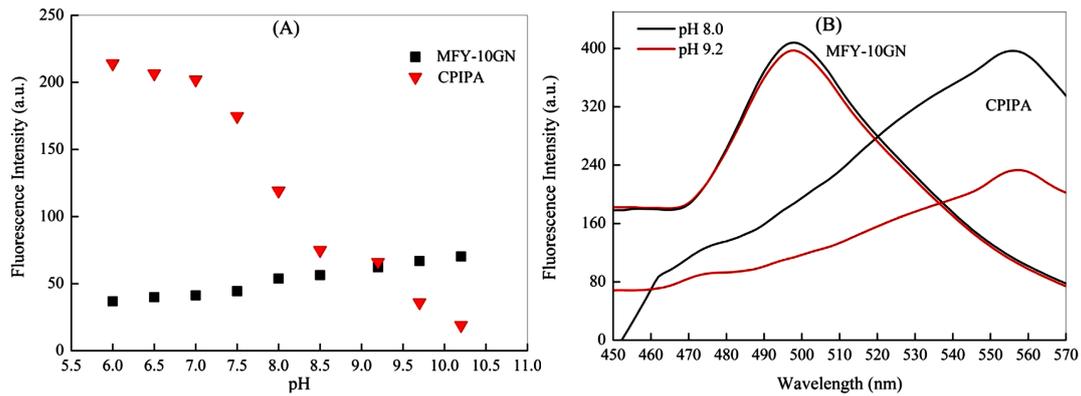


Figure I - 65 : Emission de la sonde de pH CPIPA (= 550nm) et de la référence interne MFY-10GN (=389 nm)[207]

Maclin et al.[208] ont développé une optode conçue pour sonder des volumes de solution aussi faibles que 30 μL . Le principe repose sur l'immobilisation de la sonde de pH (Nile Blue A de Sigma-Aldrich) dans des nanocapsules poreuses, immobilisées à leur tour dans gels poreux de polyvinyl alcool (PVA). Les nanocapsules sont obtenues par réticulation du tert-butyl methacrylate (t-BMA) et du butyl methacrylate (BMA) avec l'éthylène glycol diméthacrylate (EGDMA). Le gel PVA encapsulant doublement la sonde de pH est ensuite immobilisé dans un capillaire en verre (Figure I - 66). Le capillaire contenant la sonde de pH est alors excité par une source placée parallèlement à celui-ci et l'émission est détectée de la même manière. Le matériau complexe ainsi conçu est sensible sur une très large gamme de pH : $\text{pH} = 2,7-12,5$, possède un $\text{pK}_a = 8,3$, offre des temps de réponse courts d'environ deux minutes, et une réversibilité de la mesure. Cependant, l'étude ne montre pas la stabilité de la sonde de pH durant une période étendue, pour des valeurs de pH proches de 12,5.

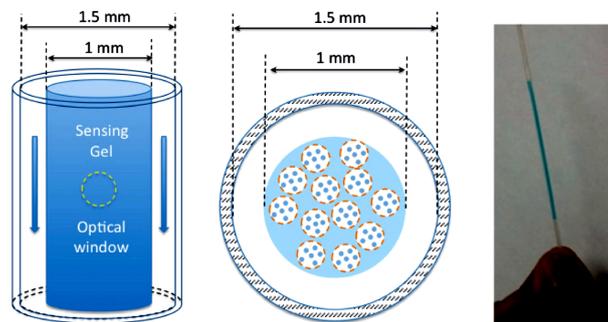


Figure I - 66 : Gauche : Illustration des nanocapsules poreuses contenant la sonde de pH et piégées dans un gel de polyvinyl alcool (PVA), le gel PVA dopé est alors placé dans un capillaire en verre . Droite : Photographie du capillaire en verre contenant le gel PVA dopé[208]

Staudinger et al.[113] se sont intéressés aux pH hautement basiques avec la synthèse d'une série d'azabodipy pour la gamme de $\text{pH} = 7-13$. Les structures des sondes de pH synthétisées et leurs courbes de calibration obtenues après un piégeage physique de la sonde dans un polymère commercial (Hydromed D4 d'AdvanSource Biomaterials) sont présentées en Figure I - 67. Ainsi, les structures 1 et 5 synthétisées semblent adaptées pour le développement d'optode de pH pour le béton, mais il est nécessaire de prouver la stabilité photochimique à long terme de ces sondes à $\text{pH} > 12,5$ avant d'envisager leur intégration dans une optode permettant la mesure du pH dans le béton.

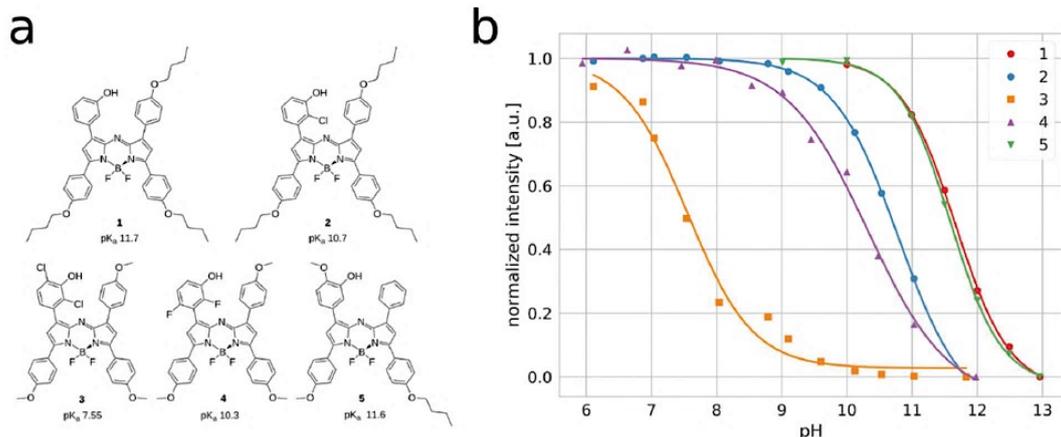


Figure I - 67: Structures des sondes moléculaires fluorescentes de pH synthétisées et les courbes de calibration obtenues après piégeage physique de la sonde dans un polymère[113]

De la même manière, Pfeifer et al.[141] suggèrent la synthèse de sondes pérylène bismides possédant des pKa élevés pouvant être intégrés dans une application pour la mesure du pH dans le béton (Figure I - 68). Cependant, le profil de photodégradation de la sonde 2a sous forme déprotonée prouve une instabilité de la sonde aux pH élevés (Figure I - 69), qui pourrait être résolue par une adaptation du système optoélectronique de l'optode (minimisation de l'excitation de la sonde par exemple).

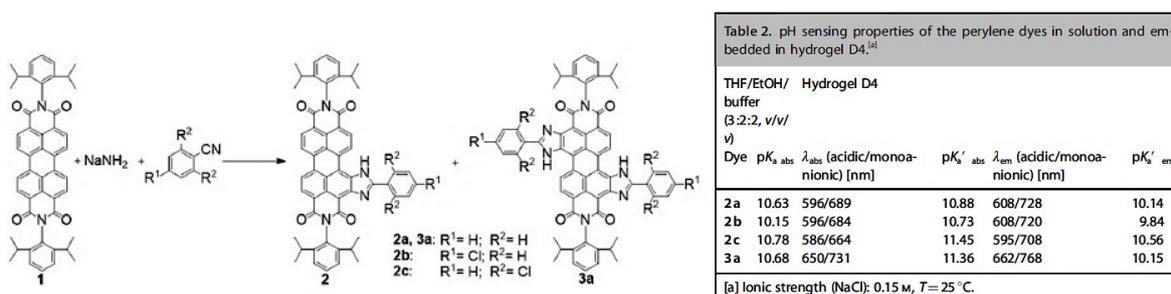


Figure I - 68 : Synthèse de sondes pérylène bismides (gauche). Valeurs des pKa des sondes en solution et piégées dans une matrice polymère (droite)[141]

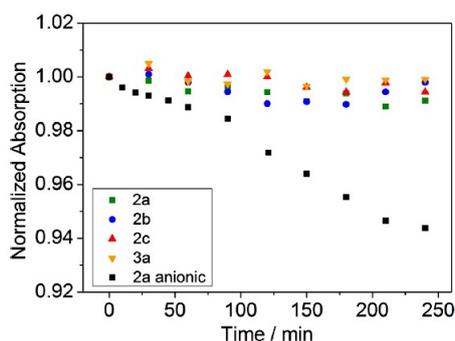


Figure I - 69 : Profils de photodégradation des sondes 2a,b,c et 3a dans leur forme neutre, et 2a dans sa forme déprotonée [141]

Dantan, Wolfgang et Wolfbeis ont étudié une multitude de voies d'élaboration pour une optode destinée à un suivi in situ du pH du béton. Leurs travaux portent sur l'exploration de deux méthodes de détection : un suivi du pH basé sur l'absorbance et un suivi basé sur la mesure de la durée de vie[209]. La Figure I - 73 décrit le processus suivi pour l'élaboration d'une optode de pH basée sur la

variation de l'absorbance d'une sonde moléculaire en fonction du pH. Le processus peut être décomposé en plusieurs étapes : une première étape de sélection de la sonde de pH se basant sur les critères imposés par l'environnement étudié conduit à une sélection restreinte de molécules. Dantan et al. privilégient l'option des colorants azoïques en raison de leur stabilité photochimique aux pH élevés. Un test de stabilité chimique en solution basique (NaOH 0,1M) avec un suivi régulier de l'absorbance de la solution permet de sélectionner le jaune d'alizarine, le bleu alcalin 6B et le Victoria Blue B possédant des pKa d'environ 11-12 comme candidats. La seconde étape consiste à sélectionner une matrice pour la sonde de pH. Différentes matrices associées à des méthodes d'immobilisation des sondes de pH ont été testées et les résultats obtenus sont détaillés en Figure I - 73. Les résultats des voies ne permettant pas d'obtenir une optode de pH pour le béton apparaissent en rouge. L'unique voie satisfaisante retenue par les auteurs apparaissant en vert a abouti à un brevet[210]. Ainsi, une membrane est obtenue par un procédé de frittage de particules de polystyrène (PS) réticulé avec l'Amberlite XAD4 divinylbenzène sur lesquelles la sonde de pH est adsorbée. La membrane est obtenue en plaçant les particules de taille 5-15 μm dopées dans un moule soumis à une pression $P=25\text{-}35$ bar à une température $T = 400\text{-}450^\circ\text{C}$. Un traitement chimique permet d'augmenter le caractère hydrophile de la membrane obtenue. La membrane est placée sur une lame de verre en face d'un faisceau de fibres optiques et une couche réfléchissante constituée de dioxyde de titane permet d'augmenter l'intensité du signal mesuré à l'aide d'un spectromètre (Figure I - 70).

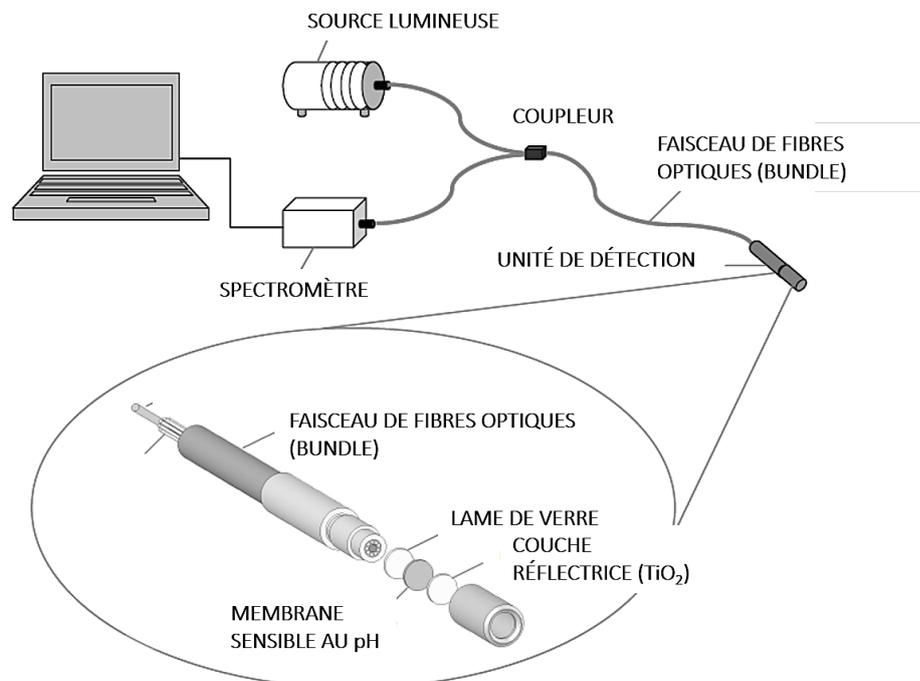


Figure I - 70 : Montage de l'optode développée par Dantan et al. destinée à une mesure de l'absorbance en fonction du pH par réflexion (figure adaptée de [209])

La Figure I - 71 montre la variation du spectre d'absorbance de la membrane en fonction du pH lorsque l'optode est placée en solution, ainsi que la courbe de calibration de l'optode déduite[209]. Le caractère peu hydrophile des particules PS-Amberlite est responsable du temps de réponse long d'environ 60 min dans le sens de la protonation, rationalisé par les cinétiques lentes des réactions chimiques se produisant dans le béton. Plusieurs essais de mesure du pH dans des échantillons en béton ont été réalisés avec cette optode, et une augmentation de l'absorbance dès les premières minutes a mis en évidence une réponse de l'optode aux variations de pH (Figure I - 72). Cependant, l'optode ainsi conçue ne permet un suivi du pH qu'en présence d'humidité. Les échantillons de béton ont donc été immergés dans l'eau 2 jours après le placement de l'unité de détection dans le matériau.

Le signal a été mesuré régulièrement durant deux mois et est resté constant prouvant la stabilité chimique et mécanique de la membrane. L'absence d'une diminution du signal durant deux mois pour des échantillons de béton immergés dans de l'eau prouve que l'optode ne répond pas aux variations de pH du béton. Une étude microscopique a mis en évidence la présence d'une couche compacte d'hydroxyde de calcium sur la membrane, empêchant le contact entre la membrane et le matériau étudié. Cette limitation rend l'utilisation de l'optode en conditions réelles difficilement envisageable.

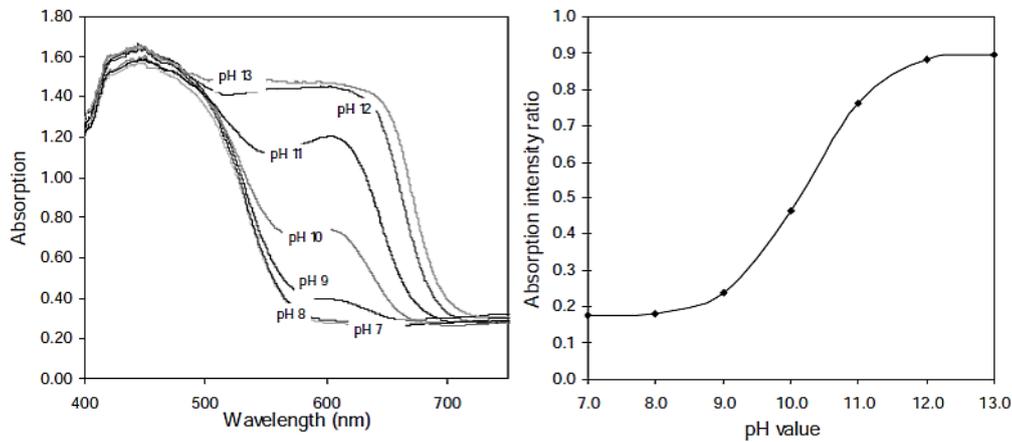


Figure I - 71 : Variation du spectre d'absorbance de membranes préparées par un procédé de frittage de particules PS-Amberlite XAD4 divinylbenzène adsorbées d'un indicateur coloré de pH azoïque en fonction du pH (gauche) et courbe de calibration correspondante (droite)[209]

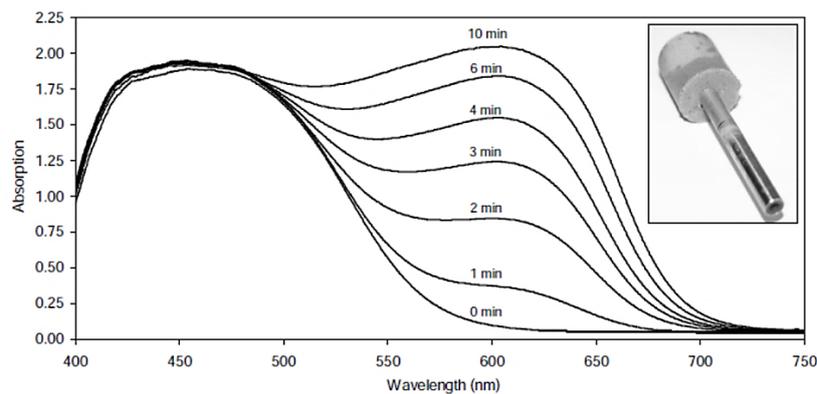


Figure I - 72 : Suivi du signal de l'optode immergée dans un échantillon de béton (inset : photo de l'unité de détection immergée dans l'échantillon)[209]

Dantan et al. ont également exploré une optode de pH basée sur une mesure de durée de vie, reposant sur le principe FRET. Le FRET consiste à associer un composé dont la luminescence ne varie pas en fonction du pH appelé 'donneur', à un composé 'accepteur' correspondant à un indicateur de pH coloré. Les voies explorées et les résultats obtenus pour cette seconde option sont détaillées en Figure I - 74. Ainsi, des complexes fluorescents de ruthénium diphenylphenanthroline ou diphenylbipyridyl donneurs sont associés à un indicateur de pH commercial (N-9, Merck). En raison de l'extinction de fluorescence des complexes de Ru en présence d'oxygène, une stratégie d'encapsulation du couple donneur-accepteur dans des nanosphères de polyacrylonitrile (PAN) permet de limiter la sensibilité à l'O₂[209]. Cependant, une dégradation des nanosphères de PAN est mise en évidence à pH basique lorsque l'optode de pH est immergée dans un échantillon en béton. La nature de la matrice polymère pourrait être modifiée mais il est difficile de trouver un polymère perméable aux ions HO⁻ et H₃O⁺, imperméable à l'O₂, optiquement transparent et stable à pH élevé. Il est également complexe de trouver un couple accepteur-donneur adapté aux mesures de pH basique, avec un recouvrement des

spectres d'absorbance du composé accepteur et d'émission du composé donneur. Cette configuration permettrait de mesurer le pH d'un milieu pauvre en O₂ et peu basique.

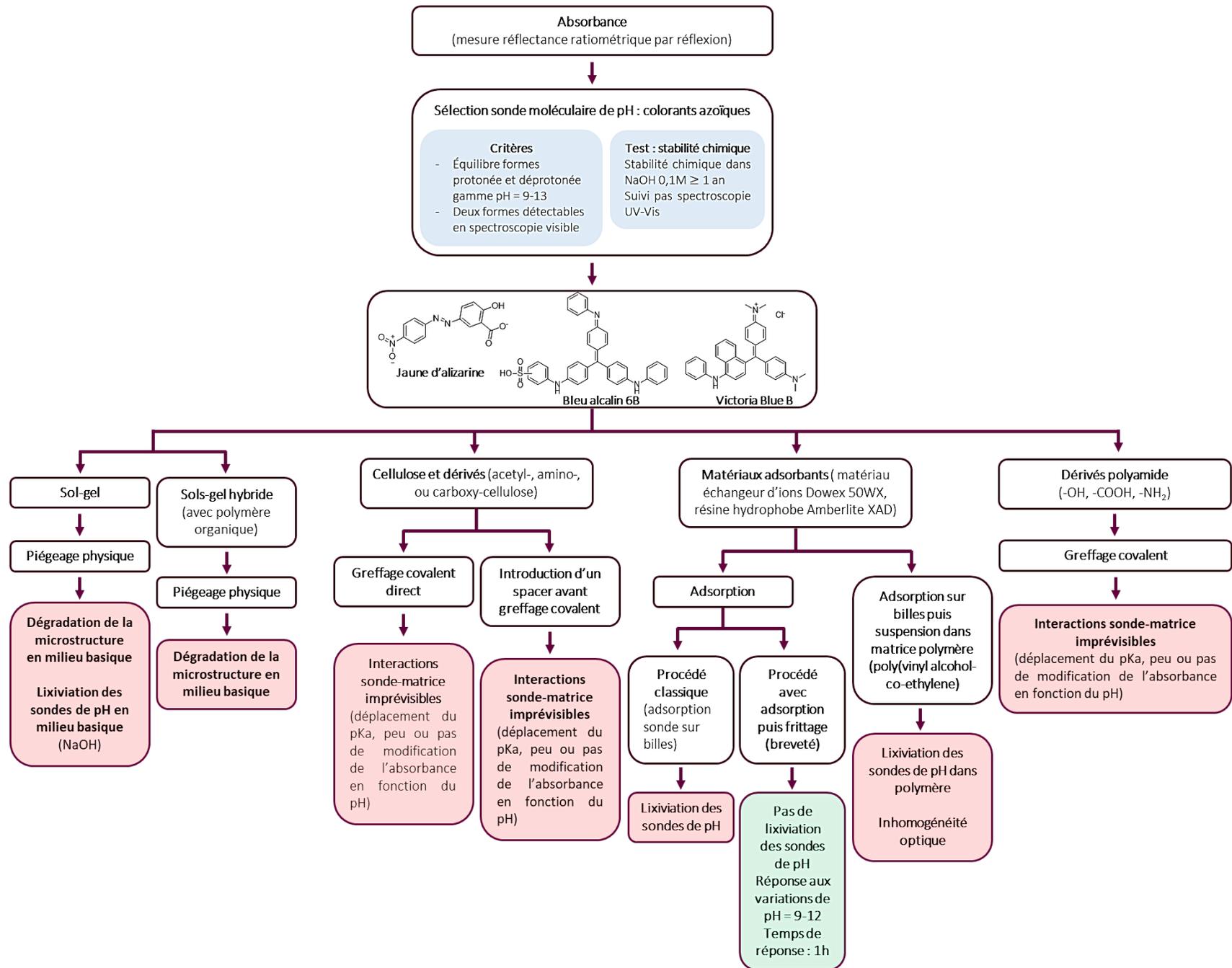


Figure 1 - 73 : Voies d'élaboration explorées par Dantan et al.[209] afin de développer une optode de pH pour le béton basée sur une mesure d'absorbance

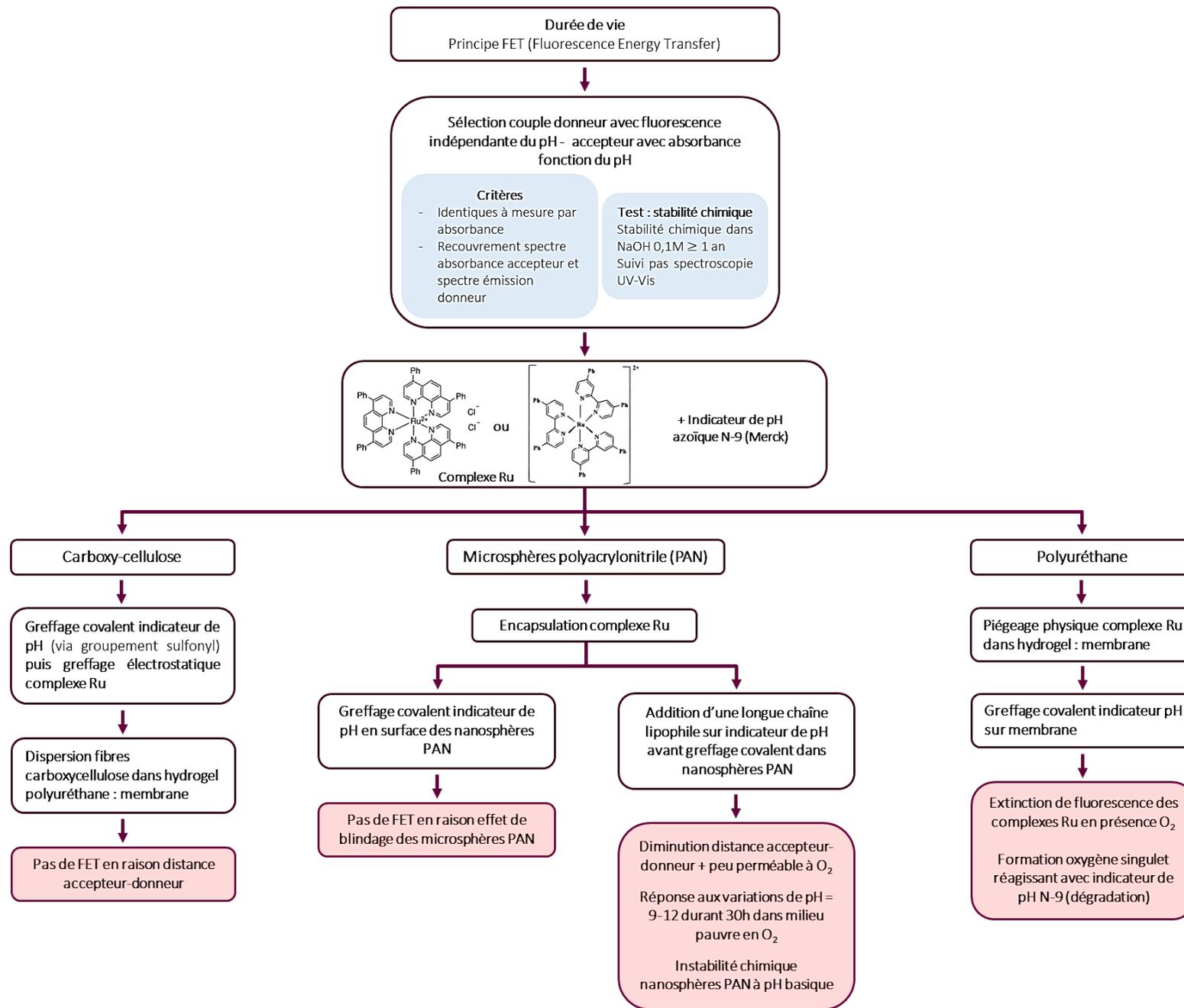


Figure I - 74 : Voies d'élaboration explorées par Dantan et al.[209] afin de développer une optode de pH pour le béton basée sur une mesure de durée de vie

Dans le cas de l'étude du pH de matériaux cimentaires in situ, la configuration de l'unité de détection de l'optode est essentielle en raison des contraintes imposées par le matériau. Blumentritt et al. ont ainsi développé une unité de détection planaire afin de répondre aux problématiques rencontrées avec une configuration classique en réflexion, à savoir une obstruction du chemin optique en raison de l'intercalation de béton entre le matériau réflecteur et la membrane sensible aux variations de pH (A, Figure I - 75)[211]. Cette obstruction du chemin optique est rencontrée lors d'une mauvaise adhésion entre la membrane sensible au pH et les différents composants de l'optode. La sonde de pH correspond ici à un indicateur coloré azoïque piégé dans une matrice solide non spécifiée. La membrane peut être coulée directement dans la cavité d'épaisseur 50 μm représentée sur le schéma B en Figure I - 75. Une fibre optique métallisée occupant le rôle de réflecteur est alignée avec la fibre optique utilisée pour la détection. Le montage est solidaire d'un substrat solide empêchant toute contrainte sur les fibres optiques durant l'hydratation du béton et l'hydratation/déshydratation du matériau sensible au pH. Ainsi, la calibration de cinq optodes de pH en solution est comparée afin de prouver la reproductibilité du processus d'élaboration des optodes (Figure I - 76). L'optode de pH ainsi conçue n'a pas été appliquée pour le moment pour la mesure du pH du béton in situ.

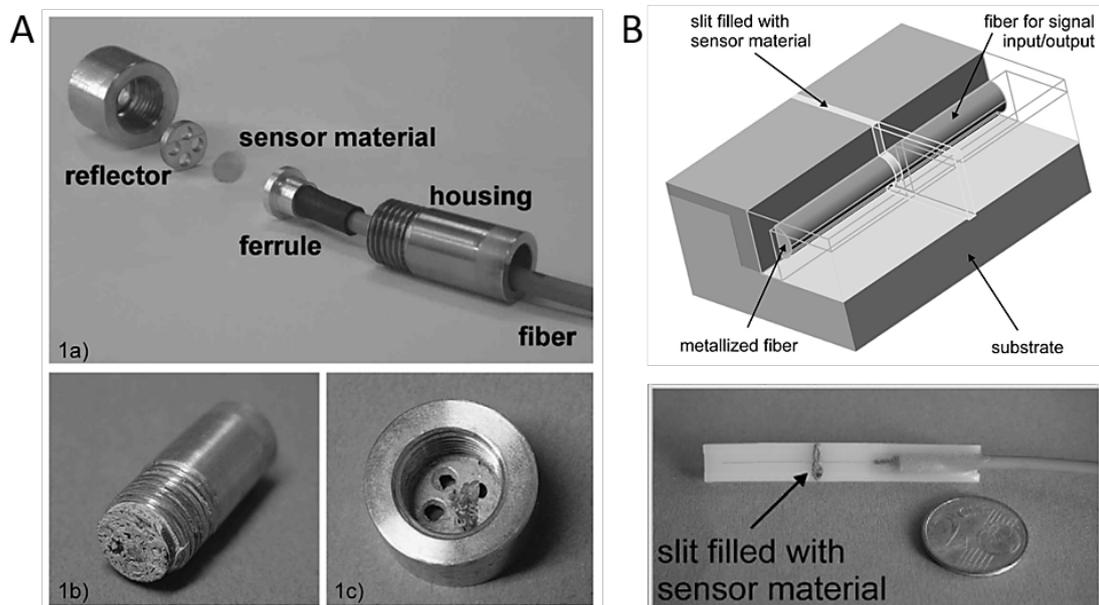


Figure I - 75 : Configuration classique d'une unité de détection pour une mesure par réflexion (A) comparée à la configuration planaire développée par Blumentritt et al. pour une mesure du pH du béton in situ (B)[211]

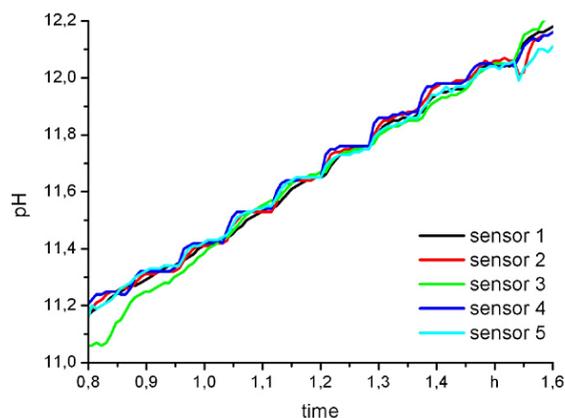


Figure I - 76 : Calibration de cinq optodes de pH planaires élaborées par Blumentritt et al.[211]

McPolin et al. ont développé deux optodes également basées sur des indicateurs de pH colorés[212]. La première option considérée est constituée de rouge de crésol piégé dans une matrice sol-gel synthétisée à partir de tétraéthylorthosilicate (TEOS). La membrane répondant aux variations de pH est déposée sur une fibre optique en verre et catalysée avec l'acide chlorhydrique. Une fissuration du sol-gel est observée à court terme et invalide l'utilisation de l'optode dans le béton. La deuxième optode élaborée est constituée d'un matériau poreux commercial imprégné de bleu de Thymol. Le temps de réponse de la deuxième configuration est de 10 min et permet de réaliser des mesures du pH à l'intérieur de cavités percées dans un échantillon carbonaté constitué de ciment Portland ordinaire avec un ratio $\frac{e}{c} = 0.42$ et un ratio $\frac{\text{aggrégats}}{\text{ciment}} = 1,67$. Les mesures sont réalisées à différentes profondeurs après remplissage des cavités avec 5 mm d'eau (Figure I - 77).

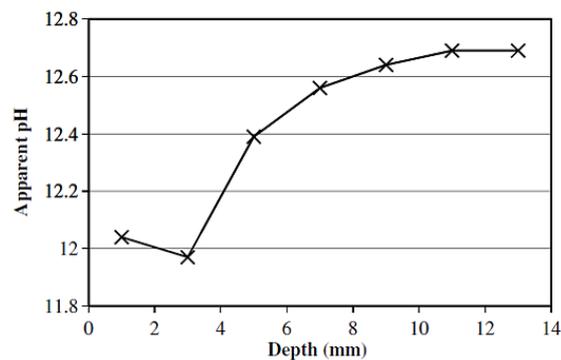


Figure I - 77 : Mesure du pH à l'intérieur de cavités percées dans un échantillon carbonaté constitué de ciment Portland ordinaire avec un ratio $\frac{e}{c} = 0.42$ et un ratio $\frac{\text{aggrégats}}{\text{ciment}} = 1,67$, à l'aide d'une optode de pH élaborée par McPolin et al. [212]

Les travaux récents de Nguyen et al. concernant le développement d'optodes de pH pour le béton s'appuient sur la synthèse de sondes de pH fluorescentes et innovantes. Une série de sondes de pH basées sur un motif coumarine et présentée précédemment est copolymérisée en présence d'acide méthacrylique, d'un copolymère bloc poreux Pluronic® P84, d'un réticulant (1,4-Bis(acryloyl)piperazine) et d'un initiateur de polymérisation (l'azobis(isobutyronitrile))[103]. L'ajout de 1,4-Bis(acryloyl)piperazine permet d'augmenter le caractère hydrophile de la matrice et l'acide méthacrylique réduit la rigidité du polymère tout en augmentant son hydrophilicité. L'étude des polymères conçus avec chaque sonde de pH conduit à la détermination des $pK_a = 12,65-12,76 \pm 0,1$ intéressants pour l'étude du pH de matériaux cimentaires (Figure I - 78). Les études de photostabilité ont été menées en réduisant les polymères en poudre afin de placer cette poudre entre un disque en quartz et une membrane en nylon (porosité 20 μm). Cet ensemble est placé en face d'une fibre optique couplée à un fluorimètre et la présence d'un miroir dichroïque permet d'obtenir le spectre de fluorescence du polymère au cours du temps. Ainsi, la photostabilité des polymères en solution pH = 10 est prouvée et une dégradation photochimique des polymères secs est attribuée à une stabilisation des sondes de pH par solvatation (Figure I - 78). La fluorescence des polymères synthétisés n'étant pas affectés par la force ionique de l'environnement, leur application pour une mesure du pH in situ du béton serait intéressante.

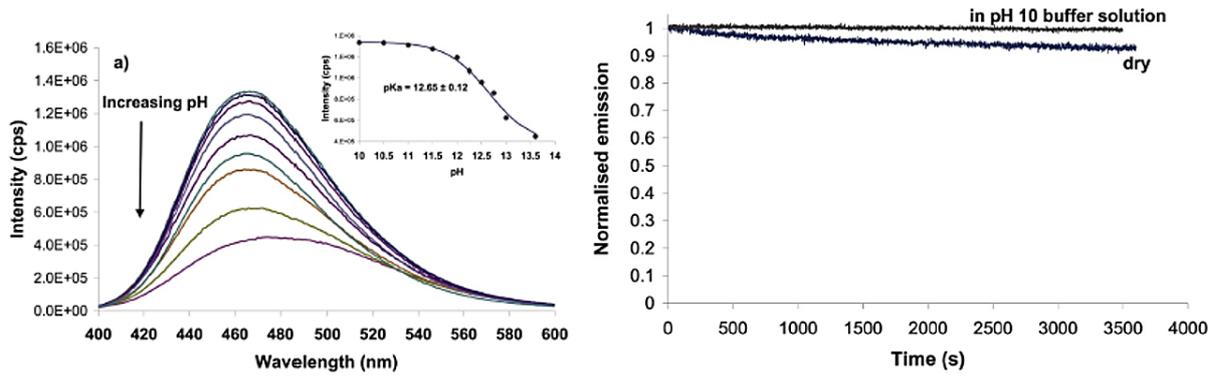


Figure I - 78 : Evolution de la fluorescence de la sonde de pH 7-(4-vinylbenzylamino)-4-((2-méthyl-4-nitro-1H-imidazol-1-yl)méthyl)-coumarine copolymérisée dans le Pluronic P84, l'acide méthacrylique et le 1,4-Bis(acryloyl)piperazine (gauche) et étude de la photostabilité (droite) [103]

Dans une précédente publication, Nguyen et al. ont également utilisé la sonde de pH 7-(4-vinylbenzylamino)-4-((2-méthyl-4-nitro-1H-imidazol-1-yl)méthyl)-coumarine[213] mais la copolymérisation diffère par la concentration de réticulant (1,4-Bis(acryloyl)piperazine) plus élevée (ratio réticulant/monomère 10 :3-4 contre 10 :2,4). Le montage de l'optode de pH est montré en Figure I - 79 et le spectrofluorimètre permet d'obtenir le spectre de fluorescence en fonction du pH (Figure I - 80). Un $pK_a = 11,9 \pm 0,1$ inférieur est déterminé et le profil d'émission diffère de celui déterminé dans la référence précédente. Cette différence provient probablement de la différence de concentration en réticulant, et du changement d'instrumentation, pouvant être associé à une préparation différente de la membrane. L'optode n'a pas été utilisée pour une mesure du pH in situ dans un matériau cimentaire.

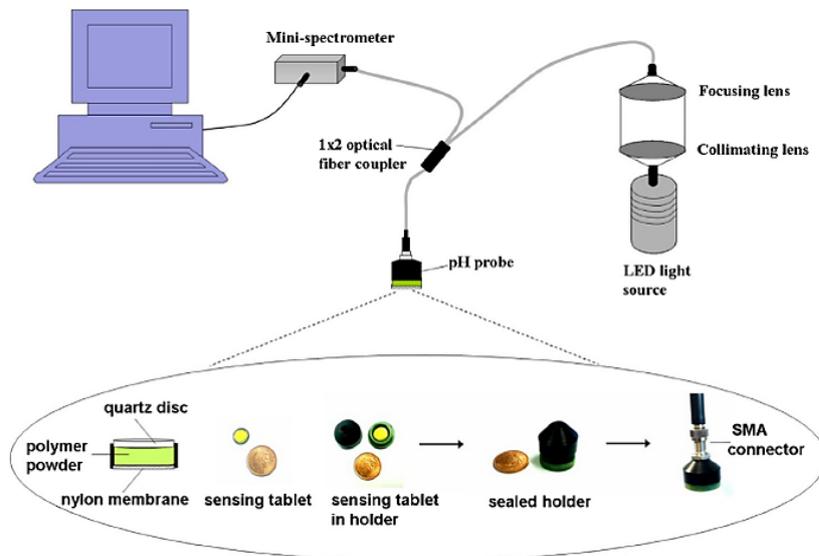


Figure I - 79 : Configuration de l'optode élaborée par Nguyen et al. pour la mesure de pH basiques[213]

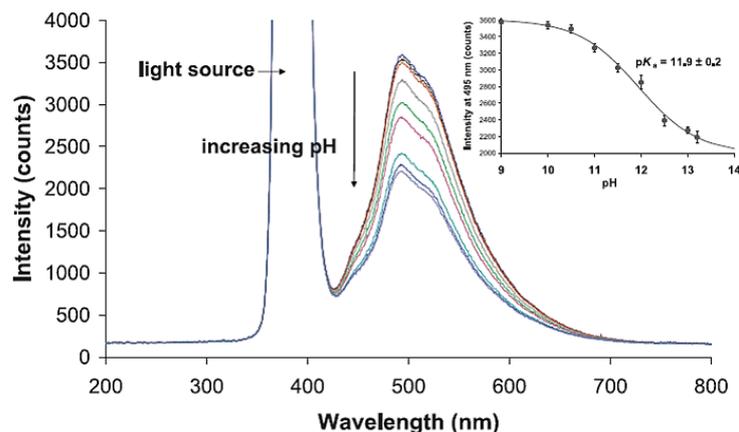


Figure I - 80 : Etude de la fluorescence de la sonde 7-(4-vinylbenzylamino)-4-((2-méthyl-4-nitro-1H-imidazol-1-yl)méthyl)-coumarine copolymérisée dans le Pluronic P84, l'acide méthacrylique et le 1,4-Bis(acryloyl)piperazine à l'aide de l'optode de pH élaborée par Nguyen et al.[213]

IV.5. Développement d'optodes de pH planaires

Quelques travaux décrivent des optodes planaires permettant de cartographier le pH en surface de matériaux cimentaires. L'utilisation d'une fibre optique n'est pas essentielle pour ce type d'application et la mesure ne correspond pas à une mesure locale in situ. Il est cependant intéressant de considérer ces applications pour le développement d'une optode de pH destinées à l'étude des matériaux cimentaires. Ainsi Grengg et al. décrivent l'utilisation d'une sonde de pH BODIPY possédant un $pK_a=10,8$, physiquement piégée dans un hydrogel polyuréthane (HydroMed™ D4) en présence d'une référence interne ($CaOCuO(SiO_2)_4$ ou Egyptian Blue)[138]. Cette membrane polymère hydratée est destinée à être posée en surface de la surface plane à étudier et le temps de réponse est d'environ 10 min. La référence interne est sélectionnée en raison de sa phosphorescence non affectée par le pH de l'environnement étudié et excitable à la même longueur d'onde que la sonde de pH fluorescente. L'association d'une sonde de pH avec une durée de vie de fluorescence courte (quelques ns) et une référence possédant une durée de vie de phosphorescence longue (quelques μs) constitue les fondements de la méthode décrite par Grengg et al. En effet, le montage optique et le principe de la méthode illustrés en Figure I - 81 consiste à exciter le polymère dopé pendant un temps T_1 et de collecter les émissions de la sonde de pH fluorescente et de la référence interne. Une seconde étape sans excitation permet de collecter l'émission de la référence interne possédant une durée de vie supérieure. Un algorithme permet alors de 'diviser' une image par rapport à l'autre et d'en déduire une image ratiométrique. La méthode décrite correspond à une mesure t-DLR (Time-domain Dual Lifetime Referencing) permettant d'augmenter la sensibilité et la résolution de la mesure. En effet la résolution obtenue est de 75 μm par pixel et les problèmes rencontrés en raison de l'inhomogénéité optique des échantillons de béton peuvent être résolus en utilisant des membranes optiquement isolante (TiO_2 ou noir de carbone)[138]. La Figure I - 82 compare les résultats obtenus avec la méthode t-DLR et la mesure du pH à l'aide d'une électrode de pH plane. L'étude a été menée sur un échantillon $4 \times 4 \times 7,5 \text{ cm}^3$ de béton CEM I ($f_c^e=0,43$, agrégats silice de taille maximale 16 mm, $\sim 4\%$ d'air entraîné) ayant été placé dans une chambre climatique durant 30 jours avec une concentration en CO_2 de 2%, une humidité relative de 65% à 20°C. La méthode t-DLR permet d'obtenir une meilleure résolution avec la mise en évidence de gradients de pH fonction de la microstructure du béton. L'utilisation d'une électrode de pH en verre d'un diamètre proche de 8 mm ne permet pas une résolution avancée mais offre plutôt une valeur de pH moyenne sur la surface analysée.

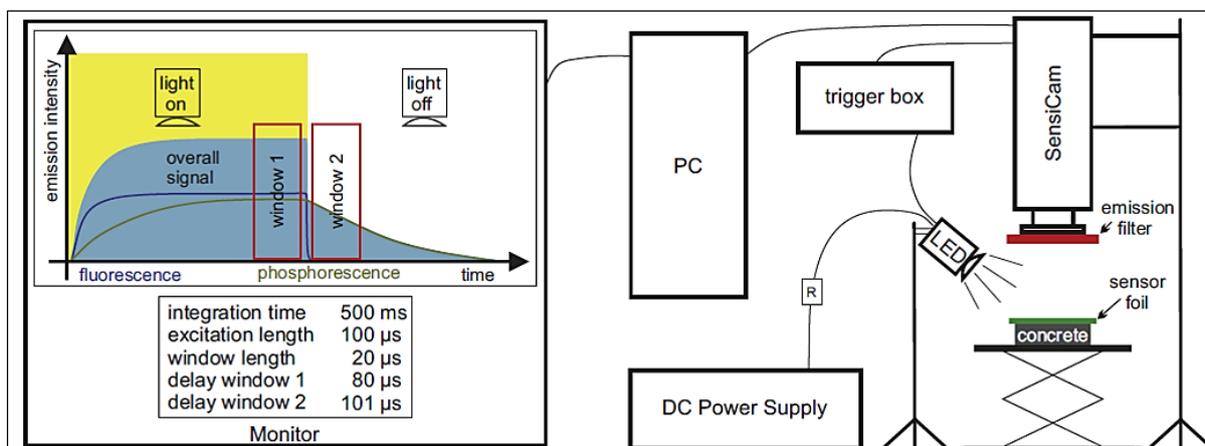


Figure I - 81 : Principe de la méthode et instrumentation t-DLR (time-domain Dual Lifetime Referencing) utilisée pour l'imagerie de gradients de pH en surface du béton[138]

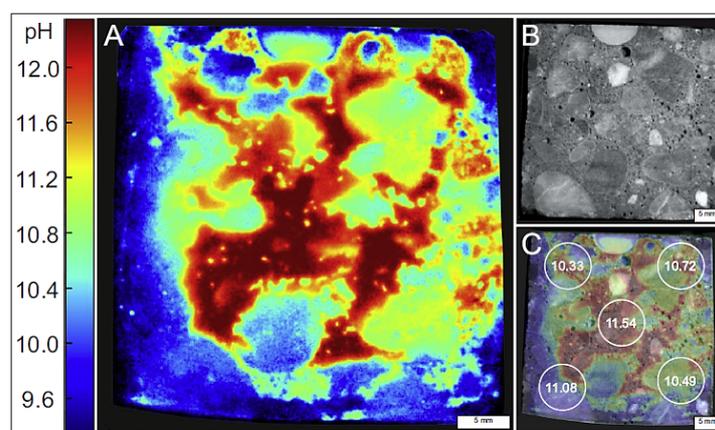


Figure I - 82 : Mesure du pH en surface d'un échantillon de béton carbonaté avec la méthode t-DLR (A). Photographie de la surface étudiée (B) et pH mesuré à l'aide d'une électrode de pH plane (C)[138]

Différentes configurations peuvent être utilisées pour la cartographie du pH en surface de matériaux. Dans le cadre de la détermination de gradients de pH dans des sédiments par exemple, une membrane répondant aux variations de pH peut être fixée sur la paroi interne d'un contenant en matériau transparent (acrylique), dans lequel l'échantillon à analyser est placé en contact de cette membrane et est saturé en eau (Figure I - 83). Un simple appareil DSLR peut permettre d'imager le pH et réduit le coût du montage estimé à 3000 \$US. Larsen et al. réalisent une cartographie du pH grâce à ce montage en associant l'indicateur de pH HPTS (acide 8-hydroxy-1,3,6-pyrenetrisulfonique) à une référence interne (Macrolex® Fluorescent Yellow 10GN)[114]. La brillance de la sonde pH est ainsi augmenté par transfert d'énergie entre la référence interne et la sonde de pH. Ce transfert d'énergie est modulé par le pH puisqu'en milieu basique, un transfert d'énergie a lieu entre le donneur et la sonde de pH dont la fluorescence domine. En milieu acide, les spectres d'absorption de l'accepteur et d'émission du donneur ne se recouvrent pas et le transfert d'énergie n'a pas lieu impliquant une fluorescence de la référence interne supérieure. La matrice hydrogel utilisée est un polyuréthane (HydroMed™ D4) appliqué sur un substrat transparent en polyester qui permet l'adhésion de cette membrane en face interne du contenant. Moßhammer et al. associent la sonde de pH OHButoxy-aza-BODIPY à une coumarine (Bu₃Coum) occupant le rôle de référence interne[139].

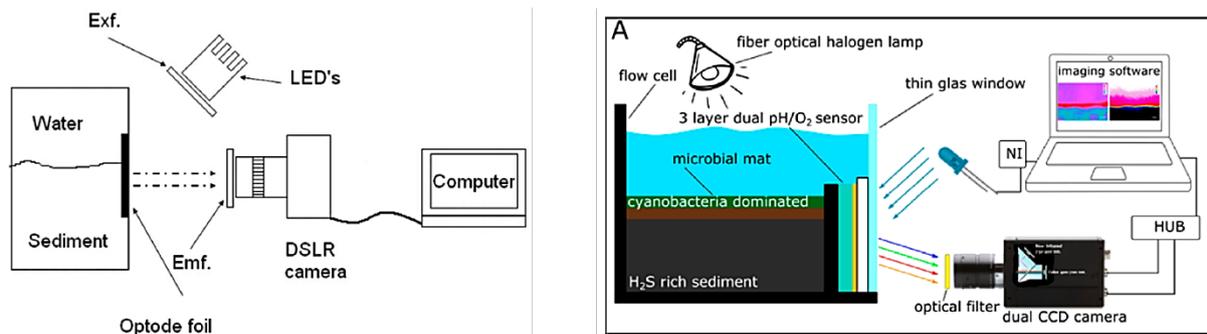


Figure I - 83 : Montages expérimentaux utilisés pour la cartographie du pH de sédiments. Gauche : Larsen et al.[114] (Exf. : filtre d'excitation et Emf. : filtre d'émission), droite : Moßhammer et al.[139]

Liu et al. ont cartographié le pH en surface de pâtes de ciment avec un complexe porpholactone Pt(II) (Pt(II)(meso-tetrakis(pentafluorophenyl)porpholactonato)) noté T^FPLPt et un montage optique similaire[214]. T^FPLPt est physiquement piégée dans un polymère constitué de DMSO, d'alcool polyvinylique (PVA, $M_w = 31000g/mol$), d'hydroxypropyl methylcellulose Culminal™ C9115, d'un surfactant non ionique (Cremophor EL®) avec le ratio massique 5 :30 :1 :4. La solution visqueuse est déposée à l'aide d'un pinceau sur la surface analysée et une comparaison avec un dépôt d'une solution de phénolphtaléine (PHPHT) est effectuée. Un appareil DSLR muni de deux filtres passe-bande sélectionnés en fonction des deux bandes d'émission de la sonde de pH permettent de capturer deux images. Le traitement de ces deux images permet d'obtenir une image ratiométrique et le rapport des intensités permet d'en déduire une valeur de pH grâce à une calibration préalablement effectuée (Figure I - 84). L'étude a été menée sur des pâtes de ciment Portland (Type I) avec un rapport $\frac{e}{c} = 0,50$ et sur des pâtes de ciment bas-pH pour lesquelles de la fumée de silice micronique (Elkem 900W) a été introduite à raison de 30% en masse en conservant un rapport $\frac{e}{c} = 0,50$. Une carbonatation accélérée des matériaux a été effectuée à $P=15$ bar, $T = 23^\circ C$ et une humidité relative de 60%. Liu et al. prouvent ainsi que l'utilisation de T^FPLPt avec un montage optique robuste permet de cartographier en surface le pH de matériaux cimentaires sur une gamme $pH = 11,0-13,5$ avec une résolution et une sensibilité dur au caractère ratiométrique de la mesure.

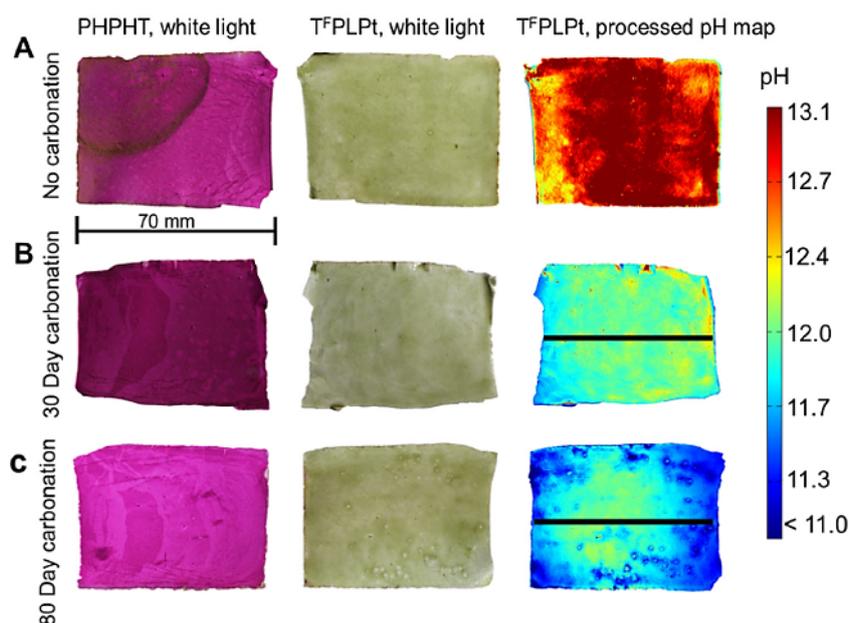


Figure I - 84 : Pâtes de ciment Portland fracturées à 0, 30, 80 jours de carbonatation (A,B,C) et après application d'une solution de phénolphtaléine PHPHT (colonne gauche) ou de T^FPLPt (colonne centrale) sous lumière blanche. Colonne droite : cartographie du pH obtenue par la méthode de Liu et al.[214]

Un montage de cartographie du pH basée sur des mesures d'absorbances ratiométriques ont été développées de manière comparable afin de mesurer le pH dans des fissures d'un matériau cimentaire auto-cicatrisant, avec une haute résolution (50 μm par pixel) et un gradient de 1,4 unités de pH par mm [140].

IV.6. Optodes dédiées à la mesure du pH : conclusion

Les premières optodes de pH développées l'ont été pour des valeurs de pH physiologiques et constituent une base pour le développement d'optodes innovantes et adaptées à des environnements contraignants. Le pH basique et les contraintes mécaniques imposées par les matériaux cimentaires limite le choix de la matrice solide permettant de séquestrer les sondes de pH. Ainsi, les matrices susceptibles à une hydrolyse ou une transition de phase à pH basique, telles que le pHEMA ou les polaxomères sont à exclure. Les hydrogels résistants aux pH basiques peuvent cependant être retenus en raison d'une séquestration simple des sondes de pH, de leur caractère hydrophile et de leur perméabilité aux ions H_3O^+ et HO^- . La majorité des matériaux sols-gels et les silices mésoporeuses ne sont pas stables à pH basique, elles ne constituent donc pas des matrices intéressantes pour l'application visée. En revanche la cellulose correspond à une matrice hydrophile et résistante à pH basique, dont la fonctionnalisation est accessible. Le développement d'optodes basées sur la cellulose constitue une voie à explorer.

Le choix d'élaborer une optode de pH basée sur une mesure d'intensité de fluorescence simplifie l'instrumentation à mettre en place, et la contrainte de réaliser une mesure du pH *in situ* oriente vers l'utilisation d'une fibre optique afin d'exciter le fluorophore et de collecter son émission. Une attention particulière doit cependant être portée à la stabilité de la mesure vis-à-vis des perturbations provenant de l'environnement, d'une éventuelle variation de la concentration en sonde au cours du temps ou d'une fluctuation de la source d'excitation. L'inclusion d'une référence interne pallie à certaines de ces problématiques et la lixiviation de la sonde au cours du temps doit être étudiée afin d'assurer une mesure stable à long terme.

V. Mesure du pH de matériaux cimentaires : conclusion

D'après l'état de l'art dressé dans ce chapitre, aucun outil de mesure du pH *in situ* des matériaux cimentaires dès la première phase d'hydratation n'a été développé. Cette section clôture donc le chapitre I de ce manuscrit en énumérant les différentes considérations à prendre en compte pour le développement d'une optode destinée à une mesure *in situ* du pH de matériaux cimentaires, basée sur une sonde moléculaire fluorescente.

Le développement d'une optode de pH pour une mesure *in situ* dans les matériaux cimentaires regroupe différentes contraintes impliquant la nécessité de développer un instrument de mesure stable à long terme dans un milieu basique (gamme pH = 10 – 13,5) et agressif. Cet outil doit pouvoir mesurer le pH *in situ*, dans un matériau dont le volume d'eau accessible évolue en fonction de sa phase d'hydratation. Le développement d'une optode de pH basée sur une mesure de fluorescence selon ces contraintes implique :

- i. La synthèse d'une ou plusieurs sondes de pH fluorescentes spécifiques à la gamme de pH = 10 – 13,5 et photostables ;
- ii. La séquestration de cette ou ces sondes dans une matrice solide stable à long terme dans un matériau cimentaire (pH basique et contraintes mécaniques) ;
- iii. L'exclusion d'une recalibration de l'optode une fois piégée dans un matériau cimentaire afin d'acquérir les données dès la première phase d'hydratation

D'après la recherche bibliographique constituant ce premier chapitre, peu de structures moléculaires adaptées ont été reportées et la synthèse de sondes de pH spécifiques et photostables est essentiel au développement de l'optode. Parmi les matrices solides utilisées, les hydrogels résistants aux pH basiques semblent présenter des propriétés intéressantes pour le développement de l'outil, notamment une hydrophilicité, une perméabilité aux analytes H_3O^+ et HO^- , ainsi qu'une bonne résistance mécanique. La cellulose présente également ces caractéristiques avec l'avantage d'une fonctionnalisation accessible. L'impossibilité de calibration de l'instrument au cours du temps impose alors de déporter la mesure. L'utilisation d'une fibre optique afin de réaliser une mesure *in situ* semble être adaptée puisqu'elle permet de déporter la mesure à un coût faible. En contrepartie, la mesure du pH des matériaux cimentaires ne nécessite pas une précision élevée et une mesure avec une incertitude de $\pm 0,1$ unité de pH est satisfaisante. De même, pour un suivi du pH à long terme, un temps de réponse court n'est pas une priorité. Les caractéristiques de l'optode de pH à prioriser sont des signaux optiques stables et fiables, une utilisation de l'optode simple et accessible, ainsi qu'une stabilité mécanique à long terme.

Références

1. Ouertatani, L.; Dumon, A., Évolution historique des concepts d'acide et de base. *L'actualité chimique* **2007**, *306*, 6-9.
2. Sörensen, S. P. L., Enzymstudien II: Über die Messung und die Bedeutung der Wasserstoffionenkonzentration bei enzymatischen Prozessen. *Biochem. Zeit.* **1909**, *21*, 131-200.
3. Mansfield, C. W., The determination of hydrogen ions; an elementary treatise on the hydrogen electrode indicator and supplementary methods, with an indexed bibliography on applications. *Journal of Biological Chemistry* **1923**.
4. International union of pure and applied chemistry, Measurement of pH : definition, standards, and procedures *Pure Appl. Chem.* **2002**, *74* (11), 2169-2200.
5. IUPAC, Compendium of chemical terminology. *IUPAC recommendations* **2019**, *2nd Edition*.
6. Magro, M.; Corain, L.; Ferro, S.; Baratella, D.; Bonaiuto, E.; Terzo, M.; Corraducci, V.; Salmaso, L.; Vianello, F., Alkaline Water and Longevity: A Murine Study. *Evid Based Complement Alternat Med* **2016**, *2016*, 3084126.
7. El Shenawy, E. A.; Elkelawy, M.; Bastawissi, H. A.-E.; Taha, M.; Panchal, H.; Sadasivuni, K.; Thakar, N., Effect of cultivation parameters and heat management on the algae species growth conditions and biomass production in a continuous feedstock photobioreactor. *Renewable Energy* **2020**, *148*, 807-815.
8. Guo, J. H.; Liu, X. J.; Zhang, Y.; Shen, J. L.; Han, W. X.; Zhang, W. F.; Christie, P.; Goulding, K. W. T.; Vitousek, P. M.; Zhang, F. S., Significant acidification in major chinese croplands. *Science* **2010**, *327* (5868), 1008-1010.
9. Lundell, L. R.; Dent, J.; Bennett, J. R.; Blum, A. L.; Armstrong, D.; Galmiche, J. P.; Johnson, F.; Hongo, M.; Richter, J. E.; Spechler, S. J.; Tytgat, G. N.; Wallin, L., Endoscopic assessment of oesophagitis: clinical and functional correlates and further validation of the Los Angeles classification. *Gut* **1999**, *45* (2), 172-80.
10. Sotoodeh, K., Requirement and calculation of corrosion allowance for piping and valves in the oil and gas industry. *Journal of Bio- and Tribo- Corrosion* **2020**, *6* (21).
11. Dauzères, A.; Le Bescop, P.; Cau-Dit-Coumes, C.; Brunet, F.; Bourbon, X.; Timonen, J.; Voutilainen, M.; Chomat, L.; Sardini, P., On the physico-chemical evolution of low-pH and CEM I cement pastes interacting with Callovo-Oxfordian pore water under its in situ CO₂ partial pressure. *Cement and Concrete Research* **2014**, *58*, 76-88.
12. Mainguy, M.; Tognazzi, C.; Torrenti, J. M.; Adenot, F., Modelling of leaching in pure cement paste and mortar. *Cement and Concrete Research* **2000**, *30*, 83-90.
13. Carde, C.; François, R., Modelling the loss of strenght and porosity increase due to the leaching of cement pastes. *Cement and Concrete Composites* **1999**, *21*, 181-188.
14. Karastogianni, S.; Stella, G.; Sotiropoulos, S., pH : principles and measurement. *Encyclopedia of Food and Health* **2016**, *2nd edition*.
15. Naumann, R.; Alexander-Weber, C.; Eberhardt, R.; Giera, J.; Spitzer, P., Traceability of pH measurements by glass electrode cells : performance characteristics of pH electrodes by multi-point calibration. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **2002**, *374*, 778-786.
16. Glab, S.; Hulanicki, A., Ion selective electrodes : Glass electrodes. *Encyclopedia of Analytical Science* **2005**, 498-502.
17. Jones, H. M., A rapid hydrogen electrode method for determination of hydrogen ion concentrations in bacterial cultures or in other turbid or colored solutions. *The Journal of Infectious Diseases* **1919**, *23* (3), 262-268.
18. Button, V., Chapter 2-Electrodes for biopotential recording and tissue stimulation. *Principles of Measurement and Transduction of Biomedical Variables* **2015**, 25-75.
19. Steinholt, K.; Calbert, H.E., The quinhydrone electrode for pH determinations in milk and dairy products. *Journal of Dairy Science* **1960**, *43* (3), 329-345.

20. Kurzweil, P., Metal oxides and ion-exchanging surfaces as pH sensors in liquids : State-of-the-art and outlook. *Sensors* **2009**, *9* (6), 4955-4985.
21. Cafilisch, C.; Pucacco, L. R.; Carter, N. W., Manufactured utilization of antimony pH electrodes. *Kidney International* **1978**, *14*, 126-141.
22. Cui, Y.; Wei, Q.; Park, H.; Lieber, C.M., Nanowire nanosensors for highly sensitive and selective detection of biological and chemical species. *Science* **2001**, *293* (5533), 1289-1292.
23. Khan, M. I.; Mukerjee, K.; Shoukat, R. ; Dong, H., A review on pH sensitive materials for sensors and detection methods. *Microsystem Technologies* **2017**, *23* (10), 4391-4404.
24. Steinegger, A.; Wolfbeis, O. S.; Borisov, S. M., Optical Sensing and Imaging of pH Values: Spectroscopies, Materials, and Applications. *Chem Rev* **2020**, *120* (22), 12357-12489.
25. Kapilraj, N.; Keerthanan, S.; Sithambaresan, M., Natural plant extracts as acid-base indicator and determination of their pKa value. *Hindawi Journal of Chemistry* **2019**, *2019*.
26. Liu, X.; Niu, D.; Li, X.; Lv, Y.; Fu, Q., Pore Solution pH for the Corrosion Initiation of Rebars Embedded in Concrete under a Long-Term Natural Carbonation Reaction. *Applied Sciences* **2018**, *8* (1).
27. Harrison, A. M., Chemistry of cement and concrete - Constitution and specification of Portland cement. **2019**, *5th edition*, 87-155.
28. Rafaï, N., Les composants de la matrice cimentaire (rappels et interactions). *Ciments, bétons, plâtres, chaux* **2008**, *890*, 60-66.
29. Zhu, Z.; Xu, W.; Chen, H.; Tan, Z., Evolution of microstructures of cement paste via continuous-based hydration model of non-spherical cement particles. *Composites Part B: Engineering* **2020**, *185*.
30. Bullard, J. W.; Jennings, H. M.; Livingston, R. A.; Nonat, A.; Scherer, G. W.; Schweitzer, J. S.; Scrivener, K. L.; Thomas, J. J., Mechanisms of cement hydration. *Cement and Concrete Research* **2011**, *41* (12), 1208-1223.
31. Cau Dit Coumes, C.; Courtois, S.; Nectoux, D.; Leclercq, S.; Bourbon, X., Formulating a low-alkalinity, high-resistance and low-heat concrete for radioactive waste repositories. *Cement and Concrete Research* **2006**, *36* (12), 2152-2163.
32. Michael, O.; Dirk, M.; Lian, W., Radionuclide and Metal Sorption on Cement and Concrete. **2016**.
33. Morandea, A.; Thiéry, M.; Dangla, P., Investigation of the carbonation mechanism of CH and C-S-H in terms of kinetics, microstructure changes and moisture properties. *Cement and Concrete Research* **2014**, *56*, 153-170.
34. Nishikawa, T.; Suzuki, K.; Ito, S.; Sato, K.; Takebe, T., Decomposition of synthesized ettringite by carbonation. *Cement and Concrete Research* **1992**, *22*, 6-14.
35. Pu, Q.; Jiang, L.; Xu, J.; Chu, H.; Xu, Y.; Zhang, Y., Evolution of pH and chemical composition of pore solution in carbonated concrete. *Construction and Building Materials* **2012**, *28* (1), 519-524.
36. ANDRA, Rapport CG-TE-D-NTE-AMOA-SR1-0000-15-0060 –«Dossier d'options de sûreté - Partie exploitation» (DOS-Expl). **2016**.
37. García Calvo, J. L.; Hidalgo, A.; Alonso, C.; Fernández Luco, L., Development of low-pH cementitious materials for HLRW repositories. *Cement and Concrete Research* **2010**, *40* (8), 1290-1297.
38. Liu, K.; Mo, L.; Deng, M., Influence of pH on the formation of gypsum in cement materials during sulfate attack. *Advances in Cement Research* **2015**, *27* (8), 487-493.
39. Dang, J.; Shen, X.; Castel, A.; Aldred, J., Monitoring apparent pH value in geopolymer concrete using glass electrode. *33rd International Symposium on Automation and Robotics in Construction* **2016**.
40. Rajabipour, F.; Sant, G.; Weiss, J., Interactions between shrinkage reducing admixtures (SRA) and cement paste's pore solution. *Cement and Concrete Research* **2008**, *38* (5), 606-615.
41. Wang, F.; Yang, J.; Hu, S.; Li, X.; Cheng, H., Influence of superabsorbent polymers on the surrounding cement paste. *Cement and Concrete Research* **2016**, *81*, 112-121.
42. Vollpracht, A.; Lothenbach, B.; Snellings, R.; Haufe, J., The pore solution of blended cements: a review. *Materials and Structures* **2015**, *49* (8), 3341-3367.
43. Larbi, J.; Bijen, J., Interaction of polymers with portland cement during hydration: A study of the chemistry of the pore solution of polymer-modified cement systems. *Cement and Concrete Research* **1990**, *20*, 139-147.

44. Cyr, M.; Daidie, A., Optimization of a high-pressure pore water extraction device. *Rev Sci Instrum* **2007**, *78* (2), 023906.
45. Li, L.; Nam, J.; Hartt, W. H., Ex situ leaching measurement of concrete alkalinity. *Cement and Concrete Research* **2005**, *35* (2), 277-283.
46. Duchesne, J.; Bérubé, M., Evaluation of the validity of the pore solution expression method from hardened cement pastes and mortars. *Cement and Concrete Research* **1994**, *24* (3), 456-462.
47. Sagües, A.A.; Moreno, E. I.; Andrade, C., Evolution of pH during in-situ leaching in small concrete cavities. *Cement and Concrete Research* **1997**, *27* (11), 1747-1759.
48. Alonso M C, G. C. J. L., Walker C, Naito M, Pettersson S, Puigdomenech I, Cuñado M A, Vuorio M, Posiva, Ueda H, Fujisaki K, Development of an accurate pH measurement methodology for the pore fluids of low pH cementitious materials. **2012**.
49. Newman, C. A. J. B., An assessment of four methods of determining the free chloride content of concrete. *Materials and Structures* **1990**, *23*, 319-330.
50. Behnood, A.; Van Tittelboom, K.; De Belie, N., Methods for measuring pH in concrete: A review. *Construction and Building Materials* **2016**, *105*, 176-188.
51. Liao, Y.-H.; Chou, J.-C., Preparation and characteristics of ruthenium dioxide for pH array sensors with real-time measurement system. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2008**, *128* (2), 603-612.
52. Kreider, K. G.; Tarlov, M. J.; Cline, J. P., Sputtered thin-film pH electrodes of platinum, palladium, ruthenium, and iridium oxides. *Sens. Actuators B: Chem.* **1995**, *28*, 167-172.
53. Huang, W.-D.; Cao, H.; Deb, S.; Chiao, M.; Chiao, J. C., A flexible pH sensor based on the iridium oxide sensing film. *Sensors and Actuators A: Physical* **2011**, *169* (1), 1-11.
54. Du, R.-G.; Hu, R.-G.; Huang, R.-S.; Lin, C.-J., In Situ Measurement of Cl⁻ Concentrations and pH at the Reinforcing Steel/Concrete Interface by Combination Sensors. *Anal. Chem.* **2006**, *78*, 3179-3185.
55. Dong, S.-G.; Lin, C.-J.; Hu, R.-G.; Li, L.-Q.; Du, R.-G., Effective monitoring of corrosion in reinforcing steel in concrete constructions by a multifunctional sensor. *Electrochimica Acta* **2011**, *56* (4), 1881-1888.
56. Duarte, R. G.; Castela, A. S.; Neves, R.; Freire, L.; Montemor, M. F., Corrosion Behavior of Stainless Steel Rebars Embedded in Concrete: an Electrochemical Impedance Spectroscopy Study. *Electrochimica Acta* **2014**, *124*, 218-224.
57. Ye, C.-Q.; Hu, R.-G.; Dong, S.-G.; Zhang, X.-J.; Hou, R.-Q.; Du, R.-G.; Lin, C.-J.; Pan, J.-S., EIS analysis on chloride-induced corrosion behavior of reinforcement steel in simulated carbonated concrete pore solutions. *Journal of Electroanalytical Chemistry* **2013**, *688*, 275-281.
58. Balusamy, T.; Nishimura, T., In-Situ Monitoring of Local Corrosion Process of Scratched Epoxy Coated Carbon Steel in Simulated Pore Solution Containing Varying percentage of Chloride ions by Localized Electrochemical Impedance Spectroscopy. *Electrochimica Acta* **2016**, *199*, 305-313.
59. Poghossian, A.; Schoning, M. J., Capacitive Field-Effect EIS Chemical Sensors and Biosensors: A Status Report. *Sensors (Basel)* **2020**, *20* (19).
60. Lai, C.-S.; Lue, C.-E.; Yang, C.-M.; Pijanowska, D. G., Fluorine Incorporation and Thermal Treatment on Single and Stacked Si₃N₄ Membranes for ISFET/REFET Application. *Journal of The Electrochemical Society* **2010**, *157* (1), 8-12.
61. Jang, H.-J.; Kim, M.-S.; Cho, W.-J., Development of Engineered Sensing Membranes for Field-Effect Ion-Sensitive Devices Based on Stacked High- κ Dielectric Layers. *IEEE Electron Device Letters* **2011**, *32* (7), 973-975.
62. Oh, J. Y.; Jang, H.-J.; Cho, W.-J.; Islam, M. S., Highly sensitive electrolyte-insulator-semiconductor pH sensors enabled by silicon nanowires with Al₂O₃/SiO₂ sensing membrane. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2012**, *171-172*, 238-243.
63. Schöning, M. J.; Tsarouchas, D.; Beckers, L.; Schubert, J.; Zander, W.; Kordo, P.; Ltitth, H., A highly long-term stable silicon-based pH sensor fabricated by pulsed laser deposition technique. *Sensors and Actuators B: Chemical* **1996**, *228-233*.

64. Lu, T.-F.; Chuang, H.-C.; Wang, J.-C.; Yang, C.-M.; Kuo, P.-C.; Lai, C.-S., Effects of Thickness Effect and Rapid Thermal Annealing on pH Sensing Characteristics of Thin HfO_2 Films Formed by Atomic Layer Deposition. *Japanese Journal of Applied Physics* **2011**, *50* (10).
65. Yang, C.-M.; Lai, C.-S.; Lu, T.-F.; Wang, T.-C.; Pijanowska, D. G., Drift and Hysteresis Effects Improved by RTA Treatment on Hafnium Oxide in pH-Sensitive Applications. *Journal of The Electrochemical Society* **2008**, *155* (11), 326-330.
66. Singh, K.; Lou, B.-S.; Her, J.-L.; Pan, T.-M., Influence of Annealing Temperature on Structural Compositions and pH Sensing Properties of Sol-Gel Derived YTiO_y Electroceramic Sensing Membranes. *Journal of The Electrochemical Society* **2019**, *166* (4), B187-B192.
67. Pan, T.-M.; Lin, C.-W.; Hsu, B.-K., Postdeposition Anneal on Structural and Sensing Characteristics of High- κ Er_2TiO_5 Electrolyte–Insulator–Semiconductor pH Sensors. *IEEE Electron Device Letters* **2012**, *33* (1), 116-118.
68. Pan, T.-M.; Cheng, C.-H.; Lee, C.-D., Yb_2O_3 Thin Films as a Sensing Membrane for pH-ISFET Application. *Journal of The Electrochemical Society* **2009**, *156* (5), 108-111.
69. Pan, T.-M.; Lin, C.-W., Structural and Sensing Characteristics of Dy_2O_3 and Dy_2TiO_5 Electrolyte-Insulator-Semiconductor pH Sensors. *J. Phys. Chem. C* **2010**, *114*, 17914–17919.
70. Valeur, B., Molecular fluorescence : Principles and applications. *Wiley-VCH* **2001**.
71. Wawilow, S. J., Die fluoreszenzausbeute von farbstofflösungen als funktion der wellenlänge des anregenden lichtes. *Zeitschrift für Physik A Hadrons and Nuclei* **1927**, *42* (4), 311-318.
72. Chmyrov, A., Photo-induced dark states in fluorescence spectroscopy - investigations & applications. **2010**.
73. Brouwer, A. M., Standards for photoluminescence quantum yield measurements in solution (IUPAC Technical Report). *Pure and Applied Chemistry* **2011**, *83* (12), 2213-2228.
74. Vasylevska, A.; Karasyov, A.; Borisov, S.M. ; Krause, C., Novel coumarin-based fluorescent pH indicators probes and membranes covering a broad pH range. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **2007**, *387* (2137-2141).
75. Staneva, D.; Betcheva, R., Synthesis and functional properties of new optical pH sensor based on benzo[de]anthracen-7-one immobilized on the viscose. *Dyes and Pigments* **2007**, *74* (1), 148-153.
76. Georgiev, N. I.; Bojinov, V. B.; Nikolov, P. S., The design, synthesis and photophysical properties of two novel 1,8-naphthalimide fluorescent pH sensors based on PET and ICT. *Dyes and Pigments* **2011**, *88* (3), 350-357.
77. McConnell, H. M., Intramolecular charge transfer in aromatic free radicals. *Journal of Chemical Physics* **1961**, *35*, 508-515.
78. Pasman, P.; Rob, F. ; Verhoeven, J. W., Intramolecular charge-transfer absorption and emission resulting from through-bond interaction in bichromophoric molecules. *Journal of the American Chemical Society* **1982**, *104*.
79. Barbara, P.; Wlodzimierz, J., Ultrafast photochemical intramolecular charge and excited state solvation. *Advances in Photochemistry* **1990**, *15*.
80. Yang, S. W.; Elangovan, A. ; Hwang, K. C. ; Ho, T. I., Electronic polarization reversal and excited state intramolecular charge transfer indonor/acceptor ethynylpyrenes. *Journal of Physical Chemistry* **2005**, *109*, 16628–16635.
81. Qin, R.; Yang, W.; Li, S. ; Lau, T.-K.; Yu, Z. ; Liu, Z. ; Shi, M. ; Lu, X. ; Li, C.Z. ; Chen, H., Enhanced intramolecular charge transfer of unfused electron acceptors for efficient organic solar cells. *Materials Chemistry Frontiers* **2019**, *3*.
82. Misra, R.; Bhattacharyya, S.P., Intramolecular charge transfer : theory and applications. *Wiley-VCH* **2018**.
83. De Silva, A. P.; Moody, T.S.; Wright, G.D., Fluorescent PET (photoinduced electron transfer) sensors as potent analytical tools. *Analyst* **2009**, *134*, 2385–2393.
84. De Silva, A. P.; Desilva, S., Fluorescent signalling crown ethers; ‘switching on’ of fluorescence by alkali metal ion recognition and binding in situ. *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications* **1986**, (23), 1709-1710.

85. Qiu, L.; Zhu, C.; Chen, H.; Hu, M.; He, W.; Guo, Z., A turn-on fluorescent fe³⁺ sensor derived from an anthracene-bearing bisdiene macrocycle and its intracellular imaging application. *Chemical Communications* **2014**, *50*, 4631–4634.
86. Yue, Y.; Huo, F.; Lee, S.; Yin, C.; Yoon, J., A review: the trend of progress about pH probes in cell application in recent years. *Analyst* **2017**, *142* (1), 30-41.
87. Zhang, X.-F.; Zhang, T.; Shen, S.-L.; Miao, J.-Y.; Zhao, B.-X., A ratiometric lysosomal pH probe based on the naphthalimide–rhodamine system. *Journal of Materials Chemistry B* **2015**, *3* (16), 3260-3266.
88. Pan, W.; Wang, H.; Yang, L.; Yu, Z.; Li, N.; Tang, B., Ratiometric Fluorescence Nanoprobes for Subcellular pH Imaging with a Single-Wavelength Excitation in Living Cells. *Analytical Chemistry* **2016**, *88* (13), 6743-6748.
89. Grant, S.; Bettencourt, K.; Krulevitch, P.; Hamilton, J.; Glass, R., In vitro and in vivo measurements of fiber optic and electrochemical sensors to monitor brain tissue pH. *Sensors and Actuators B : Chemical* **2001**, *72* (2), 174-179.
90. Alizadeh-Pasdar, N.; Li-Chan, E. C., Comparison of Protein Surface Hydrophobicity Measured at Various pH Values Using Three Different Fluorescent Probes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2000**, *48* (2), 328-334.
91. Gurkov, A.; Sadovoy, A.; Shchapova, E.; Teh, C.; Meglinski, I.; Timofeyev, M., Microencapsulated fluorescent pH probe as implantable sensor for monitoring the physiological state of fish embryos. *PLoS ONE* **2017**, *12* (10).
92. Weidgans, B. M.; Krause, C.; Klimant, I.; Wolfbeis, O. S., Fluorescent pH sensors with negligible sensitivity to ionic strength. *Analyst* **2004**, *129* (7), 645-50.
93. Aigner, D.; Borisov, S.M. ; Fernandez, F.J.O. ; Sanchez, J.F.F. ; Saf, R. ; Klimant, I., New fluorescent pH sensors based on covalently linkable PET rhodamines. *Talanta* **2012**, *99*, 194-201.
94. Lee, M. H.; Han, J.H.; Lee, J.H.; Park, N.; Kumar, R.; Kang, C.; Kim, J.S., Two-color probe to monitor a wide range of pH values in cells. *Angewandte Chemie International Edition* **2013**, *52* (24), 6206-6209.
95. Chan, Y.-H.; Wu, C.; Ye, F.; Jin, Y.; Smith, P.B.; Chiu, D.T., Development of ultrabright semiconducting polymer dots for ratiometric pH sensing. *Analytical Chemistry* **2011**, *83*, 1448-1455.
96. Wang, Z.-S.; Cui, Y.; Dan-Oh, Y.; Kasada, C.; Shinpo, A.; Hara, K., Molecular Design of Coumarin Dyes for Stable and Efficient Organic Dye-Sensitized Solar Cells. *J. Phys. Chem.* **2008**, *112*, 17011-17017.
97. Drexhage, K. H., Fluorescence Efficiency of Laser Dyes *JOURNAL OF RESEARCH of the National Bureau of Standards-A. Physics and Chemistry* **1976**, *80A* (3).
98. Wagner, B. D., The use of coumarins as environmentally-sensitive fluorescent probes of heterogeneous inclusion systems. *Molecules* **2009**, *14*, 210-237.
99. Jones, G.; Jackson, W.R.; Kanoktanaporn, S. ; Halpern, A.M., Solvent effects on photophysical parameters for coumarin laser dyes. *Optics Communications* **1980**, *33*, 315-320.
100. Long, L.; Xiufen, L.; Zhang, D.; Suci, M.; Zhang, J.; Sun, X. ; Zhang, C. ; Zhou, L. ; Wang, L., Amino-coumarin based fluorescence ratiometric sensors for acidic pH and their application for living cells imaging. *RSC Advances* **2013**, *3* (30), 12204–12209.
101. Wu, M.-Y.; Li, K.; Liu, Y.-H.; Yu, K.-K.; Xie, Y.-M.; Zhou, X.-D.; Yu, X.-Q., Mitochondria-targeted ratiometric fluorescent probe for real time monitoring of pH in living cells. *Biomaterials* **2015**, *53*, 669-678.
102. Lee, M.; Gubernator, N.G.; Sulzer, D.; Sames, D., Development of pH responsive fluorescent false neurotransmitters. *Journal of the American chemical Society - Communications* **2010**, *132* (26), 8828-8830.
103. Nguyen, T. H.; Sun, T.; Grattan, K. T. V., Novel coumarin-based pH sensitive fluorescent probes for the highly alkaline pH region. *Dyes and Pigments* **2020**, *177*.
104. Zhang, W.; Tang, B.; Liu, X.; Liu, Y.; Xu, K.; Ma, J.; Tong, L. ; Yang, G., A highly sensitive acidic pH fluorescent probe and its application to hepg2 cells. *Analyst* **2009**, *134* (367-371).

105. Lau, Y. Y.; Zhai, H.; Schafer, L. L., Catalytic Asymmetric Synthesis of Morpholines. Using Mechanistic Insights To Realize the Enantioselective Synthesis of Piperazines. *J Org Chem* **2016**, *81* (19), 8696-8709.
106. Wu, S.; Li, Z.; Han, J.; Han, S., Dual colored mesoporous silica nanoparticles with pH activable rhodamine lactam for ratiometric sensing of lysosomal acidity. *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 11276-11278.
107. Kano, K.; Fendler, J.H., Pyranine as a sensitive pH probe for liposome interiors and surfaces - pH gradients across phospholipid vesicles. *Biochimica et Biophysica Acta* **1978**, *509*, 289-299.
108. Overly, C. C.; Lee, K.D.; Berthiaume, E.; Hollenbeck, P.J., Quantitative measurement of intraorganelle pH in the endosomal-lysosomal pathway in neurons by using ratiometric imaging with pyranine. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **1995**, *92*, 3156-3160.
109. Pfundel, E. E.; Renganathan, M.; Gilmore, A.M.; Yamamoto, H.Y.; Dilley, R.A., Intrathylakoid pH in isolated pea chloroplasts as probed by violaxanthin deepoxidation. *Plant Physiology* **1994**, *106*, 1647-1658.
110. Gotor, R.; Ashokkumar, P.; Hecht, M.; Keil, K.; Rurack, K., Optical pH Sensor Covering the Range from pH 0-14 Compatible with Mobile-Device Readout and Based on a Set of Rationally Designed Indicator Dyes. *Anal Chem* **2017**, *89* (16), 8437-8444.
111. Rumyantsev, E. V.; Alyoshin, S. N.; Marfin, Y. S., Kinetic study of Bodipy resistance to acids and alkalis: Stability ranges in aqueous and non-aqueous solutions. *Inorganica Chimica Acta* **2013**, *408*, 181-185.
112. Strobl, M.; Rappitsch, T.; Borisov, S. M.; Mayr, T.; Klimant, I., NIR-emitting aza-BODIPY dyes-- new building blocks for broad-range optical pH sensors. *Analyst* **2015**, *140* (21), 7150-3.
113. Staudinger, C.; Breininger, J.; Klimant, I.; Borisov, S. M., Near-infrared fluorescent aza-BODIPY dyes for sensing and imaging of pH from the neutral to highly alkaline range. *Analyst* **2019**, *144* (7), 2393-2402.
114. Morten, L.; Sergey M., B.; Björn, G.; Ingo, K.; Ronnie N., G., A simple and inexpensive high resolution color ratiometric planar optode imaging approach: application to oxygen and pH sensing. *Limnology and Oceanography: Methods* **2011**, *9* (9), 348-360.
115. Wang, X.-d.; Wolfbeis, O. S., Optical methods for sensing and imaging oxygen: materials, spectroscopies and applications. *Chem. Soc. Rev.* **2014**, *43* (10), 3666-3761.
116. Kautsky, H., Quenching of luminescence by oxygen. *Trans. Faraday Soc.* **1938**, *35*, 216-219.
117. Kautsky, H.; Hirsch, A., Interactions of excited dye molecules and oxygen. *Ber. Dtsch. Chem. Ges. B* **1931**, *64* (2677-2686).
118. Liu, Z.; Luo, F.; Chen, T., Phenolphthalein immobilized membrane for an optical pH sensor. *Analytica Chimica Acta* **2004**, *510* (2), 189-194.
119. Thomas, P. J.; Marc, D. P., Optical pH sensor based on the chemical modification of a porous polymer film analytical chemistry. *Anal. Chem.* **1988**, *60*, 404-405.
120. Rogge, C.; Zinn, S.; Proposito, P.; Francini, R.; Foitzik, A. H., Transmitted light pH optode for small sample volumes. *Journal of Sensors and Sensor Systems* **2017**, *6* (2), 351-359.
121. Heydari, R.; Hosseini, M.; Amraei, A.; Mohammadzadeh, A., Preparation of a novel pH optical sensor using orange (II) based on agarose membrane as support. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl* **2016**, *61*, 333-7.
122. Gregor, L.; Ingo, K.; Christian, K.; Otto S., W., Fluorescent Imaging of pH with Optical Sensors Using Time Domain Dual Lifetime Referencing. *Anal. Chem.* **2001**, *73*, 4354-4363.
123. Rivera, L.; Puyol, M.; Miltsov, S., New hexamethine-hemicyanine dyes for the development of integrated optochemical sensors. *Anal Bioanal Chem* **2007**, *387*, 2111-2119.
124. Papkovsky, D. B.; Ponomarev, G. V.; Wolfbeis, O. S., Protonation of porphyrins in liquid PVC membranes: Effects of anionic additives and application to pH-sensing. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* **1997**, *104*, 151-158.
125. Peterson, J. I.; Goldstein, S. R.; Fitzgerald, R. V.; Buckhold, D. K., Fiber optic pH probe for physiological use. *Anal Chem* **1980**, *52*, 864-869.

126. Song, A.; Parus, S.; Kopelman, R., High-performance fiber-optic pH microsensors for practical physiological measurements using a dual-emission sensitive dye. *Anal Chem.* **1997**, *69* (5), 863-7.
127. Pathak, A. K.; Singh, V. K., A wide range and highly sensitive optical fiber pH sensor using polyacrylamide hydrogel. *Optical Fiber Technology* **2017**, *39*, 43-48.
128. Price, J. M.; Xu, W.; Demas, J. N.; DeGraff, B. A., Polymer-Supported pH Sensors Based on Hydrophobically Bound Luminescent Ruthenium(II) Complexes. *Anal. Chem.* **1998**, *70*, 265-270.
129. Haoyuan, H.; Saurabh, C.; Jumin, G.; Yiru, Q.; David F., W.; Jonathan F., L., Implantable Tin Porphyrin-PEG Hydrogels with pH-responsive Fluorescence. *Biomacromolecules* **2018**, *18* (2).
130. Thijs, H. M. L.; Becer, C. R.; Guerrero-Sanchez, C.; Fournier, D.; Hoogenboom, R.; Schubert, U. S., Water uptake of hydrophilic polymers determined by a thermal gravimetric analyzer with a controlled humidity chamber. *J. Mater. Chem.* **2007**, *17* (46), 4864-4871.
131. Hideaki, H.; Michiko, T.; Takuya, E.; Kazuhiko, W.; Haruma, K.; Yasuhiro, K.; Koji, S., Theory and Practice of Rapid Flow-Through Analysis Based on Optode Detection and Its Application to pH Measurement as a Model Case. *Anal. Chem.* **1996**, *68* (21), 3871-3878.
132. Tian, Y.; Su, F.; Weber, W.; Nandakumar, V.; Schumway, B. R.; Jin, Y.; Zhou, X.; Holl, M. R.; Johnson, R. H. Meldrum, D. R., A series of naphthalimide derivatives as intra and extracellular pH sensors. *Biomaterials* **2010**, *31* (29), 7411-7422.
133. Kocincova, A. S.; Borisov, S. M.; Krause, C.; Wolfbeis, O. S., Fiber-Optic Microsensors for Simultaneous Sensing of Oxygen and pH, and of Oxygen and Temperature. *Anal. Chem.* **2007**, *79* (22), 8486-8493.
134. Aigner, D.; Borisov, S. M.; Petritsch, P.; Klimant, I., Novel near infra-red fluorescent pH sensors based on 1-aminoperylene bisimides covalently grafted onto poly(acryloylmorpholine). *Chem Commun (Camb)* **2013**, *49* (21), 2139-41.
135. Staudinger, C.; Strobl, M.; Breininger, J.; Klimant, I.; Borisov, S. M., Fast and stable optical pH sensor materials for oceanographic applications. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2019**, *282*, 204-217.
136. Hoare, T. R.; Kohane, D. S., Hydrogels in drug delivery: Progress and challenges. *Polymer* **2008**, *49* (8), 1993-2007.
137. Aigner, D.; Borisov, S. M.; Klimant, I., New fluorescent perylene bisimide indicators--a platform for broadband pH optodes. *Anal Bioanal Chem* **2011**, *400* (8), 2475-85.
138. Grengg, C.; Müller, B.; Staudinger, C.; Mittermayr, F.; Breininger, J.; Ungerböck, B.; Borisov, S. M.; Mayr, T.; Dietzel, M., High-resolution optical pH imaging of concrete exposed to chemically corrosive environments. *Cement and Concrete Research* **2019**, *116*, 231-237.
139. Moßhammer, M.; Strobl, M.; Kühn, M.; Klimant, I.; Borisov, S. M.; Koren, K., Design and Application of an Optical Sensor for Simultaneous Imaging of pH and Dissolved O₂ with Low Cross-Talk. *ACS Sensors* **2016**, *1* (6), 681-687.
140. Nielsen, S. D.; Paegle, I.; Borisov, S. M.; Kjeldsen, K. U.; Roy, H.; Skibsted, J.; Koren, K., Optical Sensing of pH and O₂ in the Evaluation of Bioactive Self-Healing Cement. *ACS Omega* **2019**, *4* (23), 20237-20243.
141. Pfeifer, D.; Klimant, I.; Borisov, S. M., Ultrabright Red-Emitting Photostable Perylene Bisimide Dyes: New Indicators for Ratiometric Sensing of High pH or Carbon Dioxide. *Chemistry* **2018**, *24* (42), 10711-10720.
142. Jiang, Z.; Chen, J.; Du, J.; Liu, T.; Li, X.; Yu, H.; Zhang, Q.; Hu, Y.; Liu, F.; Yu, X.; Zhou, Z., Ratiometric optical sensor for high-resolution imaging of pH with low cross-talk. *Appl Opt* **2018**, *57* (34), 9922-9928.
143. Wang, X. D.; Meier, R. J.; Wolfbeis, O. S., Fluorescent pH-sensitive nanoparticles in an agarose matrix for imaging of bacterial growth and metabolism. *Angew Chem Int Ed Engl* **2013**, *52* (1), 406-9.
144. Jeong, B., Injectable biodegradable materials. In *Injectable Biomaterials*, 2011; pp 323-337.
145. Tsai, C. E.; Lin, C. W.; Hwang, B. J., A novel crosslinking strategy for preparing poly (vinyl alcohol)-based proton-conducting membranes with high sulfonation. *J. Power Sources* **2010**, *195*, 2166-2173.

146. Krumova, M.; Lopez, D.; Benavente, R.; Mijangos, C.; Perena, J.M., Effect of crosslinking on the mechanical and thermal properties of poly(vinyl alcohol). **2000**.
147. Chanthad, C.; Wootthikanokkhan, J., Effects of crosslinking time and amount of sulfophthalic acid on properties of the sulfonated poly(vinyl alcohol) membrane. *J. Appl. Polym. Sci.* **2006**, *101*, 1931–1936.
148. Seeponkai, N.; Wootthikanokkhan, J., Proton conductivity and methanol permeability of sulfonated poly(vinyl alcohol) membranes modified by using sulfoacetic acid and poly(acrylic acid). *J. Appl. Polym. Sci.* **2007**, *105*, 838-845.
149. Rudra, R.; Kumar, V.; Kundu, P. P., Acid catalysed cross-linking of poly vinyl alcohol (PVA) by glutaraldehyde: effect of crosslink density on the characteristics of PVA membranes used in single chambered microbial fuel cells. *RSC Advances* **2015**, *5* (101), 83436-83447.
150. Marin, E.; Rojas, J., Preparation and characterization of crosslinked poly (vinyl) alcohol films with waterproof properties. **2015**.
151. Lazzeri, L.; Marini, A.; Cascone, M. G.; d'Errico, F., Dosimetric and chemical characteristics of Fricke gels based on PVA matrices cross-linked with glutaraldehyde. *Phys Med Biol* **2019**, *64* (8), 085015.
152. Kim, K. J.; Lee, S.-B.; Han, N.-B., Kinetics of crosslinking reaction of PVA membrane with glutaraldehyde. **1994**.
153. Hosseinzadeh, H., Synthesis and swelling properties of a poly(vinyl alcohol)-based superabsorbing hydrogel. *Current Chemistry Letters* **2013**, *2* (3), 153-158.
154. Kim, M. D.; Dergunov, S. A.; Lindner, E.; Pinkhassik, E., Dye-loaded porous nanocapsules immobilized in a permeable polyvinyl alcohol matrix: a versatile optical sensor platform. *Anal Chem* **2012**, *84* (6), 2695-701.
155. Jiang, S.; Liu, S.; Feng, W., PVA hydrogel properties for biomedical application. *J Mech Behav Biomed Mater* **2011**, *4* (7), 1228-33.
156. Hennink, W. E.; van Nostrum, C. F., Novel crosslinking methods to design hydrogels. *Advanced Drug Delivery Reviews* **2002**, *54*, 13-36.
157. Yoshida, C. M. P.; Maciel, V. B. V.; Mendonça, M. E. D.; Franco, T. T., Chitosan biobased and intelligent films: Monitoring pH variations. *LWT - Food Science and Technology* **2014**, *55* (1), 83-89.
158. Zhang, X.; Lu, S.; Chen, X., A visual pH sensing film using natural dyes from *Bauhinia blakeana* Dunn. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2014**, *198*, 268-273.
159. Kenney, R. M.; Boyce, M. W.; Whitman, N. A.; Kromhout, B. P.; Lockett, M. R., A pH-Sensing Optode for Mapping Spatiotemporal Gradients in 3D Paper-Based Cell Cultures. *Anal Chem* **2018**, *90* (3), 2376-2383.
160. Ferguson, S. A.; Wang, X.; Mahoney, M.; Meyerhoff, M. E., Detection and Quantification of Polyquaterniums via Polyion-Sensitive Ion-Selective Optodes Inkjet Printed on Cellulose Paper. *The Japan Society for Analytical Chemistry* **2018**, (VOL. 34).
161. Wang, X.; Zhang, Q.; Nam, C.; Hickner, M.; Mahoney, M.; Meyerhoff, M. E., An Ionophore-Based Anion-Selective Optode Printed on Cellulose Paper. *Angew Chem Int Ed Engl* **2017**, *56* (39), 11826-11830.
162. Nielsen, L. J.; Eyley, S.; Thielemans, W.; Aylott, J. W., Dual fluorescent labelling of cellulose nanocrystals for pH sensing. *Chem Commun (Camb)* **2010**, *46* (47), 8929-31.
163. Qi, J.; Liu, D.; Liu, X.; Guan, S.; Shi, F.; Chang, H.; He, H.; Yang, G., Fluorescent pH Sensors for Broad-Range pH Measurement Based on a Single Fluorophore. *Anal Chem* **2015**, *87* (12), 5897-904.
164. Meier, R. J.; Schreml, S.; Wang, X. D.; Landthaler, M.; Babilas, P.; Wolfbeis, O. S., Simultaneous photographing of oxygen and pH in vivo using sensor films. *Angew Chem Int Ed Engl* **2011**, *50* (46), 10893-6.
165. Mohr, G. J.; Wolfbeis, O. S., Optical sensors for a wide pH range based on immobilized on a novel support. *Analytica Chimica Acta* **1994**, *292*, 41-48.
166. Holobar, A.; Weigl, B. H.; Trettnak, W.; Bene, R.; Lehmann, H.; Rodriguez, N. V.; Wollschlager, A.; O'Leary, P.; Raspord, P.; Wolfbeis, O. S., Experimental results on an optical pH measurement system for bioreactors. *Sensors and Actuators B: Chemical* **1993**, *11*, 425-430.

167. Salmani, G. K. M., Rounaghi, G. H., Chamsaz, M., A selective and sensitive optode for determination of Hg²⁺ ion based on covalent immobilization of thiazole yellow on triacetyl cellulose films. *Sens. Actuator B-Chem.* **2018**, *256*, 968-975.
168. Carofiglio, T.; Fregonese, C.; Mohr, G. J.; Rastrelli, F.; Tonellato, U., Optical sensor arrays: one-pot, multiparallel synthesis and cellulose immobilization of pH and metal ion sensitive azo-dyes. *Tetrahedron* **2006**, *62* (7), 1502-1507.
169. Devarayan, K.; Kim, B.-S., Reversible and universal pH sensing cellulose nanofibers for health monitor. *Sensors and Actuators B : Chemical* **2015**, *209*, 281-286.
170. Hench, L. L.; West, J. K., The sol-gel process. *Chemical Reviews* **1990**, *90* (1), 33-72.
171. Hoffmann, F.; Froba, M., Vitalising porous inorganic silica networks with organic functions--PMOs and related hybrid materials. *Chemical Society reviews* **2011**, *40* (2), 608-20.
172. Wolfbeis, O. S.; Rodriguez, N. V.; Werner, T., LED-Compatible Fluorosensor for Measurement of Near-Neutral pH Values. *Mikrochim. Acta* **1992**, *108*, 133-141.
173. Marx, D., Proton transfer 200 years after von Grothhuss: insights from ab initio simulations. *Chemphyschem* **2006**, *7* (9), 1848-70.
174. Nogami, M., Proton Conduction in the Sol-Gel-Derived Glasses. *Journal of the Ceramic Society of Japan* **2004**, *112* (5), 208-213.
175. Wang, E.; Chow, K.-F.; Kwan, V.; Chin, T.; Wong, C.; Bocarsly, A., Fast and long term optical sensors for pH based on sol-gels. *Analytica Chimica Acta* **2003**, *495* (1-2), 45-50.
176. Allain, L. R.; Sorasaene, K.; Xue, Z., Doped Thin-Film Sensors via a Sol-Gel Process for High-Acidity Determination. *Anal. Chem.* **1997**, *69*, 3076-3080.
177. Cajlakovic, M.; Lobnik, A.; Werner, T., Stability of new optical pH sensing material based on cross-linked poly(vinyl alcohol) copolymer. *Analytica Chimica Acta* **2002**, *455*, 207-213.
178. Li, C. Y.; Zhang, X. B.; Han, Z. X.; Akermark, B.; Sun, L.; Shen, G. L.; Yu, R. Q., A wide pH range optical sensing system based on a sol-gel encapsulated amino-functionalized corrole. *Analyst* **2006**, *131* (3), 388-93.
179. Lobnik, A.; Oehme, I.; Murkovic, I.; Wolfbeis, O. S., pH optical sensors based on sol-gels: Chemical doping versus covalent immobilization. *Analytica Chimica Acta* **1998**, *367*, 159-165.
180. Makote, R.; Collinson, M. M., Organically modified silicate films for stable pH sensors. *Analytica Chimica Acta* **1999**, *394*, 195-200.
181. Jurmanović, S.; Kordić, Š.; Steinberg, M. D.; Steinberg, I. M., Organically modified silicate thin films doped with colourimetric pH indicators methyl red and bromocresol green as pH responsive sol-gel hybrid materials. *Thin Solid Films* **2010**, *518* (8), 2234-2240.
182. Rottman, C.; Turniansky, A.; Avnir, D., Sol-Gel Physical and Covalent Entrapment of Three Methyl Red Indicators: A Comparative Study. *J. Sol-Gel Sci. Technol.* **1998**, *13*, 17-25.
183. Fages, M.; Doizi, D.; Deniau, G., Study and design of an optode for pH measurement. In *Optical Sensors 2013*, 2013.
184. Mesnage, A.; Lefevre, X.; Jegou, P.; Deniau, G.; Palacin, S., Spontaneous grafting of diazonium salts: chemical mechanism on metallic surfaces. *Langmuir* **2012**, *28* (32), 11767-78.
185. Wirnsberger, G.; Scott, B. J.; Stucky, G. D., pH Sensing with mesoporous thin films. *Chem. Commun.* **2001**, (1), 119-120.
186. Hiruta, Y.; Ando, Y.; Citterio, D.; Suzuki, K., A Fast-response pH optode Based on a Fluoroionophore immobilized to a Mesoporous Silica thin Film. *Analytical Sciences* **2010**, *26*, 297-301.
187. Kocak, G.; Tuncer, C.; Bütün, V., pH-Responsive polymers. *Polymer Chemistry* **2017**, *8* (1), 144-176.
188. Herber, S.; Berner, J.; Olthuis, W.; Bergveld, P.; van den Berg, A., A micro CO₂/gas sensor based on sensing of pH-sensitive hydrogel swelling by means of a pressure sensor. In *The 13th International Conference on Solid-State Sensors, Actuators and Microsystems, 2005. Digest of Technical Papers. TRANSDUCERS '05.*, 2005; pp 1146-1149.
189. Zubiate, P.; Zamarreño, C. R.; Del Villar, I.; Matias, I. R.; Arregui, F. J., Tunable optical fiber pH sensors based on TE and TM Lossy Mode Resonances (LMRs). *Sensors and Actuators B: Chemical* **2016**, *231*, 484-490.

190. He, L.; Fullenkamp, D. E.; Rivera, J. G.; Messersmith, P. B., pH responsive self-healing hydrogels formed by boronate-catechol complexation. *Chem Commun (Camb)* **2011**, 47 (26), 7497-9.
191. Wang, Y.; Kozlovskaya, V.; Arcibal, I. G.; Cropek, D. M.; Kharlampieva, E., Highly swellable ultrathin poly(4-vinylpyridine) multilayer hydrogels with pH-triggered surface wettability. *Soft Matter* **2013**, 9 (39).
192. Carey, W. P.; Jorgensen, B. S., Optical Sensors for High Acidities Based on Fluorescent Polymers. *Applied Spectroscopy* **1991**, 45 (5), 834-838.
193. Jin, Z.; Su, Y.; Duan, Y., An improved optical pH sensor based on polyaniline. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2000**, 71, 118-122.
194. de Marcos, S.; Wolfbeis, O. S., Optical sensing of pH based on polypyrrole films. *Analytica Chimica Acta* **1996**, 334, 149-153.
195. Khalil, M. M. H.; Shahat, A.; Radwan, A.; El-Shahat, M. F., Colorimetric determination of Cu(II) ions in biological samples using metal-organic framework as scaffold. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2016**, 233, 272-280.
196. Chen, W.; Lin, Y.; Zhang, X.; Xu, N.; Cheng, P., A new cadmium-organic framework fluorescent sensor for Al³⁺ and Ca²⁺ ions in aqueous medium. *Inorganic Chemistry Communications* **2017**, 79, 29-32.
197. Dalapati, R.; Balaji, S. N.; Trivedi, V.; Khamari, L.; Biswas, S., A dinitro-functionalized Zr(IV)-based metal-organic framework as colorimetric and fluorogenic probe for highly selective detection of hydrogen sulphide. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2017**, 245, 1039-1049.
198. Zarifi, M. H.; Gholidoust, A.; Abdolrazzaghi, M.; Shariaty, P.; Hashisho, Z.; Daneshmand, M., Sensitivity enhancement in planar microwave active-resonator using metal organic framework for CO₂ detection. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2018**, 255, 1561-1568.
199. Wang, X.-P.; Han, L.-L.; Wang, Z.; Guo, L.-Y.; Sun, D., Microporous Cd(II) metal-organic framework as fluorescent sensor for nitroaromatic explosives at the sub-ppm level. *Journal of Molecular Structure* **2016**, 1107, 1-6.
200. Chen, D.-M.; Tian, J.-Y.; Liu, C.-S., A luminescent Li(I)-based metal-organic framework showing selective Fe(III) ion and nitro explosive sensing. *Inorganic Chemistry Communications* **2016**, 68, 29-32.
201. Harbuzaru, B. V.; Corma, A.; Rey, F.; Jorda, J. L.; Ananias, D.; Carlos, L. D.; Rocha, J., A miniaturized linear pH sensor based on a highly photoluminescent self-assembled europium(III) metal-organic framework. *Angew Chem Int Ed Engl* **2009**, 48 (35), 6476-9.
202. Wu, S.-H.; Wang, S.; Fang, W.-L.; Guo, X.-F.; Wang, H., An exceptionally stable Zr-based fluorescent metal-organic framework for highly selective detection of pH. *Analytical Methods* **2019**, 11 (1), 36-43.
203. Meng, Q.; Xin, X.; Zhang, L.; Dai, F.; Wang, R.; Sun, D., A multifunctional Eu MOF as a fluorescent pH sensor and exhibiting highly solvent-dependent adsorption and degradation of rhodamine B. *Journal of Materials Chemistry A* **2015**, 3 (47), 24016-24021.
204. Offenbacher, H.; Wolfbeis, O.; Furlinger, E., Fluorescence optical sensors for continuous determination of near-neutral pH values. *Sensors and Actuators* **1986**, 9, 73-84.
205. Panova, A. A.; Pantano, P.; Walt, D. R., In Situ Fluorescence Imaging of Localized Corrosion with a pH-Sensitive Imaging Fiber. *Anal. Chem.* **1997**, 69, 1635-1641.
206. Ma, L. Y.; Wang, H. Y.; Xie, H.; Xu, L. X., A long lifetime chemical sensor: study on fluorescence property of fluorescein isothiocyanate and preparation of pH chemical sensor. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc* **2004**, 60 (8-9), 1865-72.
207. Han, C.; Yao, L.; Xu, D.; Xie, X.; Zhang, C., High-resolution Imaging of pH in Alkaline Sediments and Water Based on a New Rapid Response Fluorescent Planar Optode. *Sci Rep* **2016**, 6, 26417.
208. Maclin, A. Q.; Kim, M. D.; Dergunov, S. A.; Pinkhassik, E.; Lindner, E., Small-Volume pH Sensing with a Capillary Optode Utilizing Dye-Loaded Porous Nanocapsules in a Hydrogel Matrix. *Electroanalysis* **2015**, 27 (3), 733-744.
209. Dantan, N.; Habel, W. R.; Wolfbeis, O. S., Fiber optic pH sensor for early detection of danger of corrosion in steel-reinforced concrete structures. In *Smart Structures and Materials 2005: Smart Sensor Technology and Measurement Systems*, 2005.

210. Dantan, N.; Kohlhoff, H.; Höhse, M., Optochemical sensor membrane and method for producing the same, WO2006097481A1. **2006**.
211. Blumentritt, M.; Melhorn, K.; Flachsbarth, J.; Kroener, M.; Kowalsky, W.; Johannes, H.-H., A novel fabrication method of fiber-optical planar transmission sensors for monitoring pH in concrete structures. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2008**, *131* (2), 504-508.
212. McPolin, D. O.; Basheer, P. A. M.; Grattan, K. T. V.; Long, A. E.; Sun, T.; Xie, W., Preliminary Development and Evaluation of Fiber-Optic Chemical Sensors. *Journal of Materials in Civil Engineering* **2011**, *23* (8), 1200-1210.
213. Nguyen, T. H.; Venugopala, T.; Chen, S.; Sun, T.; Grattan, K. T. V.; Taylor, S. E.; Basheer, P. A. M.; Long, A. E., Fluorescence based fibre optic pH sensor for the pH 10–13 range suitable for corrosion monitoring in concrete structures. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2014**, *191*, 498-507.
214. Liu, E.; Ghandehari, M.; Brückner, C.; Khalil, G.; Worlinsky, J.; Jin, W.; Sidelev, A.; Hyland, M. A., Mapping high pH levels in hydrated calcium silicates. *Cement and Concrete Research* **2017**, *95*, 232-239.

Chapitre II –

Développement d'une optode de pH basée sur un dérivé naphthalimide

Table des matières

CHAPITRE II – DÉVELOPPEMENT D’UNE OPTODE DE PH BASÉE SUR UN DÉRIVÉ NAPHTHALIMIDE	132
I. Introduction : sondes de pH développées à partir du motif naphthalimide	132
II. Etude d’un dérivé naphthalimide : le Naphth-AlkyneOMe	135
II.1. Choix de la sonde moléculaire de pH fluorescente	135
II.2. Etude du Naphth-AlkyneOMe en solution.....	137
II.3. Etude du dérivé naphthalimide Naphth-AlkyneOMe : conclusion	140
III. Choix de la matrice solide	141
III. 1. Hydrogel d’alcool polyvinylique – glutaraldéhyde (GA -PVA)	141
III. 2. Hydrogel polyuréthane commercial : l’HydroMed™ D4	149
III. 3. Choix de la matrice solide : conclusion.....	152
IV. Conception de l’optode de pH	153
IV. 1. Caractérisations photochimiques préliminaires des hydrogels dopés	153
IV. 2. Conception d’une optode pour une mesure du pH in situ : méthodologie et instrumentation	157
IV. 3. Optimisation de la sensibilité de l’optode.....	164
IV. 4. Conception de l’optode de pH : conclusion	166
V. Optode de pH développée à partir du Naphth-AlkyneOMe : résultats obtenus en solution	168
V. 1. Réversibilité de la réponse aux variations de pH et temps de réponse de l’optode	168
V. 2. Calibration de l’optode	169
V. 3. Optimisation de l’optode de pH : vers une mesure ratiométrique	174
V. 4. Résultats obtenus en solution avec l’optode de pH développée à partir du Naphth-AlkyneOMe : conclusion	177
VI. Optode de pH développée à partir du Naphth-AlkyneOMe : mesure en surface de pâtes de ciment durcies (PCD) bas pH.....	178
VI. 1. Calibration spécifique à la mesure du pH en surface du matériau et mesures.....	178
VI. 2. Résultats obtenus et discussions.....	179
VI. 3. Essais de mesure du pH dans une PCD bas pH.....	180
VI. 4. Mesure du pH en surface de PCD bas pH avec l’optode développée à partir du Naphth-AlkyneOMe : conclusion	183

Liste des figures

Figure II - 1 : Structure générale d'un dérivé 1,8-naphthalimide	132
Figure II - 2 : Série des sondes de pH fluorescentes basées sur un motif naphthalimide synthétisées par Tian et al. [4]: le mécanisme PET est représenté pour la structure a	133
Figure II - 3 : Structure de la sonde naphthalimide synthétisée par Lee et al. pour l'étude du pH de mitochondries [5]	133
Figure II - 4 : Structures de sondes de pH fluorescentes basées sur le motif naphthalimide[6]	134
Figure II - 5 : Structures des dérivés naphthalimides synthétisés et étudiés par Rémy et al. [9].....	135
Figure II - 6 : Spectres d'émission normalisés du composé Naphth-AlkyneOMe dans différents solvants (noir : toluène – gris : dioxane – orange : chloroforme – rouge : dichlorométhane – bleu : acétonitrile – vert : DMSO – cyan : éthanol – rose : méthanol) [9]	136
Figure II - 7 : Transfert de charge intramoléculaire (ICT) du composé Naphth-AlkyneOMe. L'ICT est réduit pour la forme déprotonée (droite).....	137
Figure II - 8 : Spectres d'absorption (rouge) et d'émission (noir) normalisés du Naphth-AlkyneOMe dans un mélange de solvant DMSO/H ₂ O 1 :1 v/v, c=[66 µM][11] et $\lambda_{exc} = 405$ nm	137
Figure II - 9 : Dosage de la sonde Naphth-AlkyneOMe par ajout progressif de NaOH dans une solution DMSO/H ₂ O 1 :1 v/v, c=66µM et $\lambda_{exc} = 405$ nm.....	138
Figure II - 10 : Effet de la déprotonation du Naphth-AlkyneOMe sur le spectre d'absorption, solution DMSO/H ₂ O 80 :20 v/v, c=66µM	139
Figure II - 11 : Evolution d'IF à $\lambda = 550$ nm pour la sonde Naphth-AlkyneOMe en fonction du pH calculé dans un mélange DMSO/H ₂ O 1 :1 v/v, c=66µM et $\lambda_{exc} = 405$ nm. Le fit présenté en rouge a été obtenu avec l'Eq. II - 5	139
Figure II - 12 : Réticulation de l'alcool polyvinylique (PVA) par le glutraldéhyde (GA) par catalyse acide.....	142
Figure II - 13 : Piégeage physique de la sonde de pH Naphth-AlkyneOMe dans un hydrogel GA-PVA	142
Figure II - 14 : Découpe d'hydrogels GA-PVA dopés avec la sonde Naphth-AlkyneOMe. Obtention d'hydrogels minces avec l'applicateur automatique (A, B) et d'hydrogels épais par drop casting (C)	144
Figure II - 15 : Hydrogels GA5-PVA10 minces dopés avec la sonde Naphth-AlkyneOMe, hydraté dans l'eau distillée (gauche) et dans une solution NaOH aqueuse avec un pH = 12 (droite), $\lambda_{exc} = 405$ nm	144
Figure II - 16 : Taux de rétraction des hydrogels GAx -PVA10 préparés par drop casting en fonction du ratio en GA (gauche) et des hydrogels GA10- PVAX en fonction du ratio en PVA (droite)	145
Figure II - 17 : Analyse thermogravimétrique (ATG) réalisée sur les hydrogels GAx-PVA10 hydratés durant 12h, avec x= 2,5 ; 5 ; 7,5 et 10.....	149
Figure II - 18 : Structure générale d'un polyuréthane dibloc	150

Figure II - 19 : Illustration de la méthode de drop casting pour la mise en forme de l'HydroMed™ D4.....	150
Figure II - 20 : Observation au MEB d'une couche d'HydroMed™ D4 appliquée sur un substrat en polytéréphtalate d'éthylène (PET), dans son état déshydraté, en coupe (A,B et C) et en surface (D). Application d'une solution HydroMed™ D4 10% _m dans le THF, rouleau applicateur : 100 µm	151
Figure II - 21 : Observation au MEB d'une couche d'HydroMed™ D4 appliquée sur un substrat en polytéréphtalate d'éthylène (PET), dans son état hydraté, en coupe (A,B et C) et en surface (D). Application d'une solution HydroMed™ D4 10% _m dans le THF, rouleau applicateur : 100 µm.....	152
Figure II - 22 : Spectres d'absorption de l'HydroMed™ D4 sur un substrat en PET 0,1 mm mis en forme avec l'applicateur automatique. A - HydroMed D4 5% _m dans THF et B - HydroMed D4 10% _m dans THF	154
Figure II - 23 : Effet de la déprotonation sur le spectre d'absorption de l'HydroMed D4 10% _m dopé avec le Naphth-AlkyneOMe	154
Figure II - 24 : Montage adapté sur un spectrofluorimètre permettant d'acquérir le spectre de fluorescence d'un hydrogel dopé avec une sonde en faisant varier l'environnement de l'hydrogel	155
Figure II - 25 : Conception de l'unité de détection en contact avec l'environnement étudié (gauche) et photographies de l'unité de détection avant et après l'installation d'un hydrogel GA-PVA dopé (droite)	156
Figure II - 26 : Effet de la déprotonation sur les spectres d'émission des hydrogels GA5-PVA10 (A) et GA7,5-PVA10 (B) dopés avec la sonde Naphth-AlkyneOMe	156
Figure II - 27 : Effet de la déprotonation sur les spectres d'émission de l'HydroMed D4 dopé avec la sonde Naphth-AlkyneOMe.....	157
Figure II - 28 : Spectre d'émission de la LED 405 nm, de la LED 405 nm surmontée d'un filtre 405-10 nm, et spectre de transmission du filtre 405-10 nm.....	158
Figure II - 29 : Montage optoélectronique général décrivant l'optode de pH. Les traits pleins noirs représentent les fibres optiques, les traits pleins gris représentent les connexions électriques	158
Figure II - 30 : Estimation du bruit du banc optique.....	159
Figure II - 31 : Montage des pièces optiques et ajout d'une voie de correction	160
Figure II - 32 : Montage optique avec ajout d'une voie de correction et d'une éventuelle deuxième voie d'acquisition. Les capots des cubes optiques ont été retirés pour dévoiler une partie du montage	160
Figure II - 33 : Estimation du bruit du banc optique.....	161
Figure II - 34 : Fluorescence intrinsèque au montage optique mise en évidence par acquisition du spectre d'émission en sortie du montage, en absence d'hydrogel dopé avec un composé fluorescent	162
Figure II - 35 : Comparaison de la fluorescence intrinsèque au montage optique et de la fluorescence d'un hydrogel GA7,5-PVA10 dopé avec la sonde de pH Naphth-AlkyneOMe	162
Figure II - 36 : Montage optique de l'optode de pH pour une mesure ratiométrique	163
Figure II - 37 : Montage de l'optode avec une voie référence interne.....	164

Figure II - 38 : Evaluation du bruit du montage ratiométrique	164
Figure II - 39 : Augmentation du signal optique par ajout de poudre diamant micronique dans la matrice HydroMed D4 dopé avec la sonde de pH Naphth-AlkyneOMe	165
Figure II - 40 : Augmentation du signal optique avec l'ajout de poudre de diamant 10% _m dans une matrice HydroMed™ D4 dopé avec la sonde Naphth-AlkyneOMe.....	166
Figure II - 41 : Figure 42 : Hydrogel bicouche HydroMed D4 dopé avec la sonde de pH Naphth-AlkyneOMe	166
Figure II - 43 : Réversibilité de la variation de l'intensité de fluorescence d'hydrogels GA7,5-PVA10 (gauche) et GA5-PVA10 (droite) dopés avec la sonde Naphth-AlkyneOMe durant des cycles pH 9 – pH 13. Acquisition sur le montage de l'optode décrit en Figure II - 31	168
Figure II - 44 : Mise en évidence de la photodégradation de la sonde Naphth-AlkyneOMe piégée dans une matrice GA7,5-PVA10 à pH = 13,0.....	169
Figure II - 45 : Détermination du temps de réponse t_{90} pour un hydrogel GA5-PVA10 à température ambiante, $\lambda_{exc} = 405$ nm (la discontinuité du signal est due à la suppression de l'artéfact lié à la variation du milieu optique lors du changement de la solution tampon).....	169
Figure II - 46 : Schéma illustrant la calibration des hydrogels dans une solution aqueuse d'hydroxyde de sodium NaOH. Une électrode de pH alcaline en verre calibrée permet d'obtenir les mesures de pH de référence.....	170
Figure II - 47 : Evolution de l'IF d'un hydrogel GA,5-PVA10 lors de l'ajout progressif d'une solution de NaOH aq. afin d'en déduire une courbe de calibration	170
Figure II - 48 : Courbe de calibration d'un hydrogel GA5-PVA10 à température ambiante, $\lambda_{exc} = 405$ nm. L'encart correspond à la courbe expérimentale acquise.....	171
Figure II - 49 : Courbes de calibration de trois hydrogels GA7,5-PVA10 à température ambiante, $\lambda_{exc} = 405$ nm	171
Figure II - 50 : Exemple d'une courbe de calibration en trois points pour un hydrogel GA7,5-PV10, mesures effectuées dans une solution aqueuse avec trois concentrations de NaOH, température ambiante, $\lambda_{exc} = 405$ nm	172
Figure II - 51 : Exemple d'une courbe de calibration d'un hydrogel HydroMed™ D4, $\lambda_{exc} = 405$ nm	173
Figure II - 52: Calibration en trois points d'un hydrogel HR dans une solution aqueuse de NaOH et dans une solution aqueuse de NaOH additionnée de KCl ([KCl]=0,2M), température ambiante, $\lambda_{exc} = 405$ nm.....	174
Figure II - 53 : Configuration de l'unité de détection pour une mesure de l'IF ratiométrique..	175
Figure II - 54 : Quantum dots CdSe/ZnS utilisés pour constituer une référence interne, l'excitation de QD à 405 nm met en évidence le rendement quantique supérieur des QD émettant autour de $\lambda_{ém} = 580$ nm	175
Figure II - 55 : Spectre d'émission d'une membrane PS dopée avec les QDs CdSe/ZnS émettant autour de $\lambda_{ém} = 580$ nm superposée avec un hydrogel HydroMed D4 bicouche en fonction du pH	175
Figure II - 56 : Spectre d'émission d'une membrane PS dopée avec les QDs CdSe/ZnS émettant autour de $\lambda_{ém} = 645$ nm superposée avec un hydrogel HydroMed D4 bicouche en fonction du pH	176

Figure II - 57 : Cycles de protonation et déprotonation réalisées avec l'optode de pH ratiométrique.....	176
Figure II - 58: Optode placée en surface d'une PCD bas pH, la mesure s'effectue après ajout d'un mL d'une solution en équilibre avec l'échantillon, visible en surface de l'échantillon dans l'inset de la figure[39]	179
Figure II - 59: Protocole suivi pour la mesure du pH en surface d'échantillons de pâtes de ciment bas pH	179
Figure II - 60: Evolution du pH en surface de pâtes de ciment bas pH.....	180
Figure II - 61 : Essai de mesure du pH in situ dans une PCD bas pH. L'optode a été coulée dans la PCD	181
Figure II - 62: Inclusion d'une éponge et d'un filtre en cellulose dans l'optode.....	181
Figure II - 63: Observation par microtomographie à rayons X de l'optode immergée dans une PCD CEM I (e/c = 0,5, 48h hydratation). Paramètres : 120 kV, 66µA, résolution 17,8 µm. Les lettres renvoient à la Figure II - 62.....	182
Figure II - 64 : Mise en évidence de la déshydratation de la cellulose et de l'hydrogel GA-PVA au cours du temps avec la microtomographie à rayons X. Optode immergée dans une PCD CEM I (e/c = 0,5, 48h hydratation). Paramètres : 120 kV, 66µA, résolution 17,8 µm.....	183

Liste des tableaux

Tableau II - 1 : Propriétés photophysiques des sondes de pH dont les structures sont présentées en Figure II - 2 et Figure II - 4, ^a : déterminé dans H ₂ O/EtOH 4 :1 et ^b : déterminé dans chloroforme	134
Tableau II - 2 : Déplacements des spectres d'absorbance et d'émission du toluène à l'éthanol pour les dérivés naphthalimide synthétisés par Rémy et al.[9].....	136
Tableau II - 3 : Substrats testés pour la mise en forme des hydrogels PVA-GA avec l'applicateur automatique	143
Tableau II - 4 : Hydrogels GAx-PVA10 observés en microscopie électronique à balayage dans leur état déshydraté (gauche) et hydraté (droite), avec x=2,5 ;5 ;7,5 et 10	148

Tableau II - 5 : Valeurs des pKa, dpH et ΔI_F moyens déterminés par étalonnage des films GA5-PVA10 et GA7,5-PVA10.....	172
Tableau II - 6 : pKa, dpH, et ΔI_F moyens déterminés pour les hydrogels dopés avec la sonde NaphthAlkyne-OMe.....	173

CHAPITRE II – DÉVELOPPEMENT D’UNE OPTODE DE pH BASÉE SUR UN DÉRIVÉ NAPHTHALIMIDE

I. Introduction : sondes de pH développées à partir du motif naphthalimide

Par comparaison avec les sondes de pH classiques développées à partir de la fluorescéine par exemple, les naphthalimides présentent une photostabilité et un déplacement de Stokes supérieurs. Plus particulièrement, les dérivés 1,8-naphthalimides (Figure II - 1) ont été extensivement utilisés afin d’élaborer des sondes pour la détection de cations (Al^{3+} , Fe^{3+} , Cu^{2+}), d’anions (F^- , CN^- , HSO_3^-), de molécules (peroxyde d’hydrogène H_2O_2 , formaldéhyde HCHO) ou d’enzymes [1-3]. Le rendement quantique élevé, la photostabilité et la versatilité des dérivés 1,8-naphthalimide les rendent donc attrayants pour le développement de sondes de pH fluorescentes.

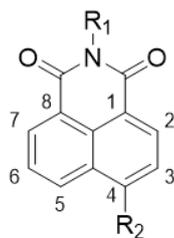


Figure II - 1 : Structure générale d'un dérivé 1,8-naphthalimide

Tian et al. ont par exemple développé une série de naphthalimides comme sondes de pH intra- et extracellulaires et les structures des trois sondes synthétisées sont présentées en Figure II - 2[4]. Un mécanisme PET régit les variations d'intensité de fluorescence en fonction du pH, et est justifié par la présence du groupement pipérazine dont l'amine possède un fort caractère électro-donneur ainsi que du naphthalimide électro-accepteur. Le mécanisme PET est alors favorisé pour les formes basiques des sondes de pH et conduit à une faible fluorescence des sondes. Les pK_a des trois sondes **a**, **b** et **c** ont été déterminées en solution : les valeurs reportées sont $\text{pK}_{a,a} = 5,98$, $\text{pK}_{a,b} = 5,90$ et $\text{pK}_{a,c} = 6,83$. Ces valeurs de pK_a sont justifiées par la nature des substituants du naphthalimide : ainsi plus l'amine de la pipérazine est facilement protonable et plus le pK_a de la sonde est élevé. De plus, les auteurs remarquent que plus les substituants des imides sont hydrophobes et plus la sensibilité des sondes aux variations de pH diminue. La présence du monomère méthacrylate de méthyle dans la structure des trois sondes permet une copolymérisation des sondes avec d'autres monomères, permettant ainsi la synthèse de films polymères répondant aux variations de pH. Chacune des sondes de pH **a**, **b**, et **c** ont été polymérisées avec le copolymère PHEMAco- PAM (poly(2-hydroxyethyl methacrylate)-copolym(acrylamide)) et les valeurs des pK_a déterminés pour chacun des films sont $\text{pK}_a^{\text{F-a}} = 5,23$, $\text{pK}_a^{\text{F-b}} = 5,22$ et $\text{pK}_a^{\text{F-c}} = 7,01$. La polymérisation des sondes dans la matrice polymère réduit leurs degrés de liberté et conduit à une sensibilité aux variations de pH réduite. Ainsi, la structure **b** possédant deux méthacrylates possède la sensibilité la plus faibles aux variations de pH après sa copolymérisation. Cependant, cette copolymérisation des sondes de pH évite toute lixiviation des sondes en dehors des films et offre une possibilité d'inclusion dans un capteur de pH optique. Lee et al. ont également introduit une sonde de pH basée sur le fluorophore naphthalimide, liée de manière covalente à des mitochondries dont le pH est étudié (Figure II - 3)[5]. La sonde présente également un groupement pipérazine lié au naphthalimide et à un chlorure de benzyle permettant une liaison covalente avec les

protéines composant la membrane des mitochondries. Un cation triphénylphosphonium lié au naphthalimide agit comme entité de reconnaissance pour les mitochondries par interaction électrostatique avec les membranes chargées négativement. Le mécanisme PET est similaire à celui décrit précédemment pour la série de sondes naphthalimides synthétisées par Tian et al.. L'émission de la sonde libre est étudiée en solution dans la gamme pH=2-11 et met en évidence une réponse linéaire de la sonde dans la gamme pH=5-7,5. Le pH des mitochondries est étudié par association de la sonde de pH nouvellement synthétisée présentant une fluorescence verte, à une sonde fluorescente commerciale présentant une fluorescence rouge. Un raisonnement ratiométrique permet de déduire le pH de mitochondries soumises à des variations de pH dans la gamme pH=5-8.

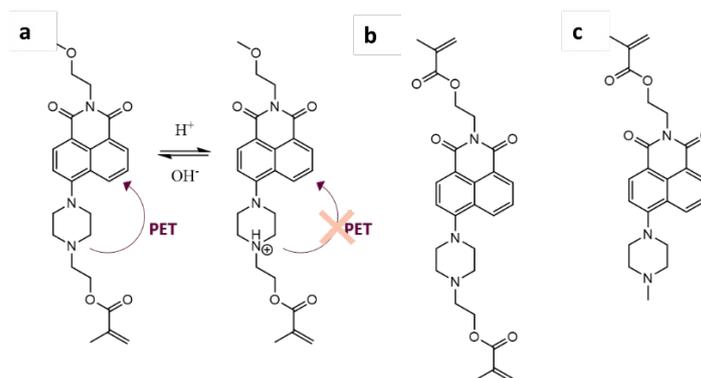


Figure II - 2 : Série des sondes de pH fluorescentes basées sur un motif naphthalimide synthétisées par Tian et al. [4]: le mécanisme PET est représenté pour la structure a

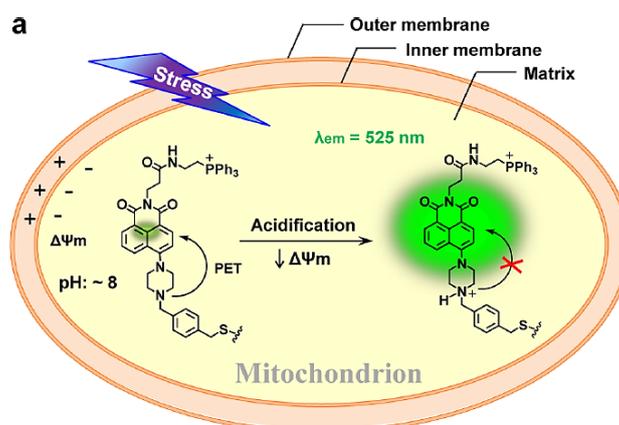


Figure II - 3 : Structure de la sonde naphthalimide synthétisée par Lee et al. pour l'étude du pH de mitochondries [5]

De manière similaire, d'autres sondes de pH basées sur le motif naphthalimide ont été développées par Georgiev et al. (composés d et e) [6] et Staneva et al. (composé f) [7] et leurs structures sont présentées en Figure II - 4. Quelques propriétés de ces sondes, dont des valeurs de déplacement de Stokes élevés et des valeurs de rendements quantiques satisfaisants, sont listées dans le Tableau II - 1. Les mécanismes mis en jeu pour ces sondes naphthalimide sont des PET à l'exception de la sonde e présentant deux mécanismes couplés ICT et PET.

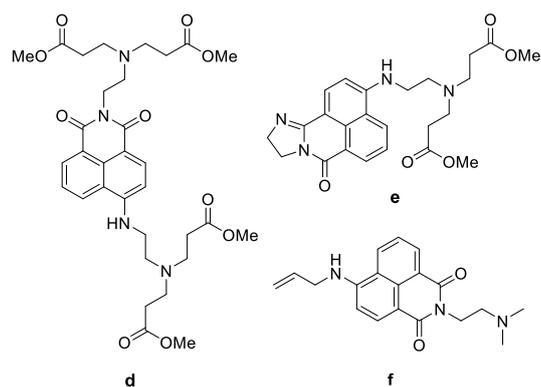


Figure II - 4 : Structures de sondes de pH fluorescentes basées sur le motif naphthalimide[6]

Sonde de pH naphthalimide	Mécanisme d'extinction de fluorescence	pKa	Gamme de pH	Déplacement de Stokes (nm)	Φ_F (%)	Référence
Série de synthétisée par Georgiev et al.						
d	PET	5,49 ^a	2,7 - 10	95 ^a	0,44 ^b	[6]
e	PET + ICT	3,95 ^a 6,08 ^a	1,8 – 5 5 – 11,6	107 ^a	0,38 ^b	[6]
f	PET	7,38 ^a	4,5 – 9,5	82 ^b	0,59 ^b	[7]
Série synthétisée par Tian et al.						
a, b et c (Figure II - 4)	PET	5,9 – 6,8	3 - 10	140	-	[4]

Tableau II - 1 : Propriétés photophysiques des sondes de pH dont les structures sont présentées en Figure II - 2 et Figure II - 4, ^a : déterminé dans H₂O/EtOH 4 :1 et ^b : déterminé dans chloroforme

II. Etude d'un dérivé naphthalimide : le Naphth-AlkyneOMe

II.1. Choix de la sonde moléculaire de pH fluorescente

Certains phénomènes chimiques et biologiques localisés, tels que des gradients de concentration ou de viscosité, peuvent être étudiés à l'aide de fluorophores sensibles à leur microenvironnement. Plus particulièrement, les fluorophores basés sur des transferts de charges intramoléculaires (TCI) ou ICT (Intramolecular Charge Transfer) constituent des structures intéressantes car ils présentent une grande sensibilité à leur microenvironnement [8]. Une optimisation de leurs propriétés photophysiques est cependant nécessaire afin de développer des capteurs fluorescents efficaces.

Dans cette optique, Charlotte Rémy a mené des travaux de recherche portant sur la synthèse et l'étude des propriétés photophysiques de naphthalimides π conjugués durant sa thèse au laboratoire PPSM[9]. Ainsi, une série de dérivés naphthalimides, dont les structures moléculaires sont présentées en Figure II - 5, a été synthétisée et étudiée. Les trois composés se basent sur une structure 1,8-naphthalimide car celle-ci présente une photostabilité essentielle au suivi d'un phénomène biologique et/ou chimique [1-2, 10]. La présence d'une fonction imide pouvant être déprotonée valide le choix d'une structure 1,8-naphthalimide comme sonde moléculaire fluorescente de pH. Parmi les structures proposées, le Naphth-AlkyneOMe, correspondant à un méthoxyphenyl ethynyl naphthalimide est pertinent pour le développement d'un capteur optique de pH car il présente un rendement quantique élevé dans le chloroforme : $\Phi_F = 90\%$ [9]. De plus, le composé absorbe fortement dans le visible ($\epsilon = 14000 \text{ mol.L}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ dans le chloroforme à $\lambda_{\text{abs}} = 402 \text{ nm}$). D'autre part, le choix des dérivés naphthalimide conjugués comme sonde de pH est également justifié par le déplacement de Stokes élevé, caractéristique des composés naphthalimide (Figure II - 8) [4-5]. Rémy et al. établissent que le Stokes shift du dérivé 1,8-naphthalimide augmente avec la conjugaison entre les groupements donneur et accepteur [9]. Cette propriété valide le choix des dérivés naphthalimides conjugués puisque les structures sont excitables dans le visible, facilitant le développement d'une optode de pH avec une source d'excitation abordable de type LED.

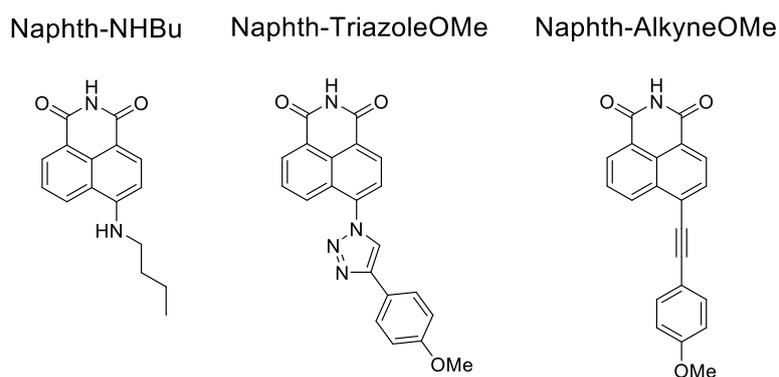


Figure II - 5 : Structures des dérivés naphthalimides synthétisés et étudiés par Rémy et al. [9]

Le mécanisme ICT est mis en évidence par le solvatochromisme des dérivés naphthalimide synthétisés. Le solvatochromisme est défini comme une variation réversible des spectres d'absorbance ou d'émission résultant des interactions entre le composé et différents solvants. Les orbitales impliquées dans la transition électronique peuvent être stabilisées ou déstabilisées en fonction de leur polarité relative, et cette stabilisation ou déstabilisation dans un solvant de polarité donnée impacte la valeur λ_{max} . En d'autres termes, ce déplacement du maximum d'absorbance ou d'émission résulte de la

différence entre l'énergie de solvation des états initial et excité du composé solubilisé dans différents solvants. Le solvatochromisme reflète donc une variation de l'énergie entre les états initial et excité en fonction de l'énergie de solvation, caractéristique des phénomènes de transfert de charge intramoléculaire.

Pour les trois dérivés naphthalimides dont les structures sont présentées en Figure II - 5, un faible déplacement du spectre d'absorbance est observé entre le toluène et l'éthanol (Tableau II - 2). En revanche, un fort déplacement est observé en émission avec un $\Delta\lambda_{\text{ém}} = +97$ nm observé pour le Naphth-AlkyneOMe entre le toluène et l'éthanol (Figure II - 6) [9].

Dérivé naphthalimide	Absorbance	Emission
	Déplacement λ_{max} toluène \rightarrow éthanol (nm)	Déplacement λ_{max} toluène \rightarrow éthanol (nm)
Naphth-NHBu	+22	+53
Naphth-TriazoleOMe	-2	+116
Naphth-AlkyneOMe	-12	+97

Tableau II - 2 : Déplacements des spectres d'absorbance et d'émission du toluène à l'éthanol pour les dérivés naphthalimide synthétisés par Rémy et al.[9]

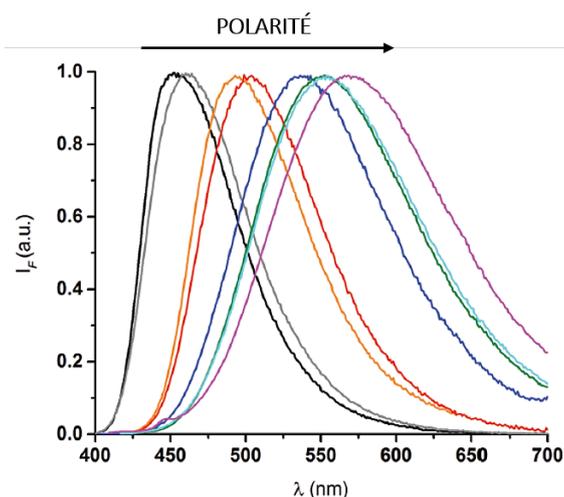


Figure II - 6 : Spectres d'émission normalisés du composé Naphth-AlkyneOMe dans différents solvants (noir : toluène – gris : dioxane – orange : chloroforme – rouge : dichlorométhane – bleu : acétonitrile – vert : DMSO – cyan : éthanol – rose : méthanol) [9]

L'étude du solvatochromisme prouve l'ICT résultant du transfert d'électron du groupement methoxy-phenyl donneur vers le naphthalimide accepteur (Figure II - 7). La déprotonation de la fonction imide conduit à une diminution du transfert de charge entre le groupement donneur et le naphthalimide accepteur. L'effet de cette diminution du transfert de charge sur les propriétés photophysiques a été étudié en solution afin de valider la pertinence du composé comme sonde fluorescente de pH.

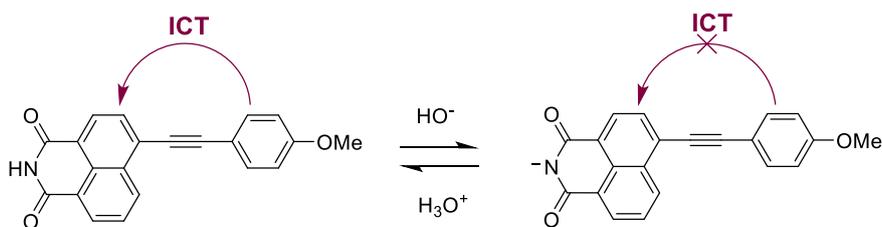


Figure II - 7 : Transfert de charge intramoléculaire (ICT) du composé Naphth-AlkyneOMe. L'ICT est réduit pour la forme déprotonée (droite)

II.2. Etude du Naphth-AlkyneOMe en solution

II.2.a. Propriétés photophysiques

Le Naphth-AlkyneOMe présente un spectre d'absorption non structuré avec un maximum à $\lambda_{\text{abs}}^{\text{max}} = 401 \text{ nm}$, et un maximum d'émission à $\lambda_{\text{ém}}^{\text{max}} = 475 \text{ nm}$ dans un mélange de solvants DMSO/H₂O 1 :1 v/v (Figure II - 8). Le coefficient d'extinction molaire ainsi que le rendement quantique de fluorescence ont été établis précédemment dans le chloroforme : $\epsilon = 14000 \text{ mol.L}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ ($\lambda_{\text{abs}} = 402 \text{ nm}$) et $\Phi_{\text{F, chloroforme}} = 90\%$ [9]. La valeur élevée du coefficient d'extinction molaire est liée à la transition $\pi\text{-}\pi^*$ possédant un caractère ICT. Le rendement quantique élevé dans le chloroforme est amoindri dans un mélange de solvants DMSO/H₂O 80 :20 ($\Phi_{\text{F, DMSO/eau}} = 4\%$) en raison de l'augmentation de la polarité du milieu, induisant une diminution de la durée de vie de l'état excité et augmentant la probabilité d'une désexcitation non radiative. Ce rendement quantique reste relativement élevé pour le composé solide ($\Phi_{\text{F, solide}} = 17\%$ [9]).

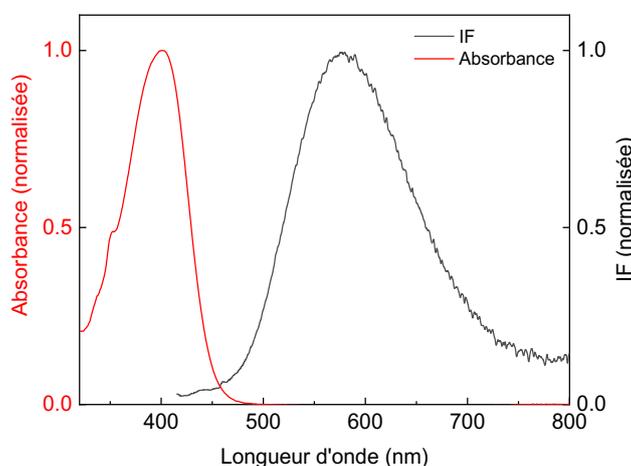


Figure II - 8 : Spectres d'absorption (rouge) et d'émission (noir) normalisés du Naphth-AlkyneOMe dans un mélange de solvant DMSO/H₂O 1 :1 v/v, $c = [66 \mu\text{M}]$ [11] et $\lambda_{\text{exc}} = 405 \text{ nm}$

II.2.b. Détermination du pK_a en solution

La déprotonation du Naphth-AlkyneOMe a été étudiée dans une solution DMSO/H₂O 1 :1 v/v car le composé est insoluble dans l'eau. Un ajout progressif d'hydroxyde de sodium NaOH a été effectué et les spectres d'absorption et d'émission ont été acquis. L'utilisation d'une électrode de pH afin de mesurer le pH d'un mélange de solvants étant inadaptée, le terme de 'pH calculé' est introduit. Le pH calculé correspond au pH d'un mélange de solvant déterminé pour une étude donnée, en fonction des

ajouts d'acide ou de base réalisés. La Figure II - 9 met en évidence une augmentation de fluorescence d'un facteur 10 lors de la déprotonation du composé. Cette augmentation de fluorescence résulte de la diminution de l'ICT lors de la déprotonation de l'imide, et donc d'une diminution du transfert non radiatif. Un déplacement hypsochromique de l'absorbance et de l'émission est observé lors de la déprotonation du Naphth-AlkyneOMe et est expliqué par la diminution du transfert de charge entre le groupement methoxy donneur et le groupement naphthalimide accepteur (Figure II - 9 et Figure II - 10). L'équation d'Henderson-Hasselback (Eq. II - 1) permet d'établir une relation entre le pH de la solution et l'intensité de fluorescence IF mesurée :

$$\text{pH} = \text{pK}_a + \log \frac{[\text{A}^-]}{[\text{HA}]} \quad \text{Eq. II - 1}$$

Respectivement, $[\text{A}^-]$ et $[\text{HA}]$ correspondent aux concentrations de la sonde déprotonée et protonée. On peut alors définir les relations suivantes en fonction d'IF l'intensité de fluorescence mesurée à un moment t , IF_{max} le maximum d'intensité de fluorescence observé lorsque la sonde est totalement déprotonée, et IF_{min} le minimum d'intensité de fluorescence observé lorsque la sonde est totalement protonée :

$$[\text{A}^-] = \text{IF}_{\text{max}} - \text{IF} \quad \text{Eq. II - 2}$$

$$[\text{HA}] = \text{IF} - \text{IF}_{\text{min}} \quad \text{Eq. II - 3}$$

Soit :

$$\text{pH} = \text{pK}_a + \log \frac{\text{IF}_{\text{max}} - \text{IF}}{\text{IF} - \text{IF}_{\text{min}}} \quad \text{Eq. II - 4}$$

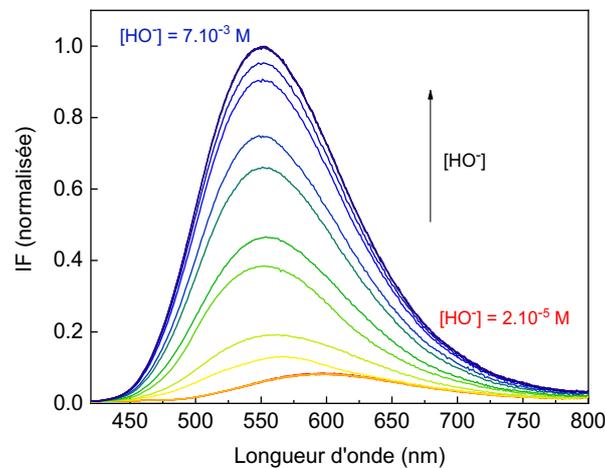


Figure II - 9 : Dosage de la sonde Naphth-AlkyneOMe par ajout progressif de NaOH dans une solution DMSO/H₂O 1 :1 v/v, c=66μM et λ_{exc} = 405 nm

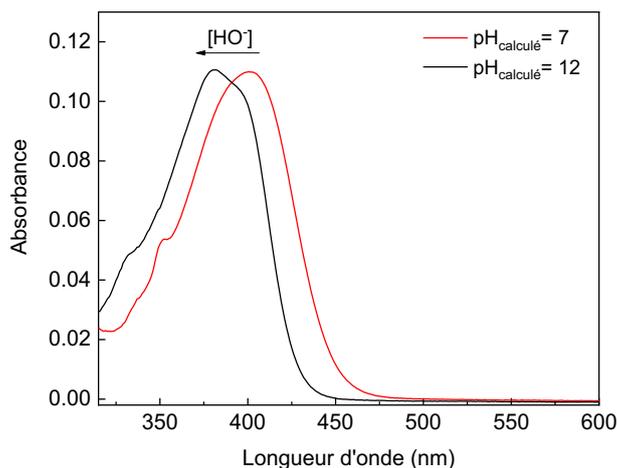


Figure II - 10 : Effet de la déprotonation du Naphth-AlkyneOMe sur le spectre d'absorption, solution DMSO/H₂O 80 :20 v/v, c=66μM

L'introduction d'un terme dpH dans l'équation permet de généraliser celle-ci au cas d'une sonde de pH distribuée dans une matrice solide[12]. Le terme dpH traduit une distribution de pK_a dans une matrice, solide ou liquide. Le pK_a de la sonde de pH peut alors être déduit grâce à l'équation suivante :

$$IF = \frac{IF_{\min} + IF_{\max} \times 10^{\left(\frac{pH - pK_a}{dpH}\right)}}{10^{\left(\frac{pH - pK_a}{dpH}\right)} + 1} \quad \text{Eq. II - 5}$$

Tracer l'intensité de fluorescence IF à la longueur d'onde $\lambda = 550 \text{ nm}$ en fonction du pH calculé à partir de la concentration en ions hydroxyde $[HO^-]$ en solution permet de déterminer le pK_a du Naphth-AlkyneOMe. L'ajustement numérique (ou *fit*) des données proposé en rouge sur la Figure II - 11 a été obtenu par application de l'Eq. II - 5, avec l'algorithme de Levenberg-Marquardt et la méthode des moindres carrés.

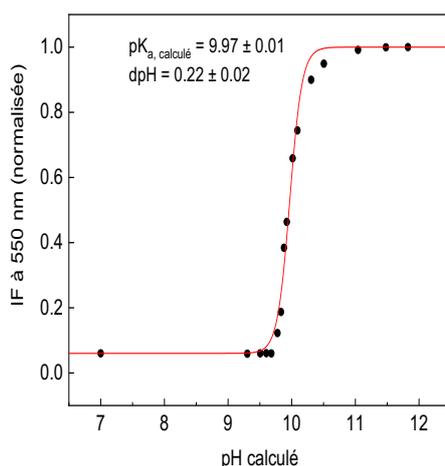


Figure II - 11 : Evolution d'IF à $\lambda = 550 \text{ nm}$ pour la sonde Naphth-AlkyneOMe en fonction du pH calculé dans un mélange DMSO/H₂O 1 :1 v/v, c=66μM et $\lambda_{exc} = 405 \text{ nm}$. Le fit présenté en rouge a été obtenu avec l'Eq. II - 5

Le dosage de la sonde Naphth-AlkyneOMe par NaOH permet de déterminer un $pK_{a, \text{calculé}} = 10.0$ dans une solution DMSO/H₂O 1 :1 v/v. D'après la définition du terme dpH , celui-ci devrait être égal à 1 en solution cas la réponse d'une sonde de pH est définie sur la gamme $pH = [pK_a - 1 ; pK_a + 1]$. La faible valeur de $dpH = 0,22 \pm 0,02$ suggère des interactions spécifiques de la sonde en solution DMSO/H₂O.

II.3. Etude du dérivé naphthalimide Naphth-AlkyneOMe : conclusion

Le Naphth-AlkyneOMe a été sélectionné comme sonde de pH fluorescente en raison de la photostabilité des dérivés 1,8-naphthalimide. La déprotonation de la sonde en solution induit une augmentation de l'intensité de fluorescence d'un facteur 10 par mécanisme ICT et un $pK_{a_{calculé}} = 10,0$ a été déterminé en solution. Ces propriétés photophysiques valident la pertinence de la sonde pour l'élaboration d'une première optode de pH basique.

L'utilisation d'une sonde moléculaire pour le développement d'une optode de pH nécessite un piégeage de la sonde dans une matrice solide. Une attention particulière concernant la dégradation des propriétés photophysiques de la sonde de pH séquestrée dans une matrice solide doit être apportée, notamment en raison des éventuelles interactions sonde-matrice.

III. Choix de la matrice solide

Le développement de capteurs de pH basés sur des sondes moléculaires nécessite généralement une étape d'inclusion de la sonde de pH dans une matrice solide. Cette matrice, dont la composition chimique influera la réponse de l'optode, doit être choisie de manière à être compatible vis-à-vis de l'application visée. Dans le cas du développement d'une optode de pH pour les matériaux cimentaires, la matrice sélectionnée doit répondre à un cahier des charges spécifique :

- **PERMEABILITE AUX ANALYTES** : la matrice solide doit être perméable aux analytes H_3O^+ et HO^- dont la concentration définit le pH de l'environnement sondé
- **TEMPS DE REPONSE ADAPTE** : la conductivité ionique des analytes dans la matrice influe le temps de réponse de l'optode développée. La matrice solide doit donc être choisie afin d'obtenir une optode de pH dont le temps de réponse est adapté aux différents phénomènes chimiques étudiés dans le cas des matériaux cimentaires
- **STABILITE PHYSICO-CHIMIQUE** : la matrice solide étant en contact avec l'environnement étudié, celle-ci doit résister à des valeurs de pH telles que $10 \leq \text{pH} \leq 13,5$. La résistance physique aux contraintes imposées par les matériaux cimentaires doit également être prise en compte.

Le choix d'un hydrogel est justifié par les propriétés de cette matrice solide répondant au cahier des charges établi précédemment. En effet, comme défini dans le chapitre I, un hydrogel correspond à un réseau tridimensionnel de chaînes polymères réticulées et possède des propriétés hydrophiles associées à une capacité de rétention d'eau. Le caractère hydrophile des hydrogels les rend donc adaptés au développement d'une optode de pH en raison de leur perméabilité aux ions H_3O^+ et HO^- . Un temps de réponse court est également prévisible en raison de la conductivité protonique élevée dans une matrice saturée en eau. Enfin, la sélection de formulations stables sur la gamme de pH = 10 – 13,5 permet de développer des hydrogels adaptés à une mesure de pH basiques. Parmi les méthodes d'immobilisation des sondes moléculaires, le piégeage physique dans une matrice est l'une des techniques les plus simples à mettre en œuvre puisqu'elles n'impliquent pas une fonctionnalisation complémentaire de la sonde et une lixiviation faible des sondes de pH lipophiles est attendue.

Deux hydrogels ont été sélectionnés afin d'obtenir des matrices dopées avec la sonde de pH Naphth-AlkyneOMe : un hydrogel d'alcool polyvinylique (PVA) réticulé avec le glutaraldéhyde (GA), et un hydrogel polyuréthane commercial (HydroMed™ D4). Le choix de ces deux hydrogels et l'étude de leurs propriétés sont détaillés ci-dessous.

III. 1. Hydrogel d'alcool polyvinylique – glutaraldéhyde (GA -PVA)

Comme vu dans le chapitre précédent, les hydrogels d'alcool polyvinylique (PVA) réticulés avec le glutaraldéhyde (GA) constituent des matrices solides hydrophiles présentant une conductivité protonique élevée ($\sigma=7,5 \times 10^{-3} \text{ S.cm}^{-1}$ avec un degré de réticulation de 2,8%), [13]. La résistance mécanique des hydrogels GA-PVA permet de les utiliser dans des environnements agressifs. Enfin, la transparence des hydrogels est un critère essentiel pour leur utilisation dans le développement d'une optode de pH et Jiang et al. montrent que des hydrogels PVA transparents et mécaniquement résistants peuvent être obtenus par solubilisation du PVA dans le DMSO, jusqu'à un ratio massique de 20% [14]. Des travaux préliminaires ont par exemple établis que l'utilisation du terephthaldéhyde en tant que réticulant conduit à la formation d'hydrogels TA – PVA opaques lorsque le ratio massique de TA est supérieur à 5% par rapport à la masse de DMSO introduite. Cette opacité peut résulter de la structure du TA qui présente un cycle aromatique et un caractère moins hydrophile.

III. 1.a. Réticulation, piégeage physique d'une sonde de pH et mise en forme des hydrogels PVA – GA

La réticulation chimique de l'alcool polyvinylique avec un dialdéhyde tel que le glutaraldéhyde (GA) permet d'obtenir un réseau polymère hydrophile, insoluble dans l'eau. Le ratio massique de GA est modulé afin de contrôler le degré de réticulation de la matrice. En raison de la solubilité supérieure du PVA dans le DMSO par rapport à l'eau, ce premier a été sélectionné afin de dissoudre le PVA. Un ratio massique de 10% de PVA dissous dans le DMSO a été conservé pour l'ensemble des études. Ainsi la notation $GAx-PVAy$ désigne un hydrogel synthétisé avec un ratio massique en GA de $x\%$ et un ratio massique en PVA de $y\%$, par rapport à la masse de DMSO initialement introduite. Un réseau polymère est alors formé par une réaction d'acétalisation catalysée par des vapeurs d'acide chlorhydrique HCl (Figure II - 12).

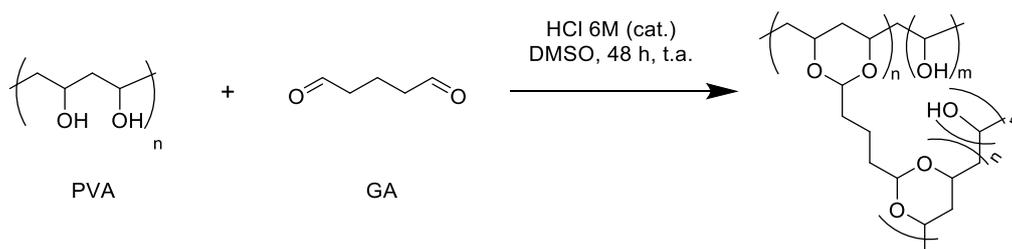


Figure II - 12 : Réticulation de l'alcool polyvinylique (PVA) par le glutaraldéhyde (GA) par catalyse acide

Le choix d'un piégeage physique de la sonde de pH Naphth-AlkyneOMe dans les hydrogels GA-PVA est effectué (Figure II - 13). La sonde Naphth-AlkyneOMe est introduite dans la solution de PVA solubilisé dans le DMSO, avec une concentration en sonde de $0,2 \mu\text{mol/g}$ de solution. L'ajout du réticulant GA dans la solution induit une augmentation de la viscosité de la solution. Une mise en forme des hydrogels par spin coating est difficile et conduit à l'obtention d'hydrogels épais, d'épaisseur inhomogène. Les hydrogels formés par spin coating présentent des effets de bords d'autant plus importants que la concentration en GA augmente, et donc que la viscosité de la solution de PVA augmente. L'utilisation d'un applicateur automatique permet l'application contrôlée d'une solution sur un substrat et correspond à la solution retenue pour la mise en forme d'hydrogels minces. Des hydrogels épais sont obtenus par drop casting (ou dépôt de la solution) dans des boîtes de Petri en polystyrène (Figure II - 14).

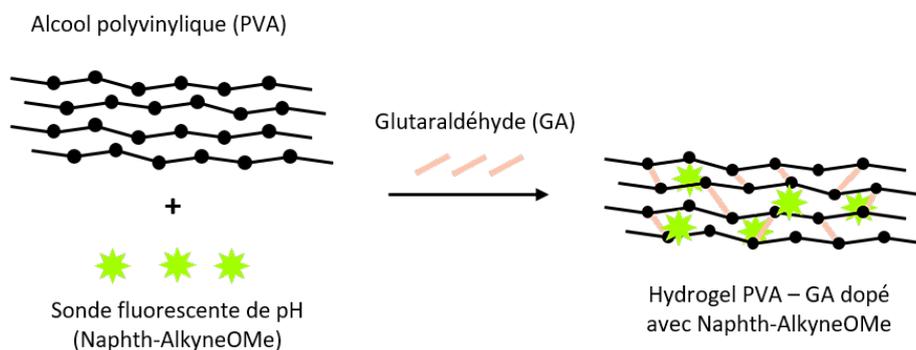


Figure II - 13 : Piégeage physique de la sonde de pH Naphth-AlkyneOMe dans un hydrogel GA-PVA

L'applicateur automatique est muni d'un rouleau applicateur fileté, dont le pas contrôle l'épaisseur du dépôt. Le substrat est maintenu par une faible aspiration et peut être chauffé afin de contrôler l'évaporation du solvant. Le substrat possède également un rôle dans la mise en forme puisque sa mouillabilité régle les interactions intermoléculaires à l'interface solution-substrat. En d'autres

termes, un substrat possédant un mouillage faible par rapport à la solution de PVA implique un angle de contact élevé entre la solution et la surface du substrat. Une fois le dépôt effectué, le substrat peut être solidaire du dépôt : dans ce cas, le substrat est conservé pour l'étude des hydrogels. Dans notre cas, les hydrogels GA-PVA possédant des propriétés mécaniques satisfaisantes, le substrat n'est pas conservé après réticulation. Différents substrats ont été testés pour la mise en forme des hydrogels GA-PVA et les résultats obtenus sont recensés dans le Tableau II - 3. L'utilisation du verre comme support d'application présente l'avantage de constituer un substrat rigide, pouvant être facilement nettoyé et réutilisé mais il conduit à la formation d'hydrogels GA-PVA épais. L'utilisation d'un nettoyeur plasma, dont le principe repose sur la production d'un plasma afin d'éliminer les contaminations organiques présentes en surface du verre par réactions chimiques ou physiques, ne permet pas de diminuer l'angle de contact entre la solution de PVA-GA dans le DMSO.

Matériau	Sélectionné pour protocole de mise en forme	Remarques
Polystyrène (PS)	Oui	Hydrogel mince d'épaisseur homogène avec applicateur automatique
Polyoxyméthylène (POM)	Non	Substrat de POM mince (0,01 mm) rendant son utilisation complexe
Polytéréphtalate d'éthylène (PET)	Oui	Hydrogel mince d'épaisseur homogène avec applicateur automatique
Polycarbonate (PC)	Non	Adhésion hydrogel - PC
Verre (nettoyage acétone et éthanol)	Non	Mouillabilité faible, reproductibilité faible Formation d'hydrogels épais avec applicateur automatique
Verre (nettoyage acétone et éthanol + nettoyeur plasma)	Non	Mouillabilité faible Formation d'hydrogels épais avec applicateur automatique

Tableau II - 3 : Substrats testés pour la mise en forme des hydrogels PVA-GA avec l'applicateur automatique

Les paramètres contrôlés lors de la mise en forme des hydrogels à l'aide d'un applicateur automatique sont la vitesse d'application v , correspondant à la vitesse de déplacement du rouleau applicateur, la longueur de la course et la température du substrat. L'ensemble des hydrogels GA-PVA ont été formés avec un rouleau applicateur de 100 ou 200 μm , sur un substrat en polytéréphtalate d'éthylène (PET) de 0,1 mm servant uniquement de support pour l'application de la solution de GA-PVA dopée. Suite à la mise en forme, la réticulation est catalysée par des vapeurs d'acide HCl durant 48h. Les hydrogels sont retirés du substrat en PET avant d'être rincés abondamment avec de l'eau distillée afin d'éliminer les traces d'acide et de DMSO résiduelles. Les hydrogels GA-PVA sont séchés à température ambiante afin d'être conservés jusque leur utilisation. Une réhydratation d'une heure est nécessaire avant l'étude des hydrogels.

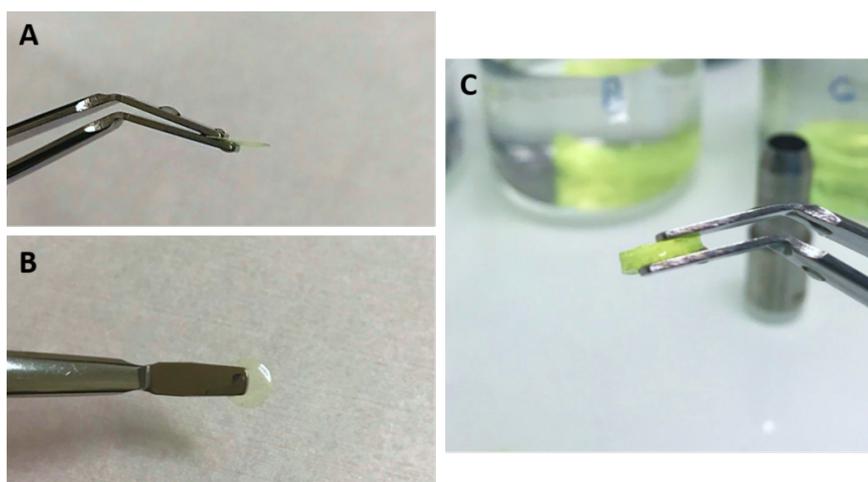


Figure II - 14 : Découpe d'hydrogels GA-PVA dopés avec la sonde Naphth-AlkyneOMe. Obtention d'hydrogels minces avec l'applicateur automatique (A, B) et d'hydrogels épais par drop casting (C)

L'épaisseur moyenne des hydrogels GA-PVA mis en forme avec un rouleau applicateur de 200 μm a été mesurée à l'aide d'un micromètre digital. Les hydrogels déshydratés GA5-PVA10 ont une épaisseur moyenne de $121 \mu\text{m} \pm 5 \mu\text{m}$, tandis que les hydrogels GA7,5-PVA10 ont une épaisseur moyenne supérieure de $137 \mu\text{m} \pm 5 \mu\text{m}$ en raison de la concentration supérieure en réticulant.

III. 1.b. Caractérisation des hydrogels GA – PVA dopés

EFFET DU pH SUR LES HYDROGELS GA – PVA : TEST QUALITATIF

Un premier test qualitatif a été réalisé en hydratant les hydrogels GA – PVA. Les hydrogels GA2,5-PVA10 sont souples et présentent une tenue mécanique faible, tandis que les hydrogels GA10-PVA10 sont rigides et leur découpe est plus complexe. L'ensemble des hydrogels dopés avec la sonde Napht-AlkyneOMe ont une fluorescence visible à l'œil nu dans leur états hydratés et déshydratés après excitation avec une lampe 405 nm. Le déprotonation des hydrogels hydratés induit une diminution de fluorescence réversible qui sera investiguée par la suite (Figure II - 15).

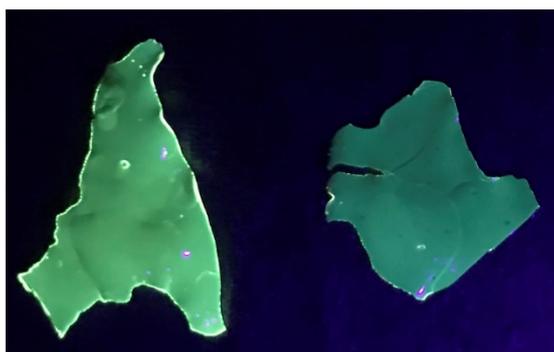


Figure II - 15 : Hydrogels GA5-PVA10 minces dopés avec la sonde Naphth-AlkyneOMe, hydraté dans l'eau distillée (gauche) et dans une solution NaOH aqueuse avec un pH = 12 (droite), $\lambda_{exc} = 405 \text{ nm}$

ETUDE DE LA RÉTENTION D'EAU DES HYDROGELS GA - PVA

Les hydrogels présentent des propriétés de rétention d'eau impliquant une variation du volume de la matrice. Dans le cas d'un hydrogel GA-PVA dopé avec une molécule fluorescente, une hydratation de la matrice induit une augmentation du diamètre des hydrogels et un gonflement, accompagné d'un éloignement relatif des fluorophores. L'intensité de fluorescence par unité de surface des hydrogels

GA-PVA dopé avec la sonde de pH Naphth-AlkyneOMe pourrait donc dépendre du taux d'hydratation de l'hydrogel en addition de l'action du pH de la solution. L'étude du taux de rétraction d'un hydrogel déshydraté en fonction de la concentration en PVA et de la concentration en GA permet de définir des paramètres limites pour la formulation des hydrogels dopés. A cet effet, un taux de rétraction est défini par la relation :

$$\text{Taux de rétractation (\%)} = \left(\frac{\text{diamètre}_{\text{hydraté}} - \text{diamètre}_{\text{déshydraté}}}{\text{diamètre}_{\text{hydraté}}} \right) \times 100 \quad \text{Eq. II - 6}$$

Après hydratation des hydrogels durant une semaine, les diamètres d'hydrogels épais élaborés par drop casting sont mesurés à l'aide d'un micromètre digital, dans leur état hydraté ($\text{diamètre}_{\text{hydraté}}$). De même, après une étape de déshydratation d'une semaine, le diamètre des hydrogels déshydratés est mesuré ($\text{diamètre}_{\text{déshydraté}}$). L'effet du ratio massique de GA introduit par rapport au DMSO est déterminé dans le cas d'hydrogels GAx-PVA10, avec $x = 1 ; 2,5 ; 5 ; 10 ; 15 ; 20$ (Figure II - 16 – gauche). L'effet du ratio massique de PVA introduit par rapport au DMSO est déterminé dans le cas d'hydrogels GA10-PVax, avec $x = 4 ; 6 ; 8 ; 10 ; 12$ (Figure II - 16 – droite). Quatre cycles d'hydratation-déshydratation sont effectués et les taux de rétraction présentés correspondent aux valeurs moyennées.

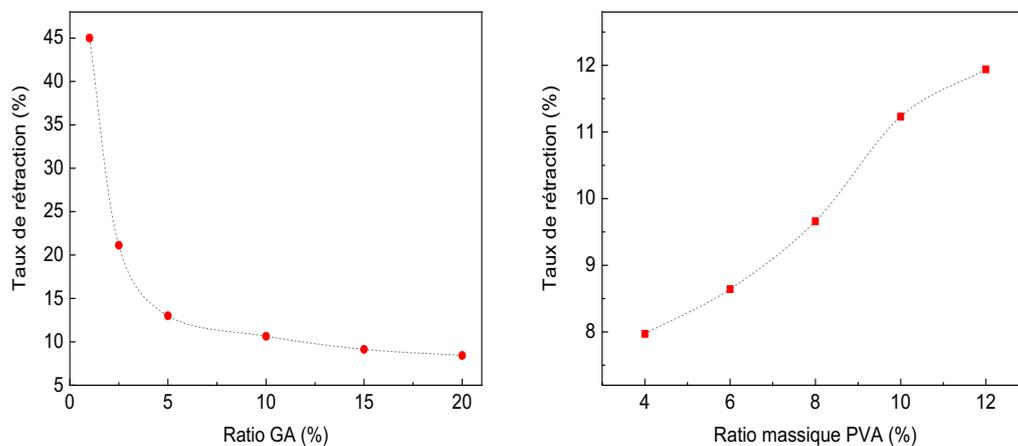


Figure II - 16 : Taux de rétraction des hydrogels GAx -PVA10 préparés par drop casting en fonction du ratio en GA (gauche) et des hydrogels GA10- PVax en fonction du ratio en PVA (droite)

Ainsi, l'augmentation de la concentration en GA, et donc du taux de réticulation, permet de réduire le taux de rétraction des hydrogels GAx-PVA10 (Figure II - 16). En effet, plus la concentration en GA est élevée et moins les chaînes PVA présentent de groupements hydroxyles libres après réticulation (Figure II - 12). Ces groupements hydrophiles sont capables de créer des liaisons H avec les molécules d'eau et sont responsables de la rétraction réversible des hydrogels lors de leur déshydratation. La concentration en GA doit cependant être limitée car l'hydrophilicité des hydrogels GA-PVA diminue avec une augmentation de la concentration en GA[15]. L'augmentation de la concentration en GA est également accompagnée d'une diminution de la conductivité protonique[13]. Enfin, on note une augmentation de la rigidité et de la résistance mécanique des hydrogels avec une augmentation de la concentration en GA. L'intégrité physique des hydrogels dopés devant être conservée lors du contact avec le béton, la résistance mécanique de la matrice solide doit être prise en compte. A l'inverse, l'augmentation de la concentration en PVA dans les hydrogels GA10-PVax implique une augmentation du taux de rétraction (Figure II - 16). Cette tendance est expliquée par l'introduction de groupements hydroxyles libres avec une concentration en PVA croissante. Des synthèses d'hydrogels avec des chaînes de PVA de poids moléculaire inférieur ont été réalisées mais aucun effet sur le taux de rétraction n'a été noté.

Cette étude du taux de rétraction des hydrogels en fonction de la concentration en réticulant GA et de la concentration en PVA a permis d'établir un domaine d'étude restreint pour le choix d'une matrice solide destinée à un piégeage physique de la sonde de pH Naphth-AlkyneOMe. Ainsi, le choix de conserver un ratio massique de 10% de PVA solubilisé dans le DMSO a été effectué en raison de la tenue mécanique des hydrogels obtenus. Une concentration faible en GA induisant un taux de rétraction élevé et une résistance mécanique faible des hydrogels obtenus, les hydrogels GA1-PVA10 n'ont pas été retenus. A l'inverse, une concentration élevée en GA implique une rigidité des hydrogels, rendant leur manipulation difficile. A cet aspect pratique s'ajoute la diminution de la conductivité protonique et du caractère hydrophile avec l'augmentation du ratio massique en GA[13, 15]. Le domaine d'étude des hydrogels GA-PVA a donc été réduit aux formulations GA_x-PVA10 avec x=2,5 ; 5 ; 7,5 ; 10, caractérisées par un taux de rétraction compris entre 10 et 20%.

MICROSTRUCTURE DES HYDROGELS GA – PVA

Les hydrogels GA-PVA ont été observés au microscope électronique à balayage (MEB) dans leur état déshydraté et hydraté. Les hydrogels déshydratés ont été métallisés sur une surface (métallisation or) avant d'être observés. Les mêmes hydrogels ont été placés dans de l'eau distillée durant trois heures avant d'être observés dans leur état hydraté. Les matrices GA-PVA présentent une porosité, notamment mise en évidence après hydratation des hydrogels (Tableau II - 4). Cette porosité est retrouvée par Hosseinzadeh dans le cas d'hydrogel GA-PVA[16], tandis que Jiang et al. prouvent qu'une réticulation par un procédé de cycles de congélation-décongélation conduit à une microstructure en nid d'abeille[14]. L'hydratation des hydrogels est marquée par une dilatation des pores dont la réversibilité a été observée au MEB. En effet, 45 minutes après l'observation des hydrogels hydratés, une diminution de la taille des pores est observée en raison de la déshydratation de la matrice. Les hydrogels hydratés GA7,5-PVA10 présentent un diamètre moyen de pores de $63 \mu\text{m} \pm 1 \mu\text{m}$, tandis que les hydrogels hydratés GA5-PVA10 présentent un diamètre moyen inférieur de $25 \mu\text{m} \pm 1 \mu\text{m}$. Les hydrogels GA2,5-PVA10 et GA10-PVA10 présentent une grande disparité de taille des pores ; proposer un diamètre moyen de pores n'est donc pas représentatif de ces échantillons. Aucune corrélation n'a pu être établie entre la porosité des hydrogels GA-PVA et la concentration en GA.

ANALYSE THERMOGRAVIMETRIQUE (ATG)

Le taux d'hydratation des hydrogels GA-PVA a été étudié par analyse thermogravimétrique (ATG). Le principe de l'ATG repose sur la mesure de la variation de masse d'un matériau en fonction du temps ou de la température, pour un profil de température défini ou une température constante. Cette variation de masse peut être étudiée dans une atmosphère inerte ou contrôlée, de manière à étudier un phénomène chimique comme une oxydation par exemple[17]. L'appareil inclut une microbalance afin de mesurer la variation de masse de l'échantillon au cours du temps. L'échantillon est placé dans un creuset en contact d'un thermocouple afin d'obtenir une mesure précise de la température de l'échantillon au cours du temps. Dans le cas des polymères, les deux phénomènes généralement observés sont :

- **ENTRE 25°C – 300°C** : une évaporation de l'humidité absorbée et/ou des composants volatiles tels que des solvants résiduels, des oligomères et des additifs à faible masse moléculaire
- **ENTRE 200 °C – 800°C** : évaporation de produits de dégradation résultant de la scission des chaînes polymères.

Ces deux phénomènes observés se traduisent pas une perte de masse. L'analyse thermogravimétrique de matrices polymère permet d'accéder à la stabilité thermique du matériau et aux cinétiques de dégradation de celui-ci.

L'analyse a été réalisée sur des hydrogels hydratés pendant 12 heures et découpés à l'aide d'un emporte-pièce avant leur étude. L'enceinte de l'appareil est purgée avec de l'azote de manière à réaliser l'analyse dans un environnement inerte. Le profil de température appliqué est identique pour chaque échantillon analysé, à savoir une température de départ de 30°C maintenue pendant deux minutes puis une rampe de température jusque 600°C avec une pente de 10°C/min, suivie d'un maintien de la température à 600°C pendant deux minutes. La Figure II - 17 regroupe la variation de masse des hydrogels hydratés GA-PVA soumis à cette rampe de température. La dérivée $\frac{dm}{dT}$, correspondant à la dérivée de la masse m de l'échantillon par rapport à la température T , permet d'accéder au nombre total de processus conduisant à une variation de masse de l'échantillon, avec le nombre de pics correspondant au nombre de processus de dégradation[17]. La dérivée $\frac{dm}{dT}$ permet également de définir le taux maximal de variation de masse, et de distinguer les variations de masse proches traduisant des processus de perte de masse simultanés.

L'ATG met en évidence trois processus de perte de masse pour l'ensemble des hydrogels hydratés GA-PVA. L'évaporation totale de l'humidité des matrices se produit en au moins deux étapes : une évaporation de l'eau en surface de l'échantillon avec une cinétique rapide est suivie d'une évaporation plus lente de l'eau absorbée au cœur du matériau. L'évaporation totale de l'humidité de l'échantillon se produit entre 60°C et 150°C pour l'ensemble des hydrogels étudiés. La perte de masse liée à la déshydratation de l'échantillon dépend de la surface exposée de l'échantillon mais également de son épaisseur. Le taux d'hydratation des matrices, défini comme la masse après déshydratation soustraite de la masse avant déshydratation, est donc difficilement quantifiable pour les hydrogels étudiés. En effet, malgré leur surface identique imposée par l'emporte-pièce, l'épaisseur moyenne des hydrogels GA-PVA dépend de leur taux de réticulation. Ainsi, les hydrogels GA2,5-PVA10 étudiés présentent une épaisseur moyenne de $115 \mu\text{m} \pm 5\mu\text{m}$, tandis que les hydrogels GA10-PVA10 ont une épaisseur moyenne supérieure de $175 \mu\text{m} \pm 5\mu\text{m}$. Les hydrogels d'épaisseur supérieure présenteront donc un volume d'eau supérieur au cœur du matériau, pour une même surface exposée. L'ATG ne permet donc pas de déterminer le taux d'hydratation des hydrogels GA-PVA en fonction de leur taux de réticulation.

La température de stabilité thermique T_{stab} des hydrogels GA-PVA déshydratés peut être définie comme la température limite précédant la dégradation thermique du matériau, par scission des chaînes polymères par exemple. D'après la Figure II - 17, cette température de stabilité thermique augmente avec le taux de réticulation : avec $T_{\text{stab}}=265^\circ\text{C}$, 270°C , 276°C et 300°C pour les hydrogels GA2,5-PVA10, GA5-PVA10, GA7,5-PVA10 et GA10-PVA10 respectivement. Les matrices GA-PVA présentent le même profil de pyrolyse au-delà leur température de stabilité thermique, indépendamment de leur degré de réticulation. D'après le profil de perte de masse, l'hydrogel se dégrade certainement par scission des chaînes polymères réticulées produisant des fragments du réseau polymère. Un premier processus de diminution de la masse se produit autour de 380°C , suivie par un second processus autour de 440°C . Les hydrogels GA-PVA sont entièrement décomposés en éléments volatils autour de 480°C - 500°C , avec une masse résiduelle négligeable comprise entre 0,9%-2,46%.

Les hydrogels GA-PVA constituent donc des matrices hydrophiles stables, avec une porosité variable en fonction de leur degré d'hydratation, et dont le degré de réticulation et la mise en forme sont maîtrisés. Un grand nombre d'optodes de pH décrites dans la littérature utilisent cependant un hydrogel polyuréthane commercialisé par AdvanSource Biomaterials : l'HydroMed™ D4.

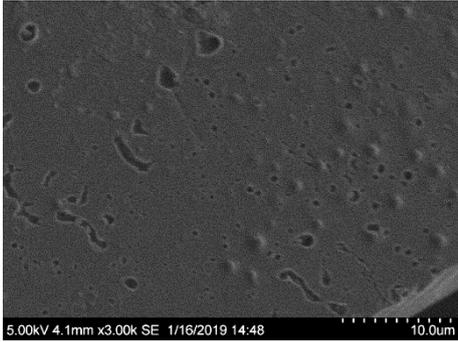
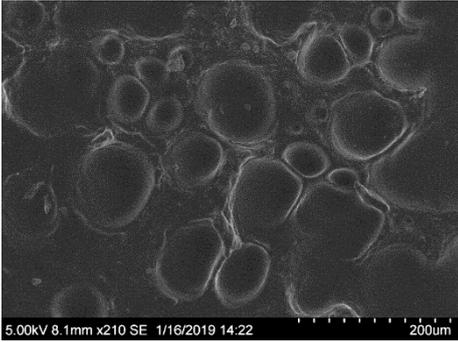
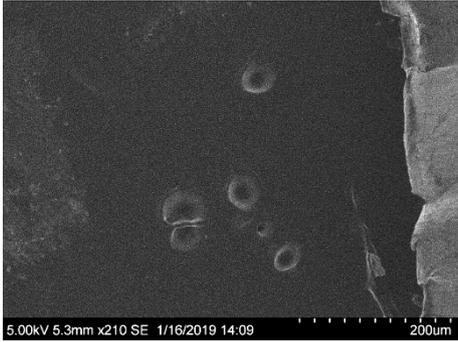
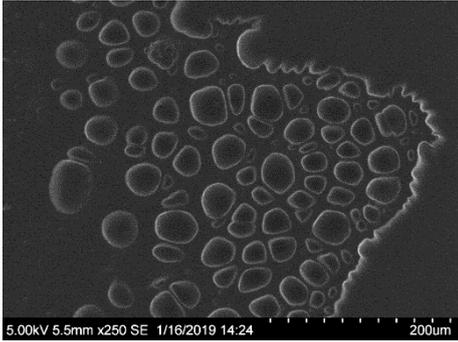
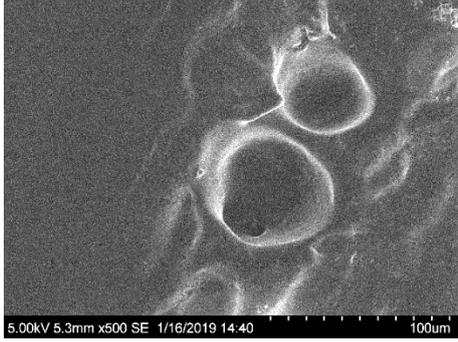
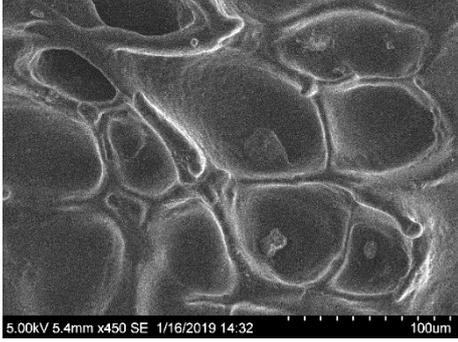
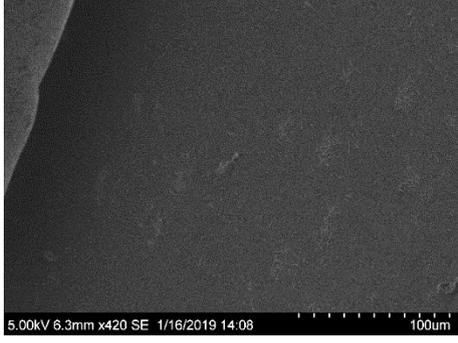
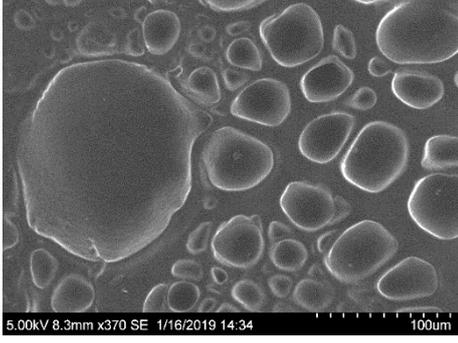
	Déshydraté	Hydraté
GA2,5- PVA10		
GA5- PVA10		
GA7,5- PVA10		
GA10- PVA10		

Tableau II - 4 : Hydrogels GAx-PVA10 observés en microscopie électronique à balayage dans leur état déshydraté (gauche) et hydraté (droite), avec $x=2,5 ; 5 ; 7,5$ et 10

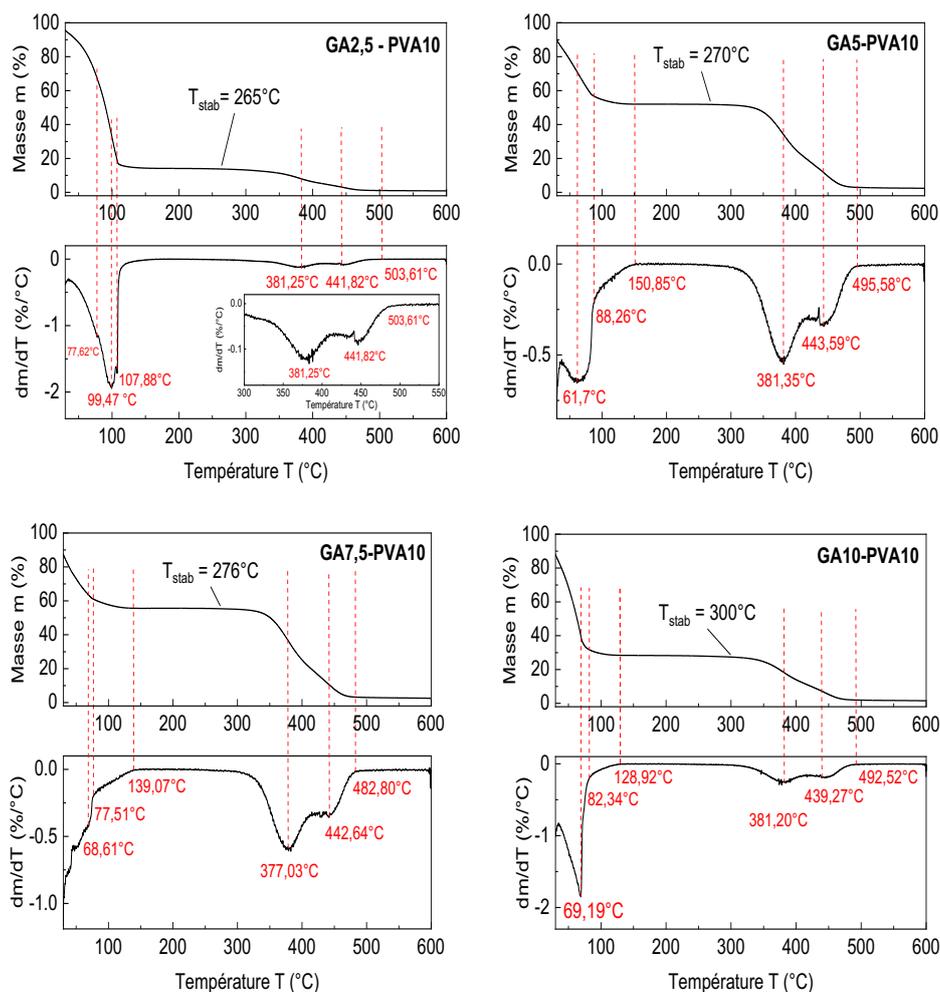
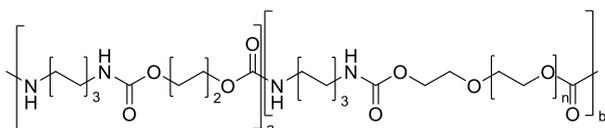


Figure II - 17 : Analyse thermogravimétrique (ATG) réalisée sur les hydrogels GAx-PVA10 hydratés durant 12h, avec x= 2,5 ; 5 ; 7,5 et 10

III. 2. Hydrogel polyuréthane commercial : l'HydroMed™ D4

L'HydroMed™ D4, un polyuréthane dibloc commercialisé par AdvanSource Biomaterials, constitue une matrice polyuréthane largement utilisée dans le domaine du développement d'optodes de pH[18-28]. Son hydrophilicité (rétention de 50% de sa masse en eau dans l'état hydraté), ses propriétés d'adhésion, ses propriétés cohésives et sa mise en forme simple sont des paramètres pertinents pour le développement de capteurs de pH. Cependant, un désavantage des matrices commerciales est le manque d'information concernant leur formulation. Peu de paramètres peuvent être modifiés lors de leur utilisation pour une séquestration physique des sondes de pH. D'après le site internet d'AdvanSource Biomaterials, la série HydroMed™ est constituée de polyuréthanes formulés à base d'éthers, et sont élaborés à partir d'un bloc A hydrophobe associé à un bloc B hydrophile (Figure II - 18). L'utilisation de l'HydroMed™ D4 dans un matériau cimentaire est validé par sa résistance chimique et mécanique en milieu basique[23-25].



III. 2.a. Piégeage physique d'une sonde de pH et mise en forme de l'HydroMed D4

Deux procédés de mise en forme de l'HydroMed™ D4 ont été testés. Un premier protocole de formation d'une couche mince par application d'une solution d'HydroMed™ D4 sur un substrat a permis d'obtenir des matrices dopées minces et solidaires de leur substrat. Des membranes dopées ont également été élaborées par drop casting.

Afin d'élaborer des matrices dopées par application sur un substrat, une solution d'HydroMed™ D4 avec une concentration massique de 10% a été obtenue par solubilisation de l'HydroMed™ D4 dans le THF à température ambiante, à l'aide d'un agitateur magnétique. L'utilisation d'un applicateur automatique muni d'un rouleau applicateur fileté permet d'appliquer la solution sur un substrat en polytéréphtalate d'éthylène (PET) de 0,1 mm d'épaisseur. L'évaporation lente du solvant est assurée par une première étape de séchage sous sorbonne pendant 1 à 2 heures, à température ambiante. Une seconde étape d'évaporation du solvant sur rampe à vide permet l'obtention de films d'HydroMed™ D4 secs.

Des matrices dopées ont également été réalisées par drop casting de la solution d'HydroMed™ D4 solubilisé dans le THF avec une concentration massique de 10%. Comme illustré en Figure II - 19, un moule en polytétrafluoroéthylène (PTFE) constitué de cavités cylindriques est utilisé afin de mettre en forme l'HydroMed™ D4. L'évaporation du solvant se produit en deux étapes : le support est placé sous sorbonne, puis le moule est placé dans un dessiccateur afin d'évaporer les résidus de solvant à l'aide d'une rampe à vide. Les membranes sont ensuite prélevées à l'aide d'une pince.

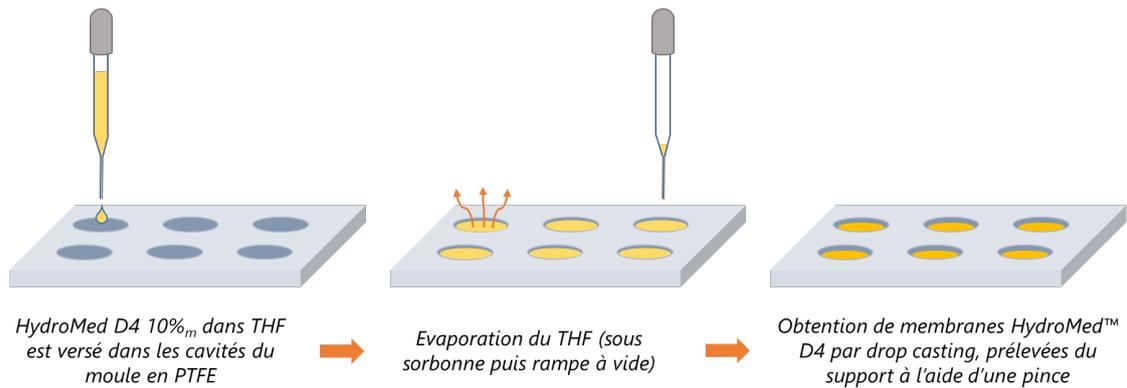


Figure II - 19 : Illustration de la méthode de drop casting pour la mise en forme de l'HydroMed™ D4

III. 2.b. Caractérisation des hydrogels HydroMed™ D4 dopés

Des membranes ont été préparées par application d'une solution d'HydroMed™ D4 dans le THF, avec une concentration massique de 10%. La solution a été appliquée sur le substrat en PET à l'aide d'un rouleau applicateur fileté de 100 µm selon le protocole détaillé précédemment. Les membranes obtenues ont été observées au MEB, dans leur état déshydraté et hydraté, afin d'identifier une éventuelle organisation structurale. L'HydroMed™ D4 n'a pas nécessité de métallisation avant son observation au MEB. La Figure II - 20 montre l'HydroMed D4 déshydraté, en coupe (images A, B et C) et en surface (image D). L'épaisseur moyenne de la couche d'HydroMed™ D4 déshydratée est de 4,9 µm et le dépôt est homogène. L'image B de la Figure II - 20 met en évidence des zones où l'adhésion HydroMed™ D4 – PET n'est pas totale. L'hydratation de ces mêmes membranes exacerbe ce manque d'adhésion entre l'HydroMed™ D4 et le PET (Figure II - 21). Il faut noter que la découpe des échantillons peut conduire à cette désolidarisation observée majoritairement en bordure des échantillons. L'observation de l'HydroMed™ D4 hydraté en surface (Figure II - 21 image D) met tout de même en

évidence un manque d'adhésion au centre des membranes. L'hydratation du polyuréthane ne met pas en évidence une microstructure du matériau aux différents grossissements d'observation, ni une augmentation de l'épaisseur liée à l'hydratation de la matrice polymère. L'hydratation de l'HydroMed™ D4 conduit donc à une expansion linéaire du matériau.

L'épaisseur de dix hydrogels HydroMed™ D4 hydratés préparés par drop casting a été mesurée à l'aide d'un micromètre digital et une épaisseur moyenne de $161 \pm 5 \mu\text{m}$ a été déterminée.

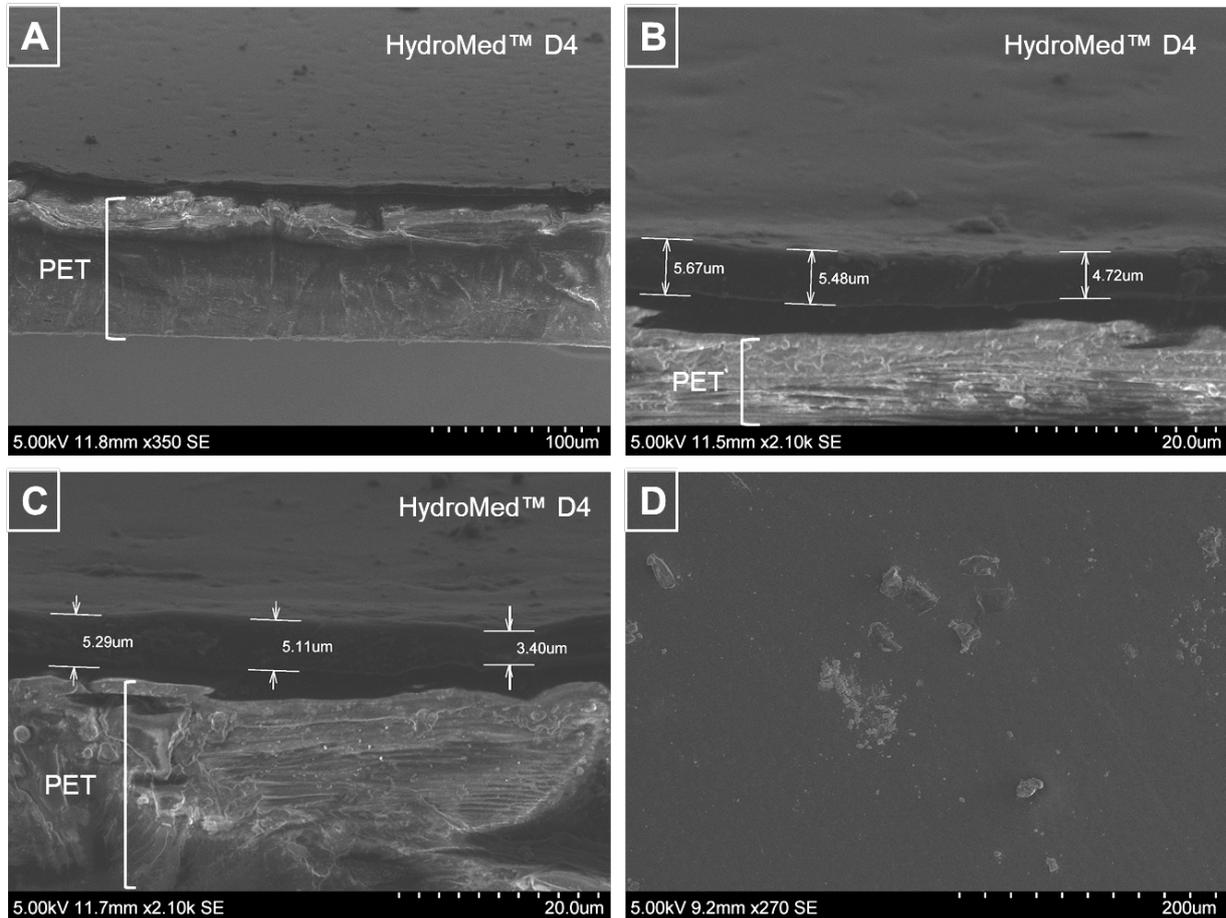


Figure II - 20 : Observation au MEB d'une couche d'HydroMed™ D4 appliquée sur un substrat en polytéréphtalate d'éthylène (PET), dans son état déshydraté, en coupe (A,B et C) et en surface (D). Application d'une solution HydroMed™ D4 10% dans le THF, rouleau applicateur : 100 μm

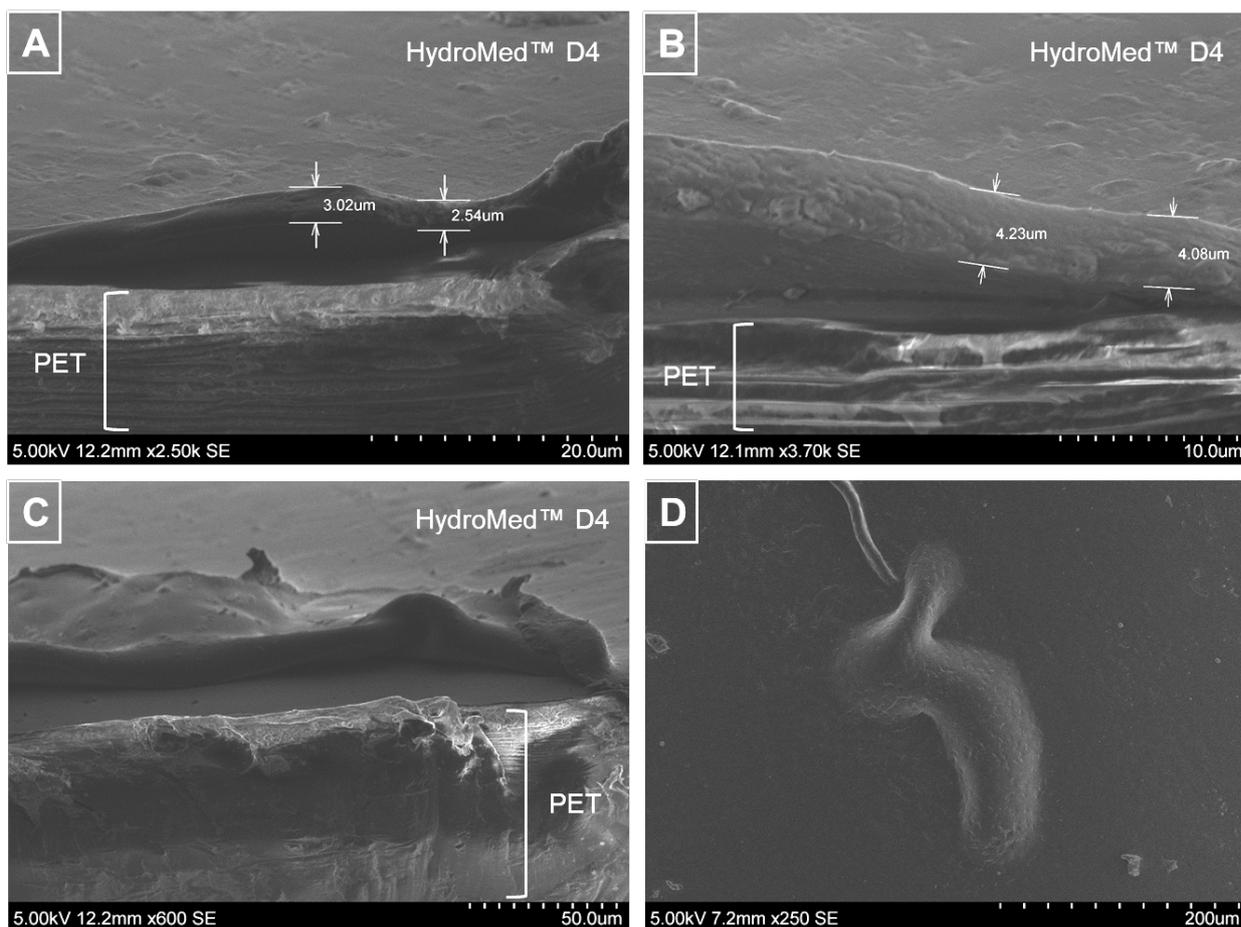


Figure II - 21 : Observation au MEB d'une couche d'HydroMed™ D4 appliquée sur un substrat en polytéréphtalate d'éthylène (PET), dans son état hydraté, en coupe (A,B et C) et en surface (D). Application d'une solution HydroMed™ D4 10% dans le THF, rouleau applicateur : 100 μm

III. 3. Choix de la matrice solide : conclusion

Ainsi, des hydrogels GAx-PVA10 avec $x=2,5 ; 5 ; 7,5 ; 10$ dopés avec la sonde de pH NaphthAlkyne-OMe ont été élaborés et présentent une hydrophilicité ainsi qu'une perméabilité aux ions H_3O^+ et HO^- d'après la modification de la fluorescence obtenue lors de l'immersion des hydrogels dans des solutions aqueuses acides ou basiques. L'augmentation de la concentration en réticulants GA conduit à une augmentation de la résistance mécanique du matériau. L'étude de la microstructure des hydrogels GA-PVA en microscopie (MEB) a mis en évidence une porosité ouverte lorsque les hydrogels sont hydratés. La déshydratation de l'hydrogel conduit à une rétraction partielle de ces pores, dépendante de la concentration en réticulant GA. Cette variation de volume pouvant perturber le signal optique, un second hydrogel de nature chimique différente a été étudié. Le second hydrogel sélectionné correspond à l'HydroMed™ D4 ; un polyuréthane commercial dont la mise en œuvre simple explique son utilisation répandue pour l'élaboration de diverses optodes de pH. Aucune porosité n'a été visualisée au MEB et l'hydrogel présente une expansion linéaire lors de son hydratation. Les deux hydrogels ont donc été retenus pour le développement d'une optode de pH. Un piégeage physique de la sonde de pH Naphth-AlkyneOMe dans ces matrices solides permet d'obtenir des hydrogels dopés dont les propriétés photophysiques doivent être caractérisées en fonction du pH.

IV. Conception de l'optode de pH

La terminologie 'optode' ou 'optrode' englobe l'ensemble des capteurs optiques basés sur des transducteurs, généralement chimiques. La méthodologie générale de développement d'une optode se base sur trois composants :

- **UN TRANSDUCTEUR (GÉNÉRALEMENT CHIMIQUE)** : le rôle du transducteur est de transformer un signal de nature A en un second signal de nature B, mesurable par le système d'acquisition sélectionné. Dans le cas d'une sonde moléculaire fluorescente, une concentration d'analyte est par exemple détectée par le transducteur et le signal émis correspond à une intensité de fluorescence, mesurable à l'aide d'un détecteur optique
- **UNE MATRICE** : l'inclusion du transducteur dans l'optode nécessite généralement l'utilisation d'une matrice solide afin de piéger ce dernier et permettre un contact avec l'environnement analysé
- **L'INSTRUMENTATION** : un système de détection du signal émis par le transducteur est nécessaire afin de constituer une optode. L'instrumentation est sélectionnée en fonction de la nature du transducteur, l'environnement étudié ainsi que l'application visée. Par exemple, le choix d'une sonde moléculaire fluorescente en tant que transducteur impose l'intégration d'une source d'excitation et d'un ensemble de pièces optiques permettant de sélectionner l'émission de la sonde fluorescente.

Cette méthodologie générale a été appliquée afin de constituer un capteur optique basé sur une sonde moléculaire de pH fluorescente et adapté aux mesures du pH de matériaux cimentaires. Le transducteur chimique sélectionné est le composé Naphth-AlkyneOMe et les matrices solides correspondent aux hydrogels GAx-PVA10 avec $x=2,5 ; 5 ; 7,5 ; 10$ et l'HydroMed™ D4. Un temps de réponse, une résolution de la mesure et une fiabilité du système adaptés aux phénomènes chimiques étudiés ont constitué les critères clés pour le développement de l'optode de pH.

IV. 1. Caractérisations photochimiques préliminaires des hydrogels dopés

Une étape préliminaire consistant à caractériser les propriétés photophysiques des hydrogels dopés avec la sonde Naphth-AlkyneOMe en fonction du pH est nécessaire afin de développer l'optode de pH. L'absorbance et la fluorescence des hydrogels dopés ont été caractérisées de manière analogue à l'étude de la sonde en solution.

IV. 1.a. Spectres d'absorbance des hydrogels dopés

Les spectres d'absorption des hydrogels dopés hydratés ont été acquis en spectroscopie UV-Visible à l'aide d'un porte échantillon solide.

Les hydrogels HydroMed™ D4 ont été préparés à l'aide de l'applicateur automatique et deux concentrations ont été testées : 5%_m et 10%_m, correspondant à la masse d'HydroMed™ D4 dissous dans le THF. Les spectres d'absorption permettent de voir que les hydrogels formés avec une faible concentration en HydroMed™ D4 forment des hydrogels inhomogènes (Figure II - 22 - A). Les spectres d'absorption des hydrogels avec une concentration en HydroMed D4 de 10%_m ont été acquis pour quatre échantillons et le spectre diffère peu entre les échantillons. Le spectre d'absorption caractéristique du Naphth-AlkyneOMe en solution est retrouvé pour la sonde piégée dans la matrice HydroMed D4, avec $\lambda_{\text{max,abs}} = 400 \text{ nm}$ et $A_{\text{max}} = 0,21-0,23$. Ces résultats prouvent que la sonde Naphth-AlkyneOMe est bien dispersée dans la matrice et ne forme pas d'agrégats majeurs d'après l'absence de diffusion.

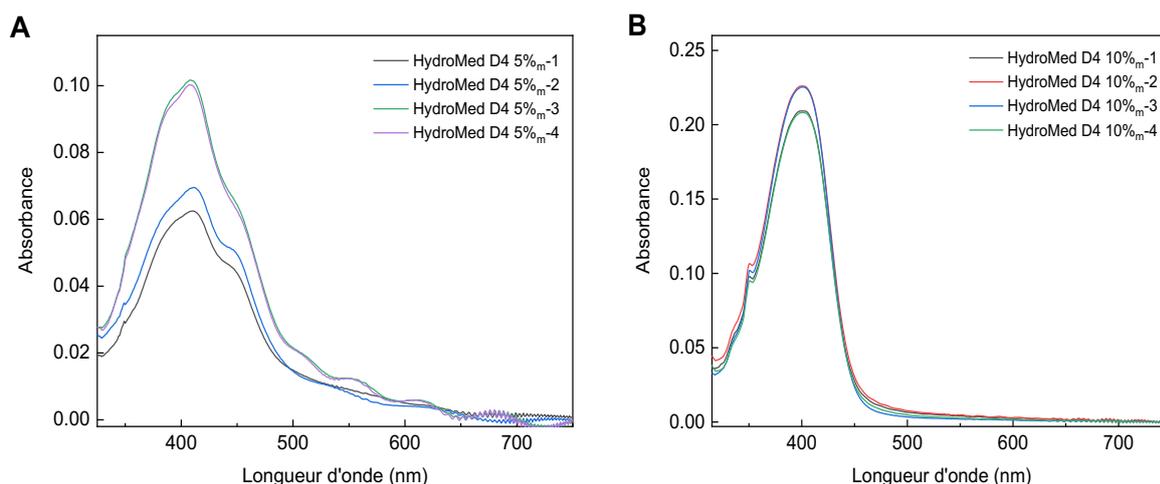


Figure II - 22 : Spectres d'absorption de l'HydroMed™ D4 sur un substrat en PET 0,1 mm mis en forme avec l'applicateur automatique. A - HydroMed D4 5%_m dans THF et B - HydroMed D4 10%_m dans THF

L'HydroMed D4 10%_m dopé est déprotoné dans une solution aqueuse de NaOH avec un pH = 12,5 pendant 10 minutes. Le spectre d'absorption de l'hydrogel est acquis dans son état déprotoné et un déplacement hypsochromique de l'absorbance de 20 nm est observé en raison de la diminution du transfert de charge entre le groupement methoxy donneur et le groupement naphthalimide accepteur (Figure II - 10 et Figure II - 23). Ce déplacement était également observé en solution.

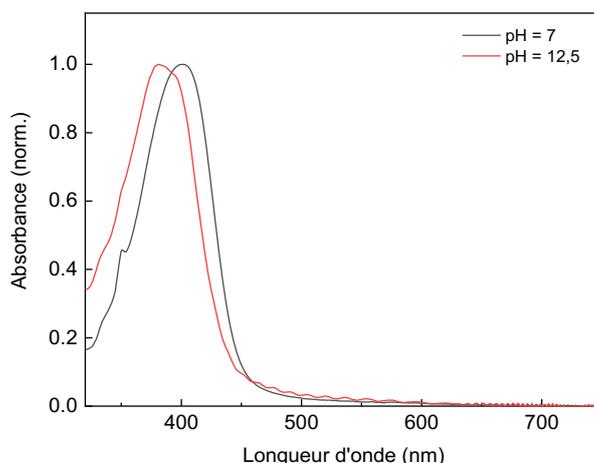


Figure II - 23 : Effet de la déprotonation sur le spectre d'absorption de l'HydroMed D4 10%_m dopé avec le Naphth-AlkyneOMe

IV. 1.b. Spectres de fluorescence des hydrogels dopés

Les spectres de fluorescence des hydrogels dopés avec la sonde Naphth-AlkyneOMe ont été acquis grâce à un montage adapté sur un spectrofluorimètre (Figure II - 24). Ce montage permet de modifier facilement l'environnement de l'hydrogel et d'acquérir le spectre de fluorescence simultanément. De plus, la géométrie du montage s'approche de celle de l'optode et constitue une étape permettant de valider les différents composants optoélectroniques.

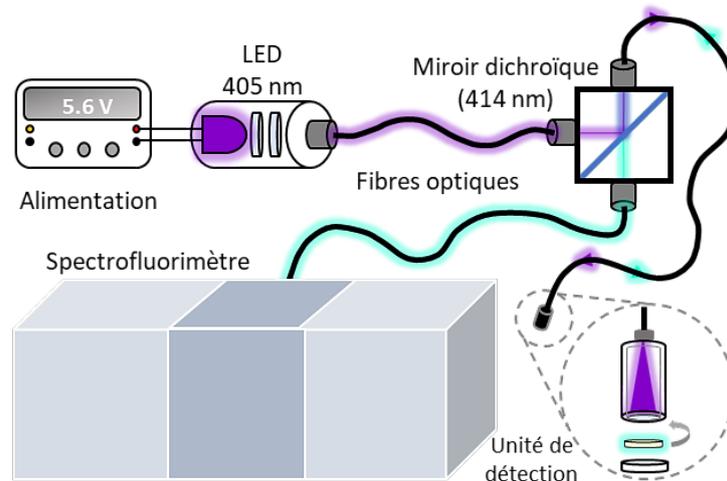


Figure II - 24 : Montage adapté sur un spectrofluorimètre permettant d'acquérir le spectre de fluorescence d'un hydrogel dopé avec une sonde en faisant varier l'environnement de l'hydrogel

Une LED possédant une longueur d'onde d'émission centrée autour de 405 nm est associée à une lentille bille permettant de focaliser le faisceau optique, ainsi qu'un filtre passe-bande centré à 405 nm et possédant une largeur spectrale de 10 nm (filtre 405-10). L'ajout d'un filtre passe-bande permet de réduire la largeur spectrale de la LED, ce qui simplifie la dissociation des signaux d'excitation et d'émission des hydrogels. La LED permet d'exciter la sonde de pH piégée dans l'hydrogel étudié à travers les fibres optiques représentées en traits pleins noirs sur la Figure II - 24. L'hydrogel est découpé et placé dans l'unité de détection constituée d'un manchon en Delrin®, un polyoxyméthylène appartenant au groupe des polyacétals, sélectionné pour sa résistance mécanique et chimique aux environnements agressifs. Le manchon en Delrin® est serti d'une lame de verre reposant sur un joint torique afin d'étanchéifier l'interface unité de détection-système optoélectronique. Un capuchon percé permet de retenir l'hydrogel placé sur la lame de verre tout en permettant un contact direct entre l'hydrogel et l'environnement étudié. L'unité de détection est schématisée en Figure II - 25. Un miroir dichroïque permet de filtrer l'excitation et de collecter l'émission de l'hydrogel à travers une fibre optique connectée à un spectrofluorimètre. L'acquisition des spectres d'émission des hydrogels dopés immergés dans une solution de pH connu peut donc être réalisée à l'aide d'un spectrofluorimètre. Une variation du pH de la solution d'immersion peut être aisément modifiée grâce à un ajout d'acide ou de base, et le pH peut être suivi à l'aide d'un pH-mètre.

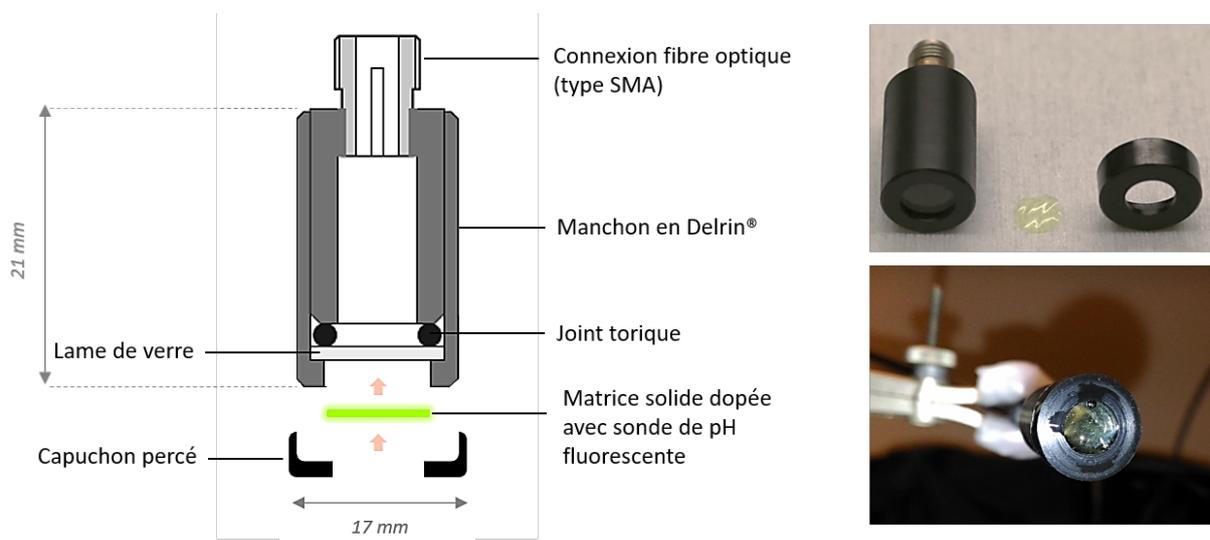


Figure II - 25 : Conception de l'unité de détection en contact avec l'environnement étudié (gauche) et photographies de l'unité de détection avant et après l'installation d'un hydrogel GA-PVA dopé (droite)

Ainsi, l'effet de la déprotonation sur les spectres d'émission d'hydrogels GA5-PVA10 et GA7,5-PVA10 minces mis en forme avec l'applicateur automatique a été étudié. Une déprotonation de la sonde Naphth-AlkyneOMe piégée dans une matrice GA-PVA induit une extinction partielle de fluorescence (Figure II - 26). Un déplacement hypsochrome plus marqué pour les hydrogels GA5-PVA10 que pour GA7,5-PVA10, associé à un comportement d'extinction de fluorescence inverse au phénomène observé en solution suggère des interactions spécifiques entre la sonde Naphth-AlkyneOMe et la matrice GA-PVA. En effet, en solution, une augmentation de la fluorescence est observée et résulte de la diminution de l'ICT lors de la déprotonation de l'imide, et donc d'une diminution du transfert non radiatif (Figure II - 9). L'extinction de fluorescence n'étant pas total même après 12h, l'hypothèse d'une inaccessibilité de certaines sondes de pH à la solution basique peut être formulée. L'effet du pH sur l'intensité de fluorescence étant marqué pour les hydrogels GA5-PVA10 et GA7,5-PVA10, leur pertinence pour l'élaboration d'une optode de pH est validée. De plus, une mesure du rendement quantique des hydrogels minces GA5-PVA10 et GA7,5-PVA10 hydratés dans de l'eau distillé a été réalisée. La mesure a été répétée sur trois échantillons et moyenné. Des valeurs de rendements quantiques élevées de $\Phi_{F, GA5-PVA10} = 89\%$ et $\Phi_{F, GA7,5-PVA10} = 82\%$ valident l'utilisation de ces hydrogels pour le développement d'une optode de pH.

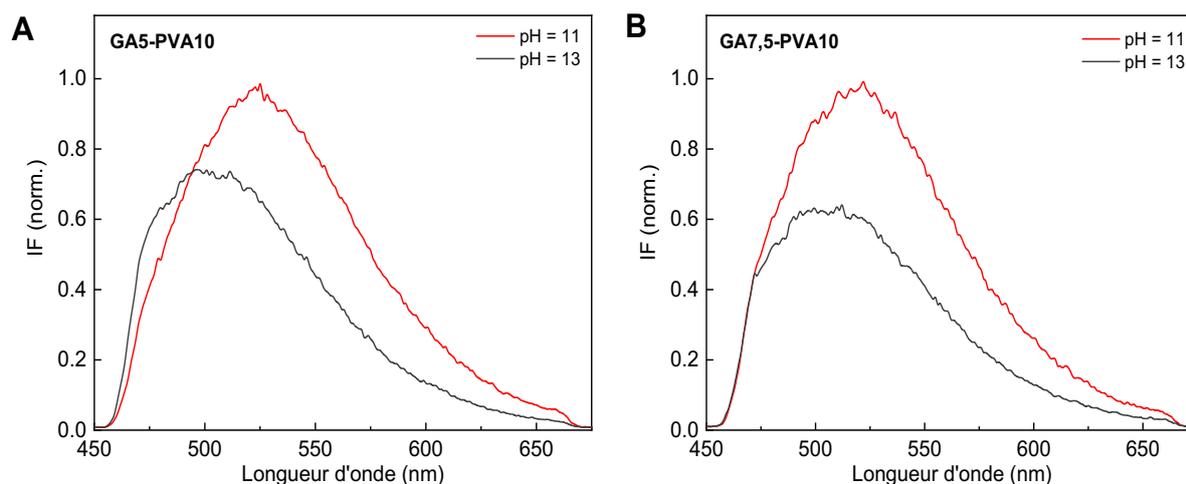


Figure II - 26 : Effet de la déprotonation sur les spectres d'émission des hydrogels GA5-PVA10 (A) et GA7,5-PVA10 (B) dopés avec la sonde Naphth-AlkyneOMe

De manière identique, l'effet de la déprotonation sur l'intensité de fluorescence des hydrogels HydroMed™ D4 dopés avec la sonde Naphth-AlkyneOMe et préparé par application d'une solution HydroMed™ D4 10%*m* sur un substrat en PET a été étudié. De même, la déprotonation de la sonde induit une diminution de l'intensité de fluorescence et s'oppose au comportement observé en solution (Figure II - 27). L'extinction de fluorescence n'étant pas totale, l'hypothèse de l'inaccessibilité de certaines sondes pH à l'eau est formulée. Ces résultats suggèrent des interactions spécifiques entre la sonde de pH et la matrice HydroMed™ D4.

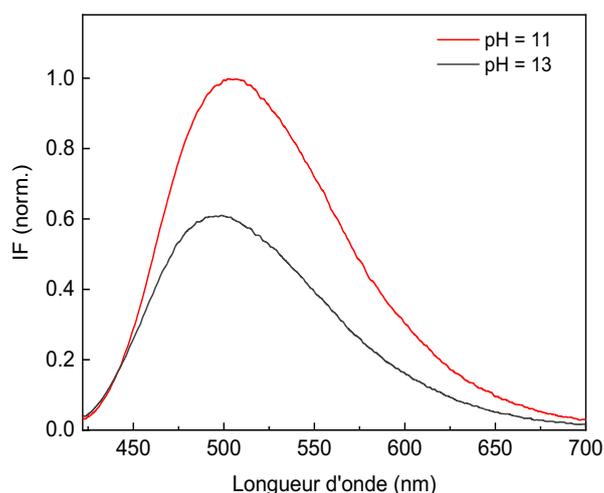


Figure II - 27 : Effet de la déprotonation sur les spectres d'émission de l'HydroMed D4 dopé avec la sonde Naphth-AlkyneOMe

IV. 2. Conception d'une optode pour une mesure du pH in situ : méthodologie et instrumentation

IV. 2.a. Excitation et collecte de l'émission des hydrogels dopés avec la sonde Naphth-AlkyneOMe

Un premier banc optique a été développé pour une utilisation en laboratoire, avec un but de développement d'un démonstrateur opérationnel utilisable sur site par la suite. Ainsi, cette première version de l'optode a été conçue afin de résister à des environnements hautement basiques et agressifs attendus durant la phase d'hydratation des matériaux cimentaires. Cette configuration permet d'obtenir des temps de réponse courts avec une exposition directe des films dopés au milieu sondé, tout en constituant un système fiable d'émission et d'acquisition des signaux optiques (Figure II - 29). L'excitation des sondes fluorescentes de pH dans le cadre de l'élaboration d'optodes est réalisée à l'aide de LED (Light-Emitting Diode ou diode électroluminescente) en raison de la grande variété et la disponibilité sur le marché, associé à un coût faible [24] [12, 23, 27-30]. La sonde de pH NaphthAlkyne-OMe présentant un maximum d'absorption $\lambda_{abs} = 400$ nm, une LED possédant une longueur d'onde d'émission centrée à 405 nm a donc été sélectionnée. La LED est associée à une lentille bille permettant de focaliser le faisceau optique, ainsi qu'un filtre passe-bande centré à 405 nm et possédant une largeur spectrale de 10 nm (filtre 405-10). L'ajout d'un filtre passe-bande permet de réduire la largeur spectrale de la LED et de simplifier la dissociation des signaux d'excitation et d'émission des sondes de pH. Cependant, un décalage d'environ 10 nm est identifié mais ne perturbe pas le système en raison de la largeur du spectre d'absorbance du Naphth-AlkyneOMe (Figure II - 28).

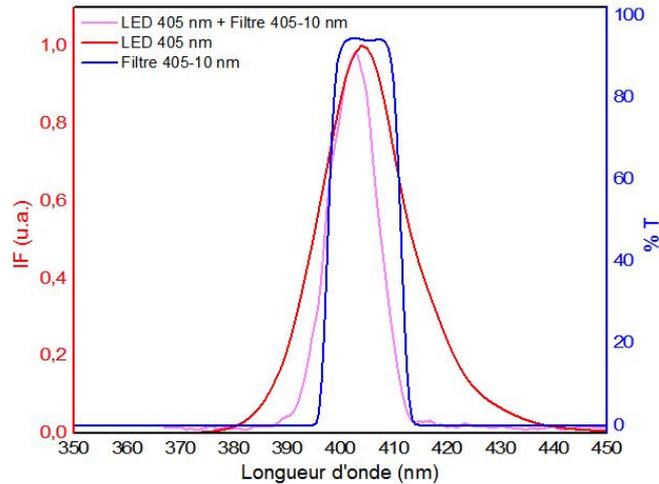


Figure II - 28 : Spectre d'émission de la LED 405 nm, de la LED 405 nm surmontée d'un filtre 405-10 nm, et spectre de transmission du filtre 405-10 nm

L'hydrogel dopé est découpé et placé dans l'unité de détection en Delrin® noir décrite précédemment (Figure II - 25 et Figure II - 29). Un capuchon percé permet de retenir l'hydrogel placé sur la lame de verre tout en permettant un contact direct entre l'hydrogel et l'environnement étudié. L'unité de détection est connectée à une fibre optique de diamètre 1000 μm à l'aide d'un connecteur SMA (SubMiniature version A), au travers de laquelle le signal d'excitation de la LED et d'émission de l'hydrogel dopé sont transmis. Afin de limiter le photoblanchiment des hydrogels dopés avec la sonde de pH, ces derniers sont excités en mode pulsé à l'aide d'un générateur basse fréquence associé à une détection synchrone permettant d'extraire le signal d'émission. Le signal d'émission est collecté à travers un miroir dichroïque relié à un tube photomultiplicateur PMT muni d'un filtre passe-bande.

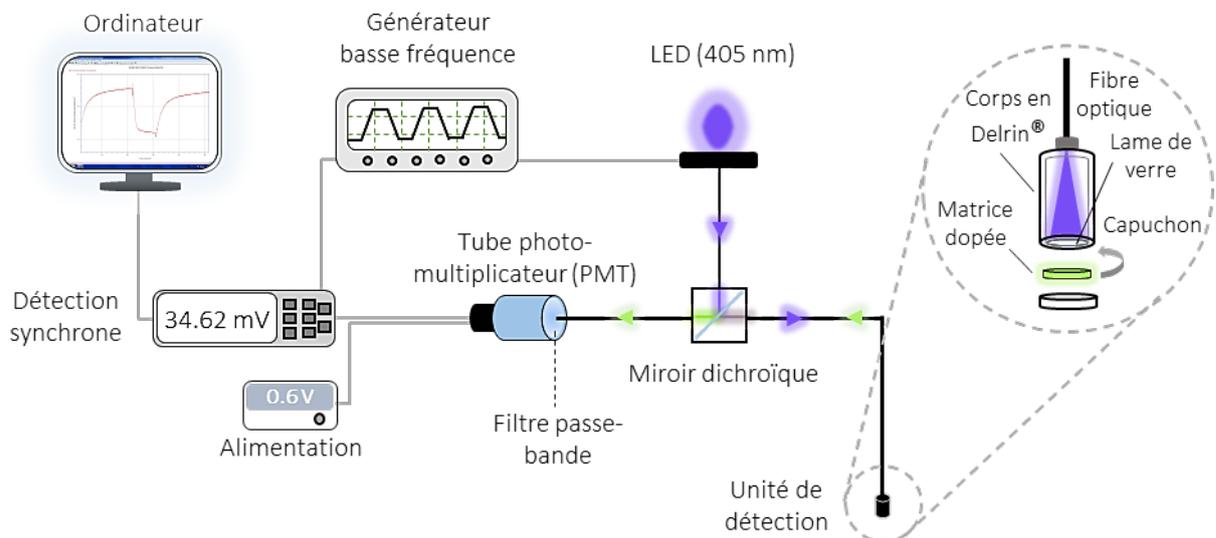


Figure II - 29 : Montage optoélectronique général décrivant l'optode de pH. Les traits pleins noirs représentent les fibres optiques, les traits pleins gris représentent les connexions électriques

Une estimation du bruit de l'optode peut être réalisée en installant un hydrogel sans sonde Naphth-AlkyneOMe (GA7,5-PVA10), donc non fluorescent, dans l'unité de détection. Une acquisition du signal pendant 200 s permet d'évaluer un niveau de bruit 'blanc' ou 'offset' faible $B = 1,36 \text{ mV}$ (Figure II - 30). Le tube photomultiplicateur ne perçoit pas de signal perturbateur provenant de l'environnement ou

du banc et un signal stable est acquis. Le remplacement de l'hydrogel non dopé par un hydrogel GA7,5-PVA10 dopé avec la sonde de pH Naphth-AlkyneOME permet d'enregistrer un signal environ 30 fois supérieur, confirmant la détection de la fluorescence au niveau du tube photomultiplicateur. Le signal acquis est stable et le bruit du montage est négligeable.

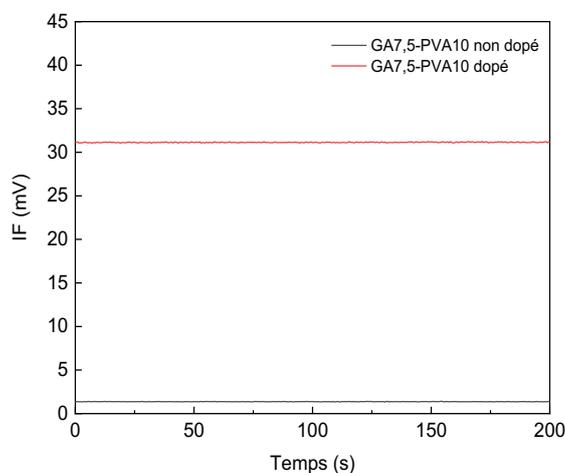


Figure II - 30 : Estimation du bruit du banc optique

IV. 2.b. Conception d'une optode de pH robuste et transportable

La première version de l'optode constitue un banc de laboratoire difficilement déplaçable. Un effort a donc été fourni afin d'isoler les pièces optiques de l'environnement extérieur afin d'éviter les éventuelles perturbations causées par un environnement poussiéreux par exemple. Ce second banc optique, bien que ne constituant pas un démonstrateur opérationnel compact, constitue un banc robuste pouvant être déplacé.

Les pièces optiques ont été montées dans des cubes optiques isolées de l'environnement extérieur et la LED 405 nm a été inclus dans l'ensemble optique (Figure II - 31). L'ajout d'une lame de verre permet de refléter 8% du faisceau de la LED vers une photodiode. Le courant de la photodiode permet de corriger les perturbations liées aux éventuelles fluctuations du courant, en connectant la photodiode à la voie de correction de la détection synchrone par exemple. Ce montage est modulable et un troisième cube optique peut être ajouté afin d'obtenir une seconde voie d'acquisition comme montré en Figure II - 32. Un chemisage optique a été ajouté afin de limiter les réflexions internes et est visible en Figure II - 32.

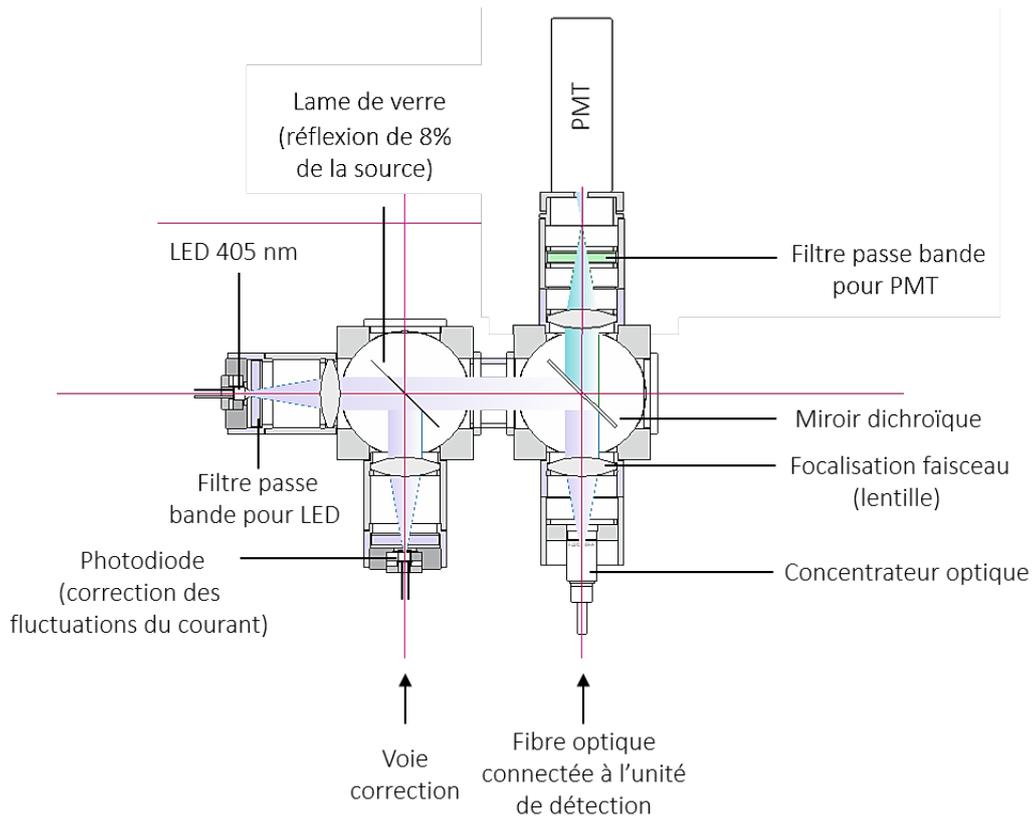


Figure II - 31 : Montage des pièces optiques et ajout d'une voie de correction

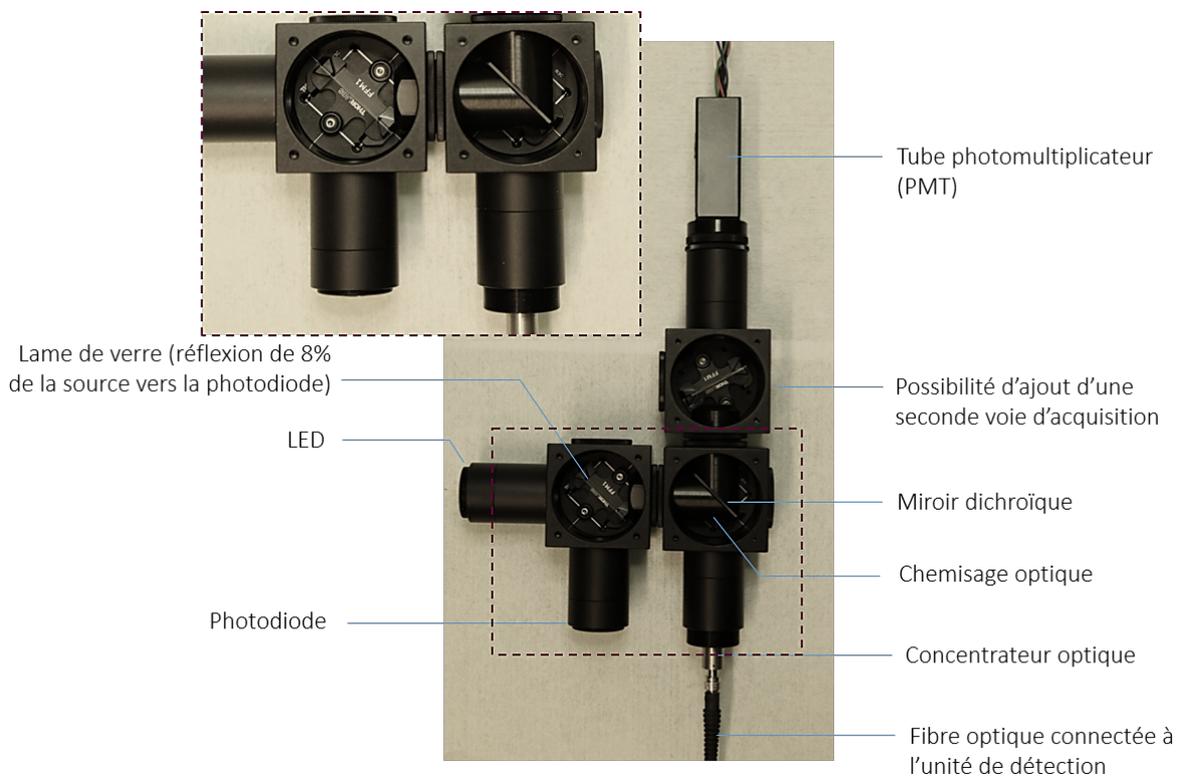


Figure II - 32 : Montage optique avec ajout d'une voie de correction et d'une éventuelle deuxième voie d'acquisition. Les capots des cubes optiques ont été retirés pour dévoiler une partie du montage

Une estimation du bruit de l'optode peut être réalisée en installant un hydrogel sans sonde Naphth-AlkyneOMe (GA7,5-PVA10), donc non fluorescent, dans l'unité de détection. Une acquisition du signal pendant 200 s permet d'évaluer le niveau de bruit 'blanc' ou 'offset' $B = 39,8$ mV. Le remplacement de l'hydrogel non dopé par un hydrogel GA7,5-PVA10 dopé avec la sonde de pH Naphth-AlkyneOMe permet d'enregistrer un signal environ 2 fois supérieur, confirmant la détection de la fluorescence au niveau du tube photomultiplicateur. Le niveau de l'offset peut paraître élevé, mais les signaux acquis sont stables et la fluorescence enregistrée a une amplitude égale à deux fois le niveau de l'offset, ce qui est satisfaisant pour l'élaboration d'une optode.

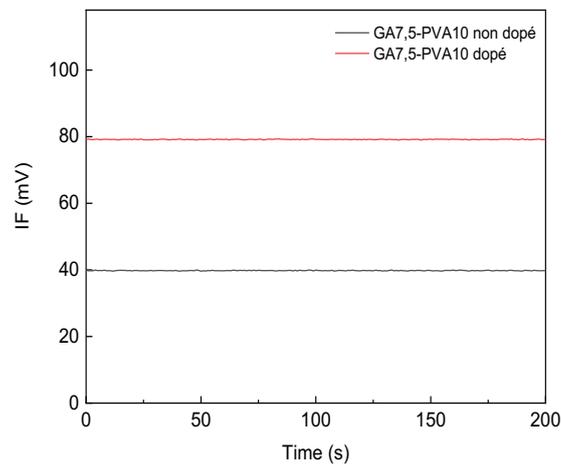


Figure II - 33 : Estimation du bruit du banc optique

La différence du niveau de bruit entre les deux montages peut provenir de la variation de géométrie : la LED est déportée dans le premier montage et l'excitation est transmise à travers une fibre optique, à l'inverse du second montage. L'origine du bruit du second montage a été investiguée grâce à l'acquisition du spectre d'émission en sortie du montage. Le PMT a été retiré et cette sortie a été alignée au niveau de la détection d'un spectrofluorimètre. L'unité de détection est laissée vide, puis un hydrogel GA7,5-PVA10 non dopé ou un hydrogel HydroMed™ D4 sur un substrat en PET 0,1 mm sont installés dans l'unité de détection. Les spectres sont acquis en l'absence de source lumineuse extérieure afin de ne pas perturber la mesure (Figure II - 34). Une fluorescence verte de faible intensité est détectée pour l'unité de détection vide, mais également en présence des hydrogels non dopés. Aucune fluorescence additionnelle des matrices hydrogels vierges n'est détectée. Cette fluorescence est donc intrinsèque au montage optique et provient probablement des différents composants plastiques constituant les éléments optiques, comme suggéré par Steinegger et al.[11]. Une fluorescence verte de la colle optique utilisée par le fournisseur pour le montage des filtres cerclés est notamment mise en évidence à l'aide d'une lampe 405 nm. L'installation d'un hydrogel GA7,5-PVA10 dopé avec la sonde Naphth-AlkyneOMe dans l'unité de détection prouve que la fluorescence intrinsèque au montage optique est négligeable relativement à la fluorescence de la sonde Naphth-AlkyneOMe piégée dans une matrice hydrogel lorsque la détection est assurée par un spectrofluorimètre (Figure II - 35).

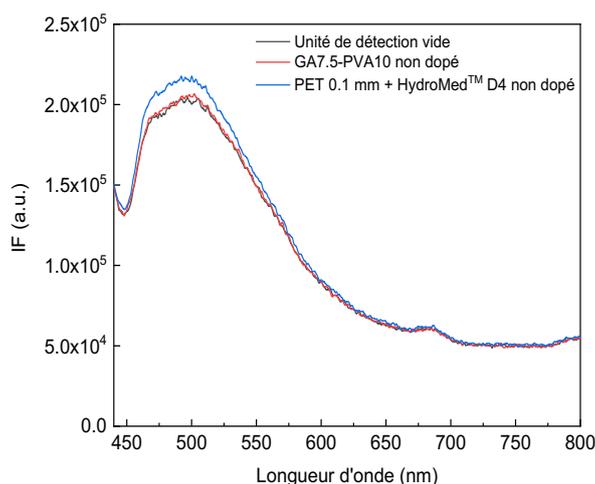


Figure II - 34 : Fluorescence intrinsèque au montage optique mise en évidence par acquisition du spectre d'émission en sortie du montage, en absence d'hydrogel dopé avec un composé fluorescent

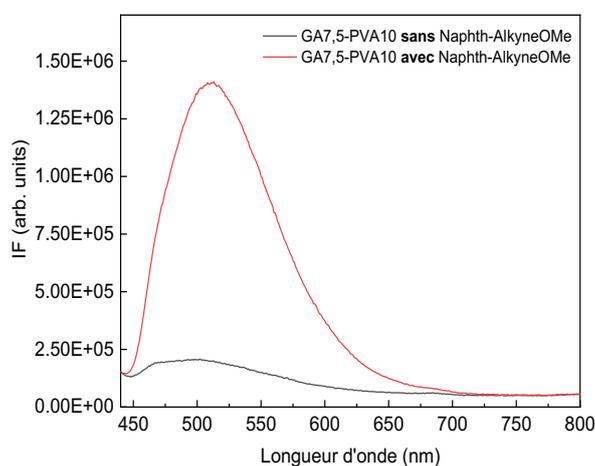


Figure II - 35 : Comparaison de la fluorescence intrinsèque au montage optique et de la fluorescence d'un hydrogel GA7,5-PVA10 dopé avec la sonde de pH Naphth-AlkyneOMe

La sensibilité des tubes photomultiplicateurs semble exacerber cette fluorescence intrinsèque du montage, et une diminution de ce bruit de fond peut être obtenue par l'ajout de diaphragmes limitant la diffusion des faisceaux optiques dans le montage et évitant les réflexions (représentés en rose sur la Figure II - 37). Cette stratégie a été adoptée pour l'élaboration d'une optode de pH ratiométrique.

IV. 2.c. Ajout d'une voie pour une mesure ratiométrique de l'intensité de fluorescence

La conception d'une optode de pH basée sur une mesure de l'intensité de fluorescence d'une sonde nécessite généralement une référence interne afin de constituer une mesure ratiométrique fiable. La mise en place d'une mesure ratiométrique permet de corriger l'instabilité de la source d'excitation, une variation de la géométrie de l'instrumentation ou de la matrice luminescente[11]. De nombreux exemples d'optodes de pH basées sur des mesures ratiométriques sont présentées[4, 25, 31-35]. Pour certaines sondes de pH, l'intensité de luminescence peut être mesurée à deux longueurs d'onde et le suivi du rapport des intensités constitue une mesure permettant de s'affranchir de l'instabilité de la source d'excitation ainsi que d'une variation de la concentration en sonde au cours de la mesure. La sonde Naphth-AlkyneOMe présente cependant un spectre d'émission large et non structuré,

impliquant l'ajout d'une référence interne additionnelle dont la fluorescence ne fluctue pas en fonction du pH. L'instrumentation à mettre en place reste peu coûteuse, robuste et portable (Figure II - 36).

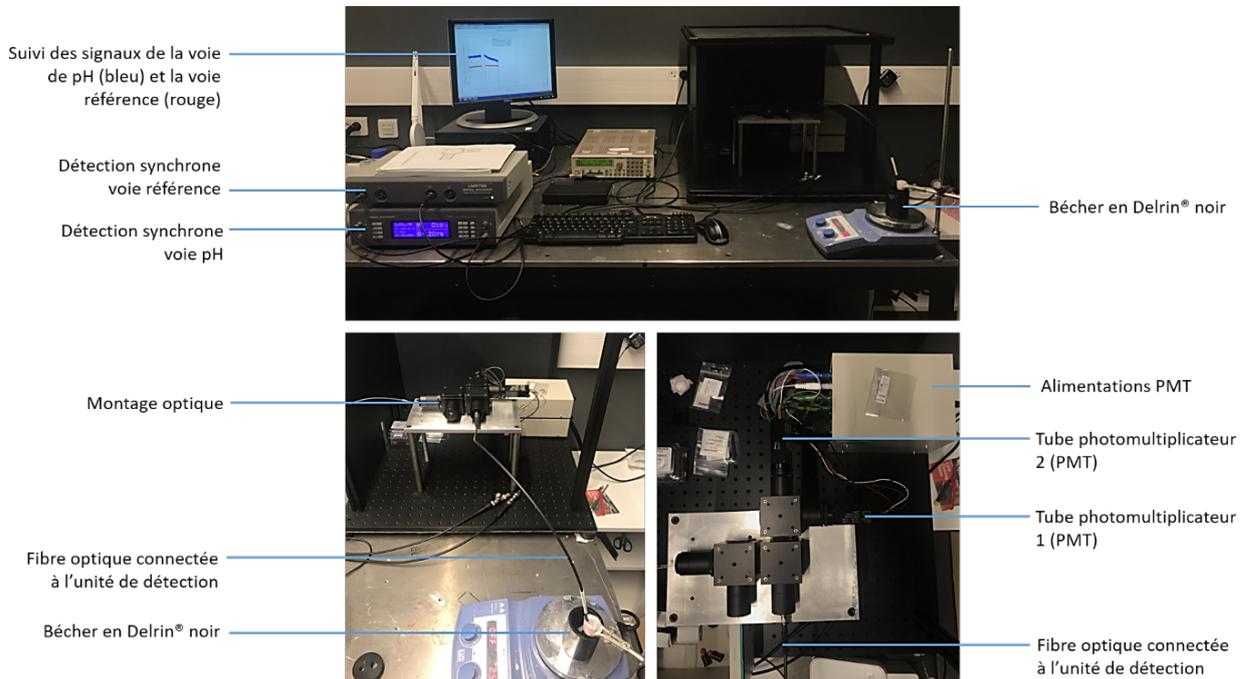


Figure II - 36 : Montage optique de l'optode de pH pour une mesure ratiométrique

Ainsi un second tube photomultiplicateur peut être ajouté sur un troisième cube optique et un miroir dichroïque sélectionné en fonction de l'émission de la référence interne peut être installé (Figure II - 37). Cette configuration a été conçue pour une référence interne s'excitant à la même longueur d'onde que la sonde de pH, ce qui permet de ne conserver qu'une seule LED 405 nm. Cependant, l'ajout du second PMT avec une alimentation supplémentaire nécessite l'ajout d'une seconde détection synchrone reliée au même ordinateur. L'ajout de deux diaphragmes désignés par 'Diaphragme 1' et 'Diaphragme 2' sur la Figure II - 37 permettent de limiter la diffusion du faisceau optique à l'intérieur du montage et de limiter les réflexions induisant un bruit 'blanc'. L'ajout de ces deux pièces permet de réduire le bruit du banc (Figure II - 38). Les résultats obtenus avec ce montage à deux voies sont détaillés dans la partie suivante.

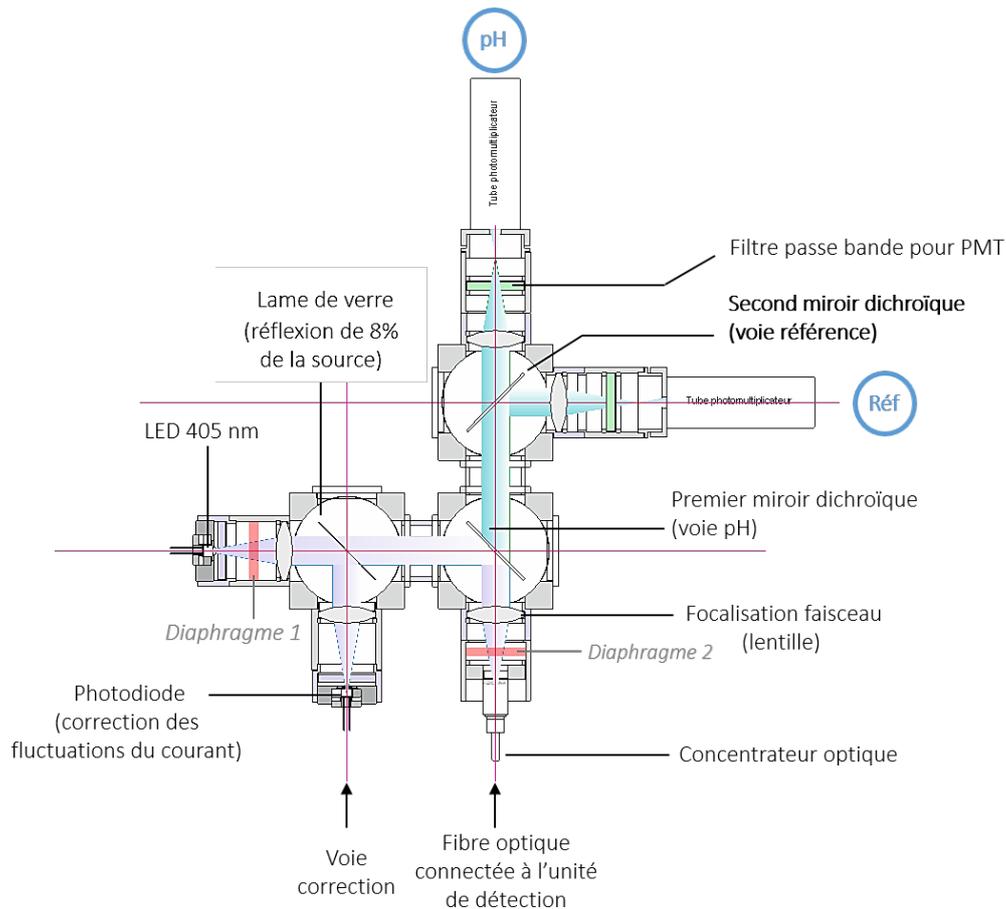


Figure II - 37 : Montage de l'optode avec une voie référence interne

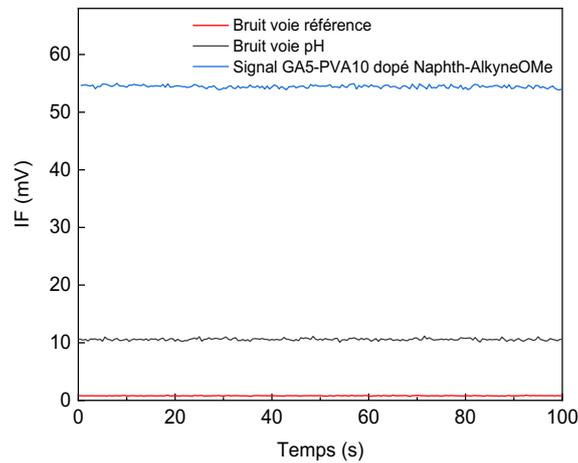


Figure II - 38 : Evaluation du bruit du montage ratiométrique

IV. 3. Optimisation de la sensibilité de l'optode

Différentes stratégies permettant d'améliorer la sensibilité de l'optode. Un des paramètres clés régissant les outils de mesure est le rapport $\frac{\text{signal}}{\text{bruit}}$, correspondant à un indicateur de la qualité de

transmission d'une information par l'instrumentation de l'outil considéré. Le rapport signal sur bruit correspond au rapport entre la quantité d'information interprétable et exploitable sur la quantité d'information non exploitable, constituée du bruit de l'instrument. Une augmentation de ce rapport constitue une stratégie d'optimisation de l'outil de mesure. Plusieurs stratégies permettent d'augmenter l'amplitude du signal et la réduction du bruit blanc. On exposera ici la stratégie adoptée pour augmenter ce rapport $\frac{\text{signal}}{\text{bruit}}$.

IV. 3.a. Augmentation de l'amplitude du signal

L'ajout d'une couche réflectrice permettant d'augmenter un signal optique est une méthode peu coûteuse à mettre en œuvre. Un matériau réflecteur pourrait être superposé à l'hydrogel dopé avec la sonde de pH avant de placer le capuchon percé, mais induirait la création d'une interface supplémentaire hydrogel-matériau réflecteur. Ce matériau devrait être perméable aux analytes et ne pas induire une augmentation conséquente du temps de réponse de l'optode, tout en résistant aux différentes contraintes physico-chimiques imposées par les matériaux cimentaires. Le choix d'inclure des particules réflectrices dans la matrice solide a donc été adopté.

Des hydrogels HydroMed™ D4 ont été élaborés par drop casting (Figure II - 19) avec un ajout de poudre de diamant micronique avec une charge de 10%_m. La poudre diamant est dispersée par agitation dans la solution d'HydroMed™ D4 solubilisé dans le THF en présence de la sonde de pH Napht-AlkyneOMe. Pendant l'étape d'évaporation du solvant, la majorité de la poudre de diamant sédimente et forme une couche réflectrice dans la matrice polymère (Figure II - 39).

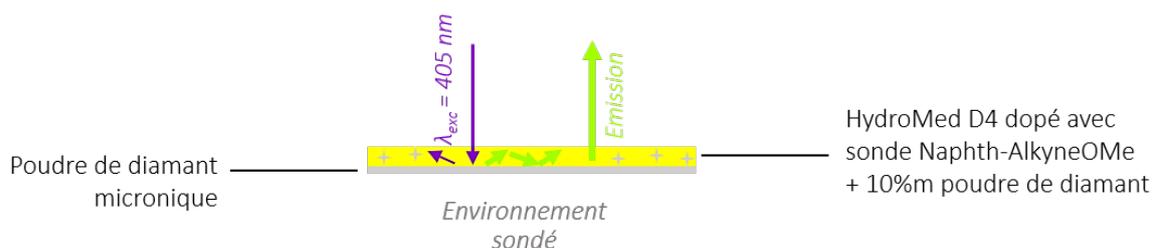


Figure II - 39 : Augmentation du signal optique par ajout de poudre de diamant micronique dans la matrice HydroMed D4 dopée avec la sonde de pH Naphth-AlkyneOMe

Cette méthode est décrite par Moßhammer et al. [23] et Nielsen et al. [26]. La poudre de diamant est un matériau inerte ne réagissant pas avec la sonde de pH, la matrice ou le pH de la solution. Cette méthode permet d'augmenter l'amplitude du signal d'un facteur proche de 2, et l'absence de déplacement spectral prouve l'absence d'interactions entre la poudre de diamant micronique et l'HydroMed D4 dopée avec la sonde Naphth-AlkyneOMe (Figure II - 40).

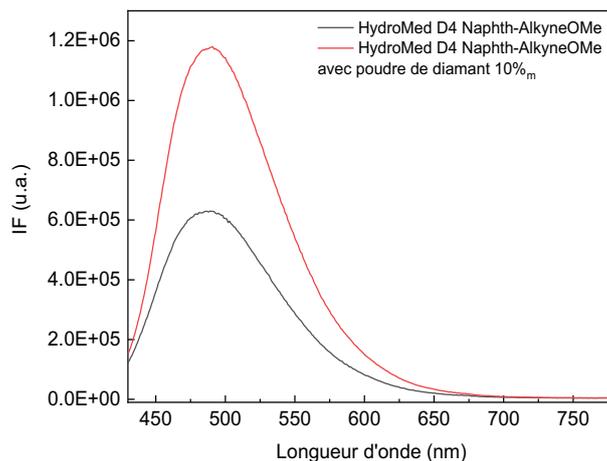


Figure II - 40 : Augmentation du signal optique avec l'ajout de poudre de diamant 10%_m dans une matrice HydroMed™ D4 dopé avec la sonde Naphth-AlkyneOMe

IV. 3.b. Diminution du bruit

Une pollution de la mesure peut provenir de l'environnement optique de l'unité de détection. En effet l'ensemble des mesures doivent être effectuées dans le noir afin de limiter la pollution du signal par la lumière environnante. Afin d'éliminer cette contrainte, des hydrogels bi-couche peuvent être réalisés avec l'addition d'une isolation optique. Cette stratégie d'isolation optique est utilisée pour le développement de différentes optodes de pH [11, 23].

Les hydrogels bi-couche sont mis en forme par un procédé de drop casting en deux étapes : du noir de carbone est dispersé dans la solution d'HydroMed™ D4 solubilisé dans le THF et dopé avec la sonde Naphth-AlkyneOMe avec une charge de 1%_m en noir de carbone. Une concentration en sonde identique dans les deux couches permet d'éviter une lixiviation de la sonde entre les deux couches d'hydrogel. Après un séchage complet de cette couche, une seconde couche d'HydroMed™ D4 dopé et chargé en poudre de diamant est formée par drop casting (Figure II - II - 41). Ces hydrogels bicouche ont été utilisés afin de réaliser les mesures ratiométriques décrites en partie V.

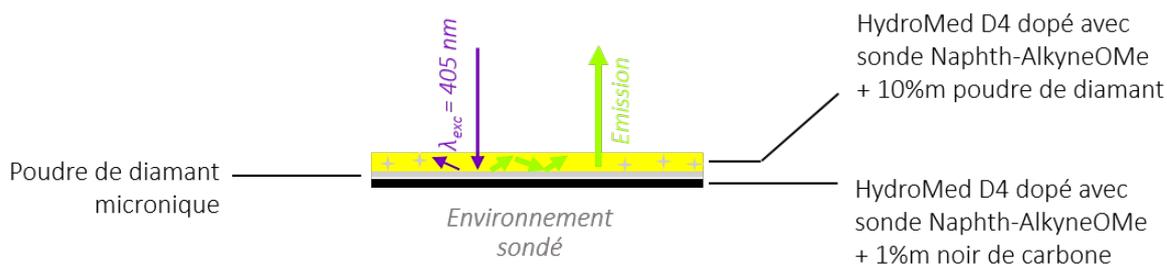


Figure II - II - 41 : Figure 42 : Hydrogel bicouche HydroMed D4 dopé avec la sonde de pH Naphth-AlkyneOMe

IV. 4. Conception de l'optode de pH : conclusion

Un premier montage adapté sur un spectrofluorimètre a permis de réaliser des études préliminaires des hydrogels GA5-PVA10, GA7,5-PVA10 et HydroMed™ D4 10%_m mis en forme avec l'applicateur et dopés avec la sonde de pH Naphth-AlkyneOMe. Une extinction de fluorescence lors de la déprotonation, s'opposant au comportement en solution, suggère des interactions spécifiques entre

la sonde de pH et les hydrogels. Un effet marqué du pH sur les spectres d'émission de ces hydrogels associés à des rendements quantiques élevés valident l'utilisation de ces hydrogels pour le développement d'une optode de pH. Aucune dégradation chimique des hydrogels GA-PVA et HydroMed™ D4 n'a été observée après 48h d'immersion dans une solution NaOH avec un pH = 13.

Un premier montage optique constituant l'optode de pH a été conçu et est caractérisé par un bruit faible et la détection d'un signal stable dans le temps. L'intégration des pièces optiques dans des cubes optiques, l'ajout d'une voie de correction pour les fluctuations du courant et d'un chemisage optique afin de limiter les réflexions internes au montage ont permis de faire évoluer ce banc vers une optode de pH robuste et transportable, pour une utilisation en laboratoire. Cette seconde version de l'optode a été utilisée pour la caractérisation des hydrogels dopés avec la sonde NaphthAlkyne-OMe. Afin de fiabiliser la mesure, une seconde voie constituant une référence interne a été ajoutée afin d'explorer le principe de la mesure ratiométrique du pH. Des voies permettant d'augmenter la sensibilité de l'optode ont également été explorées ; ainsi le signal de la sonde fluorescente peut être augmenté d'un facteur proche de 2 par dispersion de poudre de diamant dans la matrice solide, et une isolation optique de l'hydrogel permet d'éliminer le bruit provenant de perturbations optiques de l'environnement.

V. Optode de pH développée à partir du Naphth-AlkyneOMe : résultats obtenus en solution

V. 1. Réversibilité de la réponse aux variations de pH et temps de réponse de l'optode

La réversibilité des hydrogels dopés avec la sonde Naphth-AlkyneOMe permet de prouver qu'un équilibre entre la forme protonée de la sonde de pH et la forme déprotonée existe pour une sonde piégée dans un hydrogel. Cette réversibilité prouve donc que les variations d'intensité de fluorescence observées sont bien le résultat d'une réaction de protonation-déprotonation d'une sonde de pH fluorescente. Cette étude a été réalisée à l'aide du montage de l'optode décrit en partie IV, avec l'unité de détection placée dans un bécher en Delrin® noir. Un pH-mètre avec une électrode de pH spécifiquement sélectionnée pour minimiser l'erreur alcaline (Mettler Toledo InLab Max Pro-ISM) et préalablement calibrée des solutions tampons pH=4,01 ; 7,00 ; 9,21 est placée dans le bécher afin de contrôler le pH de la solution. Des hydrogels GA-PVA minces mis en forme avec un applicateur automatique ont été hydratés durant 12h avant leur étude. Les mesures ont été réalisées dans deux solutions tampons : un tampon pH = 9,0 NaHCO₃/NaOH et un tampon pH =13,0 KCl/NaOH. La réversibilité de la réponse aux variations de pH est montré en Figure II - 43 pour des hydrogels GA7,5-PVA10 et GA5-PVA10.

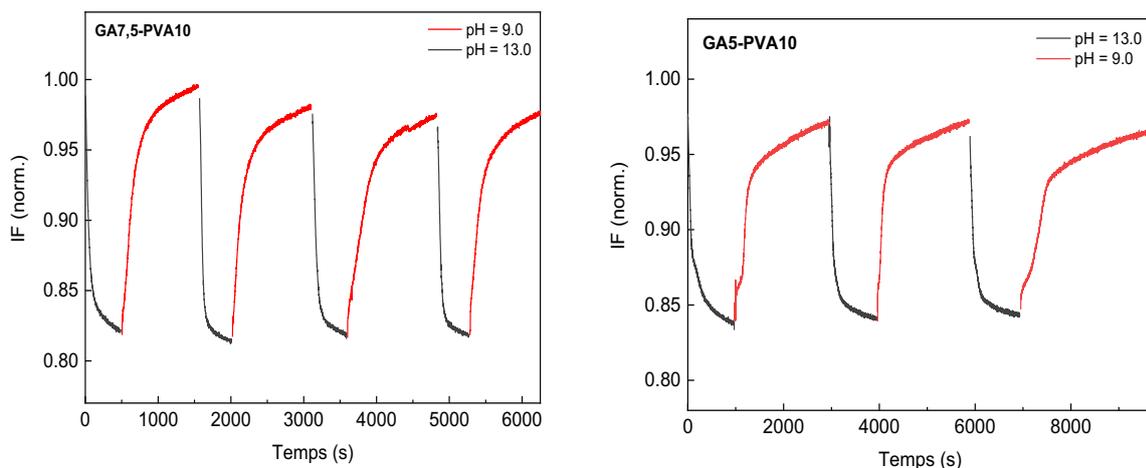


Figure II - 43 : Réversibilité de la variation de l'intensité de fluorescence d'hydrogels GA7,5-PVA10 (gauche) et GA5-PVA10 (droite) dopés avec la sonde Naphth-AlkyneOMe durant des cycles pH 9 – pH 13. Acquisition sur le montage de l'optode décrit en Figure II - 31

L'expérience a été répétée pour trois échantillons GA7,5-PVA10 et la même réversibilité a été observée, prouvant la reproductibilité et la réversibilité de la réponse des hydrogels dopés aux variations de pH. Cependant, une diminution continue de l'intensité de fluorescence à pH > 12,5 est observée lors des temps d'exposition longs (Figure II - 44). Aucune dégradation de la sonde n'est observée lorsque la LED est éteinte ; cette diminution de l'intensité de fluorescence peut donc être attribuée à une photodégradation de la sonde (Figure II - 44). Cette instabilité photochimique des hydrogels pour un pH supérieur à 12,5 est d'une part limitée par le profil du signal d'excitation pulsé évitant une irradiation continue pour une mesure donnée, et peut d'autre part être limitée par une mesure discontinue lors des périodes de temps étendus.

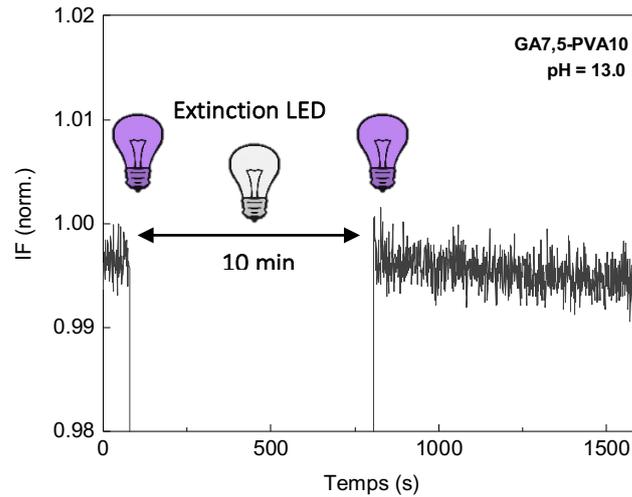


Figure II - 44 : Mise en évidence de la photodégradation de la sonde Naphth-AlkyneOMe piégée dans une matrice GA7,5-PVA10 à pH = 13,0

Un temps de réponse t_{90} des hydrogels peut alors être déterminé lors du passage de pH = 9,0 à pH = 13,0 et est défini comme l'intervalle de temps nécessaire pour que le signal I_F atteigne 90% de la valeur minimale $I_{F,MIN}$ (Figure II - 45). Ainsi des temps de réponse moyens de 22 s et 104 s ont été déterminés pour les hydrogels GA7,5-PVA10 et GA5-PVA10 respectivement, correspondant à des temps de réponse faibles pour une mesure du pH dans le béton.

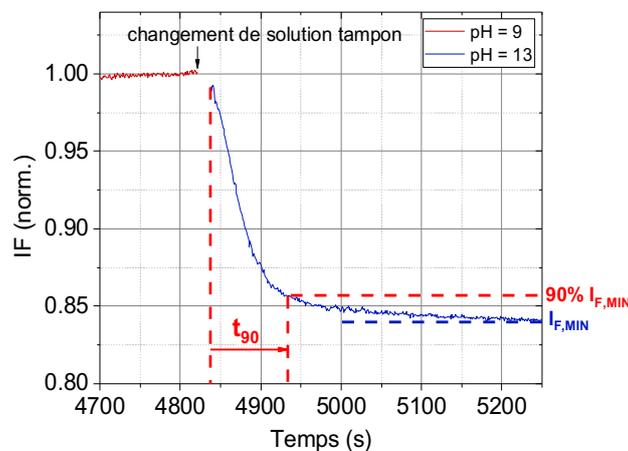


Figure II - 45 : Détermination du temps de réponse t_{90} pour un hydrogel GA5-PVA10 à température ambiante, $\lambda_{exc} = 405 \text{ nm}$ (la discontinuité du signal est due à la suppression de l'artéfact lié à la variation du milieu optique lors du changement de la solution tampon)

V. 2. Calibration de l'optode

V. 2.a. Détermination du pKa de la sonde piégée dans les hydrogels

Une calibration des hydrogels est nécessaire avant toute utilisation de l'optode de pH et permet d'étudier, pour chaque échantillon d'hydrogel prélevé, l'évolution de l'intensité de fluorescence en fonction du pH de la solution. Afin de calibrer l'optode, un hydrogel est installé dans l'unité de

détection qui est plongée dans de l'eau millipore. L'addition progressive d'une solution aqueuse d'hydroxyde de sodium NaOH dans l'eau permet d'augmenter le pH de cette dernière et d'obtenir la valeur d' I_F pour chaque valeur de pH correspondante (Figure II - 46). Le pH de la solution de calibration est suivi grâce à une électrode de pH alcaline sélectionnée afin de réduire l'erreur alcaline (Mettler Toledo InLab Max Pro-ISM) et préalablement calibrée en trois points (pH=4,01 ; pH=7,00 et pH=9,21).

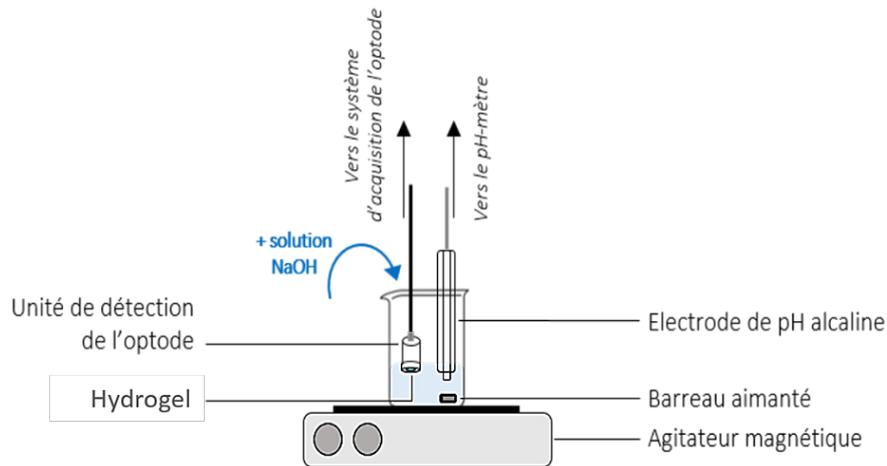


Figure II - 46 : Schéma illustrant la calibration des hydrogels dans une solution aqueuse d'hydroxyde de sodium NaOH. Une électrode de pH alcaline en verre calibrée permet d'obtenir les mesures de pH de référence.

Pour un hydrogel GA5-PVA10 installé dans l'unité de détection de l'optode, l'intensité de fluorescence est acquise en fonction du pH de la solution. Un nouvel ajout d'une solution de NaOH est effectué après 500 s d'acquisition afin de constituer une courbe de calibration (Figure II - 47).

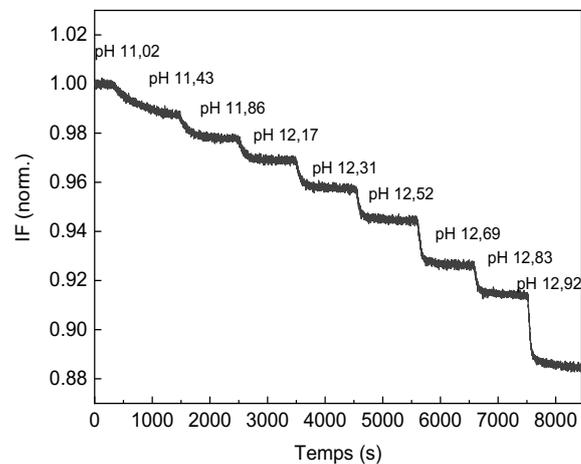


Figure II - 47 : Evolution de l'IF d'un hydrogel GA,5-PVA10 lors de l'ajout progressif d'une solution de NaOH aq. afin d'en déduire une courbe de calibration

Le développement de la relation d'Henderson-Hasselbalch (Eq. 3) permet alors de relier l'intensité de fluorescence au pH de la solution de calibration grâce à l'algorithme de Levenberg-Marquardt couplé à la méthode des moindres carrés (Figure II - 48) :

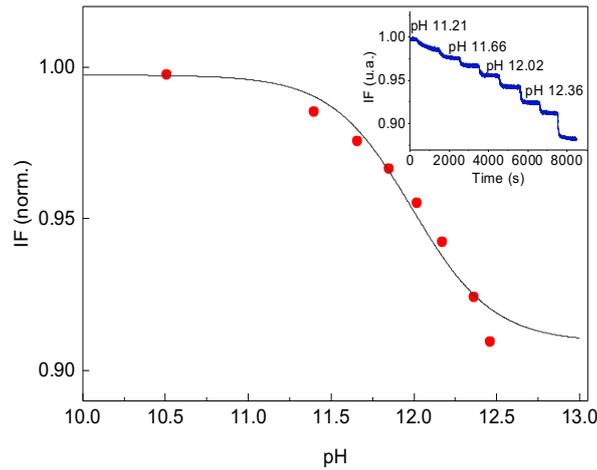


Figure II - 48 : Courbe de calibration d'un hydrogel GA5-PVA10 à température ambiante, $\lambda_{exc} = 405 \text{ nm}$. L'encart correspond à la courbe expérimentale acquise

La calibration de plusieurs hydrogels GA7,5-PVA10 prouve que chaque hydrogel doit être calibré individuellement avant son utilisation (Figure II - 49). Cependant les paramètres dpH et pKa varient peu entre plusieurs échantillons pour un même degré de réticulation ; des paramètres moyens dpH et pKa peuvent donc être déduits pour un degré de réticulation (Tableau II - 5). Un paramètre complémentaire ΔI_F est également déterminé : $\Delta I_F = \frac{I_{F,\min}}{I_{F,\max}}$.

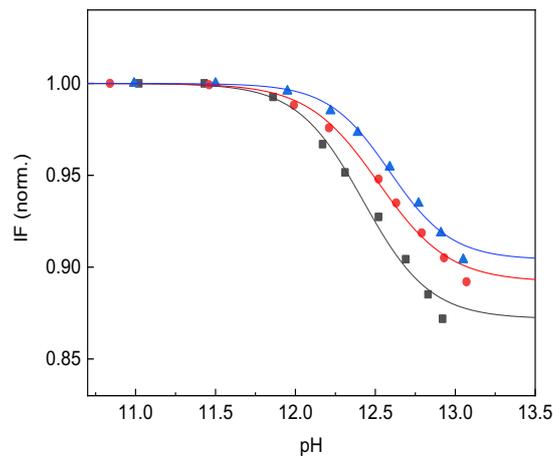


Figure II - 49 : Courbes de calibration de trois hydrogels GA7,5-PVA10 à température ambiante, $\lambda_{exc} = 405 \text{ nm}$

	Hydrogels GA5-PVA10				Hydrogels GA7,5-PVA10				
	GA5-1	GA5-2	GA5-3	Moyenne	GA7,5-1	GA7,5-2	GA7,5-3	GA7,5-4	Moyenne
pKa	11,83	11,99	11,93	11,92	12,63	12,65	12,75	12,69	12,67
dpH	0,39	0,56	0,32	0,42	0,75	0,69	0,63	0,50	0,69
$\Delta I_F = \frac{I_{F,\min}}{I_{F,\max}}$	0,91	0,91	0,92	0,91	0,87	0,91	0,90	0,90	0,89

Tableau II - 5 : Valeurs des pK_a , dpH et ΔI_f moyens déterminés par étalonnage des films GA5-PVA10 et GA7,5-PVA10

La détermination des paramètres moyens pK_a et dpH pour les hydrogels GA5-PVA10 et GA7,5-PVA10 permet de mettre en place un protocole de calibration en trois points. Selon un procédé similaire à la calibration en plusieurs points décrites précédemment, l'hydrogel à calibrer est installé dans l'unité de détection de l'optode et trois mesures sont réalisées. La première mesure est réalisée dans une solution de calibration telle que $pH_{\text{solution}} < pK_{a\text{moyen hydrogel}}$ et la troisième mesure telle que $pH_{\text{solution}} > pK_{a\text{moyen hydrogel}}$. Un point intermédiaire correspondant à la seconde mesure permet d'obtenir une courbe de calibration grâce à l'algorithme de Levenberg-Marquardt couplé à la méthode des moindres carrés, en définissant les paramètres pK_a et dpH moyens comme paramètres fixes du modèle (Figure II - 50).

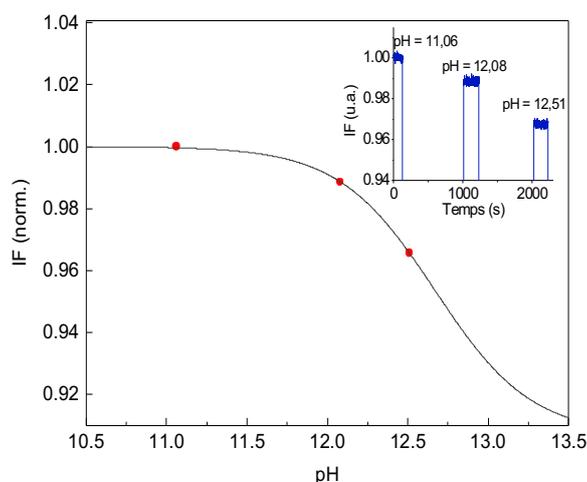


Figure II - 50 : Exemple d'une courbe de calibration en trois points pour un hydrogel GA7,5-PV10, mesures effectuées dans une solution aqueuse avec trois concentrations de NaOH, température ambiante, $\lambda_{exc} = 405 \text{ nm}$

La calibration d'hydrogels HydroMed™ D4 préparés par drop casting permettent de déterminer un $pK_{a\text{moyen}} = 11,75$ et $dpH_{\text{moyen}} = 0,88$ (Figure II - 51). La valeur du pK_a moyen déterminée suggère la présence d'interactions spécifiques avec la matrice en raison de la différence avec le pK_a moyen déterminé en solution. En revanche, par comparaison avec les paramètres caractéristiques des hydrogels GA5-PVA10 et GA7,5-PVA10 dopés avec la même sonde NaphthAlkyne-OMe, l'HydroMed™ D4 permet d'obtenir une valeur de dpH supérieure et proche de 1, élargissant ainsi la gamme de réponse de la sonde (Tableau II - 6). L'hypothèse d'une sonde distribuée de manière moins hétérogène dans la matrice peut être formulée. L'extinction de fluorescence, traduite par le paramètre ΔI_f , est également supérieure pour l'HydroMed™ D4 dopé, suggérant une meilleure accessibilité de la sonde aux ions HO^- . Par comparaison avec les hydrogels GA7,5-PVA10 dopés avec la sonde NaphthAlkyne-OMe, le pK_a moyen de la même sonde piégée dans la matrice HydroMed™ D4 est inférieur, et la sensibilité de l'hydrogel sur la gamme $pH = 12,5-13,5$ est inférieure. Les hydrogels GA7,5-PVA10 ont donc été sélectionnés afin de réaliser des essais de mesure du pH de matériau cimentaires durant la première phase d'hydratation.

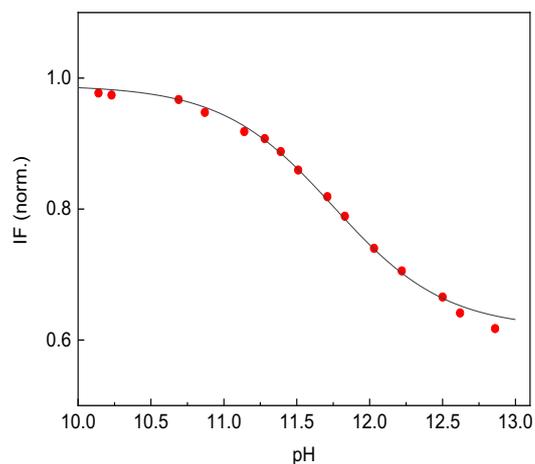


Figure II - 51 : Exemple d'une courbe de calibration d'un hydrogel HydroMed™ D4, $\lambda_{exc} = 405 \text{ nm}$

	GA5-PVA10	GA7,5-PVA10	HydroMed™ D4
pKa	11,92	12,67	11,75
dpH	0,42	0,69	0,88
$\Delta I_F = \frac{I_{F,min}}{I_{F,max}}$	0,91	0,89	0,63

Tableau II - 6 : pKa, dpH, et ΔI_F moyens déterminés pour les hydrogels dopés avec la sonde NaphthAlkyne-OMe

V. 2.b. Effet de la force ionique sur la fluorescence des hydrogels GA-PVA dopés

L'extinction de fluorescence en solution due à une variation de la force ionique de cette dernière est un phénomène connu et décrit depuis 1939 [36]. Cette dépendance est attribuée à la charge de la sonde moléculaire fluorescente mais également à la charge de son environnement [37]. Pour une sonde piégée dans une matrice solide, l'extinction de fluorescence peut alors également résulter de la charge de la matrice environnante. En considérant une solution aqueuse de NaOH comme solution de calibration d'un hydrogel GA-PVA dopé et l'eau porale d'un béton comme environnement de mesure, une variation de force ionique induisant une extinction de fluorescence peut être attendue. Afin de confirmer cette tendance, un hydrogel GA7,5-PVA10 a été calibré en trois points dans une solution à force ionique faible puis dans une solution à force ionique supérieure. La première solution de calibration correspond à une solution aqueuse de NaOH et la seconde à une solution aqueuse de NaOH additionnée de KCl avec $[KCl]=0,2 \text{ M}$. L'augmentation de la force ionique de la solution conduit alors à une extinction de la fluorescence reflété dans les courbes de calibration (Figure II - 52).

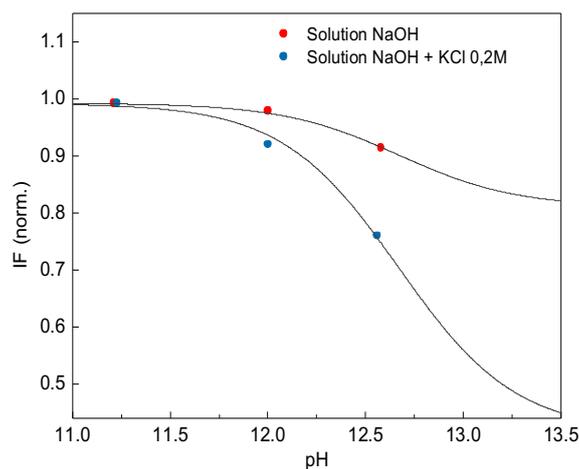


Figure II - 52: Calibration en trois points d'un hydrogel HR dans une solution aqueuse de NaOH et dans une solution aqueuse de NaOH additionnée de KCl ([KCl]=0,2M), température ambiante, $\lambda_{exc} = 405 \text{ nm}$

Deux phénomènes résultant en une diminution de l'intensité de fluorescence coexistent : d'une part une diminution de l'intensité de fluorescence de la sonde de pH piégée dans l'hydrogel due à une augmentation de pH de la solution environnante (phénomène ICT), et d'autre part une extinction de fluorescence due à une variation de force ionique entre la solution de à la force ionique de l'environnement sondé. Cela implique nécessairement une connaissance de la chimie de l'environnement sondé (ions présents et leurs concentrations respectives). Afin de décorréliser ces deux phénomènes, une solution consiste à calibrer l'hydrogel dans une solution possédant une force ionique identique

V. 3. Optimisation de l'optode de pH : vers une mesure ratiométrique

Comme évoqué précédemment une mesure ratiométrique permet de corriger l'instabilité de la source d'excitation, une variation de la géométrie de l'instrumentation ou de la matrice luminescente[11]. L'ajout d'une référence interne dont la fluorescence ne dépend pas du pH de la solution est nécessaire afin de constituer une optode de pH ratiométrique. Le montage de l'optode a été décrit en Figure II - 37.

La référence interne doit présenter une fluorescence ne dépendant pas du pH de l'environnement et doit présenter une émission distincte de l'émission de la sonde de pH lorsqu'elle est excitée à $\lambda_{exc} = 405 \text{ nm}$. Des quantum dots (QD) cœur-coquille CdSe/ZnS ont été sélectionnés car ils présentent une fluorescence étroite insensible au pH et sont photostables. Les QD ont été piégés dans une matrice imperméable à l'eau et stable en milieu basique. La matrice sélectionnée est le polystyrène et une membrane de PS dopée avec des QD peut être formée par drop casting. Deux QDs ont été testés : les premiers présentent un maximum d'émission $\lambda_{ém} = 580 \text{ nm}$ et les second un maximum $\lambda_{ém} = 645 \text{ nm}$.

La configuration de l'unité de détection est modifiée avec l'intégration d'une référence interne et les HydroMed D4 bicouche décrits précédemment sont utilisés pour la mesure (Figure II - 53). Les QD CdSe/ZnS caractérisés par une émission $\lambda_{ém} = 580 \text{ nm}$ présentent un rendement quantique supérieur proche de 0,9 et semblent donc plus intéressants car une concentration plus faible est nécessaire, impliquant une réabsorption plus faible de l'émission de la sonde Napht-AlkyneOMe (Figure II - 54).

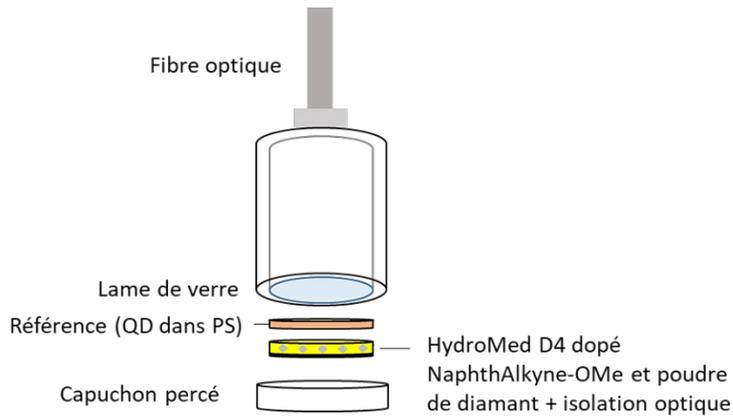


Figure II - 53 : Configuration de l'unité de détection pour une mesure de l'IF ratiométrique

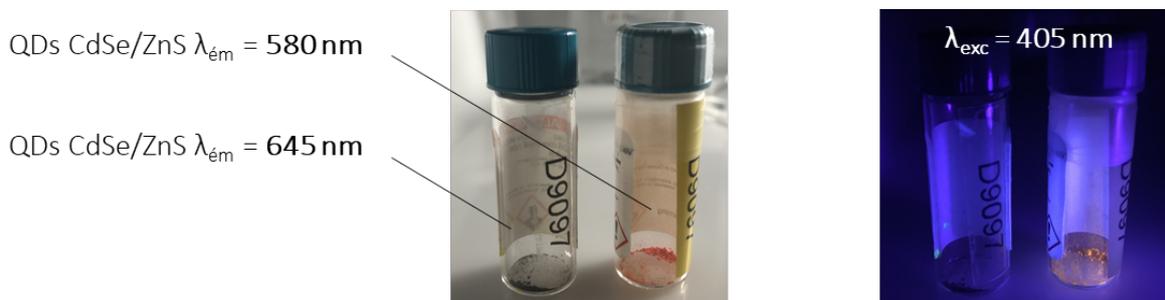


Figure II - 54 : Quantum dots CdSe/ZnS utilisés pour constituer une référence interne, l'excitation de QD à 405 nm met en évidence le rendement quantique supérieur des QD émettant autour de $\lambda_{ém} = 580$ nm

Cependant, l'émission des QD émettant autour de $\lambda_{ém} = 580$ nm est proche de l'émission de la sonde de pH Naphth-AlkyneOME. Une dépendance de l'émission autour de $\lambda = 580$ nm en fonction du pH est donc observée (Figure II - 55).

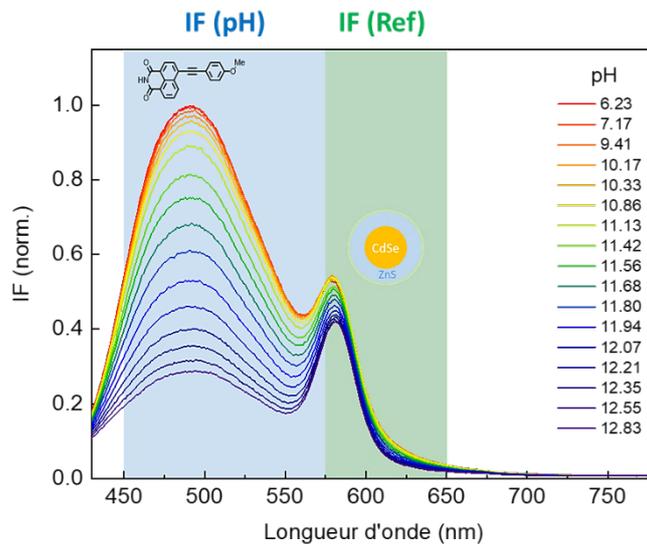


Figure II - 55 : Spectre d'émission d'une membrane PS dopée avec les QDs CdSe/ZnS émettant autour de $\lambda_{ém} = 580$ nm superposée avec un hydrogel HydroMed D4 bicouche en fonction du pH

Les QD CdSe/ZnS présentant un maximum d'émission $\lambda_{ém} = 645$ nm ont donc été sélectionnés pour constituer une optode de pH avec une mesure de l'intensité de fluorescence IF ratiométrique. Ces QD

présentent un rendement quantique inférieur, nécessitant une concentration plus élevée en QD dans la membrane en PS. Cette membrane présente une absorbance supérieure et filtre une partie de l'émission du Naphth-AlkyneOMe, impliquant une diminution du paramètre ΔIF mais n'invalidant pas le concept de mesure ratiométrique. Ainsi, une bande d'émission centrée autour de $\lambda = 645$ nm et ne variant pas en fonction du pH est identifiée et peut servir de référence interne pour la mesure du pH.

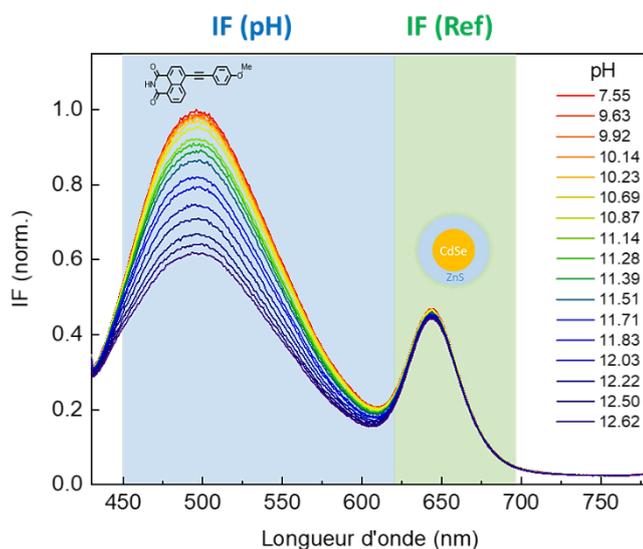


Figure II - 56 : Spectre d'émission d'une membrane PS dopée avec les QDs CdSe/ZnS émettant autour de $\lambda_{em} = 645$ nm superposée avec un hydrogel HydroMed D4 bicouche en fonction du pH

Cette configuration permet de réaliser une mesure ratiométrique définie comme : $\frac{IF(pH)}{IF(Ref)}$. Le montage décrit en Figure II - 37 permet de prouver la réversibilité de cette mesure ratiométrique en réalisant des cycles de protonation/déprotonation dans des solutions tampons (solution $NaHCO_3/Na_2CO_3$ pH = 9,0 et $NaOH/KCl$ pH = 12,4).

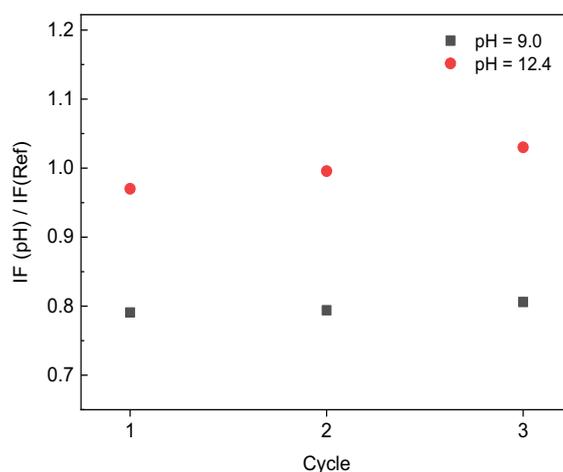


Figure II - 57 : Cycles de protonation et déprotonation réalisées avec l'optode de pH ratiométrique

V. 4. Résultats obtenus en solution avec l'optode de pH développée à partir du Naphth-AlkyneOMe : conclusion

Deux hydrogels GA-PVA dopés avec la sonde fluorescente Naphth-AlkyneOMe ont été étudiés et caractérisés : les hydrogels GA5-PVA10 et les hydrogels GA7.5-PVA10. Les deux types d'hydrogels se distinguent par leurs paramètres caractéristiques pKa et dpH déduits de l'équation d'Henderson-Hasselbalch. Ces paramètres caractéristiques ont été déterminés après calibration des hydrogels installés dans l'unité de détection de l'optode. Ainsi, les hydrogels GA5-PVA10 sont caractérisés par un pKa = 11,92, un dpH = 0,42 et possèdent une plage de sensibilité pH = 10,5-13,0. Par conséquent, les hydrogels GA5-PVA10 ne sont pas adaptés à la mesure du pH in situ dans le béton en raison d'un pKa faible. Ils pourraient cependant être exploités pour une mesure du pH dans des échantillons de béton âgés ou dégradés. Les hydrogels GA7,5-PVA10 sont caractérisés par un pKa = 12,67, un dpH = 0,69 et possèdent une plage de sensibilité pH = 11-13,5. Malgré la mise en évidence d'un photoblanchiment de la sonde Naphth-AlkyneOMe et d'une dégradation chimique de la sonde lorsque pH \geq 12,5, les hydrogels GA7,5-PVA10 peuvent être exploités pour des mesures ponctuelles dans un milieu possédant un pH \geq 12,5.

VI. Optode de pH développée à partir du Naphth-AlkyneOMe : mesure en surface de pâtes de ciment durcies (PCD) bas pH

VI. 1. Calibration spécifique à la mesure du pH en surface du matériau et mesures

Le matériau sélectionné pour valider le fonctionnement de l'optode est une pâte de ciment durcie (PCD) bas pH élaborée en mélangeant manuellement de la fumée de silice et du ciment CEM III¹ avec un ratio massique 1:1 jusque l'obtention d'une poudre homogène. La dilution d'un superplastifiant pour bas pH dans de l'eau millipore avec un rapport massique $\frac{\text{superplastifiant}}{\text{eau}} = 0,06$ a permis d'obtenir une solution w. La pâte de ciment a été élaborée en mélangeant vigoureusement la solution w et la poudre de façon à avoir un rapport massique $\frac{w}{c} = 0,6$. La pâte de ciment ainsi obtenue a été versée dans des flacons en polystyrène ou des boîtes de Petri scellés à l'aide de parafilm jusqu'à leur utilisation.

Une solution en équilibre avec la pâte de ciment a été obtenue en suivant un protocole simplifié décrit par Garcia Calvo et al.[38] : un échantillon de pâte de ciment bas pH a été réduit en poudre à l'aide d'un mortier et pilon. La poudre a été pesée avant de la disperser dans la même masse d'eau millipore décarbonisée à température ambiante. La suspension a été vigoureusement agitée à l'aide d'un barreau aimanté et d'un agitateur magnétique, en purgeant l'erlenmeyer à l'aide d'argon. La suspension est ensuite rapidement filtrée à l'aide de papier filtre et la solution en équilibre avec la pâte de ciment obtenue est conservée dans un erlenmeyer sous argon jusqu'à son utilisation.

Prenant en compte l'effet de la force ionique sur l'intensité de fluorescence des hydrogels GA-PVA (Figure II - 52), la calibration a été réalisée dans des conditions chimiques et optiques les plus proches de la mesure. Pour cela, une solution en équilibre avec la PCD étudiée a été préparée selon le protocole décrit dans le paragraphe précédent. 1 mL de cette solution de calibration est alors versé en surface d'un échantillon de PCD bas pH âgé de plus de trois jours, et la disposition de l'optode sur l'échantillon est identique lors de la calibration et lors de la mesure afin d'éviter une modification de l'environnement optique entre les deux étapes (Figure II - 58). Cette précaution peut être évitée par l'utilisation du montage incluant la référence interne. Le pH de cette solution a été modulée avec l'ajout d'une solution d'HCl ou de NaOH afin d'obtenir une courbe de calibration en trois points.

¹ Le ciment CEM III est un mélange de ciment Portland et de laitiers de haut-fourneaux. Les laitiers de haut-fourneaux correspondent à un sous-produit de l'élaboration de la fonte et sont constitués de silicates, d'aluminates, de chaux et d'oxydes métalliques.

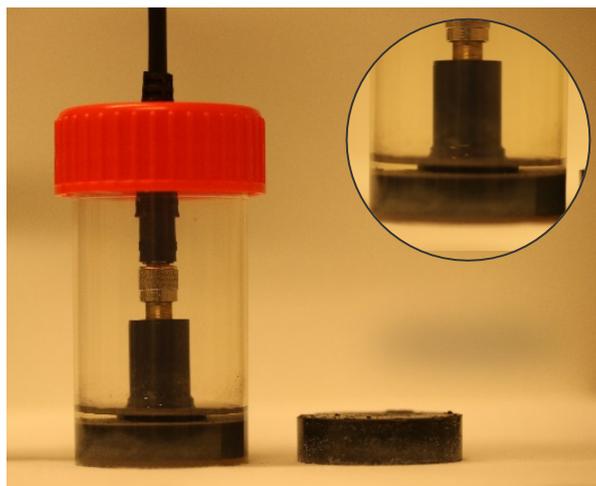


Figure II - 58: Optode placée en surface d'une PCD bas pH, la mesure s'effectue après ajout d'un mL d'une solution en équilibre avec l'échantillon, visible en surface de l'échantillon dans l'inset de la figure[39]

Après calibration d'un hydrogel HR, le pH en surface de PCD a été mesuré en suivant le protocole décrit en Figure II - 59: une PCD bas pH a été préparée et versée dans huit contenants en polystyrène. Les flacons et boîtes de Petri contiennent la même masse de PCD et ont été scellés jusqu'à leur utilisation. Pour chaque mesure, deux échantillons sont nécessaires : un premier permettant de préparer une solution en équilibre avec l'échantillon étudié, et un second afin d'effectuer la mesure du pH en surface, en présence de la solution susmentionnée (Figure II - 58). Ainsi, le pH en surface d'une PCD bas pH a été mesuré durant la phase d'hydratation pour des échantillons âgés de 4, 6, 7 et 10 jours. Ces mesures ont été répétées deux fois et les résultats obtenus sont présentés dans la partie suivante.

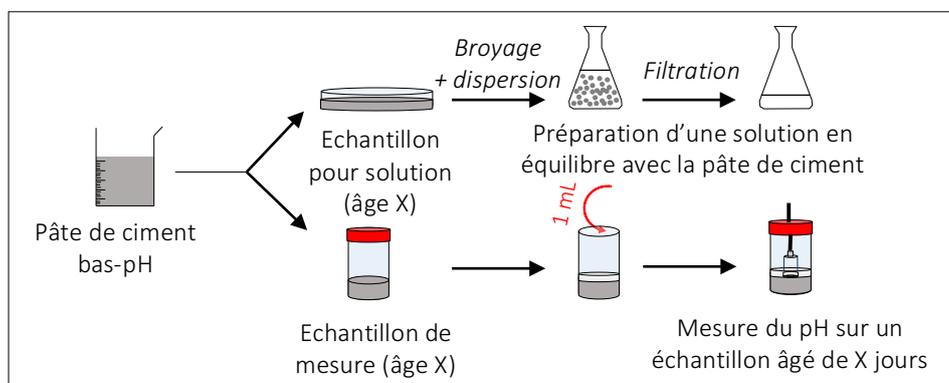


Figure II - 59: Protocole suivi pour la mesure du pH en surface d'échantillons de pâtes de ciment bas pH

VI. 2. Résultats obtenus et discussions

Le pH en surface d'une PCD bas pH a été mesuré durant la phase d'hydratation pour des échantillons âgés de 4, 6, 7 et 10 jours, selon le protocole décrit dans la partie précédente. Ces mesures ont été répétées deux fois et moyennées (Figure II - 60). Afin de valider le fonctionnement de l'optode, la solution présente en surface de l'échantillon et en équilibre avec ce dernier est prélevée à l'aide d'une seringue suite à chaque mesure. Le pH de cette solution est évalué à l'aide d'une électrode en verre alcaline préalablement calibrée dont la précision est évaluée à $\pm 0,01$ unité de pH par le fournisseur. Après 4 jours d'hydratation de la PCD bas pH, le pH mesuré en surface grâce à l'optode est de 12,8.

Cette valeur élevée de pH résulte de l'action de la portlandite tamponnant le milieu lors du début de la phase d'hydratation du ciment. Cette valeur de pH diminue progressivement et atteint pH = 12,2 après 10 jours d'hydratation. La justesse des mesures effectuées avec l'optode est confirmée par les mesures réalisées en solution avec l'électrode en verre, et cette comparaison permet d'évaluer la précision de l'optode développée à $\pm 0,1$ unité de pH, jugée pertinente pour une mesure du pH du béton.

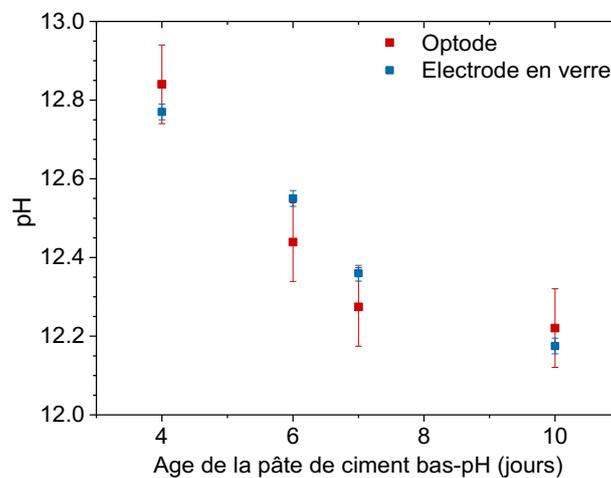


Figure II - 60: Evolution du pH en surface de pâtes de ciment bas pH

VI. 3. Essais de mesure du pH dans une PCD bas pH

VI. 3.a. Mesure du pH in situ : problématiques

Des essais de mesures in situ dans des pâtes de ciment bas pH de même formulation ont été mis en place. Pour cela, l'optode calibrée selon le protocole décrit précédemment (Figure II - 58) a été coulée dans une PCD bas pH. Le connecteur SMA (SubMiniature version A) permettant la connexion de l'unité de détection à la fibre optique n'étant pas étanche dans cette configuration de l'optode, seul une partie du corps en Delrin[®] a été piégé dans la PCD (Figure II - 61). Les essais effectués ont abouti à des signaux d'intensité de fluorescence non exploitables (les intensités de fluorescence ne permettant pas de retrouver des valeurs de pH à l'aide des courbes de calibration établies avant chaque essai). Deux difficultés majeures ont été identifiées :

1. Une **dégradation chimique de la sonde** moléculaire fluorescente causée par un pH élevé durant le début de la phase d'hydratation. Ces valeurs de pH élevées (proches de 13) étaient prévisibles en raison de l'action de la portlandite tamponnant le milieu. Cependant cet aspect n'invalide pas la possibilité d'une mesure du pH in situ, car la synthèse de sondes moléculaires fluorescentes résistant à pH > 12,5 constituerait une solution.
2. Un **manque d'accessibilité à l'eau porale** : suite aux essais infructueux, les éprouvettes de pâtes de ciment ont été détruites afin de récupérer les unités de détection de l'optode contenant les hydrogels HR. Une déshydratation des hydrogels et donc une nette réduction de leur volume a été constatée. Cette déshydratation a entraîné des variations d'intensité de fluorescence non corrélées à une variation du pH de l'environnement sondé. Cet aspect n'invalide pas non plus la possibilité d'une mesure du pH in situ car un apport d'hydratation par une source extérieure ou un matériau complémentaire est envisageable, moyennant une modification du design de l'optode.



Figure II - 61 : Essai de mesure du pH in situ dans une PCD bas pH. L'optode a été coulée dans la PCD

VI. 3.b. Inclusion d'un matériau hygroscopique dans l'optode

Les essais infructueux de mesure du pH in situ dans la PCD bas pH est également lié au problème de l'accessibilité de l'eau porale. Afin de proposer une solution à ce manque d'accessibilité à l'eau porale, l'inclusion d'une éponge en cellulose est envisagée. Des premiers tests ont été effectués afin d'évaluer la faisabilité de cette option. Ainsi, l'inclusion d'un filtre en cellulose (Whatman® grade 1 qualitative filter paper) d'épaisseur 180 μm évite la saturation de l'éponge en cellulose en matériau cimentaire lors de l'immersion de l'optode (Figure II - 62). La microtomographie à rayons X a été exploitée afin de confirmer le contact entre l'optode et le matériau étudié : ce contact est essentiel afin de permettre un équilibre chimique entre l'eau porale du matériau cimentaire étudié et l'eau contenue dans la réserve constituée par l'éponge en cellulose. Cette dernière doit également être en contact direct avec l'hydrogel dopé en sonde moléculaire de pH afin d'en déduire le pH du matériau cimentaire. Ces différentes interfaces ont pu être observées par microtomographie à rayons X (Figure II - 63).

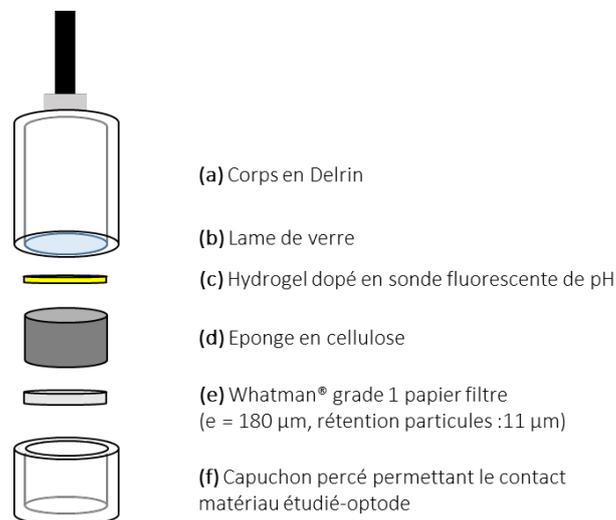


Figure II - 62: Inclusion d'une éponge et d'un filtre en cellulose dans l'optode

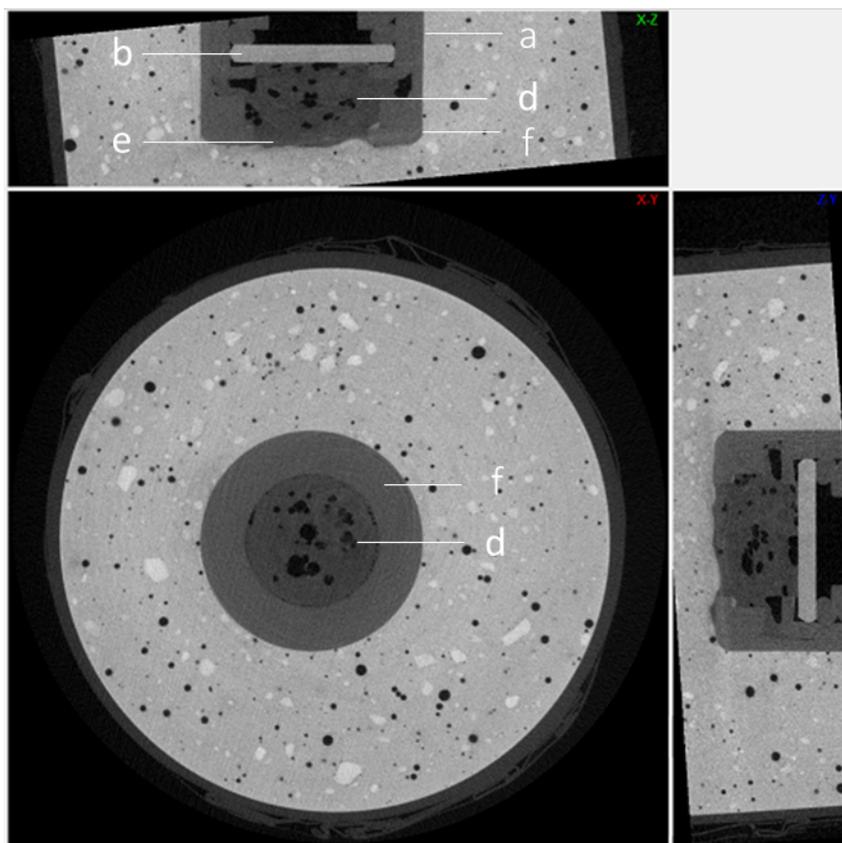
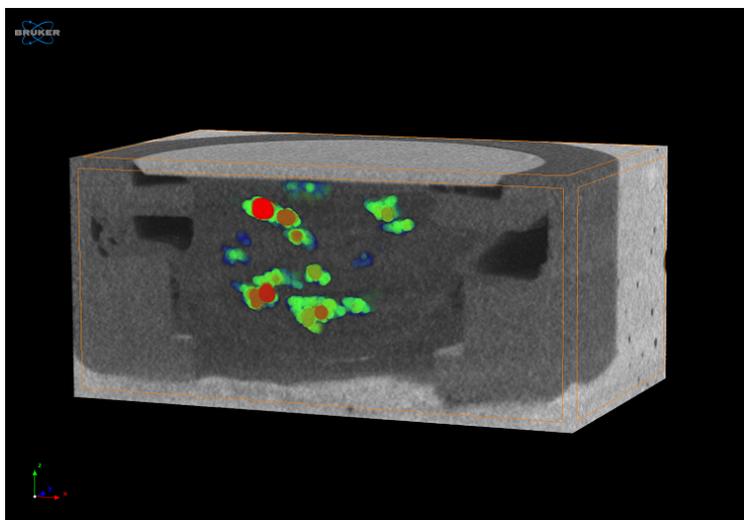


Figure II - 63: Observation par microtomographie à rayons X de l'optode immergée dans une PCD CEM I ($e/c = 0,5$, 48h hydratation). Paramètres : 120 kV, 66 μ A, résolution 17,8 μ m. Les lettres renvoient à la Figure II - 62.

L'hydrogel mince n'est pas visible en Figure II - 63 mais se situe entre l'éponge en cellulose (d) et la lame de verre (b). Le suivi de l'intensité de fluorescence de cet hydrogel grâce au montage de l'optode permet de confirmer une déshydratation rapide de l'hydrogel durant les deux premiers jours d'hydratation de la PCD. Le démoulage de la PCD après ces deux premiers jours d'hydratation permet d'immerger l'échantillon dans une solution en équilibre avec la PCD, préparée en parallèle. Cette étape d'immersion permet d'observer si une réhydratation de l'hydrogel GA-PVA est envisageable dans un matériau cimentaire saturé. La microtomographie à rayons X permet de suivre la réhydratation de l'éponge en cellulose au cours du temps et rend compte de l'impossibilité de réhydrater l'hydrogel via la cellulose.



*Figure II - 64 : Mise en évidence de la déshydratation de la cellulose et de l'hydrogel GA-PVA au cours du temps avec la microtomographie à rayons X. Optode immergée dans une PCD CEM I (e/c = 0,5, 48h hydratation).
Paramètres : 120 kV, 66μA, résolution 17,8 μm.*

VI. 4. Mesure du pH en surface de PDC bas pH avec l'optode développée à partir du Naphth-AlkyneOMe : conclusion

Le développement d'une première optode de pH à partir de la sonde Naphthalkyne-OMe physiquement piégée dans une matrice GA-PVA a permis de mesurer le pH à la surface d'échantillons de PCD bas pH, durant la phase d'hydratation et en présence d'une solution en équilibre avec l'échantillon. Cette approche a permis de révéler la double difficulté à développer une optode permettant de mesurer le pH in situ dans le béton : l'accessibilité à l'eau porale afin d'en mesurer le pH, associée à la synthèse d'une ou plusieurs sondes moléculaires de pH photochimiquement stable et adaptée pour une gamme de pH = 10,5-13,5. Cette première phase de développement de l'optode a donc permis de redéfinir les axes de recherche afin de développer une optode performante, répondant au cahier des charges fixé pour le projet.

Références

1. Dong, H.-Q.; Wei, T.-B.; Ma, X.-Q.; Yang, Q.-Y.; Zhang, Y.-F.; Sun, Y.-J.; Shi, B.-B.; Yao, H.; Zhang, Y.-M.; Lin, Q., 1,8-Naphthalimide-based fluorescent chemosensors: recent advances and perspectives. *Journal of Materials Chemistry C* **2020**, *8* (39), 13501-13529.
2. Geraghty, C.; Wynne, C.; Elmes, R. B. P., 1,8-Naphthalimide based fluorescent sensors for enzymes. *Coordination Chemistry Reviews* **2021**, 437.
3. Wang, J.; Yang, L.; Hou, C.; Cao, H., A new N-imidazolyl-1,8-naphthalimide based fluorescence sensor for fluoride detection. *Org. Biomol. Chem.* **2012**, *10*, 6271-6274.
4. Tian, Y. S., F.; Weber, W.; Nandakumar, V.; Shumway, B.R.; Jin, Y.; Zhou, X.; Holl, M.R.; Johnson, R.H.; Meldrum, D.R., A series of naphthalimide derivatives as intra- and extra-cellular pH sensors. *Biomaterials* **2010**, *31* (29), 7411-7422.
5. Lee, M. H. P., ; Yi, C.; Han, J.H.; Hong, J.H.; Kim, K.P.; Kang, D.H.; Sessler, J.L.; Kang, C.; Kim, J.S., Mitochondria-immobilized pH-sensitive off-on fluorescent probe. *Journal of the American Chemical Society* **2014**, *136*, 14136–14142.
6. Georgiev, N. I.; Bojinov, V. B.; Nikolov, P. S., The design, synthesis and photophysical properties of two novel 1,8-naphthalimide fluorescent pH sensors based on PET and ICT. *Dyes and Pigments* **2011**, *88* (3), 350-357.
7. Staneva, D.; Angelova, S.; Grabchev, I., Spectral Characteristics and Sensor Ability of a New 1,8-Naphthalimide and Its Copolymer with Styrene. *Sensors (Basel)* **2020**, *20* (12).
8. Valeur, B.; Leray, I., Design principles of fluorescent molecular sensors for cation recognition. *Coordination Chemistry Reviews* **1999**, *205* (2000), 3-40.
9. Rémy, C.; Allain, C.; Leray, I., Synthesis and photophysical properties of extended pi conjugated naphthalimides. *Photochem Photobiol Sci* **2017**, *16* (4), 539-546.
10. Wang, J.; Yang, L.; Hou, C.; Cao, H., A new N-imidazolyl-1,8-naphthalimide based fluorescence sensor for fluoride detection. *Org Biomol Chem* **2012**, *10* (31), 6271-4.
11. Steinegger, A.; Wolfbeis, O. S.; Borisov, S. M., Optical Sensing and Imaging of pH Values: Spectroscopies, Materials, and Applications. *Chem Rev* **2020**, *120* (22), 12357-12489.
12. Nguyen, T. H.; Venugopala, T.; Chen, S.; Sun, T.; Grattan, K. T. V.; Taylor, S. E.; Basheer, P. A. M.; Long, A. E., Fluorescence based fibre optic pH sensor for the pH 10–13 range suitable for corrosion monitoring in concrete structures. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2014**, *191*, 498-507.
13. Rudra, R.; Kumar, V.; Kundu, P. P., Acid catalysed cross-linking of poly vinyl alcohol (PVA) by glutaraldehyde: effect of crosslink density on the characteristics of PVA membranes used in single chambered microbial fuel cells. *RSC Advances* **2015**, *5* (101), 83436-83447.
14. Jiang, S.; Liu, S.; Feng, W., PVA hydrogel properties for biomedical application. *J Mech Behav Biomed Mater* **2011**, *4* (7), 1228-33.
15. Marin, E.; Rojas, J., Preparation and characterization of crosslinked poly (vinyl) alcohol films with waterproof properties. **2015**.
16. Hosseinzadeh, H., Synthesis and swelling properties of a poly(vinyl alcohol)-based superabsorbing hydrogel. *Current Chemistry Letters* **2013**, *2* (3), 153-158.
17. Menczel, J. D.; Prime, R. B.; Bair, H. E.; Vyazovkin, S.; Gallagher, P. K.; Riga, A., Thermal analysis of polymers: Fundamentals and Applications, Chapter 3 :Thermogravimetric analysis (TGA). **2009**, 241-317.
18. Gotor, R.; Ashokkumar, P.; Hecht, M.; Keil, K.; Rurack, K., Optical pH Sensor Covering the Range from pH 0-14 Compatible with Mobile-Device Readout and Based on a Set of Rationally Designed Indicator Dyes. *Anal Chem* **2017**, *89* (16), 8437-8444.
19. Jiang, Z.; Chen, J.; Du, J.; Liu, T.; Li, X.; Yu, H.; Zhang, Q.; Hu, Y.; Liu, F.; Yu, X.; Zhou, Z., Ratiometric optical sensor for high-resolution imaging of pH with low cross-talk. *Appl Opt* **2018**, *57* (34), 9922-9928.
20. Jiang, Z.; Yu, X.; Hao, Y., Design and Fabrication of a Ratiometric Planar Optode for Simultaneous Imaging of pH and Oxygen. *Sensors (Basel)* **2017**, *17* (6).

21. Kenney, R. M.; Boyce, M. W.; Whitman, N. A.; Kromhout, B. P.; Lockett, M. R., A pH-Sensing Optode for Mapping Spatiotemporal Gradients in 3D Paper-Based Cell Cultures. *Anal Chem* **2018**, *90* (3), 2376-2383.
22. Morten, L.; Sergey M., B.; Björn, G.; Ingo, K.; Ronnie N., G., A simple and inexpensive high resolution color ratiometric planar optode imaging approach: application to oxygen and pH sensing. *Limnology and Oceanography: Methods* **2011**, *9* (9), 348-360.
23. Moßhammer, M.; Strobl, M.; Köhl, M.; Klimant, I.; Borisov, S. M.; Koren, K., Design and Application of an Optical Sensor for Simultaneous Imaging of pH and Dissolved O₂ with Low Cross-Talk. *ACS Sensors* **2016**, *1* (6), 681-687.
24. Staudinger, C.; Breininger, J.; Klimant, I.; Borisov, S. M., Near-infrared fluorescent aza-BODIPY dyes for sensing and imaging of pH from the neutral to highly alkaline range. *Analyst* **2019**, *144* (7), 2393-2402.
25. Grengg, C.; Müller, B.; Staudinger, C.; Mittermayr, F.; Breininger, J.; Ungerböck, B.; Borisov, S. M.; Mayr, T.; Dietzel, M., High-resolution optical pH imaging of concrete exposed to chemically corrosive environments. *Cement and Concrete Research* **2019**, *116*, 231-237.
26. Nielsen, S. D.; Paegle, I.; Borisov, S. M.; Kjeldsen, K. U.; Roy, H.; Skibsted, J.; Koren, K., Optical Sensing of pH and O₂ in the Evaluation of Bioactive Self-Healing Cement. *ACS Omega* **2019**, *4* (23), 20237-20243.
27. Pfeifer, D.; Klimant, I.; Borisov, S. M., Ultrabright Red-Emitting Photostable Perylene Bisimide Dyes: New Indicators for Ratiometric Sensing of High pH or Carbon Dioxide. *Chemistry* **2018**, *24* (42), 10711-10720.
28. Staudinger, C.; Strobl, M.; Breininger, J.; Klimant, I.; Borisov, S. M., Fast and stable optical pH sensor materials for oceanographic applications. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2019**, *282*, 204-217.
29. Rosenberg, M.; Laursen, B. W.; Frankær, C. G.; Sørensen, T. J., A Fluorescence Intensity Ratiometric Fiber Optics-Based Chemical Sensor for Monitoring pH. *Advanced Materials Technologies* **2018**, *3* (12).
30. Staudinger, C.; Strobl, M.; Fischer, J. P.; Thar, R.; Mayr, T.; Aigner, D.; Müller, B. J.; Müller, B.; Lehner, P.; Mistlberger, G.; Fritzsche, E.; Ehartner, J.; Zach, P. W.; Clarke, J. S.; Geißler, F.; Mutzberg, A.; Müller, J. D.; Achterberg, E. P.; Borisov, S. M.; Klimant, I., A versatile optode system for oxygen, carbon dioxide, and pH measurements in seawater with integrated battery and logger. *Limnology and Oceanography: Methods* **2018**, *16* (7), 459-473.
31. Long, L. L., X.; Zhang, D.; Meng, S.; Zhang, J.; Sun, X.; Zhang, C.; Zhou, L.; Wang, L., Amino-coumarin based fluorescence ratiometric sensors for acidic pH and their application for living cells imaging. *RSC Advances* **2013**, *3* (30), 12204-12209.
32. Wu, M.-Y.; Li, K.; Liu, Y.-H.; Yu, K.-K.; Xie, Y.-M.; Zhou, X.-D.; Yu, X.-Q., Mitochondria-targeted ratiometric fluorescent probe for real time monitoring of pH in living cells. *Biomaterials* **2015**, *53*, 669-678.
33. Lee, M. G., N.G.; Sulzer, D.; Sames, D., Development of pH responsive fluorescent false neurotransmitters. *Journal of the American chemical Society - Communications* **2010**, *132* (26), 8828-8830.
34. Khalil, G. E.; Daddario, P.; Lau, K. S.; Imtiaz, S.; King, M.; Gouterman, M.; Sidelev, A.; Puran, N.; Ghandehari, M.; Bruckner, C., meso-Tetraarylporpholactones as high pH sensors. *Analyst* **2010**, *135* (8), 2125-31.
35. Liu, E.; Ghandehari, M.; Brückner, C.; Khalil, G.; Worlinsky, J.; Jin, W.; Sidelev, A.; Hyland, M. A., Mapping high pH levels in hydrated calcium silicates. *Cement and Concrete Research* **2017**, *95*, 232-239.
36. R. W. Stoughton, G. K. R., The influence of ionic strength on the quenching of fluorescence in aqueous solutions. *Journal of the American Chemical Society* **1939**, *61* (10), 2634-2638.
37. Weidgans, B. M.; Krause, C.; Klimant, I.; Wolfbeis, O. S., Fluorescent pH sensors with negligible sensitivity to ionic strength. *Analyst* **2004**, *129* (7), 645-50.

38. Garcia Calvo, J. L.; Sanchez Moreno, M.; Alonso Alonso, M. C.; Hidalgo Lopez, A.; Garcia Olmo, J., Study of the Microstructure Evolution of Low-pH Cements Based on Ordinary Portland Cement (OPC) by Mid- and Near-Infrared Spectroscopy, and Their Influence on Corrosion of Steel Reinforcement. *Materials (Basel)* **2013**, *6* (6), 2508-2521.
39. Tariq, A.; Baydoun, J.; Remy, C.; Ghasemi, R.; Lefevre, J. P.; Mongin, C.; Dauzères, A.; Leray, I., Fluorescent molecular probe based optical fiber sensor dedicated to pH measurement of concrete. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2021**, *327*.

Chapitre III –

Développement d'optodes de pH basées sur des sondes pérylène

Table des matières

CHAPITRE III – DÉVELOPPEMENT D’OPTODES DE PH BASÉES SUR DES SONDÉS PÉRYLÈNE.....	186
I. Synthèse et étude de sondes de pH pérylène amine	189
I. 1. Synthèse des sondes pérylène amine.....	189
I. 2. Etude en solution des sondes de pH pérylène amine	190
I.3. Synthèse et étude de sondes de pH pérylène amine : conclusion	199
II. Synthèse et étude d’une sonde de pH pérylène guanidine	200
II.1. Synthèse de la sonde pérylène guanidine	200
II. 2. Etude en solution de la sonde de pH pérylène guanidine	204
II.3. Synthèse et étude d’une sonde de pH pérylène guanidine : conclusion.....	206
III. Hydrogels dopés avec les sondes pérylène	207
III. 1. Hydrogels dopés avec les sondes pérylène amine	207
III. 2. Hydrogels dopés avec la sonde pérylène guanidine	216
III.3. Elaboration et caractérisation d’hydrogels dopés avec les sondes de pH basées sur un pérylène : conclusion	217
IV. Cellulose greffée avec les sondes pérylène	219
IV.1. Modification de la cellulose pour un greffage de la sonde de pH par chimie click.....	219
IV.2. Fonctionnalisation de la cellulose-N ₃ par chimie click	222
IV.3. Augmentation de l’hydrophilicité de la cellulose greffée avec une sonde de pH pérylène	230
IV.4. Fonctionnalisation de la cellulose avec des sondes de pH : conclusion	235
V. Développement d’une optode de pH basée sur des sondes pérylène : conclusion	237

Liste des figures

Figure III - 1 : Schéma de rétrosynthèse des sondes de pH dérivés du pérylène	187
Figure III - 2 : Réaction de Vilsmeier-Haack pour obtenir le composé 1	189
Figure III - 3 : Réaction de Vilsmeier-Haack sur le pérylène et amination réductrice du composé 1 par l'octylamine	189
Figure III - 4 : Synthèse de la sonde de pH pérylène N-méthyl octylamine S2	190
Figure III - 5 : Synthèse de la sonde pérylène N-bis(éthan-1-ol) S3	190
Figure III - 6 : Spectres d'absorbance et d'émission normalisés des sondes S1 (c = 5,8 μ M, pseudo pH = 7,0), S2 (c= 1,7 μ M, pseudo pH = 2,7) et S3 (c=1,7 μ M, pseudo pH = 2,7) dans un mélange DMSO/H ₂ O 80 :20 v/v, λ_{exc} = 405 nm.....	191
Figure III - 7 : Spectres d'émission des sondes pérylène amine S1 (c = 5,8 μ M), S2 (c= 1,7 μ M) et S3 (c=1,7 μ M) dans leurs états protonés et déprotonés et illustration de transfert d'électron photoinduit pour les trois structures, solvant DMSO/H ₂ O 80 :20 v/v, λ_{exc} = 405 nm	193
Figure III - 8 : Effet de l'addition de NaOH sur les spectres d'émission des sondes pérylène amine des sondes S1 (c = 5,8 μ M), S2 (c= 1,7 μ M) et S3 (c=1,7 μ M) dans un milieu DMSO/H ₂ O 80 :20 v/v. λ_{exc} = 405 nm. Les encarts de chaque courbe de dosage montrent l'évolution d'IF intégrée en fonction du pseudo pH de la solution, ajustée selon l'équation d'Henderson-Hasselback.....	195
Figure III - 9 : Dosage de la sonde pérylène amine S2 par NaOH pour diverses concentration en sonde c et mélanges de solvants	196
Figure III - 10 : A-Evolution de l'absorbance lors du dosage de la sonde S2 par NaOH, et B-Lors de la protonation de la sonde par HCl, solvant :MeOH/H ₂ O 90:10, c=0,22 μ M	196
Figure III - 11 : Evolution de l'intensité de fluorescence de la sonde S2 lors de la déprotonation par ajout de NaOH, et lors de la protonation par ajout de HCl, MeOH/H ₂ O 90 :10 v/v, c=0,22 μ M, λ_{exc} =405 nm.....	197
Figure III - 12 : Illustration d'une hystérèse moléculaire thermique [21].....	197
Figure III - 13 : Distributions en nombre de la taille des agrégats formés par la sonde S3 en solution A -MeOH/H ₂ O 90 :10 v/v, c=0,22 μ M et B – EtOH/H ₂ O 80 :20 v/v, c=2,6 μ M, déterminées par DLS.....	198
Figure III - 14 : Distributions en nombre de la taille des agrégats formés par la sonde S3 au cours du temps en solution EtOH/H ₂ O 80 :20 v/v, c=2,6 μ M, déterminées par DLS par mesures successives A – avant agitation au bain d'ultrasons et B – après 30 s d'agitation au bain d'ultrasons	198
Figure III - 15 : Synthèse de composés N-aryl-N'-(3-substitué)-N'-methylphenyl-guanidines décrite par Naumiec et al. [26]	200
Figure III - 16 : Essais de synthèse d'une fonction guanidine à partir de la N,N-diethylcyanamide.....	200
Figure III - 17 : Formation de la guanidine en deux étapes décrite par Katritzky et al. [29]	201
Figure III - 18 : Voies de synthèse testées pour la synthèse de l'intermédiaire réactionnel 2 ..	201

Figure III - 19 : Synthèse d'une fonction guanidine à partir de l'intermédiaire réactionnel synthétisé 2	202
Figure III - 20 : Synthèse d'une fonction guanidine à partir du 1H-pyrazole-1-carboxamide.HCl et d'amines primaires	202
Figure III - 21 : Synthèse de la sonde pérylène N-octyle guanidine S4 à partir de l'intermédiaire commercial 4	203
Figure III - 22 : Essai de formation de la fonction guanidine protégée à partir de l'intermédiaire di-Boc 7	203
Figure III - 23 : Synthèse de la sonde pérylène N-octyle guanidine S4 à partir de l'intermédiaire commercial 8	204
Figure III - 24 : Evolution de l'absorbance (A) et de l'émission (B) lors du dosage de la sonde S4 par le tert-butoxide de sodium, dans le DMSO, $c=1,7 \mu\text{M}$, $\lambda_{\text{exc}} = 405 \text{ nm}$	205
Figure III - 25 : A – Structure de la sonde de pH et d'eau synthétisée par Kim et al. B - Evolution de l'absorbance de la sonde dans une solution tampon phosphate en fonction du pH ($c=20 \mu\text{M}$) C – Evolution de la fluorescence de la sonde dans une solution tampon phosphate en fonction du pH ($c=20 \mu\text{M}$, $\lambda_{\text{exc}}=367\text{nm}$) D – Fit d'IF à $\lambda=412 \text{ nm}$ en fonction du pH[36].....	205
Figure III - 26 : Spectres d'absorbance d'un hydrogel mince HydroMed™ D4 dopé avec la sonde de pH S2 ($c=0,1 \mu\text{mol/g}$), et d'un hydrogel HydroMed™ D4 non dopé	207
Figure III - 27 : Evolution du spectre d'émission des hydrogels minces HydroMed™ D4 en fonction de la concentration massique en sonde S2 et spectre d'émission de la sonde S2 en solution DMSO/H ₂ O $c=1,7\mu\text{M}$, $\lambda_{\text{exc}}=405\text{nm}$	208
Figure III - 28 : Evolution de l'émission d'un hydrogel HydroMed™ D4 dopé avec la sonde pérylène amine S2 (A) et la sonde pérylène amine S3 (B) en fonction du pH, $c= 0,1 \mu\text{mol/g}$, $\lambda_{\text{exc}}=405\text{nm}$. Encarts : intégration d'IF en fonction du pH, ajusté avec la relation d'Hendersen-Hasselbalch selon l'algorithme de Levenberg-Marquardt couplé à la méthode des moindres carrés.....	209
Figure III - 29 : Hydrogels HydroMed™ D4 dopés avec la sonde pérylène amine 2 (A) et pérylène amine 3 (B) dans une solution aqueuse à pH=2 et pH=13, $\lambda_{\text{exc}}=405\text{nm}$	209
Figure III - 30 : Suivi de l'intensité de fluorescence d'un hydrogel HydroMed™ D4 dopé avec la sonde pérylène amine S3 sur le montage de l'optode, lors de deux cycles de pH = 4 – pH = 9, moyenne glissante sur 10 points	210
Figure III - 31 : A-Suivi de l'intensité de fluorescence d'un hydrogel HydroMed™ D4 dopé avec la sonde pérylène amine S3 et de la référence interne au cours du temps, sur le montage de l'optode, lors d'un cycle de pH = 4 – pH = 9. B- Rapport IF(pH)/IF(Ref) déduit de A	211
Figure III - 32 : Suivi du rapport IF(pH)/IF(Ref) pour un hydrogel HydroMed™ D4 dopé avec la sonde pérylène amine S2 au cours du temps, sur le montage de l'optode, lors de cycles de pH = 4 – pH = 9	211
Figure III - 33 : Evolution de l'émission d'un hydrogel HydroMed™ D4 dopé avec la sonde pérylène amine S1 en fonction du pH, $c=1,2\mu\text{mol/g}$, $\lambda_{\text{exc}}=405\text{nm}$. Encart : intégration d'IF en fonction du pH, ajusté avec la relation d'Hendersen-Hasselbalch selon l'algorithme de Levenberg-Marquardt couplé à la méthode des moindres carrés	212

Figure III - 34 : Suivi d'IF(pH) pour un hydrogel HydroMed™ D4 dopé avec la sonde pérylène amine S1 au cours du temps, sur le montage de l'optode, lors de cycles de pH = 4 – pH = 9.....	212
Figure III - 35 : Spectres d'émission de la sonde S2 solubilisée en solution DMSO/H2O 80 :20 v/v ou physiquement séquestrée dans un hydrogel GA2-PVA10 ou HydroMed™ D4213	
Figure III - 36 : Evolution de l'émission d'un hydrogel GA2-PVA10 dopé avec la sonde pérylène amine S2 en fonction du pH, c=0,1 µmol/g, $\lambda_{exc}=405nm$. Encart : intégration d'IF en fonction du pH, ajusté avec la relation d'Hendersen-Hasselbalch selon l'algorithme de Levenberg-Marquardt couplé à la méthode des moindres carrés	213
Figure III - 37 : Réticulation de l'alcool polyvinylique (PVA) par le glutaraldéhyde (GA) en présence de la sonde pérylène amine S3 par catalyse acide à température ambiante	214
Figure III - 38 : Spectres d'émission de la sonde S2 solubilisée en solution DMSO/H2O 80 :20 v/v ou physiquement séquestrée dans un hydrogel GA2-PVA10 ou HydroMed™ D4214	
Figure III - 39 : Evolution de l'émission d'un hydrogel GA2-PVA10 dopé avec la sonde pérylène amine S3 en fonction du pH, c=0,1 µmol/g, $\lambda_{exc}=405nm$. Encart : intégration d'IF en fonction du pH, ajusté avec la relation d'Hendersen-Hasselbalch selon l'algorithme de Levenberg-Marquardt couplé à la méthode des moindres carrés	215
Figure III - 40 : Décroissance de fluorescence de la sonde S3 greffée dans une matrice GA2-PVA10, dans son état protoné (pH = 4) et déprotoné (pH = 11), $\lambda_{exc}=405 nm$ et $\lambda_{em}=470 nm$ et constantes multi exponentielles α, τ déduites	215
Figure III - 41 : Suivi du rapport IF(pH)/IF(Ref) pour un hydrogel GA2-PVA10 greffé avec la sonde pérylène amine S3 au cours du temps, sur le montage de l'optode, lors de cycles de pH = 4 – pH = 9.....	216
Figure III - 42 : Spectres d'émission de la sonde S4 dans le DMSO (c=1,7 µM) et dans une matrice GA2-PVA10 (c=0,1 µmol/g)	217
Figure III - 43 : Spectres d'émission d'un hydrogel GA2-PVA10 mince dopé avec la sonde pérylène guanidine S4 en fonction du pH, $c_{sonde}=0,1 \mu mol/g$, $\lambda_{exc}=405 nm$	217
Figure III - 44 : Mécanisme de cycloaddition entre un azoture et un alcyne catalysé par Cu(I) proposé par Ben El Ayouchia et al. [44].....	220
Figure III - 45 : Images MEB de fibres de cellulose non traitées (gauche) et mercerisées (droite). Grossissement $\times 2200$ [51]	221
Figure III - 46 : Préparation de la cellulose pour un greffage d'une sonde de pH en surface par chimie click. La cellulose est mercerisée pendant 24h dans un milieu basique (NaOH 10% _m). Une tosylation de la cellulose mercerisée précède l'étape finale d'azoturation.	221
Figure III - 47 : Mise en évidence de la tosylation de la cellulose par spectroscopie infrarouge (IR-TF)	222
Figure III - 48 : Mise en évidence de l'azoturation de la cellulose par spectroscopie infrarouge (IR-TF).....	222
Figure III - 49 : Amination réductrice de pérylène-3-carbaldehyde 1 par la propargylamine ...	223
Figure III - 50 : Essai de guanylation du composé 10 avec l'intermédiaire commercial 4	223
Figure III - 51 : Synthèse de l'amine 11	223
Figure III - 52 : Synthèse du composé pérylène amine présentant un alcyne terminal 12	224

Figure III - 53 : Essai de guanylation du composé 12 avec l'intermédiaire commercial 4	224
Figure III - 54 : Essai de guanylation du composé 12 avec les agents de guanylations 7 et 8 ...	224
Figure III - 55 : Synthèse du composé 15 avec l'intermédiaire réactionnel 4	225
Figure III - 56 : Synthèse de la sonde S5 pérylène guanidine avec un alcynes terminal	225
Figure III - 57 : Synthèse de la sonde S6 par méthylation de l'amine 12	226
Figure III - 58 : Greffage de la sonde de pH S6 sur la cellulose-N ₃ par chimie click.....	226
Figure III - 59 : Spectres d'émission de la cellulose-N ₃ greffée avec la sonde pérylène amine S6 , en fonction de la concentration en sonde, $\lambda_{exc}=405$ nm.....	227
Figure III - 60 : Spectres d'émission de la cellulose N ₃ greffée avec la sonde pérylène amine S6 immergée dans l'eau, au cours du temps, $\lambda_{exc}=405$ nm. A – $c_{sonde} = 0,26$ $\mu\text{mol}/\text{mg}$ de cellulose-N ₃ et B - $c_{sonde} = 0,05$ $\mu\text{mol}/\text{mg}$ de cellulose-N ₃	227
Figure III - 61 : Evolution d'IF intégrée pour la cellulose greffée avec la sonde pérylène amine S6 en fonction du pH au cours du temps, $\lambda_{exc}=405$ nm. A : $c_{sonde} = 0,26$ $\mu\text{mol}/\text{mg}$ de cellulose-N ₃ et B : $c_{sonde} = 0,11$ $\mu\text{mol}/\text{mg}$ de cellulose-N ₃	227
Figure III - 62 : Spectre d'émission de la cellulose N ₃ greffée avec la sonde pérylène amine S6 en fonction du pH, $c_{sonde} = 0,05$ $\mu\text{mol}/\text{mg}$ de cellulose-N ₃ , $\lambda_{exc}=405$ nm.....	228
Figure III - 63 : A - Mesure de l'angle de contact d'une goutte d'eau déposée sur une surface cellulose-N ₃ greffée avec la sonde S6 ($c=0,05$ $\mu\text{mol}/\text{mg}$) B – Exemple des angles de contact successivement mesurés pour un dépôt	229
Figure III - 64 : A - Dépôt d'une goutte d'eau en surface de la cellulose fonctionnalisée avec des groupements tosyles B – Absorption de la goutte par la surface, les deux images ont été acquises à 100 μs d'intervalle.....	229
Figure III - 65 : Dépôt d'une goutte d'eau en surface de la cellulose-N ₃	229
Figure III - 66 : Greffage de la sonde de pH S6 et saturation des azotures libre par l'alcool propargylique sur la cellulose-N ₃ par chimie click	230
Figure III - 67 : A- Spectre d'émission de la cellulose N ₃ greffée avec la sonde pérylène amine S6 et l'alcool propargylique en fonction du pH, $c_{sonde} = 13,2$ nmol/mg de cellulose-N ₃ , $\lambda_{exc}=405$ nm. B- Suivi du rapport IF(pH)/IF(Ref) au cours du temps, sur le montage de l'optode, lors de cycles de pH = 4 – pH = 12	231
Figure III - 68 : A- Spectre d'émission de la cellulose N ₃ greffée avec la sonde pérylène amine S6 et l'alcool propargylique aux valeurs de pH = 2,88 ;12,20 ;6,86, $c_{sonde} = 2,6$ nmol/mg de cellulose-N ₃ , $\lambda_{exc}=405$ nm. B- Suivi du rapport IF(pH)/IF(Ref) au cours du temps, sur le montage de l'optode, lors de cycles de pH = 4 – pH = 12, $\lambda_{exc}=405$ nm	231
Figure III - 69 : Evolution du rapport IF(pH)/IF(Ref) pour la cellulose greffée avec la sonde de pH S6 et l'alcool propargylique en fonction du pH, $c_{sonde} = 2,6$ nmol/mg de cellulose-N ₃ , $\lambda_{exc}=405$ nm.....	232
Figure III - 70 : Suivi du rapport IF(pH)/IF(Ref) au cours du temps, sur le montage de l'optode, lors d'un ajout de NaOH, $c_{sonde-S6} = 2,6$ nmol/mg de cellulose-N ₃ , $\lambda_{exc}=405$ nm	232
Figure III - 71 : A-Suivi du rapport IF(pH)/IF(Ref) au cours du temps, sur le montage de l'optode, lors de la protonation par ajout de HCl, $c(\text{S6}) = 2,6$ nmol/mg de cellulose-N ₃ , $\lambda_{exc}=405$ nm B- Evolution du rapport IF(pH)/IF(Ref) lors de la déprotonation par ajout de NaOH, et lors de la protonation par ajout de HCl,.....	233

Figure III - 72 : Suivi du rapport $IF(pH)/IF(Ref)$ de la cellulose-N3 greffée avec la sonde S6 et l'alcool propargylique, au cours du temps, sur le montage de l'optode, lors de la protonation par ajout de HCl, $c_{sonde-S6} = 2,6$ nmol/mg de cellulose-N ₃ , $\lambda_{exc}=405$ nm.....	233
Figure III - 73 : Elaboration d'un film mince dont la perméabilité dépend du pH par Weidman et al. [57].....	233
Figure III - 74 : Greffage de la sonde de pH S5 et saturation des azotures libre par l'alcool propargylique sur la cellulose-N ₃ par chimie click	234
Figure III - 75 : Spectre d'émission de la cellulose N ₃ greffée avec la sonde pérylène guanidine S5 et l'alcool propargylique en fonction du pH, $c_{sonde} = 2,8$ nmol/mg de cellulose-N ₃ , $\lambda_{exc}=405$ nm. A : en solution aqueuse et B : dans le DMSO au cours du temps....	234
Figure III - 76 : Spectre d'émission de la cellulose N ₃ greffée avec la sonde pérylène guanidine S5 et l'alcool propargylique en fonction du pH en solution aqueuse, $c_{sonde} = 2,8$ nmol/mg de cellulose-N ₃ , $\lambda_{exc}=405$ nm	235

Liste des tableaux

Tableau III - 1: pKa des quelques fonctions organiques d'intérêt (adapté de la table établie par Reich), les protons acides sont apparaissent en rouge.....	188
Tableau III - 2 : Estimation de l'enthalpie libre standard ΔG° de transfert d'électron pour les sondes S1 , S2 et S3	192
Tableau III - 3 : Propriétés photophysiques du pérylène et des sondes pérylène amine synthétisées, déterminées dans ^(a) :DMSO/H ₂ O 80 :20 v/v, ^(b) :DMSO ou ^(c) :cyclohexane. λ_{abs} : maxima d'absorption, ϵ :coefficient d'extinction molaire, λ_{em} :maxima d'émission, ΦF :rendement quantique de fluorescence, ΦF_{NH^+} et ΦF_N :rendement quantique de fluorescence de la sonde protonée et déprotonée respectivement. Détermination des λ_{em} , ΦF_{NH^+} et ΦF_N avec $\lambda_{exc} = 405$ nm.....	193
Tableau III - 4 : Durées de vie des sondes pérylène amine S2 et S3 dans leur état protoné (τ_{NH^+}) et déprotoné (τ_N) évalués en solution DMSO/H ₂ O 80 :20 v/v, taux de transferts radiatifs (k_r) et non radiatives (k_{nr}) correspondants.....	194
Tableau III - 5 : Détermination des paramètres pKa, ΔIF et dpH à partir des dosages de la sonde S2 par NaOH pour diverses concentrations en sonde c et mélanges de solvants	196
Tableau III - 6 : Valeurs des pKa, $\Delta IF = I_{max} - I_{min}$ et t_{90} des sondes pérylène S1 à S4 en solution DMSO/H ₂ O ou séquestrées dans les hydrogels GA2-PVA10 ou HydroMed™ D4 .	217
Tableau III - 7 : Angles de contact déterminés pour la cellulose greffée avec la sonde S5 , $C_{sonde} = 2,8$ nmol/mg, et l'alcool propargylique	235

CHAPITRE III – DÉVELOPPEMENT D'OPTODES DE pH BASÉES SUR DES SONDÉS PÉRYLÈNE

La sonde de pH NaphthAlkyne-OMe n'étant pas photostable à pH basique, il est essentiel de synthétiser des sondes de pH stables sur la gamme de pH = 10,5-13,5. Le choix du fluorophore lors de la synthèse de sondes de pH innovantes dicte en partie la photostabilité de la sonde fluorescente obtenue. Les caractéristiques de son émission, son rendement quantique de fluorescence et son coefficient d'extinction molaire influent directement la sensibilité de l'optode obtenue. La variation des propriétés photophysiques d'une sonde de pH fluorescente peut être introduite par un mécanisme PET, impliquant une réaction redox entre le fluorophore excité et une fonction située à proximité répondant aux variations de pH. Comme décrit dans le chapitre I, le mécanisme PET constitue un mécanisme d'extinction de fluorescence rapide et totalement réversible [1].

Le caractère peu photostable en milieu basique de quelques sondes de pH fluorescentes tels que les dérivés de la fluorescéine ou de la coumarine a été discuté dans le chapitre I [2-5]. Pfeifer et al. ont étudié les sondes de pH pérylène diimides (PDI) afin de constituer une optode de pH adaptée à la gamme de mesure pH = 7-13 [6]. Malgré le rendement quantique élevé de ces sondes ($\Phi_{F, \text{acide}} = 0,85-0,99$), l'absorbance de la forme déprotonée présente une diminution de 0,02 unités d'absorbance normalisée après 100 min d'irradiation discontinue. Aigner et al. se sont intéressés à des PDI substitués avec des groupements amines aromatiques ou aliphatiques [1]. Ces sondes de pH sont solubilisées dans diverses matrices polymères (l'HydroMed™ D4, le poly(hydroxypropylmethacrylate) pHPMA et le poly(hydroxyethylmethacrylate) pHEMA) et le mécanisme PET induisant l'extinction de fluorescence conserve son efficacité. Aigner et al. mettent en évidence une photodégradation rapide des dérivés PDI tétrachlorés. À l'inverse les dérivés tetra-aryloxy PDI sont plus photostables avec une dégradation de 3% de l'absorbance après 3h d'irradiation, et leur substitution affecte peu le pKa de la fonction chimique répondant aux variations de pH. La solubilité des sondes PDI dans les matrices polymères considérées induit cependant une agrégation progressive des sondes au cours du temps, résultant en une variation d'IF notée après 4 à 17 jours.

Parmi les fluorophores, le pérylène présente un coefficient d'extinction molaire et un rendement quantique ($\Phi_F = 0,94$ dans le cyclohexane [7]) élevés, associés à une photostabilité en milieu basique. Le pérylène présente également des spectres d'excitation et d'émission dans le visible, il a donc été sélectionné afin de synthétiser des sondes de pH pour l'ensemble de ces caractéristiques. La gamme de pH spécifique étudiée limite la sélection des fonctions organiques pouvant substituer le pérylène afin de constituer une sonde de pH pertinente. D'après la table de Reich estimant les valeurs de pKa des principales fonctions organiques, les amines possèdent des pKa compris entre 9 et 12 et le guanidinium possède un pKa proche de 13,5 (Tableau III - 1). La stabilité chimique de ces deux fonctions à pH basique a confirmé leur choix afin de constituer des sondes de pH fluorescentes pour le développement d'optodes de pH dédiées à l'étude des matériaux cimentaires. Ainsi, des sondes de pH pérylène amine et pérylène guanidine ont été envisagées. Le schéma de rétrosynthèse de ces sondes est présenté en Figure III - 1. Les sondes ont été physiquement séquestrées dans des hydrogels GA-PVA ou HydroMed™ D4. Le cas d'un greffage covalent d'une sonde pérylène amine dans un hydrogel GA-PVA a également été étudié. Comme établi dans le chapitre II, la fluorescence des hydrogels dopés avec les sondes de pH dépend de leur état d'hydratation. L'étude *in situ* du pH de matériaux cimentaires impliquera de s'orienter vers une matrice dont le volume varie peu en fonction de son état d'hydratation. Des sondes pérylène amine et pérylène guanidine ont alors été greffées sur une matrice cellulose-N₃ par chimie click.

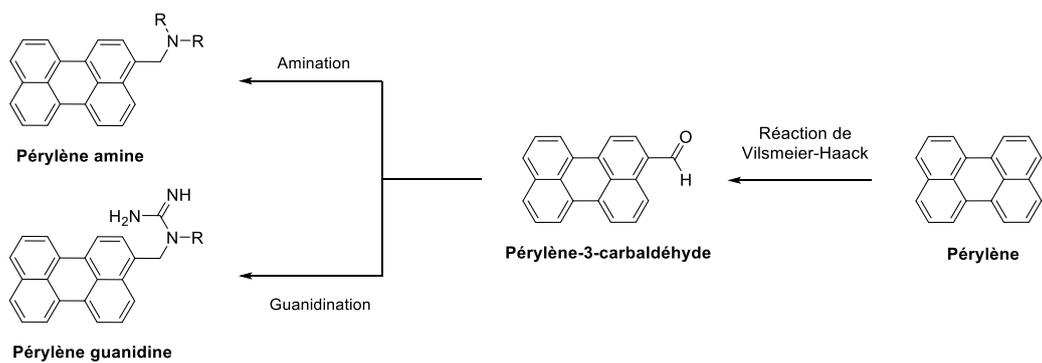


Figure III - 1 : Schéma de rétrosynthèse des sondes de pH dérivés du pérylène

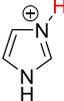
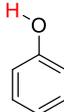
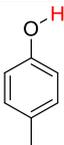
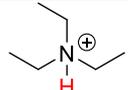
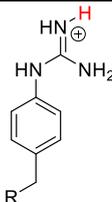
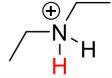
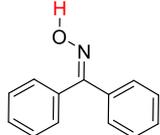
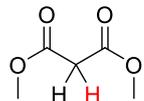
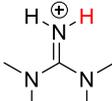
Fonction chimique/composé	Structure	pKa
Imidazole		6,95
Phénol		9,9
Diimide		10,0
4-méthylphénol		10,2
Thiol	R-SH	~10-11
Amine primaire (ex :éthylamine)		10,6
Amine tertiaire (ex :tréthylamine)		10,7
Guanidine monosubstituée (ex : phényl guanidine)		10,9
Amine secondaire (ex :diéthylamine)		11,0
Piperazine		11,1
Oxime (ex :benzophénone oxime)		11,3
Diester (ex : diméthyle malonate)		12,9
Guanidine tetrasubstituée (ex : guanidine bis(diméthylamine))		13,6

Tableau III - 1: pKa des quelques fonctions organiques d'intérêt (adapté de la table établie par Reich), les protons acides sont apparissent en rouge

I. Synthèse et étude de sondes de pH pérylène amine

I. 1. Synthèse des sondes pérylène amine

Une première étape de substitution électrophile aromatique du pérylène dans le dichlorobenzène avec l'addition de 4,5 éq. de POCl_3 , commune à l'ensemble des synthèses, permet d'obtenir le pérylène-3-carbaldéhyde **1** avec un rendement de 69 % (Figure III - 2). Cette réaction de Vilsmeier-Haack a été décrite par Heinze et Liebert, et par Markovic et al. [8-9].

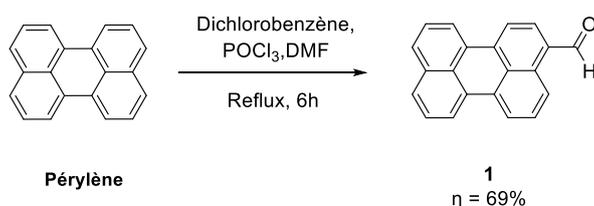


Figure III - 2 : Réaction de Vilsmeier-Haack pour obtenir le composé **1**

La réaction du composé **1** avec l'octylamine $\text{C}_8\text{H}_{17}\text{NH}_2$ (10 éq.) en présence d'acide paratoluènesulfonique (APTS, 0,03 éq.) dans le toluène permet d'obtenir l'imine, réduite *in situ* en amine secondaire avec l'ajout de NaBH_4 (10 éq.) (Figure III - 3). Un décanteur de Dean-Stark a été intégré dans le montage afin d'augmenter le rendement de la réaction. Cette amination réductrice est décrite par Asseline et Cheng [10]. Après purification, la sonde de pH pérylène octylamine **S1** a été obtenue avec un rendement de 58%. Une voie d'amination réductive alternative pour les aldéhydes est décrite par Pandith et al. mais nécessite l'utilisation du sel de titane $\text{TiCl}(\text{O}^i\text{Pr})_3$, introduit dans le cas des amines électro-déficientes afin de favoriser la réaction de condensation entre l'aldéhyde et l'amine [11-12]. Cette seconde voie n'a pas été explorée en raison de la bonne réactivité de l'octylamine avec le composé **1**.

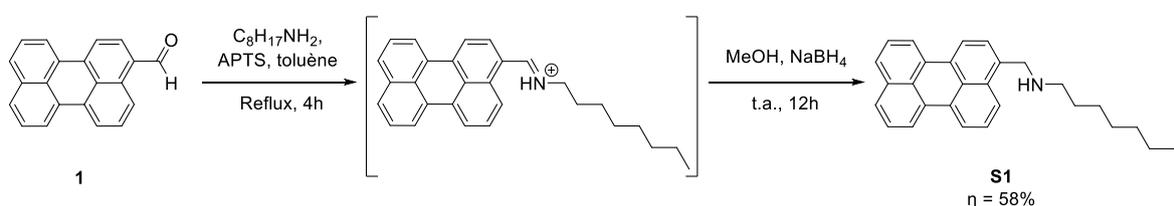


Figure III - 3 : Réaction de Vilsmeier-Haack sur le pérylène et amination réductrice du composé **1** par l'octylamine

La méthylation du composé **S1** a été effectuée afin d'obtenir une amine tertiaire, présentant un pKa supérieur d'après le Tableau III - 1. L'iodométhane est souvent cité pour les réactions de méthylation mais peut conduire à la formation de l'ammonium quaternaire comme décrit par Yudovin-Farber et al. [13] ou Jia et al. [14], il n'a donc pas été retenu pour cette réaction. Wang et al. décrivent la méthylation d'une amine secondaire avec le formaldéhyde suivie par une réduction par un agent réducteur doux de type triacétoxyborohydrure de sodium $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ [15]. En effet, la réduction par $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ permet de réduire exclusivement les fonctions imines ou les iminiums, sans réduire les aldéhydes. Ainsi, la méthylation du composé **S1** a été effectuée avec le formaldéhyde CH_2O et a été suivie par une réduction par $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ afin d'obtenir la sonde **S2** avec un rendement de 79%. Le montage a inclus un décanteur de Dean-Stark afin de favoriser la réaction par déplacement de l'équilibre thermodynamique, et par conséquent, d'augmenter le rendement de la réaction.

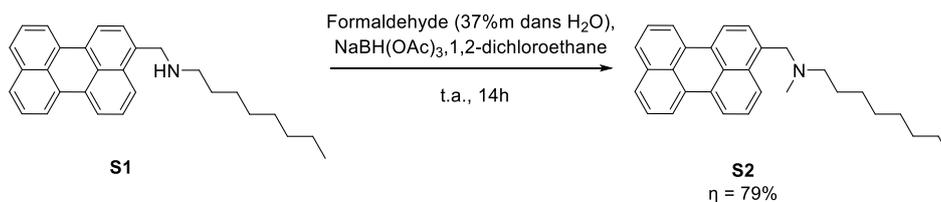


Figure III - 4 : Synthèse de la sonde de pH pérylène N-méthyl octylamine **S2**

Les sondes pérylène amine **S1** et **S2** ont été synthétisées afin d'être physiquement piégées dans des hydrogels. Il est également intéressant de considérer un greffage covalent d'une sonde pérylène amine sur une matrice avec l'objectif d'obtenir une distribution homogène de la sonde dans l'hydrogel. Pour cela, une sonde pérylène N-bis(éthan-1-ol) **S3** a été synthétisée selon le protocole décrit par Asseline et Cheng [10]. Ainsi, la réaction du pérylène-3-carbaldéhyde **1** avec la diéthanolamine (10 éq.) en présence d'acide paratoluènesulfonique (APTS, 0,03 éq.) dans le toluène permet d'obtenir l'iminium, réduit *in situ* en amine secondaire avec l'ajout de NaBH₄ (10 éq.). Après purification, la sonde **S3** a été obtenue avec un rendement de 40%.

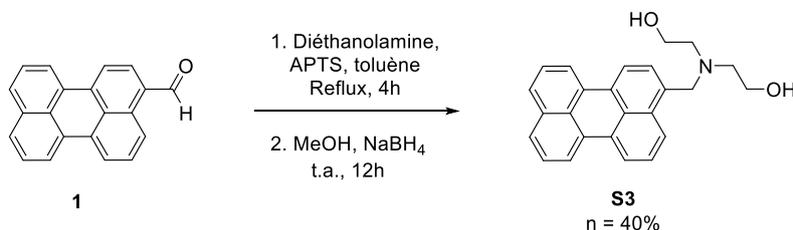


Figure III - 5 : Synthèse de la sonde pérylène N-bis(éthan-1-ol) **S3**

I. 2. Etude en solution des sondes de pH pérylène amine

En raison de la faible solubilité du pérylène associé à la nécessité de présence d'eau afin de définir un pseudo pH, les études des propriétés photophysiques et photochimiques en solution ont été réalisées dans un mélange de solvants organiques. Le mélange de solvants organiques correspondant est précisé pour chaque étude et le pourcentage maximal d'eau déterminé est de 20%. L'ensemble des spectres présentés ont été acquis à température ambiante.

I.2.a. Propriétés photophysiques

Les spectres d'absorbance des sondes pérylène amine **S1**, **S2** et **S3** permettent d'identifier trois bandes définies d'absorbance dont les maxima varient peu en fonction de la nature des substituants (Figure III - 6). Ces bandes intenses peuvent être attribuées aux transitions $S1 \leftarrow S0(\pi\pi^*)$. Pour le composé **S3**, ces bandes sont situées à 397, 420 et 446 nm par exemple. La faible solubilité des dérivés pérylène est mise en évidence par l'élargissement du pied de bande détecté autour de 450 nm pour le composé **S1**, résultant de la concentration c plus élevée de la solution utilisée. Un faible déplacement de Stokes égal à 10 nm et caractéristique du pérylène est mis en évidence grâce à l'acquisition des spectres d'émission des sondes **S1**, **S2** et **S3** à partir des mêmes solutions (Figure III - 6).

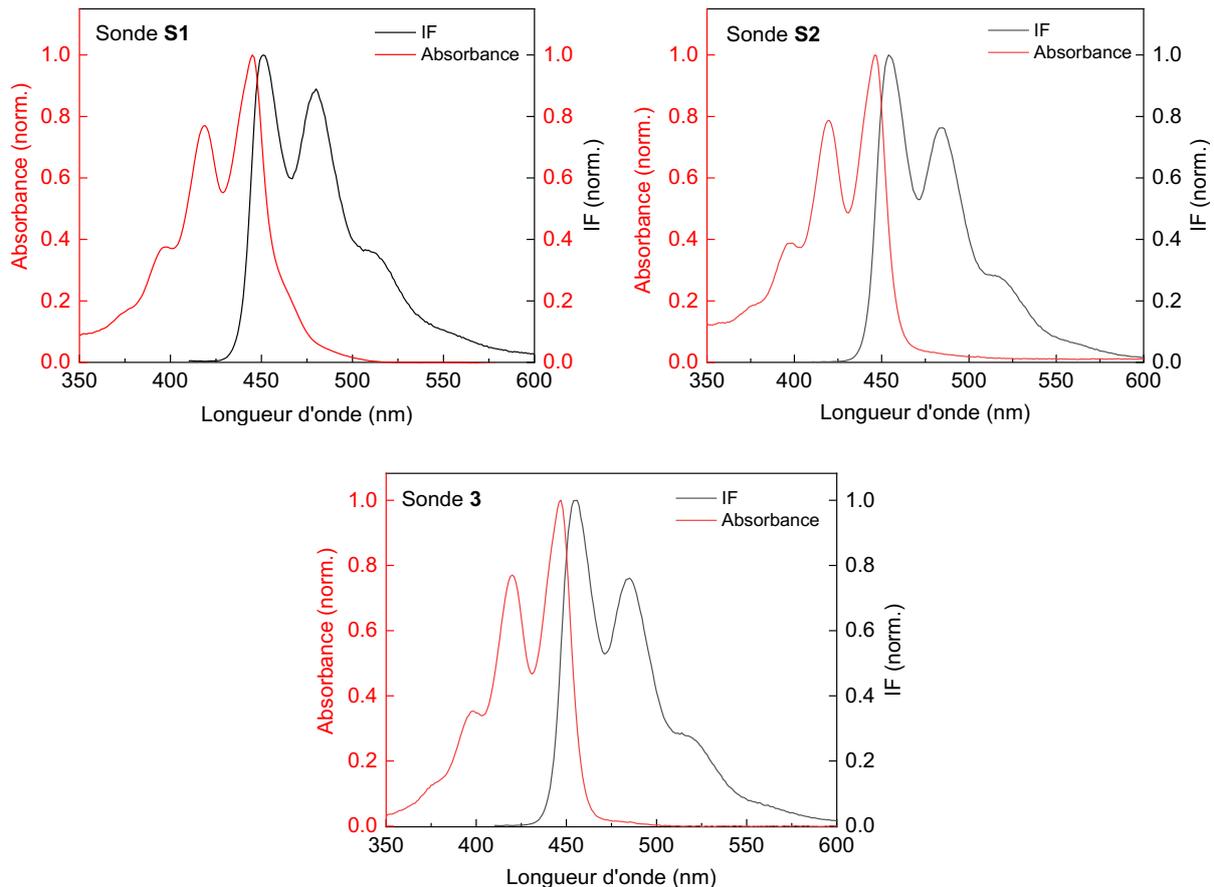


Figure III - 6 : Spectres d'absorbance et d'émission normalisés des sondes **S1** ($c = 5,8 \mu\text{M}$, pseudo $\text{pH} = 7,0$), **S2** ($c = 1,7 \mu\text{M}$, pseudo $\text{pH} = 2,7$) et **S3** ($c = 1,7 \mu\text{M}$, pseudo $\text{pH} = 2,7$) dans un mélange DMSO/ H_2O 80 :20 v/v, $\lambda_{\text{exc}} = 405 \text{ nm}$

L'équation de Rehm-Weller rappelée ici permet d'évaluer l'efficacité du mécanisme PET pour le cas d'un pérylène substitué avec une amine secondaire et une amine tertiaire :

$$\Delta G^\circ = E^\circ_{D^+/D} - E^\circ_{A^-/A} - \Delta E_{00}(A) - \Delta H_{\text{solv}} - w(r) \quad (\text{III} - 1)$$

Avec les termes :

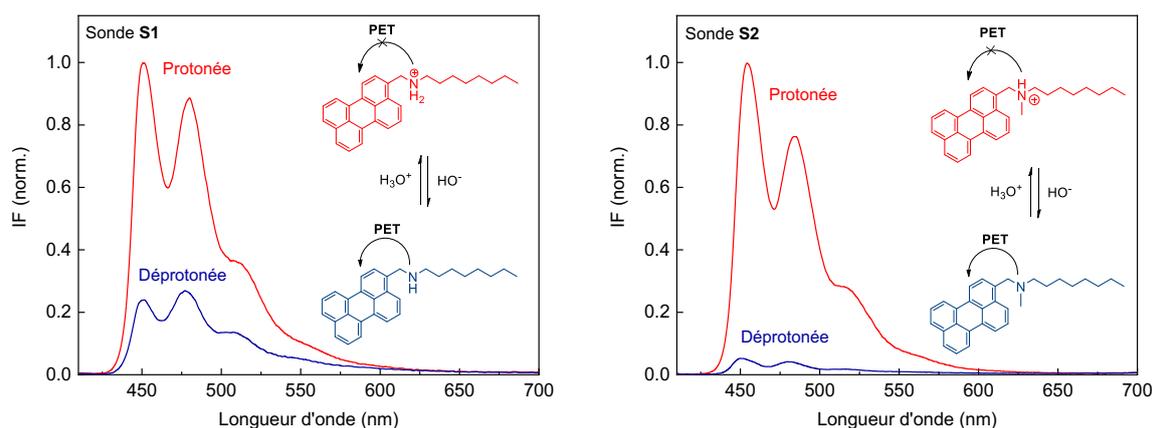
- ΔG° : l'enthalpie libre standard de transfert d'électron, indiquant si le mécanisme est favorable ;
- $E^\circ_{D^+/D}$: le potentiel d'oxydation du donneur, soit pour une amine secondaire $E^\circ_{D^+/D} = 0,90\text{-}1,03 \text{ V}$ vs SCE et pour une amine tertiaire $E^\circ_{D^+/D} = 0,65\text{-}0,76 \text{ V}$ vs SCE [16] ;
- $E^\circ_{A^-/A}$: le potentiel de réduction de l'accepteur, soit pour le pérylène $E^\circ_{A^-/A} = -1,68 \text{ V}$ vs SCE [17] ;
- $\Delta E_{00}(A)$: la différence d'énergie entre le premier niveau vibrationnel de l'état excité et celui de l'état fondamental, déterminée expérimentalement par le croisement entre les spectres d'absorption et d'émission ;
- ΔH_{solv} : l'enthalpie libre de solvation lié à la réorganisation de la sphère de solvation, dans un solvant donné, négligée ici
- $w(r)$: le terme d'énergie coulombienne dépendant de la distance entre l'accepteur et le donneur et de la constante diélectrique du solvant ϵ , négligeable dans les solvants polaires en raison de la valeur élevée d' ϵ .

En première approximation, le mécanisme PET est favorisé pour les sondes **S1**, **S2** et **S3** en raison des valeurs négatives de l'enthalpie libre standard ΔG° estimées (Tableau III - 2). Cependant, l'estimation de valeurs de ΔG° ne permet pas de comparer l'efficacité du mécanisme PET entre les différentes sondes synthétisées.

Composé	$E^\circ_{D^+/D}$ (valeur estimée), eV [16]	$E^\circ_{A^-/A}$, eV [17]	$\Delta E_{00}(A)$, eV	ΔG° , eV
S1	0,90 V vs SCE = $1,44 \times 10^{-19}$	$-2,69 \times 10^{-19}$	2,77	- 2,77
S2	0,65 V vs SCE = $1,04 \times 10^{-19}$		2,76	- 2,76
S3	0,65 V vs SCE = $1,04 \times 10^{-19}$		2,75	- 2,75

Tableau III - 2 : Estimation de l'enthalpie libre standard ΔG° de transfert d'électron pour les sondes **S1**, **S2** et **S3**

Expérimentalement, une extinction de fluorescence est effectivement observée pour les trois sondes pérylène amine lors de leur déprotonation par ajout de NaOH en solution ($[HO^-]=10^{-3}$ M), confirmant l'efficacité du mécanisme PET entre l'amine et le pérylène (Figure III - 7). Dans les cas des amines tertiaires (sondes **S2** et **S3**), une extinction de fluorescence d'un facteur proche de 10 est observée, tandis que cette extinction est moins marquée pour l'amine secondaire (sonde **S1**). Cette extinction de fluorescence est également prouvée par la mesure du rendement quantique de fluorescence des sondes dans leurs états protonés et déprotonés, $\Phi_{F_{NH^+}}$ et Φ_{F_N} respectivement (Tableau III - 3). Ainsi, les sondes **S1**, **S2** et **S3** ont des rendements quantiques élevés $\Phi_{F_{NH^+}} = 0,88-0,71$, comparable au rendement quantique du pérylène seul. La déprotonation des sondes conduit à une diminution du rendement quantique de fluorescence, avec $\Phi_{F_N} = 0,02-0,17$, en raison du transfert d'électron entre l'amine déprotonée et le pérylène. Comme attendu pour des dérivés pérylène, des coefficients d'extinction molaire et des rendements quantiques élevés ont été déterminés pour les sondes **S2** et **S3**, les valeurs sont indiquées dans le Tableau III - 3. Les valeurs déterminées sont comparables et proches de celles du pérylène seul en solution et des dérivés pérylène [18].



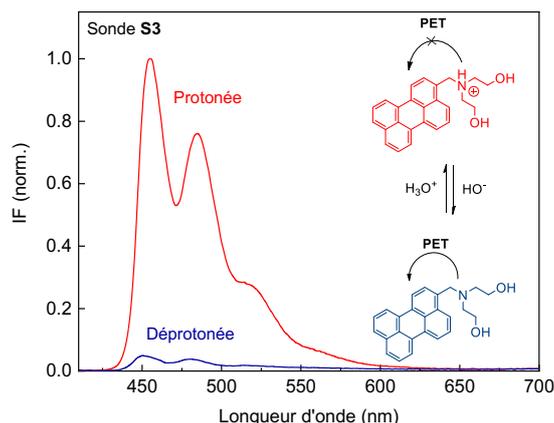


Figure III - 7 : Spectres d'émission des sondes pérylène amine **S1** ($c = 5,8 \mu\text{M}$), **S2** ($c = 1,7 \mu\text{M}$) et **S3** ($c = 1,7 \mu\text{M}$) dans leurs états protonés et déprotonés et illustration de transfert d'électron photoinduit pour les trois structures, solvant DMSO/H₂O 80 :20 v/v, $\lambda_{exc} = 405 \text{ nm}$

Composé	$\lambda_{abs} \text{ (nm)}^{(a)}$	$\epsilon \text{ (M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1})^{(b)}$	$\lambda_{em} \text{ (nm)}^{(a)}$	$\Phi_{F_{NH^+}}^{(a)}$	$\Phi_{F_N}^{(a)}$
Pérylène ^(c)	388, 410, 435	38500 (Berlman, 1971)	436, 463, 495	$\Phi_F = 0,94$ (Berlman, 1965)	
S1	394, 419, 445	-	451, 480, 514	0.88	0.17
S2	396, 419, 446	34800	454, 484, 516	0.71	0.02
S3	397, 420, 446	36650	455, 486, 517	0.82	0.07

Tableau III - 3 : Propriétés photophysiques du pérylène et des sondes pérylène amine synthétisées, déterminées dans ^(a):DMSO/H₂O 80 :20 v/v, ^(b):DMSO ou ^(c):cyclohexane. λ_{abs} : maxima d'absorption, ϵ : coefficient d'extinction molaire, λ_{em} : maxima d'émission, Φ_F : rendement quantique de fluorescence, $\Phi_{F_{NH^+}}$ et Φ_{F_N} : rendement quantique de fluorescence de la sonde protonée et déprotonée respectivement. Détermination des λ_{em} , $\Phi_{F_{NH^+}}$ et Φ_{F_N} avec $\lambda_{exc} = 405 \text{ nm}$

Les durées de vie des sondes pérylène amine **S2** et **S3** ont été déterminées dans leurs états protonés et déprotonés (Tableau III - 4). Des durées de vie de 4,77 ns et 4,76 ns pour les états protonés (en absence de PET) sont déterminés et correspondent à des valeurs proches des durées de vie du pérylène ($\tau = 3,95 \text{ ns}$ [19]) et des dérivés pérylène (pour le 2,5-di-tert-butylpérylène par exemple : $\tau = 4,3 \text{ ns}$ [18]). La forme déprotonée des sondes possède une durée de vie réduite en raison du PET et une durée de déclin de fluorescence de 140 ps a été déterminée pour le composé **S3**. Les taux de transferts radiatifs (k_r) et non radiatifs (k_{nr}) peuvent être calculés à partir des rendements quantiques de fluorescence des espèces correspondantes grâce aux équations suivantes :

$$k_r = \frac{\Phi_F}{\tau} \quad (III - 2)$$

$$k_{nr} = \frac{1 - \Phi_F}{\tau} \quad (III - 3)$$

Les formes déprotonées des sondes de pH présentent bien une diminution du taux de transfert non radiatif par rapport aux formes protonées, confirmant la présence d'un mécanisme PET lors de la déprotonation (Tableau III - 4).

Composé	τ_{NH_+} (ns)	kr_{NH_+} (ns ⁻¹)	knr_{NH_+} (ns ⁻¹)	τ_{N} (ns)	kr_{NH} (ns ⁻¹)	knr (ns ⁻¹)
S2	4,77	0,15	0,061	0,2	0,10	4,90
S3	4,76	0,17	0,038	0,14	0,50	6,64

Tableau III - 4 : Durées de vie des sondes pérylène amine **S2** et **S3** dans leur état protoné (τ_{NH_+}) et déprotoné (τ_{N}) évalués en solution DMSO/H₂O 80 :20 v/v, taux de transferts radiatifs (kr) et non radiatives (knr) correspondants

I.2.b. Détermination du pK_a en solution

La réponse des sondes pérylène amine **S1**, **S2** et **S3** aux variations de pH a été étudiée en solution et la déprotonation des sondes induit une extinction de fluorescence en raison d'un mécanisme PET discuté précédemment. Comme détaillé dans le chapitre précédent, le dosage des sondes de pH avec NaOH est réalisé dans un mélange de solvants avec l'acquisition des spectres d'absorbance et d'émission. On rappelle que les termes de 'pH calculé' ou 'pseudo pH' sont introduits car l'utilisation d'une électrode de pH n'est pas pertinente dans un mélange de solvants contenant peu d'eau. Le terme 'dpH' est introduit afin de prendre en compte la distribution des sondes dans une matrice [5]. On peut rappeler l'équation permettant de lier le pH calculé de la solution au pK_a de la sonde étudiée en fonction de l'intensité de fluorescence IF :

$$IF = \frac{I_{F\text{Min}} + I_{F\text{Max}} \times 10^{\left(\frac{\text{pH} - \text{pK}_a}{\text{dpH}}\right)}}{10^{\left(\frac{\text{pH} - \text{pK}_a}{\text{dpH}}\right)} + 1} \quad (\text{III} - 4)$$

Avec $I_{F\text{max}}$ le maximum d'intensité de fluorescence observé lorsque la sonde est totalement protonée, $I_{F\text{min}}$ le minimum d'intensité de fluorescence observé lorsque la sonde est totalement déprotonée, et dpH le terme permettant de généraliser l'équation au cas d'une sonde de pH distribuée dans une matrice solide. Les fits des données proposées en rouge dans les encarts de la Figure III - 8 ont été obtenus par application de cette équation, avec l'algorithme de Levenberg-Marquardt et la méthode des moindres carrés. Ainsi, des pK_a calculés de $9,78 \pm 0,02$, $11,31 \pm 0,02$ et $11,36 \pm 0,02$ ont été respectivement déterminés pour les sondes de pH pérylène amine **S1**, **S2** et **S3**. Ces pK_a déterminés en solution aqueuse sont en adéquation avec les pK_a classiquement trouvés pour ces fonctions chimiques.

Le saut de pH brusque observé pour les sondes **S2** et **S3** n'est pas caractéristique d'une sonde PET de pH classique. En effet, d'après l'équation d'Henderson-Hasselback, un saut de pH doit s'étendre sur la gamme pH = [pK_a-1 ; pK_a+1] par définition. Afin de comprendre ce comportement, des dosages de la sonde **S2** par NaOH ont été réalisés dans un mélange EtOH/H₂O 80 :20 v/v et MeOH/H₂O 90 :10 v/v avec des concentrations faibles en sonde, jusque $c = 0,2 \mu\text{M}$, mais la même réponse a été observée (Figure III - 9). Le Tableau III - 5 liste les paramètres issus des dosages de la sonde **S2** avec une concentration en sonde variable et différents mélanges de solvants. Les faibles valeurs de dpH trouvées pour les dosages des sondes **S2** et **S3** semblent indiquer un phénomène d'agrégation des sondes déprotonées en solution. En effet, les cycles aromatiques tendent à former des interactions attractives non-covalentes en raison de la présence de liaisons π , conduisant à la formation d'empilements π - π . Le suivi de l'absorbance lors du dosage du composé **S2** par NaOH réalisé avec une faible concentration ($c=0,22 \mu\text{M}$) dans le MeOH/H₂O 90 :10 met en évidence une formation d'agrégats diffusant autour de 500 nm (Figure III - 10). Ces agrégats sont dissous lors d'une seconde étape de protonation de la sonde en solution par ajout de HCl. Ainsi, la forme neutre déprotonée forme des agrégats en solution diluée et ces agrégats sont dissous lors de la protonation de la sonde chargée. Réaliser un cycle de déprotonation-reprotonation en solution et suivre l'absorbance de la solution met donc en évidence un phénomène d'agrégation des formes neutres des sondes pérylène amine **S2** et **S3** induisant une extinction de fluorescence, et justifiant les faibles valeurs de dpH trouvées pour des solutions diluées.

Comme formalisé par l'équation de Rehm-Weller, l'efficacité du PET inclue un terme d'énergie coulombienne traduisant la stabilisation de la paire d'ions formée lors du transfert d'électron et dépendant de la polarité du solvant. En effet, pour un solvant non polaire, les effets électrostatiques induisent des forces coulombiennes stabilisant les intermédiaires ioniques ou les exciplexes [20]. En revanche, dans le cas des solvants polaires, les molécules de solvant limitent les forces d'attraction électrostatiques en occupant un rôle de 'barrière' ; la dissociation ionique en radicaux solvatés et libres est donc favorisée en milieu polaire où la barrière énergétique est plus faible qu'en solvant non polaire. Ces effets de polarité du solvant induisent une modification du terme ΔIF caractérisant la déprotonation des sondes de pH, et une valeur de $\Delta IF=0,48$ faible est déterminé dans le mélange de solvants MeOH/H₂O 90 :10 v/v en raison du faible ratio volumique en eau (Tableau III - 5).

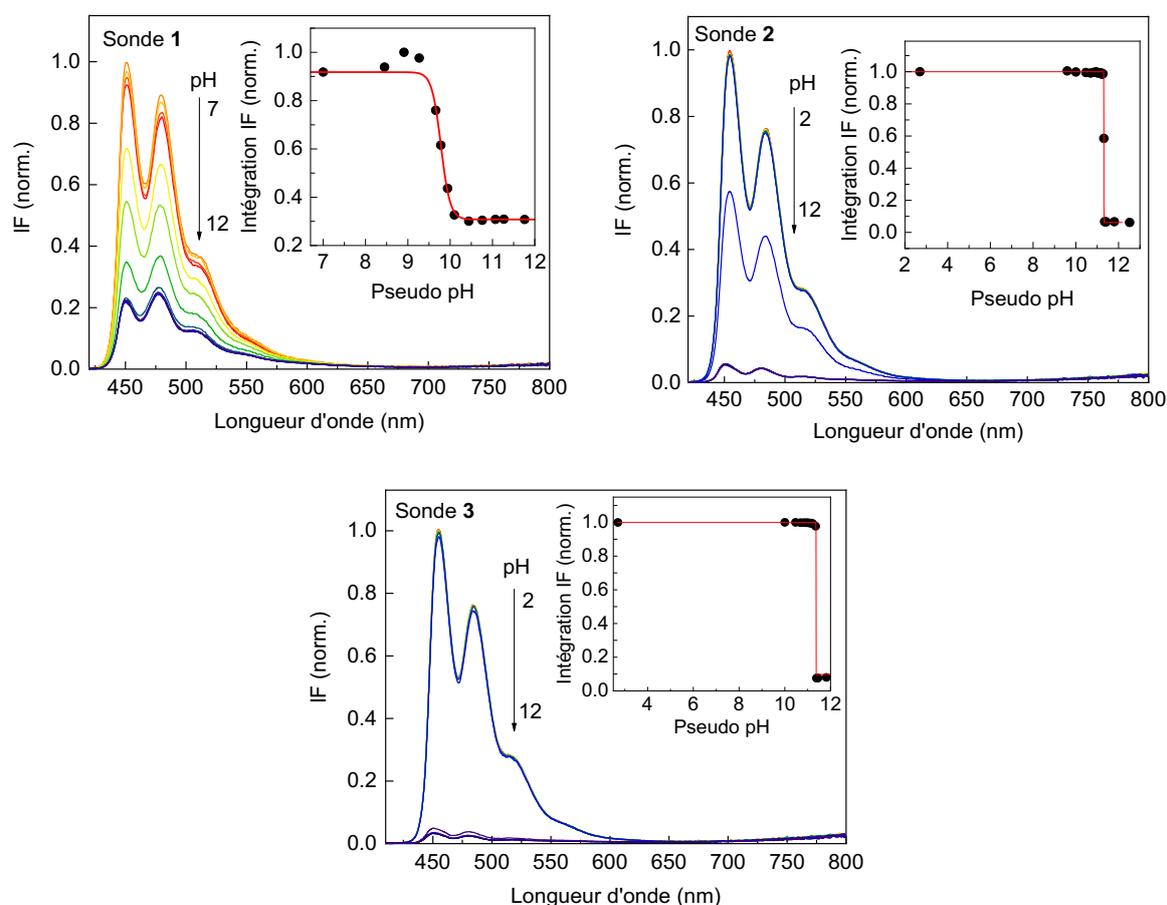


Figure III - 8 : Effet de l'addition de NaOH sur les spectres d'émission des sondes pérylène amine des sondes **S1** ($c = 5,8 \mu M$), **S2** ($c = 1,7 \mu M$) et **S3** ($c = 1,7 \mu M$) dans un milieu DMSO/H₂O 80 :20 v/v. $\lambda_{exc} = 405 \text{ nm}$. Les encarts de chaque courbe de dosage montrent l'évolution d'IF intégrée en fonction du pseudo pH de la solution, ajustée selon l'équation d'Henderson-Hasselback

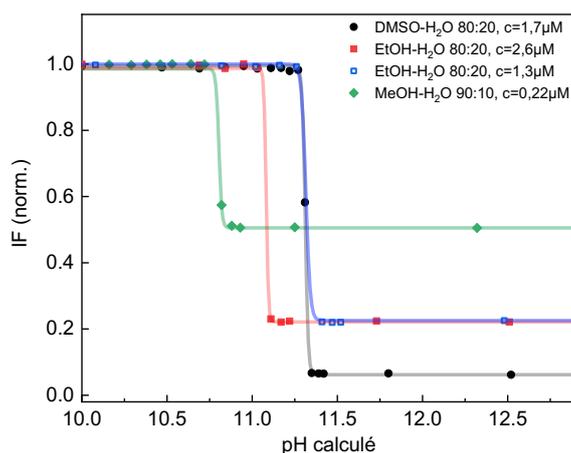


Figure III - 9 : Dosage de la sonde pérylène amine **S2** par NaOH pour diverses concentration en sonde *c* et mélanges de solvants

Solvant (ratio en v/v)	Concentration en sonde 2 (μM)	pKa calculé	ΔIF = IF _{max} - IF _{min}	dpH
DMSO/H ₂ O 80:20	1,7	11,31 ± 4,1.10 ⁻⁴	0,93	0,02 ± 1,8.10 ⁻³
EtOH/H ₂ O 80:20	2,6	11,08 ± 0,01	0,77	0,01 ± 0,06
EtOH/H ₂ O 80:20	1,3	11,32 ± 0,01	0,77	0,03 ± 3,7.10 ⁻³
MeOH/H ₂ O 90:10	0,22	10,81 ± 0,02	0,48	0,02 ± 0,02

Tableau III - 5 : Détermination des paramètres pKa, ΔIF et dpH à partir des dosages de la sonde **S2** par NaOH pour diverses concentrations en sonde *c* et mélanges de solvants

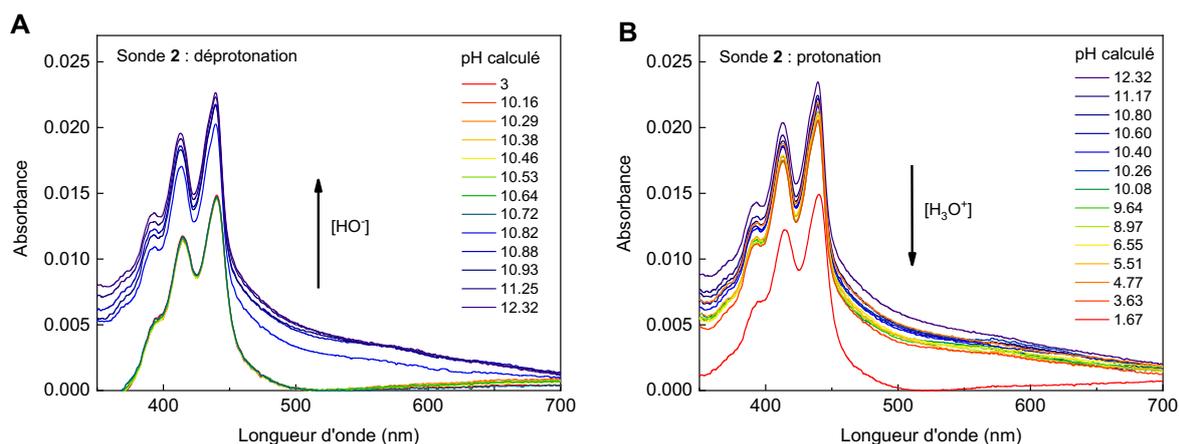


Figure III - 10 : A-Evolution de l'absorbance lors du dosage de la sonde **S2** par NaOH, et B-Lors de la protonation de la sonde par HCl, solvant : MeOH/H₂O 90:10, c=0,22 μM

Par ailleurs, le suivi de l'émission de fluorescence lors d'un cycle de protonation-reprotonation en solution met en évidence la présence d'une hystérèse : le chemin de déprotonation de la sonde de pH pérylène amine **S2** n'est pas identique au chemin de protonation (Figure III - 11) . Ce phénomène singulier d'hystérèse est valorisable puisque ces composés peuvent constituer des commutateurs moléculaires, plus souvent appelés 'molecular switch' dans la littérature. Les commutateurs

moléculaires peuvent servir à la détection de variations locales dans un environnement étudié, comme la détection d'un seuil de température ou de concentration par exemple [21]. Les commutateurs moléculaires peuvent également constituer des machines moléculaires caractérisées par des états ON/OFF ou '0' et '1'. De manière générale, les hystérèses simples sont caractérisées par un état métastable Y différent d'un état à l'équilibre X entre deux structures A et B, comme illustré en Figure III - 12 par Shigeno et al. dans le cas spécifique d'une hystérèse moléculaire thermique.

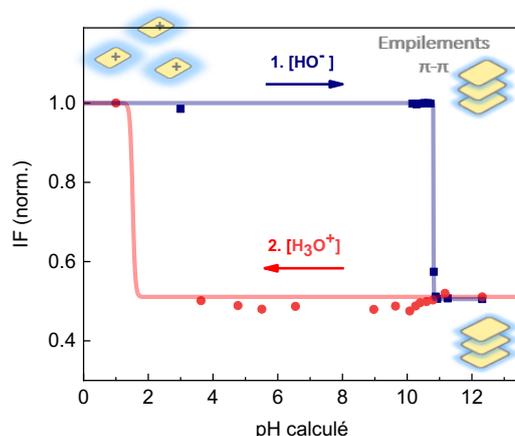


Figure III - 11 : Evolution de l'intensité de fluorescence de la sonde **S2** lors de la déprotonation par ajout de NaOH, et lors de la protonation par ajout de HCl, MeOH/H₂O 90 :10 v/v, c=0,22µM, λ_{exc}=405 nm

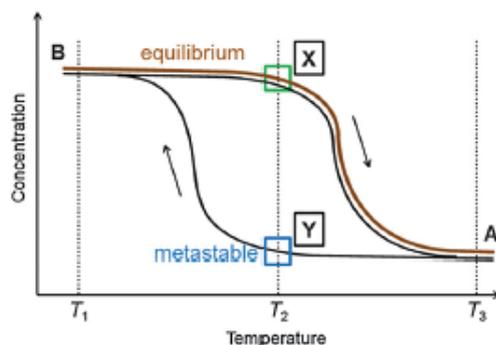


Figure III - 12 : Illustration d'une hystérèse moléculaire thermique [21]

L'organisation des sondes pérylène amine dans leurs états protoné et déprotoné est confirmée par analyse DLS (diffusion dynamique de la lumière ou *Dynamic Light Scattering*) permettant de mesurer la taille des agrégats formés. L'analyse DLS donne accès à la distribution et la taille de protéines, nanoparticules, polymères ou agrégats de molécules, caractérisés par leur mouvement brownien en solution. Le principe de la DLS repose sur l'analyse des fluctuations de l'intensité de lumière diffusée par le milieu, à un angle donné, permettant de relier la vitesse de déplacement des particules à leur taille, en fonction de la viscosité de la solution et son indice de réfraction. Cette technique analytique repose majoritairement sur le traitement mathématique du signal obtenu mais il est essentiel de comprendre ses limites expérimentales. Ainsi, d'après l'étude des limites de détection de l'analyse DLS par Tomaszewska et al., la technique est adaptée aux mesures d'agrégats sur la gamme 2-500 nm et la polydispersité d'un milieu limite la précision de la mesure en raison de l'effet d'écran des particules de taille supérieure [22]. Pour les mesures présentées, les solvants correspondants ont été analysés afin de servir de référence sans agrégats.

Ainsi, le sonde **S3** est solubilisée dans un mélange EtOH/H₂O 80:20 v/v avec une concentration $c=2,6 \mu\text{M}$, et dans un mélange MeOH/H₂O 90 :10 v/v avec $c=0,22\mu\text{M}$. Le pH calculé des solutions est ajusté aux valeurs pH = 2 et pH = 12 afin d'observer l'organisation de la sonde dans ses états protoné et déprotoné. Dans la solution MeOH/H₂O avec une concentration $c=0,22 \mu\text{M}$, la déprotonation induit la formation d'agrégats de diamètre moyen $d = 342 \text{ nm}$ (Figure III - 13-A). De même, en solution plus concentrée $c=2,6 \mu\text{M}$ dans l'EtOH/H₂O, des agrégats de taille moindre sont présents à l'état protoné avec un diamètre moyen $d = 5,2 \text{ nm}$. La déprotonation induit une réorganisation des sondes en solution avec la formation d'agrégats caractérisés par un diamètre moyen super $d = 825 \text{ nm}$ (Figure III - 13-B). Les agrégats formés en milieu basique sont stables et ne sont pas dissous après 30 secondes au bain à ultrasons (Figure III - 14-B). Une augmentation de la taille des agrégats au cours du temps est identifiée par des mesures successives et un diamètre d'équilibre moyen de 1500 nm dans l'EtOH/H₂O 80 :20 v/v est estimé (Figure III - 14).

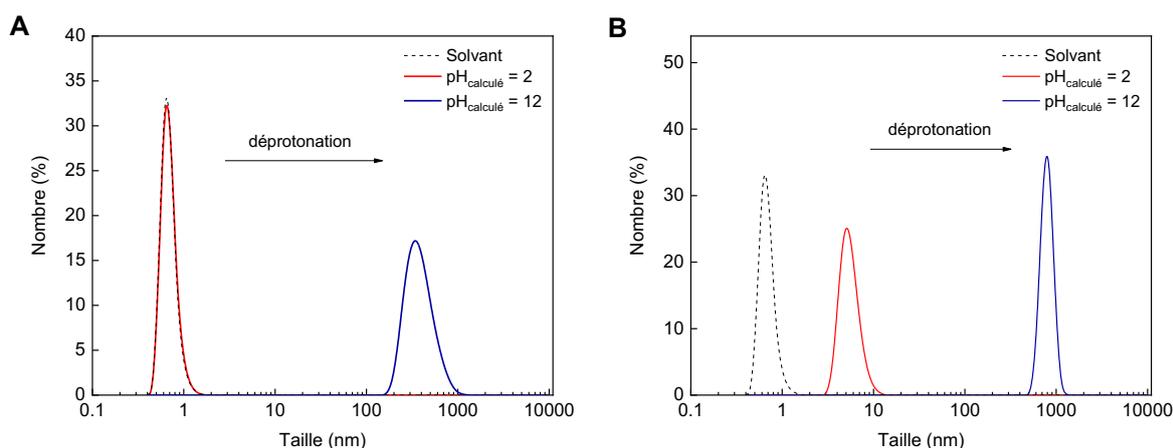


Figure III - 13 : Distributions en nombre de la taille des agrégats formés par la sonde **S3** en solution A - MeOH/H₂O 90 :10 v/v, $c=0,22\mu\text{M}$ et B - EtOH/H₂O 80 :20 v/v, $c=2,6\mu\text{M}$, déterminées par DLS

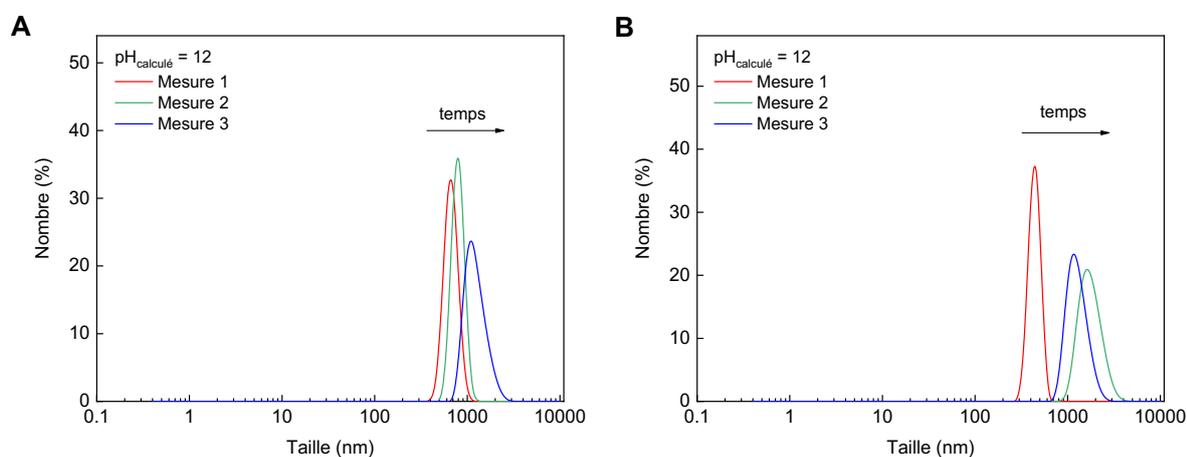


Figure III - 14 : Distributions en nombre de la taille des agrégats formés par la sonde **S3** au cours du temps en solution EtOH/H₂O 80 :20 v/v, $c=2,6\mu\text{M}$, déterminées par DLS par mesures successives A – avant agitation au bain d'ultrasons et B – après 30 s d'agitation au bain d'ultrasons

Cette agrégation réversible des dérivés pérylène a également été étudié par Cho et al. [23] et Muthuraj et al. [24] dans le cas des pérylène diimides présentant une solubilité supérieure aux composés synthétisés ici. Les suivis simultanés de l'absorbance et de l'émission en solution dans les sens de protonation et déprotonation, couplés à l'analyse DLS, suggèrent des phénomènes photophysiques interdépendants :

- Une extinction de fluorescence lors de la déprotonation liée au mécanisme PET entre le pérylène et l'amine déprotonée (Figure III - 8) ;
- Une agrégation des sondes pérylène amine **S2** et **S3** causée par une neutralisation de la molécule : la sonde chargée positivement dans son état protonée ne forme pas d'agrégats en raison de la répulsion électrostatique. Lors de sa déprotonation, les sondes pérylène non chargées forment des empilements π - π ;
- Les sondes déprotonées organisées en empilements π - π nécessitent d'être solubilisées afin d'être protonées à nouveau, d'où l'hystérèse fonction du pH.

I.3. Synthèse et étude de sondes de pH pérylène amine : conclusion

Une sonde pérylène amine secondaire **S1** et deux sondes pérylène amine tertiaires **S2** et **S3** ont été synthétisées. Les valeurs de $pK_a = 11,31 \pm 0,02$ et $11,36 \pm 0,02$ déterminés pour les sondes **S2** et **S3** lors de leur déprotonation en solution, associées à une extinction de fluorescence marquée dans des solvants tels que le DMSO/H₂O ou l'EtOH/H₂O attribuée à un mécanisme PET valident la pertinence de ces sondes fluorescentes pour le suivi de pH basiques. Une agrégation des sondes **S2** et **S3** en solution, lors de leur déprotonation est confirmée par analyse DLS. Cette agrégation induit un phénomène d'extinction de fluorescence. Par ailleurs, les chemins de protonation et déprotonation des sondes pérylènes amines en solution différent et suggèrent l'existence d'un état métastable, caractérisant une hystérèse IF/pH. L'hypothèse d'une faible agrégation des sondes pérylène-amine séquestrées dans une matrice solide, et donc d'absence d'une extinction de fluorescence causée par la formation d'empilements π - π est formulée et doit être vérifiée.

II. Synthèse et étude d'une sonde de pH pérylène guanidine

La seconde fonction d'intérêt choisie afin de constituer une sonde de pH basée sur un pérylène est la guanidine, dont la forme basique possède un $pK_a \sim 11 - 13,5$ (Tableau III - 1).

II.1. Synthèse de la sonde pérylène guanidine

La synthèse des guanidines a été introduite par Kampf et al. en 1904 et la fonction guanidine résultait de la réaction de composés cyanamides avec des amines [25]. Naumiec et al. décrivent par exemple la synthèse de composés guanidines tri-substitués par réaction d'une cyanamide avec un composé X-aniline (Figure III - 15) [26]. Des premiers tests ont donc été réalisés à partir du composé N,N-diethyl cyanamide et la benzylamine afin de former une fonction guanidine substituée. La Figure III - 16 résume les conditions de réaction testées, mais celles-ci n'ont pas permis de former la guanidine correspondante.

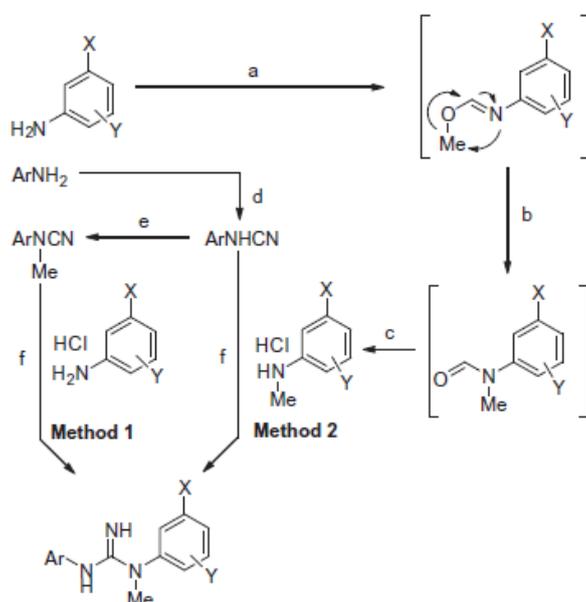


Figure III - 15 : Synthèse de composés N-aryl-N'-(3-substitué)-N'-methylphenyl-guanidines décrite par Naumiec et al. [26]

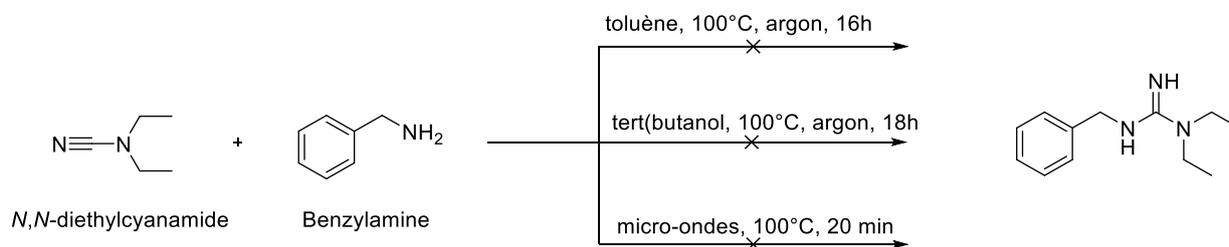


Figure III - 16 : Essais de synthèse d'une fonction guanidine à partir de la N,N-diethylcyanamide

Drake et al. ainsi que Bannard et al. citent les nombreux inconvénients des réactions de cyanamides avec des amines afin de former une fonction guanidine, dont les faibles rendements, les températures élevées nécessaires et le risque de polymérisation [27-28]. D'autres voies de synthèse ont alors été

explorées. Une méthode courante permettant d'introduire une fonction guanidine consiste à faire réagir l'amine avec un dérivé amidine $C(=NH)NH_2$ électrophile [27]. Des essais de formation de la fonction guanidine en deux étapes ont été menés : une première étape consistant à synthétiser un intermédiaire réactionnel permettant de former la fonction guanidine avec addition sur une amine primaire ou secondaire durant une seconde étape. Katritzky et al. décrivent la synthèse d'un intermédiaire réactionnel benzotriazole-1-carboximidamide permettant de synthétiser des guanidines di-, tri- ou tetrasubstituées selon le procédé décrit en Figure III - 17 [29].

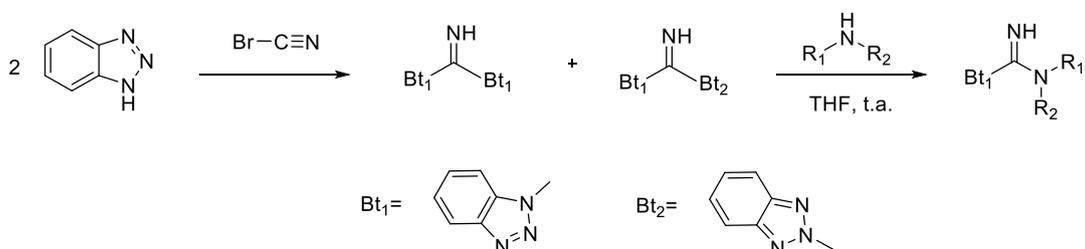


Figure III - 17 : Formation de la guanidine en deux étapes décrite par Katritzky et al. [29]

Dolzhenko et al. présentent la synthèse de composés benzotriazole-1-carboximidamide chlorhydrates avec réaction en milieu HCl concentré, ce protocole a donc été suivi avant de faire varier les conditions expérimentales (Figure III - 18) [30]. L'obtention du composé **2** sous forme de solide et sa purification restent complexes. Une synthèse verte de composés guanidines trisubstitués en absence de solvant avec un chauffage au micro-ondes a également été testée comme suggérée par le protocole de Zahariev et al., faisant réagir un benzotriazole chlorhydrate avec diverses cyanamides, mais le produit **2** est formé avec un rendement faible (33%) [31].

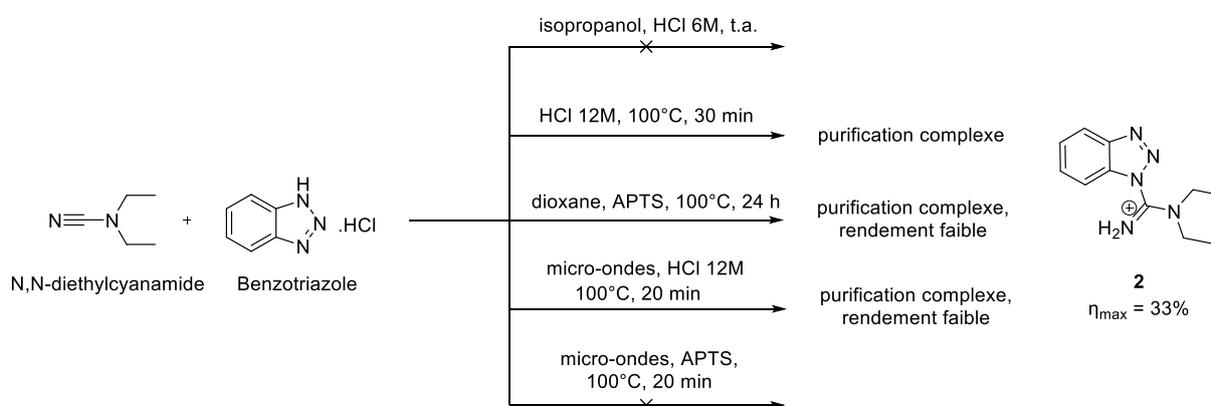


Figure III - 18 : Voies de synthèse testées pour la synthèse de l'intermédiaire réactionnel **2**

Des réactions tests ont tout de même été réalisées avec cet intermédiaire réactionnel **2** et des amines primaire et secondaire ont été sélectionnées comme composés modèles. Ainsi, la réaction de l'intermédiaire **2** avec une amine primaire comme la benzylamine permet d'obtenir le composé guanidine **3** (Figure III - 19). En revanche, la réaction de l'intermédiaire **2** avec une amine secondaire de type diphenylamine ne forme par la fonction guanidine correspondante. Ce manque de réactivité pourrait provenir de l'encombrement stérique de l'amine secondaire sélectionnée comme composé modèle.

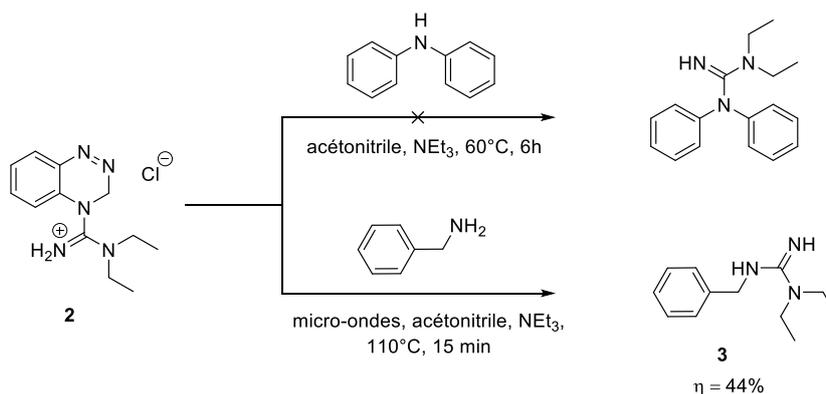


Figure III - 19 : Synthèse d'une fonction guanidine à partir de l'intermédiaire réactionnel synthétisé **2**

La purification de l'intermédiaire réactionnel synthétisé **2** étant complexe, une autre voie de synthèse a été explorée. Par ailleurs, Drake et al. notent les nombreux inconvénients de cette voie de synthèse, dont l'utilisation de bases toxiques et odorantes associée à une faible solubilité des produits synthétisés [27].

Dijols et al. utilisent un composé 1H-pyrazole-1-carboxamide chlorhydrate commercial **4** dont la réaction avec des amines aliphatiques réactives permet de former la guanidine correspondante [32]. Des premières réactions tests ont donc été réalisées à partir de l'intermédiaire commercial **4** avec des composés aromatiques présentant des amines primaires. La benzylamine et le composé 1-pyreneméthylamine ont été sélectionnés comme composés modèle. La Figure III - 20 résume les conditions expérimentales de ces premiers tests. La formation d'une fonction guanidine sur le composé 1-pyreneméthylamine conduisant à un bon rendement et un produit pur **6**, l'intermédiaire commercial **4** a été sélectionné afin de former une fonction guanidine à partir de la sonde pérylène N-octylamine **S1** (Figure III - 21). Le faible rendement obtenu associé à une purification complexe du produit invalident l'utilisation de l'intermédiaire **4** afin de former une fonction guanidine à partir d'amines secondaires de type **S1**.

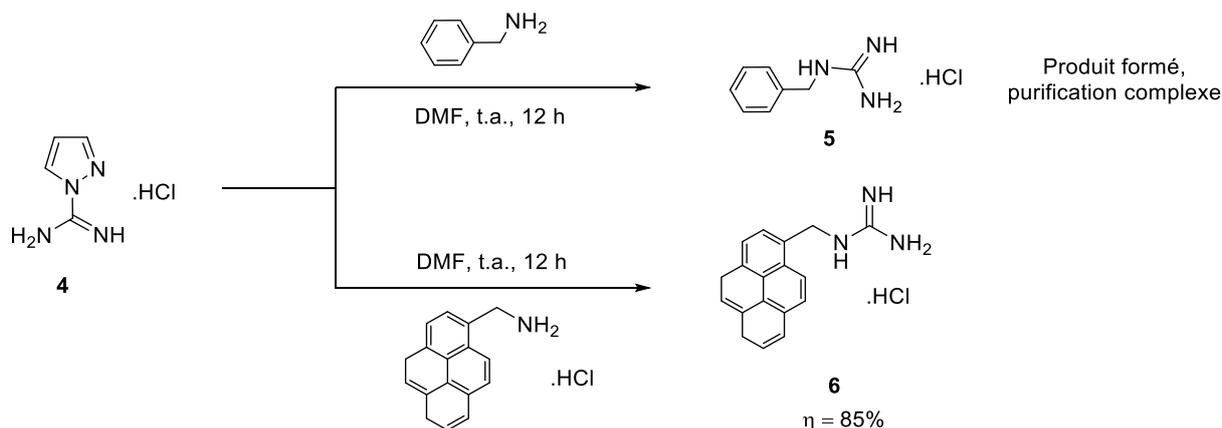


Figure III - 20 : Synthèse d'une fonction guanidine à partir du 1H-pyrazole-1-carboxamide.HCl et d'amines primaires

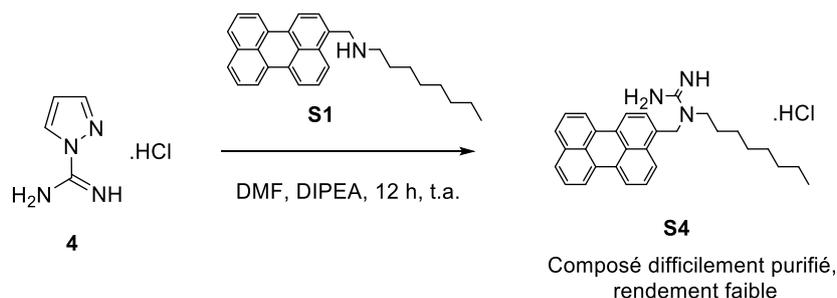


Figure III - 21 : Synthèse de la sonde pérylène N-octyle guanidine **S4** à partir de l'intermédiaire commercial **4**

Dans le cas des amines peu réactives, Dijols et al. proposent un second mode opératoire faisant intervenir un intermédiaire N,N'-bis(tertbutyloxycarbonyl)pyrazole-1-carboxamidine ou N,N'-bis(Boc)pyrazole-1-carboxamidine **7** afin de former une guanidine di-Boc devant être déprotégée durant la dernière étape de la synthèse. Cette voie de synthèse a été explorée afin de tenter d'augmenter le rendement de la réaction mais la guanidine protégée n'a pas été formée (Figure III - 22).

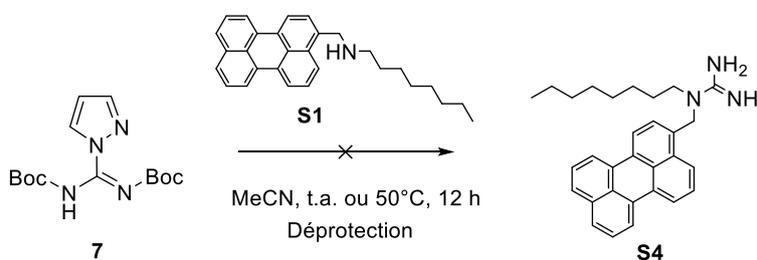


Figure III - 22 : Essai de formation de la fonction guanidine protégée à partir de l'intermédiaire di-Boc **7**

Verdini et al. développent une voie de guanylation simple faisant intervenir un composé thiocarbamide ou thiourée di-Boc [33]. De manière comparable, Powell et al. utilisent un agent de guanylation 1,3-bis(tertbutyloxycarbonyl)-2-méthyl-2-thiopseudourée **8** dont la structure est présentée en Figure III - 23 [34]. Ce dernier protocole a été utilisé afin de synthétiser la sonde **S4**. Ainsi, la sonde **S4** pérylène N-octyle guanidine est synthétisée par réaction de guanylation du pérylène octylamine **1** avec l'agent de guanylation **8** (1 éq.). Après 4 heures de réaction à température ambiante dans le DMF, en présence de triéthylamine NEt_3 (3 éq.) et de chlorure de mercure HgCl_2 (1 éq.), le produit est purifié et solubilisé dans le DCM. Une filtration sur célite permet d'éliminer le mercure et le produit **9** est obtenu avec un rendement de 75% après purification sur colonne. La déprotection de la fonction guanidine est initialement réalisée avec l'acide chlorhydrique HCl 6M dans l'éther afin d'obtenir le pérylène N-octyle guanidine chlorhydrate. La faible solubilité du produit dans les différents solvants organiques testés (chloroforme, méthanol, acétone, acétonitrile, diméthylsulfoxyde) ne permet pas de le caractériser en spectroscopie RMN, ni de réaliser les différentes études spectroscopiques en solution. Une déprotection du composé **9** par l'acide trifluoroacétique (TFA) dans le DCM permet d'obtenir la sonde **S4** avec un rendement de 70%, présentant une meilleure solubilité. Un échange du contre ion TFA^- avec le contre ion PF_6^- a été réalisé par solubilisation de la sonde **S4** dans le méthanol en présence d'hexafluorophosphate de sodium NaPF_6 (5 éq.). La précipitation du produit dans l'eau permet de récupérer le composé **S4** avec le contre ion PF_6^- . La solubilité de la sonde avec les contre ions TFA^- et PF_6^- est comparable.

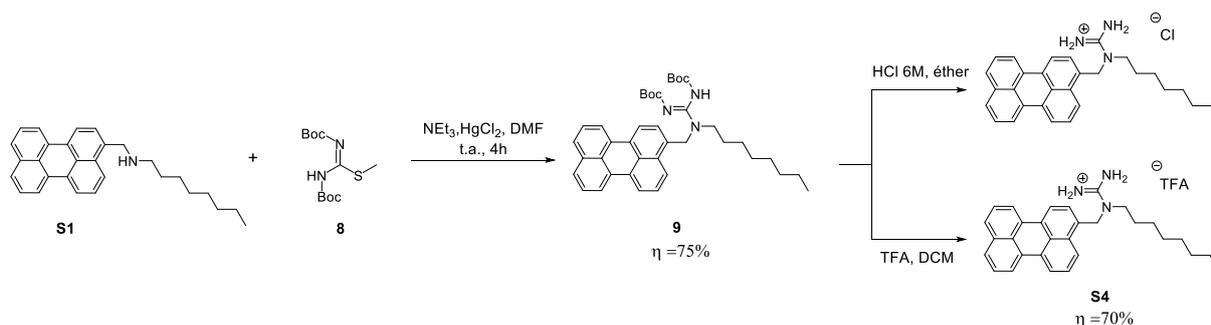


Figure III - 23 : Synthèse de la sonde pérylène N-octyle guanidine **S4** à partir de l'intermédiaire commercial **8**

II. 2. Etude en solution de la sonde de pérylène guanidine

En raison de la faible solubilité de la sonde pérylène N-octyle guanidine **S4**, les études des propriétés photophysiques et photochimiques en solution ont été réalisées en absence d'eau, dans des solvants organiques.

II.2.a. Propriétés photophysiques

Le coefficient d'extinction molaire est déterminé pour la sonde pérylène guanidine **S4** dans le DMSO : $\epsilon = 25125 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$.

II.2.b. Déprotonation de la sonde en solution

Des essais de déprotonation de la sonde **S4** en présence d'eau afin de définir un 'pKa calculé', dans des mélanges de solvants organiques comme les mélanges MeOH:H₂O 80:20 v/v ou DMSO:H₂O 80:20 v/v, ont été réalisés mais aucune extinction de fluorescence n'est visible lors de l'ajout de base NaOH. L'absence d'extinction de fluorescence en milieu aqueux est attribuée à la faible solubilité de la sonde **S4**. L'étude de la déprotonation de la sonde **S4** présentant un contre-ion PF₆⁻ en milieu organique avec la base forte tert-butoxide de sodium CH₃CONa permet de mettre en évidence le mécanisme PET entre le guanidinium et le pérylène, avec une extinction de fluorescence lors de la déprotonation (Figure III - 24-B). Le suivi de l'absorbance met en évidence la formation d'agrégats en solution lors de la déprotonation avec une diffusion croissante, attribuée à la formation d'empilements π - π comme établi pour les sondes pérylène amines (Figure III - 24-A). Une reprotonation de **S4** dans le DMSO en fin de dosage par ajout d'un faible volume d'HCl 6M permet de prouver la réversibilité de la réaction grâce à l'augmentation d'IF d'un facteur 10.

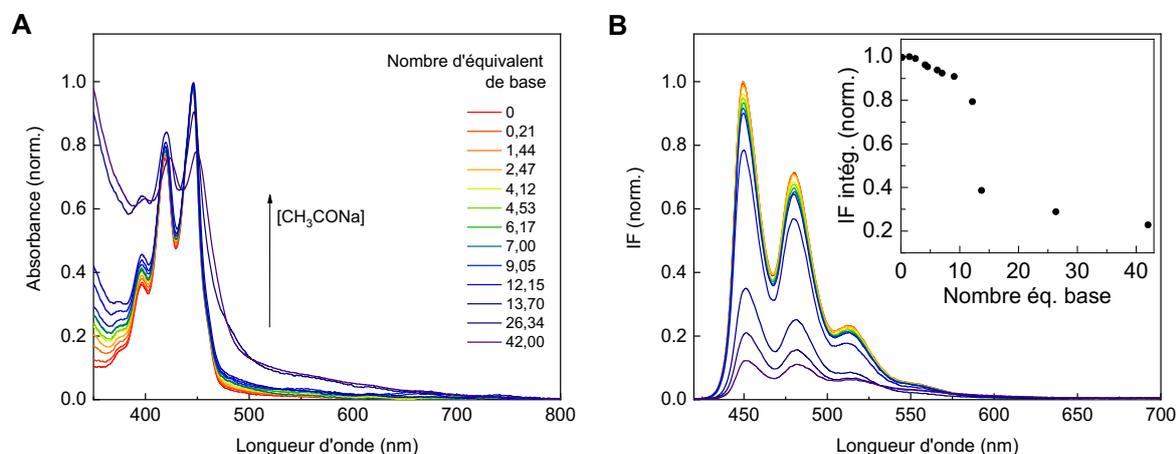


Figure III - 24 : Evolution de l'absorbance (A) et de l'émission (B) lors du dosage de la sonde **S4** par le tert-butoxide de sodium, dans le DMSO, $c=1,7 \mu\text{M}$, $\lambda_{exc} = 405 \text{ nm}$

Kim et al. ont étudié la déprotonation d'un anthracène substitué avec une fonction guanidine di substituée dont la structure **AMG** est présentée en Figure III - 25 – A. Cette sonde fluorescente présente l'avantage d'être hydrosoluble, la caractérisation de ses propriétés photophysiques en fonction du pH est alors réalisée en solution aqueuse. A la différence de la sonde **S4**, l'absorbance du composé synthétisé par Kim et al. dépend du pH de la solution (Figure III - 25 – B) et une augmentation d'IF en fonction du ratio volumique d'eau présent dans une solution dioxane/eau permet d'utiliser cette sonde comme une sonde d'eau. En revanche, de manière similaire au comportement de la sonde **S4**, une extinction de fluorescence en fonction du pH est observée sur la gamme pH = 7,0 – 13,0 (Figure III - 25 – C et D). Kim et al. définissent alors un $\text{pK}_a = 12,2$. La sonde **S4** correspondant à une guanidine monosubstituée, l'hypothèse d'un pK_a proche de 13,0 peut être formulée. Afin de comprendre la mécanisme mis en jeu lors de l'extinction de fluorescence de la sonde, Kim et al s'appuient sur des calculs théoriques et prouvent que le PET n'est pas le mécanisme favorisé pour le composé **AMG** dans son état excité. Leur raisonnement est basé sur la modification de la structure lors de la déprotonation du guanidinium (Figure III - 25 – A) ; la sonde chargée positivement **AMGH⁺** présente des électrons délocalisés induisant une géométrie trigonale planaire stable et rigide. A l'inverse, le composé non chargé **AMG** présente une géométrie flexible permettant un couplage vibronique entre la guanidine et l'anthracène. Ce couplage vibronique permettrait une dissipation de l'énergie d'excitation au niveau de l'anthracène par interaction entre la guanidine de la structure **AMG** et les molécules du solvant environnant. Ce phénomène est connu sous le terme de l'effet 'loose bolt'[35-36]. Des calculs théoriques appliqués au cas de la sonde **S4** permettraient de confirmer cette théorie.

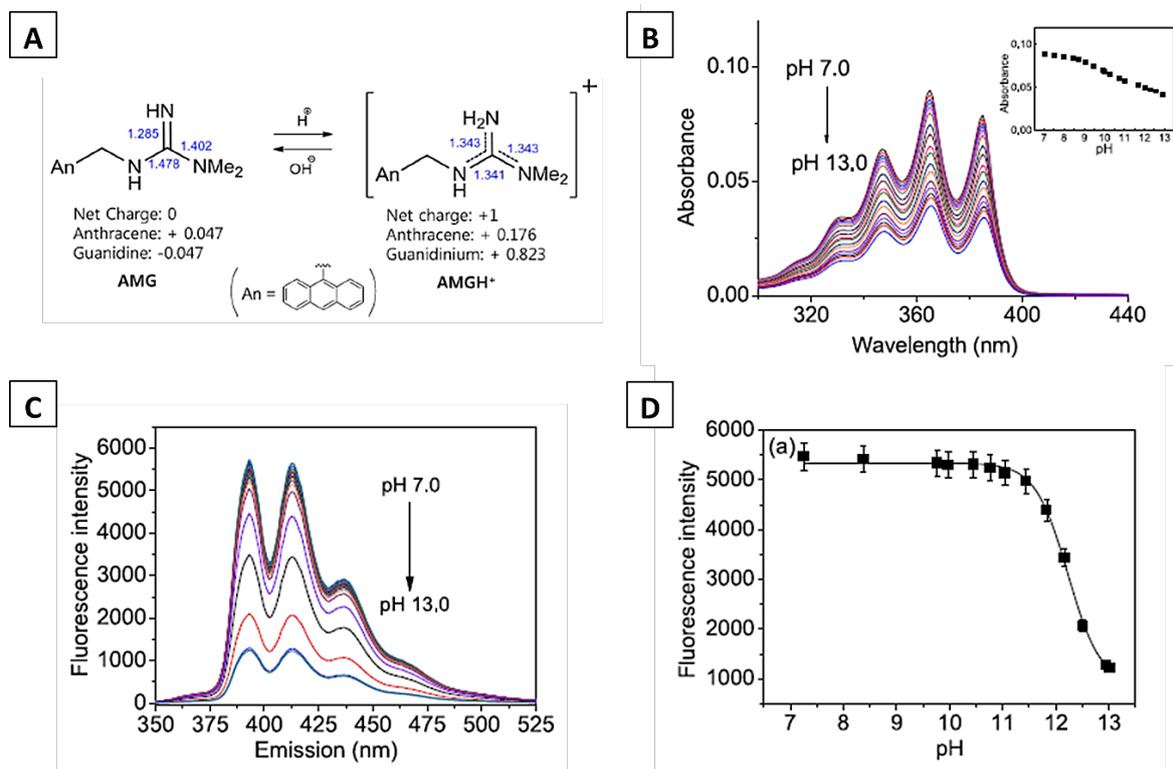


Figure III - 25 : A – Structure de la sonde de pH et d'eau synthétisée par Kim et al. B - Evolution de l'absorbance de la sonde dans une solution tampon phosphate en fonction du pH ($c=20 \mu\text{M}$) C – Evolution de la fluorescence de la sonde dans une solution tampon phosphate en fonction du pH ($c=20 \mu\text{M}$, $\lambda_{exc}=367\text{nm}$) D – Fit d'IF à $\lambda=412 \text{ nm}$ en fonction du pH[36]

II.3. Synthèse et étude d'une sonde de pH pérylène guanidine :

conclusion

La sonde pérylène N-octyle guanidine **S4** est synthétisée à partir de la sonde pérylène amine **S1** avec l'agent de guanylation di-Boc **8** (Figure III - 23). La déprotection de la fonction guanidine par HCl conduit à la sonde **S4** chlorhydrate, peu soluble dans la majorité des solvants organiques. L'échange du contre ion Cl^- par le TFA^- ou le PF_6^- permet d'augmenter la solubilité du composé. L'étude des propriétés photophysiques la sonde **S4** est réalisée en absence d'eau et ne permet donc pas de déterminer un pKa calculé. Une extinction de fluorescence réversible est mise en évidence lors de la déprotonation de la sonde par le tert-butoxide de sodium dans le DMSO. D'après l'étude approfondie de Kim et al. portant sur un anthracène substitué avec une guanidine, un couplage vibronique entre la guanidine et le fluorophore explique l'extinction de fluorescence[36]. Le mécanisme PET envisagé en premier lieu ne permettrait donc pas d'expliquer l'extinction de fluorescence de la sonde **S4** et des calculs théoriques permettraient de confirmer cette hypothèse. Une extinction de fluorescence est tout de même observée en solution lors de la déprotonation de la sonde et d'après les valeurs de pKa = 13,0 – 13,5 pour les fonctions guanidinium trouvées dans la littérature, la sonde **S4** est pertinente pour l'étude du pH de matériaux cimentaires.

III. Hydrogels dopés avec les sondes pérylène

III. 1. Hydrogels dopés avec les sondes pérylène amine

Les sondes pérylène amine **S2** et **S3** ont été physiquement piégées dans des matrices hydrogels afin de constituer des matériaux répondant aux variations de pH. Le choix des hydrogels d'alcool polyvinylique (PVA) réticulé avec le glutaraldéhyde (GA) afin de constituer des matrices hydrophiles PVA-GA perméables aux analytes d'intérêt et stable en milieu basique, ainsi que l'hydrogel commercial HydroMed™ D4, est justifié dans le chapitre II. On s'intéresse à la séquestration physique de la sonde **S2** dans un hydrogel PVA-GA et dans un hydrogel HydroMed™ D4. La sonde **S3** est physiquement piégée dans la matrice HydroMed™ D4 et le cas particulier de son greffage covalent dans l'hydrogel PVA-GA est traité par la suite. Les concentrations en sonde sont exprimées en $\mu\text{mol/g}$ et correspondent à la quantité de matière de sonde introduite dans un gramme de solution obtenue par solubilisation de l'HydroMed™ D4 ou du PVA et GA dans les solvants respectifs.

III.1.a. Hydrogels HydroMed™ D4

Des hydrogels HydroMed™ D4 dopés avec les sondes pérylène amine **S2** et **S3** sont préparés selon le protocole détaillé dans le chapitre II. Des hydrogels minces sont préparés par application d'une solution d'HydroMed™ D4 10% dans le THF dopée avec la sonde de pH correspondante sur un substrat en HDPE d'épaisseur 0,1 mm. L'utilisation d'un applicateur automatique muni d'un rouleau fileté de 100 μm permet d'obtenir des hydrogels d'épaisseur moyenne 4,9 μm . Différentes concentrations massiques de sonde dissoute dans la solution d'HydroMed™ D4 sont testées. Le profil d'émission des hydrogels est déterminé à l'aide du montage adapté sur le spectrofluorimètre décrit dans le chapitre II et permet de sélectionner la concentration massique en sonde idéale. En effet, un hydrogel HydroMed™ D4 sans sonde préparé selon le même protocole sur un substrat en HDPE, absorbant et émettant peu sur la zone d'intérêt, on considère que la sonde de pH fluorescente contribue exclusivement au spectre d'émission obtenu pour un hydrogel étudié (Figure III - 26).

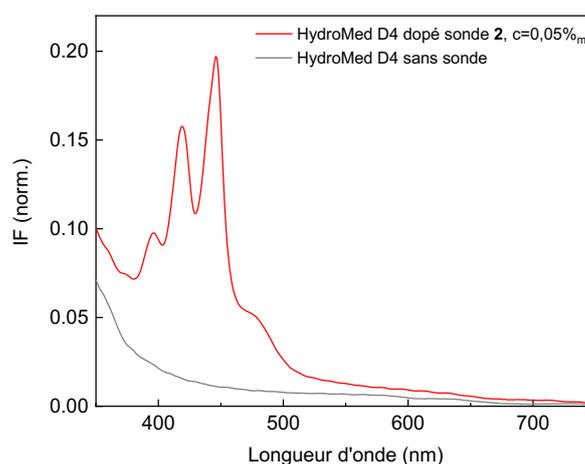


Figure III - 26 : Spectres d'absorbance d'un hydrogel mince HydroMed™ D4 dopé avec la sonde de pH **S2** ($c=0,1 \mu\text{mol/g}$), et d'un hydrogel HydroMed™ D4 non dopé

Ainsi, des concentrations en sonde **S2** de 2,45 $\mu\text{mol/g}$ et 0,25 $\mu\text{mol/g}$ forment des excimères et des agrégats d'après la bande d'émission centrée à $\lambda=580 \text{ nm}$, absente du spectre d'émission en solution et caractéristique de l'émission d'excimères formés par le pérylène (Figure III - 27) [37]. L'hydrogel préparé avec une concentration en sonde **S2** $c=0,1 \mu\text{mol/g}$ présente une concentration moindre en excimères d'après l'élargissement des bandes d'émission et correspond à la concentration retenue

pour l'élaboration de l'ensemble des hydrogels étudiés. Des hydrogels avec une concentration $c=0,05$ $\mu\text{mol/g}$ ont également été préparés mais n'ont pas été retenus en raison de leur faible émission.

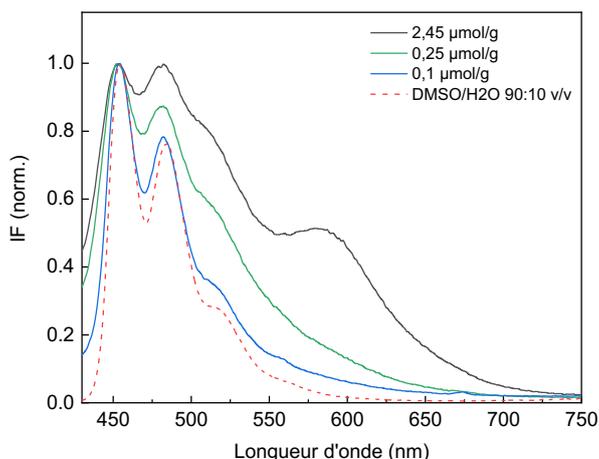


Figure III - 27 : Evolution du spectre d'émission des hydrogels minces HydroMed™ D4 en fonction de la concentration massique en sonde **S2** et spectre d'émission de la sonde **S2** en solution DMSO/H₂O $c=1,7\mu\text{M}$, $\lambda_{exc}=405\text{nm}$

Les hydrogels HydroMed™ D4 minces préparés sur les substrats en HDPE n'ont pas été retenus pour le développement d'une optode de pH en raison du manque d'adhésion entre l'HydroMed™ D4 et l'HDPE lors des mesures en solution. Cet aspect a été discuté dans le chapitre II et des hydrogels sans substrat sont préparés par drop casting. La mise en forme des hydrogels par drop casting permet d'obtenir des hydrogels dopés dont l'épaisseur moyenne de $161\ \mu\text{m} \pm 5\ \mu\text{m}$ dans leur état hydraté est mesurée à l'aide d'un micromètre digital. Le montage de l'optode adapté sur le spectrofluorimètre permet de modifier le pH de la solution en contact avec l'hydrogel et d'observer l'effet de la variation du pH sur l'émission des hydrogels HydroMed™ D4. Le pH de la solution est suivi à l'aide d'un pH-mètre préalablement calibré. Ainsi, une déprotonation des sondes **S2** et **S3** physiquement piégées dans l'HydroMed™ D4 induit une extinction de fluorescence attribuée au mécanisme PET observé en solution (Figure III - 28). La réversibilité de l'extinction de fluorescence signale bien une réponse des sondes aux variations du pH. Cependant, cette extinction est faible et peu visible à l'œil nu dans le cas de la sonde pérylène amine **S2** (Figure III - 28-A et Figure III - 29-A), suggérant une séquestration de la sonde dans les domaines hydrophobes de la matrice polyuréthane induisant une inaccessibilité de la sonde. En revanche, la sonde pérylène amine **S3** piégée dans la même matrice présente une extinction de fluorescence proche de 25% et visible à l'œil nu (Figure III - 28-B et Figure III - 29-B). Les groupements hydroxyles de la sonde **S3** lui confère certainement une meilleure solubilité dans les domaines hydrophiles de la matrice HydroMed™ D4, impliquant une accessibilité améliorée vis-à-vis des ions hydroxydes et hydroniums. Au vu de l'extinction partielle des hydrogels HydroMed™ D4, la majorité des sondes pérylène amine **S2** et **S3** doivent être séquestrées dans les zones hydrophobes de la matrice.

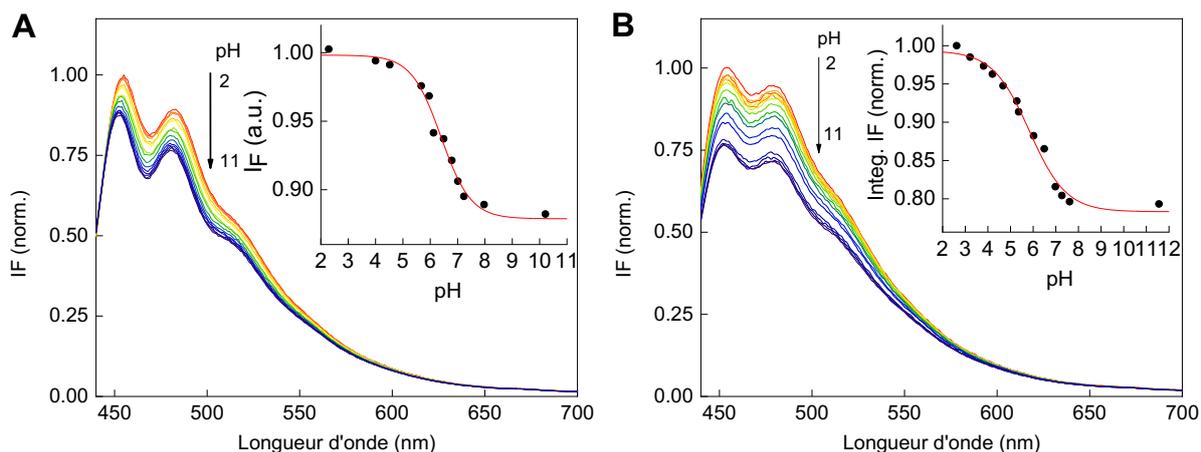


Figure III - 28 : Evolution de l'émission d'un hydrogel HydroMed™ D4 dopé avec la sonde pérylène amine **S2** (A) et la sonde pérylène amine **S3** (B) en fonction du pH, $c = 0,1 \mu\text{mol/g}$, $\lambda_{\text{exc}} = 405\text{nm}$. Encarts : intégration d'IF en fonction du pH, ajusté avec la relation d'Hendersen-Hasselbalch selon l'algorithme de Levenberg-Marquardt couplé à la méthode des moindres carrés

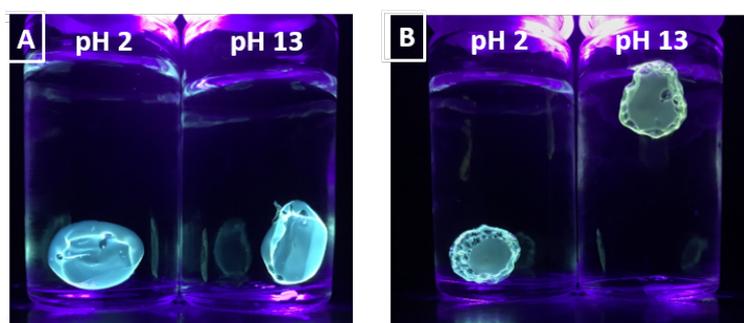


Figure III - 29 : Hydrogels HydroMed™ D4 dopés avec la sonde pérylène amine **2** (A) et pérylène amine **3** (B) dans une solution aqueuse à pH=2 et pH=13, $\lambda_{\text{exc}} = 405\text{nm}$

Le suivi de l'émission des sondes **S2** et **S3** physiquement piégées dans la matrice HydroMed™ D4 permet de définir des valeurs de pKa et dpH selon un raisonnement identique à celui mené en solution. Ainsi, on définit un $\text{pKa} = 6,39 \pm 0,05$ et $\text{dpH} = 1,2 \pm 0,1$ pour la sonde pérylène amine **S2** piégée dans l'HydroMed™ D4. On note qu'IF ne suit pas une évolution selon l'équation d'Henderson-Hasselback modifiée dans le cas de la sonde de pH **S3** (Figure III - 28-B). Ce comportement peut être attribué à l'interaction spécifique entre la sonde et l'HydroMed™ D4. La diminution du pKa par rapport à la sonde libre en solution, non observée dans le cas de la sonde Naphth-AlkyneOMe physiquement piégée dans la matrice HydroMed™ D4 par exemple, témoigne d'une interaction spécifique entre la sonde pérylène amine tertiaire **S2** et la matrice polyuréthane HydroMed™ D4. De même, dans le cas de la sonde **S3** physiquement piégée dans l'HydroMed™ D4, un $\text{pKa} = 5,84 \pm 0,13$ et $\text{dpH} = 1,9 \pm 0,2$ est défini. Cette interaction spécifique entre un fluorophore aromatique présentant une fonction amine et un polyuréthane a été identifiée par Draxler et Lippitsch dans le cas spécifique d'un pyrène présentant une fonction amine tertiaire [38]. Ainsi, le composé N-ethyl-N-(pyren-1-ylmethyl-ethanamine est physiquement piégé dans un polyuréthane et les auteurs déterminent un $\text{pKa} = 7,7$.

Les hydrogels HydroMed™ D4 dopés avec les sondes **S2** ou **S3** ont été installés dans l'unité de détection de l'optode dont le montage est présenté dans le chapitre II. Des cycles de protonation-déprotonation des sondes sont effectués sur des temps longs dans des solutions tampons avec un pH = 4 (tampon acétate) et pH = 9 (tampon $\text{NaHCO}_3/\text{Na}_2\text{CO}_3$) afin de prouver la réversibilité des sondes de pH piégées dans l'HydroMed™ D4 et étudier leur photostabilité en fonction du pH. En premier lieu, l'hydrogel HydroMed™ D4 est positionné seul dans l'unité de détection de l'optode. Les mesures ont donc été réalisées en absence de référence interne. Le changement de solution tampon induit une variation du

milieu optique, générant des perturbations de signal non significatives. Ces perturbations du signal ont été retirées de l'ensemble des graphiques obtenus avec le montage de l'optode afin d'en améliorer la lisibilité. Le réglage des détections synchrones a été effectué de manière à acquérir deux points par seconde afin de déterminer les temps de réponse des matrices dopées avec précision. Un aussi grand nombre de point n'est pas nécessaire et une moyenne glissante sur 10 points permet d'améliorer la lisibilité du signal d'intensité. L'ensemble des données acquises avec le montage de l'optode de pH sont présentées après application d'une moyenne glissante sur 10 points dans la suite du manuscrit. Une variation de l'intensité $\Delta IF(\text{pH}) \sim 10 \text{ mV}$ en fonction du pH est relevé (Figure III - 30). La diminution d'IF lors de la déprotonation de la sonde est en adéquation avec le mécanisme PET observé en spectrofluorimétrie. Le signal acquis présente des perturbations du signal, notamment liées aux variations d'indice optique lors de la manipulation de l'optode. Le choix d'intégrer une référence interne afin de réaliser des mesures ratiométriques peu perturbées par les variations externes prend alors sens.

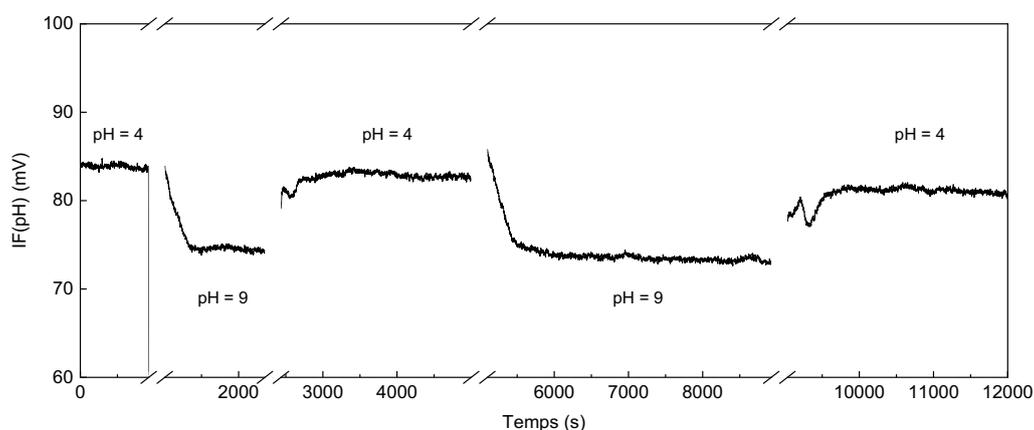


Figure III - 30 : Suivi de l'intensité de fluorescence d'un hydrogel HydroMed™ D4 dopé avec la sonde pérylène amine **S3** sur le montage de l'optode, lors de deux cycles de pH = 4 – pH = 9, moyenne glissante sur 10 points

Une membrane de polystyrène dopée avec des quantum dots CdSe/ZnS a été installée entre la lame de verre et l'hydrogel étudié afin de constituer une référence interne. L'intensité du signal de référence interne est d'environ 40 mV pour l'ensemble des mesures et varie peu en fonction du pH, validant le montage optique et le choix des matériaux constituant la référence interne (Figure III - 31-A). Pour l'ensemble des mesures réalisées à l'aide d'une référence interne, le signal $IF(\text{Ref})$ correspond au signal collecté au niveau du tube photomultiplicateur (PMT) de la voie de référence, et $IF(\text{pH})$ correspond au signal collecté au niveau du PMT de la voie de pH. Le rapport entre les deux intensités $\frac{IF(\text{pH})}{IF(\text{Ref})}$ correspond alors à une mesure ratiométrique, ou corrigée en fonction de la référence interne.

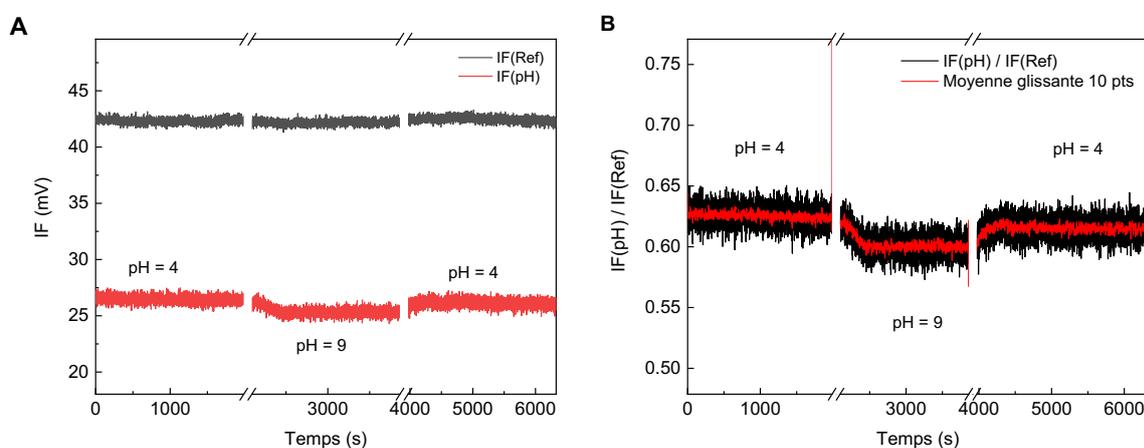


Figure III - 31 : A-Suivi de l'intensité de fluorescence d'un hydrogel HydroMed™ D4 dopé avec la sonde pérylène amine **S3** et de la référence interne au cours du temps, sur le montage de l'optode, lors d'un cycle de pH = 4 – pH = 9. B- Rapport IF(pH)/IF(Ref) déduit de A

Ainsi, une faible extinction de fluorescence est observée avec l'optode de pH dans le cas d'une séquestration physique de la sonde pérylène amine **S3** dans une matrice HydroMed™ D4. L'ajout d'un matériau absorbant une partie de l'excitation mais également d'émission engendre un effet de filtre interne. L'ajout d'un matériau optiquement absorbant occupant le rôle de référence interne conduit donc à une diminution du rapport ΔIF mais contribue à la fiabilité de l'optode de pH. La fiabilité de la mesure étant un critère essentiel au développement d'une optode de pH, le choix de réaliser les mesures en présence d'une référence interne a été effectué. Ce choix est également justifié par la sensibilité du système optique développé pouvant relever de faibles variations du signal optique.

De manière similaire, un hydrogel HydroMed™ D4 dopé avec la sonde de pH pérylène amine **S2** a été installé dans l'unité de détection de l'optode, en présence de la référence interne. De même, une faible variation du rapport $\frac{IF(pH)}{IF(Ref)}$ en fonction du pH, en adéquation avec les résultats obtenus en spectrofluorimétrie, est constaté (Figure III - 32).

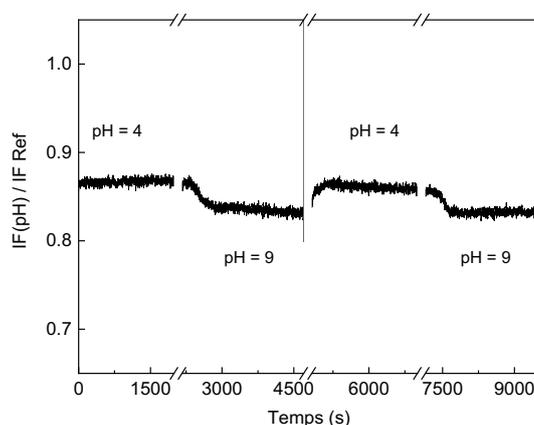


Figure III - 32 : Suivi du rapport IF(pH)/IF(Ref) pour un hydrogel HydroMed™ D4 dopé avec la sonde pérylène amine **S2** au cours du temps, sur le montage de l'optode, lors de cycles de pH = 4 – pH = 9

Un temps de réponse t_{90} peut être défini pour les deux hydrogels HydroMed™ D4 lors du passage de pH = 4 vers pH = 9. Ainsi, un temps de réponse moyen $t_{90} = 335$ s pour la sonde pérylène amine **S2** physiquement piégée dans l'HydroMed™ D4 est obtenu. Un temps de réponse moyen $t_{90} = 257$ s est obtenu pour la sonde pérylène amine **S3** physiquement piégée dans l'HydroMed™ D4. Ces temps de réponse sont supérieurs à ceux obtenus pour la sonde NaphthAlkyne-OMe physiquement piégée dans les hydrogels GAx-PVA10. Ces temps de réponse supérieurs peuvent être justifiés par la localisation probable des sondes pérylène amine dans les domaines hydrophobes de la matrice et constituent des ordres de grandeurs acceptables pour le suivi du pH de matériaux cimentaires. Enfin, la photostabilité des sondes pérylène amine **S2** et **S3** piégées dans l'HydroMed™ D4 avec une excitation continue pendant plus de 2000 s est à noter pour les sondes dans leur état protoné comme déprotoné (Figure III - 30 et Figure III - 32).

La sonde pérylène **S1** présentant une fonction amine secondaire a également été séquestrée dans une matrice HydroMed™ D4 afin de comprendre si une variation du degré de substitution de l'azote impacte les interactions spécifiques entre une sonde pérylène amine et un polyuréthane. Ainsi, des hydrogels HydroMed™ D4 dopés avec la sonde **S1** ont été préparés par drop casting de manière identique. La déprotonation par une solution de NaOH induit une faible extinction de fluorescence et un faible $pK_a = 5,35 \pm 0,11$, ainsi qu'un $dpH = 1,8 \pm 0,2$ sont définis pour ces hydrogels. La faible

extinction de fluorescence La réversibilité de la sonde est confirmée à l'aide du montage de l'optode et un comportement similaire à l'amine tertiaire (sonde **S2**) dans la matrice HydroMed est observé. La réversibilité de la déprotonation est prouvée sur le montage de l'optode (Figure III - 34). L'ajout d'une référence interne ne permet pas de visualiser un ΔIF sur ce montage en raison de l'extinction de fluorescence faible. La sonde pérylène amine **S1** reste photostable. Ainsi, moduler le degré de substitution de l'azote ne permet pas de limiter les interactions avec la matrice polyuréthane.

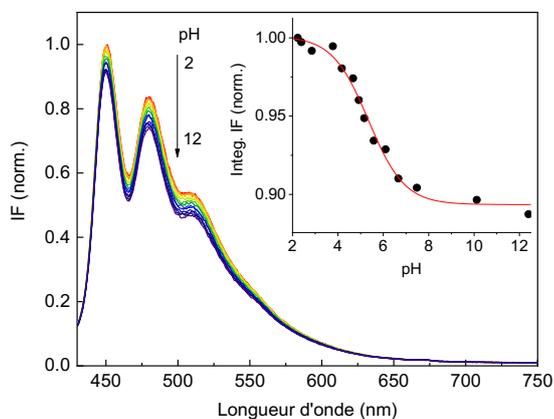


Figure III - 33 : Evolution de l'émission d'un hydrogel HydroMed™ D4 dopé avec la sonde pérylène amine **S1** en fonction du pH, $c=1,2\mu\text{mol/g}$, $\lambda_{\text{exc}}=405\text{nm}$. Encart : intégration d'IF en fonction du pH, ajusté avec la relation d'Hendersen-Hasselbalch selon l'algorithme de Levenberg-Marquardt couplé à la méthode des moindres carrés

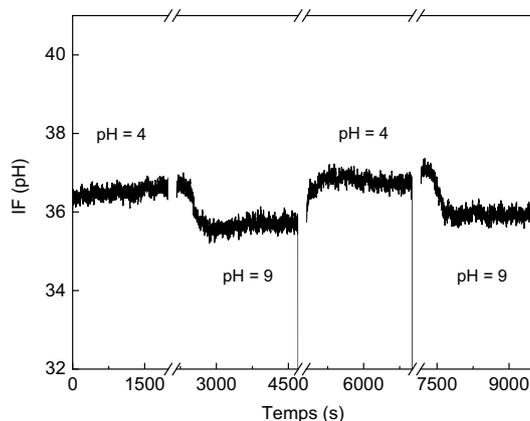


Figure III - 34 : Suivi d'IF(pH) pour un hydrogel HydroMed™ D4 dopé avec la sonde pérylène amine **S1** au cours du temps, sur le montage de l'optode, lors de cycles de pH = 4 – pH = 9

Les interactions spécifiques des sondes pérylène amine avec le polyuréthane HydroMed™ D4 induit une nette diminution du pKa de la sonde, invalidant le choix de cette option pour le suivi du pH de matériaux cimentaires. Il est intéressant d'étudier le cas d'une séquestration physique d'une sonde pérylène amine tertiaire dans un hydrogel présentant une composition chimique différente afin d'établir la présence ou l'absence d'une interaction spécifique dans ce cas. Le choix de piéger la sonde pérylène amine **S2** dans un hydrogel PVA-GA dont la synthèse et la mise en forme est maîtrisée a été effectué.

III.1.b. Hydrogels PVA-GA

Des hydrogels GA2-PVA10 dopés avec la sonde pérylène amine **S2** sont préparés selon le protocole détaillé dans le chapitre II. La mise en forme des hydrogels à l'aide d'un applicateur automatique muni d'un rouleau fileté de 100 μm permet d'obtenir des hydrogels dopés minces, dont l'épaisseur moyenne de $86 \mu\text{m} \pm 5 \mu\text{m}$ dans leur état déshydraté est mesurée à l'aide d'un micromètre digital. La comparaison des spectres d'émission de la sonde **S2** en solution DMSO/H₂O 80 :20 et séquestrée dans les hydrogels permet de constater une solubilité accrue de la sonde dans une matrice GA-PVA en comparaison avec la matrice HydroMed™ D4 présentant une concentration identique en sonde de pH. Un déplacement bathochrome des spectres d'émission pour les hydrogels dopés associés à une augmentation des largeurs des bandes d'émission par rapport au spectre en solution implique la présence d'agrégats de sonde dans les hydrogels. L'émission des hydrogels GA2-PVA10 dopés avec la sonde pérylène amine **S2** a été observée en fonction de la variation du pH et une extinction de fluorescence attribuée à un mécanisme PET entre l'amine déprotonée et le pérylène a permis de définir les paramètres pKa et dpH. Ainsi, la sonde pérylène amine **S2** possède un pKa = $7,36 \pm 0,05$ et dpH = $0,9 \pm 0,1$ lorsqu'elle est physiquement piégée dans une matrice GA2-PVA10. Un temps de réponse court $t_{90} = 148 \text{ s}$ est déterminé lors de la déprotonation pour la sonde **S2** piégée dans la matrice GA2-PVA10 grâce au montage de l'optode.

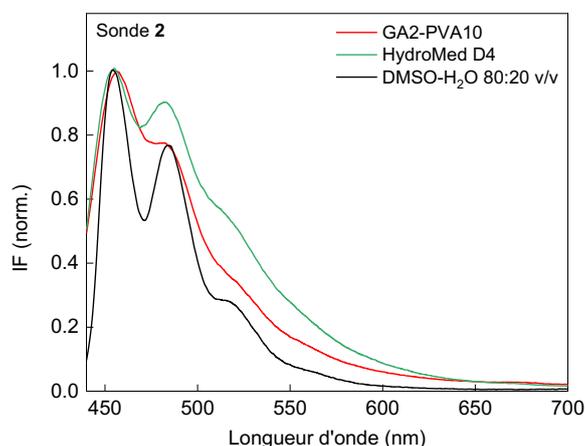


Figure III - 35 : Spectres d'émission de la sonde **S2** solubilisée en solution DMSO/H₂O 80 :20 v/v ou physiquement séquestrée dans un hydrogel GA2-PVA10 ou HydroMed™ D4

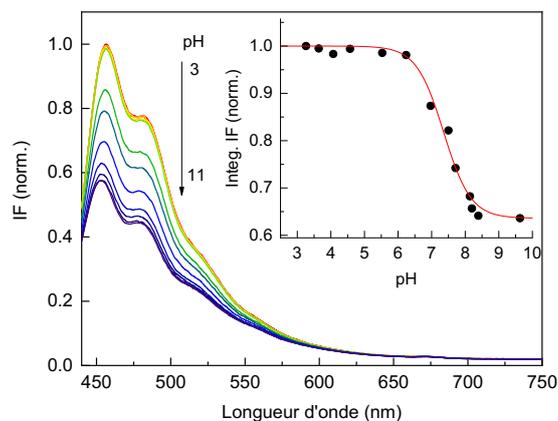


Figure III - 36 : Evolution de l'émission d'un hydrogel GA2-PVA10 dopé avec la sonde pérylène amine **S2** en fonction du pH, $c=0,1 \mu\text{mol/g}$, $\lambda_{exc}=405\text{nm}$. Encart : intégration d'IF en fonction du pH, ajusté avec la relation d'Henderson-Hasselbalch selon l'algorithme de Levenberg-Marquardt couplé à la méthode des moindres carrés

La sonde pérylène amine **S3** peut-être greffée de manière covalente dans une matrice hydrogel GA-PVA en raison de la présence des groupements hydroxyles (Figure III - 37). Des hydrogels GA2-PVA10 minces ont été dopés avec la sonde pérylène amine **S3**, avec une concentration massique $c_{\text{sonde}} = 0,1 \mu\text{mol/g}$. Une comparaison des spectres d'émission des hydrogels obtenus prouve la présence d'agrégats dans le cas d'une sonde liée de manière covalente à la matrice PVA-GA (Figure III - 38). D'après ces spectres d'émissions, la sonde est cependant mieux solubilisée dans la matrice PVA-GA que dans la matrice HydroMed™ D4. La comparaison des spectres d'émission de la sonde pérylène amine **S2** physiquement séquestrée dans une matrice GA2-PVA10 (Figure III - 35) et de la sonde pérylène amine **S3** greffée de manière covalente dans une matrice GA2-PVA10 (Figure III - 38) indique qu'un greffage covalent n'améliore pas la distribution des sondes pérylène amine dans une matrice GA-PVA.

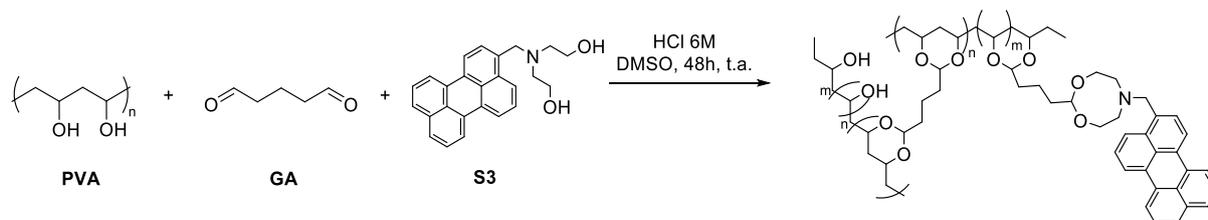


Figure III - 37 : Réticulation de l'alcool polyvinylique (PVA) par le glutaraldéhyde (GA) en présence de la sonde pérylène amine **S3** par catalyse acide à température ambiante

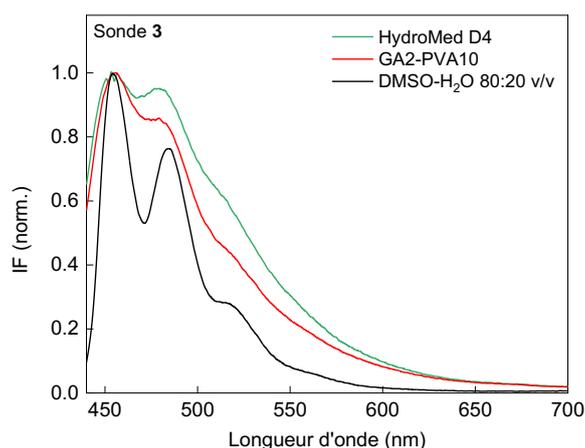


Figure III - 38 : Spectres d'émission de la sonde **S2** solubilisée en solution DMSO/H₂O 80 :20 v/v ou physiquement séquestrée dans un hydrogel GA2-PVA10 ou HydroMed™ D4

L'effet d'une déprotonation par NaOH sur le spectre d'émission d'un hydrogel GA2-PVA10 est étudié sur le montage du spectrofluorimètre. Ainsi, une extinction de fluorescence attribuée au mécanisme PET entre l'amine déprotonée et le pérylène est mise en évidence (Figure III - 39). Les paramètres pK_a et dpH sont définis : $pK_a = 7,05 \pm 0,05$ et $dpH = 1,4 \pm 0,1$ pour une sonde pérylène amine greffée dans une matrice GA2-PVA10. Le pK_a est sensiblement inférieur à celui obtenu avec une sonde pérylène amine physiquement piégée dans une matrice GA2-PVA10. Les sondes pérylène amine **S2** et **S3** ne possédant pas une structure moléculaire et une solubilité identiques malgré leur fonction amine tertiaire commune, il est difficile d'interpréter cette différence de pK_a en fonction du mode de séquestration. On remarque toute de même que l'ajustement des données selon l'équation d'Hendersen-Hasselbalch modifiée est moins satisfaisant pour la sonde de pH greffée sur la gamme de pH acide. La variation du mode de séquestration des sondes induit forcément une modification des interactions entre les sondes et la matrice GA2-PVA10. L'extinction de fluorescence n'étant pas totale, une partie des sondes ne doit pas être accessible à la déprotonation par la solution basique. Une extinction d'environ 40% du signal est tout de même obtenue et est du même ordre de grandeur que

l'extinction obtenue avec la sonde pérylène amine **S2** physiquement piégée dans la matrice GA2-PVA10. Les taux de décroissance de la fluorescence pour la sonde **S3** greffée dans la matrice GA2-PVA10 ont été acquis par des mesures de fluorescence résolues en temps, à pH = 4 et pH = 11 (Figure III - 40). Les profils de décroissance multi exponentiels confirment l'organisation en agrégats de la sonde. Les données sont ajustées avec trois exponentielles en définissant trois taux de décroissance τ_1 , τ_2 et τ_3 en adéquation avec les taux de décroissance déterminés pour les sondes en solution, avec la composante élevée témoignant de la présence d'agrégats [39].

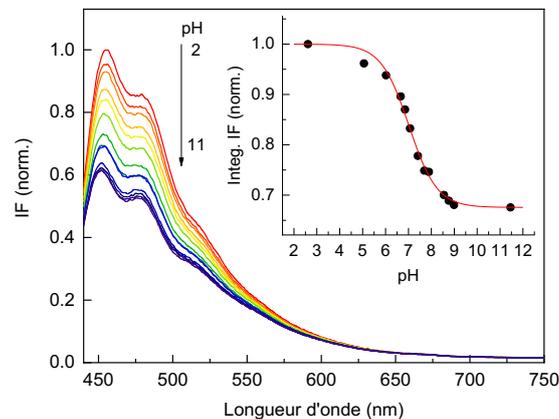
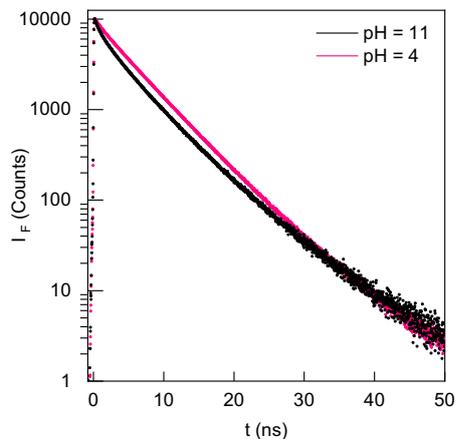


Figure III - 39 : Evolution de l'émission d'un hydrogel GA2-PVA10 dopé avec la sonde pérylène amine **S3** en fonction du pH, $c=0,1 \mu\text{mol/g}$, $\lambda_{exc}=405\text{nm}$. Encart : intégration d'IF en fonction du pH, ajusté avec la relation d'Hendersen-Hasselbalch selon l'algorithme de Levenberg-Marquardt couplé à la méthode des moindres carrés



pH	α_1	τ_1 (ns)	α_2	τ_2 (ns)	α_3	τ_3 (ns)	τ_{moy} (ns)
4	0.081	0.85	0.597	4.39	0.322	6.39	3.95
11	0.241	0.62	0.422	3.18	0.337	6.34	3.84

Figure III - 40 : Décroissance de fluorescence de la sonde **S3** greffée dans une matrice GA2-PVA10, dans son état protoné (pH = 4) et déprotoné (pH = 11), $\lambda_{exc}=405 \text{ nm}$ et $\lambda_{em}=470 \text{ nm}$ et constantes multi exponentielles α , τ déduites

Cette extinction de fluorescence est retrouvée sur le montage de l'optode de pH en présence d'une membrane en PS-quantum dots CdSe/ZnS (Figure III - 41). Un temps de réponse court $t_{90} = 163 \text{ s}$ est déterminé lors de la déprotonation pour la sonde **S3** greffée dans la matrice GA2-PVA10 et est comparable au temps de réponse obtenu pour la sonde **S2** piégée dans une matrice identique.

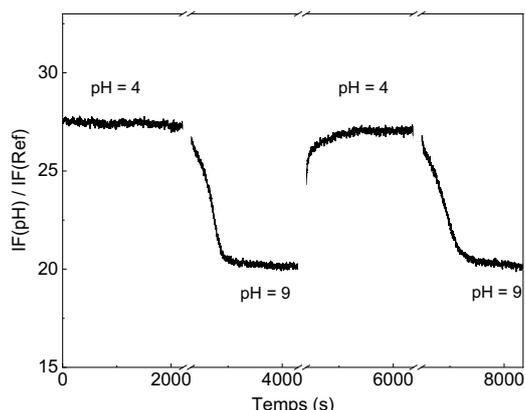


Figure III - 41 : Suivi du rapport $IF(pH)/IF(Ref)$ pour un hydrogel GA2-PVA10 greffé avec la sonde pérylène amine **S3** au cours du temps, sur le montage de l'optode, lors de cycles de pH = 4 – pH = 9

III. 2. Hydrogels dopés avec la sonde pérylène guanidine

Des hydrogels GA2-PVA10 sont dopés avec la sonde pérylène guanidine **S4** et des hydrogels minces sont mis en forme. La comparaison des spectres d'émission de la sonde en solution et séquestrée dans la matrice hydrogel prouve une solubilisation satisfaisante de la sonde dans l'hydrogel (Figure III - 42). Les spectres d'émission sont acquis en fonction du pH (Figure III - 43) et l'hydrogel est immergé dans l'eau dont le pH est modulé jusqu'à une valeur maximale pH = 13,5 avec des ajouts de NaOH. Les paramètres issus du début de la calibration de l'hydrogel GA2-PVA10 sont $pK_a = 12,56 \pm 0,05$ et $dpH = 0,54 \pm 0,08$, correspondant à des paramètres adaptés à la mesure du pH des matériaux cimentaires sur la gamme pH = 11,5-13,5. La faible extinction de fluorescence peut être liée à une inaccessibilité des sondes séquestrées dans la matrice. De plus, la valeur du pH maximal atteint en solution aqueuse avec des ajouts de NaOH étant de 13,5, le pK_a déterminé peut être sous-estimé. Enfin, comme vu lors de l'étude de la sonde **S4** en solution, l'extinction de fluorescence ne peut être uniquement attribuée à un mécanisme PET. L'effet 'loose bolt' décrit précédemment pourrait expliquer cette faible extinction de fluorescence pour une sonde séquestrée en matrice solide. Malgré ces incertitudes, le pK_a et le paramètre dpH déterminés pour cet hydrogel dopé sont adaptés à la mesure du pH des matériaux cimentaires au jeune âge. Des mesures de photostabilité des hydrogels en solution basique permettraient de confirmer leurs performances et leur utilisation pour l'étude des matériaux cimentaires.

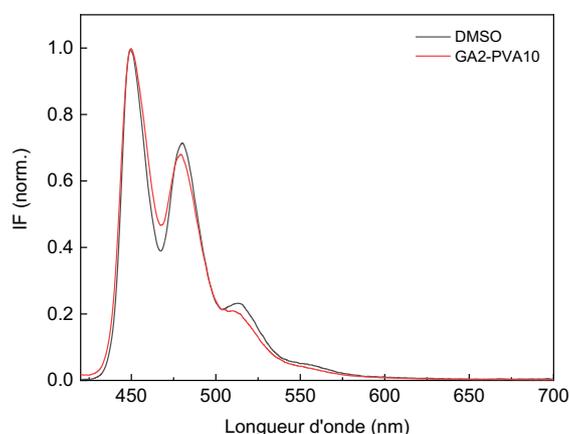


Figure III - 42 : Spectres d'émission de la sonde S4 dans le DMSO ($c=1,7 \mu\text{M}$) et dans une matrice GA2-PVA10 ($c=0,1 \mu\text{mol/g}$)

Contrairement aux hydrogels dopés avec les sondes pérylène amine **S1**, **S2** et **S3**, l'interaction spécifique sonde-matrice induit une diminution plus faible du pKa de la fonction chimique séquestrée. L'extinction partielle d'IF suggère une inaccessibilité de la sonde **S4** dans l'hydrogel, vis-à-vis des ions HO^- . Un paramètre ΔIF sensiblement supérieur était obtenu pour les hydrogels GA2-PVA10 dopés avec les sondes pérylène amine **S2** et **S3**. La faible solubilité de la sonde **S4** peut induire une formation d'agrégats dans l'hydrogel GA2-PVA10, conduisant à une faible extinction lors de la déprotonation. A ce comportement s'ajoute la limitation des valeurs de pH atteintes en solution aqueuse avec l'ajout de NaOH, ne permettant pas d'obtenir la fin de la courbe de calibration.

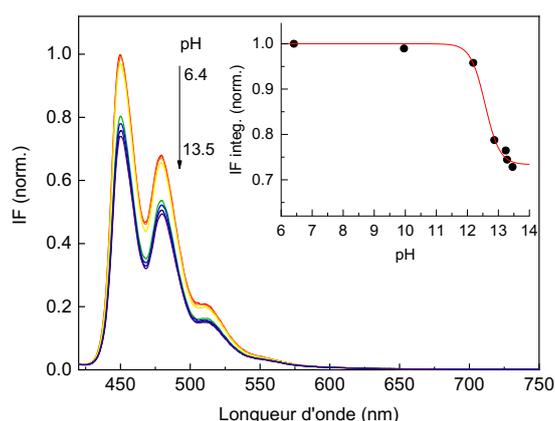


Figure III - 43 : Spectres d'émission d'un hydrogel GA2-PVA10 mince dopé avec la sonde pérylène guanidine **S4** en fonction du pH, $c_{\text{sonde}}=0,1 \mu\text{mol/g}$, $\lambda_{\text{exc}}=405 \text{ nm}$

III.3. Elaboration et caractérisation d'hydrogels dopés avec les sondes de pH basées sur un pérylène : conclusion

Les sondes pérylène amine **S2** et **S3** ont été séquestrées dans des matrices hydrogels afin de constituer des hydrogels répondant aux variations de pH. Afin d'étudier l'influence du mode de séquestration sur la réponse des hydrogels et des interactions sonde-matrice, la sonde pérylène amine **S3** a été greffée dans un hydrogel GA2-PVA10 et physiquement piégée dans un polyuréthane HydroMed™ D4. La sonde **S2** a été physiquement piégée dans les hydrogels GA2-PVA10 et HydroMed™ D4. La sonde **S1** a été physiquement piégée dans la matrice HydroMed™ D4. L'effet de la déprotonation sur l'émission de ces hydrogels a été étudiée sur le montage de spectrofluorimétrie et sur celui de l'optode de pH. Les caractéristiques déduites de ces études sont récapitulées dans le Tableau III - 6.

Sonde de pH	DMSO/H ₂ O 80:20 v/v		GA2-PVA10				HydroMed™ D4			
	pKa	ΔIF	pKa	dpH	ΔIF	t_{90} (s)	pKa	dpH	ΔIF	t_{90} (s)
S1	9,78	0,67	-	-	-	-	5,35	1,8	0,12	625
S2	11,31	0,94	7,36	0,9	0,37	148	6,39	1,3	0,12	335
S3	11,36	0,91	7,02	1,4	0,33	163	5,84	1,9	0,21	257
S4	-	-	12,56	0,5	0,27	-	-	-	-	-

Tableau III - 6 : Valeurs des pKa, $\Delta\text{IF}=I_{\text{max}}-I_{\text{min}}$ et t_{90} des sondes pérylène **S1** à **S4** en solution DMSO/H₂O ou séquestrées dans les hydrogels GA2-PVA10 ou HydroMed™ D4

Ainsi, une nette diminution du pKa des sondes pérylène amine **S1**, **S2** et **S3** a été identifiée lors de leur séquestration dans des hydrogels GA-PVA et polyuréthane (HydroMed™ D4) et est attribuée à une interaction spécifique entre les sondes pérylène amine et les hydrogels. L'extinction de fluorescence, caractérisée par le paramètre ΔF , est faible dans le cas de la séquestration des sondes dans l'HydroMed™ D4. Cette faible extinction suggère une localisation des sondes de pH dans les domaines hydrophobes du polyuréthane commercial, les rendant inaccessibles vis-à-vis des ions H_3O^+ et HO^- . Une extinction de fluorescence d'environ 40% du signal est obtenu pour les hydrogels GA2-PVA10, suggérant qu'une partie des sondes restent inaccessibles aux analytes H_3O^+ et HO^- . Le mode de séquestration (greffage covalent ou piégeage physique) influe peu sur le pKa, le temps de réponse t_{90} ou le paramètre ΔF . Le montage de l'optode met en évidence une photostabilité des sondes pérylène amine piégées dans les hydrogels durant plus de 2000 s d'excitation, mais ces matériaux ne sont pas adaptés à la mesure de pH basique en raison de leur faible pKa résultant de leurs interactions avec les matrices PVA-GA et polyuréthane. De même, la sonde pérylène guanidine **S4** a été physiquement séquestrée dans une matrice GA2-PVA10 et un pKa = 12,56 avec un paramètre $dpH = 0,54$ ont été déterminés, permettant la mesure de pH basiques sur la gamme pH = 11,5-13,5. Malgré une faible extinction de cet hydrogel, ce dernier offre la possibilité de réaliser des mesures en solutions aqueuses en contact avec des pâtes de ciment ordinaire par exemple.

Comme établi dans le chapitre II, les hydrogels dopés avec les sondes de pH fluorescentes présentent une intensité de fluorescence dépendant de leur degré d'hydratation, et donc de leur volume. Dans le cas d'une mesure du pH in situ des matériaux cimentaires, il est pertinent de s'orienter vers une matrice dont le volume varie peu en fonction de son état d'hydratation. La cellulose a été sélectionnée afin de constituer une matrice solide pouvant être fonctionnalisée avec des sondes de pH fluorescentes par un greffage covalent.

IV. Cellulose greffée avec les sondes pérylène

IV.1. Modification de la cellulose pour un greffage de la sonde de pH par chimie click

La cellulose correspond à un biopolymère largement utilisé pour le développement de biomatériaux et de matériaux innovants. La cellulose constitue un matériau biosourcé, résistant aux pH basiques et dont le volume varie peu une fois traitée en milieu alcalin. De plus, la diffusion des ions est favorisée à travers les matrices cellulosiques poreuses, confirmant l'intérêt du matériau afin de constituer une matrice solide pour le développement d'optodes. Ses propriétés mécaniques alliées à une densité et un rapport d'aspect adaptables en font une plateforme intéressante pour sa fonctionnalisation. Cette fonctionnalisation est notamment justifiée par le grand nombre de groupements hydroxyles réactifs présents en surface de la cellulose. Ainsi, la cellulose peut être fonctionnalisée avec différents groupements tels que des aldéhydes, des acides carboxyliques et des amines, conférant des propriétés physico-chimiques intéressantes. Les composés greffés en surface de la cellulose peuvent correspondre à des protéines, des nanoparticules métalliques, des antibiotiques ou d'autres polymères [40]. La cellulose offre la possibilité de greffer les sondes de pH en surface de la matrice, par opposition à un piégeage physique des sondes moléculaires ou un greffage covalent dans un polymère, permettant de limiter les interactions sonde-matrice. Les groupements couramment greffés en surface de la cellulose correspondent à des sulfates, aldéhydes, amines, phosphates ou carboxylates [40]. Les réactions d'estérification sont souvent utilisées pour la fonctionnalisation des surfaces en cellulose mais l'instabilité des esters en milieu basique élimine cette voie pour l'application visée [8]. L'option retenue pour le greffage d'une sonde de pH sur la cellulose est alors une réaction de chimie click.

Le domaine de la chimie click, introduite par Sharpless et al. en 2001, décrit l'assemblage de deux entités par une liaison C-X-C (X : hétéroatome) grâce à une réaction sélective, rapide et offrant des rendements élevés, inspirée des réactions spontanées se produisant dans la nature [41]. Le domaine de la chimie click repose sur le principe d'économie d'atomes afin de réaliser une réaction efficace, sans former de sous-produits et sans engendrer de produits toxiques. Les réactions dites « clicks » présentent généralement plusieurs avantages dont des conditions de réactions simples (insensibilité à l'oxygène et à l'eau), de faibles volumes de solvant, des produits de réactions facilement isolés et purifiés afin d'obtenir des produits stables. Ces critères ne sont atteignables qu'en conditions thermodynamiquement favorables. La chimie click est souvent exploitée afin de fonctionnaliser des surfaces en raison de l'absence d'étapes de purification, des rendements élevés obtenus et de la possibilité d'assembler deux structures de nature différentes telles qu'un biopolymère et une molécule fluorescente. Plusieurs réactions ont été identifiées comme réactions click dont les réactions de :

- cycloadditions (3+2) de type cycloaddition 1,3-dipolaire de Huisgen catalysée par le Cu(I) ;
- cycloadditions (4+1) entre les isonitriles ou isocyanides et les tétrazines ;
- couplage thiol-alcène ;
- Diels-Alder (addition d'un alcène à un diène conjugué pour former un cyclohexène) ;
- Staudinger (réaction azoture-phosphine pour former un iminophosphorane).

La réaction de cycloaddition azide-alcyne (3+2) catalysée par le Cu(I) est la plus largement étudiée, probablement en raison de sa sélectivité. En effet, l'azoture constitue un groupement absent de la majorité des composés naturels et possède une réactivité quasi nulle avec les biomolécules naturelles, rendant sa réactivité très sélective. L'azoture stable est capable de réagir avec des phosphines ou des alcynes activés. La réaction d'1,3 cycloaddition initialement décrite par Huisgen en 1960, faisant intervenir des groupements azotures et alcynes non activés en absence de catalyseur, requiert des températures ou des pressions élevées et conduit à l'obtention des composés 1,4 et 1,5-triazoles.

Cette réaction ne répond donc pas aux critères d'une réaction de chimie click. Les équipes de Rostovtsev et Tornøe optimisent indépendamment les conditions de réaction en utilisant le catalyseur Cu(I) permettant de diminuer la barrière d'activation de 11 kcal/mol[42]. La réaction rapide de chimie click ainsi décrite est menée à température ambiante et permet d'augmenter la régiosélectivité en produisant des produits 1,2,3-triazole 1,4-disubstitués (Figure III - 44). Ben Al Ayouchia et al. confirment par le calcul théorique le mécanisme de cycloaddition entre un azoture et un alcyne catalysé par le Cu(I) introduit par Fokin et al. (Figure III - 44) [43-44]. Ainsi, deux atomes Cu(I) formeraient une liaison σ et une complexation π afin de former un acétylure dinucléaire. La formation d'un complexe intermédiaire permet de former un triazolyle se protonant en 1,2,3-triazole 1,4-disubstitué.

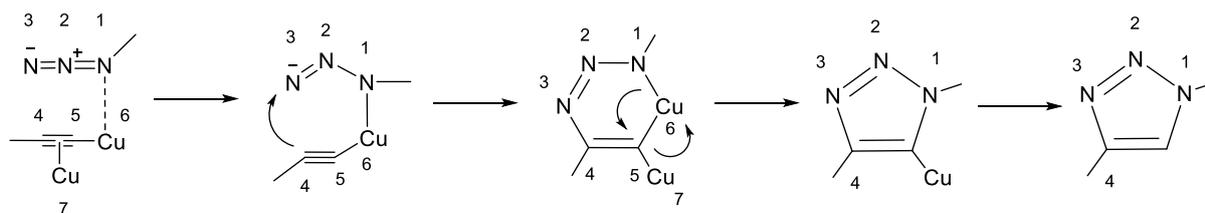


Figure III - 44 : Mécanisme de cycloaddition entre un azoture et un alcyne catalysé par Cu(I) proposé par Ben El Ayouchia et al. [44]

Trois stratégies de 1,3-cycloaddition azoture-alcyne catalysée par le Cu(I) peuvent être appliquées à la cellulose[45] :

- L'adsorption de l'azoture ou de l'alcyne en surface de la cellulose[46-47]
- La modification en surface de la cellulose avec des chaînes alcyne-terminal afin d'y greffer des molécules présentant des groupements azotures[48]
- La modification en surface de la cellulose avec des groupements azotures afin d'y greffer des molécules présentant des alcynes en position terminale[45, 49-50].

La première stratégie d'adsorption n'a pas été considérée afin de se focaliser vers un système constitué de liaisons purement covalentes. Le choix de la troisième stratégie consistant à former des groupements azoture en surface de la cellulose afin de greffer des sondes de pH dont la structure moléculaire inclue d'un groupement alcyne terminal a été fait.

L'utilisation de cellulose de qualité analytique (feuilles de cellulose Whatman® 1 CHR 87g/m²) permet d'assurer la pureté de la matrice obtenue et la reproductibilité du protocole. Les feuilles de cellulose sont découpées dans un format 5×5 cm² avant d'être traitées. L'ensemble des étapes de modification de la cellulose ont été effectuées à l'aide d'un agitateur orbital afin de conserver l'intégrité des feuilles de cellulose. Une première étape comparable à un procédé de mercerisation consiste à agiter les feuilles de cellulose dans une solution aqueuse de NaOH 10%_m à 25°C, pendant 24 heures (Figure III - 46). Cette étape d'activation permet de rompre les liaisons hydrogène intra fibres et d'augmenter l'accessibilité et la réactivité des zones inertes et ordonnées de la cellulose. Nongbe et al. démontrent une augmentation de la surface spécifique d'un facteur supérieur à cinq grâce à l'application de cette première étape sur la cellulose [45]. La cellulose est rincée dans l'éthanol afin de neutraliser le matériau, et conservée dans l'éthanol avant la seconde étape de modification. Cette étape d'activation des sites inertes de la cellulose conduit à une augmentation de l'épaisseur des feuilles de cellulose, accompagnée d'une diminution de leur surface. Ce gonflement des fibres de cellulose est constaté durant les procédés classiques de mercerisation appliqués en industrie : la rupture des liaisons hydrogène permet de séparer les fibres de cellulose, de modifier leur orientation mais impacte également la cristallinité de la cellulose et la morphologie des fibres (Figure III - 45 [51]).

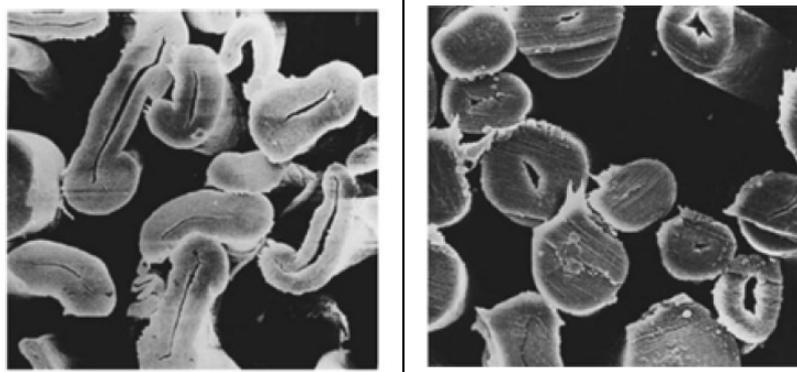


Figure III - 45 : Images MEB de fibres de cellulose non traitées (gauche) et mercerisées (droite). Grossissement $\times 2200$ [51]

La synthèse de la cellulose- N_3 est réalisée selon le protocole décrit par Nongbe et al. [45]. La tosylation de la cellulose est réalisée à 40°C , avec 1 équivalent de chlorure de 4-toluènesulfonyle (TsCl) dans la pyridine (Figure III - 46). Après 20 heures de réaction, la cellulose est rincée dans l'acétonitrile puis séchée sous vide à 60°C afin d'éliminer les traces résiduelles de pyridine et de TsCl. Une dernière étape permet d'azoturer les sites tosylés de la cellulose : celle-ci est réalisée dans du N,N-Diméthylformamide (DMF) avec 7 équivalents d'azoture de sodium NaN_3 . La réaction est poursuivie durant 40 heures à 60°C . La cellulose est finalement rincée dans l'eau distillée, l'acétone, l'éthanol et le dichlorométhane afin d'éliminer les traces de réactifs résiduels. La cellulose est séchée puis conservée sous vide jusque l'étape de greffage de la sonde moléculaire de pH. La cellulose- N_3 ainsi obtenue est hydrophobe en raison de la présence des groupements azoture en surface.

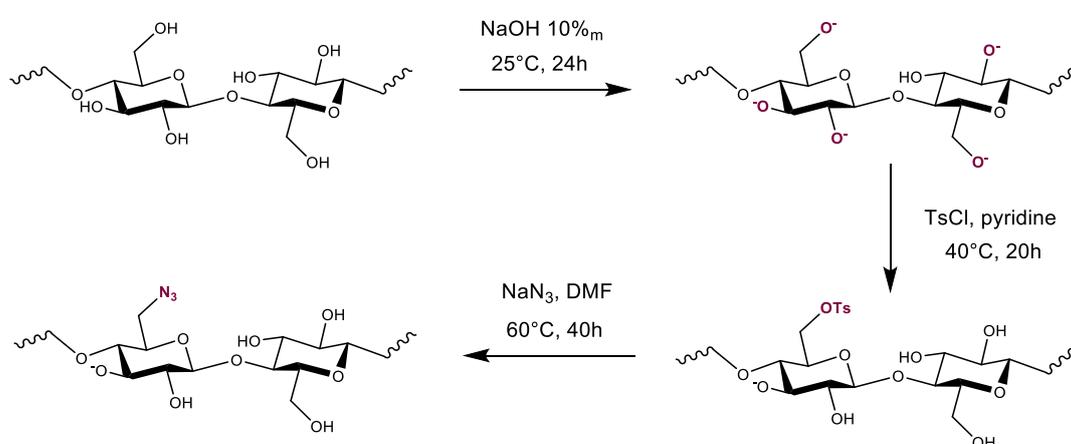


Figure III - 46 : Préparation de la cellulose pour un greffage d'une sonde de pH en surface par chimie click. La cellulose est mercerisée pendant 24h dans un milieu basique ($\text{NaOH } 10\%_m$). Une tosylation de la cellulose mercerisée précède l'étape finale d'azoturation.

Le traitement et la modification de la cellulose est suivie par spectroscopie infra-rouge à transformée de Fourier (IR-TF). La cellulose est caractérisée par les bandes caractéristiques de vibration d'élongation $\nu_{\text{O-H}} = 3400 \text{ cm}^{-1}$, $\nu_{\text{C-H}} = 2900 \text{ cm}^{-1}$ et $\nu_{\text{C-O-C}} = 1100 \text{ cm}^{-1}$ (Figure III - 47). Une bande de faible intensité $\delta_{\text{H}_2\text{O}} = 1641 \text{ cm}^{-1}$ est caractéristique de l'eau adsorbée sur la cellulose. L'étape de tosylation de la cellulose activée est confirmée par la présence des bandes caractéristiques de vibration d'élongation $\nu_{\text{C=C}} = 1596 \text{ cm}^{-1}$, $\nu_{\text{as,SO}_2} = 1351 \text{ cm}^{-1}$, $\nu_{\text{s,SO}_2} = 1172 \text{ cm}^{-1}$ et la bande de déformation angulaire $\delta_{\text{=CH}} = 812 \text{ cm}^{-1}$. La formation de groupements azoture sur les sites de tosylation est confirmée par la disparition quasi-totale des bandes de vibration $\nu_{\text{C=C}}$, $\nu_{\text{as,SO}_2}$, $\nu_{\text{s,SO}_2}$ et $\delta_{\text{=CH}}$,

accompagnée de l'apparition d'une bande de vibration caractéristique de l'azoture $\nu_{\text{as},\text{N}_3} = 2108 \text{ cm}^{-1}$ (Figure III - 48). La stabilité de la cellulose-N₃ est mise en évidence par une analyse du matériau par spectroscopie IR-TF après six mois ; l'ensemble des bandes caractéristiques sont conservées. La spectroscopie IR-TF ne permet cependant pas d'accéder au nombre de sites hydroxyles effectivement fonctionnalisés et une analyse XPS (spectrométrie photoélectronique X) permettrait d'accéder à cette information.

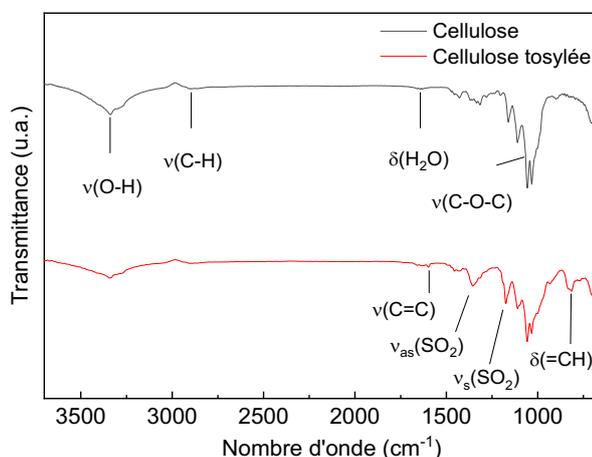


Figure III - 47 : Mise en évidence de la tosylation de la cellulose par spectroscopie infrarouge (IR-TF)

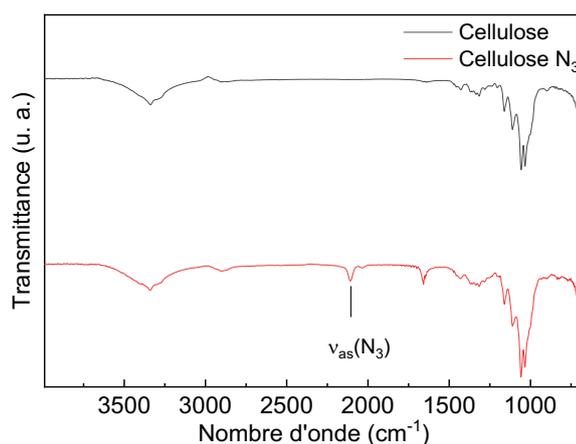


Figure III - 48 : Mise en évidence de l'azoturation de la cellulose par spectroscopie infrarouge (IR-TF)

IV.2. Fonctionnalisation de la cellulose-N₃ par chimie click

IV.2.a. Synthèses de sondes de pH pour fonctionnaliser la cellulose

Les sondes de pH doivent présenter un alcyne terminal afin de pouvoir être greffées sur la cellulose-N₃ par une réaction de type 1,3-cycloaddition azoture-alcyne.

Selon un raisonnement similaire à la synthèse de la sonde **S4**, consistant à réaliser la guanylation d'une amine secondaire par l'agent de guanylation **8**, la première stratégie de synthèse explorée afin d'obtenir une sonde pérylène guanidine présentant un alcyne terminal a consisté à synthétiser le composé **10** (Figure III - 49). Une amination réductrice du pérylène-3-carbaldehyde **1** avec la propargylamine (10 éq.) en présence de 0,03 éq. d'APTS permet de former l'iminium, réduit in situ par

l'ajout de 3 éq. de NaBH₄ selon le protocole décrit par Asseline et Cheng (Figure III - 49) [10]. Le composé **10** est obtenu avec un rendement de 61% après purification.

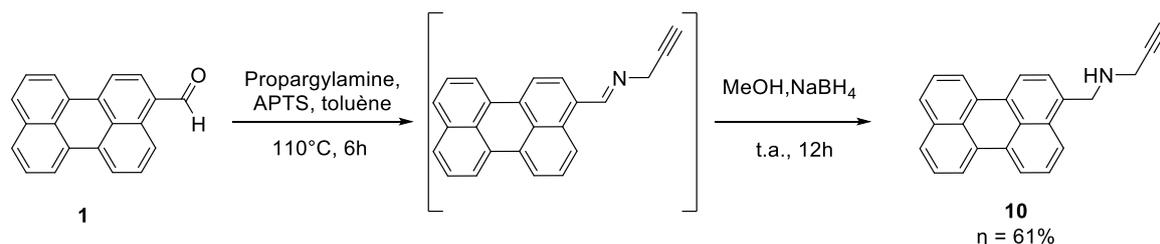


Figure III - 49 : Amination réductrice de pérylène-3-carbaldehyde **1** par la propargylamine

Des essais de guanylation du composé **10** avec l'intermédiaire commercial 1H-pyrazole-1-carboxamide chlorhydrate **4** sont réalisés selon le protocole décrit par Dijols et al. pour le cas des amines aliphatiques réactives [32]. Les conditions expérimentales sont décrites en Figure III - 50 mais ne permettent pas de former le composé cible, probablement en raison de la faible solubilité du composé **10**. Afin d'augmenter cette solubilité, une amine primaire **10** présentant une chaîne plus longue avec un atome d'oxygène a été synthétisée, avec l'objectif de réaliser une amination réductrice avec le composé **1**. Le composé **10** a été synthétisé par le protocole décrit par Lau et al. [52] et la Figure III - 51 décrit le protocole suivi. La réaction de l'éthanolamine N-Boc avec 2 éq. de bromure de propargyle en présence d'iodure de tétra-n-butylammonium (TBAI, 0,1 éq.) et d'iodure de sodium NaI (0,1 éq.) permet de former l'amine **11** protégée avec un rendement de 80%. La déprotection de l'amine dans l'HCl 2M dans l'éther ne permet pas d'obtenir le composé **11**. La déprotection est donc réalisée par le TFA, après solubilisation du composé dans le DCM et l'ajout de 10 éq. de TFA selon le protocole décrit par Tommasi et al. [53]. La solution est agitée à température ambiante pendant 2 h et le composé déprotégé précipite en solution sous forme d'ammonium. Une extraction en milieu basique permet d'isoler l'amine **11** avec un rendement de 46%. Le rendement faible est expliqué par les essais de déprotection dans l'HCl.

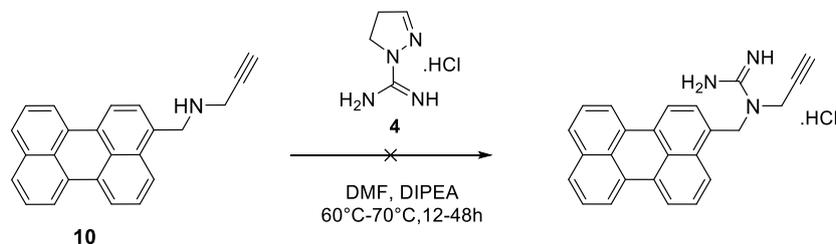


Figure III - 50 : Essai de guanylation du composé **10** avec l'intermédiaire commercial **4**

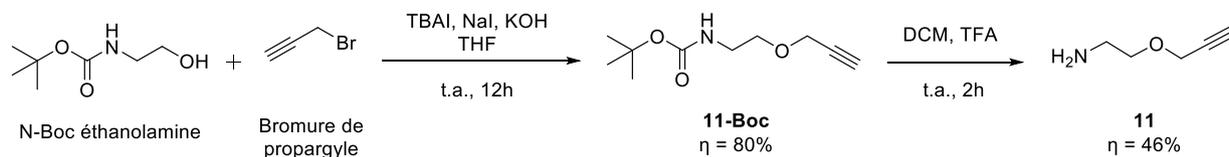


Figure III - 51 : Synthèse de l'amine **11**

Le protocole de Cai et al. permet de former l'imine avec le composé **1** (Figure III - 52) [54]. Le composé **1** est solubilisé dans le DCM avant l'ajout de 6,4 éq. de l'amine **10** et de 1,6 éq. de ClTi(OEt)₃. Après agitation à température ambiante durant 12h, l'imine formée est réduite in situ avec l'ajout d'1,6 éq. de NaBH(OAc)₃. Après purification sur colonne, le composé **12** est obtenu avec un rendement de 84%.

Des essais de guanylation de l'amine **12** sont réalisés selon le protocole décrit par Dijols et al. [32], à température ambiante et à 60°C, mais malgré la solubilité de l'amine **11**, la fonction guanidine n'est pas formée. La guanylation de composés pérylène amines secondaires comme les composés **10** et **12** semble donc difficile avec l'intermédiaire commercial **4**.

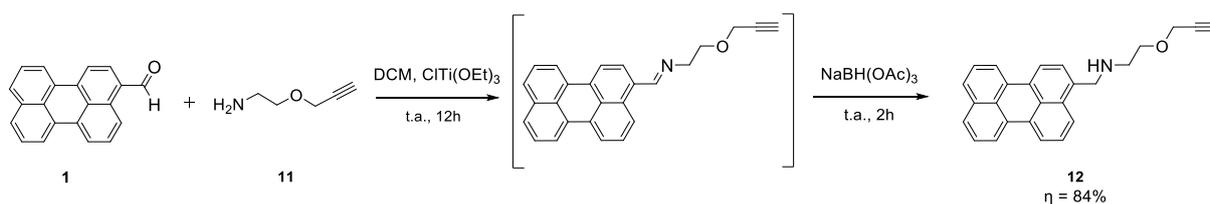


Figure III - 52 : Synthèse du composé pérylène amine présentant un alcyne terminal **12**

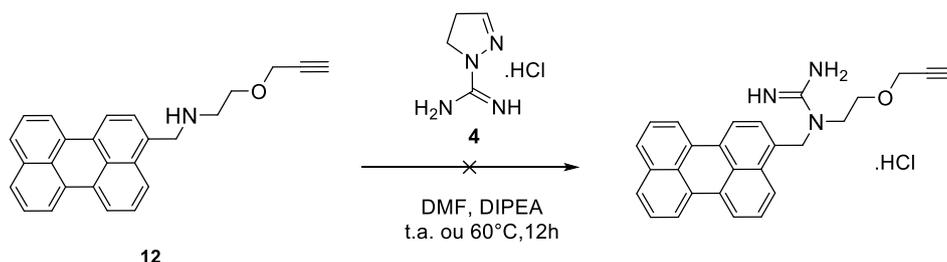


Figure III - 53 : Essai de guanylation du composé **12** avec l'intermédiaire commercial **4**

Dijols et al. suggèrent l'utilisation de l'agent de guanylation **7** dans le cas des amines peu réactives [32]. Des essais de guanylation du composé **12** avec l'intermédiaire **7** sont donc réalisés en variant les conditions expérimentales mais ne permettent pas d'obtenir la guanidine protégée (Figure III - 54). Powell et al. ont recours à l'agent de guanylation **8**, utilisé pour la synthèse de la sonde **S4** [34]. L'agent de guanylation **8** ne permet pas de former la guanidine à partir de l'amine secondaire **12** (Figure III - 54).

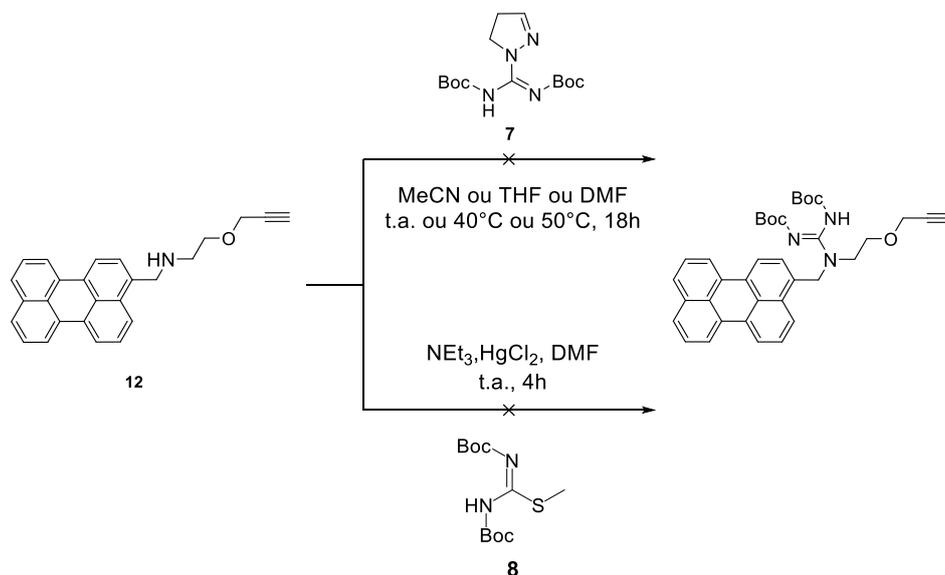


Figure III - 54 : Essai de guanylation du composé **12** avec les agents de guanylations **7** et **8**

Heemoon et al. synthétisent un anthracène substitué avec une fonction guanidine grâce à la substitution nucléophile d'un composé 9-(chlorométhyl)anthracène par le sulfate de 1,1-diméthylguanidine [36]. Ce protocole a été adapté au cas du pérylène et est détaillé en Figure III - 56.

Le composé **15** est synthétisé selon un protocole détaillé par Jäger et al., par formation d'une fonction guanidine avec l'intermédiaire **4** [55]. La propargylamine est utilisée afin d'introduire l'alcyne terminal dans la structure moléculaire et la guanidine est formée en présence de triéthylamine, dans le DMF avec un rendement de 37% (Figure III - 55).

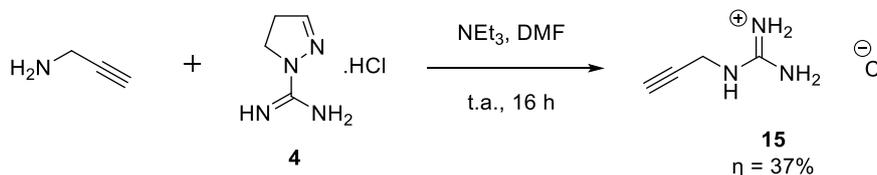


Figure III - 55 : Synthèse du composé **15** avec l'intermédiaire réactionnel **4**

Le pérylène-3-ylméthanol **13** est obtenu par réduction du pérylène-3-carbaldéhyde **1** par NaBH₄ selon le protocole décrit par Qiu et al. [56]. Ainsi, le composé **1** est solubilisé dans le THF et une solution de NaBH₄ dans le méthanol (1 éq.) est ajoutée au goutte à goutte durant 2h de réaction à température ambiante. La réaction est poursuivie durant 4 h et le composé **13** est obtenu avec un rendement de 50% après purification sur colonne. Le bromométhylpérylène **14** est obtenu par solubilisation du composé **13** dans le tétrachlorométhane CCl₄ puis ajout de 1,2 éq. de tribromure de phosphore PBr₃ [56]. Après 2 h de reflux, le produit est précipité et lavé dans le MeOH. Le produit **14** est obtenu avec un rendement de 72%. La dernière étape de la synthèse consiste à isoler le composé 1-(prop-2-yn-1-yl) guanidine **15** déprotoné en solubilisant 2 éq. du composé **15** dans le DMF avec du tamis moléculaire et l'hydroxyde de césium hydraté. Le composé **14** est introduit après 30 min de réaction à température ambiante et la réaction est poursuivie durant 18 h. Après purification, la sonde **S5** est obtenue et isolée avec le contre ion Br⁻, avec un rendement de 80%. Comme discuté précédemment, un échange du contre ion par solubilisation du composé dans le MeOH et l'ajout de 5 éq. de NaPF₆ permet d'isoler la sonde **S5** avec un contre ion PF₆⁻, présentant une meilleure solubilité.

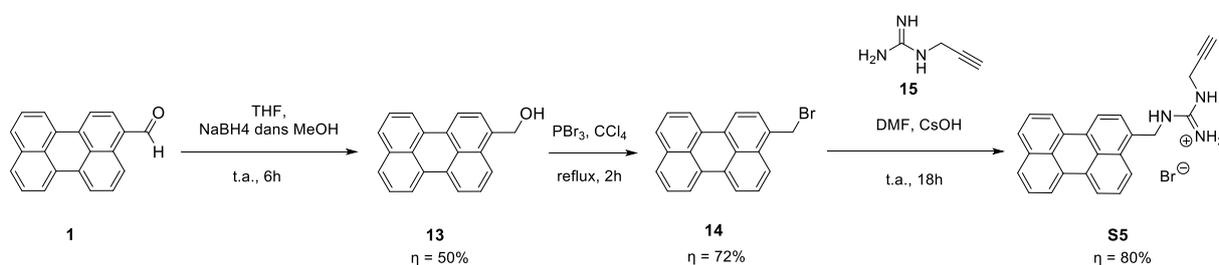


Figure III - 56 : Synthèse de la sonde **S5** pérylène guanidine avec un alcyne terminal

D'après l'étude de la déprotonation des sondes pérylène amine en solution et des valeurs de pKa calculés pour les sondes **S1** à **S3**, la synthèse d'une amine tertiaire caractérisée par un pKa proche de 11,0 à 11,5 et pouvant se greffer sur la cellulose est intéressante dans le cadre de la mesure du pH sur la gamme pH = 10,5-13,5. La méthylation du composé **12** permet d'obtenir une sonde pérylène amine tertiaire avec un alcyne terminale **S6**. Le protocole décrit par Wang et al. et appliqué dans le cadre de la synthèse de la sonde **S2** permet de méthyler les amines secondaires avec le formaldéhyde et une réduction avec NaBH(OAc)₃ permet d'obtenir la sonde **S6** avec un rendement de 76% [15].

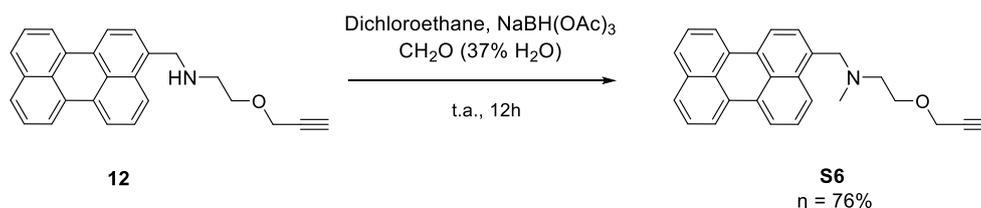


Figure III - 57 : Synthèse de la sonde **S6** par méthylation de l'amine **12**

IV.2.b. Réaction de chimie click sur la cellulose-N₃

La cellulose-N₃ est greffée avec la sonde pérylène amine **S6** par une réaction de cycloaddition azide-alcyne catalysée par le Cu(I) (Figure III - 58). Différents ratios massiques sonde : azoture ont été testés : 1:1, 1:10, 1:25, 1:50 et 1:100, correspondant aux concentrations $c_{\text{sonde}} = 2,65 \mu\text{mol/mg}$, $0,26 \mu\text{mol/mg}$, $0,11 \mu\text{mol/mg}$, $0,05 \mu\text{mol/mg}$ et $0,03 \mu\text{mol/mg}$ de cellulose-N₃. Les spectres d'émission obtenus en plaçant l'unité de détection du montage de spectrofluorimètre dans une solution aqueuse de pH variable mettent en évidence un phénomène d'agrégation des sondes en surface de la cellulose ou une formation d'excimères pour les concentrations les plus élevées (Figure III - 59). Le caractère hydrophobe de la cellulose-N₃ est exacerbé par l'addition de composés hydrophobes, pouvant conduire à l'agrégation des sondes en surface de la cellulose en contact avec la solution aqueuse. En effet, un angle de contact élevé peut-être visualisé lors du simple dépôt d'une goutte d'eau en surface de la cellulose greffée. Le spectre d'émission de la cellulose greffée immergée dans l'eau est acquis au cours du temps sans irradiation continue afin de ne pas observer un éventuel photoblanchiment (Figure III - 60). Une évolution des spectres d'émission suggère une hydratation lente de la matrice certainement associée à une réorganisation des sondes en surface de la cellulose.

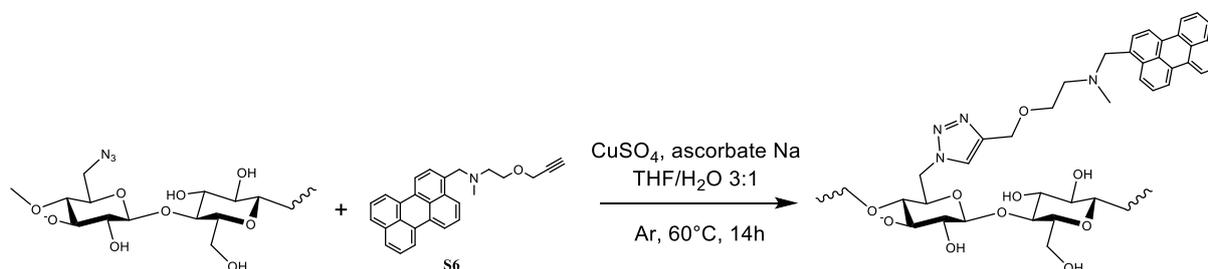


Figure III - 58 : Greffage de la sonde de pH **S6** sur la cellulose-N₃ par chimie click

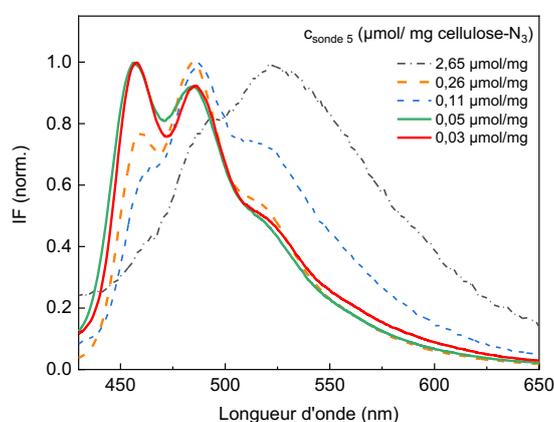


Figure III - 59 : Spectres d'émission de la cellulose- N_3 greffée avec la sonde pérylène amine **S6**, en fonction de la concentration en sonde, $\lambda_{exc}=405$ nm

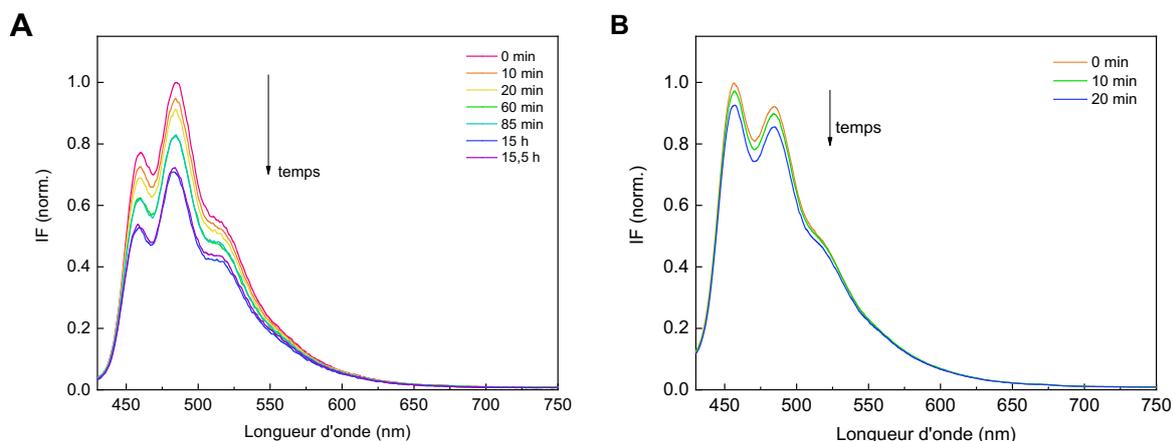


Figure III - 60 : Spectres d'émission de la cellulose N_3 greffée avec la sonde pérylène amine **S6** immergée dans l'eau, au cours du temps, $\lambda_{exc}=405$ nm. A - $c_{sonde} = 0,26 \mu\text{mol/mg}$ de cellulose- N_3 et B - $c_{sonde} = 0,05 \mu\text{mol/mg}$ de cellulose- N_3

Des essais de déprotonation et protonation de la matrice greffée sont réalisés afin de déterminer si la sonde ainsi greffée est accessible aux ions H_3O^+ et HO^- (Figure III - 61). Les spectres d'émission sont acquis au cours du temps et la cellulose placée dans l'unité de détection est uniquement excitée au cours de l'acquisition afin d'éliminer la contribution d'un éventuel photoblanchiment. Le pH de la solution d'immersion est modifié avec l'ajout de solutions aqueuses de NaOH et HCl. Un pH-mètre préalablement calibré permet de mesurer le pH de la solution d'immersion au cours du temps. En raison des temps d'équilibre longs, une déprotonation ou une protonation totale n'est pas effectuée et l'étude effectuée revêt un caractère qualitatif. Ainsi, une déprotonation de la sonde pérylène amine **S6** conduit à une extinction partielle et réversible de la fluorescence, correspondant au phénomène observé en solution. Cette extinction de fluorescence est effectivement observée en solution, en raison d'un mécanisme PET entre l'amine déprotonée et le pérylène. La réversibilité de l'extinction de fluorescence indique une réponse de la sonde greffée aux variations de pH.

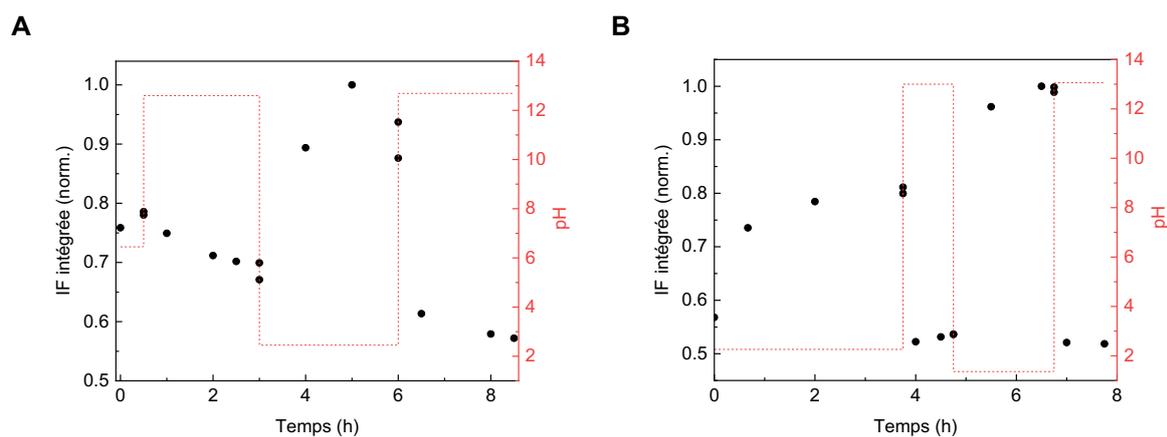


Figure III - 61 : Evolution d'IF intégrée pour la cellulose greffée avec la sonde pérylène amine **S6** en fonction du pH au cours du temps, $\lambda_{exc}=405$ nm. A : $c_{sonde} = 0,26 \mu\text{mol/mg}$ de cellulose- N_3 et B : $c_{sonde} = 0,11 \mu\text{mol/mg}$ de cellulose- N_3

La diminution de la concentration en sonde afin de limiter la formation d'agrégats ne permet pas d'obtenir une extinction totale de la fluorescence (Figure III - 62). L'inaccessibilité des sondes greffées en surface de la cellulose vis-à-vis des ions H_3O^+ et HO^- semble peu probable.

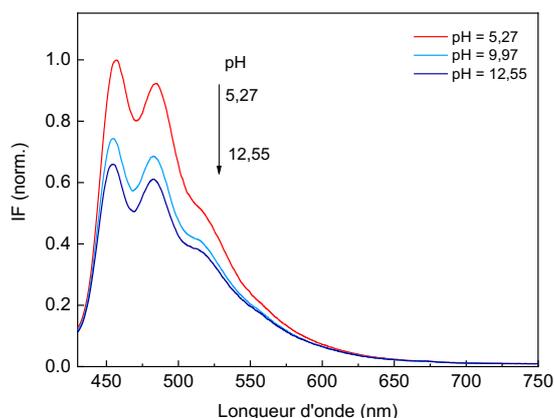


Figure III - 62 : Spectre d'émission de la cellulose N_3 greffée avec la sonde pérylène amine **S6** en fonction du pH, $C_{sonde} = 0,05 \mu mol/mg$ de cellulose- N_3 , $\lambda_{exc} = 405 nm$

Des temps de réponse rapides associés à une extinction totale de la fluorescence étaient attendus pour une sonde greffée en surface de la cellulose. L'hydrophobicité de la cellulose greffée pourrait contribuer aux temps de réponse longs. Des mesures d'angles de contact lors du dépôt d'une goutte d'eau sur la cellulose fonctionnalisée permettent de quantifier la mouillabilité de la surface. Pour cela, un montage de mesure d'angle de contact par méthode de la goutte posée (*sessile drop*) a été utilisé. La surface étudiée est déposée sur une platine et une goutte d'eau millipore avec un volume $V = 1,0 \mu L$ est déposée en surface à l'aide d'une seringue fixe, à température ambiante. Une source de lumière blanche couplée à une caméra CCD permet d'acquérir une image traitée par le logiciel Visiodrop par la suite (Figure III - 63 - A). La mesure de l'angle de contact est réalisée aux interfaces goutte-surface situées à droite et à gauche de la goutte. Une différence d'environ 10° a été constatée sur la majorité des mesures et est probablement liée à l'irrégularité de la surface en cellulose présentant des fibres ((Figure III - 63 - B). Le traitement automatique de l'image efface également la profondeur de champ ; ce traitement automatique peut être contraignant pour les surfaces non planes comme la cellulose traitée. Les surfaces ont donc été aplanies à l'aide d'un poids avant de réaliser les mesures. Les angles droits et gauches ont été moyennés dans un but de comparaison des différentes surfaces fonctionnalisées. Cinq mesures d'angles de contact ont été réalisées sur différentes zones des surfaces étudiées et les mesures ont été moyennées.

La mouillabilité des surfaces hydrophiles n'a pas pu être évaluée à l'aide de cette technique en raison de l'absorption rapide de la goutte d'eau déposée. Ainsi la cellulose non traitée et celle ayant subi un traitement basique correspondent à des surfaces hydrophiles présentant une grande mouillabilité vis-à-vis de l'eau. La surface greffée avec des groupements tosyles possède également une mouillabilité élevée et un caractère hydrophile, suggérant un greffage non total des sites disponibles ou alors une dégradation des groupements tosyles. En effet, l'échantillon tosylé utilisé pour la mesure d'angle de contact datant d'une année, la dégradation des groupements tosyles au cours du temps n'est pas exclu. L'acquisition d'images durant un dépôt illustre cette mouillabilité avec une absorption totale de la goutte en $100 \mu s$ (Figure III - 64). Comme attendu, la cellulose- N_3 présente une mouillabilité plus faible que ces surfaces avec un intervalle de $8100 \mu s$ entre le dépôt de la goutte et son absorption par la surface (Figure III - 65). Un angle de contact moyen $\theta = 42^\circ$ a été mesuré après le retrait de l'aiguille. Pour la cellulose greffée avec la sonde **S6** avec une concentration $c = 0,05 \mu mol/mg$, un angle de contact moyen $\theta = 109^\circ$ a été déterminé, confirmant que le greffage de pérylène en surface de la cellulose confère un caractère hydrophobe au matériau, et induit des temps de réponse longs.

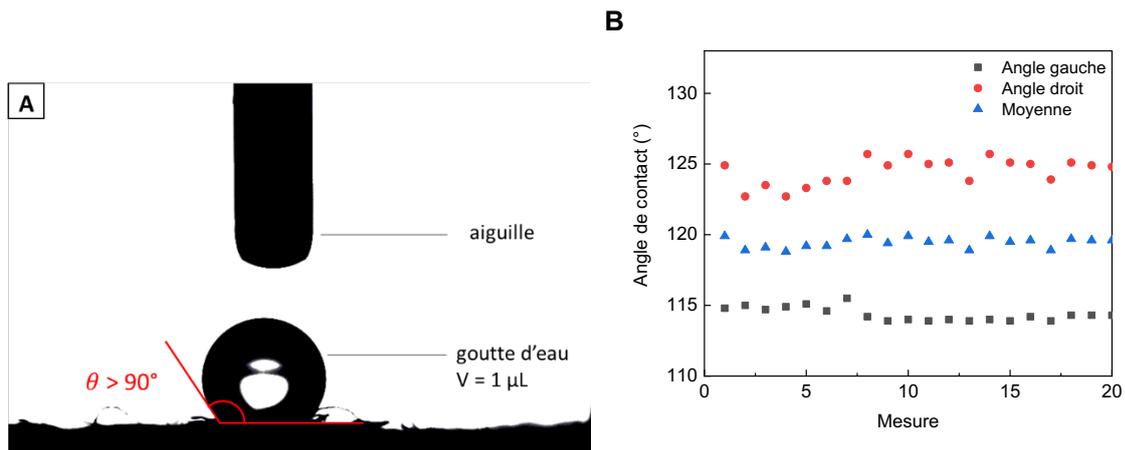


Figure III - 63 : A - Mesure de l'angle de contact d'une goutte d'eau déposée sur une surface cellulose-N₃ greffée avec la sonde S6 (c=0,05 µmol/mg) B - Exemple des angles de contact successivement mesurés pour un dépôt

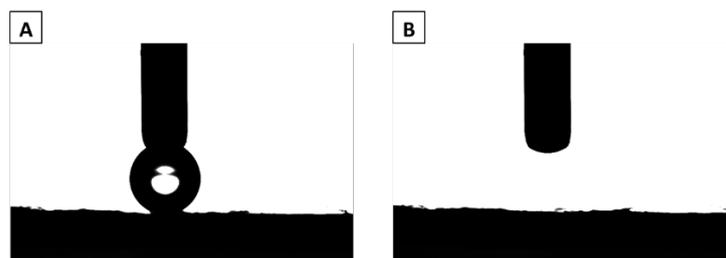


Figure III - 64 : A - Dépôt d'une goutte d'eau en surface de la cellulose fonctionnalisée avec des groupements tosyles B - Absorption de la goutte par la surface, les deux images ont été acquises à 100 µs d'intervalle

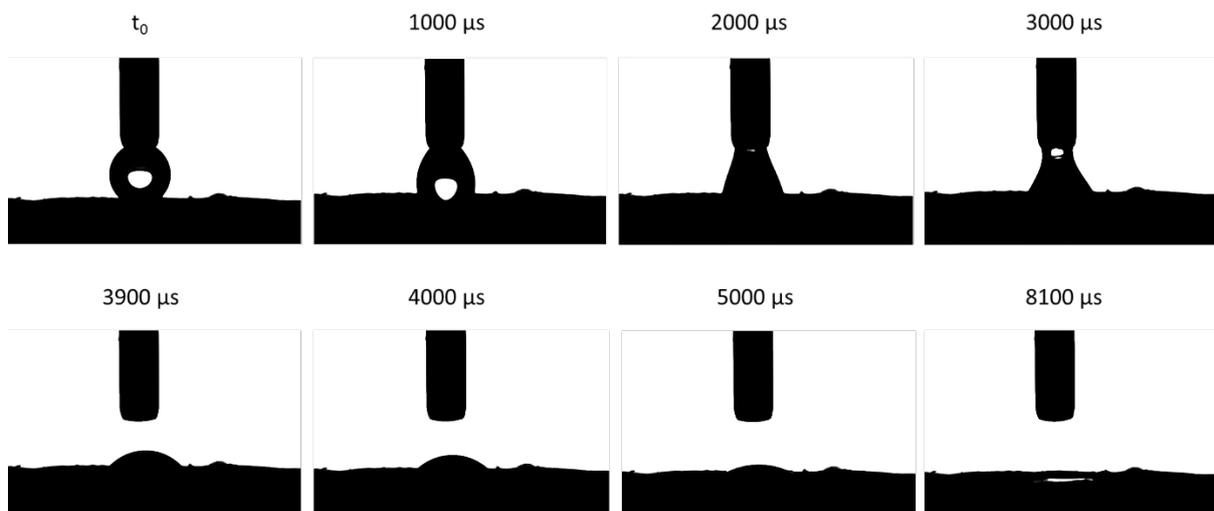


Figure III - 65 : Dépôt d'une goutte d'eau en surface de la cellulose-N₃

Les azotures libres en surface de la cellulose ont permis une fonctionnalisation supplémentaire de la cellulose avec des groupements hydrophiles.

IV.3. Augmentation de l'hydrophilicité de la cellulose greffée avec une sonde de pH pérylène

Afin de diminuer l'hydrophobicité de la cellulose greffée, une saturation des azotures libres avec un composé hydrophile est réalisable par chimie click. Le composé sélectionné est l'alcool propargylique possédant un alcyne terminal et pouvant être greffé sur les azotures libres selon une réaction de cycloaddition (Figure III - 66). Après l'étape de greffage de la sonde de pH, 10 équivalents d'alcool propargylique sont ajoutés dans le milieu et la réaction est poursuivie durant 14h. L'ajout d'alcool propargylique conduit à une précipitation du cuivre dans la cellulose, marquée par une coloration verdâtre à brune de la cellulose. Le cuivre occupant un rôle d'inhibiteur de fluorescence, son élimination est essentielle et est réalisée par complexation avec le N, N, N', N'-tétraméthyléthylènediamine (TMDA) à 20% dans une solution d'éthanol et d'ammoniaque, à l'aide d'un bain à ultrasons.

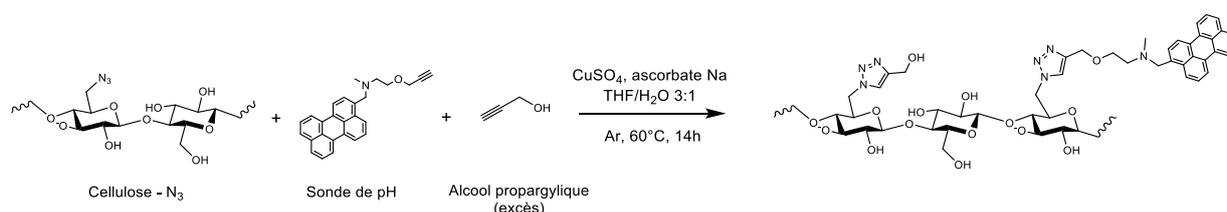


Figure III - 66 : Greffage de la sonde de pH **S6** et saturation des azotures libre par l'alcool propargylique sur la cellulose-N₃ par chimie click

Une première concentration en sonde $c_{\text{sonde}} = 13,2 \text{ nmol/mg}$ de cellulose-N₃ conduit à la formation d'excimères en surface de la cellulose hydrophile d'après le spectre d'émission (Figure III - 67-A). Une déprotonation induit bien une extinction partielle de fluorescence avec un temps de réponse plus rapide qu'en absence d'alcool propargylique. Augmenter le caractère hydrophile de la cellulose permet donc de réduire le temps de réponse en augmentant la cinétique de diffusion des ions H₃O⁺ et HO⁻ dans la cellulose. La reproductibilité de la déprotonation est prouvée sur le montage de l'optode avec la cellulose hydrophile greffée avec la sonde **S6** et installée dans l'unité de détection avec une membrane PS-quantum dots servant de référence interne (Figure III - 67-B). Des solutions tampons pH = 4 et pH = 12 sont utilisées afin de limiter les effets de carbonatation des solutions d'immersion au cours de la mesure. La cellulose greffée est photostable lors d'une irradiation continue en milieu acide et basique. Un temps de réponse moyen $t_{90} = 346 \text{ s}$ est déterminé lors de la déprotonation. La présence d'excimères peut expliquer la dissymétrie du cycle pH = 4 – pH = 12.

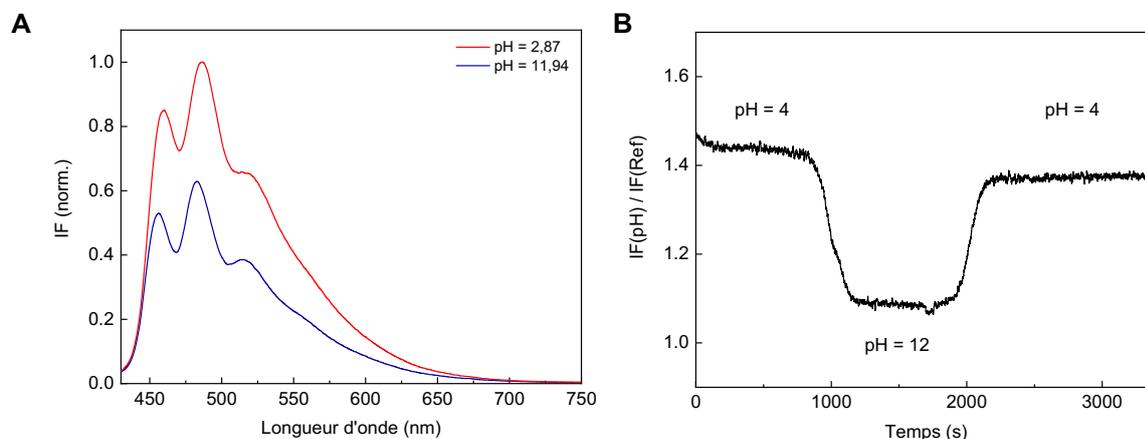


Figure III - 67 : A- Spectre d'émission de la cellulose N₃ greffée avec la sonde pérylène amine **S6** et l'alcool propargylique en fonction du pH, $c_{\text{sonde}} = 13,2 \text{ nmol/mg}$ de cellulose-N₃, $\lambda_{\text{exc}}=405 \text{ nm}$. B- Suivi du rapport $IF(\text{pH})/IF(\text{Ref})$ au cours du temps, sur le montage de l'optode, lors de cycles de pH = 4 – pH = 12

Une diminution de la concentration en sonde permet de limiter la formation d'excimères en surface de la cellulose. Ainsi, une concentration $c_{\text{sonde}} = 2,6 \text{ nmol/mg}$ de cellulose-N₃ permet d'obtenir une cellulose présentant une extinction partielle de fluorescence lors de la déprotonation (Figure III - 68-A). Afin de confirmer l'augmentation du caractère hydrophile de la cellulose par saturation des sites azotures libres avec l'alcool propargylique, un essai de mesure d'angle de contact avec la méthode de la goutte posée a été réalisé (Figure III - 63). L'absorption rapide de la goutte en moins de 100 μs a confirmé l'hydrophilicité de la cellulose fonctionnalisée. En raison de la grande mouillabilité et hydrophilicité de cette cellulose, aucun angle de contact n'a pu être mesuré. La réversibilité et la photostabilité de la cellulose est donc associée à un temps de réponse court grâce à l'augmentation du caractère hydrophile (Figure III - 68-B). Un temps de réponse moyen $t_{90} = 348 \text{ s}$ est déterminé lors de la déprotonation.

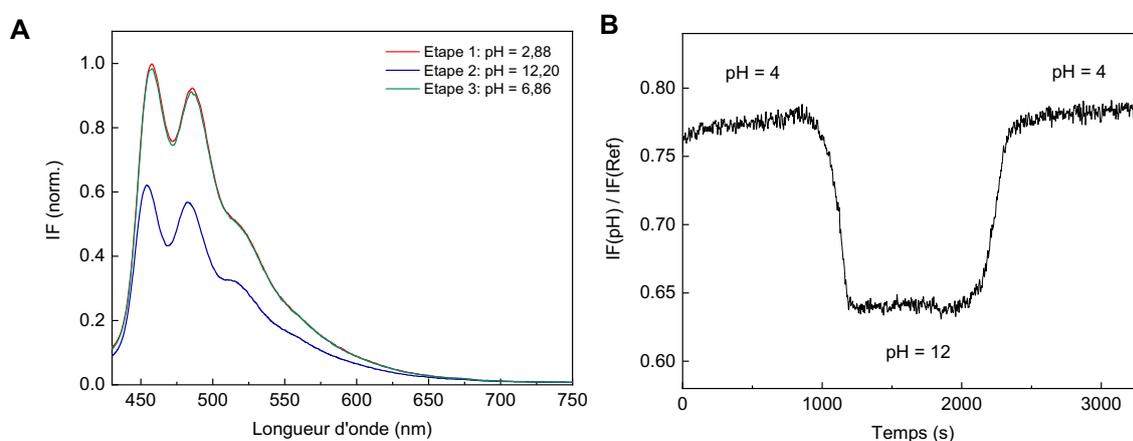


Figure III - 68 : A- Spectre d'émission de la cellulose N₃ greffée avec la sonde pérylène amine **S6** et l'alcool propargylique aux valeurs de pH = 2,88 ; 12,20 ; 6,86, $c_{\text{sonde}} = 2,6 \text{ nmol/mg}$ de cellulose-N₃, $\lambda_{\text{exc}}=405 \text{ nm}$. B- Suivi du rapport $IF(\text{pH})/IF(\text{Ref})$ au cours du temps, sur le montage de l'optode, lors de cycles de pH = 4 – pH = 12, $\lambda_{\text{exc}}=405 \text{ nm}$

La cellulose présentant une concentration $c_{\text{sonde}} = 2,6 \text{ nmol/mg}$ de cellulose-N₃ a été utilisée afin de déterminer le pKa de la sonde pérylène amine **S6** greffée en surface de la cellulose. Le montage de l'optode a été utilisé pour cela et une extinction de fluorescence liée à la formation d'agrégats de sondes est observé. Cette extinction de fluorescence sur une gamme restreinte a été observée en solution lors du dosage des sondes pérylène amine tertiaire **S2** et **S3**, suggérant une agrégation des sondes sous forme d'empilement π - π par exemple. Un pKa = $10,19 \pm 0,01$ et dpH = $0,12 \pm 0,01$ sont déterminés, prouvant une faible interaction entre la matrice et la sonde greffée en surface. Le temps de réponse de la cellulose greffée dépend de la concentration en ions H_3O^+ ou HO^- introduit dans la solution comme le prouve la Figure III - 70. En effet, si la concentration en ions HO^- introduite est faible, un temps de réponse proche de 4500 s est déterminé. Dans ce cas, la force ionique de la solution a été ajustée à 1 M avec l'ajout de KCl en solution afin de montrer que la force ionique n'affecte pas le temps de réponse.

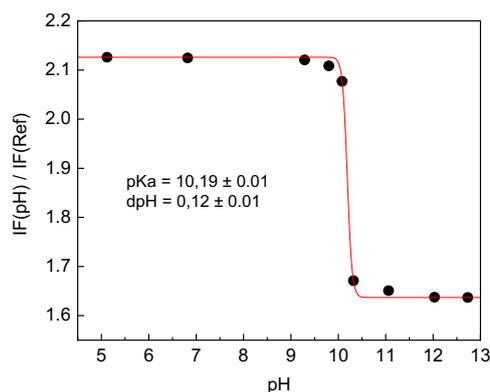


Figure III - 69 : Evolution du rapport $IF(pH)/IF(Ref)$ pour la cellulose greffée avec la sonde de pH **S6** et l'alcool propargylique en fonction du pH, $c_{sonde} = 2,6$ nmol/mg de cellulose- N_3 , $\lambda_{exc}=405$ nm

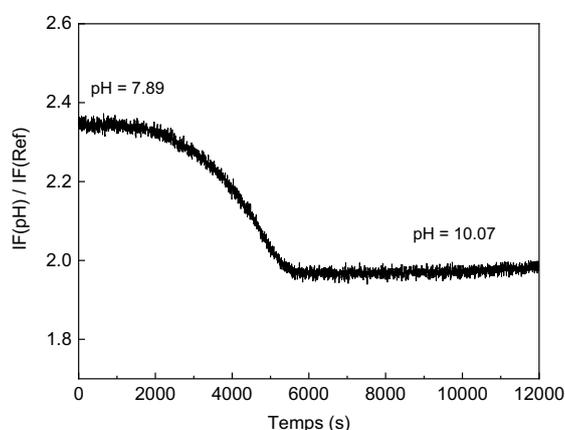


Figure III - 70 : Suivi du rapport $IF(pH)/IF(Ref)$ au cours du temps, sur le montage de l'optode, lors d'un ajout de NaOH, $c_{sonde-S6} = 2,6$ nmol/mg de cellulose- N_3 , $\lambda_{exc}=405$ nm

La protonation de la cellulose greffée avec une concentration $c_{sonde} = 2,6$ nmol/mg de cellulose- N_3 a également été étudiée et la comparaison des chemins de protonation et déprotonation mettent en évidence une hystérèse (Figure III - 71). Ce comportement est comparable à celui observé en solution lors des dosages des sondes pérylène amine **S2** et **S3**. Des matériaux caractérisés par des hystérèses peuvent constituer des commutateurs répondant à des stimuli de l'environnement, avec des états ON/OFF particulièrement pertinents pour la détection de seuils de concentration ou de température par exemple. Weidman et al. développent par exemple des films minces constitués d'un polymère bloc dont les nanopores contiennent des structures en brosse d'acide polyacrylique (PAA) [57]. Le matériau ainsi constitué possède une perméabilité et un volume dépendant du pH, expliqué par l'établissement de liaisons H entre les chaînes PAA confinées (Figure III - 73). Les applications visées pour ces matériaux innovants sont multiples et incluent le développement de capteurs spécifiques. Dans le domaine de la photophysique, Zhou et al. illustrent ces phénomènes d'hystérèse par l'élaboration d'un matériau fluorescent obtenu par séquestration d'une molécule fluorescente dérivé de colorants Squaraine dans une matrice PMMA [58]. Le polymère ainsi conçu est caractérisé par une fluorescence variant en fonction du champ électrique, avec un état métastable orientant le projet vers le développement du traitement d'informations quantiques.

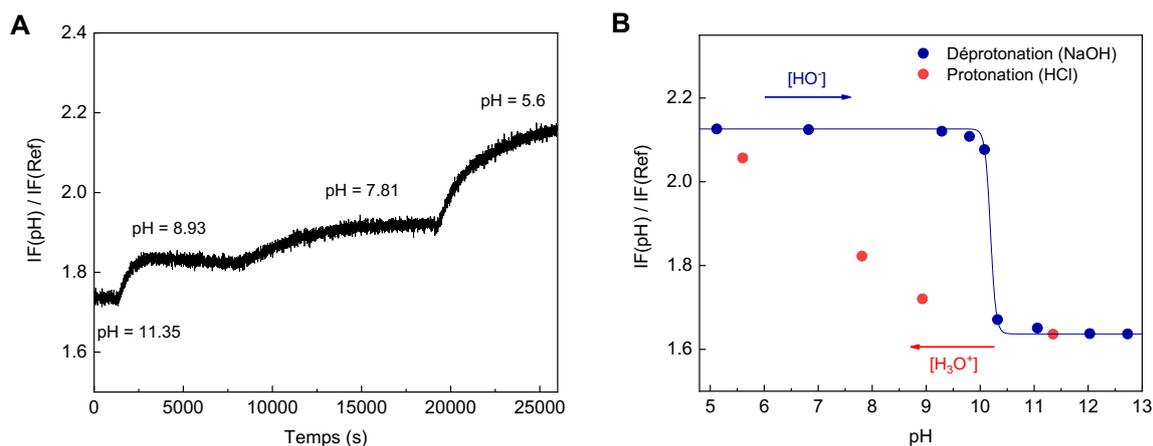


Figure III - 71 : A-Suivi du rapport $IF(pH)/IF(Ref)$ au cours du temps, sur le montage de l'optode, lors de la protonation par ajout de HCl, $c(S6) = 2,6 \text{ nmol/mg}$ de cellulose- N_3 , $\lambda_{exc}=405 \text{ nm}$ B- Evolution du rapport $IF(pH)/IF(Ref)$ lors de la déprotonation par ajout de NaOH, et lors de la protonation par ajout de HCl,

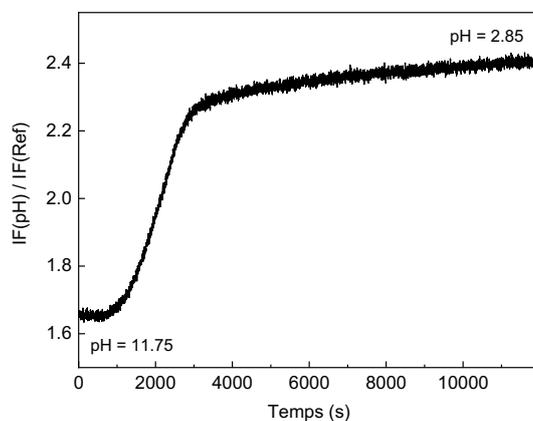


Figure III - 72 : Suivi du rapport $IF(pH)/IF(Ref)$ de la cellulose- N_3 greffée avec la sonde $S6$ et l'alcool propargylique, au cours du temps, sur le montage de l'optode, lors de la protonation par ajout de HCl, $c_{sonde-S6} = 2,6 \text{ nmol/mg}$ de cellulose- N_3 , $\lambda_{exc}=405 \text{ nm}$

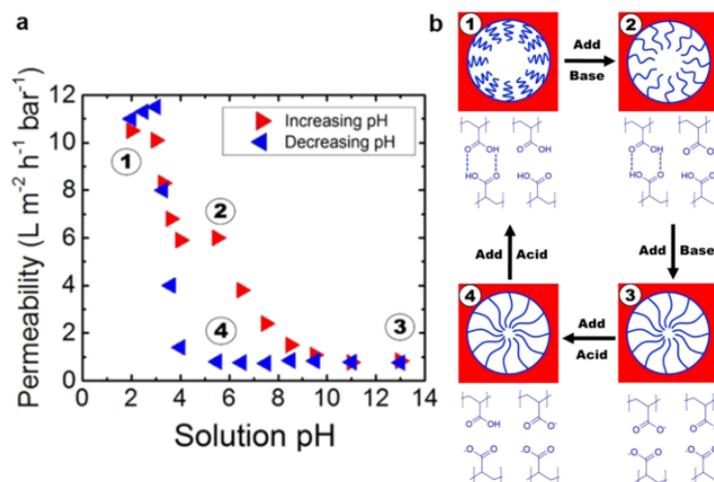


Figure III - 73 : Elaboration d'un film mince dont la perméabilité dépend du pH par Weidman et al. [57]

De même, la cellulose-N₃ a été greffée avec la sonde pérylène guanidine **S5**, avec une concentration en sonde $c_{\text{sonde}} = 2,8 \text{ nmol/mg}$ selon une réaction de cycloaddition azide-alcyne catalysée par le Cu(I) et suivie par un greffage d'alcool propargylique sur les sites azoture libres (Figure III - 74). Malgré la concentration faible en sonde, des excimères sont formés en surface de la cellulose d'après les spectres d'émission (Figure III - 75-A). La déprotonation induit une extinction partielle de la fluorescence en raison du mécanisme PET entre la guanidine déprotonée et le pérylène. Cette extinction de fluorescence semble réversible malgré la présence d'excimères (Figure III - 76) mais la cellulose est peu fluorescente. Un remplacement de la solution d'immersion aqueuse par du DMSO afin d'évaluer l'effet de la polarité du solvant sur l'organisation des sondes en surface a été effectué. Le choix d'un solvant dans lequel la sonde de pH est soluble ne permet pas de dissocier les agrégats formés en surface de la cellulose (Figure III - 75-B). La sonde **S5** étant peu soluble, la cellulose peut présenter des zones plus fonctionnalisées que d'autres, avec un greffage 'par paquets' de la sonde dans ces zones conduisant à la formation d'excimères. De plus, par comparaison avec la cellulose greffée avec la sonde pérylène amine **S5**, la distance réduite entre la sonde de pH et la cellulose peut favoriser la formation d'agrégats et d'interactions avec la matrice ou entre les sondes.

Des mesures d'angle de contact sont réalisés sur la cellulose greffée avec la sonde **S5** et l'alcool propargylique. Cinq mesures sont réalisées dans différentes zones et la disparité des résultats obtenus suggère un greffage inhomogène (Tableau III - 7). Contrairement à la cellulose greffée avec la sonde **S6** et l'alcool propargylique, la surface obtenue est hydrophobe avec un angle de contact supérieur à 90° pour l'ensemble des mesures. Une analyse de la cellulose en XPS permettrait de confirmer un greffage effectif de l'alcool propargylique sur la cellulose.

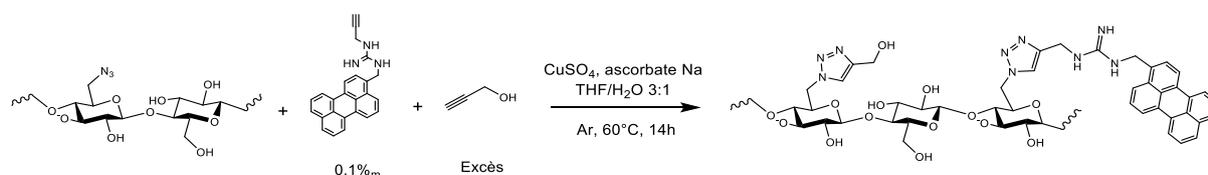


Figure III - 74 : Greffage de la sonde de pH **S5** et saturation des azotures libre par l'alcool propargylique sur la cellulose-N₃ par chimie click

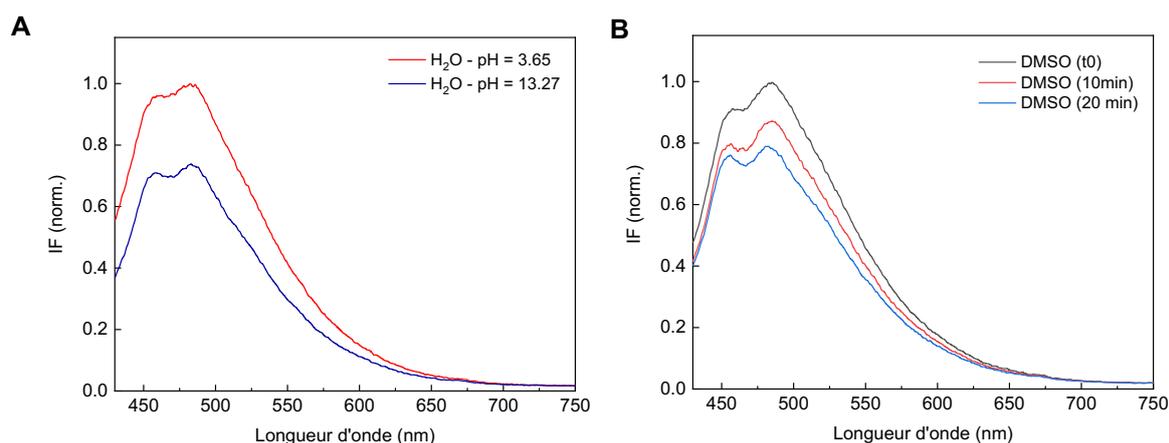


Figure III - 75 : Spectre d'émission de la cellulose N₃ greffée avec la sonde pérylène guanidine **S5** et l'alcool propargylique en fonction du pH, $c_{\text{sonde}} = 2,8 \text{ nmol/mg}$ de cellulose-N₃, $\lambda_{\text{exc}} = 405 \text{ nm}$. A : en solution aqueuse et B : dans le DMSO au cours du temps

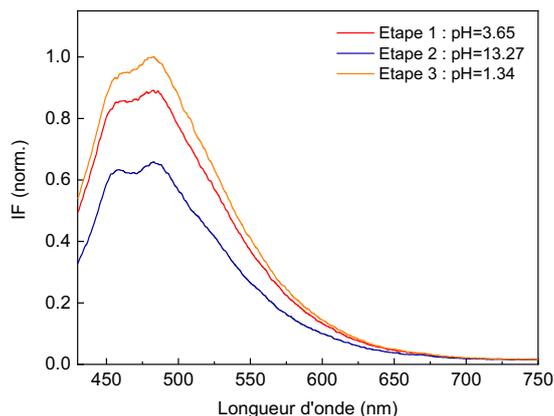


Figure III - 76 : Spectre d'émission de la cellulose N_3 greffée avec la sonde pérylène guanidine **S5** et l'alcool propargylique en fonction du pH en solution aqueuse, $c_{sonde} = 2,8 \text{ nmol/mg}$ de cellulose- N_3 , $\lambda_{exc} = 405 \text{ nm}$

Mesure	Angle de contact moyen (°)
1	92,6
2	126,4
3	122,3
4	95,6
5	88,1
Moyenne	105,0

Tableau III - 7 : Angles de contact déterminés pour la cellulose greffée avec la sonde **S5**, $c_{sonde} = 2,8 \text{ nmol/mg}$, et l'alcool propargylique

IV.4. Fonctionnalisation de la cellulose avec des sondes de pH :

conclusion

La modification de la cellulose en cellulose- N_3 permet d'obtenir une surface pouvant être fonctionnalisée avec des réactions de cycloadditions azide-alcyne catalysée par le Cu(I). Le choix de la fonctionnalisation par chimie click offre l'avantage de permettre une fonctionnalisation simple, sans former de sous-produits et donc sans étape de purification de la cellulose greffée. Ainsi, la fonctionnalisation de la cellulose- N_3 avec la sonde de pH pérylène amine **S6** avec différentes concentrations de sondes $c_{sonde} = 2,6 \text{ } \mu\text{mol/mg}$ à $2,6 \text{ } \mu\text{mol/g}$ de cellulose- N_3 conduit à la formation d'agrégats de sonde. La cellulose fonctionnalisée obtenue est hydrophobe en raison des groupements N_3 et des sondes pérylène en surface. Une extinction de fluorescence partielle est tout de même observée en raison du PET entre l'amine déprotonée et le pérylène mais les temps de réponse sont longs et peuvent atteindre 3 h. Une augmentation du caractère hydrophile de la cellulose greffée est obtenue par saturation des sites N_3 avec l'alcool propargylique. La diminution de la concentration en sonde associée à l'ajout de groupements hydrophiles permet de synthétiser une cellulose hydrophile présentant peu d'excimères en surface d'après les spectres d'émission. L'étude de la fluorescence de cette cellulose en fonction du pH met en évidence un comportement singulier similaire à celui observé en solution ; à savoir une extinction de fluorescence causée par l'agrégation des sondes de pH déprotonée. Ce comportement se traduit par une extinction de fluorescence se produisant sur une gamme de pH réduite et les paramètres $pK_a = 10,19 \pm 0,01$ et $dpH = 0,12 \pm 0,01$ sont déterminés. Ainsi, l'interaction sonde-matrice est réduite grâce au greffage des sondes en surface de la cellulose mais les interactions entre les sondes peuvent conduire à la formation d'agrégats ou d'empilements π - π , conduisant à une extinction de fluorescence non maîtrisée. La cellulose- N_3 a également été greffée avec la sonde pérylène guanidine **S5** mais la formation d'excimères en surface n'a pas pu être évitée

malgré la faible concentration en sonde greffée. La sonde **S5** étant peu soluble, un greffage inhomogène et 'par paquets' de la sonde a pu se produire et favoriser la formation d'agrégats de sonde localisés dans certaines régions de la cellulose.

V. Développement d'une optode de pH basée sur des sondes pérylène : conclusion

La synthèse de sondes de pH photostables dérivées du pérylène et adaptées à la mesure du pH de matériaux cimentaires a été explorée dans ce chapitre. Ainsi les fonctions amine et guanidinium, possédant des pKa théoriques proches de 11 à 13 ont été sélectionnées, avec l'objectif de synthétiser des sondes de pH fluorescentes gouvernées par un mécanisme PET. Les sondes pérylène amine secondaire **S1**, pérylène amine tertiaires **S2** et **S3**, et pérylène guanidine **S4** ont été synthétisées afin d'être séquestrées dans des matrices hydrogels (PVA-GA et HydroMed™ D4). L'étude des sondes **S1** à **S4** en solution a permis de confirmer une extinction de fluorescence lors de la déprotonation des sondes. Tandis que des pKa calculés de 9,78, 11,31 et 11,36 ont pu être déterminés pour les sondes **S1** à **S3** en milieu DMSO/H₂O, la déprotonation de la sonde **S4** n'a pas pu être étudiée en solution aqueuse en raison de sa faible solubilité. Pour cette dernière sonde, une déprotonation dans le DMSO avec le Na tert-butoxide met en évidence une extinction de fluorescence. Des phénomènes d'agrégation réversible des sondes **S2** et **S3** lors de leur déprotonation en solution, conduisant à des faibles valeurs de dpH, a été mise en évidence par les études spectroscopiques couplées à des mesures DLS. Pour la sonde **S4**, le mécanisme PET est remis en cause par les travaux de Kim et al.[36], suggérant la présence d'un effet loose bolt en raison d'un couplage vibronique entre le pérylène et la guanidine induisant une désexcitation. Des calculs théoriques permettraient de confirmer cette hypothèse. L'ensemble des sondes **S1** à **S4** ont été séquestrées dans matrices hydrogels, et des interactions spécifiques entre les sondes pérylène amine et les hydrogels ont été mises en évidence en raison de la diminution du pKa de l'ordre de 2 à 3 unités de pH. Malgré la photostabilité des hydrogels GA-PVA synthétisés couplée à une extinction de fluorescence effective et des temps de réponse courts, leur utilisation pour la mesure du pH de matériaux cimentaires a été invalidée en raison des faibles valeurs de pKa déterminés. La séquestration de la sonde **S4** dans une matrice GA2-PVA10 est cependant plus intéressante, avec un pKa = 12,56 et un dpH = 0,5. Ces matrices solides pourraient être utilisées pour la mesure du pH sur une gamme pH = 12,0 – 13,5. La photostabilité des sondes pérylène développées sur une gamme de pH basique et la résistance des matrices GA-PVA, accompagnées de temps de réponse courts confirment l'intérêt de cette matrice pour l'étude des matériaux cimentaires au jeune âge. Une probable agrégation des sondes dans la matrice et une inaccessibilité à la totalité des sites de déprotonation ont cependant été relevées, et une possible influence de l'effet loose bolt identifié en solution doit être étudié. Une augmentation de la solubilité de la sonde **S4**, ainsi qu'une meilleure compréhension des mécanismes photophysiques mis en jeu, en solution comme en matrice, permettraient de confirmer l'utilisation des hydrogels GA2-PVA10 dopés avec la sonde **S4**.

En raison de la variation du volume des hydrogels en fonction de leur état d'hydratation, la cellulose a été sélectionnée en parallèle afin de constituer une matrice pour le greffage de sondes de pH. La cellulose hydrophile a été modifiée afin d'obtenir une cellulose-N₃. Des sondes pérylène amine **S5** et pérylène guanidine **S6** présentant des alcynes terminaux ont été greffées en surface d'une cellulose-N₃ par réaction de chimie click. Afin de diminuer le caractère hydrophobe et d'augmenter la faible mouillabilité des surfaces ainsi préparées, une saturation des sites N₃ libres par l'alcool propargylique a permis d'obtenir des surfaces hydrophiles. Un pKa = 10,19 a été déterminé pour la cellulose greffée avec la sonde **S5** et l'alcool propargylique. En revanche, une faible valeur de dpH = 0,12 et une hystérèse fonction du pH ont été déterminés pour cette surface, limitant l'utilisation de la cellulose sur une gamme de pH restreinte. L'hypothèse d'un phénomène d'agrégation de la sonde **S5** en surface dans son état déprotoné est formulé, basé sur le comportement des sondes pérylène amine en solution. Une étude du taux de greffage de la cellulose N₃ par XPS et analyse élémentaire, et un greffage homogène de la sonde en surface avec l'introduction de groupements encombrants hydrophiles pourraient permettre d'augmenter les paramètres dpH et ΔIF. Enfin, la sonde **S6** n'a pas pu être greffée sans former d'excimères en surface de la cellulose, malgré la diminution de la

concentration en sonde. Une probable agrégation de la sonde lors du greffage pourrait conduire à une fonctionnalisation inhomogène de la cellulose. Un greffage homogène en surface de la cellulose et une meilleure compréhension des phénomènes photophysiques mis en jeu lors de la déprotonation des sondes pérylène guanidine permettrait de développer une optode adaptée à la mesure du pH *in situ* des matériaux cimentaires.

Références

1. Aigner, D.; Borisov, S. M.; Klimant, I., New fluorescent perylene bisimide indicators--a platform for broadband pH optodes. *Anal Bioanal Chem* **2011**, *400* (8), 2475-85.
2. Jafar, M.; Reza, H.; Mahmood, J.-T.; Ahmad Reza, M.; Ali Ahmad, B.; Elham, S.; Mohtaram, V.; Maryam, D.; Majid, T.; Roya, G., Comparison of the Photobleaching and Photostability Traits of Alexa Fluor 568- and Fluorescein Isothiocyanate-conjugated Antibody. *Cell Journal* **2011**, *13* (3), 169-172.
3. Fu, X.; Gu, D.; Zhao, S.; Zhou, N.; Zhang, H., A Dual-Readout Method for Biothiols Detection Based on the NSET of Nitrogen-Doped Carbon Quantum Dots-Au Nanoparticles System. *J Fluoresc* **2017**, *27* (5), 1597-1605.
4. Nguyen, T. H.; Sun, T.; Grattan, K. T. V., Novel coumarin-based pH sensitive fluorescent probes for the highly alkaline pH region. *Dyes and Pigments* **2020**, 177.
5. Nguyen, T. H.; Venugopala, T.; Chen, S.; Sun, T.; Grattan, K. T. V.; Taylor, S. E.; Basheer, P. A. M.; Long, A. E., Fluorescence based fibre optic pH sensor for the pH 10–13 range suitable for corrosion monitoring in concrete structures. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2014**, *191*, 498-507.
6. Pfeifer, D.; Klimant, I.; Borisov, S. M., Ultrabright Red-Emitting Photostable Perylene Bisimide Dyes: New Indicators for Ratiometric Sensing of High pH or Carbon Dioxide. *Chemistry* **2018**, *24* (42), 10711-10720.
7. Berlman, I., *Handbook of fluorescence spectra of Aromatic Molecules*. 2 ed.; 1971.
8. Heinze, T.; Liebert, T., Unconventional methods in cellulose functionalization. *Prog. Polym. Sci.* **2001**, *26*, 1689-1762.
9. Markovic, V.; Villamaina, D.; Barabanov, I.; Daku, L. M.; Vauthey, E., Photoinduced symmetry-breaking charge separation: the direction of the charge transfer. *Angew Chem Int Ed Engl* **2011**, *50* (33), 7596-8.
10. Asseline, U.; Cheng, E., Synthesis and binding properties of perylene-oligo-27-deoxyribonucleotide conjugates. **2001**.
11. Pandith, A.; Hazra, G.; Kim, H.-S., Anewfluorogenic sensing platform for salicylic acid derivatives based on π - π and NH- π interactions between electron-deficient and electron-rich aromatics. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* **2017**, *178*, 151-159.
12. Gutierrez, C. D.; Bavetsias, V.; McDonald, E., TiCl(OiPr)₃ and NaBH(OAc)₃: an efficient reagent combination for the reductive amination of aldehydes by electron-deficient amines. *Tetrahedron Letters* **2005**, *46* (20), 3595-3597.
13. Yudovin-Farber, I.; Golenser, J.; Beyth, N.; Weiss, E. I.; Domb, A. J., Quaternary Ammonium Polyethyleneimine: Antibacterial Activity. *Journal of Nanomaterials* **2010**, *2010*, 1-11.
14. Jia, Z.; Shen, D.; Xu, W., Synthesis and antibacterial activities of quaternary ammonium salt of chitosan. *Carbohydrate Research* **2001**, *333*, 1-6.
15. Wang, Y.; Jain, V.; Versace, A.; Bhardwaj, M.; Crissey, M. A. S.; Amaravadi, R. K.; Winkler, J. D., Anticancer properties of bisaminoquinolines with modified linkers. *Bioorg Med Chem Lett* **2021**, *49*, 128272.
16. Masui, M.; Sayo, H.; Tsuda, Y., Anodic oxidation of amines. Part 1: Cyclic voltammetry of aliphatic amines at a stationary glassy-carbon electrode. *Journal of the Chemical Society B: Physical Organic* **1968**, 973-976.
17. Lee, S. K.; Zu, Y.; Herrmann, A.; Geerts, Y.; Müllen, K.; Bard, A. J., Electrochemistry, Spectroscopy and Electrogenerated Chemiluminescence of Perylene, Terrylene, and Quaterylene Diimides in Aprotic Solution. *Journal of the American Chemical Society* **1999**, *121* (14), 3513-3520.
18. Harmer, R.; Fan, H.; Lloyd, K.; Doble, S.; Avenoso, J.; Yan, H.; Rego, L. G. C.; Gundlach, L.; Galoppini, E., Synthesis and Properties of Perylene-Bridge-Anchor Chromophoric Compounds. *J Phys Chem A* **2020**, *124* (31), 6330-6343.
19. Ware, W. R.; Cunningham, P. T., Fluorescence Lifetime and Fluorescence Enhancement of Perylene Vapor. *The Journal of Chemical Physics* **1966**, *44* (11), 4364-4365.
20. Kavarnos, G. J., Fundamental Concepts of Photoinduced Electron Transfer. In *Topics in Current Chemistry*, Springer-Verlag, Ed. Berlin Heidelberg, 1990; Vol. 156, pp 23-56.
21. Shigeno, M.; Kushida, Y.; Yamaguchi, M., Molecular switching involving metastable states: molecular thermal hysteresis and sensing of environmental changes by chiral helicene oligomeric foldamers. *Chem Commun (Camb)* **2016**, *52* (28), 4955-70.
22. Tomaszewska, E.; Soliwoda, K.; Kadziola, K.; Tkacz-Szczesna, B.; Celichowski, G.; Cichomski, M.; Szmaja, W.; Grobelny, J., Detection Limits of DLS and UV-Vis Spectroscopy in Characterization of Polydisperse Nanoparticles Colloids. *Journal of Nanomaterials* **2013**, *2013*, 1-10.
23. Cho, J.; Keum, C.; Lee, S.-G.; Lee, S.-Y., Aggregation-driven fluorescence quenching of imidazole-functionalized perylene diimide for urea sensing. *Analyst* **2020**, *145*, 7312-7319.
24. Muthuraj, B.; Chowdhury, S. R.; Mukherjee, S.; Patra, C. R.; Iyer, P. K., Aggregation deaggregation influenced selective and sensitive detection of Cu²⁺ and ATP by histidine functionalized water-soluble fluorescent perylene diimide under physiological conditions and in living cells. *RSC Advances* **2015**, *5* (36), 28211-28218.
25. Kampf, A., *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft A* **1904**, *37*, 1681.
26. Naumiec, G. R.; Cai, L.; Pike, V. W., New N-aryl-N'-(3-(substituted)phenyl)-N'-methylguanidines as leads to potential PET radioligands for imaging the open NMDA receptor. *Bioorg Med Chem Lett* **2015**, *25* (2), 225-8.
27. Drake, B.; Patek, M.; Lebl, M., A convenient preparation of monosubstituted N,N'-di(Boc)-protected guanidines. *Synthesis* **1994**, (6), 579-582.

28. Bannard, R. A. B.; Casselman, A. A.; Cockburn, W. F.; Brown, G. M., Guanidine compounds II. Preparation of mono- and N,N-di-alkylguanidines. *Can. J. Chem.* **1958**, *36*, 1541-1549.
29. Katritzky, A. R.; Rogovoy, V. B.; Chassaing, C.; Vvedensky, V., Di(benzotriazol-1-yl)methanimine: A New Reagent for the Synthesis of Tri- and Tetrasubstituted Guanidines. **2000**.
30. Dolzhenko, A. V.; Dolzhenko, A. V.; Chui, W.-K., Practical synthesis of regioisomeric 5(7)-amino-6,7(4,5)-dihydro[1,2,4]triazolo[1,5-a][1,3,5]triazines. *Tetrahedron* **2007**, *63* (52), 12888-12895.
31. Zahariev, S.; Guarnaccia, C.; Lamba, D.; Čemažar, M.; Pongor, S., Solvent-free synthesis of azole carboximidamides. *Tetrahedron Letters* **2004**, *45* (51), 9423-9426.
32. Dijols, S.; Boucher, J.-L.; Lepoivre, M.; Lefevre-Groboillot, D.; Moreau, M.; Frapart, Y.; Rekka, E.; Meade A. L.; Stuehr, D. J.; Mansuy, D., First Non-R-Amino Acid Guanidines Acting as Efficient NO Precursors upon Oxidation by NO-Synthase II or Activated Mouse Macrophages. **2002**.
33. Verdini, A. S.; Lucietto, P.; Fossati, G.; Giordan, C., A Facile Preparation of Fmoc-Arg ω, ω' (Boc)₂-OH and Z-Arg ω, ω' (Boc)₂-OH, New Arginine Derivatives for Peptide Synthesis. *Tetrahedron Letters* **1992**, *33* (43), 6541-6542.
34. Powell, D. A.; Ramsden, P. D.; Batey, R. A., Phase-Transfer-Catalyzed Alkylation of Guanidines by Alkyl Halides under Biphasic Conditions: A Convenient Protocol for the Synthesis of Highly Functionalized Guanidines. *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 2300-2309.
35. Sun, X.; James, T. D.; Anslyn, E. V., Arresting "Loose Bolt" Internal Conversion from -B(OH)₂ Groups is the Mechanism for Emission Turn-On in ortho-Aminomethylphenylboronic Acid-Based Saccharide Sensors. *J Am Chem Soc* **2018**, *140* (6), 2348-2354.
36. Kim, H.; Lim, H. K.; Cho, S.; Kim, H. J., An anthracene appended guanidine derivative as water soluble fluorescence sensor for high pH values and water content measurements. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* **2019**, *383*.
37. Werner, T. C.; Chang, J.; Hercules, D. M., Electrochemiluminescence of perylene. The role of direct excimer formation. *Journal of the American Chemical Society* **1969**, *92* (19), 5560-5565.
38. Draxler, S.; Lippitsch, M. E., pH sensors using fluorescence decay time. *Sensors and Actuators B: Chemical* **1995**, *29*, 199-203.
39. Tachikawa, H.; Faulkner, L. R., Anomalous luminescence from perylene in thin polymer films. *Chemical Physics Letters* **1976**, *39* (3).
40. Tavakolian, M.; Jafari, S. M.; van de Ven, T. G. M., A Review on Surface-Functionalized Cellulosic Nanostructures as Biocompatible Antibacterial Materials. *Nano-Micro Letters* **2020**, *12* (1).
41. Kolb, H. C.; Finn, M. G.; Sharpless, K. B., Click Chemistry: Diverse Chemical Function from a Few Good Reactions. *Angew. Chem.* **2001**, *40*, 2004-2021.
42. Nwe, K.; Brechbiel, M. W., Growing Applications of "Click Chemistry" for Bioconjugation in Contemporary Biomedical Research. *Cancer biotherapy and radiopharmaceuticals* **2009**, *25* (3), 289-301.
43. Worrell, B. T.; Malik, J. A.; Fokin, V. V., Direct Evidence of a Dinuclear Copper Intermediate in Cu(I)-Catalyzed Azide-Alkyne Cycloadditions. *Science* **2013**, *340* (6131), 457-460.
44. Ben El Ayouchia, H.; Bahsis, L.; Anane, H.; Domingo, L. R.; Stiriba, S.-E., Understanding the mechanism and regioselectivity of the copper(I) catalyzed [3 + 2] cycloaddition reaction between azide and alkyne: a systematic DFT study. *RSC Advances* **2018**, *8* (14), 7670-7678.
45. Nongbe, M. C.; Bretel, G.; Ekou, L.; Ekou, T.; Robitzer, M.; Le Grogne, E.; Felpin, F.-X., Cellulose paper azide as a molecular platform for versatile click ligations: application to the preparation of hydrophobic paper surface. *Cellulose* **2018**, *25* (2), 1395-1411.
46. Filpponen, I.; Kontturi, E.; Nummelin, S.; Rosilo, H.; Kolehmainen, E.; Ikkala, O.; Laine, J., Generic Method for Modular Surface Modification of Cellulosic Materials in Aqueous Medium by Sequential "Click" Reaction and Adsorption. *Biomacromolecules* **2012**, *13* (3), 736-742.
47. Xu, C.; Spadiut, O.; Araujo, A. C.; Nakhai, A.; Brumer, H., Chemo-enzymatic assembly of clickable cellulose surfaces via multivalent polysaccharides. *ChemSusChem* **2012**, *5* (4), 661-5.
48. Goodge, K.; Frey, M., Biotin-Conjugated Cellulose Nanofibers Prepared via Copper-Catalyzed Alkyne-Azide Cycloaddition (CuAAC) "Click" Chemistry. *Nanomaterials (Basel)* **2020**, *10* (6).
49. Liebert, T.; Hänsch, C.; Heinze, T., Click Chemistry with Polysaccharides. *Macromolecular Rapid Communications* **2006**, *27* (3), 208-213.
50. Ritter, H.; Knudsen, B.; Mondrzyk, B. E.; Branscheid, R.; Kolb, U., Cellulose-click-ferrocenes as docking spots for cyclodextrin. *Polymer International* **2012**, *61* (8), 1245-1248.
51. Khalifa, M. E., Mercerization of Cotton Yarn Fibers. Optimization of Caustic Soda Concentration via Degree of Mercerization, Dyability and Mechanical Properties. *International Journal of Textile Science* **2017**, *6* (1), 15-19.
52. Lau, Y. Y.; Zhai, H.; Schafer, L. L., Catalytic Asymmetric Synthesis of Morpholines. Using Mechanistic Insights To Realize the Enantioselective Synthesis of Piperazines. *J Org Chem* **2016**, *81* (19), 8696-8709.
53. Tommasi, S.; Zanato, C.; Carabeo, R.; Mangoni, A.; Dall'Angelo, S.; Zanda, M., An Efficient Route to N-Monosubstituted Guanidino-Lactams. *Synthesis* **2015**, *47* (19), 3067-3078.
54. Cai, Y.; Ling, C. C.; Bundle, D. R., A general, efficient and stereospecific route to sphingosine, sphinganine, phytosphingosine and their analogs. *Org Biomol Chem* **2006**, *4* (6), 1140-6.
55. Jäger, S.; Rasched, G.; Kornreich-Leshem, H.; Engeser, M.; Thum, O.; Famulok, M., A Versatile Toolbox for Variable DNA Functionalization at High Density. *Journal of the American Chemical Society* **2005**, *127*, 15071-15082.

56. Qiu, H.; Wang, C.; Xu, J.; Lai, G.; Shen, Y., Synthesis, spectroscopic, and electrochemical properties of three tetrathiafulvalenes attached to perylene. *Monatshefte für Chemie - Chemical Monthly* **2008**, *139* (11), 1357-1362.
57. Weidman, J. L.; Mulvenna, R. A.; Boudouris, B. W.; Phillip, W. A., Unusually Stable Hysteresis in the pH-Response of Poly(Acrylic Acid) Brushes Confined within Nanoporous Block Polymer Thin Films. *J Am Chem Soc* **2016**, *138* (22), 7030-9.
58. Zhou, H.; Qin, C.; Chen, R.; Zhang, G.; Xiao, L.; Jia, S., Electric field induced fluorescence hysteresis of single molecules in poly(methyl methacrylate). *Applied Physics Letters* **2014**, *105* (15).

Conclusion générale et perspectives –

Ce manuscrit décrit l'approche suivie afin de développer une optode destinée à la mesure *in situ* du pH du béton, depuis le début des réactions d'hydratation jusque plusieurs mois/années. La méthodologie adoptée, décrite dans l'introduction générale, est rappelée ici avec une brève description des différents choix expérimentaux effectués et explorés au cours de la thèse (Figure Conclusion - 1). Les résultats obtenus sont discutés dans cette dernière partie afin de clôturer ce manuscrit, et des perspectives à court et long termes sont proposées.

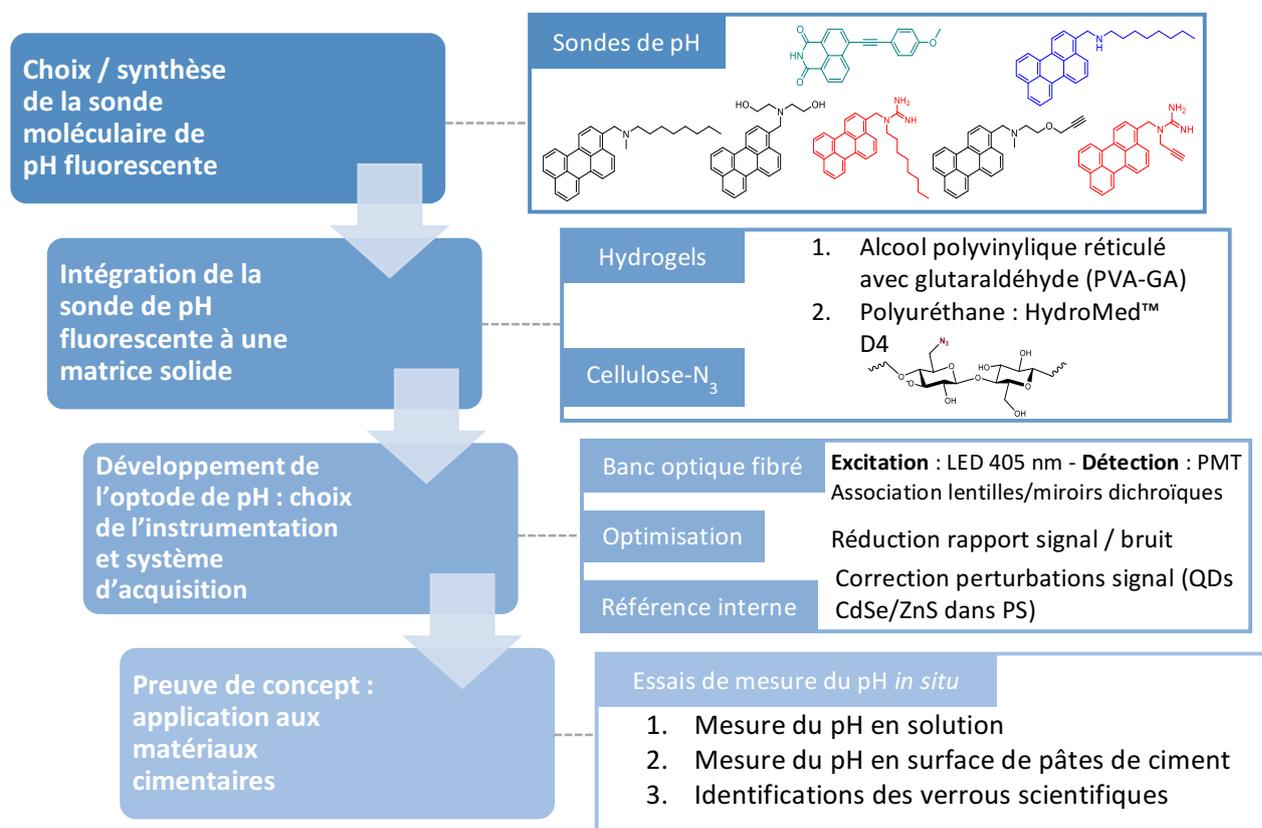


Figure Conclusion - 1 : Méthodologie suivie pour le développement d'une optode destinée à la mesure *in situ* du pH de matériaux cimentaires

1. Résultats obtenus et discussion

1.a. Développement d'une optode de pH basée sur un dérivé naphthalimide

Une première sonde de pH Naphth-AlkyneOMe correspondant à un dérivé 1,8-naphthalimide a été caractérisée en solution. Ses caractéristiques photophysiques, à savoir un $pK_{a, \text{calculé}} = 10,0$ dans le DMSO/H₂O associé à un rendement quantique de fluorescence élevé $\Phi_{F, \text{chloroforme}} = 90\%$ et une extinction de fluorescence marquée lors de la protonation en raison d'un mécanisme ICT, ont permis de sélectionner cette sonde de pH. Les hydrogels PVA-GA ont été sélectionnés en premier lieu en raison de leur perméabilité aux ions H₃O⁺ et HO⁻ associée à une résistance aux pH basiques et à leur capacité de rétention d'eau. La sonde de pH Naphth-AlkyneOMe y a été physiquement séquestrée afin de constituer des hydrogels dont l'émission varie en fonction du pH. La mise en forme des hydrogels à l'aide d'un applicateur automatique a constitué la méthode de choix afin d'obtenir des hydrogels minces d'épaisseur contrôlée. Une interaction spécifique entre la sonde naphthalimide et la matrice PVA-GA a été mise en évidence par la réponse de l'hydrogel aux variations de pH ; en effet les hydrogels PVA-GA sont caractérisés par une extinction de fluorescence lors de la déprotonation de la sonde, inversement au comportement de la sonde en solution. Ces interactions spécifiques ont aiguillé l'étude des hydrogels PVA-GA, notamment avec l'étude de l'effet de la concentration massique x en GA dans les hydrogels. Des hydrogels minces GA_x-PVA10, avec $x=2,5 ; 5 ; 7,5 ; 10$ ont été élaborés et caractérisés.

Les hydrogels GA5-PVA10 ont un $pK_{a_{moyen}} = 11,92$ tandis que les hydrogels GA7,5-PVA10 ont un $pK_{a_{moyen}} = 12,67$ et présentent une rigidité supérieure avec des pores de taille moyenne supérieure ($63 \mu\text{m} \pm 1 \mu\text{m}$). Les hydrogels GA7,5-PVA10 d'épaisseur moyenne $137 \mu\text{m} \pm 5 \mu\text{m}$ ont un temps de réponse moyen $t_{90} = 22$ s. L'absence de lixiviation de la sonde en dehors des hydrogels GA-PVA en solution aqueuse rendent ces matrices intéressantes pour l'étude du pH sur des temps longs. En revanche, une dégradation de la sonde accompagnée d'un photoblanchiment exacerbé pour des valeurs de $\text{pH} > 12,5$ ont été mis en évidence. Ce photoblanchiment a orienté les travaux vers la synthèse de sondes de pH photochimiquement résistantes aux pH basiques. Un second hydrogel (HydroMed™ D4) correspondant à un polyuréthane dibloc commercial a été sélectionné afin d'étudier les interactions de la sonde naphthalimide avec une matrice de nature chimique différente. La calibration d'hydrogels HydroMed™ D4 dopés avec la sonde Naphthalkyne-OMe et préparés par drop casting sont également caractérisés par une extinction de fluorescence lors de la déprotonation et un $pK_{a_{moyen}} = 11,75$ a été déterminé.

Un banc optique correspondant à une première version de l'optode de pH a été développé en parallèle. Ce banc optique utilise une LED afin d'exciter l'hydrogel placé dans une unité de détection conçue spécifiquement en Delrin® afin de résister aux pH basiques. L'émission est collectée à travers une fibre optique liée à l'unité de détection et un PMT permet de collecter l'intensité de fluorescence de l'hydrogel, en fonction du pH de la solution en contact avec l'hydrogel dopé étudié. L'association de lentilles et d'un miroir dichroïque constituant la partie optoélectronique de l'optode de pH ont permis d'obtenir un signal optique caractérisé par un bruit faible. La comparaison des spectres d'émission des hydrogels GA-PVA dopés avec la sonde naphthalimide acquis sur un montage de spectrofluorimétrie adapté, et de l'intensité IF acquise avec le banc optique en fonction du pH ont permis de valider le montage optique. Une optimisation du banc optique a été réalisée de manière à constituer un outil de mesure fiable et robuste, dont le signal n'est pas perturbé par des variations de l'environnement optique ou des fluctuations du courant par exemple. Pour cela, une voie de référence interne a été ajoutée sur le banc. Des quantum dots CdSe/ZnS ont été sélectionnés en raison de leur intensité de fluorescence indépendante du pH et distincte des sondes de pH synthétisées. L'élaboration de membranes en polystyrène dopés avec les QDs ont alors constitués une référence interne placée dans l'unité de détection et la méthode de mesure ratiométrique développée a permis de rendre la mesure plus robuste vis-à-vis des perturbations externes au système.

Les hydrogels dopés avec la sonde Naphthalkyne-OMe ont permis de réaliser des mesures ponctuelles de pH basiques, en surface de matériaux cimentaires par exemple. Cette utilisation a été illustrée par la mesure du pH en surface de pâtes de ciment bas-pH au jeune âge. Ainsi, un pH initial égal à $12,8 \pm 0,1$ unité de pH au quatrième jour a été mesuré et une diminution progressive de pH jusque $12,2 \pm 0,1$ unité de pH au dixième jour d'hydratation a été mesurée. Des essais de mesure *in situ* du pH de pâtes de ciment ont mis en évidence un verrou scientifique majeur ; en effet l'accessibilité à l'eau porale des matériaux cimentaires limite la mesure du pH à l'aide d'hydrogels dopés, dont l'intensité de fluorescence varie en fonction de leur degré d'hydratation. L'eau accessible des matériaux cimentaires étant piégée dans des micropores, des forces capillaires associées à des problématiques d'accessibilité de l'eau par l'hydrogel dopé, complexifient la mesure *in situ* du pH des matériaux cimentaires.

1.b. Développement d'une optode de pH basée sur des dérivés pérylène

Dans l'optique de synthétiser des sondes de pH photostables, une série de sondes de pH présentant un mécanisme PET a été synthétisée en se basant sur le pérylène, possédant un rendement quantique de fluorescence élevé et une résistance aux pH basiques. Les fonctions amines et guanidine ont été associées à ce fluorophore afin d'obtenir des pK_a adaptés à la gamme de mesure $\text{pH} = 10,5-13,5$ visée. La caractérisation des sondes pérylène amine secondaire **S1**, et tertiaires **S2**, **S3** a permis de définir des $pK_a = 9,78$ à $11,36$ dans le DMSO/H₂O. Cependant, un phénomène réversible d'agrégation des sondes **S2** et **S3** dans leur état déprotoné a été mis en évidence. Un chemin de protonation différent du chemin de déprotonation constitue un comportement singulier pour ces composés. La ségrégation physique

de sondes pérylène amines dans les hydrogels GA2-PVA10 et HydroMed™ D4 a été comparée à un greffage covalent d'une sonde pérylène amine tertiaire **S3** dans un hydrogel GA2-PVA10. La caractérisation par spectrofluorimétrie de l'ensemble de ces matrices hydrogels a prouvé la présence d'interactions spécifiques entre les sondes de pH pérylène et les hydrogels, se traduisant par des pKa réduits de 3 à 4 unités de pKa. La faible extinction de fluorescence lors de la déprotonation des sondes pérylène piégées dans l'HydroMed™ D4 a également indiqué une localisation de la majorité des sondes dans les domaines hydrophobes de ce polyuréthane commercial, limitant leur déprotonation. La séquestration des sondes pérylène amine ou le greffage covalent dans un hydrogel de type GA-PVA a permis de réduire ce ratio des sondes inaccessibles grâce à une meilleure solubilité des sondes dans la matrice. Le greffage covalent d'une sonde pérylène amine hydrophobe dans un hydrogel GA-PVA n'apporte pas d'avantages photophysiques ou photochimiques par rapport à une simple ségrégation physique, mais assure l'absence de lixiviation des sondes à long terme. Des études de stabilité photochimique de l'ensemble de ces matrices dopées en milieux acide et basique ont validé l'utilisation de ces structures pour un suivi optique du pH à long terme. Les valeurs de pKa réduites des sondes pérylène amine séquestrées dans les hydrogels GA2-PVA10 en raison des interactions spécifiques sonde-matrice ont cependant invalidé leur utilisation pour la mesure de pH hautement basiques. Une sonde pérylène guanidine **S4** a été synthétisée et séquestrée dans une matrice GA2-PVA10. L'hydrogel mince dopé ainsi constitué possède un pKa = 12,56 mais l'extinction de fluorescence lors de la déprotonation est faible.

Afin de répondre à la problématique de variation de l'intensité de fluorescence d'un hydrogel dopé en fonction de son état d'hydratation, le greffage covalent de sondes de pH en surface de la cellulose afin de constituer une matrice solide dont le volume varie peu en fonction de son hydratation a été étudié. Pour cela, une cellulose-N₃ a été préparée et greffée avec une sonde pérylène amine **S6** possédant un alcyne terminal, par une réaction de chimie click maîtrisée. La cellulose ainsi obtenue présente un caractère hydrophobe en raison de la présence des azotures en surface. La saturation des azotures libres par l'alcool propargylique a permis d'augmenter le caractère hydrophile de la cellulose fonctionnalisée et de limiter la formation d'excimères greffés en surface de la cellulose. L'étude de l'émission de cette cellulose hydrophile greffée avec la sonde **S6** en fonction du pH a mis en évidence un phénomène d'agrégation des sondes déprotonées, similaire au comportement observé en solution pour les sondes **S2** et **S3**. En effet, comme en solution, l'existence d'un état métastable et donc d'une hystérèse est mise en évidence par comparaison des sens de protonation et de déprotonation. La cellulose greffée possède un pKa = 10,19 mais un dpH faible (dpH = 0,12), restreignant fortement la gamme de mesure. Une sonde pérylène guanidine **S5** a également été greffée de manière analogue en surface de la cellulose-N₃, avec une saturation des sites azotures libres. En raison de la faible solubilité de cette sonde **S5**, une formation d'agrégats de sondes et d'excimères n'a pas pu être évitée.

2. Perspectives à court terme

Deux verrous scientifiques majeurs ont été identifiés lors du développement d'une optode destinée à la mesure *in situ* du pH de matériaux cimentaires :

- i. La synthèse d'une sonde fluorescente de pH destinée à la gamme de pH = 10,5-13,5 photostable, présentant peu d'interactions avec la matrice solide sélectionnée et peu d'interactions sonde-sonde, dans les états protoné et déprotoné ;
- ii. La problématique de l'accessibilité à l'eau porale des matériaux cimentaires.

La première problématique a été partiellement résolue avec la synthèse de sondes pérylène guanidines, possédant des pKa proches de 13,0-13,5. Ces sondes présentent cependant une faible solubilité, conduisant à la formation d'excimères lors de leur greffage covalent en surface de la cellulose-N₃. Augmenter la solubilité des sondes pérylène et éviter les phénomènes d'agrégation dans la matrice, par une fonctionnalisation du pérylène avec des groupements encombrants et/ou

hydrophiles pourrait permettre de résoudre ce problème. Dans l'option de s'orienter vers des matrices hydrogels, cette fonctionnalisation des sondes pérylène éviterait également la formation d'agrégats et pourrait engendrer une augmentation du paramètre ΔF en raison de l'accessibilité aux sites de déprotonation. Une stratégie consisterait à fonctionnaliser le composé pérylène-3-carbaldéhyde avec une longue chaîne carbonée avant d'introduire la fonction guanidine mono ou di-substituée. Une seconde stratégie consisterait à fonctionnaliser le pérylène en position *bay* avec des groupements stables en milieu basique. Glodek et al. proposent des voies de synthèse pour la fonctionnalisation de la région *bay* du pérylène, comme illustré en Figure Conclusion - 2[1]. La chloration des positions *peri* du pérylène comme détaillé par Zinke et al. [2], ou plus récemment par Darwish et al. [3] permettrait d'introduire des groupements encombrants hydrophiles ou des chaînes carbonées par substitution nucléophile aromatique, favorisant la solubilisation du pérylène et empêchant la formation d'empilements π - π .

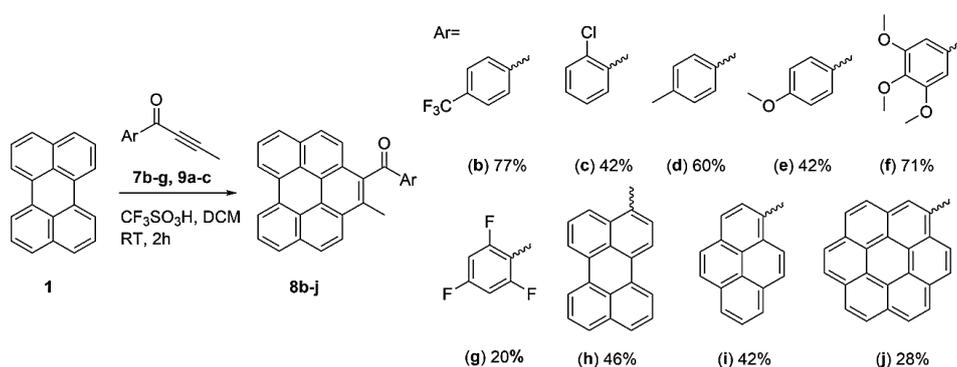


Figure Conclusion - 2 : Voie de synthèse proposée par Glodek et al. pour la fonctionnalisation du pérylène en position bay [1]

La sélection de la cellulose afin de constituer une matrice hydrophile dont le volume ne varie pas en fonction de son état d'hydratation constitue une réponse partielle au second verrou scientifique identifié. Envisager l'apport d'un faible volume d'eau au niveau de l'unité de détection au moment de la mesure constitue une perspective à explorer. En effet, un équilibre chimique rapide peut être atteint entre cette solution et le matériau cimentaire étudié, rendant une mesure du pH possible sans endommager le matériau en raison du faible volume d'eau apportée. La Figure Conclusion - 3 propose une modification de l'unité de détection afin d'insérer un capillaire permettant d'hydrater ponctuellement le matériau dopé avec la sonde de pH.

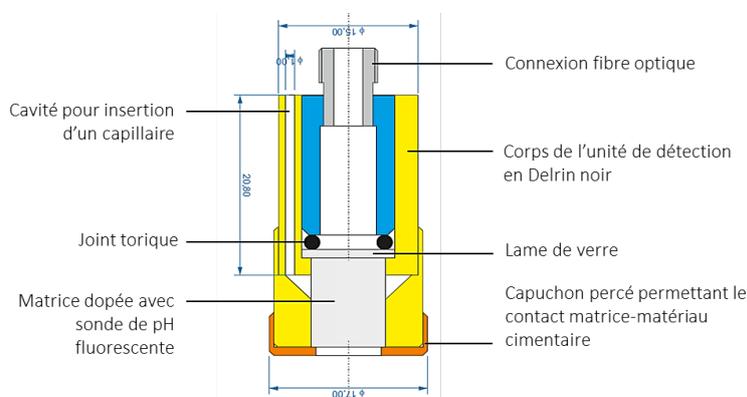


Figure Conclusion - 3 : Modification proposée de l'unité de détection de l'optode afin d'apporter un faible volume d'eau pour la mesure du pH *in situ*

A court terme, l'utilisation de ces sondes de pH photostables afin de développer une optode planaire permettant la cartographie du pH en surface de matériaux cimentaires constitue également une perspective prometteuse. La séquestration d'une sonde de pH dans un hydrogel mis en contact avec un matériau cimentaire humidifié pourrait permettre de cartographier le pH en surface d'une fracture fraîche afin de révéler une dégradation locale du matériau avec précision. Il est également possible d'envisager le développement d'une solution ou d'un spray obtenu par solubilisation d'une sonde de pH dans un solvant non toxique, à appliquer en surface du matériau. L'observation de la surface à l'aide d'un microscope équipé d'une source d'excitation et de filtres adaptés afin de cartographier l'émission pourrait permettre de visualiser les gradients de pH avec une résolution élevée. Un montage optique est par exemple proposé par Grengg et al. pour l'étude de matériaux cimentaires dégradés (Figure Conclusion - 4, [4]).

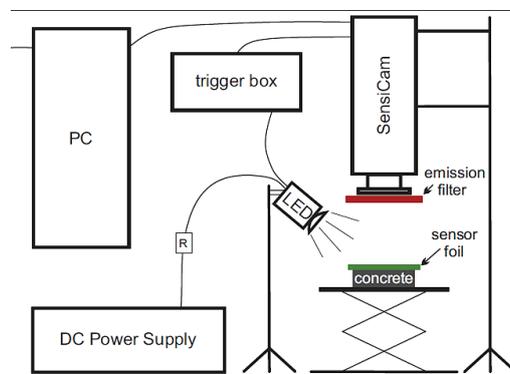


Figure Conclusion - 4 : Montage de cartographie du pH développé par Grengg et al. pour l'étude de matériaux cimentaires dégradés [4]

Les matrices GA2-PVA10 dopées avec les sondes pérylène amine tertiaires photostables pourraient être exploitées dans le cadre d'applications nécessitant une mesure du pH sur la gamme pH = 5-9, sans nécessiter une recalibration de l'outil de mesure. Le pH constituant un paramètre clé des environnements aqueux dans les domaines de la biologie au sens large, de l'étude des sédiments ou en océanographie, l'exploitation de ces travaux dans d'autres domaines que celui des matériaux cimentaires constitue des perspectives à explorer. Larsen et al. [5] ont par exemple développé une optode planaire permettant de cartographier le pH d'un échantillon de sol prélevé, présentant une activité biologique (Figure Conclusion - 5). Envisager une mesure du pH *in situ*, au cours du temps permettrait de suivre l'activité biologique d'un sol au cours du temps par exemple. L'étape de preuve de concept de cette application doit cependant être précédée d'une phase de tests en laboratoire détaillée en Figure Conclusion - 6.

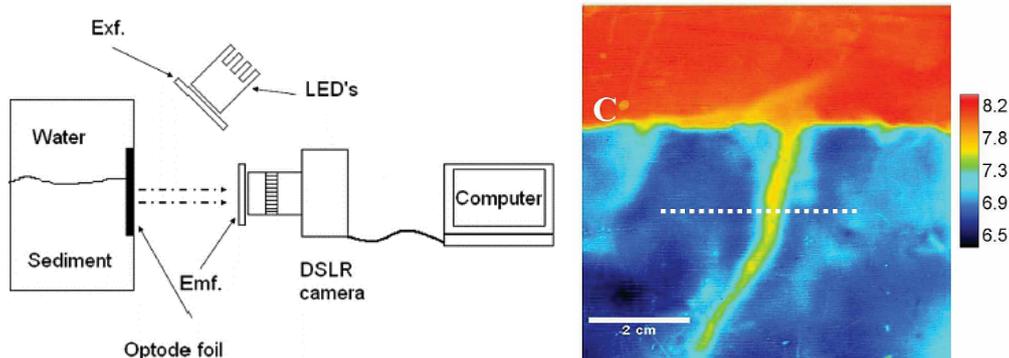


Figure Conclusion - 5 : Cartographie du pH d'un échantillon de sédiment réalisée grâce au montage de l'optode planaire présenté à gauche, développé par Larsen et al. [5]. La zone possédant un pH proche de 7,8 permet d'identifier l'activité d'un ver polychète *Hediste diversicolor*

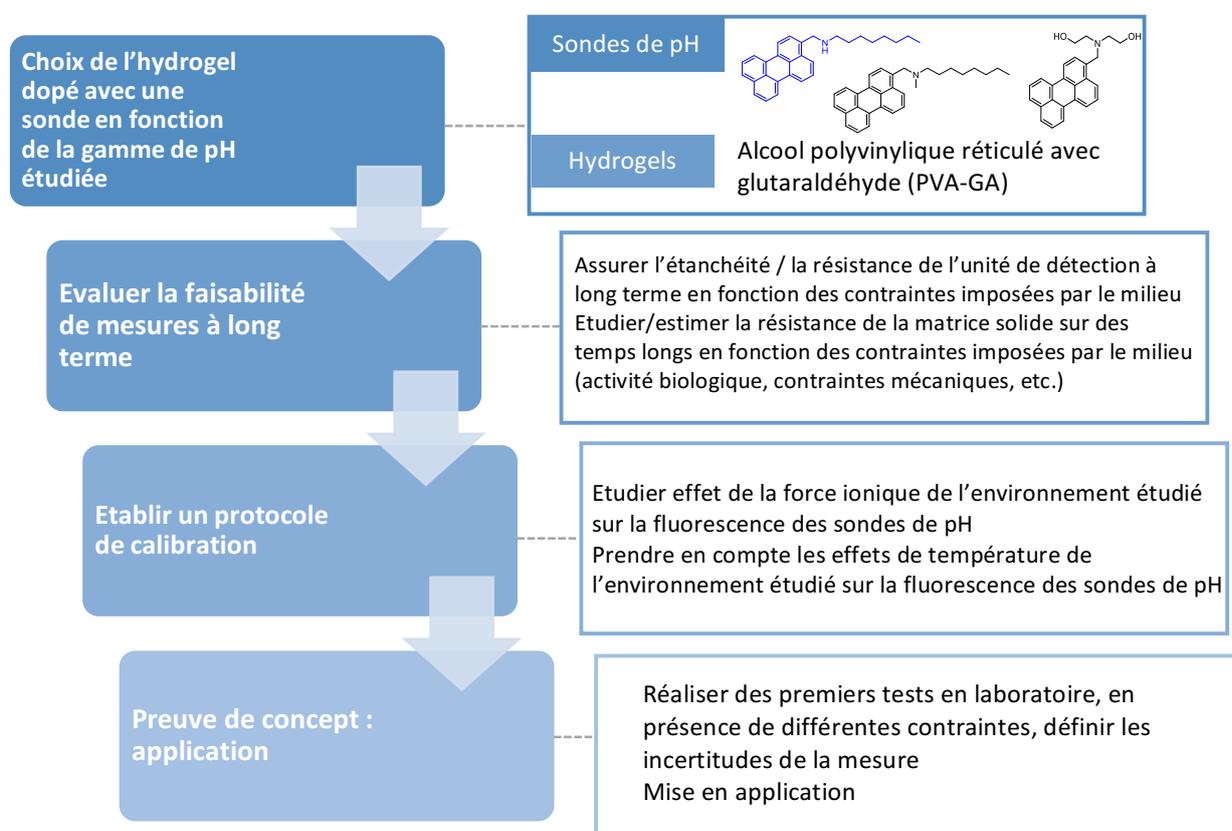


Figure Conclusion - 6 : Etapes complémentaires précédant l'application des hydrogels PVA-GA dopés avec les sondes pérylène amine photostables dans un milieu présentant un pH = 5-9, avec de l'eau accessible

Enfin, l'association d'une sonde pérylène amine et d'une sonde pérylène guanidine au sein d'une même matrice pourrait permettre d'élargir la gamme de pH mesurable avec l'optode et n'a pas été explorée dans le cadre de cette thèse.

3. Perspectives à long terme

Comme abordé dans le chapitre III, la cellulose greffée avec la sonde pérylène amine **S2** et l'alcool propargylique présente une hystérèse fonction du pH. Ce matériau hydrophile fonctionnalisé constitue une plateforme fluorescente présentant deux états ON/OFF et offre des possibilités de développement de commutateurs fluorescents par exemple. Le domaine des machines moléculaires ou '*moleculators*' constitue un domaine d'intérêt en raison de la volonté de miniaturiser les systèmes de transfert

d'information. Parejo et al. ont par exemple développé un commutateur fluorescent basé sur des réactions redox se produisant au sein de dérivés pérylène diimide (PDI) fonctionnalisés avec des structures metalla(carboranes) comme illustré en Figure Conclusion - 7. L'état d'oxydation du cobalt gouverne le mécanisme PET entre le PDI et les structures carboranes de manière réversible, la préparation d'un gel à partir de ces structures présente alors des propriétés luminescentes innovantes [6]. Dans le cas de la cellulose, une quantification de la quantité de sonde greffée en surface et une fonctionnalisation homogène permettrait de mieux comprendre la réponse du matériau aux variations de pH de l'environnement. Cette étape est essentielle avant l'utilisation de la cellulose fonctionnalisée pour des applications concrètes.

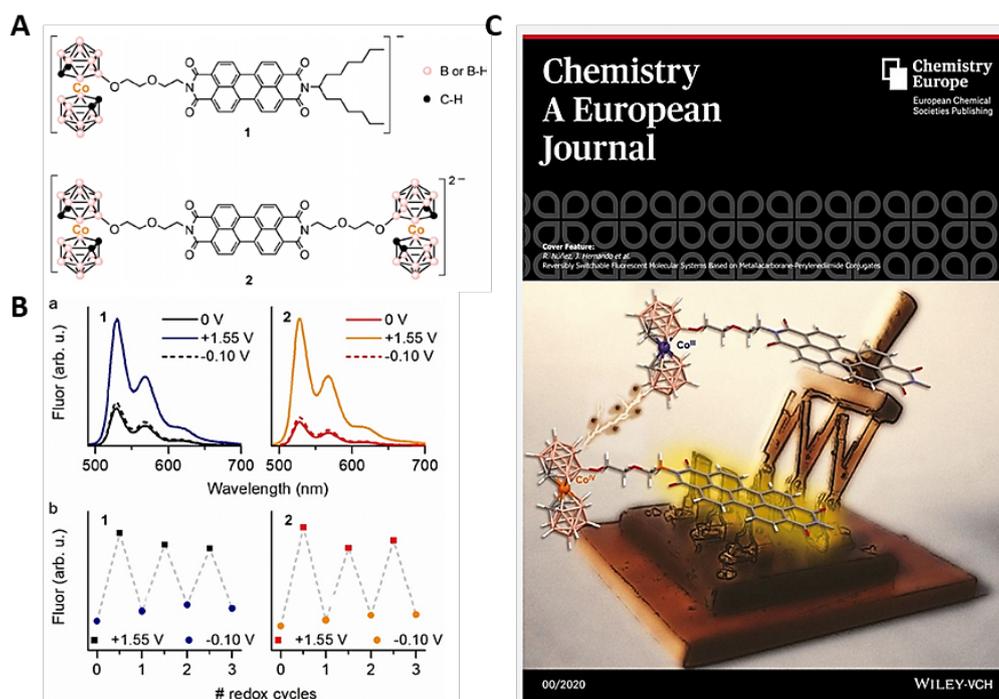


Figure Conclusion - 7 : A – Structures des commutateurs moléculaires synthétisés par Parejo et al. B – Variation de l'émission de fluorescence en fonction du potentiel électrique, dans l'acétonitrile C – Illustration du principe d'un commutateur moléculaire fluorescent issue de la collaboration entre les équipes de Nunez et Hernando

Enfin, le montage général de l'optode développé constitue un outil de mesure fiable et robuste. Il pourrait donc être exploité avec d'autres sondes moléculaires fluorescentes, afin de mesurer la concentration d'analytes d'intérêt telles que des concentrations en oxygène, en ions chlorure ou ferreux par exemple.

Références

1. Glodek, M.; Makal, A.; Plazuk, D., Functionalization of the "Bay Region" of Perylene in Reaction with 1-Arylalk-2-yn-1-ones Catalyzed by Trifluoromethanesulfonic Acid: One-Step Approach to 1-Acyl-2-alkylbenzo[ghi]perylene. *J Org Chem* **2018**, *83* (22), 14165-14174.
2. Lorber, Z. F., *Chemische Berichte* **1925**, *58*, 332.
3. Darwish, A. D.; Avent, A. G.; Abdul-Sada, A. K.; Gol'dt, I. V.; Hitchcock, P. B.; Kuvytchko, I. V.; Taylor, R., Electrophilic aromatic substitution by the fluorofullerene C60F18. *Chemistry* **2004**, *10* (18), 4523-31.
4. Grengg, C.; Müller, B.; Staudinger, C.; Mittermayr, F.; Breininger, J.; Ungerböck, B.; Borisov, S. M.; Mayr, T.; Dietzel, M., High-resolution optical pH imaging of concrete exposed to chemically corrosive environments. *Cement and Concrete Research* **2019**, *116*, 231-237.
5. Morten, L.; Sergey M., B.; Björn, G.; Ingo, K.; Ronnie N., G., A simple and inexpensive high resolution color ratiometric planar optode imaging approach: application to oxygen and pH sensing. *Limnology and Oceanography: Methods* **2011**, *9* (9), 348-360.
6. Parejo, L.; Chaari, M.; Santiago, S.; Guirado, G.; Teixidor, F.; Nunez, R.; Hernando, J., Reversibly Switchable Fluorescent Molecular Systems Based on Metallacarborane-Perylenediimide Conjugates. *Chemistry* **2021**, *27* (1), 270-280.

Partie expérimentale –

Table des matières

PARTIE EXPÉRIMENTALE – SYNTHÈSE ET CARACTÉRISATIONS.....	255
I. Généralités.....	255
I. 1. Solvants, produits et chromatographies.....	255
I. 2. Spectres RMN.....	255
I. 3. Spectrométrie de masse.....	255
II. Protocoles de synthèse des sondes moléculaires S1 à S6 et autres composés	256
III. Protocoles de synthèse et mise en forme des hydrogels dopés avec les sondes moléculaires de pH.....	264
III. 1. Hydrogels GAX-PVA10 dopés avec une sonde de pH.....	264
III. 2. Hydrogels HydroMed™ D4 dopés avec une sonde de pH.....	264
III. 3. Mise en forme des hydrogels minces.....	264
III.4. Mise en forme des hydrogels épais.....	266
III.5. Cas particuliers des hydrogels HydroMed™ D4 chargés en poudre de diamant et/ou bicouches.....	267
IV. Protocoles de synthèse de la cellulose-N₃ et chimie-click.....	268
IV. 1. Formation d'un groupement azoture.....	268
IV. 2. Fonctionnalisation de la cellulose-N ₃ par chimie click.....	268
V. Caractérisations des matrices dopées avec les sondes de pH.....	269
V. 1. Mesure de l'épaisseur des hydrogels.....	269
V. 2. Observation des hydrogels en microscopie électronique à balayage (MEB) ...	269
V. 3. Mesure des angles de contact.....	269
PARTIE EXPÉRIMENTALE – MONTAGES OPTIQUES.....	271
I. Optode de pH : montage.....	271
I. 1. Conception de l'unité de détection.....	271
I. 2. Pièces optiques.....	271
I. 3. Acquisition du signal.....	275
II. Optode de pH : mesures.....	275
II. 1. Généralités.....	275
II. 2. Mesures avec une référence interne.....	276
II.2. Détermination du pKa de sondes organiques de pH fluorescents séquestrées dans des matrices solides.....	277
III. Acquisition des spectres d'émission des matrices dopées.....	277
PARTIE EXPÉRIMENTALE – SPECTROSCOPIE.....	279
I. Absorbance.....	279
I.1. Instrumentation et conditions de mesure.....	279
I.2. Détermination des coefficients d'extinction molaire.....	279
II. Fluorescence.....	279
II.1. Instrumentation.....	279

II.2. Détermination des rendements quantiques de fluorescence	281
III. Détermination du pKa de sondes organiques de pH fluorescentes.....	282

Table des figures

Figure Exp - 1 : Applicateur automatique TQC Sheen utilisée pour la mise en forme des hydrogels GA – PVA (source : www.tqcsheen.com , figure adaptée)	265
Figure Exp - 2 : Rouleaux applicateurs filetés utilisés avec l'applicateur automatique TQC Sheen pour la mise en forme des hydrogels (source : www.tqcsheen.com , figure adaptée)	265
Figure Exp - 3 : Illustration du protocole de mise en forme d'hydrogels GAx-PVA10 épais par drop casting et réticulation catalysée par fumigation de vapeurs acides (HCl)	266
Figure Exp - 4 : Illustration de la méthode de drop casting pour la mise en forme d'hydrogels HydroMed™D4 épais	266
Figure Exp - 5 : Unité de détection de l'optode.....	271
Figure Exp - 6 : Montage des pièces optiques de l'optode de pH	272
Figure Exp - 7: Sensibilité des PMT Hamamatsu Photonics H10722-210 et H10722-20 en fonction de la longueur d'onde (source : Hamamatsu Photonics).....	273
Figure Exp - 8: Montage des pièces dans les cubes optiques Thorlabs.....	274
Figure Exp - 9 : Installation de l'unité de détection de l'optode et de l'électrode de pH en verre dans le bécher en Delrin® noir.....	275
Figure Exp - 10 : Configuration générale de l'unité de détection pour une mesure avec la référence interne.....	276
Figure Exp - 11 : Configuration de l'unité de détection limitant l'effet de filtre interne de la référence interne.....	276
Figure Exp - 12 : Pièce usinée permettant l'acquisition de l'émission d'une matrice dopée avec une sonde de pH placée dans l'unité de détection.....	278
Figure Exp - 13 : Montage de spectroscopie de fluorescence résolue en temps (DM : miroir dichroïque, BS : séparateur de faisceau, BP : filtre passe-bande, CFD : discriminateur de fraction constante, CSA : analyseur de charge, TAC : convertisseur temps/amplitude, ADC : convertisseur analogique/numérique, TCSPC : comptage de photons uniques résolu en temps)	280
Figure Exp - 14 : Principe de la mesure du rendement quantique de fluorescence absolu	282
Figure Exp - 15 : Illustration du dosage d'une sonde de pH fluorescente par l'hydroxyde de sodium NaOH, afin de déterminer le pKa calculé de la sonde.....	282

PARTIE EXPÉRIMENTALE – SYNTHÈSE ET CARACTÉRISATIONS

I. Généralités

I. 1. Solvants, produits et chromatographies

Les produits de synthèse utilisés ont été obtenus chez le fournisseur Sigma-Aldrich ou TCI et ont été utilisés sans purification complémentaire. Les solvants utilisés pour les synthèses ont été produits par la société Carlo Erba ou Sigma Aldrich.

Les chromatographies sur couches minces (CCM) ont été réalisées sur des plaques silice sur aluminium ALUGRAM®Xtra SIL G/UV₂₅₄ du fournisseur Macherey-Nagel.

Les purifications par chromatographie sur colonne de gel de silice ont été effectuées manuellement avec une silice de granulométrie 0,063-0.2 mm produite par Macherey-Nagel. Les purifications par chromatographie sur colonne automatique ont été réalisées avec un collecteur ARMEN Instrument SPOT System munie de colonnes de silice prépacquées (RediSep®Rf de Teledyne Isco ou PuriFlash® d'Interchim).

I. 2. Spectres RMN

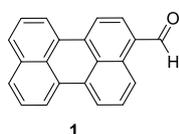
Les spectres de résonance magnétique nucléaire (RMN) ont été acquis sur un spectromètre JEOL-FT RMN 400 MHz équipé d'une sonde large bande 40TH5AT/FG et d'un module d'accord automatisé. Les solvants deutérés utilisés sont spécifiés pour chaque spectre et sont produits par euriso-top®. Pour le spectre du proton ¹H, le pic du TMS (tétraméthylsilane, 0 ppm) a servi de référence. Pour le spectre du carbone ¹³C, le pic du solvant deutéré a servi de référence. L'unité du déplacement chimique (δ) est le ppm (partie par million), les abréviations suivantes sont utilisées pour indiquer la multiplicité des signaux : s=singulet, t=triplet, m=multiplet, dd = doublet dédoublé. Les constantes de couplage scalaire J sont exprimées en Hz (Hertz).

I. 3. Spectrométrie de masse

Les spectres de masse ont été effectués par le service de spectrométrie de masse de l'Institut de Chimie des Substances Naturelles (ICSN), au centre de recherche de Gif sur Yvette (Centre de Recherche de Gif – <http://www.icsn.cnrs-gif.fr>).

II. Protocoles de synthèse des sondes moléculaires S1 à S6 et autres composés

Perylene-3-carbaldehyde : composé 1



Dans un ballon tricol sous argon, 500 mg (1,98 mmole) de pérylène a été dissous dans 7,5 mL de 1,2-dichlorobenzène et 1 mL de DMF par agitation pendant 2 h à 100°C. 0,85 mL (9,0 mmole, 4,55 éq.) de trichlorure de phosphoryle POCl₃ a été ajoutée progressivement à travers un septum sur une période de 30 min. L'agitation a été maintenue sous reflux pendant 4 h. Le milieu réactionnel a été refroidi à température ambiante et neutralisé avec une solution saturée d'acétate de sodium CH₃COONa. La phase organique a été extraite avec le DCM et lavée avec une solution d'acétate de sodium CH₃COONa et de l'eau. La phase organique a été séchée sur MgSO₄ et les solvants ont été évaporés. Une purification sur colonne de silice (éluant : cyclohexane/DCM 6:4 v/v) a permis d'isoler 385 mg de produit pur (69 %).

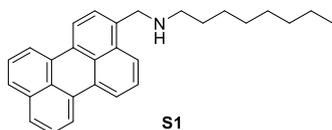
Reference: [1-2]

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) : δ = 10.29 (s, 1H), 9.14 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 8.26 (dd, J = 11.9, 7.8 Hz, 4H), 7.96-7.46 (m, 7H)

C₂₁H₁₂O M = 280.33 g/mol

Solide orange

N-(perylene-3-ylmethyl)octan-1-amine: composé S1



285 mg (1,02 mmole) de composé **1**, 1,7 mL d'octylamine (10,2 mmole, 10 éq.) et 5,2 mg d'acide paratoluène sulfonique (0,03 mmole, 0,03 éq.) ont été placés dans un ballon tricol sous argon muni d'un Dean-Stark, avec 30 mL de toluène. Le milieu réactionnel a été agité sous reflux durant 4 h puis refroidi à température ambiante avant d'être dilué avec 15 mL de méthanol et refroidi à 0°C à l'aide d'un bain de glace. 2 éq. de NaBH₄ ont été versés en maintenant la température en dessous de 15°C, et l'agitation a été maintenue durant 12h à température ambiante. Après addition d'eau dans le milieu réactionnel, la phase organique a été extraite avec du DCM. La phase organique a été lavée avec des solutions saturées de NH₄Cl, NaHCO₃ et de l'eau. La phase organique a été séchée sur MgSO₄ et les solvants ont été évaporés. 232 mg de produit pur a été isolé par précipitation dans le méthanol (58 %).

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) : δ = 8.21–8.11 (m, 4H, Pery), 7.93. (d, J = 8.7 Hz, 1H), 7.66 (dd, J = 7.8 Hz, J2.8 Hz, 1H), 7.53-7.43 (m, 4H), 4.15 (s, 2H), 2.75 (t, J = 7.33 Hz, 2H), 1.57–1.53(m, 2H), 1.38–1.25(m, 10H), 0.88 (t, J = 6.9 Hz, 3H)

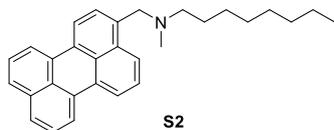
¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) : δ = 134.67, 133.75, 131.51, 131.41, 130.67, 129.12, 128.51, 128.2, 128.0, 127.65, 127.58, 127.01, 126.61, 126.34, 124.72, 120.19, 120.15, 119.93, 119.60, 119.10, 61.07, 58.15, 42.36, 31.90, 29.54, 27.54, 24.93, 22.70, 14.11

Masse HR : estimée pour C₂₉H₃₁N 393.25; déterminée 393.2454 [M + H]⁺

C₂₉H₃₁N M = 393.57 g/mol

Solide orange

N-methyl-N-(perylene-3-ylmethyl)octan-1-amine: composé S2



Dans un ballon sous argon, 170 mg (0,43 mmole) de composé **S1** ont été dissous par agitation dans 20 mL de 1,2 dichloroéthane. 915 mg de $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ (4,32 mmole, 10 éq.) a été ajouté à la solution et 0,5 mL (0,65 mmole, 15 éq.) d'une solution de formaldéhyde (37% m dans H_2O) a été ajoutée à travers le septum sur une période de 30 minutes. Après 14 h de réaction à température ambiante, la solution a été diluée avec 25 mL de dichlorométhane and la phase organique a été lavée avec une solution saturée de NaHCO_3 and et de l'eau. La phase organique a été séchée sur MgSO_4 and les solvants ont été évaporés. 140 mg de composé pur ont été obtenus (79%).

$^1\text{H RMN}$ (CDCl_3 , 400 MHz) : δ = 8.23–8.14 (m, 5H, Pery), 7.70 (d, J = 7.8 Hz, 2H), 7.56–7.45 (m, 4H), 3.84 (s, 2H), 2.50 (t, J = 7.33 Hz, 2H), 2.26 (s, 3H), 1.62–1.30 (m, 2H), 1.38–1.25 (m, 10H), 0.88 (t, J = 6.9 Hz, 3H)

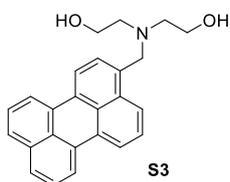
$^{13}\text{C RMN}$ (CDCl_3 , 100 MHz) : δ = 134.67 133.75, 131.51, 131.41, 130.67, 129.12, 128.51, 128.2, 128.0, 127.65, 127.58, 127.01, 126.61, 126.34, 124.7,2 120.19, 120.15, 119.93, 119.60, 119.10, 61.07, 58.15, 42.36, 31.90, 29.54, 27.54, 24.93, 22.70, 14.111

Masse HR : calculée pour $\text{C}_{30}\text{H}_{33}\text{N}$ 407.26; déterminée 407.2628 $[\text{M} + \text{H}]^+$

$\text{C}_{30}\text{H}_{33}\text{N}$ **M = 407.60 g/mol**

Solide orange

2,2'-((perylene-3-ylmethyl)azanediyl)bis(ethan-1-ol): composé S3



Dans un ballon tricol surmonté d'un Dean-Stark, 400 mg de composé **1** (1,42 mmole), 1,35 mL de diethanolamine (14,2 mmole, 10 éq.) et 7,4 mg d'acide paratoluène sulfonique (0,042 mmole, 0,03 éq.) ont été dissous sous argon dans 45 mL de toluène. Le milieu réactionnel a été agité sous reflux durant 4 h puis refroidi à température ambiante. 20 ml de méthanol a été versé dans le ballon avant d'ajouter 142 mg de NaBH_4 (2 éq.) en maintenant la température en dessous de 15°C à l'aide d'un bain de glace. L'agitation a été maintenue à température ambiante durant 12 h. La phase organique a été extraite avec du DCM après addition d'eau dans le ballon. La phase organique a été lavée avec de l'eau, séchée sur MgSO_4 et les solvants ont été évaporés. Après purification sur colonne de silice (éluant : $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{NEt}_3$ 90:9:1 v/v), 210 mg de composé pur a été isolé (40 %).

$^1\text{H RMN}$ (CDCl_3 , 400 MHz) : δ = 8.27–8.02 (m, 5H, Pery); 7.7 (d, J = 7.8 Hz, 2H), 7.57–7.42 (m, 4H), 4.11 (s, 2H), 3.62 (t, J = 5.2 Hz, 4H), 2.83 (t, J = 5.2 Hz, 4H)

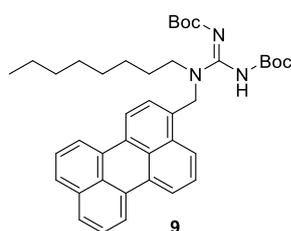
$^{13}\text{C RMN}$ (CDCl_3 , 100 MHz) : δ = 134.70, 134.13, 133.54, 131.91, 131.40, 131.33, 131.16, 129.30, 128.61, 128.54, 127.98, 126.91, 126.71, 126.66, 123.76, 120.49, 120.27, 119.69, 60.09, 59.00, 56.38

Masse HR : calculée pour $\text{C}_{25}\text{H}_{23}\text{NO}_2$ 369.17; déterminée 369.1729 $[\text{M} + \text{H}]^+$

$\text{C}_{25}\text{H}_{23}\text{NO}_2$ **M = 369.46 g/mol**

Solide orange

1-octyl-1-(perylene-3-ylmethyl)guanidine diBoc: composé 9



270 mg (0,69 mmole) de composé **S1**, 10 mL de DMF, 200 mg (0,69 mmole, 1,0 éq.) de 1,3-bis(tertbutoxycarbonyl)-2-méthyl-2-thiopseudourea, 0,3 mL (2,22 mmole, 3,2 éq.) de triéthylamine et 186 mg de HgCl₂ ont été agités dans un ballon sous argon, à température ambiante, durant 4 h. Après évaporation des solvants, 40 mL de DCM ont été versés dans la ballon et la solution a été filtrée sur célite. Après purification sur colonne de silice (éluant : DCM), 324 mg de produit pur a été isolé (74%).

¹H RMN (CDCl₃, 400 MHz) : δ = 8.32-8.05 (m, 5H), 7.71-7.61 (m, 2H), 7.54-7.41 (m, 4H), 5.21-4.96 (s, 2H), 3.42-3.30 (m, 2H), 1.51-1.44 (m, 15H), 1.21 (d, J = 23.8 Hz, 18H)

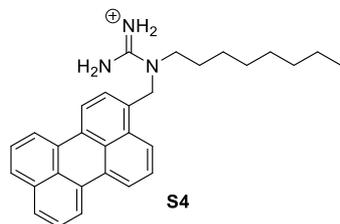
¹³C RMN (CDCl₃, 100 MHz) : δ = 164.57, 162.90, 156.02, 151.23, 134.71, 132.61, 132.03, 131.92, 131.52, 131.37, 131.28, 131.14, 130.99, 129.11, 128.54, 128.09, 127.16, 126.95, 126.73, 123.09, 122.91, 120.56, 119.99, 119.86, 79.54, 78.24, 48.86, 47.04, 31.88, 31.37, 31.09, 29.38, 29.24, 28.66, 28.40, 27.73, 27.03, 26.76, 22.73, 14.21

C₄₀H₄₉N₃O₄

M = 635.85 g/mol

Solide orange

1-octyl-1-(perylene-3-ylmethyl)guanidine: composé S4



300 mg de composé **9** a été dissous dans 10 mL de DCM dans un ballon sous argon. 1 mL de TFA a été versé progressivement et le milieu réactionnel a été agité durant 12 h at température ambiante. Le produit a été précipité dans l'éther et les solvants ont été évaporés afin d'obtenir 211 mg de composé pur (70,1%). Un échange de contre-ion a été réalisé en dissolvant le composé **S4** dans dans 20 mL de méthanol avant d'ajouter 5 éq. de NaPF₆. Après agitation, le composé S4 a été

isolé par précipitation dans l'eau.

¹H RMN (MeOD, 400 MHz) : δ = 8.46-8.23 (m, 4H), 7.92-7.85 (s, 1H), 7.79-7.69 (m, 3H), 7.66-7.58 (t, 1H), 7.54-7.46 (t, 2H), 7.37-7.27 (d, 1H), 5.12-4.97 (s, 1H), 2.18-2.04 (2H), 1.68-1.51 (m, 2H), 1.42-1.06 (m, 15H)

¹³C RMN (MeOD, 100 MHz) : δ = 119.51, 120.52, 120.59, 122.09, 124.82, 126.53, 127.17, 128.05, 129.24, 13.03, 130.50, 131.98, 132.48, 134.79, 157.14, 209.19, 22.28, 26.10, 26.93, 28.88, 28.93, 28.99, 31.55, 46.89, 48.16, 48.38, 48.46, 49.80, 66.79

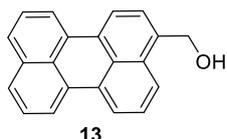
Masse HR : calculé pour C₃₀H₃₄N₃ 436.27; déterminé 436.2771 [M + H]⁺

C₃₀H₃₄N₃

M = 436.62 g/mol

Solide brun

Perylene-3-ylmethanol: composé 13



Dans un ballon tricol sous argon, 300 mg (1,1 mmol) de composé **1** a été dissous dans 40 mL of THF et une solution de NaBH₄ (42 mg, 1 éq.) dissous dans le méthanol a été progressivement versée à travers le septum sur une période de 2 h. Le milieu réactionnel a été agité à température ambiante durant 4 h et les solvants ont été évaporés. 50 mL de chloroforme ont été versés dans le ballon et la phase organique a été lavée avec de l'eau après extraction puis séchée sur MgSO₄. 155 mg de produit pur a été isolé après purification sur colonne de silice (éluant : DCM) (50%).

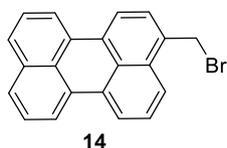
Reference: [3]

¹H RMN (CDCl₃, 400 MHz) : δ = 8.38-8.11 (m, 4H), 8.06-7.93 (m, 1H), 7.81-7.46 (m, 6H), 5.37-5.25 (1H), 5.09 (s, 2H)

C₂₁H₁₄O **M = 282.34 g/mol**

Solide jaune

3-(bromomethyl)perylene: composé 14



Dans un ballon tricol sous argon, 150 mg (0.53 mmole) de composé **13**, 25 mL de CCl₄ et 175 mg (0,64 mmole, 1,2 éq.) de PBr₃ ont été agités sous reflux durant 2 h. Les solvants ont été évaporés et le produit a été isolé par précipitation dans le méthanol. 132 mg de composé pur a été obtenu (72%).

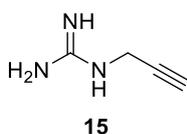
Reference: [3]

¹H RMN (CDCl₃, 400 MHz): 8.24 (d, J = 9.2 Hz, 3H), 8.12 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 8.02-7.93 (1H), 7.76-7.43 (m, 6H), 5.06-4.75 (2H)

C₂₁H₁₃Br **M = 345.24 g/mol**

Solide vert

1-(prop-2-yn-1-yl)guanidine: composé 15



1,0 g de propargylamine (12,6 mmol), 2,41 g de 1H-pyrazole-1-carboxamide hydrochloride (12,6 mmol) et 3 mL de triéthylamine (12,6 mmol) ont été dissous dans 8 mL de DMF. Le milieu réactionnel a été agité sous argon, à température ambiante pendant 16 h. 10 mL d'éther diéthylique ont été versés dans le ballon et les solvants ont été évaporés. 0.65 g de produit pur a été obtenue sous forme d'huile (37%).

Reference: [4]

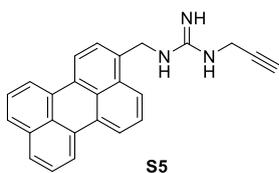
¹H RMN (D₂O 400 MHz): δ = 3.85 (s, 2H, CH≡CH₂-), 2.57 (s, 1H, CH≡CH₂-)

¹³C RMN (CDCl₃, 100 MHz): δ = 165.08, 77.91, 73.92 and 30.88

C₄H₇N₃ **M = 97.12 g/mol**

Huile jaune

1-(perylene-3-ylmethyl)-3-(prop-2-yn-1-yl)guanidine: composé S5



115 mg (0,77 mmol) of d'hydroxyde de césium hydraté a été placé dans un ballon sous argon avec 10 mL de DMF et 280 mg de tamis moléculaire sec. Après agitation durant 30 min à température ambiante, 70 mg (0,71 mmol, 2 équ.) de composé **15** a été ajouté. Le milieu réactionnel a été agité durant 30 min et 120 mg de composé **14** a été versé. L'agitation a été maintenue durant 18 h à température ambiante. Le milieu réactionnel a été filtré et les solvants ont été évaporés. 100 mg de composé pur a été isolé par purification sur colonne de silice (éluant : DCM/MeOH 9:1 (80%).

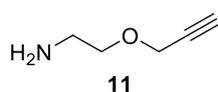
La structure a été analysée en spectroscopie de masse, des analyses complémentaires sont en cours.

Masse HR : calculée pour $C_{25}H_{20}N_3^+$ 362.17; déterminée 362.1652 [M + H]⁺

C₂₅H₁₉N₃ **M = 361.45 g/mol**

Solide brun

2-(prop-2-yn-1-yloxy)ethan-1-amine: composé 11



Dans un ballon tricol sous argon, 1160 mg (7,19 mmol) de N-boc éthanolamine, 30 mL de THF, 150 mg (0,75 mmol, 0,10 équ.) de tert-butylammonium, 150 mg (1,00 mmol, 0,14 équ.) d'iodure de sodium et 1,2 mL (13,47 mmol, 2 équ.) de bromure de propargyle ont été agités durant 5 min à température ambiante. 400 mg (7.13 mmole, 1 équ.) d'hydroxyde de potassium a été ajouté et le milieu réactionnel a été agité à température ambiante durant 12 h. Les solvants ont été évaporés, puis la phase organique a été extraite avec l'acétate d'éthyle avant d'être lavée avec une solution saturée de métabisulfite de sodium et de l'eau. La déprotection du produit a été réalisée en versant 4 mL de DCM dans le ballon, puis 0,9 mL de TFA a été versé progressivement. La solution a été agitée durant 2 h à température ambiante. Les solvants ont été évaporés et la phase organique a été extraite avec du DCM avant d'être lavée avec une solution saturée de NaHCO₃. La phase organique a été séchée sur MgSO₄ and les solvants ont été évaporés. 230 mg de composé pur a été obtenu sous forme d'huile (46%).

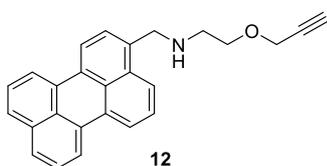
Reference : [5]

¹H RMN (CDCl₃, 400 MHz) : δ = 3.72-3.64 (t, 2H), 3.58 (t, J = 5.3 Hz, 2H), 3.36-3.30 (m, 2H), 2.44 (t, J = 2.5 Hz, 1H), 1.85-1.68 (2H)

C₅H₉NO **M = 99.13 g/mol**

Huile jaune

N-(perylene-3-ylmethyl)-2-(prop-2-yn-1-yloxy)ethan-1-amine: composé 12



100 mg (0,36 mmol) de composé **1**, 230 mg (2,31 mmol, 6,4 équ.) de composé **11**, 150 mg (0,58 mmol, 1,6 équ.) de ClTi(OEt)₃ and 15 mL de DCM ont été placés dans un ballon tricol sous argon. Le milieu réactionnel a été agité durant 12 h à température ambiante. 123 mg (0,58 mmol, 1,6 équ.) de NaBH(OAc)₃ a été ajouté et le milieu réactionnel a été agité durant 2 h à température ambiante. Les solvants ont été évaporés et la phase organique a été extraite avec du DCM, puis lavée avec des solutions saturées de

NaHCO₃ et K₂CO₃. La phase organique a été séchée sur MgSO₄ et les solvants ont été évaporés. Le solide obtenu a été dissous dans 5 mL de DCM and précipité dans l'hexane afin d'éliminer les traces d'amine **11** n'ayant pas réagi. Les solvants ont été évaporés et 110 mg de composé pur a été obtenu (84%).

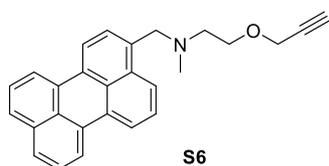
¹H RMN (CDCl₃, 400 MHz) : δ = 8.26-8.12 (m, 4H), 8.01-7.93 (d, 1H), 7.76-7.67 (d, 2H), 7.59-7.47 (m, 3H), 7.28-7.26 (s, 1H), 4.33-4.18 (m, 4H), 3.77-3.71 (t, 2H), 3.03-2.96 (t, 2H), 2.48-2.42 (t, 1H)

¹³C RMN (CDCl₃, 100 MHz) : δ = 135.64, 134.84, 133.24, 131.93, 131.55, 131.46, 130.87, 129.30, 128.70, 127.96, 127.82, 127.12, 127.03, 126.84, 126.72, 123.72, 120.43, 120.37, 120.21, 120.01, 79.93, 77.36, 74.59, 69.53, 58.49, 51.62, 49.18

C₂₆H₂₁NO **M = 363.46 g/mol**

Solide orange

N-methyl-N-(perylene-3-ylmethyl)-2-(prop-2-yn-1-yloxy)ethan-1-amine: composé S6



Dans un ballon tricol sous argon, 100 mg (0,28 mmole) de composé **12** a été dissous dans 20 ml de 1,2 dichloroéthane. 560 mg de NaBH(OAc)₃ (2,5 mmole, 10 éq.) a été ajouté et 0,2 mL (2,69 mmole, 10 éq.) d'une solution de formaldéhyde (37% dans H₂O) a été progressivement versée sur une période de 30 minutes. Après 12 h de réaction à température ambiante, le milieu réactionnel a été dilué dans 25 mL de

DCM et la phase organique a été lavée avec une solution saturée de NaHCO₃ et de l'eau. La phase organique a été séchée sur MgSO₄ and les solvants ont été évaporés. 79 mg de composé pur a été obtenu (76%).

¹H RMN (CDCl₃, 400 MHz) : δ = 8.33-8.08 (m, 5H), 7.66 (d, J = 7.8 Hz, 2H), 7.63-7.39 (m, 4H), 4.18 (d, J = 2.3 Hz, 2H), 4.02-3.82 (2H), 3.74 (t, J = 5.7 Hz, 2H), 2.78 (t, J = 5.7 Hz, 2H), 2.43-2.29 (m, 3H)

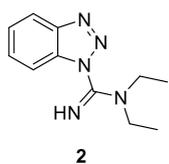
¹³C RMN (CDCl₃, 100 MHz) : δ = 206.15, 134.76, 133.82, 131.58, 131.48, 131.43, 130.92, 129.19, 128.61, 128.37, 127.74, 126.61, 126.53, 124.78, 120.29, 120.24, 120.05, 119.66, 89.59, 79.94, 76.43, 74.41, 68.15, 61.06, 58.28, 57.12, 43.05

Masse HR : calculé pour C₂₇H₂₃NO 377.18; déterminé [M + H]⁺

C₂₇H₂₃NO **M = 377.49 g/mol**

Solide brun

N,N-diethyl-1H-benzo[d][1,2,3]triazole-1-carboximidamide: composé 2



596 mg (5,0 mmole) de benzotriazole, 1,15 mL (10,0 mmole, 2,0 éq.) de N,N-diéthylcyanamide et 0,5 mL (6,0 mmole, 1,2 éq.) de HCl 12M ont été placés dans un tube adapté au micro-ondes. Le milieu réactionnel a été agité et chauffé à 100°C pendant 20 minutes au micro-ondes. Le milieu réactionnel a été dilué dans 20 mL de THF et le surnageant a été prélevé. Les solvants ont été évaporés et le produit a été isolé par précipitation dans l'acétone froid. 429 mg de composé pur a été obtenu après

filtration (33%).

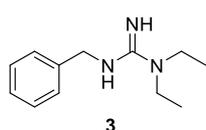
$^1\text{H RMN}$ (CDCl_3 , 400 MHz) : δ = 11.11 (s, 1H), 8.08 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.87 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.69 (t, J = 7.6 Hz, 1H), 7.48 (t, J = 7.8 Hz, 1H), 3.73 (s, 4H), 1.41 (d, J = 6.9 Hz, 6H)

$^{13}\text{C RMN}$ (CDCl_3 , 100 MHz) : δ = 150.18, 145.57, 132.27, 130.72, 126.36, 120.50, 111.95, 46.62, 41.95, 12.89, 11.14

$\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{N}_5$ **M = 217.28 g/mol**

Solide blanc

3-benzyl-1,1-diethylguanidine: composé 3



0,05 mL (0,5 mmole) de benzylamine, 126 mg (0,5 mmole, 1,0 éq.) de composé **2**, 0,14 mL (1,0 mmole, 2,0 éq.) de triéthylamine et 2,5 mL d'acétonitrile ont été placés dans un tube adapté au micro-ondes. Le milieu réactionnel a été agité et chauffé à 110°C durant 15 min. Les solvants ont été évaporés le composé a été isolé par précipitation dans 5 mL d'éther. 54 mg de composé pur a été obtenu après filtration

(44%).

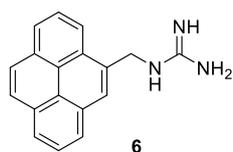
$^1\text{H RMN}$ (DMSO-d_6 , 400 MHz) : δ = 8.31 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.70-7.60 (m, 2H), 3.99-3.92 (1H), 3.21 (q, J = 7.0 Hz, 4H), 1.18 (dt, J = 24.0, 7.2 Hz, 6H)

$^{13}\text{C RMN}$ (CDCl_3 , 100 MHz) : δ = 154.55, 136.46, 129.09, 128.99, 128.19, 127.69, 77.37, 46.26, 45.95, 44.15, 42.24, 13.22, 8.77

$\text{C}_{12}\text{H}_{19}\text{N}_3$ **M = 205.31 g/mol**

Solide blanc

1-(pyren-4-ylmethyl)guanidine: composé 6



165 mg (1,12 mmole) de 1H-pyrazole-1-carboxamide.HCl, 300 mg (1,12 mmole, 1,0 éq.) de 1-pyrenmethylamine, 0,2 mL (1,12 mmole, 1,0 éq.) de diisopropyléthylamine et 1,5 mL de DMF ont été placés dans un ballon tricol sous argon. Le milieu réactionnel a été agité sous argon durant 12h avant d'évaporer les solvants. 3 mL de méthanol ont été versés dans le ballon et le produit été isolé dans 20 mL d'éther. 298 mg de composé a été obtenu après filtration (85%).

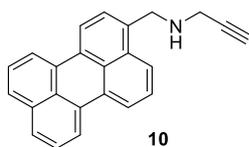
$^1\text{H RMN}$ (DMSO-d_6 , 400 MHz) : δ = 8.47 (s, 1H), 8.40-8.30 (m, 5H), 8.25-8.16 (m, 2H), 8.16-8.06 (m, 2H), 5.19 (d, J = 5.5 Hz, 2H), 3.43 (s, 2H), 3.09 (q, J = 3.8 Hz, 1H)

$^{13}\text{C RMN}$ (CDCl_3 , 100 MHz) : δ = 157.90, 131.29, 130.99, 130.92, 130.78, 128.53, 128.43, 126.95, 126.17, 126.05, 125.93, 125.39, 124.58, 123.41, 53.71, 43.06, 18.42, 17.18

$\text{C}_{18}\text{H}_{15}\text{N}_3$ **M = 273.34 g/mol**

Solide beige

N-(perylene-3-ylmethyl)prop-2-yn-1-amine: composé 10



300 mg (1,07 mmole) de composé **1**, 0,7 mL de propargylamine (10,7 mmole, 10,0 éq.), 60 mL de toluène et 5,2 mg d'acide paratoluène sulfonique (0,03 mmole, 0,03 éq.) ont été placés dans un ballon tricol sous argon et muni d'un Dean-Stark. Le milieu réactionnel a été agité sous reflux durant 6 h. Le milieu réactionnel a été refroidi à température ambiante avant 30 mL de méthanol.

120 mg (3,21 mmole, 3,0 éq.) de NaBH₄ a été ajouté au milieu réactionnel en maintenant la température en dessous de 15°C à l'aide d'un bain de glace. L'agitation a été maintenue durant 12 h à température ambiante. Après ajout d'eau dans le ballon, la phase organique a été extraite avec du DCM, lavée avec une solution saturée de NH₄Cl et de l'eau. La phase organique a été séchée sur MgSO₄ les solvants ont été évaporés. Le composé a été isolé par précipitation dans un mélange DCM/cyclohexane 1:1 v/v et 321 mg de composé pur a été obtenu (61%).

¹H RMN (toluène-d₈, 400 MHz) : δ = 8.02-7.74 (6H), 7.54-7.24 (3H), 7.23-7.18 (1H), 4.02 (s, 2H), 3.20 (d, J = 2.7 Hz, 2H), 2.39 (s, 1H)

¹³C RMN (DMSO-d₆, 100 MHz) : δ = 199.85, 197.79, 128.43, 128.26, 127.59, 127.47, 127.23, 124.91, 121.18, 121.00, 120.80, 120.73, 83.48, 74.59, 74.51, 49.83, 40.76, 40.69, 40.55, 40.48, 39.64, 39.49, 39.43, 37.68

C₂₄H₁₇N **M = 319.41 g/mol**

Solide jaune.

III. Protocoles de synthèse et mise en forme des hydrogels dopés avec les sondes moléculaires de pH

III. 1. Hydrogels GAx-PVA10 dopés avec une sonde de pH

Une solution homogène de PVA (85,000 – 124,000 g/mol) de concentration massique 10% dans le DMSO est obtenue par agitation mécanique à l'aide d'un agitateur à hélice (Heidolph Overhead Stirrers), à 75°C pendant une heure. Une fois la solution refroidie à température ambiante, la sonde de pH correspondante est ajoutée. Les hydrogels GAx-PVA10 dopés avec la sonde Naphth-AlkyneOMe présentent une concentration $c_{\text{sonde}} = 0,2 \mu\text{mol/g}$ de solution de PVA. Les hydrogels dopés avec les dérivés pérylène présentent une concentration $c_{\text{sonde}} = 0,1 \mu\text{mol/g}$ de solution de PVA. Après solubilisation de la sonde, une solution de GA (50% dans H₂O) est ajoutée avec un ratio massique de x% par rapport à la masse de la solution de PVA dans le DMSO. La solution visqueuse est mise en forme d'après les protocoles détaillés ci-dessous et les hydrogels sont placés dans un dessiccateur, en présence de 50 mL d'HCl 6M afin de catalyser la réticulation par fumigation de vapeurs acides. Un papier pH est placé dans le dessiccateur comme témoin et le dessiccateur est mis sous vide. La réticulation est poursuivie durant 48h à température ambiante. Après réticulation, les hydrogels sont rincés trois fois dans l'eau distillée afin d'éliminer les traces d'acide et de DMSO. Les hydrogels sont déshydratés à température ambiante sous sorbonne et sont réhydratés durant une heure dans l'eau distillée avant leur utilisation.

III. 2. Hydrogels HydroMed™ D4 dopés avec une sonde de pH

Une solution homogène d'HydroMed™ D4 (AdvanSource Biomaterials) de concentration massique 10% dans le THF est obtenue par agitation magnétique à température ambiante pendant une heure. La sonde de pH correspondante est ensuite ajoutée. Les hydrogels dopés avec la sonde Naphth-AlkyneOMe présentent une concentration $c_{\text{sonde}} = 0,2 \mu\text{mol/g}$ de solution d'HydroMed™ D4. Les hydrogels dopés avec les dérivés pérylène présentent une concentration $c_{\text{sonde}} = 0,1 \mu\text{mol/g}$ de solution d'HydroMed™ D4. La solution est mise en forme d'après les protocoles détaillés ci-dessous et les hydrogels sont obtenus après évaporation du solvant.

III. 3. Mise en forme des hydrogels minces

Mise en forme des hydrogels GAx-PVA10 minces

Les hydrogels GAx-PVA10 minces sont mis en forme à l'aide d'un applicateur automatique TQC Sheen (**Erreur ! Nous n'avons pas trouvé la source du renvoi.**), muni d'un rouleau applicateur fileté 200 μm ou 100 μm dont le pas contrôle l'épaisseur de l'hydrogel GAx-PVA10 formé (Figure Exp - 2). 1-2g de la solution GA-PVA-sonde solubilisée dans le DMSO est versée sur une feuille de polytéréphtalate d'éthylène (PET) d'épaisseur 0,1 mm préalablement nettoyée à l'éthanol et séchée. Le feuille de PET est retenue sur le plateau de l'applicateur par une faible aspiration et la mise en forme est réalisée à température ambiante. La vitesse de déplacement du rouleau applicateur est $v = 30 \text{ mm/s}$ et un dépôt uniforme est obtenu après application. Le substrat en PET est seulement utilisé comme support de réticulation pour la mise en forme des hydrogels GAx-PVA10 et aucune adhésion entre le substrat et les hydrogels GAx-PVA10 réticulés n'est observée. Après 48h, les hydrogels sont prélevés du substrat en HDPE à l'aide d'une pince et sont rincés trois fois dans de grands volumes d'eau distillée afin d'éliminer les traces d'acide et de DMSO résiduelles. Les hydrogels sont séchés sous sorbonne et sont conservés sous cette forme jusque leur utilisation.



Figure Exp - 1 : Appareil automatique TQC Sheen utilisée pour la mise en forme des hydrogels GA – PVA (source : www.tqcsheen.com, figure adaptée)

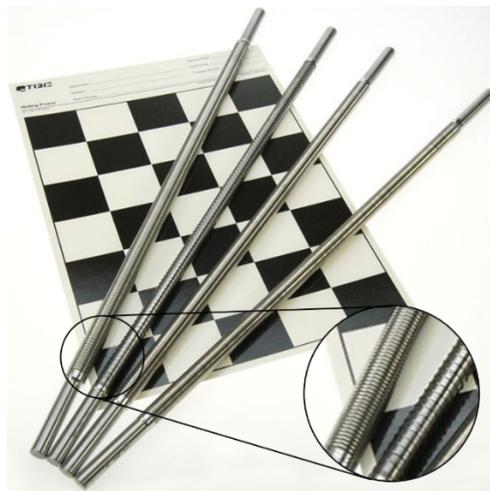


Figure Exp - 2 : Rouleaux applicateurs filetés utilisés avec l'appareil automatique TQC Sheen pour la mise en forme des hydrogels (source : www.tqcsheen.com, figure adaptée)

Mise en forme des hydrogels HydroMed™ D4 minces

Les hydrogels HydroMed™ D4 minces sont mis en forme à l'aide d'un applicateur automatique TQC Sheen (Figure Exp - 1), muni d'un rouleau applicateur fileté 200 µm dont le pas contrôle l'épaisseur de l'hydrogel formé (Figure Exp - 2). 1-2g de la solution HydroMed™ D4-sonde solubilisée dans le THF est versée sur une feuille de polytéréphtalate d'éthylène (PET) d'épaisseur 0,1 mm préalablement nettoyée à l'éthanol et séchée. Le feuille de PET est retenue sur le plateau de l'appareil par une faible aspiration et la mise en forme est réalisée à température ambiante. La vitesse de déplacement du rouleau applicateur est $v = 30 \text{ mm/s}$ et un dépôt uniforme est obtenu après application. L'évaporation lente du solvant est assurée par une première étape de séchage sous sorbonne pendant 1 à 2 heures, à température ambiante. Une seconde étape d'évaporation du solvant sur rampe à vide permet l'obtention de films d'HydroMed™ D4 secs. Les hydrogels HydroMed™ D4 minces sont solidaires du substrat en PET.

III.4. Mise en forme des hydrogels épais

III.4.a. Mise en forme des hydrogels GAx-PVA10 épais

2,0 g de la solution GA-PVA-sonde solubilisée dans le DMSO est versée à l'aide d'une pipette pasteur dans une boîte de Petri en polystyrène, de diamètre 35 mm (VWR sterile Tissue Culture Dishes) comme illustré en Figure Exp - 3. La réticulation catalysée par fumigation de vapeurs acides est réalisée comme détaillé pour les hydrogels minces. Aucune adhésion entre le polystyrène et les hydrogels GAx-PVA10 réticulés n'est observée. Après 48h, l'hydrogel est prélevé à l'aide d'une pince et est rincé trois fois dans de grands volumes d'eau distillée afin d'éliminer les traces d'acide et de DMSO résiduelles. Les hydrogels sont séchés sous sorbonne et sont conservés sous cette forme jusque leur utilisation.

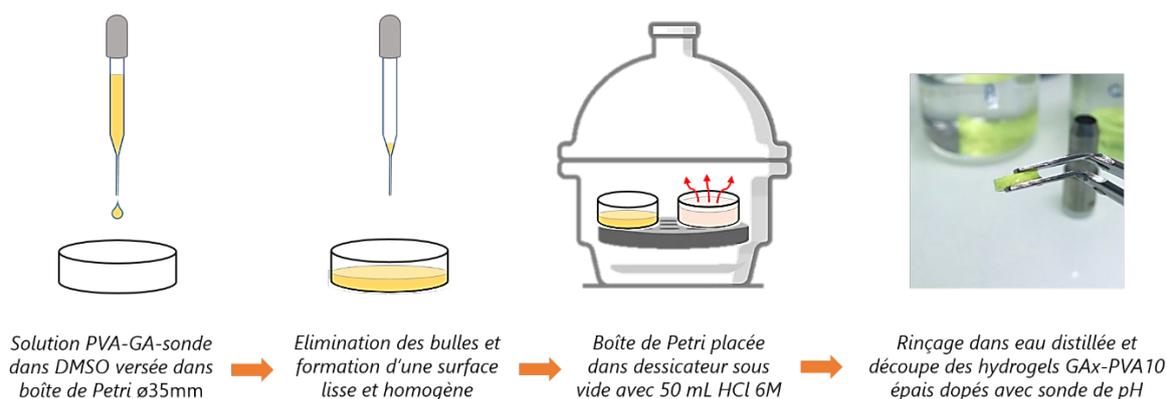


Figure Exp - 3 : Illustration du protocole de mise en forme d'hydrogels GAx-PVA10 épais par drop casting et réticulation catalysée par fumigation de vapeurs acides (HCl)

III.4.b. Mise en forme des hydrogels HydroMed™ D4 épais

La solution HydroMed™ D4 10%_m dans le THF dopée avec une sonde de pH est versée à l'aide d'une pipette pasteur dans un moule en polytétrafluoroéthylène (PTFE) constitué de cavités cylindriques comme illustré en Figure Exp - 4. Le moule est placé sous sorbonne durant 1-2h à température ambiante puis dans un dessiccateur connecté à une rampe à vide afin d'évaporer le solvant. Les hydrogels sont ensuite prélevés du moule à l'aide d'une pince afin d'être conservés dans leur état déshydraté.

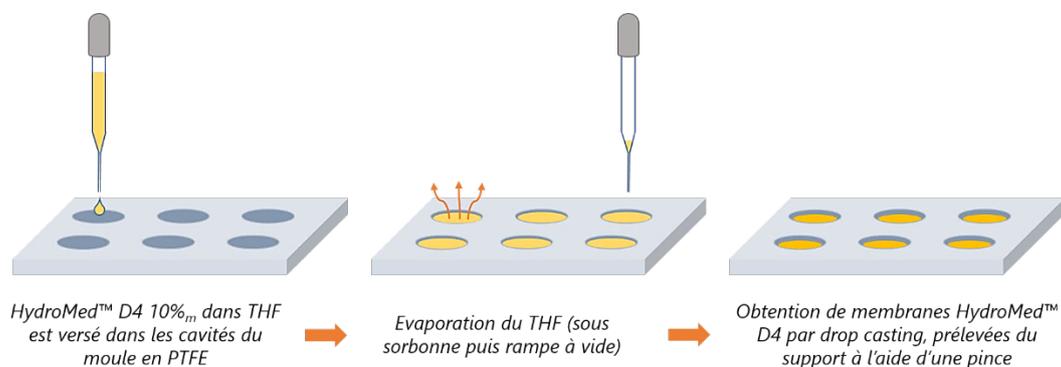


Figure Exp - 4 : Illustration de la méthode de drop casting pour la mise en forme d'hydrogels HydroMed™ D4 épais

III.5. Cas particuliers des hydrogels HydroMed™ D4 chargés en poudre de diamant et/ou bicouches

L'addition de poudre de diamant dans les hydrogels HydroMed™ D4 permet d'induire des réflexions au sein du matériau et conduit à l'augmentation de l'intensité de fluorescence d'un facteur proche de 2 [6-7]. Une solution d'HydroMed™ D4 est préparée par solubilisation dans le THF avec une concentration massique de 10%_m. La sonde de pH correspondante est solubilisée par agitation, puis la poudre de diamant micronique (Alfa Aesar, natural diamond powder 40-60 μm) est dispersée en solution avec une concentration massique égale à 10%. Les hydrogels sont formés par drop casting selon le protocole illustré en Figure Exp - 4. Les hydrogels secs présentent une couche réfléchissante blanche en raison de la précipitation de la poudre de diamant au cours de l'évaporation du solvant.

Des hydrogels HydroMed™ D4 présentant une isolation optique peuvent également être formés par ajout d'une couche d'hydrogel chargée en noir de carbone. Cette stratégie d'isolation optique permet d'éliminer toute pollution du signal optique par l'environnement et est utilisée pour le développement de différentes optodes de pH [6, 8]. Les hydrogels bicouches sont formés en deux étapes. La couche d'isolation optique est obtenue par dispersion de 1%_m de noir de carbone (Nanografi carbon black 4μm) dans une solution 10%_m d'HydroMed D4 solubilisé dans le THF et dopé avec la sonde de pH correspondante. Cette solution de couleur noire est mise en forme par drop casting selon le protocole illustré en Figure Exp - 4. La seconde couche est également mise en forme par un procédé de drop casting sur la première couche : une solution d'HydroMed™ D4 est préparée par solubilisation dans le THF avec une concentration massique de 10%_m. La sonde de pH correspondante est solubilisée par agitation, puis la poudre de diamant micronique est dispersée en solution avec une concentration massique égale à 10%. L'évaporation du solvant permet d'obtenir un hydrogel bicouche présentant une isolation optique. Une concentration en sonde de pH égale dans les deux couches permet d'éviter une migration de la sonde de pH au sein de l'hydrogel bicouche.

IV. Protocoles de synthèse de la cellulose-N₃ et chimie-click

IV. 1. Formation d'un groupement azoture

Le protocole détaillé par Nongbe et al. a été appliqué afin d'obtenir des groupements azotures en surface de la cellulose [9]. Ce protocole est constitué de trois étapes :

- La mercerisation de la cellulose ;
- La tosylation ;
- L'azoturation.

IV.1.a. Procédé de mercerisation

1,5 g (8,38 mmole) de cellulose (Whatman® 1 CHR 87g/m²) découpée en carrés de taille 5×5 cm² a été placée dans un ballon de 500 mL avec 300 mL d'une solution aqueuse de NaOH 10%*m*. La cellulose a été agitée à 125 rpm, durant 24h à température ambiante à l'aide d'un agitateur orbital afin de ne pas déchirer la cellulose. La cellulose mercerisée a été délicatement prélevée à l'aide d'une pince et rincée dans 50 mL d'éthanol à l'aide d'un bain à ultrasons, durant 10 min. L'étape de rinçage a été répétée six fois. La cellulose mercerisée a été séchée sur rampe à vide avant de procéder à l'étape de tosylation.

IV.1.b. Protocole de tosylation

1,5 g (8,38 mmole) de cellulose mercerisée a été placée dans un ballon de 250 mL sous argon, avec 4,8 g (25,2 mmole, 3,0 éq.) de chlorure de 4-toluènesulfonyle et 40 mL de pyridine. La cellulose a été agitée à 125 rpm, durant 20h à 40°C à l'aide d'un agitateur orbital. La cellulose a été rincée dans 50 mL d'acétonitrile à l'aide d'un bain à ultrasons, durant 10 min. L'étape de rinçage a été répétée trois fois. La cellulose tosylée a été séchée sur rampe à vide avant de procéder à l'étape d'azoturation. L'analyse de la cellulose par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FT-IR) a permis de confirmer la formation de groupements tosyles en surface du matériau.

IV.1.c. Protocole d'azoturation

1,0 g (3,0 mmole) de cellulose tosylée a été placée dans un ballon de 250 mL sous argon, avec 1,37 g (21,1 mmole, 7,0 éq.) d'azoture de sodium et 30 mL de DMF. La cellulose a été agitée à 125 rpm, durant 20h à 60°C à l'aide d'un agitateur orbital, avant d'être rincée dans 50 mL d'eau à l'aide d'un bain à ultrasons, durant 10 min. L'étape de rinçage est répétée dans l'acétone, l'éthanol et le DCM. La cellulose-N₃ a été séchée sur rampe à vide et conservée sous vide. L'analyse de la cellulose par spectroscopie FT-IR a permis de confirmer la formation de groupements azotures en surface du matériau. La quantification des groupements azotures en surface de la cellulose est réalisable en XPS (spectrométrie photoélectronique X)

IV. 2. Fonctionnalisation de la cellulose-N₃ par chimie click

IV.2.a. Greffage d'une sonde de pH par chimie click

2,0 mg (8,0 μmole) de sulfate de cuivre(II) pentahydraté (CuSO₄.5H₂O), 55,5 mg (0,28 mmole, 1 éq) d'ascorbate de sodium, et 0,1 mg (0,2 μmole) de sonde de pH **S5** ou **S6** ont été placés dans un ballon de 10 mL sous argon, avec 4,0 mL d'un mélange THF/H₂O 3:1 v/v. Après solubilisation des réactifs,

100,0 mg (0,28 mmole) de cellulose-N₃ a été ajouté. La cellulose a été agitée à 125 rpm, durant 14 h à 60°C à l'aide d'un agitateur orbital. Afin de complexer le Cu(II), la cellulose greffée a été rincée trois fois dans 5 mL d'une solution d'acide éthylènediaminetétraacétique (EDTA) de concentration massique 10% dans un tampon ammoniacal, durant 10 min à l'aide d'un bain à ultrasons. La cellulose greffée a ensuite été rincée dans 5 mL d'eau, d'acétone puis de DCM, durant 10 min à l'aide d'un bain à ultrasons, avant d'être séchée sous vide. Une analyse par XPS de la cellulose greffée par XPS permettrait de quantifier les sites effectivement greffés.

IV.2.b. Augmentation du caractère hydrophile de la cellulose-N₃ par chimie click

Les azotures libres de la cellulose fonctionnalisés avec une sonde de pH ont été greffés avec l'alcool propargylique. Le protocole est identique au précédent, à l'exception de l'ajout de 0,2 mL (3,4 mmole) d'alcool propargylique dans le ballon après l'étape de greffage de la sonde. La cellulose a ensuite été agitée à 125 rpm, durant 8 h à 60°C à l'aide d'un agitateur orbital. Afin de complexer le Cu(II), la cellulose greffée a été rincée trois fois dans 20 mL d'une solution de tétraméthyléthylènediamine (TMDA)/EtOH/ammoniaque 20:60:20 v/v, durant 1h à l'aide d'un bain à ultrasons. La cellulose greffée a ensuite été rincée dans 5 mL d'eau, d'acétone puis de DCM, durant 10 min à l'aide d'un bain à ultrasons, avant d'être séchée sous vide. Une analyse par XPS de la cellulose greffée par XPS permettrait de quantifier les sites effectivement greffés.

V. Caractérisations des matrices dopées avec les sondes de pH

V. 1. Mesure de l'épaisseur des hydrogels

L'épaisseur des hydrogels GA-PVA a été mesurée à l'aide d'un micromètre digital Sylvac S_Mike Pro ou Mitutoyo MDC-25MX. La mesure a été répétée sur 10 échantillons hydratés et a été moyennée. L'épaisseur des hydrogels HydroMed™ D4 a été répétée sur 10 échantillons déshydratés et a été moyennée.

V. 2. Observation des hydrogels en microscopie électronique à balayage (MEB)

Les hydrogels GA-PVA dans leur état déshydraté ont été métallisés sur l'une des faces (métallisation or) avant d'être observés au MEB. Les échantillons ont été hydratés durant 3 heures avant d'être observés dans leur état hydraté. Les hydrogels HydroMed™ D4 n'ont pas été métallisés et ont été observés dans leurs états hydratés et déshydratés de la même manière.

V. 3. Mesure des angles de contact

La mouillabilité et le caractère hydrophile des surfaces en cellulose ont été évaluées à l'aide d'un montage de mesure d'angle de contact Digidrop GBX muni d'une caméra PixeLINK, avec le logiciel Visiodrop. Une seringue munie d'une aiguille de diamètre 0,80 mm et surmontée d'un vérin a permis le contrôle du volume d'eau millipore déposée. Le logiciel Visiodrop a permis de mesurer le volume de la goutte déposée ($V = 1,0 \mu\text{L}$). Les mesures ont été réalisées sur des surfaces sèches et aplanies à l'aide d'un poids, à température ambiante. Pour les surfaces hydrophobes, 20 mesures successives sont réalisées à l'aide du logiciel pour un seul dépôt à l'aide de la méthode polynomiale, les valeurs

aberrantes sont éliminées et les angles de contact droit et gauche sont moyennés. Pour les surfaces hydrophiles, le logiciel de la caméra PixeLINK permet d'acquérir des images avec 100 μ s d'intervalle.

PARTIE EXPÉRIMENTALE – MONTAGES OPTIQUES

I. Optode de pH : montage

Le montage de l'optode a été conçu par assemblage de pièces optiques commerciales et de pièces spécifiquement conçues au laboratoire.

I. 1. Conception de l'unité de détection

L'unité de détection a été élaborée en Delrin® noir (polyoxyméthylène) afin de résister aux milieux basiques et limiter les réflexions. La Figure Exp - 5 décrit les différents composants de cette unité de détection. Un premier manchon en Delrin® permet d'inclure un connecteur type SMA (SubMiniature type A) pour la fibre optique. Un second manchon en Delrin® (2) de diamètre 17 mm permet de sertir une lame de verre. Un joint torique est intégré afin d'assurer l'étanchéité de l'interface. Un capuchon percé (4), également conçu en Delrin noir permet de retenir la matrice dopée avec la sonde de pH sur la lame de verre et de permettre les échanges entre l'environnement étudié et la matrice.

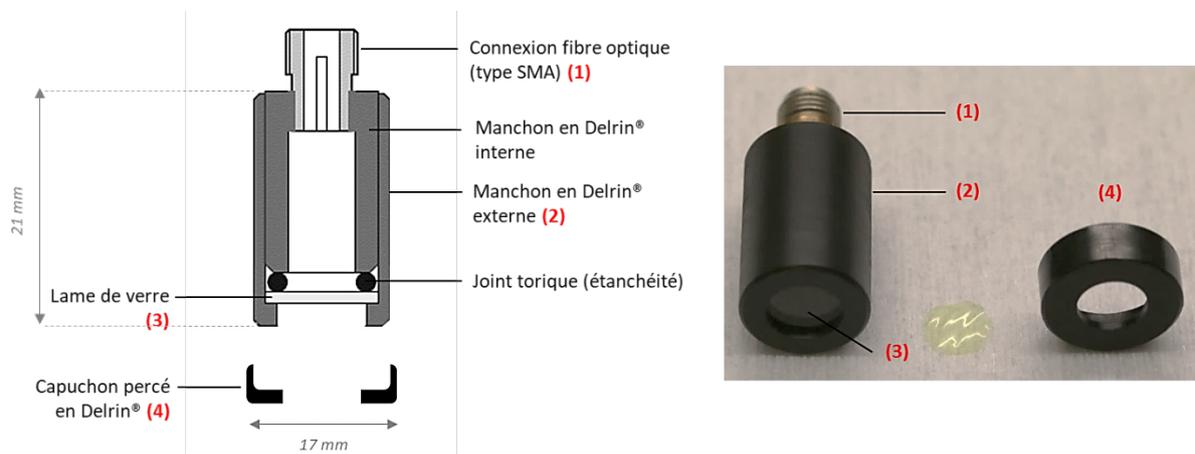


Figure Exp - 5 : Unité de détection de l'optode

I. 2. Pièces optiques

Le montage des pièces optiques est décrit en Figure Exp - 6. Les encadrés gris indiquent les éléments inclus lors du développement de la première optode de pH, avec une lame de verre permettant de refléter une partie de la lumière incidente vers une photodiode et de corriger les fluctuations du courant. Les encadrés bleus indiquent les pièces optiques incluses lors du développement de l'optode de pH avec la voie de référence interne. Le choix des tubes photomultiplicateur est basé sur leur réponse spectrale dont la sensibilité varie en fonction de la longueur d'onde (Figure Exp - 7). L'ensemble des pièces optiques ont été isolées de l'environnement extérieur à l'aide de cubes optiques comme montré en Figure Exp - 8. La fibre optique avec un diamètre égal à 1000 μm est connectée au montage grâce au connecteur SMA.

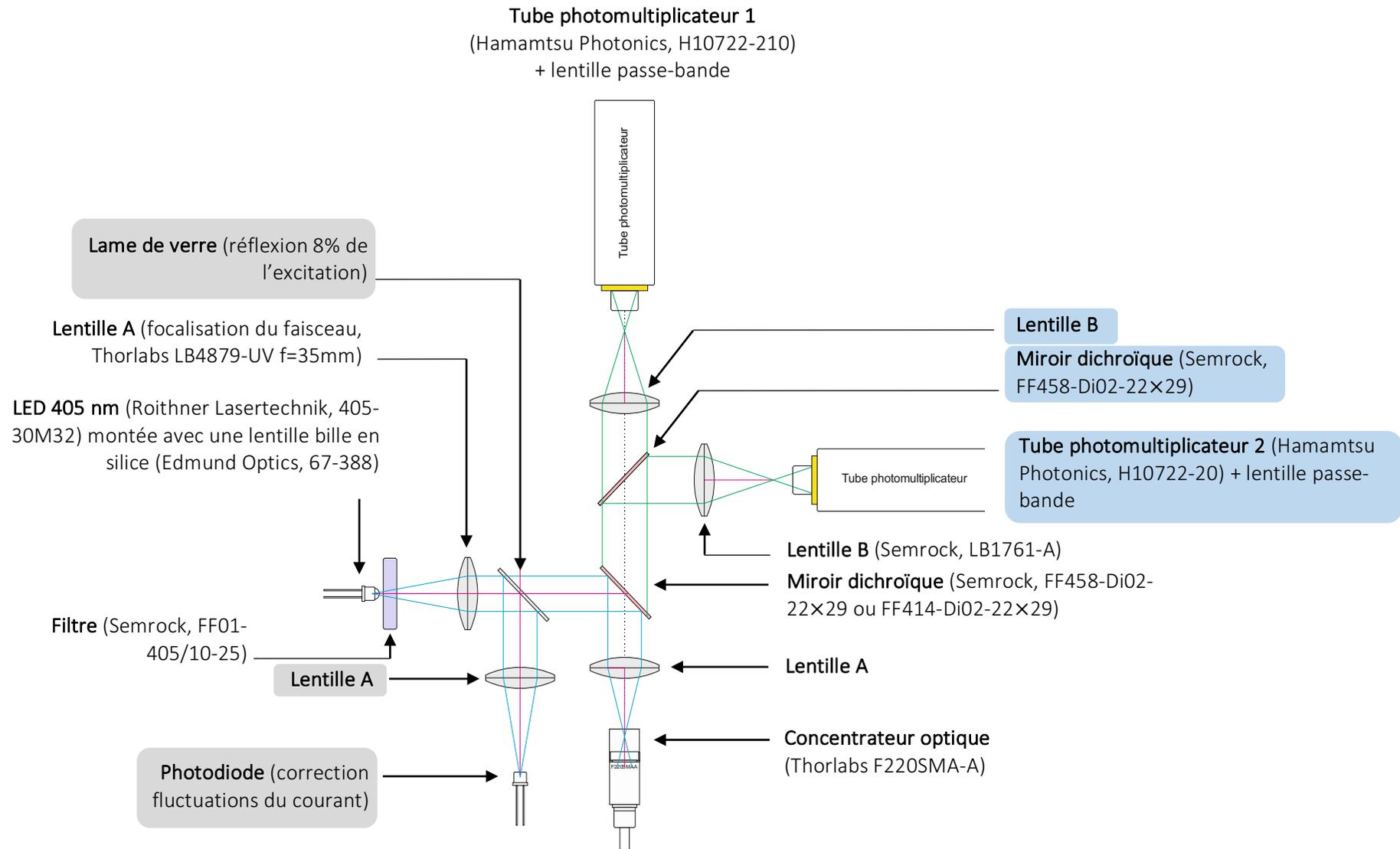


Figure Exp - 6 : Montage des pièces optiques de l'optode de pH

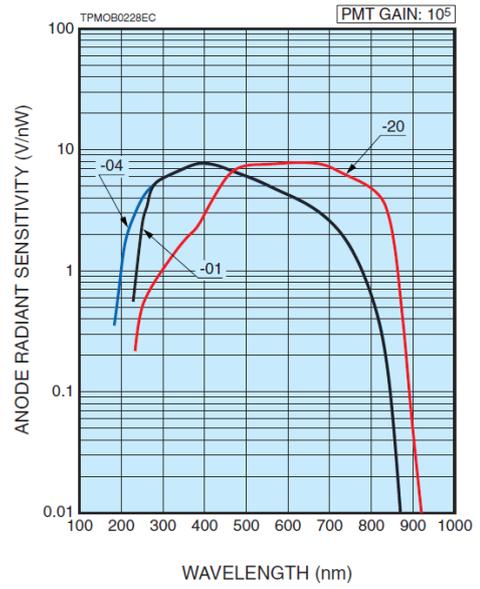
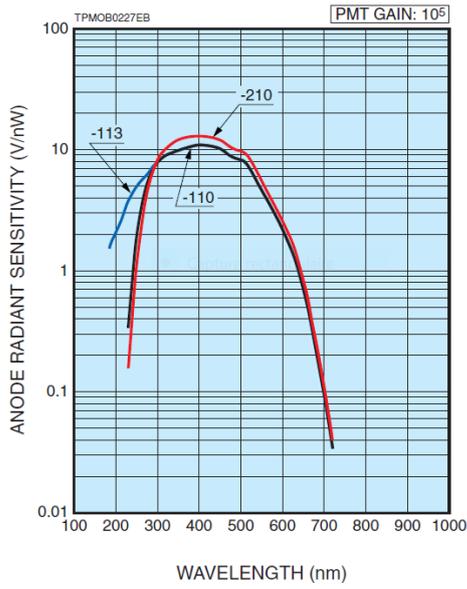


Figure Exp - 7: Sensibilité des PMT Hamamatsu Photonics H10722-210 et H10722-20 en fonction de la longueur d'onde (source : Hamamatsu Photonics)

I. 3. Acquisition du signal

Afin de limiter la photodégradation des hydrogels dopés avec les sondes de pH, la LED est alimentée avec un générateur basse fréquence en mode pulsé. Les caractéristiques du signal carré sont une largeur du pulse égale à 650 μ s, une période $T = 13$ ms, une amplitude $A = 4$ Vpp et un temps de montée égal à 5 ns. Le signal est extrait à l'aide d'une détection synchrone (7265 Dual Phase DSP Lock-In Amplifier Ametek Scientific Instruments). La détection synchrone est reliée à un ordinateur et le logiciel Signal Recovery Acquire (Ametek Scientific Instruments) permet de suivre l'intensité mesurée.

II. Optode de pH : mesures

II. 1. Généralités

Les mesures obtenues à l'aide de l'optode de pH sont réalisées en immergeant l'unité de détection de l'optode dans une solution dont le pH est suivi à l'aide d'un pH-mètre Mettler Toledo muni d'une électrode de pH en verre conçue pour minimiser l'erreur alcaline (Mettler Toledo InLab Max Pro-ISM). L'électrode de pH est calibrée en trois points dans des solutions tampons pH = 4,01, 7,00 et 9,21. Un bécher en Delrin® avec un couvercle présentant deux entrées a été conçu afin de limiter la carbonatation de la solution au cours du temps et de minimiser les perturbations optiques dues à l'environnement (Figure Exp - 9). Le pH de la solution est ajusté à l'aide d'ajouts de faibles volumes de solutions de NaOH ou HCl et la solution est agitée à l'aide d'un barreau aimanté.

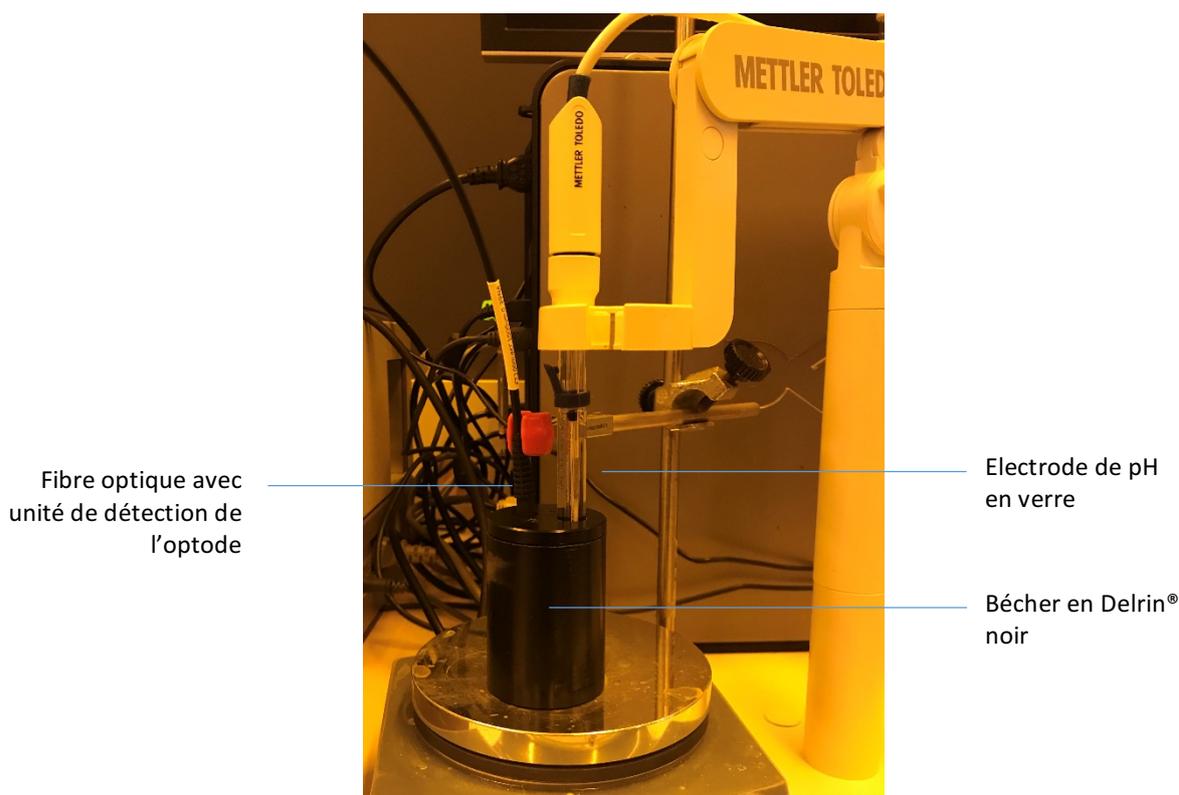


Figure Exp - 9 : Installation de l'unité de détection de l'optode et de l'électrode de pH en verre dans le bécher en Delrin® noir

II. 2. Mesures avec une référence interne

Des quantum dots (QD) cœur-coquille CdSe/ZnS stabilisés avec des ligands octadécylamine caractérisés par une émission centrée autour de $\lambda_{em} = 645$ nm (Sigma-Aldrich) ont été sélectionnés afin de constituer la référence interne. Une solution de polystyrène (PS) avec une concentration massique $c = 10\%$ est préparée par solubilisation de billes de PS ($M_w \sim 192\ 000$) dans le THF, par agitation magnétique à température ambiante durant 2 h. Les QD sont dispersés par agitation magnétique dans cette solution avec une concentration $c_{QD} = 0,45$ mg/1 g de solution. Le protocole décrit en Figure Exp - 4 permet d'obtenir des pastilles utilisées pour la référence interne. Après découpe, la référence interne est positionnée sur la lame de verre de l'unité de détection et l'hydrogel dopé avec la sonde de pH est positionnée comme indiqué en Figure Exp - 10. Le capuchon de l'unité de détection permet de retenir les deux pastilles. L'effet de filtre interne peut être limité par la deuxième configuration décrite en Figure Exp - 11, consistant à positionner une demi-pastille de référence interne superposée avec un hydrogel dopé.

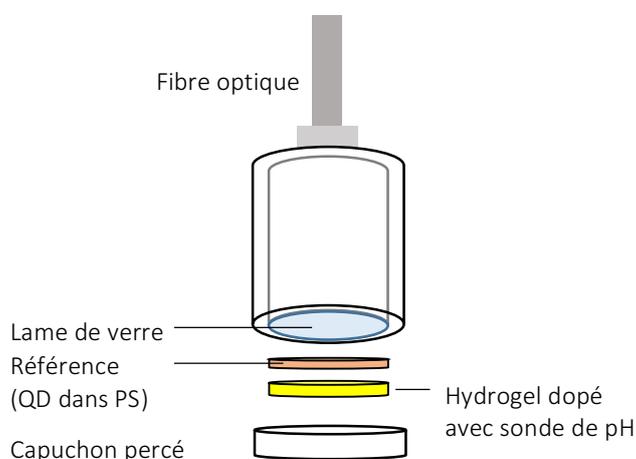


Figure Exp - 10 : Configuration générale de l'unité de détection pour une mesure avec la référence interne

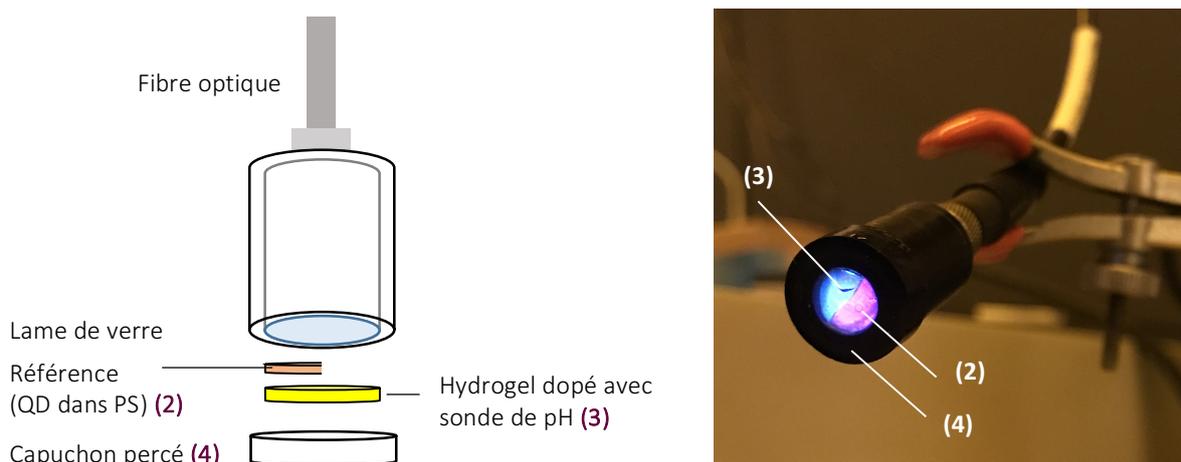


Figure Exp - 11 : Configuration de l'unité de détection limitant l'effet de filtre interne de la référence interne

II.2. Détermination du pKa de sondes organiques de pH fluorescents séquestrées dans des matrices solides

Le montage de l'optode est utilisé afin de déterminer le pKa des sondes de pH séquestrées dans les matrices solides. L'unité de détection avec la matrice dopée étudiée est immergée dans 30 mL d'eau millipore dont le pH est ajusté par ajout d'une solution NaOH aqueuse et mesuré à l'aide d'une électrode de pH en verre (Figure Exp - 9). L'équation d'Henderson-Hasselback permet de relier le pH de la solution à l'intensité de fluorescence IF mesurée :

$$pH = pK_a + \log \frac{[A^-]}{[HA]} \quad \text{Éq. Exp. 1}$$

[A⁻] et [HA] correspondent aux concentrations de la sonde déprotonée et protonée. Les relations suivantes sont alors vérifiées, en fonction d'IF l'intensité de fluorescence mesurée à un moment *t*, IF_{max} et IF_{min} le maximum et le minimum d'intensité de fluorescence observée :

$$[A^-] = IF_{max} - IF \quad \text{Éq. Exp. 2}$$

$$[HA] = IF - IF_{min} \quad \text{Éq. Exp. 3}$$

Le terme *dpH* traduit une distribution de pKa dans une matrice, solide ou liquide. Le pKa de la sonde de pH peut alors être déduit grâce à l'équation suivante :

$$IF = \frac{IF_{min} + IF_{max} \times 10^{\left(\frac{pH - pK_a}{dpH}\right)}}{10^{\left(\frac{pH - pK_a}{dpH}\right)} + 1} \quad \text{Éq. Exp. 4}$$

L'intensité du signal acquise avec l'optode de pH est tracée en fonction du pH de la solution. Un ajustement numérique est réalisé sur Origin Lab 2018 en appliquant l'équation Éq. Exp. 4 avec un algorithme de Levenberg-Marquardt associée à une méthode des moindres carrés afin d'en déduire le pKa de la sonde séquestrée dans la matrice étudiée.

III. Acquisition des spectres d'émission des matrices dopées

Un montage optique adapté sur un spectrofluorimètre FluoroMax-4 doté d'une lampe au Xénon 150W caractérisée par un domaine spectral 200-950 nm, du fabricant HORIBA Jobin-Yvon. et dont le montage général est décrit dans le chapitre II a permis d'acquérir l'ensemble des spectres d'émission des sondes de pH et de la référence interne séquestrés dans une matrice solide. Une LED 405 nm (Roithner Lasertechnik, 405-30M32) montée avec une lentille bille en silice (Edmund Optics, 67-388) et muni d'un connecteur SMA est connectée à une fibre optique de diamètre 1000µm. Un miroir dichroïque (Semrock, FF414-Di02-22x29) est monté à 45° dans un cube optique. Un concentrateur optique (Thorlabs F220SMA-A) est intégré au cube afin de connecter une seconde fibre optique de diamètre 1000 µm reliée à l'unité de détection de l'optode. Enfin, l'émission est collectée à l'aide du spectrofluorimètre grâce à une fibre optique de diamètre 600 µm connectée d'une part au cube optique, et d'autre part à une pièce mécanique usinée et placée au niveau de la fenêtre de détection du spectrofluorimètre, comme montré en Figure Exp - 12.

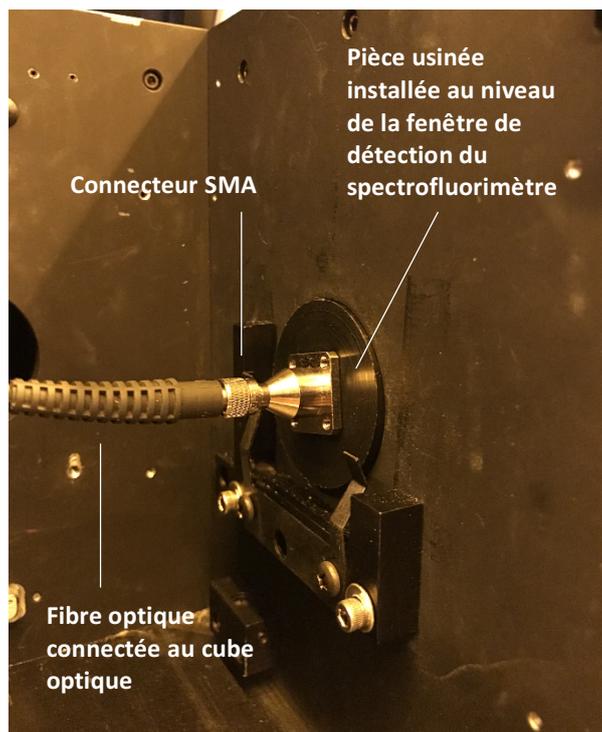


Figure Exp - 12 : Pièce usinée permettant l'acquisition de l'émission d'une matrice dopée avec une sonde de pH placée dans l'unité de détection

PARTIE EXPÉRIMENTALE – SPECTROSCOPIE

L'ensemble des mesures spectroscopiques en solution ont été réalisées dans des cuvettes en quartz du fabricant Hellma Analytics, présentant un trajet optique de longueur $l = 10$ mm et un volume $V = 4$ mL. Les mesures ont été réalisées à température ambiante. Les solvants utilisés pour les mesures spectroscopiques correspondent à des solvants de qualité spectroscopiques et proviennent du fournisseur Sigma Aldrich ou Carlo Erba. L'eau ultrapure utilisée pour les mesures spectroscopiques est préparée par un système de purification Milli-Q (Millipore) et présente une conductivité ionique inférieure à $12 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$ à 20°C . Les micro-pesées ont été réalisées à l'aide d'une microbalance Radwag.

I. Absorbance

I.1. Instrumentation et conditions de mesure

Les spectres d'absorption des composés en solution ont été mesurés à l'aide des spectrophotomètres Cary 4000 ou Cary 5000 (Agilent Technologies). Une lampe arc deutérium permet d'acquérir l'absorption des composés dans le domaine de l'UV tandis qu'une lampe halogène au tungstène permet d'acquérir l'absorption dans le domaine Visible-proche infrarouge. Les mesures d'absorbance des hydrogels dopés les sondes de pH sont acquies à l'aide de supports pour échantillons solides.

I.2. Détermination des coefficients d'extinction molaire

Les coefficients d'extinction molaire sont déterminés par préparation de deux solutions S_1 et S_2 de concentrations connues c_1 et c_2 , à partir de deux masses m_1 et m_2 pesées à l'aide d'une balance de précision. Plusieurs dilutions (entre 5 et 8) sont réalisées pour chaque solutions afin d'obtenir des absorbances A telles que $0,01 \leq A \leq 0,1$. Les spectres d'absorption sont mesurées pour chaque solution. La loi de Beer-Lambert, avec A l'absorption sans unité, $\varepsilon(\lambda)$ le coefficient d'extinction molaire en $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$, l la longueur du chemin optique en cm, et c la concentration en $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$:

$$A(\lambda) = \varepsilon(\lambda) \times l \times c$$

associée à une régression linéaire effectuée avec le logiciel Origin Lab 2018 permet de déterminer le coefficient d'extinction molaire du composé généralement déterminée à la longueur d'onde d'absorption maximale λ_{max} .

II. Fluorescence

II.1. Instrumentation

II.1.a. Spectroscopie de fluorescence stationnaire

Les spectres d'émission des composés ont été mesurés à l'aide des spectrofluorimètres FluoroMax-4 doté d'une lampe au Xénon 150W caractérisée par un domaine spectral 200-950 nm, ou FluoroLog-3 (FL3-221) doté d'une lampe à arc Xénon 450W présentant un domaine spectral 200-850 nm, du fabricant HORIBA Jobin-Yvon. Les spectres d'émission des composés en solution présentés dans ce manuscrit sont corrigés de la fonction d'appareil. Les mesures sont réalisées à partir de solutions présentant une absorption $A \leq 0,1$ afin de s'affranchir des phénomènes de filtre interne.

II.1.b. Spectroscopie de fluorescence résolue en temps

Les mesures de fluorescence résolue en temps ont été réalisées avec le montage décrit en Figure Exp - 13.

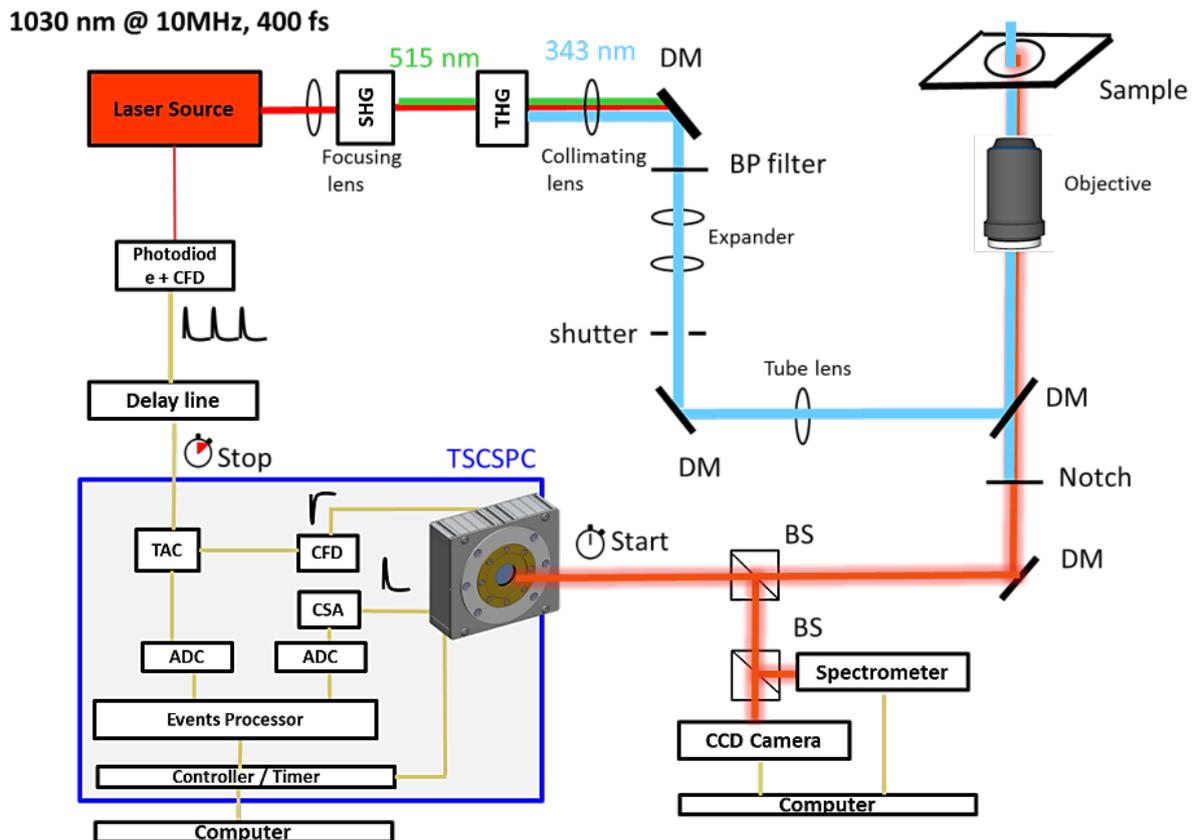


Figure Exp - 13 : Montage de spectroscopie de fluorescence résolue en temps (DM : miroir dichroïque, BS : séparateur de faisceau, BP : filtre passe-bande, CFD : discriminateur de fraction constante, CSA : analyseur de charge, TAC : convertisseur temps/amplitude, ADC : convertisseur analogique/numérique, TCSPC : comptage de photons uniques résolu en temps)

Les mesures de fluorescence résolue en temps ont été réalisées avec la méthode de comptage de photons uniques résolu en temps. La probabilité de détecter un nombre de photons à un temps t après le signal d'excitation étant proportionnel au signal de fluorescence, cette méthode consiste à enregistrer de manière répétée et avec une grande précision temporelle le nombre de photons uniques d'un signal de fluorescence. Chaque photon unique est détecté par un canal de détection du module de comptage de photons unique et l'addition des photons de l'ensemble des canaux permet de reconstituer le signal de fluorescence. Un montage de fluorimétrie impulsionnelle consistant à exciter un échantillon par un train d'impulsions lumineuses courtes à l'aide d'un laser femtoseconde Yb:KGW (t-pulse 200, Amplitude Systemes, fréquence : 10 MHz, largeur de pulse : 400 fs) a été utilisé. La fluorescence des échantillons est acquise avec un microscope pour épifluorescence (TE2000-U, Nikon). Les échantillons sont positionnés au niveau du plan focal de l'objectif (CFI Plan Fluor 40X, N.A. 0,75). Les photons émis sont collectés avec un compteur de photons uniques résolu en temps et dans l'espace LINCcam (Photonscore). Cette caméra LINCcam est basée sur un photodétecteur Quadrant Anode MCP-PM. Chaque photon est numérisé (12 bits) en espace et en temps avec une résolution respective de 10 ns et 50 ps.

Dans le cas d'un pulse d'excitation court, la décroissance de l'intensité de fluorescence $I_F(t)$ correspond à une fonction multi-exponentielle à n composantes, avec τ_i le temps de décroissance de chaque composante et α_i les facteurs pré-exponentiels :

$$I_F(t) = \sum_{i=1}^n \alpha_i \times \exp\left(-\frac{t}{\tau_i}\right) \quad \text{Éq. Exp. 5}$$

En revanche, dans le cas d'un pulse d'excitation de durée supérieure à la durée de vie de fluorescence d'un composé, l'intensité acquise $I(t)$ correspond au produit de convolution des fonctions $E(t)$ et $I_F(t)$:

$$I(t) = E(t) * I_F(t) = E(t) * \sum_{i=1}^n \alpha_i \times \exp\left(-\frac{t}{\tau_i}\right) \quad \text{Éq. Exp. 6}$$

Les données ont été analysées à l'aide du logiciel Globals (Globals Unlimited, University of Illinois at Urbana-Champaign, Laboratory of Fluorescence Dynamics) en appliquant une méthode des moindres carrés non linéaire.

II.2. Détermination des rendements quantiques de fluorescence

Les rendements quantiques de fluorescence des composés en solution ont été déterminés par la méthode relative. Les rendements quantiques de fluorescence des matrices solides ont été déterminés par la méthode relative ou la méthode absolue.

II.2.a. Rendements quantiques de fluorescence relatifs

Le principe de la mesure du rendement quantique de fluorescence relatif repose sur la comparaison de l'émission du composé étudié avec celle d'un composé connu, dont le rendement quantique de fluorescence est tabulé. Une référence présentant une fluorescence proche du composé est sélectionnée afin de négliger la non-linéarité de la détection.

Ainsi, le rendement quantique de fluorescence d'un composé X est noté Φ_X et est déterminé par rapport à une référence R selon la relation suivante :

$$\Phi_X = \Phi_R \times \frac{A_R}{A_X} \times \frac{S_X}{S_R} \times \left(\frac{n_X}{n_R}\right)^2 \quad \text{Éq. Exp. 7}$$

Avec Φ_X et Φ_R les rendements quantiques de fluorescence du composé X et de la référence R respectivement, A_X et A_R l'absorbance du composé X et de la référence R à la longueur d'onde d'excitation λ_{exc} , S_X et S_R l'intégration de l'émission (aire sous la courbe) du composé X et de la référence R excités à la longueur d'onde λ_{exc} , n_X et n_R les indices de réfraction des solvants utilisés pour solubiliser le composé X et la référence R respectivement.

II.2.b. Rendements quantiques de fluorescence absolus

Les rendements quantiques de fluorescence des matrices solides dopées avec les sondes de pH ont été déterminés à l'aide d'un spectrofluorimètre Fluorolog-3 de HORIBA Scientific muni d'une sphère intégrante F-3018 du fabricant HORIBA Jobin-Yvon avec un diamètre interne 102 mm. La paroi interne de la sphère est constituée de Spectralon®, un matériau hautement diffusant, permettant de diffuser l'émission d'un échantillon suspendu dans toutes les directions. Le principe d'une mesure de rendement quantique Φ_F absolu par une approche dite deux mesures est d'acquérir l'émission de la source d'excitation avec et sans échantillon fluorescent afin de constituer une référence interne à la mesure (Figure Exp - 14). L'acquisition du spectre d'émission de l'échantillon permet alors de calculer le Φ_F absolu grâce à la relation :

$$\Phi_F = \frac{S_2}{S_0 - S_1}$$

Éq. Exp. 8

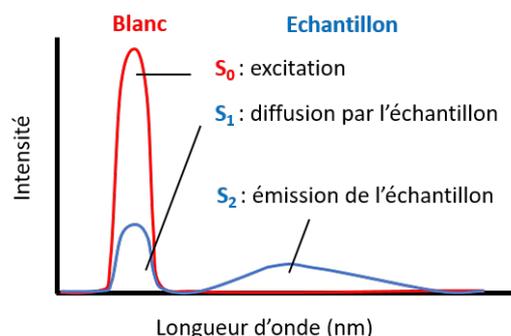


Figure Exp - 14 : Principe de la mesure du rendement quantique de fluorescence absolu

Les matrices polymères dopées sont hydratés avant les mesures de rendement quantique et sont immergées dans une solution aqueuse. La cuvette est placée au centre de la sphère d'intégration afin d'être située dans le trajet optique. Les données brutes sont traitées à l'aide d'une macro Excel fournie par HORIBA Jobin- Yvon.

III. Détermination du pKa de sondes organiques de pH fluorescentes

Le pka des sondes de pH a été déterminé en solution aqueuse par un dosage du composé étudié par l'hydroxyde de sodium (NaOH). Les sondes organiques de pH synthétisées n'étant pas solubles dans l'eau, les dosages ont été effectués dans des solutions aqueuses solvant organique – H₂O. Le terme de 'pH calculé' correspond alors à la valeur du pH calculé dans cette solution aqueuse en fonction du volume V₁ d'une solution de concentration en base B₀, comme illustré en Figure Exp - 15. La concentration en base de la solution dosée et alors calculée à tout moment et ses spectres d'absorbance et d'émission sont acquis en fonction du pH calculé.

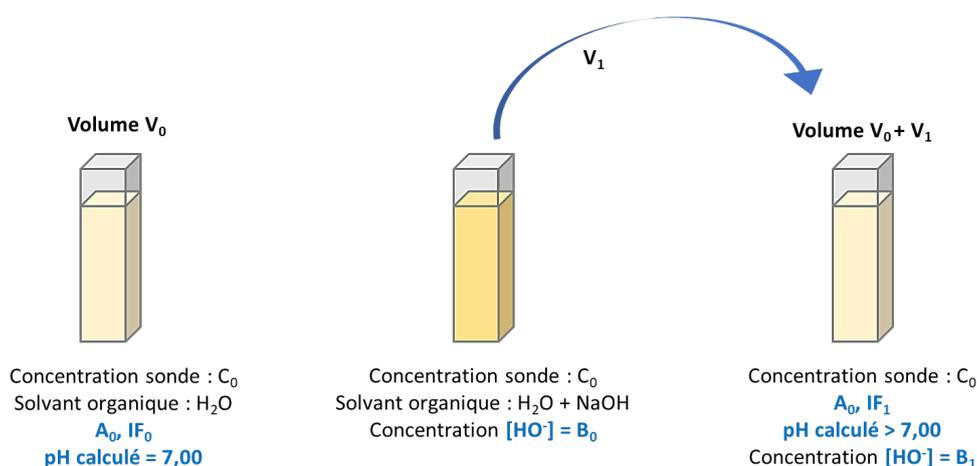


Figure Exp - 15 : Illustration du dosage d'une sonde de pH fluorescente par l'hydroxyde de sodium NaOH, afin de déterminer le pKa calculé de la sonde

Le pKa de la sonde est déterminée selon la méthode décrite en partie Montages optiques (II.2. Détermination du pKa de sondes organiques de pH fluorescents séquestrées dans des matrices solides).

Références

1. Heinze, T.; Liebert, T., Unconventional methods in cellulose functionalization. *Prog. Polym. Sci.* **2001**, *26*, 1689-1762.
2. Markovic, V.; Villamaina, D.; Barabanov, I.; Daku, L. M.; Vauthey, E., Photoinduced symmetry-breaking charge separation: the direction of the charge transfer. *Angew Chem Int Ed Engl* **2011**, *50* (33), 7596-8.
3. Qiu, H.; Wang, C.; Xu, J.; Lai, G.; Shen, Y., Synthesis, spectroscopic, and electrochemical properties of three tetrathiafulvalenes attached to perylene. *Monatshefte für Chemie - Chemical Monthly* **2008**, *139* (11), 1357-1362.
4. Jäger, S.; Rasched, G.; Kornreich-Leshem, H.; Engeser, M.; Thum, O.; Famulok, M., A Versatile Toolbox for Variable DNA Functionalization at High Density. *Journal of the American Chemical Society* **2005**, *127*, 15071-15082.
5. Lau, Y. Y.; Zhai, H.; Schafer, L. L., Catalytic Asymmetric Synthesis of Morpholines. Using Mechanistic Insights To Realize the Enantioselective Synthesis of Piperazines. *J Org Chem* **2016**, *81* (19), 8696-8709.
6. Moßhammer, M.; Strobl, M.; Kühn, M.; Klimant, I.; Borisov, S. M.; Koren, K., Design and Application of an Optical Sensor for Simultaneous Imaging of pH and Dissolved O₂ with Low Cross-Talk. *ACS Sensors* **2016**, *1* (6), 681-687.
7. Nielsen, S. D.; Paegle, I.; Borisov, S. M.; Kjeldsen, K. U.; Roy, H.; Skibsted, J.; Koren, K., Optical Sensing of pH and O₂ in the Evaluation of Bioactive Self-Healing Cement. *ACS Omega* **2019**, *4* (23), 20237-20243.
8. Steinegger, A.; Wolfbeis, O. S.; Borisov, S. M., Optical Sensing and Imaging of pH Values: Spectroscopies, Materials, and Applications. *Chem Rev* **2020**, *120* (22), 12357-12489.
9. Nongbe, M. C.; Bretel, G.; Ekou, L.; Ekou, T.; Robitzer, M.; Le Grogneq, E.; Felpin, F.-X., Cellulose paper azide as a molecular platform for versatile click ligations: application to the preparation of hydrophobic paper surface. *Cellulose* **2018**, *25* (2), 1395-1411.

Titre : Développement de capteurs à fibre optique dédiés à la mesure *in situ* du pH du béton

Mots clés : optode, capteur optique, pH, sonde moléculaire, fluorescence, béton

Résumé : D'importants volumes de matériaux cimentaires sont utilisés dans le secteur de l'industrie nucléaire, pour la conception des enceintes de confinement de réacteurs de centrales ou le stockage de déchets radioactifs en surface par exemple. L'augmentation du volume de déchets radioactifs produits appelle à considérer un scénario de stockage géologique profond des déchets nucléaires avec le projet Cigéo (centre industriel de stockage géologique de déchets radioactifs), dont les infrastructures seraient constituées d'une variété de matériaux cimentaires. L'évolution et le vieillissement de ces matériaux cimentaires, principalement leur durabilité mécanique sous différentes contraintes environnementales correspond à un enjeu de sûreté majeur. L'évolution du comportement mécanique des structures cimentaires est principalement la résultante des perturbations physico-chimiques, dont les mécanismes réactifs sont désormais appréhendés de façon satisfaisante. Cependant, le suivi de l'évolution chimique des matériaux cimentaires et notamment de la solution porale reste un champ de recherche assez peu exploré malgré les enjeux primordiaux qu'il présente. Le pH est en effet un indicateur fiable et puissant de l'état d'altération des structures en matériaux cimentaires et sa mesure demeure d'un intérêt majeur dans le cadre du suivi en continu du vieillissement du béton. La majorité des méthodes de mesure du pH hautement basique du béton (pH = 10,5-13,5) constituent des méthodes destructives et les sondes électrochimiques largement utilisées ne sont pas applicables pour des mesures *in situ* dans le béton, sur des temps longs. En ce qui concerne les sondes optiques, un certain

nombre de systèmes ont été développés dans la littérature, mais ils ne sont pas applicables pour le suivi en temps réel de variation de hauts pH (> 13). Les travaux menés durant cette thèse ont visé à concevoir et tester une optode de pH afin de suivre *in situ* le vieillissement de matériau cimentaire depuis la prise jusqu'à plusieurs mois/années. Pour ceci, un dérivé naphthalimide a été sélectionné et des dérivés pérylène présentant des fonctions amine ou guanidine ont été synthétisés afin de constituer des sondes de pH fluorescentes. Les propriétés photophysiques et photochimiques des sondes ont été étudiées en solution. Dans un deuxième temps, ces sondes de pH innovantes ont été séquestrées ou greffées sur différentes matrices polymère tels que des hydrogels d'alcool polyvinylique réticulés avec le glutaraldéhyde, un polyuréthane commercial (HydroMed D4) ou la cellulose, afin de constituer un matériau résistant, perméable à l'eau et aux analytes, dont la réponse aux variations de pH a été caractérisée. Enfin un banc optique permettant la mesure du pH a été développé et optimisé afin de constituer un outil de mesure du pH fiable et robuste avec l'inclusion d'une référence interne. Ainsi, le pH de pâtes de ciment bas pH a été mesuré en surface au jeune âge, avec un temps de réponse d'environ 100 s et une précision de $\pm 0,1$ unité de pH. Des problématiques d'accessibilité à l'eau porale des matériaux cimentaires et d'interactions spécifiques entre les sondes moléculaires de pH et les matrices solides ont été mises en évidence. Des perspectives pour la mesure du pH *in situ* sont présentées.

Title : Development of optical fiber sensors for in situ measurement of pH in concrete

Keywords : optode, optical sensor, pH, molecular probe, fluorescence, concrete

Abstract: Significant volumes of cementitious materials are used in the nuclear industry to design nuclear power plants containment facilities or surface disposal installations for radioactive waste for example. The increasing volume of radioactive waste produced raises the question of a deep geological disposal facility such as Cigéo (industrial center for geological storage of radioactive waste). This type of facility would require various cementitious materials and the ageing of these materials is a major safety issue. The evolution of the mechanical behavior of cementitious structures is mainly the result of physico-chemical disturbances. Although the majority of reactive mechanisms are now understood in a physico-chemically satisfactory manner, the question of monitoring the chemical evolution of cementitious materials and more specifically, of the pore water, remains a very limited field of research in spite of the primordial stakes that it covers. The pH is indeed a reliable and powerful indicator of the state of deterioration of cementitious material structures and its measurement remains of major interest in the continuous monitoring of concrete aging. The majority of methods developed to measure the high pH of concrete (pH = 10.5-13.5) are destructive methods and standard electrochemical probes are not suited for in situ pH measurement, over long periods of time. With regards to optical probes, some systems have been developed in the literature, but

they are not applicable for real-time monitoring of high pH variation (> 13). The research work exposed here relates to the development of a pH optode for *in situ* measurement in cementitious materials, from the hydration to the material ageing. In order to achieve this, a naphthalimide derivative has been selected and perylene derivatives with amine or guanidine functions have been synthesized in order to obtain fluorescent pH probes. The pH probes photophysical and photochemical properties have been characterized in solution. These novel pH probes have been entrapped or bound to various polymer matrices such as hydrogels (polyvinyl alcohol crosslinked with glutaraldehyde or Hydromed D4), or cellulose in order to obtain robust materials, permeable to water and analytes. These materials response to pH variations has been studied. Finally, an optical bench was designed in order to develop a reliable optical pH measurement tool including an internal reference. pH measurements were carried out on the surface of low-pH cement pastes with a short response time of around 100 s and a ± 0.1 pH unit precision. Issues regarding the pore water accessibility of cementitious materials and specific interactions between pH probes and solid matrices has been highlighted and outlooks for in situ pH measurement are discussed.

Université Paris-Saclay

Espace Technologique / Immeuble Discovery

Route de l'Orme aux Merisiers RD 128 / 91190 Saint-Aubin, France