



HAL
open science

Etude des interactions ADN-poly(5-hydroxy-1,4-naphtoquinone-co-5-hydroxy-3-acide thioacétique-1,4-naphtoquinone) [poly(JUG-co-JUGA)] par couplage de techniques électrochimiques et acoustiques.

Anne Rubin

► **To cite this version:**

Anne Rubin. Etude des interactions ADN-poly(5-hydroxy-1,4-naphtoquinone-co-5-hydroxy-3-acide thioacétique-1,4-naphtoquinone) [poly(JUG-co-JUGA)] par couplage de techniques électrochimiques et acoustiques.. Chimie analytique. Université Paris VII - Denis Diderot, 2006. Français. NNT: . tel-04121991

HAL Id: tel-04121991

<https://theses.hal.science/tel-04121991>

Submitted on 8 Jun 2023

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.



Distributed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License

THESE DE DOCTORAT DE L'UNIVERSITE DE PARIS 7

Spécialité

Surfaces – Interfaces – Matériaux Fonctionnels

Présentée par

Anne Rubin

Pour obtenir le grade de

Docteur de l'université Paris 7 – Denis Diderot

Sujet :

Etude des interactions ADN-poly(5-hydroxy-1,4-naphthoquinone-co-5-hydroxy-3-acide thioacétique-1,4-naphthoquinone) [poly(JUG-co-JUGA)] par couplage de techniques électrochimiques et acoustiques.

Soutenue le 6 juin 2006 devant le jury composé de :

M. Michel Delamar, Professeur, Université Paris 7

M. Marcel Gindre, Professeur, Université de Cergy-Pontoise

rapporteur

Mme Nicole Jaffrezic-Renault, Directeur de recherche CNRS, ECL

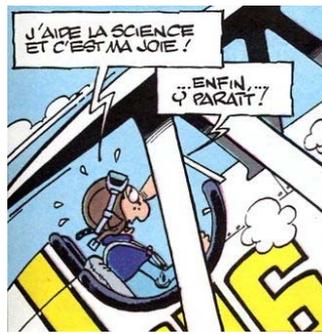
rapporteur

M. Hubert Perrot, Chargé de recherche CNRS, LISE, Université Paris 6

Mme Minh Chau Pham, Professeur, Université Paris 7

M. Benoit Piro, Maître de Conférence, Université Paris 7

invité



A mes parents,

Remerciements

Ce travail est le fruit d'une collaboration entre le laboratoire Interfaces, Traitements, Organisation et Dynamique des Systèmes (ITODYS) et le laboratoire Interfaces et Systèmes Electrochimiques (LISE). Je remercie vivement M. Michel Delamar et M. Claude Deslouis, directeurs respectifs de ces deux laboratoires, pour m'avoir accueillie au sein de leurs équipes.

Je remercie Mme Minh Chau Pham, Professeur et directrice de cette thèse, pour avoir supervisé mon travail et pour m'avoir guidé dans mes recherches.

Je remercie particulièrement M. Hubert Perrot, Chargé de recherche au CNRS et codirecteur de cette thèse, pour tout ce qu'il m'a appris au cours de ces années ; pour sa disponibilité, son dynamisme et sa bonne humeur ; pour son soutien indéfectible dans les moments de doutes. Un grand merci !

J'exprime toute ma reconnaissance à Mme Nicole Jaffrezic-Renault et M. Marcel Gindre qui m'ont fait l'honneur d'analyser ce travail et d'en être les rapporteurs.

Je tiens à remercier également M. Claude Gabrielli, Directeur de recherche au CNRS, pour m'avoir accueillie dans son équipe au LISE et pour m'avoir fait partager son enthousiasme pour l'électrochimie.

Je remercie aussi M. Benoit Piro, Maître de conférence à l'ITODYS, pour sa disponibilité et son investissement dans ce travail.

Je remercie également Daniel Rose et Jean Pierre Toqué, techniciens à l'épreuve de toutes les facéties de l'électroniques ou de l'informatique, qui sont toujours présents dès que l'on a besoin d'eux.

Un magnifique clin d'œil à Pénélope Liatsi, Docteur, ma co-équipière, mon amie. Je veux te remercier d'avoir éclairé notre bureau commun de ta présence, de tes questions scientifiques et métaphysiques lors de ton passage au LISE. Ces derniers mètres à parcourir pour finir cette thèse ont été durs sans toi !

Une longue pensée pour Ricardo Nogueira, Professeur. Que de misère humaine ! Mais quel plaisir de la partager avec toi !

Une mention spéciale à Kamal Rhamouni, Hisasi Takenouti ainsi qu'à Marie-Claude Bernard, Guy Folcher, Françoise Pillier et Vincent Vivier pour les midis ensoleillés ; Anass Lagrini et Sanae Haskouri pour les pauses cafés à toutes heures ...

La place me manque pour nommer tout le personnel du LISE, permanents ou non, mais ces quelques années à vos côtés ont été une source intarissable de rencontres, d'apprentissages, d'échanges, et je ne saurais oublier mon passage parmi vous.

Mes passages à l'ITODYS étaient il est vrai moins fréquents. Je tiens à remercier particulièrement Steeve Reisberg pour tous nos échanges autant professionnels que musicaux. Je remercie également tous ceux que j'ai pu croiser à l'ITODYS et qui, avec bonne humeur, m'ont toujours facilité la tâche dans mon travail.

Plan

INTRODUCTION	1
CHAPITRE I - BIBLIOGRAPHIE	3
1. L'ADN	4
1.1. Introduction	4
1.2. L'ADN, polymère de nucléotides	4
2. DETECTION DE L'ADN	6
2.1. Introduction	6
2.2. Les capteurs chimiques : principe de fonctionnement	6
2.3. Détection de l'ADN : le biocapteur	7
2.4. Généralités sur les méthodes de détection de l'ADN	9
2.4.1. La détection optique	9
o La fluorescence	9
o L'ellipsométrie	9
o Résonance plasmonique de surface	10
o Fibre optique	11
2.4.2. La détection électrochimique	12
o Les méthodes	12
o L'électroactivité des brins d'ODN	12
o Les marqueurs en solution	13
o Marqueurs immobilisés	14
2.4.3. La détection gravimétrique	14
o La microbalance à quartz	14
o Sensibilité de la QCM : quelle influence sur la détection de l'hybridation ?	15
3. IMMOBILISATION DES ODN SUR LE TRANSDUCTEUR	16
3.1. Immobilisation par liaison covalente	16
3.1.1. Fonction acide	17
3.1.2. Fonction amine	17
3.2. Les polymères conducteurs	18
3.2.1. Introduction sur les polymères conducteurs	18
3.2.2. Fonctionnalisation du polymère conducteur pour l'immobilisation d'ODN	18
o L'immobilisation des ODN précède la polymérisation	19
o L'immobilisation des ODN après la polymérisation	19
3.2.3. Un marqueur électrochimique : la quinone	19
4. COMPREHENSION DU PHENOMENE D'HYBRIDATION	20
4.1. Méthodes voltammétriques	20
4.2. Spectroscopie d'impédance électrochimique couplée à l'électrogravimétrie	20
5. CONCLUSION	22
CHAPITRE II – PARTIE THEORIQUE	23
1. L'IMPEDANCE ELECTROCHIMIQUE	24
1.1. Définitions	24
1.2. Représentation graphique	25
1.2.1. Diagramme de Nyquist	25
1.2.2. Diagramme de Bode	26
1.3. Circuit équivalent d'une cellule électrochimique	26

2.	MICROBALANCE A QUARTZ	28
2.1.	<i>Rappels sur la piézoélectricité</i>	28
2.2.	<i>La microbalance à quartz</i>	29
2.2.1.	Equation de Sauerbrey	30
2.2.2.	Limites de l'équation de Sauerbrey	30
o	Influence de la solution	30
o	Influence de la viscoélasticité du film	30
3.	L'ELECTROGRAVIMETRIE	31
3.1.	<i>Modélisation dans le cas d'un film électroactif</i>	31
3.1.1.	Conditions aux limites	32
3.1.2.	Etat stationnaire	33
3.1.3.	Régime dynamique	33
3.1.4.	Calcul des fonctions de transfert $\frac{\Delta m}{\Delta E}(\omega)$, $\frac{\Delta E}{\Delta I}(\omega)$, $\frac{\Delta q}{\Delta E}(\omega)$, $\frac{\Delta m_{cs}}{\Delta E}(\omega)$, $\frac{\Delta m_{as}}{\Delta E}(\omega)$	34
o	Fonction de transfert électrogravimétrique $\frac{\Delta m}{\Delta E}(\omega)$	34
o	Impédance électrochimique $\frac{\Delta E}{\Delta I}(\omega)$	35
o	Fonction de transfert $\frac{\Delta q}{\Delta E}(\omega)$ et $\frac{\Delta m}{\Delta q}(\omega)$	35
o	Fonctions de transfert électrogravimétrique partielles $\frac{\Delta m_{cs}}{\Delta E}(\omega)$ et $\frac{\Delta m_{as}}{\Delta E}(\omega)$	36
3.2.	<i>Diagrammes théoriques</i>	37
3.2.1.	Cas de la participation d'une seule espèce	37
o	Cas de la seule participation du cation	38
o	Cas de la seule participation de l'anion	39
3.2.2.	Cas de la participation de plusieurs espèces	40
CHAPITRE III - TECHNIQUES DES MESURES		43
1.	MICROBALANCE A QUARTZ	44
1.1.	<i>Le principe</i>	44
1.2.	<i>Montage classique à 9 MHz</i>	44
1.3.	<i>Montage à circulation de type 27 MHz</i>	44
1.3.1.	Le montage	44
1.3.2.	Protocole	45
2.	LES METHODES VOLTAMMETRIQUES	45
2.1.	<i>La voltammétrie cyclique</i>	45
2.1.1.	Le principe	45
2.1.2.	Le montage	46
2.1.3.	Les paramètres	47
2.2.	<i>Voltammétrie à vagues carrées</i>	47
2.2.1.	Le principe	47
2.2.2.	Le montage	48
2.2.3.	Les paramètres	48
3.	MESURE D'IMPEDANCE ELECTROCHIMIQUE	49
3.1.	<i>Le principe</i>	49
3.2.	<i>Le montage</i>	50
4.	L'ELECTROGRAVIMETRIE	51
4.1.	<i>Le principe</i>	51

4.2.	Mesure expérimentale : $\frac{\Delta V_f}{\Delta V}$	54
4.3.	Estimation des différentes fonctions de transfert intermédiaires : $\frac{\Delta m}{\Delta f_m}$, $\frac{\Delta V_f}{\Delta e}$, $\frac{\Delta f_s}{\Delta e}$	55
4.3.1.	Sensibilité de la microbalance à quartz : $\frac{\Delta m}{\Delta f_m}$	55
4.3.2.	Fonction de transfert du convertisseur : $\frac{\Delta V_f}{\Delta e}$	55
4.3.3.	Calibration du second synthétiseur : $\frac{\Delta f_s}{\Delta e}$	57
4.3.4.	Tableau récapitulatif des fonctions de transfert	58
5.	LA SPECTROSCOPIE DE FLUORESCENCE	59
5.1.1.	Le principe	59
5.1.2.	Le montage	60
5.1.3.	Le protocole	60
6.	PROTOCOLES	61
6.1.	Désignation des solutions utilisées pour l'étude de l'influence du pH	61
6.2.	Dispositif d'adsorption de (bio)molécules	61

CHAPITRE IV - ETUDES PRELIMINAIRES 63

1.	INTRODUCTION	64
1.1.	Les polymères conducteurs fonctionnalisés	64
1.2.	Les copolymères conducteurs fonctionnalisés	64
1.3.	Copolymère échangeur d'anions ou échangeur de cations ?	65
1.4.	Copolymère fonctionnalisé échangeur de cations : la poly(JUG-co-JUGA)	66
2.	SYNTHÈSE ET ELECTROSYNTHÈSE DE LA POLY(JUG-co-JUGA)	67
2.1.	Synthèse par voie chimique du monomère Juglone-Acide (JUGA)	67
2.2.	Electrogénération de la poly(JUG-co-JUGA)	68
2.2.1.	Formation du film sur l'électrode	68
2.2.2.	Electroactivité du film de poly(JUG-co-JUGA) en milieu aqueux	69
2.2.3.	Analyse MEB du film de poly(JUG-co-JUGA)	69
3.	CALIBRATION DU DISPOSITIF DE CONVERSION FREQUENCE/TENSION (ELECTROGRAVIMETRIE)	71
3.1.	Introduction	71
3.2.	Calibration du synthétiseur	72
3.3.	Sensibilité $\frac{\Delta V_f}{\Delta f_s}$ en fonction du convertisseur fréquence/tension	72
3.4.	Correction de la composante continue et dérive éventuelle	74
4.	ÉTUDE DE REFERENCE : FILM DE POLYPYRROLE	76
4.1.	Introduction	76
4.2.	Electrogénération d'un film de polypyrrole sur un résonateur à quartz	76
4.3.	Influence des espèces présentes en solution	77
4.4.	Influence de la concentration en NaCl	82
5.	CONCLUSION	83

CHAPITRE V – ETUDE DES INTERACTIONS DE LA POLY(JUG-CO-JUGA) AVEC DES ODN	84
1. ETUDE ELECTROCHIMIQUE DU FILM DE POLY(JUG-CO-JUGA)	85
1.1. Introduction	85
1.2. Etude de la poly(JUG-co-JUGA) sur une électrode massive de carbone vitreux	86
1.2.1. Réponse électrochimique d'un film de poly(JUG-co-JUGA) en milieu PBS	86
1.2.2. Etude du film de poly(JUG-co-JUGA) par impédance électrochimique	87
o Stabilité de la réponse en impédance électrochimique en fonction du temps	87
o Influence du potentiel sur la réponse en impédance électrochimique	88
o Influence du pH de l'électrolyte sur la réponse en impédance électrochimique	89
1.3. Mise au point de la poly(JUG-co-JUGA) sur un nouveau support : électrode d'or déposée sur un résonateur à quartz	91
1.3.1. Influence de la surface de l'électrode	91
1.3.2. Influence du contre-ion lors du dépôt sur des électrodes d'or	91
1.3.3. Influence de l'épaisseur du film déposé sur l'électrode d'or	93
1.4. Etude de la poly(JUG-co-JUGA) sur électrode d'or : influence de la nature de l'électrolyte	95
1.4.1. Comparaison du PBS avec une solution de NaCl à différentes concentrations	95
o Influence sur la réponse en voltammétrie cyclique et SWV	95
o Mesures gravimétriques	96
o Influence sur la réponse en impédance couplée à l'électrogravimétrie	98
1.4.2. Calcul théorique et simulation de la concentration des espèces dans le film	104
1.4.3. Simulation des différentes grandeurs mesurées à partir de ces concentrations théoriques	108
1.4.4. Etude selon la valeur du pH de l'électrolyte	110
2. ETUDE DU GREFFAGE ET DE L'HYBRIDATION DE BRINS D'ODN SUR UN FILM DE POLY(JUG-CO-JUGA)	112
2.1. Introduction	112
2.1.1. Influence de l'adsorption sur la réponse électrochimique du film sur or	112
2.1.2. Greffage et hybridation des brins d'ODN sur le film synthétisé sur or	114
o Protocole	114
o Montage à circulation, quartz de 27MHz	115
o Spectrométrie de fluorescence	115
2.2. L'hybridation sur une électrode de carbone vitreux	117
2.2.1. Influence sur la SWV	117
2.2.2. Influence sur l'impédance électrochimique	118
2.3. Hybridation sur une électrode d'or	119
2.3.1. Influence sur la SWV	119
2.3.2. Influence sur l'impédance électrochimique couplée à l'électrogravimétrie	119
o Influence sur l'impédance électrochimique	119
o Influence sur la fonction de transfert électrogravimétrique	120
3. CONCLUSION	122
CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES	123
ANNEXE - SYMBOLES	126
REFERENCES	129

Introduction

La détection d'éléments toxiques est d'un grand intérêt, aussi bien du point de vue humain qu'économique, dans différents domaines comme celui de la santé, de la défense, de l'environnement. Pour détecter des espèces nocives d'une manière efficace plusieurs approches analytiques peuvent être envisagées et notamment en utilisant des biocapteurs qui présentent de nombreux avantages par rapport à des techniques plus conventionnelles en terme de rapidité, de sensibilité, de coût... Ces dernières années la recherche dans le domaine des biocapteurs ADN s'est considérablement développée, faisant écho aux découvertes tant sur le plan biologique que sur le plan technique. Un des grands intérêts de cette détection basée sur l'ADN est sa spécificité car basée sur le principe de l'unicité de la reconnaissance entre deux brins d'ADN complémentaires. Grâce à cette nouvelle génération de biocapteurs il est alors possible d'étudier aussi bien les cinétiques d'hybridation que la reconnaissance spécifique de brins d'éléments pathogènes via diverses méthodes de transduction : optique, électrochimique ou acoustique.

Les biocapteurs électrochimiques suscitent beaucoup d'intérêt car leur préparation est simple, ils présentent un faible coût et ils peuvent être miniaturisés. Un biocapteur ADN électrochimique à détection directe, très sélectif et basé sur un nouveau polymère conducteur de type poly(5-hydroxy-1,4-naphtoquinone-co-5-hydroxy-3-acide thioacétique-1,4-naphtoquinone), dit poly(JUG-co-JUGA), a été initié. Des résultats expérimentaux préliminaires ont permis de montrer d'intéressantes potentialités. En effet, pour des polymères classiques, l'étape d'hybridation induit une diminution du signal de transduction alors que pour ce nouveau matériau, le signal augmente. Toutefois, les différentes réactions électrochimiques impliquées dans ce phénomène ne sont pas complètement élucidées.

L'objectif principal de ce travail est d'étudier les mécanismes électrochimiques qui se déroulent au sein de ces films. Plus précisément, il s'agira d'étudier le transfert des espèces à l'interface film/électrolyte, en terme cinétique et thermodynamique, qui accompagnent les processus électrochimiques éventuellement couplés aux différentes interactions de type biologique.

Ce travail a été le fruit d'une collaboration entre deux laboratoires, complémentaires par leurs domaines de compétence :

- le laboratoire Interfaces, Traitements, Organisation et Dynamique des Systèmes (ITODYS) qui apporte le savoir-faire dans le domaine de la synthèse du copolymère conducteur fonctionnalisé poly(JUG-co-JUGA), matériau original permettant la détection directe de l'hybridation, ainsi que la maîtrise de l'élaboration des électrodes ;
- le laboratoire Interfaces et Systèmes Electrochimiques (LISE) qui apporte ses connaissances en matière d'impédance électrochimique et sa maîtrise de l'électrogravimétrie, technique acoustique puissante qui, couplée à l'impédance électrochimique, permet d'identifier la nature des ions participant à la compensation de charge d'un polymère.

Ce travail s'articule autour de cinq chapitres. Le premier chapitre est une étude bibliographique qui fait état des techniques de détection de l'ADN, de l'intérêt des biocapteurs électrochimiques à base de polymère conducteur ainsi que des techniques permettant la compréhension du phénomène de l'hybridation comme l'impédance électrochimique et l'électrogravimétrie.

Le second chapitre présente une modélisation basée sur le transfert ionique. Celle-ci permet de retrouver l'impédance électrochimique et la fonction de transfert électrogravimétrique expérimentale.

Le troisième chapitre est consacré aux différentes techniques expérimentales que nous avons utilisées au cours de cette étude : la microbalance à quartz pour la détection gravimétrique, les méthodes voltammétriques, l'impédance électrochimique et la fonction de transfert électrogravimétrique.

Le quatrième chapitre aborde des études préliminaires : le choix et la calibration du dispositif électronique utilisé pour les mesures électrogravimétriques ; une étude de référence sur un film de polypyrrole afin de mettre en exergue les possibles influences de la nature de l'électrolyte et de sa concentration sur la réponse électrogravimétrique sera entreprise.

Enfin, le dernier chapitre est consacré à l'étude de la poly(JUG-co-JUGA). Les techniques développées précédemment devront nous permettre de caractériser le comportement électrochimique du polymère. Par ailleurs, l'étude de l'influence du greffage et de l'hybridation sur ce film montrera l'intérêt de la technique d'électrogravimétrie. Enfin, la modélisation devra permettre une analyse fine des différents processus et une identification des espèces impliquées dans les mécanismes réactionnels.

Chapitre I - Bibliographie

1. L'ADN

1.1. Introduction

La compréhension du mécanisme de codage de l'information génétique est une grande avancée du XX^{ième} siècle.

A l'aube du XX^{ième} les scientifiques constatent qu'il existe un lien entre les caractéristiques physiques des êtres vivants et l'hérédité. Suite aux travaux du moine tchèque Gregor Mendel des études sur le caractère héréditaire ressurgissent. Ce moine, disciple de Doppler, a publié en 1866 son étude de la transmission de caractères simples sur des générations pures ou croisées de petits pois. Bien que tombés dans l'oubli jusqu'au début du siècle, ces travaux ont été le ferment de recherche d'une théorie sur l'hérédité. En 1928, c'est une expérience du microbiologiste anglais Frederick Griffith qui met en lumière l'existence de la transmission d'informations au niveau moléculaire. En effet il démontre qu'une bactérie saine mise au contact de bactéries mortes mais infectées, acquiert le caractère toxique de ces dernières. Il formule alors l'hypothèse que la molécule responsable de cette transmission d'information est la molécule d'acide désoxyribonucléique (ADN) tandis qu'une majorité des scientifiques attribue cette transmission aux protéines. Dans cette continuité P. Levine montre en 1929 que l'ADN contient du phosphore, un glucide (le désoxyribose) et des bases azotées (adénine, cytosine, guanine, thymine).

Grâce aux progrès de la chromatographie le biochimiste autrichien E. Chargaff publie en 1950 le résultat de ses travaux : il remarque expérimentalement que les bases azotées de l'ADN sont en proportion très particulière. Cette technique lui permet de montrer que la quantité de guanine est égale à celle de la cytosine, et que la quantité de thymine est égale à celle de l'adénine. Cette propriété est désormais connue sous le nom de règle de complémentarité.

En 1953, l'équipe du biologiste Watson et du physicien Crick se base sur ces précédents résultats pour élaborer un modèle de l'ADN¹ en double hélice qui va révolutionner la biologie moderne. La molécule d'ADN dévoile enfin sa structure. Ce résultat a été confirmé expérimentalement depuis. Pour leurs travaux d'anticipation, Watson et Crick ont alors reçu le prix Nobel de médecine en 1962.

1.2. L'ADN, polymère de nucléotides

L'ADN est constituée de deux chaînes de polymère de nucléotides enroulées entre elles, en forme de double hélice. Un nucléotide est une molécule formée des trois entités suivantes :

- un groupement phosphate, qui donne un caractère d'acide faible à l'ADN ;
- le désoxyribose, sucre à cinq carbones, similaire au ribose avec un groupe hydroxyle en moins, $C_5H_{10}O_4$;
- une base azotée, molécule organique formée d'un ou deux cycles alternant les éléments azote et carbone. Il existe quatre bases azotées : l'adénine (A) et la guanine (G) formées de deux cycles (ce sont les bases puriques) ; la thymine (T) et la cytosine (C) formées d'un cycle (ce sont les bases pyrimidiques).

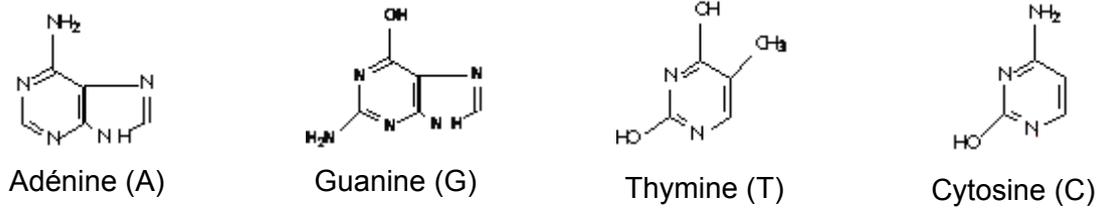


Figure 1 : formule chimique des quatre bases azotées de l'ADN

Ces quatre bases azotées définissent donc quatre nucléotides différents. Un brin d'ADN ou chaîne polynucléotidique est formé d'un ensemble de nucléotides liés entre eux par les désoxyriboses et les groupements phosphate.

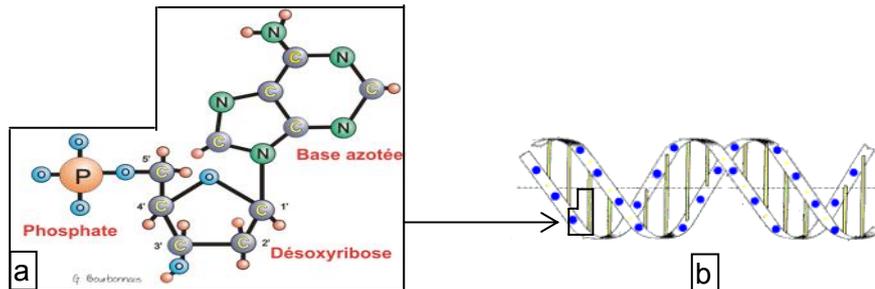


Figure 2 : a) un nucléotide – b) schéma d'un fragment de brin d'ADN

L'appariement des chaînes polynucléotidiques formant la double hélice de l'ADN est possible grâce aux liaisons hydrogène et à la complémentarité des bases azotées comme le présente la figure 3. En effet l'adénine présente deux sites, un azote et un groupe $-NH$, susceptibles de former une liaison hydrogène. De même la thymine dispose de deux sites favorables aux liaisons hydrogène, un groupe $-NH$ et un oxygène. L'adénine et la thymine s'apparient avec deux liaisons hydrogène.

De la même manière, la guanine a deux groupes $-NH$ et un oxygène, ainsi que la cytosine, permettant trois liaisons hydrogène entre ces deux bases. L'appariement G-C est le plus énergétique. C'est pourquoi le pourcentage de G-C gouverne la stabilité d'un double brin.

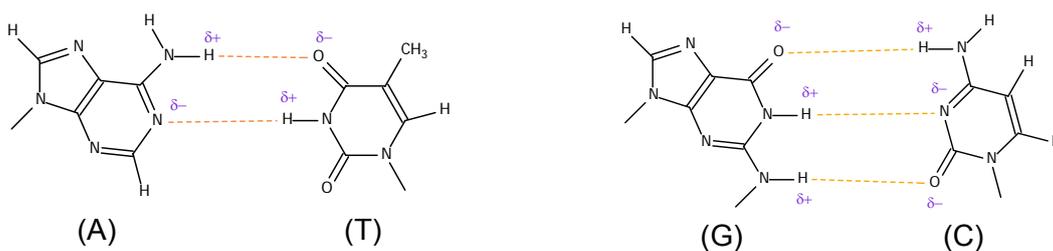


Figure 3 : appariement spécifique A-T, C-G

D'un côté de chaque base azotée le groupe phosphate se fixe au carbone 5 du sucre. Quand il s'agit de l'extrémité, elle est notée 5'. De l'autre le groupe hydroxyle se fixe au carbone 3 du sucre. A l'extrémité il s'agit donc de 3'. Quand les deux chaînes polynucléotidiques se lient par appariement des bases, l'un des brins est orienté 5' → 3' alors que le second est orienté 3' → 5' : cet appariement antiparallèle est hautement favorisé par rapport à l'appariement parallèle.

Au pH physiologique les acides nucléiques sont des polyanions. La structure en double hélice, d'un diamètre d'environ 20 Å, minimise la répulsion entre les charges négatives des

groupes phosphates et est stable. Toutefois, la séparation de ces brins, ou dénaturation, peut être obtenue par simple chauffage au dessus d'une température caractéristique, T_m , dite de fusion.

L'ADN, macromolécule dont nous venons de détailler la structure, gouverne et perpétue les espèces du monde vivant. La structure de l'ADN étant désormais connue, l'étape suivante est d'une part sa détection (médecine, criminologie, agroalimentaire, défense ...) et d'autre part la compréhension des mécanismes régissant les mutations ou polymorphismes (médecine). Concernant la détection proprement dite, de nombreuses solutions sont déjà présentes sur le marché mondial, notamment les puces à ADN^{2,3}. Cependant, ce type d'analyse génétique n'apporte pas encore une caractérisation complète du phénomène d'hybridation.

2. Détection de l'ADN

2.1. Introduction

Un capteur est par définition une entité capable de détecter un phénomène (bruit, lumière, molécule ...) et d'envoyer l'information vers un système d'analyse. Dans le monde de l'industrie, le contrôle indispensable de diverses étapes de production fait du capteur un outil primordial et en constante évolution.

Comparé aux capteurs physiques, les capteurs chimiques sont à un stade de développement moins avancé. La nécessité de détecter spécifiquement des molécules a néanmoins conduit à l'utilisation de capteurs chimiques dans les domaines tels que la médecine, l'environnement, la défense ou l'agroalimentaire ; ce qui a considérablement contribué à l'amélioration des performances de ces capteurs. Afin de répondre de façon optimale aux exigences propres à ces diverses applications plusieurs types de capteurs chimiques ont été développés.

2.2. Les capteurs chimiques : principe de fonctionnement

L'intérêt d'un capteur chimique est de générer un signal mesurable proportionnel à la quantité de l'élément chimique spécifique étudié. Cette quantité à détecter peut être soit la concentration soit l'activité d'une espèce chimique en solution.

Un capteur chimique se compose de deux éléments principaux : le récepteur et le transducteur (Figure 4). Le récepteur est un élément chimique qui reconnaît l'espèce étudiée. Le transducteur traduit cette reconnaissance de l'espèce chimique par le récepteur en un signal mesurable, en général électrique.

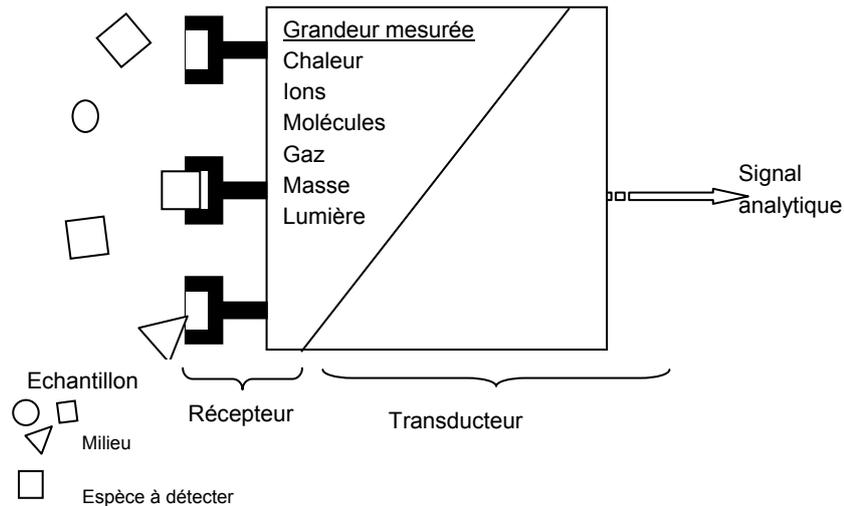


Figure 4 : schéma de fonctionnement d'un capteur chimique

S'il n'existe pas encore de normes internationales pour classer ces capteurs, l'usage veut qu'on les différencie par leur moyen de transduction. Le tableau 1 présente les principaux types de transducteurs qui peuvent servir de base pour réaliser ces capteurs chimiques.

Principe	Grandeur mesurée
Optique	intensité d'absorption
Ampérométrique	intensité
Potentiométrique	tension
Calorimétrique	chaleur
Capacitif	capacités, charges
Conductimétrique	résistance
Gravimétrique	masse

Tableau 1 : les types de capteurs chimiques classés par principe de fonctionnement

2.3. Détection de l'ADN : le biocapteur

Un biocapteur est un capteur chimique dont le mécanisme de reconnaissance de la cible est biochimique (Figure 5). Les principales espèces à détecter sont les anticorps, les antigènes, les protéines, les enzymes, et les acides nucléiques. Face à la diversité de ces espèces à détecter il faut adapter le récepteur et le transducteur afin d'obtenir une réponse sélective⁴. Le tableau 2 recense les différents types de transducteurs utilisés pour les biocapteurs.

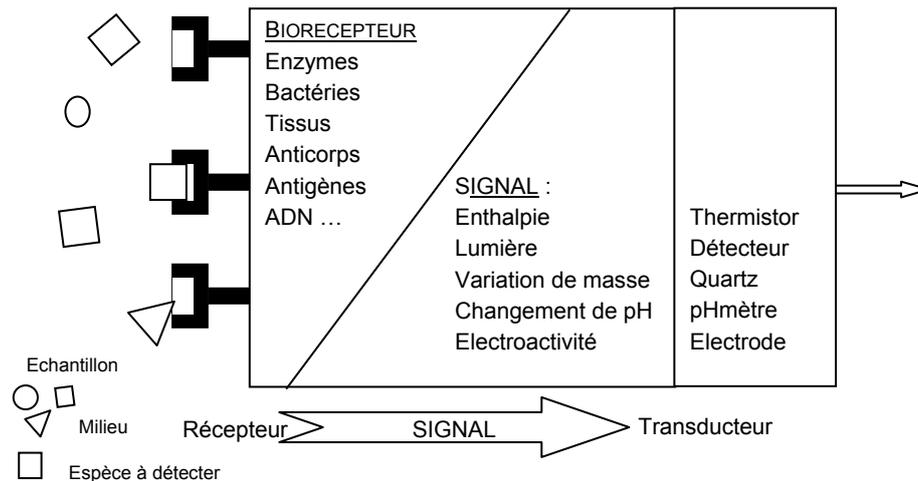


Figure 5 : schéma de fonctionnement d'un biocapteur

Le premier biocapteur en tant que tel a été développé par Clark et Lyons⁵ au début des années soixante pour la détection du glucose. Depuis ces travaux, les biocapteurs ont pris de l'ampleur : les espèces biologiques à détecter deviennent extrêmement variées. Parmi ces dernières, l'ADN est une macromolécule incontournable.

Une catégorie plus spécifique est donc celle des biocapteurs à ADN, étudiés depuis une quinzaine d'années, pour lesquels trois générations se sont succédées⁶. La première génération regroupe les méthodes de transduction qui nécessitent une modification chimique de la cible d'ODN (fluorescence, molécule électroactive...) qui n'est pas toujours évidente à mettre en œuvre chimiquement. De plus, l'inconvénient majeur est qu'une telle modification entraîne en général une perte d'activité de la cible. Pour pallier ce problème de nouveaux capteurs ont été créés. A ce stade, la cible n'est plus modifiée chimiquement mais la transduction est assurée par une molécule active externe (marqueur fluorescent, indicateur redox...). C'est la seconde génération. Enfin, les évolutions récentes ont permis de mettre au point une troisième génération : désormais l'hybridation peut être révélée sans qu'une molécule active externe soit adjointe au système de transduction (résonance des plasmons de surface, système électrochimique ou piézoélectrique...). Pour cette troisième et dernière génération, outre le faible coût et la rapidité d'analyse, on recherchera aussi sensibilité, sélectivité et possibilité de miniaturisation.

Méthodes	Transduction	Génération
Optique	Fluorescence	1,2
	Luminescence	1,2
	Résonance des plasmons de surface	3
Electrochimique	Potentiométrie	2, 3
	Ampérométrie	2, 3
	Conductimétrie	2
	Gravimétrie	Microbalance à cristal de quartz

Tableau 2 : les transducteurs d'un biocapteur à ADN, d'après la référence (4)

2.4. Généralités sur les méthodes de détection de l'ADN

Comme nous l'avons présenté au paragraphe précédent, la détection de l'hybridation d'un ODN cible peut être de nature optique, électrochimique ou gravimétrique.

2.4.1. La détection optique

Le principe des capteurs optiques repose sur la mesure de la quantité de lumière absorbée ou émise lors de la reconnaissance biochimique entre la sonde et le récepteur. Le capteur peut être à détection indirecte (fluorescence) ou directe (résonance de plasmon de surface, ellipsométrie...).

o La fluorescence

La fluorescence est l'une des techniques classiques de détection optique dite par révélation. Cette détection repose sur l'utilisation d'un fluorophore qui est une molécule qui absorbe la lumière à une longueur d'onde λ_0 pour la restituer à une longueur d'onde λ_1 telle que $\lambda_1 > \lambda_0$ (Figure 6).

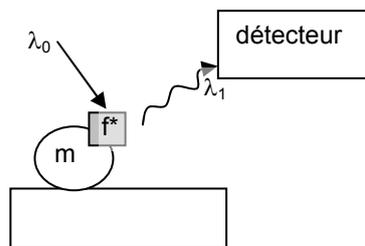


Figure 6 : principe de fluorescence, un fluorophore f^* fixé sur une molécule m excité à λ_0 émet à λ_1 .

Deux récentes revues présentent les différentes méthodes d'utilisation de la fluorescence à la détection d'acides nucléiques^{7,8}. Cette détection d'acides nucléiques par fluorescence est très répandue de par sa fiabilité et sa spécificité. Cette méthode permet de quantifier précisément le taux d'hybridation^{9,10} et est déjà largement employée pour les puces à ADN¹¹.

Toutefois, l'emploi de la fluorescence comme moyen de détection est lourd à mettre en œuvre car elle nécessite une préparation longue des échantillons. C'est pourquoi, dans un souci de s'affranchir des problèmes de marquage des ODN par des fluorophores, de nouvelles techniques optiques directes ont été développées comme l'ellipsométrie, la résonance plasmonique de surface et les fibres optiques.

o L'ellipsométrie

L'ellipsométrie est une méthode basée sur le changement de polarisation d'un faisceau de lumière après réflexion oblique sur la surface d'un matériau. Les mesures de la variation d'intensité avant et après réflexion informe sur la quantité d'ADN fixée¹².

○ **Résonance plasmonique de surface**

La résonance plasmonique de surface (SPR pour Surface Plasmon Resonance) est une technique physique de mesure de la variation des indices de réfraction. Seuls les métaux et les semi-conducteurs peuvent donner lieu au phénomène de plasmon de surface. En effet, un plasmon est généré lorsqu'un électron traverse une fine couche métallique ou lorsqu'il est réfléchi par une surface métallique.

Les premières mesures relatives à des biomolécules remontent au début des années quatre vingt dix^{13,14}. L'immobilisation de biomolécules sur une surface métallisée, préparée pour une mesure SPR, entraîne une variation de l'angle de réfraction (Figure 7). Persson et al. ont déterminé une relation de proportionnalité entre cette variation et la masse de molécules déposées sur la surface métallisée en réalisant un marquage radioactif en parallèle¹⁵. Il est donc possible d'en déduire la quantité de molécules immobilisées.

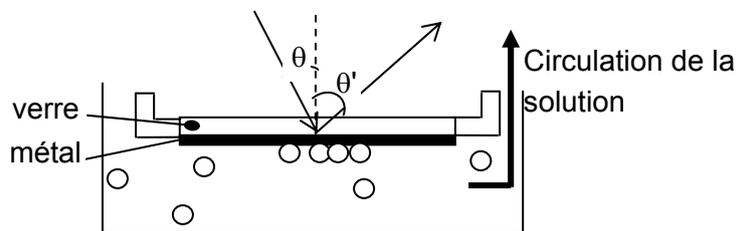


Figure 7 : principe de mesure de l'adsorption sur une surface métallique avec la SPR.

La détection in situ de l'hybridation de brins d'ADN par la technique SPR est arrivée au milieu des années quatre vingt dix¹⁶. Cette technique apporte également des informations en temps réel sur la cinétique d'hybridation de brins d'ODN^{17,18}. Ainsi il est possible de déterminer l'influence de la longueur¹⁹ et de la concentration²⁰ des brins sondes ou de la surface (thiol²¹, polypyrrole²², par exemple) sur la cinétique d'hybridation. Par ailleurs, l'effet de l'hybridation de brins d'une vingtaine de bases en bout ou en milieu de brins plus longs sur la cinétique d'hybridation a aussi été étudié²³. Ces exemples montrent que les études sur la cinétique d'hybridation de brins d'ODN grâce à la technique SPR sont assez riches et variées.

En outre, le montage associé à la mesure SPR peut être monté avec différentes configurations de la partie optique. En particulier, la SPR peut être utilisée en mode « imaging »^{24,25}, ce qui permet de visualiser en temps réel l'hybridation des brins sur la surface.

Si une analyse SPR peut être réalisée en un temps plus faible qu'en fluorescence, l'inconvénient là encore est le matériel : une station SPR reste lourde à mettre en œuvre. Une évolution dans les techniques de plasmon de surface a conduit aux fibres optiques, dont le montage est allégé en appareillage optique.

○ **Fibre optique**

La fibre optique sert à véhiculer un faisceau lumineux. Le couplage de cette fibre optique, peu encombrante, à la SPR permet de résoudre les problèmes d'espace liés aux appareils optiques²⁶.

Le principe de la fibre optique repose sur la propagation d'un rayon laser incident sans modification de l'angle d'incidence de départ. Si une (bio)molécule ou un polymère sont déposés sur la surface longitudinale de la fibre, le faisceau subit une déviation à leur contact^{27,28,29} (Figure 8.a)). La mesure de l'angle de sortie du faisceau caractérise la présence de ces derniers. Une application classique est par exemple la mesure des cinétiques d'adsorption.

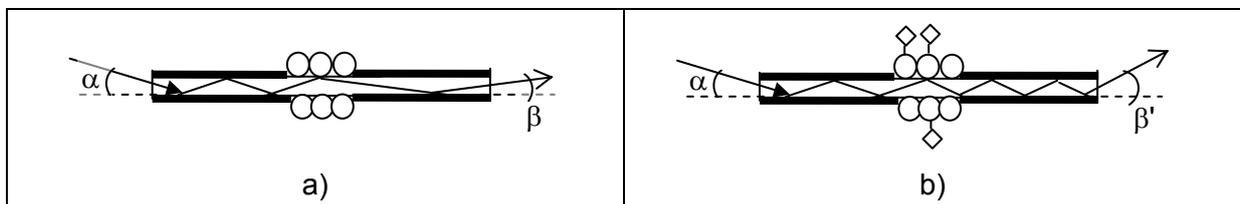


Figure 8 : a) les molécules déposées sur la surface de la fibre optique modifie le trajet du signal d'angle α en β ;
 b) une modification chimique sur ces molécules modifie le trajet du signal de sortie de β en β' .

Il est maintenant également possible d'étudier l'hybridation de brins d'ODN^{30,31}. En effet, l'appariement des brins d'ODN à la surface de la fibre génère une nouvelle modification de l'angle de propagation du signal lumineux (Figure 8.b)).

Cependant, malgré la bonne précision des mesures obtenues par détection optique, les inconvénients majeurs restent la mise en place d'un montage à la fois coûteux et nécessitant un opérateur qualifié.

2.4.2. La détection électrochimique

Les premières publications traitant des analyses électrochimiques des acides nucléiques remontent à la fin des années cinquante³². Cette découverte de l'électrochimie des acides nucléiques a tout naturellement conduit au développement de capteurs électrochimiques^{33,34}. Une classification³⁵ de ces capteurs a été publiée par l'International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC) au nombre desquels on compte les capteurs à ADN.

La détection électrochimique répond aux trois caractéristiques principales attendues : la rapidité d'analyse, la simplicité de fonctionnalisation et la possible miniaturisation du capteur. Il existe plusieurs méthodes de détection électrochimique qui se distinguent par la nature du signal mesuré : la détection ampérométrique, la détection voltammétrique ou la détection chronopotentiométrique.

○ Les méthodes

La détection ampérométrique³⁶ permet la mesure du courant résultant de l'oxydation ou de la réduction d'un élément chimique soumis à un potentiel constant.

La détection voltammétrique³⁶ mesure le courant généré par un élément chimique lors d'un balayage en potentiel et permet ainsi de déterminer le comportement des espèces électroactives en solution. La technique la plus commune est la voltammétrie cyclique (VC). D'autres techniques voltammétriques plus sensibles sont aussi utilisées comme la voltammétrie à vague carrée (SWV pour Square Wave Voltametry)³⁷ ou la voltammétrie à impulsion différentielle (DPV pour Differential Pulse Voltametry)³⁸. Ces techniques présentent l'avantage de ne mesurer que le courant faradique. (Une présentation plus détaillée de la SWV est proposée au Chapitre III – Techniques des mesures).

La détection chronopotentiométrique³⁶ consiste à imposer un saut de courant puis à mesurer l'évolution du potentiel résultant en fonction du temps. Ce saut de courant provoque l'oxydation ou la réduction d'un système électroactif. A l'inverse des méthodes à potentiel imposé cette technique a l'avantage de ne pas nécessiter l'utilisation d'une électrode de référence.

○ L'électroactivité des brins d'ODN

Les différentes méthodes de détection électrochimique redéfinies ci-dessus nécessitent la mesure d'un courant ou d'un potentiel. Les études électrochimiques de l'ADN ont montré que seules ses bases adénine, guanine et cytosine sont électroactives^{39,40,41}.

Parmi ces trois bases, seules l'adénine et la guanine sont correctement oxydées sur des électrodes massives de carbone vitreux⁴². Le potentiel d'oxydation le plus bas revient à la guanine (1,07 V vs Ag/AgCl), c'est pourquoi l'oxydation de la guanine est la plus étudiée pour la détection de l'hybridation par l'électroactivité des brins d'ADN⁴⁰. Par exemple Wang exploite le signal d'oxydation de la guanine pour détecter l'hybridation des brins d'ODN⁴³. L'inconvénient est que l'oxydation ou la réduction de la guanine est irréversible et destructive.

○ **Les marqueurs en solution**

Plusieurs molécules électroactives comme des complexes métalliques, des aromatiques aminés, etc. peuvent interagir avec la macromolécule d'ADN, ce sont des marqueurs. Ces marqueurs peuvent être de trois types : les intercalants, les complexes métalliques, les autres molécules.

Les intercalants

Ce sont de petites molécules redox qui ont une meilleure affinité avec les doubles brins qu'avec les brins simples. Le principe d'utilisation de ces intercalants est de les introduire en solution après l'étape d'hybridation. De par leur grande affinité avec les brins appariés, ces petites molécules vont se fixer sur les brins hybridés. Ainsi, la concentration en intercalants croît à proximité de la surface de l'électrode, ce qui entraîne une augmentation de la réponse électrochimique.

Le choix de ces molécules se fait selon les critères suivants⁴⁴ :

- interaction différente avec le simple brin et le double brin,
- stabilité de la forme oxydée et de la forme réduite.

Les groupes d'Hashimoto⁴⁵ et d'Oliveira-Brett⁴⁶ ont utilisé des intercalants dérivés des anthraquinone pour détecter l'hybridation par voltammétrie cyclique.

Les complexes métalliques

Le complexe métallique $[\text{Co}(\text{bpy})_3]^{2+/3+}$ est le premier marqueur testé⁴⁷ pour la détection de l'hybridation par SWV. Comme le brin d'ODN sonde est anionique, le complexe $\text{Co}(\text{bpy})_3^{3+}$ se fixe sur la chaîne sucre-phosphate par effet électrostatique. Lorsque l'hybridation a lieu, deux brins s'apparient. Selon les auteurs cet appariement renforce l'attraction électrostatique : la concentration en $\text{Co}(\text{bpy})_3^{3+}$ devient plus importante au voisinage des brins d'ODN et augmente l'intensité du courant mesuré.

D'autres complexes métalliques comme le tris(2,2'-bipyridine)ruthenium III $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{3+}$ ⁽⁴⁷⁾ ou le tris(1,10-phenanthroline)cobalt(III) $[\text{Co}(\text{phen})_3]^{3+}$ ⁽⁴⁸⁾ ont aussi été utilisés. Pour ce dernier la détection de l'hybridation a été comparée pour trois méthodes : la voltammétrie cyclique, la SWV et la chronopotentiométrie.

Les autres molécules

Les composés organiques sont également utilisés. La daunomycine par exemple, composé organique aromatique plan étudié par l'équipe de Mascini^{49,50}. Egalement, le Bleu de Méthylène⁵¹ (MB pour Methylene Blue), composé organique de la famille des phenothiazine. L'utilisation comme indicateur redox du MB offre un avantage certain comparé aux complexes métalliques ou à la daunomycine : le MB interagit également avec la guanine ce qui renforce le signal d'hybridation mesuré.

- **Marqueurs immobilisés**

Les marqueurs en solution sont des marqueurs dits libres. Une autre solution consiste à marquer les brins cibles par un groupement rédox. Ainsi, lorsque les brins sondes et cibles sont appariés, le signal mesuré est amplifié par la présence de ce groupe rédox.

Un groupement rédox d'utilisation simple est le ferrocenyle⁵². Korri-Youssoufi⁵³ a également utilisé le groupe ferrocenyle pour détecter l'hybridation par voltammétrie cyclique.

Un autre marqueur redox a été introduit par l'équipe de Heller⁵⁴ avec une enzyme : la horseradish-peroxydase (HRP). Dans ce cas, l'enzyme joue le rôle d'amplification de la transduction puisqu'elle active un processus catalytique secondaire. La méthode est donc potentiellement plus sensible. Ces deux dernières méthodes nécessitent toutefois un marquage des sondes, ce qui est assez lourd à mettre en œuvre.

2.4.3. La détection gravimétrique

- **La microbalance à quartz**

Cette technique quantifie les variations de masse à la surface d'un cristal de quartz. En effet, la propriété piézoélectrique des quartz entraîne une relation de proportionnalité entre la variation de la fréquence de résonance et la variation de masse⁵⁵.

Si l'utilisation de ce qu'on appelle communément la microbalance à quartz (QCM pour Quartz Crystal Microbalance) remonte à une quarantaine d'années, son utilisation avec une face en contact d'un liquide est beaucoup plus récente^{56,57} (~1980). Ces études apportent une nouvelle information : dans un liquide la viscosité est un paramètre non négligeable. Par suite, l'application au domaine de l'électrochimie a permis de nombreux travaux dans des domaines aussi divers que l'étude de la corrosion, la détection de molécules ou la reconnaissance de biomolécules. Il s'agit d'une méthode de transduction directe.

C'est en 1988 que Fawcett⁵⁸ réalise la première détection de l'hybridation de brins d'ODN par cette technique. Ce travail a conduit à de nombreuses caractérisations en temps réel d'adsorption, d'immobilisation, d'hybridation de brins d'ODN et d'utilisation d'un médiateur entre deux brins d'ADN.

Depuis, la capacité de détection de l'hybridation avec une QCM n'a cessé d'être démontrée. Yamaguchi et al. s'est penché sur l'adsorption, l'immobilisation et l'hybridation d'ODN⁵⁹ ; Su et al. a travaillé sur la cinétique d'hybridation en solution⁶⁰ ; Zhou et al. a testé l'effet de la force ionique de la solution tampon et l'effet de la concentration en ODN cibles sur l'hybridation⁶¹. Un autre travail précurseur est celui de Galasso⁶² qui, en 1995, étudie le premier le processus d'hybridation d'ODN. Enfin, Caruso et al. a étudié l'amélioration de la sensibilité de la QCM en immobilisant plusieurs couches successives de brins d'ODN sondes⁶³.

○ **Sensibilité de la QCM : quelle influence sur la détection de l'hybridation ?**

La microbalance à quartz est un capteur gravimétrique très sensible puisqu'il détecte des masses inférieures au nanogramme⁶⁴. Lors d'une hybridation, l'ordre de grandeur de la masse ajoutée est le nanogramme par hertz. Par exemple, Lassale⁶⁵ et al. quantifie la sensibilité de sa QCM à $1,1 \text{ ng.Hz}^{-1}$ (avec un quartz 8,9 MHz à électrodes de platine).

Afin d'améliorer la détection de l'hybridation des brins d'ODN, il est envisageable d'augmenter cette sensibilité. Deux méthodes principales émergent :

- l'amplification du signal de transduction par l'ajout d'une masse externe sur le brin hybridé,
- l'augmentation de la fréquence de résonance du quartz.

La première idée a été exploitée par Willner⁶⁶. Les brins sondes d'ODN sont fixés sur un quartz à électrodes d'or par des thiols. Les brins cibles sont modifiés par de la biotine puis mis en présence des brins sondes. Des liposomes ou des nanoparticules d'or, molécules à poids moléculaire significatif, sont marqués par de l'avidine et mis en présence des brins appariés. L'interaction biotine-avidine permet de fixer sur les brins d'ODN hybridés cette masse supplémentaire. Les sensibilités limites obtenues sont de l'ordre de 10^{-12} M .

L'autre solution consiste à jouer sur la sensibilité propre au quartz : sa fréquence de résonance. Dans la plupart des études les quartz utilisés sont des quartz dont la fréquence de résonance fondamentale est de 9 MHz. Une étude de l'influence de la sensibilité de la QCM (en ng.Hz^{-1}) sur la résolution réelle du capteur (en ng.cm^{-2}) a montré que l'augmentation de la fréquence de résonance du quartz n'améliorait pas forcément cette résolution⁶⁷. Est-ce vérifié dans le cas de la détection de l'hybridation ?

Quelques équipes se sont attaquées au problème. Caruso⁶⁸ par exemple a utilisé des quartz de fréquence fondamentale de 27 MHz pour la détection in-situ de l'hybridation de brins de 21-mer à $1 \mu\text{g.mL}^{-1}$ et $0,1 \mu\text{g.mL}^{-1}$. Par calibration de la QCM, la sensibilité obtenue à 27 MHz ($0,65 \text{ ng.cm}^{-2}.\text{Hz}^{-1}$) est dix fois plus importante que celle obtenue à 9 MHz ($6 \text{ ng.cm}^{-2}.\text{Hz}^{-1}$). L'augmentation de la fréquence de résonance semble prometteuse. Toutefois, une augmentation excessive n'apporte pas d'informations supplémentaires comme le montre la comparaison des travaux de Uttenthaler⁶⁹ et Okahata⁷⁰. Ces derniers ont travaillé sur le même système biologique (la cible ADN M13) mais le premier avec un quartz de 70 MHz et le second avec un quartz de 9 MHz. Il s'est avéré que les masses mesurées étaient comparables. L'utilisation de quartz de 70 MHz en vue d'augmenter la sensibilité est donc inutile.

Par ailleurs, dès que l'on essaie d'augmenter la fréquence de résonance, des limites physiques s'imposent d'elles-mêmes. D'après les études de Zimmermann⁷¹ et al., au delà de la fréquence de résonance fondamentale de 75MHz l'amortissement du quartz en milieu aqueux est trop important. Il conclut qu'il est préférable de ne pas utiliser des quartz dont la fréquence de résonance est supérieure à 50 MHz pour les études électrochimiques.

3. Immobilisation des ODN sur le transducteur

Parmi les trois méthodes de détection d'ODN proposées dans ce paragraphe il apparaît que l'électrochimie apporte des solutions peu coûteuses, faciles à mettre en œuvre et miniaturisable⁷² tout comme la détection gravimétrique. Le couplage détection électrochimique et électrogravimétrique est une solution intéressante pour développer un capteur sensible et sélectif.

Néanmoins, le choix d'une méthode de détection adaptée ne s'avère pas suffisante. Il est également nécessaire que les brins sondes soient immobilisés correctement sur le transducteur. Dans le cas contraire, l'interprétation des variations des signaux électriques consécutifs à l'hybridation ne serait pas fiable. En effet, si pendant l'expérience les ODN sondes se détachent de la surface du transducteur, la variation de signal correspond au phénomène d'hybridation plus ce phénomène de détachement. Pour l'étude de notre système, l'immobilisation des brins sondes qui nous intéresse est obtenue par liaison covalente.

3.1. Immobilisation par liaison covalente

Assurer une liaison covalente entre l'électrode et les brins d'ODN consiste à utiliser des groupements fonctionnels qui vont permettre de fixer les brins sondes⁷³. Ces groupements fonctionnels peuvent être très variés comme par exemple : -COOH, -CHO, -NH₂, -OH, epoxyde, ...

Pour réaliser cette liaison covalente, deux solutions chimiques s'offrent à nous :

- modifier la surface de l'électrode par un groupement fonctionnel,
- modifier la terminaison des brins d'ODN sondes par un groupement fonctionnel.

Il est évidemment possible de combiner ces deux solutions.

Dans tous les cas il convient d'éviter les interactions entre la surface et les segments utiles des brins d'ODN ; pour cela on utilise un espaceur (Figure 9).

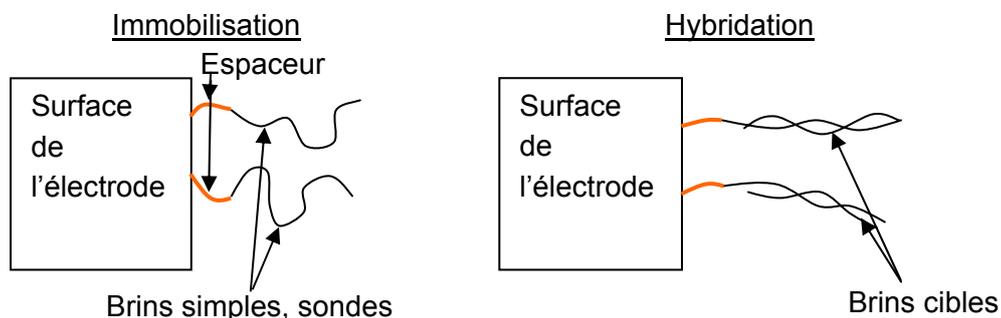


Figure 9 : schéma de l'immobilisation de brins sondes et de l'hybridation de brins cibles

3.1.1. Fonction acide

Les premières expériences remontent au début des années 90 par une fonctionnalisation directe de la surface de l'électrode par une chaîne carbonée terminée par un groupement acide. L'équipe de Millan⁷⁴ a simplement oxydé par voie électrochimique dans une solution acide des électrodes de carbone vitreux. Ces électrodes sont ensuite activées par des agents de couplage avant d'être exposées aux brins d'ADN sondes. Une autre méthode utilisée par Millan et Mikkelsen⁷⁵ est de modifier la surface de l'électrode par des acides stéariques.

Il est aussi envisageable d'opérer une fonctionnalisation indirecte en déposant des films inorganiques ou organiques sur la surface de l'électrode. Ces films sont ensuite modifiés par des groupements fonctionnels –COOH. Un exemple de fonctionnalisation indirecte par un film inorganique est le dépôt d'une couche de mercapto-silane sur une électrode de platine préalablement oxydée⁷⁶. Cette surface est ensuite activée par des fonctions carboxyle via l'acide iodoacétique. Les brins d'ODN modifiés par un groupement amine se fixent ensuite sur ces groupements carboxyles.

Un exemple de fonctionnalisation indirecte par un film organique est la polymérisation. Garnier a étudié du poly(3-acide acétique pyrrole-co-3-N-hydroxyphthalimide pyrrole)^{77,78}, film fonctionnalisé par un groupement acide modifié en un groupement ester plus labile sur des électrodes de platine. Lee⁷⁹ et son équipe ont synthétisé un nouveau monomère de terthiophène fonctionnalisé par un groupe carboxyle. L'équipe de Zhang⁸⁰ modifie son électrode d'argent par un acide thioglycolique avant d'immobiliser les brins d'ODN. Les brins d'ODN sondes, modifiés par un groupement amine, sont fixés sur ces polymères par liaison covalente avec les groupes carboxyles.

3.1.2. Fonction amine

Au lieu de modifier les brins d'ODN sondes par un groupement amine et de les fixer sur le support par réaction avec un groupement carboxyle, il est possible de modifier l'électrode directement par le groupement amine. Liu⁸¹ a montré qu'une telle modification directe permettait d'immobiliser correctement des brins d'ADN. Son protocole de préparation de l'électrode modifiée passe par une oxydation de la surface de carbone. La fonction acide est ensuite réduite en groupe hydroxyle par un hydrure mixte de lithium et d'aluminium. Puis la fonction amine est obtenue par exposition au 3-aminopropyltriéthoxysilane. L'immobilisation des brins d'ADN sur la fonction amine est réalisée via l'agent de couplage EDC.

Là encore l'utilisation d'un film organique ou inorganique intermédiaire est une solution intéressante. Par exemple l'équipe Pham⁸² utilise un film de polytyramine qui présente une grande densité en groupe amine. Les brins d'ODN sont modifiés par un groupement terminal 5'-phosphate afin de réaliser une liaison covalente de type phosphoramidate.

3.2. Les polymères conducteurs

3.2.1. Introduction sur les polymères conducteurs

La première synthèse d'un polymère conducteur remonte à 1862 où H. Lethby obtint accidentellement de la polyaniline par voie électrochimique. Au début du siècle dernier Green et Woodhead reprirent la synthèse de la polyaniline. Toutefois les propriétés conductrices de ce polymère n'ont pas été mises en évidence à cette époque.

La découverte du caractère conducteur de certains polymères remonte à 1961. Hatano⁸³ montre alors qu'un échantillon de polyacétylène possède une conductivité de 10^{-5} S.cm⁻¹. En 1977, Shirakawa, Mac Diarmid et Heeger⁸⁴ établissent que la conductivité d'un film de polyacétylène, exposé à des vapeurs d'halogène, est amplifiée jusqu'à atteindre des valeurs de l'ordre de 10^2 S.cm⁻¹. Ce phénomène peut s'expliquer par l'existence de transporteurs de charge dans le polymère. Il s'agit d'un dopage. Néanmoins la synthèse du polyacétylène n'est pas simple et sa conductivité diminue au contact de l'air. De nouveaux polymères ont été développés pour pallier ces difficultés comme le polypyrrole⁸⁵, la polyaniline⁸⁶ ou le polythiophène⁸⁶.

Les polymères conducteurs se scindent en deux catégories principales : les polymères conducteurs électroniques et les polymères conducteurs rédox. Pour les premiers, la conductivité est régie par la délocalisation des électrons dans la structure conjuguée du polymère. Pour les seconds, la conductivité est principalement due aux sauts d'électrons libres de sites rédox en sites redox. Les polymères conducteurs pour lesquels ces deux phénomènes interviennent sont des polymères conducteurs mixtes. Ces polymères conducteurs allient les propriétés des semi-conducteurs et les propriétés mécaniques des polymères classiques. Ils ont connu un essor considérable dans le domaine de l'électrochimie de par leurs nombreuses applications comme le stockage et la conversion d'énergie, l'électronique moléculaire ou les biocapteurs. L'intérêt d'un tel matériau pour les biocapteurs à ODN basés sur une détection électrochimique est sa facilité de mise en œuvre et le contrôle de l'épaisseur des films.

Si la littérature est riche en études sur les biocapteurs à enzymes à base de polymères conducteurs, elle l'est moins sur les biocapteurs à ODN. Notons que l'on retrouve couramment comme monomère de base le pyrrole puisqu'il a l'avantage d'être polymérisable en milieu aqueux au pH physiologique et qu'il est aisément fonctionnalisable.

3.2.2. Fonctionnalisation du polymère conducteur pour l'immobilisation d'ODN

Nous avons déjà abordé au paragraphe 3.1. la notion de fonctionnalisation indirecte de l'électrode par un polymère en utilisant des groupements chimiques réactifs précurseurs qui sont utilisables pour la fixation par liaison covalente de brins d'ODN. Dans ce cas précis de l'utilisation de polymère conducteur l'immobilisation des ODN peut être réalisée soit avant la polymérisation soit après la polymérisation.

○ **L'immobilisation des ODN précède la polymérisation**

Il s'agit de fixer un ODN sur un monomère puis de polymériser ce motif. Les premières études de fonctionnalisation d'un monomère ont été conduites par Livache⁸⁷ et al. qui a travaillé sur le pyrrole. Il modifie d'abord un 1-N-aminoethylpyrrole^{88,89} en pyrrole-phosphoramidite pour être en mesure d'obtenir liaison covalente attendue.

○ **L'immobilisation des ODN après la polymérisation**

A l'inverse il est possible de modifier un monomère afin d'obtenir un polymère fonctionnalisé par un groupement bien choisi. Les brins d'ODN sont ensuite immobilisés via ce groupement sur le polymère. Garnier⁷⁸ a tiré parti des propriétés du pyrrole et d'un précurseur de type « imide ». De même, Lee⁷⁹ dépose préalablement un 3-carboxyl-5,2-terthiophène dont le précurseur est le groupement carboxyle. Puis l'immobilisation des brins d'ODN s'est faite via une substitution amine/ N-hydroxyphthalimide. Le groupement prosthétique est un autre groupe qui permet la fixation des brins d'ODN sur un copolymère⁹⁰.

Les exemples cités (et la littérature en général) ne proposent presque exclusivement que des copolymères dont l'un des monomères seulement est fonctionnalisé. En effet, si l'encombrement stérique de ce groupe chimique réactif est non négligeable par rapport à celui du monomère, la polymérisation directe peut s'avérer problématique. La solution consiste à réaliser une copolymérisation avec le monomère non modifié.

Deux avantages en découlent et améliorent ainsi le rendement de l'étape d'hybridation. Le premier est que la surface contient un pourcentage de groupements fonctionnels maîtrisable. Cela conduit à espacer les sondes ODN greffées à la surface. La deuxième est qu'il est possible d'adjoindre une longue chaîne carbonée au monomère fonctionnalisé. Le copolymère ensuite obtenu permet de fixer les ODN sonde loin de la chaîne carbonée principale. Par exemple, récemment Peng⁹¹ a mis au point un copolymère à base de pyrrole : le poly(pyrrole-co-4-(3-pyrrolyl) acide butanoïque), dont la longue chaîne d'acide butanoïque a pour rôle d'éloigner les brins d'ODN sondes de la chaîne carbonée principale. Enfin Pivodori⁷³ a conclu que l'attachement des brins d'ODN par leurs terminaisons 5' et 3' augmente l'efficacité de l'hybridation.

Tenant compte de ces remarques comment détecter efficacement l'hybridation par voie électrochimique via un biocapteur modifié par un polymère conducteur ?

3.2.3. Un marqueur électrochimique : la quinone

Il est possible d'introduire un marqueur électrochimique pour améliorer la détection de l'hybridation comme nous l'avons montré au paragraphe 2.4.2. Un groupement rédox intéressant est le couple quinone/hydroquinone. La fonction quinone a été l'un des premiers groupes fonctionnels employé pour la préparation d'électrodes modifiées à base de polymères conducteurs⁹².

Cette fonction est toutefois peu stable en milieu aqueux. Des dérivés de la quinone plus performants ont été développés : en particulier des dérivés du 5-hydroxy-1,4-naphtoquinone

qui s'avèrent plus stables en milieu aqueux, avec une bonne électroactivité⁹³. L'instabilité électrochimique est ainsi résolue. Ensuite, Audebert⁹⁴ a élaboré des films conducteurs de polypyrrole contenant des groupes anthraquinone.

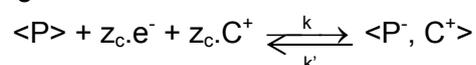
La recherche de polymère à base de groupements quinone pour la détection de l'hybridation a abouti à l'élaboration d'un copolymère conducteur à base de (5-hydroxy-1,4-naphtoquinone) au laboratoire ITODYS. Ce dernier, stable en milieu aqueux, s'est montré performant à la détection de l'hybridation en tant qu'indicateur redox^{95,96}.

4. Compréhension du phénomène d'hybridation

4.1. Méthodes voltammétriques

Comme nous l'avons souligné au paragraphe 2.4.2., l'une des méthodes de détection électrochimique couramment utilisée est la méthode voltammétrique. Grâce à la voltammétrie cyclique en particulier, Garnier a mis en exergue l'influence de l'hybridation sur le courant d'oxydation de son copolymère⁷⁸. Cette hybridation entraîne une diminution de l'intensité redox du copolymère, ce résultat a été confirmé depuis par d'autres équipes, sur d'autres systèmes à base de polymères conducteurs^{53,92}. Dans tous les cas, le niveau de détection reste faible. C'est pourquoi d'autres méthodes voltammétriques comme la SWV ont aussi été employées⁹⁹.

L'intérêt d'introduire le copolymère à base de 5-hydroxy-1,4-naphtoquinone est qu'il s'agit d'un copolymère échangeur de cations dont le mécanisme est rappelé ci-dessous



L'hybridation de brins d'ODN provoque un « signal on » qui facilite la détection de l'hybridation⁹⁷.

Néanmoins, si ces méthodes permettent de détecter un tant soit peu l'hybridation de brins d'ODN nous ne sommes pas encore en mesure d'expliquer le mécanisme de transduction s'opérant à l'interface film/électrolyte.

4.2. Spectroscopie d'impédance électrochimique couplée à l'électrogravimétrie

Les méthodes voltammétriques, ampérométriques ou chronopotentiométriques permettent d'étudier la cinétique d'une réaction redox à l'électrode. Or quelques paramètres tels les courants de charges de la double couche à l'interface électrode solution ou la chute ohmique viennent perturber ces mesures. Afin de différencier proprement la cinétique des réactions à l'électrode des effets annexes il est préférable d'utiliser une fonction d'excitation couvrant une large gamme de temps. La technique la plus courante assurant une telle fonction est la spectroscopie d'impédance électrochimique⁹⁸ (EIS).

La spectroscopie d'impédance électrochimique a des applications diverses, de l'étude de la corrosion à la porosité des peintures. L'étude des polymères conducteurs par la méthode d'EIS a été réalisée au laboratoire LISE⁹⁹. Son utilisation dans le domaine des capteurs à ADN est plus récente et les mesures de détection de l'hybridation d'ODN par spectroscopie d'impédance ont été introduites par Lawrence⁹² et al.. Ensuite, l'équipe de Brett¹⁰⁰ combine voltammétrie cyclique et EIS pour comprendre les interactions entre l'ADN et l'électrode. Enfin, l'étude en EIS de l'influence de l'hybridation de brins d'ADN utilisant un polymère conducteur revient à l'équipe Farace¹⁰¹.

L'EIS devient ensuite une technique plus courante pour l'étude de l'hybridation de l'ADN^{102,103}. Toutefois, cette méthode requiert la détermination, pas toujours évidente, d'un modèle à base de circuits équivalents permettant d'analyser les résultats obtenus. Le groupe Willner¹⁰⁴ lie l'immobilisation et l'hybridation de brins d'ADN aux paramètres d'EIS : la résistance de transfert de charge, la capacité de double couche, etc. Cependant ces mesures d'impédances sont souvent accompagnées d'une technique parallèle pour confirmer les résultats¹²⁴.

La spectroscopie d'impédance électrochimique est donc une méthode très intéressante pour comprendre les mécanismes électrochimiques induits par l'hybridation d'ADN sur une électrode. Cependant, elle ne permet pas d'identifier les espèces ioniques qui participent à ce mécanisme. Une méthode est le couplage de l'impédance électrochimique avec l'électrogravimétrie. Cette méthode mesure une fonction de transfert masse/potentiel via l'utilisation de la microbalance à quartz. La microbalance à quartz a déjà été couplée à plusieurs méthodes électrochimiques comme la voltammétrie cyclique^{105,106} ou l'impédance électrochimique¹⁰⁷ pour détecter l'hybridation. L'équipe de Lassale¹⁰⁸ a vérifié en parallèle par spectroscopie de fluorescence que la variation de masse mesurée était bien due à l'hybridation.

Le couplage de l'impédance avec l'électrogravimétrie est une technique puissante qui permet de dissocier la participation des anions de celui des cations lors du processus de compensation de charge d'un polymère conducteur. Des études ont déjà été menées avec succès sur des polymères tels le polypyrrole¹⁰⁹, la polyaniline¹¹⁰ ou le bleu de prusse¹¹¹. Cette technique est présentée plus avant aux Chapitres II et III.

A notre connaissance, l'électrogravimétrie n'a encore jamais été employée comme méthode d'étude de l'hybridation d'ODN.

5. Conclusion

Ce chapitre nous a permis de présenter les techniques de détection de l'hybridation de l'ADN ainsi que le développement de biocapteurs à base de polymère conducteur comme couche sensible. L'utilisation d'un polymère conducteur fonctionnalisé par un groupement quinone a déjà démontré sa bonne électroactivité et sa bonne stabilité en milieu aqueux.

Les méthodes de détection électrochimique sont rapides, d'une manipulation relativement simple et d'une bonne sensibilité. Le couplage de la microbalance à quartz avec une de ces méthodes, la spectroscopie d'impédance électrochimique est déjà un premier pas vers la compréhension des phénomènes à l'interface film polymère/solution et film polymère/ODN après hybridation.

Toutefois les mécanismes liés à l'hybridation restent encore peu connus. L'utilisation d'une nouvelle méthode, l'électrogravimétrie, nous permet d'envisager une étude des mécanismes de transduction lors de l'hybridation sur un biocapteur à base de polymère conducteur fonctionnalisé.

Chapitre II – Partie théorique

1. L'impédance électrochimique

Les réactions électrochimiques peu complexes sont généralement étudiées par des méthodes classiques de balayage en potentiel, d'échelon de potentiel ou de courant. Dans de tels cas, la mesure de la réponse d'un système électrochimique est faite alors qu'il est fortement écarté de son état d'équilibre¹¹².

Les réactions électrochimiques plus complexes sont composées d'une succession d'étapes élémentaires de cinétiques différentes. Or pour mieux comprendre la réponse globale d'un système électrochimique il est intéressant de caractériser chacune de ces réactions. Si les techniques classiques permettent difficilement de distinguer ces étapes élémentaires les unes des autres, l'impédance électrochimique nous donnera des informations nécessaires dans ce sens¹¹³.

Le principe de base de l'impédance électrochimique est d'appliquer au système un potentiel stationnaire auquel s'ajoute une perturbation sinusoïdale de faible amplitude et d'une fréquence de modulation donnée. Le système électrochimique est alors dans un état stationnaire et cette perturbation de faible niveau doit permettre de séparer les différentes réactions ayant des cinétiques différentes.

Nous allons donc expliciter le principe de la mesure d'impédance électrochimique que nous avons utilisée pour caractériser nos films de polymère conducteur.

1.1. Définitions

La plupart des systèmes électrochimiques ont généralement une courbe courant-tension caractéristique non linéaire. Néanmoins en ne travaillant que sur une portion de cette courbe, nous pouvons considérer que nous avons une relation linéaire entre ces deux grandeurs (Figure 10). De ce fait, en appliquant au système une perturbation sinusoïdale de faible amplitude ΔE autour d'un potentiel stationnaire E_c , la réponse en courant sera elle aussi sinusoïdale, de faible amplitude ΔI , autour d'une valeur stationnaire I_c .

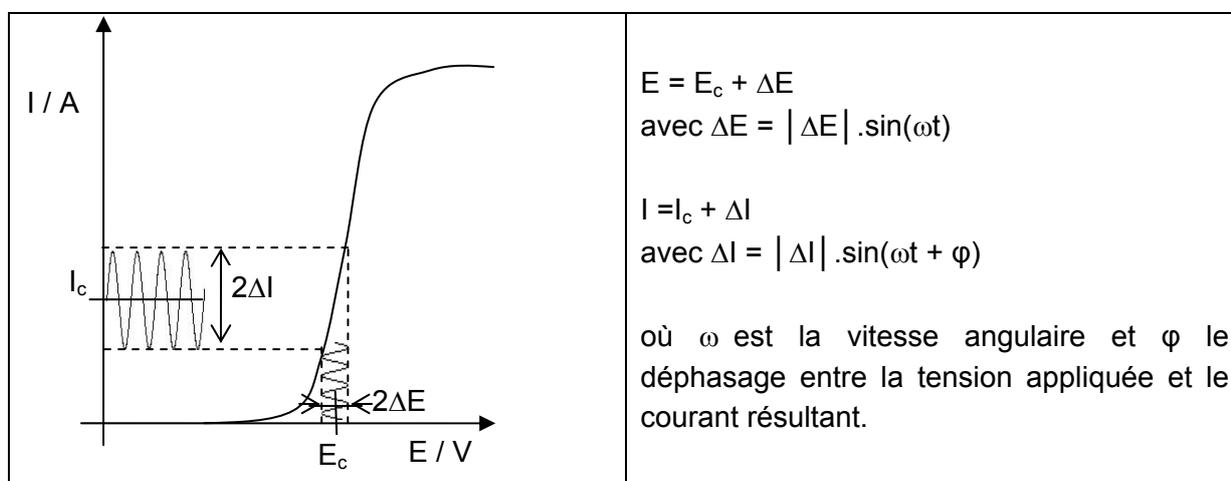


Figure 10 : réponse linéaire en courant à une perturbation sinusoïdale en potentiel de faible amplitude autour d'une valeur stationnaire E_c .

Par définition pour un système linéaire, il existe une relation linéaire entre ΔE et ΔI . Nous pouvons alors introduire la fonction de transfert $\frac{\Delta E}{\Delta I}(\omega)$ appelée impédance électrochimique, où $\omega = 2 \cdot \pi \cdot f$ est la pulsation.

Les notations classiques dans le domaine complexe de l'impédance électrochimique, notée $Z(\omega)$, sont :

$$Z(\omega) = |Z| \cdot e^{-j\varphi} = \frac{\Delta E}{\Delta I}(\omega) = \frac{|\Delta E|}{|\Delta I|} \cdot e^{-j\varphi} \quad (1)$$

ou

$$Z(\omega) = \text{Re}(Z) + j \cdot \text{Im}(Z) \quad (2)$$

où

- $|Z|$ est le module, rapport des amplitudes ΔE et ΔI ; j le nombre complexe (tel que $j^2 = -1$) ; φ est la phase, représentatif du déphasage entre ΔE et ΔI .
- $\text{Re}(Z)$ et $\text{Im}(Z)$ les parties réelles et imaginaires de $Z(\omega)$.

1.2. Représentation graphique

Pour interpréter la réponse du système électrochimique à une perturbation sinusoïdale en tension il est intéressant de représenter la fonction de transfert $Z(\omega)$ dans un diagramme particulier. En électrochimie il est d'usage de faire cette représentation soit dans le plan de Nyquist soit dans le diagramme de Bode.

1.2.1. Diagramme de Nyquist

La représentation usuelle en coordonnées cartésiennes se fait dans le plan de Nyquist ou plan complexe. Ce diagramme représente, dans le plan complexe, $-\text{Im}(Z)$ en fonction de $\text{Re}(Z)$. Un exemple est proposé figure 11.

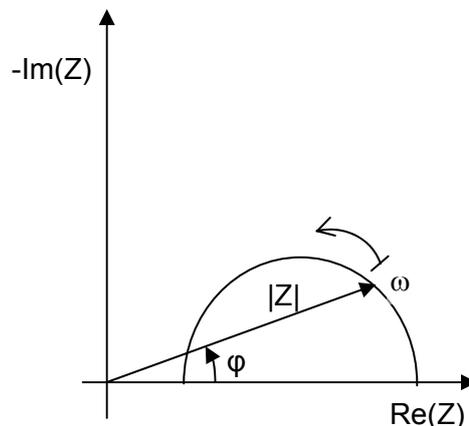


Figure 11 : représentation de l'impédance électrochimique dans le plan de Nyquist.

1.2.2. Diagramme de Bode

La représentation usuelle en coordonnées polaires se fait dans le diagramme dit de Bode. Il s'agit de la représentation séparée du module et de la phase en fonction de $\log(f)$, $f = \frac{\omega}{2 \cdot \pi}$ (Figure 12).

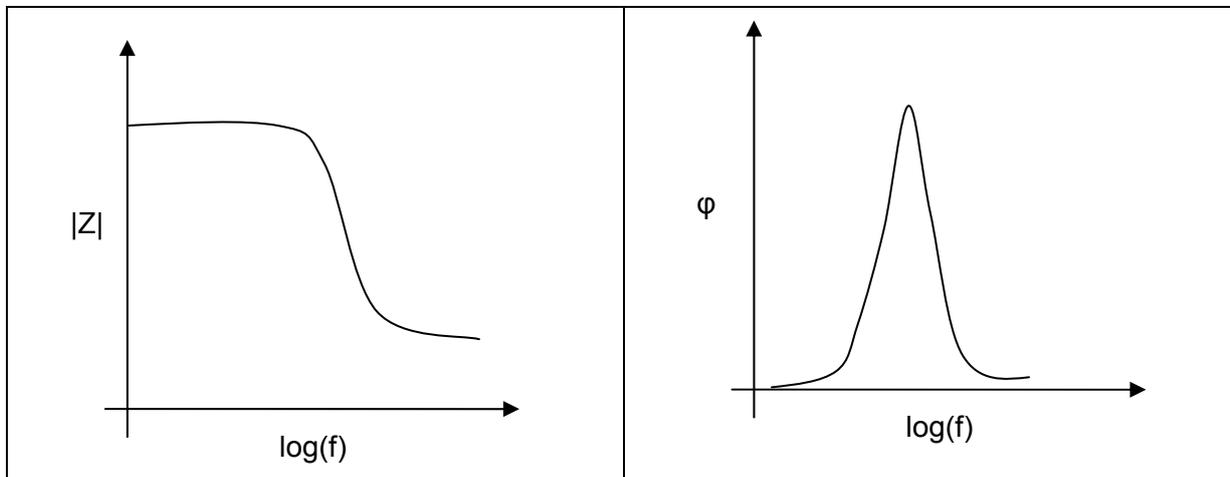


Figure 12 : représentation de l'impédance électrochimique dans le diagramme de Bode.

1.3. Circuit équivalent d'une cellule électrochimique

Lors de l'application d'une perturbation en potentiel, sinusoïdale et de faible amplitude, à une cellule électrochimique le courant total mesuré est la somme du courant faradique, noté i_f , et du courant de double couche électrique, noté i_d . Le processus faradique est le transfert d'électrons à l'interface électrode de travail/électrolyte. La double couche caractérise la charge électrique à l'interface.

En termes d'impédance électrochimique, le processus faradique correspond à une impédance Z_f et la capacité de double couche correspond à une capacité C_d . Il est donc possible de modéliser une cellule électrochimique par un circuit équivalent en introduisant également la résistance de l'électrolyte, notée R_{el} . Une cellule électrochimique est généralement modélisée comme proposé à la figure 13.

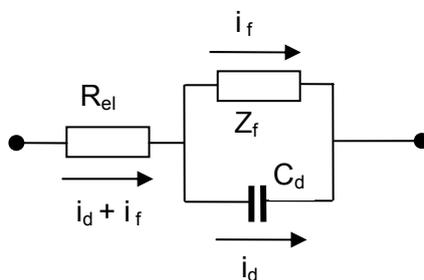


Figure 13 : circuit électrique équivalent d'une cellule électrochimique.

Afin de déterminer l'impédance électrochimique du circuit équivalent d'une cellule électrochimique, rappelons brièvement les valeurs d'impédance pour une résistance pure et un condensateur (Tableau 3).

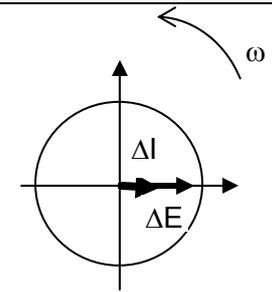
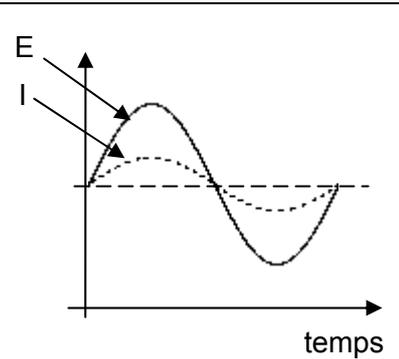
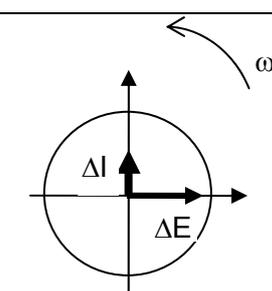
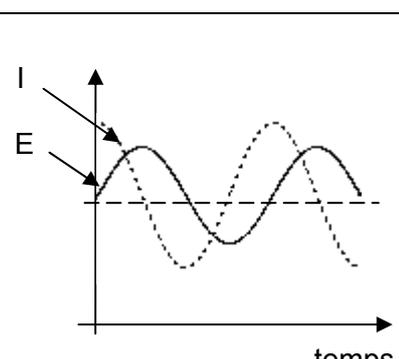
Elément	Notation vectorielle	Représentation temporelle	Impédance
Résistance			$Z_R = R$
Condensateur			$Z_C = \frac{1}{jC\omega}$

Tableau 3 : tableau récapitulatif des impédances de circuits élémentaires.

L'impédance électrochimique du circuit équivalent présenté figure 13 est alors :

$$Z(\omega) = R_{el} + \frac{1}{\frac{1}{Z_f} + jC_d\omega} \quad (3)$$

L'allure de la courbe représentative de cette impédance électrochimique dans le plan de Nyquist peut être définie par une étude aux limites. La limite hautes fréquences donne la valeur de R_{el} alors que la limite basses fréquences correspond à $R_{el} + Z_f$ (figure 14). R_{el} est la résistance de l'électrolyte. Dans notre cas particulier de l'étude d'un polymère conducteur, $Re(Z_f)$ est la résistance de transfert ionique, notée R_t par la suite.

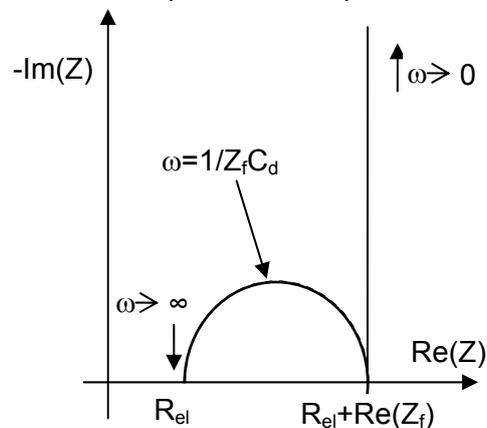


Figure 14 : représentation de l'impédance d'une cellule électrochimique dans le plan de Nyquist.

L'intérêt de la mesure de l'impédance électrochimique est d'expliquer le comportement du système électrochimique en terme cinétique et ainsi d'élucider les mécanismes réactionnels.

Si ce modèle permet d'appréhender le caractère résistif ou capacitif du système électrochimique il ne permet pas d'en déduire le réel flux de matière qui existe à l'interface électrode de travail / électrolyte. Nous allons pour cela étudier une nouvelle fonction, la fonction de transfert électrogravimétrique. Il s'agit de mesurer les variations de masse du système en fonction du potentiel imposé. La mesure de cette fonction de transfert nécessitant l'utilisation d'une microbalance à quartz, nous allons d'abord rappeler le principe de la microbalance à quartz.

2. Microbalance à quartz

La microbalance à quartz est un transducteur piézoélectrique utilisé communément en électrochimie.

2.1. Rappels sur la piézoélectricité

La piézoélectricité est la propriété que possèdent certains matériaux de se polariser sous l'action d'une force mécanique, et réciproquement de se déformer si on applique un champ électrique¹¹⁴. Parmi les composants piézoélectriques existants à l'état naturel, le quartz est celui qui est le plus couramment employé. C'est un cristal de silice (SiO_2) que l'on peut trouver dans la nature mais qui est désormais facilement synthétisé dans l'industrie.

Ce cristal est de structure hexagonale acentrique. On appelle axe Z, ou axe optique, l'axe de symétrie d'ordre 3, parallèle à la longueur du quartz : aucune propriété piézo-électrique ne lui est associée. L'axe X (électrique) et l'axe Y (mécanique) sont dans un plan perpendiculaire à Z. Par rapport à ces axes, on définit des "coupes" utilisées pour les applications principalement électroniques du quartz, qui sont baptisés (X, Y, NT, AT,...)¹¹⁵ (Figure 15). La coupe AT orientée de $35^\circ 12'$ par rapport à l'axe Z est celle que nous utiliserons pour notre microbalance. Le choix de la coupe du résonateur à quartz et le positionnement des électrodes vont définir le mode de propagation de l'onde ultrasonore. Les dimensions du cristal et des électrodes déterminent la fréquence de résonance du quartz.

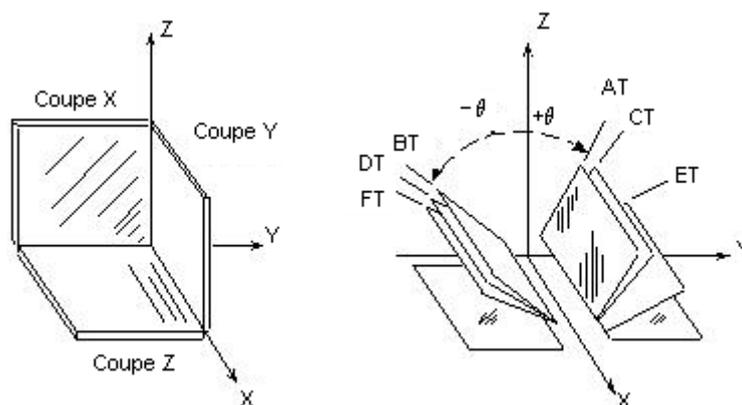


Figure 15 : coupes usuelles du cristal de quartz.

Dans notre cas, le cristal se présente sous la forme d'un disque de diamètre 14 mm. Ce disque vibre en cisaillement d'épaisseur lorsqu'il est sollicité par une tension alternative (Figure 16).

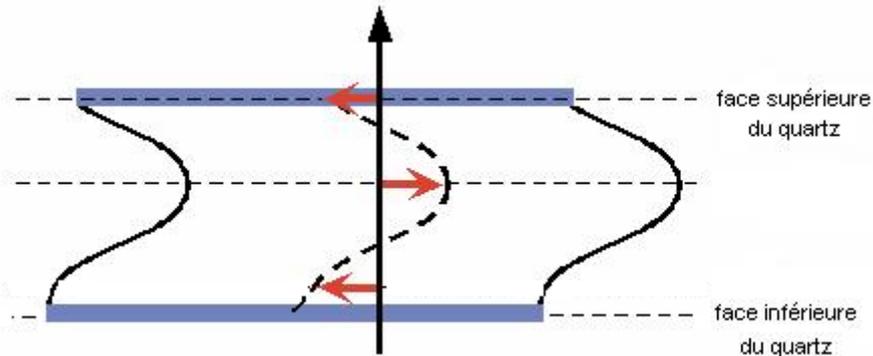


Figure 16 : vibration d'un disque en cisaillement d'épaisseur – vue en coupe.

Sur chacune des faces une électrode d'or circulaire (5 mm de diamètre prolongée par une bande ou « patte » pour faciliter la connexion) a été déposée par évaporation sous vide. L'établissement d'un champ électrique entre elles conduit à l'excitation du cristal de quartz. D'un point de vue pratique, une couche de chrome est intercalée entre l'électrode d'or et le quartz du fait de la faible adhésion de l'or sur cette surface. L'effet piézoélectrique ne peut avoir lieu que dans la zone définie par les deux électrodes d'or en vis-à-vis : c'est la zone active. La figure 17 schématise un disque de quartz avec ses électrodes d'or, vu de face et en coupe. La flèche désigne la partie active circulaire des électrodes. La seconde flèche, à embout circulaire, désigne la patte des électrodes, utile à la réalisation des connexions.

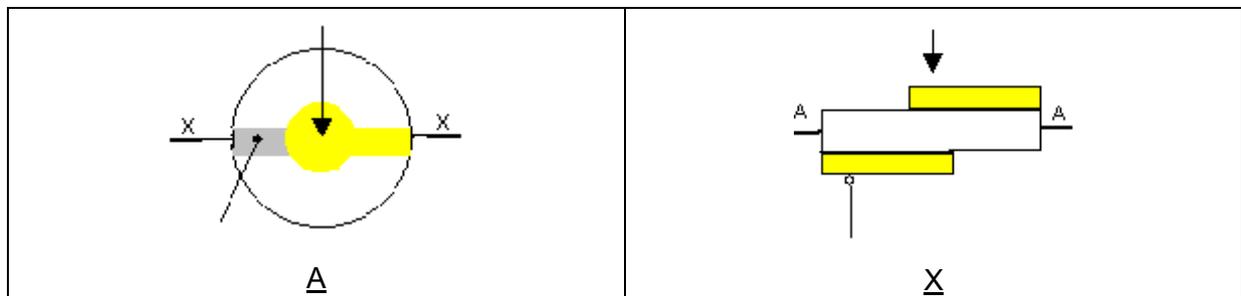


Figure 17 : Disque de quartz de face (A) et en coupe (X) portant les deux électrodes d'or.

2.2. La microbalance à quartz

Nous avons défini le transducteur au chapitre I comme étant un élément capable de convertir une interaction à l'interface électrode/électrolyte en un signal électrique. D'après la définition de la piézoélectricité, le quartz peut être utilisé pour réaliser un transducteur. En effet, le quartz est capable de convertir une contrainte mécanique en signal électrique. Ces transducteurs piézoélectriques, communément appelés microbalances à quartz, servent en électrochimie pour l'étude des interfaces.

2.2.1. Equation de Sauerbrey

La microbalance à quartz est donc composée d'un quartz inséré dans un circuit électronique. Ce circuit électronique délivre un signal stable dans le temps en se calant sur la fréquence de résonance du quartz. L'ensemble est appelé un oscillateur. Toute perturbation à la surface du quartz fait varier la fréquence d'oscillation, grandeur que nous mesurons.

Avec l'hypothèse que le matériau déposé à la surface du quartz est purement élastique et de faible épaisseur, Sauerbrey¹¹⁶ a établi une relation entre la variation de masse et celle de la fréquence d'oscillation :

$$\Delta f_m = -k_{th}^s \times \Delta m = -\left(\frac{2 \times f_0^2}{S \times n \times \sqrt{\mu \times \rho}} \right) \times \Delta m \quad (4)$$

où Δf_m est la variation de fréquence de la microbalance (Hz), S est la surface des électrodes métalliques déposées sur le quartz (cm²), ρ est la densité du quartz (2,648 g.cm⁻³), μ est le module de cisaillement du quartz (2,947 10⁺¹¹ g.s⁻².cm⁻¹), n est le numéro de l'harmonique et f_0 est la fréquence de la microbalance dans l'air. k_{th}^s est la sensibilité théorique de la microbalance. Par exemple, avec une microbalance opérant à 9 MHz, k_{th}^s vaut 16,7 10⁺⁷ Hz.g⁻¹.cm⁺²; soit pour une variation de 1 Hz, une variation de masse de 1 ng pour 0,2 cm² de surface active. La sensibilité k_{th}^s de la microbalance n'est une constante que dans le domaine de validité de l'équation (4) i.e. pour une faible épaisseur de matériau non visqueux déposé à la surface du quartz¹¹⁷. La calibration de la microbalance par l'électrodéposition galvanostatique de cuivre sur l'électrode du quartz donne une valeur de la sensibilité de la microbalance de 16,47 10⁺⁷ Hz.g⁻¹.cm⁺² pour un courant imposé de 0,5 mA¹¹⁸, ce qui est en parfait accord avec la théorie.

2.2.2. Limites de l'équation de Sauerbrey

o Influence de la solution

En électrochimie, les études sont réalisées en solution. Une mesure de variation de masse en milieu liquide est différente d'une mesure réalisée dans l'air¹¹⁹ (Chapitre I - §2.4.3.). En effet, la microbalance utilisée en milieu liquide est sensible à la viscosité et la densité de la solution. De nouveaux modèles ont été proposés pour s'adapter à l'électrolyte^{120,121}.

o Influence de la viscoélasticité du film

Les matériaux déposés à la surface des électrodes du quartz peuvent être de différentes rigidités. Par exemple, le dépôt d'un film de type polymère est un matériau dont la viscosité n'est pas négligeable : en réponse à des sollicitations extérieures, ces polymères ont un comportement intermédiaire entre un solide purement élastique et un liquide visqueux¹²². C'est pour cette raison que nous parlons de viscoélasticité. L'étude de la réponse du quartz par des mesures électroacoustiques permet de caractériser le film déposé à la surface de l'électrode^{123,124}. Différents modèles ont alors été établis : d'une part les modèles basés sur

des circuits électriques équivalents¹²⁵ et d'autre part, ceux basés sur les propriétés mécaniques des couches¹²⁶. Dans ce travail et afin de limiter les effets viscoélastiques les films électrogénérés auront une épaisseur sub-micronique et seront donc considérés comme acoustiquement fins : l'équation de Sauerbrey sera valide et la microbalance opérera dans le régime gravimétrique.

3. L'électrogravimétrie

La fonction de transfert électrogravimétrique se définit comme le rapport entre une variation de masse Δm sur une variation de potentiel ΔE . La mesure de la variation de masse Δm est réalisée grâce à la microbalance à quartz utilisée en régime dynamique.

3.1. Modélisation dans le cas d'un film électroactif

Notre système est composé d'une électrode d'or, déposée sur le quartz, modifiée par un polymère conducteur. Le polymère relatif à notre étude sera présenté plus avant au chapitre IV et est nommé poly(JUG-co-JUGA).

Pour étudier le comportement d'un polymère conducteur par la méthode d'électrogravimétrie, nous nous appuyons sur le modèle¹²⁷ développé au laboratoire LISE. La structure d'une telle électrode modifiée est schématisée figure 18. Notons d l'épaisseur du polymère conducteur à la surface de l'électrode et J_i le flux des espèces i . Par convention le flux J_i des espèces i est positif pour les ions expulsés.

$$J_i > 0 \text{ pour } x > 0 \quad (5)$$

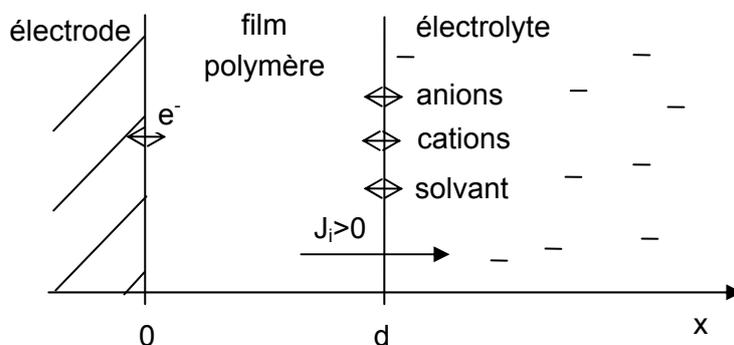
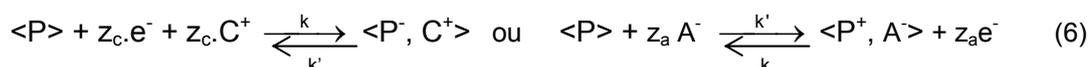


Figure 18 : Géométrie d'une électrode modifiée par un polymère conducteur.

L'interface électrode/film polymère est le lieu d'échanges électroniques alors que l'interface film polymère/électrolyte est le lieu d'échanges ioniques.

Le polymère conducteur poly(JUG-co-JUGA) utilisé dans cette étude est un polymère conducteur échangeur de cations fonctionnalisé avec un élément chimique rédox, la quinone. Suivant le potentiel appliqué à l'électrode deux mécanismes sont envisageables : l'oxydation ou la réduction de ce polymère échangeur de cations (6).



où P est le polymère hôte, $\langle P^-, C^+ \rangle$ et $\langle P^+, A^- \rangle$ les cations et anions insérés respectivement. Le transport d'électrons le long de la chaîne carbonée du polymère entraîne un flux de contre-ions présents dans l'électrolyte pour préserver l'électroneutralité du film. D'autre part la quinone, qui a un rôle de transducteur, est oxydée ou réduite.

Nous supposons que le transport des espèces en solution ainsi que dans le film est rapide et n'est pas une étape limitante dans les échanges. D'après les lois de la cinétique hétérogène et les réactions (6), le flux J_i des espèces cationiques et anioniques – a étant l'anion et c le cation – est :

$$J_a(d) = -d \frac{dC_a}{dt} = k_a (C_a - C_{a\min}) - k'_a (C_{a\max} - C_a) C_{\text{isol}} \quad (7)$$

$$J_c(d) = -d \frac{dC_c}{dt} = k'_c (C_c - C_{c\min}) - k_c (C_{c\max} - C_c) C_{\text{isol}} \quad (8)$$

où

- C_i est la concentration de l'espèce i dans le film, C_{isol} la concentration de la solution avec l'hypothèse que le diffusion des ions en solution ne limite pas la cinétique ;
- le terme $[C_{i\max} - C_i]$ est la concentration en sites disponibles pour l'espèce i à l'instant t, avec $C_{i\max}$ la concentration maximum de sites disponibles dans le polymère à l'insertion de espèce i ;
- le terme $[C_i - C_{i\min}]$ est la concentration de l'espèce i au sein du polymère à l'instant t, avec $C_{i\min}$ la concentration minimum de l'espèce i qui s'insère dans le polymère.

Enfin les constantes cinétiques dépendent du potentiel et sont données par les équations suivantes :

$$k'_i = k'_{i0} e^{[b_i(E-E_i^\circ)]} \quad (9)$$

$$k_i = k_{i0} e^{[b_i(E-E_i^\circ)]} \quad (10)$$

où E est le potentiel, E_i° le potentiel normal apparent, $(E - E_i^\circ)$ la surtension. k_{i0} , k'_{i0} , b_{i0} et b'_{i0} sont des constantes.

3.1.1. Conditions aux limites

En considérant que notre électrolyte ne contient qu'un type d'anion et un type de cation, nous avons dans le cas particulier de l'interface film polymère/électrolyte ($x = d$) l'expression de la densité de courant j_F suivante d'après la loi de Faraday :

$$-J_a(d) + J_c(d) = \frac{j_F}{F} \quad (11)$$

avec F, constante de Faraday.

Par contre à l'interface électrode/film polymère ($x = 0$), siège d'échanges uniquement électroniques, les flux d'espèces ioniques sont nuls :

$$J_a = J_d = J_s = 0 \quad (12)$$

Déterminons maintenant les lois d'insertion à l'état stationnaire et dynamique.

3.1.2. Etat stationnaire

En régime stationnaire, le système est à l'équilibre et le flux J_i est nul. Des équations (7), (8), (9) et (10) nous tirons la loi d'insertion à l'état stationnaire.

$$C_i(E) = \frac{C_{imax} e^{[(b'_i - b_i)(E - E_i^0 - E_i)]} + C_{imin}}{1 + e^{[(b'_i - b_i)(E - E_i^0 - E_i)]}} \quad (13)$$

en définissant E_i tel que $C_{isol} \cdot \frac{k'_{i0}}{k_{i0}} = e^{-(b_i - b'_i)E_i}$.

En dérivant la relation (13) nous obtenons :

$$\frac{dC_i(E)}{dE} = \frac{b_i - b'_i}{4} \frac{C_{imax} - C_{imin}}{\cosh^2 \left[\frac{(b_i - b'_i)(E - E_i^0 - E_i)}{2} \right]} \quad (14)$$

3.1.3. Régime dynamique

Nous appliquons maintenant une perturbation sinusoïdale de faible amplitude ΔE qui écarte le système de ses conditions d'équilibre. L'état stationnaire est donc rompu. Cette perturbation provoque l'apparition d'un flux sinusoïdal ΔJ des espèces et une variation des concentrations ΔC_i , également sinusoïdale.

Puisque le régime est linéaire, nous avons d'une part :

$$\Delta J_i = -d \frac{dC_i}{dt} = -j\omega \cdot d \cdot \Delta C_i \quad (15)$$

D'autre part, l'expression de la vitesse d'insertion/expulsion globale ΔJ_i , fonction de la concentration et de la perturbation en potentiel, à l'interface polymère/électrolyte ($x = d$) est :

$$\Delta J_i = \left(\frac{\partial J_i}{\partial C_i} \right)_E \Delta C_i + \left(\frac{\partial J_i}{\partial E} \right)_{C_i} \Delta E = K_i \Delta C_i(d) + G_i \Delta E \quad (16)$$

Notons K_i la différentielle de J_i par rapport à C_i ((17) – (18)) et G_i celle par rapport à E ((19) – (20)). Pour les anions et cations nous avons donc :

$$K_a = \left(\frac{\partial J_a}{\partial C_a} \right)_E = k_a + k'_a C_{a_{sol}} \quad (17)$$

$$K_c = \left(\frac{\partial J_c}{\partial C_c} \right)_E = k'_c + k_c C_{c_{sol}} \quad (18)$$

$$G_a = \left(\frac{\partial J_a}{\partial E} \right)_{C_a} = \left[b_a k_a (C_a - C_{a_{min}}) - b'_a k'_a (C_{a_{max}} - C_a) C_{a_{sol}} \right] \quad (19)$$

$$G_c = \left(\frac{\partial J_c}{\partial E} \right)_{C_c} = \left[b'_c k'_c (C_c - C_{c_{\min}}) - b_c k_c (C_{c_{\max}} - C_c) C_{c_{\text{sol}}} \right] \quad (20)$$

K_i qui traduit la cinétique globale de l'insertion et expulsion des espèces; G_i qui traduit la thermodynamique de ces espèces à l'interface (où i est le cation c , l'anion a ou le solvant s).

3.1.4. Calcul des fonctions de transfert $\frac{\Delta m}{\Delta E}(\omega)$, $\frac{\Delta E}{\Delta I}(\omega)$,

$$\frac{\Delta q}{\Delta E}(\omega), \frac{\Delta m_{cs}}{\Delta E}(\omega), \frac{\Delta m_{as}}{\Delta E}(\omega)$$

○ Fonction de transfert électrogravimétrique $\frac{\Delta m}{\Delta E}(\omega)$

Nous obtenons cette fonction de transfert expérimentalement (cf. Chapitre III). Déterminons son expression théorique.

La perturbation sinusoïdale ΔE entraîne une compensation de charges au sein du polymère : des espèces entrent et sortent au gré du signal ΔE . Physiquement, cela correspond à une variation de masse du polymère qui peut se traduire par :

$$\Delta m = m_c \Delta \xi_c + m_a \Delta \xi_a + m_s \Delta \xi_s \quad (21)$$

où $\Delta \xi_i$ est le nombre de moles de l'espèce i échangé par unité de surface.

Or, la relation entre la variation de concentration ΔC_i et le nombre de moles $\Delta \xi_i$ est :

$$\Delta C_i = \frac{\Delta \xi_i}{d} \quad (22)$$

En remplaçant $\Delta \xi_i$ par son expression en fonction de ΔC_i dans l'équation (21) et en divisant par ΔE , on obtient :

$$\frac{\Delta m}{\Delta E}(\omega) = d \cdot \left[m_c \frac{\Delta C_c}{\Delta E} + m_a \frac{\Delta C_a}{\Delta E} + m_s \frac{\Delta C_s}{\Delta E} \right] \quad (23)$$

De plus, l'équation (16) relative à la loi d'insertion s'écrit aussi sous la forme :

$$\frac{\Delta C_i}{\Delta E}(\omega) = \frac{-G_i}{j\omega d + K_i} \quad (24)$$

ce qui permet d'arriver à l'expression finale de la fonction de transfert électrogravimétrique

$\frac{\Delta m}{\Delta E}(\omega)$:

$$\boxed{\frac{\Delta m}{\Delta E}(\omega) = -d \left(m_c \frac{G_c}{j\omega d + K_c} + m_a \frac{G_a}{j\omega d + K_a} + m_s \frac{G_s}{j\omega d + K_s} \right)} \quad (25)$$

○ **Impédance électrochimique** $\frac{\Delta E}{\Delta I}(\omega)$

En parallèle, nous pouvons aussi en déduire l'expression de l'impédance électrochimique. En effet, la perturbation ΔE entraîne une variation de charge dans le film en considérant que l'anion a et le cation c interviennent lors du processus de compensation de charge. Cette variation de charge s'exprime par :

$$\Delta q = F\Delta\xi_a - F\Delta\xi_c \quad (26)$$

En outre, la densité de courant faradique I_F est telle que $\Delta I_F = j\omega\Delta q$. En utilisant la relation (22) et en divisant par ΔE on obtient :

$$\frac{\Delta I_F}{\Delta E}(\omega) = j\omega \cdot F \cdot d \cdot \left(-\frac{\Delta C_c}{\Delta E} + \frac{\Delta C_a}{\Delta E} \right) \quad (27)$$

La relation (24) permet d'en déduire l'expression théorique de la fonction de transfert électrochimique sachant que $i = i_f + i_d$ où i_d est l'intensité de la double couche.

$$\boxed{\frac{\Delta E}{\Delta I}(\omega) = \frac{1}{j\omega C_d + j\omega d F \left[\frac{G_c}{j\omega d + K_c} - \frac{G_a}{j\omega d + K_a} \right]}} \quad (28)$$

Par ailleurs, la réponse en impédance de certains systèmes électrochimiques est perturbée aux basses fréquences par une réaction parallèle. Dans ce cas, il faut tenir compte de cette réaction en introduisant un terme supplémentaire dans la modélisation :

$$\frac{\Delta E}{\Delta I}(\omega) = \frac{1}{j\omega C_d + j\omega d F \left[\frac{G_c}{j\omega d + K_c} - \frac{G_a}{j\omega d + K_a} + \frac{k}{j\omega d F} \right]} \quad (29)$$

○ **Fonction de transfert** $\frac{\Delta q}{\Delta E}(\omega)$ et $\frac{\Delta m}{\Delta q}(\omega)$

Il peut s'avérer intéressant d'estimer théoriquement les fonctions de transfert $\frac{\Delta q}{\Delta E}(\omega)$ et $\frac{\Delta m}{\Delta q}(\omega)$ afin de dissocier par la suite le rôle des cations de celui des anions en réponse à la perturbation ΔE .

Pour la première, comme $\Delta I_F = j\omega\Delta q$, on a :

$$\frac{\Delta q}{\Delta E}(\omega) = \frac{1}{j\omega} \frac{\Delta I_F}{\Delta E} \quad (30)$$

soit, en remplaçant par l'équation (27)

$$\boxed{\frac{\Delta q}{\Delta E}(\omega) = dF \left[\frac{G_c}{j\omega d + K_c} - \frac{G_a}{j\omega d + K_a} \right]} \quad (31)$$

Pour la seconde, la fonction de transfert masse/charge, nous avons :

$$\frac{\Delta m}{\Delta q}(\omega) = j\omega \frac{\Delta E}{\Delta I_F} \frac{\Delta m}{\Delta E} = \frac{-\left(m_c \frac{G_c}{j\omega d + K_c} + m_a \frac{G_a}{j\omega d + K_a} + m_s \frac{G_s}{j\omega d + K_s}\right)}{F \left[\frac{G_c}{j\omega d + K_c} - \frac{G_a}{j\omega d + K_a}\right]} \quad (32)$$

- **Fonctions de transfert électrogravimétrique partielles** $\frac{\Delta m_{cs}}{\Delta E}(\omega)$ et $\frac{\Delta m_{as}}{\Delta E}(\omega)$

Expérimentalement il existe trois type d'espèces dans l'électrolyte (l'anion, le cation et le solvant) et nous mesurons deux grandeurs : $\frac{\Delta E}{\Delta I}(\omega)$ et $\frac{\Delta m}{\Delta E}(\omega)$. Mathématiquement, nous ne disposons donc que de deux équations, pour trois inconnues. Ainsi pour résoudre ce système d'équations il est nécessaire d'introduire des fonctions de transfert supplémentaires. Nous introduisons donc maintenant les fonctions dites fonctions de transfert partielles. Nous pourrions alors déterminer le rôle de chacune de ces trois espèces en solution dans le processus de compensation de charge du polymère.

A partir de la fonction de transfert électrogravimétrique proposée en équation (25) il est possible d'éliminer la contribution d'une des espèces : l'anion ou le cation.

Dans le cas du cation, nous avons :

$$\frac{\Delta m_{cs}}{\Delta E}(\omega) = \frac{\Delta m}{\Delta E} - \frac{m_a}{F} \frac{\Delta q}{\Delta E} \quad (33)$$

En remplaçant $\frac{\Delta m}{\Delta E}(\omega)$ et $\frac{\Delta q}{\Delta E}(\omega)$ par leurs expressions respectives (éq. (25), (31)) la fonction de transfert électrogravimétrique est égale à :

$$\frac{\Delta m_{cs}}{\Delta E}(\omega) = -d \left[(m_c + m_a) \frac{G_c}{j\omega d + K_c} + m_s \frac{G_s}{j\omega d + K_s} \right] \quad (34)$$

Dans la cas de l'anion, en procédant de manière analogue nous avons :

$$\frac{\Delta m_{as}}{\Delta E}(\omega) = \frac{\Delta m}{\Delta E} + \frac{m_c}{F} \frac{\Delta q}{\Delta E} \quad (35)$$

c'est-à-dire :

$$\frac{\Delta m_{as}}{\Delta E}(\omega) = -d \left[(m_c + m_a) \frac{G_a}{j\omega d + K_a} + m_s \frac{G_s}{j\omega d + K_s} \right] \quad (36)$$

A partir de ces deux de fonctions de transfert partielles $\frac{\Delta m_{cs}}{\Delta E}(\omega)$ et $\frac{\Delta m_{as}}{\Delta E}(\omega)$ nous sommes en mesure de déterminer la nature des espèces ioniques impliquées dans le processus de compensation de charge du polymère conducteur. Nous allons présenter

maintenant quelques diagrammes typiques des fonctions de transfert citées dans le paragraphe précédent.

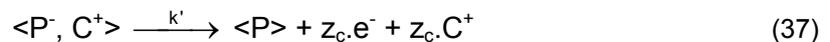
3.2. Diagrammes théoriques

Il s'agit ici de donner l'allure des diagrammes correspondant aux diverses fonctions de transfert présentées au paragraphe (3.1.). Nous commençons par le cas simplifié d'une seule espèce ionique impliquée dans le processus de compensation de charge, avant d'aborder un cas plus complexe, mais plus proche de la réalité, de trois espèces impliquées.

3.2.1. Cas de la participation d'une seule espèce

En supposant qu'un seul des ions présent en solution est inséré ou expulsé du polymère lors de l'application d'une perturbation sinusoïdale modulée en fréquence, nous pouvons calculer les fonctions de transfert $\frac{\Delta E}{\Delta I}(\omega)$, $\frac{\Delta m}{\Delta E}(\omega)$, $\frac{\Delta q}{\Delta E}(\omega)$ et $\frac{\Delta m}{\Delta q}(\omega)$ à partir des équations (28), (25), (31), (32). Nous distinguerons deux cas : la participation d'un anion ou celle d'un cation lors des processus électrochimiques.

En prenant l'exemple de l'oxydation du polymère les mécanismes de compensation de charges du polymère (éq. 37 et 38) donne effectivement deux cas : le cation est expulsé du film ou l'anion inséré dans la matrice.



Nous avons choisi des valeurs pour les constantes G_i et K_i de façon à obtenir des résultats explicites en faisant l'hypothèse que l'électrolyte est du KCl. Les tableaux 4 et 5 suivants présentent les allures de ces fonctions de transfert. Les flèches précisent le sens de l'évolution des fréquences de perturbation, allant des basses fréquences aux hautes fréquences.

○ Cas de la seule participation du cation

<p>Fréquences croissantes : →</p> <p>Paramètres :</p> <p>$d_{\text{film}} = 0,1 \mu\text{m}$</p> <p>$K_c = 10^{-5} \text{ cm s}^{-1}$</p> <p>$m_c = 39 \text{ g mol}^{-1}$</p> <p>$G_c = 2 \cdot 10^{-7} \text{ mol cm}^{-2} \text{ s}^{-1} \text{ V}^{-1}$</p> <p>$C_d = 10 \mu\text{F cm}^{-2}$</p>	$\frac{\Delta E}{\Delta I}(\omega) / \Omega \text{ cm}^2$ (a)	$\frac{\Delta q}{\Delta E}(\omega) / \text{C cm}^{-2} \text{ V}^{-1}$ (b)
	$\frac{\Delta m}{\Delta E}(\omega) / \text{g cm}^{-2} \text{ V}^{-1}$ (c)	$\frac{\Delta m}{\Delta q}(\omega) \cdot F / \text{g mol}^{-1}$ (d)

Tableau 4 : représentation graphique des différentes fonctions de transfert lors de la participation d'un cation.

○ **Cas de la seule participation de l'anion**

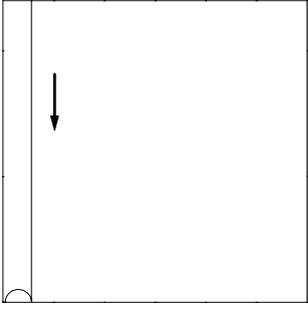
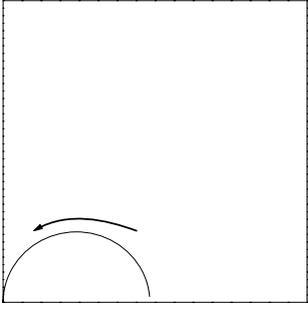
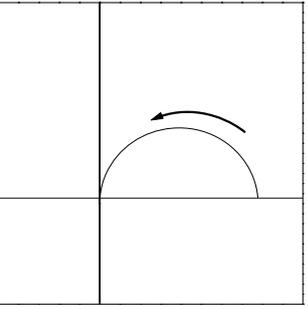
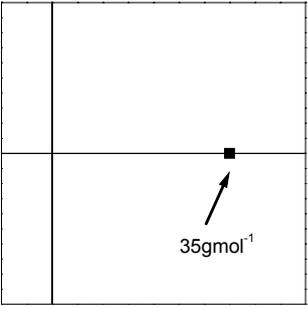
Fréquences croissantes : → Paramètres : $d = 0,1 \mu\text{m}$ $K_a = 10^{-5} \text{ cm s}^{-1}$ $m_a = 35 \text{ g mol}^{-1}$ $G_a = -2 \cdot 10^{-7} \text{ mol cm}^{-2} \text{ s}^{-1} \text{ V}^{-1}$ $C_d = 10 \mu\text{F cm}^{-2}$	$\frac{\Delta E}{\Delta I}(\omega) / \Omega \text{ cm}^2 \text{ (e)}$	$\frac{\Delta q}{\Delta E}(\omega) / \text{C cm}^{-2} \text{ V}^{-1} \text{ (f)}$
		
	$\frac{\Delta m}{\Delta E}(\omega) / \text{g cm}^{-2} \text{ V}^{-1} \text{ (g)}$	$\frac{\Delta m}{\Delta q}(\omega) \cdot F / \text{g mol}^{-1} \text{ (h)}$
		

Tableau 5 : représentation graphique des différentes fonctions de transfert lors de la participation d'un anion.

Dans les deux exemples présentés, l'impédance électrochimique est identique. Ce diagramme d'impédance donne des informations sur le processus électrochimique global : le transfert de charge, l'existence du phénomène de diffusion La fonction de transfert $\frac{\Delta q}{\Delta E}(\omega)$ indique le nombre des espèces chargées impliquées dans le processus : une seule boucle traduit la participation d'un seul ion, le cation ou l'anion. Il est à noter que cette boucle est toujours dans le même cadran. C'est grâce à la fonction de transfert électrogravimétrique $\frac{\Delta m}{\Delta E}(\omega)$ que nous pouvons immédiatement identifier la nature de l'ion impliqué. En effet, chacun de ces graphes présentent une seule boucle, ce qui confirme à nouveau qu'un seul ion est inséré ou expulsé. Néanmoins, ces courbes sont, dans le premier cadran pour l'anion et dans le troisième cadran pour le cation. Il est donc aisé de caractériser visuellement le processus. D'un point de vue théorique, l'explication provient de l'expression de $\frac{\Delta m}{\Delta E}(\omega)$ (éq. (25)) dont la limite aux basses fréquences est la suivante :

$$\lim_{\omega \rightarrow 0} \frac{\Delta m}{\Delta E}(\omega) = -dm_i \frac{G_i}{K_i} \quad (39)$$

Lorsqu'il s'agit d'un anion, G_a est négatif. La limite est donc positive, la boucle est donc dans le premier cadran. Inversement, pour un cation, cette limite est négative puisque G_c est positif.

Cette vérification théorique s'accorde avec une approche plus électrochimique. En effet, l'oxydation du polymère correspond à $\Delta E > 0$. Pour compenser la charge, les cations doivent être expulsés du film (éq. (37)). Par conséquent la masse du film diminue et donc $\frac{\Delta m}{\Delta E}(\omega \rightarrow 0) < 0$, ce qui correspond au troisième cadran. Par un raisonnement analogue,

l'insertion des anions conduit à une augmentation de la masse du film : $\frac{\Delta m}{\Delta E}(\omega \rightarrow 0) > 0$.

Enfin, la boucle de la fonction de transfert $\frac{\Delta m}{\Delta q}(\omega)$ est directement liée à la masse de l'espèce considérée. Tout en indiquant la nature de l'espèce ionique, anion ou cation, de par sa position dans les cadrans, elle nous donne également la masse molaire de l'espèce en question. Dans le cas très simplifié de la participation d'une seule espèce, il est à noter que la valeur de cette fonction de transfert est indépendante de la fréquence et est égale au rapport $\frac{m_i}{F}$. Cela donne directement la masse molaire de l'espèce impliquée dans le processus électrochimique.

3.2.2. Cas de la participation de plusieurs espèces

La réalité des processus électrochimiques est en général plus complexe que celui idéal décrit au paragraphe précédent. Plusieurs espèces peuvent être amenées à jouer un rôle. Etoffons nos acquis en supposant maintenant que les trois espèces – anion, cation, solvant, sont insérés ou expulsés de la matrice du polymère. Reprenons le cas d'un électrolyte de KCl.

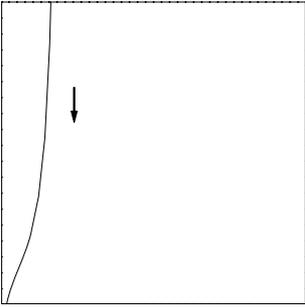
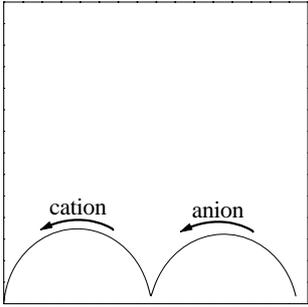
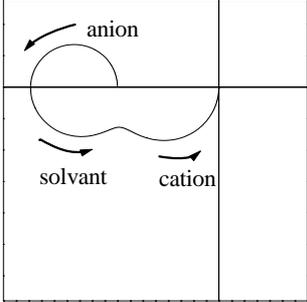
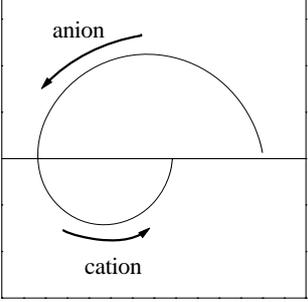
<p>Fréquences croissantes : →</p> <p>Paramètres :</p> <p>$d = 0,1 \mu\text{m}$</p> <p>$K_c = 10^{-3} \text{ cm s}^{-1}$</p> <p>$m_c = 39 \text{ g mol}^{-1}$</p> <p>$G_c = 2 \cdot 10^{-5} \text{ mol cm}^{-2} \text{ s}^{-1} \text{ V}^{-1}$</p> <p>$K_a = 5 \cdot 10^{-7} \text{ cm s}^{-1}$</p> <p>$m_a = 35 \text{ g mol}^{-1}$</p> <p>$G_a = -1 \cdot 10^{-8} \text{ mol cm}^{-2} \text{ s}^{-1} \text{ V}^{-1}$</p> <p>$K_s = 5 \cdot 10^{-5} \text{ cm s}^{-1}$</p> <p>$m_s = 18 \text{ g mol}^{-1}$</p> <p>$G_s = 2 \cdot 10^{-6} \text{ mol cm}^{-2} \text{ s}^{-1} \text{ V}^{-1}$</p> <p>$C_d = 1 \cdot 10^{-5} \text{ F cm}^{-2}$</p>	$\frac{\Delta E}{\Delta I} / \Omega \text{ cm}^2 \text{ (a)}$ 	$\frac{\Delta q}{\Delta E} / \text{C cm}^{-2} \text{ V}^{-1} \text{ (b)}$ 
	$\frac{\Delta m}{\Delta E} / \text{g cm}^{-2} \text{ V}^{-1} \text{ (c)}$ 	$\frac{\Delta m}{\Delta q} \cdot F / \text{g mol}^{-1} \text{ (d)}$ 

Tableau 6 : représentation de différentes fonctions de transfert obtenues théoriquement pour l'expulsion d'un cation, l'insertion d'un anion et du solvant.

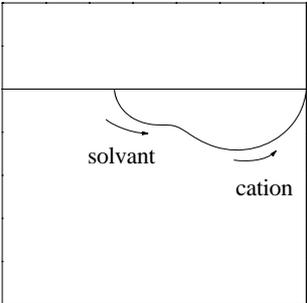
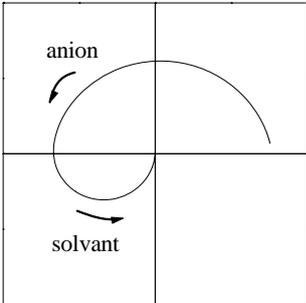
<p>Fréquences croissantes : →</p> <p>Même paramètres que le tableau 6</p>	$\frac{\Delta m_{cs}}{\Delta E} / \text{g cm}^{-2} \text{ V}^{-1} \text{ (e)}$ 	$\frac{\Delta m_{as}}{\Delta E} / \text{g cm}^{-2} \text{ V}^{-1} \text{ (f)}$ 
---	--	--

Tableau 7 : représentation des fonctions de transfert partielles théoriques dans le cas de l'expulsion d'un cation, l'insertion d'un anion et du solvant.

Les valeurs des G_i et K_i proposées sont des valeurs arbitraires choisies pour la clarté de l'exemple.

Le diagramme d'impédance électrochimique présente une limite hautes fréquences correspondant à un transfert ionique. Aux moyennes et basses fréquences, la courbe monte verticalement, ce qui est caractéristique d'un transfert ionique bloqué à l'interface film/électrode. Le graphe de la fonction de transfert $\frac{\Delta q}{\Delta E}(\omega)$ a deux boucles. Chaque boucle étant propre à une espèce chargée, nous avons bien l'anion et le cation qui participent au processus. La fonction de transfert électrogravimétrique tient compte des trois espèces considérées : trois boucles apparaissent. Si les cinétiques de transfert réelles de ces trois espèces sont éloignées alors il sera possible de séparer la contribution de ces trois espèces comme il est montré sur cette simulation. Pour identifier l'espèce propre à chacune des boucles nous utilisons les fonctions de transfert partielles $\frac{\Delta m_{cs}}{\Delta E}(\omega)$ et $\frac{\Delta m_{as}}{\Delta E}(\omega)$ présentées dans le tableau 7. Comme seul le solvant est commun à ces deux fonctions de transfert, nous en déduisons la boucle relative à l'anion et la boucle relative au cation. La boucle intermédiaire à moyenne fréquence correspond à ce seul solvant.

Chapitre III - Techniques des mesures

1. Microbalance à quartz

1.1. Le principe

Comme nous l'avons rappelé dans le chapitre II, le quartz est un résonateur piézoélectrique : les modifications à sa surface (masse, contraintes mécaniques...) sont transformées en signaux électriques mesurables. Le résonateur à quartz, s'il est entretenu par un oscillateur adéquat, voit sa fréquence de résonance varier sous l'effet de ces modifications de surface.

1.2. Montage classique à 9 MHz

Le montage que nous utilisons pour la majorité des expériences est une microbalance entièrement réalisée au laboratoire LISE. Le quartz de 9 MHz (Matel-Fordahl) surmonté de son électrode d'or est fixé sur un support « epoxy » (type circuit imprimé) :

- avec de la laque argent pour assurer les contacts électriques
- avec de la colle silicone ensuite pour assurer l'isolation des contacts de la solution.

Cette plaque est reliée à l'oscillateur de 9 MHz développé au laboratoire. Il est ainsi possible de récupérer l'évolution de la valeur de la fréquence du quartz en temps réel via le logiciel FRQM mis au point au LISE. La figure 19 suivante présente le quartz et son oscillateur.

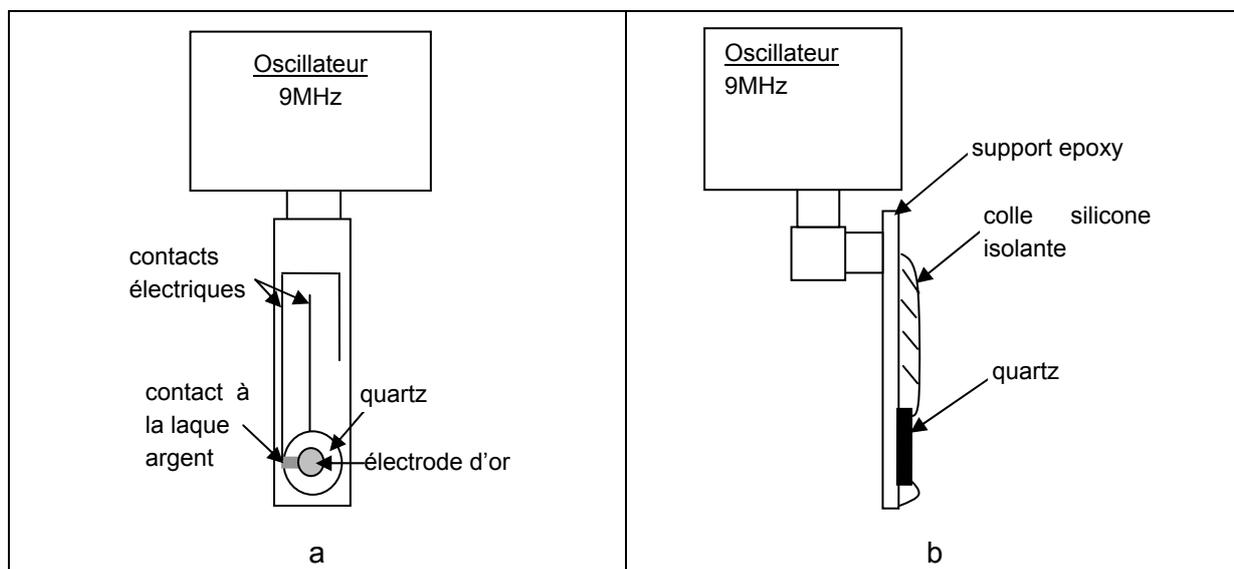


Figure 19 : a) vue de face du quartz couplé à l'oscillateur de 9 MHz ; b) vue de profil.

1.3. Montage à circulation de type 27 MHz

1.3.1. Le montage

Il est à noter que ce montage a été peu utilisé pour ce travail car il ne permet pas de réaliser des mesures électrochimiques. L'intérêt d'un montage à circulation est de réaliser des mesures de greffage et d'hybridation in situ afin d'en déduire le taux d'hybridation de brins d'ADN obtenu à la surface du quartz. En effet, la variation de fréquence de résonance

du quartz mesurée via l'oscillateur associé à un fréquencemètre est en général directement proportionnelle à la variation de masse à sa surface (cf. Chapitre II - §2).

Dans le souci d'avoir une meilleure sensibilité gravimétrique le choix s'est porté sur des mesures à 27 MHz. Pour ce faire, nous disposons d'un quartz de fréquence de résonance 9 MHz et d'un oscillateur réglé sur la troisième harmonique de fréquence i.e. 27 MHz. La circulation des solutions est réalisée grâce à une pompe péristaltique (Pharmacia, P1) dont le débit est réglé à 50 $\mu\text{L}/\text{min}$. La cellule a été réalisée de façon à ce que le volume de solution sur le quartz soit faible : 50 μL . Par conséquent le volume total de solution nécessaire est également faible : 1 mL. Le montage complet est présenté figure 20.

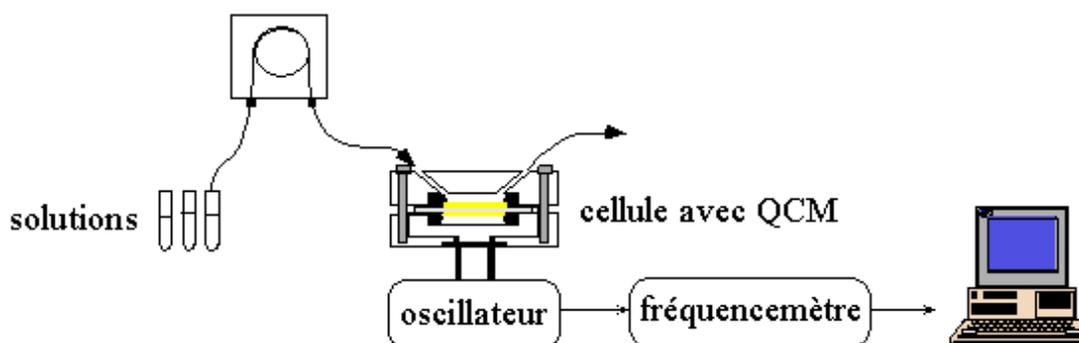


Figure 20 : dispositif expérimental pour les mesures in-situ de greffage et d'hybridation à 27 MHz.

1.3.2. Protocole

Pour l'étape de greffage, nous ajoutons dans l'eau distillée $1,5 \cdot 10^{-2}$ M EDC + $3 \cdot 10^{-2}$ M NHS + $0,1 \mu\text{M}$ d'ODN « aGEM ». Cette solution circule jusqu'à ce que le saut de fréquence dû au greffage soit stabilisé.

Ensuite nous faisons circuler une solution tampon en vue de l'hybridation. Des ODN non complémentaires sont ajoutés à la solution tampon avant d'injecter $0,1 \mu\text{M}$ de brins d'ODN complémentaires notés HIV.

2. Les méthodes voltammétriques

2.1. La voltammétrie cyclique

2.1.1. Le principe

La voltammétrie cyclique est une méthode de caractérisation électrochimique¹²⁸. Simple d'utilisation, cette méthode est l'une des plus répandues. Elle s'applique à l'étude des mécanismes de réactions électrochimiques ou comme technique électroanalytique.

Les mesures s'effectuent avec un montage à trois électrodes. Le principe est d'imposer un balayage en potentiel entre l'électrode de travail et l'électrode de référence, et de suivre la variation de courant au travers de l'électrode de travail qui en résulte. Ce courant mesuré

est composé d'un courant faradique, par exemple lié à une réaction rédox, et d'un courant capacitif, lié à la charge de la double couche électrique.

Le principe de mesure est présenté figure 21.a). Un exemple de voltammogramme est donné figure 21.b). Il s'agit de l'équilibrage d'un film de cent cycles de poly(JUG-co-JUGA) entre les potentiels -0,7 V et -0,25 V à la vitesse de balayage 50 mV/s en milieu NaCl 0,1M.

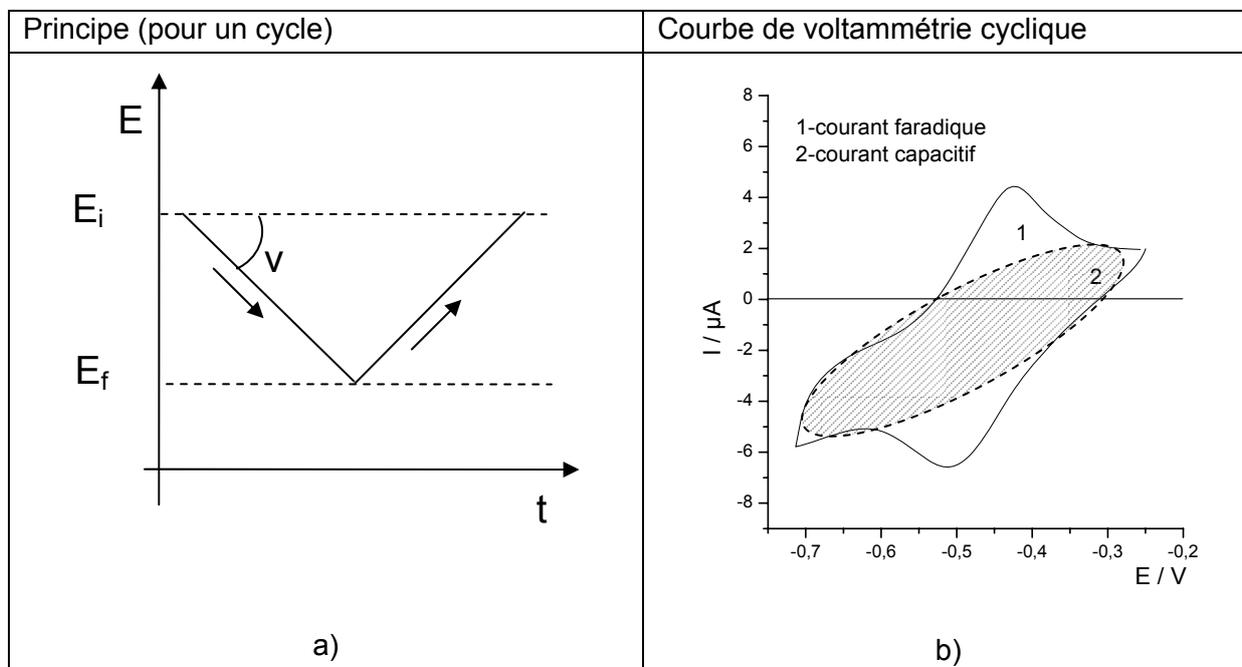


Figure 21 : a) principe d'une mesure de voltammétrie cyclique, b) exemple de voltammogramme d'un film de poly(JUG-co-JUGA) en milieu NaCl 0,1 M à 50 mV/s.

Sur la figure 21.b), la zone ovale délimite le courant capacitif, notée zone 2. La zone 1 restante désigne le courant faradique.

Nous utilisons cette technique pour :

- déposer le polymère de poly(JUG-co-JUGA) sur les électrodes de travail,
- caractériser et conditionner le comportement électrochimique des films (électroactivité, stabilité) en différents milieux.

2.1.2. Le montage

Le montage à trois électrodes utilisé comporte :

- une électrode de référence au calomel saturé
- une contre-électrode de platine (diamètre : 2 cm² pour les dépôts et grille de 4 cm² pour les caractérisations)
- une électrode de travail
 - o électrode massive de carbone vitreux, diamètre 0,07 cm²
 - o électrode massive d'or, diamètre 0,2 cm²
 - o électrode d'or déposée sur les quartz, diamètre 0,2 cm² et surface active électrochimiquement de 0,26 cm².

Cette cellule électrochimique à trois électrodes est connectée à un potentiostat Autolab (Ecochemie) spécialement modifié pour être compatible avec notre microbalance. Ce potentiostat a ceci de particulier qu'il est équipé d'une carte d'acquisition supplémentaire pour mesurer, en parallèle de la voltammétrie, la variation de fréquence de microbalance consécutive à l'application d'un balayage en tension piloté par un logiciel GPES.

Entre l'oscillateur 9 MHz et l'entrée « analogique/digitale » de l'Autolab nous intercalons un fréquencesmètre Yokogawa, TC110. Ce dernier opère la conversion des variations de fréquence microbalance, f_m , à l'aide d'un convertisseur fréquence/tension sur 15 bits : chaque changement de f_m est converti en une tension entre 0 et 10 V, valeur qui est récupérée ensuite par l'Autolab. Ainsi il est possible de mesurer à la fois la variation de courant et de la fréquence de microbalance f_m lors de balayages en tension.

2.1.3. Les paramètres

Lors du dépôt de la poly(JUG-co-JUGA) en milieu acétonitrile, un balayage à la vitesse $v = 50$ mV/s est effectué entre les potentiels $E_i = +0,4$ V vs ECS et $E_f = +1,05$ V vs ECS. Le nombre de cycles est variable suivants les expériences.

Lors de l'équilibrage du film déposé sur une électrode de carbone vitreux en milieu aqueux, un balayage de 70 cycles à 50 mV/s est effectué entre les potentiels $E_i = -0,9$ V et $E_f = -0,2$ V. Contrairement aux électrodes de carbone vitreux nous ne pouvons atteindre le potentiel minimum de $-0,9$ V vs ECS sans risquer le décollement de l'électrode de quartz. Néanmoins, un balayage entre $-0,7$ V et $-0,25$ V est amplement suffisant pour voir apparaître la première oxydation du groupe quinone/hydroquinone : un balayage de 70 cycles à 50 mV/s est effectué entre les potentiels $E_i = -0,7$ V et $E_f = -0,2$ V.

2.2. Voltammétrie à vagues carrées

2.2.1. Le principe

L'inconvénient majeur de la voltammétrie cyclique est qu'elle ne dissocie pas le courant faradique du courant capacitif lors d'une réaction électrochimique. Or, pour étudier les phénomènes de transduction, c'est le courant faradique qui nous intéresse.

La technique de voltammétrie à vagues carrées (ou Square Wave Voltametry – SWV), fruit du travail d'Osteryoung¹²⁹, est une technique à impulsion¹³⁰ qui résout ce problème. En effet, l'application d'un potentiel génère un courant capacitif et un courant faradique. C'est la mesure du courant faradique qui nous intéresse pour caractériser le comportement électrochimique d'un film.

Pour éliminer le terme capacitif du courant, il suffit d'imposer un potentiel alternatif et d'effectuer deux mesures de courant : la première au point M1 (Figure 22.a)), courant noté I_1 . La seconde au point M2, courant noté I_2 , puis de soustraire I_2 à I_1 . Pour réaliser cette mesure de courant faradique sur une gamme complète de potentiel il faut appliquer un signal alternatif qui suit un échelon de potentiel (Figure 22.a)). Sur notre figure, E_i est le potentiel

initial de l'expérience et E_f le potentiel final ; ΔE l'amplitude du signal imposé et $\frac{1}{f_{SWV}}$ la période ; le pas de l'échelon de potentiel est noté « pas ». A chaque impulsion, deux mesures sont prises : M1 et M2 puis soustraites. La figure 22.b) donne un exemple obtenu pour un film de poly(JUG-co-JUGA) en milieu PBS avec $E_i = -0,7$ V, $E_f = -0,2$ V, $\Delta E = 50$ mV, $f_{SWV} = 12,5$ Hz, pas = 2 mV.

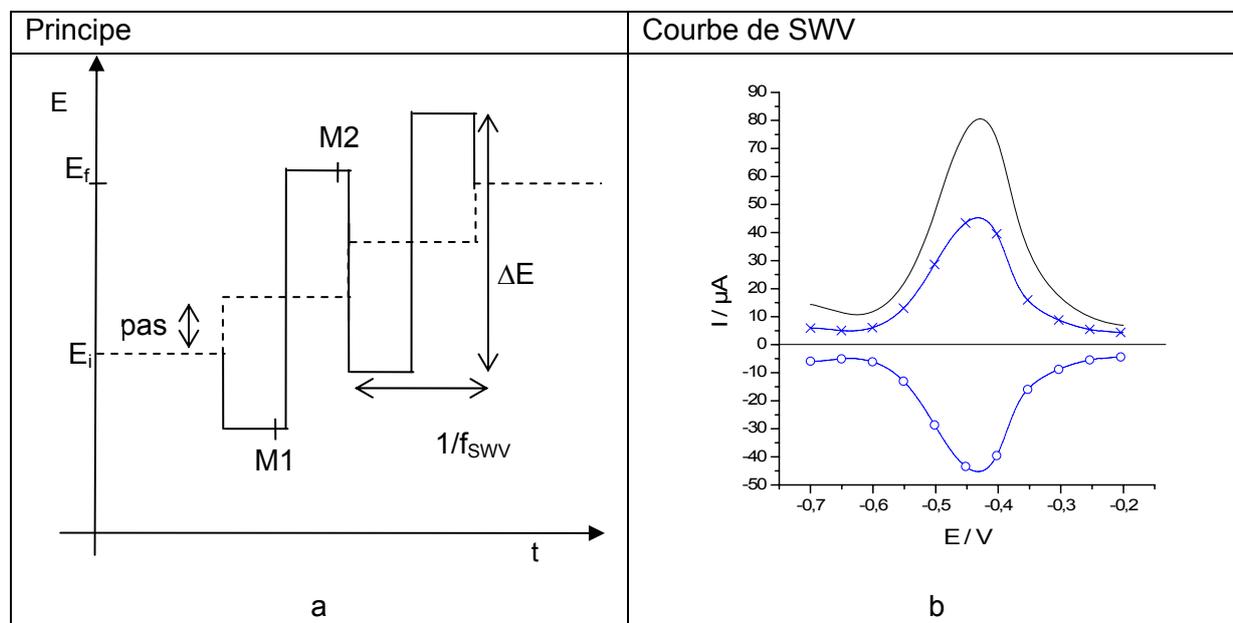


Figure 22 : a) principe d'une mesure par Square Wave Voltametry ; b) SWV d'un film de poly(JUG-co-JUGA) en milieu PBS : $I = I_1 - I_2$ (-), I_1 (x), I_2 (o).

2.2.2. Le montage

Le montage à trois électrodes est identique à celui exposé au §2.1.2. Cette cellule électrochimique est également reliée à l'Autolab et piloté par le logiciel GPES.

2.2.3. Les paramètres

Potentiel de conditionnement : $E = -0,7$ V pendant 15s.

Mesure : $E_i = -0,7$ V, $E_f = -0,2$ V, fréquence $f_{SWV} = 12,5$ Hz, pas = 2 mV, $\Delta E = 50$ mV.

La figure 23 montre le schéma du dispositif de mesures SWV.

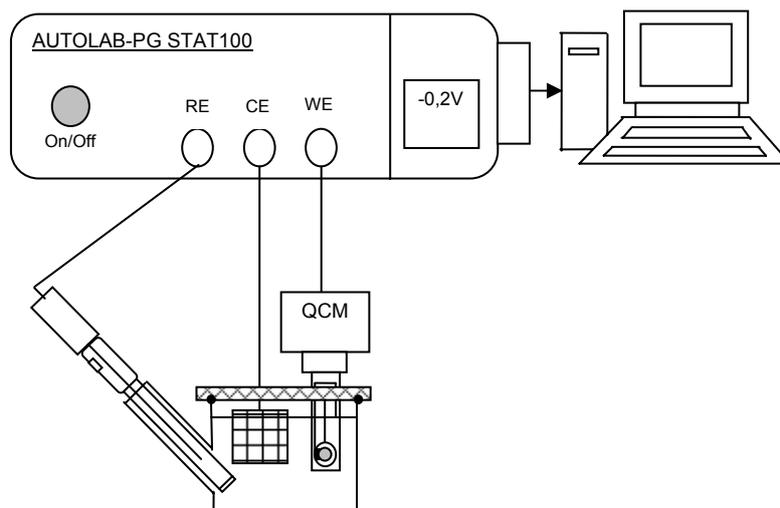


Figure 23 : Dispositif expérimental pour les mesures de voltammétrie cycliques et SWV avec une microbalance à quartz.

3. Mesure d'impédance électrochimique

3.1. Le principe

L'impédance électrochimique¹³¹ renseigne sur la cinétique d'un système électrochimique. En effet, la plupart des réactions chimiques sont un ensemble d'étapes élémentaires avec a priori des vitesses différentes. L'intérêt est donc de découpler ces processus élémentaires afin de comprendre le mécanisme réactionnel.

Pour cela le système est sollicité par une perturbation sinusoïdale de faible amplitude à une fréquence donnée. Cette perturbation, qui peut être une tension ou un courant, est imposée autour d'une valeur stationnaire E_c ou I_c . L'étude est donc stationnaire. L'amplitude de cette perturbation étant faible nous pouvons aussi considérer que nous travaillons en régime linéaire (cf. Chapitre II - §1.1.). Enfin, la fréquence de cette perturbation varie de 60 kHz à 1 mHz. Les processus lents peuvent ainsi être dissociés des processus rapides.

Pour notre étude, nous travaillons avec une perturbation sinusoïdale en tension (Figure 24.a)) qui se superpose à une tension stationnaire donnée. L'impédance électrochimique est donc le rapport entre cette perturbation en potentiel ΔE et la réponse en courant ΔI . Il vient alors $\frac{\Delta E}{\Delta I}(\omega)$ où $\omega = 2 \cdot \pi \cdot f$, et f une fréquence de modulation donnée. Cette fonction de transfert est mesurée à plusieurs fréquences de perturbation f et est représentée dans le plan de Nyquist en coordonnées cartésiennes. La figure 24.b) est un exemple d'impédance électrochimique d'un film de poly(JUG-co-JUGA) en milieu NaCl 0,1M au potentiel -0,45 V.

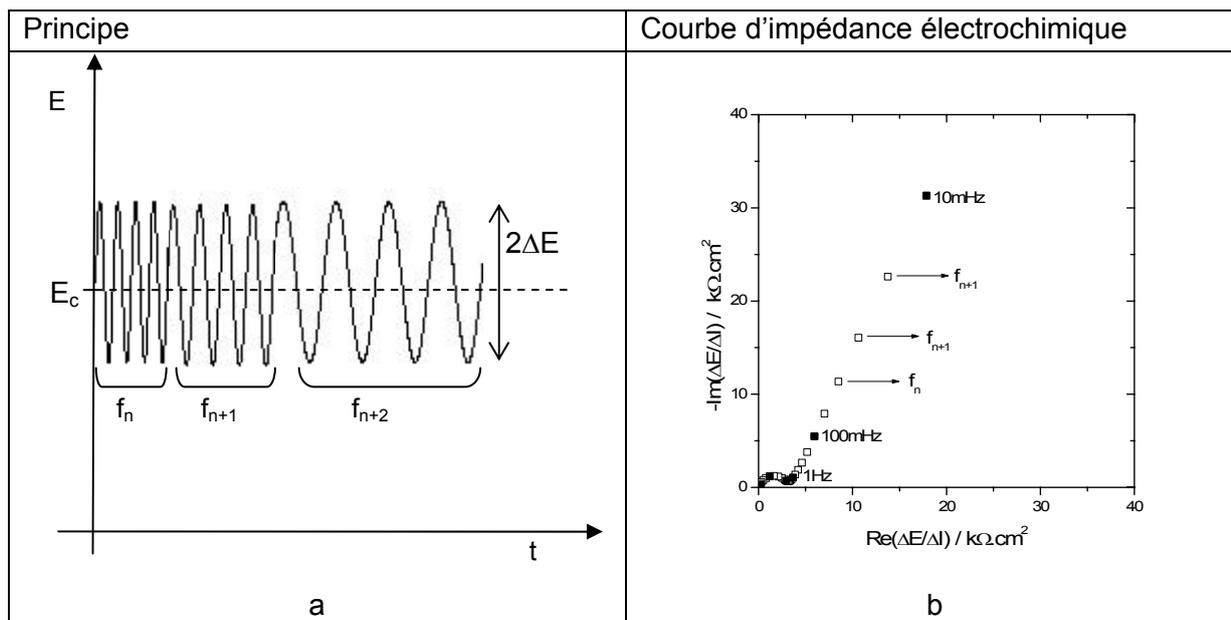


Figure 24 : a) principe d'une mesure d'impédance électrochimique ; b) impédance électrochimique d'un film de pol(JUG-co-JUGA) en milieu NaCl 0,1 M au potentiel +0,45 V.

3.2. Le montage

Le montage expérimental est présenté figure 25. Il se compose :

- d'un potentiostat SOTELEM-PGSTAT100 qui fonctionne en mode potentiostatique, et impose une composante continue E_c donnée,
- d'un générateur de fréquence qui délivre la perturbation sinusoïdale de faible amplitude,
- d'une cellule à trois électrodes. La contre-électrode est en platine, l'électrode de référence est une électrode au calomel saturée. L'électrode de travail est soit une électrode en or massive, soit une électrode en or déposé sur le quartz.

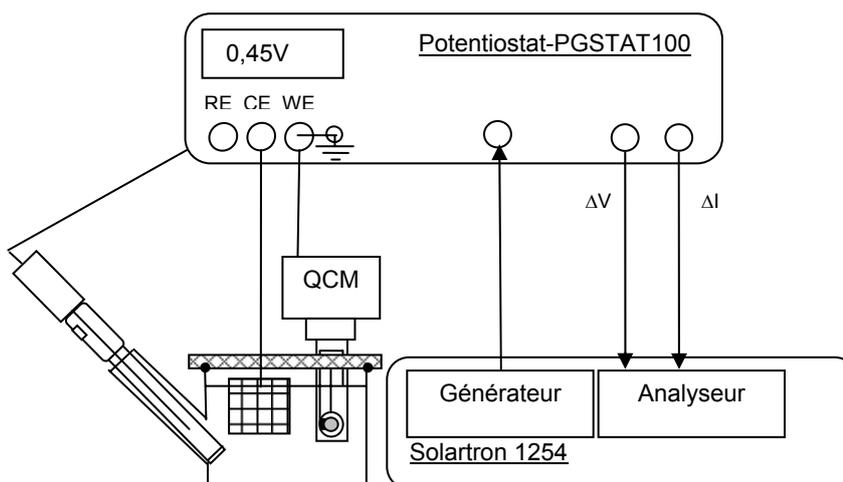


Figure 25 : Dispositif expérimental pour les mesures d'impédance électrochimique.

4. L'électrogravimétrie

4.1. Le principe

D'une façon analogue à celle de la mesure de l'impédance électrochimique, l'application d'un signal de perturbation sinusoïdale de faible amplitude peut permettre la mesure d'une fonction de transfert dite électrogravimétrique : $\frac{\Delta m}{\Delta E}(\omega)$. Il est donc nécessaire d'utiliser une microbalance à quartz afin de pouvoir mesurer la variation de masse Δm consécutive à l'application d'une perturbation en tension ΔE sur l'électrode en or déposée sur le résonateur.

Le polymère déposé sur l'électrode d'or de la microbalance est un polymère conducteur, ce qui signifie que lors de l'application de la perturbation ΔE certaines espèces chargées en solution vont participer au processus de compensation de charge au sein de ce polymère. Cette insertion ou expulsion d'espèces du film est détectable grâce à la variation de fréquence de la microbalance. En effet, elle permet de mesurer des changements de masse très faibles dans la gamme du nanogramme et avec un temps de réponse très petit, inférieur à la milliseconde. Nous en déduisons alors la variation de masse correspondante Δm via la loi de Sauerbrey (cf. Chapitre II, éq. (4)).

La modulation en fréquence du signal de perturbation donne une information supplémentaire : elle permet de dissocier les cinétiques des différentes espèces participant à la compensation de charges du film polymère conducteur.

Les mesures sont pilotées par ordinateur via le logiciel FRACOM, logiciel développé au laboratoire LISE.

La figure 26.a) présente le principe de la mesure de la fonction de transfert électrogravimétrique ; la figure 26.b) propose un exemple de réponse électrogravimétrique d'un film de poly(JUG-co-JUGA) de cent cycles au potentiel -0,45 V en milieu NaCl 0,1M.

Pour ces mesures, il est nécessaire d'utiliser un analyseur de fonction de transfert multicanaux de type 1254 (Solartron) qui permettra de déterminer, en parallèle, plusieurs fonctions de transfert comme l'impédance électrochimique ou une fonction de transfert

$\frac{\Delta V_f}{\Delta V}(\omega)$, proche de la fonction de transfert électrogravimétrique $\frac{\Delta m}{\Delta E}(\omega)$. Il n'est pas

possible de mesurer directement $\frac{\Delta m}{\Delta E}(\omega)$. Un convertisseur fréquence/tension doit être

utilisé pour transformer le signal de la microbalance Δf_m en un signal mesurable, ΔV_f , par l'analyseur 1254. Ce convertisseur n'étant pas idéal, il est nécessaire de le calibrer et d'effectuer ensuite une correction numérique des mesures effectuées à l'aide du 1254. Un certain nombre d'opérations numériques permettra de calculer cette dernière et la relation décrite ci-dessous sera utilisée dans ce but :

$$\frac{\Delta m}{\Delta E} = \frac{Z_{exp}}{Z_{exp} - R_{el}} \cdot \frac{\Delta m}{\Delta V} \text{ avec } \frac{\Delta m}{\Delta V} = \frac{\Delta m}{\Delta f_m} \cdot \left(\frac{1}{\frac{\Delta V_f}{\Delta e} \cdot \frac{1}{\frac{\Delta f_s}{\Delta e}}} \right) \cdot \frac{\Delta V_f}{\Delta V}$$

où :

- $\frac{Z_{exp}}{Z_{exp} - R_{el}}$ est le terme de correction de la résistance d'électrolyte.
- $\frac{\Delta m}{\Delta f_m}$ est la sensibilité de la microbalance obtenue par calibration et qui s'apparente à la loi de Sauerbrey (Chapitre II, éq. (4)).
- $\frac{\Delta V_f}{\Delta e}$ est la fonction de transfert du dispositif de conversion fréquence/tension et qui est obtenu par calibration.
- $\frac{\Delta f_s}{\Delta e}$ est la fonction de transfert du synthétiseur qui simule la microbalance lors de la calibration globale du dispositif de conversion fréquence/tension.
- $\frac{\Delta V_f}{\Delta V}$ est la mesure obtenue directement avec l'analyseur et le logiciel FRACOM.

Notons que la perturbation en tension lors d'une calibration est notée $\Delta e = |\Delta e| \cdot \sin(\omega t)$ par convention. Il est à noter également que la sensibilité du convertisseur est donnée par la valeur de $\frac{\Delta V_f}{\Delta f_s}$.

Maintenant nous allons montrer comment obtenir chacune de ces fonctions de transfert intermédiaires présentées dans un schéma récapitulatif figure 27.

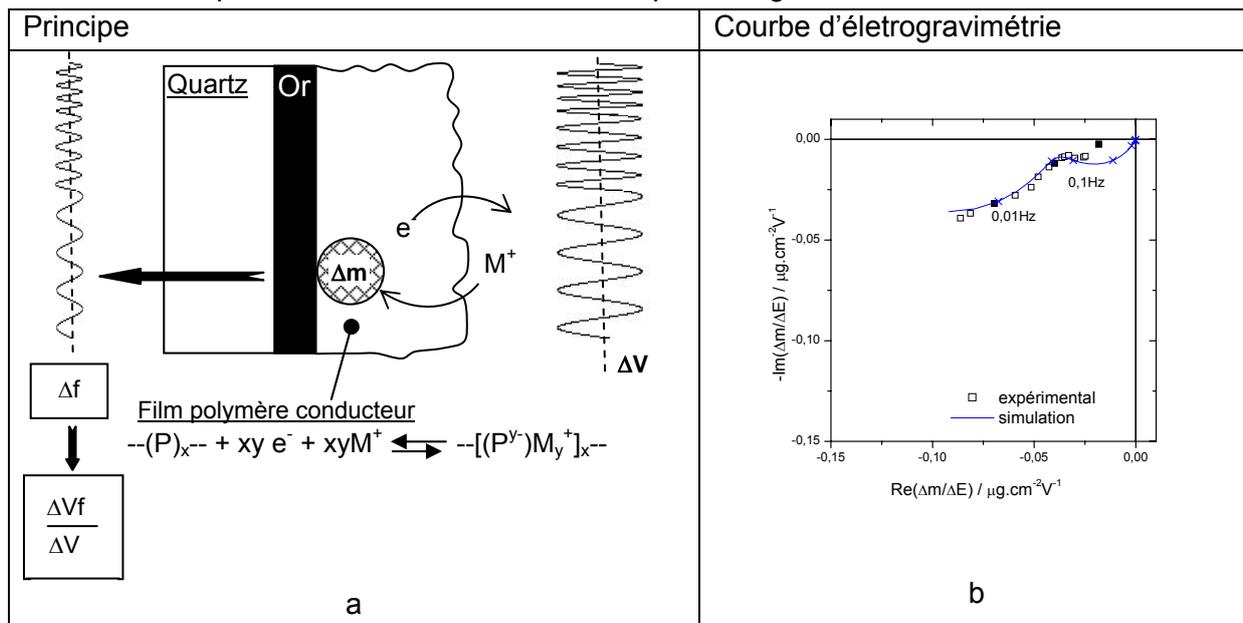


Figure 26 : a) principe de la mesure de la fonction de transfert électrogravimétrique ; b) réponse électrogravimétrique d'un film de poly(JUG-co-JUGA) au potentiel -0,45 V en milieu NaCl 0,1 M.

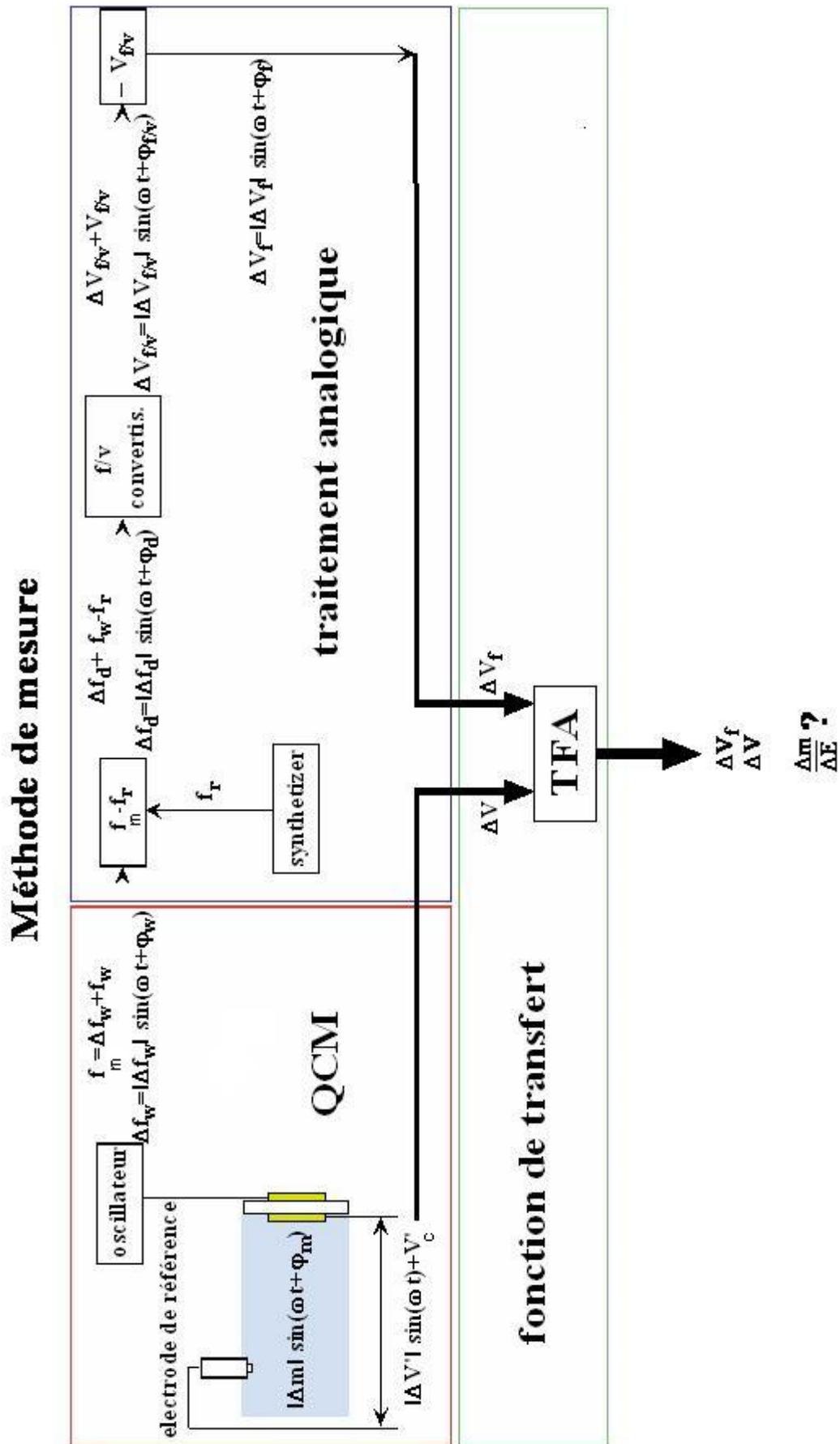


Figure 27 : dispositif des mesures électrogravimétriques.

4.2. Mesure expérimentale : $\frac{\Delta V_f}{\Delta V}$

Le montage expérimental (Figure 28) est composé d'un certain nombre d'éléments :

- d'une cellule électrochimique à trois électrodes. L'électrode de référence est une électrode au calomel saturé, la contre-électrode est en platine et l'électrode de travail est une électrode d'or déposée sur le résonateur à quartz,
- d'un potentiostat SOTELEM-PG-STAT100, fonctionnant en mode potentiostatique,
- d'un Solartron 1254 comprenant un générateur de tension ($\Delta V'$) et un analyseur de fonctions de transfert,
- d'un synthétiseur de référence Marconi,
- d'un convertisseur fréquence/tension.

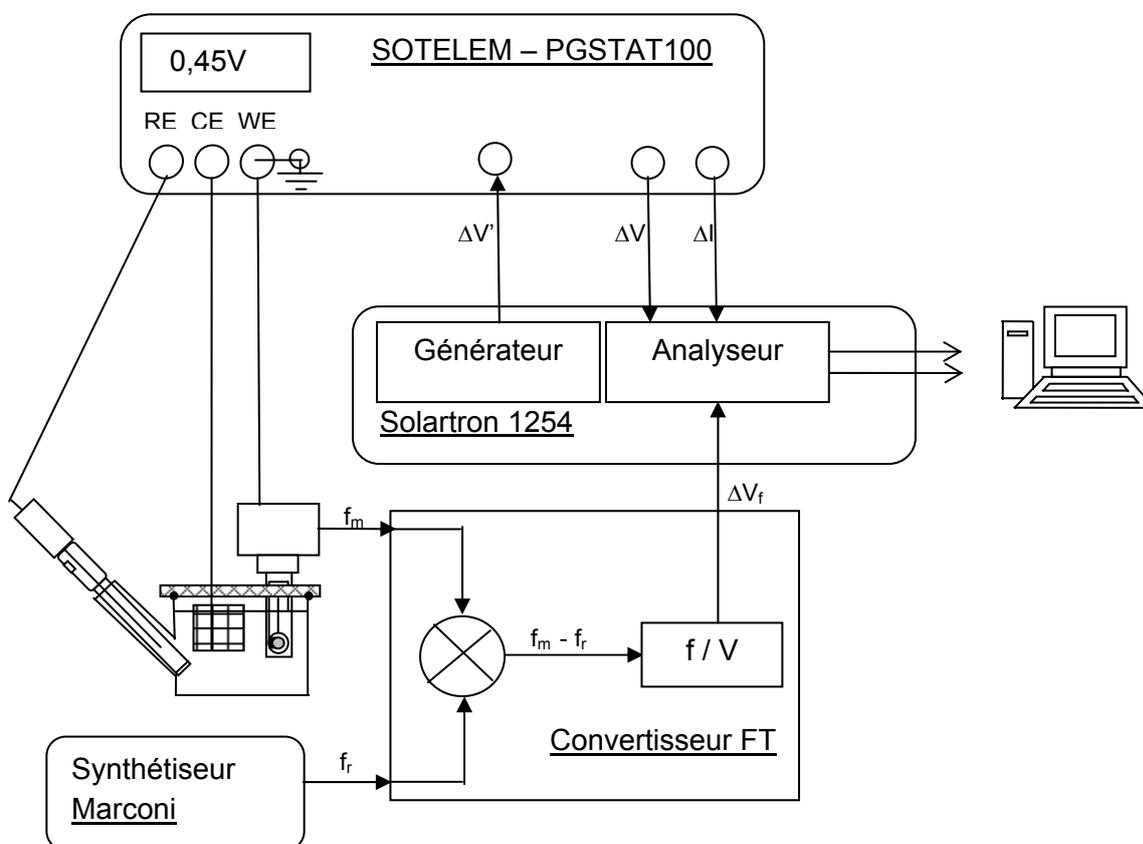


Figure 28 : dispositif expérimental de l'impédance électrochimique couplée à l'électrogravimétrie.

Le générateur de fréquence délivre une perturbation sinusoïdale de faible amplitude, $\Delta V'$. Ce signal est superposé au potentiel de polarisation délivré par le potentiostat, E_c ou V_c . Les insertions et expulsions d'espèces dans le film de polymère conducteur déposé sur l'électrode d'or du quartz sont détectées par la microbalance. Cette dernière donne la variation de la fréquence de résonance du quartz relative au transfert des espèces.

Le signal de la microbalance f_m est envoyé au convertisseur fréquence-tension. De même, un signal de référence f_r , proche de la fréquence de microbalance, délivré par un synthétiseur Marconi est envoyé sur le convertisseur fréquence-tension. Ce convertisseur

soustrait dans un premier temps ces deux signaux. Le signal « $f_m - f_r$ » est ensuite transformé en une variation de tension continue ΔV_f . Ce résultat est enfin envoyé à l'analyseur du Solartron. En effet il est plus facile de réaliser une démodulation de fréquence sur un signal de quelques centaines de Hertz que sur un signal dans la gamme du méga Hertz.

Comme l'analyseur Solartron 1254 dispose de quatre entrées de mesure, il est possible de récupérer les valeurs de ΔI et ΔV parallèlement afin de mesurer l'impédance électrochimique également. Nous récupérons donc les fonctions de transfert expérimentales $\frac{\Delta V}{\Delta I}(\omega)$ et $\frac{\Delta V_f}{\Delta V}(\omega)$ comme il est indiqué figure 28. C'est pourquoi cette mesure est communément appelée « mesure d'impédance électrochimique couplée à l'électrogravimétrie ».

4.3. Estimation des différentes fonctions de transfert

intermédiaires : $\frac{\Delta m}{\Delta f_m}, \frac{\Delta V_f}{\Delta e}, \frac{\Delta f_s}{\Delta e}$.

4.3.1. Sensibilité de la microbalance à quartz : $\frac{\Delta m}{\Delta f_m}$

Cette mesure est une caractéristique des performances de notre microbalance et peut être calculée théoriquement à l'aide de l'équation de Sauerbrey (cf. Chapitre II, §2.2., eq. (4)). Pour un quartz de 9 MHz cette valeur théorique est de $16,7 \cdot 10^{+7} \text{ Hz} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{cm}^2$.

La détermination expérimentale de la sensibilité de notre microbalance à quartz est obtenue en suivant les variations de fréquence lors d'un dépôt de cuivre en mode galvanostatique sur l'électrode en or de la surface^{132,133}. Nous obtenons une valeur identique à la théorie.

4.3.2. Fonction de transfert du convertisseur : $\frac{\Delta V_f}{\Delta e}$

Cette fonction de transfert est obtenue en remplaçant la microbalance par un second synthétiseur modulable en fréquence comme le montre la figure 29. Le reste du montage est identique à celui présenté au paragraphe 4.2. sauf au niveau de la partie électrochimique qui disparaît.

Un exemple de courbe d'étalonnage obtenue est présenté sous la forme d'un diagramme de Bode figure 30. Nous constatons que pour des fréquences de modulations inférieures à 10 Hz, le déphasage est négligeable et le module présente une valeur constante en relation avec la sensibilité du convertisseur employé. Cela signifie que jusqu'à cette fréquence, une correction linéaire peut être effectuée sur les mesures expérimentales. Au-delà de cette limite de 10 Hz, une correction fréquence à fréquence devra être effectuée numériquement afin d'enlever la contribution de l'électronique de la mesure de $\frac{\Delta V_f}{\Delta V}(\omega)$.

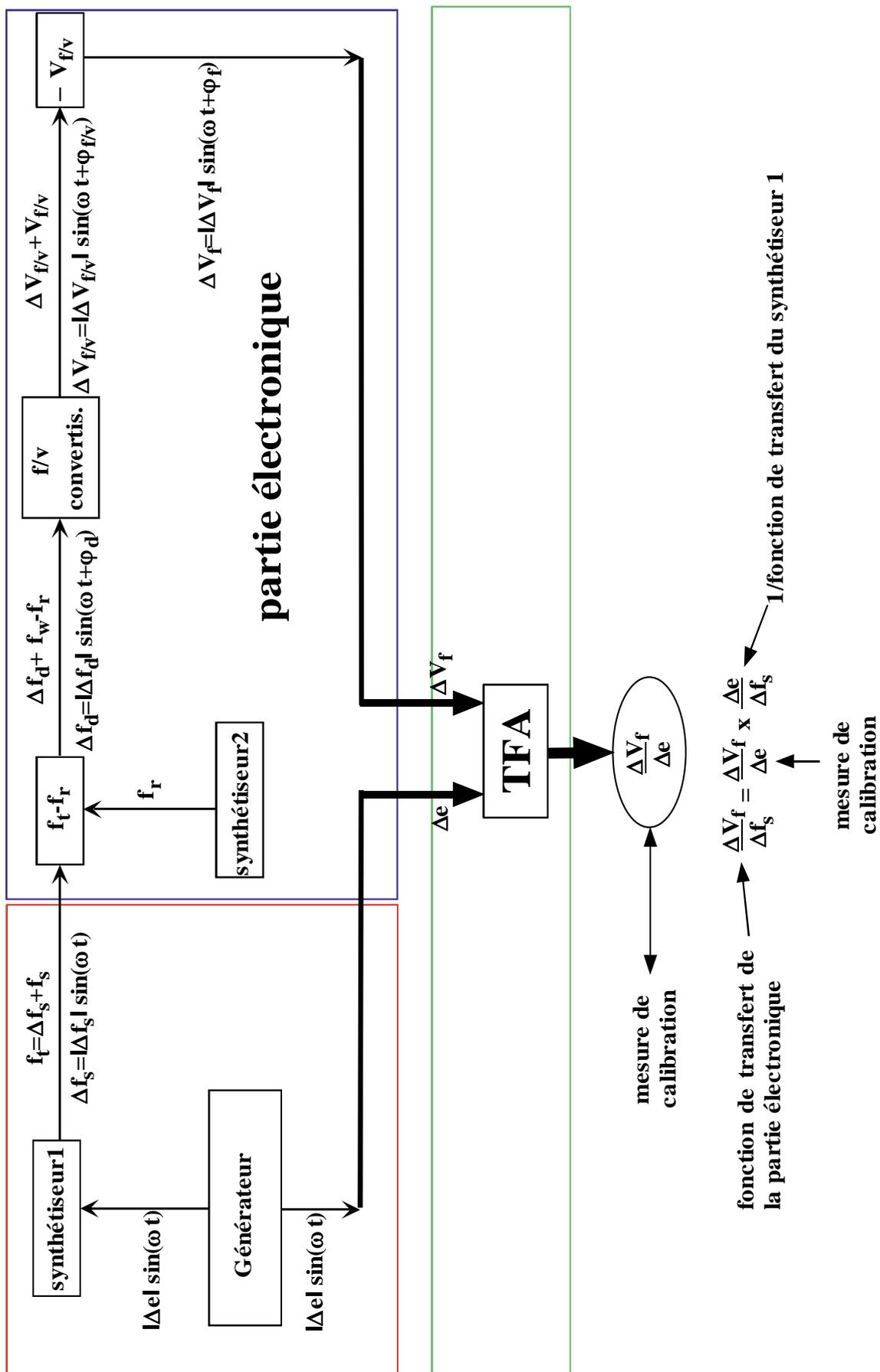


Figure 29 : calibration globale du montage d'électrogravimétrie.

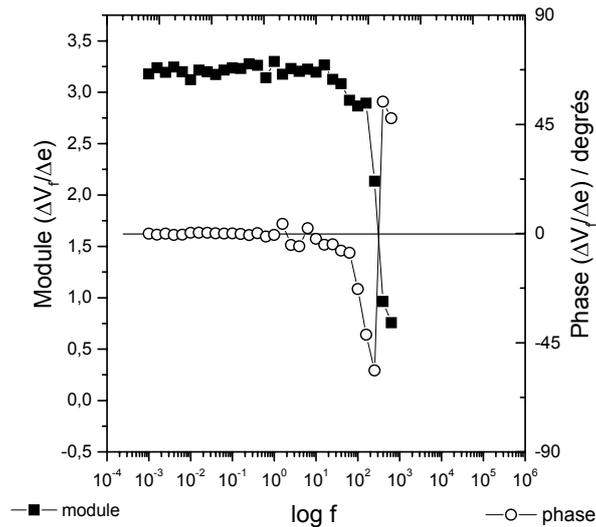


Figure 30 : calibration de la partie électronique et détermination de la fonction de transfert du convertisseur

fréquence/tension, $\frac{\Delta V_f}{\Delta e}$.

4.3.3. Calibration du second synthétiseur : $\frac{\Delta f_s}{\Delta e}$

Il s'agit maintenant de déterminer la fonction de transfert $\frac{\Delta f_s}{\Delta e}$ du synthétiseur HP 8647A qui a servi à simuler la microbalance à quartz lors de la calibration évoquée au paragraphe 4.3.2. Ce synthétiseur génère des signaux dans la gamme 250 kHz – 1 GHz avec une résolution de 1 Hz et modulable en fréquence. Pour déterminer la fonction de transfert de ce synthétiseur il suffit d'imposer via un générateur de fréquence (Solartron 1254) une perturbation sinusoïdale de fréquence fixe dont nous faisons varier l'amplitude Δe. Le synthétiseur HP 8647A est réglé à la fréquence de 9,0 MHz, équivalente à la fréquence d'un résonateur à quartz commercial de 9 MHz. De plus, le niveau de profondeur de modulation du HP 8647A est réglable. Nous avons donc testé trois niveaux de profondeur de modulation (FM) : 50 Hz, 100 Hz et 200 Hz. La figure 31 schématise les signaux d'entrée et de sortie du synthétiseur qui permettent de déterminer le module de la fonction de transfert $\frac{\Delta f_s}{\Delta e}$.

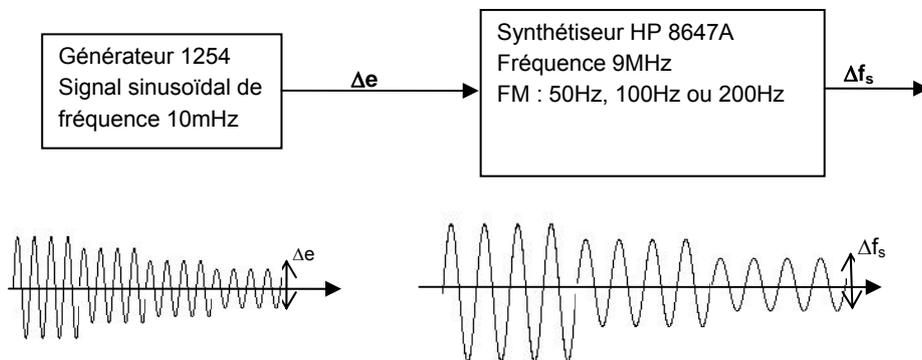


Figure 31 : Calibration du synthétiseur HP 8647A et détermination de la fonction de transfert du convertisseur

fréquence/tension, $\frac{\Delta f_s}{\Delta e}$.

Pour ces trois réglages de profondeur de modulation nous obtenons les valeurs suivantes pour la fonction de transfert du synthétiseur $\frac{\Delta f_s}{\Delta e}$:

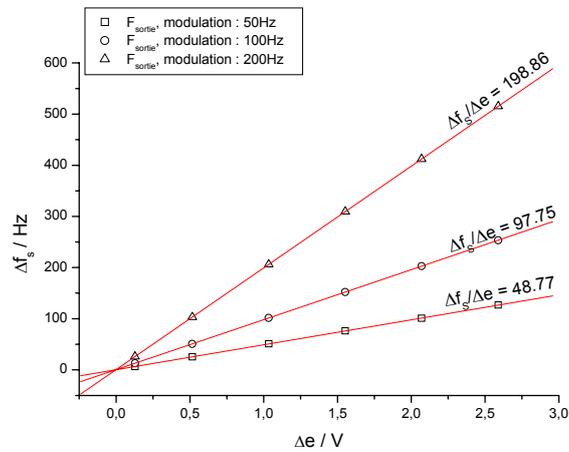


Figure 32 : Mesure de la fonction de transfert $\frac{\Delta f_s}{\Delta e}$ du synthétiseur HP-8647A pour trois réglages de profondeur de modulation : 50 Hz, 100 Hz et 200 Hz.

La figure 32 indique que les variations sont linéaires et la pente donne la valeur de la fonction de transfert du HP 8647A pour trois réglages différents de ce dernier.

Nous disposons donc des valeurs de la fonction de transfert pour trois réglages du HP 8647A :

Réglage du HP 8647A	50 Hz	100 Hz	200 Hz
$\frac{\Delta f_s}{\Delta e}$	48,77	97,75	198,86

Tableau 8 : Mesure de la fonction de transfert inverse du synthétiseur HP 8647A pour trois réglages de profondeur de modulation.

Dans la suite de l'étude, nous travaillons avec un réglage de 100 Hz.

4.3.4. Tableau récapitulatif des fonctions de transfert

Nous venons donc de montrer comment nous avons obtenu les valeurs des fonctions de transfert intermédiaires utiles au calcul de la fonction de transfert électrogravimétrique finale

$\frac{\Delta m}{\Delta E}(\omega)$. Le tableau 9 suivant récapitule ces valeurs.

$\frac{\Delta m}{\Delta f_m}$ (g.cm ² .Hz ⁻¹)	$\left. \frac{\Delta V_f}{\Delta e} \right)_{\omega \rightarrow 0}$	$\frac{\Delta f_s}{\Delta e}$ (V.Hz ⁻¹)
$\frac{1}{16,7 \cdot 10^7}$	3,2	97,75

Tableau 9 : valeurs des fonctions de transfert intermédiaires.

Pour les fréquences de modulation inférieures à 10 Hz le déphasage est négligeable, dans ce cas la correction est linéaire et le facteur correctif vaut :

$$\frac{\Delta m}{\Delta E}(\omega) = \frac{Z_{\text{exp}}}{Z_{\text{exp}} - R_{\text{el}}} \cdot \frac{\Delta m}{\Delta f_m} \cdot \left(\frac{1}{\frac{\Delta V_f}{\Delta e} \cdot \frac{1}{\frac{\Delta f_s}{\Delta e}}} \right) \cdot \frac{\Delta V_f}{\Delta V}(\omega) = \frac{Z_{\text{exp}}}{Z_{\text{exp}} - R_{\text{el}}} \cdot 1,87 \cdot 10^{-7} \cdot \frac{\Delta V_f}{\Delta V}(\omega)$$

Toutefois comme ceci n'est plus valable pour les fréquences de modulations supérieures, nous effectuons une correction fréquence à fréquence sous le logiciel Mathcad où la valeur de $\frac{Z_{\text{exp}}}{Z_{\text{exp}} - R_{\text{el}}}$ est déterminée à partir des résultats expérimentaux du fichier d'impédance $\frac{\Delta E}{\Delta I}(\omega)$.

5. La spectroscopie de fluorescence

5.1.1. Le principe

La spectroscopie de fluorescence est une technique courante de détection par marquage par des fluorophores. Ces fluorophores possèdent la propriété d'absorber de l'énergie lumineuse à une longueur d'onde λ_0 et de la restituer sous forme de lumière fluorescente à une longueur d'onde λ_1 tel que $\lambda_1 > \lambda_0$. Ce principe permet dans notre cas de détecter si les brins d'ODN se sont hybridés à la surface du biocapteur en fixant un fluorophore sur les ODN cibles.

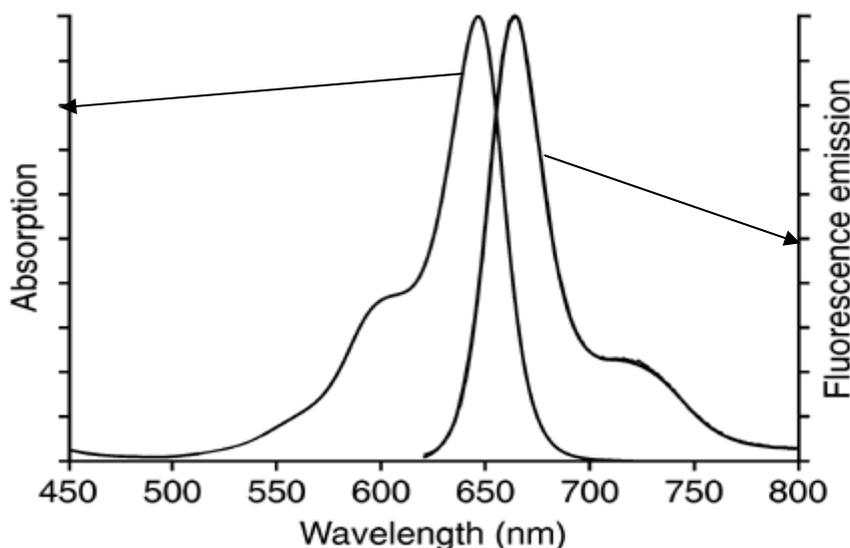


Figure 33 : spectre d'absorption et d'émission du fluorophore BODIPY 650/665 donnée par MWG.

Parmi les fluorophores disponibles commercialement nous utilisons un BODIPY 650/665 qui émet dans le rouge (665 nm) et est synthétisé chez MWG. Celui-ci est fixé à l'extrémité

5' des oligonucléotides. La figure 33 présente les spectres d'absorption et d'émission de ce fluorophore.

L'appareil utilisé pour les mesures de fluorescence est un Aminco-Bowman « Series 2 ». Le principe de fonctionnement est proposé schématiquement figure 34.a). L'appareil est réglé de façon à effectuer un balayage en longueur d'onde entre 660 et 675 nm. Autour de la longueur d'onde $\lambda_{\text{excitation}} = 650 \text{ nm}$, les molécules BODIPY de l'échantillon sont à l'état excité et réémettent de la lumière à la longueur d'onde $\lambda_{\text{émission}} = 665 \text{ nm}$ dont l'appareil mesure l'intensité. Cette intensité de fluorescence est reliée à la quantité de molécules présentes dans l'échantillon testé.

5.1.2. Le montage

Nous présentons les caractéristiques de l'appareil dans le tableau 10. Il est à noter que le fluorophore BODIPY présente des longueurs d'onde d'absorption et d'émission très proche de telle sorte qu'il s'avère difficile de découpler les deux.

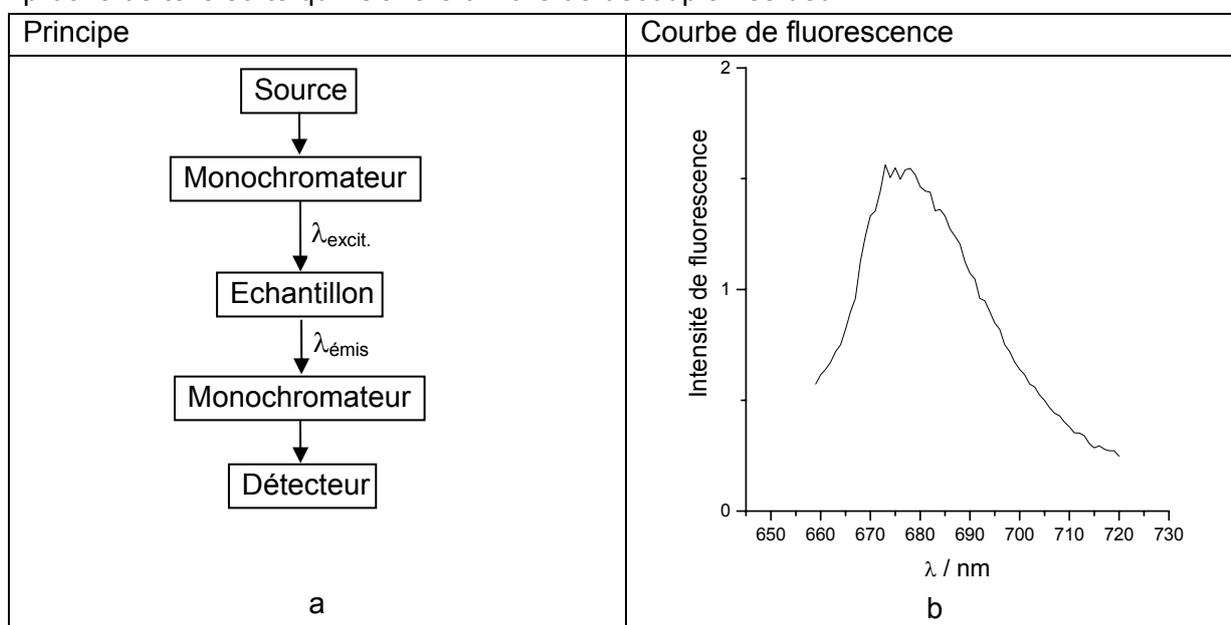


Figure 34 : a) principe d'une mesure de spectrométrie de fluorescence ; b) mesure de fluorescence de brins d'ODN, modifiés BODIPY, hybridés sur un film de poly(JUG-co-JUGA) déposé sur l'électrode d'or d'un quartz.

Longueurs d'onde	Largeur de bande	détecteur PMT	monochromateur
$\lambda = 220 - 850$ (précision +/- 0,5 nm)	1-16 nm	Vitesse de balayage : 3-6000 nm/min	Pas : 0,2 nm minimum

Tableau 10 : caractéristiques « constructeur » du spectromètre de fluorescence Aminco-Bowman « Series 2 ».

5.1.3. Le protocole

○ Préparation des échantillons

Pour les mesures de détection d'hybridation d'ODN sur un film de poly(JUG-co-JUGA) nous réalisons d'abord un greffage par liaison covalente suivi d'une hybridation avec les brins complémentaires d'oligonucléotides modifiés en 5' par la molécule BODIPY.

L'échantillon est ensuite lavé en trois étapes : la solution de lavage Li est changée toutes les 15 minutes avec $i = 1, 2, 3$. Chacune de ces trois solutions est récupérée et conservée. Nous réalisons ensuite une étape de déshybridation. La solution de déshybridation D est récupérée de la même manière.

○ **Etalonnage du spectromètre**

Nous prélevons une solution mère de concentration connue à partir de laquelle nous préparons des solutions diluées par un facteur 100, 200, 500, 1000. Une mesure de fluorescence est effectuée pour chacune de ces solutions.

○ **Mesures**

Les solutions de lavage Li et de déshybridation D sont passées successivement dans le spectromètre. Les mesures de fluorescences des Li obtenues permettent de quantifier l'adsorption à la surface du film de poly(JUG-co-JUGA). La mesure de fluorescence de la solution D permet de quantifier le taux d'hybridation des brins d'ODN.

6. Protocoles

6.1. Désignation des solutions utilisées pour l'étude de l'influence du pH

Le PBS (Phosphate Saline Buffer) est un milieu tamponné phosphate qui contient 0,137 M NaCl + 0,0027 M KCl + 0,01 M tampon phosphate (données Sigma).

Pour étudier l'influence du pH sur la réponse électrochimique d'un film nous réalisons d'abord une solution mère de composition en NaCl et KCl identique à celle du PBS. Cette solution est non tamponnée, nous la noterons S1. Une solution acide S2 est obtenue à partir de S1 par ajout de gouttes de HCl concentré. Une solution basique S3 est obtenue à partir de S1 par ajout de gouttes de NaOH 0,1M.

solution	Composition en sel, molarité	pH
S1 (mère)	0,137M NaCl + 0,0027 KCl	5,5
S2	0,137M NaCl + 0,0027 KCl + HCl	2,5
S3	0,137M NaCl + 0,0027 KCl + NaOH	8,4

Tableau 11 : compositions des trois solutions utilisées pour l'étude du pH.

Ces trois solutions seront utilisées au chapitre V, §1.4.4.

6.2. Dispositif d'adsorption de (bio)molécules

Nos études nous ont mené à adsorber des molécules sur des électrodes massives de carbone vitreux ou sur des électrodes d'or d'un résonateur à quartz. Nous allons détailler ici le protocole d'adsorption. La concentration des molécules est de 10^{-4} mol.L⁻¹.

Pour l'adsorption sur les électrodes de carbone vitreux, nous disposons d'un tube que nous remplissons de 3 mL d'eau distillée. Nous ajoutons la quantité nécessaire de molécule pour atteindre une concentration de 10^{-4} mol.L⁻¹. L'électrode est ensuite plongée dans l'électrolyte et maintenue à température de 25 °C pendant 15 h.

Pour l'adsorption sur les électrodes d'or, la forme des supports de quartz (§ 1.2.) nécessite une adaptation du montage. Sur l'électrode nous posons une goutte de 150 μ L à laquelle nous ajoutons la molécule à adsorber. Nous ajoutons une protection en plastique autour de la zone d'adsorption afin d'assurer l'étanchéité. Le tout est maintenu à température dans un bain thermostaté (Figure 35).

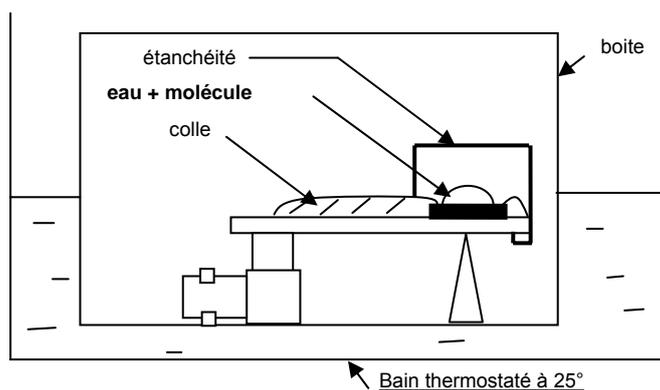


Figure 35 : dispositif pour adsorber de les molécules à la surface d'un film de poly(JUG-co-JUGA) déposé sur une électrode d'or d'un quartz de 9MHz.

Chapitre IV - Etudes préliminaires

1. Introduction

1.1. Les polymères conducteurs fonctionnalisés

Nous avons vu dans le chapitre bibliographique que les polymères conducteurs peuvent être utilisés comme couche sensible pour la détection spécifique d'oligonucléotides.

Les polymères conducteurs fonctionnalisés sont des polymères conducteurs auxquels une fonction chimique spécifique est ajoutée. Cette fonction chimique est choisie en fonction de l'utilisation ultérieure du polymère conducteur et a pour objectif de faciliter une ou plusieurs étapes de l'étude. Pour notre étude, l'étape de greffage des ODN sur la couche sensible passe par une fonctionnalisation du monomère par un groupement quinone (cf. Chapitre I, §3.2.).

1.2. Les copolymères conducteurs fonctionnalisés

Pour l'étude de la détection électrochimique de l'hybridation de brins d'ODN, il est d'usage de travailler avec des copolymères. En effet, la polymérisation directe d'un monomère fonctionnalisé conduit à une forte densité surfacique de la fonction spécifique (Figure 36.a)). Or, si cette densité surfacique est trop importante, les molécules à greffer ne pourront pas s'attacher à toutes les fonctions disponibles à cause de leur propre encombrement stérique. A l'inverse, la copolymérisation avec un monomère fonctionnalisé conduit à une densité surfacique des fonctions spécifiques beaucoup plus faible (Figure 36.b)).

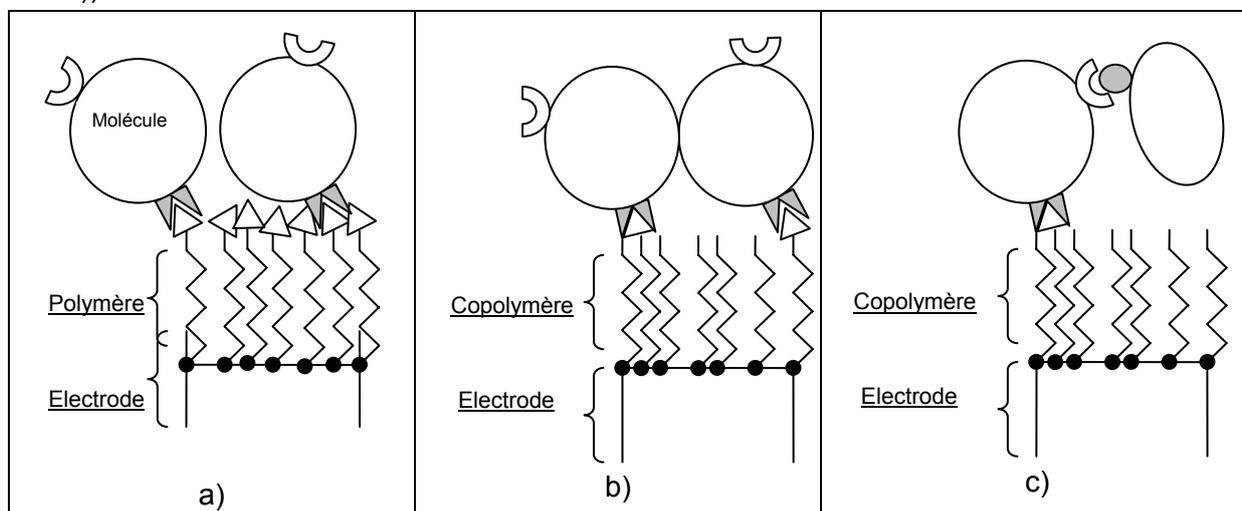


Figure 36 : a) schéma de principe du greffage de molécules sur un polymère fonctionnalisé déposé sur une électrode ; b) schéma de principe du greffage de molécules sur copolymère fonctionnalisé déposé sur une électrode ; c) schéma de principe de l'hybridation d'une molécule cible avec une molécule sonde greffée sur un copolymère fonctionnalisé.

L'utilisation d'un copolymère fonctionnalisé permet donc d'avoir un nombre de fonctions spécifiques adapté aux molécules à greffer. Par ailleurs, dans notre cas particulier, la détection de l'hybridation de brins d'ODN implique que la molécule sonde greffée sur le copolymère peut accueillir la molécule cible. Si les molécules greffées à la surface du copolymère sont accolées comme sur la figure 36.b) les molécules cibles ont peu de chance

de s'hybrider. Il convient donc d'espacer encore les fonctions spécifiques de façon à permettre l'hybridation des molécules (figure 36.c)).

Expérimentalement ce point a déjà été soulevé par plusieurs équipes travaillant sur la détection de l'hybridation de brins d'ODN à base de polymères conducteurs fonctionnalisés. Un exemple de copolymère fonctionnalisé est le poly(3-acide acétique pyrrole-co-3-N-hydroxyphthalimide pyrrole) mis au point par l'équipe Garnier¹³⁴. L'avantage de ce copolymère est qu'il est très électroactif en milieu aqueux tout en permettant le greffage de brins d'ODN sondes comportant une terminaison amine par substitution avec la fonction N-hydroxyphthalimide. Une valeur limite de la quantité d'ODN greffé sur le copolymère a été évaluée à 40% pour un ratio « acide acétique – N-hydroxyphthalimide » de 6 : 4.

1.3. Copolymère échangeur d'anions ou échangeur de cations ?

Garnier et al. a détecté l'hybridation de brins d'ODN par voltammétrie cyclique¹. Leur copolymère fonctionnalisé est à base de pyrrole et donc échangeur d'anions. L'électroactivité en milieu aqueux de ce copolymère révèle une oxydation autour de -0,2 V vs ECS. L'hybridation provoque une diminution du courant relatif au couple rédox de ce copolymère échangeur d'anions.

S'il s'agit d'une avancée indéniable, le niveau de détection reste faible d'une part et n'exclut pas les interactions non spécifiques d'autre part. Ces interactions non spécifiques ont principalement pour origine l'adsorption des brins d'ODN, longues chaînes macromoléculaires, à la surface de l'électrode. Cette adsorption se fait au détriment de l'hybridation des brins et surtout écrante la surface de l'électrode. Ce blocage de la surface est un facteur influençant le transfert des charges et participe à la diminution de l'intensité totale mesurée. Il n'est donc pas évident de distinguer clairement une diminution de l'intensité due à l'hybridation effective des brins d'ODN de celle due à une adsorption non spécifique.

Comme les brins d'ODN sont assimilables à des polyanions, une parade à ce risque d'adsorption non spécifique à la surface de l'électrode est d'utiliser un copolymère échangeur de cations à la place d'un copolymère échangeur d'anions et de travailler dans le domaine cathodique. En effet, le copolymère échangeur de cations libère des charges positives à l'interface copolymère/électrolyte. Cette augmentation entraîne le déplacement d'ions chargés négativement à l'interface. Cette augmentation de la concentration en charges négatives minimise l'adsorption par simple répulsion des brins d'ODN chargés négativement.

C'est pourquoi l'équipe Pham-Piro du laboratoire ITODYS a mis au point un polymère échangeur de cations. L'intérêt est double. Le premier est de limiter l'adsorption non spécifique à la surface. Le second est d'obtenir une augmentation du courant lors de l'hybridation des brins, au lieu de la diminution habituellement mesurée dans la littérature.

1.4. Copolymère fonctionnalisé échangeur de cations : la poly(JUG-co-JUGA)

Le copolymère échangeur de cations mis au point au laboratoire ITODYS est à base du monomère Juglone (5-hydroxy-1,4-naphtoquinone). Ce monomère conduit à un polymère, la poly(Juglone), échangeur de cations, qui présente l'avantage d'avoir la quinone comme marqueur électrochimique dont le potentiel redox est dans le domaine cathodique.

Rappelons brièvement que la fonction quinone a été l'un des premiers groupes fonctionnels utilisés dans la préparation d'électrodes modifiées par un polymère conducteur¹³⁵. L'inconvénient est que ces polymères à base de quinone s'avèrent peu stables en milieu aqueux et montrent une électroactivité faible. Par contre, dans le cas des poly(naphtoquinone) substitués les groupes quinones de la chaîne présentent une bonne électroactivité et stabilité en milieu aqueux¹³⁶ comme le confirme une étude préliminaire sur l'électrosynthèse de films de poly(5-amino-1,4-naphtoquinone)^{137,138}. Pour une application de type biocapteurs, l'utilisation de la Juglone s'avère appropriée^{139,140}.

L'introduction d'une unité de fonctionnalisation « acide carboxylique » comme précurseur de greffage a conduit à la synthèse de la Juglone Acide, (5-hydroxy-3 - acide thioacétique - 1,4-naphtoquinone). Les deux monomères, (5-hydroxy-1,4-naphtoquinone) et (5-hydroxy-3 - acide thioacétique - 1,4-naphtoquinone) sont copolymérisés en milieu organique. Comme nous l'avons expliqué précédemment (§ 1.2.), la densité de sites acide ne doit pas être trop importante. A cela s'ajoute une faible solubilité de la Juglone Acide. Le ratio de copolymérisation optimum obtenu est de 1 : 10. Ce nouveau polymère fonctionnalisé, la poly(5-hydroxy- 1,4-naphtoquinone-co-5-hydroxy- 3-acide thioacétique - 1,4-naphtoquinone) ou poly(JUG-co-JUGA), sera à la base de notre couche sensible.

La mise au point et les caractérisations de ce polymère ont été effectuées lors de la thèse de D.L. Tran au laboratoire¹³⁹. Une première approche de l'influence de l'hybridation sur la réponse électrochimique de la poly(JUG-co-JUGA) confirme bien que l'hybridation provoque une augmentation du courant d'oxydation¹⁴¹.

Dans un premier temps nous présenterons la voie de synthèse chimique du monomère de juglone acide ou JUGA. Ensuite, nous exposerons la méthode d'électrosynthèse du copolymère poly(JUG-co-JUGA). Enfin, nous proposerons une méthode de synthèse du polypyrrole dans le but de mener une étude comparative de comportement électrochimique entre ces deux matériaux.

2. Synthèse et électrosynthèse de la poly(JUG-co-JUGA)

2.1. Synthèse par voie chimique du monomère Juglone-Acide (JUGA)

La synthèse de la Juglone Acide est obtenue à partir du monomère de Juglone, (5-hydroxy-1,4-naphtoquinone). L'objectif est d'ajouter un groupement acide sur la juglone.

La substitution d'un dérivé thiolé sur le cycle aromatique^{142,143} (Figure 37) a ainsi pu être obtenu en une seule étape, à partir du produit commercial Aldrich 5-hydroxy-1,4-naphtoquinone (Juglone, JUG).

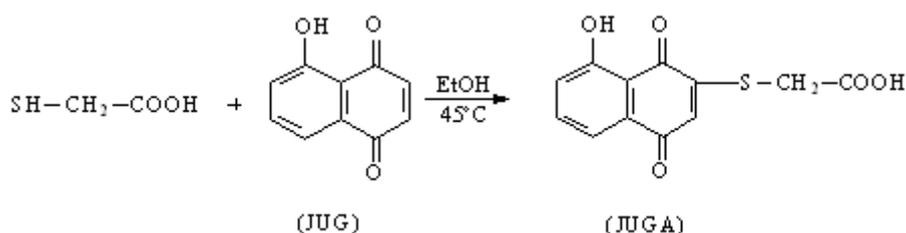


Figure 37 : réaction de synthèse du monomère de Juglone Acide à partir du monomère commercial de Juglone.

Le protocole est le suivant. Le 5-hydroxy-1,4-naphtoquinone est mélangé avec de l'acide thioglycolique (SH-CH₂-COOH) dans l'éthanol à 45°C pendant 15 min. Le mélange est laissé à 0-6°C dans un réfrigérateur pendant une nuit pour précipiter. Ensuite, le produit obtenu est filtré et lavé à l'éthanol absolu.

Ce produit est purifié. Le solide est dissout dans de l'éthanol à chaud en présence de charbon actif. Le filtrage donne un liquide orangé qui est ensuite précipité dans un évaporateur rotatif (Rotavap).

La structure de ce monomère Juglone Acide a déjà été établie¹³⁹. Nous vérifions par analyse élémentaire RMN ¹H que le composé synthétisé correspond bien à la Juglone Acide attendue (Figure 38).

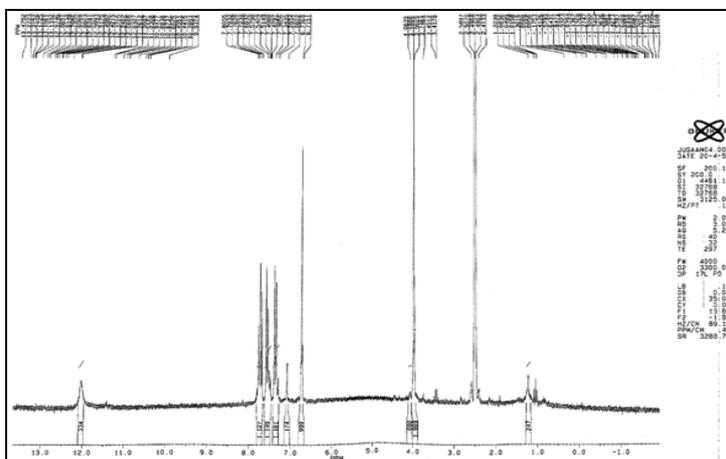


Figure 38 : spectre RMN ¹H de la Juglone Acide synthétisée

2.2. Electrogénération de la poly(JUG-co-JUGA)

2.2.1. Formation du film sur l'électrode

Le copolymère poly(JUG-co-JUGA) est obtenu par électro-oxydation dans la solution notée A : les deux monomères ($5 \cdot 10^{-2}$ M JUG, $5 \cdot 10^{-3}$ M JUGA) en milieu acétonitrile anhydre + 0,1 M perchlorate de lithium + 10^{-3} M naphthol sur des électrodes de carbone vitreux ou d'or par voltammétrie cyclique. L'intérêt du naphthol est d'amorcer l'électropolymérisation. Le domaine de potentiel est entre 0,4 V et 1,05 V et la vitesse de balayage est de 50 mV/s. Le voltammogramme caractéristique de l'électrodéposition est présenté figure 39.

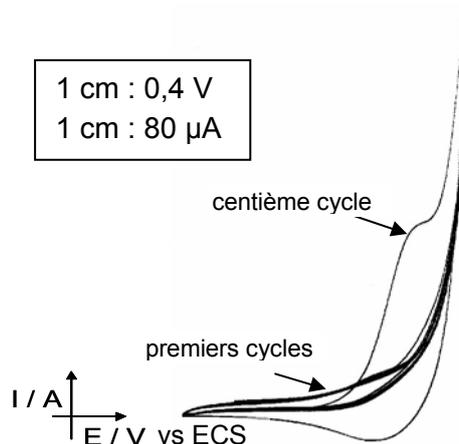


Figure 39 : voltammogrammes cycliques de la formation du copolymère poly(JUG-co-JUGA) sur une électrode d'or d'un résonateur à quartz.

La structure du copolymère ainsi formé est donnée figure 40. La proportion de Juglone Acide au sein du polymère de poly(JUG-co-JUGA) synthétisé a été évaluée à 10% mol/mol.



Figure 40 : structure du poly(JUG-co-JUGA).

2.2.2. Electroactivité du film de poly(JUG-co-JUGA) en milieu aqueux

Toute mesure électrochimique est précédée d'un équilibrage en milieu aqueux. En effet, le solvant organique et de l'électrolyte de perchlorate de lithium a imprégné le copolymère synthétisé en milieu acétonitrile anhydre. Or, travailler avec des brins d'ODN nécessite d'être en milieu aqueux. Avant toute étude avec les ODN il s'agit de changer le solvant (eau) et l'ion dopant. Pour cela nous effectuons un balayage en potentiel entre -0,7 V et -0,2 V à la vitesse de balayage 50 mV/s en milieu PBS (tampon phosphate défini au chapitre III, §7.1.).

Le voltammogramme est stable après une centaine de cycles, cela signifie que le solvant organique et l'électrolyte de perchlorate de lithium ont été relargués en solution. La figure 41 montre un exemple de voltammogramme d'équilibrage. Le pic d'oxydation et de réduction correspond au couple quinone/hydroquinone.

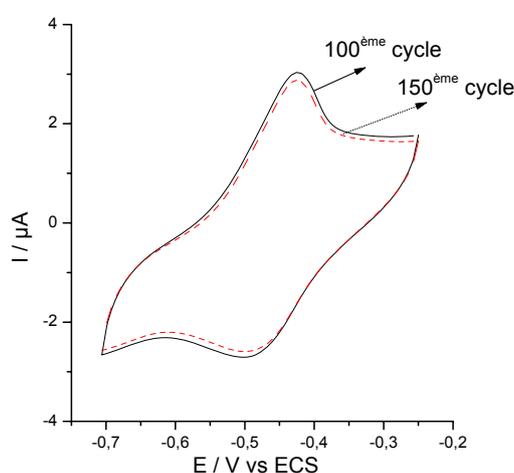


Figure 41 : voltammogramme cyclique d'un film de poly(JUG-co-JUGA) de 250 nm déposé sur un quartz Au ($s = 0,2 \text{ cm}^2$), milieu PBS, vitesse de balayage 50 mV/s, domaine de potentiel [-0,7 V ; -0,2 V].

2.2.3. Analyse MEB du film de poly(JUG-co-JUGA)

Dans la suite de l'étude, la réactivité électrochimique du film de poly(JUG-co-JUGA) sera étudiée grâce à une approche dite « électrogravimétrique » en utilisant une microbalance à quartz. Pour rester dans le régime gravimétrique (Chapitre II, § 2.2.2.) de la microbalance à quartz il est nécessaire que le film soit d'une épaisseur submicronique. Vérifions donc par analyse en microscopie à balayage électronique les épaisseurs de ce film en fonction du nombre de cycles déposés.

Nous déposons des films de différentes épaisseurs en faisant varier le nombre de cycles lors de l'électrosynthèse sur des électrodes d'or du résonateur à quartz. Jusqu'à cent cycles l'épaisseur varie linéairement en fonction du nombre de cycles (Figure 42.a)).

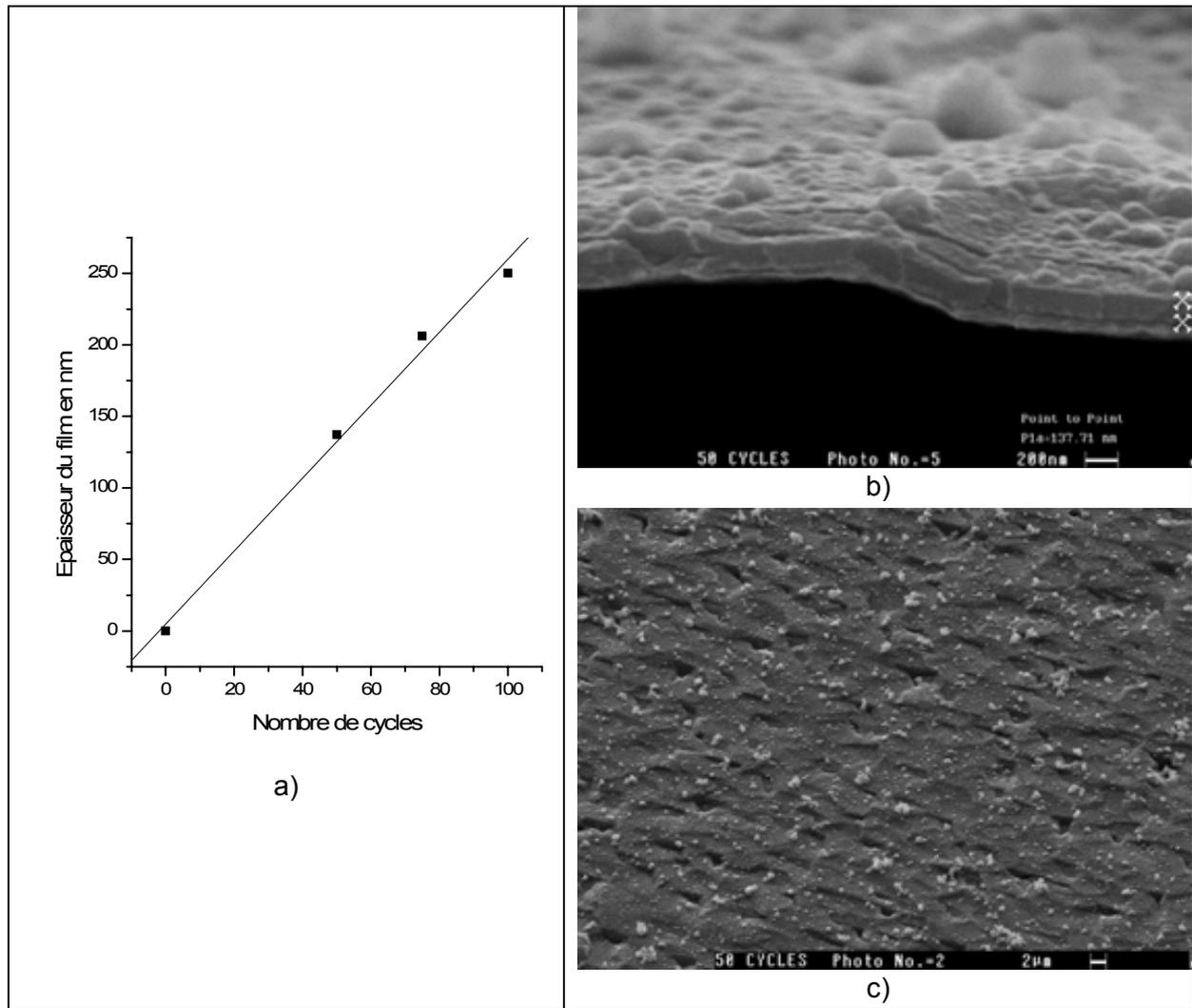


Figure 42 : a) épaisseur du film en fonction du nombre de cycles ; b) photographie MEB – vue en coupe d'un film de copolymère de poly(JUG-co-JUGA) de 50 cycles (137 nm) sur l'électrode d'or d'un résonateur à quartz ; c) photographie MEB – vue en surface d'un film de copolymère de poly(JUG-co-JUGA) de 50 cycles (137 nm) sur l'électrode d'or d'un résonateur à quartz .

Le film de poly(JUG-co-JUGA) obtenu est homogène (Figures 42.b) et 42.c)) et d'une épaisseur inférieure au micron. Par conséquent il est approprié pour une étude dans le domaine gravimétrique de la microbalance à quartz. Ce copolymère, homogène et submicronique, sera le support pour l'immobilisation des brins d'ODN et nous pourrons l'utiliser comme couche sensible. La technique d'électrogravimétrie mise au point par l'équipe Gabrielli-Perrot^{144,145} du laboratoire LISE va nous permettre d'étudier ces échanges ioniques à l'interface par des mesures couplées d'impédance et d'électrogravimétrie.

3. Calibration du dispositif de conversion fréquence/tension (électrogravimétrie)

3.1. Introduction

Avant d'effectuer ces mesures proprement dites, il est nécessaire de faire une calibration comme nous l'avons dit dans le précédent chapitre sur les techniques de mesures (Chapitre III - §4.3.2.).

En effet, la fonction de transfert électrogravimétrique finale et modélisée, $\frac{\Delta m}{\Delta E}(\omega)$ s'obtient à partir de la fonction de transfert mesurée par l'analyseur, $\frac{\Delta V_f}{\Delta V}(\omega)$, de la fonction de transfert du dispositif électronique de conversion fréquence/tension, et de la fonction de transfert du synthétiseur qui simule la microbalance lors des phases de calibration. Rappelons que ΔV_f correspond à la réponse du résonateur à quartz, issue du convertisseur fréquence/tension, créée par une perturbation sinusoïdale ΔV . Or si ce signal ΔV_f a une faible amplitude ou si le convertisseur fréquence/tension dispose d'une limite de détection inadéquate, la fonction de transfert $\frac{\Delta V_f}{\Delta V}(\omega)$ est difficilement mesurable.

Nous avons donc testé trois convertisseurs fréquence/tension disponibles au laboratoire afin d'optimiser la mesure de la fonction de transfert électrogravimétrique pour un film de poly(JUG-co-JUGA). Parmi ces trois convertisseurs fréquence/tension, deux sont des convertisseurs mis au point au laboratoire LISE : le PRT-0301 et le PRT-0302. Ce dernier peut être configuré de différentes manières puisqu'il est équipé de deux soustracteurs au choix (bascule7474 ou multiplieur) et de deux convertisseurs fréquence/tension (VFC ou PLL).

Pour les convertisseurs fréquence/tension réalisés par le LISE, le VFC (Voltage-to-Frequency Converter) compare le signal à convertir avec un signal de référence via un amplificateur opérationnel alors que la PLL (Phase Locked Loop, boucle à verrouillage de phase) est composée d'un comparateur de phase, d'un filtre passe-bas et d'un oscillateur commandé en tension (VCO). Dans la PLL, le signal modulé est appliqué à l'entrée de la PLL qui suit les variations de fréquences dues à la modulation. Un filtre passe-bas est calculé pour laisser passer les fréquences du signal modulant et laisse passer la valeur moyenne de ce signal. Le signal continu récupéré en sortie de filtre commande le VCO. Le signal en sortie du VCO est l'image du signal modulant de départ.

Le troisième convertisseur fréquence/tension est un appareil commercial Yokogawa. Le tableau 12 suivant donne les convertisseurs que nous avons à notre disposition.

Modèle	Type
PRT-0301	VFC110
PRT-0302	VFC110 PLL7046
Yokogawa	D/A 15 bits

Tableau 12 : Convertisseurs fréquence/tension testés.

Pour chacun de ces trois convertisseurs fréquence/tension nous avons mesuré la sensibilité, $\frac{\Delta V_f}{\Delta f_s}$, nécessaire au calcul de la fonction de transfert électrogravimétrique

$\frac{\Delta m}{\Delta E}(\omega)$. Cette sensibilité se décompose comme suit :

$$\frac{\Delta V_f}{\Delta f_s} = \frac{\Delta V_f}{\Delta e} \cdot \frac{\Delta e}{\Delta f_s} \quad (40)$$

où Δe est la perturbation sinusoïdale imposée lors de la calibration, $\frac{\Delta V_f}{\Delta e}(\omega)$ la mesure de la

fonction de transfert globale et $\frac{\Delta e}{\Delta f_s}(\omega)$ l'inverse de la fonction de transfert du synthétiseur

simulant la microbalance. Commençons par effectuer la calibration du synthétiseur. Puis, mesurons la sensibilité du montage avec chacun de ces trois convertisseurs fréquence/tension.

3.2. Calibration du synthétiseur

Le synthétiseur HP 8647A permet de simuler la microbalance à quartz. La calibration de cet appareil a été décrite et réalisée au chapitre III - § 4.3.3..

Comme nous travaillons avec un réglage de profondeur de modulation de 100 Hz la valeur de $\frac{\Delta f_s}{\Delta e}$ correspondante est de 97,75 Hz.V⁻¹. Nous avons donc $\frac{\Delta e}{\Delta f_s}(\omega) =$

$\frac{1}{97,75} = 10,2 \cdot 10^{-3}$ V.Hz⁻¹. Nous considérons que cette valeur est indépendante de la fréquence de modulation.

3.3. Sensibilité $\frac{\Delta V_f}{\Delta f_s}$ en fonction du convertisseur fréquence/tension

Le schéma figure 43 présente de façon simplifiée le montage permettant de déterminer la fonction de transfert $\frac{\Delta V_f}{\Delta e}(\omega)$, mesure de calibration globale. Pour plus de détails sur le principe de mesure, se référer au Chapitre III, § 4.3.2, figure 29.

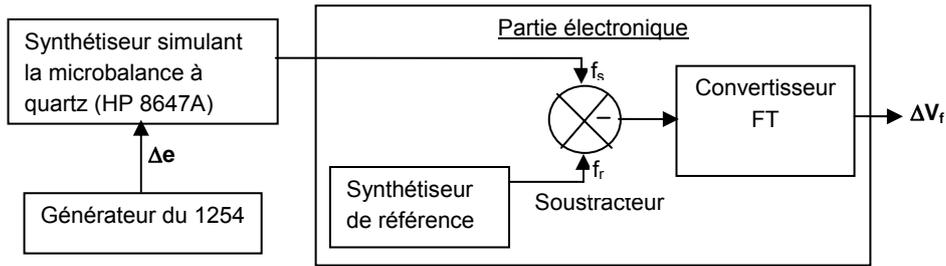


Figure 43 : schéma de principe du montage de calibration de la partie électronique.

Nous avons réalisé cette mesure de $\frac{\Delta V_f}{\Delta e}(\omega)$ pour chacun des trois convertisseurs fréquence/tension présentés au §3.1 afin de déterminer lequel est le plus adapté pour nos mesures.

La figure 44 donne l'exemple de la fonction de transfert $\frac{\Delta V_f}{\Delta e}(\omega)$ avec le convertisseur fréquence/tension PRT-0302 dans la configuration bascule 7474-VFC110. Aux plus basses fréquences le module $\frac{\Delta V_f}{\Delta e}$ est égal à 0,39. Cette zone correspond à la plage d'utilisation du convertisseur fréquence-tension : 10^{-3} Hz-10 Hz.

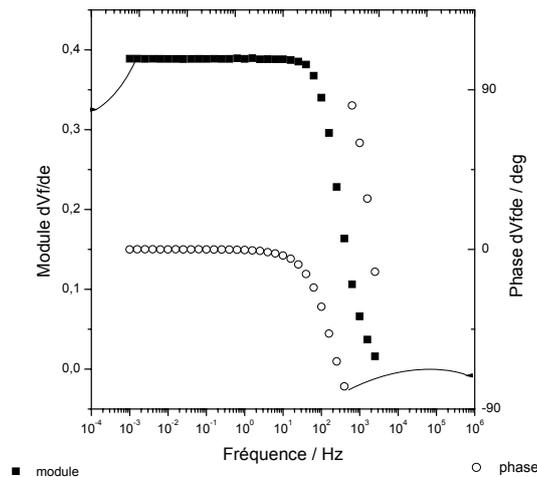


Figure 44 : mesure du module et de la phase gravimétrique lors d'une calibration globale avec le convertisseur PRT-0302 (bascule7474-VFC110).

Nous avons maintenant tous les éléments permettant de déterminer la fonction de transfert de la partie électronique (ou sensibilité du traitement analogique) définie par l'équation (40). Dans notre exemple détaillé, nous avons :

$$\frac{\Delta V_f}{\Delta f_s} = \frac{\Delta V_f}{\Delta e} \cdot \frac{\Delta e}{\Delta f_s} = 0,39 \cdot \frac{1}{97,75} = 10,2 \cdot 10^{-3} \text{ V.Hz}^{-1}$$

Le tableau 13 récapitule les valeurs des différentes fonctions de transfert déterminées pour chaque convertisseur fréquence/tension testé.

Convertisseur	Circuit électronique	Mesure de $\frac{\Delta V_f}{\Delta e} (\omega)$	Sensibilité : $\frac{\Delta V_f}{\Delta f_s}$ (mV.Hz ⁻¹)	Plage d'utilisation (Hz)
PRT-0301	VFC110-bascule7474	0,99	10,2	10 ⁻³ -1
PRT-0302	VFC110-bascule7474	0,99	10,2	10 ⁻³ -10
	VFC110-multiplieur	0,80	8,1	10 ⁻³ -10
	PLL7046-bascule7474	0,67	6,8	10 ⁻³ -100
	PLL7046-multiplieur	0,67	6,8	10 ⁻² -100
Yokogawa	D/A	1	50	10 ⁻³ -1

Tableau 13 : mesure de la sensibilité des convertisseurs fréquence-tension

Une vérification de ces valeurs est aussi réalisable en « calibrant » manuellement chaque convertisseur. Pour effectuer cette calibration nous imposons par l'intermédiaire d'un synthétiseur de référence (Marconi) et d'un synthétiseur simulant la microbalance (HP 8647A) une variation de fréquence, $\Delta f = f_w - f_r$ (cf. chapitre III, figure 27), et nous récupérons via un oscilloscope la valeur de ΔV correspondante en sortie de convertisseur (Figure 45). Le rapport $\frac{\Delta V}{\Delta f}$ donne la sensibilité cherchée. Cette calibration manuelle et directe donne des sensibilités identiques à celles présentées dans le tableau 13 pour chacun des convertisseurs.

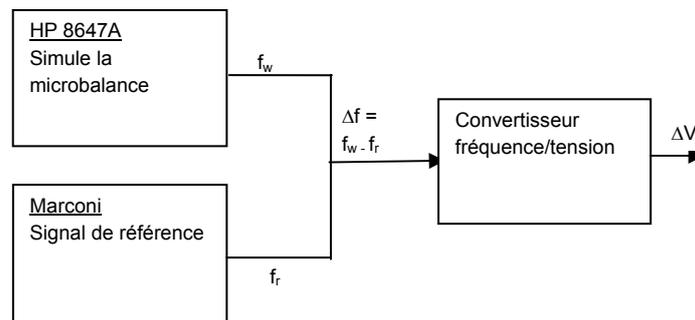


Figure 45 : principe de calibration manuelle d'un convertisseur fréquence/tension.

Aux vues des résultats du tableau 13 et de façon à combiner la meilleure sensibilité et plage d'utilisation du convertisseur nous choisissons le PRT-0302 avec la configuration bascule 7474-VFC110.

3.4. Correction de la composante continue et dérive éventuelle

Un dispositif de décalage électronique a été mis au point et vient s'intercaler entre la sortie du convertisseur et l'entrée de l'analyseur de fonction de transfert. Il permet d'annuler la composante continue de notre signal et d'effectuer la mesure sur la composante alternative avec la meilleure sensibilité possible. D'autre part, les éventuelles dérives de la fréquence de la microbalance, lors de la mesure de la fonction de transfert

électrogravimétrique $\frac{\Delta m}{\Delta E}(\omega)$, peuvent aussi être corrigées. L'intérêt est donc de pouvoir rattraper électroniquement la dérive éventuelle de la fréquence microbalance entre chaque mesure, à une fréquence de modulation donnée.

Enfin, un gain 10 en sortie de convertisseur a été ajouté. L'intérêt paraît évident, il s'agit d'augmenter l'amplitude du signal ΔV_f mesuré et par conséquent, la sensibilité du convertisseur fréquence/tension. Il est à noter que lors des simulations effectuées pour trouver une fonction de transfert théorique correspondant au résultat expérimental, nous tenons compte de ce facteur 10. La figure 46 suivante présente le nouveau schéma de principe de ce montage de calibration et la figure 47 donne la calibration finale du montage complet.

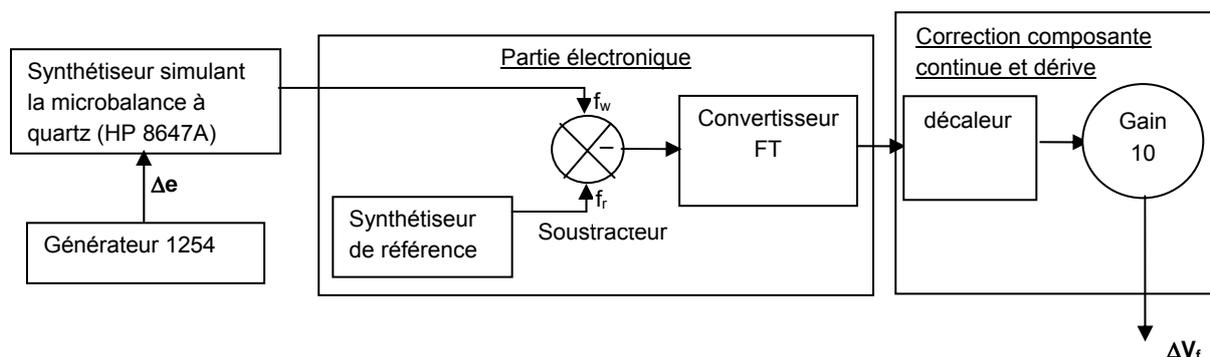


Figure 46 : schéma de principe du montage de calibration de la partie électronique avec correction composante continue et dérive éventuelle.

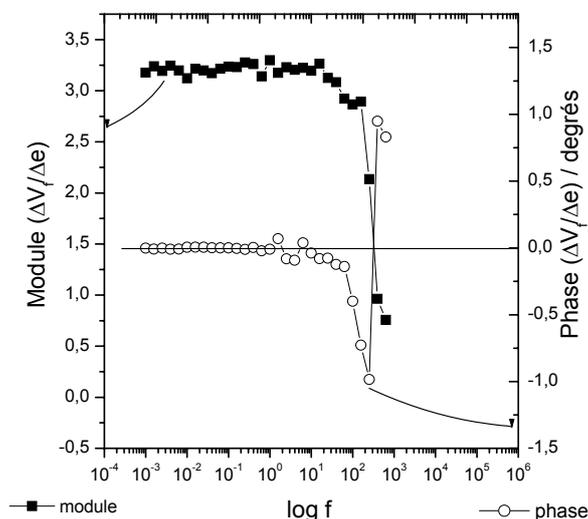


Figure 47 : mesure du module et de la phase gravimétrique lors d'une calibration

La nouvelle sensibilité obtenue est de $30 \text{ mV} \cdot \text{Hz}^{-1}$, la plage d'utilisation du convertisseur fréquence-tension de 10^{-3} - 10 Hz sans correction.

4. Etude de référence : film de polypyrrole

4.1. Introduction

Comme nous l'avons vu, le pyrrole est le monomère le plus utilisé pour la mise au point de polymère ou copolymère dédié à la détection de brins d'ODN. Nous avons donc effectué une étude préliminaire sur un film de polypyrrole afin de tester nos montages d'électrogravimétrie.

Depuis la découverte du caractère conducteur de certains polymères, le polypyrrole fait partie des polymères conducteurs les plus étudiés du fait de sa bonne conductivité et de sa bonne stabilité en milieu aqueux. Ces films de polypyrrole ont été largement étudiés et plus particulièrement leurs phénomènes de compensation de charge qui accompagnent les différents processus électrochimiques. Il en est ressorti que les échanges anioniques ou cationiques qui en résultent dépendent :

- des conditions de polymérisation et en particulier du choix du contre-ion ;
- de la nature des ions présents dans l'électrolyte ainsi que leur concentration ;
- de l'épaisseur du film polymère ou du vieillissement de celui-ci.

Le comportement d'un polymère conducteur peut être très différent suivant le choix de ces paramètres.

De plus, pour conserver l'électroneutralité, l'application d'un potentiel sur le polymère entraîne soit :

- l'oxydation du polymère par insertion d'anions ou expulsion de cations ;
- la réduction du polymère par insertion de cations ou expulsion d'anions ;

Il est à noter que nous pouvons avoir l'insertion et l'expulsion simultanée d'anions et de cations.

Ces caractéristiques du polypyrrole ont été montrées le plus souvent par des mesures de voltammétrie cyclique¹⁴⁶ ou microbalances à quartz. Nous allons donc nous attacher à comparer ces résultats avec ceux obtenus avec les mesures d'électrogravimétrie¹⁴⁵.

4.2. Electrogénération d'un film de polypyrrole sur un résonateur à quartz

Le pyrrole est acheté chez Merck et est distillé au laboratoire.

Le dépôt du polypyrrole est réalisé par voie galvanostatique avec un montage à deux électrodes (Figure 48). Un potentiostat PGSTAT100 réglé en mode galvanostatique, permet d'appliquer un courant de 200 μ A pendant 60 s dans une solution de 0,1 M NaCl + 0,3 M Py.

Le polypyrrole ainsi déposé forme une couche homogène bleutée sur l'électrode d'or du quartz. L'ordre de grandeur de l'épaisseur de ce type de dépôt a été vérifié par microscopie à balayage électronique et est d'environ 200 nm.

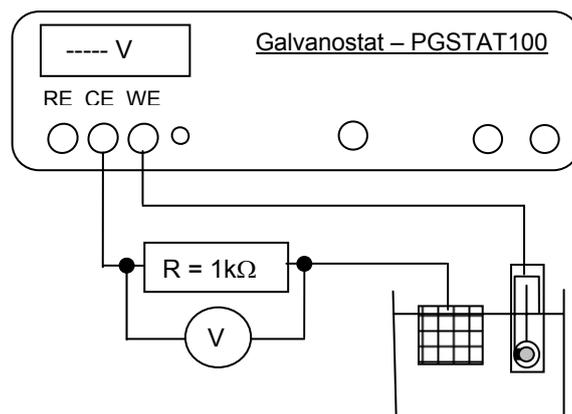
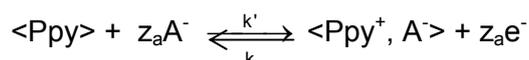


Figure 48 : Dispositif expérimental de dépôt du polypyrrole sur une électrode d'or par voie galvanostatique.

4.3. Influence des espèces présentes en solution

Le polypyrrole (Ppy) favorise les anions comme ions compensateurs de charge à l'oxydation. Une fois synthétisé, le Ppy est donc dopé par des anions, l'équation d'oxydoréduction correspondante est :



où A^- symbolise l'anion compensateur de charge. Dans notre cas, le Ppy est dopé par des anions Cl^- .

Lorsque l'étude de la réponse électrochimique du polymère est réalisée dans un électrolyte différent de celui de la synthèse, il peut y avoir une modification du dopage du film. Nous choisissons de travailler avec trois solutions à 0,1 M : NaCl, LiCl et NaI. Les masses molaires des cations et des anions choisis étant très différentes (Tableau 14) l'intérêt est de comparer l'éventuelle influence de la masse des cations ou anions sur le processus de compensation de charge du Ppy.

	Anions		Cations	
	Cl^-	I^-	Na^+	Li^+
M (g.mol^{-1})	35,5	127	23	7

Tableau 14 : masses molaires des anions et cations considérés.

Afin d'estimer les potentiels d'oxydation et de réduction du polypyrrole, nous avons réalisé au préalable une voltammétrie cyclique en milieu NaCl 0,1M à différentes vitesses de balayages (Figure 49).

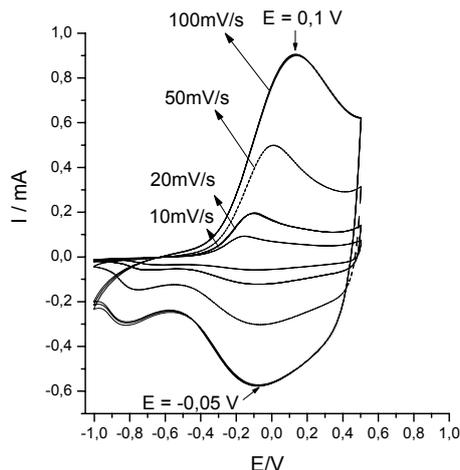


Figure 49 : voltammogrammes d'un film de polypyrrole déposé galvanostatiquement sur quartz Au à différentes vitesses de balayage ($100 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$, $50 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$, $20 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$, $10 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$), milieu NaCl 0,1M .

Nous travaillons dans un premier temps au potentiel $E = +0,1 \text{ V}$ vs ECS lieu de la première oxydation du polypyrrole. La figure 50 montre l'impédance électrochimique, $\frac{\Delta E}{\Delta I}(\omega)$, dans les trois électrolytes choisis : NaCl 0,1 M ; NaI 0,1 M et LiCl 0,1 M.

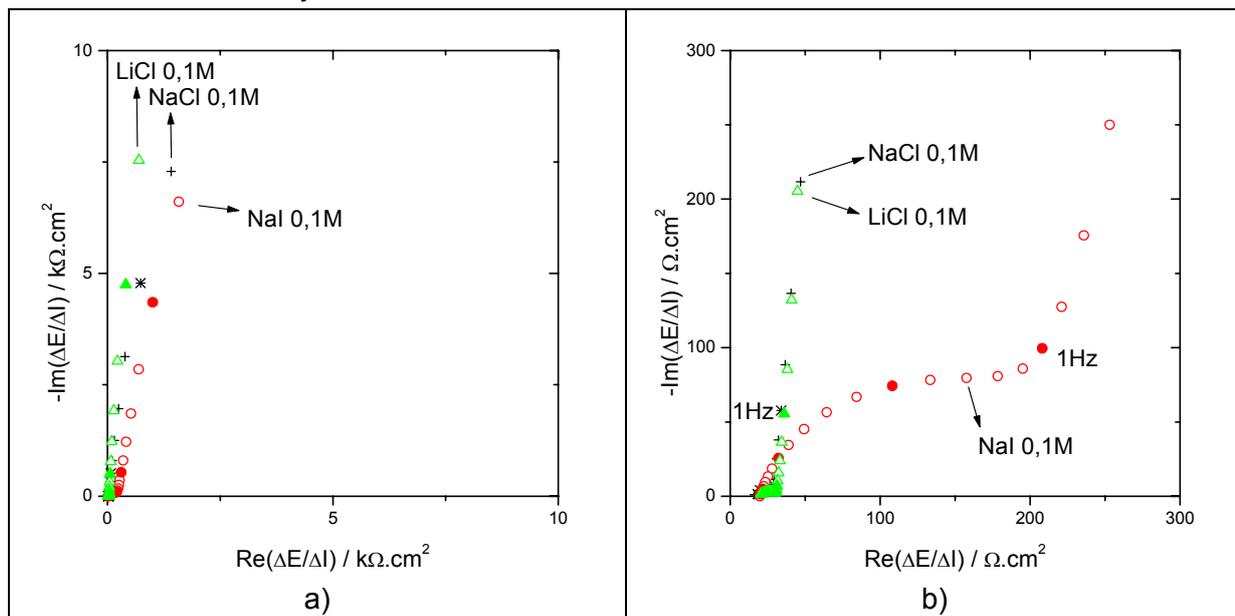


Figure 50 : a) impédance électrochimique, $\frac{\Delta E}{\Delta I}(\omega)$, d'un film de polypyrrole déposé un quartz Au, à $E = +0,1 \text{ V}$ vs ECS dans + NaCl 0,1 M ; \circ NaI 0,1 M ; Δ LiCl 0,1 M ; b) zoom aux hautes fréquences de cette mesure d'impédance électrochimique.

Quel que soit les espèces en solution, l'impédance électrochimique $\frac{\Delta E}{\Delta I}(\omega)$ (Figure 50) ne présente pas de pente à 45° aux moyennes fréquences. Nous pouvons en déduire qu'il n'y a pas de phénomène de diffusion au sein du film de polypyrrole ou dans la solution. De plus, le diamètre de la boucle haute fréquence est plus important dans NaI que dans NaCl et

LiCl. Nous pouvons en conclure que la résistance de transfert ionique à l'interface film/solution est plus importante en milieu NaI.

L'analyse de la fonction de transfert électrogravimétrique doit nous fournir une information supplémentaire à savoir la nature de l'ion ou des ions participant au processus de compensation de charge du polymère. L'explication complète a été détaillée au chapitre II paragraphe 3.2.. Rappelons toutefois que la localisation de la courbe obtenue expérimentalement dans le cadran I, II ou III détermine la nature de l'ion (anionique ou cationique) (Figure 51).

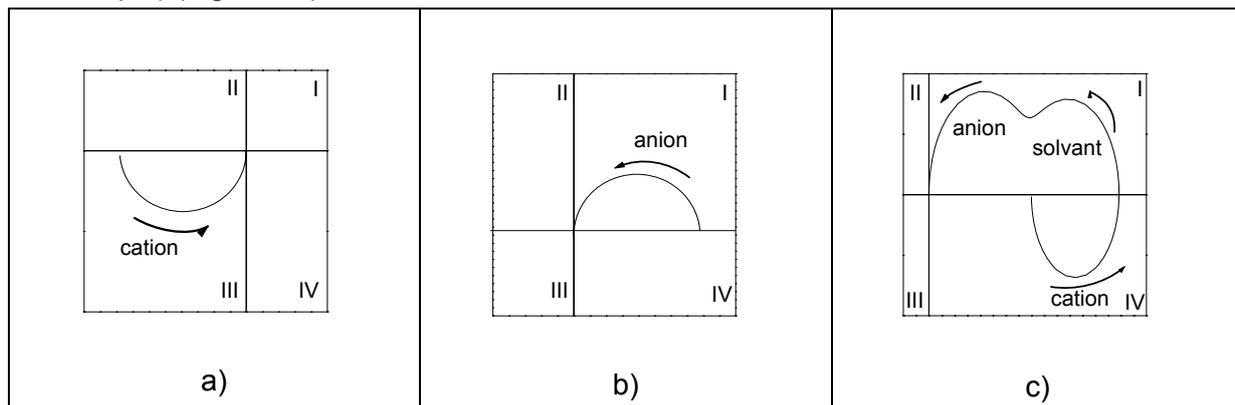


Figure 51 : allure caractéristique de la fonction de transfert $\frac{\Delta m}{\Delta E}(\omega)$ (en $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{V}^{-1}$) a) de la participation d'un cation – troisième cadran ; b) de la participation d'un anion – premier cadran ; c) exemple de participation de trois espèces –cation, solvant, anion.

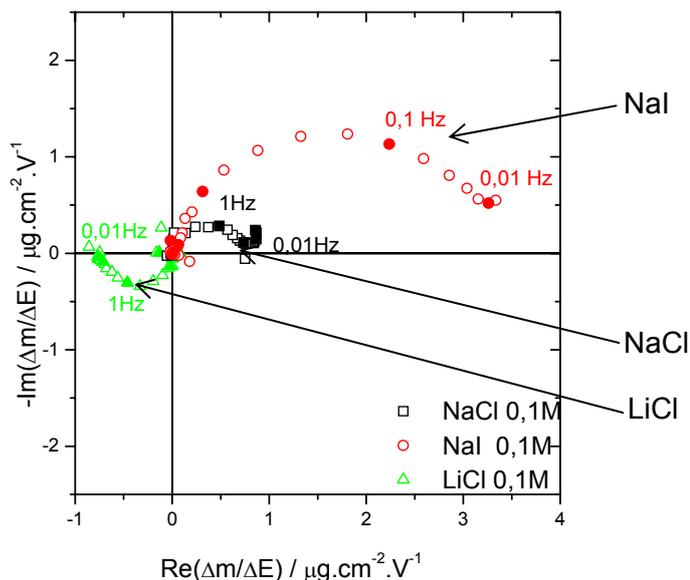
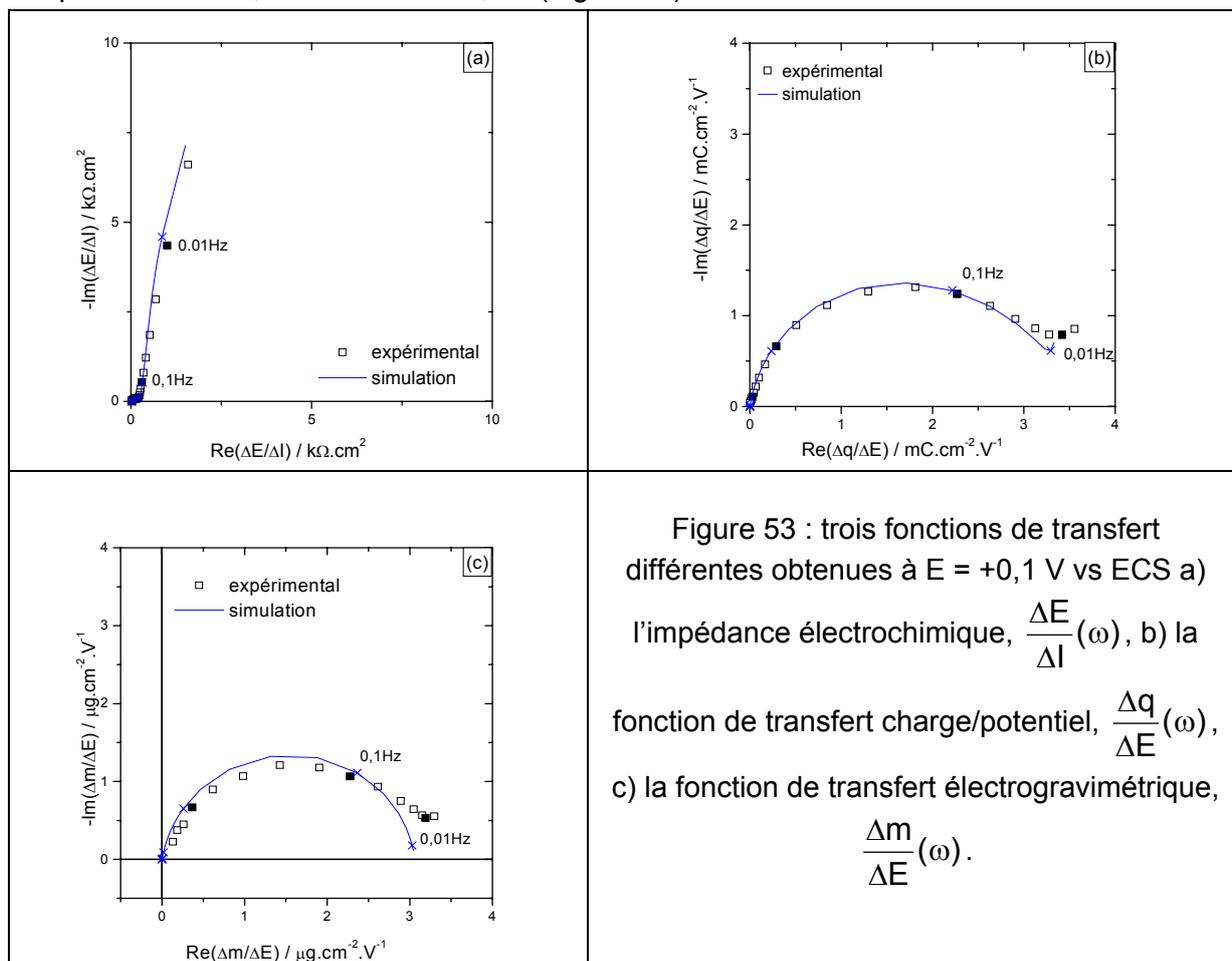


Figure 52 : fonction de transfert électrogravimétrique, $\frac{\Delta m}{\Delta E}(\omega)$, pour un film de polypyrrole déposé sur l'électrode d'or d'un résonateur à quartz, à $E = +0,1\text{V}$ vs ECS dans \square NaCl 0,1 M ; \circ NaI 0,1 M ; \triangle LiCl 0,1 M.

L'allure de la fonction de transfert électrogravimétrique $\frac{\Delta m}{\Delta E}(\omega)$ expérimentale (Figure 52) nous permet de déterminer le rôle des ions dans chacune des solutions testées lors de l'application d'une perturbation sinusoïdale de faible amplitude autour du potentiel $E = +0,1V$ vs ECS. Dans la solution de NaI la courbe de $\frac{\Delta m}{\Delta E}(\omega)$ est dans le premier cadran, l'anion I^- participe majoritairement à la compensation de charge du polymère conducteur. De même pour les ions Cl^- dans la solution NaCl. De plus le diamètre d'une boucle caractérise la capacité du film pour ce transfert ionique et aussi la masse molaire de l'ion impliqué. Comme la masse molaire des deux anions est différente, le diamètre des deux boucles varie bien et va dans le sens des masses molaires anioniques croissantes. Inversement, dans la solution de LiCl nous observons que la boucle se situe dans le troisième cadran. Le cation Li^+ est ici directement impliqué. La similitude des diamètres entre la boucle dans NaCl et LiCl s'explique en partie par la solvation des ions Li^+ par quatre molécules d'eau.

Suite à cette analyse qualitative des diagrammes d'impédance et d'électrogravimétrie, il est possible d'obtenir des informations cinétiques et thermodynamiques plus précises. A partir de la théorie présentée au chapitre II, paragraphe 3, nous effectuons une simulation pour ajuster les courbes théoriques à celles obtenues expérimentalement. Voici une comparaison entre les résultats expérimentaux et ceux simulés pour un film de polypyrrole au potentiel de +0,1V et dans NaI 0,1M (Figure 53).



Nous pouvons voir aisément une bonne adéquation entre les résultats expérimentaux et les courbes théoriques. Dans cette simulation, les masses des espèces trouvées correspondent bien au sodium Na^+ et au iodure I^- .

Le premier diagramme, (a), est celui de l'impédance électrochimique, déjà commenté ci-dessus. Rajoutons que la pente qui monte verticalement aux basses fréquences correspond au transfert ionique entre la solution et le film polymère. Le second diagramme, (b), est la fonction de transfert charge/potentiel. Il donne une indication sur le nombre d'espèces chargées qui participent au processus électrochimique. La présence d'une boucle unique sur ce diagramme tendrait à montrer à première vue qu'une seule espèce chargée est impliquée. La nature de cette espèce est dévoilée par la fonction de transfert électrogravimétrique dans le diagramme (c). Il s'agit d'un anion car la réponse est située dans le premier cadran.

Outre la détermination de la nature des ions impliqués, ces simulations donnent aussi les paramètres caractéristiques de la cinétique d'insertion/expulsion des ions. En effet, les fonctions de transfert $\frac{\Delta E}{\Delta I}(\omega)$ et $\frac{\Delta q}{\Delta E}(\omega)$ permettent d'estimer les paramètres G_i et K_i de chaque espèce participant au processus. Les valeurs des K_i obtenues à $-0,1$ V sont reportées figure 54.

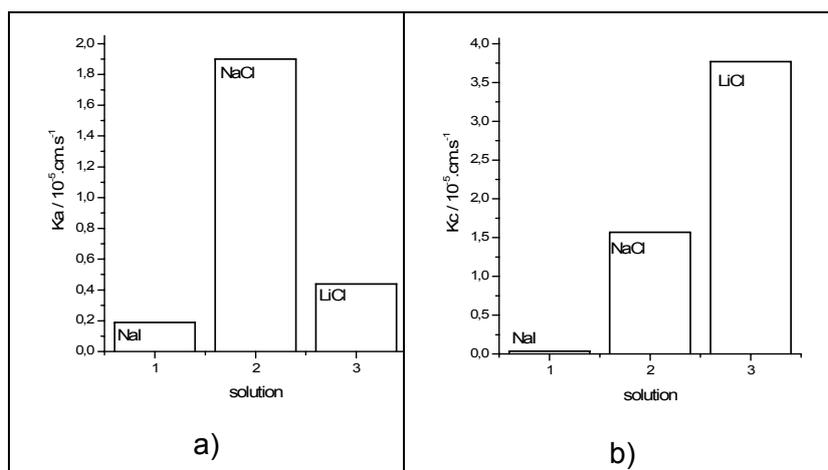


Figure 54 : au potentiel $-0,1$ V a) valeur de K_a dans NaI 0,1 M, NaCl 0,1M et LiCl 0,1 M ; b) valeur de K_c dans NaI 0,1 M, NaCl 0,1M et LiCl 0,1 M.

La cinétique de transfert des anions est plus rapide en milieu NaCl 0,1M (54.a)) qu'en milieu NaI. Cela se retrouve sur les fréquences caractéristiques de chaque boucle, figure 53 (1 Hz et 0,1 Hz par exemple). Nous pouvons en déduire que les anions Cl^- , de masse plus faible que les anions I^- , sont plus mobiles pour participer à la compensation de charge du polypyrrole que les I^- . Par ailleurs, en milieu LiCl c'est le cation Li^+ qui intervient d'abord dans le processus de compensation de charge (figures 53 et 54.b) ; ce cation est favorisé par rapport à l'anion de par sa plus petite taille.

La nature des ions intervenant dans le processus de compensation de charge du polymère dépend de sa capacité d'échange anionique (pour la polypyrrole) mais aussi de leur masse qui influe sur leur rapidité de déplacement vers l'interface.

4.4. Influence de la concentration en NaCl

Nous avons mis en évidence l'importance du choix de l'électrolyte de test par rapport à l'implication des espèces ioniques dans le processus de compensation de charge du polypyrrole. Etudions maintenant l'influence de la concentration d'un même électrolyte sur l'impédance électrochimique couplée à l'électrogravimétrie. Deux concentrations de NaCl sont présentées ici : 0,01 M et 0,1 M.

La figure 55 présente les impédances électrochimiques au potentiel +0,2 V pour les deux concentrations 0,01 M et 0,1 M. A 0,01 M. La résistance de transfert de charges, visible à haute fréquence, augmente quand la concentration diminue. L'insertion des ions est a priori plus difficile et plus lente. Le courant d'échange est donc plus faible. Nous retrouvons aussi la pente quasi verticale aux basses fréquences caractéristique des échanges ioniques à l'interface film/solution.

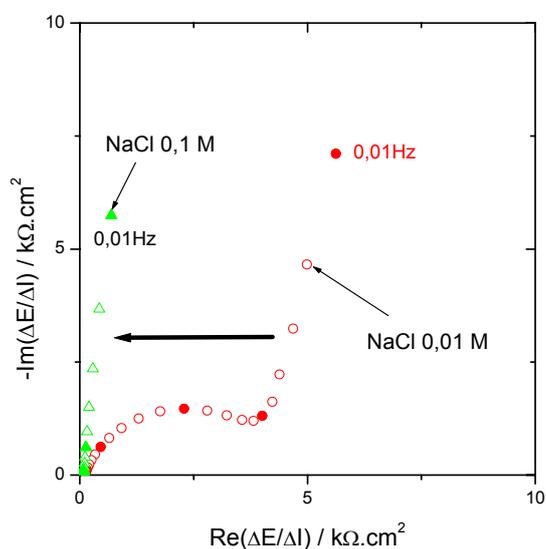


Figure 55 : impédance électrochimique, $\frac{\Delta E}{\Delta I}(\omega)$, pour une électrode d'or avec film de polypyrrole à un potentiel de +0,2V vs ECS dans \circ NaCl 0,01 M ; Δ NaCl 0,1 M.

La figure 56.a) montre la réponse de la fonction de transfert électrogravimétrique pour ces deux mêmes concentrations en NaCl.

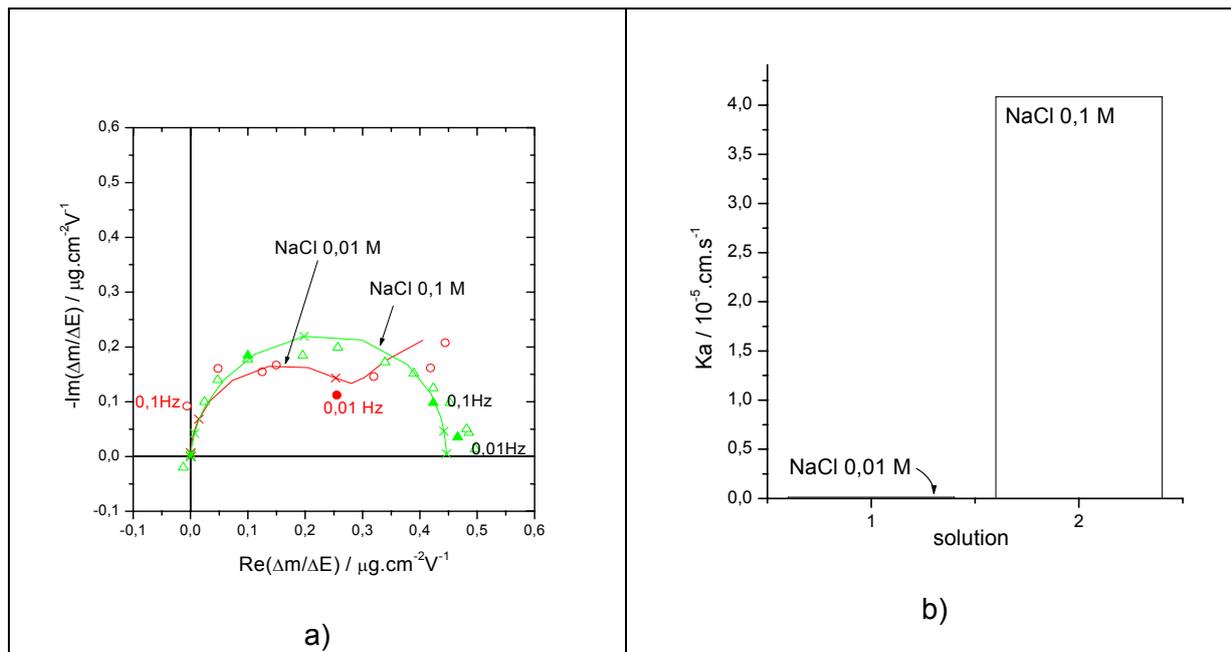


Figure 56 : a) fonction de transfert électrogravimétrique, $\frac{\Delta m}{\Delta E}(\omega)$, pour une électrode Au/Ppy à +0,2V vs ECS dans \circ NaCl 0,01 M ; Δ NaCl 0,1 M ; b) coefficient cinétique K_a obtenu par ajustement avec le modèle pour les deux concentrations en NaCl.

Sur la figure 56, la fonction de transfert électrogravimétrique $\frac{\Delta m}{\Delta E}(\omega)$ montre, pour chacune des concentrations, l'insertion de l'anion Cl^- dans le film polymère puisque la courbe se situe dans le premier quadrant. Cette fois-ci la masse molaire de l'anion est identique pour les deux boucles, la variation de diamètre de ces boucles est à mettre au crédit de la cinétique, (coefficient K_a – figure 56.b)) et par conséquent de la concentration. Là encore, les fréquences caractéristiques de chaque boucle confirme cette remarque. Une concentration plus importante facilite donc les échanges ioniques à l'interface film/solution.

5. Conclusion

Cette partie a permis d'abord de définir l'élaboration du poly(JUG-co-JUGA), ses caractéristiques dont son électroactivité et sa stabilité en milieu aqueux et d'optimiser ensuite le montage d'électrogravimétrie en étudiant le dispositif de conversion fréquence-tension. Enfin, une étude par impédance couplée à l'électrogravimétrie d'un film de polypyrrole a permis de mettre en avant quelques paramètres régissant la compensation de charges d'un polymère conducteur.

Nous sommes maintenant en mesure d'étudier par impédance couplée à l'électrogravimétrie la poly(JUG-co-JUGA) puis de déterminer les interactions de ce film avec des ODN.

Chapitre V – Etude des interactions de la poly(JUG-co-JUGA) avec des ODN

1. Etude électrochimique du film de poly(JUG-co-JUGA)

1.1. Introduction

Nous allons dans un premier temps établir les réponses électrochimiques du film de poly(JUG-co-JUGA) déposé sur une électrode de carbone vitreux. Le comportement de ce polymère sera étudié par trois méthodes successives : la voltammétrie cyclique (VC), la voltammétrie à vague carrée ou « square wave voltametry » (SWV), et l'impédance électrochimique. Toutes ces techniques ont été détaillées d'un point de vue théorique (Chapitre II) et d'un point de vue pratique (Chapitre III).

Ensuite, l'étude se poursuivra par une optimisation de l'électrodéposition du film de poly(JUG-co-JUGA) sur de nouvelles électrodes. La caractérisation des échanges ioniques à l'interface film/solution par la technique d'électrogravimétrie nous amène à travailler avec des résonateurs à quartz munis d'électrodes d'or. Ce nouveau support est, électrochimiquement, de nature différente de celui utilisé dans les études précédentes, le carbone vitreux¹⁴⁷.

Une fois le dépôt du polymère adapté à ces résonateurs à quartz, nous étudierons l'influence de l'électrolyte sur la réponse du film afin de caractériser le comportement du film nu à l'interface film/solution.

Rappelons que l'étude s'effectue, pour chaque film testé, selon trois étapes successives :

- Formation du film de poly(JUG-co-JUGA) par électrodéposition en milieu organique anhydre sur électrode de carbone vitreux ou sur l'électrode d'or du quartz.
- Equilibration du film de poly(JUG-co-JUGA) en milieu aqueux
 - o Par voltammétrie cyclique pour activer les couples redox quinone/hydroquinone,
 - o Par SWV pour mesurer l'intensité du courant d'oxydation du couple hydroquinone/quinone.
- Caractérisation du film de poly(JUG-co-JUGA) par des mesures d'impédance couplées à l'électrogravimétrie en milieu aqueux.

1.2. Etude de la poly(JUG-co-JUGA) sur une électrode massive de carbone vitreux

1.2.1. Réponse électrochimique d'un film de poly(JUG-co-JUGA) en milieu PBS

La maîtrise du dépôt d'un film de poly(JUG-co-JUGA) sur une électrode de carbone vitreux, de même que sa stabilité en milieu aqueux, se vérifient par une réponse caractéristique en voltammétrie cyclique et en SWV. Ces résultats ont déjà été énoncés dans la thèse de D.L. Tran¹⁴⁸.

Le groupe quinone présent dans le copolymère de poly(JUG-co-JUGA), synthétisé à partir de la solution A (chapitre IV, §2.2.1.), a une fonction de transducteur électrochimique. Pour que ce transducteur joue son rôle de façon optimale dans le biocapteur il est nécessaire d'équilibrer le film en milieu aqueux. Nous utilisons pour ce faire la méthode de voltammétrie cyclique (Figure 57.a)) : le film est équilibré en milieu PBS (Phosphate Buffered Saline, pH = 7,4, cf. Chapitre III §7.1.) entre les potentiels -0,9 V et -0,1 V vs ECS.

Cette réponse en voltammétrie cyclique est caractéristique du film de poly(JUG-co-JUGA) en milieu PBS¹⁴⁸. En effet, elle présente deux pics d'oxydoréduction correspondants à la première et à la deuxième oxydation du groupe quinone/hydroquinone à pH 7,4. Cette réponse est stable dans le temps (cf. chapitre IV, §2.2.2).

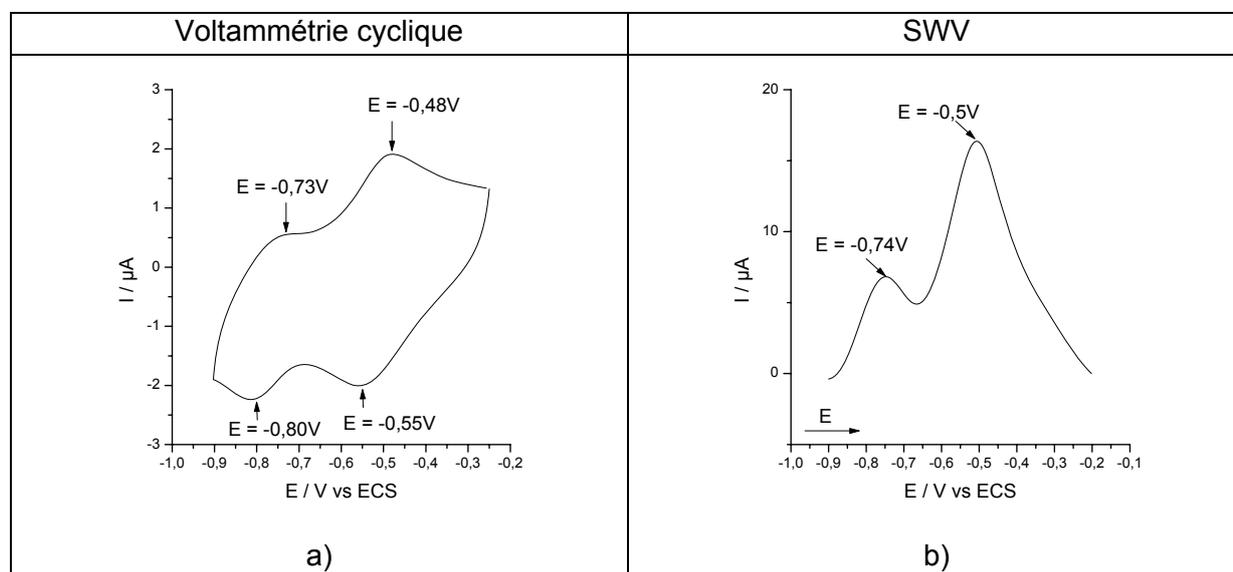


Figure 57 : réponse électrochimique d'un film de poly(JUG-co-JUGA) de 130 nm synthétisé sur une électrode massive de carbone vitreux ($s = 0,07 \text{ cm}^2$), a) voltammogramme en milieu PBS entre -0,9 V et -0,25 V ; b) SWV en milieu PBS entre -0,9 V et -0,20 V.

Puis, une mesure en voltammétrie cyclique à vague carrée (SWV) est réalisée (Figure 57.b)). Sur cette réponse en SWV nous retrouvons les deux pics d'oxydoréduction¹⁴⁹. Là encore cette réponse est stable dans le temps (cf. chapitre IV, §2.2.2). L'amplitude en

courant du premier pic ($E = -0,50$ V) est supérieure à celle du second pic ($E = -0,74$ V). Ceci marque le fait que la première oxydation du couple quinone/hydroquinone est plus importante que la seconde. Les potentiels liés aux deux oxydations sont légèrement différents que ceux obtenus en voltammétrie cyclique. En effet, la courbe de voltammétrie à vague carrée est la somme des courants mesurés avant et après chaque impulsion (cf. Chapitre III, § 2.2.1., figure 22). Par conséquent, chacun des pics obtenus figure 57.b) est une moyenne du courant d'oxydation et du courant de réduction mesuré à chaque impulsion. Ce qui entraîne une légère variation du potentiel de pic, comparé aux valeurs lues sur le diagramme 57.a).

La réponse en SWV donne le courant faradique. La comparaison de la voltammétrie cyclique avec la SWV permet donc de faire ressortir l'existence du courant capacitif dont la forme ovale de la voltammétrie cyclique est caractéristique.

1.2.2. Etude du film de poly(JUG-co-JUGA) par impédance électrochimique

Etudions maintenant les mesures d'impédances électrochimiques en milieu PBS d'un film de poly(JUG-co-JUGA) synthétisé sur une électrode de carbone vitreux (chapitre IV § 2.2.3.). L'épaisseur est de 130 nm et correspond à celle utilisée par D.L. Tran dans le cadre de ses travaux sur le carbone vitreux¹⁴⁸.

Nous souhaitons mettre en évidence l'existence ou non d'un conditionnement du film de poly(JUG-co-JUGA) lors de la mesure de l'impédance électrochimique, puis déterminer l'évolution de la réponse en fonction du potentiel.

○ Stabilité de la réponse en impédance électrochimique en fonction du temps

Sur un film de 130 nm déposé sur une électrode de carbone vitreux, équilibré par voltammétrie cyclique puis SWV en milieu PBS désaéré, nous effectuons une mesure de l'impédance électrochimique, $\frac{\Delta E}{\Delta I}(\omega)$, au potentiel $E = -0,5$ V vs ECS. Le choix de ce potentiel est à mettre en relation avec les résultats du paragraphe précédent : -0,5 V vs ECS correspond à la première oxydation du couple quinone/hydroquinone. Les échanges ioniques à l'interface film/solution sont supposés avoir une intensité maximum à ce potentiel.

Nous maintenons ensuite cette électrode plongée en solution au potentiel -0,5 V pendant 4h et pendant ce laps de temps nous réalisons une mesure d'impédance toutes les heures. La figure 58 ci-dessous montre l'évolution de la réponse du film en termes d'impédance électrochimique en fonction du temps.

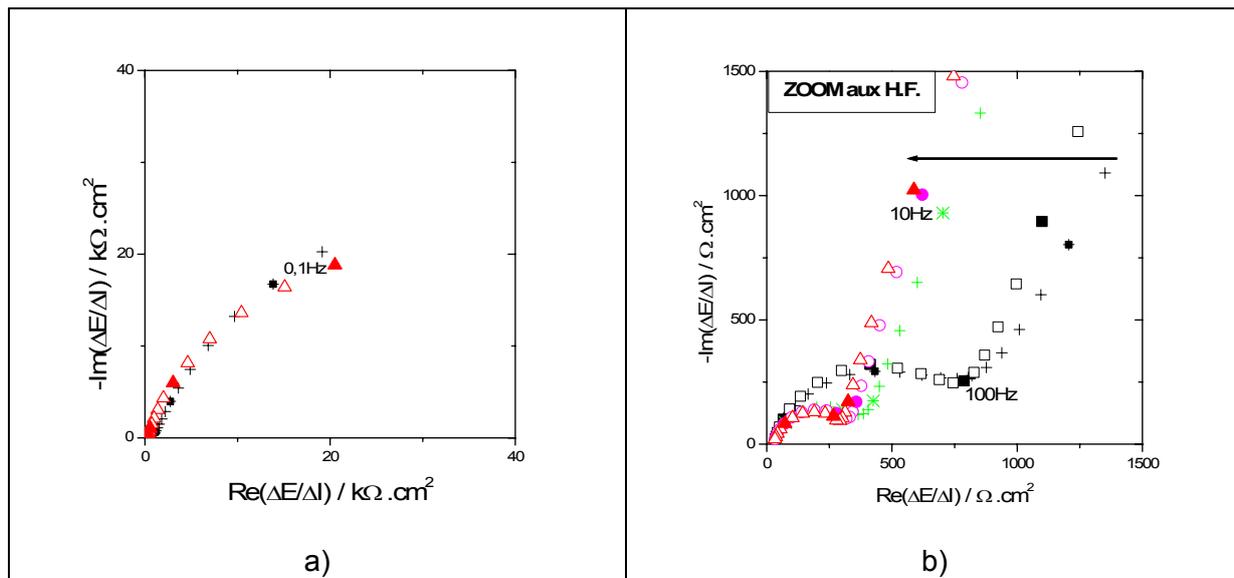


Figure 58: diagramme d'impédance électrochimique, $\frac{\Delta E}{\Delta I}(\omega)$, d'un film de poly(JUG-co-JUGA) de 130 nm déposé sur une électrode massive de carbone vitreux ($s = 0,07cm^2$) obtenu à $E = -0,5$ V vs ECS dans le PBS : a) mesure à t_0 (+) et mesure à t_0+4h (Δ) ; b) zoom aux hautes fréquences des réponses obtenues à t_0 (+), t_0+1h (\square), t_0+2h (+), t_0+3h (\circ), t_0+4h (Δ).

La figure 58.a) donne la première mesure et la dernière mesure quatre heures plus tard. Ces deux courbes sont tout à fait similaires aux basses et moyennes fréquences. Leur allure indique que le transfert ionique n'est pas totalement bloqué à l'interface film/solution même à très basse fréquence et qu'une réaction parasite intervient probablement (cf chapitre II - §3.2.). La figure 58.b) est un zoom aux moyennes et hautes fréquences : la boucle que nous apercevons sur chacune des courbes caractérise la résistance de transfert ionique R_t , valeur définie avec le diamètre de ce demi-cercle, avec $R_t = -\frac{1}{96500 \cdot G_i}$ où G_i est le coefficient défini par le modèle détaillé au chapitre II (i est soit le cation ou l'anion). Nous nous apercevons alors que R_t diminue au cours du temps avant de se stabiliser au bout de 2h.

Il est donc nécessaire de conditionner le film au moins 2h sous polarisation avant toute mesure d'impédance électrochimique.

○ **Influence du potentiel sur la réponse en impédance électrochimique**

Pour déterminer l'influence du potentiel sur la réponse du film, nous effectuons, après équilibration du film par voltammétrie cyclique, une première mesure de la fonction de transfert $\frac{\Delta E}{\Delta I}(\omega)$ au potentiel -0,70 V vs ECS. Puis une seconde à -0,65 V, et ainsi de suite jusqu'à atteindre -0,30 V (Figure 59).

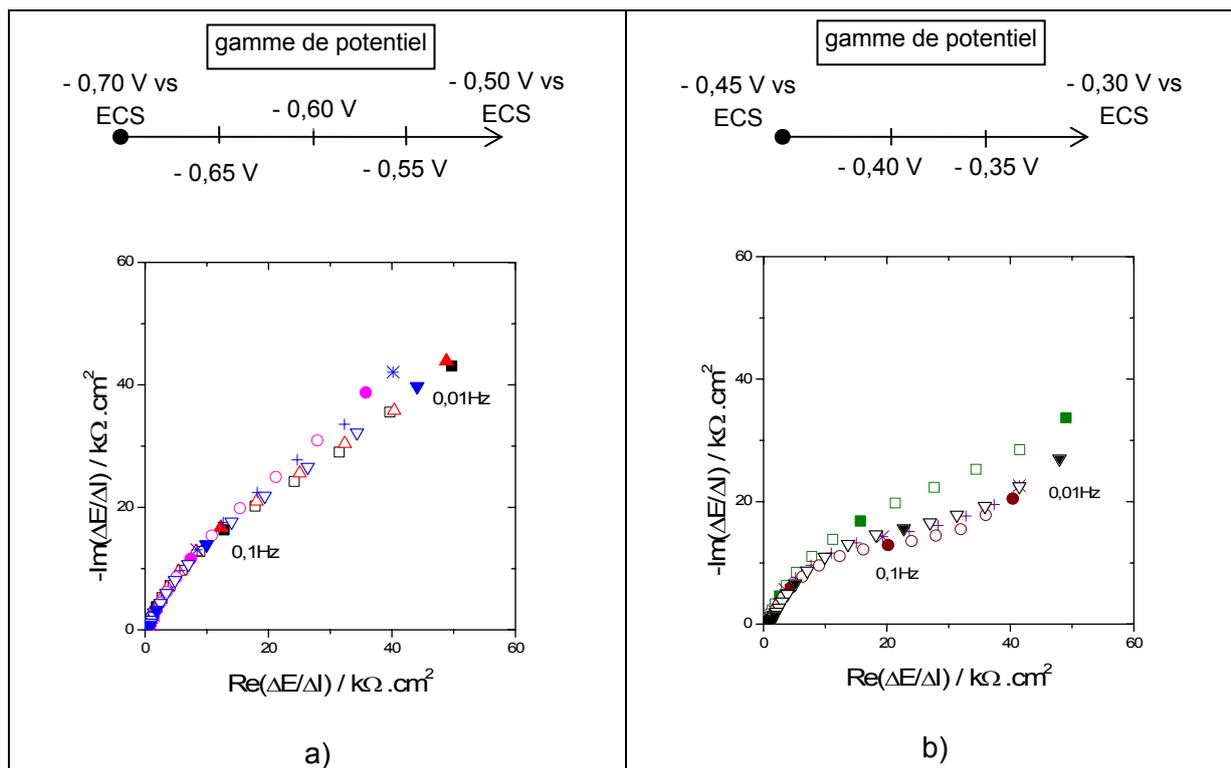


Figure 59 : diagrammes d'impédance électrochimique, $\frac{\Delta E}{\Delta I}(\omega)$, d'un film de poly(JUG-co-JUGA) de 130 nm déposé sur une électrode massive de carbone vitreux ($s = 0,07\text{cm}^2$) dans le PBS à : a) $E = -0,70\text{ V}$ vs ECS (\square), $E = -0,65\text{ V}$ vs ECS (Δ), $E = -0,60\text{ V}$ vs ECS ($+$), $E = -0,55\text{ V}$ vs ECS (\circ), $E = -0,50\text{ V}$ vs ECS (∇); b) obtenus à $E = -0,45\text{ V}$ vs ECS (\square), $E = -0,40\text{ V}$ vs ECS ($+$), $E = -0,35\text{ V}$ vs ECS (\circ), $E = -0,30\text{ V}$ vs ECS (∇)

Les figures 59.a) et 59.b) donnent l'ensemble des mesures d'impédance électrochimique réalisées : la première entre $-0,70\text{ V}$ et $-0,50\text{ V}$, la seconde entre $-0,45\text{ V}$ et $-0,30\text{ V}$. Il est à noter qu'à partir de $-0,45\text{ V}$, la fonction de transfert $\frac{\Delta E}{\Delta I}(\omega)$ fléchit aux basses fréquences.

Ceci serait dû à l'existence d'une réaction parallèle. Malgré le barbotage avec de l'azote dans la solution il est probable qu'il reste des résidus d'oxygène dont la réduction est autour du potentiel $-0,3\text{ V}$ vs ECS. Toutefois, cette interprétation n'étant pas évidente apparaît ici l'intérêt de coupler ces mesures avec la microbalance.

○ Influence du pH de l'électrolyte sur la réponse en impédance électrochimique

Le groupe rédox quinone/hydroquinone est connu pour sa sensibilité aux protons^{150,151}. Nous testons donc l'influence du pH sur le comportement électrochimique du film de poly(JUG-co-JUGA) dans les solutions S1, S2 et S3 (chapitre III, § 6.1..).

Nous réalisons des mesures d'impédance électrochimique entre $-0,6\text{ V}$ et $-0,35\text{ V}$ pour chacune de ces solutions. A pH 2,5 nous n'obtenons pas de résultats exploitables. La figure 60.a) reporte les SWV d'un film de poly(JUG-co-JUGA) à pH 5,5 et 8,4. La figure 60.b) donne le coefficient cinétique K_c obtenu par ajustement des résultats expérimentaux avec

l'impédance électrochimique et la fonction de transfert $\frac{\Delta q}{\Delta E}(\omega)$ définie au chapitre théorique (II - § 3.1.4.).

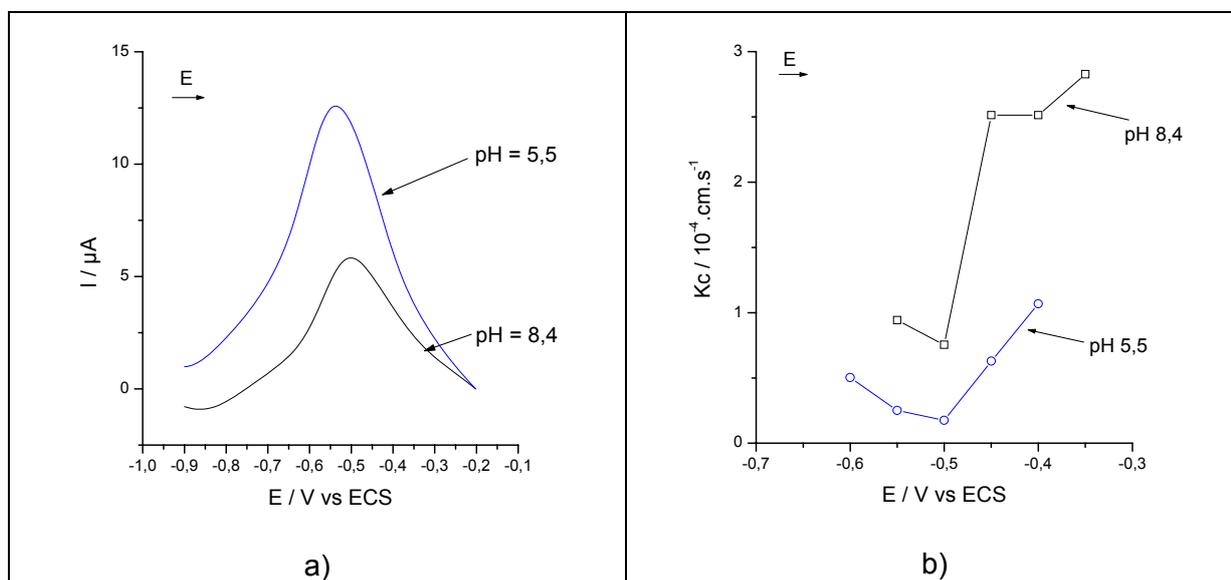


Figure 60: a) SWV d'un film de poly(JUG-co-JUGA) sur une électrode de carbone vitreux en solution de pH 5,5 ; 8,4 ; b) coefficient cinétique Kc relatif au cation, obtenu par ajustement sous Mathcad, en fonction du pH.

Nous remarquons figure 60.a) une nette différence entre les deux mesures de SWV. L'évolution du potentiel de pic en fonction du pH est de 50 mV. Or, à une unité de pH devrait correspondre un déplacement de pic d'environ 60 mV. En outre, lorsque le pH augmente, l'intensité du pic relatif au couple redox quinone/hydroquinone diminue. La surface sous ce pic est caractéristique de la quantité totale de charges intervenant dans le processus faradique.

La courbe présentée figure 60.b) donne une estimation des cinétiques de transfert des espèces cationiques à l'interface film/solution. A l'inverse de la SWV, Kc augmente avec le pH. En effet, ce copolymère comporte des groupements carboxyliques ; en milieu basique la surface du film est donc chargée négativement. C'est pourquoi à pH 8,4 l'insertion des cations Na⁺ présents en solution serait favorisée par rapport à la solution à pH 5,5.

Notons donc dès à présent que ces deux techniques ne traduisent pas les mêmes effets. La première, estimation des courants faradiques, caractérise un effet de volume. De plus, l'aire sous la courbe des courants en SWV correspond à la quantité d'espèces ioniques insérées ou expulsées. La seconde permet d'estimer les cinétiques de transfert à l'interface film/solution.

1.3. Mise au point de la poly(JUG-co-JUGA) sur un nouveau support : électrode d'or déposée sur un résonateur à quartz

1.3.1. Influence de la surface de l'électrode

Les dépôts de poly(JUG-co-JUGA) présentés au paragraphe 1.2. étaient effectués sur des électrodes de carbone vitreux. Or, la mesure de la fonction de transfert électrogravimétrique $\frac{\Delta m}{\Delta E}(\omega)$ nécessite l'utilisation d'un résonateur à quartz sur lequel est déposé une électrode d'or.

Pour ne pas modifier la nature de l'électrode, nous avons voulu déposer une couche de carbone d'une épaisseur de l'ordre de 100 nm par évaporation sur le quartz avant de synthétiser le poly(JUG-co-JUGA). Il s'est avéré que l'adhérence du carbone n'est pas suffisante.

Nous travaillerons donc uniquement avec des électrodes d'or nues déposées sur le quartz. Ceci constituera le nouveau support du film de poly(JUG-co-JUGA).

1.3.2. Influence du contre-ion lors du dépôt sur des électrodes d'or

L'étude de la cinétique de transfert des ions à l'interface film/solution est réalisée grâce à la technique d'impédance électrochimique couplée à l'électrogravimétrie. La fonction de transfert électrogravimétrique $\frac{\Delta m}{\Delta E}(\omega)$ nécessite la mesure de la variation de masse au sein du polymère à l'aide de la microbalance à quartz. Logiquement, ce $\frac{\Delta m}{\Delta E}(\omega)$ est d'autant meilleur que Δm est grand à ΔE constant. Cette mesure de Δm est déduite de la mesure de la variation de fréquence Δf_m du résonateur à quartz d'après la relation de Sauerbrey (cf Chapitre II - § 2.2.). Or, il existe un seuil où la mesure de Δf_m est impossible, en terme de limite de détection de la microbalance et de sensibilité du convertisseur fréquence/tension (cf Chapitre IV - § 3.3.). Nous souhaitons donc obtenir la réponse en Δf_m ou en Δm la plus grande possible.

Nous avons noté que la réponse en SWV d'un film de poly(JUG-co-JUGA) déposé sur l'électrode d'or du résonateur à quartz était plus faible que celle obtenue sur carbone vitreux (cf § 1.2.1.). Pour améliorer cette réponse nous avons changé d'électrolyte lors de l'électrosynthèse, en remplaçant le cation lithium par le tétraéthylammonium. Le courant d'oxydoréduction du couple quinone/hydroquinone en SWV a de ce fait été multiplié par un facteur trois (Figure 61.a).

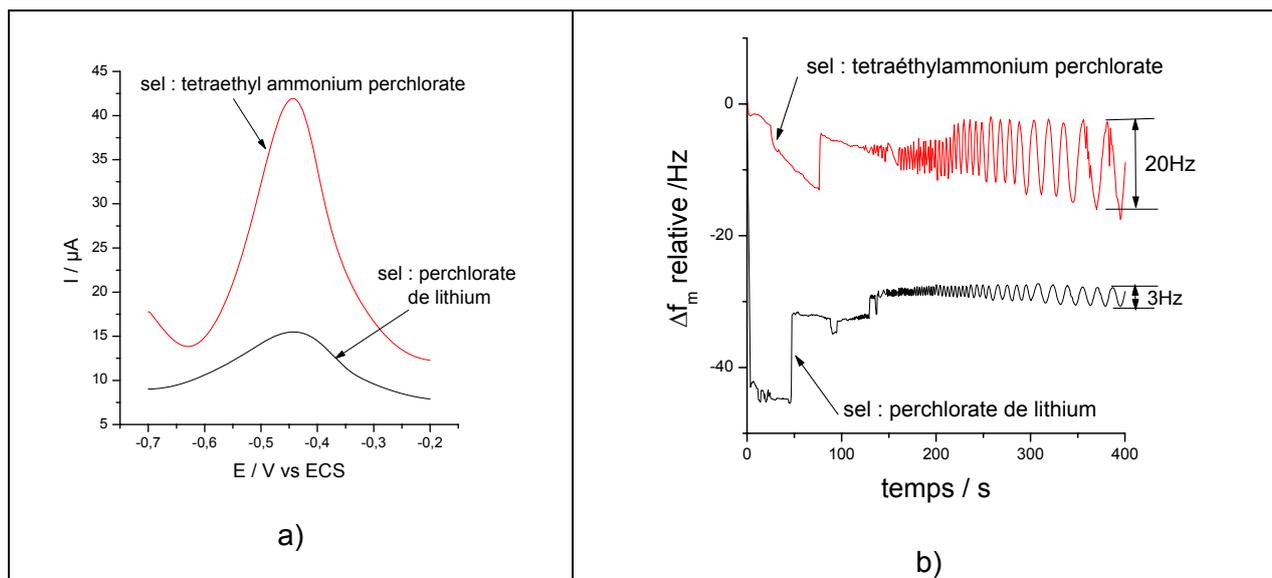


Figure 61 : a) SWV en milieu PBS d'un film synthétisé en milieu acétonitrile anhydre avec du perchlorate de lithium ($c = 0,1 \text{ M}$) ou du perchlorate de tétraéthylammonium ($c = 0,1 \text{ M}$) comme contre-ion ; b) réponses temporelles en fréquence lors d'une mesure de microbalance au potentiel $-0,45 \text{ V vs ECS}$ dans du $\text{NaCl } 0,1 \text{ M}$ d'un film de poly(JUG-co-JUGA) électrodéposé en milieu acétonitrile anhydre avec du perchlorate de lithium ($c = 0,1 \text{ M}$) ou du perchlorate de tétraéthylammonium ($c = 0,1 \text{ M}$) comme contre-ion .

Afin de vérifier la réponse gravimétrique du film (Δm ou $\Delta f_{\text{microbalance}}$), nous contrôlons, lors de la mesure de la fonction de transfert électrogravimétrique, la réponse temporelle de la fréquence de la microbalance à quartz soumis à une perturbation sinusoïdale de faible amplitude modulée en fréquence. La figure 61.b) montre que pour un film électrodéposé dans un milieu acétonitrile anhydre contenant du perchlorate de lithium comme contre-ion, les perturbations sinusoïdales imposées en milieu aqueux entraînent des variations de fréquences de la microbalance très faible. A l'inverse, nous observons une nette amélioration de la réponse temporelle en fréquence du résonateur pour un film électrodéposé en milieu acétonitrile anhydre contenant du perchlorate de tétraethylammonium (TEAP) comme contre-ion.

Dans le cas du perchlorate de lithium, l'amplitude du signal en fréquence de la microbalance n'est pas suffisante pour que le convertisseur fréquence/tension puisse distinguer le signal délivré par la microbalance du bruit « électronique ». La réponse de la fonction de transfert électrogravimétrique sera donc mauvaise. Dans le cas du perchlorate de tétraethylammonium, la réponse en fréquence du résonateur à quartz devient suffisante pour pouvoir traiter le signal et obtenir une fonction de transfert électrogravimétrique,

$$\frac{\Delta m}{\Delta E}(\omega), \text{ exploitable.}$$

Notons au passage que le signal délivré par la microbalance est multiplié par six entre les deux solutions de synthèse de film, ce qui est différent du facteur multiplicatif obtenu en SWV. En effet, ces deux mesures ne sont pas réalisées aux mêmes fréquences de modulation ($f_{\text{SWV}} = 12,5 \text{ Hz}$; $10 \text{ mHz} < f_m < 63 \text{ kHz}$) et par conséquent elles ne donnent pas les mêmes informations.

Pour les études sur un résonateur à quartz, et sauf indications contraires, les films de poly(JUG-co-JUGA) seront donc électrodéposés en milieu acétonitrile anhydre + 0,1 M TEAP + 10^{-3} M naphтол + $5 \cdot 10^{-2}$ M JUG + $5 \cdot 10^{-3}$ M JUGA ; solution notée B.

1.3.3. Influence de l'épaisseur du film déposé sur l'électrode d'or

Sur les électrodes de carbone vitreux, l'épaisseur optimale définie dans la thèse de D.L. Tran¹⁴⁸ est de 130 nm. Sur l'or nous avons repris deux épaisseurs particulières : 130 nm et 250 nm.

La figure 62.a) présente la réponse en SWV d'un film de 250 nm et d'un autre film de 130 nm, en milieu PBS. Le pic d'intensité relatif à la première oxydation du couple rédox quinone/hydroquinone ($E = -0,45$ V vs ECS) augmente avec l'épaisseur du film. En effet, l'augmentation de l'épaisseur du film de poly(JUG-co-JUGA) conduit à une augmentation du nombre de groupements quinone amenés à être oxydés lors de la mesure. L'aire sous la courbe augmente avec l'épaisseur ce qui signifie que les espèces ioniques insérées ou expulsées augmentent avec l'épaisseur. Toutefois, si le rapport entre les deux épaisseurs est de deux, ce n'est pas le cas des intensités de pic ni de l'aire sous la courbe. Cela peut s'expliquer par un phénomène de saturation, dû à une conductivité est plus faible lorsque le film est plus épais. Cette mesure traduit un effet de volume.

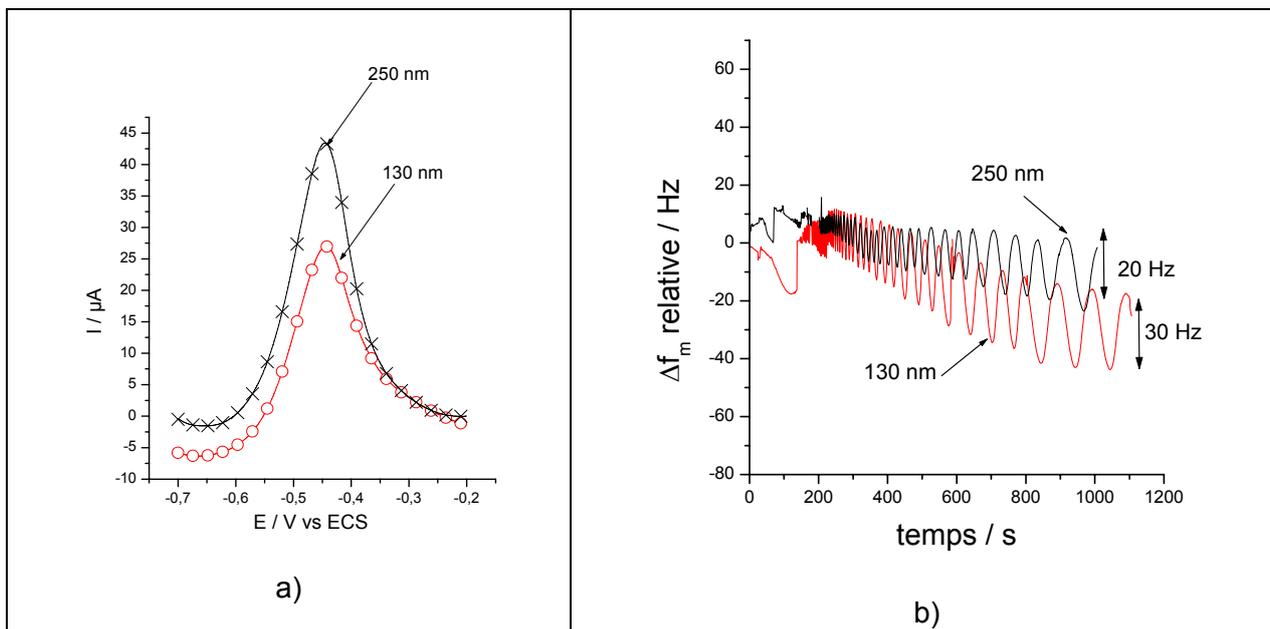


Figure 62 : a) SWV d'un film de poly(JUG-co-JUGA) de 250 nm (x) et 130 nm, $E_i = -0,7$ V vs ECS, $E_f = -0,2$ V vs ECS, en milieu PBS désaéré ; b) réponses temporelles en fréquence de la microbalance au potentiel -0,45V vs ECS dans du NaCl 0,1 M d'un film de poly(JUG-co-JUGA) de 250 nm et 130 nm.

La figure 62.b) donne la réponse temporelle de la fréquence microbalance relevée lors d'une mesure d'impédance couplée à l'électrogravimétrie au potentiel $E = -0,45$ V vs ECS. L'amplitude de cette réponse en fréquence de la microbalance aux basses fréquences est de 20 Hz à 250 nm et de 30 Hz à 130 nm. Cela correspond à une diminution du signal de 50 %

avec l'augmentation de l'épaisseur. Cette évolution est à l'opposé de celle obtenue par SWV.

La figure 63 présente les résultats d'impédance et d'électrogravimétrie au potentiel – 0,45 V vs ECS, choix fait selon les résultats de SWV.

A la lecture des diagrammes d'impédance électrochimique, il apparaît que l'épaisseur n'a pas un rôle déterminant. En effet, le diagramme de la figure 63.a) compare les impédances au potentiel -0,45 V d'un film de 250 nm et d'un film de 130 nm. Aux hautes fréquences, les courbes obtenues sont totalement similaires. Aux basses fréquences également (diagramme 63.b)). La résistance de transfert ionique à l'interface film/solution est quasiment la même pour un film de poly(JUG-co-JUGA) de 130 ou 250 nm.

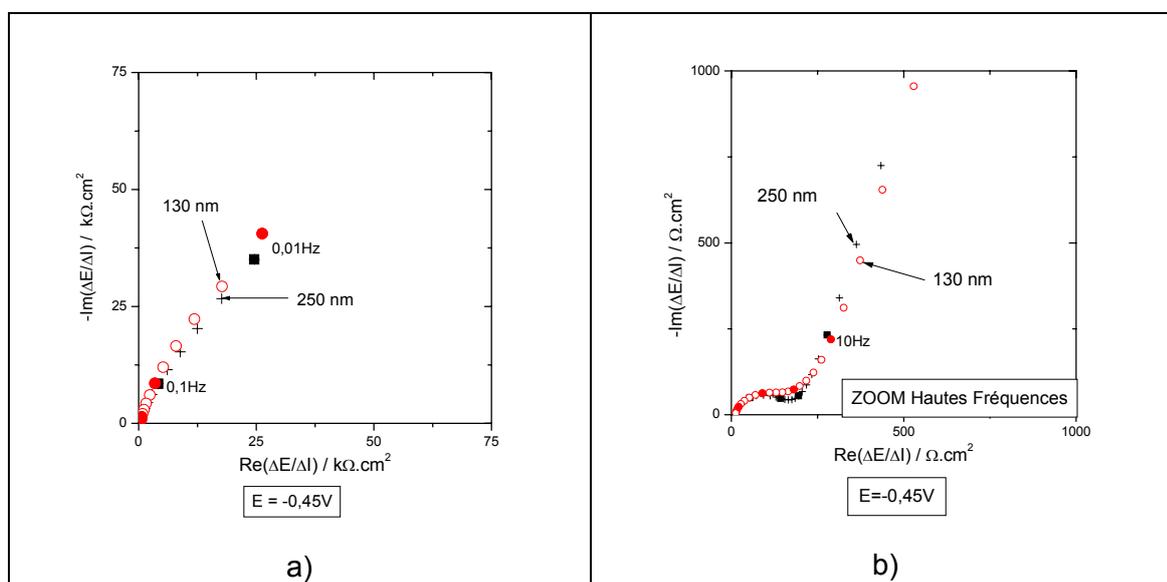


Figure 63 : a) diagramme d'impédance électrochimique d'un film de poly(JUG-co-JUGA) de + 250 nm et ○ 130 nm, au potentiel -0,45 V, milieu PBS ; b) zoom aux hautes fréquences du diagrammes a).

Le diagramme 64 présente la courbe d'électrogravimétrie au potentiel -0,45 V. Cette courbe montre qu'aux basses fréquences ($f = 0,01$ Hz) la valeur de $\frac{\Delta m}{\Delta E}(\omega)$ est plus grande à 130 nm qu'à 250 nm. Nous retrouvons bien ici l'évolution de la réponse temporelle en fréquence présentée figure 62.b). A 130 nm, la surface spécifique qui épouse la forme du substrat, est a priori plus grande, ce qui augmente le nombre de sites disponibles pour l'électrochimie. Cela expliquerait pourquoi la réponse en masse est meilleure à 130 nm.

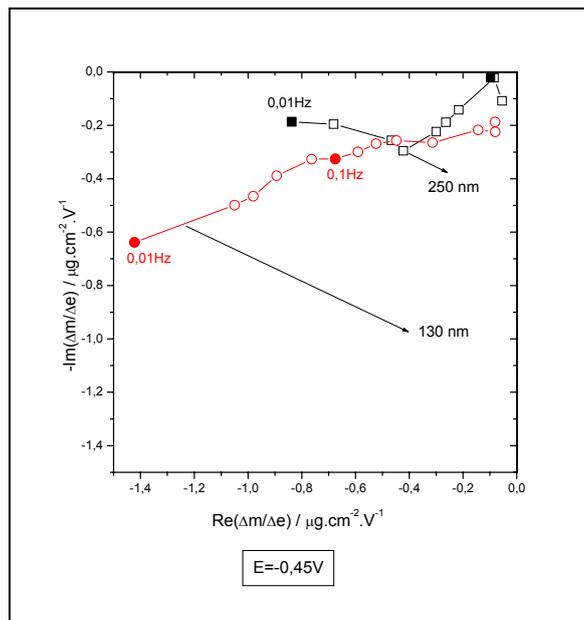


Figure 64 : fonction de transfert électrogravimétrique $\frac{\Delta m}{\Delta E}(\omega)$ d'un film de poly(JUG-co-JUGA) de \square 250 nm et \circ 130 nm en milieu PBS au potentiel -0,45 V vs ECS.

Dans la suite, nous travaillerons avec des films de 130 nm dont les réponses massiques sont meilleures et qui ont aussi l'avantage d'être moins long à synthétiser.

1.4. Etude de la poly(JUG-co-JUGA) sur électrode d'or : influence de la nature de l'électrolyte

1.4.1. Comparaison du PBS avec une solution de NaCl à différentes concentrations

Les études précédentes sur électrodes de carbone vitreux ont été réalisées en milieu PBS, tampon phosphate, pour se rapprocher des milieux biologiques naturels. Notre objectif est d'identifier les ions qui participent au processus électrochimique. Dans un premier temps nous avons simplifié l'étude en travaillant en milieu NaCl où seuls deux ions, Na^+ et Cl^- , sont en compétition.

Un film de 130 nm de poly(JUG-co-JUGA) est synthétisé dans la solution B sur des électrodes d'or déposées sur un quartz. Ces électrodes modifiées sont ensuite testées en milieu aqueux par voltammétrie cyclique, SWV et électrogravimétrie.

○ Influence sur la réponse en voltammétrie cyclique et SWV

La figure 65.a) présente les voltammogrammes réalisés dans différents électrolytes : PBS, NaCl 0,1 M et NaCl 0,5 M. Plus la concentration est forte et plus la charge faradique de la quinone est importante. Ceci est dû à un effet de concentration en cation Na^+ à l'interface film/solution. Nous remarquons également que le courant capacitif à l'interface film/solution augmente avec la concentration en NaCl.

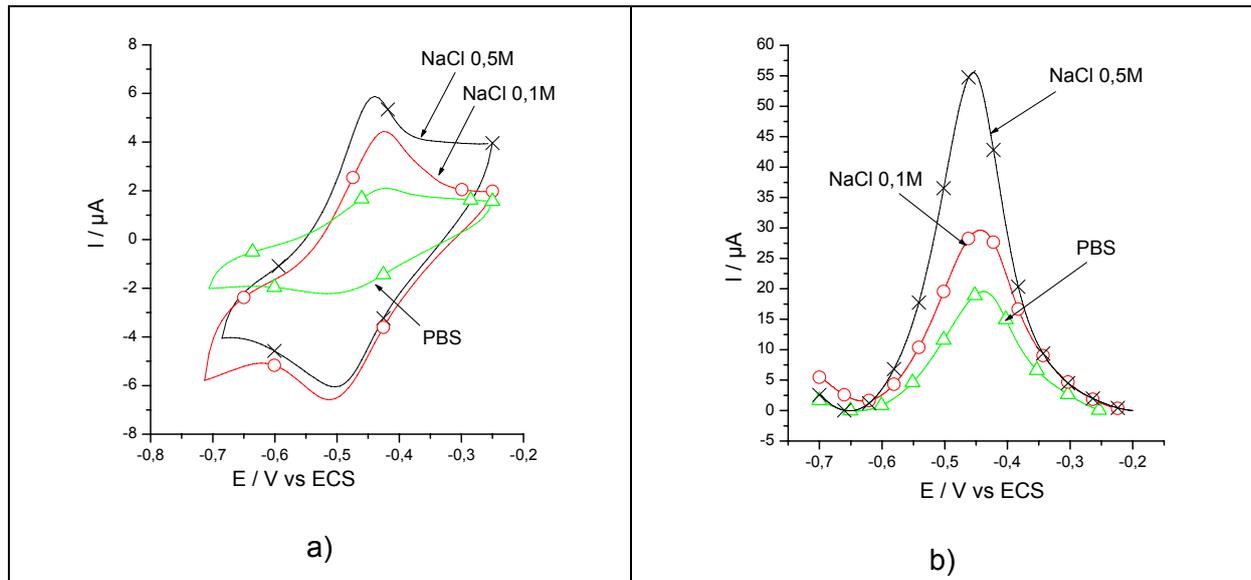


Figure 65 : a) voltammogrammes cycliques d'un film de poly(JUG-co-JUGA) de 130 nm dans une solution de : PBS (Δ) ; NaCl 0,1 M (\circ) ; NaCl 0,5 M ($+$), désaérée par argon ; b) SWV d'un film de poly(JUG-co-JUGA) de 130 nm en milieu : PBS (Δ) ; NaCl 0,1 M (\circ) ; NaCl 0,5 M ($+$).

Après avoir équilibré le film par voltammétrie cyclique nous effectuons une mesure de SWV. Les résultats présentés figure 65.b) montrent que le courant d'oxydation de la quinone augmente avec la concentration en NaCl et se déplace en potentiel légèrement vers la gauche. Ces deux effets sont cohérents avec d'une part une augmentation de la force ionique, d'autre part avec la chute ohmique qui en résulte.

o Mesures gravimétriques

Notre potentiostat Autolab Ecochemie PGSTAT100, relié au fréquencesmètre Yokogawa TC110 qui est équipé d'un convertisseur fréquence/tension performant, permet de coupler la voltammétrie cyclique avec une mesure de la variation de fréquence de la microbalance du quartz nous obtenons alors un voltammogramme (Figure 66). C'est-à-dire la variation de la masse du film (ou la variation de la fréquence microbalance) en fonction du potentiel imposé.

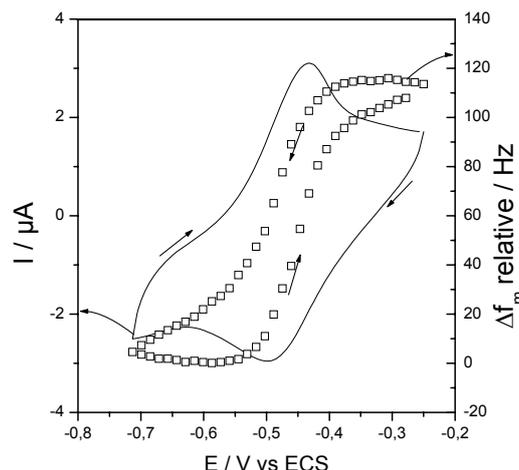


Figure 66 : (□) voltamogramme d'un film de poly(JUG-co-JUGA) de 130 nm en milieu NaCl 0,1 M, vitesse de balayage $50\text{mV}\cdot\text{s}^{-1}$, entre les potentiels -0,7 V et -0,2 V vs ECS ; (-) voltammogramme classique dans les mêmes conditions.

Nous présentons ici les résultats obtenus en milieu NaCl 0,1 M. Sur la courbe de voltammétrie cyclique en trait plein, les deux pics correspondent à l'oxydation (en haut) et à la réduction (en bas) du groupe quinone/hydroquinone. Superposée à cette courbe apparaît la variation de fréquence du quartz correspondante. Ce phénomène d'oxydo-réduction s'accompagne donc d'une variation de fréquence : une augmentation pour l'oxydation et une diminution pour la réduction.

A partir de cette courbe nous pouvons estimer l'ordre de grandeur du module de la fonction de transfert électrogravimétrique $\frac{\Delta m}{\Delta E}(\omega)$. En effet, dans la zone d'oxydo-réduction où la pente est maximum (entre -0,5 V et -0,4 V vs ECS), nous pouvons assimiler cette variation de fréquence à une droite de pente : $\frac{\Delta f}{\Delta E} = \frac{50}{0,1} \text{ Hz}\cdot\text{V}^{-1}$. Or, la loi de Sauerbrey nous

donne la relation linéaire $\frac{\Delta f}{\Delta m} = -16,7\cdot 10^7 \text{ Hz}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{cm}^2$ puisque nous travaillons avec des épaisseurs de films submicroniques pour lesquelles la viscoélasticité est considérée comme négligeable. Nous obtenons donc : $\left| \frac{\Delta m}{\Delta E} \right| = 3 \mu\text{g}\cdot\text{V}^{-1}\cdot\text{cm}^2$.

Le tableau 15 suivant recense les différentes valeurs de $\left| \frac{\Delta m}{\Delta E} \right|$ calculées à partir des voltamogrammes obtenus pour chacune des solutions traitées.

	NaCl 0,5M	NaCl 0,1M	PBS	5 * [PBS]
$\left \frac{\Delta m}{\Delta E} \right (\mu\text{g}\cdot\text{V}^{-1}\cdot\text{cm}^2)$	3,6	3	0,8	1,4

Tableau 15: tableau des valeurs de $\left| \frac{\Delta m}{\Delta E} \right|$ calculées à partir des voltamogrammes

Nous avons également traité le cas d'une solution de PBS cinq fois plus concentrée que la solution habituelle (notée 5*[PBS] dans le tableau 15), pour voir si dans ce cas nous nous rapprochions du comportement obtenu en milieu NaCl 0,5 M (pH 5,5). Nous nous apercevons que ce n'est pas le cas. Par conséquent il se peut que le pH de la solution ou les ions $\text{HPO}_4^{2-}/\text{PO}_4^{3-}$ présents dans le PBS influent sur les échanges aux interfaces.

A partir de ces mesures de masse et d'intensité du voltammogramme présenté figure 66, nous pouvons évaluer la quantité d'ions participants à l'oxydation du copolymère en calculant une moyenne de la fonction $\frac{dm}{dq}$. D'après la portion de courbe relative à l'oxydation, nous obtenons un $\frac{dm}{dq}$ égal à $0,05 \text{ g.C}^{-1}.\text{cm}^{-2}$. Rapporté à une mole et à la surface de $0,2 \text{ cm}^2$ du quartz, cela donne 965 g.mol^{-1} . Cette valeur semble à première vue aberrante. Elle cache en effet non seulement les échanges d'espèces chargées mais aussi des espèces non chargées comme les molécules de solvant. La technique de la voltammétrie cyclique ne semble pas adaptée pour déterminer efficacement la quantité d'ions participants réellement à la compensation de charge du copolymère. C'est pourquoi nous allons utiliser la technique d'électrogravimétrie pour répondre à cette question.

○ **Influence sur la réponse en impédance couplée à l'électrogravimétrie**

Comparons la réponse en impédance électrochimique couplée à l'électrogravimétrie d'un film de 130 nm en milieu PBS, NaCl 0,1 M et 0,5 M au potentiel -0,45 V vs ECS (Figure 67.a). Nous observons aux hautes fréquences la résistance de transfert de charge R_t plus importante en milieu NaCl 0,1 M qu'en milieu NaCl 0,5 M (Figure 67.b).

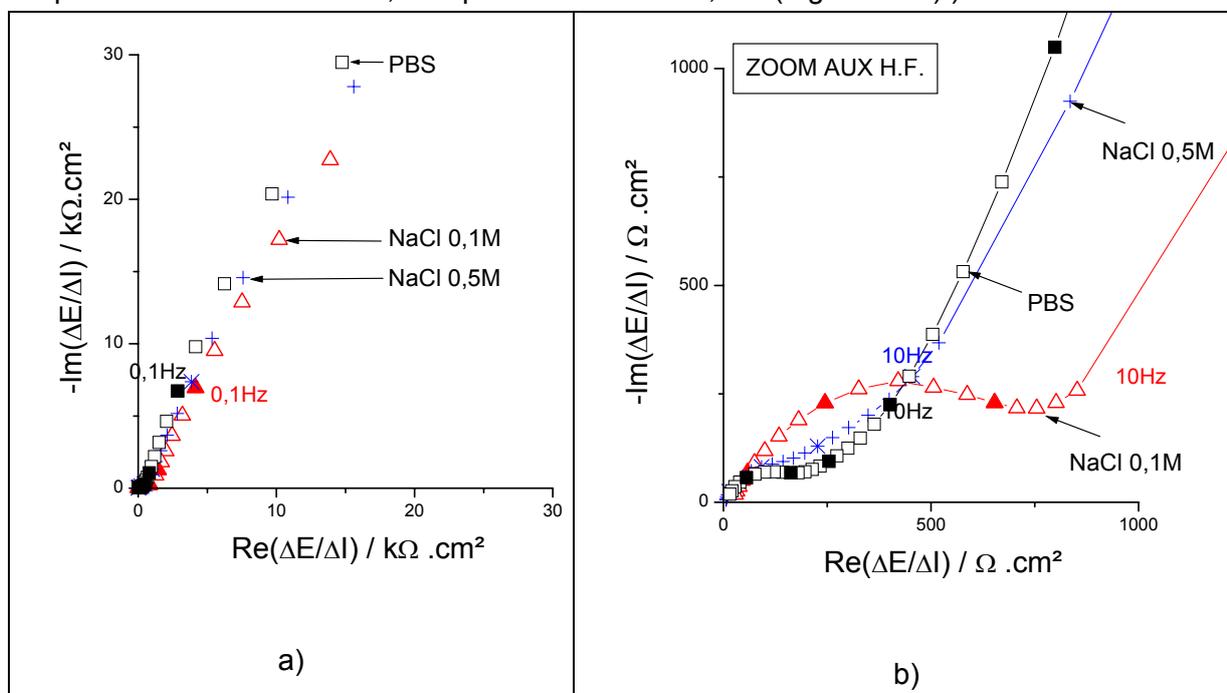


Figure 67 : a) diagramme d'impédance d'un film de poly(JUG-co-JUGA) au potentiel -0,45 V vs ECS, en milieu PBS (□), NaCl 0,1 M (Δ) et NaCl 0,5 M (+) ; b) zoom aux hautes fréquences du diagramme a).

A partir des mesures d'impédances électrochimiques obtenues sur une gamme de potentiel compris entre -0,6 V vs ECS et -0,3 V vs ECS nous avons déterminé la résistance de transfert R_t ainsi que le coefficient cinétique de transfert de cation K_c dans chacun de ces milieux. Nous remarquons tout d'abord que la résistance de transfert R_t diminue avec l'augmentation de la concentration (Figure 68.a)). En effet, en augmentant la concentration de la solution nous favorisons l'insertion des espèces à l'interface. Ensuite, nous observons qu'entre -0,6 V et -0,5 V, zone plus cathodique, les valeurs de R_t sont relativement proches quel que soit la milieu. A l'inverse, dans la zone anodique, (de -0,45 V à -0,3 V), les différences sont plus prononcées. De plus, $R_t = -\frac{1}{96500 \cdot G_c}$ donc quand R_t diminue, G_c augmente et le G_c dépend également des concentrations (cf. équation 19, ch II, §3.1.3.).

Le coefficient cinétique K_c relatif au cation est également obtenu par ajustement du modèle proposé au chapitre II avec les résultats expérimentaux (Figure 68.b)). Nous avons défini au chapitre II l'expression de K_c comme étant :

$$K_c = \left(\frac{\partial J_c}{\partial C_c} \right)_E = k'_c + k_c C_{c_{sol}}$$

Donc K_c dépend de la concentration de la solution $C_{c_{sol}}$ et a priori, si cette concentration augmente, K_c augmente. Notons toutefois que dans la zone cathodique, le terme prépondérant est k'_c ce qui implique que le terme $C_{c_{sol}}$ est peu influant. Par contre dans la zone plus anodique, le terme prépondérant devient k_c et l'influence de $C_{c_{sol}}$ n'est plus négligeable. C'est ce que nous observons sur la courbe où K_c en milieu NaCl 0,5 M devient plus important que dans les deux autres milieux.

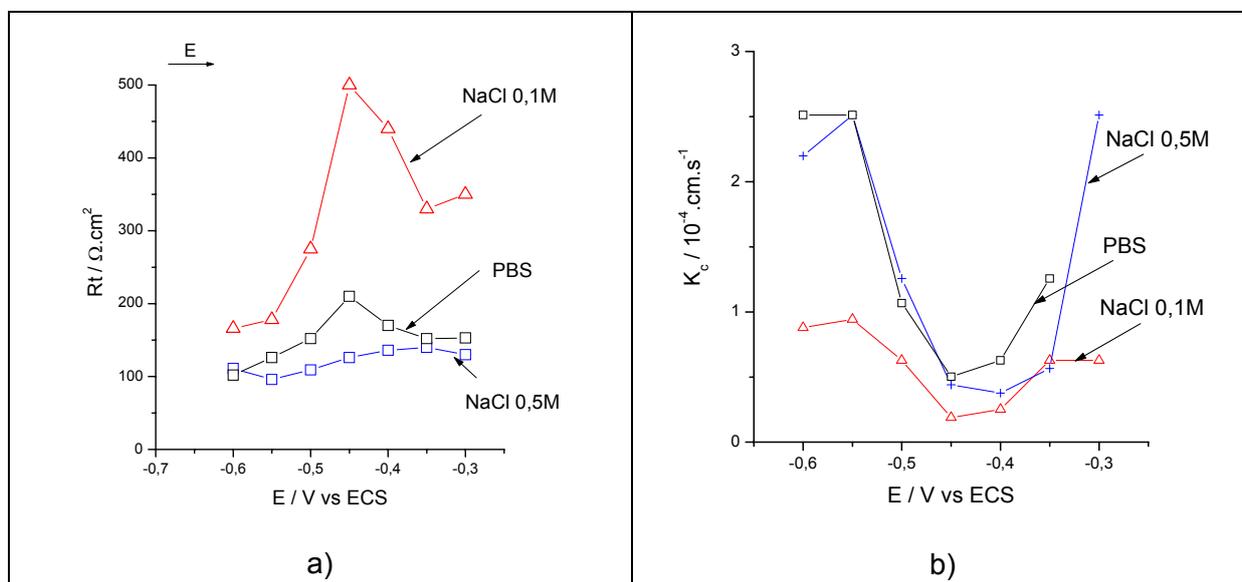


Figure 68 : a) résistance de transfert R_t obtenue sur la gamme de potentiels -0,65 V/-0,40 V vs ECS via le logiciel FRATRACE ; b) coefficient cinétique K_c obtenu par ajustement sous Mathcad.

La figure 69 suivante compare les fonctions de transfert électrogravimétrique, $\frac{\Delta m}{\Delta E}(\omega)$, de ces mêmes films au potentiel -0,45V vs ECS. Remarquons que le point 0,1 Hz

des courbes de $\frac{\Delta m}{\Delta E}(\omega)$ correspond à la fréquence d'un balayage à 50 mV.s^{-1} sur une gamme de $-0,4 \text{ V}$ en voltammétrie cyclique. Or, la figure 69 donne des valeurs de $\left| \frac{\Delta m}{\Delta E} \right|$ de l'ordre de $0,4 \mu\text{g.cm}^{-2}.\text{V}^{-1}$ en milieu PBS et NaCl $0,1 \text{ M}$; $0,15 \mu\text{g.cm}^{-2}.\text{V}^{-1}$ en milieu NaCl $0,5 \text{ M}$. En outre à cette fréquence le rôle du solvant est prépondérant (figure 71.c)). Ces valeurs ne sont pas en accord avec celles trouvées dans le tableau 15 à partir des courbes de voltammassogrammes. Ceci explique le résultat apparemment aberrant de $\frac{dm}{dq}$ que nous avons obtenu à partir de la figure 66. Lorsque nous effectuons une voltammétrie cyclique, le rôle du solvant n'est pas négligeable et fausse a priori le calcul de $\frac{dm}{dq}$.

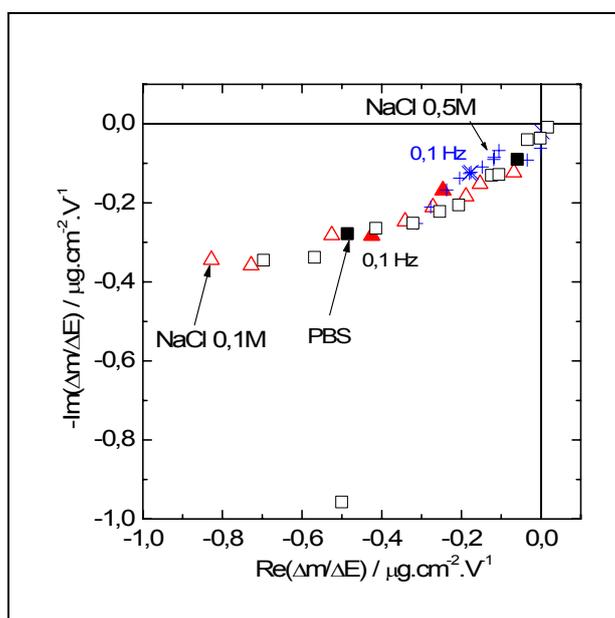


Figure 69 : fonction de transfert électrogravimétrique obtenue sur un film de poly(JUG-co-JUGA) au potentiel $E = -0,45 \text{ V}$ vs ECS en milieu PBS (\square), NaCl $0,1 \text{ M}$ (Δ) et NaCl $0,5 \text{ M}$ ($+$).

Ensuite, l'allure de la boucle en milieu NaCl $0,1 \text{ M}$ et PBS est quasiment identique. Cela indique que les échanges à l'interface film/solution sont similaires dans ces deux milieux. Puisque le tampon phosphate PBS contient NaCl $0,137 \text{ M}$, valeur proche de NaCl $0,1 \text{ M}$ nous pouvons en conclure que les ions K^+ et $\text{HPO}_4^{2-}/\text{PO}_4^{3-}$ présents en concentration faible dans le PBS jouent un rôle minime dans les échanges des espèces ioniques.

Par contre, la boucle relative au milieu NaCl $0,5 \text{ M}$ est plus petite que les précédentes.

Or, aux basses fréquences, $\lim_{\omega \rightarrow 0} \frac{\Delta m}{\Delta E}(\omega) = -d_{\text{film}} m_c \frac{G_c}{K_c}$ (cf. chapitre II, équation 39) avec m_c ,

masse du cation fixée et d_{film} , épaisseur du film fixée. Or, à ce potentiel $-0,45 \text{ V}$, le coefficient K_c est similaire quel que soit la solution (Figure 68.b)) alors que R_t diminue avec la concentration (Figure 68.a)), i.e. le coefficient G_c augmente avec la concentration. Nous devrions donc avoir une courbe de la fonction de transfert électrogravimétrique en milieu NaCl $0,5 \text{ M}$ plus grande que les deux autres. L'évolution que nous observons réellement s'explique alors par le rôle du solvant ou de l'anion que nous avons négligé : en effet à

basses fréquences et pour de faibles concentrations la dernière boucle est attribuable au solvant.

C'est pourquoi nous avons réalisé une simulation par ajustement de ces résultats expérimentaux avec trois espèces comme dans le modèle développé au chapitre II (§3). Ceci va nous permettre d'identifier les espèces participant à la compensation de charge du copolymère, identification que nous ne pouvions obtenir avec la seule étude des courbes de voltammétrie cyclique. Nous avons reportés dans le tableau 16 les valeurs des coefficients G_i et K_i obtenus par ajustements pour nos trois solutions au potentiel -0,45 V.

	$K_{c(Na^+)}$	$G_{c(Na^+)}$	$K_{a(Cl^-)}$	$G_{a(Cl^-)}$	$K_{s(H_2O)}$	$G_{s(H_2O)}$
NaCl 0,5M	4,398E-5	6,597E-9	1,885E-6	-4,712E-10	3,142E-6	9,425E-9
NaCl 0,1M	1,885E-5	3,581E-9	6,912E-7	-5,875E-10	5,027E-6	2,513E-8
PBS	5,027E-5	6,535E-9	3,142E-6	-5,655E-10	7E-6	8,294E-9

Tableau 16 : coefficients K_i ($cm.s^{-1}$) et G_i ($mol.s^{-1}.V^{-1}.cm^{-2}$) obtenus par ajustement du modèle aux résultats expérimentaux des fonctions de transfert électrogravimétrique.

Reportons les valeurs des K_i et $\frac{G_i}{K_i}$ dans le cas du cation et du solvant dans les diagrammes figure 70. Les diagrammes 70.a) et c) nous montrent que la cinétique du solvant est dix fois plus lente que la cinétique du cation quel que soit l'électrolyte de travail. Le diagramme b) nous montre que les $\frac{G_c}{K_c}$, relatifs au cation Na^+ , sont faibles comparés aux $\frac{G_s}{K_s}$, relatifs au solvant, présentés figure 70.d). A l'interface, la variation de concentration en cation est dix fois plus faible que celle en solvant. Enfin, le diagramme 70.d) permet également d'établir que la variation de concentration en solvant est plus importante en milieu NaCl 0,1 M qu'en milieu NaCl 0,5 M ou PBS. Nous venons de mettre en évidence que la participation du solvant dans le processus de compensation de charge de la poly(JUG-co-JUGA) n'est pas négligeable en milieu NaCl 0,1 M. Cela corrobore l'allure de la boucle de $\frac{\Delta m}{\Delta E}(\omega)$ plus petite en milieu NaCl 0,5 M : cela signifie que dans ce milieu le rôle du solvant est moins important.

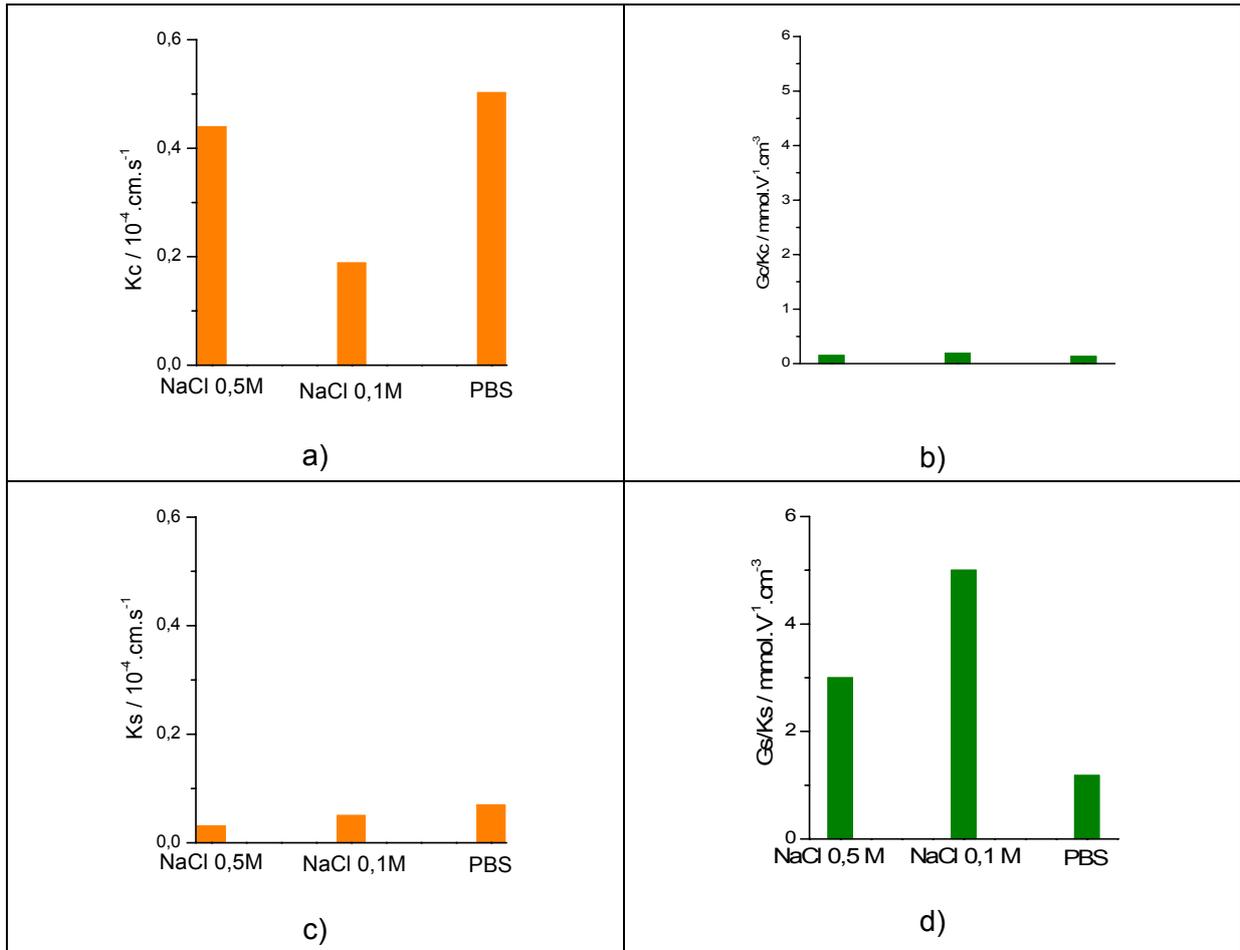
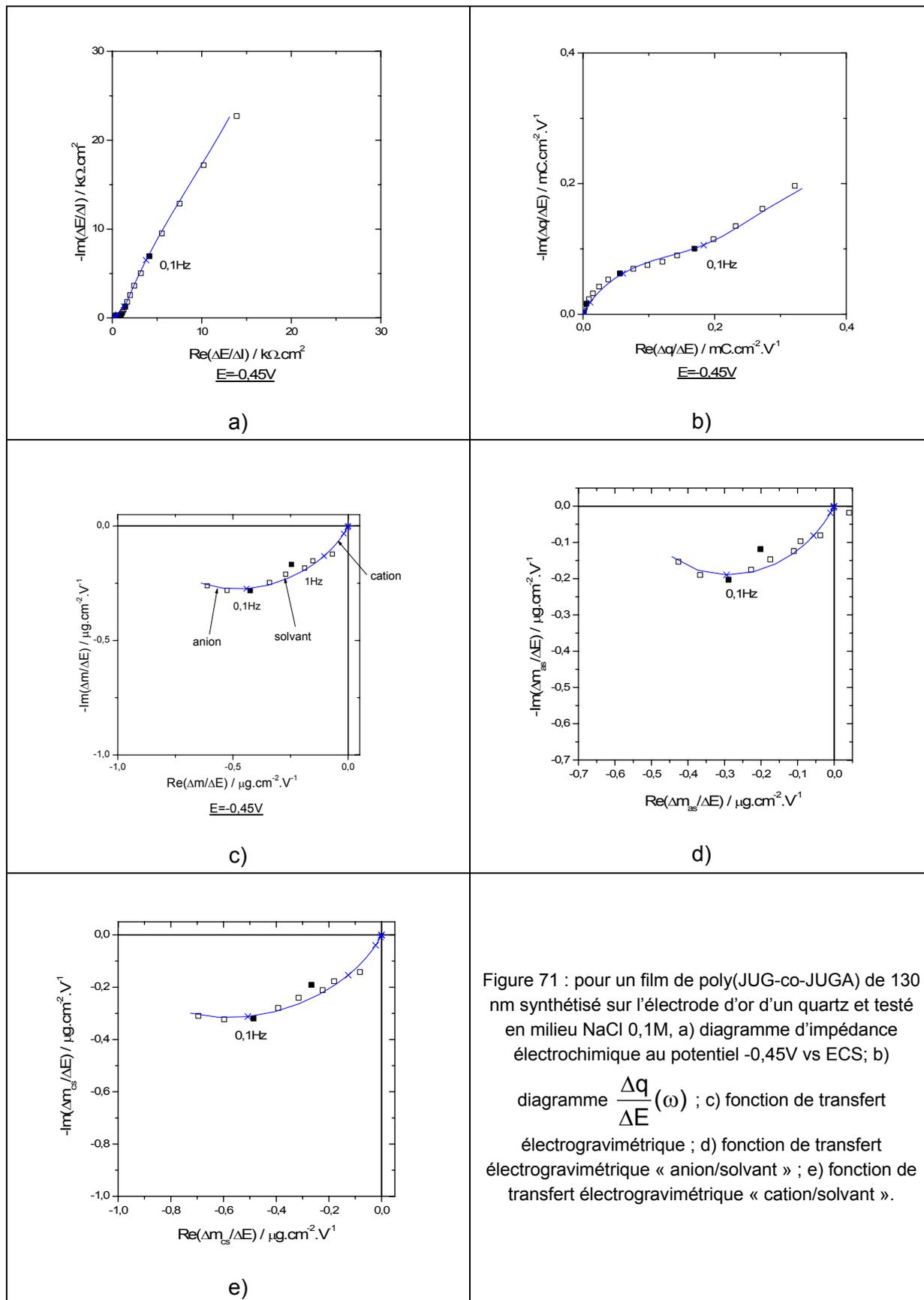


Figure 70 : comparaison des coefficients K_i et G_i obtenus par ajustement du modèle aux résultats expérimentaux des fonctions de transfert électrogravimétriques dans les trois solutions NaCl 0,5 M ; . NaCl 0,1 M ; PBS – a) K_c ($\text{cm} \cdot \text{s}^{-1}$) ; b) G_c ($\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{cm}^2$) ; c) K_s ($\text{cm} \cdot \text{s}^{-1}$) ; d) G_s ($\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{cm}^2$) .

Analysons maintenant plus précisément le cas d'un film testé en milieu NaCl 0,1 M par simulation (Figure 71).



La simulation que nous avons obtenue pour les différentes fonctions de transfert est très bonne en ce qui concerne la forme des graphes et les répartitions de fréquences. En outre, cette simulation permet d'identifier les espèces ioniques participant au phénomène de compensation de charge : les masses molaires trouvées correspondent aux masses molaires des espèces en solution (Na^+ , Cl^- , H_2O).

La figure 71.c) donne la courbe de la fonction de transfert électrogravimétrique. Notre ajustement du modèle à ce résultat expérimental permet de caractériser le transfert des espèces à l'interface : le cation s'insère dans le film aux hautes fréquences, le solvant s'insère dans le film aux moyennes fréquences et l'anion est expulsé du film aux basses fréquences (cf tableau 16, coefficients cinétiques K_i) pour les potentiels croissants. En outre, les figures 71.d) et 71.e), fonctions de transfert électrogravimétriques partielles « anion/solvant » $\frac{\Delta m_{\text{as}}}{\Delta E}(\omega)$ et « cation/solvant » $\frac{\Delta m_{\text{cs}}}{\Delta E}(\omega)$ définies au chapitre II, §3, permettent de préciser le rôle du solvant. Puisque les deux courbes sont dans le troisième cadran, la partie commune de ces deux courbes correspond au solvant. Nous pouvons en déduire que l'ampleur de l'insertion du solvant masque partiellement les échanges anioniques et cationiques. Par ailleurs, la fonction de transfert partielle $\frac{\Delta m_{\text{as}}}{\Delta E}(\omega)$ devrait aussi nous donner le rôle de l'anion. Or, cette courbe étant très proche de $\frac{\Delta m_{\text{cs}}}{\Delta E}(\omega)$, la participation de l'anion à la compensation de charge du film est très faible.

1.4.2. Calcul théorique et simulation de la concentration des espèces dans le film

A partir des lois cinétiques données au chapitre II, nous allons maintenant estimer la concentration des différentes espèces dans le film. De cette concentration et des paramètres électrochimiques et physicochimiques caractéristiques du film nous allons obtenir par le calcul les différentes grandeurs mesurées expérimentalement comme le courant, la masse et les fonctions de transfert. C'est la première fois que cette approche est tentée et qu'à partir du même modèle théorique nous allons calculer des grandeurs classiques comme le courant, la masse du film et les deux fonctions de transfert principales ($\frac{\Delta E}{\Delta I}(\omega)$, $\frac{\Delta m}{\Delta E}(\omega)$). Cela renforcera la validité du modèle ainsi que l'unicité des paramètres retenus.

Nous avons envisagé deux types de résolution sous le logiciel Mathcad de l'équation différentielle relative à la concentration présentée dans le chapitre II : l'une analytique, l'autre numérique. La deuxième utilise la fonction « Résoléo » de résolution des équations différentielles du premier ordre à coefficients non constants intégrée au logiciel Mathcad.

Des lois de la cinétique hétérogène présentées chapitre II nous obtenons pour les cations l'équation différentielle suivante :

$$d \frac{C_c(t)}{dt} - C_c(t) \cdot (k'_c + k_c \cdot C_{csol}) = k'_c \cdot C_{cmin} + k_c \cdot C_{cmax} \cdot C_{csol} \quad (41)$$

Par analogie, nous avons l'équation différentielle relative aux anions :

$$d \frac{C_a(t)}{dt} - C_a(t) \cdot (k'_a + k_a \cdot C_{asol}) = k'_a \cdot C_{amin} + k_a \cdot C_{amax} \cdot C_{asol} \quad (42)$$

Les expressions des constantes cinétiques des réactions k_i et k'_i sont les suivantes : $k'_i = k'_{i0} e^{[b_i(E-E_i^\circ)]}$, $k_i = k_{i0} e^{[b_i(E-E_i^\circ)]}$, avec k_{i0} et b_i des constantes, E_i° le potentiel standard apparent et E le potentiel (pour $i =$ anion ou cation). En fixant une expression de E en fonction du temps t nous serons en mesure de déterminer $C_c(t)$. Etudions le cas d'un balayage en potentiel en voltammétrie cyclique pour lequel $E = v \cdot t$ où v est la vitesse de balayage. Nous ne traiterons que le cas de l'oxydation dans cette partie.

La solution de l'équation sans second membre de l'équation (41) est alors :

$$C_1(t) = e^{-\left[\frac{(k'_c(t) - k'_{c0} \cdot e^{-b'_c \cdot (E_i + E_0)})}{b'_c \cdot v \cdot d} + \frac{(k_c(t) - k_{c0} \cdot e^{-b_c \cdot (E_i + E_0)}) \cdot C_{csol}}{b_c \cdot v \cdot d} \right]} \quad (43)$$

Et la solution particulière est :

$$C_{cparticulière}(t) = \int_0^t \frac{\left(\frac{C_{cmin}}{d} \cdot k'_c(t) + \frac{C_{cmax} \cdot C_{csol}}{d} \cdot k_c(t) \right)}{e^{-\left[\frac{(k'_c(t) - k'_{c0} \cdot e^{-b'_c \cdot (E_i + E_0)})}{b'_c \cdot v \cdot d} + \frac{(k_c(t) - k_{c0} \cdot e^{-b_c \cdot (E_i + E_0)}) \cdot C_{csol}}{b_c \cdot v \cdot d} \right]}} dt \quad (44)$$

alors

$$C_c(t) = C_c(0) + C_1(t) \cdot C_{cparticulière}(t) \quad (45)$$

De la même façon pour l'anion nous obtenons :

$$C_a(t) = C_a(0) + C_2(t) \cdot C_{aparticulière}(t) \quad (46)$$

Avec

$$C_2(t) = e^{-\left[\frac{(k'_a(t) - k'_{a0} \cdot e^{-b'_a \cdot (E_i + E_0)})}{b'_a \cdot v \cdot d} + \frac{(k_a(t) - k_{a0} \cdot e^{-b_a \cdot (E_i + E_0)}) \cdot C_{asol}}{b_a \cdot v \cdot d} \right]} \quad (47)$$

Et

$$C_{a\text{particuli\`ere}}(t) = \int_0^t \frac{\left(\frac{C_{a\text{min}}}{d} \cdot k_a(t) + \frac{C_{a\text{max}} \cdot C_{a\text{sol}}}{d} \cdot k'_a(t) \right)}{e^{\left[\frac{(k_a(t) - k_{a0}) \cdot e^{-b_a \cdot (E_i + E_0)}}{b_a \cdot v \cdot d} + \frac{(k'_a(t) - k'_{a0}) \cdot e^{-b'_a \cdot (E_i + E_0)} \cdot C_{a\text{sol}}}{b'_a \cdot v \cdot d} \right]}} dt \quad (48)$$

A partir de ces expressions analytiques de la concentration de l'anion et du cation au sein du polym\`ere, nous pouvons en d\`eduire l'expression de l'intensit\`e du courant faradique. L'intensit\`e faradique est \`egale \`a :

$$I_f(t) = F \cdot d \cdot \left(-\frac{dC_c}{dt} + \frac{dC_a}{dt} \right) \quad (49)$$

o\`u F est la constante de Faraday, d l'\`epaisseur du film, C_c et C_a les concentrations en cations et anions respectivement au sein du film. Cette \`equation peut se mettre en relation avec les coefficients G_i et K_i (cf. chapitre II). Nous pouvons en d\`eduire \`egalement l'expression de la masse au sein du film :

$$m(t) = [C_c(t) - C_c(0)] \cdot (m_c + x \cdot m_s) \cdot 10^{-6} \quad (50)$$

o\`u m_c est la masse du cation ($m_c = 23 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$) et m_s la masse du solvant ($m_s = 18 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$) ; x le nombre de mol\`ecules de solvant impliqu\`ees.

Ces expressions th\`eoriques pos\`ees, nous avons une dizaine de param\`etres \`a faire varier. Analysons physiquement le processus \`a l'interface film/\`electrolyte de mani\`ere \`a fixer quelques uns de ces param\`etres lorsque nous r\`ealisons un balayage en potentiel $E = +v \cdot t$ (oxydation). Tout d'abord, la vitesse de balayage v est \`egale \`a $0,05 \text{ V} \cdot \text{s}^{-1}$; la concentration de la solution vaut $10^{-1} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} = 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{cm}^{-3}$ et l'\`epaisseur du film d est \`evalu\`ee \`a 10^{-5} cm (=100 nm). En outre, lors d'une oxydation du film, les cations sont th\`eoriquement expuls\`es et les anions ins\`er\`es (Figure 72.a). Par cons\`equent, nous nous attendons \`a une diminution de la concentration en cations au sein du film et \`a une augmentation de celle en anions (Figure 72.b)).

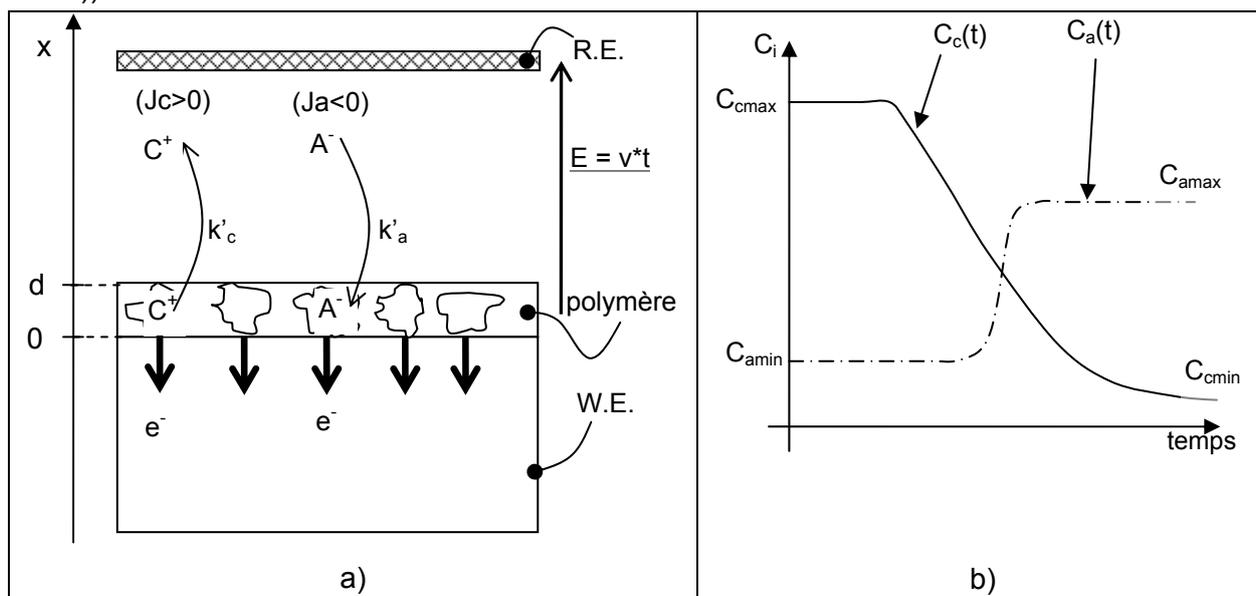


Figure 72: a) principe de l'oxydation d'un film de poly(JUG-co-JUGA) ; b) allure des concentrations correspondantes.

Lors d'une oxydation, le potentiel augmente. Dans ce cas, la constante de vitesse k'_c relative aux cations (eq. 41) augmente également, ce qui implique $b'_c > 0$. De même pour l'anion, $b'_a > 0$. Par conséquent, b_c et b_a sont négatifs.

Voici un jeu de valeurs qui a permis de s'approcher de l'allure de la courbe courant-tension relative à une oxydation en milieu NaCl 0,1 M et de toutes les autres grandeurs mesurées expérimentalement :

Constantes		Cation	Anion
k_i	k_{i0}	$0,3 \text{ cm}^4 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$	$10^{-4} \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$
	b_i	-20 V^{-1}	-40 V^{-1}
k'_i	k'_{i0}	$10^{-5} \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$	$8 \cdot 10^{-3} \text{ cm}^4 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
	b'_i	8 V^{-1}	10 V^{-1}
$C_{i\text{min}}$		$2 \cdot 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{cm}^{-3}$	$10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{cm}^{-3}$
$C_{i\text{max}}$		$2 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{cm}^{-3}$	$8 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{cm}^{-3}$

Tableau 17 : jeu de valeurs des constantes de simulations

Remarquons que la valeur $C_{c\text{max}} = 2 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{cm}^{-3}$ est en accord avec le nombre de sites quinone/hydroquinone actifs dans le film¹⁴⁸. En effet, pour une épaisseur de 130 nm, cette valeur de $C_{c\text{max}}$ est égale à $2,6 \cdot 10^{-11} \text{ mol} \cdot \text{cm}^{-2}$.

Dans ce cas, l'évolution des concentrations en cations et en anions obtenu par simulation est donnée figure 73.a) ; l'intensité faradique résultante est donnée figure 73.b).

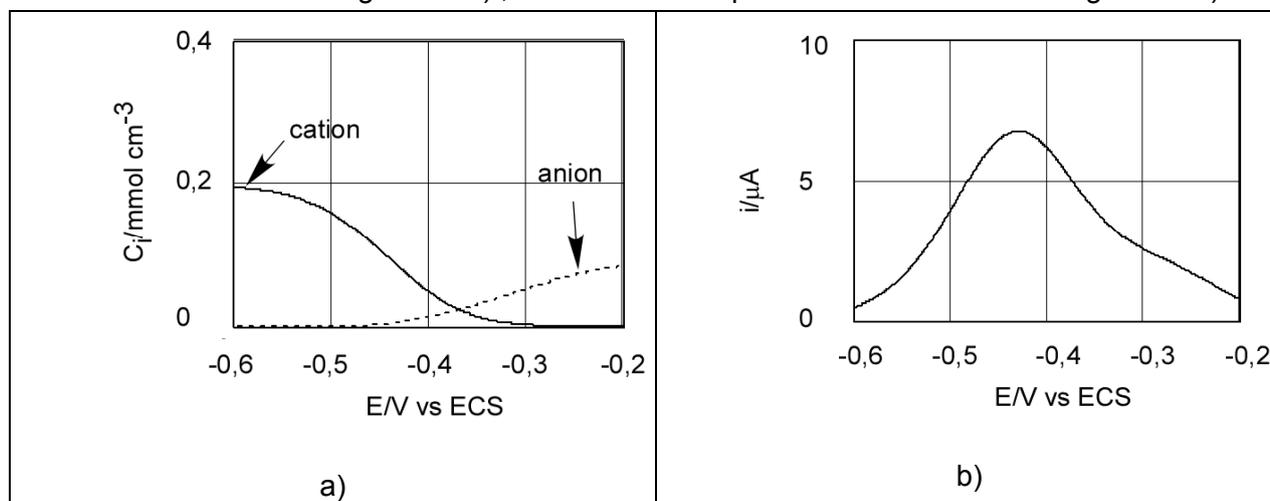


Figure 73 : a) concentrations du cation (trait continu) et de l'anion (trait pointillé) obtenues par simulation ; b) intensité.

L'allure de la simulation du courant faradique sur la gamme de potentiel [-0,65 V ; -0,20 V] correspond bien au courant faradique des courbes voltammétriques que nous avons l'habitude de mesurer (cf. figure 65 - 66). Le pic d'intensité d'environ 6 μA est du même ordre de grandeur que les pics de courant du couple rédox quinone/hydroquinone. Le jeu de valeurs de cette simulation donne une courbe en courant similaire au courant faradique obtenu expérimentalement par voltamétrie cyclique (Figure 66).

Nous pouvons également déterminer la variation de masse au sein du film (Figure 74). Nous nous apercevons qu'avec ce calcul, la masse obtenue est beaucoup plus faible que les valeurs mesurées expérimentalement. Nous pouvons l'expliquer par un effet dû au solvant. En rajoutant le solvant dans le calcul de la masse, comme présenté dans l'équation 50, nous retrouvons un ordre de grandeur plus proche de celui obtenu avec le seul cation. En effet, le voltammassogramme de la figure 66 donne une variation expérimentale de la fréquence de la microbalance d'une centaine de hertz en milieu NaCl 0,1 M. A partir de ce résultat nous obtenons la variation de masse au sein du film via l'équation de Sauerbrey : $\Delta m = 60 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^2$.

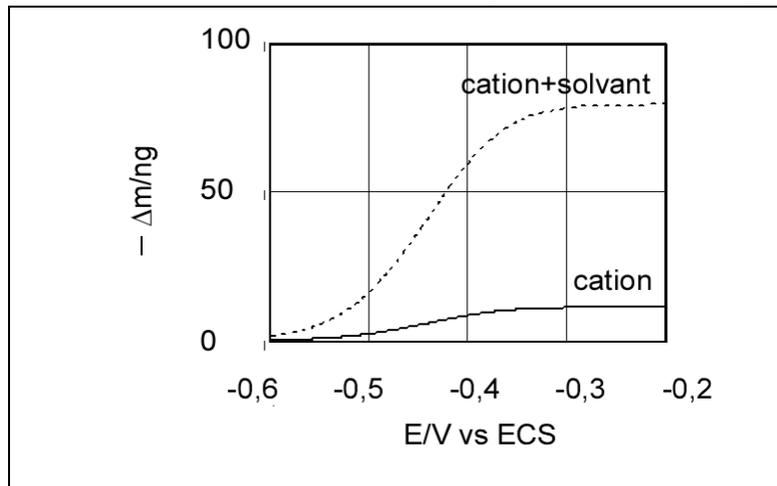


Figure 74 : simulation de la masse au sein du film en fonction du potentiel

1.4.3. Simulation des différentes grandeurs mesurées à partir de ces concentrations théoriques

Nous pouvons donc maintenant recalculer en fonction du potentiel :

- la résistance de transfert R_t (Figure 75.a) ;
- le coefficient cinétique K_c (Figure 75.b) ;

et à un potentiel donné :

- l'impédance électrochimique, $\frac{\Delta E}{\Delta I}(\omega)$ au potentiel $E = -0,5 \text{ V}$ par exemple, (Figure 76.a) ;
- la fonction de transfert $\frac{\Delta q}{\Delta E}(\omega)$, (Figure 76.b) ;
- la fonction de transfert électrogravimétrique, $\frac{\Delta m}{\Delta E}(\omega)$, (Figure 76.c).

Rappelons les expressions théoriques de R_t et K_c :

$$R_t = -\frac{1}{96500 \cdot G_c}$$

$$K_c = \left(\frac{\partial J_c}{\partial C_c} \right)_E = k'_c + k_c C_{c_{\text{sol}}}$$

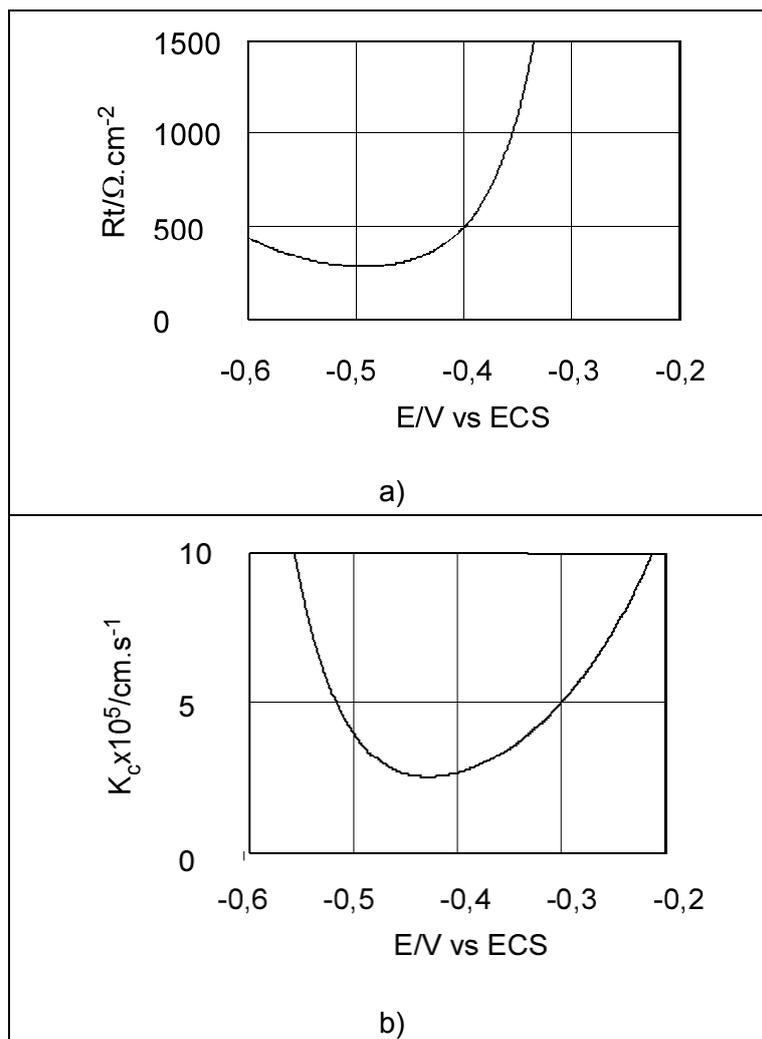


Figure 75 : a) résistance de transfert Rt ; b) coefficient K_c obtenu par simulation.

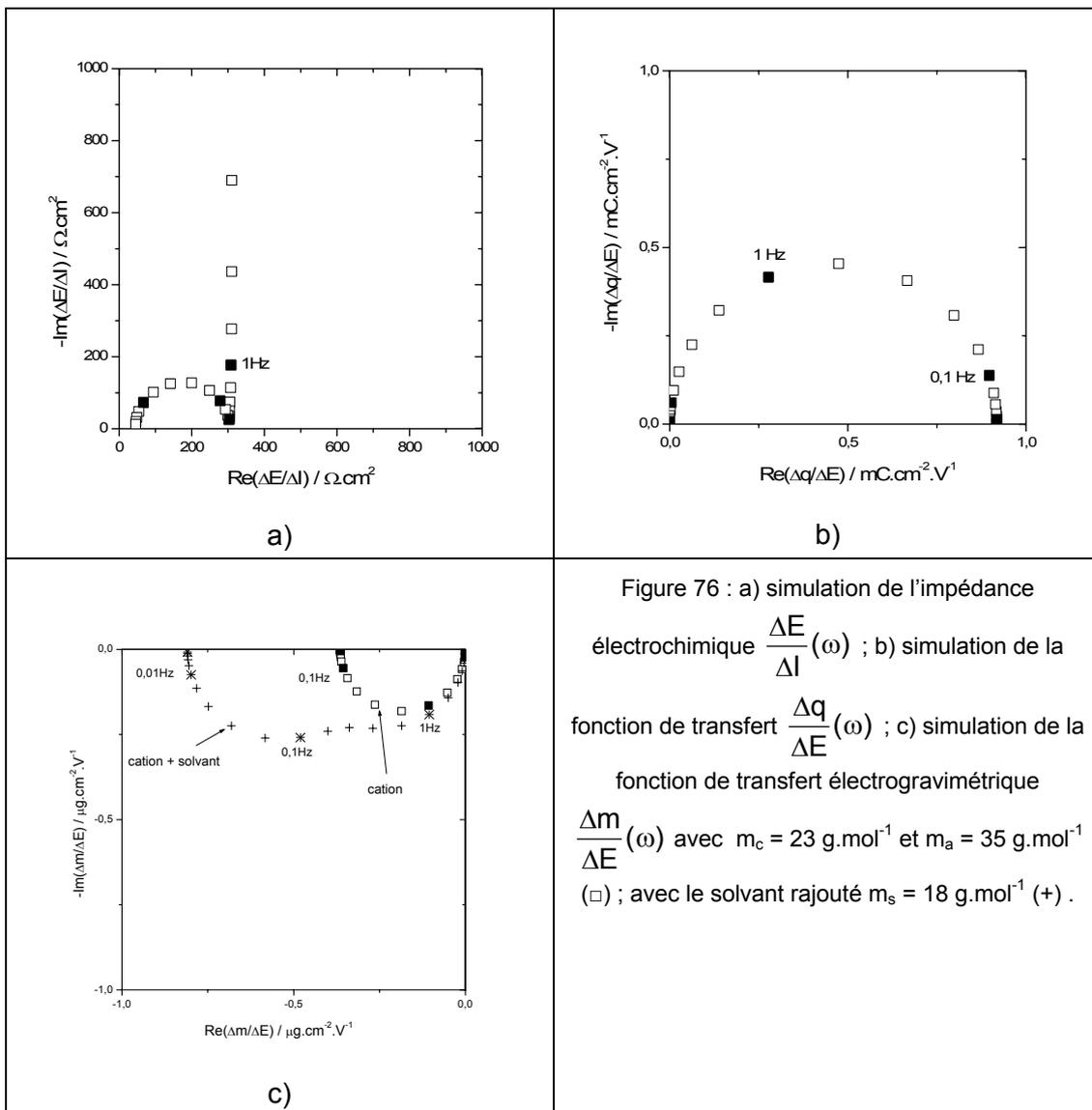
L'allure de la courbe de Rt est proche de celle obtenue expérimentalement (figure 68.a)). L'allure générale du coefficient cinétique $K_c = k'_c + k_c C_{c_{\text{sol}}}$ est celle que nous obtenons expérimentalement. L'allure de la courbe montre que le terme k_c est prépondérant entre -0,75 V et -0,5 V et à l'inverse, k'_c est prépondérant entre -0,5 V et -0,2 V (figure 68.b)).

Puis les différentes fonctions de transfert ont été calculées. Le diagramme d'impédance électrochimique de la figure 76.a) présente une boucle aux hautes fréquences donnant une résistance de transfert ionique Rt de l'ordre de 250 Ω , valeur en accord avec les résultats expérimentaux. Le diagramme 76.b) donne l'allure de la fonction de transfert $\frac{\Delta q}{\Delta E}(\omega)$ qui est une boucle correspondant à la charge cationique essentiellement. L'ordre de grandeur de cette boucle est du même ordre de grandeur que celle que nous trouvons expérimentalement.

Enfin, la boucle de la fonction de transfert électrogravimétrique $\frac{\Delta m}{\Delta E}(\omega)$ est donnée figure 76.c). La boucle avec les carrés correspond à la fonction de transfert obtenue à partir des masses molaires de Na^+ et Cl^- . La boucle avec les croix correspond à cette même fonction de transfert à laquelle nous avons rajouté le terme dû au solvant. Nous remarquons

donc que l'ajout du solvant dans le modèle influe beaucoup sur la réponse électrogravimétrique. Cette dernière courbe se rapproche des courbes de la fonction de transfert électrogravimétrique que nous obtenons régulièrement (figure 69, milieu NaCl 0,1 M par exemple).

Ces diagrammes de la figure 76 ont été obtenus avec les masses correspondant au cation Na^+ et à l'anion Cl^- .



1.4.4. Etude selon la valeur du pH de l'électrolyte

Dans ce paragraphe, nous souhaitons montrer l'influence du pH sur la réponse électrochimique et électrogravimétrique du film de poly(JUG-co-JUGA). Les pH d'études choisis sont : 2,5 ; 5,5 ou 8,5. La composition de ces trois solutions S1, S2, S3 est donnée au chapitre III.

La figure 77.a) donne les voltammogrammes cycliques obtenus pour chaque pH testé et la figure 77.b) les SWV. La comparaison de cette dernière avec la figure 60.a) relative à un

film déposé sur une électrode de carbone vitreux montre que dans les deux cas le pH 2,5 ne donne pas de réponse. D'autre part, les réponses SWV des pH 5,5 et 8,4 sont inversées. Le comportement du film de poly(JUG-co-JUGA) semble être différent suivant qu'il est déposé sur une électrode de carbone vitreux ou d'or.

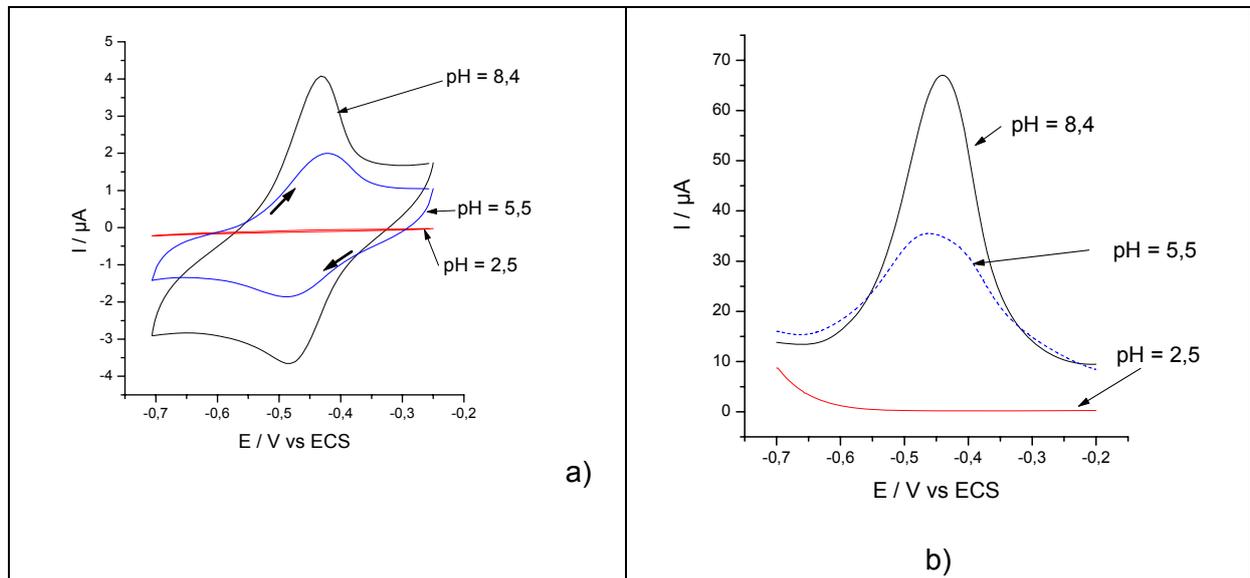


Figure 77 : a) voltammogramme d'activation d'un film de poly(JUG-co-JUGA) sur un résonateur à quartz or de 9MHz en solution de pH 2,5 ; 5,5 ; 8,4 ; b) SWV d'un film de poly(JUG-co-JUGA) sur un résonateur à quartz or de 9MHz en solution de pH 2,5 ; 5,5 ; 8,4.

La figure 78 présente les coefficients cinétiques K_c . La comparaison avec les résultats obtenus sur une électrode de carbone vitreux (figure 60.b)) conduit à la même conclusion : les cinétiques sont inversées entre les deux pH 5,5 et 8,4.

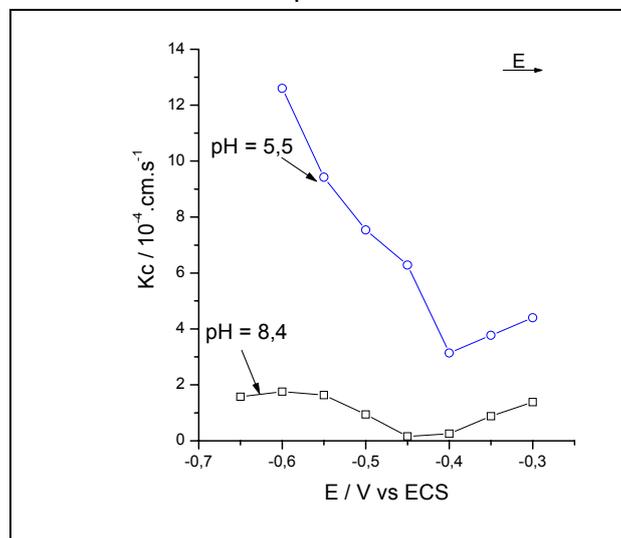


Figure 78 : coefficient cinétique K_c relatif au cation, obtenu par ajustement sous Mathcad, en fonction du pH.

Selon la valeur du pH de l'électrolyte, l'analyse en impédance électrochimique du film donne un coefficient de transfert de cations K_c qui diminue lorsque le pH augmente. Cette variation est l'inverse de celle observée pour un film déposé sur une électrode de carbone vitreux (figure 60). Nous pouvons donc penser que la nature du film est différente suivant le support (or et carbone vitreux) puisque le comportement électrochimique est radicalement différent en fonction du pH.

2. Etude du greffage et de l'hybridation de brins d'ODN sur un film de poly(JUG-co-JUGA)

2.1. Introduction

Le comportement électrochimique du film de poly(JUG-co-JUGA) étant caractérisé, nous souhaitons ensuite déterminer l'influence du greffage et de l'hybridation de brins d'ODN sur la réponse électrochimique et électrogravimétrique du film. Toutefois, une étape intermédiaire nous a semblé intéressante : déterminer l'influence de l'adsorption de macromolécules chargées sur la réponse électrogravimétrique. Nous choisissons de travailler toujours dans le PBS avec des espèces chargées positivement (un poly(éthylèneimine) – PEI) ou négativement (des brins d'ADN génomique de saumon indifférenciés).

2.1.1. Influence de l'adsorption sur la réponse électrochimique du film sur or

Le protocole d'adsorption des molécules est détaillé au chapitre III.

La figure 79 présente les SWV avant et après adsorption des molécules à la surface du film, ainsi que le coefficient cinétique K_c . Sur les figures 79.a) et 79b), nous observons que l'intensité du courant faradique diminue lorsqu'une macromolécule est adsorbée à la surface du film. Par conséquent, la macromolécule adsorbée à la surface, quelle que soit sa charge, a un effet d'écrantage sur la réponse en intensité faradique.

Les figures 79.c) et 79.d) montrent que la cinétique à l'interface diminue avec l'adsorption des macromolécules, ce qui va également dans le sens d'un écrantage de la surface. Une expérience identique menée sur un film synthétisé sur une électrode de carbone vitreux donne des courbes de SWV et de K_c tout à fait similaires.

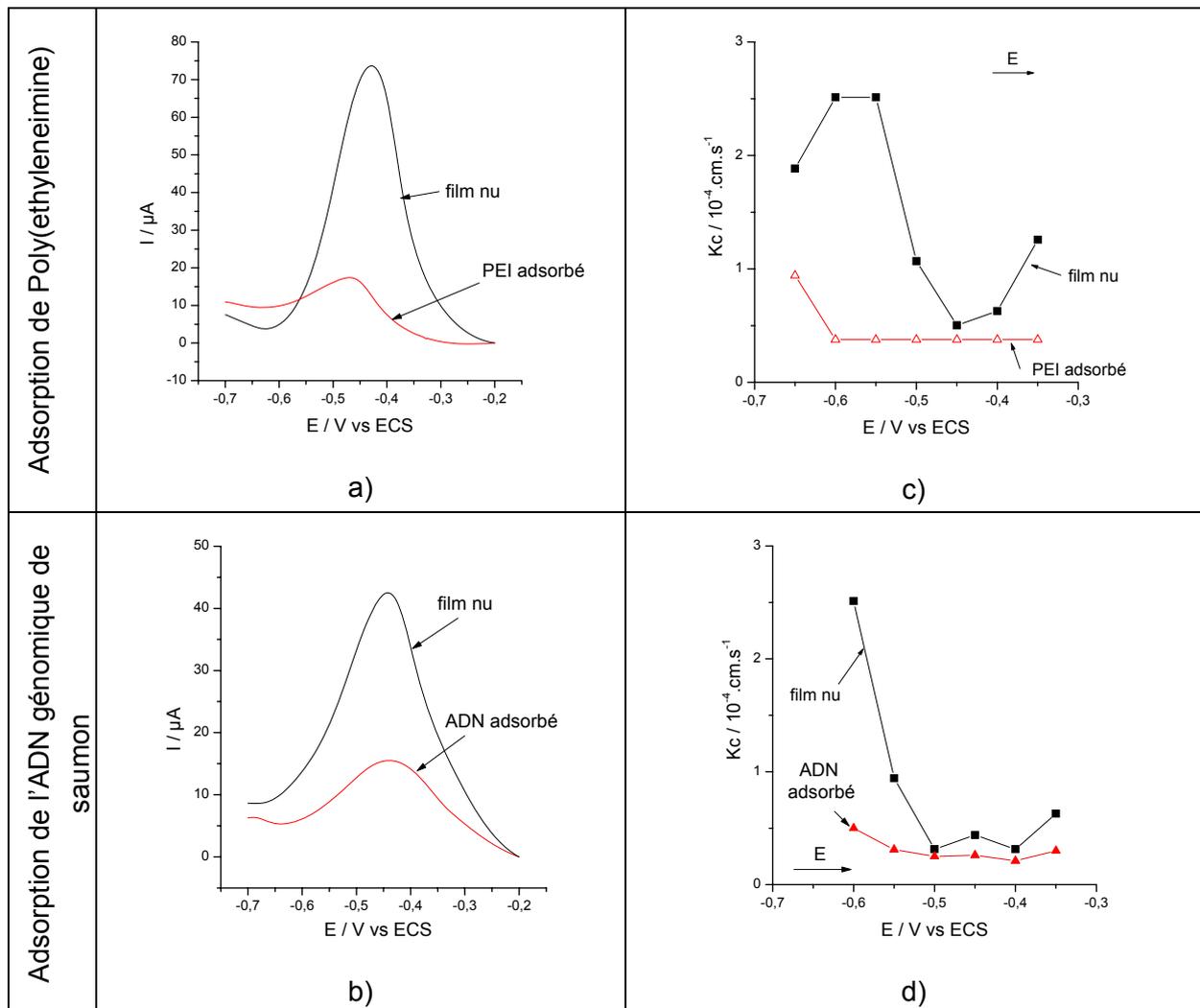


Figure 79: SWV en milieu PBS d'un film de poly(JUG-co-JUGA) de 130 nm déposé sur un résonateur à quartz : a) avant/après adsorption de poly(éthylèneimine) à $10^{-4}M$; b) avant/après adsorption d'ADN génomique de saumon à $10^{-4}M$; Coefficient cinétique Kc relatif au cation, obtenu par ajustement sous Mathcad, en fonction du de la molécule adsorbée : c) poly(éthylèneimine) ; d) ADN génomique de saumon.

Cet effet d'écrantage observé a-t-il une influence sur la réponse en impédance électrochimique couplée à l'électrogravimétrie ? Nous présentons ici l'exemple de l'adsorption de brins de saumon. La figure 80 donne les deux fonctions de transfert caractéristiques, $\frac{\Delta q}{\Delta E}(\omega)$, $\frac{\Delta m}{\Delta E}(\omega)$, obtenues au potentiel $-0,45 V$ vs ECS.

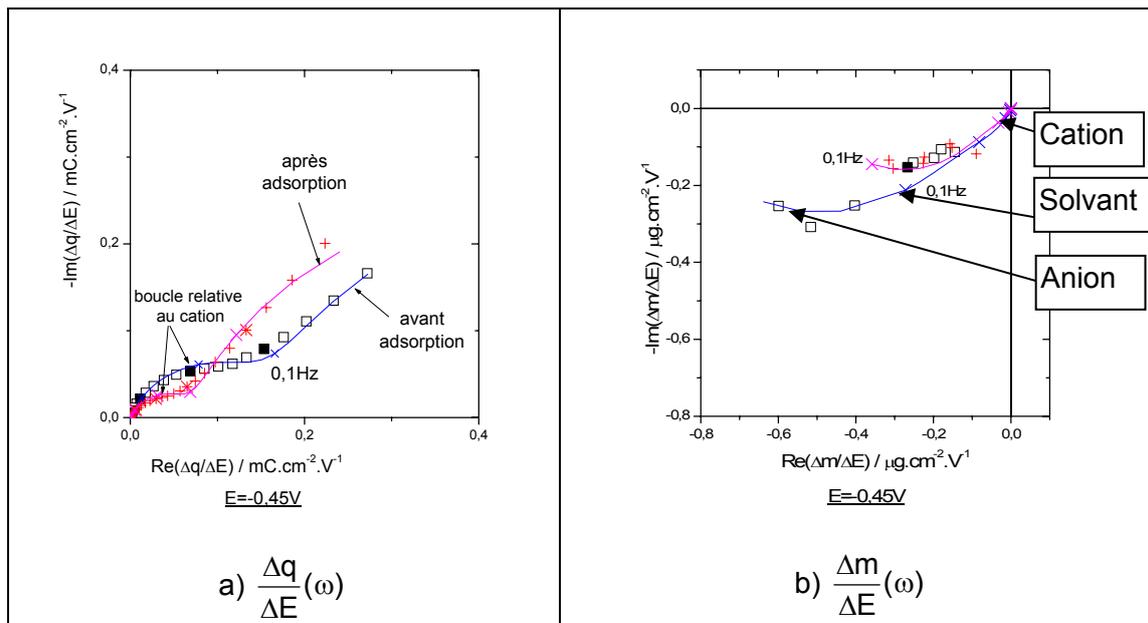


Figure 80 : résultats au potentiel -0,45 V vs ECS en milieu PBS de a) la charge en fonction du potentiel ; b) l'électrogravimétrie, du film de 130 nm (\square) et du film adsorbé avec des brins d'ADN de saumon (+).

Les courbes en trait plein correspondent aux simulations obtenues par ajustement. Les masses des espèces ioniques ainsi identifiées sont celles de Na^+ et Cl^- .

La courbe de $\frac{\Delta q}{\Delta E}(\omega)$ est caractéristique du nombre de charges intervenant dans le processus de compensation de charge du polymère. Nous avons déterminé par simulation (cf chapitre II) que la première boucle observée correspond à la charge cationique. Nous remarquons alors que l'adsorption diminue la quantité de charges cationiques échangées.

La courbe de $\frac{\Delta m}{\Delta E}(\omega)$ montre que l'adsorption entraîne une diminution de la taille de la boucle mesurée. Les masses échangées sont donc plus faibles, en particulier pour le solvant. L'adsorption a donc bien un effet d'écrantage et limite l'insertion du solvant dans le film.

2.1.2. Greffage et hybridation des brins d'ODN sur le film synthétisé sur or

o Protocole

La séquence des brins d'ODN utilisés est (la séquence codante est encadrée) :

- Brins sondes, modifiés $-(\text{CH}_2)_6-\text{NH}_2$ à l'extrémité 3' (notés aGEM) – 27 bases :



- Brins cibles complémentaires (notés HIV) – 20 bases :



- Brins cibles non complémentaires (notés Random) – 20 bases :



Le greffage est réalisé dans 3 mL d'eau distillée contenant $1,5 \cdot 10^{-2}$ M EDC, $3 \cdot 10^{-2}$ M NHS, $0,1 \mu\text{M}$ d'ODN aGEM. La cellule est mise à 37°C pendant 2h. Le lavage est effectué

dans du PBS à 37° pendant 2h. L'hybridation est obtenue dans 3 mL de PBS avec 0,1 μ M d'ODN HIV. La cellule est portée à 50°C pendant 2h puis redescendue progressivement à 37°. Le lavage est ensuite réalisé dans du PBS à 37° pendant 1h.

Avant d'effectuer les mesures d'électrogravimétrie nous allons vérifier que notre protocole conduit bien à l'hybridation des brins complémentaires à la surface de notre biocapteur. Nous testons pour cela notre biocapteur par deux méthodes : gravimétrique (cellule à circulation de 27 MHz) et optique (fluorescence).

○ Montage à circulation, quartz de 27MHz

Nous utilisons le montage à circulation décrit au chapitre III § 1.3. Lorsque nous ajoutons les brins sondes d'ODN la fréquence de la microbalance chute de 397 Hz (Figure 81.a)). Il y a bien greffage des ODN sur la surface. L'ajout de brins non complémentaires ne provoque aucune diminution de la fréquence de la microbalance. Ce système est bien sélectif.

La variation de fréquence résultant de l'hybridation des brins cibles est de 20 Hz (Figure 818.b)). Or, la sensibilité expérimentale de la microbalance étant de 350 pg.Hz⁻¹, ce qui permet de calculer la quantité de brins hybridés : 4,75 pmol.cm⁻².

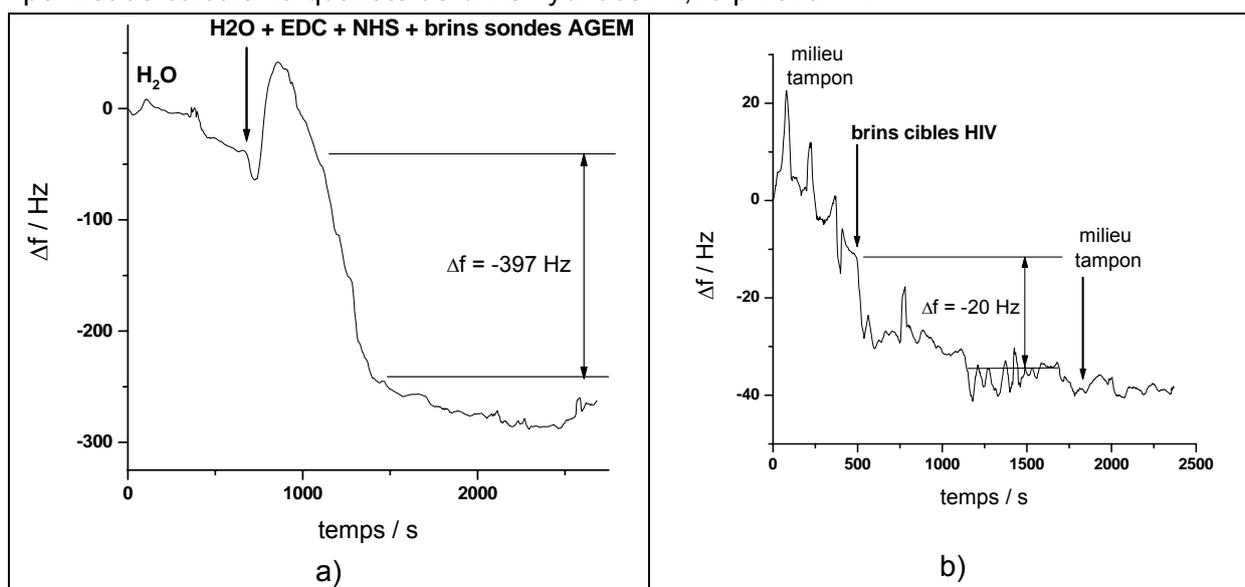


Figure 81 : a) variation de fréquence consécutive à l'injection de brins sondes aGEM ; b) variation de fréquences consécutive à l'injection de brins cibles HIV.

○ Spectrométrie de fluorescence

Nous avons effectué une seconde estimation de la quantité de brins hybridés par la méthode de spectrométrie de fluorescence en milieu PBS et NaCl 0,5 M (détaillée au chapitre III). Pour cela nous avons greffé des brins sondes sur un film de poly(JU-co-JUGA) déposé sur un résonateur à quartz en suivant le protocole proposé au 3.1.1.. Nous avons ensuite réalisé une hybridation de brins complémentaires marqués par le fluorophore BODIPY 650/665. Les électrodes sont ensuite lavées (échantillons L1, L2, L3) puis déshybridées (échantillon D). Le détail de ce protocole est donné au chapitre II (§ 6.1.3.). Ces quatre échantillons sont passés au spectromètre de fluorescence et permettent de déterminer la quantité de brins déshybridés.

Le tableau 18 reporte les concentrations en brins marqués calculées à partir des intensités de fluorescence.

	L1	L2	L3	D
PBS	1,4	1	3,5	7,6
NaCl 0,5M	0,8	1,1	0,9	42

Tableau 18 : concentration en en pmol.cm⁻² .

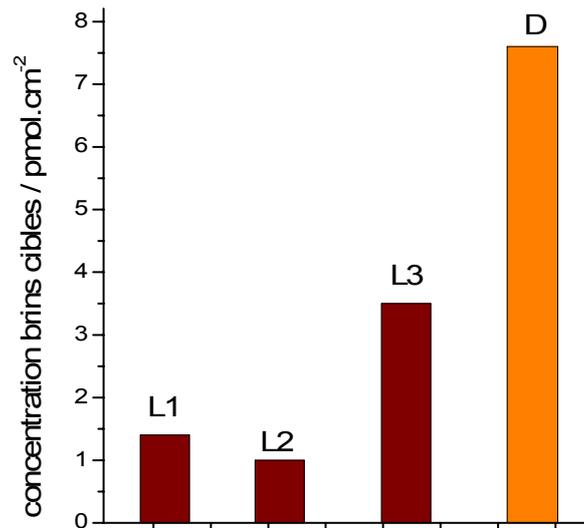


Figure 82 : concentrations des brins cibles en pmol.cm⁻² pour les échantillons L1, L2, L3 et D en milieu PBS.

La figure 82 présente les résultats relatifs à l'hybridation obtenue en milieu PBS. Au regard des valeurs L1, L2 et L3 qui correspondent aux trois étapes de lavage de l'électrode avant la déshybridation D, nous pouvons conclure qu'il y a adsorption des brins cibles sur le film et le support du quartz et qu'une déshybridation progressive a lieu avant l'étape de déshybridation proprement dite.

Par ailleurs, il est à noter qu'en milieu NaCl 0,5 M cette hybridation est un peu élevée (~5 fois plus qu'en milieu PBS), ce qui laisse à penser que des brins qu'il restait encore des brins cibles adsorbés sur la surface.

Quelle que soit la méthode employée, nous nous sommes assurés que notre support n'était pas un frein à l'hybridation des brins d'ODN sur les brins sondes.

2.2. L'hybridation sur une électrode de carbone vitreux

2.2.1. Influence sur la SWV

Les précédentes études menées sur le carbone vitreux ont montré que l'hybridation de brins d'ODN provoque une augmentation d'intensité du courant d'oxydation de la quinone (Figure 83).

Notre objectif est de déterminer si la technique d'électrogravimétrie permettra de caractériser l'hybridation par une évolution des paramètres électrochimiques caractéristiques et de comprendre les phénomènes mis en jeu.

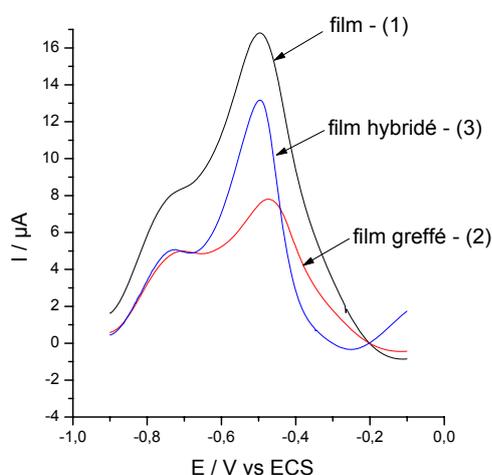


Figure 83 : SWV d'un film de poly(JUG-co-JUGA) de 130 nm (1), greffé par des sondes de 27 bases à la concentration 0,1 μM (2) et hybridé par des cibles complémentaires de 20 bases à la concentration $c=0,1 \mu\text{M}$ (3) en milieu PBS.

L'étape de greffage se comporte de manière analogue à une étape d'adsorption de macromolécule à la surface : le courant faradique diminue en SWV. L'étape de greffage semble correspondre à un écrantage de la surface (Figure 84.a)). Par contre, l'hybridation provoque une augmentation du courant faradique. Une explication serait qu'en s'appariant, les doubles brins se réorganisent comme le montre la figure 84.b), favorisant ainsi le passage des espèces de l'électrolyte participant au phénomène de compensation de charge du polymère.

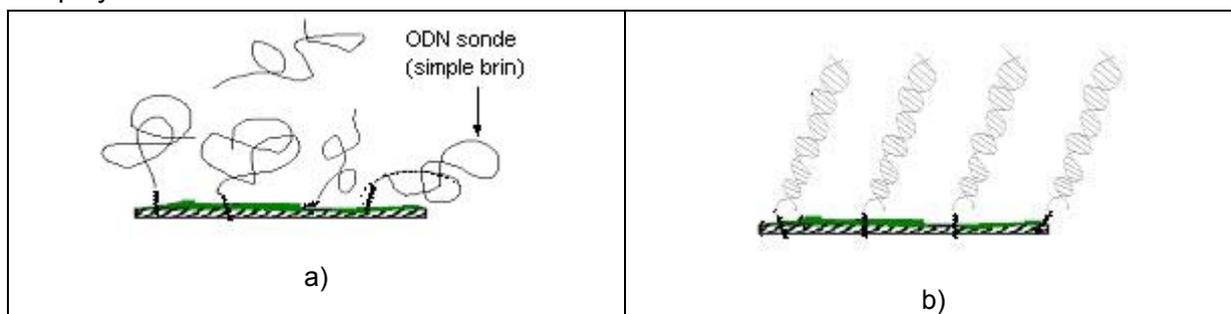


Figure 84 : a) conformation d'ODN simple brin (avant hybridation), b) conformation d'ODN double brin (après hybridation).

2.2.2. Influence sur l'impédance électrochimique

Par ailleurs des mesures de la fonction de transfert d'impédance électrochimique ont été réalisées à différents potentiels en milieu PBS sur un film de poly(JUG-co-JUGA), déposé sur une électrode de carbone vitreux, avant greffage d'ODN sondes, après greffage et après hybridation d'ODN cibles.

La figure 85 présente les résultats aux potentiels $-0,3\text{ V}$ et $-0,4\text{ V}$ vs ECS. L'étape de greffage augmente la résistance de transfert ionique R_t ce qui traduit un transfert ionique à l'interface plus difficile. L'hybridation entraîne une diminution de R_t ; le transfert ionique est alors facilité. Cette évolution de la résistance de transfert ionique est cohérente avec celle du courant faradique obtenue en SWV figure 83 bien que nous ayons déjà souligné que ces deux techniques donnent des informations différentes.

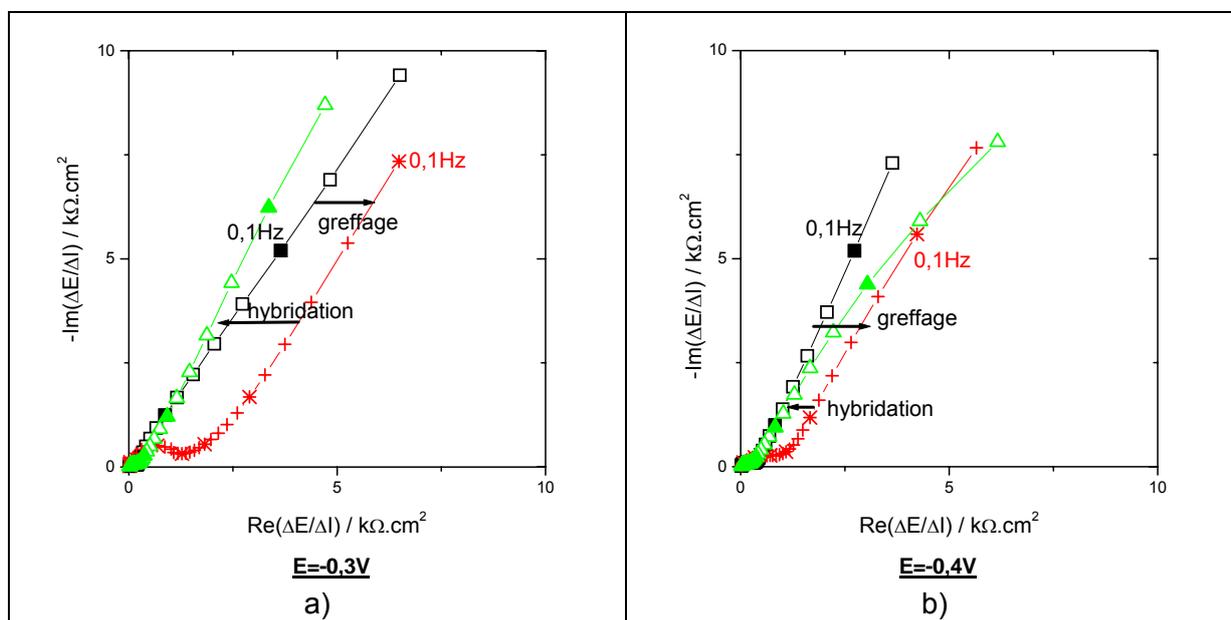


Figure 85 : diagrammes d'impédance électrochimique en milieu PBS du film de poly(JUG-co-JUGA) (□), du film après greffage de sondes aGEM ($c = 0,2\ \mu\text{M}$) (+), du film greffé après hybridation de cibles HIV ($c = 0,1\ \mu\text{M}$) (Δ), aux potentiels a) $-0,30\text{ V}$; b) $-0,40\text{ V}$ vs ECS.

2.3. Hybridation sur une électrode d'or

2.3.1. Influence sur la SWV

La caractéristique principale de l'hybridation sur une électrode d'or est qu'elle n'entraîne pas la même évolution de l'intensité en SWV par rapport à une électrode de carbone vitreux. En effet, la figure 86 montre que le greffage des brins sondes provoque une diminution de l'intensité (à rapprocher de l'écrantage observé sur les mesures d'adsorption de molécules de PEI ou de l'ADN de saumon, §2.1). Par contre, contrairement aux électrodes de carbone vitreux l'hybridation provoque également une diminution de ce courant d'oxydation.

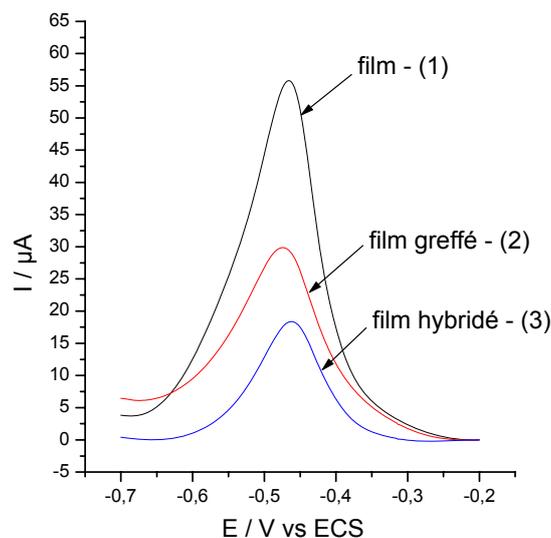


Figure 86 : SWV en milieu PBS d'un film de poly(JUG-co-JUGA) synthétisé sur une électrode d'or (1), greffé par des sondes de 27 bases à la concentration 0,2 µM (2) et hybridé par des cibles complémentaires de 20 bases à la concentration $c=0,1$ µM (3).

Cette évolution du courant d'oxydation après hybridation est donc tout a fait similaire à l'adsorption d'une molécule chargée à la surface du film présentée au paragraphe (2.1.).

2.3.2. Influence sur l'impédance électrochimique couplée à l'électrogravimétrie

○ Influence sur l'impédance électrochimique

Nous avons par conséquent essayé de caractériser cette différence par la technique d'impédance électrochimique couplée à l'électrogravimétrie. La figure 87 montre l'évolution de la fonction de transfert $\frac{\Delta E}{\Delta I}(\omega)$ au potentiel -0,45 V en fonction de l'état nu, greffé ou hybridé d'un film de poly(JUG-co-JUGA).

Nous remarquons que l'évolution de l'impédance électrochimique en fonction de l'état nu, greffé ou hybridé du film est l'inverse de celle obtenue sur carbone vitreux. La résistance

de transfert ionique diminue avec l'étape de greffage alors qu'elle augmente avec l'étape d'hybridation.

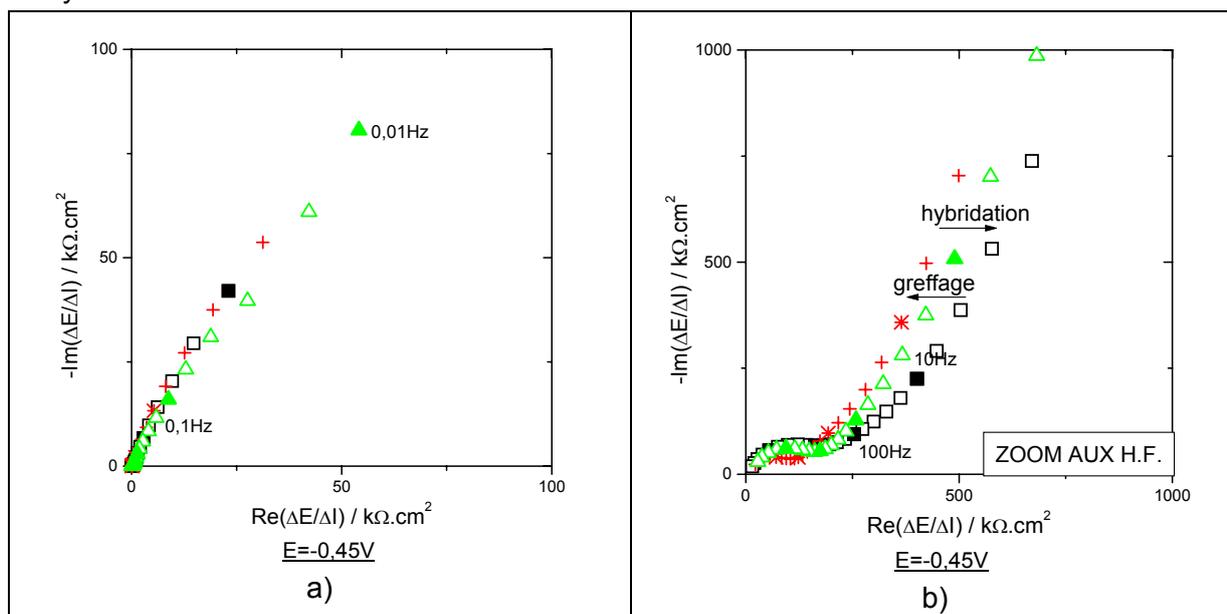


Figure 87 : diagrammes d'impédance électrochimique en milieu PBS d'un film de poly(JUG-co-JUGA) (□), du film après greffage de sondes aGEM ($c = 0,2 \mu\text{M}$) (+), du film greffé après hybridation de cibles HIV (Δ) au potentiel $-0,45 \text{ V}$.

o Influence sur la fonction de transfert électrogravimétrique

Les diagrammes a), b) et c) de la figure 88 donne les fonctions de transfert électrogravimétriques obtenues à chacune des étapes. Nous nous apercevons que la boucle relative au solvant diminue après l'étape de greffage (figures 88.a) et 88.b)). En effet, si l'on considère que cette étape constitue un écrantage de la surface, cette dernière est peu accessible au solvant.

De la même manière, la boucle relative au cation diminue également ; ce que nous retrouvons par le calcul de $\frac{G_c}{K_c}$ (Figure 88.d)) qui, aux basses fréquences, est directement lié

à $\frac{\Delta C_c}{\Delta E}$ (cf. Chap. II, éq. 24). Une diminution de ce rapport montre alors que la variation de concentration en cation dans le film est plus faible après greffage. Ce qui semble confirmer encore cette hypothèse d'écrantage de la surface.

Après l'étape d'hybridation (figure 88.c)) la courbe relative au solvant est du même ordre de grandeur alors que celle relative au cation diminue encore. Le $\frac{G_c}{K_c}$ diminue à nouveau, ce qui traduit une diminution de la concentration des espèces à l'interface film/solution. Ici, comme nous l'avons déjà noté en SWV, le comportement du film est radicalement différent d'un film déposé sur une électrode de carbone vitreux. L'appariement des deux brins ne semble pas favoriser par rapport aux seuls brins sondes la concentration en cation à l'interface.

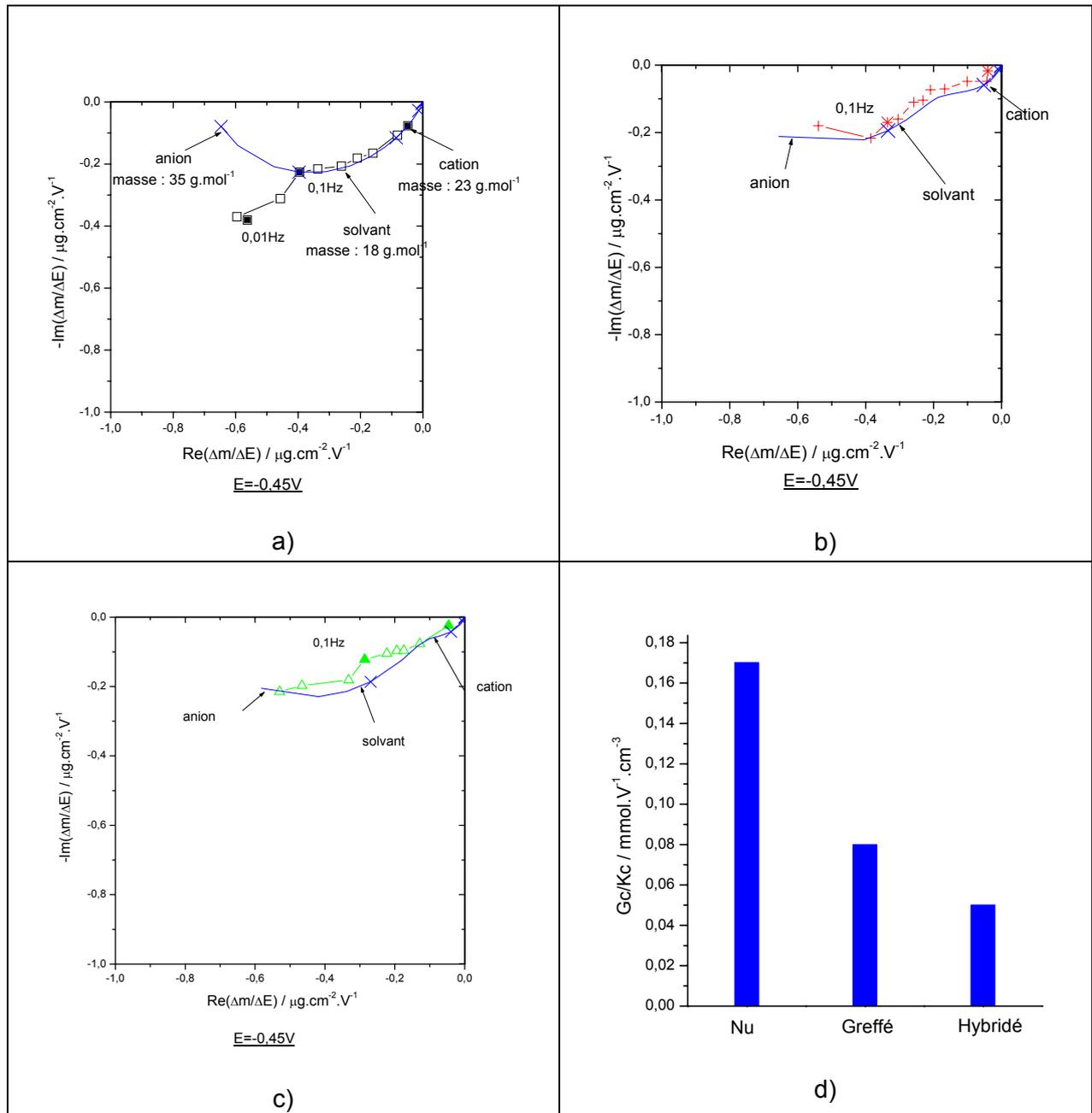


Figure 88 : fonctions de transfert électrogravimétriques en milieu PBS au potentiel -0,45 V vs ECS pour un film a) nu ; b) greffé aGEM, c = 0,2 μM ; c) hybridé HIV, c = 0,1 μM ; en trait plein les courbes obtenues par ajustement

des résultats expérimentaux avec la théorie ; d) valeur de $\frac{G_c}{K_c}$ obtenu par ajustement des résultats

expérimentaux avec le modèle présenté chapitre II.

3. Conclusion

La comparaison des réponses électrochimiques du film de poly(JUG-co-JUGA) sur deux supports, « carbone vitreux » et « or », a mis en évidence un comportement totalement différent, résultat auquel nous ne nous attendions pas. Ce dernier chapitre a permis d'améliorer la compréhension de l'électrochimie du film sur des électrodes d'or. A l'aide des mesures d'impédance électrochimique couplée à l'électrogravimétrie nous nous sommes rendus compte que l'influence du solvant n'était pas négligeable. Pour des solutions NaCl de concentrations 0,1 M le solvant participe nettement au processus de compensation de charge du polymère. Pour des solutions plus concentrées, 0,5 M, la participation du solvant est beaucoup plus faible : la boucle de réponse caractéristique du solvant est quasi inexistante.

Ensuite, pour vérifier d'une part que notre modèle théorique était adapté à notre système électrochimique et d'autre part, pour confirmer ce rôle du solvant, nous avons calculé théoriquement les grandeurs classiques (courant, fonctions de transfert ...) à partir de l'expression de la concentration dans le film. Cette simulation, nouvelle de par son approche, a montré que :

- le courant faradique, i_f , obtenu à partir des lois de la cinétique hétérogène est en accord avec nos résultats expérimentaux trouvés par voltammétrie cyclique ;
- les évolutions théoriques des constantes k_i et de la résistance de transfert ionique R_t en fonction du potentiel correspondent à celles obtenues expérimentalement ;
- l'impédance électrochimique, $\frac{\Delta E}{\Delta I}(\omega)$, peut être simulée et la courbe obtenue se rapproche en terme de fréquence, de taille et de forme de celle trouvée expérimentalement ;
- la fonction de transfert électrogravimétrique, $\frac{\Delta m}{\Delta E}(\omega)$, obtenue par simulation met en évidence la contribution du solvant.

Ces simulations permettent de bien montrer l'unicité des paramètres trouvés et de valider notre modèle de départ pour lequel l'hypothèse d'un transfert essentiellement ionique à l'interface est ainsi confirmée. Des paramètres très pertinents comme la capacité d'insertion des cations au sein du film sont aussi déterminés.

Enfin, l'étude des interactions de ce film avec des brins ODN par méthodes électrochimiques et électrogravimétriques a montré qu'à basses fréquences la fonction de transfert électrogravimétrique relative au cation, $\left. \frac{\Delta m}{\Delta E} \right)_{\omega \rightarrow 0}^{\text{cation}}$, diminue aux étapes de greffage et d'hybridation. Ce résultat montre que la capacité du film au transfert des cations diminue suite à ces deux étapes et est cohérent avec l'étude en SWV lors de ces mêmes interactions : le greffage et l'hybridation provoquent une diminution du courant faradique ainsi que de l'aire globale de la courbe.

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

Ce travail s'inscrit dans le cadre du développement d'un biocapteur ADN électrochimique à base du polymère conducteur poly(5-hydroxy-1,4-naphtoquinone-co-5-hydroxy-3-acide thioacétique-1,4-naphtoquinone), ou plus communément poly(JUG-co-JUGA). Des travaux antérieurs ont montré l'intérêt de ce matériau : le poly(JUG-co-JUGA) est un polymère conducteur stable au cyclage en milieu aqueux neutre dans la partie cathodique. Cette propriété de polymère échangeur de cations est toute l'originalité de ce matériau. Cela permet d'une part, de s'affranchir des phénomènes d'adsorption non spécifiques, et d'autre part, d'obtenir une augmentation du signal mesuré en SWV lors de l'hybridation des brins d'ADN.

Puisque l'utilisation de ce copolymère conducteur était prometteuse pour la détection de l'hybridation des brins d'ADN et a d'ores et déjà donné de très bons résultats, il nous a semblé que la compréhension des mécanismes électrochimiques liés à la transduction de l'hybridation était une étape nécessaire pour la mise au point de ce capteur. La phase d'hybridation ne met pas directement en jeu des réactions électrochimiques. Toutefois, la transduction inhérente à l'hybridation modifie les propriétés du matériau sous jacent, à savoir le polymère conducteur. L'étude de cette transduction, phénomène d'interface, nécessite une méthode sensible à l'électrochimie d'interface. C'est pourquoi nous avons étudié la cinétique de transfert des espèces à l'interface film/solution grâce à la technique d'électrogravimétrie. Cette technique puissante combine des mesures simultanées d'impédance électrochimique, $\frac{\Delta E}{\Delta I}(\omega)$, et de fonction de transfert électrogravimétrique,

$$\frac{\Delta m}{\Delta E}(\omega).$$

Nous avons dû, dans un premier temps, optimiser la réponse massique du film de poly(JUG-co-JUGA) déposé sur l'électrode d'or d'un résonateur à quartz de 9 MHz, transducteur gravimétrique indispensable à la technique d'électrogravimétrie. En parallèle nous avons également optimisé le montage d'électrogravimétrie : une caractérisation fine de différents modèles de convertisseurs fréquence/tension nous a permis d'opter pour le dispositif ayant la meilleure sensibilité et la meilleure dynamique pour nos applications.

L'étude par impédance électrochimique couplée à l'électrogravimétrie a mis en évidence la participation importante du solvant dans le processus de compensation de charge du copolymère pour des concentrations d'électrolyte relativement faibles. Nous avons aussi clairement identifié le cation, le sodium, qui intervient majoritairement dans les processus électrochimiques. De plus, nous avons accès à des grandeurs difficilement accessibles via des mesures classiques comme les constantes cinétiques de transfert et les capacités d'insertion du film. Par ailleurs, l'étude des interactions du film avec des brins d'ODN a montré le comportement électrochimique particulier du support « or » par rapport à celui de « carbone vitreux » : une telle différence de résultat tend à montrer que le dépôt du film sur l'or ou le carbone vitreux conduit à un matériau dont le comportement électrochimique est complètement différent.

Enfin, nous avons développé des simulations basées sur les lois de la cinétique hétérogène relative au transfert ionique à l'interface pour établir des relations entre les différentes grandeurs mesurées : courant et masse du film résultant d'un balayage en potentiel, impédance électrochimique et fonction transfert électrogravimétrique. Cette démarche, novatrice, a permis de retrouver par simulation les résultats obtenus expérimentalement avec le poly(JUG-co-JUGA). Les constantes cinétiques, les constantes de Tafel ainsi que le nombre maximum de sites disponibles pour les ions ont été déterminés. Ces informations sont essentielles pour la compréhension des mécanismes de transduction lors de l'hybridation et tendent à être affinées.

Ce travail s'intègre dans une démarche générale de mise au point d'un biocapteur sensible et efficace. Ces résultats constituent donc une première étape. Puisque nous avons mis en évidence que l'effet du solvant est le paramètre qui limite notre capacité à détecter l'hybridation par les méthodes d'impédance électrochimique couplée à l'électrogravimétrie, il serait intéressant d'étudier les interactions du film avec des brins d'ODN à des concentrations plus importantes de l'électrolyte.

De plus, le laboratoire LISE étant nouvellement équipé d'un montage de dépôt de carbone, il serait également envisageable de déposer directement du carbone sur des quartz pour se rapprocher au mieux des conditions de l'électrode de carbone vitreux.

ANNEXE - Symboles

(dans l'ordre d'apparition)

Symboles	Désignation	Unité
Chapitre II		
ΔE	Perturbation sinusoïdale en potentiel	V
E_c	Potentiel stationnaire	V
ΔI	Courant sinusoïdal	A
I_c	Courant stationnaire	A
ω	Pulsation	rad.s ⁻¹
φ	Déphasage	rad
f	Fréquence de modulation	Hz
Z	Module de l'impédance électrochimique	
Re(Z)	Partie réelle de l'impédance électrochimique	
Im(Z)	Partie imaginaire de l'impédance électrochimique	
j	Nombre complexe t.q. $j^2 = -1$	-
i_f	Courant faradique	A
i_d	Courant de double couche électrique	A
Z_f	Impédance du processus faradique	Ω
C_d	Capacité de double couche	F
R_{el}	Résistance de l'électrolyte	Ω
Z_R	Impédance d'une résistance pure	Ω
Z_C	Impédance d'une capacité pure	Ω
R_t	Résistance de transfert ionique	Ω
Δf_m	Variation de fréquence de la microbalance	Hz
Δm	Variation de la masse	g
S	Surface des électrodes métalliques	cm ²
ρ	Densité du quartz	g.cm ⁻³
μ	Module de cisaillement du quartz	g.s ⁻² .cm ⁻¹
n	Numéro de l'harmonique	-
f_0	Fréquence de résonance de la microbalance	Hz
k_{th}^s	Sensibilité théorique de la microbalance	Hz.g ⁻¹ .cm ⁺²
J_i	Flux des espèces i en solution	mol.cm ⁻³ .s ⁻¹
<P>	Polymère	-
<P ⁻ , C ⁺ >	Polymère dopé n (par un cation C ⁺)	-
<P ⁺ , A ⁻ >	Polymère dopé p (par un anion A ⁻)	-
d	Épaisseur du film polymère	cm
C_i	Concentration de l'espèce i dans l'électrolyte	mol.cm ⁻³
C_{isol}	Concentration de la solution	mol.cm ⁻³
C_{imax}	Concentration maximum de sites disponibles dans le polymère à l'insertion de l'espèce i	mol.cm ⁻³
C_{imin}	Concentration minimum de l'espèce i qui s'insère dans le polymère	mol.cm ⁻³
E_i°	Potentiel normal apparent	V

k_{i0}, k'_{i0}	Constantes relatives au constantes cinétiques	
b_{i0}, b'_{i0}	Constantes relatives au constantes cinétiques	
F	Constante de Faraday, $F = 96500$	$C.mol^{-1}$
Ki	Constante cinétique	$cm.s^{-1}$
Gi	Constante thermodynamique	$mol.cm^{-2}.s^{-1}.V^{-1}$
Δm_i	Variation de masse d'une espèce i	g
m_i	Masse molaire d'une espèce i	$g.mol^{-1}$
$\Delta \xi_i$	Nombre de moles échangées par unités de surface	$mol.cm^{-2}$
Δq	Variation de charge	C

Chapitre III

E_i	Potentiel initial	V
E_f	Potentiel final	V
f_{SWV}	Fréquence du signal en potentiel alternatif de la SWV	Hz
M1, M2	Point de mesure, en SWV	
I_1, I_2	Courants mesurés en SWV aux points M1, M2 respectivement	A
Δe	Perturbation en tension lors d'une calibration	V
f_m	Fréquence de la microbalance	Hz
f_r	Fréquence de référence	Hz
λ	Longueur d'onde	nm
S1, S2, S3	Nom donné à trois solutions de pH différents	-

Fonctions de transfert

Fonctions	Désignation	Unité
Chapitre II		
$\frac{\Delta E}{\Delta I}(\omega)$	Fonction de spectroscopie d'impédance électrochimique	$V.A^{-1}$
$Z(\omega)$	Notation de la fonction de transfert d'impédance électrochimique	
$\frac{\Delta m}{\Delta E}(\omega)$	Fonction de transfert électrogravimétrique	$g.cm^{-2}.V^{-1}$
$\frac{\Delta q}{\Delta E}(\omega)$	Fonction de transfert de la charge	$C.cm^{-2}.V^{-1}$
$\frac{\Delta m}{\Delta q}(\omega)$		$g.C^{-1}$
$\frac{\Delta m_{cs}}{\Delta E}(\omega)$	Fonction de transfert partielle cation-solvant	$g.cm^{-2}.V^{-1}$
$\frac{\Delta m_{as}}{\Delta E}(\omega)$	Fonction de transfert partielle anion-solvant	$g.cm^{-2}.V^{-1}$

Chapitre III

$\frac{\Delta V_f}{\Delta V}(\omega)$	Fonction de transfert mesurée expérimentalement par le montage d'électrogravimétrie	-
$\frac{\Delta m}{\Delta f_m}$	Sensibilité de la microbalance obtenue par calibration	g.Hz^{-1}
$\frac{\Delta V_f}{\Delta e}$	Fonction de transfert du dispositif de conversion fréquence/tension	-
$\frac{\Delta f_s}{\Delta e}$	Fonction de transfert du synthétiseur qui simule la microbalance	Hz.g^{-1}
$\frac{\Delta V_f}{\Delta f_s}$	Sensibilité du convertisseur	V.Hz^{-1}

Abréviations

Chapitre I

ADN	Acide Desoxyribo Nulcléique
ODN	Oligo Desoxyribo Nulcléique
SPR	Surface Plasmon Resonance
SWV	Square Wave voltametry
DPV	Differential Pulse Voltametry
QCM	Quartz Crystal Microbalance
EIS	Electrochemical Impedance Spectroscopy

Chapitre III

EDC	N'-(3-diméthylaminopropyl) N ethycarbodiimide - $\text{C}_8\text{H}_{17}\text{N}_3$ - $155,24 \text{ g.mol}^{-1}$.
NHS	N-hydroxysuccinimide - $\text{C}_4\text{H}_5\text{NO}_3$ - $M = 115,9 \text{ g.mol}^{-1}$.
ECS	Electrode au Calomel Saturé
JUG	5-hydroxy-1,4-naphtoquinone
VC	Voltammétrie Cyclique
SWV	Square Wave Voltametry (ou voltammétrie à vague carrée)
RE	Electrode de référence
CE	Contre électrode
WE	Electrode de travail (working electrode)
BODIPY	Marque depose de fluorophore
PBS	Phosphate Saline Buffer

Chapitre IV

VFC	Voltage-to-Frequency Converter
PLL	Phase Locked Loop, boucle à verrouillage de phase
VCO	Oscillateur commandé en tension

Références

CHAPITRE I

L'ADN

- ¹ Watson, J.D., Crick, F.H.C., 1953 – Nature, 171, 737-738.
- ² Schena, M., Shalon, D., Davis, R.W., Brown, P.O, Science, 1995 – 270, 467-470.
- ³ Pease, A.C., Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 1994 – 91, 5022-5026.

La détection de l'ADN

- ⁴ Paddle, B.M., 1996 – Biosensors & Bioelectronics, 11(11), 1079-1113
- ⁵ Clarck, L.C., Lyons, C., 1962 – Ann. N. Y. Acad. Sci., 102, 29.
- ⁶ Gerard, M., Chaubey, A., Malhotra, B.D., 2002 – Biosensors & Bioelectronics, 17, 345-359.

Détection optique

- ⁷ Epstein, J.R., Biran, I., Walt, D.R., Anal. Chim. Acta, 2002 – 469, 3-36.
- ⁸ Demchenko, A.P., Anal Biochem, 2005 – 343, 1-22.
- ⁹ Demers, L.M., Mirkin, C.A., Mucic, R.C., Reynolds, R.A., Letsinger, R.L., Elghanian, R., Viswanadham, G., Anal. Chem., 2000 – 72, 5535-5541.
- ¹⁰ Dupont-Filliard, A., Roget, A., Livache, T., Billon, M., Anal. Chimica Acta, 2001 – 449, 45-50.
- ¹¹ Southern, E.M., Case-Green, S.C., Elder, J.K., Johnson, M., Mir, K.U., Wang, L., Williams, J.C., Nucl. Acids. Res., 1994 – 22, 1368-1373.
- ¹² Steel, A.B., Levicky, R.L., Herne, T.M., Tarlov, M.J., Biophys. J., 2000 – 79, 975.
- ¹³ Lofas, S., Malmqvist, M., Rönnerberg, I., Liedberg, E., Lundström, I., Sensors and Actuators B, 1991 – 5, 79-84.
- ¹⁴ Lofas, S., Johnsson, B., Tegendal, K., Ronnberg, I., Colloids Surf. B : Biointerf., 1993 – 1, 83-89.
- ¹⁵ Stenberg, E., Persson, B., Roos, H., Urbaniczky, C., J. of Colloid and Interface Science, 1991 – 143, 513-526.
- ¹⁶ Buckle, M., Williams, R.M., Negroni, M., Buc, H., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1996 – 93, 889-894.
- ¹⁷ Gotoh, M., Saito, K., Shimizu, M., Tosu, M., Nucleic Acids Symp. Ser., 1994 – 31, 121-122.
- ¹⁸ Bates, P. J., Dosanjh, H. S., Kumar, S., Jenkins, T. C., Laughton, C. A. and Neidle, S., Nucleic Acids Research, 1995 – 23, 3627-3632.
- ¹⁹ Persson, B., Stenhag, K., Nilsson, P., Larsson, A., Uhlen, M., Anal. Biochem., 1997 – 246, 34-44.
- ²⁰ Peterson, A. W., Heaton, R. J., Georgiadis, R. M., Nucleic Acid Research, 2001 – 29, 5163-5168.
- ²¹ Georgiadis, R., Peterlinz, K.P., Peterson, A.W., J. Am. Chem. Soc. 2000 – 122, 3166-3173.
- ²² Feriotto, G., Borgatti, M., Mischiati, C., Bianchi, N. and Gambari, R, J. Agric. Food. Chem., 2002 – 50, 955-962.
- ²³ Nilsson, P., Persson, B., Uhlén, M. and Nygren, P.-Å., Anal. Biochem., 1995 – 224, 400-408.
- ²⁴ Thiel, A.J., Frutos, A.G., Jordan, C.E., Corn, R.M., Lloyd, M.S., Anal. Chem., 1997 – 69, 4948-4956.
- ²⁵ Guedon, P., Livache, T., Martin, F., Lesbre, F., Roget, A., Bidan, G. Levy, Y., Anal. Chem., 2000 – 72, 6003-6009.
- ²⁶ Kambhampati, D.K., Knoll, W., Current Opinion in Colloid & Interface Science, 1999 – 4, 273-280.
- ²⁷ Slavik, R., Homola, J., Ctyroky, J, Sens. Actuat. B, 1998 – 51, 311-315.
- ²⁸ Stemmler, I., Brecht, A., Gaultitz, G., Sens. Actuat. B, 1999 – 54, 98-105.
- ²⁹ Ogert, R.A., Brown, J.E., Singh, B.R., Shriver-Lake, L.C. and Ligler, F.S., Anal. Biochem., 1992 – 205, 306-312.
- ³⁰ Piunno, P.A.E., Krulla, U.J., Hudsonb, R.H.E., Damhac, M.J., Cohend, H., Anal. Chim. Acta, 1994 – 288, 205-214.

³¹ Abel, A.P., Weller, M.G., Duveneck, G.L., Ehrat, M., Widmer, H.M., *Anal. Chem.*, 1996 – 68, 2905-2912.

Détection électrochimique

³² Berg, H., *Biochem. Z.*, 1957 – 329, 274.

³³ Wang, J., *Analytica Chimica Acta*, 2002 – 469, 63-71.

³⁴ Paleček, E., *Talanta*, 2002 – 56, 809-819.

³⁵ Thévenot, D.R., Toth, K., Durst, R.A., Wilson, G.S., *Biosensors & Bioelectronics*, 2001 – 16, 121-131.

³⁶ Bard, A. J., Faulkner, L.R., *Electrochimie ; Principes, méthodes et applications - MASSON*

³⁷ Osteryoung, J., O'Dea, J.J., *Electroanalytical chemistry, a series of advances. Square wave voltammetry*, ed. Allen J. Bard, vol. 14 (1986), Marcel Dekker, Inc. 209-308.

³⁸ Kara, P., Erdem, A., Girousi, S., Ozsoz, M., *J. of Pharma. And Bio. Anal.*, 2005 – 38, 191-195.

³⁹ Palecek, E., *Nature*, 1960 – 188, 656-657.

⁴⁰ Dryhurst, G., Pace, G.F., *J. Electrochem. Soc.*, 1970 – 117, 1259-1264.

⁴¹ Palanti, S., Marrazza, G., Mascini, M., *Anal. Lett.*, 1996 – 29, 2309-2331.

⁴² Wang, J., Cai, X., Jonsson, C., Palecek, E., *Anal. Chem.*, 1995 – 67, 4065.

⁴³ Wang, J., Cai, X., Tian, B., Shiraishi, H., *Analyst.*, 1996 – 67, 965.

⁴⁴ Wang, J., *Chem. Eur. J.*, 1999 – 5, 1681.

⁴⁵ Hashimoto, K., Ito, K., Ishimori, Y., *Anal. Chem.*, 1994 - 66, 3830-3833.

⁴⁶ Oliveira Brett, A.M., Macedo, T.R.A., Raimundo, D., Marques, M.H., Serrano, S.H.P., *Biosensors & Bioelectronics*, 1998 – 13, 861-867.

⁴⁷ Millan, K., Mikkelsen, S.R., *Anal. Chem*, 1993 – 65, 2317.

⁴⁸ Wang, J., Cai, X., Rivas, G., Shiraishi, H., *Anal. Chim. Acta.*, 1996 – 326, 141-147.

⁴⁹ Marrazza, G., Chianella, M., Mascini, M., 1999 – *Biosensors & Bioelectronics*, 14, 43-51.

⁵⁰ Mascini, M., Palchetti, L., Marrazza, G., *J. Anal. Chem.*, 2001 – 369, 15-22.

⁵¹ Erdem, A., Kerman, K., Meric, B., Akarca, U. S., Ozsoz, M., *Anal. Chim. Acta*, 2000 – 422, 139-149.

⁵² Ihara, T., Maruo, Y., Takenata, S., Takagi, M., *Nucleic Acid Research*, 1996 – 24, 4273-4280.

⁵³ Korri-Youssoufi, H., Makrouf, B., *Anal. Chim. Acta*, 2002 – 469, 85-92.

⁵⁴ Lumley, T., Campbell, C., Heller, J. *Am. Chem. Soc.*, 1996 – 5504.

Détection gravimétrique

⁵⁵ Sauerbrey, G., *Z. Phys.*, 1959 – 155, 206.

⁵⁶ Konash, P.L., Bastiaans, G.J., *Anal. Chem.*, 1980 – 52, 1929-1931.

⁵⁷ Kanazawa, K.K., Gordon II, J.G., *Anal. Chem.*, 1985 – 57, 1771-1772.

⁵⁸ Fawcett, N.C., Evans, J.A., Chen, L.C., Drozda, K.A., Flowers, N., *Anal. Lett.*, 1988 – 21, 1099.

⁵⁹ Yamaguchi, S., Shimomura, T., Tatsuma, T., Oyama, N., *Anal. Chem.*, 1993 – 65, 1925-1927.

⁶⁰ Su, H., Sandra, C., Thompson, M., *Biosens. Bioelec.*, 1997 – 12, 161-173.

⁶¹ Zhou, X.C., Huang, L.Q., Li, S.F.Y., *Biosensors&Bioelectronics*, 2001 – 16, 85-95.

⁶² Galasso, K., Livache, T., Roget, A., Vieil, E., *J. Chim. Phys.*, 1995 – 95, 1514.

⁶³ Caruso, F., Rodda, E., Furlong, D.N., Niikura, K., Okahata, Y., *Anal. Chem.*, 1997 – 69, 2043.

⁶⁴ Lucklum, R., Henning, B., Hauptmann, P., Schierbaum, K.D., *Actuator A*, 1991 – 25, 705.

⁶⁵ Lassale, N., Mailley, P., Vieil, E., Livache, T., Roget, A., Correia, J.P., Abrantes, L.M., *J. of Electroanal. Chem*, 2001 – 509, 48-57.

⁶⁶ Willner, I., Patolsky, F., Weizmann, Y., Willner, B., *Talanta*, 2002 – 56, 847-856.

⁶⁷ Rodriguez-Pardo, L., Farina, J., Gabrielli, C., Perrot, H., Brendel, R., *Sensors end Actuators B*, 2004 – 103, 318-324.

⁶⁸ Caruso, F., Neil Furlong, D., Niikura, K., Okahata, Y., *Colloids and Surfaces B : Biointerfaces*, 1998 – 10, 199-204.

-
- ⁶⁹ Uttenthaler, E.S.M, Schräml, M., Mandel, J., Drost, S, Biosensors & Bioelectronics, 2001 – 16, 735-743.
- ⁷⁰ Okahata, Y., Matsunobu, Y., Ijio, K., Mukae, M., Murakami, A., Makino, K., J. Am. Chem. Soc., 1992 – 114, 8299-8300.
- ⁷¹ Zimmermann, B., Lucklum, R., Hauptmann, Rabe, J., Büttgenbach, S., Sensors and Actuators B, 2001 – 76, 47-57.

Immobilisation des ODN sur le transducteur

- ⁷² Caruana, D.J, Heller, A., J. Am. Chem. Soc., 1999 – 121, 769-774.
- ⁷³ Pividori, M.I., Merckoci, A., Alegret, S., Biosensors & Bioelectronics, 2000 – 15, 291-303.
- ⁷⁴ Millan, K.L., Spurmanis, A.L., Mikkelsen, S.K., Electroanalysis, 1992 – 4, 929-932.
- ⁷⁵ Millan, K.L., Saraullo, A., Mikkelsen, S.R., 1994 – Anal. Chem. 66, 2943-2948.
- ⁷⁶ Moser, I., Shalkhammer, T., Pittner, F., Urbant, G., Biosensors & Bioelectronics, 1997 – 12, 729-737.
- ⁷⁷ Korri-Yousoufi, H., Garnier, F., Srivastava, P., Godillot, P., Yassar, A., J. Am. Chem. Soc., 1997 – 119, 7388-7389.
- ⁷⁸ Garnier, F., Korri-Yousoufi, H., Srivastava, P., Mandrand, B., Delair, T., Synthetic Metal, 1999 – 100, 89-94.
- ⁷⁹ Lee, T.Y., Shim, Y.B., Anal. Chem., 2001 – 73, 5629-5632.
- ⁸⁰ Zhang, H., Tan, H., Wang, R., Wei, W., Yao, S., Analytica Chimica Acta, 1998 – 374, 31-38.
- ⁸¹ Liu, S., Ye, J., He, P., Fang, Y., Analytica Chimica Acta, 1996 – 335, 239-243.
- ⁸² Tran, L.D., Piro, B., Pham, M.C., Ledoan, T., Angiari, C., Dao, L.H., Teston, F., Synthetic Metals, 2003 – 139, 251-262.

Les polymères conducteurs

- ⁸³ Hatano, M., Kambara, S., Okamoto, S., 1961 - J. Polym. Sci., 51, S26.
- ⁸⁴ Shirakawa, H., Luis, E.J., MacDiarmid, A.G., Chiang, C.K., Heeger, A.J., J. Chem. Soc. Chem. Commun., 1977 - 578.
- ⁸⁵ Diaz, A., Kanazawa, K.K., Gardini, G.P., J. Chem. Soc. 1979 – Commun 635.
- ⁸⁶ Handbook of Conducting Polymers, Skotheim, T.A., 1997, 2nd edition.
- ⁸⁷ Livache, T., Roget, A., Dejean, E., Barthet, C., Bidan, G., Téoule, R., Synthetic Metals, 1995 – 71, 2143-2146.
- ⁸⁸ Jirkowski, I., Baudy, R., Synthesis, 1981 – 481.
- ⁸⁹ Roget, A., Bazin, H., Teoule, R., Nucleic Acids Res. 1992 – 21, 4663.
- ⁹⁰ Cha, J., Han, J.I., Choi, Y., Yoon, D.S., Oh, K.W., Lim, G., Biosensors & Bioelectronics, 2003 – 00, 1-7.
- ⁹¹ Peng, H., Soeller, C., Vigar, N., Kilmartin, P.A., Cannell, M.B., Bowmaker, G.A., Cooney, R.P., Travas-Sejdic, J., Biosensors and Bioelectronics, 2005 – 20, 1821-1828.
- ⁹² Degrand, C., Miller, L.L., J. Electroanal. Chem., 1981 –117, 267.
- ⁹³ Pham, M.C., Hachemi, A., Dubois, J.E., J. Electroanal. Chem, 1984 – 161, 199.
- ⁹⁴ Audebert, P., Bidan, G., J. Electroanal.Chem., 1987 – 238, 183.
- ⁹⁵ Pham, M.C., Piro, B., Tran, L.D., Ledoan, T., Dao, L.H., Anal. Chem., 2003 – 75, 6748.
- ⁹⁶ Piro, B., Haccoun, J., Tran, L.D., Rubin, A., Perrot, H., Gabrielli, C., J. of Electroanal. Chem., 2005 – 577, 155-165.

Compréhension du phénomène d'hybridation

- ⁹⁷ Reisberg, S., Piro, B., Noël, V., Pham, M.C., Anal. Chem, 2005 – 77, 3351-3356.
- ⁹⁸ Gabrielli, C., Keddani, M., Electrochimica Acta, 1996 – 41, 957-965.
- ⁹⁹ Gabrielli, C., Haas, O., Takenouti, H., Journal of Applied Electrochemistry, 1987 – 17, 82-90.

- ¹⁰⁰ Brett, C.M.A., Oliveira Brett, A.M., Serrano, S.H.P, *Electrochimica Acta*, 1999 – 44, 4233-4239.
- ¹⁰¹ Farace, G., Lillie, G., Hianik, T., Payne, P., Vadgama, P. *Bioelectrochemistry*, 2002 – 55, 1-3.
- ¹⁰² Hang, T.C., Guiseppi-Elie, A., *Biosensors and Bioelectronics*, 2004 – 19, 1537-1548.
- ¹⁰³ Tlili, C., Korri-Youssoufi, H., Ponsonnet, L., Martelet, C., Jaffrezic-Renault, N., *Talanta*, 2005 – in press.
- ¹⁰⁴ Alfonsa, L., Bardea, A., Khersonsky, O., Katz, E., Willner, I., *Biosensors & Bioelectronics*, 2001 – 16, 675-687.
- ¹⁰⁵ Joseph, S., Rusling, J.F., Lvov, Y.M., Friedberg, T., Fuhr, U., *Biochemical Pharmacology*, 2003 – 65, 1817-1826.
- ¹⁰⁶ McKenzie, K.J., Marken, F., Gao, X., Tsang, S.C., Tam, K.Y., *Electrochemistry Communications*, 2003 – 5, 286-291.
- ¹⁰⁷ Gabrielli, C., Keddad, M., Nadi, N., Perrot, H., *Electrochimica Acta*, 1999 – 44, 2095-2103.
- ¹⁰⁸ Lassale, N., Roget, A., Livache, T., Mailley, P., Vieil, E., *Talanta*, 2001 – 55, 1004.
- ¹⁰⁹ Gabrielli, C., Garcia-Jareno, J.J., Keddad, M., Perrot, H., *J. Phys. Chem. B*, 2002 – 106, 3192.
- ¹¹⁰ Gabrielli, C., Keddad, M., Nadi, N., Perrot, H., *J. Electroanal. Chem.*, 2000 – 485, 101.
- ¹¹¹ Gabrielli, C., Garcia-Jareno, J.J., Keddad, M., Perrot, H., *J. Phys. Chem. B*, 2002 – 106, 3182.

CHAPITRE II

- ¹¹² Bard, A. J., Faulkner, L.R., *Electrochimie ; Principes, méthodes et applications - MASSON*
- ¹¹³ Gabrielli, C., Keddad, M., *Electrochimica Acta*, 1996 – 41, 957-965.
- ¹¹⁴ Curie, P., Curie, J., *C.R. Acad. Sci.*, 1880 – 91, 294.
- ¹¹⁵ Mason, W.P., *Physical Acoustics Principles and Methods*, vol. 1 pzt A, Academic Press, New York – 1964.
- ¹¹⁶ G. Sauerbrey, *Z. Phys*, 1959 – 155, 206.
- ¹¹⁷ Ehahoun, H., Thèse de doctorat de l'université de Paris 6, 2001 – p19.
- ¹¹⁸ Bizet, H., Gabrielli, C., Perrot, H., *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2000 – 89, 139-150.
- ¹¹⁹ Konash, P.L., Bastiaans, G.J., *Anal. Chem.*, 1980 – 52, 1929-1931.
- ¹²⁰ Kanazawa, K.K., Gordon II, J.G., *Anal. Chem.*, 1985 – 57, 1771-1772.
- ¹²¹ Martin, S.J., Granstaff, V.E., Frye, G.C., *Anal. Chem*, 1991 – 63, 2272-2281.
- ¹²² Ferry, J.D., *Viscoelastic properties of polymers*, Wiley, New York, 1980 – ch. 11-12.
- ¹²³ Granstaff, V.E., Martin, S.J., *J. Appl. Phys.*, 1994 – 75, 3.
- ¹²⁴ Martin, S.J., Frye, G.C., *Ultrasonic Symposium, IEEE* 1991 – 1, 393-398.
- ¹²⁵ Yao, S.Z., Zhou, T.A., *Anal. Chim. Acta*, 1988 – 212, 61-72.
- ¹²⁶ Garcia-Jareno, J.J., Gabrielli, C., Perrot, H., *Electrochemistry Communications*, 2000 – 2, 195-200.
- ¹²⁷ Gabrielli, C., Garcia-Jareno, J.J., Keddad, M., Perrot, H., *J. Phys. Chem. B*, 2002 -106, 3192.

CHAPITRE III

- ¹²⁸ *Electrochimie, Principes, methodes et applications – J. Bard, ed. Masson*
- ¹²⁹ Osteryoung, J., O'Dea, J.J., *Electroanalytical chemistry, a series of advances. Square wave voltammetry*, ed. Allen J. Bard, vol. 14 (1986), Marcel Dekker, Inc. 209-308.
- ¹³⁰ *Electrochemical methods, 2nd edition* Wiley – 2001, A. J. Bard, L.R. Faulkner.
- ¹³¹ *Electrochimie physique et analytique – H. Girault, ed. presses polytechniques et universitaires romandes.*
- ¹³² Thèse K. Bizet, Thèse Université Paris 5, Paris, 1997.
- ¹³³ Bizet, K., Gabrielli, C., Perrot, H., *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2000 - 89, 139-150

CHAPITRE IV

- ¹³⁴ Korri-Youssoufi, H., Garnier, F., Srivastava, P., Codillot, P., Yassar, A., J. Am. Chem. Soc., 1997 – 119, 7388-7389.
- ¹³⁵ Degrand, C., Miller, L.L., Electroanal. Chem., 1981 – 117, 267.
- ¹³⁶ Pham, M.C., Hachemi, A., Dubois, J.E., J. Electroanal. Chem. Interfac. Electrochem., 1984 – 161, 199-204.
- ¹³⁷ Pham, M.C., Piro, B., Bazzaoui, E.A., Hedayatullah, M., Lacroix, J.C., Novak, P., Haas, O., Synthetic Metals, 1998 – 92, 197.
- ¹³⁸ Piro, B., Bazzaoui, E.A., Pham, M.C., Novak, P., Haas, O., Electrochimica Acta, 1999 – 44, 1953-1964.
- ¹³⁹ Thèse de doctorat - Université de Paris 7, ITODYS, Tran, D. L., 2003.
- ¹⁴⁰ Pham, M.C., Piro, B., Tran, L.D., Ledoan, T., Dao, L.H., Anal. Chem., 2003 – 75, 6748.
- ¹⁴¹ Piro, B., Haccoun, J., Pham, M.C., Tran, L.D., Rubin, A., Perrot, H., Gabrielli, C., J. of Electroanal. Chem., 2005 – 577, 155-165.
- ¹⁴² R.H. Thomson, J. Org. Chem., 1951 – 16, 1082.
- ¹⁴³ F.G. Rothman, J. Org. Chem., 1958 – 23, 1049.
- ¹⁴⁴ Gabrielli, C., Garcia-Jareno, J., Keddam, M., Perrot, H., Vicente, F., J. Phys. Chem. B, 2002 – 106, 3182.
- ¹⁴⁵ Gabrielli, C., Garcia-Jareno, J., Keddam, M., Perrot, H., Vicente, F., J. Phys. Chem. B, 2002 – 106, 3192-3201.
- ¹⁴⁶ Weidlich, C., Mangold, K.-M., Jüttner, K., Electrochimica Acta, 2005 – 50, 1547-1552.

CHAPITRE V

- ¹⁴⁷ Piro, B., Haccoun, J., Pham, M.C., Tran, L.D., Rubin, A., Perrot, H., Gabrielli, C., J. of Electroanal. Chem., 2005 – 577, 155-165.
- ¹⁴⁸ Tran, L.D., thèse de doctorat, université de Paris 7, 2003.
- ¹⁴⁹ Reisberg, S., Piro, B., Noël, V., Pham, M.C., Bioelectrochemistry, *In Press – en ligne le 6 Mars 2006*
- ¹⁵⁰ Wawzonek, S., Berkay, R., Blaha, E.W., Runner, M.E., J. Electrochem. Soc., 1956 -103, 456.
- ¹⁵¹ Chambers, J.Q., in Chemistry of Quinoid Compounds (S. Patai, Ed.), pp. 737-791. Wiley, New York, 1974.