



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UNIVERSITE ABOU-BEKR BELKAID - TLEMCCEN

Mémoire

Présenté à :

FACULTE DES SCIENCES – DEPARTEMENT DE CHIMIE

Pour l'obtention du diplôme de :

Master en Chimie

Spécialité: Systèmes Macromoléculaires et leurs Applications

Par

BELLADGHAM Wahiba

Sur le thème

Elaboration de polymère à empreinte moléculaire destiné au développement d'un capteur des pesticides

Soutenu publiquement le 19 Juin 2016 à Tlemcen devant le jury composé de

Mr CHABANE SARI Sidi Mohamed	Professeur	Université de Tlemcen	Président
Mme ABDOUNE Fatima-Zohra	Maître de Conférences A	Université de Tlemcen	Examinatrice
Mme BOUCHIKHI Nouria	Maitre de recherche B	Centre de recherche (CRAPC)	Co-Encadreur
Mme BEDJAOUI-ALACHAHER Lamia	Professeur	Université de Tlemcen	Encadreur

ANNEE UNIVERSITAIRE : 2015-2016

Laboratoire de Recherche sur les Macromolécules LRM, Pôle Chetouane

Remerciements

Le travail présenté dans ce mémoire a été réalisé au Laboratoire de Recherche sur les Macromolécules du département de chimie de faculté des sciences de l'Université ABOU BAKR BELKAID de Tlemcen, sous la direction de Mme Lamia BEDJAOUI-ALACHAHER Professeur à l'Université Abou Bekr Belkaïd de Tlemcen.

Mes premiers remerciements vont naturellement à mon encadreur Mme Lamia.BEDJAOUI pour l'intérêt qu'elle a porté à ce travail, son soutien et son suivi de la progression du travail. J'admire en elle sa qualité de pousser à fond les expériences afin de tirer non pas le maximum mais le meilleur.

Je tiens à remercier infiniment mon co-encadreur Mme NouriaBOUCHIKHI, Maitre de recherche au centre de recherche (CRAPC) pour son encadrement de qualité, sa disponibilité et ses conseils. Merci pour votre bonne humeur, votre gentillesse et votre soutien durant les six mois du travail. Votre optimisme et vos conseils m'ont permis d'aller de l'avant en cas de découragement mais aussi d'apprendre à valoriser mes résultats de recherche.

J'exprime toute ma reconnaissance à Monsieur Sidi Mohamed CHABANE SARI, Professeur à l'Université Abou Bekr Belkaïd de Tlemcen d'avoir accepté de présider le jury.

Je tiens à exprimer mes vifs remerciements à Mme Fatima-Zohra ABDOUNE , Maitre de conférences à l'université Abou Bekr Belkaïd de Tlemcen, pour s'être intéressée à ce travail et avoir bien voulu l'examiner et le juger.

Un grand merci à Monsieur Sid-Ahmed BENABDELLAH, attaché des laboratoires pour son aide lors des expériences, sa gentillesse, sa disponibilité et sa compétence qui m'ont permis de mener à bien ces travaux.

Maintenant j'adresse mes plus sincères remerciements à tous les membres du laboratoire de recherche sur les macromolécules et tous ceux qui m'ont aidée.

Je tiens à remercier ma mère et tous mes frères et soeurs pour leur soutien permanent, constant et surtout sans aucune faille.

Table des matières

Introduction générale	1
-----------------------------	---

Chapitre I : Recherche bibliographique

I.1 Introduction.....	5
I.2 Les pesticides.....	5
I. 3 Les capteur.....	6
I.3.1 Les capteurs chimiques	6
I.3.2 Les biocapteurs_	7
I.4 La technique de l’empreinte moléculaire.....	8
I.5 Les paramètres de synthèse.....	9
I.6 Les différentes approches de l’élaboration des MIPs	12
I.7 La caractérisation d’une MIP.....	14
I.8 Les Principales applications des MIPs	15
I.9 Conclusion.....	15

Chapitre II : Partie expérimentale

II.1 Présentation des réactifs	18
II.2 Choix des solvants	19
II.3 Préparation des films	19
II.4 Méthodes de caractérisations	21
II.4.1 Spectroscopie UV-Visible	21
II.4.2 La spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier « FTIR »	23
II.4.3 La calorimétrie différentielle à balayage DSC	26

Chapitre III : Résultats et discussion

III.1 Etude des interactions entre la cible et le groupement fonctionnel	29
III.1.1 Etude des interactions Cible/BuA (1/1).....	29

III.1.2 Etude des interactions Cible/HDDA (1/4)	31
III.1.3 Etude des interactions Cible/BuA (1/4).....	32
III.2 Le suivi cinétique de la polymérisation des mélanges NIP et MIP	34
III.3 Caractérisation par analyse calorimétrique à balayage	37
III.4 Le suivi de l'extraction de la cible par spectroscopie UV	37
III.5 La reconnaissance	39
Conclusion générale	42
Références bibliographique	43

Introduction générale

Introduction Générale

Depuis plusieurs années, les effets de la pollution, générée par les activités industrielles, sur la santé humaine et animale préoccupent de plus en plus les politiciens et les scientifiques. Parmi les plus fréquents nous citons les pesticides. L'utilisation de ces substances bien que nécessaire pour la protection des cultures, se révèle problématique par les pollutions qu'elle génère dans l'environnement et sur les aliments que nous consommons. Ils peuvent être dangereux pour la santé et l'environnement à cause de leur toxicité, voire chronique en cas de persistance et d'accumulation dans les tissus organiques

En marge des techniques analytiques usuelles comme la chromatographie, les capteurs biologiques et chimiques ont un rôle à jouer en tant que dispositifs peu encombrants et robustes, permettant de réaliser des détections peu coûteuses, fiables, rapides de substances de diverses origines (biomédicales, alimentaires, synthétiques, etc.). Ces capteurs associent typiquement des couches sensibles assurant la reconnaissance de l'analyte ciblé et des micros dispositifs de transduction qui transforment la reconnaissance moléculaire en un signal physique, optique ou électrique directement mesurable et interprétable.

Les polymères à empreinte moléculaire (MIP, molecular imprinted polymer) constituent des matériaux capables de répondre aux critères de sélectivité posés. Les MIPS peuvent reconnaître une molécule voire une famille de molécules analogue de manière sélective. Cette reconnaissance moléculaire des MIPs est fondée sur la présence de cavités développant une complémentarité spatiale et fonctionnelle de la molécule recherchée.

La synthèse d'un MIP se fait à partir de monomères et d'une molécule empreinte interagissant au cours de la polymérisation par des liaisons de différentes natures (covalentes ou noncovalentes). Le matériau final, obtenu après l'élimination de la molécule empreinte, contient des cavités (sites ou empreintes) gardant mémoire de la molécule empreinte.

Dans le cadre de ce travail, il a été choisi d'élaborer une couche sensible de capteurs à base de matériaux acryliques imprimés autour d'herbicides qui constituent une classe de pesticide pour élaborer un MIP destiné au développement d'un capteur.

Ce manuscrit s'articule autour de trois chapitres :

Le premier chapitre donne un aperçu bibliographique sur les pesticides et les capteurs, ensuite la description de la technique de l'empreinte moléculaire et en dernier le choix des paramètres de synthèse est détaillé.

Le deuxième chapitre présente les réactifs utilisés, ensuite la préparation des mélanges pour l'élaboration des films en absence et en présence de la molécule empreinte (cible). Leur caractérisation a nécessité l'utilisation de différentes méthodes d'analyse.

Introduction Générale

Le troisième chapitre expose et discute les résultats expérimentaux obtenus à savoir l'étude des interactions entre le monomère et la molécule cible, le suivi de la cinétique de polymérisation, l'extraction de la molécule empreinte et la reconnaissance. Enfin, nous concluons ce travail en résumant les résultats obtenus, et en proposant quelques perspectives à nos travaux.

Chapitre I :
Recherche bibliographique

I.1 Introduction

Le caractère « empreinte » d'un polymère a été introduit pour la première fois par M.V. Polyakov en 1931 [1]. Cet auteur a noté le comportement anormal de l'adsorption par des particules de silice des dérivés benzéniques utilisés lors de leur synthèse. Ce fut également la première fois que l'effet de sélectivité fut observé et expliqué par le terme d'empreinte. Les premières applications n'apparaissent cependant que dans les années cinquante pour la séparation chirale des énantiomères de l'acide mantélique et de l'acide camphorsulfonique, en utilisant des particules de silice imprimées comme phase stationnaire en chromatographie [2]. Après deux décennies de recherche pourtant intense, le déclin de l'étude des silices à empreinte semble avoir coïncidé avec l'introduction de l'empreinte moléculaire dans des polymères organiques, développée indépendamment par G. Wulff [3] et I.M. Klotz [4], l'objectif de ces travaux était d'élaborer des polymères de structures analogues à celles des enzymes pour la résolution de mélanges racémiques. Depuis les années 1990, les polymères à empreintes moléculaires (MIP) (Moléculaire Imprinted Polymers) sont devenus des supports de reconnaissance moléculaire de plus en plus utilisés.

Ces polymères « intelligents », présentent des propriétés de reconnaissances spécifiques et sont capables d'identifier, d'isoler et de capturer un composé cible présent même à l'état de traces. Il s'agit d'un véritable outil d'analyse et de diagnostic.

Les applications potentielles sont variées : capteurs, séparations et extraction de composés en chimie, criblage de molécules pharmaceutiques, la catalyse, etc..

I.2 Les pesticides

Le terme pesticide regroupe les substances chimiques destinées à repousser, détruire ou combattre les ravageurs et les espèces indésirables de plantes ou d'animaux causant des dommages aux denrées alimentaires, aux produits agricoles, au bois et aux produits ligneux, ou des aliments pour animaux. Ils sont également inclus dans les régulateurs de croissance des plantes, les défoliants, les agents réduisant le nombre de fruits ou évitant leur chute précoce, et les substances appliquées avant ou après la récolte pour empêcher la détérioration des produits pendant leur stockage ou leur transport.

Environ 350 produits différents (herbicide, insecticide, fongicide, nématicide, ...) sont connus pour être utilisés aujourd'hui. Mal utilisés (en termes de quantités) et en raison de leur faible pouvoir de dégradation, les pesticides peuvent s'accumuler dans la chaîne alimentaire et/ou contaminer les milieux naturels, c'est la bio accumulation. Les pesticides organiques

produit «phytosanitaire » sont en général classés en trois groupes : les organochlorés, les organophosphorés et les carbamates.

Les herbicides consistent en une classe des pesticides, sont destinés à limiter l'installation d'espèces végétales. Les familles de substances les plus importantes sont les acides phénoxyalcanoïques, qui sont introduits au milieu des années 40, et ce sont les herbicides les plus importants en termes d'utilisation. On trouve trois herbicides dérivés de l'acide phénoxyalcanoïque leurs structures chimiques sont illustrées dans la figure I.2 :

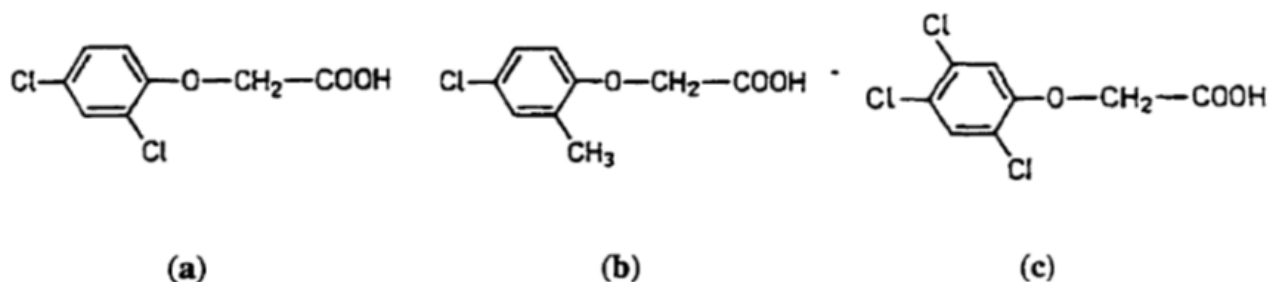


Figure I.2 : Structures chimiques des herbicides organochlorés.

(a) acide (dichloro-2,4 phénoxy)-2 éthanoïque, (b) acide (chloro-4, méthyl-2 phénoxy)-2 éthanoïque, (c) acide (trichloro-2,4,5 phénoxy)-2 éthanoïque.

Dans ce travail nous avons utilisé une molécule analogue aux herbicides. Elle est de type phénoxyalcanoïque.

I.3 Les capteurs

Un capteur est un dispositif qui transforme l'état d'une grandeur physique observée en une grandeur utilisable.

Le principe est d'associer une couche de sorption, constituée d'un matériau chimiquement sélectif, à un dispositif électronique qui va jouer le rôle de transducteur en transformant l'interaction chimique ou biochimique en signal détectable.

I.3.1 Les capteurs chimiques

Les capteurs chimiques sont des capteurs qui n'intègrent pas d'éléments biologiques dans leur composition. Ils sont simples mais pas toujours très sensibles et assez difficiles à mettre en œuvre en présence d'espèces électro actives. Le plus souvent ils sont utilisés pour des dosages chimiques quantitatifs, ils permettent de déterminer facilement le point d'équivalence. Les plus communs sont dédiés aux phases aqueuses ou gazeuses [5].

I.3.2 Les biocapteurs

Par définition un biocapteur est un dispositif incorporant un système de reconnaissance biologique, appelé bio-récepteur, associé à un transducteur qui représente la méthode de détection. Le but principal d'un biocapteur est de transformer une reconnaissance biologique en un signal physique mesurable.

L'élément biologique est généralement utilisé pour la reconnaissance afin d'augmenter la sensibilité et la spécificité, qui font généralement défaut dans les capteurs chimiques. Il apporte la sensibilité et la spécificité aux biocapteurs sont dans la grande majorité des cas une enzyme ou un anticorps. Leur développement et leur utilisation heurtent plusieurs difficultés, telles que le temps de stockage limité, un processus long et coûteux et une faible stabilité thermique etc...

Une alternative pour leur utilisation consiste à employer des polymères à empreintes moléculaires. Ces derniers présentent au niveau de leur sélectivité des propriétés comparables aux récepteurs biologiques. Contrairement aux matériaux de synthèses chimiques ; ils se caractérisent de ce fait par :

- des coûts de développement et de production beaucoup plus faibles.
- une plus grande stabilité,
- la possibilité d'être utilisés dans des solvants variés,
- une très bonne affinité pour de petites molécules organiques.
- une capacité de reconnaissance plus importante.

Le tableau I.1 résume les avantages et les limites des MIPs.

Avantages	Limites
- Forte affinité et sélectivité - Stabilité dans des conditions extrêmes de pH et de température - Réutilisation - Facilité de préparation, faible coût - temps de préparation court - Reproductibilité - Possibilité du stockage long	- Répartition hétérogène des sites de reconnaissance - Nécessite une quantité importante de cible ou de son analogue lors de la préparation

Tableau I.1 : Avantages et limites des polymères à empreintes moléculaires.

I.4 La technique de l’empreinte moléculaire

I.4.1 Le principe

La technique d’impression moléculaire illustré par la figure I.2 permet de préparer des polymères capables de reconnaître de façon sélective une molécule choisie, communément appelée « molécule cible » ou « Template ».

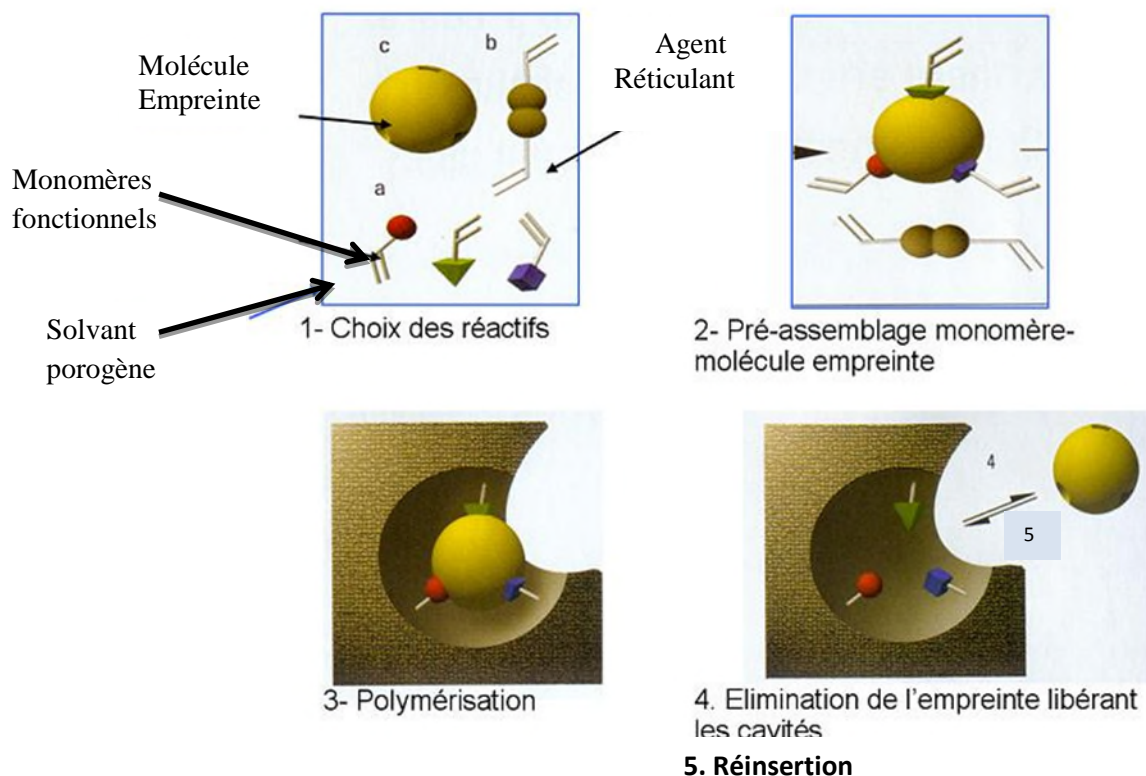


Figure I.2 : Le principe de l’empreinte moléculaire.

L’élaboration de polymère à empreinte moléculaire se fait en cinq étapes

I.4.2 Le choix des réactifs

Le mélange est constitué de monomères fonctionnels, agent réticulant et d’une molécule empreinte dissous dans un solvant porogène.

I.4.3 Le pré-assemblage monomère-molécule empreinte

L’obtention de MIP résulte tout d’abord de la complexation entre une molécule cible ou « template » et des monomères fonctionnels par le biais d’interactions spécifiques. Le complexe formé est appelé complexe de pré-polymérisation (CPP).

I.4.4 La polymérisation

Après l’ajout d’un monomère réticulant, un réseau polymère se forme autour du (CPP) par copolymérisation entre les monomères fonctionnels et le monomère réticulant.

I.4.5 L'élimination de l'empreinte

L'élimination de la cible laisse apparaître une cavité bien définie dans le polymère, qui présente une structure et un arrangement en groupements fonctionnels, complémentaire de celui de la cible. Le solvant utilisé pour extraire la cible lors de lavage doit faciliter le gonflement du polymère et supprimer les interactions cible/polymère. Les solvants couramment utilisés sont le méthanol et l'acétonitrile en présence le plus souvent d'acide acétique afin de supprimer les liaisons hydrogène.

Les tests de reconnaissance moléculaire ne sont réalisés que lorsque l'élimination de la cible est maximale.

I.4.6 La reconnaissance

Le test de reconnaissance est réalisé par « batch process » (figure I.3) est une méthode permettant d'évaluer la capacité des matériaux imprimés. Cette méthode implique l'analyse du mélange hétérogène MIP / solution de l'analyte [6]. Une quantité connue de polymère imprimé est ajoutée à une solution de concentration connue de molécules « template. » Après un temps d'incubation, l'équilibre MIP / Template est atteint, une quantité d'analyte est reconnue par le polymère imprimé (B) et la quantité d'analyte non reconnue qui reste en solution (F) est mesurée et quantifiée. La concentration de « Template » reconnu par le MIP (B) est facilement calculable par la différence entre la concentration initiale de l'analyte à $t = 0$ (I) et la concentration libre (F) après l'incubation avec le polymère ($B = I - F$)

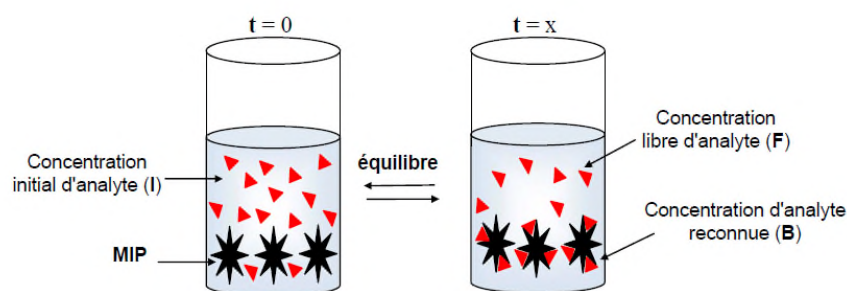


Figure I.3: Le principe de la méthode du « batch process ».

I.5 Les paramètres de synthèse

I.5.1 La molécule empreinte

La structure chimique de la molécule empreinte a un rôle central, puisque c'est elle qui va définir l'organisation des fonctions portées par les monomères fonctionnels [7]. Elle doit idéalement être inerte vis-à-vis des conditions de polymérisation pour pouvoir être compatible avec la polymérisation radicalaire et ne pas entrer dans le mécanisme réactionnel. En

conséquence, il est nécessaire de vérifier au préalable que la cible ne comporte pas de fonctions polymérisables, ou inhibitrices de la polymérisation. Par ailleurs, afin de former des empreintes moléculaires, la cible doit répondre aux contraintes exigées par le procédé de synthèse, c'est-à-dire qu'elle présente une stabilité thermique et/ou aux irradiations UV[8]

I.5.2 Les monomères fonctionnels

Le choix des monomères fonctionnels est primordial pour avoir une complémentarité des interactions avec la molécule à imprimer. En général, les monomères fonctionnels sont présents en excès par rapport à la cible afin de ne pas créer des sites non fonctionnalisés. Les monomères les plus utilisés sont les acides carboxyliques, tels que les acides acryliques, méthacryliques,[9]vinylbenzoïques. Il y a aussi les acides sulfoniques et les bases hétéro aromatiques (pyridine de vinyle et l'imidazole de vinyles)[10-11] .

I.5.3 Les amorceurs

Dans la plupart des cas, l'amorçage de la polymérisation se fait par voie thermique ou par rayonnement ultra-violet (UV).

De nombreux amorceurs peuvent être utilisés comme source de radicaux lors d'une polymérisation radicalaire. Généralement des azo-amorceurs sont utilisés car ils sont capables d'amorcer un grand nombre de monomères, soit par voie thermique soit par voie photochimique. L'inconvénient de ce type d'amorceur est qu'il forme des radicaux stables avec l'oxygène qui inhibe la polymérisation. Pour favoriser une bonne propagation de la polymérisation, il faut donc éliminer l'oxygène du milieu réactionnel. En utilisant la sonification ou atmosphère inerte.

I.5.4 Les monomères réticulants

La sélectivité des MIPs est grandement influencée par la nature et la quantité d'agent de réticulation. Celui-ci va permettre de :

- ✓ contrôler la morphologie de la matrice (gel de type macro ou microporeux).
- ✓ stabiliser la cavité correspondante à l'empreinte.
- ✓ apporter une stabilité mécanique à la matrice polymère.
- ✓ apporter des interactions complémentaires avec la cible, de type hydrophobe ou π - π , selon la nature du réticulant.

La quantité d'agent réticulant doit donc être suffisante pour assurer préserver la stabilité des sites de reconnaissance. C'est grâce à cette rigidité que les microcavités tridimensionnelles gardent leur forme complémentaire en structure et en fonction chimique

de la cible même après son élimination. La rigidité de la matrice permet aux fonctions de rester dans leur position optimale pour que la reconnaissance soit efficace.

Les monomères réticulants les plus fréquemment rencontrés sont : le divinylbenzène, l'éthylène glycol diméthacrylate et le triméthylolpropane tri méthacrylate.

Le rapport entre le monomère fonctionnel et l'agent réticulant dans le mélange de pré polymérisation est: de 1/5(mol/mol)[12].

Ces proportions varient en fonction du MIP. Ainsi, un polymère très réticulé donne un matériau très rigide avec des empreintes envisagés correctement formées. En revanche, une réticulation élevée diminue la flexibilité des chaînes polymériques et peut empêcher l'accès des molécules aux empreintes à travers les pores.

I.5.5Le solvant porogène

Dans la préparation des MIPs, le solvant joue le rôle d'agent porogène, c'est-à-dire il a conféré une structure poreuse au MIP.

La nature et le volume de solvant vont influencer sur la qualité de l'impression, ainsi que sur la structure même du MIP (morphologie, gonflement, taille des pores...).

Pour choisir le solvant adapté, il existe quelques critères :

- ✓ les différents constituants du mélange doivent être solubles dans le solvant.
- ✓ le solvant doit produire des pores relativement larges pour permettre à la molécule cible de pénétrer et d'être relarguée du polymère.
- ✓ le solvant doit avoir une faible polarité pour ne pas provoquer d'interférences pendant la formation du complexe entre les molécules à imprimer et les monomères. Lorsque des liaisons hydrogène ou des interactions ioniques sont mises en jeu, les meilleurs résultats sont obtenus avec des solvants à faible caractère donneur ou accepteur de liaisons hydrogène et peu polaires (toluène, chloroforme, dichlorométhane). Les caractéristiques des solvants usuels en synthèse de MIP est récapitulé dans le tableau suivant.

Solvant	Constante diélectrique	Formation de liaisons hydrogène
Toluène	2,4	P
Dichlorométhane	8,9	P
Chloroforme	4,8	P
Acétonitrile	37,5	P
Méthanol	32,7	F
Eau	80,0	F

Tableau I.2 : Les caractéristiques des principaux solvants utilisés dans la synthèse des MIPs.

Où P réfère à un pauvre caractère accepteur et donneur de liaison H. et F réfère à un fort caractère accepteur et donneur de liaison H.

I.6 Les différentes approches de l'élaboration des MIPs

Différentes approches peuvent être mises en œuvre pour la synthèse de MIPs en fonction de la nature des interactions entre les monomères fonctionnels et la cible : l'approche covalente, l'approche semi-covalente et l'approche non-covalente.

I.6.1 L'approche covalente

L'approche covalente a été développée par G. Wulff [13–15]. Elle nécessite le couplage de la molécule cible avec un monomère fonctionnel. Après la polymérisation, la cible est extraite par rupture de la liaison covalente formée avec le réseau polymère. Cette extraction va laisser des sites présentant des fonctionnalités capables de reconnaître la molécule cible par rétablissement de la liaison covalente. Les avantages de cette approche sont:

- une interaction exclusive entre la cible et le monomère fonctionnel.
- des sites de reconnaissance homogènes en raison de la stabilité de liaisons covalentes.
- un rendement important en nombre de sites de reconnaissance par rapport à la quantité de molécules cible utilisée (efficacité d'impression) [16].

Les limites de cette approche :

Les molécules ayant des fonctionnalités concernent les alcools, les aldéhydes, les cétones, les amines ou les acides carboxyliques [17–20], comme par exemple le (S)-propanolol [21], l'acide phénylbutyrique [22], le 9-éthyladénine [23], ou encore les stéroïdes [24].

I.6.2 L'approche semi-covalente

L'approche semi-covalente reprend le principe de l'approche covalente, la différence se situe après l'extraction de la cible. En effet, cette étape, typiquement réalisée par hydrolyse,

laisse alors des fonctionnalités capables d'interagir de nouveau avec la cible mais cette fois de façon non covalente via des interactions de type Van der Waals ou des liaisons hydrogène [25]. La première véritable application de cette approche a été développée par B. Sellergren et L. Andersson pour l'impression du N-propionyl-L-2-amino-3-(4-hydroxyphényl)-1-propanol [26]. Le fait que la cible soit liée de façon covalente au monomère fonctionnel génère une bonne capacité d'adsorption puisque les sites de reconnaissance sont, en théorie, bien définis et répartis lors de la polymérisation [27].

Il y a deux principales méthodes pour l'approche semi-covalente :

- (a) l'interaction directe entre la cible et le monomère par une liaison facilement hydrolysable de type ester ou amide.
- (b) à l'aide d'un espaceur entre la cible et le monomère fonctionnel.

Contrairement à l'approche covalente, l'approche semi-covalente peut être sujette à de l'interaction non-spécifique lors de la réadsorption. D'après littérature, l'approche semi-covalente est finalement peu rapportée. Des exemples peuvent être cependant cités pour l'adsorption du dichlorodiphényltrichloroéthane (DDT) [28], de l'estrone [29], du propofol (agent anesthésique) [30], des composés phénoliques [31], ou encore de la vanilline [32].

I.6.3L'approche non-covalente

L'approche non-covalente est considérée comme la technique la plus prometteuse pour mimer la sélectivité des systèmes de reconnaissance biologiques naturels, qui emploient eux-mêmes des interactions non-covalentes. Cette approche développée, par l'équipe de K. Mos Bach en 1981, se base sur des liaisons de type hydrogène ou liaisons de Van der Waals entre le monomère fonctionnel et la cible pendant la polymérisation, mais aussi lors de la phase de reconnaissance [33].

Toutefois, étant donné que les interactions entre le monomère et la cible sont faibles, plusieurs combinaisons de complexe monomère-cible dans le mélange de pré-polymérisation sont possibles.

Par ailleurs, les monomères sont souvent présents en excès, ce qui conduit, après polymérisation, une distribution aléatoire et hétérogène des sites de reconnaissance dans le polymère. Cette hétérogénéité des sites de reconnaissance peut se traduire par une affinité modérée pour la cible [34].

Cette méthode est cependant la plus couramment utilisée (au moins 90% des Mips décrits dans la littérature) car elle est relativement simple puisqu'elle s'affranchit de l'étape de fonctionnalisation de la molécule cible [35]. Le choix du monomère fonctionnel, à l'origine

des interactions entre la molécule cible et la matrice polymère, est fondamentale dans cette approche.

Une grande variété de monomères fonctionnels commerciaux disponibles peuvent être utilisés, en général de type acrylique ou vinylique, et ainsi offrir de nombreuses possibilités de synthèse de MIPs afin d'optimiser les propriétés. Ceci conduit à une multitude d'applications beaucoup plus nombreuses dans les cas des approches covalente et semi-covalente car il existe plus de molécules cibles t« imprimables ».

I.7 La caractérisation d'une MIP

La caractérisation du MIP consiste à mettre en évidence la formation des empreintes et à évaluer leur nombre et leur affinité pour la molécule ciblée. L'évaluation par des tests d'adsorption ou « binding » est la méthode la plus courante pour connaître l'affinité des MIP pour la molécule cible. Pour réaliser ces tests d'adsorption, des quantités variables de molécules cibles sont mises en contact avec une quantité fixe de MIP dans le solvant de reconnaissance. Une fois l'équilibre atteint, la quantité de molécule cible présente dans le surnageant est déterminée par UV ou HPLC, ce qui conduit à la quantité de molécules cibles fixée par le MIP. Ces résultats sont obtenus montrés par des isothermes de fixation ou d'adsorption qui montre en ordonnée la quantité de molécules cible fixée par le polymère et en abscisse la quantité de Molécules cible introduite. La figure montre ces isothermes.

La même étude se fait avec un polymère non imprimé (NIP) c'est-à-dire ne contenant pas de molécule cible.

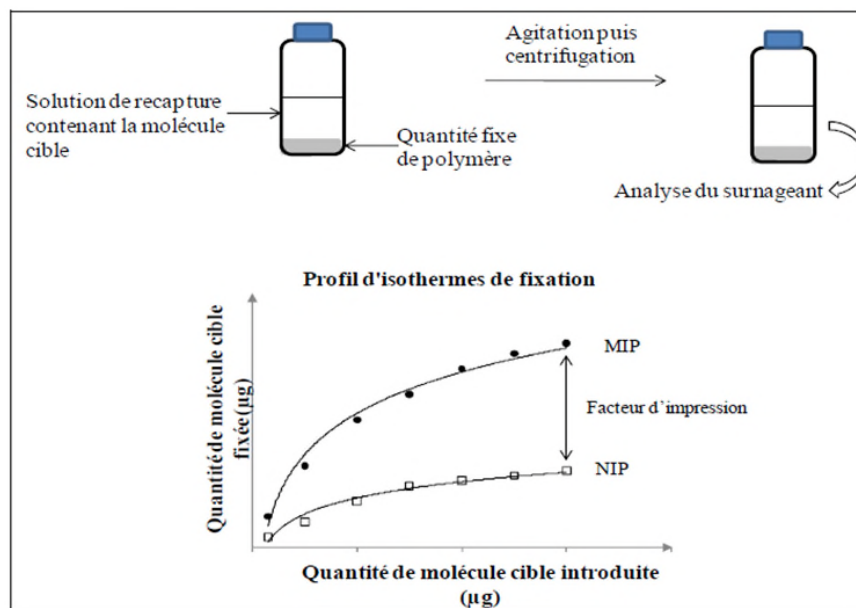


Figure I.4 : Principe des tests d'adsorption.

I.8 Les Principales applications des MIPs

Un autre grand défi pour la technologie des MIPs concerne les substances thérapeutiques. Certains MIPs sont en effet utilisés comme moyen de relargage de médicaments dans l'organisme ou comme un moyen de contrôle de ce relargage. Ils doivent assurer une libération du médicament sur le bon site, dans la bonne dose et à la bonne période de temps. Plusieurs revues s'intéressent à ce sujet [36–40]. En outre, le potentiel pour créer des MIPs biodégradables permettrait une plus grande souplesse dans l'utilisation in-vivo.

Les MIPs ont aussi pour application, les capteurs chimiques, on peut citer comme exemple les capteurs à onde acoustique qui ont été utilisés pour la détection de la phénacétine (analgésique) [41], et des herbicides [42].

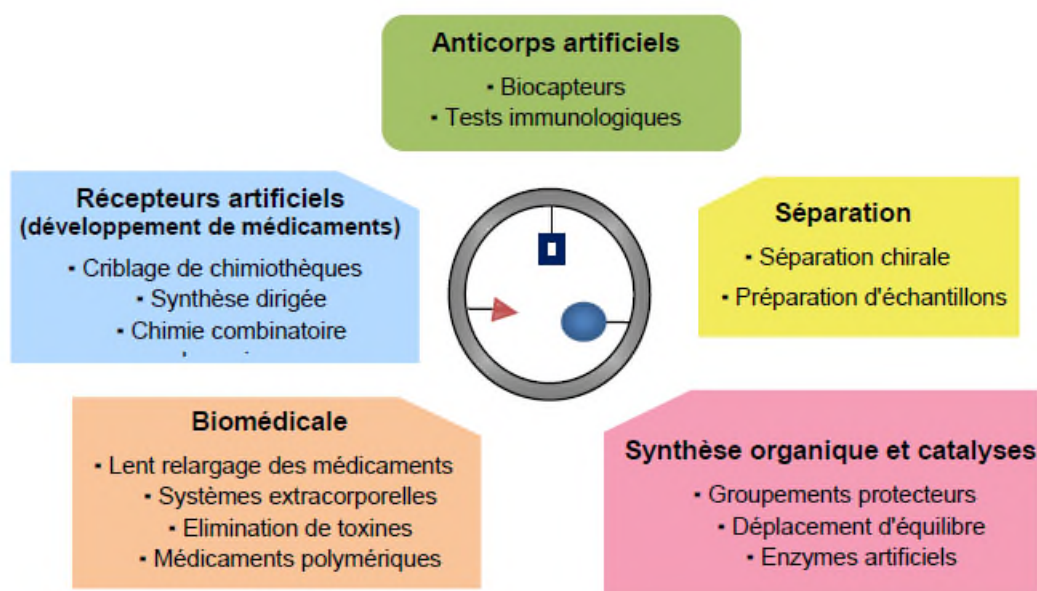


Figure 5 : Les applications des polymères à empreintes moléculaires.

I.9 Conclusion

Les polymères à empreintes moléculaires présentent un intérêt croissant pour la séparation sélective de molécules dispersées dans un mélange complexe.

La littérature montre que la qualité de l'empreinte est très importante pour avoir une capacité de reconnaissance non négligeable. Les interactions entre les monomères, le solvant et la cible sont le gage d'une reconnaissance moléculaire efficace. Le choix de la polymérisation va donc également être primordial pour la technologie de l'impression moléculaire. En effet,

nous avons vu que l'accessibilité aux sites de reconnaissance était essentielle pour que la reconnaissance moléculaire soit de forte capacité et de haute sélectivité.

Chapitre II :
Partie expérimentale

Comme nous l'avons signalé dans le premier chapitre, le but de ce travail est l'élaboration d'un polymère à empreinte moléculaire qui se fait de façon générale en cinq étapes : le choix des réactifs, le pré-assemblage monomère-molécule empreinte, la polymérisation, l'élimination de l'empreinte et la reconnaissance. Pour réaliser ces étapes nous avons utilisé différents produits que nous avons caractérisés par différentes techniques d'analyses.

II.1 Présentation des réactifs :

Les réactifs utilisés dans ce travail sont : le n-Butylacrylate (nBuA) (99%) et le 1,6-Hexanediol diacrylate (HDDA) (80%) sont tous les deux fournis par Sigma Aldrich, et le 2-Hydroxy-2-méthylpropiophenone (darocur) 1173 (97%) et 2-phénoxypropionique acid (98%) fournis par Ciba.

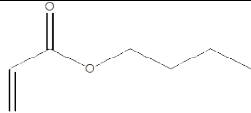
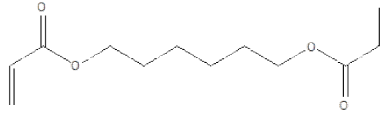
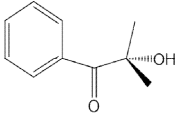
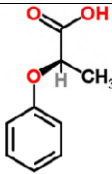
Produits	Formule développée, rôle	Masse (g /mole)
n-Butylacrylate (nBuA)	 Monomère	128,17
1,6-Hexanediol diacrylate (HDDA)	 Agent réticulant	226,27
2-hydroxy-2-méthylpropiophenone (darocur)	 Photoamorceur	164,20
2-phénoxypropionique acid (APP)	 Molécule cible analogue au pesticide	166,17

Tableau II.1 : Les produits utilisés.

Dans le tableau II.1, nous rassemblons tous les produits qui ont permis l'élaboration des films et leurs formules en précisant leurs rôles.

II.2 Choix des solvants :

Pour mettre en évidence l'effet du solvant sur les interactions entre le monomère et la cible et sur la porosité des réseaux nous avons choisi le chloroforme (99%, Sigma Aldrich) solvant aprotique.

Par ailleurs pour extraire le maximum de cible piégée dans les réseaux MIPs et en se basant sur la littérature[43] le lavage a été effectué en utilisant un mélange de solvants ; Acétonitrile (99%, Prolabo) (ACN) /Ethanol(99%, Sigma Aldrich)(EtOH) pour un pourcentage de 90/10 en volume.

Comme l'acétonitrile est un solvant aprotique il ne va pas permettre l'extraction totale de la cible d'où l'idée d'ajouter l'éthanol à la solution d'ACN pour favoriser le relargage de la cible. Pour la reconnaissance nous avons utilisé l'ACN .

II.3 Préparation des films

Nous avons préparé les mélanges NIPset MIPsen absence et en présence de la cible pour un rapport molaire (cible /ABu/HDDA) (1/4/16), le tableau II.2 rassemble les masses des différents réactifs en absence de solvant.

Pour la réalisation des matériaux NIP2 et MIP2 en présence d'un solvant porogène qui est le chloroforme, nous avons gardé les mêmes compositions massiques des réactifs que le NIP1 et le MIP1 (voir tableau II.2) pour lesquelles nous avons ajouté un volume de 0,5 ml de solvant.

En plus et pour montrer l'effet de la réticulation sur la reconnaissance, nous avons choisi un autre rapport molaire (cible /ABu/HDDA) (1/4/4) ou le pourcentage molaire de l'agent réticulant est plus faible. Le tableau II.3 montre les masses des différents réactifs pour obtenir les matériaux NIP3 et MIP3.

Matériaux	Composés	Masse molaire (g/mol)	Le rapport molaire	Nombre de moles	Masse (g)
NIP1	n-BuA	128,17	4	$1,56 \cdot 10^{-3}$	0,2
	HDDA	226,27	16	$6,24 \cdot 10^{-3}$	1,41
	Darocur	164,20	1%(n monomère+ n réticulant)	$7,8 \cdot 10^{-5}$	0,012
MIP1	n-BuA	128,17	4	$1,56 \cdot 10^{-3}$	0,2
	HDDA	226,27	16	$6,24 \cdot 10^{-3}$	1,41
	Darocur	164,20	1% (n monomère +n réticulant)	$7,8 \cdot 10^{-5}$	0,012
	Cible	166,17	1	$3,9 \cdot 10^{-4}$	0,06

Tableau II.2: Formulation de la composition des solutions de prépolymérisation des NIP1 et MIP1 pour le rapport (1/4/16) en absence de solvant.

Matériaux	Composés	Masse molaire (g/mol)	Le rapport molaire	Nombre de moles	Masse (g)
NIP3	n-BuA	128,17 4	4	$1,56 \cdot 10^{-3}$	0,2
	HDDA	226,27	4	$1,56 \cdot 10^{-3}$	0,35
	Darocur	164,20	1%(n monomère+ n réticulant)	$3,12 \cdot 10^{-5}$	0,005
MIP3	n-BuA	128,17 4	4	$1,56 \cdot 10^{-3}$	0,2
	HDDA	226,27	4	$1,56 \cdot 10^{-3}$	0,35
	Darocur	164,20	(n monomère +n réticulant)	$3,12 \cdot 10^{-5}$	0,013
	Cible	166,17	1	$3,9 \cdot 10^{-4}$	0,06

Tableau II.3: Formulation de la composition des solutions de prépolymérisation des NIP3 et MIP3 pour le rapport (1/4/4).

Une fois que la pesée des produits est faite à l'aide d'une balance de précision de 0,1mg « PI- FA20048 », et comme il y a un risque de dégradation du photo amorceur ainsi que de la fonction acrylique, nous devons peser dans une chambre de faible luminosité et recouvrir le pilulier du mélange avec du papier aluminium. Une agitation mécanique de ces solutions est assurée par un agitateur mécanique de « Heidolph » pendant une durée de 24 heures.

Pour étudier la cinétique de polymérisation par Infra Rouge (IR), nous avons prélevé une goutte de ces mélanges NIP ou MIP et nous l'avons déposé dans la cellule entre une face NaCl et une feuille PET. Par la suite l'ensemble est irradié sous la lampe UV philips TLD 18 W/08 ayant une longueur d'onde $\lambda=365$ nm, et une intensité $I_0=1,5\text{mw/cm}^2$. La distance entre la lampe et l'échantillon est de 25cm pendant toutes les manipulations.

Dans le but d'obtenir des films minces de polymère, nous avons utilisé une plaque de verre sur laquelle nous avons mis quatre petites lames d'épaisseur de l'ordre 0,13mm pour former un moule carré comme c'est illustré dans la figure II.1. A l'aide d'une pipette nous avons prélevé une goutte du mélange NIP ou MIP que nous avons déposée dans ce moule recouvert par un film d'acétate pour éviter l'inhibition de la polymérisation par l'oxygène de l'air. L'ensemble est irradié sous la lampe UV pendant 10 min pour le mélange NIP et 15 min pour le mélange MIP. Nous obtenons ainsi des films minces dont l'épaisseur varie entre $3\mu\text{m}$ et $6\mu\text{m}$.

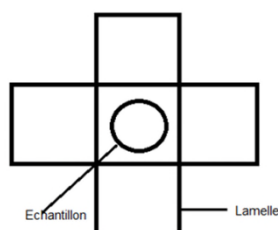


Figure II.1 : Schéma du moule utilisé pour l'élaboration des films.

II.4 Méthodes de caractérisations

II.4.1 Spectroscopie UV-Visible

L'analyse spectrophotométrie UV-Visible est fondée sur l'étude du changement d'absorption de la lumière par le milieu (solution), en fonction de la variation de la concentration de l'échantillon.

Si un faisceau lumineux monochromatique traverse une solution homogène d'une substance de concentration c contenue dans une cuve de face parallèle sur une longueur l (trajet optique), nous observons que la fraction de la lumière absorbée est fonction de la concentration et de l'épaisseur du milieu. Elle suit la loi de Beer Lambert (formule II.1).

$$A = \log \frac{I_0}{I} = \epsilon lc \quad \text{II.1}$$

où

I_0 : intensité du faisceau incident.

I : intensité du faisceau émergent de la solution.

ϵ : coefficient d'extinction molaire (L /mole.cm).

l : longueur du trajet optique (épaisseur de la cuve) (cm).

c : concentration de la solution à analyser (mol/L).

L'absorbance varie avec la longueur d'onde de la lumière : elle passe par un maximum qui correspond à une longueur d'onde pour laquelle la sensibilité est maximale.

L'absorbance, est proportionnelle à la concentration pour une épaisseur donnée. La linéarité de la loi de Beer-Lambert n'existe que dans un certain domaine de concentration appelé domaine de validité de la méthode, déterminé par étalonnage. Ainsi, il est nécessaire de connaître le domaine de la linéarité de la courbe d'étalonnage $A = f(C)$.

Dans ce travail les spectres UV sont obtenus sur spectrophotomètre Analytikjena SPECORD/200 piloté par le logiciel Aspect plus. Les solutions sont analysées dans des cuves standard en quartz de 1 cm de trajet optique. Les longueurs d'ondes maximales sont obtenues directement par balayage spectrale entre 190 et 1100 nm avec un chemin optique de 1cm.

Dans le but de suivre la longueur d'onde maximale qui caractérise la cible pour réaliser les tests de lavage et de reconnaissance nous avons préparé, une solution de 2-phenoxypropionic acid (APP) 10^{-5} M dans l'acétonitrile. Son spectre est représenté dans la figure II.2 où apparaissent deux bandes d'absorption. La transition $\pi \rightarrow \pi^*$ issue des doubles liaisons est assez intense car énergiquement favorable. La valeur de la longueur maximale d'absorption dépend de l'environnement de la double liaison. La présence d'un cycle aromatique dans la cible fait augmenter la longueur d'onde (effet bathochrome) à cause de la conjugaison.

Par contre la transition $n \rightarrow \pi^*$ est plus faible car énergiquement interdite. Elle n'existe que lorsqu'un élément possédant un doublet non liant se trouve lié par une double liaison à un autre élément.

Nous attribuons ainsi la transitions $\pi \rightarrow \pi^*$ à 220 nm et la transition $n \rightarrow \pi^*$ à 270 nm.

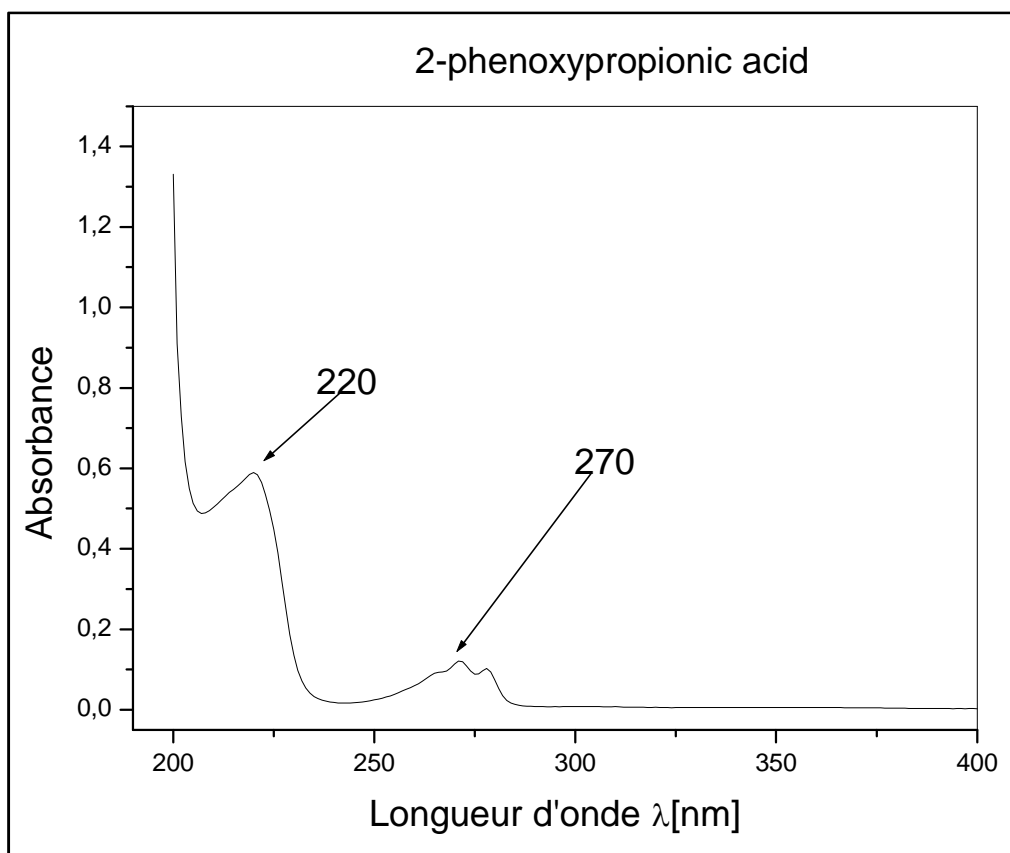


Figure II.2 : Spectre UV de 2-phenoxypropionic acid dans l'ACN.

II.4.2 La spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier « FTIR »

La spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (FTIR) est une technique couramment utilisée pour la caractérisation des polymères. Dans ce travail nous avons utilisé le FTIR Agilent Technologies Cary 640. Elle permet notamment de mesurer le degré d'avancement d'une polymérisation ou encore les modifications chimiques des systèmes polymériques et la détermination des bandes caractéristiques.

La cinétique de polymérisation a été suivie par la disparition de la bande acrylique à 1637cm^{-1} à différents temps. La spectroscopie IR a permis de quantifier cette disparition en utilisant la formule II.2 qui nous renseigne sur le taux de conversion.

$$\text{Taux de conversion} = \frac{H_0 - H_t}{H_0} * 100 \quad (II.2)$$

H₀ : la hauteur de pic à l'instant t=0

H_t : la hauteur du pic à l'instant t.

Pour caractériser les réactifs seuls ou dans le mélange, nous avons utilisé aussi la technique de la réflexion totale atténuée (ATR).

Les figures II.3, II.4 et II.5 représentent les spectres IR pour le BuA, le HDDA et la cible. Les principales bandes d'absorption sont rassemblées dans le tableau II.4.

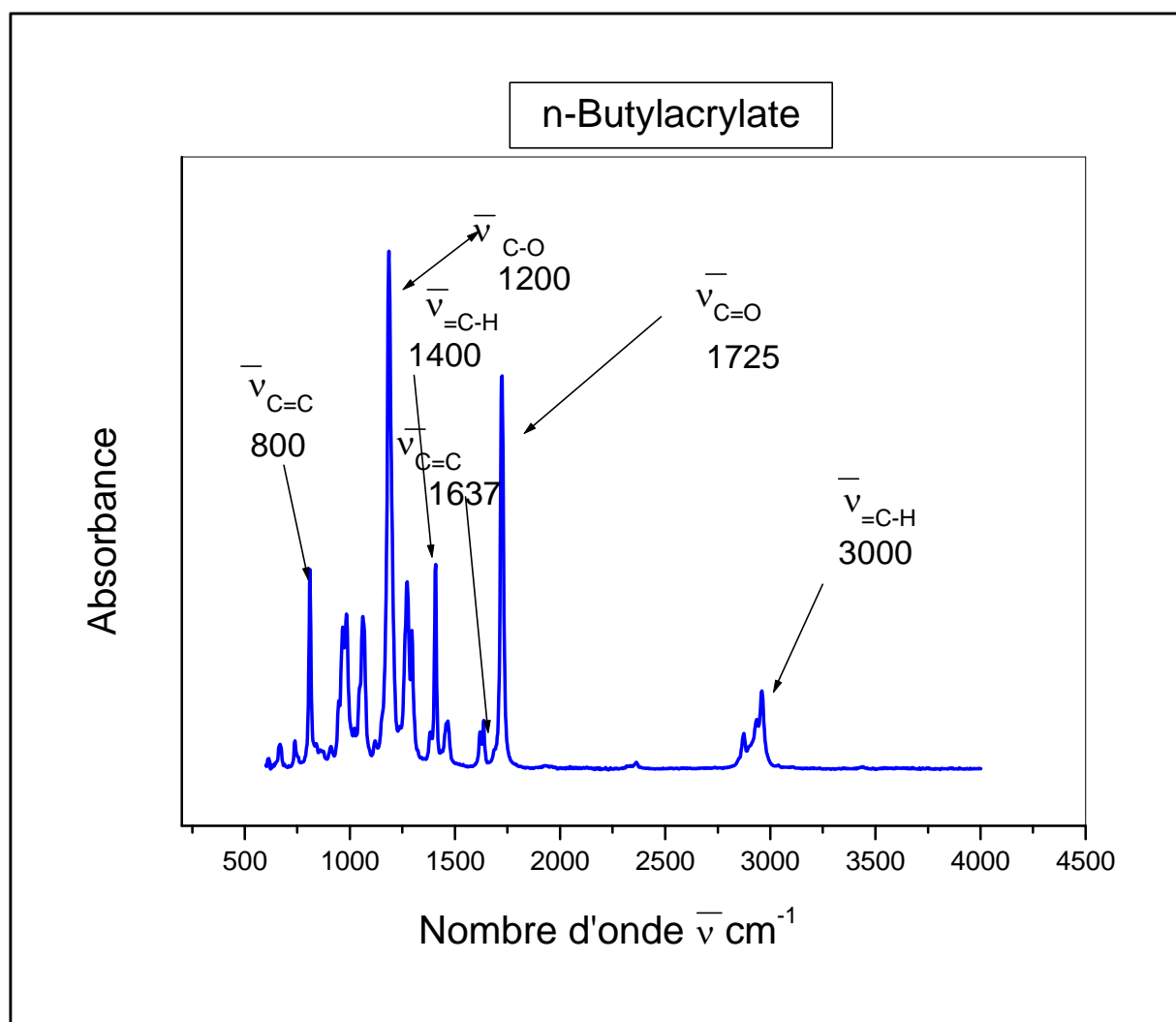


Figure II.3 : Spectre infrarouge de BuA.

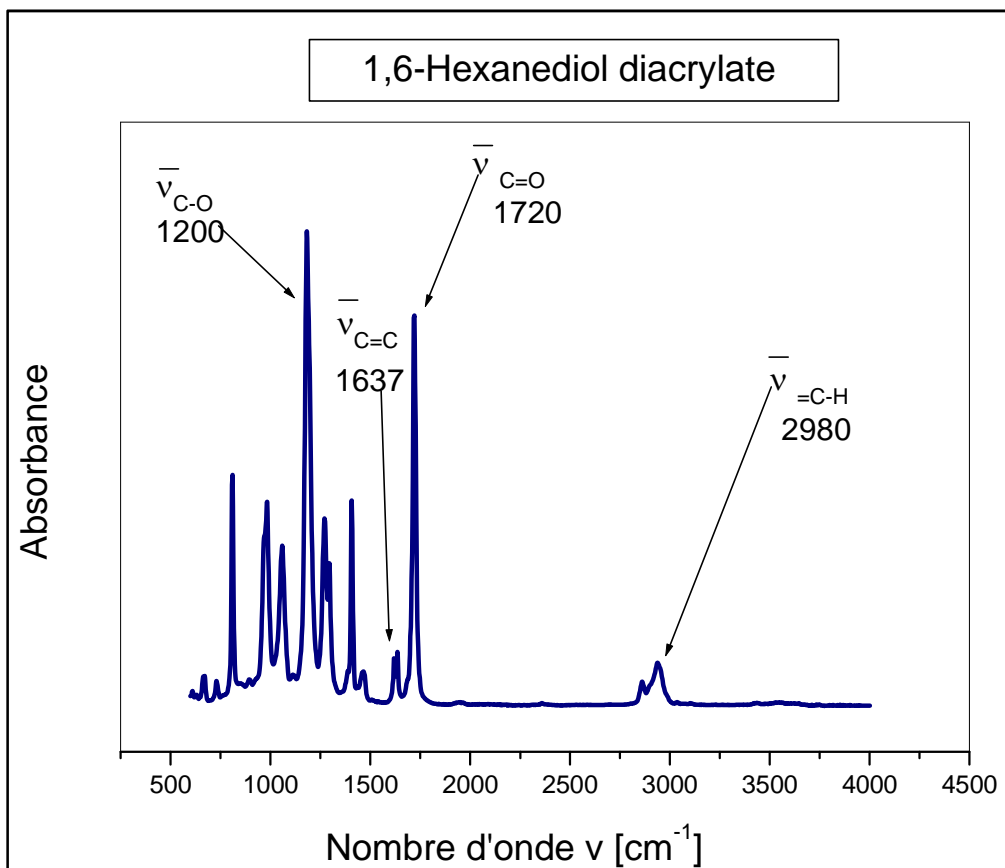


Figure II.4 : Spectre infrarouge de HDDA.

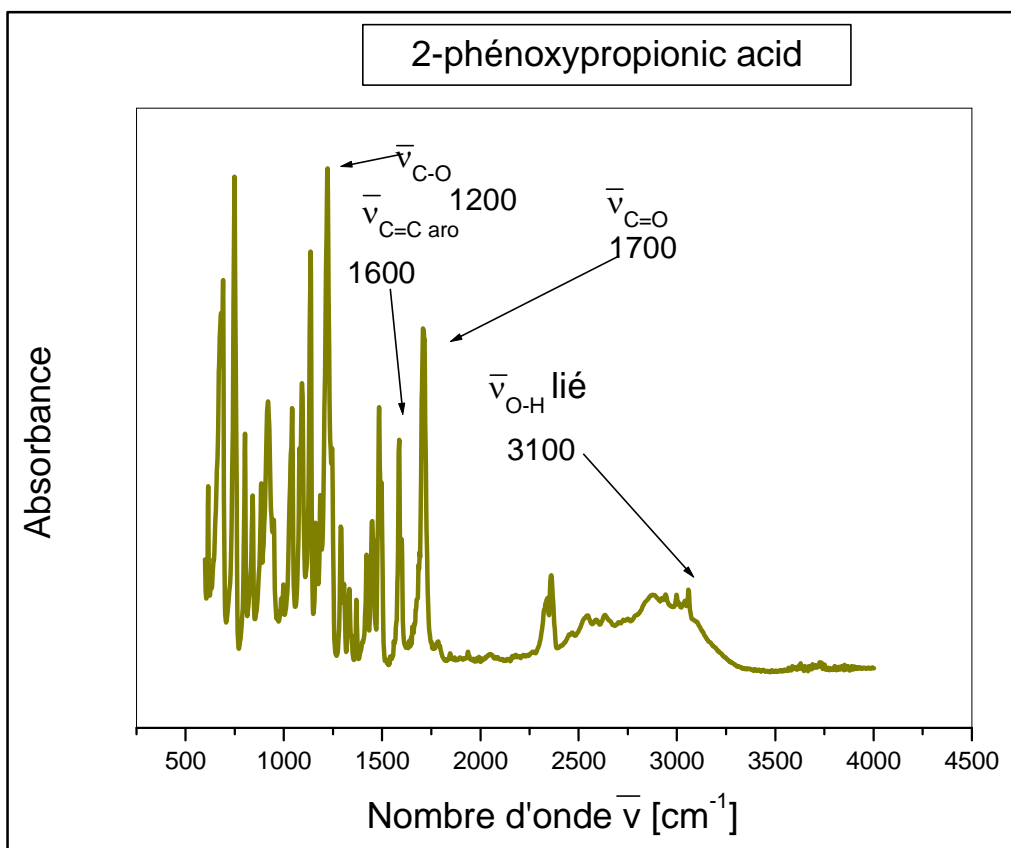


Figure II.5 : Spectre infrarouge de la cible.

Nombre d'onde ν (cm^{-1})	Nom	Description des vibrations
1200-1300	C-O	Elongation du C-O
1400	=CH	Déformation dans le plan
800-1637	C=C	Elongation de l'acrylate
1725	C=O	Elongation du C=O
2921	=C-H	Elongation
1600	C=C aromatique =C-H aromatique	Elongation du C=C Elongation du =C-H
3100	O-H	OH associé élongation
3600		OH libre

Tableau II.4: Les principales bandes d'absorption des différents réactifs.

II.4.3 La calorimétrie différentielle à balayage DSC

La calorimétrie différentielle à balayage (en anglais, Differential Scanning Calorimetry ou DSC) est une méthode permettant de déterminer les caractéristiques thermiques des matériaux, elle mesure les différences des échanges de chaleur entre un échantillon à analyser et une référence.

La mesure qu'elle nous donne est le flux thermique nécessaire pour que la température de l'échantillon augmente ou diminue à une vitesse choisie. Ce flux thermique est directement proportionnel à la capacité calorifique du matériau à une température donnée. Des transformations thermodynamiques de premier ordre comme la fusion vont se traduire par un pic dont la surface est proportionnelle à l'enthalpie de transformation. Par contre une transformation du deuxième ordre sera caractérisée par une marche (changement brusque de C_p). Ce saut brusque qui correspond à la capacité calorifique C_p .

Dans ce travail, les études calorimétriques ont été réalisées à l'aide d'un calorimètre DSC Q 2000 (TA Instruments), équipé d'un bloc de refroidissement (RCS) nous pouvons alors opérer de $-90\text{ }^{\circ}\text{C}$ à $400\text{ }^{\circ}\text{C}$. Dans cette partie la DSC a été utilisé pour déterminer les températures de transition vitreuse pour les matériaux NIPs et MIPs. L'indium a été utilisé

pour calibrer la DSC. La vitesse de chauffage et de refroidissement est adaptée à $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$.

Les rampes de température appliquées aux échantillons NIPs et MIPs sont illustrées sur la figure II.6. Les mesures des différents événements thermiques ont toujours été enregistrées lors de la première rampe de température à $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$ (trait rouge).

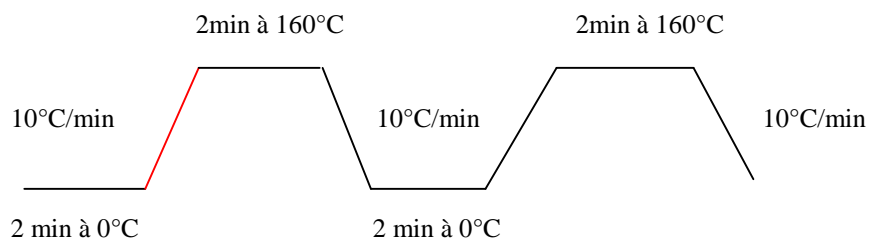


Figure II.6 : Rampes de température appliquées aux films NIPs et MIPs.

Chapitre III :
Résultats et discussion

La formation du complexe avant polymérisation/réticulation est la base de la reconnaissance moléculaire du matériau imprimé, dans notre cas le monomère choisi doit former des interactions non covalentes de type liaison hydrogène avec la cible. Ainsi nous présentons dans ce qui suit la mise en évidence de l'interaction cible/monomère en caractérisant le complexe par FTIR.

Nous avons étudié d'une part les interactions entre la cible et le monomère pour un rapport molaire APP/BuA (1/1) en absence et en présence d'un solvant porogène qui est le chloroforme, et d'autre part pour un rapport molaire APP/BuA (1/4) en absence du solvant. Ainsi la même étude a été effectuée entre la cible et l'agent réticulant HDDA.

III.1 Etude des interactions entre la cible et le groupement fonctionnel

Les figures III.1 et III.2 représentent les spectres IR de la cible et BuA seuls et le mélange Cible/BuA en absence et en présence de solvant.

III.1.1 Etude des interactions Cible/BuA (1/1)

La figure III.1.a représenté la superposition des spectres IR de la cible, du BuA et leur mélange. Les figures III.1 b et III.1 c montrent juste les régions des bandes d'absorption des fonctions susceptibles de participer aux interactions.

Le monomère BuA possède deux bandes d'absorption : une bande intense à 1720 cm^{-1} caractéristique de la fonction C=O et une bande faible à 2900 cm^{-1} caractérisant la double liaison =C-H.

Par contre la cible présente une bande d'absorption caractéristique de la liaison C=O légèrement déplacée vers les basses fréquences due à l'état associé de l'acide. Ainsi la cible seule se présente sous forme de dimère. Après mélange cible/monomère, nous constatons que cette bande se décale pour se confondre avec celle du BuA (figure III.1b).

La deuxième bande caractéristique de la cible est celle de l'O-H lié, elle apparaît autour de 3000 cm^{-1} .

Après l'ajout du BuA, aucune bande n'apparaît à 3600 cm^{-1} qui correspond au O-H libre ce qui peut s'expliquer que cette fonction est toujours liée mais cette fois au monomère, par une liaison hydrogène (figure III.1c).

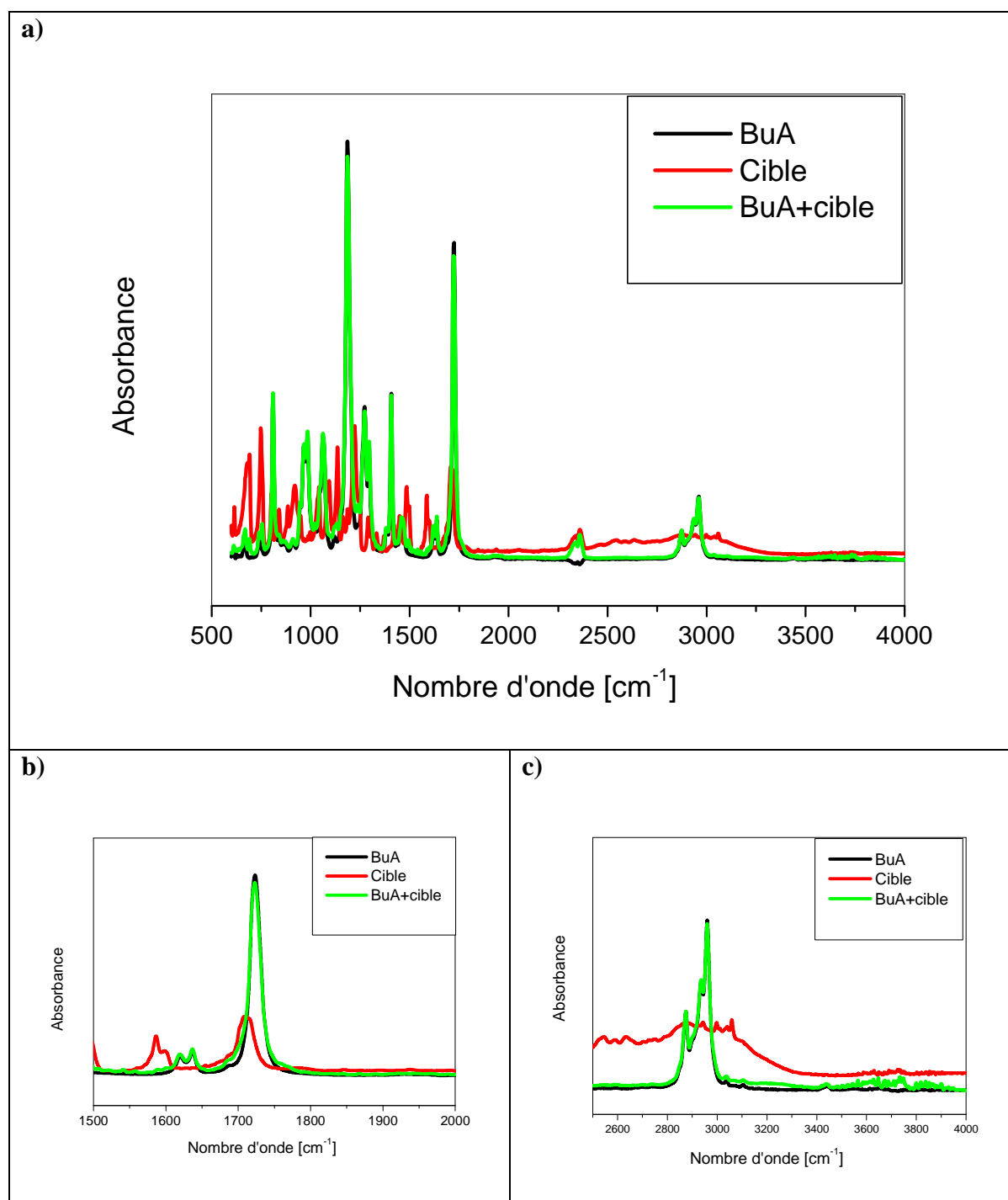


Figure III.1 : a) Spectre IR du mélange Cible/BuA (1/1) sans solvant. b) Agrandissement de la région 1500-2000 cm^{-1} , c) Agrandissement de la région 2500-4000 cm^{-1} .

Par la suite nous avons effectué la même étude en présence du solvant, nous observons que ce dernier est sans effet sur les interactions. Par contre les bandes d'absorption diminuent suite à une dilution comme le montrent les figures III.2.

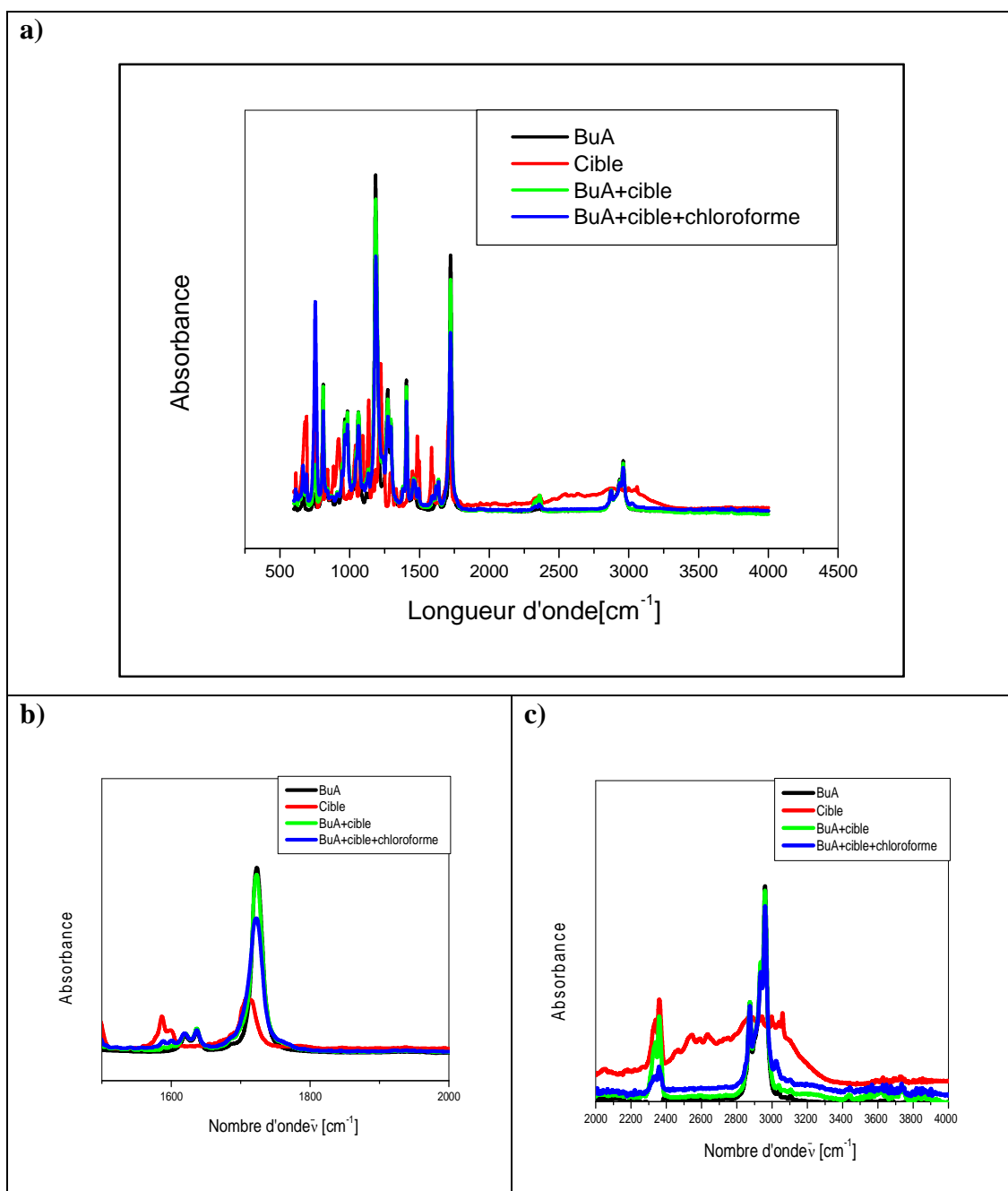


Figure III.2 : a) Spectre IR du mélange APP/ BuA (1/1) en présence du chloroforme. b) Agrandissement de la région 1500-2000 cm^{-1} , c) Agrandissement de la région 2500-4000 cm^{-1} .

III.1.2 Etude des interactions Cible/HDDA (1/4)

Les figures III. 3 montrent les spectres IR de la cible et HDDA seuls et leur mélange. Nous notons que les interactions dans la zone 1500-2000 cm^{-1} et la zone 2500- 4000 cm^{-1} sont les mêmes que dans le cas Cible/BuA .

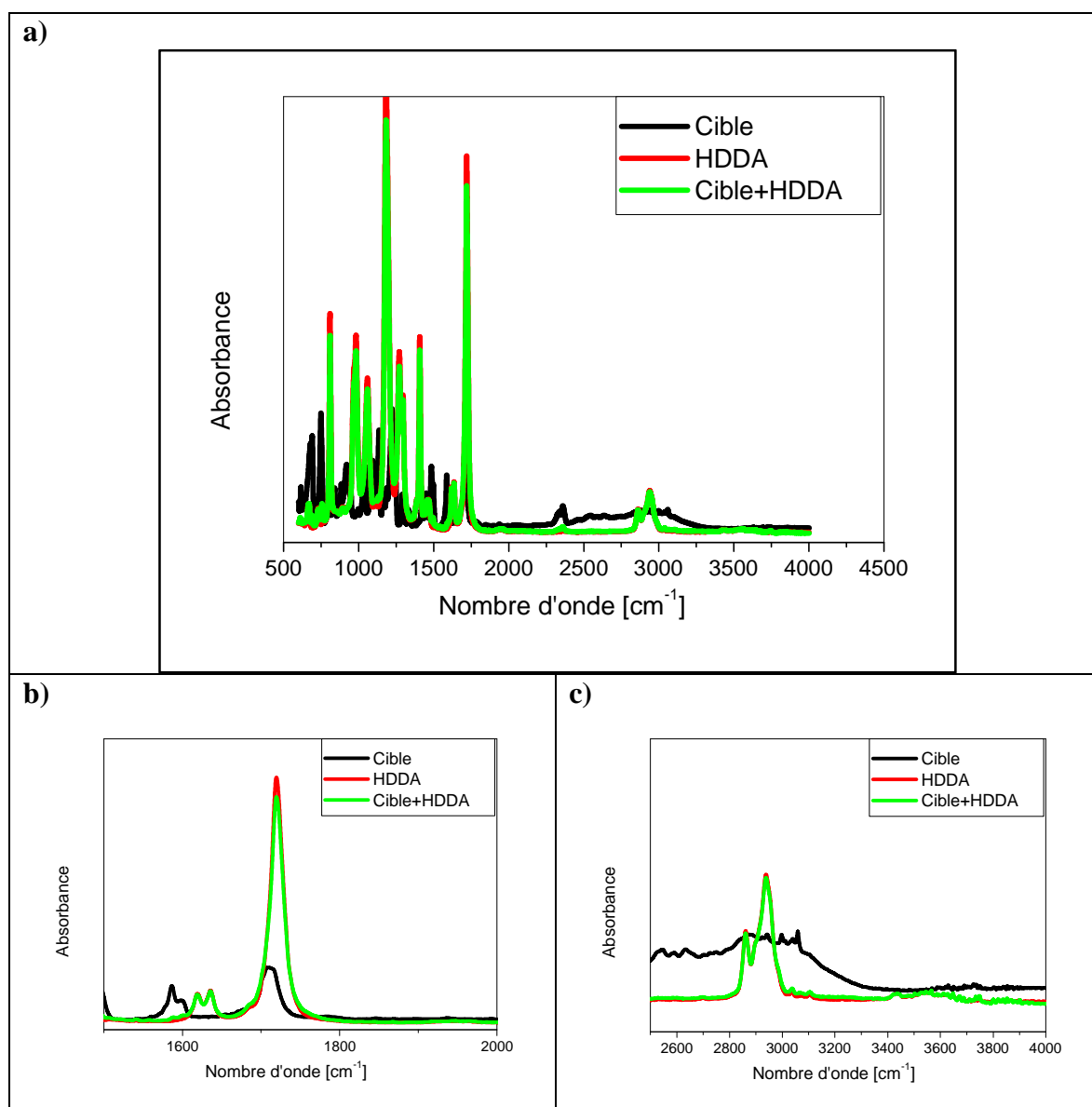


Figure III.3 :a) Spectre IR du mélange Cible/ HDDA (1/4). b) Agrandissement de la région 1500-2000 cm^{-1} , c) Agrandissement de la région 2500-4000 cm^{-1} .

III.1.3 Etude des interactions Cible/BuA (1/4)

Dans le but d'obtenir des matériaux à empreinte moléculaire avec des cavités fonctionnalisées, nous avons élaboré des matériaux avec un rapport de monomère quatre fois plus élevé que celui de la cible (1/4) pour cela nous avons vérifié au préalable si les interactions sont toujours présentes entre la cible et le BuA.

Les figures III.4 montrent les spectres IR de la cible et BuA seuls et leur mélange.

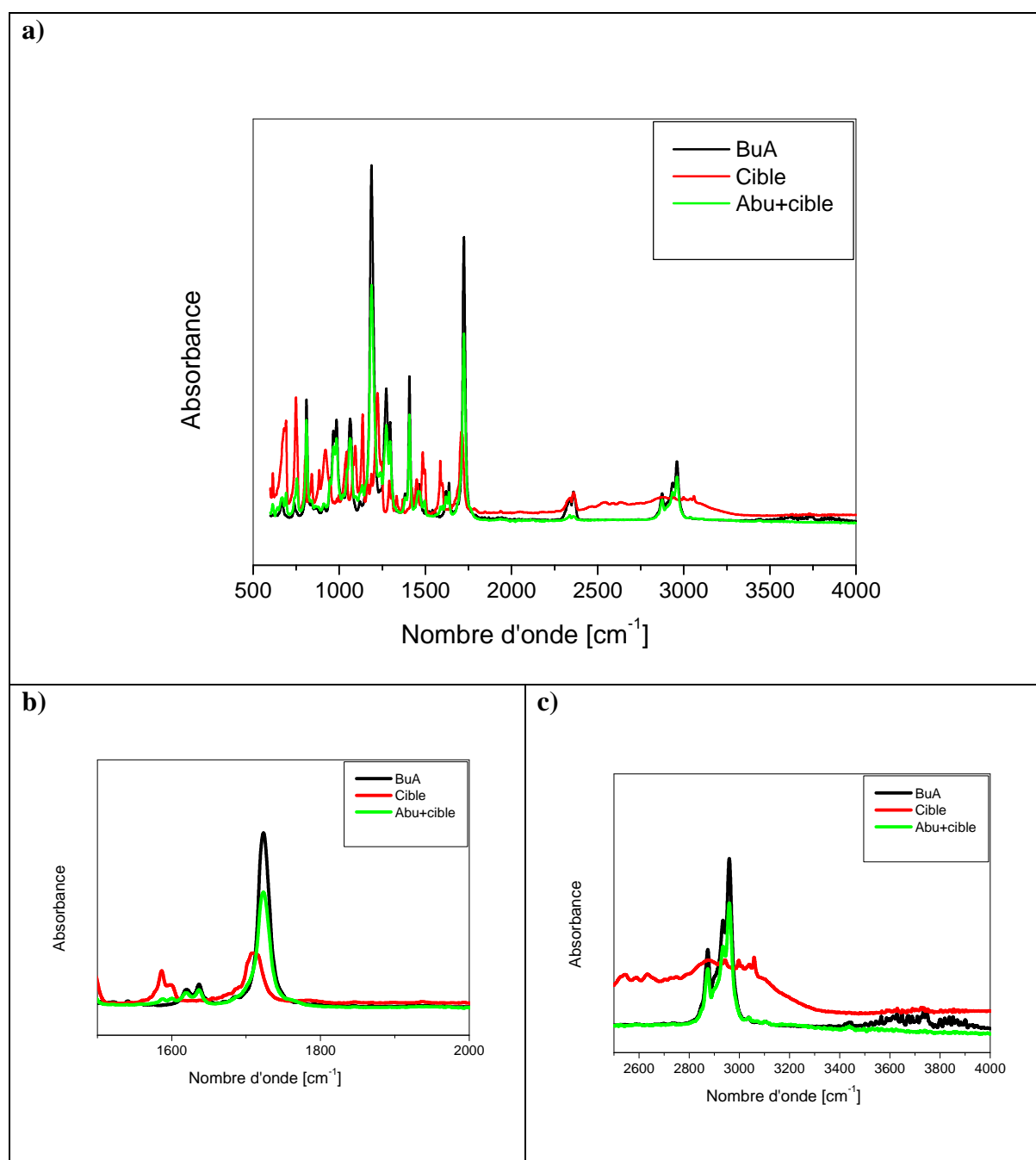


Figure III.4 : a) Spectre IR du mélange Cible/BuA (1/4). b) Agrandissement de la région 1500-2000 cm⁻¹, c) Agrandissement de la région 2500-4000cm⁻¹.

D'après les figures III. 4 nous remarquons que les interactions demeurent les mêmes et que les bandes d'absorption diminuent suite à une dilution en présence d'un volume important du monomère.

III.2 Le suivi cinétique de la polymérisation des mélanges NIPet MIP

Avant l'élaboration des films NIP et MIP nous avons suivi la cinétique de la polymérisation qui a permis de calculer le taux de conversion de ces deux mélanges.

Comme le groupement acrylique possède des bandes d'absorption à 810cm^{-1} à 1635cm^{-1} et à 1410cm^{-1} , la cinétique de polymérisation a été suivie par la disparition de la bande acrylique à 1635cm^{-1} non présente dans la cible. Ainsi le suivi de la même bande par IR a été réalisé pour le NIP et pour le MIP.

Les figures III.5 et III.6 montrent la cinétique de polymérisation des mélanges NIP1 et MIP1 pour lesquelles nous avons superposé les spectres à différents temps. Nous notons que la bande acrylique disparaît pour le NIP au bout de 10 minutes et pour le MIP au bout de 15 min.

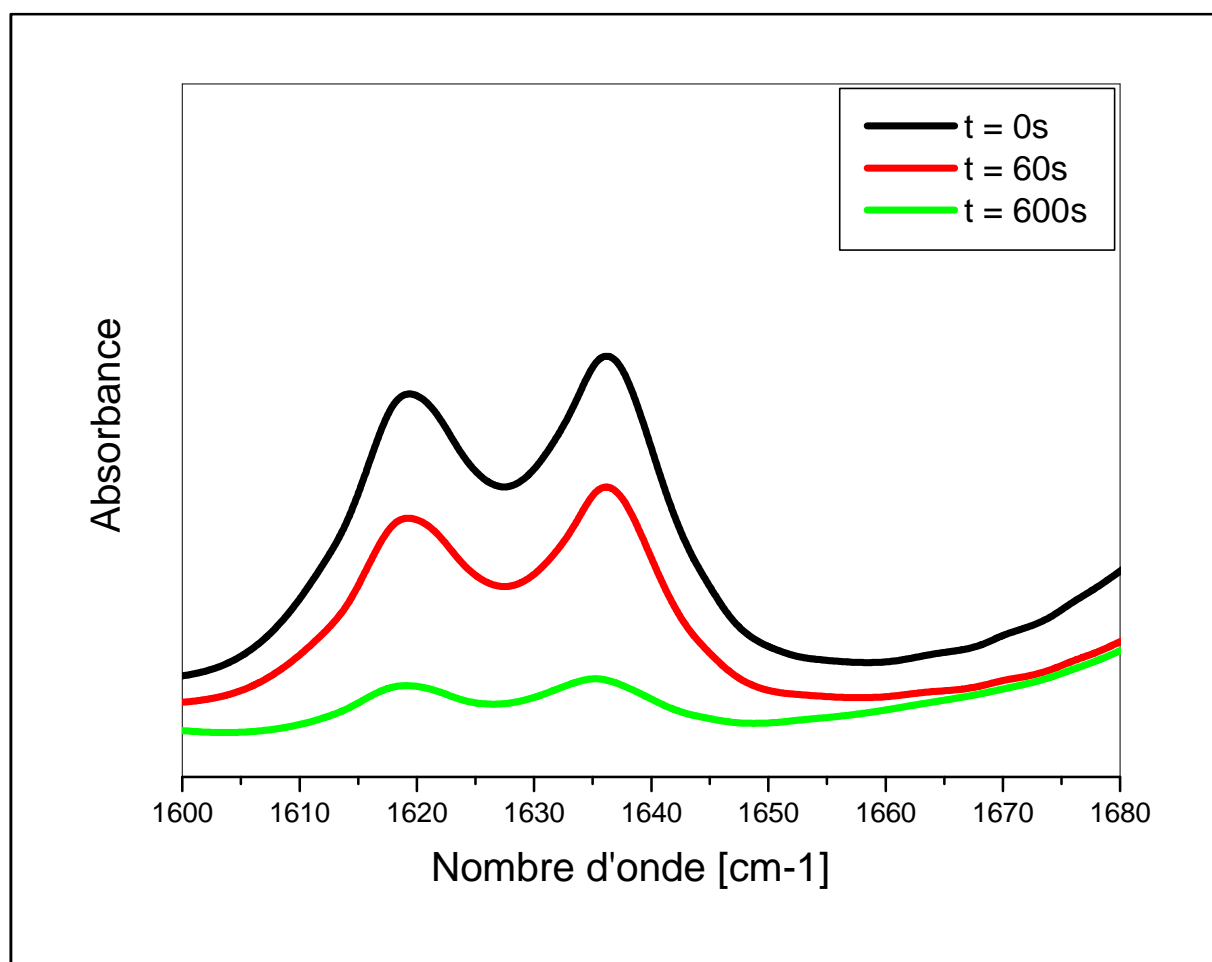


Figure III.5 : Superposition des spectres de mélange NIP1 et irradié à différents temps dans la région 1600-1680 cm^{-1} .

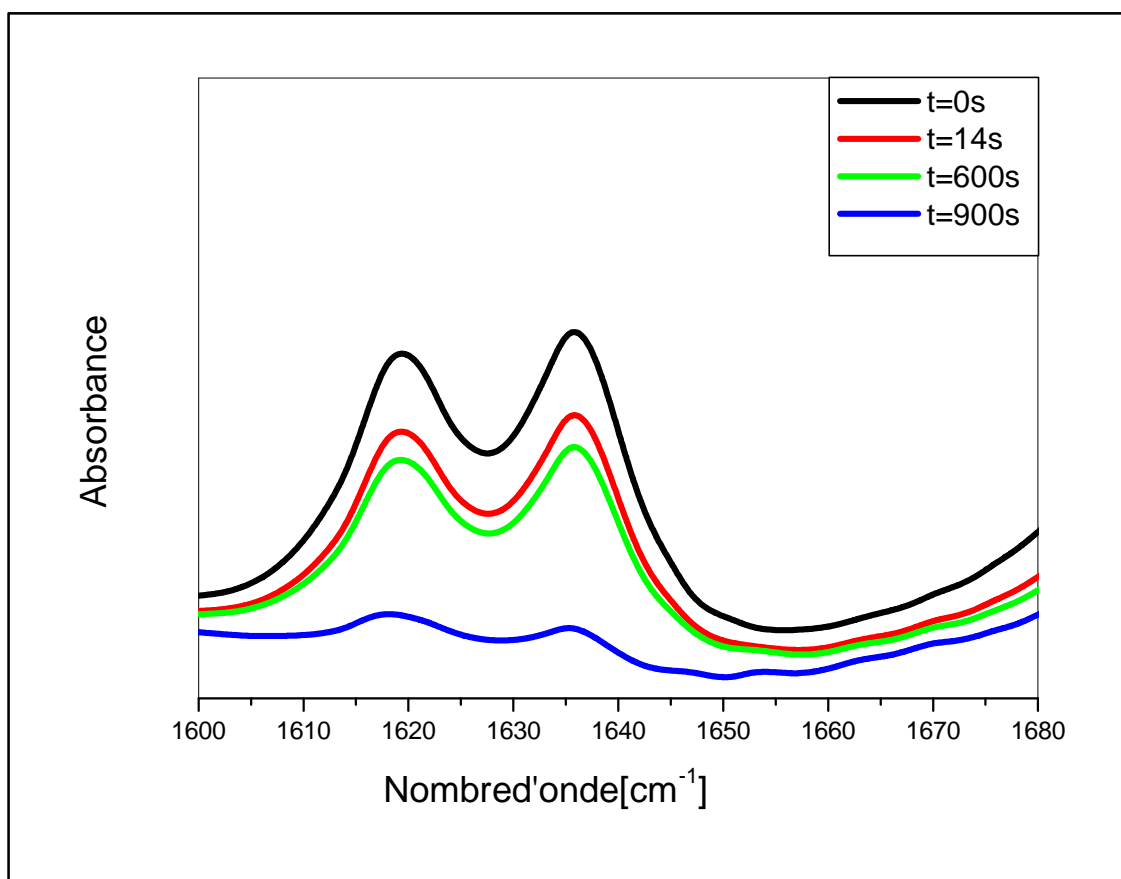


Figure III.6 : superposition des spectres de mélange MIP1 et irradié à différents temps dans la région 1600-1680 cm^{-1} .

La spectroscopie IR a permis de quantifier cette disparition en utilisant la formule II.2. Le taux de conversion a ainsi été calculé pour le NIP et pour le MIP. La moyenne de plusieurs essais est illustré dans la figure III.4 et III.5 pour les mélanges NIP1 et MIP1 respectivement où est représenté le taux de conversion en fonction du temps.

Le taux de conversion calculé pour le NIP1 est 95% et pour le MIP1, il est à 90%. Nous concluons que la présence de la cible augmente le temps de polymérisation et diminue le taux de conversion.

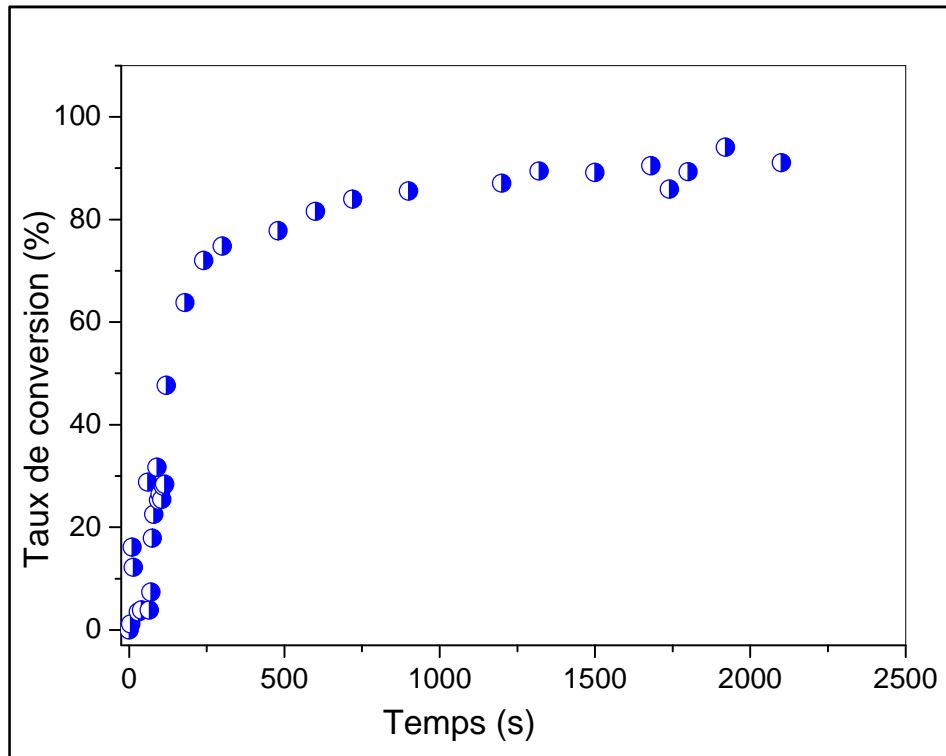


Figure III.7 :Taux de conversion de NIP1.

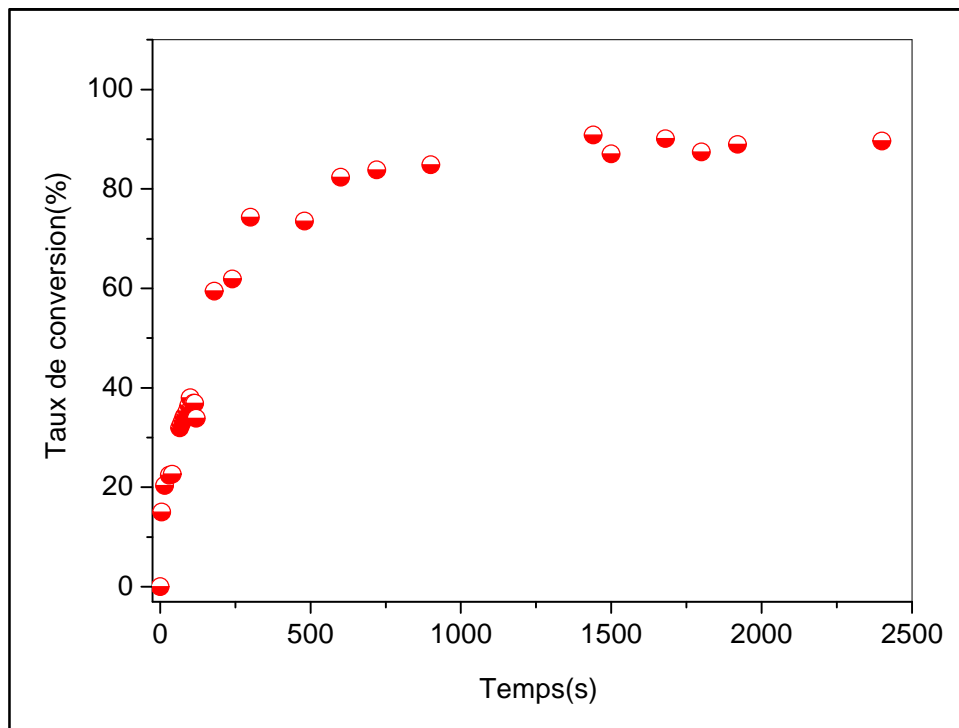


Figure III.8 :Taux de conversion de MIP1

III.3 Caractérisation par analyse calorimétrique à balayage

Pour mieux voir l'effet de la présence de la cible sur les températures de transition vitreuse des matériaux obtenus, une caractérisation par analyse calorimétrique à balayage a été réalisée pour les réseaux NIP1 et MIP1. La figure III.9 montre les thermogrammes enregistrés lors du premier cycle de chauffage.

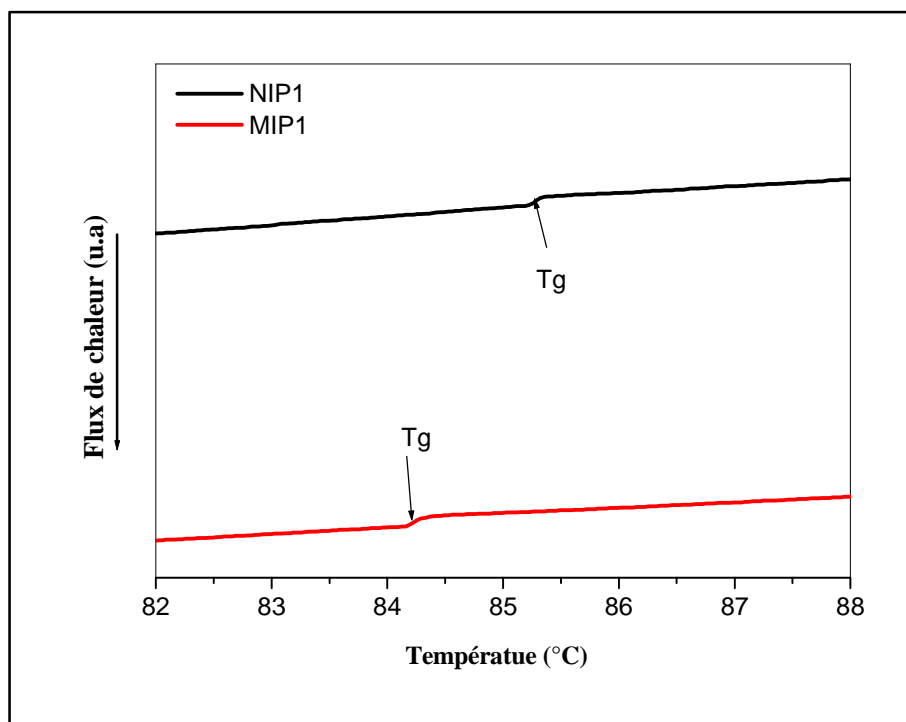


Figure III.9 : Thermogrammes des réseaux NIP1 et MIP1.

Nous notons que la température vitreuse T_g du réseau polymère diminue en présence de la cible, ceci peut s'expliquer par le fait que la cible se comporte en tant qu'espaceur. Ceci peut contribuer à la diminution de la densité du réseau obtenu en présence de la cible.

III.4 Le suivi de l'extraction de la cible par spectroscopie UV

Après l'élaboration des films MIP1, le matériau subit plusieurs lavages qui visent à éliminer la cible. L'objectif de cette étape est de déterminer le nombre de lavages adéquats pour réaliser l'extraction maximale de la cible.

Le solvant de lavage choisi est constitué de 90% d'acétonitrile (ACN) et 10% d'éthanol (EtOH). Pour les lavages, les films sont alors mis dans des flacons remplis de solvant et fermés, pendant 2 à 4 h.

La solution de lavage est ensuite analysée par UV en la changeant toutes les deux heures.

La figure III.10 montre la disparition de la bande à 270nm après plusieurs lavages chaque 2h jusqu'à diminution de l'absorbance de la solution.

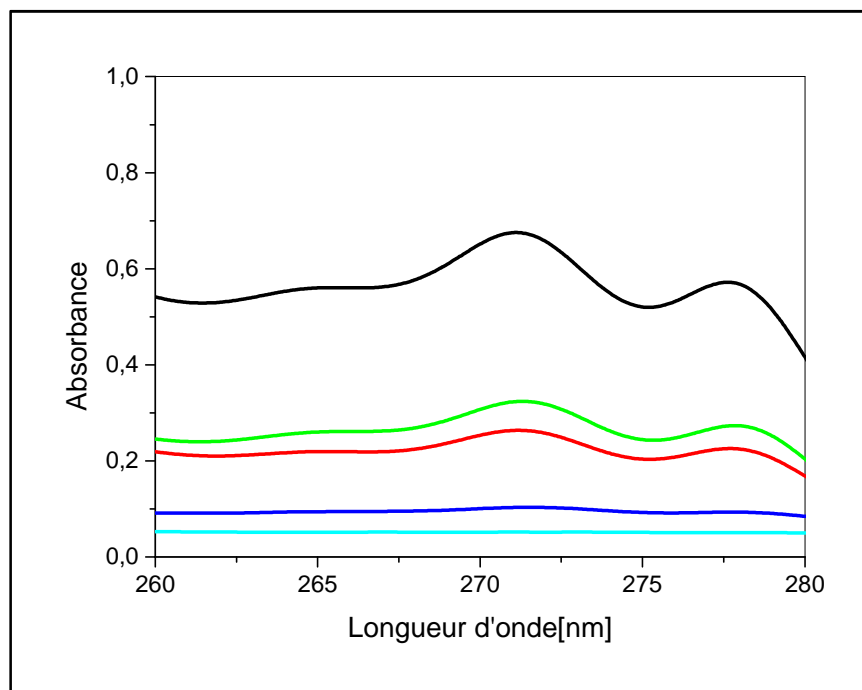


Figure III.10 : Illustration de la disparition de la bande maximale pendant plusieurs lavages.

Les valeurs de l'absorbance notées après chaque lavage sont reportées dans le tableau III.1.

Nombre de lavages	Absorbance				
	Echantillon1	Echantillon2	Echantillon3	Echantillon4	Echantillon5
1	1.19	1.12	1.09	0.75	0.56
2	0.15	0.16	0.32	0.52	0.25
3	0.11	0.18	0.28	0.65	0.32
4	0.07	0.12	0.12	0.12	0.09
5	0.04	0.07	0.06	0.07	0.05
6	0.05	0.05	0.05	0.01	0.01

Tableau III.1 : Evolution de l'absorbance en fonction du nombre de lavages pour différents échantillons MIP1 (1/4/16)

III.5 La reconnaissance

Après avoir éliminé la quantité de la cible par plusieurs lavages, nous passons aux tests de reconnaissance. Pour cela nous avons mis 5mg de NIP1 ou MIP1 dans une solution APP $5 \cdot 10^{-5}$ mol /L dans l'ACN.

Toutes les deux heures le surnageant est analysé par UV. Les résultats obtenus sont rassemblés dans le tableau III.2.

Solvant	NIP1	MIP1
ACN	t=0 (A=0.018)	t=0 (A=0.018)
	t=2h (A=0.25)	t=2h (A=0.61)
	t=4h (A=0.25)	t=4h (A=0.55)
	t= 24h (A=0.13)	t= 24h (A=0.79)

Tableau III.2 : Suivi de l'absorbance de la cible dans le surnageant.

Nous remarquons que l'absorbance A de la cible dans le surnageant augmente après un temps d'incubation, ceci peut être expliqué par le gonflement du film par le solvant ce qui conduit à l'augmentation de la concentration du surnageant

Cependant cette augmentation est plus importante dans le cas du MIP1 que le NIP1 due probablement à la présence de cavités laissées par la cible après lavage.

Pour pallier à cette reconnaissance qui n'a pas été réalisé. Les films obtenus sont le NIP2 et le MIP2. Le lavage du réseau MIP2 a été réalisé de la même façon que le MIP1.

La reconnaissance a été testée aussi pour le NIP2 et le MIP 2 dans l'ACN, nous avons remarqué toujours une augmentation d'absorbance de la cible dans le surnageant malgré l'ajout du solvant porogène.

Pour cela nous avons diminué le taux de réticulation en utilisant le rapport molaire APP/BuA/HDDA (1/4/4) pour former le NIP3 et le MIP3. Les réseaux obtenus ont subi les mêmes étapes de lavage et de la reconnaissance que les réseaux NIP1 et MIP1, NIP2 et MIP2.

Après un temps d'incubation du MIP3 mis dans une solution de APP 10^{-5} mol/L pendant 2h à 5h, nous avons remarqué la diminution de l'absorbance du surnageant.

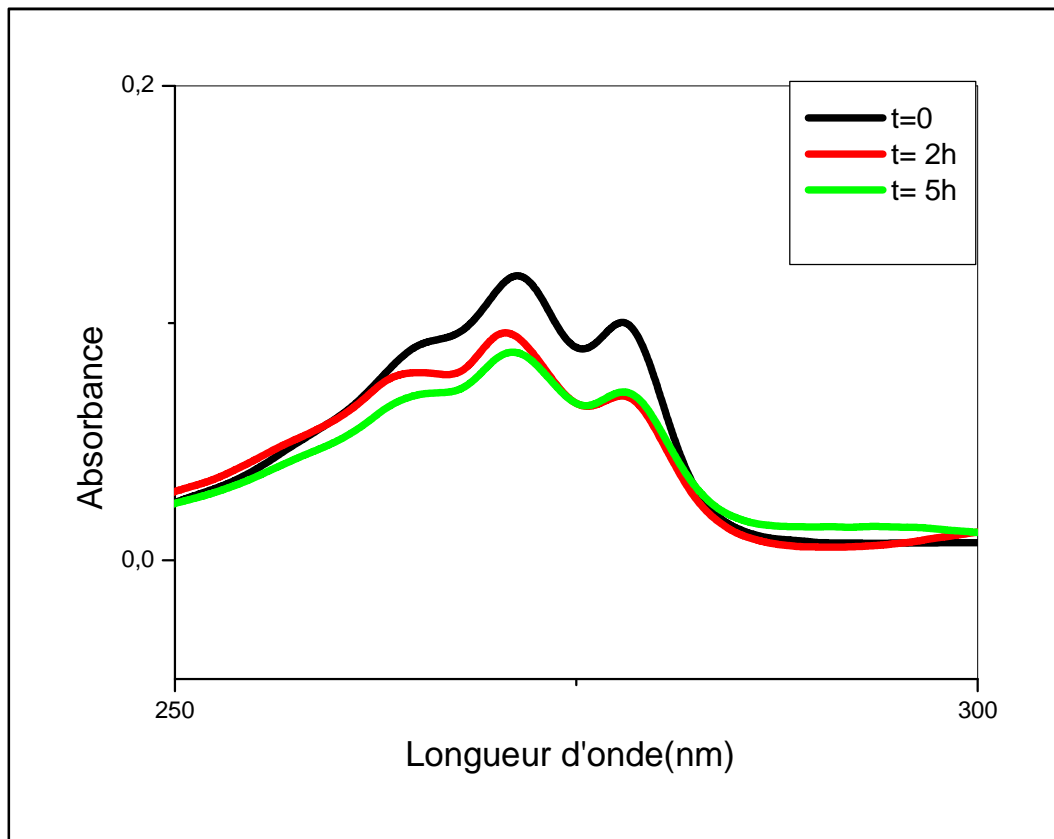


Figure III.11 : Diminution de l'absorbance après un temps d'incubation.

La figure II.11 montre la diminution cette fois la de l'absorbance de la bande maximale à 270 nm, ce qui peut s'expliquer par la pénétration de la solution à l'intérieur du réseau MIP. Nous concluons que le taux de réticulation joue un rôle majeur dans l'étape de reconnaissance ce qui nous permet d'envisager d'étendre encore plus cette étude en diminuant les proportions de l'agent réticulant.

Conclusion générale

Conclusion générale

La présente étude a pour objectif de développer un polymère à empreinte moléculaire (MIP) capable de capter une molécule analogue aux herbicides.

Afin de réaliser cette étude nous avons utilisé le BuA comme monomère fonctionnel, le HDDA comme agent réticulant et l'APP comme cible. Dans certains cas, le chloroforme a été utilisé comme solvant porogène.

Avant l'élaboration des films NIP et MIPs nous avons étudié, par spectroscopie infra rouge, les interactions dans le complexe de prépolymérisation entre la cible et le monomère pour un rapport molaire Cible/BuA (1/1) en absence et en présence d'un solvant porogène et pour un rapport molaire Cible/BuA (1/4) en absence du solvant. Aussi la même étude a été faite entre la cible et l'agent réticulant HDDA. Nous avons mis en évidence une interaction de type liaison hydrogène entre le groupement acrylique du monomère et de l'agent réticulant avec le groupement -OH de la cible due à la présence d'une bande d'absorption à 3000 cm^{-1} caractéristique d'un -OH lié. Cependant cette interaction n'est pas influencée par la présence d'un solvant porogène.

La cinétique de polymérisation des mélanges en présence et en absence de la cible a été faite par spectroscopie infra rouge en suivant la bande d'absorption à 1635 cm^{-1} . Pour le NIP la polymérisation est obtenue au bout de 10 min alors que pour le MIP au bout de 15 min avec des taux de conversion de 95% et 90% respectivement. Les films obtenus ont été caractérisés par analyse calorimétrique différentielle où la température vitreuse du NIP est plus élevée que dans le cas du MIP a été notée.

Ensuite tous les films MIPs ont été lavés par le mélange de solvants (ACN/EtOH) pour éliminer la cible. Son extraction a été suivie en analysant le surnageant par spectroscopie UV où la diminution de la bande de transition à 270 nm après plusieurs lavages est observée.

La reconnaissance a été effectuée en présence d'ACN, en utilisant aussi la spectroscopie UV.

Enfin pour évaluer la capacité des réseaux obtenus à reconnaître la molécule cible, nous avons élaboré d'autres matériaux avec des taux de réticulation plus faibles qui ont montré que le taux de réticulation joue un rôle important dans l'étape de reconnaissance.

Comme perspective nous prévoyons étendre cette étude en diminuant les proportions de l'agent réticulant et en utilisant des monomères cristaux liquides pour éviter la déformation des cavités après extraction.

Références bibliographique

- [1] Polyakov . M.V, Zhur. Fiz. Khim, Adsorption Properties and Structure of Silica Gel. (1931), 799 .
- [2] Curti. R, Colombo. U, Chromatography of Sterioisomers with “tailor Made” Compounds, J. Am. Chem. Soc(1952), 74, 3961–3961.
- [3] Wulff. G, Vesper. W, Grobe-Einsler. R, Sarhan. A, Enzyme-Analogue Built Polymers, 4. On the Synthesis of Polymers Containing Chiral Cavities and Their Use for the Resolution of Racemates. Makromol, Chem(1977), 178, 2799–2816.
- [4] Takagishi. T, Klotz. I.M, Macromolecule-Small Molecule Interactions Introduction of Additional Binding Sites in Polyethyleneimine by Disulfide Cross-linkages Biopolyme(1972), 11, 483–491.
- [5] Pijolat. C, Capteurs gaz, Ecole thématique capteurs chimiques et biocapteurs 2006, Port Barcarès.
- [6] Spivak. A.D, in Molecularly Imprinted Materials, Eds: Marcel Dekker, New York, USA 2005, 395-417.
- [7] Y.Lu, C.Li, X.Liu, W.Huang. J.Chromatogr.A 950 (2002) 89.
- [8] J.Svenson, J.G.Karlsson, I.A.Nicholls. J.Chromatogr.A 1024 (2004) 39.
- [9] D.A.Spivak, K.J.Shea. Macromolecules 31(1998) 2160.
- [10] X.Huang, L.Kong, X.Li, C.Zheng, H.Zhou. J.Mol.Recogn. 16 (2003) 406.
- [11] J.Bastide, J.-P.Cambon, F.Breton, S.A.Piletsky, R.Rouillon. Anal. Chim. Acta 542 (2005)97.
- [12] Landfester.K, Bechthold.N, Tiarks.F, Antonietti.M, Macromolecules, 1999, 32, 5222-52
- [13] Elsevier, Affinity Chromatography and Related Techniques: Theoretical Aspects/industrial and Publishing Company Biomedical Applications : Proceedings of the ... International Symposium, Scientific Publishing Company (1982).
- [14] Wulff. G, Selective Binding to Polymers via Covalent Bonds. The Construction of Chiral Cavities as Specific Receptor Sites. Pure Appl, Chem(1982), 54.
- [15] Wulff. G, Biffis. A, Chapter 4 Molecular Imprinting with Covalent or Stoichiometric Non- Covalent Interactions. In Techniques and Instrumentation in Analytical Chemistry. Börje Sellergren, Ed. Molecularly Imprinted Polymers Man-made Mimics of Antibodies and their Applications in Analytical Chemistry, Elsevier (2000), Vol. 23, pp,71–111.
- [16] Haupt. K, Mosbach. K, Molecularly Imprinted Polymers and Their Use in Biomimetic Sensors, Chem. Rev(2000), 100, 2495–2504.

Références bibliographique

- [17] Shea. K . J, Thompson. E.A, Pandey.S.D, Beauchamp, . P.S, Template Synthesis of Macromolecules. Synthesis and Chemistry of Functionalized Macroporous Poly(divinylbenzene), Chem. Soc (1980), 102, 3149–3155.
- [18] Damen.J, Neckers. D.C , Stereoselective Syntheses via a Photochemical Template Effect, J. Am Chem. Soc(1980), 102, 3265–3267.
- [19] Damen. J, Neckers. D.C, On the Memory of Synthesized Vinyl Polymers for Their Origins Tetrahedron Lett, (1980), 21, 1913–1916..
- [20] Damen. J, Neckers. D.C, Memory of Synthesized Vinyl Polymers for Their Origins, J. Org. Chem, 1980, 45, 1382–1387.
- [21] Haginaka. J, Sakai. Y, Uniform-Sized Molecularly Imprinted Polymer Material for (S)-Propranolol, J. Pharm. Biomed. Anal, 2000, 22, 899–907.
- [22] Spivak. D, Shea. K.J, Molecular Imprinting of Carboxylic Acids Employing Novel Functional Macroporous Polymers, J. Org. Chem, 1999, 64, 4627–4634.
- [23] Matsui. J, Higashi. M, Takeuchi.T, Molecularly Imprinted Polymer as 9-Ethyladenine Receptor Having a Porphyrin-Based Recognition Center, J. Am. Chem. Soc, 2000, 122, 5218–5219.
- [24] Alexander. C, Smith. C.R, Whitcombe. M.J, Vulfson. E.N, Imprinted Polymers as Protecting Groups for Regioselective Modification of Polyfunctional Substrates, J. Am. Chem. Soc, 1999, 121, 6640–6651.
- [25] Kirsch. N, Whitcombe. M.J, Approaches to Molecularly Imprinted Polymers-The Semi-Covalent Approach. In Molecularly Imprinted Materials: Science and Technology, Yan. M, Ramström. O, Eds. CRC Press, 2004, 93–122.
- [26] Sellergren. B, Andersson. L, Molecular Recognition in Macroporous Polymers Prepared by a Substrate Analog Imprinting Strategy, J. Org. Chem, 1990, 55, 3381–3383.
- [27] Caro. E, Masqué. N, Marcé. R.M, Borrull. F, Cormack. P.A.G, Sherrington. D.C, Non-Covalent and Semi-Covalent Molecularly Imprinted Polymers for Selective on-Line Solid-Phase Extraction of 4-Nitrophenol from Water Samples, J. Chromatogr. A, 2002, 963, 169–178.
- [28] Graham. A.L, Carlson. C.A, Edmiston. P.L, Development and Characterization of Molecularly Imprinted Sol–Gel Materials for the Selective Detection of DDT, Anal. Chem, 2002, 74, 458–467.
- [29] Ki. C.D, Oh. C, Oh. S.-G, Chang. J.Y, The Use of a Thermally Reversible Bond for Molecular Imprinting of Silica Spheres, J. Am. Chem. Soc, 2002, 124, 14838–14839.

- [30] Petcu .M, Cooney. J, Cook. C, Lauren. D, Schaare. P, Holland. P, Molecular Imprinting of a Small Substituted Phenol of Biological Importance, *Anal. Chim. Acta*, 2001, 435, 49–55.
- [31] Qi. P, Wang. J, Wang. L, Li. Y, Jin.J, Su. F, Tian. Y, Chen. J, Molecularly Imprinted Polymers Synthesized via Semi-Covalent Imprinting with Sacrificial Spacer for Imprinting Phenols. *Polymer*, 2010, 51, 5417–5423.
- [32] Puzio. K, Delépée. R, Vidal. R, Agrofoglio. L.A, Combination of Computational Methods, Adsorption Isotherms and Selectivity Tests for the Conception of a Mixed Non-Covalent– semi-Covalent Molecularly Imprinted Polymer of Vanillin, *Anal. Chim. Acta*, 2013, 790, 47–55.
- [33] Arshady. R, Mosbach. K, Synthesis of Substrate-Selective Polymers by Host-Guest Polymerization. *Makromol, Chem*, 1981, 182, 687–692.
- [34] Vasapollo. G, Sole. R.D, Mergola. L, Lazzoi. M.R, Scardino. A, Scorrano. S, Mele. G, Molecularly Imprinted Polymers: Present and Future Prospective. *Int. J. Mol. Sci*, 2011, 12, 5908–5945.
- [35] Yilmaz. E, Schmidt. R.H, Mosbach. K, Approaches to Molecularly Imprinted Polymers- The Noncovalent Approach. In *Molecularly Imprinted Materials: Science and Technology*, Yan. M, Ramström. O, Eds. CRC Press, 2004, pp. 25–58.
- [36] Hillberg. A.L, Brain. K.R, Allender. C.J, Molecular Imprinted Polymer Sensors: Implications for Therapeutics. *Adv. Drug Deliv. Rev*, 2005, 57, 1875–1889.
- [37] Cunliffe. D, Kirby. A, Alexander. C, Molecularly Imprinted Drug Delivery Systems. *Adv. Drug Deliv. Rev*, 2005, 57, 1836–1853.
- [38] Ye. L, Haupt. K, Molecularly Imprinted Polymers as Antibody and Receptor Mimics for Assays, Sensors and Drug Discovery. *Anal. Bioanal. Chem*, 2004, 378, 1887–1897.
- [39] Alvarez-Lorenzo . C, Concheiro. A, Molecularly Imprinted Polymers for Drug Delivery. *J. Chromatogr. B*, 2004, 804, 231–245.
- J. Chromatogr. B*, 2004, 804, 231–245.
- [40] Sellergren. B, Allender. C.J, Molecularly Imprinted Polymers: A Bridge to Advanced Drug Delivery. *Adv. Drug Deliv. Rev*, 2005, 57, 1733–1741.
- [41] Tan .Y, Peng. H, Liang. C, Yao. S, A New Assay System for Phenacetin Using Biomimic Bulk Acoustic Wave Sensor with a Molecularly Imprinted Polymer Coating. *Sens. Actuators B Chem*, 2001, 73, 179–184.
- [42] Liang. C, Peng. H, Bao. X, Nie. L, Yao. S , Study of a Molecular Imprinting Polymer Coated BAW Bio-Mimic Sensor and Its Application to the Determination of Caffeine in Human Serum and Urine. *Analyst*, 1999, 124, 1781–1785.

Références bibliographique

- [43] Y. J. Zhu, Q. Su, J. Cai, Y. Gao, Journal of Chromatography 2005, A, 161.S.
Lemoullec, A. Begos, V. Pichon, B. Bellier, Journal of Chromatography 2006, A,7.

Résumé

Dans le présent travail, notre intérêt s'est porté sur l'élaboration des matériaux à empreinte moléculaire (MIP) destinés au développement d'un capteur des pesticides. Dans notre cas, la synthèse du MIP s'est faite en polymérisant sous irradiation UV, le mélange constitué de n-butylacrylate (BuA) comme monomère, de 1, 6 hexanedioldiacrylate (HDDA) comme agent réticulant en présence du photoamorceur le darocur. La molécule imprimée choisie est l'acide phénoxy-2 propionique (APP) analogue à une classe des pesticides. Les matériaux non imprimés (NIPs) et les matériaux imprimés (MIPs) ont été caractérisés par la spectroscopie infra rouge (FTIR), la spectroscopie UV et l'analyse calorimétrique différentielle (DSC). La mise en évidence de l'interaction type liaison hydrogène par la présence d'une bande d'absorption caractéristique d'un O-H lié a permis de confirmer le pré-assemblage monomère molécule empreinte avant la polymérisation. La réticulation est obtenue au bout de 10 min pour le NIP et de 15 min pour le MIP avec des taux de conversion de 95% et de 90% respectivement. L'extraction de la cible et sa reconnaissance sont suivies par la spectroscopie UV. Des matériaux à faible taux de réticulation ont montré leur capacité à reconnaître la molécule cible.

Mots clé : empreinte moléculaire, cible, liaison hydrogène, reconnaissance.

Abstract

In this work, our interest has focused on the development of molecularly imprinted materials (MIP) for the development of a pesticide sensor. In our case, the synthesis of MIP is made by polymerising under UV irradiation, the mixture consisting of n-butyl acrylate (BuA) as monomer, 1, 6 hexanediol diacrylate (HDDA) as a crosslinking agent in the presence of the photoinitiator Darocur. The selected "Template" is 2-phenoxy-propionic acid (APP) similar to a class of pesticides. Non-imprinted materials (NIPs) and imprinted materials (MIPs) were characterized by infrared spectroscopy (FTIR), UV spectroscopy and differential scanning calorimetry (DSC). The highlight of the type hydrogen bonding interaction by the presence of characteristic absorption band of O-H bound confirmed the pre-assembling monomer "template" before polymerization. The crosslinking is obtained after 10 mins for PIN and 15 mins for the MIP with conversion rate of 95% and 90% respectively. Extraction of the "template" and its recognition is followed by UV spectroscopy. Materials possessing low percentage of crosslinking agent have shown their ability to recognize the target molecule.

Key words: molecular imprinting, target, hydrogen bond, recognition.

ملخص

في هذا العمل، قد ركز اهتمامنا على تطوير مواد مطبوعة جزيئية لتطوير جهاز استشعار المبيدات. في حالتنا تم تركيب الـ MIP تحت أشعة فوق البنفسجية للخليط المكون من البتيل اكريلات BuA كنومير و 1,6 الهيكسان ديول دياكريلات HDDA كعامل تشابك بوجود المبادر الضوئي. الجزيء المختار هو حمض 2 الفينوكسي البروبيونيك APP مماثل لفئة من المبيدات الحشرية. واتسمت المواد غير المطبوعة NIP والمواد المطبوعة MIP من خلال التحليل الطيفي بالأشعة تحت الحمراء FTIR، التحليل الطيفي للأشعة فوق البنفسجية UV والتفاضلية مسح قياس الكالوري DSC. اظهرت الرابطة الهيدروجينية بوجود شريط امتصاص مميز للوظيفة OH مرتبط، سمحت بتأكيد التجمع بين المنومير و جزيء البصمة قبل البلمرة. يتم الحصول على التشابك بعد 10 دقائق بالنسبة لـ NIP و 15 دقيقة بالنسبة لـ MIP مع معدل التحويل 95% و 90% على التوالي. استخراج الهدف والاعتراف بها يتبع بواسطة التحليل الطيفي للأشعة فوق البنفسجية. قد أظهرت المواد ذات درجة منخفضة من معدل التشابك قدرتها على التعرف على الجزيء الهدف.

الكلمات المفتاحية: البصمة الجزيئية، الجزيء لمستهدف، الرابطة الهيدروجينية، التعرف.