Du polymère à empreintes moléculaires électrochimiques au capteur : Etude de faisabilité pour la détection du Bisphénol A

Vitalys Mba Ekomo

▶ **To cite this version:**

Vitalys Mba Ekomo. Du polymère à empreintes moléculaires électrochimiques au capteur : Etude de faisabilité pour la détection du Bisphénol A. Polymères. Université de Toulon, 2018. Français. NNT : 2018TOUL0010 . tel-02273266

HAL Id: tel-02273266

https://theses.hal.science/tel-02273266

Submitted on 9 Sep 2019

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.

UNIVERSITÉ DE TOULON

LABORATOIRE MAPIEM

ÉCOLE DOCTORALE MER ET SCIENCES (ED 548)

Laboratoire MAPIEM (EA 4323)

THÈSE

présentée par :

Vitalys MBA EKOMO

Soutenue le **12 Juillet 2018**

Pour obtenir le grade de Docteur en chimie

Spécialité : Chimie, chimie analytique et physico-chimie des polymères

Du polymère à empreintes moléculaires électrochimiques au capteur : étude de faisabilité pour la détection du Bisphénol A

THÈSE dirigée par :

Dr BRANGER Catherine	Université de Toulon
Pr BRISSET Hugues	Université de Toulon

JURY :

Pr CAMEL Valérie	Rapporteur, AgroParisTech Paris
Pr MORIN Philippe	Rapporteur, Université d'Orléans
Dr CALAS-BLANCHARD Carole	Examinateur, Université de Perpignan
Pr RAIMUNDO Jean-Manuel	Examinateur, Université d'Aix-Marseille

Remerciements

Ce travail de thèse a été effectué au Laboratoire des Matériaux Polymères-Interfaces-Environnement Marin (MAPIEM) de l'Université de Toulon au sein duquel j'ai été accueilli par les Professeurs André Margaillan et Jean François Chailan. Je les en remercie.

Je remercie aussi le Docteur Catherine Branger pour son implication, sa disponibilité, son soutien, sa capacité organisationnelle et sa rigueur qui ont fait aboutir ce travail.

Je souhaite également remercier le Professeur Hugues Brisset pour le soutien moral et professionnel qu'il m'a apporté et notamment pour son implication, sa disponibilité et sa capacité à toujours aider à retrouver l'enthousiasme et l'énergie pour mener à bien ce travail.

Je suis reconnaissant envers non seulement l'état du Gabon pour avoir toujours été présent tout au long de mon parcours universitaire y compris cette thèse, mais aussi le Professeur Raphël Bikanga pour son soutien.

Ma reconnaissance va également à la SATT qui a participé au financement de ce projet.

Je remercie le Professeur Valérie Camel d'AgroParisTech et le Professeur Philippe Morin de l'Université d'Orléans d'avoir accepté d'être rapporteurs de mon travail de thèse.

J'aimerais remercier le Professeur Jean-Manuel Raimundo et le Docteur Carole Calas-Blanchard pour avoir accepté d'être membres du jury de cette thèse.

Il y a aussi l'équipe du laboratoire BAE de l'Université de Perpignan Via Domitia que j'aimerai remercier. Le Professeur Thierry Noguer, le Docteur Carole Calas-Calas Blanchard et le Docteur Georges Istamboulie qui ont toujours été disponibles pour la fabrication des électrodes nécessaires à ce projet et pour leurs suggestions en électrochimie.

Je remercie aussi l'équipe du laboratoire BEL du centre microélectronique de Gardanne : le Professeur Georges Malliaras, le Docteur Loïg Kergoat, le Docteur

Dimitris Koutsouras et Clemens Stoll pour leur dynamisme et leur efficacité dans la recherche de transistors adaptés pour ce travail.

Je remercie le Docteur Andrew Hall de l'Université de Kent pour son implication et efficacité à synthétiser des nouveaux polymères et sa disponibilité.

J'aimerais remercier le Professeur Jean-Manuel Raimundo et le Docteur Véronique Lenoble qui ont été présents pendant mes comités de suivi de thèse et pour leur conseil et motivation.

Je remercie Le Docteur Gérald Culioli et Bruno Viguier, pour m'avoir fourni l'aide nécessaire à la mise en place de la méthode LC-MS pour les analyses, le Professeur François-Xavier Perrin pour sa disponibilité, le Docteur Armand Fahs et tout le personnel du laboratoire pour l'aide apportée au cours de mon travail.

J'aimerai remercier le Docteur Andrei Sarbu et le Docteur Ana-Michaela Florea pour les mesures d'adsorption/désorption d'azote, pour leur implication à ce projet et pour m'avoir aidé dans mise en place des méthodes de synthèse des polymères.

Toute ma reconnaissance va à tous les collègues du Laboratoire MAPIEM, Linis ou Lina, Kinga, Aurélie, Nesrine, Sofyane, Yohane, Sigrid, Bianca, Clément D et clément C, Elisa, Benoit, Alino, William, Richard, Laure, Elora, Isis.

Merci aussi à tous les membres de ma famille, ma mère Ntsame Bé, mes frères et sœurs : Hervais, Bruno, Fabrice, Thibault, Corine, Donatien, Romuald, Larissa, Davy, Taolina, Vanessa, Audrey, Béa, Pélagie et Eddy pour ce soutien incessant qui m'a conduit à ce jour.

Au final, cette thèse a été un renforcement professionnel et social grâce à toutes ces personnes qui ont participé de près ou de loin à son aboutissement. Et je vous en suis reconnaissant.

Valorisation du travail de recherche

Publications (1):

Ekomo, V. M.; Branger, C.; Bikanga, R.; Florea, A.-M.; Istamboulie, G.; Calas-Blanchard, C.; Noguer, T.; Sarbu, A.; Brisset, H. Detection of Bisphenol A in Aqueous Medium by Screen Printed Carbon Electrodes Incorporating Electrochemical Molecularly Imprinted Polymers. *Biosens. Bioelectron.* **2018**, *112*, 156–161.

Activités scientifiques (2):

Membre organisateur des Journées méditerranéennes des Jeunes Chercheurs (JMJC) du réseau des jeunes de la SCF (RJ-SCF). 4e édition des JMJC, 13-14 Octobre 2016, Nice, France.

Participation à l'organisation du Congrès International sur la corrosion Marine et l'antifouling. 18th ICMCF, 19-24 Juin 2016, Toulon, France.

Collaborations (2):

Equipe du département de Bioélectronique du centre microélectronique de Provence (Gardanne, France) (Professeur Georges Malliaras).

Equipe du Laboratoire de Biocapteurs-Analyses-Environnement (BAE) de l'Université de Perpignan Via Domitia (Professeur Thierry Noguer, Dr Carole Calas-Blanchard et Dr Georges Istamboulie).

Séjours dans un autre laboratoire (1):

2016 (1 semaine) : Centre de Microélectronique de Provence au Laboratoire BEL du département de Bioélectronique au sein de l'équipe du Professeur Georges Malliaras.

Communication orales à des colloques internationaux (7):

Ekomo, V. M.; René, W.; Lenoble, V.; Laatikainen, K.; Arab M.; Brisset, H.; Branger, C. Molecularly imprinted polymers containing redox or fluorescent probes for sensing applications. EUPOC 2018 – Biomimetic Polymers by Rational Design, Imprinting and Conjugation, Como, Italie, 20-24 mai 2018

Ekomo, V. M.; Brisset, H.; Florea, A.-M.; Sarbu, A.; Bikanga, R.; Istamboulie, G.; Calas-Blanchard, C.; Noguer, T.; Branger, C. Intrinsically electroactive molecularly imprinted polymers for the recognition and detection of organic molecules. Bioinspired Materials Conference 2017, Manchester (Royaume Uni), septembre 2017.

Ekomo, V. M.; Brisset, H.; Florea, A.-M.; Sarbu, A.; Bikanga, R.; Branger, C. Electrochemical molecularly imprinted polymers to detect Bisphenol A. XIIth Franco-Romanian Symposium on Polymers, Sophia Antipolis (France), September 2016.

Ekomo, V. M.; Brisset, H.; Istamboulie, G.; Calas-Blanchard, C.; Noguer, T.; Florea, A.-M.; Sarbu, A.; Bikanga, R.; Branger, C. A bisphenol A sensor based on a ferrocenyl electrochemical molecularly imprinted polymer. 9th International Conference on Molecular Imprinting – MIP 2016, Lund (Sweden), juin 2016.

Ekomo, V. M.; Branger, C.; Florea, A.-M.; Sarbu, A.; Bikanga, R.; Brisset, H. Les polymères à empreintes moléculaires: pour une meilleure détection du Bisphénol A par voie électrochimique. 8èmes Journées Franco-Italiennes de Chimie, Avignon (France), avril 2016.

Branger, C.; Ekomo, V. M.; Udomsap Dutduan, Bikanga, R.; Brisset, H. Development of a new class of imprinted polymers for electrochemical sensing of organic pollutants. Pollutant Toxic Ions and Molecules - PTIM 2015, Lisbonne (Portugal), novembre 2015.

Ekomo, V. M.; Brisset, H.; Florea, A.-M.; Sarbu, A.; Bikanga, R.; Branger, C. Electrochemical molecularly imprinted polymers as recognition elements for Bisphenol A. 6th Graduate Student Symposium on Molecular Imprinting, Kent (UK), août 2015.

Communication orales à des colloques nationaux (3):

Branger, C.; Ekomo, V. M.; Calas-Blanchard, C.; Istamboulie, G.; Noguer, T.; Brisset, H. Vers une nouvelle génération de polymères à empreintes fonctionnels pour la détection électrochimique de micropolluants organiques. 45ème Colloque National du GFP, Marseille (France), novembre 2016.

Ekomo, V. M.; Brisset, H.; Florea, A.-M.; Sarbu, A.; Bikanga, R.; Branger, C. Détection du Bisphénol A avec des polymères à empreintes moléculaires électrochimiques. 14èmes Journées GFP Méditerranée, Nice (France), octobre 2015.

Ekomo, V. M.; Brisset, H.; Florea, A.-M.; Sarbu, A.; Bikanga, R.; Branger, C. Molecularly imprinted polymers: a selective recognition material for the detection of Bisphenol A. 44èmes Journées du JEPO, Piriac-sur-Mer (France), Septembre 2016.

Communication par affiche à des colloques internationaux (1):

Florea, A.-M.; Iordache, T.-V.; Radu, A.-L.; Zaharia, A.; Apostol, S.; Cursaru, B.; Stroescu, H.; Anastasescu, M.; Branger, C.; Brisset, H.; Ekomo, V. M. ; Sarbu, A. Characterization of Bisphenol A imprinted materials obtained by sol-gel technique. Bioinspired Materials Conference 2017, Manchester (Royaume Uni) 31 août-1er septembre 2017.

Communication par affiche à des colloques nationaux (1):

Ekomo, V. M.; Branger, C.; Florea, A.-M.; Sarbu, A.; Bikanga, R.; Brisset, H. Synthèse et caractérisation d'un polymère à empreintes électrochimiques du Bisphénol A. 24ème Journée de la Chimie Société Chimique de France-PACA, Toulon (France), avril 2015.

Séminaire de laboratoire (1):

Ekomo, V. M.; Brisset, H.; Branger, C.; Bikanga, R. Les polymères à empreintes moléculaires: pour une meilleure détection du Bisphénol A par voie électrochimique. Séminaire MAPIEM, Université de Toulon (France), 17 Mars 2016.

Sommaire

INTRODUCTION 3

1 BIBLIOGRAPHIE: VERS LES CAPTEURS ELECTROCHIMIQUES 7

1.1 POLYMERES A EMPREINTES MOLECULAIRES 11
1.1.1 LES DIFFERENTES APPROCHES DE SYNTHESE DES MIPS 13
1.1.1.1 Approche covalente 13
1.1.1.2 Approche semi-covalente 14
1.1.1.3 Approche non-covalente 14
1.1.2 ELABORATION DES MIPS 15
1.1.2.1 Choix des réactifs pour l'élaboration des MIPs 15
1.1.2.2 Caractérisation des MIPs 21
1.1.3 DIFFERENTS FORMATS DES MIPS ET LEUR SYNTHESE 25
1.1.3.1 MIPs sous forme de monolithe ou de particules irrégulières 25
1.1.3.2 MIPs à particules sphériques 26
1.2 APPLICATION DES MIPS 29
1.2.1 DOMAINE D'APPLICATION DES MIPS 29
1.2.2 MIPS ET CAPTEURS OPTIQUES 31
1.2.2.1 Les capteurs basés sur la fluorescence 31
1.2.2.2 Les capteurs à résonance plasmonique de surface (SPR) 32
1.2.2.3 Les capteurs de chimiluminescence 34
1.2.3 MIPS ET CAPTEURS PIEZO-ELECTRIQUES 35
1.2.4 LES CAPTEURS ELECTROCHIMIQUES 38
1.3 POSITIONNEMENT DU TRAVAIL 43

2 NOUVEAUX POLYMERES A EMPREINTES MOLECULAIRES ELECTROCHIMIQUES POUR LA DETECTION DU BISPHENOL A 45

2.1 LE BISPHENOL A 49
2.2 DETECTION DU BPA 50

2.2.1 TECHNIQUES USUELLES DE DETECTION DU BPA 50
2.2.2 LES POLYMERES A EMPREINTES MOLECULAIRES POUR LE BPA 51
2.3 ELABORATION D'E-MIPS POUR LE BPA 54
2.3.1 CHOIX DES MONOMERES FONCTIONNELS ET DE L'AGENT RETICULANT 54
2.3.2 CHOIX DE LA TECHNIQUE DE POLYMERISATION 55
2.3.3 SYNTHESE DES E-MIPS/E-NIPS PAR POLYMERISATION PAR PRECIPITATION 56
2.4 CARACTERISATION DES E-MIPS 58
2.4.1 CARACTERISATION MORPHOLOGIQUE 58
2.4.1.1 Caractérisation par microscopie électronique à balayage 58
2.4.1.2 Propriétés d'adsorption et désorption du diazote (BET) 59
2.4.2 SPECTROSCOPIE IRTF, ANALYSE ELEMENTAIRE ET ANALYSE THERMIQUE 62
2.4.2.1 Caractérisation par spectroscopie IRTF 62
2.4.2.2 Caractérisation par analyse élémentaire 63
2.4.3 ETUDE DES PROPRIETES DE RETENTION DU BPA PAR LES POLYMERES 64
2.4.3.1 Caractérisation du BPA par HPLC-MS 64
2.4.3.2 Cinétique d'adsorption des e-MIP-Fc-VP et e-MIP-Fc 65
2.4.3.3 Etude des isothermes des e-MIPs par HPLC-MS 66
2.4.3.4 Application des modèles théoriques d'adsorption 67
2.4.3.5 Etude de la capacité sélective des e-MIPs par HPLC-MS 70
2.5 CONCLUSION 73

3 MICROELECTRODES ET TRANSISTORS A BASE DE MIPS ELECTROCHIMIQUES POUR LA DETECTION DU BISPHENOL A 75

3.1 ELECTROCHIMIE DES E-(MIP/NIP)-FC 79
3.2 PROTOCOLE DE MISE EN PLACE DES MESURES ELECTROCHIMIQUES 79
3.2.1 VOLTAMPEROMETRIE CYCLIQUE DES E-(MIP/NIP)-FC EN MILIEU ORGANIQUE 81
3.2.2 RESULTATS DES MESURES DE E-(MIP/NIP)-FC EN MILIEU AQUEUX 87
3.3 MICROELECTRODES ET TRANSISTORS A BASE D'E-(MIP/NIP)-FC 90
3.3.1 MICROELECTRODES 91
3.3.2 TRANSISTORS A BASE D'E-MIP-FC 96
3.3.2.1 Principe des transistors 96
3.3.2.2 Mise au point de la technique d'immobilisation de l'e-MIP-Fc 100
3.3.2.3 Préparation des OECTs 107

3.4 CONCLUSION 110

4 ELECTRODES SERIGRAPHIEES A BASE DE MIPS ELECTROCHIMIQUES POUR LA DETECTION DU BISPHENOL A 113

4.1 VOLTAMPEROMETRIE CYCLIQUE DES E-MIP-FC-VP 117
4.2 ELECTRODES SERIGRAPHIEES AVEC LES E-(MIP/NIP)-FC-VP 120
4.2.1 BREVE INTRODUCTION 120
4.2.1.1 La pâte de carbone 121
4.2.1.2 Les SPE à base de pâte de carbone 122
4.2.2 FABRICATION DES SPE A BASE DE E-(MIP/NIP)-FC-VP POUR LE BPA 123
4.2.3 CARACTERISATION DES SPE-E-(MIP/NIP)-FC-VP 125
4.2.3.1 Caractérisation des SPE-e-(MIP/NIP)-Fc-VP par microscopie 125
4.2.3.2 Caractérisation des SPE-e-(MIP/NIP)-Fc-VP par voltampérométrie cyclique 126
4.2.3.3 Calibration des SPE-e-(MIP/NIP)-Fc-VP 130
4.2.3.4 Etude statistique des résultats liés aux intensités obtenue par calibration .. 134
4.2.3.5 Sélectivité des SPE-e-MIP-Fc-VP 134
4.3 SPE-E-MIP-FC POUR LA DETECTION DU DICLOFENAC 136
4.3.1 SYNTHESE DU E-MIP POUR LE DICLOFENAC 136
4.3.2 ELECTROCHIMIE DES SPE-E-MIP-FC18 138
4.4 CONCLUSION 140

CONCLUSION 143

5 PARTIE EXPERIMENTALE 149

5.1 SYNTHESE ET IDENTIFICATION DES PRODUITS CHIMIQUES 153
5.1.1 SOLVANTS 153
5.1.2 AUTRES PRODUITS 153
5.2 METHODES D'ANALYSE 153
5.2.1 ANALYSE ELEMENTAIRE 153
5.2.2 SPECTROSCOPIE UV-VISIBLE 154
5.2.3 SPECTROSCOPIE INFRAROUGE A TRANSFORMEE DE FOURRIER (IRTF) 154
5.2.4 MESURE D'ADSORPTION ET DE DESORPTION DE GAZ 154

5.2.5 CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE COUPLEE A LA SPECTROMETRIE DE MASSE.....155
5.2.6 MICROSCOPIE ELECTRONIQUE A BALAYAGE (MEB).....155
5.2.7 MICROSCOPIE NUMERIQUE.....155
5.3 PURIFICATION ET SYNTHESE DU METHACRYLATE DU FERROCENYLMETHYLE 156
5.3.1 PURIFICATION DU METHACRYLATE DE FERROCENYLMETHYLE 156
5.3.2 SYNTHESE DU METHACRYLATE DE FERROCENYLMETHYLE 156
5.3.2.1 Synthèse du ferrocényl-méthanol (Fc-MeOH).....156
5.3.2.2 Synthèse du méthacrylate de ferrocénylméthyle (FcMMA) 157
5.4 PREPARATION DU E-MIPS ET E-NIPS 158
5.4.1 SYNTHESE DES E-MIPS ET E-NIPS..... 158
5.4.2 PROCEDURE DE LAVAGE DES POLYMERES 159
5.5 DETERMINATION DES PROPRIETES D'ADSORPTION DES POLYMERES 161
5.5.1 ETABLISSEMENT DES ISOTHERMES D'ADSORPTION.....161
5.5.2 ETUDE DE LA SELECTIVITE..... 162
5.6 FABRICATION DES SPE..... 162
5.7 ETUDE ELECTROCHIMIQUE..... 163

6 ANNEXES 165

7 BIBLIOGRAPHIE.....179

8 PUBLICATION 203

Liste des abréviations

4-VP : 4-vinylpyridine,
ACN : Acétonitrile
AIBN : Azobisisobutyronitrile
ANSES : Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'alimentation et de l'environnement et du travail
BADM : Bisphénol A diméthacrylate
BPA : Bisphénol A,
BPC : Bisphénol C,
BPZ : Bisphénol Z,
BRGM : Bureau de Recherche Géologique et Minière
CBZP : Carbamazépine
DES : distilbène ou diéthylstibestrol
E2 : estradiol
EDMA : diméthacrylate d'éthylène glycol
EFSA : European Food Safety Authority
e-MIP : Polymère à empreintes électrochimique
FcMMA : méthacrylate de ferrocénylméthyle
HAP : Hydrocarbure aromatique polycyclique
HQ : Hydroquinone
HXZ : Hexaconazole
IF : Facteur d'empreinte
KP : Kétoprofène
$LiAlH_4$: Tétrahydruroaluminate de lithium
LLE : extraction liquide-liquide
MAA : Acide méthacrylique
MEB : Microscopie Electronique à Balayage
MIPs : Polymères à empreintes moléculaires
PNZ : Penconazole
SPE : Extraction en phase solide
TBZ : Tébuconazole
TRIM : Triméthylolpropane triméthacrylate

Introduction Générale

La présence d'un grand nombre de polluants dans l'environnement est une source de problèmes non seulement pour la santé humaine, mais également pour l'environnement. Parmi ces polluants, le bisphénol A attire l'attention depuis quelques années, car il est considéré comme étant un perturbateur endocrinien étant donné sa capacité à mimer ou à perturber le fonctionnement des hormones naturelles. Ce composé est couramment utilisé pour la fabrication du polycarbonate, matériau utilisé pour fabriquer des récipients alimentaires (bouteilles, biberons, vaisselle…). Ce composé est également présent dans les résines époxy utilisées comme revêtements à l'intérieur des canettes ou des cuves destinées à recevoir des aliments et des boissons. La problématique réside dans sa migration dans des aliments qui sont ensuite ingérés. D'un point de vue sociétal, la détection de ce composé à l'état de trace et dans un minimum de temps devient un enjeu majeur. Les techniques actuelles d'extraction et de détection sont principalement basées sur des techniques chromatographiques couplées à une détection UV-visible ou à la spectroscopie de masse. Bien que très efficaces, ces techniques sont cependant onéreuses, chronophages et difficilement miniaturisables pour permettre une détection sur le terrain.

Dans ce contexte, les polymères à empreintes moléculaires (MIPs) spécifiques du bisphénol A peuvent palier à certaines de ces difficultés, tant pour son extraction que pour sa détection. Par ailleurs, l'intérêt de la communauté scientifique pour ce type de polymères ne cesse de croitre depuis une vingtaine d'années.

Les MIPs sont obtenus à partir d'un monomère fonctionnel qui va réagir avec un agent réticulant autour d'une cible. L'élimination de la cible aboutit à un polymère avec une empreinte moléculaire persistante grâce à la réticulation du polymère. Cette situation permet aux MIPs de discriminer de façon sélective l'analyte pour lequel il a été synthétisé. Ceci conduit à une importante réduction du temps d'extraction et permet également de mieux concentrer un analyte en vue de son analyse ultérieure, d'où l'intérêt croissant pour ces polymères ces dernières années. Plus récemment, les avantages des MIPs ont été mis à profit dans le domaine des capteurs, avec des détections généralement optiques ou électrochimiques, avec pour objectif un gain de temps mais aussi une réduction des coûts. La première approche consiste simplement à analyser les composés piégés après leur relargage. Bien qu'efficace, cette voie nécessite cependant du matériel de laboratoire pour être menée à bien. Une seconde

approche, plus attrayante, consiste à apporter une fonctionnalité supplémentaire aux MIPs afin qu'ils puissent piéger la cible et l'indiquer. Ce travail de thèse s'inscrit dans cet objectif avec une détection de type électrochimique.

Le premier chapitre du manuscrit fait un point sur l'état de l'art concernant l'utilisation des MIPs dans des capteurs après avoir rappelé les points clés dans les stratégies de synthèse de ces polymères.

Le second chapitre, après un bref rappel sur le bisphénol A, est consacré à la synthèse, et à la caractérisation de MIPs spécifiques de cette molécule cible. L'originalité de ces MIPs réside dans l'utilisation d'un monomère fonctionnel rédox à base de ferrocène qui a le double rôle d'interagir avec la cible et d'indiquer sa présence.

Les chapitres 3 et 4 sont consacrés à l'étude électrochimique de ces MIPs électrochimiques, dénommés e-MIP, et à leur intégration dans des dispositifs. Une première approche (chapitre 3) a consisté à les incorporer dans des transistors à effet de champ et dans des microélectrodes interdigitées. Dans une seconde voie (chapitre 4), les e-MIPs ont été intégrés dans de la pâte de carbone pour préparer des électrodes sérigraphiées.

1 Bibliographie: Vers les capteurs électrochimiques

Tables des Matières

1.1 POLYMERES A EMPREINTES MOLECULAIRES 11
1.1.1 LES DIFFERENTES APPROCHES DE SYNTHESE DES MIPS 13
1.1.1.1 Approche covalente 13
1.1.1.2 Approche semi-covalente 14
1.1.1.3 Approche non-covalente 14
1.1.2 ELABORATION DES MIPS 15
1.1.2.1 Choix des réactifs pour l'élaboration des MIPs 15
1.1.2.1.1 La molécule cible 15
1.1.2.1.2 Les monomères fonctionnels 16
1.1.2.1.3 L'agent réticulant 20
1.1.2.1.4 Le solvant porogène 20
1.1.2.1.5 L'amorceur de polymérisation 21
1.1.2.2 Caractérisation des MIPs 21
1.1.2.2.1 Caractérisation physico-chimique 21
1.1.2.2.2 Caractérisation des propriétés de rétention 22
1.1.2.2.2.1 Techniques de caractérisation des propriétés de rétention 22
1.1.2.2.2.2 Cinétique d'adsorption des MIPs 23
1.1.2.2.2.3 Isothermes et sélectivité d'adsorption des MIPs 23
1.1.3 DIFFERENTS FORMATS DES MIPS ET LEUR SYNTHESE 25
1.1.3.1 MIPs sous forme de monolithe ou de particules irrégulières 25
1.1.3.2 MIPs à particules sphériques 26
1.1.3.2.1 MIPs obtenus par polymérisation homogène 27
1.1.3.2.2 MIPs obtenus par polymérisation hétérogène 27
1.1.3.2.3 Autres méthodes de synthèse des MIPs 28
1.2 APPLICATION DES MIPS 29
1.2.1 DOMAINE D'APPLICATION DES MIPS 29
1.2.2 MIPS ET CAPTEURS OPTIQUES 31
1.2.2.1 Les capteurs basés sur la fluorescence 31
1.2.2.2 Les capteurs à résonance plasmonique de surface (SPR) 32
1.2.2.3 Les capteurs de chimiluminescence 34
1.2.3 MIPS ET CAPTEURS PIEZO-ELECTRIQUES 35
1.2.4 MIPS ET CAPTEURS ELECTROCHIMIQUES 38
1.3 POSITIONNEMENT DU TRAVAIL 43

1.1 Polymères à empreintes moléculaires

Les polymères à empreintes moléculaires (MIPs) sont des matériaux conçus pour présenter une forte affinité pour une molécule précise, appelée cible, et permettre ainsi sa reconnaissance spécifique. Le principe d'élaboration de ces polymères est basé sur la copolymérisation de monomère(s) fonctionnel(s) et d'un agent réticulant en présence de la molécule cible (Figure 1). Une première étape d'auto-assemblage de cette dernière avec le(s) monomère(s) fonctionnel(s) vise à créer des interactions entre les différents groupements fonctionnels du monomère et de la molécule. Après l'étape de polymérisation, la cible est extraite du réseau, et il en résulte un matériau poreux présentant des cavités empreintes qui sont spécifiques de la cible et qui restent figées dans l'espace grâce à la réticulation. Le polymère ainsi obtenu garde, à travers les différentes interactions avec la molécule cible et la structure des cavités, un effet mémoire, notamment dans le cas des polymères hautement réticulés. Le caractère réticulé de ces polymères permet de les utiliser dans une large gamme de milieux incluant des milieux de conductivité élevée, de pH acides ou basiques (si les monomères fonctionnels n'y sont pas sensibles), ou des milieux qui peuvent présenter des matrices complexes[1].

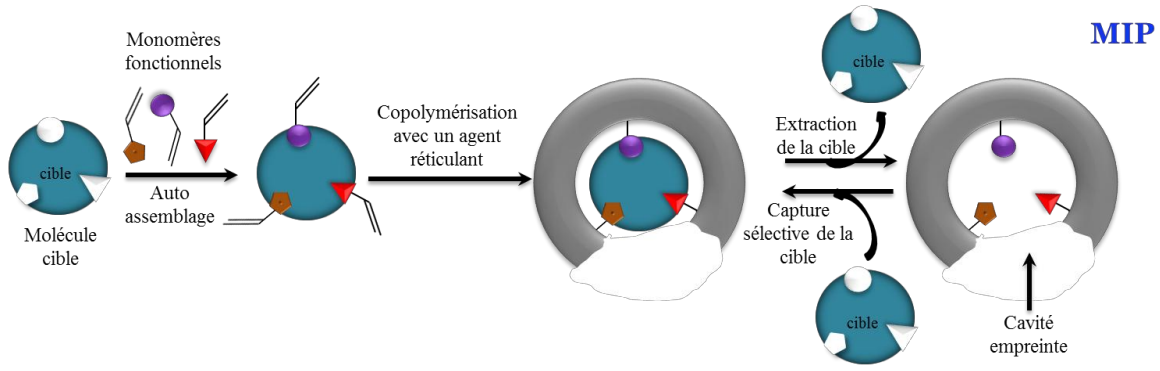


Figure 1-1. Principe des polymères à empreintes moléculaires.

L'histoire de ces matériaux débute en 1931 lorsque M.V.Polyakov observe l'adsorption par des particules de silice, des dérivés benzéniques utilisés lors de leur synthèse[2]. Le caractère complexant mis en évidence par ce dernier permet à F.H.Dickey en 1949 de travailler sur les propriétés d'adsorption et de synthétiser avec succès des gels de silice sélectifs du méthyle orange[3]. C'est à l'issue de ce travail que le terme d'empreinte va être introduit. Plus tard, l'intérêt pour ces propriétés particulières va

continuer à s'accroitre, permettant ainsi d'optimiser le processus de synthèse. G.Wulff[4] et I.M.Klotz[5] poursuivent les travaux initiés par M.V.Polyakov pour synthétiser des polymères organiques présentant les mêmes propriétés de reconnaissance spécifique.

Les polymères à empreintes vont alors connaitre un intérêt croissant en particulier depuis les années 1990 (Figure 1-2). Cette hausse des publications est expliquée par la recherche de nouveaux moyens d'extraction et de détection spécifique et efficace, face à de nouveaux défis environnementaux, ainsi qu'à l'apparition de moyens technologiques qui permettent leur intégration dans des systèmes de détection comme les capteurs.

Figure 1-2. Evolution des publications sur les MIPs de 1930 à 2018 au 24/05/2018 (www.mipdatabase.com).

Les travaux basés sur les polymères à empreintes visent à développer les matériaux les plus efficaces possibles. Cette efficacité est fonction de leur capacité à reconnaître les molécules, pour lesquelles ils ont été synthétisés, avec une sélectivité maximale. Le choix du mode de synthèse est donc fondamental; il est essentiellement basé sur la nature des interactions mises en jeu entre le monomère fonctionnel et la molécule cible. Il existe ainsi trois approches différentes : covalente, semi-covalente et non covalente.

1.1.1 Les différentes approches de synthèse des MIPs

Basées sur le processus général qui vise à polymériser les monomères autour de la cible, les trois voies de synthèse des MIPs vont se différencier les unes des autres par le type d'interactions entre les groupes fonctionnels du monomère et ceux de la cible (Figure 1-3).

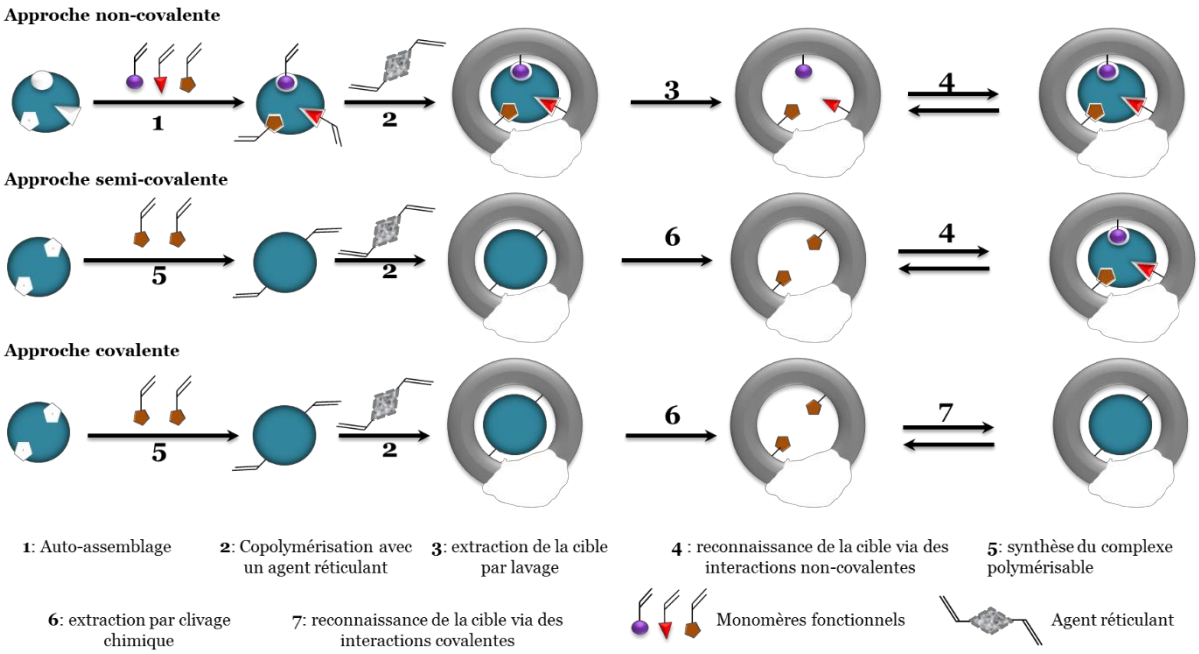


Figure 1-3. Approches covalente, semi-covalente et non-covalente pour la synthèse des MIPs.

1.1.1.1 Approche covalente

L'idée d'élaborer des polymères à empreintes moléculaires avec des interactions monomère-cible aussi fortes que possible est basée sur l'établissement de liaisons de type covalentes entre ces deux espèces. Dans cette approche, une première étape consiste à coupler en amont le monomère fonctionnel et la cible pour créer les liaisons covalentes avant l'étape de polymérisation (Figure 1-3). Après cette dernière étape, la cible est extraite du polymère par coupure de ces liaisons covalentes, souvent par hydrolyse pour laisser apparaitre des cavités empreintes qui lui sont spécifiques[6]. Dans cette approche, la reconnaissance de la molécule cible se fait par rétablissement de ces liaisons covalentes avec le monomère fonctionnel.

Cette technique de synthèse a été utilisée dans un premier temps par l'équipe de G.Wulff en 1972, et a conduit à des matériaux avec un bon rendement de synthèse et une grande homogénéité des sites de reconnaissance, ce qui permet d'accroitre l'efficacité de l'empreinte[4]. G.Wulff a pu montrer que ces matériaux pouvaient présenter des sélectivités proches de 100%[7]. Toutefois, le fait que ce procédé requiert spécifiquement des molécules cibles comportant des groupements alcool, aldéhyde, cétone ou acide carboxylique, et que la rupture de la liaison covalente nécessite une étape supplémentaire souvent réalisée dans des conditions d'acidité particulières, limite son utilisation.

1.1.1.2 Approche semi-covalente

Le terme semi-covalent vient du fait que cette approche se trouve être intermédiaire entre les approches covalentes et non-covalente. Le protocole de pré-polymérisation est identique à celui de l'approche covalente alors que le principe de reconnaissance utilisé est celui de l'approche non-covalente. En d'autres termes, avant de procéder à la polymérisation, il faut préalablement coupler la molécule cible à un monomère fonctionnel. L'extraction de la molécule se fera par clivage des liaisons covalentes. En revanche, l'étape de reconnaissance de la cible par le polymère sera réalisée via des interactions non-covalentes. Le principe de la reconnaissance est donc plus proche des mécanismes mis en jeu dans les systèmes biologiques naturels, tels que « anticorps-antigène ».

Toutefois, suite au clivage des liaisons covalentes pour libérer l'espèce cible, l'approche semi-covalente mène, en général, à la formation de cavités dont la taille est trop petite pour accueillir la cible lors de l'étape de reconnaissance[8]. Cette difficulté a été contournée pour la première fois par l'équipe de M.Whitcombe en 1994 qui a utilisé un bras espaceur afin d'apporter suffisamment d'espace à la molécule empreinte lors de la reconnaissance[9]. Malgré cette difficulté, l'approche semi-covalente a été utilisée avec succès pour la synthèse des polymères sélectifs pour des cibles comme le phénol[10] , la triazine[11] et des esters éthyliques[6].

1.1.1.3 Approche non-covalente

L'approche dite non-covalente fait intervenir des interactions non-covalentes entre le monomère fonctionnel et la cible lors d'une étape préalable d'auto-assemblage afin de

former un complexe polymérisable. La structure de ce complexe sera par la suite « figée » par copolymérisation avec un agent réticulant de façon à générer des cavités empreintes à l'issue de l'extraction de la molécule cible lors d'une étape de lavage. Tout comme pour l'approche semi-covalente, la reconnaissance sera ensuite réalisée via des interactions non-covalentes. Celles-ci sont des interactions intermoléculaires comme les liaisons de type hydrogène, van der Waals, π-π, ou éventuellement ioniques.

Cette approche a été initiée en 1981 par K.Mosbach qui a élaboré des polymères réticulés incorporant des monomères fonctionnels choisis pour interagir via des interactions faibles avec des colorants organiques à savoir la rhodanile bleue ou la safranine-O, utilisées comme molécules cibles[12]. La mise en évidence de la reconnaissance sélective de ces molécules par les polymères ainsi synthétisés a ouvert la voie à cette nouvelle approche. Celle-ci est à l'image des systèmes naturels faisant appel aux mêmes interactions lors de la reconnaissance. Compte-tenu de sa simplicité de mise en œuvre (pas de modification chimique préalable de la molécule cible), elle peut s'appliquer à un vaste choix de molécules à imprimer[13–15]. L'intérêt pour cette approche n'a fait que croître depuis 1981, et c'est actuellement la plus utilisée.

1.1.2 Elaboration des MIPs

L'élaboration de MIPs aux propriétés de reconnaissance optimisées passe par un choix approprié des différents réactifs mis en jeu, à savoir la molécule cible, le(s) monomère(s) fonctionnel(s) et l'agent réticulant, ainsi que de leurs proportions respectives. D'autres composés chimiques interviennent également : le solvant, qui joue également le rôle de porogène et l'amorceur de polymérisation.

1.1.2.1 Choix des réactifs pour l'élaboration des MIPs

1.1.2.1.1 La molécule cible

La molécule cible est au cœur de la synthèse des polymères à empreintes. Elle est bien évidemment choisie en fonction de son intérêt (activité biologique, polluant…) et de la difficulté à l'extraire, à la détecter, ou à la quantifier dans des matrices complexes.

Toutefois, la molécule cible doit respecter un certain nombre de règles pour ne pas être altérée lors de la synthèse du polymère :

- Elle doit présenter une stabilité thermique et/ou aux irradiations UV[16].
- Elle ne doit pas réagir avec les autres réactifs de synthèse.
- Elle doit former un complexe polymérisable le plus stable possible avec le monomère fonctionnel, mais qui puisse toutefois être dissocié lors de l'étape de lavage.

Il peut arriver que la molécule d'intérêt ne soit pas compatible avec la préparation de MIPs, en particulier si elle est toxique ou instable dans les conditions de synthèse. Parfois, des difficultés de lavage des MIPs compliquent aussi leur utilisation en raison du risque de relargage de la molécule cible lors de l'utilisation des MIPs. La solution dans ces conditions est l'utilisation d'une cible « factice » (« dummy template » en anglais)[17–19]. Il s'agit d'une molécule de remplacement permettant la synthèse d'un MIP et dont la structure chimique est suffisamment proche de celle de la molécule réellement ciblée pour permettre la reconnaissance de cette dernière par le MIP. Ainsi en cas de relargage, il n'y a pas d'interférences, et les problèmes de toxicité et de stabilité peuvent également être évités. Ce procédé a déjà été utilisé dans la communauté des MIPs à l'image des travaux de H.Zhang et X.Feas avec l'utilisation de l'acide phénoxyacétique et de l'azatadine comme cibles factices pour la synthèse des MIPs pour les herbicides de type phénoxyacétiques[20] et pour la cycloheptadine[21], respectivement. Dans ces études, ces auteurs ont montré que les MIPs synthétisés à partir de ce procédé arrivaient à retenir de manière sélective leur cible. Toutefois, comme pour la molécule cible, certaines contraintes s'imposent également dans le choix de cette cible factice :

- Sa structure doit être relativement semblable à celle de la cible, notamment en présentant des groupements fonctionnels similaires et/ou dans des positions analogues[22].
- Elle doit également répondre aux mêmes critères que la molécule cible afin d'obtenir un MIP avec une reconnaissance optimisée.

1.1.2.1.2 Les monomères fonctionnels

Les monomères fonctionnels sont des composés essentiels pour l'élaboration des MIPs puisqu'ils sont responsables des interactions spécifiques au sein des cavités empreintes qui permettront de reconnaitre la molécule cible. Un ou plusieurs

monomères fonctionnels sont ainsi choisis pour être complémentaires de la molécule cible en termes de groupements fonctionnels, ceci de façon à générer un maximum d'interactions spécifiques.

Il existe un grand nombre de monomères utilisés pour synthétiser des MIPs. H.Kempe a dressé une liste regroupant les monomères les plus rencontrés[8]. Les différents monomères peuvent être répartis en trois différents groupes : acides, neutres et basiques (Tableau 1-1).

Les monomères acides peuvent mettre en jeu principalement des interactions hydrogène et ionique avec des cibles basiques. Ainsi le travail de D.Spivak et K.Shea montre à quel point un monomère acide tel que l'acide méthacrylique peut former des complexes stables avec des bases nucléiques à travers des interactions hydrogènes spécifiques[23]. Ces interactions hydrogènes peuvent être renforcées par des interactions ioniques comme discuté par B.Claude dans sa thèse en 2007[24] (Figure 1-4). Pour ces groupes de monomères acides, la force de l'interaction augmente avec celle de l'acide ou de la base comme cela a été démontré par le groupe de J.Matsui[25].

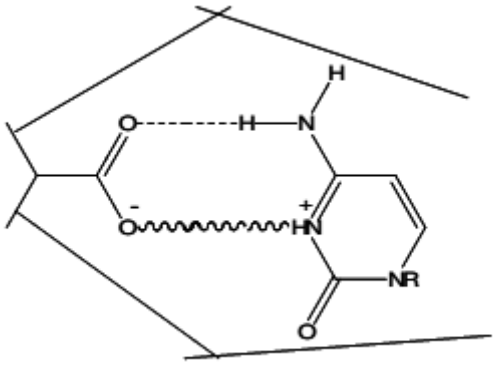
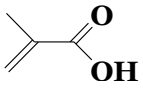
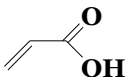
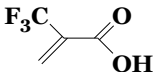
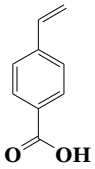
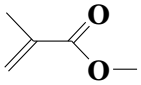
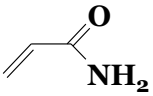
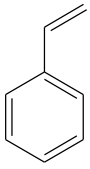
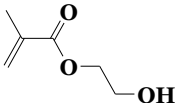
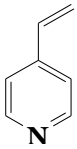
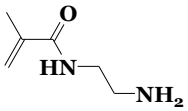


Figure 1-4. Interactions hydrogène (.....) et ionique (∿∿) entre un polymère à empreinte moléculaires à base d'acide méthacrylique et la guanine[23].

Pour ce qui est de l'interaction entre un monomère basique avec une cible acide, il est possible de citer le travail d'A.G.Strikovsky et al. qui ont travaillé sur les interactions ioniques fortes entre un monomère fonctionnel de N,N′-diéthyl(4-vinylphényl)amidine (DEVPA) avec le phosphonate[26].

Ensuite, il y a les monomères neutres, qui peuvent aussi former des interactions hydrogènes à l'image de l'étude menée par C.Yu et K.Mosbach concernant la synthèse d'un polymère à empreintes à base d'acrylamide dans l'acétonitrile pour une gamme de cibles[27]. Ces interactions se sont même révélées plus fortes que les interactions induites par l'acide méthacrylique dans le même milieu. L'explication apportée est basée sur le moment dipolaire de la fonction amide dont la valeur est supérieure à celle de l'acide carboxylique. Ces interactions fortes ont été utilisées dans le cadre d'une extraction directe des flavonoïdes dans les feuilles de gingko (utilisé dans la médecine chinoise) à l'aide des MIPs pour la quercétine avec un taux de recouvrement de la cible d'environ 90% lors de l'extraction[28].

Tableau 1-1. Quelques monomères fonctionnels utilisés dans la synthèse des polymères à empreintes moléculaires.

Nature du monomère	Nom	Structure	Références
Acide	Acide méthacrylique		23,29
	Acide acrylique		21
	Acide 2-(trifluorométhyl)acrylique		25
	Acide 4-vinylbenzoïque		30
Neutre	Méthacrylate de méthyle (MMA)		31
	Acrylamide		27
	Styrène		32
	2-hydroxyéthyl méthacrylate (HEMA)		33
Basique	4-Vinylpyridine (4-VP)		34
	N-(2-aminoéthyl)méthacrylamide		35

1.1.2.1.3 L'agent réticulant

Les agents réticulants sont les poutres de l'édifice basé sur la molécule cible et les monomères fonctionnels. Ils assurent la stabilité du réseau afin de maintenir stable les cavités formées qui sont spécifiques de la cible. Les agents réticulants les plus utilisés sont le diméthacrylate d'éthylène glycol (EDMA), le divinylbenzène (DVB) et le triméthacrylate de triméthylolpropane (TRIM) (Figure 4). La nature de l'agent réticulant peut potentiellement diminuer ou accroître le caractère hydrophile ou hydrophobe d'un polymère. Ce qui veut dire qu'il est possible de le choisir de façon stratégique en fonction du milieu dans lequel les MIPs résultant seront utilisés.

Plus précisément, le caractère hydrophobe croissant de l'EDMA au TRIM[36] peut être un atout pour la reconnaissance de certaines cibles en milieu aqueux. En milieu aqueux, la formation d'interactions hydrogènes n'est pas aussi aisée qu'en milieu organique. Un agent réticulant peut donc potentiellement diminuer l'hydrophilie d'un polymère pour favoriser des interactions hydrophobes qui peuvent faciliter la reconnaissance de la cible comme expliqué par J.Xie pour une extraction de la quercétine [37].

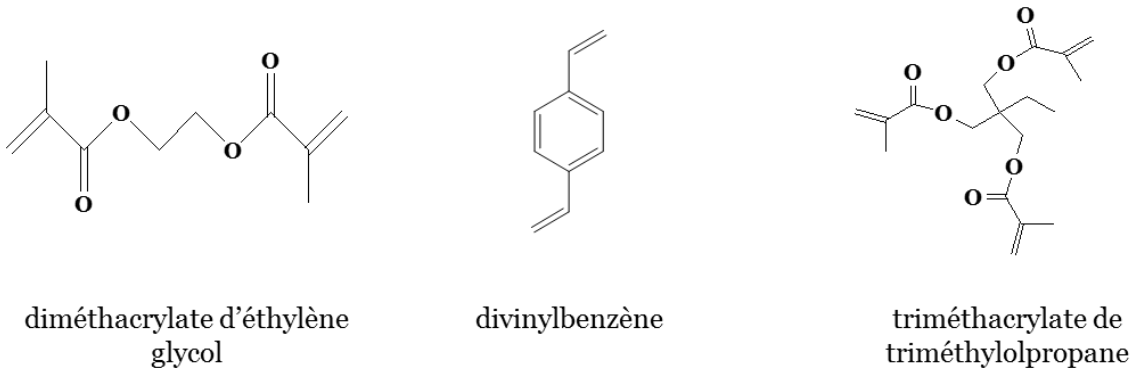


Figure 1-5. Agents réticulants couramment utilisés pour la synthèse des MIPs.

1.1.2.1.4 Le solvant porogène

Le solvant, quant à lui, joue également un rôle très important dans la préparation des polymères à empreintes. Il permet, d'une part, de solubiliser les réactifs de polymérisation dont le monomère, la cible, l'agent réticulant et l'amorceur. D'autre part, étant donné qu'il est important d'obtenir des matériaux poreux, c'est le solvant

qui en sera également responsable au sein du réseau polymère et permettra de contrôler la surface spécifique de ce dernier.

Par ailleurs, son choix peut être basé sur sa nature polaire (acétonitrile), non polaire ou peu polaire (toluène, dichlorométhane) en fonction du type d'interactions spécifiques mises en jeu entre la cible et le polymère imprimé, de façon à éviter que le solvant n'affaiblisse ces interactions[24]. Toutefois, le besoin de solubiliser les réactifs peut primer lors du choix du solvant. Dans ce cas, des interactions non spécifiques fortes peuvent être induites avec un solvant polaire[24] et il est possible d'utiliser un modificateur donneur ou accepteur de liaisons hydrogène, acide (acide acétique) ou basique (diéthylamine) afin d'optimiser la reconnaissance spécifique du polymère par élimination de ces interactions non-spécifiques lors de la phase de reconnaissance de la cible[38].

1.1.2.1.5 L'amorceur de polymérisation

Le dernier élément des réactifs de polymérisation est l'amorceur. Son choix se fait en fonction des conditions de polymérisation. Il existe trois types d'amorceurs selon les différents amorçages possibles dans une polymérisation radicalaire : amorceurs thermiques, photochimiques et redox. Le choix pourra se faire en fonction du mode de polymérisation (polymérisation en masse, en suspension…) et de la température de polymérisation. L'amorceur le plus couramment utilisé est l'azobisisobutyronitrile (AIBN) dont la température d'amorçage se situe entre 60 et 80°C. L'azobisvaléronitrile (ABDV) peut être utilisé pour synthétiser des MIPs à plus basse température (entre 50 et 75°C).

1.1.2.2 Caractérisation des MIPs

La caractérisation des MIPs permet d'évaluer, de juger non seulement du choix des réactifs, mais aussi de la qualité de la synthèse. Pendant cette étape, une fois que la cible a été retirée des MIPs, plusieurs tests permettent de les caractériser.

1.1.2.2.1 Caractérisation physico-chimique

La caractérisation morphologique est basée sur l'étude de la taille, la forme et la porosité des particules. L'étude de la taille et de la forme des particules est généralement faite par microscopie, et plus particulièrement par microscopie

électronique à balayage (MEB). La porosité et la surface spécifique sont généralement mesurées par un procédé d'adsorption et désorption du diazote à la surface des particules pour connaitre le type de pores (matériaux micro-ou mésoporeux pour des tailles de pores < 50 nm).

L'analyse élémentaire et la spectroscopie infra-rouge permettent de vérifier si les monomères ont été correctement intégrés dans le réseau polymère. Cette vérification se fait en comparant les proportions théoriques des réactifs introduits pour la synthèse aux proportions expérimentales déterminées par analyse élémentaire. La recherche des fonctions particulières, spécifiques aux monomères et à la cible, effectuée par spectroscopie infrarouge peut permettre de valider l'incorporation d'un monomère fonctionnel et l'extraction de la molécule cible lors de l'étape de lavage.

1.1.2.2.2 Caractérisation des propriétés de rétention

1.1.2.2.2.1 Techniques de caractérisation des propriétés de rétention

Afin de caractériser les propriétés de rétention et plus particulièrement l'efficacité des cavités empreintes, un polymère non imprimé (NIP), ou polymère de contrôle, est généralement préparé et caractérisé dans les mêmes conditions que le MIP. Ce NIP est synthétisé dans des conditions expérimentales en tous points semblables au MIP correspondant, à la seule différence que le NIP est synthétisé en l'absence de la molécule cible.

La chromatographie en phase liquide peut permettre de caractériser l'empreinte en utilisant les particules de MIP comme phase stationnaire alors que la phase mobile correspondante n'est autre qu'un éluant constitué en majorité du solvant porogène[39]. La solution contenant l'analyte est alors injectée à travers la phase stationnaire. L'expérience est généralement basée sur deux colonnes chromatographiques dont l'une est remplie de polymère à empreintes moléculaires (MIP) et l'autre de polymères non-imprimés (NIP). Le rapport entre les deux capacités d'adsorption du MIP et du NIP donne le facteur d'empreinte qui définit l'efficacité de reconnaissance du MIP.

Il est également possible de caractériser l'empreinte par batch à partir des quantités variables de MIP et de NIP en contact avec une concentration d'analyte fixe. Toutefois, la méthode la plus courante consiste à inverser les deux paramètres, en

travaillant plutôt à quantité de polymère constante avec des concentrations d'analyte variables. L'idée est de suivre l'adsorption de la cible à travers les cavités empreintes du polymère au fil du temps (cinétique d'adsorption) ou à concentration croissante (isothermes d'adsorption).

1.1.2.2.2.2 Cinétique d'adsorption des MIPs

Cette étape permet de déterminer le temps optimal d'adsorption du polymère. Le polymère est mis pour cela en contact avec l'analyte (concentration initiale C_i), et la concentration du même analyte à l'équilibre (C_e) est déterminée à différents temps. La capacité d'adsorption (Q) qui est la quantité d'analyte adsorbée par quantité de polymère (m) est calculée (*Equation 1-1*) et tracée en fonction du temps. Le temps optimal est obtenu lorsque le polymère atteint la saturation (Figure 1-6).

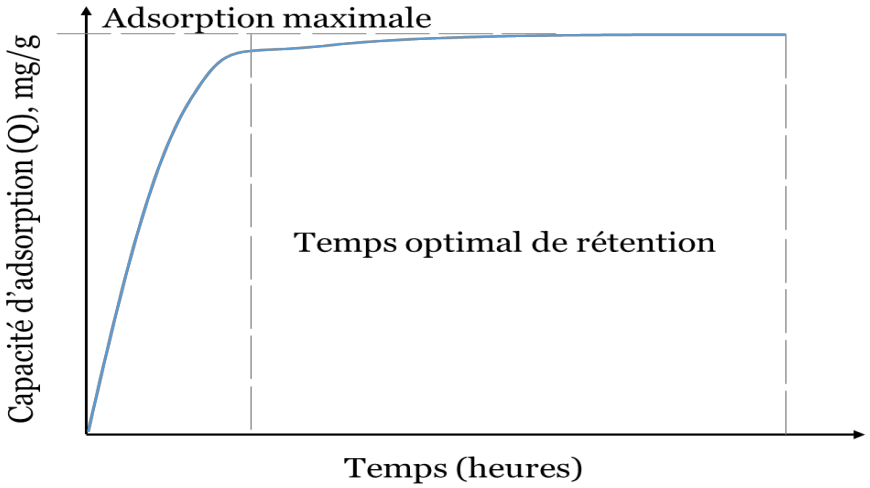


Figure 1-6. Courbe cinétique théorique d'un MIP.

$$Q_i = \frac{(C_i - C_e) \times V}{\mathrm{m}} \qquad \text{Equation 1-1}$$

1.1.2.2.2.3 Isothermes et sélectivité d'adsorption des MIPs

La deuxième étape est l'étude des isothermes d'adsorption, pendant laquelle on mesure Q en fonction de la concentration en analyte de façon à déterminer une capacité d'adsorption maximale du polymère étudié (Figure 1-7). Celle-ci permet par la suite de déduire le facteur d'empreinte à partir du rapport entre la capacité d'adsorption du polymère imprimé et celle du polymère non-imprimé (*Equation 1-2*).

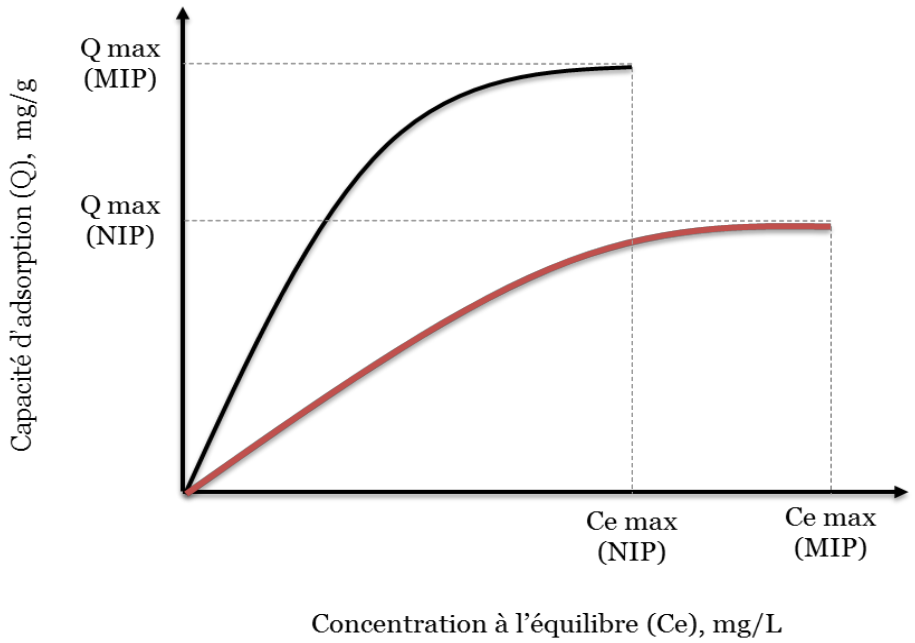


Figure 1-7. Courbes théoriques des isothermes du MIP et du NIP.

$$IF = \frac{Q_{max,MIP}}{Q_{max,NIP}}$$ Equation 1-2

Il est possible de remplacer la cible par d'autres molécules d'intérêts pour évaluer la capacité du polymère à empreintes à les discriminer au détriment de la cible pour laquelle il a été synthétisé. Il s'agit dans ce cas d'une étude de sélectivité, réalisée en présence de la cible et des interférents, qui passe par la détermination du facteur de distribution (K_D) de l'espèce étudiée entre la phase liquide et le polymère (*Equation 1-3*). Celui-ci permet de calculer le coefficient de sélectivité, *k (Equation 4)*, qui est le rapport entre le coefficient de distribution de la cible sur celui de l'interférent i. Ce coefficient permet de comparer la reconnaissance des différents analytes (cible et interférents) exposés aux mêmes cavités empreintes. L'efficacité d'un polymère sera d'autant plus importante que ce coefficient sera important. Un rapport inférieur à 1 conclut à un polymère qui ne présente pas de sélectivité par rapport à l'interférent i.

$$k_D = \frac{Q}{C_e}$$ Equation 1-3

$$k = \frac{k_{D_{BPA}}}{k_{D_i}}$$ Equation 1-4

Il est également possible de déterminer le coefficient de sélectivité relative, *k' (Equation 5)*, calculé cette fois à partir du rapport du coefficient de sélectivité du polymère imprimé et de celui du polymère non imprimé lorsque celui-ci a été synthétisé. Ce coefficient permet également d'évaluer l'effet d'empreinte du polymère par rapport aux interférents.

$$k' = \frac{k_{MIP}}{k_{NIP}}$$ Equation 1-5

1.1.3 Différents formats des MIPs et leur synthèse

Les polymères à empreintes moléculaires peuvent avoir plusieurs formats qui sont étroitement liés au type de polymérisation choisie. Ainsi, selon le procédé utilisé, les MIPs peuvent être sous forme de monolithes, de particules irrégulières, de micro ou de nano billes ou de films.

1.1.3.1 MIPs sous forme de monolithe ou de particules irrégulières

La méthode la plus communément utilisée pour synthétiser les MIPs est la polymérisation en masse. Cette méthode de polymérisation, utilisée pour la première fois par G.Wulff[7,40] , sera ensuite reprise et optimisée par K.Shea[41] et K.Mosbach[12]. Elle consiste à solubiliser tous les réactifs de polymérisation (monomères fonctionnels, agent réticulant, amorceur) dans un tube de polymérisation avec une faible quantité de solvant porogène. Le tube est scellé, et la polymérisation conduit à la formation d'un monolithe qui est récupéré généralement en brisant le tube. Le bloc massif ainsi obtenu est ensuite broyé, tamisé selon la taille des particules recherchée. Le terme « polymérisation en masse » utilisé pour cette polymérisation a souvent prêté à confusion, car l'utilisation d'un solvant devrait la classer dans la catégorie des polymérisations en solution. Toutefois, ce terme est classiquement adopté par la communauté des MIPs car représentatif du fait que le polymère est initialement obtenu sous la forme d'un bloc massif. Bien que cette méthode présente l'avantage d'être simple et d'utiliser peu de solvant, le travail mécanique et ardu que nécessite le broyage peut toutefois entrainer une modification des sites actifs, une irrégularité de

la taille des particules et une large distribution de cette dernière (Figure 1-8). En outre, le broyage et le tamisage sont des étapes longues et qui conduisent à une perte importante de polymère, pouvant aller jusqu'à plus de 50%.

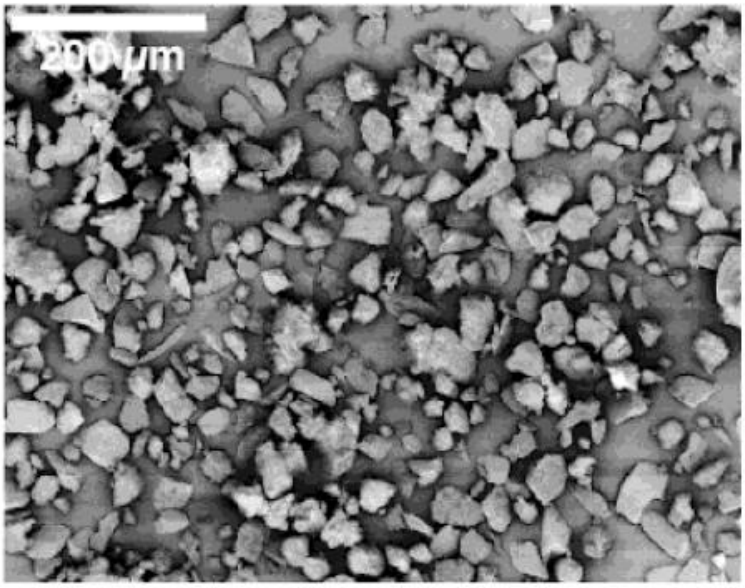


Figure 1-8. MIPs obtenus par polymérisation en masse, synthétisé in situ dans une colonne chromatographique[42].

1.1.3.2 MIPs à particules sphériques

Des particules sphériques de MIPs peuvent être obtenues par polymérisation en suspension, dispersion, émulsion ou précipitation, ainsi que par la technique d'impression de surface. Toutes ces techniques présentent chacune des avantages et des inconvénients tout comme une polymérisation en masse, mais conduisent directement aux particules sphériques. Ces particules présentent des propriétés d'adsorption bien plus homogènes que les particules obtenues par polymérisation en masse, et permettent aussi d'éviter l'étape de broyage. Sachant que la surface de contact des particules est inversement proportionnelle à la taille de celles-ci, le contrôle de la taille des particules permet ainsi de contrôler la surface de contact. La synthèse de telles particules demande par contre la maitrise de certains paramètres impliqués comme la quantité de solvant, le nombre d'équivalent des différents réactifs et l'agitation, pour conduire à des tailles de quelques nanomètres à quelques centaines de micromètres[43].

1.1.3.2.1 MIPs obtenus par polymérisation homogène

La polymérisation homogène fait partie des polymérisations qui permettent d'obtenir des particules sphériques. Elle regroupe la polymérisation en dispersion et la polymérisation par précipitation utilisée pour la première fois par K.Mosbach[44]. Ces deux polymérisations se rapprochent de la polymérisation en masse tout simplement parce que les réactifs comprenant le monomère fonctionnel ainsi que l'agent réticulant et l'amorceur sont préalablement solubilisé dans le solvant porogène, mais cette fois introduit en plus grande quantité.

La polymérisation par dispersion conduit à des particules primaires qui sont gonflées par le milieu de polymérisation et/ou le monomère, alors qu'elles précipitent dans le milieu réactionnel pour la polymérisation par précipitation. Dans le premier procédé, il est nécessaire d'introduire un agent stabilisant pour stabiliser les particules formées et éviter leur coalescence. Pour la polymérisation par précipitation, la grande quantité de solvant porogène utilisée permet parfois de résoudre les problèmes liés à la solubilité et à la coalescence des particules formées. Les avantages de cette polymérisation sont tels qu'elle permet d'obtenir des particules sphériques, monodisperses selon les monomères et le solvant, qui sont directement utilisables, avec une gamme de taille allant 0,1 à 10 µm. Ce type de polymérisation a été utilisé, par exemple, pour la synthèse de MIPs pour l'acide carboxylique[45] ou le diclofénac[46].

1.1.3.2.2 MIPs obtenus par polymérisation hétérogène

La polymérisation hétérogène diffère de la polymérisation homogène dans un premier temps par la nature des solvants. Le terme hétérogène vient de l'utilisation de deux solvants non miscibles lors de la synthèse. Le mélange de ces deux liquides permet de former deux phases distinctes : la phase dispersée, généralement organique, et la phase continue, généralement aqueuse. La phase dispersée est celle qui forme des gouttelettes dispersées dans le milieu de synthèse et la phase continue celle dans laquelle la phase dispersée se retrouve en suspension. L'amorceur est dissout dans la phase dispersée pour la polymérisation en suspension, alors qu'il est dissout dans la phase continue pour la deuxième polymérisation pour mieux contrôler la nucléation. Les autres réactifs sont solubilisés dans la phase dispersée dans les deux cas.

Le principe de la polymérisation hétérogène est basé sur l'introduction du complexe polymérisable organique dans une phase dispersée. Dans le cas de la polymérisation en émulsion, un agent surfactant ou stabilisant est nécessaire à la formation des gouttelettes. La polymérisation hétérogène se produit sous agitation pour éviter la coalescence des gouttelettes. L'ajout d'un stabilisant, tel que l'alcool polyvinylique, ou l'augmentation de la viscosité dans le milieu par ajout d'agents visqueux comme le xanthane ou la gélatine permettent de diminuer la coalescence des gouttelettes. L'inconvénient majeur de la polymérisation hétérogène pour l'obtention des MIPs réside dans l'introduction de ces agents dont l'élimination est parfois difficile et dont la présence résiduelle peut altérer les propriétés de reconnaissance des polymères.

Dans la polymérisation hétérogène, le milieu aqueux cause parfois des problèmes, car l'eau peut interférer dans la création des interactions covalentes ou non-covalentes fortes. La solution à ce problème a été trouvée par A.G.Mayes et K.Mosbach en 1996 en remplaçant la phase continue par une solution perfluorée inerte à la polymérisation, non-miscible avec les solvants organiques utilisés comme porogènes[47]. H.Kempe et al. vont ensuite mettre en place une méthode de polymérisation économique par suspension en utilisant l'huile minérale[42]. Cette méthode ne nécessite plus l'utilisation d'un surfactant et permet de palier aux difficultés rencontrées lors d'une polymérisation en suspension classique.

1.1.3.2.3 Autres méthodes de synthèse des MIPs

La synthèse de MIPs peut faire appel à une approche de type cœur-écorce qui consiste à former une couche de MIP à la surface d'une particule préformée (polystyrène pour le « multi-step swelling », particule de silice…).

Le « multi-step swelling » est une méthode d'impression qui consiste à traiter des billes de polystyrène en trois étapes de quelques heures chacune en les mettant en suspension dans différents solvants sous agitation. L'objectif de ce traitement est de conduire au gonflement des particules. Le gonflement est suivi par la mise en contact de ces particules avec les réactifs de polymérisation. La polymérisation se produit alors à la surface des particules de polystyrène. Cette méthode permet d'obtenir des particules de tailles homogènes. Elle a été utilisée par l'équipe de K.Hosoya pour obtenir des particules uniformes de MIPs pour les isomères d'une amide chirale dérivée du (S)-α-méthylbenzylamine [48] et du (S)-naproxène[49].

Une alternative pour obtenir des particules de MIP sphériques est l'utilisation d'une polymérisation de type cœur-écorce qui consiste dans un premier temps à mettre en suspension dans une phase continue de polymérisation des particules préformées, de silice, polymères, magnétite… Le mélange des réactifs contenant le monomère fonctionnel, la cible, l'agent réticulant et l'amorceur de synthèse est ajouté progressivement dans un milieu en agitation afin de réaliser une impression dite de surface[50]. L'utilisation de la polymérisation cœur-écorce abordée par M.Whitcombe et al. en 2000[51] pour les polymères à empreintes a été rapportée pour les études basées sur la polymérisation cœur-écorce de MIPs pour les protéines[52].

Une autre technique en plus de celles énumérées précédemment consiste à utiliser des particules poreuses de silice pour préparer des MIPs par une voie dite « hiérarchique »[53]. La polymérisation avec les réactifs a ensuite lieu dans les pores des particules de silice. Après polymérisation, les particules de silice sont solubilisées au moyen de l'acide fluorhydrique, laissant ainsi une cavité qui correspond à celle de la silice initiale[53,54]. Dans ce protocole, les groupements polymérisables peuvent être préalablement greffés à la surface des particules de silice[55–57]. Il est aussi possible de greffer directement un amorceur de polymérisation[57]. Cette méthode conduit à des particules hautement poreuses.

1.2 Application des MIPs

1.2.1 Domaine d'application des MIPs

Le besoin de discriminer de manière spécifique des molécules d'intérêt a conduit à utiliser les MIPs dans des colonnes chromatographiques comme phase stationnaire dans l'objectif d'analyser et de caractériser leur interaction avec la cible[58]. L'efficacité sélective des MIPs a pu être optimisée en présence de composés optiquement actifs, que ce soit le monomère fonctionnel[59–61] ou la cible[62–64]. L'extraction en phase solide fait l'objet d'un grand intérêt notamment dans les domaines environnemental[65] ou alimentaire[66], ou médical[67]. Tout comme en chromatographie liquide, les MIPs sont utilisés comme phase stationnaire pendant le processus d'extraction ce qui s'avère très efficace avec des analytes qui sont présents à l'état de traces dans certains échantillons. La grande sélectivité des MIPs permet alors d'enrichir ou de collecter de manière efficace une cible pour procéder à son analyse ultérieure avec plus de précision (Figure 1-9). Ce procédé peut être utile surtout dans le cas de la

quantification de ces composés et permet d'obtenir des taux de recouvrement de la cible pouvant atteindre 100% lors de l'extraction comme rapportés pour des analogues du bisphénol dans les boites de conserve et cannettes de boisson[68], le fénarimol[69] (un fongicide dérivé de la pyrimidine), des pesticides organochlorés[70], le cholestérol[71], la scopolamine un anticholinergique[72], ou encore la caféine[73].

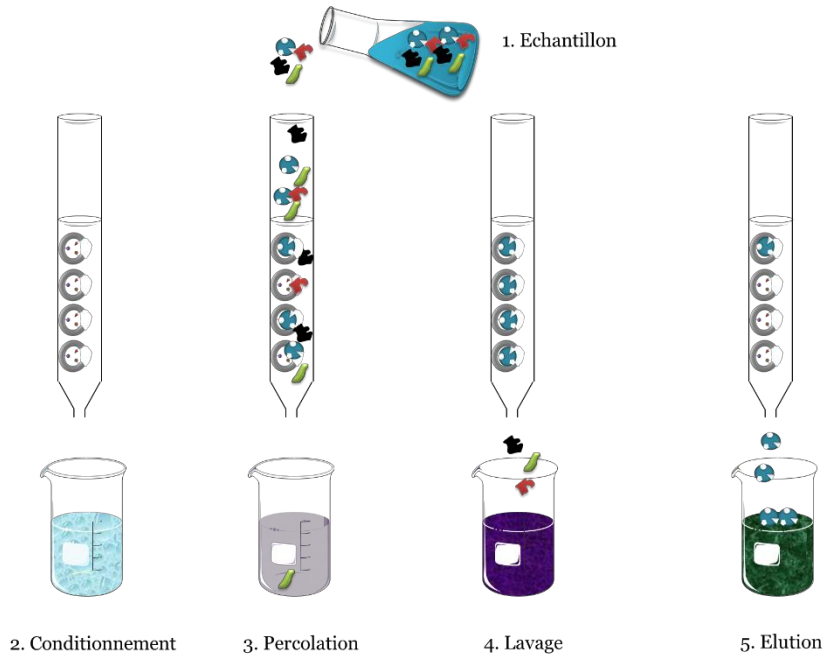


Figure 1-9. Principe d'extraction en phase solide avec les MIPs.

Les MIPs peuvent être utilisés dans le domaine médical, pour la vectorisation de médicaments.[74] Les MIPs développés pour ce type d'application doivent être capable de réguler la dose de médicament libérée et d'imiter le principe de reconnaissance des enzymes, des membranes réceptrices ou des anticorps afin de maintenir l'équilibre homéostatique[75].

La haute sélectivité des MIPs, leur stabilité, et leur faible coût conduisent naturellement à leur utilisation pour développer des capteurs pour des composés chimiques[76]. Ainsi, plusieurs types de capteurs associés aux MIPs ou utilisant tout simplement la capacité de reconnaissance des MIPs peuvent être dénombrés : les capteurs biomédicaux[77] et les biocapteurs[78]. Un point clé dans le développement de capteurs basés sur des MIPs réside dans la transduction, qui consiste à transformer le phénomène de reconnaissance en un signal mesurable. Compte-tenu de cette difficulté, l'étude des MIPs dans des capteurs ne se limite de façon générale qu'à

quelques types de transduction bien spécifiques : optique, piézoélectrique et électrochimique.

1.2.2 MIPs et capteurs optiques

Les capteurs optiques regroupent tous les capteurs avec des transducteurs qui couvrent le domaine de la lumière. On peut citer les capteurs basés sur la fluorescence, la colorimétrie, sur la résonance plasmonique de surface (SPR) et la chimiluminescence. Ces capteurs font appel à un spectre optique qui peut aller du visible à l'infra-rouge lointain.

1.2.2.1 Les capteurs basés sur la fluorescence

Le principe de fluorescence est basé sur la restitution d'une énergie lumineuse absorbée, sous forme de photon fluorescent. Cette propriété est le plus souvent observée pour les molécules cycliques, rigides et qui possèdent des liaisons π. Dans ce contexte, l'utilisation des propriétés de fluorescence a donc été envisagée dans le cas des MIPs[79]. Plusieurs cas peuvent se présenter selon que la cible ait ou pas des propriétés intrinsèques de fluorescence. La situation la plus favorable est celle ou la cible présente une fluorescence intrinsèque, puisque dans ce cas l'intensité de fluorescence est directement corrélée à la présence de la cible. Cette voie a donc été explorée pour des cibles telles que les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs)[80, 81], avec des détections de l'ordre de la dizaine de µg/L, dans le cas du pyrène. Cette voie a également été appliquée pour le N-acétyltryptophananide et la fluorescéine[82], ou encore le flavonol[83] avec pour ce dernier cas une détection rapportée de l'ordre du µg/L.

Lorsque la cible ne présente pas de propriétés de fluorescence intrinsèque, une stratégie possible consiste à lui en apporter. Ainsi, en 1995, un capteur optique a été décrit à partir d'un MIP, fixé à l'extrémité d'une fibre optique, spécifique d'un aminoacide fonctionnalisé avec une sonde fluorescente, le dansyl-phénylalanine, qui est un composé aromatique et fluorescent[84]. Cette voie qui impose cependant de pouvoir fonctionnaliser la cible avec la sonde fluorescente avant de pouvoir la détecter a également été utilisée pour la détection du chloramphenicol[85,86]. Une autre approche consiste à déplacer une sonde fluorescente présente dans les cavités des MIPs, par la cible. Cette voie a été utilisée par exemple pour le β-estradiol[87], le

chloramphenicol[91] ou la triazine[88]. Elle présente le désavantage de devoir corréler une intensité décroissante de la fluorescence avec une concentration croissante en cible. Pour de faibles intensités, la détection peut alors s'avérer difficile. Une autre alternative consiste à intégrer au réseau polymère un monomère fonctionnel fluorescent. Le polymère qui en résulte présente un signal fluorescent qui peut être perturbé par la cible. Cette stratégie, basée souvent sur le quenching entre la sonde fluorescente et la cible, a été développée et utilisée pour détecter l'adénosine monophosphate cyclique (cAMP) en milieu aqueux en utilisant un traceur fluorescent qui fait partie intégrante du MIP, le chlorure de trans-4-[p-(N,N-diméthylamino)styryl]-N-vinylbenzylpyridinium (Figure 1-10)[33]. Dans le cas de la détection du L-tryptophane, un monomère basé sur le dansyl a également été décrit[89,90].

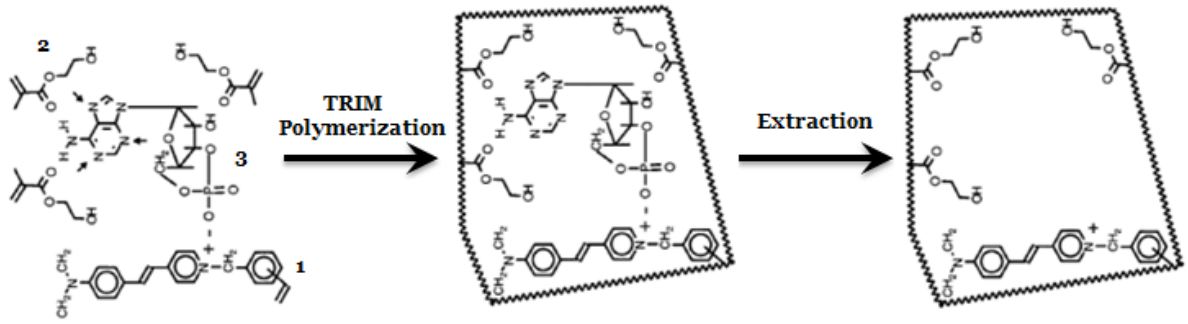


Figure 1-10. Formation de l'empreinte à partir du monomère fonctionnel fluorescent (1) et du monomère fonctionnel 2-hydroxyéthyl méthacrylate (HEMA) (2) disposés autour de la molécule cible, cAMP (3)[33].

1.2.2.2 Les capteurs à résonance plasmonique de surface (SPR)

Les capteurs SPR sont basés sur les propriétés réfléchissantes de surfaces d'or, d'argent, de platine ou encore de plomb[91]. Commercialement, cette approche est utilisée depuis 1990 pour mesurer des interactions protéine/protéine ou protéine/ligand. Sur le principe, les surfaces métalliques sont modifiées par une entité spécifique d'une cible. Un faisceau de lumière monochromatique polarisée est ensuite dirigé vers la surface et est réfléchi selon un angle donné, angle qui sera modifié si la cible est piégée à la surface du système (Figure 1-11).

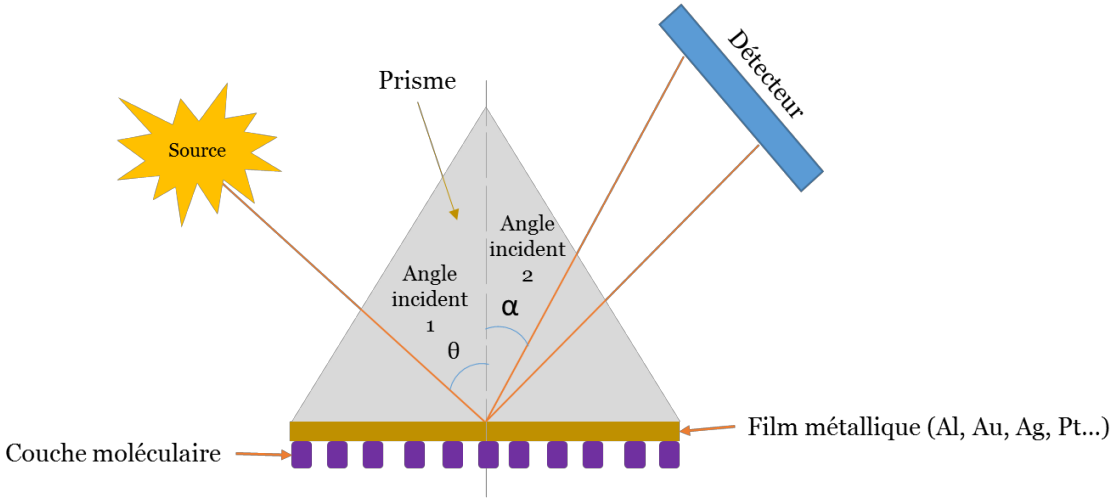


Figure 1-11. Principe de la détection SPR

La préparation des MIPs pour une détection de type SPR a été initiée dans les années 1990 avec la détection de la théophylline, de la caféine et de la xanthine avec une détection limite de l'ordre de 0,4 g/L[92]. Une des difficultés réside dans l'obtention de MIPs sur la surface métallique. Une voie possible consiste à synthétiser *in situ* les MIPs lors de la mise en forme des capteurs SPR (Figure 1-12)[93,94] ; ce qui conduit à former une couche de polymère au-dessus de la fine couche métallique.

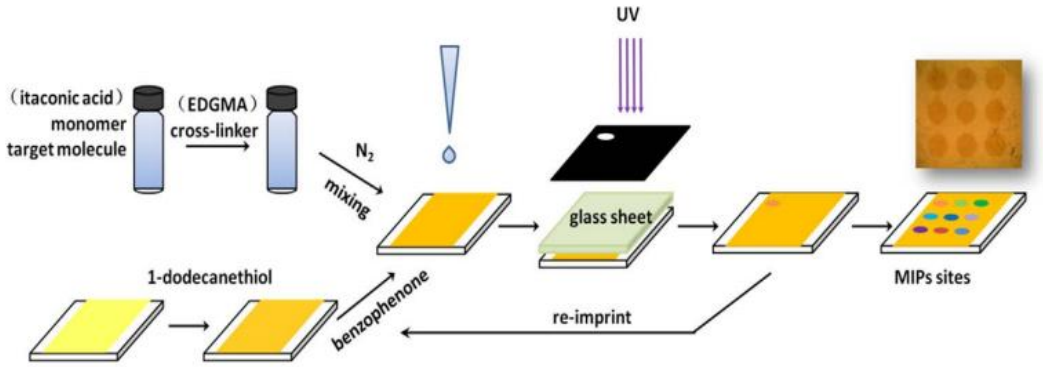


Figure 1-12. Schéma de synthèse des MIPs sur une SPR par polymérisation photochimique[93].

Cette technique a été utilisée pour divers analytes comme l'acide sialique[95], les protéines[52], les antibiotiques[93], l'acide urique[96], la testostérone[97] ou encore pour estimer l'astringence du vin[98]. Les recherches utilisant cette technique permettent de couvrir des gammes de concentrations entre 0 et 33,1 µg/L (soient 0 à 0,1 µM) pour des détections limites de 0,288 ng/L[97] à 0,247 mg/L[96].

1.2.2.3 Les capteurs de chimiluminescence

La chimiluminescence consiste en l'émission d'un rayonnement généré par une réaction chimique. Ce processus peut être destructif, ce qui explique pourquoi il est moins utilisé dans le cas des MIPs. Il s'avère également compliqué à mettre en œuvre car il implique une réaction chimique. J.M.Lin et al. ont décrit le processus dans le cas de la 1,10-phénanthroline (Figure 1-13)[32]. Un complexe ternaire en présence de cuivre(II), de 4-vinylpyridine et de 1,10-phénanthroline est initialement préparé pour conduire au MIP par copolymérisation en présence de styrène et de l'agent réticulant divinylbenzène. Le phénomène de chimiluminescence n'apparait que si ce complexe ternaire est en place et en présence du peroxyde d'hydrogène qu'il décompose en ion radicalaire superoxide qui lui-même réagit avec la phénanthroline pour conduire d'une part à la destruction du complexe et d'autre part au phénomène de chimiluminescence. Les auteurs ont pu obtenir une limite de détection de la phénanthroline de 4 µM. Le système est régénéré en introduisant à nouveau de la phénanthroline. Toutefois, l'utilisation des capteurs de chimiluminescence s'est avérée efficace dans l'environnement pour la détection de composés comme le dichlorvos[99], la dopamine[100], des pesticides[101,102] et le bisphénol A[103].

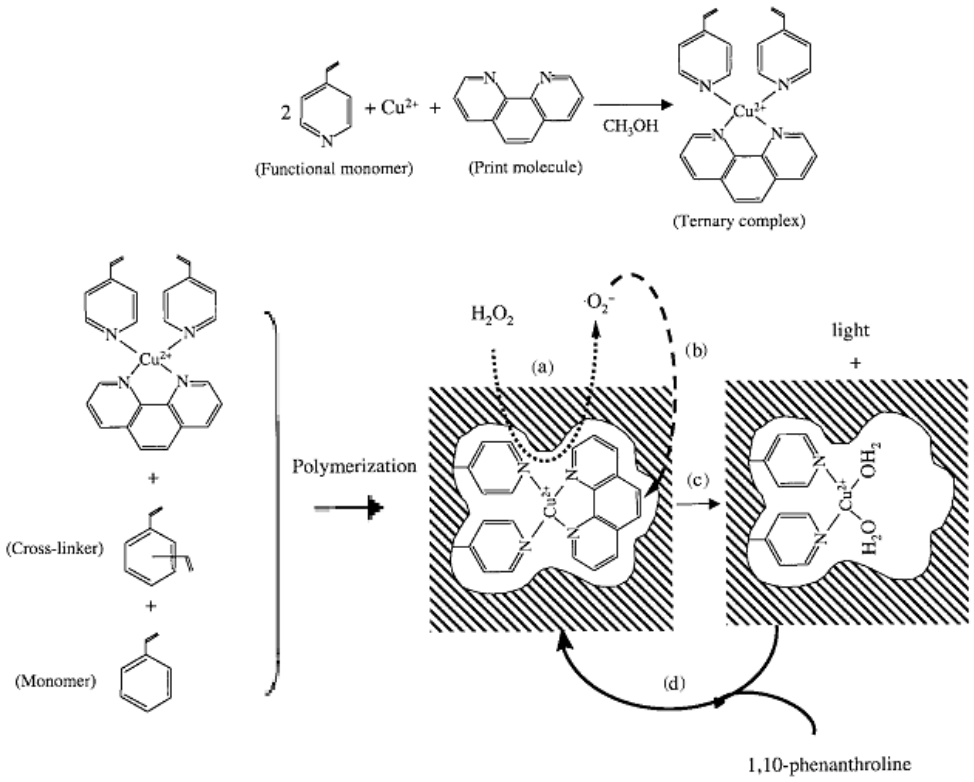


Figure 1-13. MIP et chimiluminescence. (a) Décomposition du complexe phénanthroline-Cu(II)-4-vinylpyridine par catalyse avec le peroxyde d'hydrogène ; (b) attaque de l'ion radicalaire superoxyde sur le complexe de cuivre(II) ; (c) destruction du complexe et chimiluminescence et formation de la cavité de reconnaissance ; (d) régénération du système par introduction d'une nouvelle molécule de phénantroline dans la cavité de reconnaissance [32].

1.2.3 MIPs et capteurs piézo-électriques

L'effet piézoélectrique consiste à polariser électriquement un corps sous l'action d'une contrainte mécanique ou inversement. Cet effet est spécifique à certains minéraux naturels comme le quartz, la topaze, la tourmaline ou à des matériaux synthétiques comme les céramiques et certains polymères tels que le polyfluorure de vinylidène (PVDF). Cet effet est notamment utilisé dans les microbalances à quartz (QCM) et les filtres à ondes acoustiques de surface (SAW).

Dans le cas d'une microbalance à quartz, le matériau piézoélectrique utilisé est le quartz, avec de part et d'autre des électrodes conductrices. Le principe de l'analyse repose sur la mesure de la fréquence du cristal de quartz, fréquence qui est

directement proportionnelle à la variation de masse adsorbée à la surface (Figure 1-14).

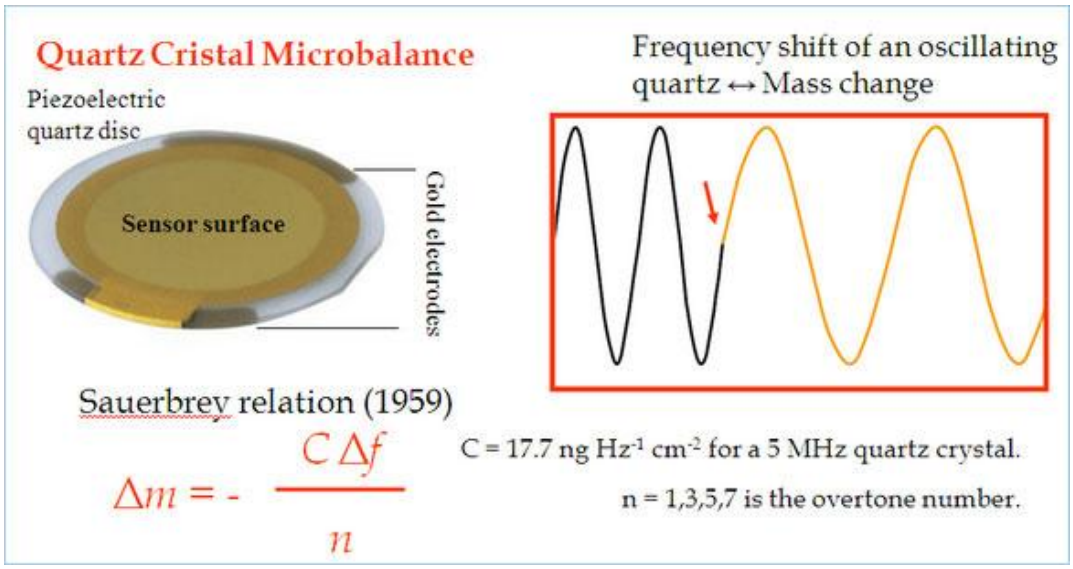


Figure 1-14. Principe de fonctionnement d'une microbalance à quartz. (http://www.lrs.upmc.fr/fr/l-unite-de-recherche/plateforme-technique/microbalance-a-cristaux-de-quartz.html)

L'un des tous premiers MIPs, basés sur du polyuréthane, utilisé avec une microbalance à quartz, par ailleurs doublé par une détection par fluorescence, a été synthétisé par l'équipe de F.Dickert en 1999 pour la détection des hydrocarbures aromatiques polycycliques dans l'eau[81]. Les auteurs ont rapporté une variation de la fréquence détectable pour une solution aqueuse contenant 3,5 µg/L de pyrène. Cette stratégie a également été utilisée pour la détermination de la patuline[104,105], une mycotoxine synthétisée principalement par des moisissures, d'*Aspergillus sp.*, et de *Penicillium sp.*, se développant notamment sur des céréales, des légumineuses ou des fruits. Une limite de détection de 3,1.10^{-3} mg/L a été obtenue pour la patuline avec un MIP type sol-gel. D'autres cibles telles que la citrinine[106] (une mycotoxine produite par des *penicillium* présents dans les produits dérivés du blé, de l'orge, de l'avoine, de l'arachide), l'amoxiline[107], ou la caféine[108] ont fait l'objet de détection par cette voie.

Hormis la méthode piézo-électrique précédente, il y a aussi la méthode basée l'étude de l'onde acoustique. Cette dernière, décrite pour la première fois par Rayleigh[109], est une onde élastique qui se propage à la surface d'un matériau et dont l'amplitude diminue en fonction du support utilisé. La détection basée sur ce type d'onde a été

initiée en 1979 par H.Wohltjen et al. dans les ondes acoustiques de surface pour l'analyse chimique[110]. Le capteur à onde acoustique de surface est basé également sur un support piézoélectrique sur lequel des électrodes sont déposées par lithographie et de manière interdigitée sur une seule face (Figure 1-15).

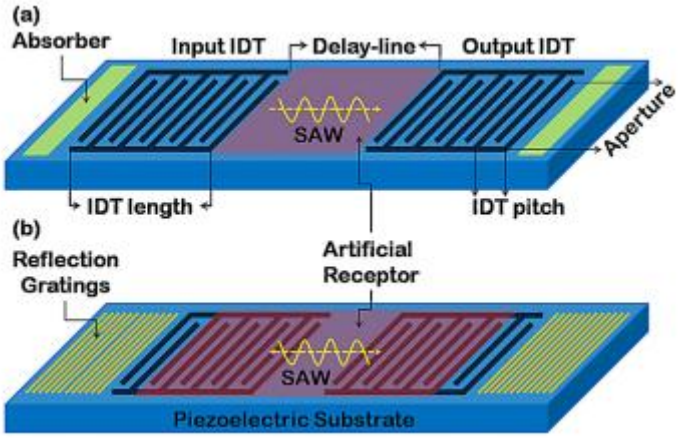


Figure 1-15. Capteur à onde acoustique de surface. Les flèches jaunes indiquent le sens d'orientation des ondes avec leurs amplitudes correspondantes. IDT : transducteurs interdigités[111].

Cette voie a été explorée dans le cadre de la recherche de matériaux avancés pour les capteurs à ondes acoustiques pour la reconnaissance des vapeurs de plusieurs solvants avec des limites de détections de l'ordre du ppm[111]. Cette technique a également été utilisée pour la détection de l'immunoglobuline G avec une interface réceptrice à empreintes moléculaires obtenue par électropolymérisation d'un dérivé de l'aniline, l'interface ayant un facteur d'empreinte compris entre 2,8 et 4 pour un film de 11 nm d'épaisseur (Figure 1-16)[112].

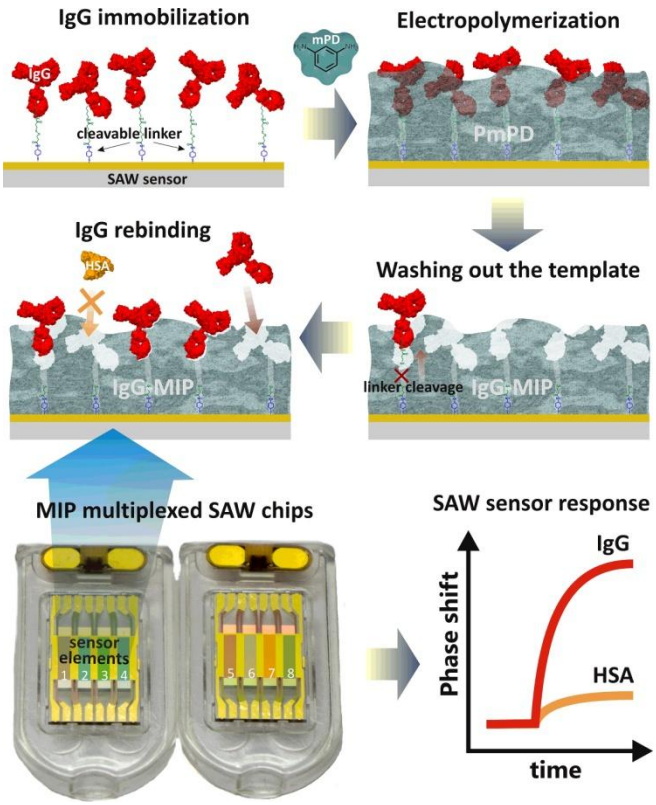


Figure 1-16. Représentation schématique de la synthèse, et du concept du capteur SAW pour IgG[112].

1.2.4 MIPs et capteurs électrochimiques

Dans le souci d'optimiser régulièrement les paramètres de détection des capteurs, les transducteurs utilisant les techniques électrochimiques suscitent un intérêt particulier en raison de leur simplicité d'analyse, d'une bonne sensibilité (entre le µM et pM) et du faible coût des analyses associées à une mise en œuvre souvent aisée. L'intérêt porté à l'association MIP-détection électrochimique est croissant depuis une vingtaine d'année et finalement supérieur à l'association MIP-détection par fluorescence.

Comme pour la détection par fluorescence, le cas le plus simple est lorsqu'une cible possède des propriétés rédox. Dans cette situation, le rôle du MIP se limite au piégeage de la cible. L'avantage ici réside dans le fait que la réponse électrochimique est sans ambigüité vis-à-vis de la présence ou pas de la cible. N.Kirsch et al. ont utilisé cette stratégie pour détecter le 1-hydroxypyrène[113] (Figure 1-17). Le 1-hydroxypyrène est adsorbé à travers les cavités empreintes des MIPs, puis relargué pour être détecté par voltampérométrie cyclique. Cette voie, bien qu'efficace, nécessite cependant

plusieurs étapes dont un lavage minutieux après mise en contact avec l'échantillon pour éliminer toutes espèces présentes et susceptible d'être électroactives, avant de procéder à l'extraction de la cible pour la détecter en solution par mesure électrochimique.

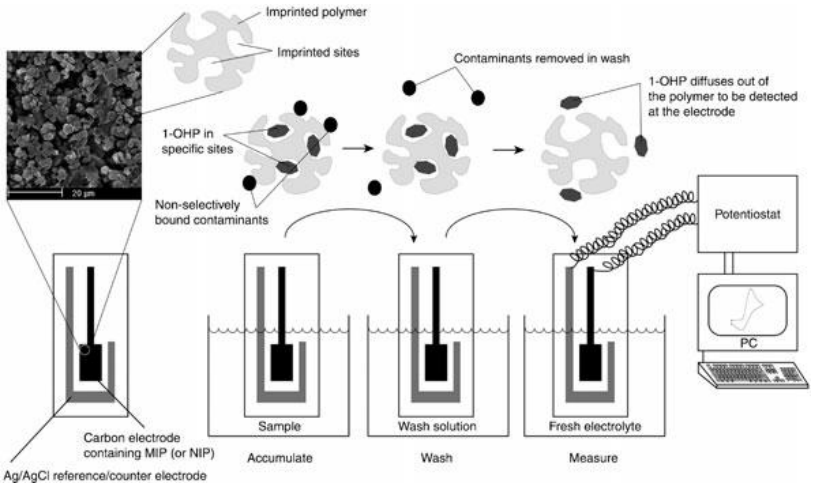


Figure 1-17. Représentation schématique de dispositif de mesure par électrochimie du 1-hydroxypyrène[113].

Pour éviter le lavage, l'extraction de la cible peut être réalisée par une espèce compétitrice non électroactive ajoutée en excès au milieu. En effet, après adsorption, les espèces, éventuellement électroactives, présentes dans le milieu à analyser vont participer au courant d'équilibre. L'introduction d'un large excès d'une espèce compétitrice va provoquer le relargage de la cible électroactive adsorbée et de ce fait entrainer une variation du courant d'équilibre. Dans ce système, le courant n'est modifié que si la cible électroactive est relarguée, donc uniquement si elle était présente initialement dans le milieu étudié. Cette stratégie a été appliquée à la détection de la morphine, avec des MIPs immobilisés dans un gel d'agarose sur une électrode de platine et en utilisant la codéine comme espèce compétitrice. La limite de détection rapportée était de 0,05 mg/L de morphine[114]. Sur la même stratégie, un capteur pour le clenbutérol a été rapporté avec l'isoxsuprine comme espèce compétitrice[115]. Ce système basé sur un mélange MIP/graphite a conduit à une limite de détection de 20 nM.

Comme dans le cas de la chimiluminescence, le piégeage de la cible peut être suivi de façon indirecte par l'apparition d'un système rédox, le plus souvent par l'établissement d'un cycle catalytique lié à la régénération du centre catalytique. Dans

ce cas, une relation directe existe donc entre la mesure électrochimique et la quantité de cible catalysée. Ce principe, très largement décrit dans les capteurs basés sur la glucose oxydase, est peu rapporté avec des MIPs. La détection ampérométrique du fructosylamine oxydé catalytiquement à l'aide d'un système MIPs préparés à partir du polyvinylimidazole/pâte de carbone a été décrit en 2003 (Figure 1-18)[116,117].

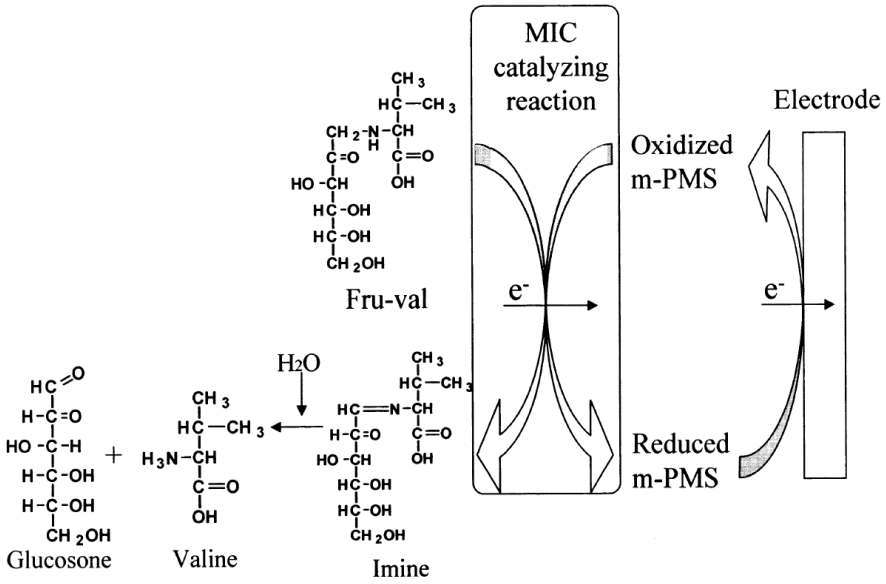


Figure 1-18. Oxydation catalytique du fructosylamine (Fru-val) avec un MIP [116,117].

Encore une fois comme dans le cas de la détection optique, d'autres stratégies doivent être mise en place pour des cibles ne présentant pas de propriétés rédox particulières. Une première approche réside dans la méthode électrochimique elle-même qui est souvent basée sur la diffusion des ions en solutions[118], c'est-à-dire la conductimétrie, la potentiométrie ou l'impédance. Des dérivés d'aminoacides ont ainsi été détectés avec des MIPs obtenus à partir d'acide méthacrylique et de diméthacrylate d'éthylèneglycol[29]. La L-phénylalanine anilide[119] ou encore l'atrazine[120,121] ont également été détectées par ces méthodes avec des MIPs préparés à partir de monomères et d'agents réticulants sans propriétés rédox particulières. Cependant, il faut noter des limites de détection modeste, de l'ordre de 0,01 à 0,5 mg/L, par exemple pour l'atrazine.

Une autre approche basée sur l'utilisation de polymère organique conducteur d'électricité est largement présente dans la littérature notamment en raison de sa facilité de mise en œuvre[122]. En effet, la préparation de ces capteurs se fait en général

par électropolymérisation d'un monomère électropolymérisable[123] tel que le 3,4-éthylènedioxythiophène et l'acide acétiquethiophène[124], le pyrrole[125,126], l'aniline[127], l'o-phénylenediamine[126,128,129], le phénol[130], en présence de la cible sur une surface d'or, d'ITO (oxyde d'indium et d'étain) ou sur des silicones[131] prétraitées par un dépôt d'une fine couche d'or. Après relargage, le système est utilisable directement, le polymère électrogénéré ayant le double rôle de piéger la cible et de transducteur en transmettant l'information de la présence ou pas de la cible, directement par ses propriétés électrochimiques. Un capteur de l'acide 2,4-dichlorophénoxyacétique a été rapporté à partir de l'électropolymérisation de l'o-phénylènediamine, sur une surface d'électrode d'or[132]. La morphine a également été détectée par cette voie avec une limite de détection de 0,285 µg/L pour une électrode modifiée de diamètre 1 cm² obtenue par électropolymérisation de l'éthylènedioxythiophène[133]. Ce même monomère a été utilisé pour préparer un capteur de l'atrazine associé à une détection par voltampérométrie cyclique (Figure 1-19)[124].

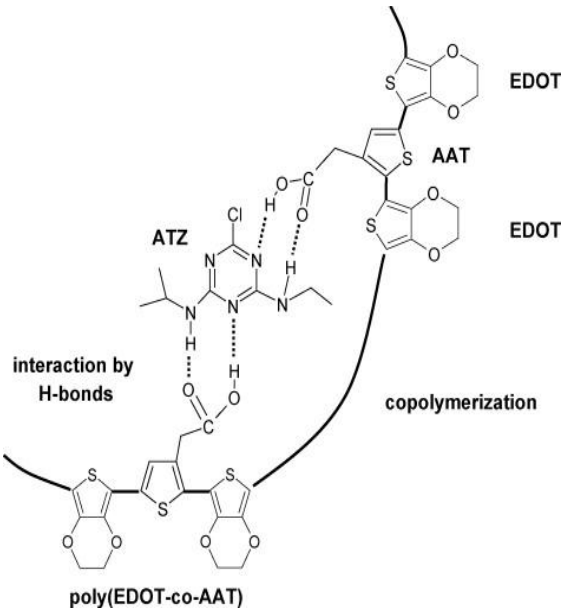


Figure 1-19. L'interaction entre l'atrazine et le copolymère EDOT-acide thiophène acétique[124].

Ces mêmes auteurs, ont plus récemment associé les propriétés des ondes acoustiques à celles de l'électrochimie, qu'ils ont appelé ESAW, pour la détection de l'atrazine (Figure 1-20)[134], molécule modèle dans leurs travaux. Ce capteur combinant les deux types de transduction a été fabriqué par co-électropolymérisation de l'acide thiophène-acétique et de l'éthylènedioxythiophène sur la partie piézo-électrique

basée sur du tantalate de lithium ($LiTaO_3$). Une détection de l'ordre de 21,7 µg/L d'Atrazine a été rapportée pour ce capteur.

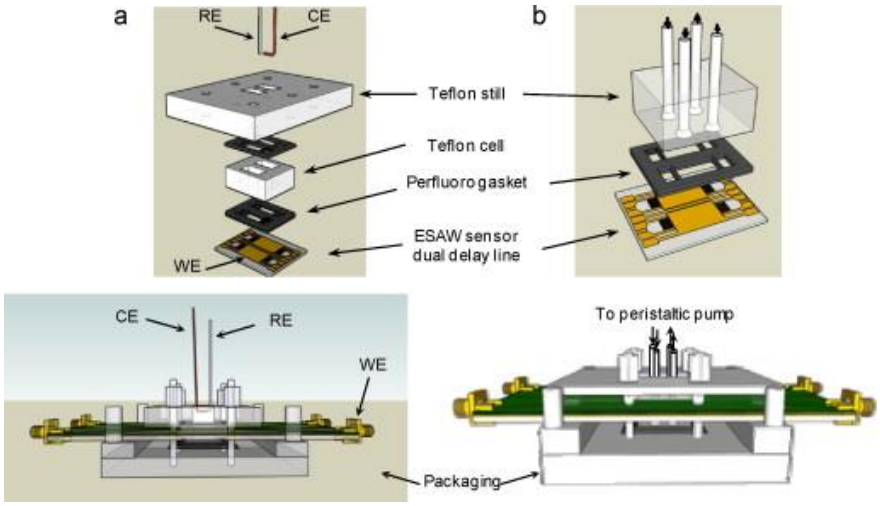


Figure 1-20. Représentations schématiques des différentes parties du système de détection. (a) pour la détection électrochimique, WE, CE et RE sont respectivement les électrodes de travail, de comptage et de référence; (b) pour la détection par onde acoustique[134].

Les polymères conducteurs d'électricité présentent de réels avantages en termes de facilité de préparation et d'utilisation dans le domaine des capteurs basés sur des empreintes moléculaires. Cependant, si le phénomène d'adsorption modifie peu le film de polymères conducteurs d'électricité alors leurs propriétés électrochimiques sont peu affectées avec pour conséquence une détection difficile. Par ailleurs, lorsqu'ils ne sont pas réticulés, ils peuvent présenter des inconvénients pour maintenir l'empreinte, surtout en cas de stockage long.

Pour pallier à ce problème, une alternative a été proposée dans le cas des MIPs obtenus à partir d'un monomère fonctionnel et d'un agent réticulant. Cette alternative consiste à remplacer le monomère fonctionnel par un monomère ayant des propriétés rédox comme décrit par le brevet N° FR3000076 et la thèse de D.Udomsap (Figure 1-21)[135–137]. Dans cette approche, développée au sein du laboratoire MAPIEM, le vinylferrocène a été choisi pour jouer le double rôle de monomère fonctionnel et de traceur rédox, l'objectif étant de détecter la cible, le benzo(a)pyrène, grâce à la modulation du signal rédox du ferrocène. Une limite de détection de 22,7 µg/L a été déterminée. L'intérêt de cette approche a été confirmé

avec la détection de la vancomycine, avec une limite de détection de l'ordre de 0,1 g/L[121].

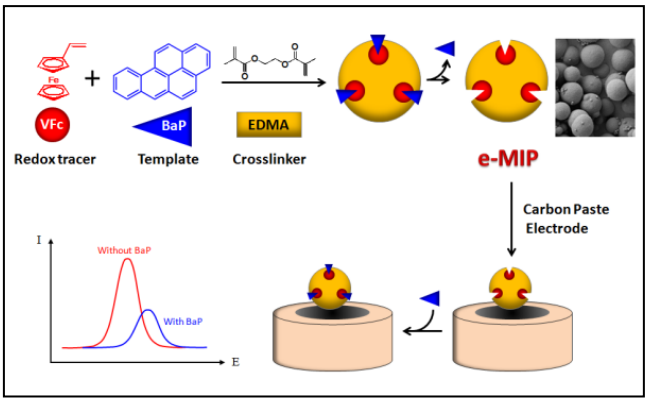


Figure 1-21. Représentation schématique de la synthèse du MIP intégrant le vinyl-ferrocène, de son intégration dans une électrode à pâte de carbone et des réponses électrochimiques résultantes[137].

1.3 Positionnement du travail

Ce travail reprend la stratégie consistant à intégrer, lors de la synthèse des MIPs, un monomère fonctionnel ayant des propriétés rédox pour la détection du bisphénol A (Figure 1-22). Après obtention et caractérisation de ces nouveaux MIPs électrochimiques, dénommés e-MIP, leur intégration dans des électrodes interdigitées, des transistors à effet de champs et des électrodes sérigraphiées ont été envisagées et réalisées.

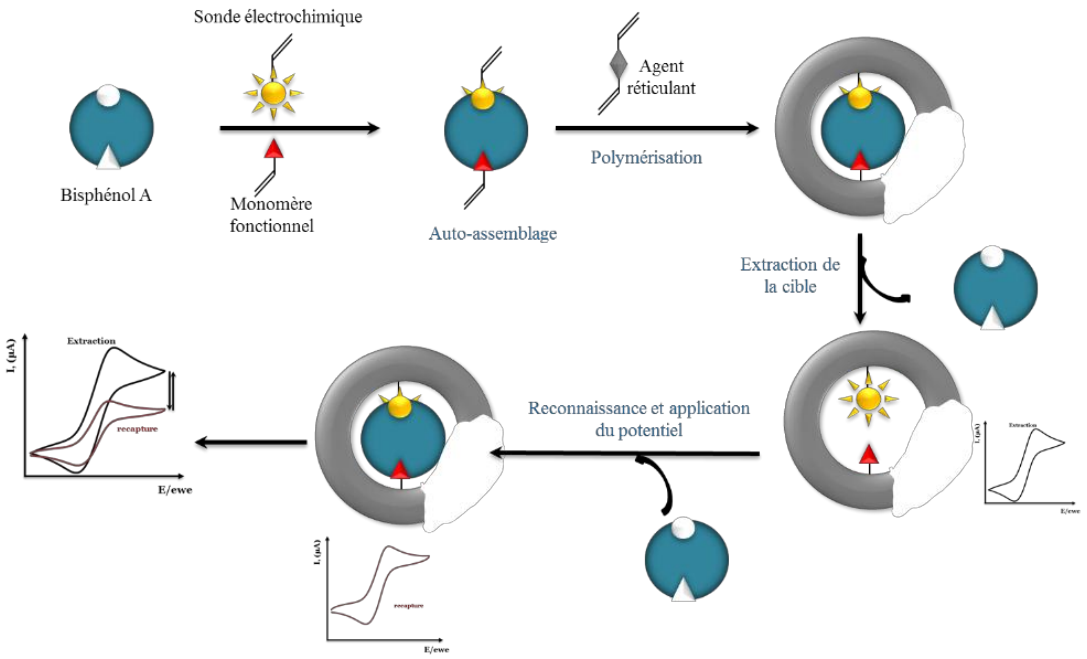


Figure 1-22. Schéma de principe pour la synthèse d'un polymère à empreintes moléculaires électrochimiques et son utilisation pour détecter le bisphénol A.

2 Nouveaux polymères à empreintes moléculaires électrochimiques pour la détection du Bisphénol A

Table des Matières

2.1 LE BISPHENOL A 49
2.2 DETECTION DU BPA 50
2.2.1 TECHNIQUES USUELLES DE DETECTION DU BPA 50
2.2.2 LES POLYMERES A EMPREINTES MOLECULAIRES POUR LE BPA 51
2.3 ELABORATION D'E-MIPS POUR LE BPA 54
2.3.1 CHOIX DES MONOMERES FONCTIONNELS ET DE L'AGENT RETICULANT 54
2.3.2 CHOIX DE LA TECHNIQUE DE POLYMERISATION 55
2.3.3 SYNTHESE DES E-MIPS/E-NIPS PAR POLYMERISATION PAR PRECIPITATION 56
2.4 CARACTERISATION DES E-MIPS 58
2.4.1 CARACTERISATION MORPHOLOGIQUE 58
2.4.1.1 Caractérisation par microscopie électronique à balayage 58
2.4.1.2 Propriétés d'adsorption et désorption du diazote (BET) 59
2.4.2 SPECTROSCOPIE IRTF, ANALYSE ELEMENTAIRE ET ANALYSE THERMIQUE 62
2.4.2.1 Caractérisation par spectroscopie IRTF 62
2.4.2.2 Caractérisation par analyse élémentaire 63
2.4.3 ETUDE DES PROPRIETES DE RETENTION DU BPA PAR LES POLYMERES 64
2.4.3.1 Caractérisation du BPA par HPLC-MS 64
2.4.3.2 Cinétique d'adsorption des e-MIP-Fc-VP et e-MIP-Fc 65
2.4.3.3 Etude des isothermes des e-MIPs par HPLC-MS 66
2.4.3.4 Application des modèles théoriques d'adsorption 67
2.4.3.5 Etude de la capacité sélective des e-MIPs par HPLC-MS 70
2.5 CONCLUSION 73

2.1 Le Bisphénol A

Le 4,4'-dihydroxy-2,2-diphénylpropane, plus couramment appelé Bisphénol A (BPA), est un composé de synthèse de la famille des bisphénols préparé à partir de deux équivalents de phénol et d'un équivalent d'acétone (Figure 2-1).

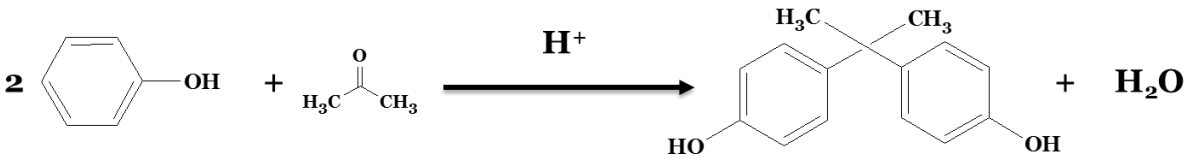


Figure 2-1. Schéma de synthèse du BPA

Lors de sa découverte par le chimiste A.P.Dianin en 1891[138], le BPA présentait un grand intérêt pour ses capacités œstrogéno-mimétiques (capacité à se fixer sur les récepteurs alpha et béta des œstrogènes) dans la recherche d'hormones de synthèse pour limiter les avortements spontanés. Toutefois, l'efficacité du BPA était 1000 fois plus faible que celle de l'œstradiol qui est l'hormone qu'il est censé imiter. Il sera délaissé au détriment du distilbène ou encore du diéthylstibestrol (DES), composé qui s'est révélé plus puissant. Le BPA sera finalement repris comme unité monomérique principale par les industries plastiques pour la synthèse des résines époxy, des polycarbonates, des polyesters, des polysulfones et des vinylesters. Toutes ces résines peuvent rentrer en contact direct avec l'organisme, comme c'est le cas pour les amalgames dentaires (composites à base de résine)[139], ou indirect en tant que matériaux en contact avec des denrées alimentaires (intérieurs des boites de conserve, réservoirs de stockage d'eau potable, bassins de rétention,...)[140,141]. On le trouve également, dans l'industrie du bâtiment pour des vitrages en polycarbonates ou des câbles d'alimentation électrique[142]. Aucune source naturelle de rejet du BPA dans l'environnement n'est connue[143].

Le BPA est considéré comme un perturbateur endocrinien car c'est une substance exogène qui peut mimer, bloquer ou modifier les fonctions endocriniennes et entrainer des effets néfastes au niveau de l'organisme. L'un des premiers rapports suggérant une perturbation endocrinienne par ces composés exogènes remonte en 1993 et a été établi par T.Colborn[144]. En 1999, F.S.vom Saal publie un article mettant en évidence les dangers du BPA à faible dose sur les organes reproducteurs males de la souris[145]. Depuis 2002, l'European Food Safety Authority (EFSA), l'Agence

Nationale de Sécurité Sanitaire de l'alimentation et de l'environnement et du travail (ANSES), ainsi que le Bureau de Recherche Géologique et Minière (BRGM) portent un intérêt particulier au BPA pour enrichir les informations quant à ces réels effets sur l'organisme humain et invitant ainsi à limiter son utilisation. Le 30 juin 2010 selon la loi française n°2010-729, la commercialisation et la suspension de tout conditionnement comportant du BPA et destiné à recevoir des produits alimentaires pour les nourrissons et enfants en bas âges a été votée. Cette mesure a été étendue à toute l'Europe à travers la directive européenne 2002/72/CE de 2011 relative aux matériaux et objets en matière plastique susceptible de rentrer en contact avec les denrées alimentaires. En 2012, la loi n°2012-1442 du 24 décembre modifie celle de 2010 pour étendre cette interdiction à la fabrication, à l'importation, l'exportation et à la mise sur le marché de tout conditionnement à vocation alimentaire contenant du BPA.

2.2 Détection du BPA

2.2.1 Techniques usuelles de détection du BPA

Le BPA peut être analysé directement à travers les méthodes analytiques usuelles (chromatographie liquide ou gazeuse couplée à la spectrométrie de masse, électrophorèse capillaire…). Toutefois, les échantillons subissent généralement au préalable des étapes de prétraitement à travers les techniques d'extraction par solvant (LLE), extraction en phase solide (SPE) et micro-extraction. Toutes ces méthodes peuvent présenter des avantages et des inconvénients comme avoir recours aux étapes de lavages supplémentaires dans le cas des matrices très complexes. Les méthodes d'extraction du BPA, bien que pouvant être des opérations simples, présentent toutefois un certain nombre d'inconvénients car elles prennent du temps, peuvent nécessiter des quantités importantes de solvant (pour la LLE), ou être parfois couteuse comme la SPE. F.Sun et al. ont répertorié un certain nombre d'avantages et inconvénients associés à ces techniques d'extraction[146].

Les techniques analytiques qui permettent de quantifier le BPA comme les techniques chromatographiques associées à des détecteurs UV, ou spectrométrie de masse peuvent entrainer un gain de temps puisqu'il s'agit souvent des méthodes automatisées. Elles permettent aussi d'atteindre des sensibilités de l'ordre du ng/L pour la technique de GC-MS couplée à la spectrométrie[147].

2.2.2 Les polymères à empreintes moléculaires pour le BPA

En complément des techniques de préparation des échantillons du BPA discutées précédemment, il y a aussi des techniques généralement appelées MIP-SPE qui utilisent les MIPs comme phase solide dans une extraction en phase solide. Etant donné que les polymères à empreintes moléculaires permettent la reconnaissance sélective du BPA[148,149], ces techniques sont de plus en plus sollicitées puisqu'elles permettent souvent de ne plus avoir recours aux étapes de lavages supplémentaires dans le cas des matrices très complexes. Les études rapportées par F.Sun et al. regroupent les résultats obtenus dans le cadre de l'utilisation des MIPs pour le traitement d'échantillons de BPA et montre l'intérêt qui ne cesse de croitre pour l'utilisation de ces matériaux[146]. Selon ces résultats, l'utilisation des MIPs permet de recouvrir jusqu'à 100% de BPA[150] pour des détections limites comprises entre 0,2 nM et 0,5 nM (soient entre 45,7 ng/L et 114,1 ng/L)[151]. Le Tableau 1 regroupe les travaux basés sur l'utilisation de polymères à empreintes moléculaires pour le piégeage du BPA, ainsi que pour des échantillons réels. Ce tableau détaille pour la synthèse de ces polymères à empreintes moléculaires du BPA avec leurs conditions de synthèse (le type de monomère, l'agent réticulant, les solvants porogènes utilisés ainsi que le solvant de lavage).

Tableau 2-1. Conditions de synthèse des polymères à empreintes moléculaires spécifiques du BPA, techniques d'analyse utilisées, limite de détection.

Monomère	Agent réticulant	Solvant porogène	Solvant de lavage du MIP	Technique d'analyse du BPA	Q	IF	Interférents étudiés	Echantillons réels étudiés	Réf
FcMMA	TRIM	ACN	CH_3OH:CH_3COOH (9:1) et ACN	HPLC-UV	MIP : 5,33 mg/g NIP : 0,96 mg/g	3	3 HAPs, BPC, BPZ, 4-HAP	eau distillée, eau de rivière et eau de rivière riche en métaux traces et acide humique	[152]
4-VP ou MAA	TRIM	ACN	CH_3OH:CH_3COOH (9/1, v/v), lavé avec CH_3OH	HPLC-UV	MIP : $4{,}09.10^{-5}$ mol/g de BPA	2,92	HQ, C BPC, BPZ, E2, TBZ, HXZ, PNZ, FTF	légumes et boissons	[151]
acrylamide (AA)	DVB	C_6H_5-CH_3/ACN	CH_3OH:CH_3COOH (9/1, v/v), extraction au Soxhlet	HPLC-UV			phénol, diéthylstibestrol (DES)	urine de volontaire en bonne santé	[153]
4-VP ou MAA	EDMA or TRIM	huile minérale /toluène = 2:3 v/v)	CH_3OH:CH_3COOH (9:1 v/v), extraction au Soxhlet	HPLC-UV	MIP : 78,12 mg/g pour 4-VP-co-EDMA	4,83 pour 4-VP-co-EDMA	hexestrol, phénol, progestérone, HQ, E2	lait, urine de porc et viande de poulet	[154]
4-VP	TRIM	ACN	CH_3OH:CH_3COOH (9:1, v/v),	électrophorèse capillaire-UV		6,53	BPC, DES, HEX, p-Np	eau du robinet, eaux usées, eau du fleuve Yangtze, sol du fleuve Yangtze, crevettes et urine humaine	[155]
MAA ou 4-VP	DVB ou EDMA ou TRIM	ACN, toluène, eau (ACN pour 4VP-co-EDMA)	méthanol avec 10% d'acide acétique (v/v), méthanol (2),	HPLC-UV	21 % (4VP-co-EDMA) dans ACN et 22 %(4VP-co-TRIM)	3,21 à 2,09			[156]

acrylamide (AA)	DVB	Toluène et ACN (0/100, 15/85, 25/75, 30/70, v/v),	CH_3OH:CH_3COOH (9/1, v/v)	HPLC-UV			phénol, diéthylstibestrol (DES)	applications dans l'analyse de traces,	[157]
BADM et acrylonitrile	TRIM	ACN	Solution NaOH 1M	Spectroscopie UV-Vis					[158]
dansyl méthacrylate	TRIM	ACN		HPLC			BPC, BPZ, E2		[150]

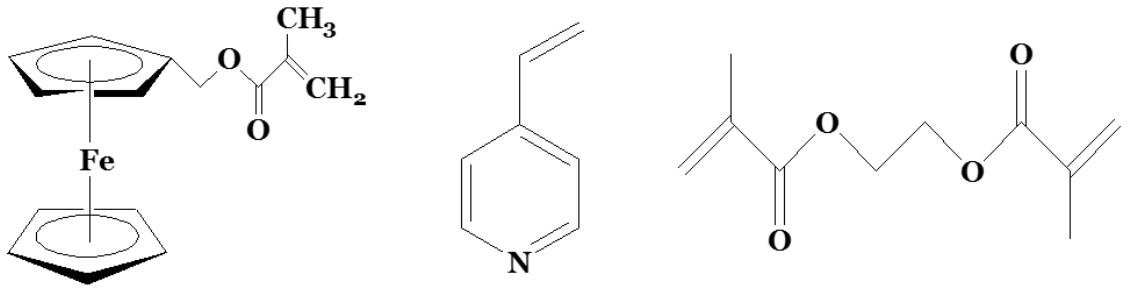
Q : capacité d'adsorption, Bisphénol A diméthacrylate (BADM), facteur d'empreinte (IF), 4-Vinylpyridine (4-VP), Bisphénol C (BPC), Bisphénol Z (BPZ), estradiol (E2), triméthylolpropane triméthacrylate (TRIM), tébuconazole (TBZ), acide méthacrylique MAA), hydrocarbure aromatique polycyclique (HAP), acétonitrile (ACN), hydroquinone (HQ), hexaconazole (HXZ), penconazole (PNZ), flutriafol (FTF), diéthylstibestrol (DES), hexoestrol (HEX), *p*-nitrophénol (p-Np), 4-hydroxyacetophénone (4-HAP).

2.3 Elaboration d'e-MIPs pour le BPA

Tous les e-MIPs et e-NIPs ont été préparés par polymérisation par précipitation. En effet, cette technique de polymérisation conduit facilement à des particules micrométriques sphériques après optimisation des conditions de solvant et de dilution et sans addition de tensioactif[159].

2.3.1 Choix des monomères fonctionnels et de l'agent réticulant

Dans un précédent travail réalisé au laboratoire, le vinylferrocène avait été utilisé pour détecter le benzo(a)pyrène[136] avec un taux d'incorporation de 16 à 20% dans les e-MIPs. Le choix du ferrocène avait été dicté par les interactions π-π possibles entre les cycles cyclopentadiényles et les cycles aromatiques de la cible et parce que le ferrocène est une sonde rédox appropriée car il peut s'oxyder facilement de façon réversible en ion ferrocénium stable[136]. Dans le cas présent, le méthacrylate de ferrocénylméthyle (FcMMA) a été choisi comme monomère fonctionnel (*Figure 2-2*). En effet, ce monomère, par ailleurs utilisé pour la détection électrochimique de 4-éthylphénol[160] et de la vancomycine[121] par le groupe de S.Piletsky, comporte un groupement polymérisable de type méthacrylate. Dans ce cas particulier, ce groupement pourrait être plus favorable à l'incorporation du ferrocène dans les e-MIPs. Il présentait, également l'avantage d'être commercialisé, contrairement au vinylferrocène qui doit être synthétisé. Toutefois, sa commercialisation ayant été stoppée au cours du travail de thèse, le FcMMA a été ensuite synthétisé selon un protocole déjà établi[161] et décrit dans la partie expérimentale.



Ferrocényl méthyl méthacrylate | **4-vinyl pyridine** | **éthylène glycol diméthacrylate**

Figure 2-2. Monomères et agent réticulant choisis pour la synthèse des e-MIPs/e-NIPs.

En complément du FcMMA, un couple e-MIP/e-NIP a été également synthétisé avec de la 4-vinylpyridine (4-VP) comme co-monomère fonctionnel pour augmenter la capacité d'interaction avec la cible notamment par des liaisons hydrogène supplémentaires. Cette propriété explique que ce composé soit souvent utilisé pour la synthèse des MIPs du BPA (Tableau 2-1). L'agent réticulant choisi a été le diméthacrylate d'éthylène glycol (EDMA), composé classiquement utilisé dans le domaine des MIPs.

2.3.2 Choix de la technique de polymérisation

La polymérisation par précipitation a été choisie sur la base de travaux précédents[136]. Cette technique permet d'utiliser des quantités importantes de solvant permettant ainsi de résoudre les problèmes de solubilité éventuels des cibles destinées à être imprimées et conduit à des particules sphériques. Cette polymérisation peut se faire avec un four d'hybridation ce qui permet un bon contrôle de l'agitation et de la température (Figure 2-3). L'agitation, lente (8 rpm) et régulière, permet d'éviter la coalescence des particules au fil du temps, ce qui améliore la sphéricité des particules. Enfin, plusieurs polymérisations peuvent être réalisée en simultané, donc dans les mêmes conditions. Le four d'hybridation utilisé dans ce travail de thèse est un modèle UVP HB-1000 Hybridizer du fournisseur UVP (Figure 2-3). Les tubes adaptés pour ce four sont en verre pyrex de 35 mm de diamètre pour un volume de 120 mL.

Il a été montré précédemment au laboratoire que l'utilisation de l'acétonitrile pour la copolymérisation du vinylferrocène avec l'EDMA conduit à l'obtention des particules assez homogènes avec un diamètre moyen d'environ 2 µm (Figure 2-4)[136]. C'est donc le solvant de polymérisation qui a été retenu pour la synthèse des e-MIPs.

Figure 2-3. Four d'hybridation UVP HB-1000 (www.uvp.com/hybridizer.html)

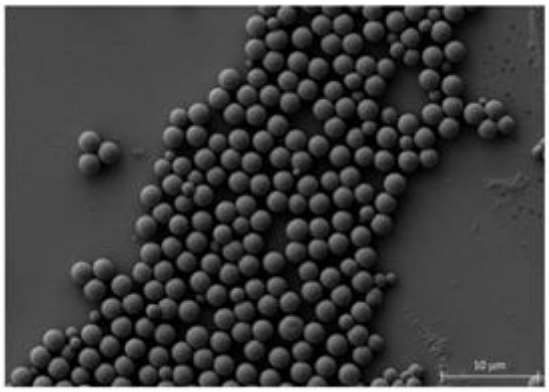


Figure 2-4. Image MEB des particules homogènes de vinylferrocène-EDMA obtenues par polymérisation par précipitation avec de l'acétonitrile[136].

2.3.3 Synthèse des e-MIPs/e-NIPs par polymérisation par précipitation

Deux types d'e-MIPs ont été synthétisés dans ce travail :

- les e-MIP-Fc à partir du FcMMA et de l'EDMA en présence du BPA,

- les e-MIP-Fc-VP à partir du FcMMA, de la 4-VP et de l'EDMA, également en présence BPA.

Pour chaque polymère imprimé, un polymère de référence a été synthétisé afin d'évaluer l'effet d'empreinte. Ils sont qualifiés de polymère non imprimés car ils sont préparés en l'absence de BPA et sont identifiés respectivement par e-NIP-Fc et e-NIP-Fc-VP. La polymérisation par précipitation a été effectuée dans des tubes

différents à 5 reprises en moyenne à des proportions de réactifs spécifiques, définies dans le

Tableau 2-2, à l'aide du four d'hybridation décrit plus haut et dans l'acétonitrile.

Tableau 2-2. Paramètres de synthèse des MIP pour le BPA

	FcMMA (mol éq.)	4-VP (mol éq.)	EDMA (mol éq.)	BPA (mol éq.)	Rendement %	Aspect
e-MIP-Fc-VP	5	5	25	1	87	Poudre orange
e-MIP-Fc	5	0	25	1	86	Poudre jaune
e-NIP-Fc-VP	5	5	25	0	87	Poudre orange
e-NIP-Fc	5	0	25	0	86	Poudre jaune

Les polymères sont obtenus après 24 heures à 80°C. Cette température est atteinte avec une rampe progressive de 5°C toutes les 15 minutes en partant de 30°C. Cette étape de synthèse est suivie par plusieurs cycles de lavage des particules en vue d'éliminer, dans un premier temps, avec l'acétonitrile, les monomères qui n'ont pas polymérisés. Le BPA est ensuite éliminé dans une seconde étape de lavage à l'aide d'un mélange de méthanol/acide acétique (9 :1, v/v). Le lavage est achevé par une étape de contrôle de l'efficacité des deux précédentes séries de lavage à l'aide d'un lavage à l'acétone avant toutes caractérisations. L'absence de monomère résiduel et de BPA est contrôlée par analyse par spectroscopie UV-visible des liquides surnageant de lavage.

2.4 Caractérisation des e-MIPs

2.4.1 Caractérisation morphologique

2.4.1.1 Caractérisation par microscopie électronique à balayage

L'étude au microscope électronique à balayage (MEB) des particules de polymères synthétisées par polymérisation par précipitation permet de mettre en évidence la sphéricité des particules obtenues (Figure 2-5). Les clichés MEB révèlent des particules dont les tailles varient de quelques centaines de nanomètres au micron pour les e-(MIP/NIP)-Fc, et de quelques centaines de nanomètres à quelques micromètres (5 µm) pour les e-(MIP/NIP)-Fc-VP.

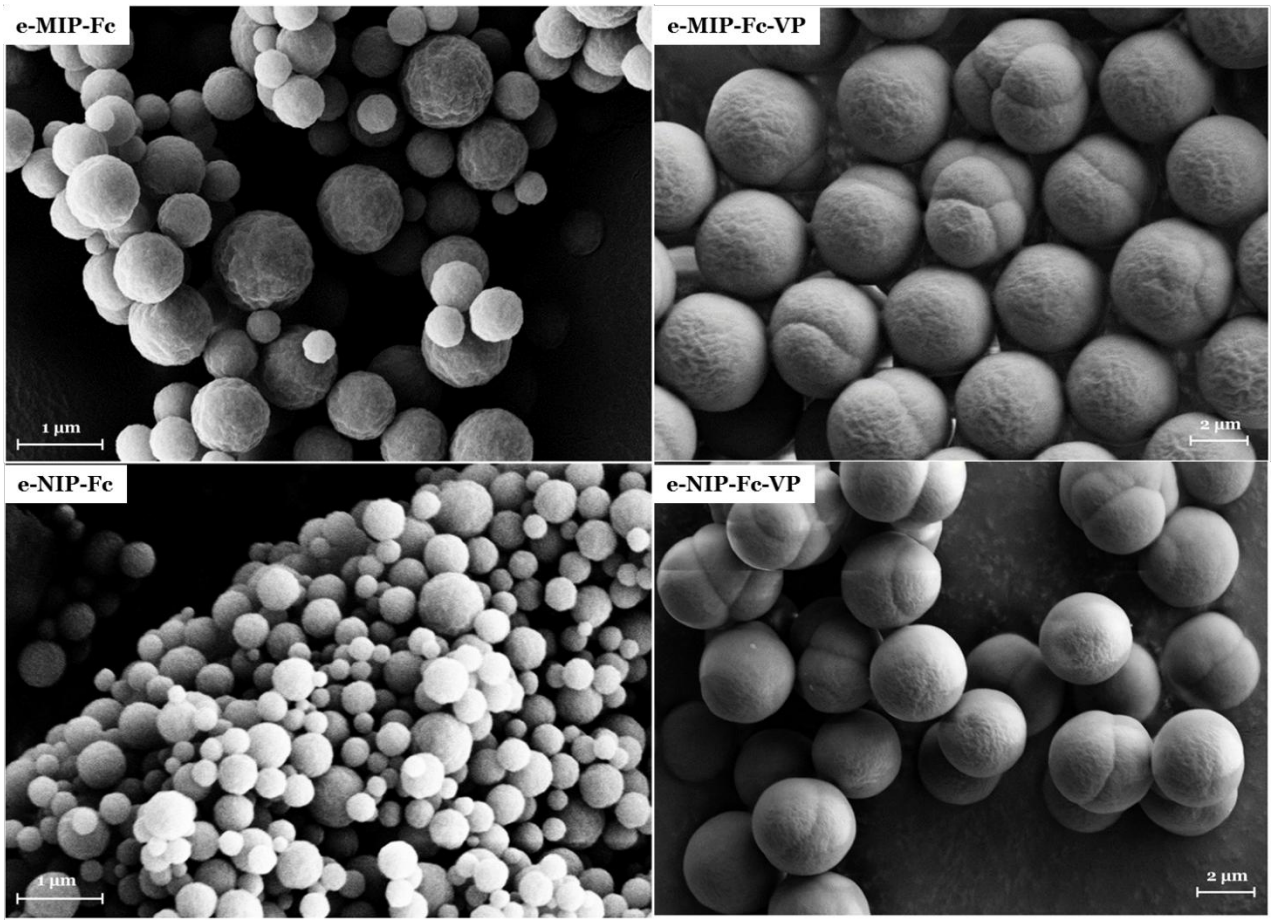


Figure 2-5. Images MEB des e-MIP-Fc et e-MIP-Fc-VP et les poly e-NIP-Fc et e-NIP-Fc-VP non imprimés.

Le traitement des clichés MEB permet de déterminer le diamètre moyen (D_n) et le coefficient de variation (CV) pour évaluer la polydispersité des particules de polymères pour un échantillon d'au moins 150 particules (Tableau 4).

Tableau 2-3. Diamètre moyen (D_n) et coefficient de variation (CV) des particules

Polymères	D_n (µm)	CV (%)
e-MIP-Fc	0,64	21
e-NIP-Fc	0,44	30
e-MIP-Fc-VP	4,4	15
e-NIP-Fc-VP	3,6	10

Les particules d'e-(MIP/NIP)-Fc sont sphériques avec une distribution en taille plus hétérogène que les polymères contenant la 4-VP. L'analyse de ces images MEB conduit à la conclusion que l'ajout de 4-VP permet non seulement d'augmenter la taille moyenne des particules mais aussi de les rendre plus uniforme (Tableau 2-3).

2.4.1.2 Propriétés d'adsorption et désorption du diazote (BET)

La porosité a également été étudiée par des expériences d'adsorption et désorption du diazote. Ces expériences ont été menées à l'Institut des Recherches et Développement en Chimie et Pétrochimie (INCDCP-ICECHIM) de Bucarest en Roumanie. La Figure 2-6 présente les isothermes d'adsorption et désorption obtenues pour les différents e-MIP/e-NIP.

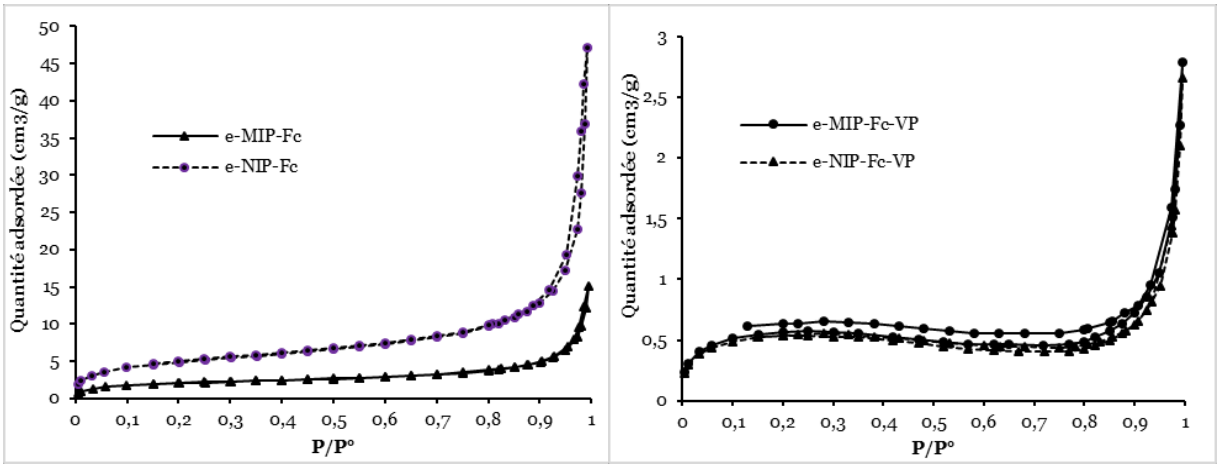


Figure 2-6. Isothermes d'adsorption et désorption du diazote des polymères (a) e-(MIP/NIP)-Fc, et (b) e-(MIP/NIP)-Fc-VP.

Selon la classification IUPAC[162,163], les isothermes peuvent être réparties en six groupes. Ces différents groupes permettent de décrire la nature des pores du support solide étudié, leur distribution et la nature des interactions entre le gaz et le support solide. Les isothermes des polymères étudiés dans ce travail (Figure 2-6) sont caractéristiques de manière générale du type II, c'est-à-dire de particules non poreuses ou macroporeuses. En effet, les polymères ne présentent pas d'adsorption de monocouche de gaz clairement identifiée surtout pour les e-(MIP/NIP)-Fc. Toutefois la présence d'un plateau après l'adsorption de la monocouche pour les e-MIP-Fc est plutôt caractéristique des particules microporeuses.

Les surfaces spécifiques mesurées pour les particules d'e-MIP-Fc et d'e-MIP-Fc-VP sont plutôt faibles (Tableau 2-4), et à peine supérieures aux surfaces calculées à partir du modèle des sphères dures (Equation 2-1). Ceci confirme que les copolymères sont non mésoporeux et que leur surface spécifique est liée à leur faible taille. Cela peut s'expliquer par l'utilisation de l'acétonitrile comme solvant de polymérisation par précipitation. En effet, bien que l'acétonitrile soit un solvant intéressant pour cette technique de polymérisation, car il permet l'obtention de particules sphériques, sa compatibilité thermodynamique avec le poly(EDMA) n'est pas très bonne, ce qui conduit à des polymères de faible porosité intrinsèque[164,165]. En outre la présence de

4-VP conduit à des particules de plus grandes tailles réduisant de ce fait la surface spécifique.

$$S_{calc} = \frac{6}{\rho \times D_n} \qquad \text{Equation 2-1}$$

Avec S_{calc}, la surface calculée avec l'hypothèse que les particules peuvent être considérées comme des sphères dures, ρ la densité du polymère prise pour 1 cm³/g et D_n le diamètre moyen déterminé sur un échantillon d'au moins 150 particules.

Tableau 2-4. Surfaces spécifiques et volumes poreux des différents e-MIP et e-NIP.

Polymères	Dn (MEB), µm	Scal, m²/g	SBET, m²/g	Vp, cm3/g
e-MIP-Fc	0,66 ± 0,30	10	9	0,02
e-NIP-Fc	0,44 ± 0,20	14	15	0,03
e-MIP-Fc-VP	4,40 ± 0,66	1,4	2,03	0
e-NIP-Fc-VP	3,60 ± 0,36	1,7	1,94	0

2.4.2 Spectroscopie IRTF, analyse élémentaire et analyse thermique

2.4.2.1 Caractérisation par spectroscopie IRTF

La spectroscopie Infra-Rouge à Transformée de Fourrier (IRTF) a été utilisée pour caractériser les polymères et confirmer plus spécifiquement l'incorporation du monomère à base de ferrocène ainsi que l'élimination du BPA à l'issue des étapes de lavage (Figure 2-7)[166]. Des bandes distinctes du squelette poly(EDMA) sont observées sur tous les spectres des polymères : bande d'étirement C=O carbonyle intense à 1727 cm^{-1} (bande 11) et bandes d'étirement asymétriques et symétriques C-O-C ester à 1255 (bande 4) et 1150 cm^{-1} (bande 3) respectivement. Les bandes de vibration de déformation C-H des groupements $-OCH_2$ et $-CH_3$ de l'EDMA sont également présentes à 1465 cm^{-1} (bande 7) et 1388 cm^{-1} (bande 5), ainsi que la bande à 1637 cm^{-1} (bande 10) caractéristique des groupes vinyles CH_2=CH- non polymérisés. Les bandes d'étirement C=C et C=N du cycle de la 4-VP sont identifiées à 1601 (bande 9), 1560 (bande 8) et 1420 (bande 6) cm^{-1}. Par comparaison avec le spectre du poly(EDMA-*co*-VP), la présence du ferrocène est mise en évidence par la bande de vibration symétrique dans le plan à 1003 cm^{-1} (bande 2) et la bande de vibration Fe-cycle aromatique à 484 cm^{-1} (bande 1). L'élimination correcte du BPA des e-MIPs a été validée par l'absence de toute bande caractéristique majeure du BPA dans les spectres des e-MIPs lavés et par la grande similitude des spectres des e-MIPs lavés et e-NIPs correspondants.

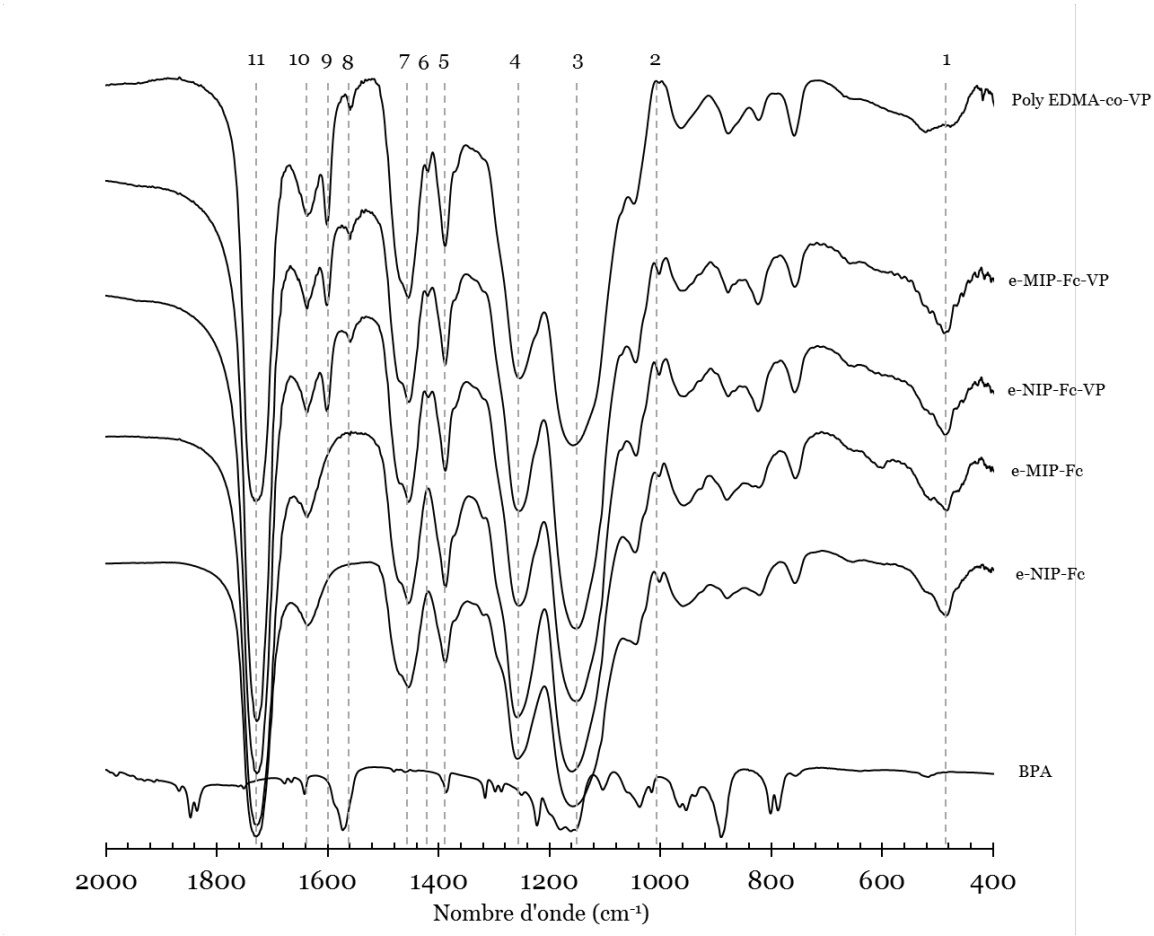


Figure 2-7. Spectres infra-rouge des e-MIP-Fc/e-NIP-Fc et e-MIP-Fc-VP/e-NIP-Fc-VP après lavage, du poly(EDMA-co-VP) et du BPA.

2.4.2.2 Caractérisation par analyse élémentaire

L'incorporation du monomère ferrocényle à l'intérieur des e-MIP/e-NIP a également été vérifiée par analyse élémentaire à travers la détermination de la fraction massique de fer et de sa teneur en carbone (Tableau 2-5 et Annexe 6-2 et Annexe 6-3). Les résultats confirment que le monomère est incorporé à environ 28-29%, ce qui signifie que la sonde redox est bien présente dans les e-MIP/e-NIP. Cette présence de fer confirme donc l'attribution du pic du Fe-cycle aromatique mis en évidence en IRTF à 484 cm^{-1}.

Tableau 2-5. Résultat du taux d'incorporation expérimental du ferrocène dans le réseau polymère comparé aux taux théoriques.

	e-MIP-Fc-VP		e-NIP-Fc-VP		e-MIP-Fc		e-NIP-Fc	
	Exp	Théo	Exp	Théo	Exp	Théo	Exp	Théo
C (%w/w)	59,08	62,59	58,88	62,59	57,85	61,17	57,49	61,17
H (%w/w)	6,53	6,74	6,48	6,74	6,65	6,74	6,65	6,74
N (%w/w)	0,18	1,01	0,16	1,01	0,18	0	0,18	0
Fe (%w/w)	1,17	4,05	1,13	4,05	1,22	4,38	1,4	4,38
TI (FcMMA, %)	29	100	28	100	28	100	32	100

Exp : expérimental, Théo : théorique, TI : taux d'incorporation

2.4.3 Etude des propriétés de rétention du BPA par les polymères

L'étude des propriétés de rétention est basée sur l'étude de la capacité de reconnaissance du BPA par le polymère à travers les sites de reconnaissance. Cette étude s'effectue généralement en trois étapes. Une étude cinétique pour déterminer le temps optimal de reconnaissance du BPA par les e-MIPs, une seconde étape qui permet d'étudier les isothermes d'adsorption et une dernière étape pour étudier la sélectivité du BPA par rapport à des espèces interférentes.

2.4.3.1 Caractérisation du BPA par HPLC-MS

Avant de procéder à la caractérisation des e-MIPs pour le BPA, il est important de choisir la technique de caractérisation de la cible en solution. Selon les études menées sur les MIPs pour le BPA, la caractérisation par HPLC couplée à la spectrométrie de masse ou à la spectroscopie UV-visible est la plus utilisée. Dans ce travail, la chromatographie couplée à la spectrométrie de masse a été utilisée. La détection du BPA dépend du mode de fragmentation utilisé en spectrométrie de masse et de la

nature du solvant utilisé (Annexe 6-1). Pour améliorer la sensibilité de détection du BPA, un tampon a été utilisé pour faciliter sa déprotonation[167]. Ne sachant pas le mode de fragmentation adapté pour les interférents, il a été nécessaire d'alterner entre les deux modes d'ionisation en négatif/positif. La détection du BPA en spectrométrie de masse se fait plus couramment à travers le fragment généré M-H de masse m/z= 227 (Annexe 6-1).

2.4.3.2 Cinétique d'adsorption des e-MIP-Fc-VP et e-MIP-Fc

L'étude cinétique des polymères est effectuée en mélangeant en batch une quantité de polymère de 5 mg avec 5 mL d'une solution de BPA (eau/acétonitrile, 9 :1, v/v) de concentration 1 mg/L (4,38 µmol/L). Les mesures en HPLC-MS de la concentration de BPA à différents temps sur une plage de 24h donnent les résultats de la Figure 2-8.

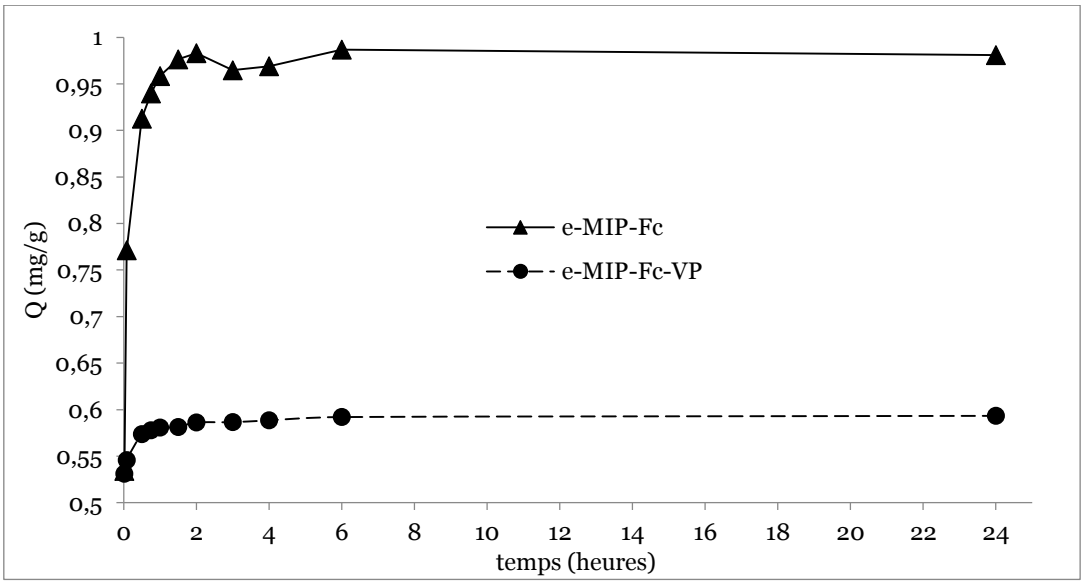


Figure 2-8. Cinétique d'adsorption du BPA par les polymères e-MIP-Fc et e-MIP-Fc-VP. 5 mg d'e-(MIP/NIP) dans 5 mL de BPA (eau/acétonitrile, 9 :1, v/v) à 1 mg/L en agitation pendant 24 heures.

Cette cinétique permet de définir un temps optimal de saturation de la résine par le BPA de 6h. La capacité d'adsorption a été calculée (*Equation 1-1*). Selon ces résultats, l'adsorption pour l'e-MIP-Fc est plus importante avec une capacité d'adsorption de 0,98 mg/g alors que celle de l'e-MIP-Fc-VP est de 0,6 mg/g.

2.4.3.3 Etude des isothermes des e-MIPs par HPLC-MS

Le protocole expérimental utilisé pour l'étude des isothermes est identique à celui utilisé pour la cinétique, à la seule différence que 5 mg de polymères sont mis en contact avec cette fois 5 mL des solutions de BPA (eau/acétonitrile, 9 :1, v/v) de concentrations croissantes comprises entre 0-50 mg/L (soit 0-219 µmol/L) pendant 24 heures sous agitation. La concentration de BPA à l'équilibre est mesurée par HPLC-MS, ce qui permet de tracer la capacité d'adsorption Q en fonction de la concentration d'équilibre pour les deux polymères, e-MIP-Fc et e-MIP-Fc-VP (Figure 2-9). Le même protocole d'analyse est également appliqué en parallèle aux polymères non imprimés correspondants pour avoir une référence par rapport au processus d'adsorption et pourvoir déterminer le facteur d'empreinte.

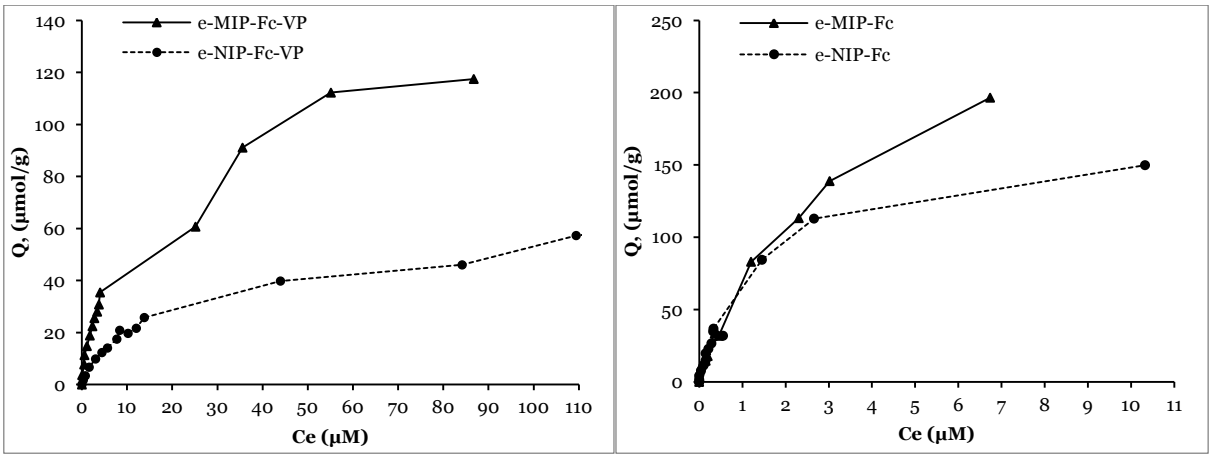


Figure 2-9. Isothermes d'adsorption du BPA par les polymères e-(MIP/NIP)-Fc et e-(MIP/NIP)-Fc-VP dans un mélange eau/acétonitrile, 9 :1, v/v

L'évaluation de la capacité d'adsorption à travers les isothermes entre les polymères imprimés et non imprimés qui sont de 117,5 /57,3 µmol/g (26,8/13,1 mg/g) et 196,6/149,9 µmol/g (44,7/34,2 mg/g) pour l'e-(MIP/NIP)-Fc-VP et l'e-(MIP/NIP)-Fc. En comparaison avec les données de la littérature recueillies dans le Tableau 2-1, ces polymères présentent une très bonne capacité d'adsorption. Etant donné que celles des polymères non-imprimés ne sont toutefois pas négligeables, ces résultats confirment dont la présence d'une adsorption non spécifique qui conduit à des facteurs d'empreinte de 2,05 et 1,31 calculé selon l'*Equation 1-2* dans la gamme de ceux rencontrés dans la littérature compris entre 2,09 et 6,83 (Tableau 2-1).

La Figure 2-9 montre une adsorption plus importante pour les polymères imprimés que pour les polymères non imprimés. Par contre, l'adsorption à des concentrations

faibles de BPA (<1 µM) est identique pour les e-MIPs et les e-NIPs. En considérant qu'il n'y a pas d'empreinte pour le BPA sur les e-NIPs, cette adsorption identique pourrait être attribuée à une adsorption non spécifique. La distinction entre l'e-MIP et l'e-NIP se fait plus difficilement pour l'e-MIP-Fc alors qu'elle est rapide et plus facile pour l'e-MIP-Fc-VP par rapport à la concentration initiale (Annexe 6-4). L'explication viendrait du fait que les interactions créées par la présence de la 4-VP s'ajoutent à celles du FcMMA pour améliorer la reconnaissance du BPA pour l'e-MIP-Fc-VP contrairement à l'e-MIP-Fc pour lequel les interactions ne sont dues qu'aux interactions entre les cycles aromatiques du FcMMA et du BPA[168–170]. Ces résultats montrent par ailleurs, que bien que l'adsorption soit plus importante pour l'e-MIP-Fc, elle reste toutefois moins spécifique que l'adsorption observée pour l'e-MIP-Fc-VP. Cette explication est d'ailleurs confortée par ceux obtenus en cinétique qui ont montré que lorsque les deux polymères sont mis en contact avec des solutions de BPA de concentration identique, l'adsorption est plus importante pour l'e-MIP-Fc (0,96 mg/g) par rapport à l'e-MIP-Fc-VP (0,6 mg/g).

2.4.3.4 Application des modèles théoriques d'adsorption

La modélisation des isothermes d'adsorption précédentes à partir des modèles de Langmuir et de Freundlich permet de vérifier si l'adsorption du BPA est optimale pour les différents polymères de e-(MIP/NIP)-Fc et e-(MIP/NIP)-Fc-VP.

Le modèle de Langmuir utilise pour cela cinq hypothèses :

La capacité d'adsorption peut avoir une valeur maximale (Q_{max}).

Tous les sites sont équivalents.

Chaque site est occupé par une seule molécule.

L'énergie et l'encombrement stérique ne sont pas dépendants de la quantité adsorbée.

Le coefficient d'activité de surface est égal à 1 (adsorption homogène).

Ces hypothèses sont basées sur l'équation obtenue après linéarisation :

$$\frac{1}{Q} = \frac{1}{Q_{max} K_L C_e} + \frac{1}{Q_{max}} \qquad \text{Equation 2-2}$$

Avec : K_L le coefficient d'affinité d'adsorption, Q_{max} la capacité d'adsorption maximale à l'équilibre, Q la capacité d'adsorption et C_e la concentration à l'équilibre.

Le tracé de $\frac{1}{Q}$ en fonction de $\frac{1}{C_e}$ conduit à des droites de régression (Figure 2-10) dont la pente est égale à $\frac{1}{Q_{max} K_L}$ et $\frac{1}{Q_{max}}$ comme ordonnée à l'origine pour les différents polymères.

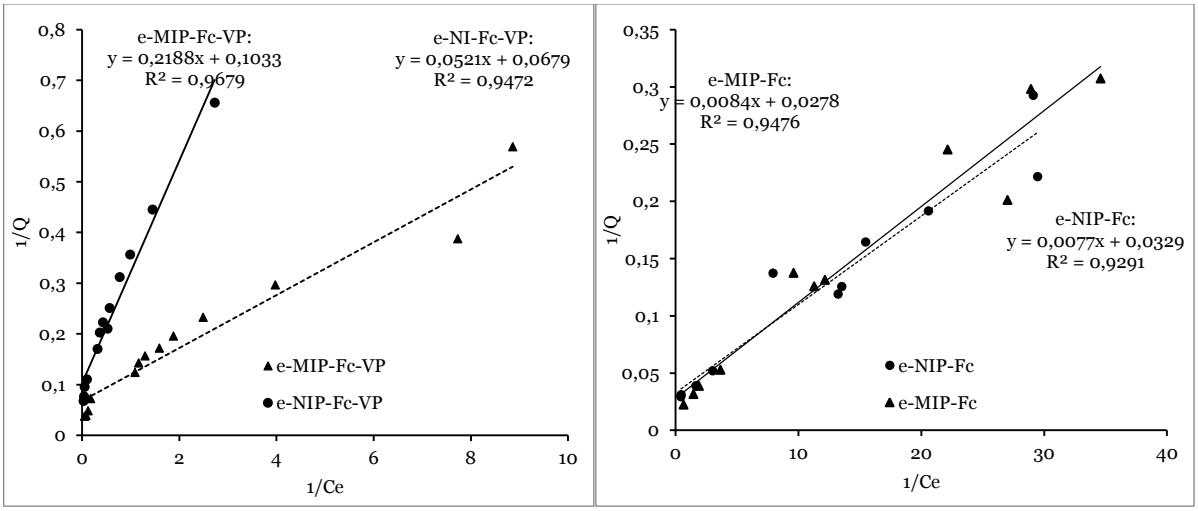


Figure 2-10. Isothermes selon le modèle de Langmuir des e-(MIP/NIP)-Fc et e-(MIP/NIP)-Fc-VP.

Pour le modèle de Freundlich, une fonction empirique a été déterminée pour une adsorption multicouche non-idéale sur une surface hétérogène. Selon ce modèle, Q n'atteint pas de plateau lorsque C_e augmente.

$$Q = K_F \times C_e^m \; soit \log Q = \log K_F + m \log C_e \qquad \text{Equation 2-3}$$

Avec K_F le coefficient d'adsorption de Freundlich, m l'indice d'hétérogénéité, Q la capacité d'adsorption et C_e la concentration à l'équilibre.

Le tracé de log Q en fonction de log C_e conduit à une relation linéaire avec une pente m et avec log K_F comme ordonnée à l'origine de la droite.

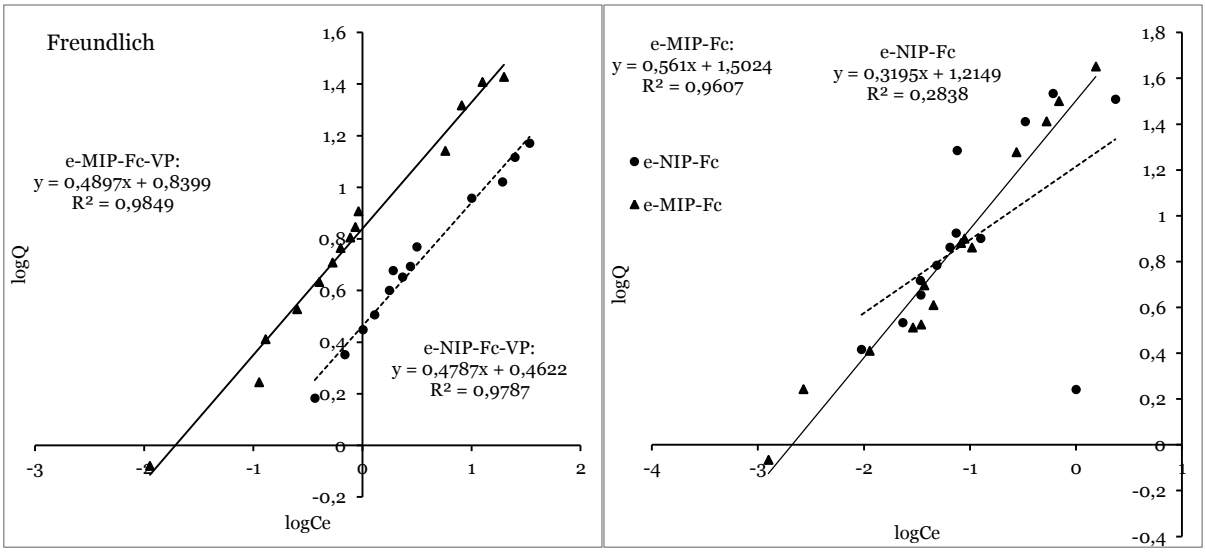


Figure 2-11. Isothermes selon le modèle de Freundlich des e-(MIP/NIP)-Fc et e-(MIP/NIP)-Fc-VP.

Le bilan des constantes déterminées à partir des différentes droites de régression sont le Tableau 2-6.

Tableau 2-6. Constantes et coefficients de corrélations des modèles de Langmuir et de Freundlich pour les e-MIP-Fc/e-NIP-Fc et e-MIP-Fc-VP/ e-NIP-Fc-VP

Polymères	Langmuir			Freundlich		
	R^2	KL	Q_{max} (mg/g)	R^2	KF	m
e-MIP-Fc	0,95	4282	35	0,96	32	0,6
e-NIP-Fc	0,93	3947	30	0,28	15	0,4
e-MIP-Fc-VP	0,95	282	14	0,98	7	0,5
e-NIP-Fc-VP	0,97	44	10	0,98	3	0,5

Selon les droites de régression obtenues pour les modélisations selon Langmuir et Freundlich, il en résulte des R^2 supérieurs à 0,9 suggérant que les deux modèles peuvent être appliqués à ces polymères excepté pour l'e-NIP-Fc pour lequel Freundlich ne peut s'appliquer selon car son R^2 très faible. En effet, étant donné que

la modélisation des résultats expérimentaux est en accord avec les deux modèles. Ceci permet d'émettre l'hypothèse selon laquelle l'adsorption du BPA se fait à travers des sites de reconnaissances tous identiques et que cette adsorption est très dépendante non seulement du polymère, mais aussi de la quantité d'analyte en solution.

2.4.3.5 Etude de la capacité sélective des e-MIPs par HPLC-MS

L'évaluation de la capacité sélective du polymère permet d'identifier l'efficacité de reconnaissance du polymère pour la cible lorsque celle-ci se retrouve en compétition en solution avec un certain nombre de molécules dans un milieu destiné à l'analyse. La sélectivité croisée de l'e-MIP a été étudiée pour deux médicaments, la carbamazépine (CBZP) et le kétoprofène (KP) (Figure 2-12). Ces composés ont été choisis parce qu'il est possible de les trouver en tant que polluants organiques compétitifs dans des échantillons aqueux réels et pour la similitude de leur structure chimique avec le BPA. Comme le BPA, ces deux produits chimiques contiennent deux cycles phényles aromatiques mais avec la différence majeure que ces cycles sont dans une conformation bloquée en raison du lien entre eux (céto et cycle à sept atomes respectivement)[171].

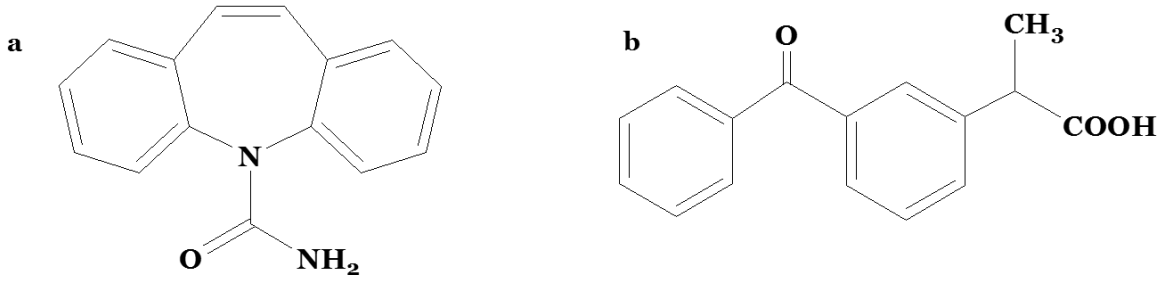


Figure 2-12. Interférents utilisés pour évaluer la sélectivité des e-MIP pour le BPA. (a) CBZP, (b) KP.

Pour mettre en place cette étude de sélectivité, l'ensemble des interférents, CBZP et KP, et le BPA ont été mélangés dans une solution à une concentration de 21,9 µmol/L (environ 5 mg/L) chacun dans un mélange d'eau et d'acétonitrile (9 :1, v/v). 5 mg de résine ont ensuite été mis en contact avec 5 mL de la solution précédente sous agitation pendant 24 heures. Une fois la concentration à l'équilibre mesurée les histogrammes de la Figure 2-13 ont été obtenus.

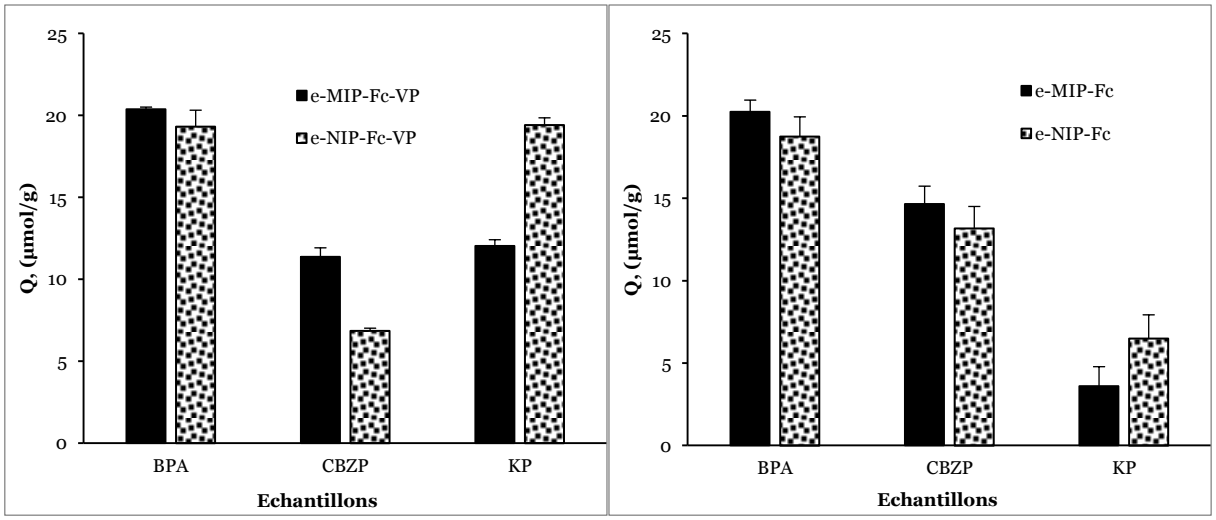


Figure 2-13. Capacité d'adsorption du BPA comparée à celles de la CBZP et KP dans une matrice contant les trois composés. 5 mg de résine en contact avec 5 mL du mélange de BPA, CBZP et KP à 21,9 µM chacun (eau/ACN, 9 :1, v/v).

De même que dans le cas des isothermes d'adsorption, les constantes de de distribution K_D (*Equation 1-3*), sélectivité k (*Equation 1-4*) et sélectivité relative k' (**Erreur ! Source du renvoi introuvable.**) ont été calculées. Les résultats de ces alculs sont regroupés dans le Tableau 2-7.

Tableau 2-7. Tableau des coefficients de sélectivités des e-(MIP/NIP)-Fc et e-(MIP/NIP)-Fc-VP pour une même matrice contenant le BPA, le KF et la CBZP.

	e-MIP-Fc-VP	e-NIP-Fc-VP	e-MIP-Fc	e-NIP-Fc
K_D (BPA)	31,30 ± 2,12	12,96 ± 0,40	60,86± 25,78	56, 97 ± 21,29
K_D (CBZP)	1,04 ± 0,09	0,44 ± 0,02	2,12 ± 0,42	1,77 ± 0,326
K_D (KP)	0,72 ± 0,05	2,41 ± 0,49	0,14 ± 0,05	0,30 ± 0,09
k (BPA/CBZP)	30,44 ± 5,10	29,60 ± 0,80	27,64 ± 9,21	30,96 ± 7,07
k' (BPA/CBZP)	1,00 ± 0,17	-	0,88 ± 0,11	-
k (BPA/KP)	43,70 ± 1,40	5,60 ± 1,10	565,45 ± 366,43	205,45 ± 96,07
k' (BPA/KP)	8,10 ±1,70	-	2,75 ± 1,75	-

Ces analyses mettent en évidence que les e-MIPs reconnaissent préférentiellement le BPA par rapport aux deux interférents étudiés (Figure 2-13). La détermination des coefficients de sélectivité, k, montre que la sélectivité est plus importante dans le cas du KP que de la CBZP (Tableau 2-7), notamment pour l'e-MIP-Fc. En ce qui concerne les polymères non imprimés, leur comportement est différent et il apparait notamment que l'e-NIP-Fc-VP retient de façon assez similaire le BPA et le KP. Ce résultat peut s'expliquer par le fait que cet interférent, comme le BPA, a un groupement donneur de liaison hydrogène (l'acide carboxylique) qui peut interagir avec la 4-VP. L'ensemble de ces observations permet de conclure à la présence de cavités empreintes permettant la reconnaissance spécifique du BPA par rapport au KP dans les e-MIPs. L'effet d'empreinte est clairement mis en évidence pour ce couple BPA/KP par les valeurs élevées des coefficients de sélectivité relatifs, k', notamment pour l'e-MIP-Fc-VP.

2.5 Conclusion

Les polymères à empreintes moléculaires ont été synthétisés dans un four d'hybridation par copolymérisation par précipitation du FcMMA et d'un agent réticulant pour les e-(MIP/NIP)-Fc, et avec la 4-VP comme co-monomère fonctionnel pour les e-(MIP/NIP)-Fc-VP. Les particules résultantes sont de type non-poreux ou macroporeux et présentent une sphéricité avec des diamètres moyens de quelques centaines de nanomètres pour les e-(MIP/NIP)-Fc et de l'ordre de quelques micromètres pour les e-(MIP/NIP)-Fc-VP. Ces particules présentent, entre autre, une meilleure polydispersité pour les polymères avec la 4-VP. L'intégration de la sonde redox (FcMMA) a été réalisée avec un taux de 28 et 29%. La caractérisation cinétique des propriétés d'adsorption permet d'évaluer le temps d'adsorption optimal du BPA par ces particules à 6h. Ces résultats d'adsorption montrent l'existence d'un facteur empreinte de 1,3 et 2,5 respectivement pour les e-(MIP/NIP)-Fc et les e-(MIP/NIP)-Fc-VP qui justifie de l'efficacité de reconnaissance des particules obtenues. Une étude sélective en présence de la CBZP et le KP confirme non seulement l'existence d'un facteur de sélectivité supérieur à 1 qui montre la capacité de ces polymères à distinguer le BPA des autres analytes, mais aussi permet de montrer que la présence de la 4-VP augmente l'efficacité de reconnaissance en réduisant l'adsorption non spécifique au détriment de l'adsorption spécifique à travers une discrimination plus efficace du BPA en présence des autres analytes dans une même matrice.

3 Microélectrodes et Transistors à base de MIPs électrochimiques pour la détection du Bisphénol A

Table des Matières

3.1 ELECTROCHIMIE DES E-(MIP/NIP)-FC 79
3.2 PROTOCOLE DE MISE EN PLACE DES MESURES ELECTROCHIMIQUES 79
3.2.1 VOLTAMPEROMETRIE CYCLIQUE DES E-(MIP/NIP)-FC EN MILIEU ORGANIQUE 81
3.2.2 RESULTATS DES MESURES DE E-(MIP/NIP)-FC EN MILIEU AQUEUX 87
3.3 MICROELECTRODES ET TRANSISTORS A BASE D'E-(MIP/NIP)-FC 90
3.3.1 MICROELECTRODES 91
3.3.2 TRANSISTORS A BASE D'E-MIP-FC 96
3.3.2.1 Principe des transistors 96
3.3.2.2 Mise au point de la technique d'immobilisation de l'e-MIP-Fc 100
3.3.2.3 Préparation des OECTs 107
3.4 CONCLUSION 110

Ce chapitre est consacré dans un premier temps à la caractérisation électrochimique des e-(MIP/NIP)-Fc en milieu organique puis en milieu aqueux, puis dans un second temps à leur intégration sur des microélectrodes interdigitées et dans des transistors à effet de champs.

3.1 Electrochimie des e-(MIP/NIP)-Fc

Avant d'intégrer les e-(MIP/NIP)-Fc dans un dispositif, leur caractérisation électrochimique est nécessaire afin d'évaluer si le système rédox caractéristique de la sonde introduite dans le polymère peut être enregistré par électrochimie, et si la reconnaissance du BPA peut être suivie par électrochimie.

3.2 Protocole de mise en place des mesures électrochimiques

Les études électrochimiques des e-(MIP/NIP)-Fc ont été réalisées à l'aide d'une cellule électrochimique à trois électrodes (Figure 3-1).

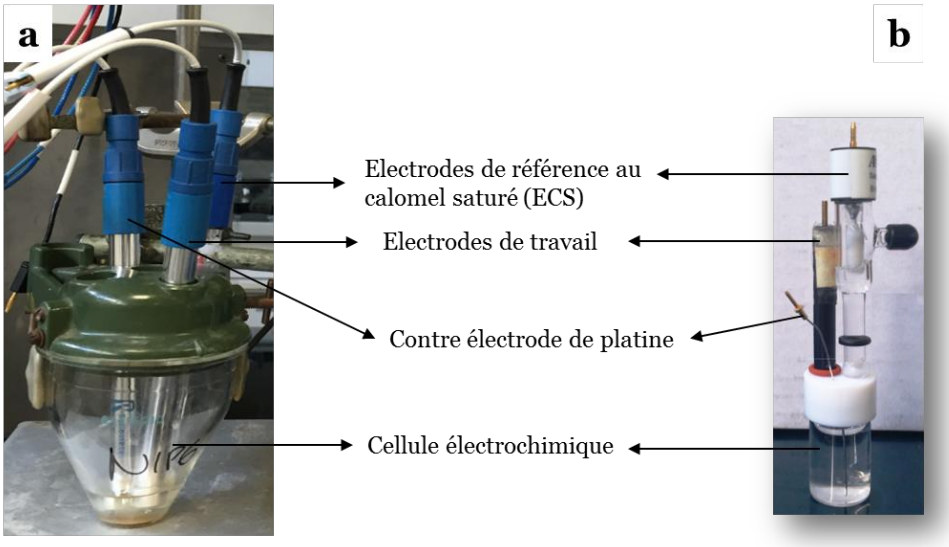


Figure 3-1. Cellules électrochimiques pour les analyses (a) en milieu organique et (b) en milieu aqueux.

Généralement, dans ce cas, quelle que soit la méthode électrochimique utilisée, l'analyte à étudier est dissous dans un solvant. En d'autres termes, les analyses se font en milieu homogène. Dans le cas présent, les e-(MIP/NIP)-Fc, étant des polymères fortement réticulés, sont insolubles dans tous les solvants, et il n'est pas possible de réaliser des mesures électrochimiques fiables et reproductibles avec des particules en

suspension. Enfin, à ce stade, l'objectif est de visualiser le système rédox des groupements ferrocényles avant une immobilisation dans un dispositif. Pour pallier à ce problème, les e-(MIP/NIP)-Fc ont été déposés au fond de la cellule d'électrochimique sous la forme d'une fine couche et l'électrode de travail collée à ces particules. Dans ces conditions, sans agitation, le système se rapproche de l'électrochimie de composés adsorbés à la surface d'une électrode solide[172]. La voltampérométrie cyclique (courbe intensité-potentiel) de composés adsorbés à la surface conduit généralement à des pics anodique et cathodique parfaitement symétriques, dans l'hypothèse bien sûr que les composés n'évoluent pas après oxydation (Figure 3-2)[173].

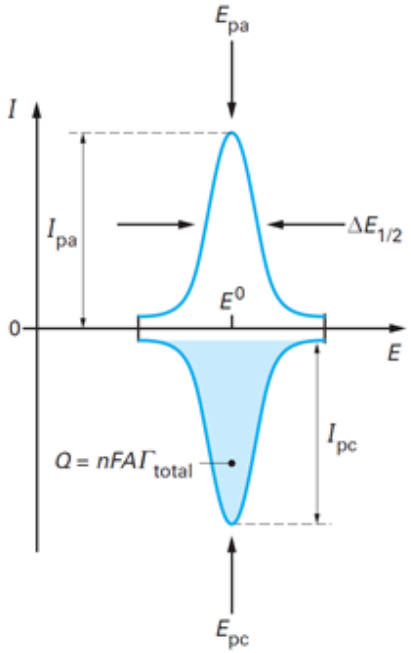


Figure 3-2. Voltampérogramme cyclique théorique obtenu pour une électrode modifiée par adsorption d'une monocouche d'espèce électroactive, pour un transfert électronique rapide. E_{pa}/E_{pc} : potentiels des pics anodique/cathodique ; I_{pa}/I_{pc} : intensités des pics anodique/cathodique, Q : nombre de Coulomb échangé[173].

Dans le cas présent, le système se rapproche d'une surface modifiée mais le contact entre les e-(MIP/NIP)-Fc et l'électrode de travail n'est cependant pas aussi intime. Dans ces conditions, un décalage entre les pics anodique et cathodique est potentiellement observable traduisant alors une difficulté liée au transfert électronique entre les groupements ferrocényles et l'électrode de travail.

Dans le montage à trois électrodes mis en œuvre, l'électrode de travail est en platine avec un diamètre de 1 cm. Cette électrode de travail est accompagnée d'une électrode de référence au calomel saturé (ECS) et d'une contre électrode de platine. 10 mg de polymère sont déposés au fond de la cellule. Pour les mesures en milieu organique, 5 mL d'acétonitrile avec du tétrabutylammonium hexafluorophosphate (TBAFP ; électrolyte support) à 0,1M sont introduits dans la cellule et l'électrode de travail est placée au contact des particules. Les mesures en milieu aqueux ont été réalisées selon le même protocole mais avec une électrode de travail en or de 1,6 mm de diamètre, une contre électrode de platine et une électrode de référence au calomel saturé. En milieu aqueux, une électrode d'or a été préférée au platine, tout simplement parce que dans ce dernier cas, il n'a pas été possible de détecter le système rédox des groupements ferrocényles. Dans l'eau (2 mL), l'électrolyte support a été dans un premier temps le perchlorate de lithium puis dans un second temps le chlorure de potassium, à chaque fois à 0,1 M.

3.2.1 Voltampérométrie cyclique des e-(MIP/NIP)-Fc en milieu organique

Le ferrocène est un métallocène où deux anions cyclopentadiényles complexent un ion Fe(II)[174]. Les deux anions cyclopentadiényles sont parallèles et possèdent des longueurs et des forces de liaisons égales. Chaque cycle cyclopentadiényle est aromatique d'où leur grande stabilité. Le ferrocène peut être oxydé de façon réversible en cation ferrocénium tel que l'illustre le voltampérogramme cyclique de la Figure 3-3. En solution, contrairement à des composés adsorbés, une différence de potentiel théorique de 59 mV est observée entre les pics anodique et cathodique pour un système mono-électronique tel que le couple ferrocène/ferrocénium. En pratique la valeur est souvent supérieure en raison principalement de la position des électrodes et de la constante diélectrique du solvant qui conduit à une résistance de cellule, qui elle-même impacte la position des pics. En solution, pour le couple ferrocène/ferrocénium, les pics anodique et cathodique sont généralement vers 460 et 400 mV *vs* ECS, les valeurs exactes dépendant du solvant et de l'électrolyte utilisé.

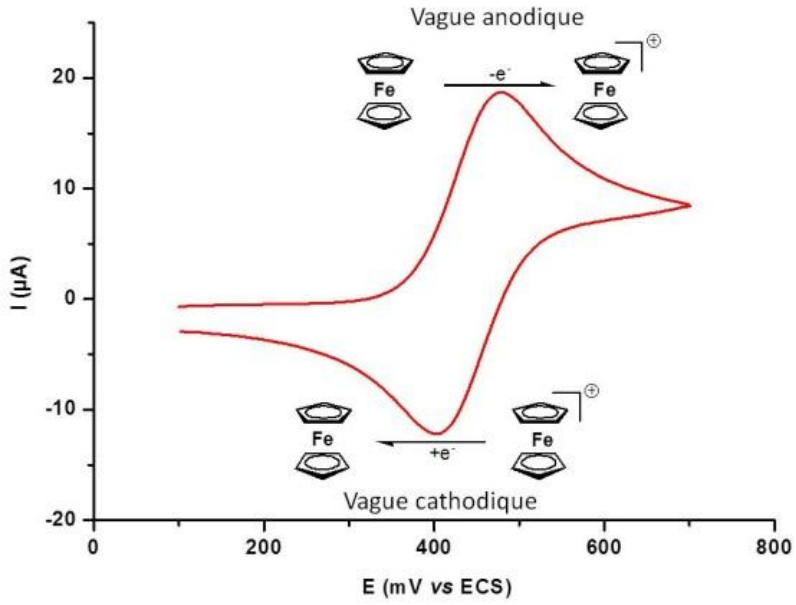


Figure 3-3. Voltampérométrie cyclique du ferrocène dans le dichlorométhane avec le TBAHP à 0,1M. v=100mV/s.

Dans le cas des e-(MIP/NIP)-Fc, un voltampérogramme cyclique similaire en termes de forme est attendu mais pas nécessairement en termes de potentiels puisque dans les polymères, les groupements ferrocényles ne sont pas libres comme en solution. La Figure 3-4 présente la voltampérométrie cyclique enregistrée pour l'e-MIP-Fc à différentes vitesses.

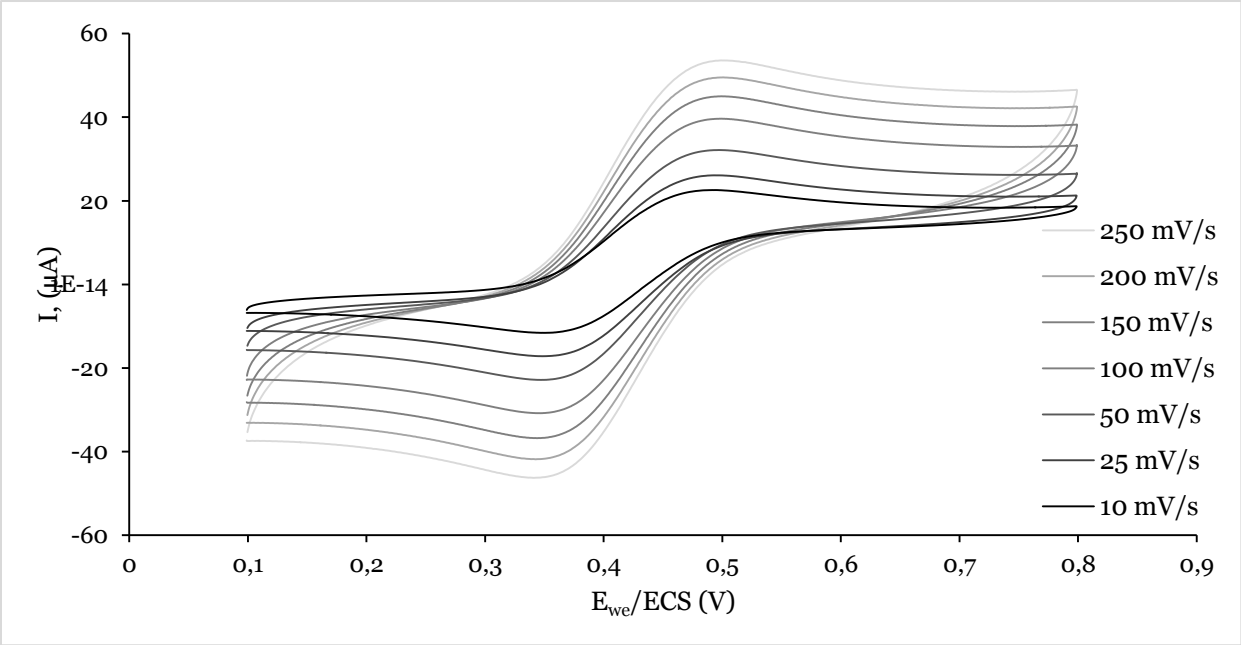


Figure 3-4. Voltampérométrie cyclique de l'e-MIP-Fc dans l'acétonitrile avec TBAFP à 0,1M. Electrode de travail en Pt, diamètre 1cm. 10 à 250 mV/s.

Comme attendu, et quelle que soit la vitesse de balayage, une vague anodique et une vague cathodique sont observées. L'intégration de ces vagues est quasiment identique, ce qui indique que le ferrocène s'oxyde de façon réversible. En d'autres termes, le ferrocérium n'évolue pas après avoir été généré.

Le pic de la vague anodique se trouve à 480 mV *vs* ECS alors que le pic de la vague cathodique est à 350 mV *vs* ECS. Dans le cas des e-MIP-Fc, la différence entre les pics anodique et cathodique conduit donc à une valeur de 130 mV alors qu'une valeur proche de 0 mV pouvait être attendue par le fait que les groupements ferrocényles ne sont pas en solution mais dans un polymère solide. Cette différence de 130 mV peut trouver son origine dans un problème de transfert électronique entre les particules et l'électrode de travail, comme évoqué plus haut, qui est positionnée à leur contact et qui conduit à un système quasi-réversible et non plus réversible.[175,176]

Comme attendu, l'enregistrement de voltampérogramme cyclique à différente vitesse ne révèle aucune variation de la valeur des potentiels des pics anodique et cathodique ce qui confirme qu'il n'y a aucune évolution des ferrocénium quelle que soit la vitesse de balayage. La Figure 3-5 présente les courbes de la variation de l'intensité en fonction de la racine carrée de la vitesse, et de la vitesse qui peuvent donner des informations sur la nature de l'étape limitante du courant mesurée à l'électrode. Dans

le cas présent, une droite est obtenue pour l'intensité en fonction de la racine carrée de la vitesse. Pour un système en solution, une telle droite conduirait à conclure que la réaction à l'électrode est régie par la diffusion pure. Dans le cas présent, ce résultat confirme que l'étape limitante est le transfert électronique entre les e-MIPs et l'électrode de travail. La courbe de l'intensité en fonction de la vitesse, de type logarithmique, indique un meilleur rapport intensité/vitesse aux vitesses de balayage de 10 et 25 mV/s, vitesses retenues par la suite pour les analyses en présence de BPA.

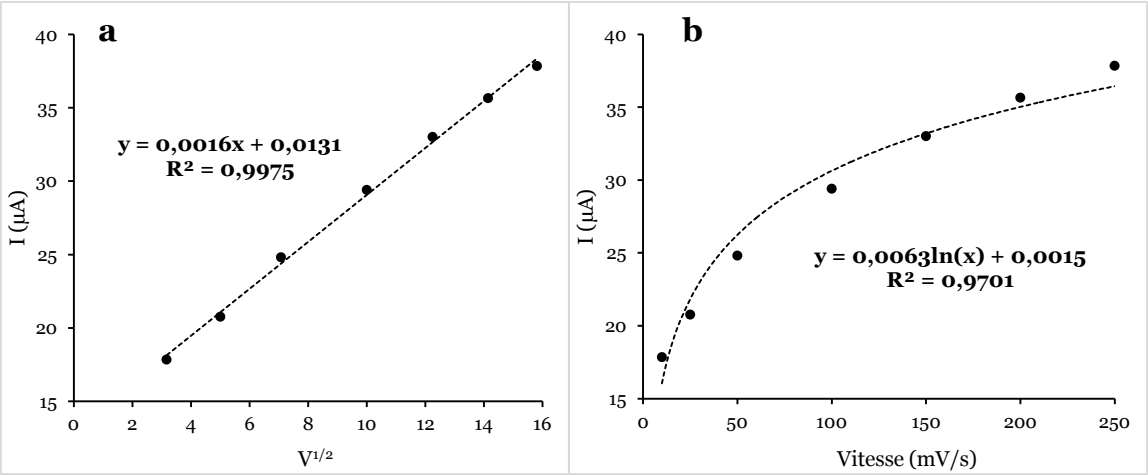


Figure 3-5. (a) Courbe intensité- racine carrée de la vitesse des e-MIP-Fc ; (b) Courbe intensité-vitesse des e-MIP-Fc.

La Figure 3-6 présente la voltampérométrie cyclique des e-NIP-Fc et e-MIP-Fc avant lavage donc avec du BPA encore supposé présent dans les cavités (e-MIP-Fc+BPA), et de l'e-MIP-Fc après extraction du BPA par lavage (e-MIP-Fc-BPA). Les intensités du courant des mesures répétées pour les e-NIP-Fc (4 mesures) et e-MIP-Fc+BPA (1 mesure) sont plus faibles par rapport à l'intensité du courant de l'e-MIP-Fc-BPA (6 mesures) après extraction du BPA. Ceci révèle la difficulté d'accès aux groupements ferrocényles pour les deux premiers polymères (e-MIP-Fc+BPA et e-NIP-Fc). En revanche, après extraction du BPA l'intensité de courant associée à l'e-MIP-Fc est nettement plus importante, ce qui confirme que l'extraction du BPA permet l'oxydation de groupements ferrocényles initialement masqués par la cible. Ces résultats prouvent par ailleurs la présence de cavités, donc d'empreintes.

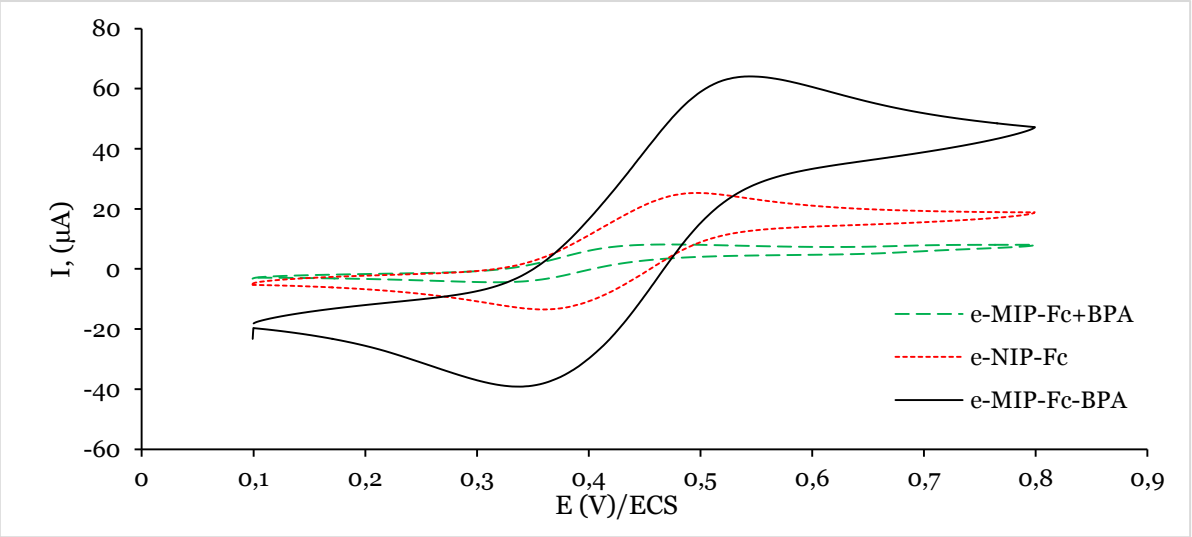


Figure 3-6. Voltampérométrie cyclique des e-NIP-Fc, e-MIP-Fc avant (+BPA) et après (-BPA) lavage, dans l'acétonitrile avec TBAHP à 0,1M, v=10 mV/ s.

Pour évaluer l'effet du BPA sur les e-NIP-Fc et e-MIP-Fc (après extraction de la cible), 200 µL d'une solution de BPA à 1 g/L sont ajoutés directement dans la cellule électrochimique (Figure 3-7). Comme attendu, l'ajout de BPA n'apporte qu'une baisse très faible de l'intensité de courant pour le polymère non-imprimé e-NIP-Fc alors qu'une diminution très importante de l'intensité de courant est observée, et très rapidement, dans le cas de l'e-MIP-Fc, suivie de nouvelles baisses de l'intensité un peu plus faible pour les enregistrements suivants. Ces résultats, encore une fois, confirment la présence d'empreinte avec des groupements ferrocényles pour l'e-MIP-Fc, la cible ayant la possibilité de les masquer. Le temps nécessaire, 30 minutes, dans le cas de l'e-MIP-Fc pour obtenir la superposition des voltampérogrammes cycliques peut être lié à la diffusion du BPA dans la solution vers les e-MIP-Fc mais aussi à la cinétique du phénomène de reconnaissance du BPA par les cavités empreintes du polymère.

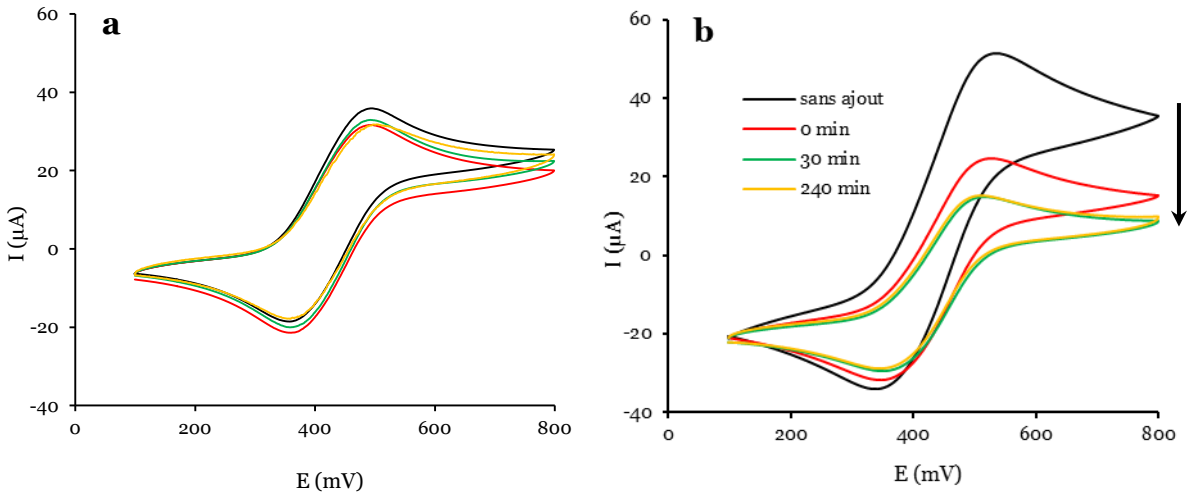


Figure 3-7. Voltampérométrie cyclique des e-NIP-Fc (a) et e-MIP-Fc (b) avant et après ajout de BPA dans l'acétonitrile avec TBHAP à 0,1 M. v= 10 mV/s.

Pour faciliter l'analyse de ces résultats, l'intensité relative a été déterminée selon l'**Erreur ! Source du renvoi introuvable.** :

$$I_{relative},(\%) = \frac{I_0 - I_j}{I_0} \times 100 \qquad \text{Equation 3-1}$$

Pour laquelle I_o est l'intensité de courant initiale avant l'ajout de BPA et I_j l'intensité de courant enregistrée au temps j après ajout de BPA. Avec cette représentation, l'intensité relative est inversement proportionnelle à l'intensité du pic anodique, pic choisi pour les analyses (Figure 3-8). Ainsi, plus l'intensité mesurée sur le voltampérogramme cyclique baisse, plus l'intensité relative augmente. La multiplication des mesures révèle, par ailleurs, une difficulté dans la reproductibilité des mesures pour l'e-NIP-Fc probablement liée à des variations d'adsorption non-spécifique à la surface de ce polymère. Dans le cas de l'e-MIP-Fc, une baisse de l'intensité relative supérieure à 50% est observée.

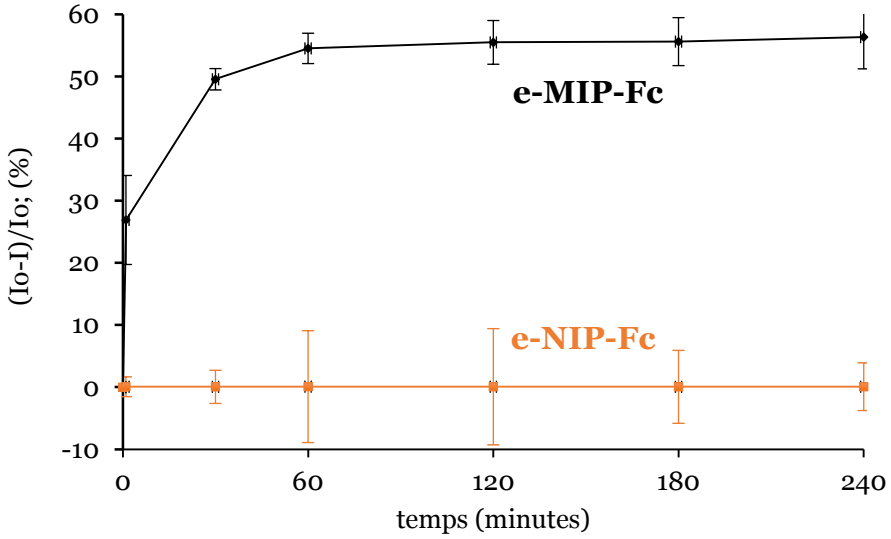


Figure 3-8. Intensités relatives moyennes sur trois expériences sur des e-MIP-Fc et e-NIP-Fc avant et après ajout du BPA.

3.2.2 Résultats des mesures de e-(MIP/NIP)-Fc en milieu aqueux

Dans un premier temps, les mesures ont été réalisées dans 2 mL d'eau distillée avec du perchlorate de lithium à 0,1M. Les ajouts de BPA ont été effectués après stabilisation du signal survenue au bout de 10 heures (Figure 3-9), probablement à cause du caractère hydrophobe des particules. Contrairement au milieu organique, la différence de comportement entre l'e-NIP-Fc et l'e-MIP-Fc est plus faible. En effet, dans le cas de l'e-MIP-Fc l'intensité semble diminuer de façon plus importante que pour l'e-NIP-Fc mais dans des proportions bien moindre que celles observées en milieu organique. Ce résultat pourrait s'expliquer par un phénomène de mouillabilité inférieur en milieu aqueux. En d'autres termes l'interface polymère-solvant serait plus intime avec le solvant organique.

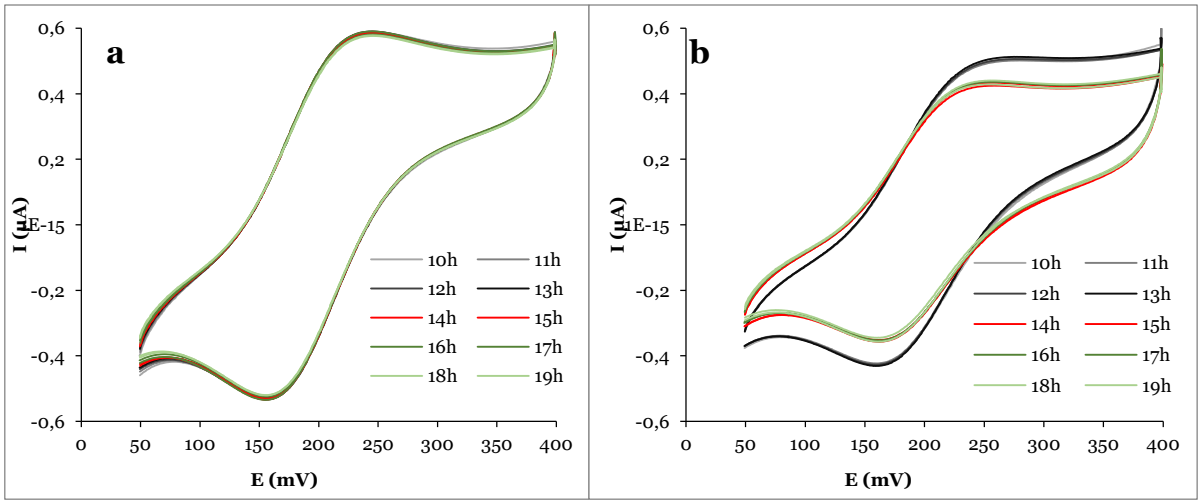


Figure 3-9. Evolution des voltampérogrammes cyclique des e-NIP-Fc (a) et e-MIP-Fc (b) avant (de 10h à 13h) et après (de 14 à 19h) ajout du BPA dans l'eau distillée avec du $LiClO_4$ à 0,1M, v= 10 mV/s.

Les mesures en milieu aqueux révèlent également un temps de stabilisation plus long, passant de quelques minutes en milieu organique à plusieurs heures en milieu aqueux. Ceci semble aller dans le sens d'une mouillabilité accrue en milieu organique traduisant ainsi un caractère très peu hydrophile du polymère[177]. L'expression de l'intensité relative permet de mieux visualiser la variation d'intensité du courant lors de la stabilisation, et après ajout de BPA (Figure 3-10). Comme en milieu organique, une chute de l'intensité du courant est observée après addition du BPA, à la 13ième heure, mais dans une proportion moindre.

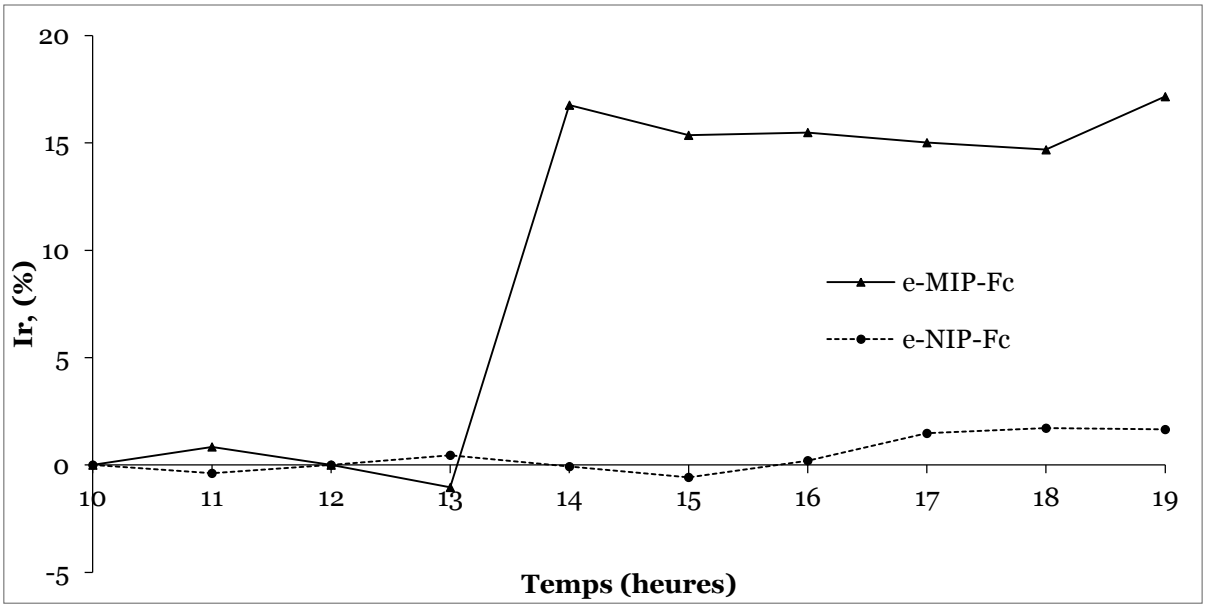


Figure 3-10. Intensités relatives des e-MIP-Fc et e-NIP-Fc avant et après ajout du BPA dans l'eau avec du $LiClO_4$ à 0,1 M.

Un test avec de l'acide humique a été réalisé juste après les mesures effectuées avec le BPA. L'objectif est d'évaluer l'impact de la matière organique, qui sera présente dans des eaux naturelles, sur la détection du BPA. Afin de pouvoir imputer la diminution de l'intensité du courant ou de l'augmentation de l'intensité relative au BPA ou à l'acide humique, il convient alors d'effectuer des ajouts alternés entre ces différents analytes pour identifier celui pour lequel le polymère présente une préférence. Un premier ajout d'analyte, s'il n'induit aucune modification de la réponse, sera alors suivi par l'addition du second analyte pour identifier à son tour son impact, notamment sur la disponibilité des empreintes. Pour cela, la manipulation dans l'eau avec environ 5 mg d'e-MIP-Fc dans 5 mL d'électrolyte aqueux à 0,1 M de $LIClO_4$ au fond de la cellule a été reproduite avec des ajouts alternés d'acide humique et BPA. En considérant que les cavités empreintes restent totalement disponibles après extraction du BPA par lavage, il est préférable d'ajouter dans un premier temps l'acide humique afin de vérifier si cet ajout permet d'occuper les sites spécifiques au BPA ou pas (Figure 3-11). Après stabilisation du signal pendant les dix premières heures, 100 µL d'une solution d'acide humique de concentration 145 mg/L sont ajoutés à la 11^{ième} heure, et à la 23^{ième} heure puis, après agitation pendant 3 minutes, l'intensité du courant résultant est mesurée. Dans les deux cas il n'y a pas de variation drastique de l'intensité du courant. Après ces deux ajouts d'acide humique, le BPA est ajouté à la 27^{ième} heure et conduit à une augmentation de l'intensité

relative du courant de près de 19% traduisant ainsi la reconnaissance du BPA par l'e-MIP-Fc. Un nouvel ajout d'acide humique à la 33ième heure n'entraine pas de modification de l'intensité comme par ailleurs un dernier ajout de BPA à la 36ième heure. La saturation des sites de reconnaissance par le premier ajout de BPA peut expliquer que le second ajout n'entraine pas de variation supplémentaire de l'intensité. Ce premier test confirme bien la capacité de l'e-MIP-Fc à piéger le BPA, et la possibilité de le détecter dans un milieu plus complexe.

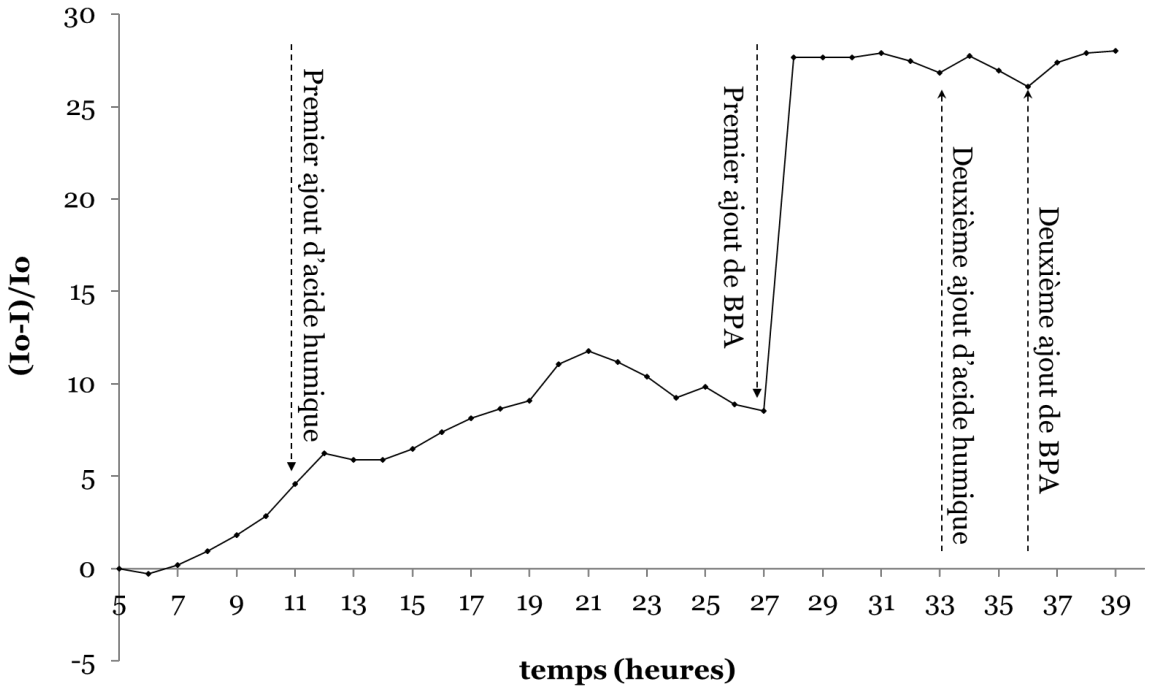


Figure 3-11. Évolution de l'intensité relative de l'e-MIP-Fc au contact de l'acide humique et du BPA dans l'eau distillée avec 0,1 M de $LiClO_4$.

3.3 Microélectrodes et transistors à base d'e-(MIP/NIP)-Fc

Les microélectrodes et les transistors décrits dans cette partie ont été réalisés au sein du Département de BioElectronique (BEL) de l'Ecole des Mines de Saint-Etienne (Site du Centre de Microélectronique de Provence, Georges Charpak), département dirigé par le Pr.G.Malliaras.

3.3.1 Microélectrodes

Les microélectrodes présentent l'avantage de disposer de plusieurs surfaces actives, sur lesquelles les polymères peuvent être déposés (Figure 3-12).

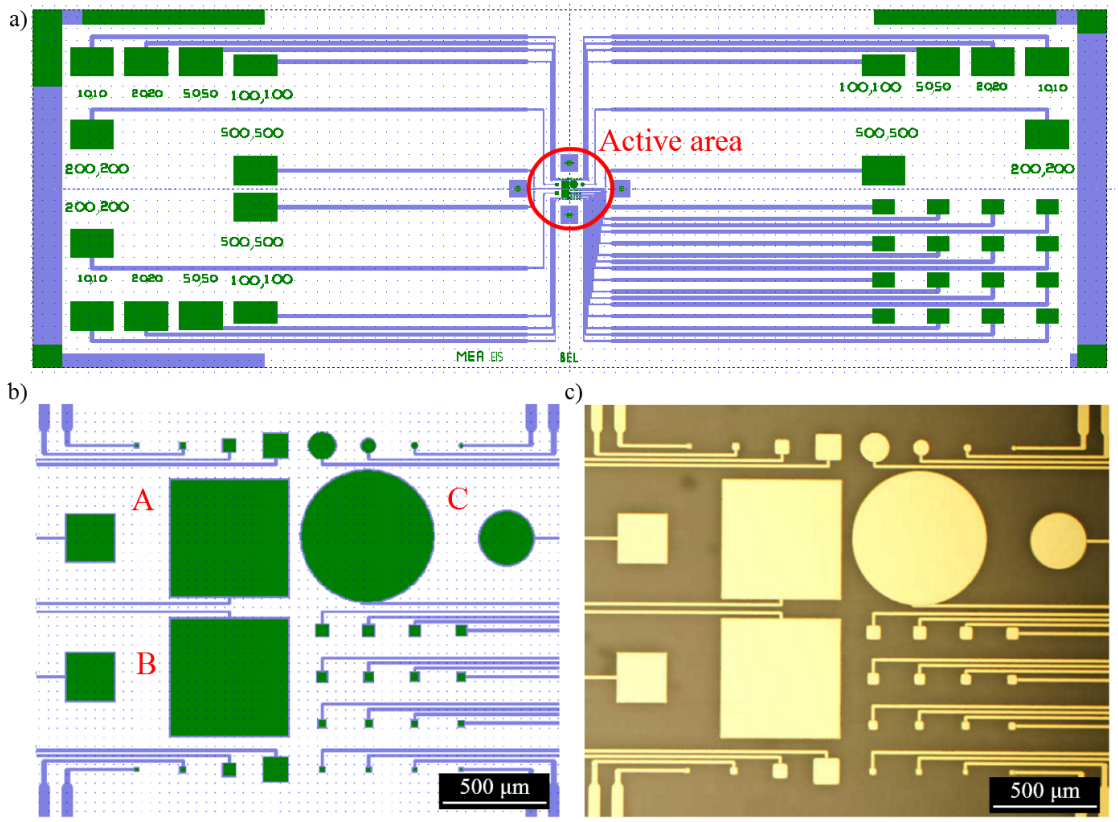


Figure 3-12. a) Vue générale du dispositif. Les surfaces actives sont localisées au centre sous forme de plusieurs électrodes. b) Gros plan sur la forme des électrodes pour caractériser le rapport taille/performance de l'électrode. c) Dispositif fabriqué uniquement sur la base du support conducteur (Or).

La fabrication de ces microélectrodes se fait en plusieurs étapes, comme le présente la Figure 3-13. Plusieurs surfaces actives de 10 x 10 µm² à 500 x 500 µm² sont utilisables chacune comme électrode de travail. Ce design permet d'évaluer la qualité de l'électrode en fonction de la surface et de sa forme afin de déterminer le meilleur rapport signal/surface, signal/forme et signal/bruit. En fin de processus, un mélange e-MIP-Fc/pâte de carbone (0,137g/0,8g) avec 1 mL d'acétonitrile, dispersé sous ultra-sons, est déposé sur les électrodes soit directement, soit par spin coating. Dans les deux cas, après séchage du mélange, la dernière étape consiste à décoller le film de parylène C. Cette dernière étape est particulièrement délicate et conduit souvent à des

électrodes non exploitables surtout si le film de parylène se décolle en emportant le mélange pâte de carbone/e-MIP-Fc.

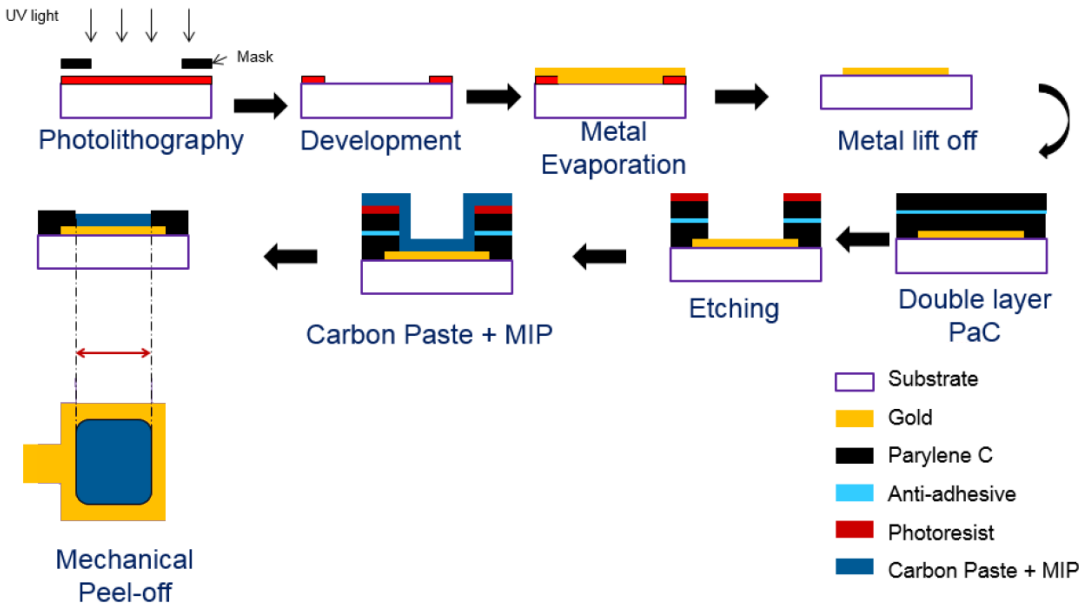


Figure 3-13. Procédé de fabrication d'une microélectrode multicanaux à base d'e-MIP-Fc.

La microscopie optique de la Figure 3-14a et les images MEB de la Figure 3-14b ont permis d'étudier l'efficacité du dépôt du mélange e-MIP-Fc/pâte de carbone sur l'électrode et la présence d'e-MIP-Fc à l'intérieur de la pâte de carbone sous la forme de sphères de quelques centaines de nanomètres. Quel que soit le mode de dépôt du mélange e-MIP-Fc/pâte de carbone (direct ou spin-coating), le décollement du film de parylène se fait le plus souvent avec celui du mélange de pâte de carbone séchée pour conduire à une électrode hors d'usage (Figure 3-14c) contrairement à l'exemple de la Figure 3-14d.

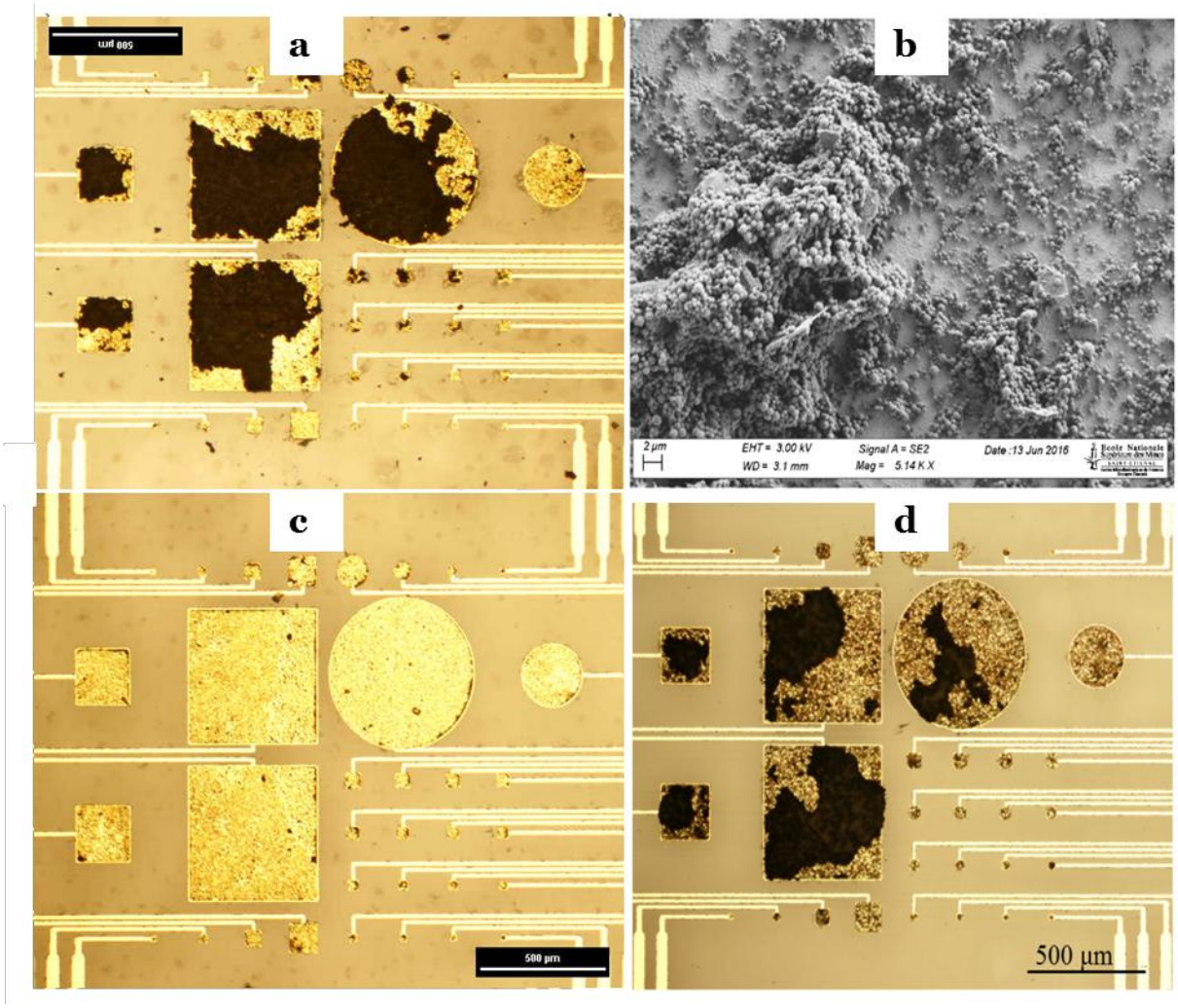


Figure 3-14. (a) microscopie optique des électrodes avec un dépôt d'e-MIP-Fc obtenues par spin coating. (b) Observation au MEB de la distribution des e-MIP-Fc. (c) Electrode au mélange décollé à la surface. (d) Electrode obtenue par dépôt direct.

Après inspection visuelle et microscopique, les dispositifs ont été caractérisés électrochimiquement par spectroscopie d'impédance. La caractérisation a été réalisée avec un potentiostat (Autolab PGSTAT128N) à l'aide d'un système à trois électrodes et dans un électrolyte NaCl 0,1M (Figure 3-15). Une électrode Ag/AgCl a été utilisée comme électrode de référence, une électrode de Pt comme contre électrode et la microélectrode comme électrode de travail.

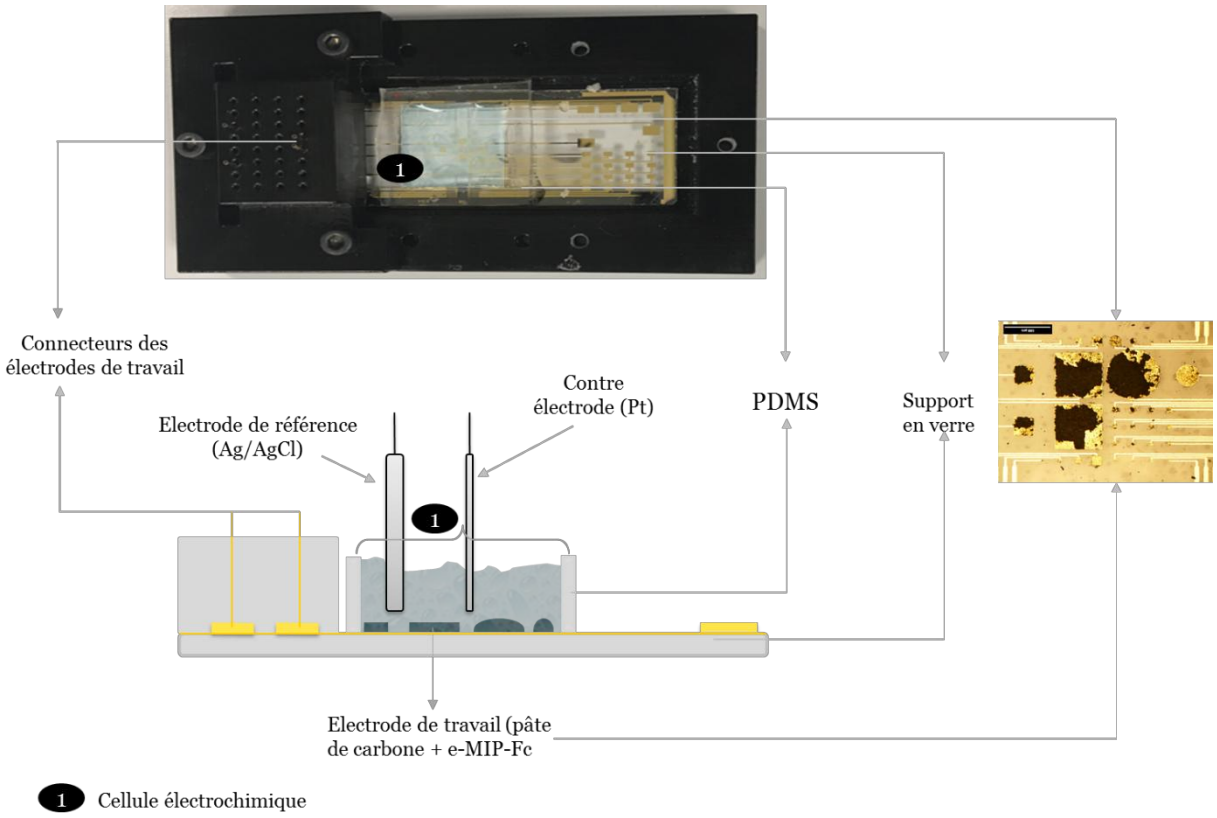


Figure 3-15. Cellule électrochimique utilisée pour la caractérisation des microélectrodes multicanaux.

Avant tout test de reconnaissance en présence du BPA, les différentes catégories d'électrodes ont été caractérisées par impédance électrochimique afin de déterminer celles qui fournissent une meilleure réponse par rapport au ferrocène, et aussi observer quel mode de dépôt du mélange pate de carbone/e-MIP-Fc est finalement le plus adapté, l'impédance étant une technique électrochimique qui permet d'étudier la résistance de transfert de charge d'électrons d'un matériau. La caractérisation électrochimique des dispositifs fabriqués selon les deux modes de dépôt est présentée sur la Figure 3-16. Les valeurs d'impédance sont plus faibles pour les plus grandes électrodes et quasi identiques pour les deux modes de dépôt pour les mêmes catégories d'électrodes.

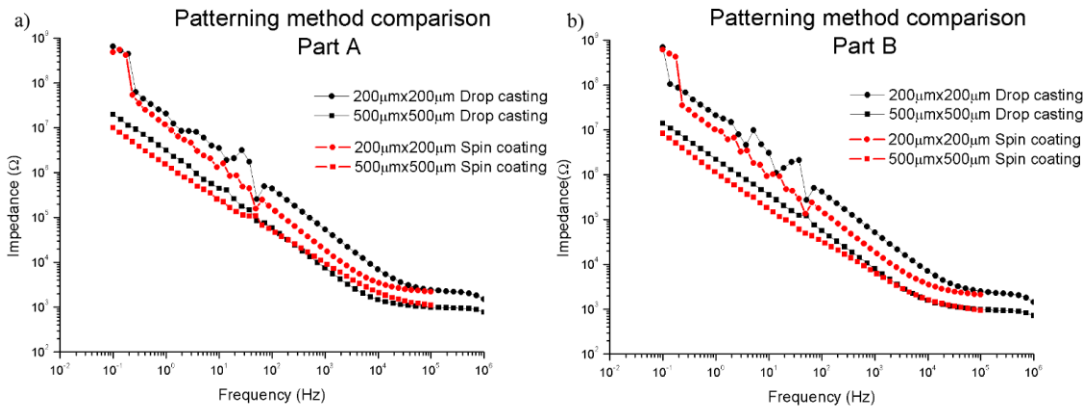


Figure 3-16. Spectres d'impédance électrochimiques pour les deux techniques de dépôts du mélange e-MIP-Fc/pâte de carbone à la surface des électrodes et les différentes tailles d'électrodes de type A et B.

Suite à ces premiers tests, de nouvelles électrodes ont été préparées par spin coating, et les mesures ont été effectuées sur les surfaces carrées de dimension 200 µm x 200 µm et 500 µm x 500 µm. La voltampérométrie cyclique, en milieu aqueux, révèle comme attendu un système rédox caractéristique des groupements ferrocényles (Figure 3-17). Les électrodes préparées avec un mélange e-MIP-Fc/pâte de carbone incubées avec du BPA révèlent une intensité de courant inférieure aux électrodes préparées avec des e-MIP-Fc sans BPA (Figure 3-17a), le pendant des résultats enregistrés en cellule classique. L'addition de BPA entraine également une diminution de l'intensité (Figure 3-17b et c). Les électrodes de grande taille conduisent à des pics anodique et cathodique plus symétriques et plus visibles que les électrodes de plus petites tailles.

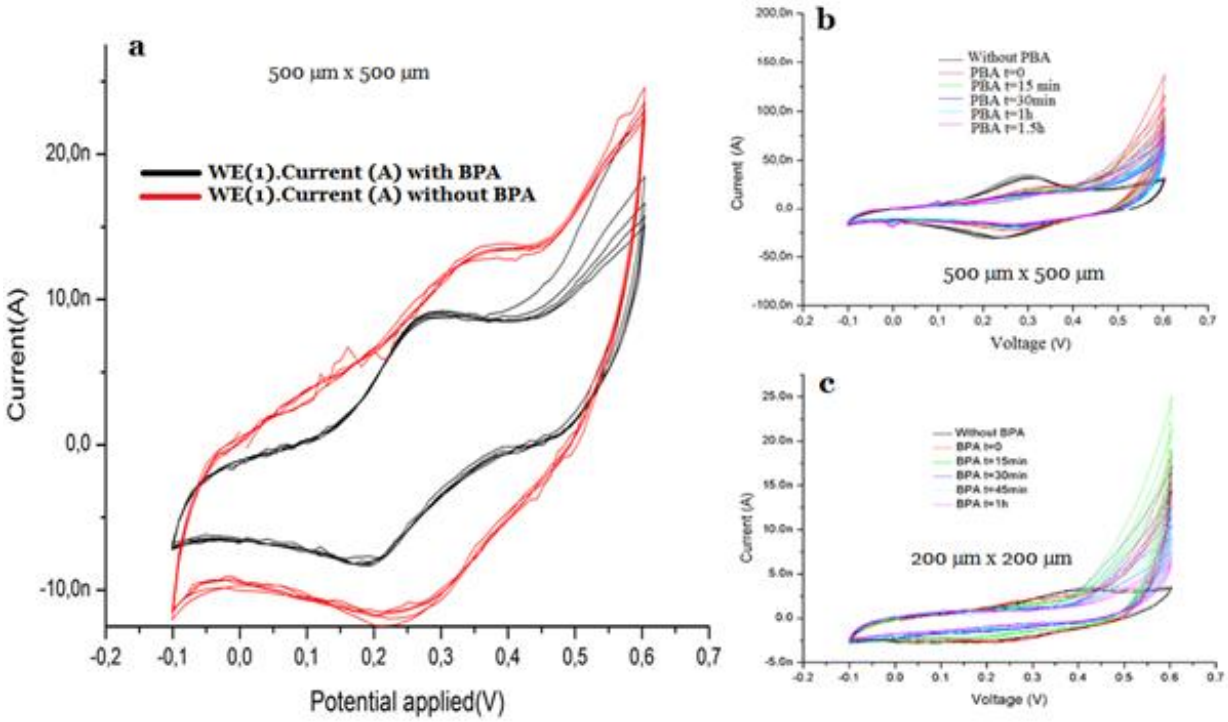


Figure 3-17. Voltampérogrammes cycliques des microélectrodes multicanaux en présence ou pas de bisphénol A dans l'eau et NaCl à 0,1M. Comparaison des voltampérogrammes cycliques des microélectrodes à base d'e-MIP-Fc contenant du BPA et sans BPA (a), comparaison de la même réponse au fil du temps pour les électrodes de tailles différentes (b) et (c).

L'enregistrement de plusieurs voltampérogrammes cycliques de l'électrode en présence de BPA à une concentration de 1mM, montre qu'il y a une diminution de l'intensité qui tend vers la disparition des pics anodique et cathodique après une heure (Figure 3-17).

Bien qu'encourageantes, ces expériences n'ont pas pu être reproduites, ni approfondies par manque de disponibilité au sein du Département de BioElectronique (BEL).

3.3.2 Transistors à base d'e-MIP-Fc

3.3.2.1 Principe des transistors

Les transistors envisagés dans ce travail sont de type MOSFET (Metal Oxide Semi-conductor Field Effect Transistor). Schématiquement, un transistor à effet de champ (Field Effect Transistor)[178] est un dispositif composé d'un semi-conducteur de type P

ou N déposé sur un isolant, et de trois électrodes : la source et le drain qui sont directement en contact avec le semi-conducteur, et la grille qui est en contact avec l'isolant (Figure 3-18). La terminologie « type P » ou « type N » vient de la physique du solide, en l'occurrence celle du silicium, et fait référence respectivement au silicium dopé p (un atome de bore introduit dans le réseau cristallin du silicium entrainant une lacune électronique) et au silicium dopé n (un atome de phosphore introduit dans le réseau cristallin du silicium entrainant un excès d'électron). Lorsque le semi-conducteur est de type p, l'application d'une tension négative entre la source et la grille conduit à une polarisation négative de la grille qui va entrainer une accumulation de porteur de charges positives à l'interface semi-conducteur/isolant. Cette accumulation de charge conduit à un canal (de charge) dit « ouvert » qui permet ainsi la mesure d'un courant entre la source et le drain lorsqu'une différence de potentiel est appliquée entre ces deux électrodes. Avec un semi-conducteur de type n, la tension source-grille sera alors positive afin d'avoir une grille positive qui entrainera une accumulation de porteurs de charge négative à l'interface semi-conducteur/isolant. En d'autres termes, et de façon simplifiée, un transistor est un système ON/OFF dont le rôle d'interrupteur est lié à l'état chargé ou pas du canal.

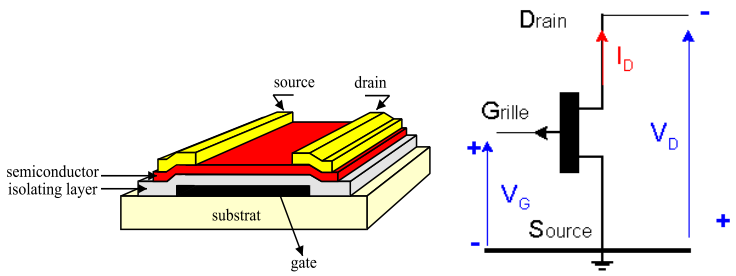


Figure 3-18. Schéma simplifié d'un transistor à effet de champ[179].

Toutes modifications du canal, c'est-à-dire de ses capacités à accumuler des charges à l'interface semi-conducteur/isolant lors de son ouverture conduit à une modification de l'intensité mesurée entre la source et le drain lors de l'application d'une différence de potentiel source-drain. C'est ce raisonnement, liée à la richesse de la synthèse organique pour fonctionnaliser finement les semi-conducteurs organiques, qui a conduit au développement des OFETs (Organic Field Effect Transistors) avec pour objectif d'aller vers des transistors dit « tout plastique » pouvant concurrencer les MOSFET basés sur le silicium ou le germanium.[180–182] Parallèlement, le domaine des capteurs s'est intéressé aux OFETs notamment en modifiant le semi-conducteur de

façon à ce qu'il soit sensible à un stimulus. Dans ce cas, il est possible d'enregistrer une courbe courant-tension de drain sans et avec stimulus, la comparaison des deux permettant alors la détection du stimulus. Dans cet objectif, le semi-conducteur a été remplacé ou modifié par une enzyme (ENFET : Enzymatic Field Effect Transistors)[183–186], par une membrane sensible aux ions (ISFET : Ion Sensitive Field Effect Transistors)[187] ou encore par un système chimique (ChemFET : Chemical Field Effect Transistors)[188,189].

Dans le cadre de ce travail de thèse, c'est un transistor de type OECT (organic electrochemical transistor) rapporté pour la première fois par H.S.White et al. qui a été envisagé[190]. Ce transistor est constitué comme précédemment d'une source, d'un drain et d'une grille. La différence par rapport aux dispositifs ci-dessus réside dans le canal qui relie la source et le drain, qui est constitué de polyéthylène dioxythiophène/polystyrène sulfonate (PEDOT:PSS), donc constamment ouvert puisque le PEDOT est à l'état dopé dans le système PEDOT:PSS. Dans ce système, le PEDOT, qui est un polymère conducteur d'électricité, est constamment à l'état dopé, c'est-à-dire porteur de charge positive, son contre-ion étant le PSS. L'intérêt d'un tel système réside dans la possibilité de le mettre en contact avec un électrolyte aqueux, un gel ou un solide (Figure 3-19).

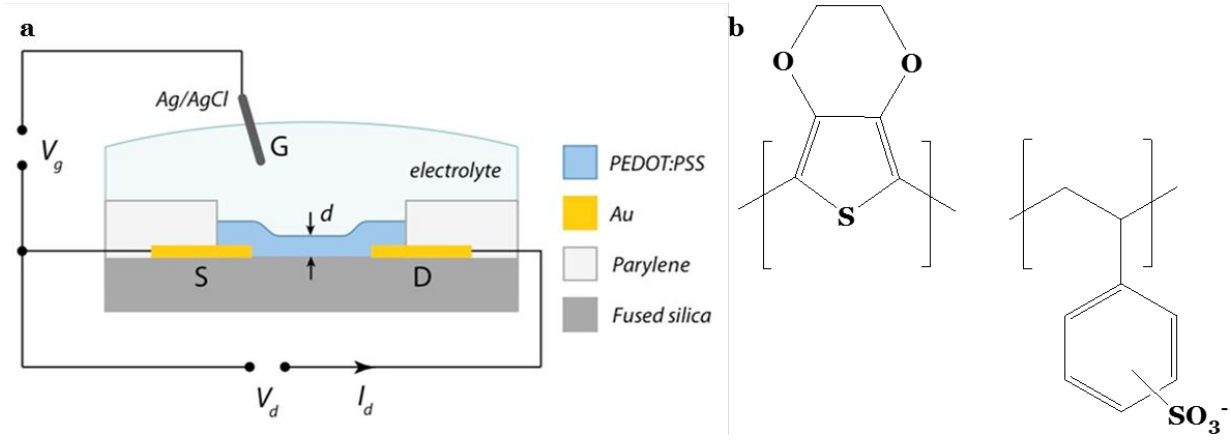


Figure 3-19. Transistor de type OECT (a) et structure du poly (3,4-éthylènedioxythiophène) ou PEDOT et du poly (styrène sulfonate) de sodium ou PSS (illustration aimablement fournie par le département BEL).

Le principe de fonctionnement de l'OECT est basé sur la migration d'ions de l'électrolyte dans le PEDOT:PSS ou vice-versa entrainant de ce fait la modification de la conductivité du canal, modulant ainsi le courant de drain. Le volume entier du

canal est concerné par ces entrées ou sorties d'ions, ce qui conduit à une très grande sensibilité des OECTs, qui se traduit par des modulations des courbes courant-tension de drain vis-à-vis de l'environnement. A titre d'exemple, Z.Iskierko et al. ont décrit un transistor à effet de champ, de type OECT, dont le canal est basé sur des films de polymères conducteurs à empreintes moléculaires pour la détection sélective de l'inosine, qui est un biomarqueur du disfonctionnement rénal[191]. Les mesures de détection ont été effectuées en suivant le courant du drain en fonction de la tension de drain (à différentes tension), avant/après ajout de la cible (Figure 3-20). Dans cet exemple, le courant du drain augmente en fonction de la tension source-drain appliquée (Figure 14a). En faisant des mesures à une tension fixe (Figure 14b), ces auteurs ont observé une diminution du courant du drain après l'ajout de l'inosine, avec des limites de détection de 0,62±0,01 µM.

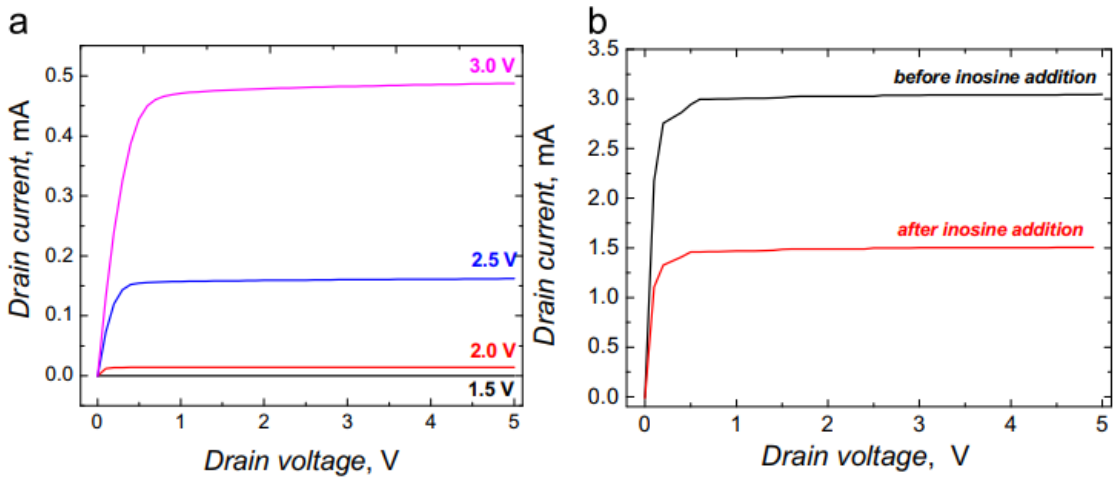


Figure 3-20. Courant de drain en fonction de la tension de drain du capteur MIP-inosine -FET pour (a) les différentes tensions de grille appliquées et (b) avant et après addition de 50 mM d'inosine pour une tension de grille appliquée de 1,5 V[191].

Dans le cadre de ce travail, l'objectif était la préparation d'OECT avec des MIPs incorporés ou fixés sur la grille pour ensuite étudier la variation du courant source-drain pour une différence de potentiel donnée selon la présence ou pas du BPA. L'intégration d'e-MIP-Fc implique donc de fixer les e-MIPs dans le dispositif, et de maintenir l'interaction e-MIP-Fc/BPA et la conductivité du canal.

Le design de l'OECT utilisé dans ce travail est présenté à la Figure 3-21. Le canal en PEDOT:PSS représenté en vert sur le schéma est plus grand que la taille des

électrodes afin d'avoir une grande sensibilité. L'objectif est de déposer les e-MIP-Fc sur la grille. Après application d'une tension de grille, le comportement des ions présents en solution sur le canal en PEDOT:PSS pourra être différent selon la présence de BPA ou pas. L'idée est que la présence de BPA limite le nombre de groupements ferrocényles oxydés, limitant de ce fait l'impact sur le système PEDOT:PSS. La première problématique a donc été de fixer les e-MIP-Fc sur la grille, et surtout d'identifier le bon protocole pour réaliser cette étape.

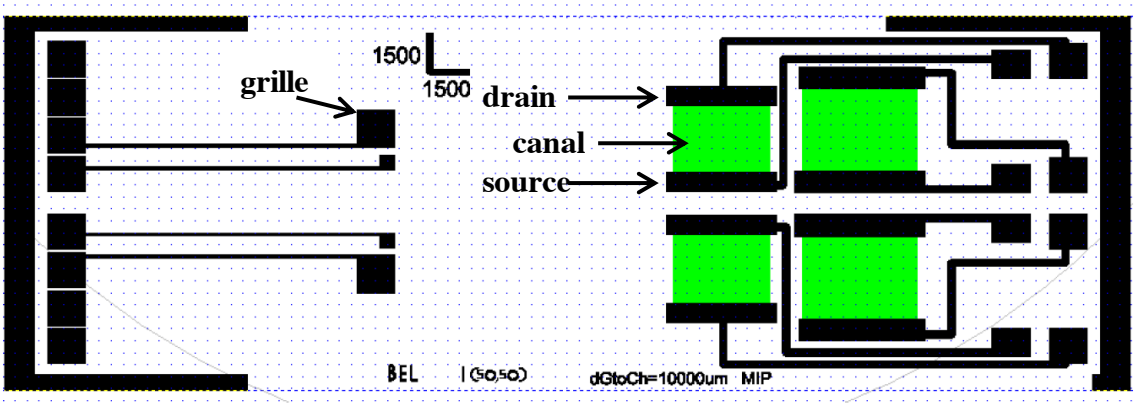


Figure 3-21. Design de l'OECT utilisé dans ce travail de thèse.

3.3.2.2 Mise au point de la technique d'immobilisation de l'e-MIP-Fc

La première étape consiste à immobiliser les e-MIP-Fc pour éviter une perte de particules pendant l'étape de mesure dans un électrolyte liquide pouvant entrainer des variations inexpliquées du courant mesuré. La difficulté est de réussir à fixer les e-MIP-Fc sans pour autant masquer les empreintes.

La stratégie initiale a consisté à immobiliser sur une lame d'ITO (Indium-Tin-Oxyde), qui a la particularité d'être conductrice d'électricité, les e-MIP-Fc dans une couche de polysiloxane. Les plaques d'ITO utilisées ont subi un nettoyage successif de 5 minutes dans un bain à ultra-sons dans un mélange d'eau savonneuse, d'acétone et d'isopropanol. Les films e-MIP-Fc/siloxane sont obtenus à la tournette (spin-coating en anglais ; 500 tr/min pendant 40 s) à partir d'une solution préparée avec des e-MIP-Fc (5mg/mL) dispersés dans un mélange d'eau distillée (500 µL), d'éthanol (9,5 mL), d'acide acétique (50 µL) et de 3-glycidoxypropyltriméthoxysilane (GOPS, 500 µL). Les lames d'ITO ainsi obtenues sont laissées au repos 15 minutes pour que le film se forme avant d'être rincées à l'éthanol puis chauffées à 110°C pendant 20 min.

La microscopie électronique à balayage (Figure 3-22) a révélé une distribution des particules d'e-MIP-Fc homogène dans l'ensemble, avec la présence de quelques agrégats. Toutefois, alors que les images en microscopie électronique montrent sans ambigüité la présence des e-MIP-Fc à la surface des lames d'ITO, il n'a pas été possible d'enregistrer un voltampérogramme cyclique caractéristique du ferrocène. Ces mauvais résultats semblent indiquer que la couche de siloxane empêche tout transfert électronique entre l'ITO et les ferrocènes présents dans les particules, en raison de son caractère isolant.

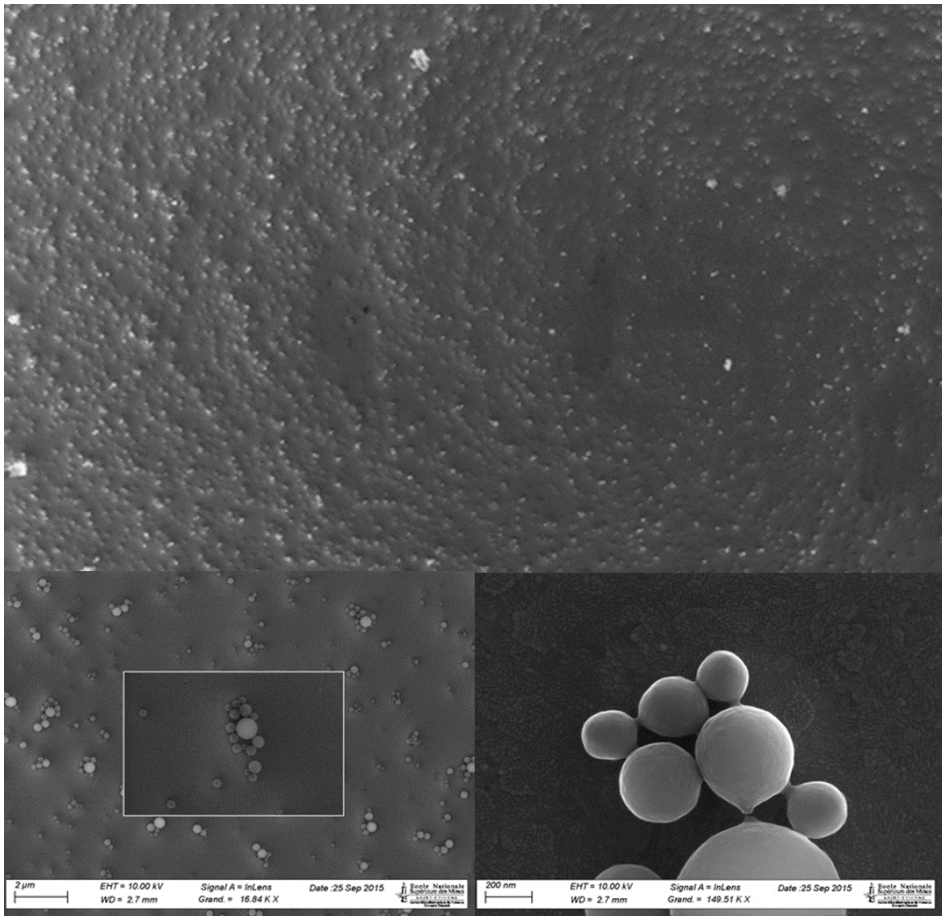


Figure 3-22. Images MEB des particules d'e-MIP-Fc enrobées de silane.

La seconde stratégie a consisté à intégrer directement les e-MIP-Fc dans du PEDOT:PSS. Le PEDOT:PSS (commercial) a été mélangé avec des e-MIP-Fc (5 mg/mL), de l'éthylène glycol (à raison de 5% en masse) pour augmenter la conductivité du PEDOT:PSS, de l'acide dodécylbenzène sulfonique (DBSA, environ 1 goutte pour 5 mL de PEDOT:PSS) pour améliorer la mouillabilité du système, et du GOPS (0,5 % en masse) pour réticuler et figer le PEDOT. Après homogénéisation

dans un bain à ultra-sons, les films sont formés par spin-coating. La solution est passée sur un filtre en nylon (pores de 1,2 µm) avant d'être déposée sur l'ITO et d'appliquer une vitesse de rotation faible (500 tr/min pendant 5 s) pour étaler la solution, puis une vitesse élevée (1500-3000 tr/min, 30s) pour former le film. Un recuit à 140 °C pendant 1 h finit le processus de mise en forme avant de tremper les lames dans de l'eau distillée pendant une nuit pour se débarrasser des petites chaînes de PEDOT:PSS. Les images en microscopie électronique à balayage confirme la présence des e-MIP-Fc et révèle par ailleurs une fine couche de PEDOT:PSS de quelques nanomètres à la surface des particules (Figure 3-23).

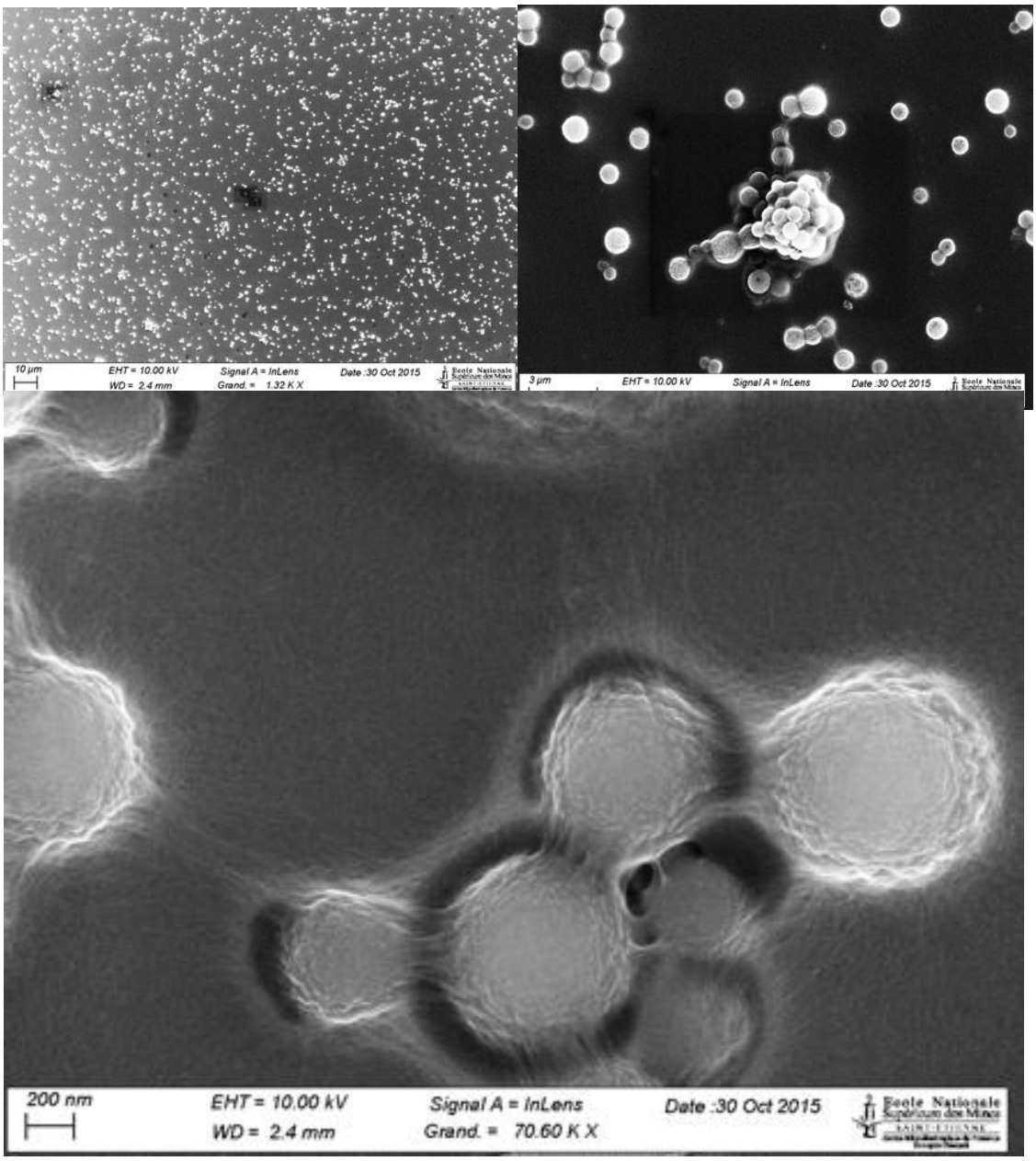


Figure 3-23. Clichés MEB des films de PEDOT:PSS avec des e-MIP-Fc.

A la différence du siloxane, le PEDOT:PSS est conducteur d'électricité. Comme attendu l'utilisation de lame d'ITO comme électrode de travail en voltampérométrie cyclique (électrode de référence : Ag/AgCl ; contre-électrode : grille de platine) à 100 mV/s révèle la présence caractéristique du système rédox lié au ferrocène (Figure 3-24). Malheureusement, l'addition de BPA n'a pas entrainé de variation de la réponse électrochimique même après plusieurs heures de contact. Ce mauvais résultat est très probablement lié à la couche de PEDOT:PSS qui recouvre les e-MIP-Fc et qui empêche le BPA d'accéder aux e-MIP-Fc.

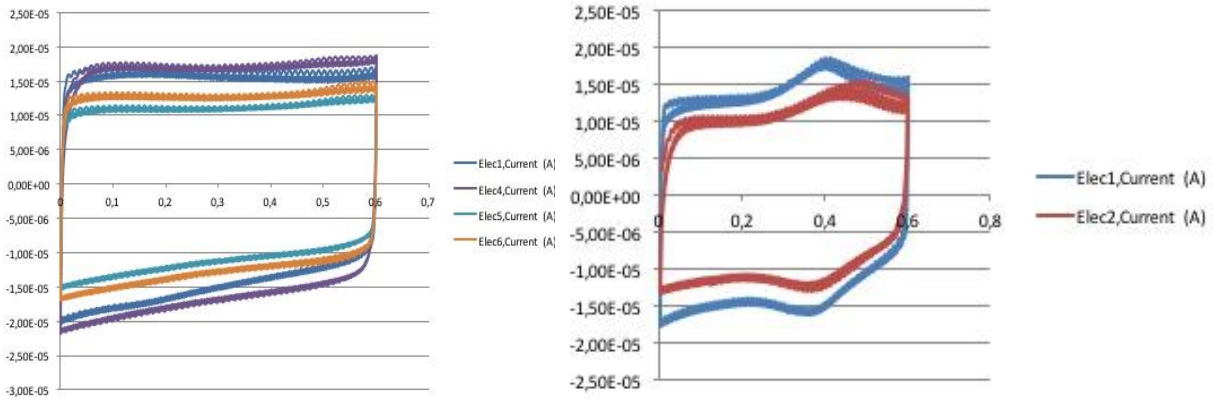


Figure 3-24. Voltampérométrie cyclique du PEDOT:PSS à gauche, et PEDOT:PSS/e-MIP-Fc à droite. Six électrodes (4 identiques à gauche et 2 à droite) ont été caractérisées pour chaque type de films en milieu aqueux avec KCl à 1 mM, v=100mV/s.

Une troisième approche envisagée a été de fabriquer des électrodes à deux couches : une couche de PEDOT:PSS pour avoir un meilleur contact électrique entre la lame d'ITO et les e-MIP-Fc, et une couche d'e-MIP-Fc/siloxane. La double couche ainsi formée peut potentiellement permettre un accès plus facile du BPA vers les empreintes. Les deux couches ont été préparées en utilisant les protocoles décrits dans les approches précédentes. La microscopie électronique à balayage montre une dispersion homogène des particules des e-MIP-Fc (Figure 3-25).

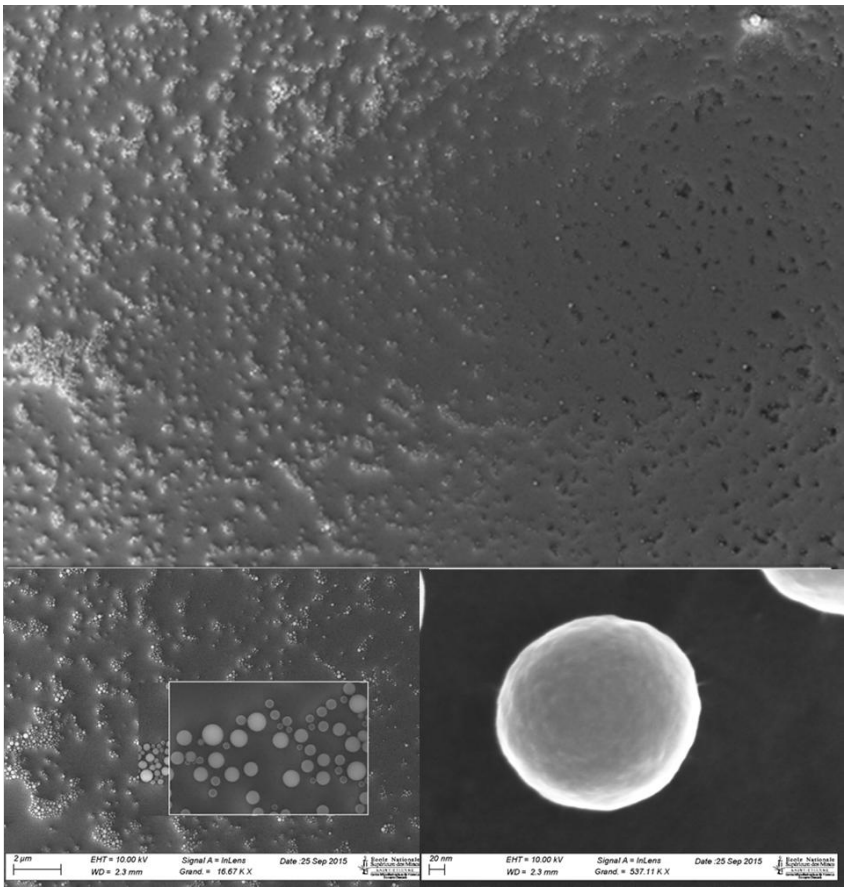


Figure 3-25. Images MEB du PEDOT:PSS-e-MIP-Fc-Silane.

La voltampérométrie cyclique révèle un système rédox caractéristique des groupements ferrocényles, indiquant ainsi que le siloxane n'a pas isolé les particules comme dans le premier cas (Figure 3-26). Il est à noter qu'une certaine difficulté dans la reproductibilité des électrodes est apparue avec ce protocole comme le met en évidence la voltampérométrie cyclique avec des enregistrements ayant la même allure mais non superposables. Néanmoins, les électrodes ont été immergées dans une solution très concentrée de BPA à 300 mg/mL pendant une nuit. Une diminution de l'intensité a été observée, mais malheureusement aussi pour la lame témoin qui a été immergée seulement dans une solution de KCl à 0,1 M (Figure 3-27).

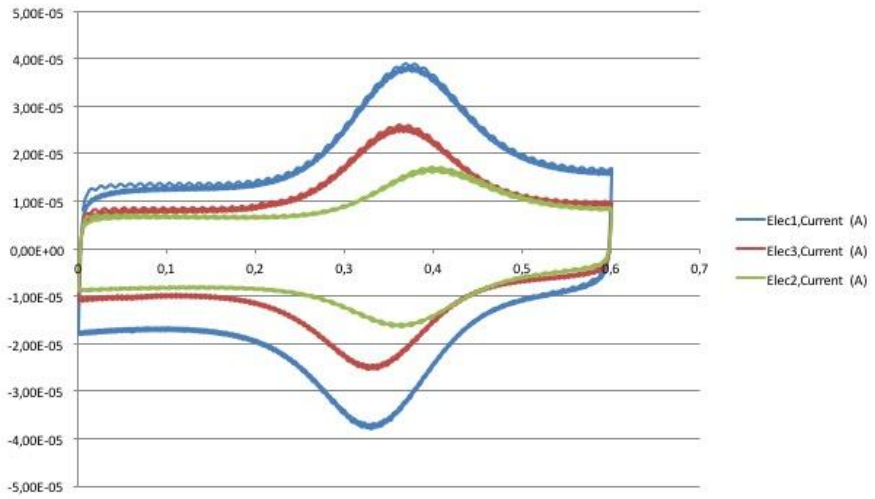


Figure 3-26. Voltampérogrammes cycliques des électrodes PEDOT:PSS-e-MIP-Fc-Silane, v= 100 mV/s.

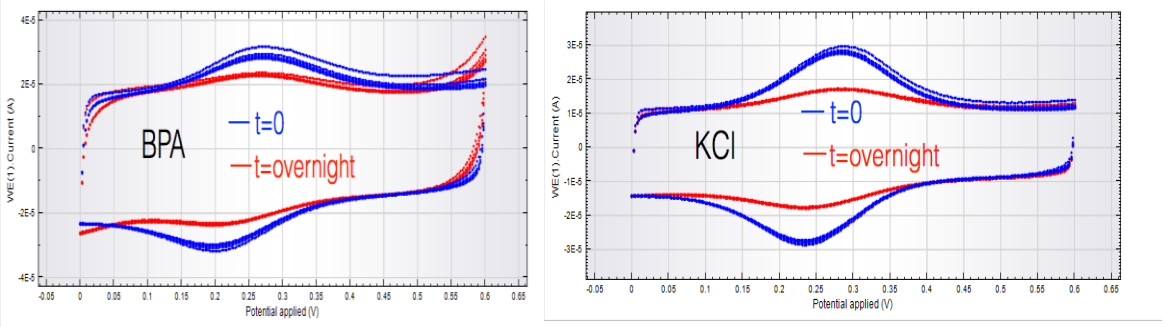


Figure 3-27. Voltampérogrammes cycliques des électrodes PEDOT:PSS-e-MIP-Fc-Silane avant (bleu) et après (rouge) incubation toute la nuit avec le BPA (à gauche) et KCl (à droite), v= 100 mV/s.

La dernière approche a résidé dans l'utilisation de la pâte de carbone, voie explorée lors d'un précédent travail de thèse.[136] Un test simple a consisté à placer un fil de cuivre dans un capillaire en verre avant d'introduire un mélange pâte de carbone/e-MIP-Fc. Les électrodes sont ensuite placées sous vide à 30°C pendant une nuit pour sécher le mélange pâte de carbone/e-MIP-Fc. La microscopie électronique à balayage montre la présence d'e-MIP-Fc entrelacé avec de la pâte de carbone sous forme de paillette (Figure 3-28).

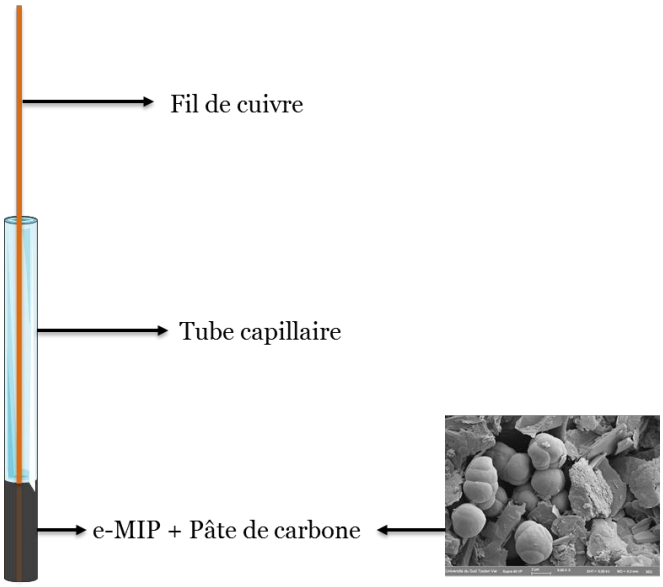


Figure 3-28. Electrode à base de pâte de carbone et d'e-MIP-Fc.

Cette électrode a été utilisée directement comme électrode de travail dans un système classique à trois électrodes. La voltampérométrie cyclique révèle un comportement similaire à celui décrit plus haut avec les particules au fond des cellules électrochimiques (Figure 3-29). Cependant, pour visualiser une diminution nette du courant après ajout de BPA, plusieurs heures sont nécessaires probablement dû à un problème de diffusion du BPA dans la pâte de carbone elle-même.

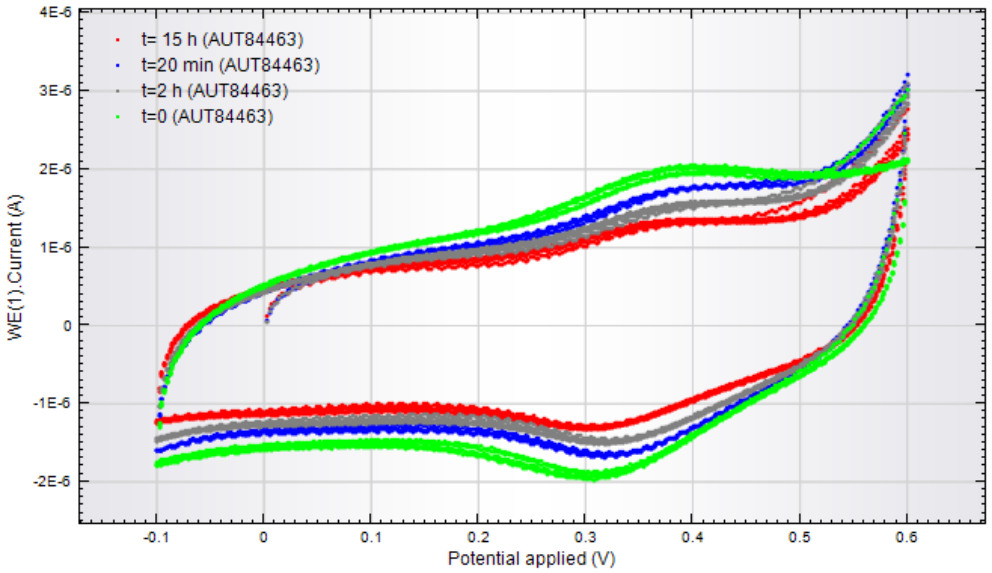


Figure 3-29. Voltampérogrammes cycliques de l'électrode de carbone/e-MIP-Fc, avant (vert) et après ajout de BPA à 20 minutes (bleu), 2h (gris) et 15h (rouge), v= 100 mV/s.

Les différentes techniques envisagées jusque-là, pour obtenir des dispositifs de détection à base d'e-MIP-Fc pour le BPA ont conduit à des particules dont les cavités empreintes étaient masquées, masquant par la même occasion les groupements ferrocényle censés générés le signal redox ou le signal de reconnaissance du BPA par les capteurs. Finalement, seule l'utilisation de la pâte de carbone semble possible dans ce dispositif.

3.3.2.3 Préparation des OECTs

Le mélange pate de carbone/e-MIPs-Fc a dont été intégré à la grille, le tout sur un support en verre (Figure 3-30). Plusieurs transistors ont été fabriqués y compris ceux servant de blanc (OECT0) qui ne contiennent pas à leur surface le mélange la pâte de carbone/e-MIPs-Fc. Toutes les mesures ont été réalisées dans 0,1 M de NaCl en utilisant comme cellule de mesure, du PDMS posé sur le support en verre de manière à intégrer les différentes éléments drain, grille et source dans le système. Afin d'évaluer le comportement du transistor par rapport au BPA, des ajouts de 20 µL d'une solution de BPA à 0,1 M de NaCl ont été effectués.

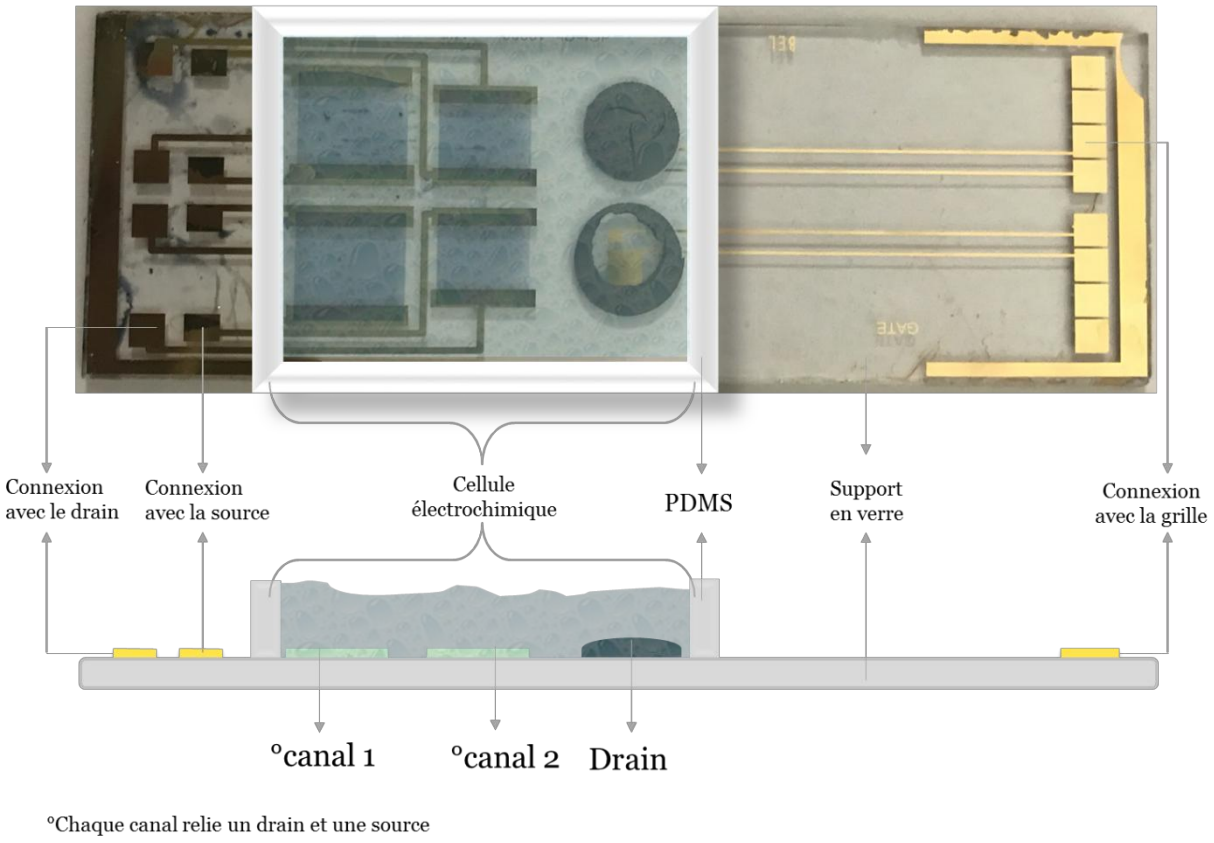


Figure 3-30. Cellules électrochimiques utilisées pour l'analyse des OECTs.

Les OECTs, pour la caractérisation ont ensuite été polarisés avec une tension drain-source V_{ds} = -0,6 V pour une tension de grille V_{gs} = 0,4 V. Le dispositif tel qu'il est construit conduit à un important volume (6400 x 4500 x 0,5 μm^3) qui demande plus de 100 secondes de temps de stabilisation avant de le tester en présence de BPA, et comparé bien entendu à un dispositif sans pâte de carbone/e-MIP-Fc. Ce dernier dispositif est par ailleurs nécessaire pour évaluer l'effet de l'électrolyte, avec ou sans BPA ainsi que la stabilité du système (Figure 3-31).

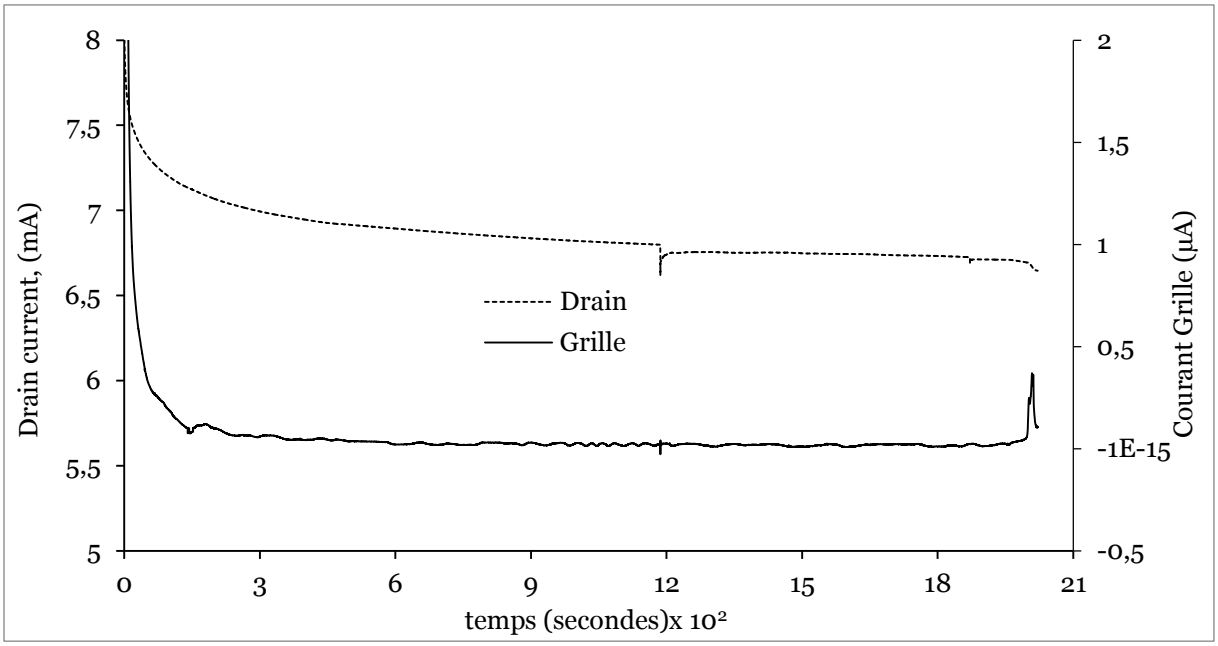


Figure 3-31. Réponses électrochimiques des courants de drain et de grille du blanc (OECT sans e-MIP-Fc/pate de carbone, Vds = -0,6 V ; Vgs = 0,4), dans 0,1 M NaCl.

Les premiers tests avec deux OECT-e-MIP-Fc (OECT1 et OECT2) en présence de BPA sont présentés sur la Figure 3-32.

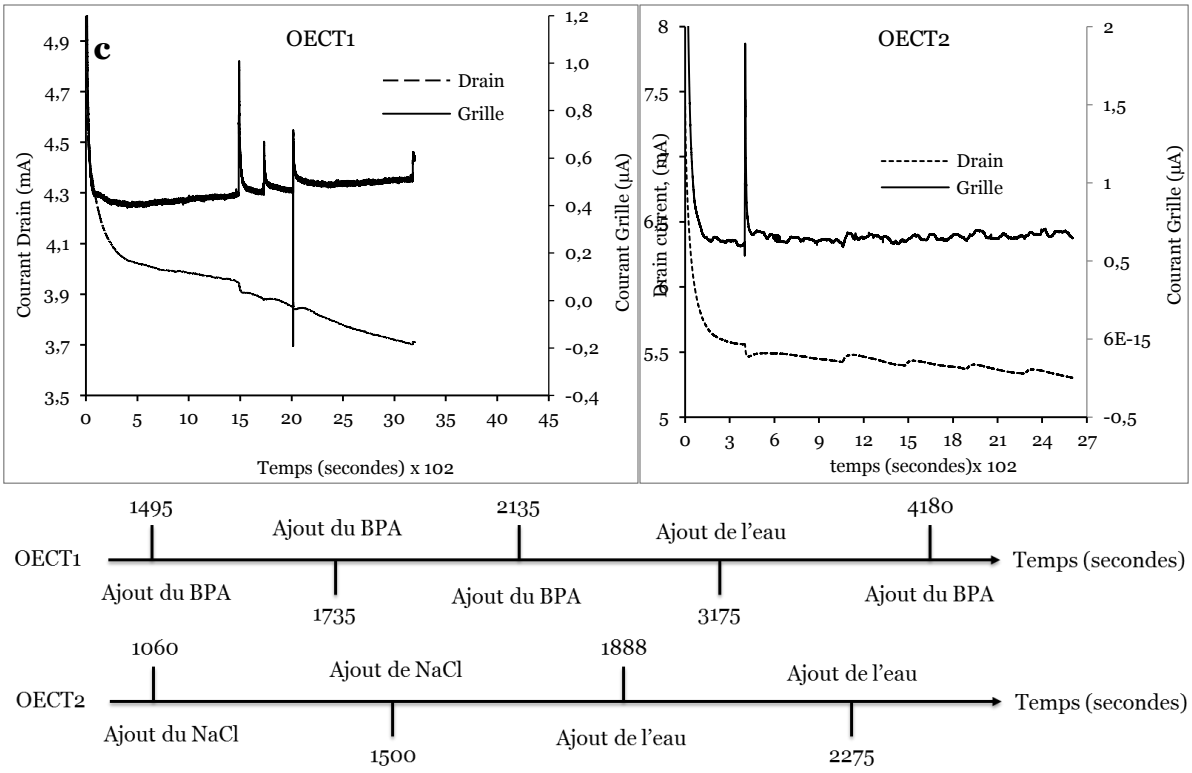


Figure 3-32. Réponses électrochimiques des courants de drain et de grille des OECT-e-MIP-Fc (OECT1 et OECT2, Vds = -0,6 V ; Vgs = 0,4) dans 0,1 M NaCl et leurs échelles de temps.

Après stabilisation du courant, des ajouts alternés entre le BPA, l'électrolyte et de l'eau distillée sont effectués afin de pouvoir confirmer que les variations du courant de drain observées sont bien du fait du BPA.

Pour ce qui est du premier dispositif (OECT1), après ajout de 20 µL de la solution de BPA à 56 mM à 1495 secondes, une baisse du courant de drain et parallèlement une augmentation du courant de grille sont enregistrées. Trois autres ajouts de BPA à 1735, 2135 et 4180 secondes n'entrainent qu'une faible variation du courant de drain corrélée à une faible augmentation du courant de la grille. L'ajout du volume d'eau ionisée à 3175 secondes conduit à une augmentation du courant de drain. Comme en solution, une saturation des e-MIP-Fc par le BPA peut être évoquée. La mesure a été répétée avec un second transistor (OECT2, Figure 3-32). Après stabilisation, le BPA est additionné, mais aussi une solution de NaCl (0,1 M) à 1060 et 1500 secondes. Aucune chute de courant n'a été observée lors de l'addition de NaCl. Au contraire, une augmentation transitoire du courant de drain a été enregistrée probablement due

à la dilution. L'addition d'eau à 1888 secondes puis de BPA à 2275 secondes entraine un effet similaire.

Ces premiers essais ont conduit à des résultats potentiellement intéressants. Cependant, des tests complémentaires sont nécessaires pour statuer définitivement sur l'intérêt ou pas d'utiliser un dispositif de type OECT pour mettre en forme les e-MIP-Fc.

Pour finaliser ce travail, des expériences supplémentaires seront nécessaires pour confirmer la nature des réponses obtenues lors de l'ajout de BPA pour les transistors et les microélectrodes multicanaux. Ces expériences comprennent la fabrication de dispositifs avec le polymère non-imprimé qui permettra non seulement de conclure que cette diminution de l'intensité des pics anodique et cathodique pour les électrodes multicanaux ou la baisse du courant de drain observée pour les transistors n'est pas du fait d'une adsorption non spécifique. A la suite de ces expériences, il sera ensuite possible de procéder à une caractérisation classique, en essayant de déterminer la reproductibilité des mesures, l'étalonnage des dispositifs et la robustesse de la méthode pour la détection du BPA par ces capteurs dans l'environnement.

3.4 Conclusion

Le travail effectué dans cette partie a montré que les particules d'e-MIP-Fc synthétisé par polymérisation par précipitation présentent bien un système rédox réversible lié au couple ferrocène/ferrocénium. Les vitesses adaptées pour la mesure de ce système rédox correspondent à 10 et 25 mV/s pour obtenir un bon rapport intensité/vitesse. A des vitesses correspondantes à celles citées précédemment, le polymère à empreinte moléculaire offre une meilleure reconnaissance du BPA que le polymère non-imprimé justifiant de la présence des cavités empreintes spécifiques pour le BPA. Leur intégration dans les microélectrodes et dans les transistors avec une matrice constituée de pâte de carbone et d'e-MIP-Fc permet de conserver ce signal ainsi que la reconnaissance du BPA par ce dernier. Des études ultérieures basées sur les microélectrodes et transistors à base de polymères non-imprimés permettront de confirmer que les réponses observées sont dues à la présence du BPA. Il sera ensuite nécessaire de corréler ces réponses avec les concentrations en BPA et dans les

échantillons naturels pour voir s'il est possible d'utiliser ces dispositifs comme capteurs.

4 Electrodes sérigraphiées à base de MIPs électrochimiques pour la détection du Bisphénol A

Table des Matières

4.1 VOLTAMPEROMETRIE CYCLIQUE DES E-MIP-FC-VP 117
4.2 ELECTRODES SERIGRAPHIEES AVEC LES E-(MIP/NIP)-FC-VP..... 120
4.2.1 BREVE INTRODUCTION 120
4.2.1.1 La pâte de carbone 121
4.2.1.2 Les SPE à base de pâte de carbone 122
4.2.2 FABRICATION DES SPE A BASE DE E-(MIP/NIP)-FC-VP POUR LE BPA 123
4.2.3 CARACTERISATION DES SPE-E-(MIP/NIP)-FC-VP 125
4.2.3.1 Caractérisation des SPE-e-(MIP/NIP)-Fc-VP par microscopie 125
4.2.3.2 Caractérisation des SPE-e-(MIP/NIP)-Fc-VP par voltampérométrie cyclique 126
4.2.3.3 Calibration des SPE-e-(MIP/NIP)-Fc-VP 130
4.2.3.4 Etude statistique des résultats liés aux intensités obtenue par calibration.. 134
4.2.3.5 Sélectivité des SPE-e-MIP-Fc-VP 134
4.3 SPE-E-MIP-FC POUR LA DETECTION DU DICLOFENAC 136
4.3.1 SYNTHESE DU E-MIP POUR LE DICLOFENAC..... 136
4.3.2 ELECTROCHIMIE DES SPE-E-MIP-FC18 138
4.4 CONCLUSION 140

Ce chapitre est consacré à l'incorporation des e-MIP-Fc-VP dans des électrodes sérigraphiées (Screen-Printed Electrodes, SPE, en anglais). La première partie est, comme pour les e-MIP-Fc, consacrée à la caractérisation électrochimique de ces polymères en solution. Dans un second temps, après quelques rappels sur les SPE basées sur la pâte de carbone, la fabrication des SPE/e-MIP-Fc-VP sera décrite avant de finir par l'évaluation de ces SPE.

4.1 Voltampérométrie cyclique des e-MIP-Fc-VP

Les études électrochimiques des polymères ont donc été menées dans les mêmes cellules que pour les e-MIP-Fc à savoir, pour commencer, en milieu organique, avec l'électrode de travail en platine de diamètre 1 cm, une électrode de référence au calomel saturé (ECS) et une contre électrode de platine. 10 mg de polymère (e-MIP-Fc-VP ou e-NIP-Fc-VP) sont déposés au fond de la cellule avec 5 mL d'acétonitrile et du TBAFP à 0,1 M. Comme attendu, les voltampérogrammes cycliques présentent le système rédox caractéristique des groupements ferrocényles avec des pics anodique et cathodique, respectivement à 470 et 350 mV *vs* ECS. La différence de potentiel entre les pics anodique et cathodique pour les e-MIP-Fc-VP est de 80 mV soit 50 mV de moins que pour les e-MIP-Fc, ce qui traduit un meilleur transfert électronique entre ces e-MIPs et l'électrode de platine. Ceci entraine par conséquent une meilleure symétrie entre les vagues anodique et cathodique. Une meilleure mouillabilité due à la présence de la 4-VP pourrait expliquer ce résultat.

Dans le cas de ces e-MIP-Fc-VP, des ajouts successifs de 100 µL d'une solution de ferrocène à 1 mg/L (dans l'acétonitrile à 0,1 M de TBAFP) ont été réalisés (Figure 4-1). Cette méthode des ajouts dosés permet bien évidement de confirmer la présence du signal du ferrocène mais aussi de noter la quasi-superposition en termes d'allure et de valeurs de potentiels (mais pas d'intensité) entre le système rédox des groupements ferrocényles et celui du ferrocène en solution. En d'autres termes, les propriétés électrochimiques des groupements ferrocényles ne semblent pas affectées par le fait qu'ils soient partie intégrante d'un polymère. Encore une fois, la meilleure mouillabilité de ces particules dans l'acétonitrile peut être évoquée. Les courbes de l'évolution de l'intensité de courant en fonction de la concentration en ferrocène ajouté conduit pour les e-MIP-Fc-VP et e-NIP-Fc-VP, à des droites avec de bons

coefficients de régression linéaire (Figure 4-4) indiquant une quantité de ferrocène résiduelle, celle présente dans les polymères.

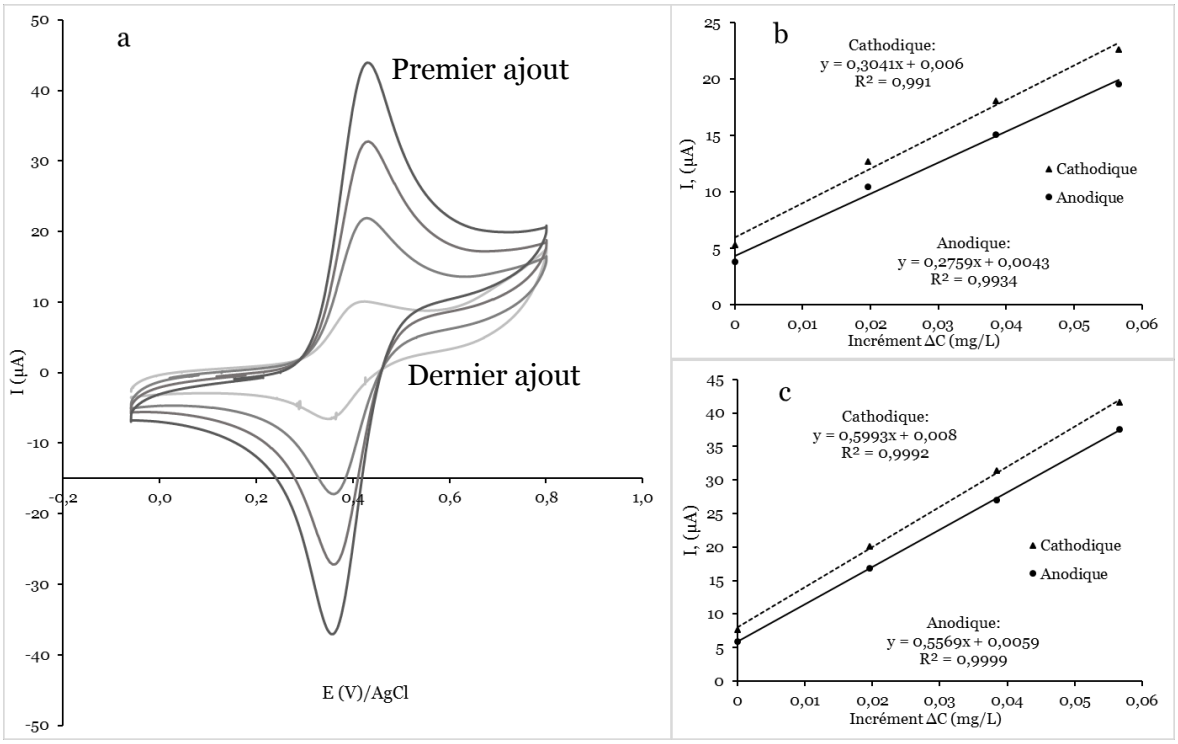


Figure 4-1. (a) voltampérométrie cyclique pour l'e-MIP-Fc-VP avant et après ajouts successifs de 100µL de ferrocène à 1 mg/L (ACN, TBAFP 0,1 M) ; v = 25 mV/S. Intensité des pics anodique et cathodique en fonction de la concentration en ferrocène ajouté pour l'e-MIP-Fc-VP (b) et l'e-NIP-Fc-VP (c).

Comme les e-MIP-Fc au chapitre précédent, les voltampérogrammes cycliques des e-MIP-Fc-VP et e-NIP-Fc-VP ont ensuite été enregistrés en milieu aqueux avec 0,1 M de $LiClO_4$ selon le même protocole que précédemment. 5 mg de polymères au fond d'une cellule avec une électrode de travail en or à leur contact (Figure 3-1). Les voltampérogrammes cycliques présentent des systèmes rédox attribués aux groupements ferrocényles. La comparaison avec ceux obtenus pour les e-MIP-Fc et e-NIP-Fc (Figure 3-9) révèle que les systèmes rédox des e-MIP-Fc-VP et e-NIP-Fc-VP sont moins symétriques, notamment dû à un décalage positif des pics anodiques, ce qui met en évidence une plus grande difficulté à oxyder les groupements ferrocényles. Ceci est en accord avec l'inverse observé en milieu organique. Après un temps de stabilisation de 10 heures comme avec les particules d'e-MIP-Fc, l'addition de 200 µL d'une solution de BPA à 200 mg/L dans l'eau distillée avec du $LiClO_4$ à 0,1M conduit

à une diminution de l'intensité du courant d'oxydation comme le montre la Figure 4-2.

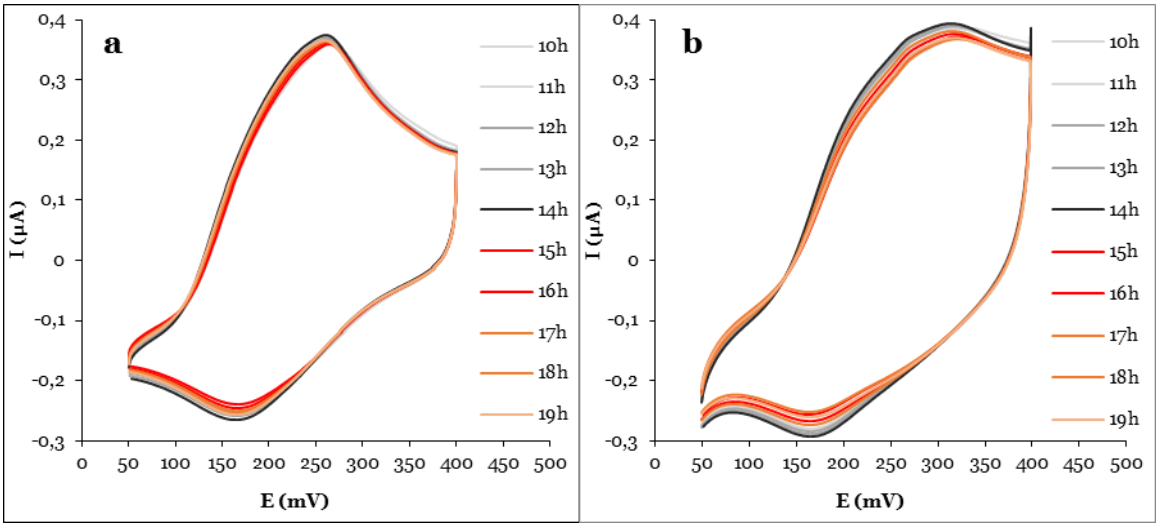


Figure 4-2. Evolution des voltampérogrammes cycliques des e-NIP-Fc-VP (a) et e-MIP-Fc (b) avant (de 10h à 14h) et après (de 15 à 17h et 18 à 19h) ajout du BPA dans l'eau distillée avec du $LiClO_4$ à 0,1M, v= 10 mV/s.

Etant donné la difficulté d'observer de manière nette la différence de variation de l'intensité du signal avant et après ajout du BPA, il devient plus que nécessaire de transformer la variation d'intensité en intensité relative (Figure 4-3). Après deux ajouts effectués sur les polymères imprimé et non imprimé à 14h et à 17h, il apparait une diminution de l'intensité du pic anodique et donc une augmentation de l'intensité relative pour l'e-MIP-Fc-VP et l'e-NIP-Fc-VP. Toutefois, l'augmentation de l'intensité relative observée est légèrement plus importante pour le polymère imprimé, ce qui permet de différencier les deux polymères.

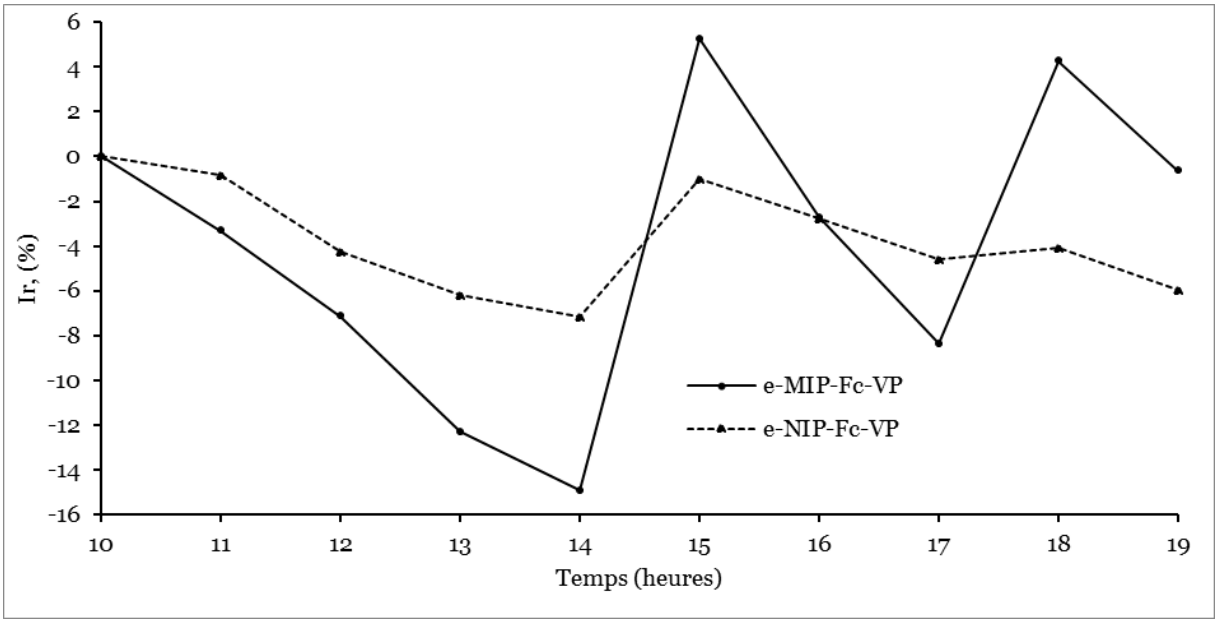


Figure 4-3. Evolution des intensités relatives des e-NIP-Fc et e-MIP-Fc avant (de 10h à 14h) et après (de 15 à 17h et 18 à 19h) ajout du BPA dans l'eau distillée avec du $LiClO_4$ à 0,1M, v= 10 mV/s.

Cette différence modeste observée entre les intensités relatives des e-MIP-Fc–VP et e-NIP-Fc-VP peut être due à la difficulté d'oxydation/d'accessibilité du ferrocène, difficulté amplifiée par la présence du BPA. Le faible signal observé pourrait traduire un faible rapport signal/bruit et donc, une adsorption non spécifique plus importante. Dans ces conditions, il convient d'incorporer ces polymères dans les électrodes sérigraphiées pour figer ces particules sur une surface conductrice qui pourra potentiellement favoriser l'accès aux groupements ferrocényles et par conséquent l'oxydation des groupements ferrocényle et accroitre ainsi la sensibilité de détection.

4.2 Electrodes sérigraphiées avec les e-(MIP/NIP)-Fc-VP

4.2.1 Brève introduction

Dans le présent travail, la première étape consiste donc à immobiliser les e-(NIP/MIP)-Fc-VP sur une électrode sérigraphiée. Le greffage de ces particules à la surface de l'électrode de travail de la SPE serait particulièrement intéressant surtout sous forme de monocouche. En effet, dans cette configuration, il y aurait un recouvrement maximal et très probablement avec un meilleur transfert électronique possible entre les particules et la SPE, à condition d'avoir le minimum de distance

possible entre ces éléments. Cependant, compte-tenu du temps imparti pour ce travail de thèse, cet aspect n'a pas été abordé, et l'option consistant à mélanger les e-(NIP/MIP)-Fc-VP à la pâte de carbone a été préférée, car plus simple à mettre en place pour valider le concept.

4.2.1.1 La pâte de carbone

Le premier rapport qui fait état des avantages de la pâte de carbone pour la polarographie anodique en tant qu'électrode pour les mesures électrochimiques et électroanalytiques a été publié en 1958 par R.N.Adams[192,193]. La pâte de carbone est la matrice conductrice la plus utilisée pour réaliser des électrodes modifiées car elle est simplement préparée par mélange homogène de graphite et avec un liant organique. Les problèmes rencontrés avec les électrodes à pâtes de carbone peuvent être classifiées selon trois critères principaux[193] :

Les caractéristiques physico-chimiques du liant ;

La viscosité de la pâte ;

le caractère modifié (associé à un autre élément comme un film d'or[194]) ou non de la pâte de carbone utilisée.

Le premier critère conduit souvent à des pâtes de carbones sèches ou humides avec une difficulté à enregistrer un signal rédox. Ainsi, comme illustré sur la Figure 4-4, une électrode à pâte de carbone humide permettra probablement d'enregistrer un système rédox plus symétrique et avec moins de courant capacitif que dans le cas d'une électrode sèche. Ceci est a relié à la plus faible cohésion des éléments constitutifs dans le cas de l'électrode séchée pour laquelle des pertes de pâte de carbone peuvent être envisagée. Cet aspect se révèle donc particulièrement important dans le cadre de ce travail.

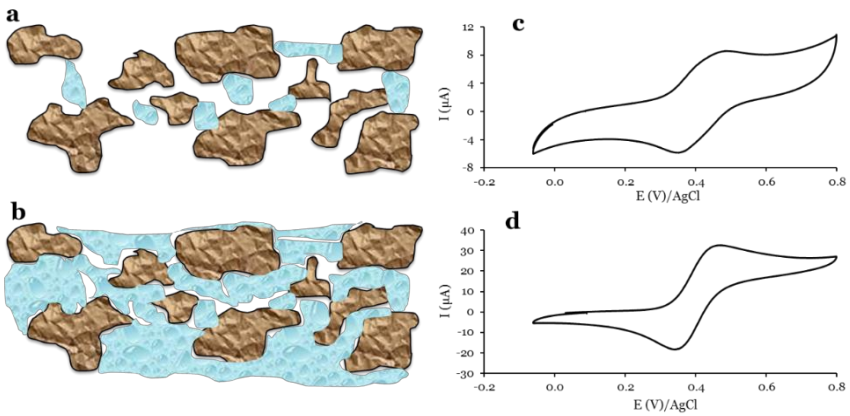


Figure 4-4. Relation entre la structure d'une électrode à pâte de carbone séchée (a) et une électrode humidifiée (b) et le signal du ferrocène (c) et (d) respectifs[193].

4.2.1.2 Les SPE à base de pâte de carbone

Les SPEs sont des électrodes miniaturisées sur un substrat plan, sur lesquelles on retrouve à minima une électrode de travail, une référence et une contre-électrode (Figure 4-5).

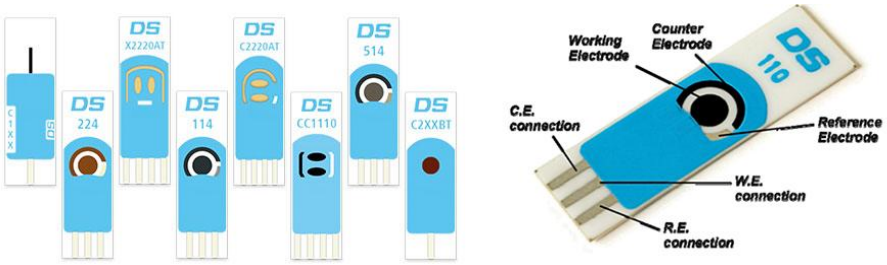


Figure 4-5. Exemple d'électrodes sérigraphiées de la Société DropSens.

Elles sont généralement associées à des techniques de détection électrochimiques comme les techniques ampérométriques (mesure du courant), les techniques potentiométriques (basées sur la différence de potentiel) et les techniques conductimétriques (mesure de la conductivité ou de la résistivité)[195]. Ce sont des dispositifs qui fournissent des réponses rapides et sensibles, et qui sont simples de fabrication et peuvent être à usage unique donc jetables[196]. Ce dernier point permet de simplifier le processus de mesure *in situ* puisqu'il permet dans ce cas le renouvèlement de la surface après chaque utilisation. Leur coût est généralement faible ce qui leur permet de rester compétitives face à d'autres systèmes de détection, avec en plus, une facilité de conditionnement et une portabilité indéniable.

Un protocole de fabrication détaillé a été rapporté M.Li et al.[196]. Ce dernier est repris de manière simplifiée par A.Hayat et J.-L.Marty,[195] et présenté sur la Figure 4-6. Quatre étapes sont nécessaires pour préparer une SPE. Sur un substrat inerte, la première étape va être basée sur la sérigraphie des trois électrodes (passage 1-2), la seconde, à la sérigraphie de l'électrode de référence (passage 2-3), suivi par la sérigraphie d'un isolant (passage 3-4) avant d'intégrer une phase de reconnaissance externe à la surface de l'électrode de travail (passage 4-5) (Figure 4-6).

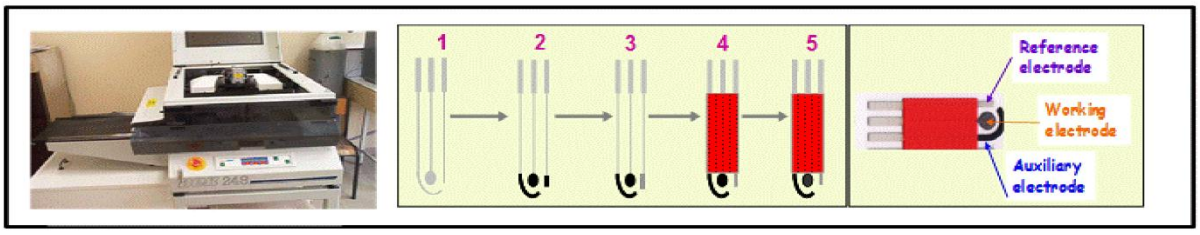


Figure 4-6. Fabrication d'une SPE à trois électrodes[195].

Ce type d'électrode a été utilisé pour la détection d'un grand nombre d'analyte comme, par exemple, l'aminophénol[197], le 3-(3,4-Dichlorophényle)-1,1-Diméthylurée[198], le cortisol[199]. Ces études rapportent des limites de détection de l'aminophénol et du 3-(3,4-Dichlorophényle)-1,1-Diméthylurée jusqu'à 50 nM[197] et 5,8 µM[198] respectivement et une gamme de détection pour le cortisol comprise entre 1,28 et 20 nM[199]. L'utilisation de ces dispositifs pour la détection du glucose, pour évaluer le diabète, a cristallisé l'attention sur ces électrodes depuis plusieurs années au point qu'elles représentent un marché de plus d'un milliard de dollars[200–202], les sensibilités de détection du glucose allant jusqu'à 28,24 nA/µM/cm² [203]. Récemment G.Hughes et al. ont publié une étude sur les dernières recherches avancées dans la fabrication et les applications des électrodes sérigraphiées dans les trois secteurs principaux : biomédical (notamment pour le glucose), agroalimentaire et dans l'environnement[204].

4.2.2 Fabrication des SPE à base de e-(MIP/NIP)-Fc-VP pour le BPA

La pâte de carbone modifiée avec les e-(MIP/NIP)-Fc-VP a été préparée en mélangeant mécaniquement 250 mg de polymères avec 1 g de graphite Timrex T15 dans 20 mL d'acétone. L'acétone est ensuite évaporée puis 10 mL d'une solution

d'hydroxyéthylcellulose (4% dans de l'eau bi-distillée) sont ajoutés au mélange polymères/poudre de graphite. Ce mélange conduit à des électrodes de travail ayant une bonne stabilité associée à une bonne conductivité, mais aussi une grande porosité et hydrophilie qui pourrait, a priori, facilité l'accès de l'électrolyte aux molécules immobilisées[205]. Des électrodes sérigraphiées (24 par plaque et par impression, Figure 4-7) ont ensuite été préparées à l'aide d'un système de sérigraphie semi-automatique DEK 248 (DEK, UK) sur des plaques de PVC transparentes (200 mm x 100 mm x 0,5 mm). Les trois électrodes ont ainsi été imprimées sur la plaque de PVC avec une électrode de travail sous forme d'un disque de 4 mm de diamètre, une électrode auxiliaire incurvée de 16 mm x 1,5 mm et une pseudo-électrode de référence AgCl en ligne droite de 5 mm x 1,5 mm. Afin d'isoler les trois électrodes, une peinture glycérophtalique (Astral, France) est utilisée comme couche isolante. Les pâtes modifiées avec les e-(MIP/NIP)-Fc-VP ont été ensuite sérigraphiées pour couvrir les électrodes de travail.

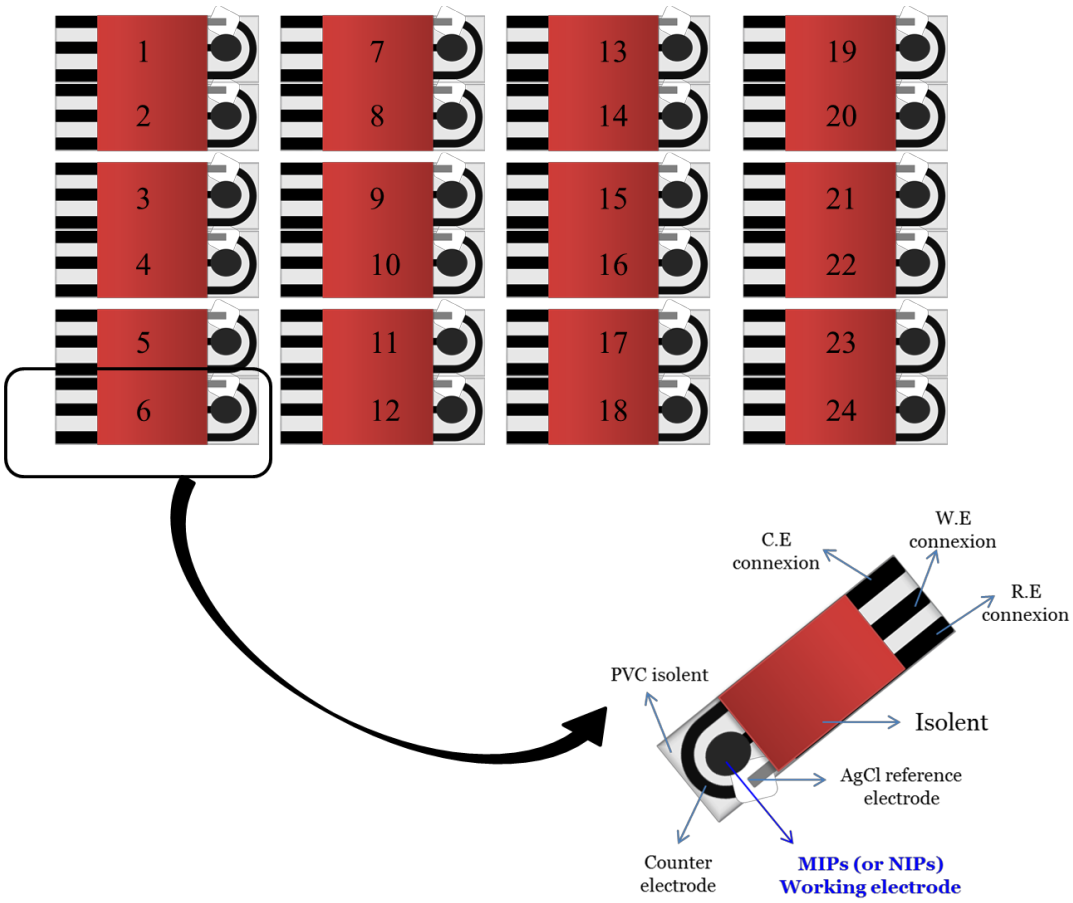


Figure 4-7. Structure d'une plaque de 24 électrodes sérigraphiées basées sur un système à trois électrodes avec les numéros d'identification.

4.2.3 Caractérisation des SPE-e-(MIP/NIP)-Fc-VP

4.2.3.1 Caractérisation des SPE-e-(MIP/NIP)-Fc-VP par microscopie

La caractérisation par microscopie des SPE-e-(MIP/NIP)-Fc-VP permet de vérifier la nature de l'incorporation des particules de polymères à la surface de l'électrode de travail. Une observation au microscope numérique permet d'avoir une vue générale (Figure 4-9a et 9a). Les SPE-e-MIP-Fc-VP ont une surface totale d'environ 13 mm² pour ce qui est de l'électrode de travail. L'électrode de travail et la contre électrode sont distantes de 2 mm. L'observation permet également d'anticiper d'éventuels courts-circuits. Ainsi, la comparaison des Figure 4-8a et Figure 4-9a révèle une électrode de travail moins bien résolue dans le cas de la Figure 4-8a. Une analyse plus poussée en microscopie électronique à balayage (Figure 4-8b b) permet de visualiser la bonne dispersion des particules à la surface de l'électrode de travail. Dans le cas de la SPE-e-MIP-Fc-VP de la Figure 4-8b, il apparait clairement des zones érodées, contrairement à ce qui est observé sur la Figure 4-9b. Dans le cas présent, c'est probablement un problème de stockage qui a entrainé ce dégât à la surface de l'électrode. Il convient néanmoins d'en tenir compte lors de la caractérisation électrochimique, parce qu'ils ont un impact direct, notamment sur l'intensité du système rédox des groupements ferrocényle. En effet, une quantité importante de particules à la surface doit conduire à une intensité de courant plus importante. L'expression de la diminution de l'intensité de courant en pourcentage (intensité relative) prend tout son sens ici, pour pallier à ces défauts possibles lors de la préparation des électrodes.

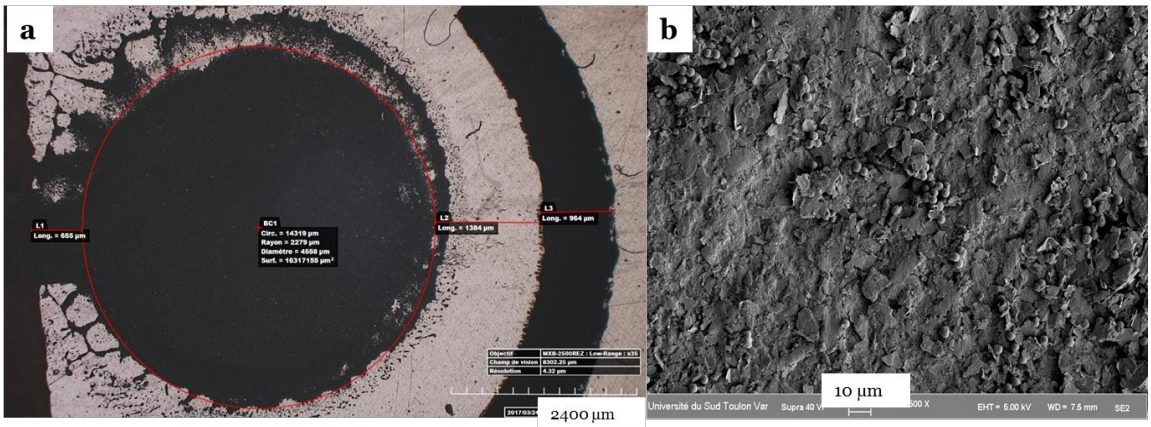


Figure 4-8. Exemple de SPE-e-MIP-Fc-VP à la surface érodée. (a) électrode A10 et (b) électrode F3.

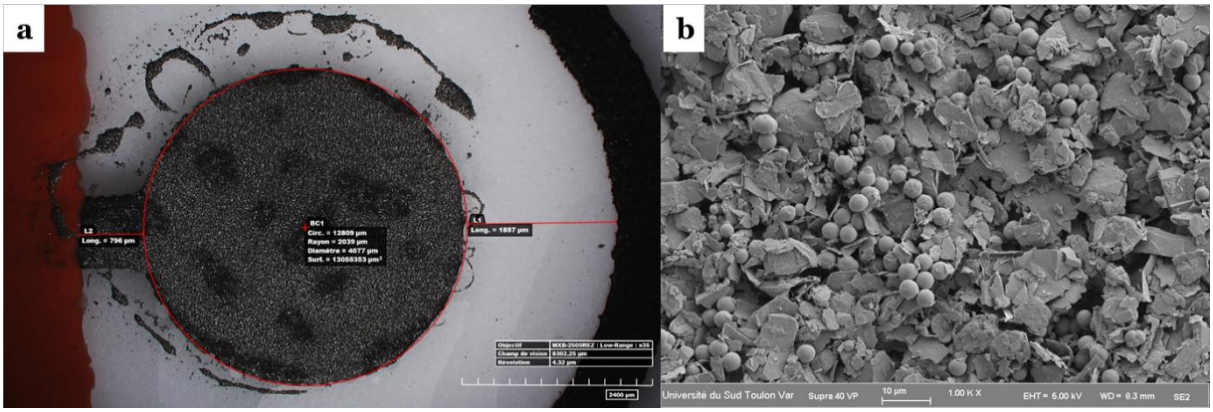


Figure 4-9. Observation d'une SPE-e-MIP-Fc-VP. Gauche : (a) vue globale à partir d'un microscope numérique et (b) vue sur la distribution des particules à la surface à partir d'un microscope électronique à balayage (MEB).

4.2.3.2 Caractérisation des SPE-e-(MIP/NIP)-Fc-VP par voltampérométrie cyclique

Les électrodes sérigraphiées ont été testées avec un connecteur adapté dans un volume d'eau de 15 mL avec du KCl à 0,1M (*Figure 4-10*). L'ajout de BPA est fait sous agitation, mais les enregistrements des voltampérogrammes cycliques sont effectués après avoir stoppé l'agitation.

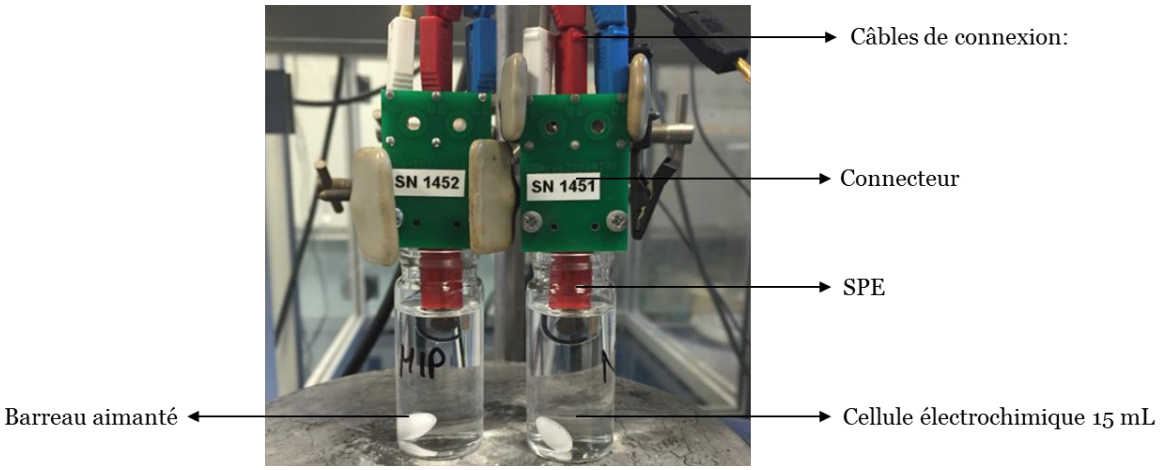


Figure 4-10. Photo de montage pour une mesure avec les SPE-e-MIP-Fc-VP.

Une première série d'électrode a été préparée seulement avec la pâte de carbone sans e-MIP-Fc-VP. Comme attendu, les voltampérogrammes cycliques enregistrés entre -0,2 V et 0,3 V *vs* AgCl à 25 mV/s ne révèlent aucun système redox (Figure 4-11).

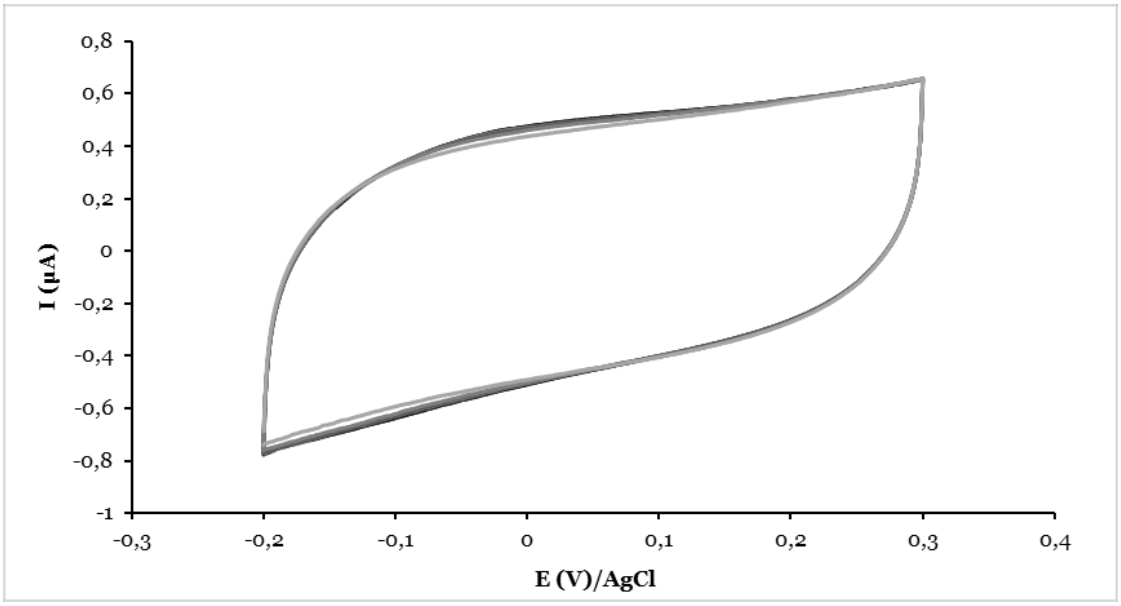


Figure 4-11. Voltampérogramme cyclique d'une SPE-pâte de carbone dans l'eau avec KCl à 0,1 M, v= 25 mV/s.

La voltampérométrie différentielle pulsée (DPV) a permis dans un premier temps de rechercher le système rédox associé au couple ferrocénium/ferrocène mais aussi de conditionner l'électrode sérigraphiée e-(MIP/NIP)-Fc-VP (Figure 4-12) avec l'enregistrement de 11 à 12 cycles. Par contre, contrairement à la voltampérométrie cyclique, la vague d'oxydation enregistrée en DPV est moins stable. Ces mesures ont cependant révélé une différence d'intensité du pic d'oxydation entre les e-MIP-Fc-VP et e-NIP-Fc-VP.

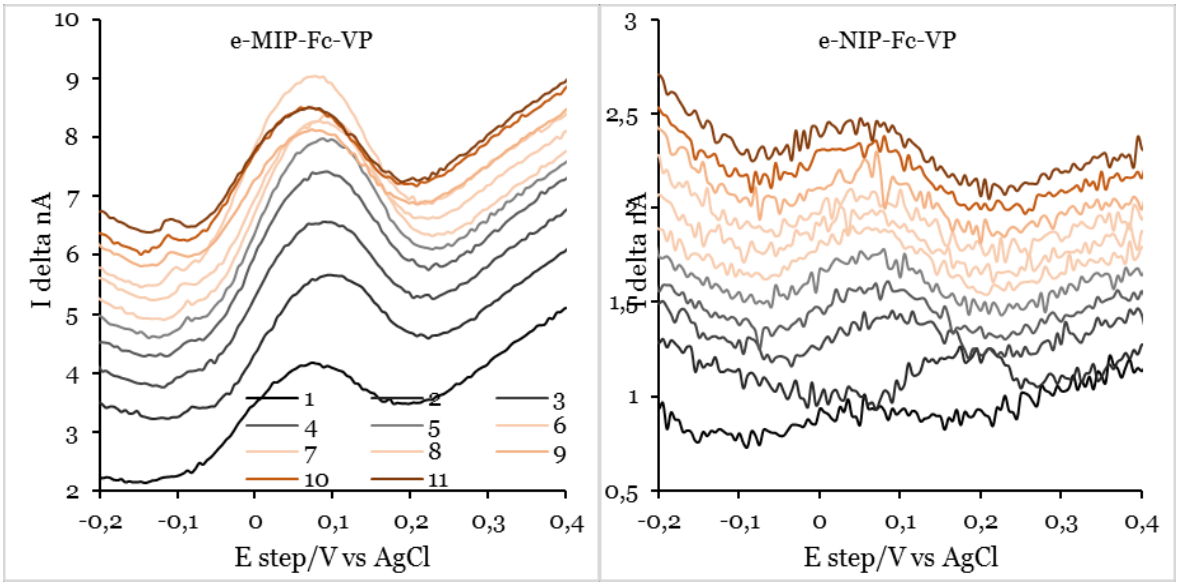


Figure 4-12. Voltampérogrammes différentiels pulsés obtenus pendant le conditionnement de l'électrode sérigraphiées avant les mesures de calibration effectuées en voltampérométrie cyclique dans du KCl 0,1 M. P_H : 150 mV; P_W : 300 ms; S_T : 400 ms.

Les voltampérogrammes cycliques des SPE-e-(MIP/NIP)-Fc-VP enregistrés en parallèle, présentent le système rédox associé aux groupements ferrocényles (Figure 4-13). Un temps allant de 30 minutes à plusieurs heures est cependant nécessaire pour obtenir un voltampérogramme cyclique stable, c'est-à-dire avec une variation inférieure à 5% de l'intensité relative. Ce temps de stabilisation peut être imputable à un problème de mouillabilité qui est moins efficace en milieu aqueux comme le laisse supposer les enregistrements préalable fait en milieu organique et aqueux avec les particules. La comparaison des voltampérogrammes cycliques montre clairement que l'intensité du courant d'oxydation enregistrée pour les SPE-e-MIP-Fc-VP est nettement supérieure à celle enregistrée pour les SPE-e-NIP-Fc-VP. Un effet lié à la synthèse en présence ou pas de BPA peut être avancé. En effet, lors de la synthèse des e-NIP-Fc-VP, c'est-à-dire sans BPA, un certain nombre de groupements ferrocényles vont se trouver à proximité de la surface des particules et seront détectable par électrochimie. Dans le cas des e-MIP-Fc-VP, le même raisonnement est envisageable pour des groupements ferrocényles n'ayant pas eu d'interaction avec la cible dans le milieu de synthèse. Par contre, dans le cas des e-MIP-Fc-VP il y a aussi, et c'est le principe de base de la préparation des MIPs, des monomères porteurs de groupement ferrocényle qui vont former un complexe avec le BPA avant la réticulation. Dans ce

cas, le lavage des particules pour éliminer la cible va entrainer un nombre accru de groupements ferrocényles à la surface des particules se traduisant par une augmentation de l'intensité de courant avec des vagues anodique et cathodique mieux marquées. Ce raisonnement est par ailleurs supporté par le fait que la micro-analyse confirme la même quantité de méthacrylate de ferrocénylméthyle intégrée lors de la synthèse de ces particules. Il est également important de noter que le système rédox des groupements ferrocényles des SPE-e-MIP-Fc-VP est mieux résolu que dans le cas de l'enregistrement fait par contact de l'électrode de travail sur les particules au fond de la cellule. Dans une moindre mesure, c'est également le cas pour les SPE-e-NIP-Fc-VP. Par ailleurs, dans les deux cas, un décalage négatif d'environ 100 mV des pics anodique et cathodique est observé avec des valeurs E_{pa}/E_{pc} = 28 mV/-68 mV *vs* AgCl pour les SPE-e-MIP-Fc-VP et E_{pa}/E_{pc} = 33 mV/-50 mV *vs* AgCl pour les SPE-e-NIP-Fc-VP. Puisque les potentiels sont similaires, il est possible de conclure que les empreintes n'ont aucun effet sur les valeurs de potentiels. En d'autres termes, les analyses électrochimiques dans le cadre des SPE seront plus probantes que les tests réalisés plus haut directement avec les particules au fond des cellules d'électrochimie. La différence de potentiel entre les pics anodique et cathodique est supérieure à 59 mV ce qui laisse supposer comme précédemment un transfert électronique perturbé[136].

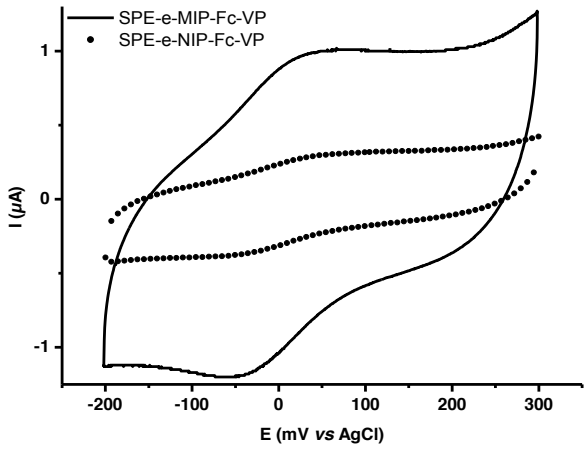


Figure 4-13. Comparaison des intensités des voltampérogrammes cycliques des e-MIP-Fc-VP et e-NIP-Fc.

Avant tout ajout de BPA, 20 µL d'électrolyte sont ajoutés dans un premier temps afin de vérifier la stabilité du système c'est-à-dire que la variation de volume n'entraine pas de variation du système rédox. Après addition de 20 µL d'une solution de BPA à 18,6 µg/L suivi par 3 minutes d'agitation, le voltampérogramme cyclique est enregistré (Figure 4-14). Ce protocole est répété avec des ajouts continus de BPA jusqu'à la concentration de 413 ng/L. Comme attendu, une très nette diminution de l'intensité de courant est observée pour les SPE-e-MIP-Fc-VP contrairement aux SPE-e-NIP-Fc-VP. Ceci confirme d'une part, le rôle des empreintes pour piéger la cible et l'hypothèse de la présence de groupements ferrocényles dans ces empreintes qui se trouvent masqués en présence de BPA rendant leur caractérisation électrochimique difficile (Figure 4-14).

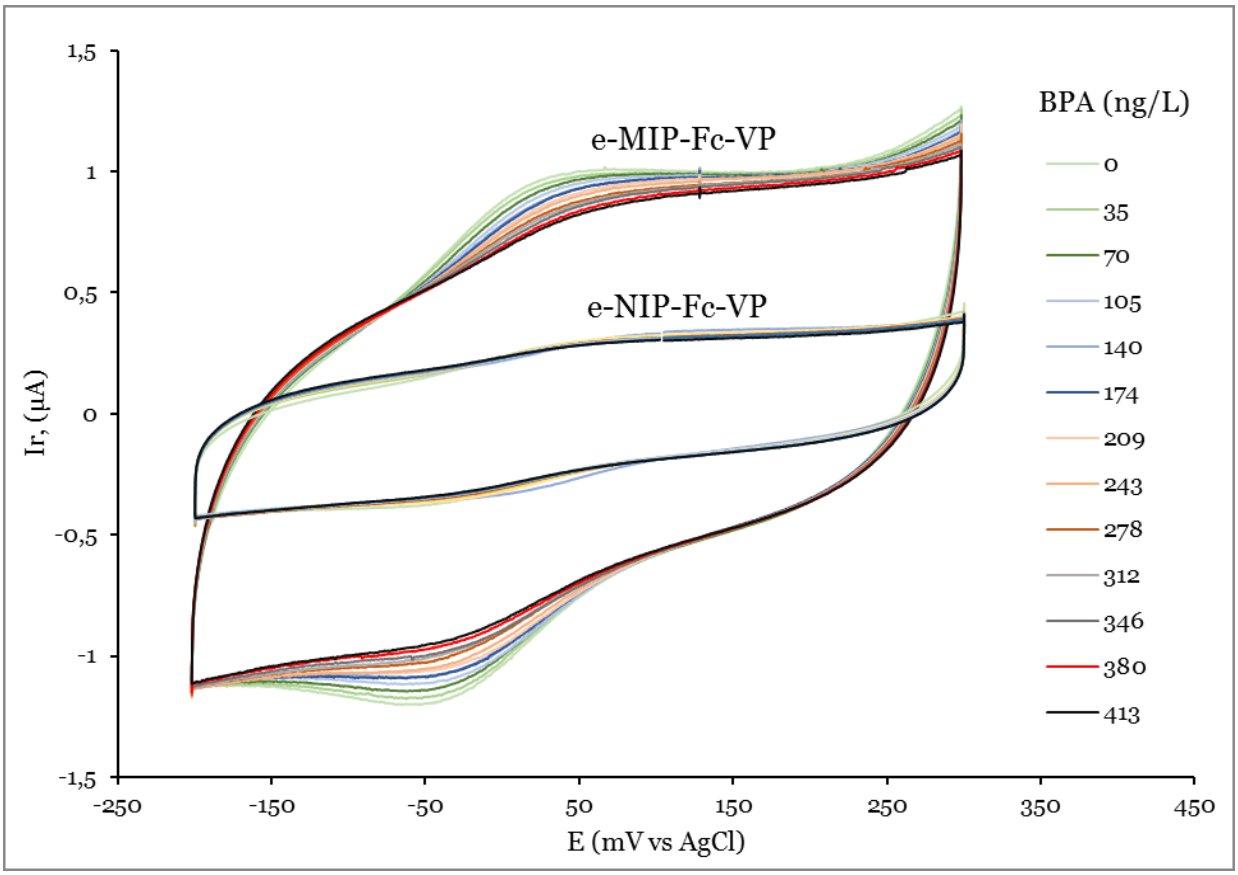


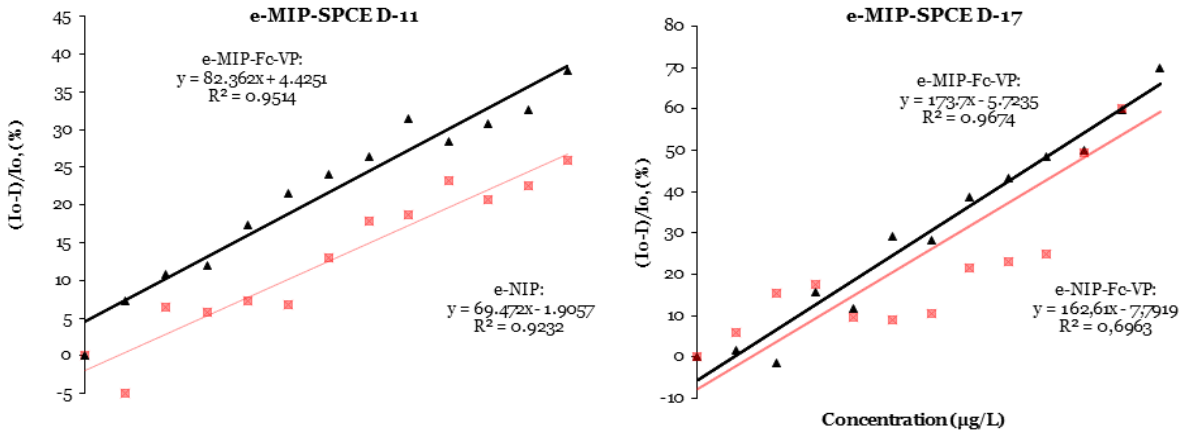
Figure 4-14. Evolution de l'intensité de courant en fonction de la quantité de BPA ajouté. V=25 mV/s.

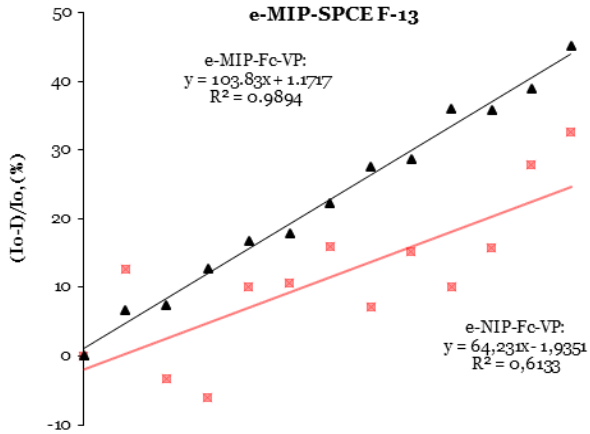
4.2.3.3 Calibration des SPE-e-(MIP/NIP)-Fc-VP

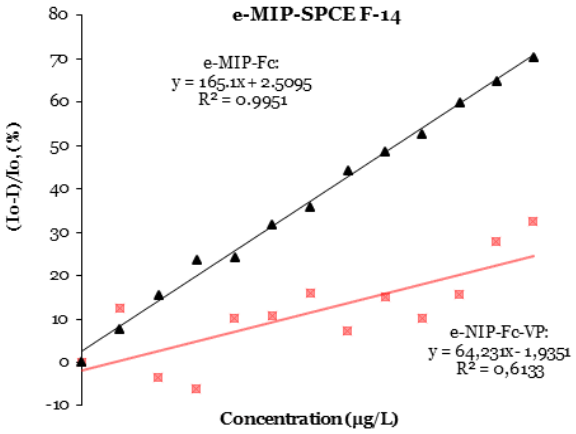
Les caractérisations électrochimiques précédentes valident le concept. Cependant, pour pouvoir déterminer une concentration de BPA dans un échantillon, il est

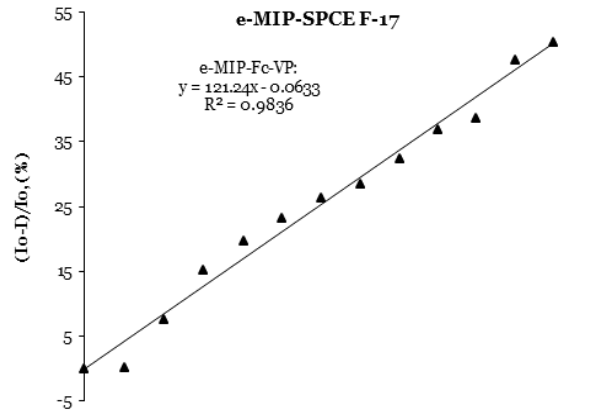
nécessaire de procéder à un calibrage des électrodes, notamment parce que des variations existent d'une électrode à l'autre. L'objectif est bien sûr de relier la baisse d'intensité de courant à une concentration d'analyte dans un échantillon. Ces courbes de calibration sont obtenues en milieux aqueux avec du KCl à 0,1 M. Les mesures consistent à extraire l'intensité du pic anodique après avoir tracé une ligne de base pour chaque voltampérogramme cyclique. Neuf électrodes de chaque type, SPE-e-MIP-Fc-VP et SPE-e-NIP-Fc-VP ont été évaluées. Ainsi, des ajouts successifs de 20 µl de BPA pour une gamme de concentration allant de 0,035 µg/L à 0,42 µg/L ont été réalisés à partir d'une concentration initiale en BPA de 18,6 µg/L. Le faible volume ajouté facilite la stabilisation du système après chaque ajout tout en minimisant le volume ajouté par rapport au volume total de l'électrolyte pour limiter des perturbations sur l'enregistrement des voltampérogrammes cycliques. Les résultats sont rapportés sur la Figure 4-15. Comme attendu, une diminution de l'intensité relative du pic anodique est observée pour les SPE-e-MIP-Fc-VP. Pour les neuf électrodes, les allures des courbes sont similaires et tendent vers des droites comme le confirment les droites de régression linéaire qui présentent des coefficients supérieurs à 0,91.

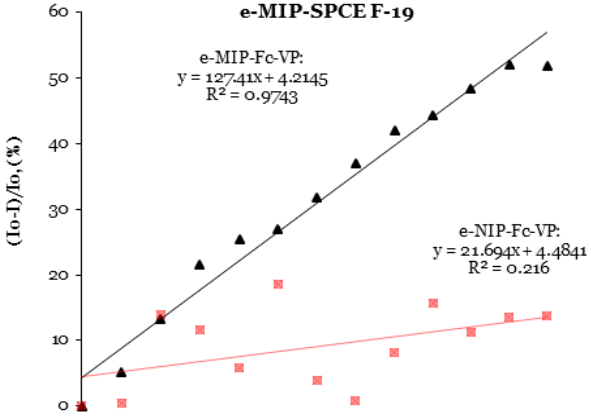
Dans le cas des SPE-e-NIP-Fc-VP, une diminution du signal a également été observée. Cependant, la comparaison des neuf électrodes révèle une diminution chaotique de l'intensité du courant pour les SPE-e-NIP-Fc-VP avec, pour certaines électrodes, l'impossibilité de tracer une droite de régression linéaire et même d'extraire l'intensité du courant. Ceci va donc dans le sens que pour ces particules, des groupements ferrocényles sont bien masqués par l'ajout de BPA mais de façon aléatoire selon un phénomène d'adsorption non spécifique.

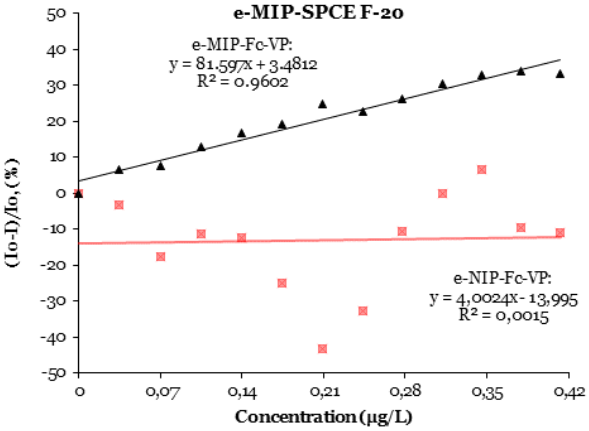


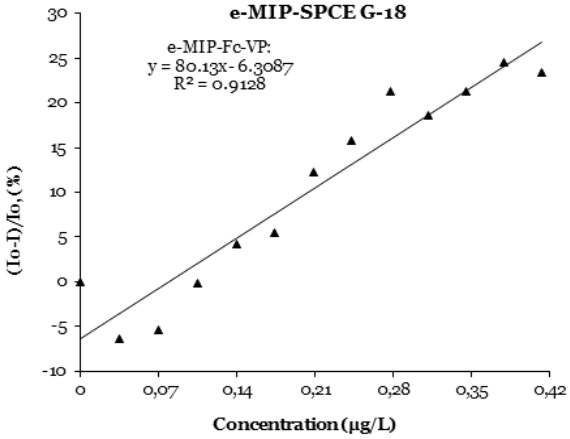

e-MIP-SPCE F-13
e-MIP-Fc-VP:
y = 103.83x + 1.1717
R² = 0.9894
e-NIP-Fc-VP:
y = 64,231x - 1,9351
R² = 0,6133
(Io-I)/Io,(%)


e-MIP-SPCE F-14
e-MIP-Fc:
y = 165.1x + 2.5095
R² = 0.9951
e-NIP-Fc-VP:
y = 64,231x - 1,9351
R² = 0,6133
(Io-I)/Io,(%)
Concentration (µg/L)


e-MIP-SPCE F-17
e-MIP-Fc-VP:
y = 121.24x - 0.0633
R² = 0.9836
(Io-I)/Io,(%)


e-MIP-SPCE F-19
e-MIP-Fc-VP:
y = 127.41x + 4.2145
R² = 0.9743
e-NIP-Fc-VP:
y = 21.694x + 4.4841
R² = 0.216
(Io-I)/Io,(%)


e-MIP-SPCE F-20
e-MIP-Fc-VP:
y = 81.597x + 3.4812
R² = 0.9602
e-NIP-Fc-VP:
y = 4,0024x - 13,995
R² = 0,0015
(Io-I)/Io,(%)
Concentration (µg/L)


e-MIP-SPCE G-18
e-MIP-Fc-VP:
y = 80.13x - 6.3087
R² = 0.9128
(Io-I)/Io,(%)
Concentration (µg/L)

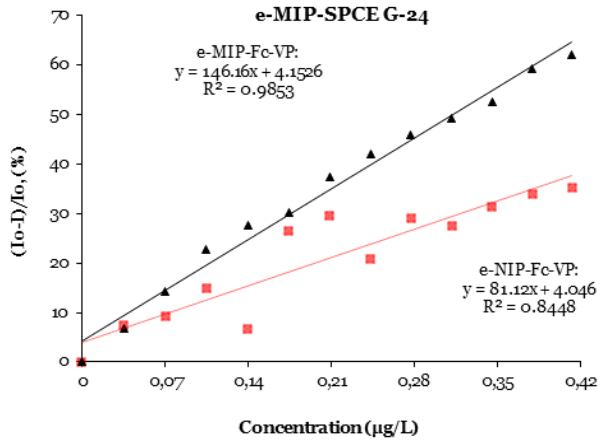


Figure 4-15. Courbes de calibration des différentes SPE-e-(MIP/NIP)-Fc-VP.

Une courbe moyenne a été obtenue à partir de ces différentes électrodes avec les barres d'erreur (Figure 4-16). Ces courbes moyennes révèlent une détection possible du BPA dans une gamme de concentration allant de 35 à 420 ng/L, soit 0,15 à 1,84 nM. Vu le manque de cohérence pour les courbes liées aux SPE-e-NIP-Fc-VP, seule la courbe obtenue pour les SPE-e-MIP-Fc-VP est exploitable.

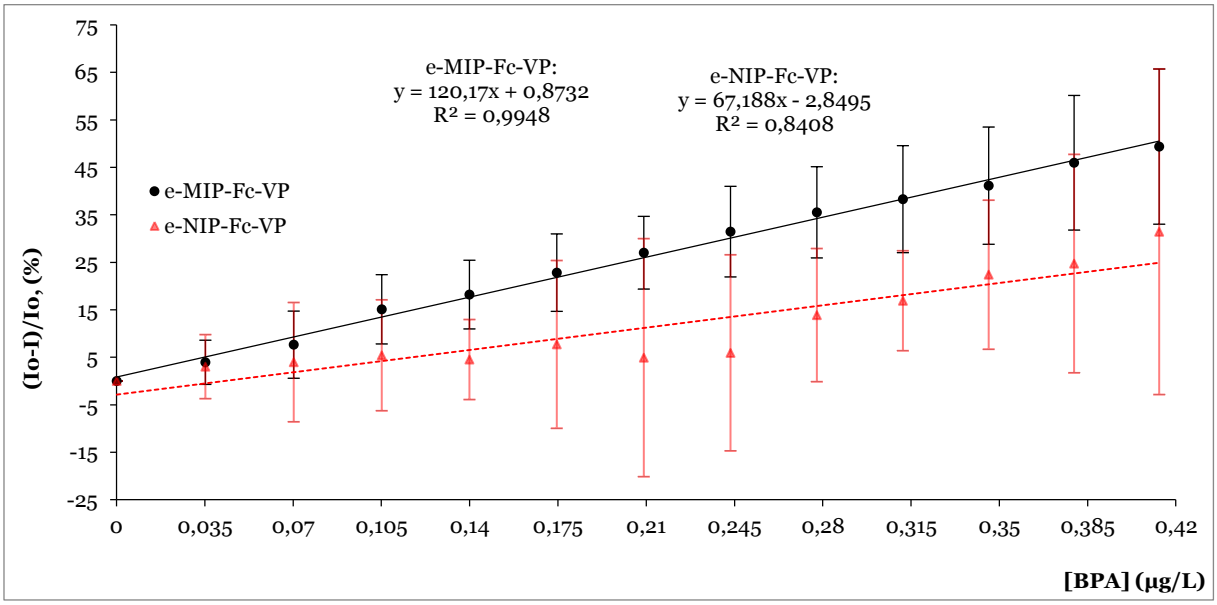


Figure 4-16. Courbes de calibration moyenne des SPE-e-(MIP/NIP)-Fc-VP.

Les treize mesures effectuées sur les neuf électrodes ont permis de déterminer par application des formules définies en annexe 6-5 une limite de détection (LOD) et de quantification (LOQ) de 13 ng/L et 43 ng/L respectivement, ce qui correspond à 60 et

190 pM. A la date de rédaction de ce manuscrit, ces résultats sont parmi les meilleurs rapportés pour la détection du BPA avec un gain d'un facteur supérieur à dix[206].

4.2.3.4 Etude statistique des résultats liés aux intensités obtenue par calibration

Une analyse plus fine des électrodes a été menée avec une étude statistique (ANOVA) sur les 9 électrodes, et permet de séparer les 9 électrodes en deux groupes : des électrodes à pentes faibles et les électrodes à pentes fortes. Elle permet de conclure à une différence entre les électrodes (Figure 4-15). Avec un R^2 sensiblement identique, les deux groupes d'électrodes présentent plutôt une bonne corrélation avec les ajouts de BPA. La différence au niveau des pentes pourrait être liée à la quantité de ferrocène détectée par voltampérométrie cyclique. Dit autrement, cette analyse révèle, même si cela était prévisible, que la quantité de polymère à la surface des électrodes de travail n'est pas identique d'une électrode à l'autre. Comme décrit plus haut, cette analyse confirme le comportement chaotique des SPE-e-NIP-Fc-VP.

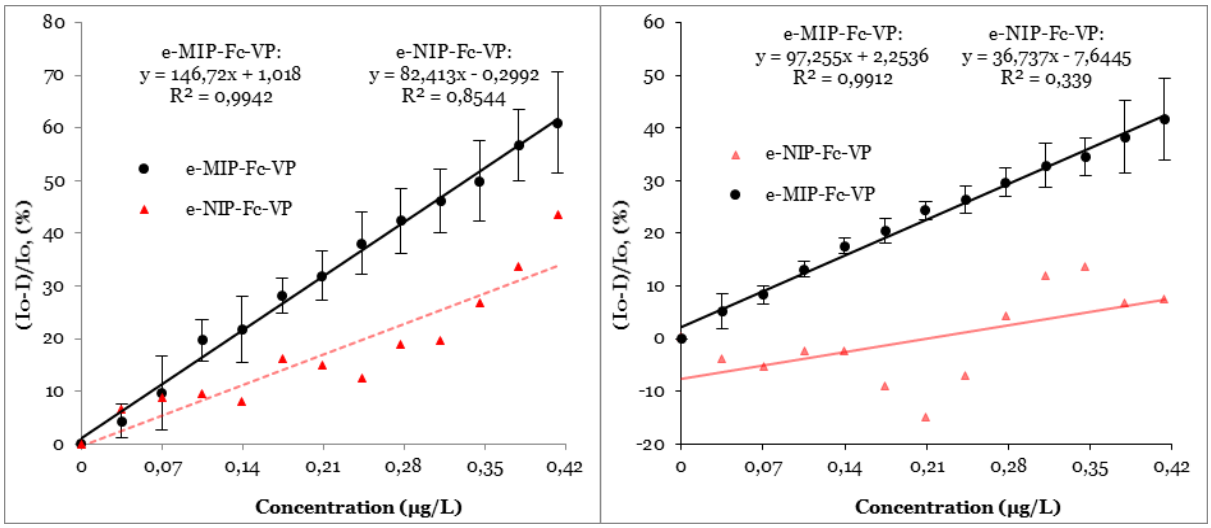


Figure 4-17. Corrélation sur la moyenne des intensités relatives de deux groupes d'électrodes de SPE-e-(MIP/NIP) -Fc-VP et la concentration du bisphénol A.

4.2.3.5 Sélectivité des SPE-e-MIP-Fc-VP

L'étude sélective qui permet de distinguer la capacité spécifique du polymère pour le BPA a été aussi appliquée aux SPE-e-MIP-Fc-VP. Une première approche a consisté à enregistrer l'évolution de l'intensité du courant des électrodes en présence des interférents : carbamazépine et kétoprofène individuellement. Le protocole utilisé est bien entendu différent de celui utilisé au chapitre 2 pour les analyses en LC-MS. Dans

le cas présent, des ajouts de 20 µL d'une solution électrolytique riche en interférents ont été réalisés. Les résultats sont rapportés sur les histogrammes ci-dessous (Figure 4-18).

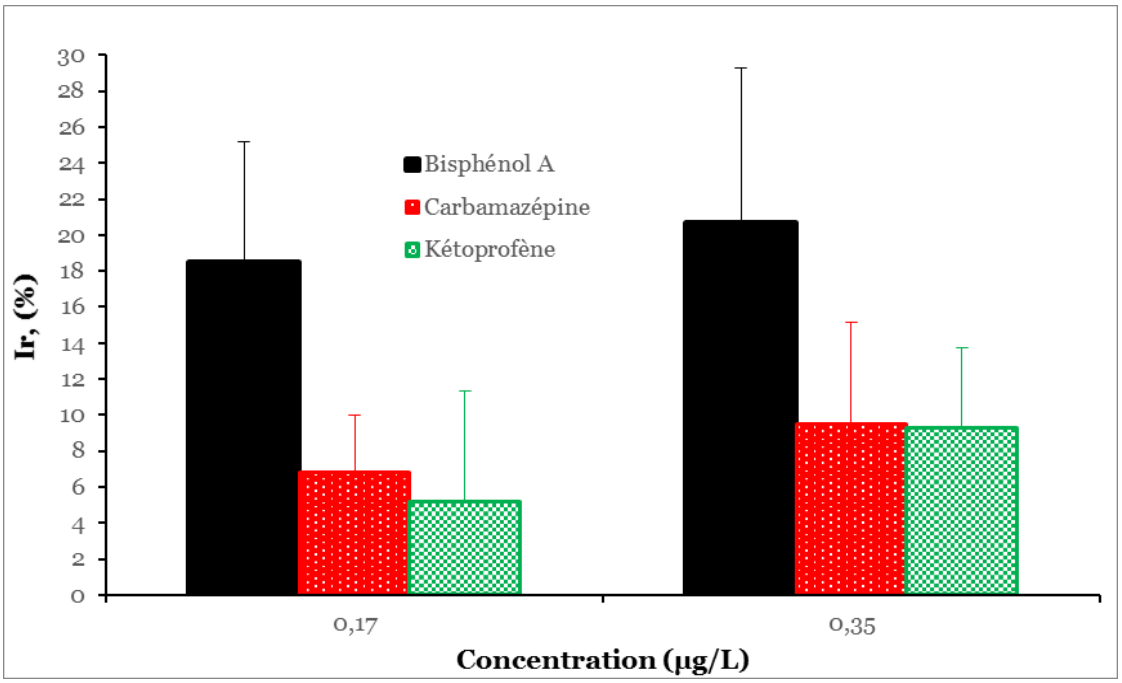


Figure 4-18. Etude de sélectivité des SPE-e-MIP-Fc-VP en présence de la carbamazépine et du kétoprofène.

Les résultats (Figure 4-18) montre une différence entre le BPA, la carbamazépine et le kétoprofène. Pour ces deux médicaments, une diminution de l'intensité du courant est observée mais inférieure à celle observée pour le BPA avec un écart-type relatif (DSR) respectif de 41, 45 et 48%. Cela peut être attribué à nouveau aux effets d'impression. En d'autres termes, le pourcentage de diminution du courant anodique observé est respectivement de 9, 9 et 21% pour le kétoprofène, la carbamazépine et le BPA. Ces résultats sont toujours en accord avec la présence de groupes ferrocényle situés à l'extérieur des cavités empreintes conduisant à des interactions non spécifiques avec ces deux molécules[121]. Toutefois, bien que la reproductibilité des mesures des interférents (surtout pour la carbamazépine) sur les électrodes soit faible, ces mesures permettent néanmoins de distinguer une préférence du e-MIP-Fc-VP pour le BPA que pour les autres analytes.

4.3 SPE-e-MIP-Fc pour la détection du Diclofénac

Cette partie a été réalisée en collaboration avec le Dr Andrew Hall, des Universités de Greenwich et Kent, qui a réalisé les synthèses. L'objectif de ce travail a donc été dans un premier temps la synthèse d'e-MIP-Fc spécifique du diclofénac, puis dans un second temps leur incorporation dans des SPE avant de les évaluer.

4.3.1 Synthèse du e-MIP pour le Diclofénac

Deux groupes de polymères, identifiés e-MIP-Fc18 et son polymère non imprimé e-NIP-Fc18 ainsi que l'e-MIP-Fc26 avec son polymère non-imprimé ont été synthétisés par polymérisation en masse. Les polymères de e-(MIP/NIP)-Fc18 ont été synthétisés en utilisant un méthacrylate de ferrocénylméthyle (FcMMA), un co-monomère, l'acide méthacrylique (MAA) et l'éthylène glycol diméthacrylate (EDMA) comme agent réticulant. La polymérisation a été effectuée dans un mélange de solvant de chloroforme et d'acétonitrile (50:50; v/v) avec comme amorceur le 2,2′-azobis-(2,4-diméthylvaleronitrile (ABDV).

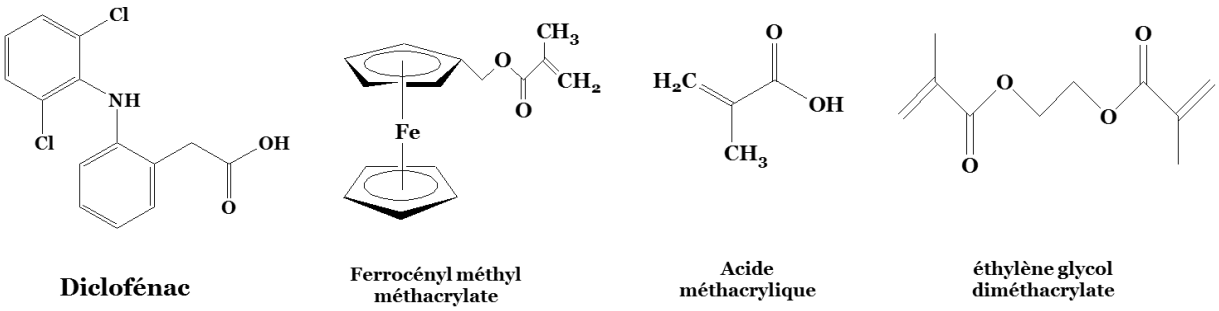


Figure 4-19. Structures des monomères ayant servi à synthétiser e-(MIP/NIP)-Fc18 et e-(MIP/NIP)-Fc26.

Les conditions de synthèse de ces polymères sont rapportées dans le

Tableau 4-1.

Tableau 4-1. Paramètres de synthèse des MIP pour le BPA.

	e-MIP-Fc18	e-NIP-Fc18	e-MIP-Fc26	e-NIP-Fc26
Diclofénac (mol éq.)	1	0	1	0
FcMMA (mol éq.)	1	1	2	2
EDMA (mol éq.)	20	20	20	20
MAA (mol éq.)	4	4	0	0
Température (°C)	50	50	60	60

4.3.2 Electrochimie des SPE-e-MIP-Fc18

Au moment de la rédaction de ce manuscrit, seul l'e-MIP-Fc18 a été testé en électrochimie et en SPE. Les voltampérométries cycliques enregistrées comme décrit plus haut avec des particules au fond de la cellule, en milieu organique (acétonitrile avec 0,1 M de TBAFP) et en milieu aqueux avec 1% d'acétonitrile et avec 0,1 M de KCl à 25 mV/s sont présentées Figure 4-20. Les pics anodique et cathodique sont observés dans les deux milieux et sont attribués à l'oxydation puis à la réduction des groupements ferrocényles présents sur les particules. Les pics anodique et cathodique sont positionnés respectivement à 420 et à 360 mV en milieu organique pour l'e-MIP-Fc18 (Figure 4-20a), et à 370 et à 240 mV (350 et 245 mV pour l'e-NIP-Fc18) en milieu aqueux. La différence de potentiel entre les pics anodique et cathodique est plus faible en milieu organique qu'en milieu aqueux (60 mV et 130 mV respectivement) probablement dû à une meilleure mouillabilité du polymère en présence de l'acétonitrile. Ces différences de potentiel restent dans la gamme de celui du ferrocène en solution pour les mesures faites en milieu organique et supérieur pour les mesures effectuées en milieu aqueux. De même, étant donné que les groupes ferrocényles sont figés à l'intérieur des particules, il ne devrait donc pas y avoir de diffusion. La différence de potentiel observée est plutôt due à un phénomène de transfert d'électrons, amplifié par la mouillabilité du polymère en milieu aqueux.

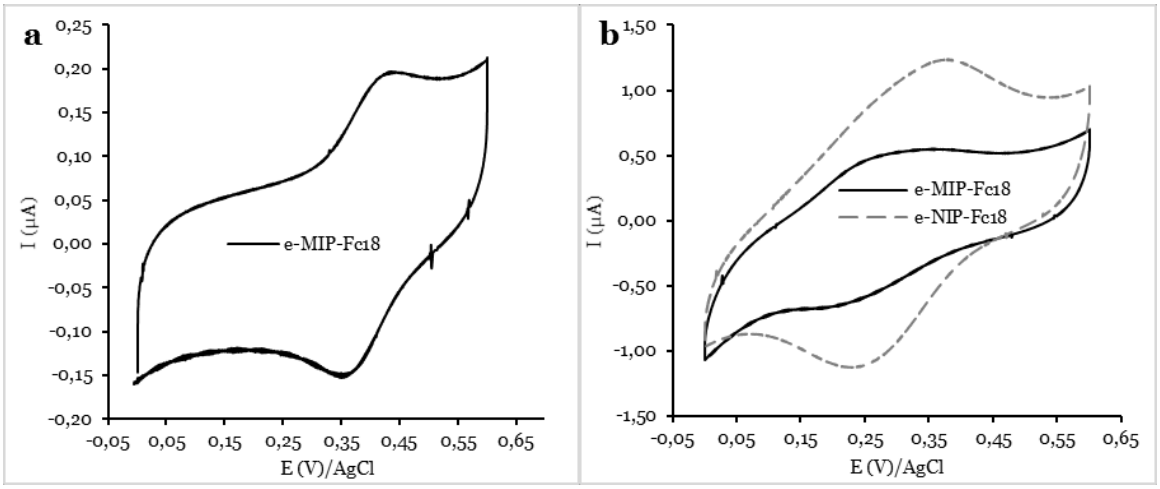


Figure 4-20. Voltampérogrammes cycliques des e-MIP-Fc18 et e-NIP-Fc18en milieu organique (a) avec ACN+0,1M TBAFP et en milieu aqueux (b) dans l'eau-ACN (9:1, v/v) à 0,1 M KCl.

L'élaboration des SPE-e-MIP-Fc18 a été la même que celle utilisée pour les SPE-e-(MIP/NIP)-Fc-VP, dans les mêmes proportions. L'observation au microscope électronique à balayage (Figure xx) montre que les e-MIP-Fc18 ne sont pas sphériques, ce qui est en accord avec le mode de synthèse choisi, mais sont tout de même incorporés dans les SPE.

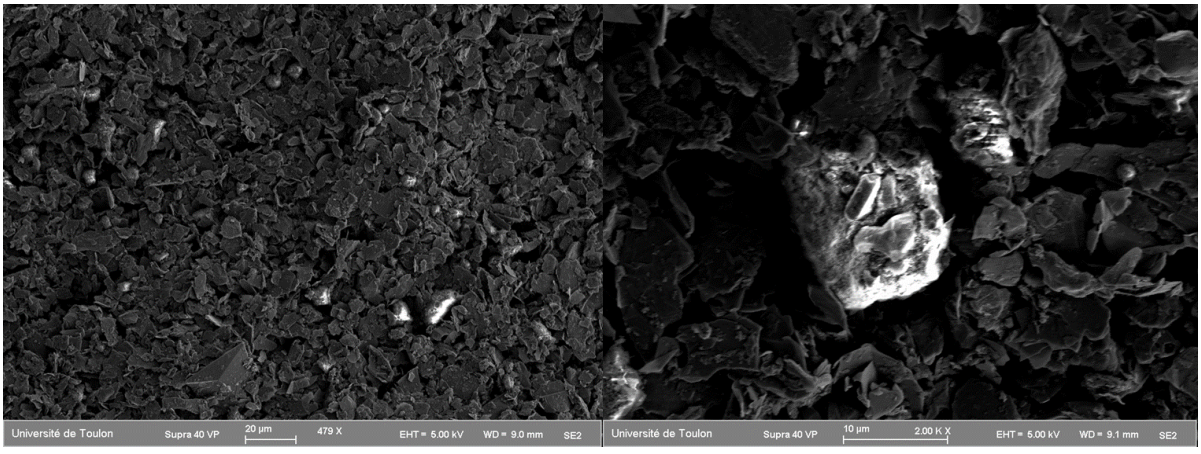


Figure 4-21. Images des SPE-eMIP-FC-18 pour le Diclofénac

Les voltampérométries cycliques des SPE-e-(MIP/NIP)-Fc18 sont présentées Figure 4-22. La position des deux pics anodique et cathodique des SPE-e-MIP-Fc18 sont à 113/-31 mV, et pour les SPE-e-NIP-Fc18 à 145/4mV. Comme précédemment les mêmes raisons peuvent être évoquées pour expliquer des différences de potentiels entre les pics anodique et cathodique de l'ordre de 140mV. Contrairement aux SPE

décrites ci-dessus, la mise en forme des particules en SPE conduit à un système rédox plus difficile à discerner. Cependant, la disparition et/ou le déplacement des pics anodique et cathodique sont observés après l'ajout du Diclofénac, mais malheureusement pour les deux types de SPE. Ceci permet donc d'en déduire qu'il y a effectivement une adsorption de cette cible, mais plutôt de type de non-spécifique. Cette étude préliminaire impose donc un approfondissement pour pouvoir conclure.

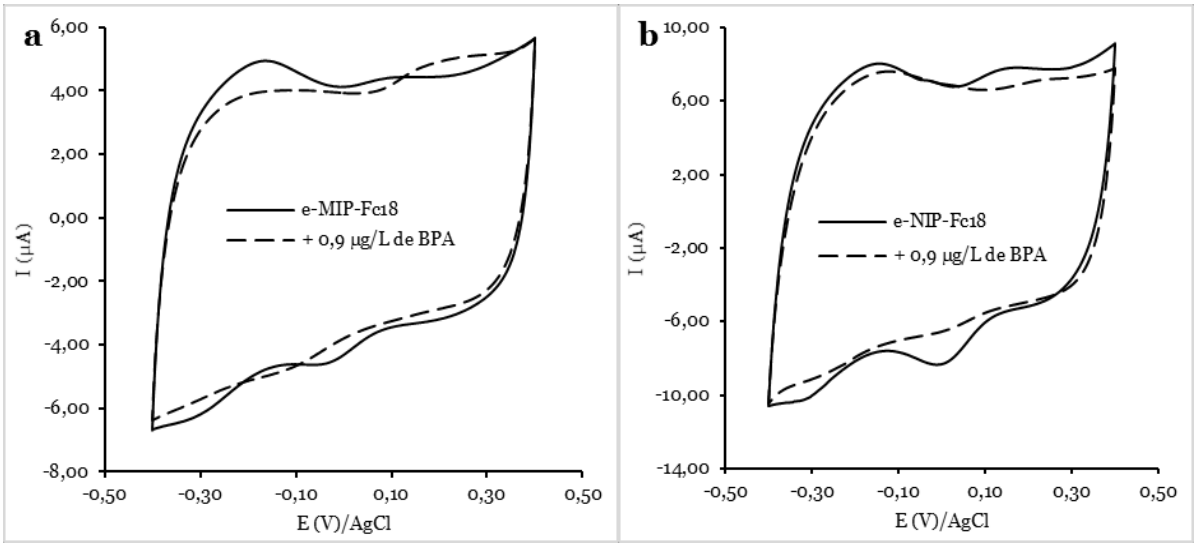


Figure 4-22. Voltampérogrammes cycliques des MIP-FC-18 (a) et e-NIP18 (b) avec ou sans diclofénac, à 25 m/s dans l'eau à 0,1 M KCl.

4.4 Conclusion

Les particules d'e-MIP-Fc-VP synthétisées pour être incorporées dans les SPE présentent un signal rédox réversible avec des pics anodique et cathodique bien définis en milieu organique contrairement à ce qui est observé en milieu aqueux. Tout comme au chapitre précédent, ces particules restent dans un régime non contrôlé par la diffusion, mais par un transfert électronique qui peut être perturbé par des problèmes de mouillabilité du polymère. La difficulté à oxyder le ferrocène dans ces particules s'avère aussi plus importante que pour les particules d'e-MIP-Fc étant donné le décalage des valeurs de potentiel observé en milieu aqueux. Leur incorporation dans les SPE permet toutefois d'y remédier, puis que les courbes de calibration permettant d'évaluer la spécificité de ces particules et ont été obtenues à partir des voltampérogrammes cycliques avec des pics anodique et cathodique réversibles. La calibration pour ces électrodes dans une gamme de concentration de 0 à 413 ng/L soit 0 à 1,81 nM a été obtenue avec une limite de détection et de

quantification de 0,06 nM et 0,19 nM respectivement. L'étude de sélectivité en présence de kétoprofène et de carbamazépine a montré une préférence des polymères pour le BPA, avec toutefois des écarts types relatifs (DSR) respectif de 41, et 48, 45%.

Enfin, la caractérisation électrochimique des polymères synthétisés par polymérisation en masse pour le Diclofénac reste à confirmer. Pour ces particules ainsi que les SPE, la difficulté à oxyder les groupes ferrocényles devient plus importante avec des pics plus difficiles à identifier dans le cas des SPE. Toutefois, le signal rédox des groupes ferrocényles est identifiable dans ces particules.

Conclusion Générale

Ce travail de thèse avait pour objectifs : (a) de confirmer le concept de polymères à empreintes moléculaires électrochimiques (e-MIP) pour la détection de polluant, en l'occurrence le bisphénol A (BPA) ; (b) de valider la possibilité de détecter un polluant en milieu aqueux grâce à des e-MIPs et (c) d'élaborer un capteur basé sur des e-MIPs. Ce concept d'e-MIP repose sur l'utilisation, lors de la synthèse des polymères à empreintes moléculaires, d'un monomère fonctionnel ayant des propriétés rédox intrinsèques, permettant ainsi la détection de molécules organiques quelconques, c'est-à-dire ne présentant pas forcément d'activité électrochimique.

De nouveaux e-MIPs ont été synthétisés à partir du méthacrylate de ferrocényleméthyle (FcMMA) choisi comme monomère fonctionnel ayant des propriétés rédox, en présence ou pas de la 4-vinylpyridine (4-VP) comme co-monomère fonctionnel, d'EDMA comme agent réticulant, et de BPA comme cible. La détection du BPA repose sur la variation des propriétés électrochimiques du groupement ferrocényle dues aux interactions π-π entre les cycles cyclopentadiényles du ferrocène et les cycles aromatiques du BPA.

Deux types de polymères imprimés, dénommés e-MIP-Fc et e-MIP-Fc-VP, ont été préparés par polymérisation par précipitation dans un four d'hybridation à partir respectivement d'un ratio 1/5/25 (BPA, FcMMA, EDMA) et 1/5/5/25 (BPA, FcMMA, 4VP, EDMA), dans l'acétonitrile. Les polymères non imprimés correspondants ont également été synthétisés dans les mêmes conditions hormis la présence du BPA. Les polymères ont été obtenus sous la forme de particules sphériques avec des diamètres allant de 0,4 à 4,4 µm. L'intégration du FcMMA, avec un taux de 28-29% a été confirmée par spectroscopie infra-rouge et analyse élémentaire. Les capacités d'adsorption obtenues sont de 0,98 mg de BPA/g pour l'e-MIP-Fc, et 0,6 mg de BPA/g pour l'e-MIP-Fc-VP avec des facteurs d'empreinte respectifs de 1,3 et 2,5, mettant ainsi en évidence le rôle de la 4-VP dans l'amélioration du phénomène de reconnaissance.

Les e-MIPs, ainsi que leur analogue non imprimé, ont été caractérisés par voltampérométrique cyclique en milieu organique puis en milieu aqueux. Comme attendu, dans ces deux solvants, le système rédox du couple ferrocène/ferrocénium

est visualisé pour chaque polymère, et l'addition de BPA dans la solution électrolytique conduit à une diminution de l'intensité du courant d'oxydation des groupements ferrocényles. Cependant, ce phénomène est nettement plus marqué dans le cas des polymères imprimés, ce qui confirme d'une part la présence d'empreintes moléculaires pour les e-MIPs et d'autre part de la présence de groupements ferrocényles dans ces empreintes, ces derniers devenant incessibles d'un point de vue électrochimique lorsque le BPA est piégé.

Deux voies ont été explorées pour intégrer les e-(MIP/NIP)-Fc dans des dispositifs : l'utilisation de microélectrodes interdigitées, et les transistors électrochimiques organiques. Une étude préalable a confirmé que la pâte de carbone semble être la solution la plus adaptée pour fixer les particules sur ces dispositifs. Les résultats obtenus, dans les deux cas, confirment que le système rédox des groupements ferrocényles reste détectable et sans ambigüité. Les premiers tests en présence de BPA indiquent un phénomène de reconnaissance qui se matérialise, comme pour les études en solution, par une diminution de l'intensité du courant d'oxydation. Bien que ces résultats aillent dans le bon sens, des tests supplémentaires et complémentaires restent à faire pour confirmer, ou pas, l'intérêt de ces voies d'intégration des e-(MIP/NIP)-Fc.

Les e-(MIP/NIP)-Fc-VP ont, quant à eux, été intégrés dans des électrodes sérigraphiées (SPE) après les avoir mélangés avec du graphite et de l'hydroxyéthylcellulose. De nouveau, les études en voltampérométrie cyclique révèlent, et encore une fois sans ambigüité, le système rédox des groupements ferrocényles. En plus de la fixation des particules sur des électrodes, la voie sérigraphie a permis de préparer une vingtaine d'électrodes permettant ainsi d'établir des courbes de calibration. La calibration pour ces électrodes dans une gamme de concentration de 0 à 413 ng/L (0,15 à 1,84 nM) a été réalisée pour conduire à une limite de détection et de quantification de 0,06 nM et 0,19 nM respectivement. Ces limites, au moment de l'écriture de ce manuscrit, sont parmi les meilleures rapportées dans la littérature dans le cadre d'une détection électrochimique. Enfin, avec ces SPE, une étude de sélectivité avec le kétoprofène et la carbamazépine a montré une meilleure sélectivité pour le BPA, avec des écarts types relatifs respectif de 41, et 48, 45%.

En résumé les résultats obtenus au cours de ce travail ont confirmé que l'intégration d'un monomère fonctionnel ayant des propriétés rédox directement lors de la synthèse du polymère à empreinte moléculaire est pertinente pour développer des capteurs de polluant à transduction électrochimique. Les dispositifs explorés avec ces particules ont permis d'identifier la pâte de carbone comme étant la solution la plus simple fixer ces polymères tout en conservant les propriétés rédox des groupements ferrocényles pour permettre une détection de la cible à de très faible concentration.

5 Partie expérimentale

Tables des Matières

5.1 SYNTHESE ET IDENTIFICATION DES PRODUITS CHIMIQUES 153

5.1.1 SOLVANTS 153

5.1.2 AUTRES PRODUITS 153

5.2 METHODES D'ANALYSE 153

5.2.1 ANALYSE ELEMENTAIRE 153

5.2.2 SPECTROSCOPIE UV-VISIBLE 154

5.2.3 SPECTROSCOPIE INFRAROUGE A TRANSFORMEE DE FOURRIER (IRTF) 154

5.2.4 MESURE D'ADSORPTION ET DE DESORPTION DE GAZ 154

5.2.5 CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE COUPLEE A LA SPECTROMETRIE DE MASSE 155

5.2.6 MICROSCOPIE ELECTRONIQUE A BALAYAGE (MEB) 155

5.2.7 MICROSCOPIE NUMERIQUE 155

5.3 PURIFICATION ET SYNTHESE DU METHACRYLATE DU FERROCENYLMETHYLE 156

5.3.1 PURIFICATION DU METHACRYLATE DE FERROCENYLMETHYLE.....156

5.3.2 SYNTHESE DU METHACRYLATE DE FERROCENYLMETHYLE.....156

5.3.2.1 Synthèse du ferrocényl-méthanol (Fc-MeOH) 156

5.3.2.2 Synthèse du méthacrylate de ferrocénylméthyle (FcMMA).....157

5.4 PREPARATION DU E-MIPS ET E-NIPS..... 158

5.4.1 SYNTHESE DES E-MIPS ET E-NIPS 158

5.4.2 PROCEDURE DE LAVAGE DES POLYMERES 159

5.5 DETERMINATION DES PROPRIETES D'ADSORPTION DES POLYMERES..... 161

5.5.1 ETABLISSEMENT DES ISOTHERMES D'ADSORPTION 161

5.5.2 ETUDE DE LA SELECTIVITE 162

5.6 FABRICATION DES SPE 162

5.7 ETUDE ELECTROCHIMIQUE 163

5.1 Synthèse et identification des produits chimiques

5.1.1 Solvants

Les solvants destinés aux analyses électrochimiques ainsi que les solvants ayant servi pour la synthèse de polymères comme était de qualité analytique et ont été utilisés sans purification: l'acétonitrile (VWR, HPLC grade), l'acide acétique, le dichlorométhane anhydre (ACROS, 99,8%) et le méthanol (ACROS, 99,8%). Les analyses nécessitant de l'eau ont été effectuées avec de l'eau ultra-pure issue du système de purification Milli-Q (Millipore, résistivité > 18 mΩ.cm). L'acétonitrile et l'eau ultra-pure utilisés pour les analyses en HPLC-MS sont quant eux de grade LC-MS (VWR, LC-MS grade).

5.1.2 Autres produits

L'acétate d'ammonium (qualité LC-MS), le Bisphénol A (99%), le kétoprofène (98% TLC), la carbamazépine, le chlorure de potassium, le tétrabutylammonium hexafluorophosphate (TBAFP) (99%), la 4-vinylpyridine (4-VP, 98%), le sel de sodium d'acide humique (99%), le perchlorate de lithium (99,99%), le ferrocène carboxaldéhyde (98%) ainsi que le méthacrylate de ferrocénylméthyle (FcMMA) ont été achetés chez Sigma Aldrich (France). Le FcMMA a également été commandé chez INTERCHIM, l'azobisisobutyronitrile (AIBN, 99%) chez Fluka (France), l'éthylène glycol diméthacrylate (EDMA, 98,9%) et le tétrahydruroaluminate de lithium ($LiAlH_4$) chez Acros, la pâte de carbone C10903P14 chez Gwent Group. En dehors du FcMMA et de l'AIBN, tous les produits sont utilisés sans purification préalable. L'AIBN est purifié par recristallisation dans le méthanol.

5.2 Méthodes d'analyse

5.2.1 Analyse élémentaire

L'analyse élémentaire a été effectuée au Spectropôle de Saint Jérôme, Université d'Aix-Marseille. Ces analyses ont été réalisées à l'aide d'un analyseur élémentaire Flash EA 1112 series Thermo Finnigan et contrôlé par le logiciel Eager 300 dans les conditions spécifiées dans le tableau 5-1

Tableau 5-1. Conditions expérimentales pour l'analyse élémentaire

Température four CHNS	970°C
Température four O	970°C
Gaz Vecteur	Hélium
Débit du gaz pour analyse CHNS	140 mL/min
Débit du gaz pour analyse O	90 mL/min
Détecteur	Catharomètre

5.2.2 Spectroscopie UV-Visible

Les analyses effectuées dans le cadre des lavages des polymères ont été effectuées en mesurant l'absorbance du BPA avec un spectromètre UV-Visible Shimadzu UV-2501 avec des cellules en quartz d'un centimètre.

5.2.3 Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourrier (IRTF)

Les spectres IRTF ont été réalisés à l'aide d'un spectrophotomètre IRTF Thermo Nicolet Nexus IS50 avec 32 scans et une résolution de 0,5 cm^{-1}. Le blanc est constitué uniquement de KBr sous forme de pastille, préparée avec 100 mg de KBr broyé et pressé à 200 bars. L'échantillon est préparé selon le même protocole avec 1% en masse de l'échantillon et 99% de KBr. Les spectres sont ensuite enregistrés en mode transmission. Le traitement des spectres IRTF est effectué à partir du logiciel Omnic 8. En complément des échantillons de polymères mesurés, un copolymère d'EDMA et de 4-VP (Poly EDMA-co-VP) a été synthétisé par polymérisation par précipitation dans l'acétonitrile selon le même protocole que les e-MIPs et e-NIPs pour l'identification des pics spécifiques dans les polymères imprimés.

5.2.4 Mesure d'adsorption et de désorption de gaz

Les mesures d'adsorption et de désorption d'azote ont été effectuées à l'Institut National de Recherche et de Développement pour la Chimie et la Pétrochimie, ICECHIM à Bucharest (Roumanie). Ces analyses ont été réalisées à l'aide d'un

analyseur Quantachrome (NOVA Instruments). Les échantillons ont d'abord été dégazés à 373,15 K pendant 3 h sous vide pour éliminer les gaz adsorbés et l'humidité. Les méthodes Brunauer-Emmett-Teller (BET) et Barrett-Joyner-Halenda (BJH) ont ensuite été utilisées pour calculer les surfaces spécifiques et la distribution de la taille des pores à partir des isothermes d'adsorption-désorption. Toutes les isothermes d'adsorption/désorption de N_2 ont été mesurées à la température de l'azote liquide (77,4 K).

5.2.5 Chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse

Dans le cadre des études des propriétés d'adsorption des polymères, les mesures sont effectuées en utilisant une chromatographie liquide (LC) LaChrom Elite (VWR Hitachi) comprenant une pompe quaternaire L-2130, un échantillonneur automatique L-2200 et un four à colonne L-2300. La séparation des composés a été réalisée à l'aide d'une colonne en phase inverse (LichrospherePAH, 250 3mm, 5 µm, de Merk) maintenue à 30°C avec un débit de 1 mL/min et un volume d'injection de 50 µL. La détection a été réalisée grâce une spectrométrie de masse (Bruker, Esquire 6000).

5.2.6 Microscopie Electronique à Balayage (MEB)

Les clichés ont été pris à l'aide d'un microscope à balayage électronique Gemini® Supra 40VP avec la détection à travers les électrons secondaires (SE2). Avant chaque mesure, les polymères ainsi que les électrodes sérigraphiées sont métallisés à l'or afin d'augmenter la conductivité de l'échantillon. Le logiciel SmarTiff est utilisé pour mesurer la taille des particules.

5.2.7 Microscopie numérique

La microscopie numérique ne nécessite aucune préparation préalable de l'échantillon. Toutes les électrodes ont été analysées avec un microscope numérique Hirox Europe Ltd RH 2000. Les mesures se font à une échelle de 2400 µm qui permet une meilleure vue d'ensemble de toute la surface de l'électrode avec une résolution de 4,32 µm et d'un objectif MXB-2500REZ.

5.3 Purification et synthèse du méthacrylate du ferrocénylméthyle

5.3.1 Purification du méthacrylate de ferrocénylméthyle

Le FcMMA commercial contenait un inhibiteur de polymérisation (l'ionol®46). Donc, avant utilisation, ce monomère a été purifié par recristallisation dans l'hexane. Après dissolution à une température de 70 °C, la solution est filtrée, puis évaporée à l'aide d'un évaporateur rotatif pour concentrer le méthacrylate de ferrocénylméthyle pur. Ce dernier est laissé à sécher toute la nuit. Le monomère est obtenu avec un rendement de près 80%. Pf : 74-75 °C.

5.3.2 Synthèse du méthacrylate de ferrocénylméthyle

5.3.2.1 Synthèse du ferrocényl-méthanol (Fc-MeOH)

La première étape de la synthèse consiste à mettre au reflux sous argon une suspension de LiAlH4 (2,73 g ; 71,9 mmol ; 4,5 eq) dans l'éther diéthylique anhydre (150 mL). Une solution de ferrocène carboxaldéhyde (3,42 g ; 15,98 mmol ; 1 eq) dans l'éther diéthylique anhydre est ajoutée goutte à goutte. Le mélange est agité pendant 3h à reflux sous argon. La solution est ensuite refroidie à 0°C avant d'ajouter lentement de l'éther diéthylique et de l'eau. Le mélange est extrait à l'éther diéthylique. La phase organique est lavée à l'eau, séchée avec du sulfate de magnésium ($MgSO_4$), filtrée et évaporée. Pf : 78-80°C.

RMN ^1H (400 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 1,60 (s, 1H, H_1) ; 4,19 (s, 7H, H_4-H_5) ; 4,25 (d, 2H, H_3) ; 4,31 (s, 2H, H_2).

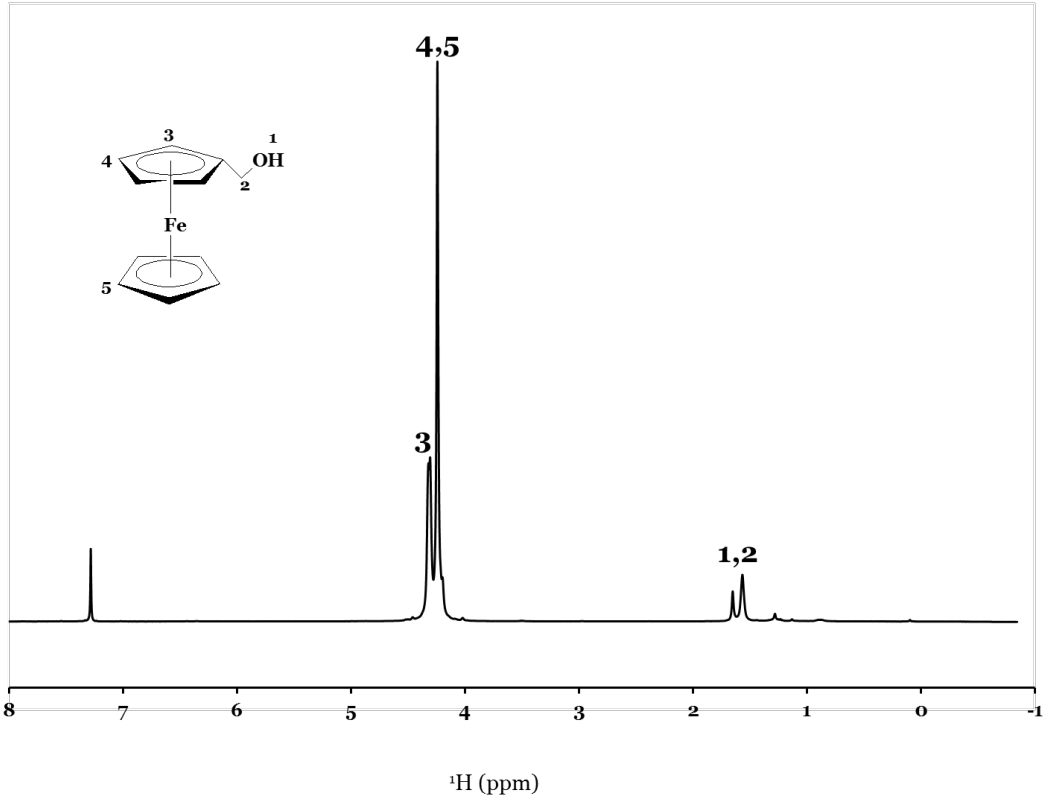


Figure 5-1. Spectre RMN ^1H du FcMeOH dans le $CDCl_3$

5.3.2.2 Synthèse du méthacrylate de ferrocénylméthyle (FcMMA)

La synthèse du FcMMA a été faite en solubilisant 3,90 g (18,05 mmol ; 1 eq) de ferrocènyl-méthanol dans 250 mL de dichlorométhane anhydre avant d'ajouter doucement 7,31 mL (54,15 mmol ; 3 eq) de triéthylamine sous argon. Le mélange est refroidi à 0°C. À cette solution, 3,5 mL (36,1;2 eq) de chlorure de méthacryloyle sont ajoutés goutte à goutte sur une période de 30 minutes, tout en maintenant la température à 0°C sous argon. Le mélange est ensuite agité pendant 2 h à cette même température puis à température ambiante pendant 24 h. La solution est lavée deux fois avec 325 mL d'une solution saturée de carbonate de potassium (K_2CO_3) pour éliminer l'excès de triéthylamine et les sels résultant n'ayant pas réagi. Les phases organiques sont combinées, séchées sur $MgSO_4$, filtrées et évaporées. Pf : 74-75°C.

RMN ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) : 1,94 (s, 3H, H_2) ; 4,17 (m, 7H, H_5 et H_6) ; 4,28 (s, 2H, H_4) ; 4,96 (s, 2H, H_3) ; 5,54 (s, 1H, H_1) ; 6,10 (s, 1H, $H_{1'}$).

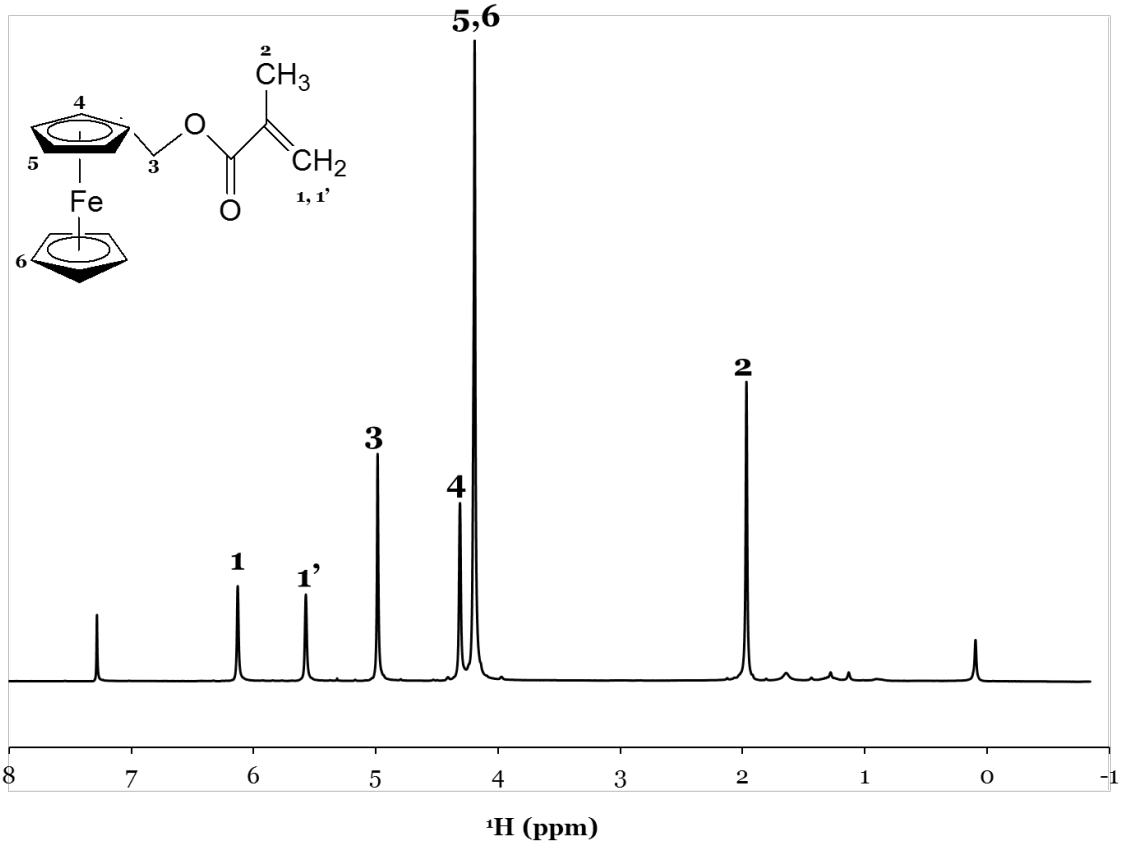


Figure 5-2. Spectre RMN ^{1}H du FcMMA dans le $CDCl_3$

5.4 Préparation du e-MIPs et e-NIPs

5.4.1 Synthèse des e-MIPs et e-NIPs

Les polymères à empreintes moléculaires sont synthétisés par polymérisation par précipitation suivant le protocole ci-dessous.

Pour la préparation de l'e-MIP-Fc, le BPA (1 équivalent) et le FcMMA (5 équivalents) sont mélangés dans un tube de polymérisation de 200 mL, alors que pour l'e-NIP-Fc, seul le FcMMA est introduit. Les étapes et les procédures qui suivent, sont appliquées de façon identique aux MIPs et aux NIPs. 25 équivalents d'EDMA sont ajoutés, puis 80 mL d'acétonitrile pour solubiliser tous les réactifs (Tableau 5-2). Les deux tubes sont ensuite agités vigoureusement et purgés à l'argon pendant environ 20 min, après avoir placé les tubes dans un cristallisoir rempli de glace avec un peu d'eau. La

quantité d'amorceur correspondante (Tableau 5-2) est ajoutée après 15 minutes de bullage, puis les tubes purgés à nouveau sous argon. A la fin de la purge, les tubes sont fermés correctement tout en évitant de les exposer au maximum à l'air. Le four d'hybridation modèle UVP HB-1000 Hybridizer du fournisseur UVP ayant été au préalable chauffé à 30°C, les tubes y sont introduits de façon symétrique afin d'assurer un équilibre de charge pendant l'agitation à 8 rpm. La température est ensuite augmentée de 5°C chaque 15 min jusqu'à atteindre 80°C. Une fois cette température atteinte, le mélange est laissé dans le four d'hybridation pendant 24 heures pour permettre une polymérisation complète. Le même protocole de synthèse est appliqué pour la synthèse de l'e-MIP-Fc-VP et de l'e-NIP-Fc-VP en ajoutant la 4-VP comme comonomère fonctionnel, selon les proportions indiquées dans le Tableau 5-2.

Tableau 5-2. Quantités de réactifs introduits lors de la polymérisation, et rendements obtenus

Poly	Cible (BPA)		Comonomère (4-VP)		Monomère (FcMMA)		Agent réticulant (EDMA)		AIBN	Rendement
	eq	mmol	eq	mmol	eq	mmol	eq	mmol	mmol	%
e-MIP-Fc	1	0,4	0	0	5	2	25	10	0,23	75
e-NIP-Fc	0	0,0	0	0	5	2	25	10	0,23	70
e-MIP-Fc-VP	1	0,4	5	2	5	2	25	10	0,33	67
e-NIP-Fc-VP	0	0,0	5	2	5	2	25	10	0,33	87

5.4.2 Procédure de lavage des polymères

Le lavage des polymères se fait en trois séries de lavages distinctes pour extraire :

- le monomère non polymérisé (avec l'acétonitrile),

- le bisphénol A des cavités empreintes par rupture des interactions créées lors de la polymérisation (avec le mélange méthanol acide acétique, 9 :1, v/v),

- et pour finir, un lavage de contrôle (avec l'acétone).

Le même protocole est appliqué à tous les polymères. Après la polymérisation, le polymère obtenu est partagé à volume égal dans différents tubes à centrifuger (Corning de 50 mL). Le solvant correspondant est ajouté de façon à ajuster le volume total à 40 mL. Les tubes sont ensuite mis en agitation orbitalaire pendant 15 min pour une bonne homogénéisation et permettre une meilleure extraction des monomères qui n'ont pas réagis ou du BPA selon le solvant. Ensuite, le tout est centrifugé à 12 000 rpm pendant 20 min. Ces paramètres de temps et de centrifugation peuvent être modifiés en fonction de l'efficacité de la centrifugation. Une fois centrifugé, le surnageant est extrait et remplacé par une nouvelle fraction de solvant Le suivi des lavages est effectué par spectromètrie UV-Visible Shimadzu UV-2501 aux longueurs d'onde correspondantes au BPA (250 et 300 nm) et au ferrocène (entre 400 et 500 nm) (Figure 5-3a et b). Les lavages sont effectués jusqu'à disparition des bandes d'absorption de la cible et du monomère.

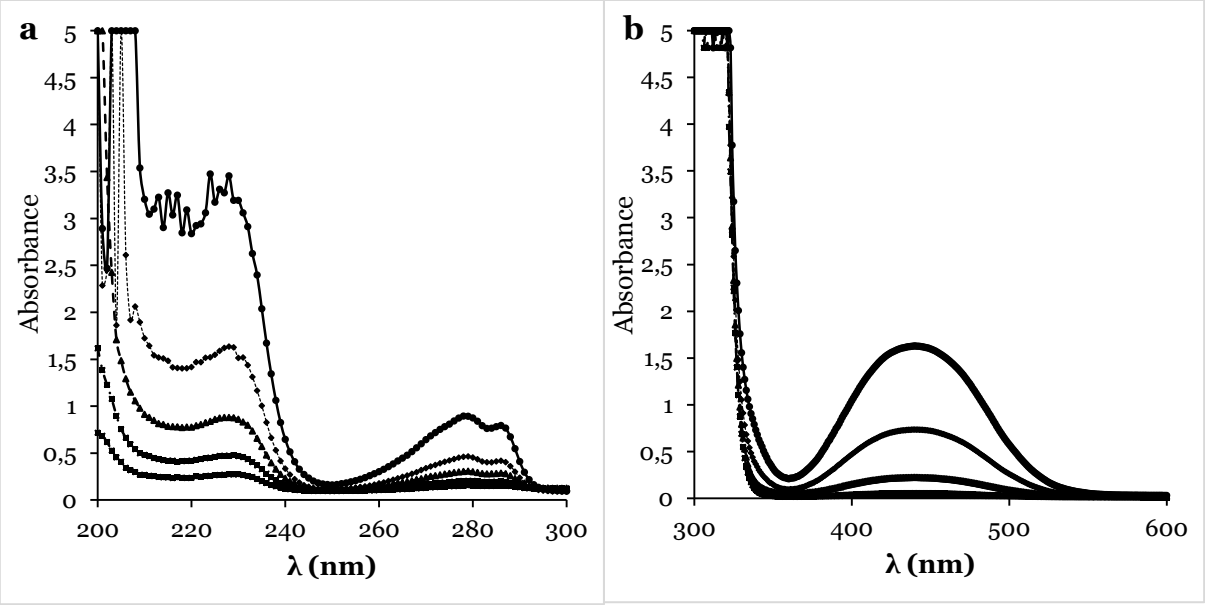


Figure 5-3. Evolution des spectres UV-vis du BPA pure dans le mélange méthanol acide acétique (a) et du ferrocène dans l'acétonitrile (b) au cours des lavages successifs.

5.5 Détermination des propriétés d'adsorption des polymères

Toutes les mesures d'adsorption sont effectuées dans les tubes en verre de 15 mL rincés à l'acétonitrile et à l'eau ultra pure avant d'être séchés à l'étuve.

Le protocole de mesure des propriétés d'adsorption des polymères se fait par batch à l'aide de la chromatographie liquide couplée à un spectromètre de masse LaChrom Elite HPLC (VWR Hitachi) comprenant une pompe quaternaire L-2130, un échantillonneur automatique L-2200 et un four à colonne L-2300, selon les conditions indiquées dans le Tableau 5-3.

Tableau 5-3. Conditions d'analyse et références du matériel LC-MS.

Colonne	LichroCART® 250-3 Lichrospher®PAH de Merck Millipore (phase stationnaire: gel de silice RP-18 modifié, 5µm), longueur 250 mm, diamètre interne 3 mm
Volume d'injection	50 µL
Débit	1 mL/min
Logiciel de traitement	Hystar 3.2 (Bruker)
Logiciel d'exploitation	Hystar Post Processing (Bruker)

5.5.1 Etablissement des isothermes d'adsorption

Avant toute mesure, une courbe d'étalonnage du BPA est établie dans le solvant de mesure eau/acétonitrile (9/1) dans une gamme de concentration comprise entre 0,063 et 1 mg/L. L'analyse des spectres de masse se fait par extraction du pic de l'ion M(BPA)-H (227 m/z) en mode négatif. Le pic du BPA apparait à 11,2 minutes. Une fois la courbe de calibration établie, 5 mL de solution de BPA (c= 0 à 50 mg/L de BPA) sont mélangés avec 5 mg de polymère dans des flacons en verre de 15 mL. Une fois bouchés, ces flacons sont laissés sous agitation orbitalaire à 250 rpm à

température ambiante pendant 24h. Le surnageant est extrait par filtration à l'aide de filtre pour seringue de diamètre 13 mm en PTFE avec des pores à 0,2 µm fourni (VWR).

5.5.2 Etude de la sélectivité

Dans le cas de l'étude de la sélectivité, le même protocole est appliqué aux interférents après avoir effectué au préalable leur courbe de calibration à des gammes de concentrations comprises entre 0,31 et 5 mg/L pour la CBZP et le KP. Ensuite, 5 mL d'une solution contenant un mélange des interférents, le kétoprofène (KP), la carbamazépine (CBZP) et du BPA à une concentration de 21,9 µM sont mis en contact avec 5 mg de résine dans les flacons de 15 mL. Les pics du KP et de la CBZP sont identifiés à 1,8 et 7,7 minutes à l'aide des ions précurseurs M+H (KP, 255 m/z) et M+H (CBZP, 237 m/z) respectivement.

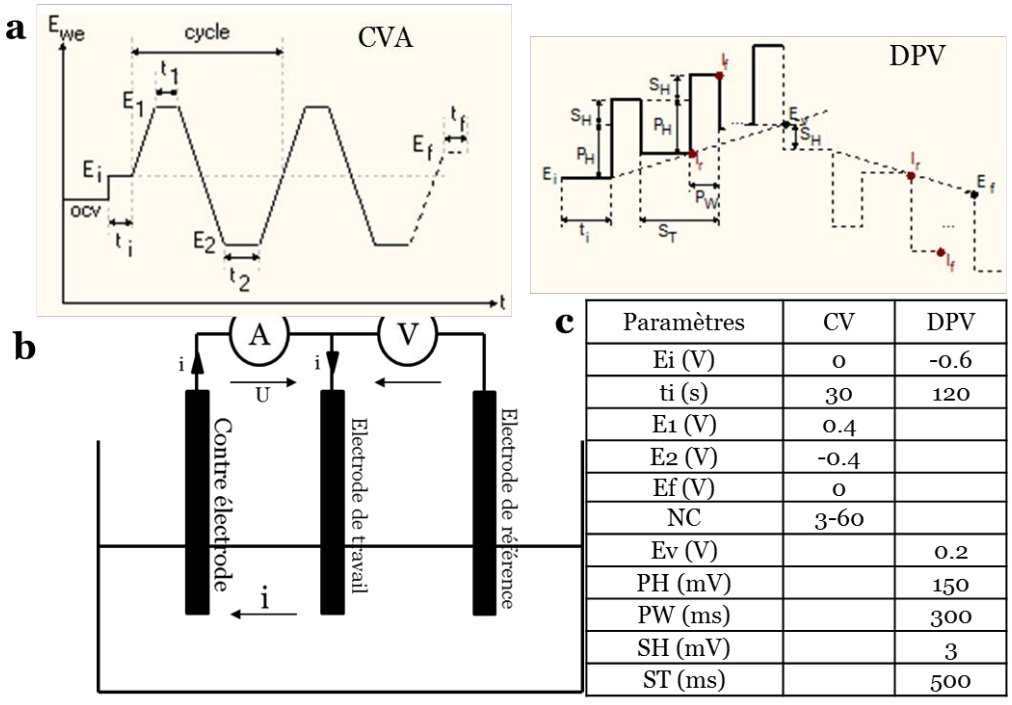
5.6 Fabrication des SPE

Les électrodes sérigraphiées ont été fabriquées par l'équipe du laboratoire BAE (Biocapteurs Analyse Environnement) de l'Université Perpignan *Via* Domitia (UPVD). Ces électrodes sérigraphiées ont été produites en utilisant un système de sérigraphie semi-automatique DEK 248 (DEK, UK). Des plaques de PVC transparentes (200 mm x 100 mm x 0,5 mm) sont utilisées comme substrats d'impression. L'électrode de travail est sous forme de disque de 4 mm de diamètre, et l'électrode auxiliaire une ligne incurvée de 16 mm x 1,5 mm, l'électrode de référence AgCl est une ligne droite de 5 mm x 1,5 mm. Une peinture glycérophtalique (Astral, France) est utilisée comme couche isolante.

Les pâtes de graphite modifiées par l'e-MIP-Fc-VP et l'e-NIP-Fc-VP ont été préparées en mélangeant 250 mg de polymères avec 1,0 g de graphite Timrex T15 dans 20 mL d'acétone. Le mélange est ensuite agité mécaniquement et l'acétone a été évaporée. Lorsque les polymères/poudre de graphite sont exempts d'acétone, ils sont incorporés dans 10 mL d'une solution d'hydroxyéthylcellulose (4% dans l'eau distillée). Les pâtes modifiées e-MIP-Fc-VP / e-NIP-Fc-VP ont été sérigraphiées pour couvrir les électrodes de travail.

5.7 Etude électrochimique

Dans cette étude, deux techniques électrochimiques ont été principalement utilisées pour étudier les polymères à empreintes moléculaires électrochimiques. Toutes ces analyses sont réalisées sur une cellule électrochimique à trois électrodes dont une électrode de travail (or ou platine), une électrode de référence (ECS) et une contre-électrode (platine). Les différentes techniques électrochimiques utilisées sont : la voltampérométrie cyclique (CV), la voltampérométrie différentielle pulsée (DPV) dont les paramètres sont spécifiés dans la Figure 5-4a. Dans ces différentes techniques, la différence de potentiel est mesurée entre l'électrode de travail et l'électrode de référence, l'intensité du courant est quant à elle mesurée entre l'électrode de travail et la contre électrode. Toutes les mesures électrochimiques ont été effectuées à l'aide d'un potentiostat Biologic Science Instruments, modèle VSP-300 et du logiciel EC-Lab, qui a aussi servi de logiciel de traitement des données.



Paramètres	CV	DPV
Ei (V)	0	-0.6
ti (s)	30	120
E1 (V)	0.4	
E2 (V)	-0.4	
Ef (V)	0	
NC	3-60	
Ev (V)		0.2
PH (mV)		150
PW (ms)		300
SH (mV)		3
ST (ms)		500

Figure 5-4. Description des techniques électrochimiques utilisées pour les systèmes à trois électrodes.

6 Annexes

Table des Matières

Annexe 6-1. Paramètres de détection du BPA en spectrométrie de masse. 169
Annexe 6-2. Calcul des proportions en réactifs dans le polymère obtenu pour une analyse élémentaire des espèces Fe, N, C dans l'e-(MIP/NIP)-Fc.....172
Annexe 6-3. Calcul des proportions en réactifs dans le polymère obtenu pour une analyse élémentaire des espèces Fe, N, C dans l'e-(MIP/NIP)-Fc-VP 174
Annexe 6-4. Capacité d'adsorption des polymères d'e-MIP-Fc et e-MIP-Fc-VP en fonction de la concentration initiale (Ci).5 mL de BPA (1 mg/L) mis en contact avec 5 mg de polymères sous agitation pendant 24 heures dans l'eau/ACN (9 :1, v/v).. 176
Annexe 6-5. Procédure de détermination des limites de détection et de quantification du BPA par les électrodes sérigraphiées à base d'e-MIP-Fc-VP et sur une droite de régression linéaire $\hat{y}=a+bx_i$ 176

Annexe 6-1. Paramètres de détection du BPA en spectrométrie de masse.

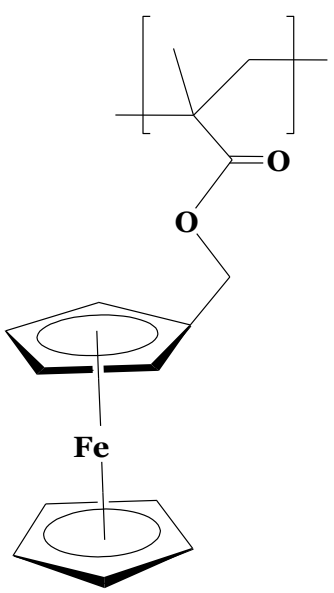
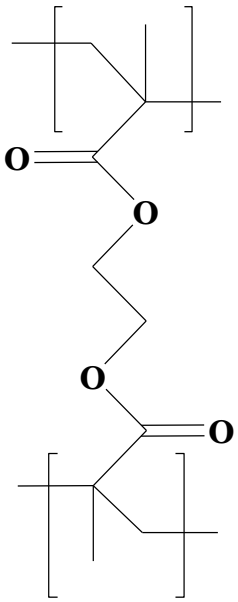
Gamme de calibration	LOD	LOQ	Source/ Désolvatation T°	Capillaire / Cône de tension	ion précurseur (m/z)	Énergie de collision (eV) (psi)	Accélérateur de cellules / La tension du jet d'ions (V)	ionisation	Tampon	Réf
0,75–20 ng/mL	0,1 ng/mL		130°C/400°C	−2,75 kV/−40 V		20		Négatif	Phase mobile A : bicarbonate d'ammonium 5 mM (pH 8,0 non ajusté) ; phase mobile B : méthanol	207
2,4-19,715 et 2,5-283 µg/Kg		2/2,5 mg/Kg	123 °C/ 500 °C	50 V			4,4 kV	Positif		208
0- 10 µg/L			650 ◦C		227 - 133 et 227 - 112	24-32		Positif/ Négatif	Phase mobile A : 0,5 mM d'acétate d'ammonium:	167

									méthanol (70:30, v/v) Phase mobile B : acétate d'ammonium: méthanol (5:95, v/v)	
<10-e 1200 ng/L	0,5–6 ng/L		60 ◦/200-350°C	−3 kV/−60	226,7			Négatif	Phase mobile A : eau Phase mobile B : méthanol : acide acétique glacial à 0,1% (v/v) et acétate d'ammonium 15 mM	209
1,0 à 500 µg/L	0,01		100°C/300 ◦C,	3,5 kV/70V	212-133	16		Négatif	Méthanol/eau contenant 0,1% d'ammoniac	210
0,05 - 10			300 ◦C-375 ◦C		227/212-133	20-26	−4 kV	Négatif		211

µg/L										
0,3–200 ng/mL		0,3 ng/mL	440 ◦C		227→133	10	−4,5 kV	Négatif	Phase mobile A : 0,1% d'acide acétique dans eau Phase mobile B : 0,1% d'acide acétique dans acétonitrile	[212]
0,40-6,40 ng/mL	0,01-0,09 ng/mL	0,40 ng/mL	150°C/550°C	3,5V/38 - 66 V	227,0–211,9	18		Négatif		[213]
5- 200 ng/mL			500 ◦C/	3,5 kV/ 70V	100–300			Négatif		[214]
1,0–100 ng/mL			350°C	3500 V /	227 et 435			Négatif		[215]

LOD : limite de détection, LOQ : limite de quantification.

Annexe 6-2. Calcul des proportions en réactifs dans le polymère obtenu pour une analyse élémentaire des espèces Fe, N, C dans l'e-(MIP/NIP)-Fc

	FcMMA	EDMA
Unité monomérique		
Proportion molaire	α	1-α

$$\%F_e = \frac{\alpha . M_{F_e}}{\alpha \times M_{FcMMA} + (1-\alpha) M_{EDMA}} \times 100 \qquad \text{équation 6-1}$$

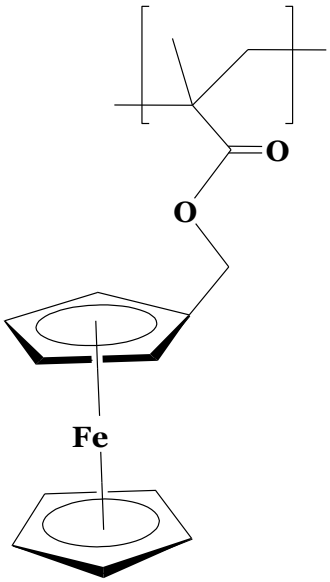
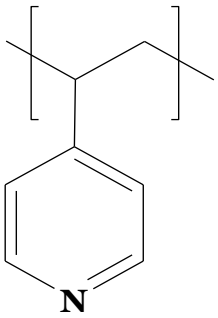
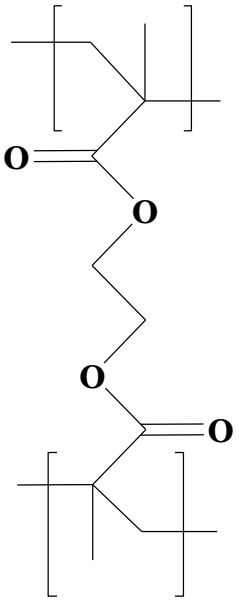
$$\%\mathrm{C} = \frac{\big(15.\alpha + 10.(1-\alpha)\big).M_C}{\alpha \times M_{FcMMA} + (1-\alpha) M_{EDMA}} \times 100 \qquad \text{équation 6-2}$$

$$\%\mathrm{H} = \frac{\big(16.\alpha + 14.(1-\alpha)\big).M_H}{\alpha \times M_{FcMMA} + (1-\alpha) M_{EDMA}} \times 100 \qquad \text{équation 6-3}$$

Ces équations permettent de déduire celles d'α à partir du rapport carbone et du fer dans l'objectif de s'affranchir de la présence d'eau résiduelle.

$$\alpha = \frac{10.\%F_e.M_C}{\%C.M_{F_e} - 5.\%F_e.M_C} \qquad \text{équation 6-4}$$

Annexe 6-3. Calcul des proportions en réactifs dans le polymère obtenu pour une analyse élémentaire des espèces Fe, N, C dans l'e-(MIP/NIP)-Fc-VP

	FcMMA	4-VP	EDMA
Unité monomérique			
Proportion molaire	α	β	1-α-β

$$\%F_e = \frac{\alpha . M_{F_e}}{\alpha \times M_{FcMMA} + (1-\alpha-\beta)M_{EDMA} + \beta \times M_{4VP}} \times 100 \qquad \text{équation 6-5}$$

$$\%C = \frac{(15.\alpha + 10.(1-\alpha-\beta) + 7.).M_C}{\alpha \times M_{FcMMA} + (1-\alpha-\beta)M_{EDMA} + \beta \times M_{4VP}} \times 100 \qquad \text{équation 6-6}$$

$$\%N = \frac{\beta . M_N}{\alpha \times M_{FcMMA} + (1-\alpha-\beta)M_{EDMA} + \beta \times M_{4VP}} \times 100 \qquad \text{équation 6-7}$$

Ces équations permettent de déduire les équations d'α et β et de les calculer.

$$\alpha = . \frac{10.\%F_e.M_C}{\%C.M_{F_e} - (5\alpha - 3K)\%F_e.M_C} \qquad \text{équation 6-8}$$

Avec

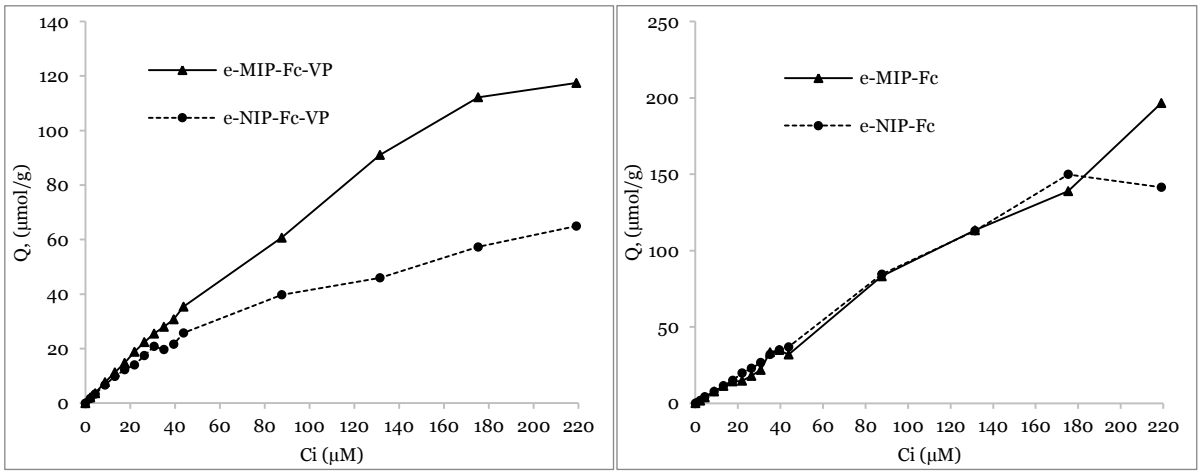
$$K = \frac{M_{Fe}}{M_N} \times \frac{\%N}{\%F_e} \qquad \text{équation 6-9}$$

Et

$$\beta = \alpha . K \; ou \; \beta = \alpha . \frac{M_{Fe}}{M_N} \times \frac{\%N}{\%F_e} \qquad \text{équation 6-10}$$

M_{Fe} : masse molaire du fer (55,85 g/mol)
M_C : masse molaire du carbone (12,01 g/mol)
M_N : masse molaire de l'azote (14,01 g/mol)
M_{4VP} : masse molaire de la 4-VP (105,14 g/mol)
M_{EDMA} : masse molaire de l'EDMA (198,24 g/mol)
M_{FcMMA}: masse molaire de l'EDMA (284,13 g/mol)

Annexe 6-4. Capacité d'adsorption des polymères d'e-MIP-Fc et e-MIP-Fc-VP en fonction de la concentration initiale (Ci).5 mL de BPA (1 mg/L) mis en contact avec 5 mg de polymères sous agitation pendant 24 heures dans l'eau/ACN (9 :1, v/v)..



Annexe 6-5. Procédure de détermination des limites de détection et de quantification du BPA par les électrodes sérigraphiées à base d'e-MIP-Fc-VP et sur une droite de régression linéaire $\hat{y}=a+bx_i$

$$y_i = \frac{1}{p}\sum_{j=1}^{p} y_{ij}, \qquad \mathrm{M_x} = \frac{1}{\mathrm{n}}\sum_{\mathrm{i=1}}^{\mathrm{n}} \mathrm{x}_i \qquad , \mathrm{M_y} = \frac{1}{\mathrm{n}}\sum_{\mathrm{i=1}}^{\mathrm{n}} y_i \qquad \text{équation 6-11}$$

Avec :

n le nombre d'échantillon de référence mesuré p fois.

x_i : valeur acceptée du $i^{ème}$ échantillon de référence

y_{ij} : $J^{ème}$ mesure de l'échantillon de référence i

y_i : moyenne des J mesures de l'échantillon i

M_x : moyenne de toutes les valeurs de références

M_y : moyenne de toutes les mesures

$$b = \frac{\sum_{i=1}^{n}(x_i - M_x)(y_i - M_y)}{\sum_{i=1}^{n}(x_i - M_x)^2}, \qquad S_{res} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n}\sum_{j=1}^{p}(y_{i,j} - \hat{y}_{i,j})^2}{pn - 2}} \quad \text{équation 6-12}$$

$$S_a = S_{res}\sqrt{\left[\frac{1}{np} + \frac{M_x^2}{\sum_{i=1}^{n} p(x_i - M_x)^2}\right]} \quad \text{équation 6-13}$$

Avec :

b la pente, S_{res} : l'écart-type résiduel, Sa : l'écart-type sur l'ordonnée à l'origine

$$LOD = \frac{3 \times S_a}{b}, \qquad LOQ = \frac{10 \times S_a}{b} \quad \text{équation 6-14}$$

Avec :

LOD : limite de détection et LOQ : limite de quantification

7 Bibliographie

(1) Svenson, J.; Nicholls, I. A. On the Thermal and Chemical Stability of Molecularly Imprinted Polymers. *Anal. Chim. Acta* **2001**, *435* (1), 19–24.

(2) Polyakov, M. V. Adsorption Properties and Structure of Silica Gel. *Zhur Fiz Khim* **1931**, *2*, 799–805.

(3) Dickey, F. H. The Preparation of Specific Adsorbents. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1949**, *35* (5), 227–229.

(4) Wulff, G. The Use of Polymers with Enzyme-Analogous Structures for the Resolution of Racemates. *Angrew Chem Intern. Ed.* **1972**, *11* (4), 341.

(5) Takagishi, T.; Klotz, I. M. Macromolecule-Small Molecule Interactions; Introduction of Additional Binding Sites in Polyethyleneimine by Disulfide Cross–Linkages. *Biopolymers* **1972**, *11* (2), 483–491.

(6) Sellergren, B.; Andersson, L. Molecular Recognition in Macroporous Polymers Prepared by a Substrate Analog Imprinting Strategy. *J. Org. Chem.* **1990**, *55* (10), 3381–3383.

(7) 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. *Macromol. Chem. Phys.* **1977**, *178* (10), 2799–2816.

(8) Kempe, H.; Kempe, M. *Molecularly Imprinted Polymers*; Wiley-VCH: Weinheim, 2009.

(9) Whitcombe, M. J.; Rodriguez, M. E.; Vulfson, E. N. Polymeric Adsorbents for Cholesterol Prepared by Molecular Imprinting. *Spec. Publ.-R. Soc. Chem.* **1994**, *158* (1), 565–565.

(10) Joshi, V. P.; Karode, S. K.; Kulkarni, M. G.; Mashelkar, R. A. Novel Separation Strategies Based on Molecularly Imprinted Adsorbents. *Chem. Eng. Sci.* **1998**, *53* (13), 2271–2284.

(11) Cacho, C.; Turiel, E.; Martin-Esteban, A.; Ayala, D.; Perez-Conde, C. Semi-Covalent Imprinted Polymer Using Propazine Methacrylate as Template Molecule for the Clean-up of Triazines in Soil and Vegetable Samples. *J. Chromatogr. A* **2006**, *1114* (2), 255–262.

(12) Arshady, R.; Mosbach, K. Synthesis of Substrate-Selective Polymers by Host-Guest Polymerization. *Macromol. Chem. Phys.* **1981**, *182* (2), 687–692.

(13) Alexander, C.; Andersson, H. akan S.; Andersson, L. I.; Ansell, R. J.; Kirsch, N.; Nicholls, I. A.; O'Mahony, J.; Whitcombe, M. J. Molecular Imprinting Science and Technology: A Survey of the Literature for the Years up to and Including 2003. *J. Mol. Recognit.* **2006**, *19* (2), 106–180.

(14) Mayes, A. G.; Whitcombe, M. J. Synthetic Strategies for the Generation of Molecularly Imprinted Organic Polymers. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2005**, *57* (12), 1742–1778.

(15) Kugimiya, A.; Takei, H. Preparation of Molecularly Imprinted Polymers with Thiourea Group for Phosphate. *Anal. Chim. Acta* **2006**, *564* (2), 179–183.

(16) Cadinot, M. Nouveaux Procédés d'élaboration de Polymères à Empreintes Moléculaires. PhD Thesis, INSA de Rouen, 2008.

(17) Boulanouar, S.; Mezzache, S.; Combès, A.; Pichon, V. Molecularly Imprinted Polymers for the Determination of Organophosphorus Pesticides in Complex Samples. *Talanta* **2018**, *176*, 465–478.

(18) Hu, J.-H.; Feng, T.; Li, W.-L.; Zhai, H.; Liu, Y.; Wang, L.-Y.; Hu, C.-L.; Xie, M.-X. Surface Molecularly Imprinted Polymers with Synthetic Dummy Template for Simultaneously Selective Recognition of Nine Phthalate Esters. *J. Chromatogr. A* **2014**, *1330*, 6–13.

(19) Zhu, F.; Wang, J.; Zhu, L.; Tan, L.; Feng, G.; Liu, S.; Dai, Y.; Wang, H. Preparation of Molecularly Imprinted Polymers Using Theanine as Dummy Template and Its Application as SPE Sorbent for the Determination of Eighteen Amino Acids in Tobacco. *Talanta* **2016**, *150*, 388–398.

(20) Zhang, H.; Song, T.; Zhang, W.; Hua, W.; Pan, C. Retention Behavior of Phenoxyacetic Herbicides on a Molecularly Imprinted Polymer with Phenoxyacetic Acid as a Dummy Template Molecule. *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, *15* (18), 6089–6095.

(21) Feás, X.; Seijas, J. A.; Vázquez-Tato, M. P.; Regal, P.; Cepeda, A.; Fente, C. Syntheses of Molecularly Imprinted Polymers: Molecular Recognition of Cyproheptadine Using Original Print Molecules and Azatadine as Dummy Templates. *Anal. Chim. Acta* **2009**, *631* (2), 237–244.

(22) Andersson, L. I.; Hardenborg, E.; Sandberg-Ställ, M.; Möller, K.; Henriksson, J.; Bramsby-Sjöström, I.; Olsson, L.-I.; Abdel-Rehim, M. Development of a Molecularly Imprinted Polymer Based Solid-Phase Extraction of Local Anaesthetics from Human Plasma. *Anal. Chim. Acta* **2004**, *526* (2), 147–154.

(23) Spivak, D. A.; Shea, K. J. Binding of Nucleotide Bases by Imprinted Polymers. *Macromolecules* **1998**, *31* (7), 2160–2165.

(24) Claude, B. Intérêt Des Polymères à Empreintes Moléculaires Pour La Préparation d'échantillons Par Extraction Solide-Liquide. Applications Aux Triterpènes Dans Les Plantes et Aux Dopants Dans Les Urines., Université d'Orléans, 2007.

(25) Matsui, J.; Doblhoff-Dier, O.; Takeuchi, T. 2-(Trifluoromethyl) Acrylic Acid: A Novel Functional Monomer in Non-Covalent Molecular Imprinting. *Anal. Chim. Acta* **1997**, *343* (1), 1–4.

(26) Strikovsky, A. G.; Kasper, D.; Grün, M.; Green, B. S.; Hradil, J.; Wulff, G. Catalytic Molecularly Imprinted Polymers Using Conventional Bulk Polymerization or Suspension Polymerization: Selective Hydrolysis of Diphenyl Carbonate and Diphenyl Carbamate. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122* (26), 6295–6296.

(27) Yu, C.; Mosbach, K. Molecular Imprinting Utilizing an Amide Functional Group for Hydrogen Bonding Leading to Highly Efficient Polymers. *J. Org. Chem.* **1997**, *62* (12), 4057–4064.

(28) Xie, J.; Zhu, L.; Luo, H.; Zhou, L.; Li, C.; Xu, X. Direct Extraction of Specific Pharmacophoric Flavonoids from Gingko Leaves Using a Molecularly Imprinted Polymer for Quercetin. *J. Chromatogr. A* **2001**, *934* (1), 1–11.

(29) Andersson, L. I.; Miyabayashi, A.; O'Shannessy, D. J.; Mosbach, K. Enantiomeric Resolution of Amino Acid Derivatives on Molecularly Imprinted Polymers as Monitored by Potentiometric Measurements. *J. Chromatogr. A* **1990**, *516* (2), 323–331.

(30) Andersson, L.; Sellergren, B.; Mosbach, K. Imprinting of Amino Acid Derivatives in Macroporous Polymers. *Tetrahedron Lett.* **1984**, *25* (45), 5211–5214.

(31) Strikovsky, A.; Hradil, J.; Wulff, G. Catalytically Active, Molecularly Imprinted Polymers in Bead Form. *React. Funct. Polym.* **2003**, *54* (1), 49–61.

(32) Lin, J.-M.; Yamada, M. Chemiluminescent Flow-through Sensor for 1, 10-Phenanthroline Based on the Combination of Molecular Imprinting and Chemiluminescence. *Analyst* **2001**, *126* (6), 810–815.

(33) Turkewitsch, P.; Wandelt, B.; Darling, G. D.; Powell, W. S. Fluorescent Functional Recognition Sites through Molecular Imprinting. A Polymer-Based

Fluorescent Chemosensor for Aqueous CAMP. *Anal. Chem.* **1998**, *70* (10), 2025–2030.

(34) Lasagabáster-Latorre, A.; Cela-Pérez, M. C.; Fernández-Fernández, S.; López-Vilariño, J. M.; González-Rodríguez, M. V.; Abad, M. J.; Barral-Losada, L. F. Insight into BPA–4-Vinylpyridine Interactions in Molecularly Imprinted Polymers Using Complementary Spectroscopy Techniques. *Mater. Chem. Phys.* **2013**, *141* (1), 461–476.

(35) Spivak, D.; Shea, K. J. Molecular Imprinting of Carboxylic Acids Employing Novel Functional Macroporous Polymers. *J. Org. Chem.* **1999**, *64* (13), 4627–4634.

(36) Kempe, M.; Mosbach, K. Receptor Binding Mimetics: A Novel Molecularly Imprinted Polymer. *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36* (20), 3563–3566.

(37) Xie, J.; Chen, L.; Li, C.; Xu, X. Selective Extraction of Functional Components Derived from Herb in Plasma by Using a Molecularly Imprinted Polymer Based on 2, 2-Bis (Hydroxymethyl) Butanol Trimethacrylate. *J. Chromatogr. B* **2003**, *788* (2), 233–242.

(38) Caro, E.; Marcé, R. M.; Cormack, P. A.; Sherrington, D. C.; Borrull, F. Novel Enrofloxacin Imprinted Polymer Applied to the Solid-Phase Extraction of Fluorinated Quinolones from Urine and Tissue Samples. *Anal. Chim. Acta* **2006**, *562* (2), 145–151.

(39) Pichon, V. Selective Sample Treatment Using Molecularly Imprinted Polymers. *J. Chromatogr. A* **2007**, *1152* (1–2), 41–53.

(40) Wulff, G.; Sarhan, A. Über Die Anwendung von Enzymanalog Gebauten Polymeren Zur Racemattrennung. *Angew. Chem.* **1972**, *84* (8), 364–364.

(41) Shea, K. J.; Sasaki, D. Y. On the Control of Microenvironment Shape of Functionalized Network Polymers Prepared by Template Polymerization. *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111* (9), 3442–3444.

(42) Kempe, H.; Kempe, M. Development and Evaluation of Spherical Molecularly Imprinted Polymer Beads. *Anal. Chem.* **2006**, *78* (11), 3659–3666.

(43) Shahar, T.; Tal, N.; Mandler, D. Molecularly Imprinted Polymer Particles: Formation, Characterization and Application. *Colloids Surf. Physicochem. Eng. Asp.* **2016**, *495*, 11–19.

(44) Ye, L.; Cormack, P. A.; Mosbach, K. Molecularly Imprinted Monodisperse Microspheres for Competitive Radioassay. *Anal. Commun.* **1999**, *36* (2), 35–38.

(45) Liu, C.; Shang, L.; Yoshioka, H.-T.; Chen, B.; Hayashi, K. Preparation of Molecularly Imprinted Polymer Nanobeads for Selective Sensing of Carboxylic Acid Vapors. *Anal. Chim. Acta* **2018**, *1010*, 1–10.

(46) Dai, C.; Zhou, X.; Zhang, Y.; Liu, S.; Zhang, J. Synthesis by Precipitation Polymerization of Molecularly Imprinted Polymer for the Selective Extraction of Diclofenac from Water Samples. *J. Hazard. Mater.* **2011**, *198*, 175–181.

(47) Mayes, A. G.; Mosbach, K. Molecularly Imprinted Polymer Beads: Suspension Polymerization Using a Liquid Perfluorocarbon as the Dispersing Phase. *Anal. Chem.* **1996**, *68* (21), 3769–3774.

(48) Hosoya, K.; Yoshizako, K.; Shirasu, Y.; Kimata, K.; Araki, T.; Tanaka, N.; Haginaka, J. Molecularly Imprinted Uniform-Size Polymer-Based Stationary Phase for High-Performance Liquid Chromatography Structural Contribution of Cross-Linked Polymer Network on Specific Molecular Recognition. *J. Chromatogr. A* **1996**, *728* (1–2), 139–147.

(49) Haginaka, J.; Takehira, H.; Hosoya, K.; Tanaka, N. Uniform-Sized Molecularly Imprinted Polymer for (S)-Naproxen Selectively Modified with Hydrophilic External Layer. *J. Chromatogr. A* **1999**, *849* (2), 331–339.

(50) Poma, A.; Turner, A. P. F.; Piletsky, S. A. Advances in the Manufacture of MIP Nanoparticles. *Trends Biotechnol.* **2010**, *28* (12), 629–637.

(51) Pérez, N.; Whitcombe, M. J.; Vulfson, E. N. Molecularly Imprinted Nanoparticles Prepared by Core-Shell Emulsion Polymerization. *J. Appl. Polym. Sci.* **2000**, *77* (8), 1851–1859.

(52) Dabrowski, M.; Lach, P.; Cieplak, M.; Kutner, W. Nanostructured Molecularly Imprinted Polymers for Protein Chemosensing. *Biosens. Bioelectron.* **2018**, *102*, 17–26.

(53) Titirici, M. M.; Hall, A. J.; Sellergren, B. Hierarchically Imprinted Stationary Phases: Mesoporous Polymer Beads Containing Surface-Confined Binding Sites for Adenine. *Chem. Mater.* **2002**, *14* (1), 21–23.

(54) Yilmaz, E.; Ramström, O.; Möller, P.; Sanchez, D.; Mosbach, K. A Facile Method for Preparing Molecularly Imprinted Polymer Spheres Using Spherical Silica Templates. *J. Mater. Chem.* **2002**, *12* (5), 1577–1581.

(55) Norrlöw, O.; Glad, M.; Mosbach, K. Acrylic Polymer Preparations Containing Recognition Sites Obtained by Imprinting with Substrates. *J. Chromatogr. A* **1984**, *299*, 29–41.

(56) Otsu, T.; Yamashita, K.; Tsuda, K. Synthesis, Reactivity, and Role of 4-Vinylbenzyl N, N-Diethyldithiocarbamate as a Monomer-Iniferter in Radical Polymerization. *Macromolecules* **1986**, *19* (2), 287–290.

(57) Rückert, B.; Hall, A. J.; Sellergren, B. Molecularly Imprinted Composite Materials via Iniferter-Modified Supports. *J. Mater. Chem.* **2002**, *12* (8), 2275–2280.

(58) Rutkowska, M.; Płotka-Wasylka, J.; Morrison, C.; Wieczorek, P. P.; Namieśnik, J.; Marć, M. Application of Molecularly Imprinted Polymers in Analytical Chiral Separations and Analysis. *TrAC Trends Anal. Chem.* **2018**, *102*, 91–102.

(59) Ansell, R. J.; Kuah, J. K. L.; Wang, D.; Jackson, C. E.; Bartle, K. D.; Clifford, A. A. Imprinted Polymers for Chiral Resolution of (±)-Ephedrine, 4: Packed Column Supercritical Fluid Chromatography Using Molecularly Imprinted Chiral Stationary Phases. *J. Chromatogr. A* **2012**, *1264*, 117–123.

(60) Hebert, B.; Meador, D. S.; Spivak, D. A. Scalemic and Racemic Imprinting with a Chiral Crosslinker. *Anal. Chim. Acta* **2015**, *890*, 157–164.

(61) Gutierrez-Climente, R.; Gomez-Caballero, A.; Guerreiro, A.; Garcia-Mutio, D.; Unceta, N.; Goicolea, M. A.; Barrio, R. J. Molecularly Imprinted Nanoparticles Grafted to Porous Silica as Chiral Selectors in Liquid Chromatography. *J. Chromatogr. A* **2017**, *1508*, 53–64.

(62) O'Shannessy, D. J.; Ekberg, B.; Andersson, L. I.; Mosbach, K. Recent Advances in the Preparation and Use of Molecularly Imprinted Polymers for Enantiomeric Resolution of Amino Acid Derivatives. *J. Chromatogr. A* **1989**, *470* (2), 391–399.

(63) Sellergren, B. Moleclar Imprinting by Noncovalent Interactions: Tailor-Made Chiral Stationary Phases of High Selectivity and Sample Load Capacity. *Chirality* **1989**, *1* (1), 63–68.

(64) Kulsing, C.; Knob, R.; Macka, M.; Junor, P.; Boysen, R. I.; Hearn, M. T. W. Molecular Imprinted Polymeric Porous Layers in Open Tubular Capillaries for Chiral Separations. *J. Chromatogr. A* **2014**, *1354*, 85–91.

(65) Pichon, V.; Chapuis-Hugon, F. Role of Molecularly Imprinted Polymers for Selective Determination of Environmental Pollutants—a Review. *Anal. Chim. Acta* **2008**, *622* (1–2), 48–61.

(66) Speltini, A.; Scalabrini, A.; Maraschi, F.; Sturini, M.; Profumo, A. Newest Applications of Molecularly Imprinted Polymers for Extraction of Contaminants from Environmental and Food Matrices: A Review. *Anal. Chim. Acta* **2017**, *974*, 1–26.

(67) Madikizela, L. M.; Tavengwa, N. T.; Chimuka, L. Applications of Molecularly Imprinted Polymers for Solid-Phase Extraction of Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs and Analgesics from Environmental Waters and Biological Samples. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2018**, *147*, 624–633.

(68) Yang, Y.; Yu, J.; Yin, J.; Shao, B.; Zhang, J. Molecularly Imprinted Solid-Phase Extraction for Selective Extraction of Bisphenol Analogues in Beverages and Canned Food. *J. Agric. Food Chem.* **2014**, *62* (46), 11130–11137.

(69) Khan, S.; Bhatia, T.; Trivedi, P.; Satyanarayana, G. N. V.; Mandrah, K.; Saxena, P. N.; Mudiam, M. K. R.; Roy, S. K. Selective Solid-Phase Extraction Using Molecularly Imprinted Polymer as a Sorbent for the Analysis of Fenarimol in Food Samples. *Food Chem.* **2016**, *199*, 870–875.

(70) Yang, C.; Lv, T.; Yan, H.; Wu, G.; Li, H. Glyoxal–Urea–Formaldehyde Molecularly Imprinted Resin as Pipette Tip Solid-Phase Extraction Adsorbent for Selective Screening of Organochlorine Pesticides in Spinach. *J. Agric. Food Chem.* **2015**, *63* (43), 9650–9656.

(71) Shi, Y.; Zhang, J.-H.; Shi, D.; Jiang, M.; Zhu, Y.-X.; Mei, S.-R.; Zhou, Y.-K.; Dai, K.; Lu, B. Selective Solid-Phase Extraction of Cholesterol Using Molecularly Imprinted Polymers and Its Application in Different Biological Samples. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2006**, *42* (5), 549–555.

(72) Theodoridis, G.; Kantifes, A.; Manesiotis, P.; Raikos, N.; Tsoukali-Papadopoulou, H. Preparation of a Molecularly Imprinted Polymer for the Solid-Phase Extraction of Scopolamine with Hyoscyamine as a Dummy Template Molecule. *J. Chromatogr. A* **2003**, *987* (1), 103–109.

(73) Theodoridis, G.; Manesiotis, P. Selective Solid-Phase Extraction Sorbent for Caffeine Made by Molecular Imprinting. *J. Chromatogr. A* **2002**, *948* (1), 163–169.

(74) Schmaljohann, D. Thermo-and PH-Responsive Polymers in Drug Delivery. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2006**, *58* (15), 1655–1670.

(75) Puoci, F.; Cirillo, G.; Curcio, M.; Iemma, F.; Parisi, O. I.; Spizzirri, U. G.; Picci, N. Molecularly Imprinted Polymers (MIPs) in Biomedical Applications. *Biopolymers* **2010**, *28*, 547–574.

(76) Haupt, K.; Mosbach, K. Molecularly Imprinted Polymers and Their Use in Biomimetic Sensors. *Chem. Rev.* **2000**, *100* (7), 2495–2504.

(77) Puoci, F.; Cirillo, G.; Curcio, M.; Iemma, F.; Parisi, O. I.; Spizzirri, U. G.; Picci, N. Molecularly Imprinted Polymers (PIMs) in Biomedical Applications. In *Biopolymers*; InTech, 2010.

(78) Updike, S. J.; Hicks, G. P. The Enzyme Electrode Nature V. 214. *I* **1967**, *967*, 986–988.

(79) Yang, Q.; Li, J.; Wang, X.; Peng, H.; Xiong, H.; Chen, L. Strategies of Molecular Imprinting-Based Fluorescence Sensors for Chemical and Biological Analysis. *Biosens. Bioelectron.* **2018**, *112*, 54–71.

(80) Dickert, F. L.; Besenböck, H.; Tortschanoff, M. Molecular Imprinting through van Der Waals Interactions: Fluorescence Detection of PAHs in Water. *Adv. Mater.* **1998**, *10* (2), 149–151.

(81) Dickert, F. L.; Tortschanoff, M.; Bulst, W. E.; Fischerauer, G. Molecularly Imprinted Sensor Layers for the Detection of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Water. *Anal. Chem.* **1999**, *71* (20), 4559–4563.

(82) Lulka, M. F.; Chambers, J. P.; Valdes, E. R.; Thompson, R. G.; Valdes, J. J. Molecular Imprinting of Small Molecules with Organic Silanes: Fluorescence Detection. *Anal. Lett.* **1997**, *30* (13), 2301–2313.

(83) Suárez-Rodrı´guez, J. L.; Dı´az-Garcı´a, M. E. Flavonol Fluorescent Flow-through Sensing Based on a Molecular Imprinted Polymer. *Anal. Chim. Acta* **2000**, *405* (1–2), 67–76.

(84) Kriz, D.; Ramstroem, O.; Svensson, A.; Mosbach, K. A Biomimetic Sensor Based on a Molecularly Imprinted Polymer as a Recognition Element Combined with Fiber-Optic Detection. *Anal. Chem.* **1995**, *67* (13), 2142–2144.

(85) Suárez-Rodrı´guez, J. L.; Dı´az-Garcı´a, M. E. Fluorescent Competitive Flow-through Assay for Chloramphenicol Using Molecularly Imprinted Polymers. *Biosens. Bioelectron.* **2001**, *16* (9), 955–961.

(86) Levi, R.; McNiven, S.; Piletsky, S. A.; Cheong, S.-H.; Yano, K.; Karube, I. Optical Detection of Chloramphenicol Using Molecularly Imprinted Polymers. *Anal. Chem.* **1997**, *69* (11), 2017–2021.

(87) Rachkov, A.; McNiven, S.; El'skaya, A.; Yano, K.; Karube, I. Fluorescence Detection of β-Estradiol Using a Molecularly Imprinted Polymer. *Anal. Chim. Acta* **2000**, *405* (1), 23–29.

(88) Piletsky, S. A.; Piletskaya, E. V.; El'Skaya, A. V.; Levi, R.; Yano, K.; Karube, I. Optical Detection System for Triazine Based on Molecularly-Imprinted Polymers. *Synth. React. Inorg. Met.-Org. Chem.* **1997**, *30* (3), 445–455.

(89) Cooper, M. E.; Hoag, B. P.; Gin, D. L. Design and Synthesis of Novel Fluorescent Chemosensors for Biologically Active Molecules. In *Abstracts of papers of the american chemical society*; Amer Chemical Soc 1155 16th st, NW, Washington, Dc 20036, 1997; Vol. 213, p 115.

(90) Liao, Y.; Wang, W.; Wang, B. Building Fluorescent Sensors by Template Polymerization: The Preparation of a Fluorescent Sensor for L-Tryptophan. *Bioorganic Chem.* **1999**, *27* (6), 463–476.

(91) Borah, S. B. D.; Bora, T.; Baruah, S.; Dutta, J. Heavy Metal Ion Sensing in Water Using Surface Plasmon Resonance of Metallic Nanostructures. *Groundw. Sustain. Dev.* **2015**, *1* (1), 1–11.

(92) Lai, E. P.; Fafara, A.; VanderNoot, V. A.; Kono, M.; Polsky, B. Surface Plasmon Resonance Sensors Using Molecularly Imprinted Polymers for Sorbent Assay of Theophylline, Caffeine, and Xanthine. *Can. J. Chem.* **1998**, *76* (3), 265–273.

(93) Luo, Q.; Yu, N.; Shi, C.; Wang, X.; Wu, J. Surface Plasmon Resonance Sensor for Antibiotics Detection Based on Photo-Initiated Polymerization Molecularly Imprinted Array. *Talanta* **2016**, *161*, 797–803.

(94) Li, P.; Huang, Y.; Hu, J.; Yuan, C.; Lin, B. Surface Plasmon Resonance Studies on Molecular Imprinting. *Sensors* **2002**, *2* (1), 35–40.

(95) Kugimiya, A.; Takeuchi, T. Surface Plasmon Resonance Sensor Using Molecularly Imprinted Polymer for Detection of Sialic Acid. *Biosens. Bioelectron.* **2001**, *16* (9), 1059–1062.

(96) Sarıkaya, A. G.; Osman, B.; Çam, T.; Denizli, A. Molecularly Imprinted Surface Plasmon Resonance (SPR) Sensor for Uric Acid Determination. *Sens. Actuators B Chem.* **2017**, *251*, 763–772.

(97) Tan, Y.; Jing, L.; Ding, Y.; Wei, T. A Novel Double-Layer Molecularly Imprinted Polymer Film Based Surface Plasmon Resonance for Determination of Testosterone in Aqueous Media. *Appl. Surf. Sci.* **2015**, *342*, 84–91.

(98) Guerreiro, J. R. L.; Teixeira, N.; Freitas, V. D.; Sales, M. G. F.; Sutherland, D. S. A Saliva Molecular Imprinted Localized Surface Plasmon Resonance Biosensor for Wine Astringency Estimation. *Food Chem.* **2017**, *233*, 457–466.

(99) Liu, W.; Guo, Y.; Luo, J.; Kou, J.; Zheng, H.; Li, B.; Zhang, Z. A Molecularly Imprinted Polymer Based a Lab-on-Paper Chemiluminescence Device for the Detection of Dichlorvos. *Spectrochim. Acta. A. Mol. Biomol. Spectrosc.* **2015**, *141*, 51–57.

(100) Duan, H.; Li, L.; Wang, X.; Wang, Y.; Li, J.; Luo, C. A Sensitive and Selective Chemiluminescence Sensor for the Determination of Dopamine Based on Silanized Magnetic Graphene Oxide-Molecularly Imprinted Polymer. *Spectrochim. Acta. A. Mol. Biomol. Spectrosc.* **2015**, *139*, 374–379.

(101) Lin, X. H.; Aik, S. X. L.; Angkasa, J.; Le, Q.; Chooi, K. S.; Li, S. F. Y. Selective and Sensitive Sensors Based on Molecularly Imprinted Poly(Vinylidene Fluoride) for Determination of Pesticides and Chemical Threat Agent Simulants. *Sens. Actuators B Chem.* **2018**, *258*, 228–237.

(102) Wang, S.; Ge, L.; Li, L.; Yan, M.; Ge, S.; Yu, J. Molecularly Imprinted Polymer Grafted Paper-Based Multi-Disk Micro-Disk Plate for Chemiluminescence Detection of Pesticide. *Biosens. Bioelectron.* **2013**, *50*, 262–268.

(103) Cao, W.; Chao, Y.; Liu, L.; Liu, Q.; Pei, M. Flow Injection Chemiluminescence Sensor Based on Magnetic Oil-Based Surface Molecularly Imprinted Nanoparticles for Determination of Bisphenol A. *Sens. Actuators B Chem.* **2014**, *204*, 704–709.

(104) Fang, G.; Wang, H.; Yang, Y.; Liu, G.; Wang, S. Development and Application of a Quartz Crystal Microbalance Sensor Based on Molecularly Imprinted Sol-Gel Polymer for Rapid Detection of Patulin in Foods. *Sens. Actuators B Chem.* **2016**, *237*, 239–246.

(105) Fang, G.; Yang, Y.; Zhu, H.; Qi, Y.; Liu, J.; Liu, H.; Wang, S. Development and Application of Molecularly Imprinted Quartz Crystal Microbalance Sensor for Rapid Detection of Metolcarb in Foods. *Sens. Actuators B Chem.* **2017**, *251* (Supplement C), 720–728.

(106) Fang, G.; Liu, G.; Yang, Y.; Wang, S. Quartz Crystal Microbalance Sensor Based on Molecularly Imprinted Polymer Membrane and Three-Dimensional Au Nanoparticles@mesoporous Carbon CMK-3 Functional Composite for Ultrasensitive and Specific Determination of Citrinin. *Sens. Actuators B Chem.* **2016**, *230*, 272–280.

(107) Ayankojo, A. G.; Reut, J.; Boroznjak, R.; Öpik, A.; Syritski, V. Molecularly Imprinted Poly(Meta-Phenylenediamine) Based {QCM} Sensor for Detecting Amoxicillin. *Sens. Actuators B Chem.* **2017**.

(108) Ratautaite, V.; Plausinaitis, D.; Baleviciute, I.; Mikoliunaite, L.; Ramanaviciene, A.; Ramanavicius, A. Characterization of Caffeine-Imprinted Polypyrrole by a Quartz Crystal Microbalance and Electrochemical Impedance Spectroscopy. *Sens. Actuators B Chem.* **2015**, *212*, 63–71.

(109) Rayleigh, Lord. On Waves Propagated along the Plane Surface of an Elastic Solid. *Proc. Lond. Math. Soc.* **1885**, *1* (1), 4–11.

(110) Wohltjen, H.; Dessy, R. Surface Acoustic Wave Probe for Chemical Analysis. I. Introduction and Instrument Description. *Anal. Chem.* **1979**, *51* (9), 1458–1464.

(111) Afzal, A.; Iqbal, N.; Mujahid, A.; Schirhagl, R. Advanced Vapor Recognition Materials for Selective and Fast Responsive Surface Acoustic Wave Sensors: A Review. *Anal. Chim. Acta* **2013**, *787*, 36–49.

(112) Tretjakov, A.; Syritski, V.; Reut, J.; Boroznjak, R.; Öpik, A. Molecularly Imprinted Polymer Film Interfaced with Surface Acoustic Wave Technology as a Sensing Platform for Label-Free Protein Detection. *Anal. Chim. Acta* **2016**, *902*, 182–188.

(113) Kirsch, N.; Honeychurch, K. C.; Hart, J. P.; Whitcombe, M. J. Voltammetric Determination of Urinary 1-Hydroxypyrene Using Molecularly Imprinted Polymer-Modified Screen-Printed Carbon Electrodes. *Electroanalysis* **2005**, *17* (7), 571–578.

(114) Kriz, D.; Mosbach, K. Competitive Amperometric Morphine Sensor Based on an Agarose Immobilised Molecularly Imprinted Polymer. *Anal. Chim. Acta* **1995**, *300* (1–3), 71–75.

(115) Andrea, P.; Stanislav, M. A Solid Binding Matrix/Molecularly Imprinted Polymer-Based Sensor System for the Determination of Clenbuterol in Bovine

Liver Using Differential-Pulse Voltammetry. *Sens. Actuators B Chem.* **2001**, *76* (1), 286–294.

(116) Sode, K.; Takahashi, Y.; Ohta, S.; Tsugawa, W.; Yamazaki, T. A New Concept for the Construction of an Artificial Dehydrogenase for Fructosylamine Compounds and Its Application for an Amperometric Fructosylamine Sensor. *Anal. Chim. Acta* **2001**, *435* (1), 151–156.

(117) Sode, K.; Ohta, S.; Yanai, Y.; Yamazaki, T. Construction of a Molecular Imprinting Catalyst Using Target Analogue Template and Its Application for an Amperometric Fructosylamine Sensor. *Biosens. Bioelectron.* **2003**, *18* (12), 1485–1490.

(118) Suryanarayanan, V.; Wu, C.-T.; Ho, K.-C. Molecularly Imprinted Electrochemical Sensors. *Electroanalysis* **2010**, *22* (16), 1795–1811.

(119) Hedborg, E.; Winquist, F.; Lundström, I.; Andersson, L. I.; Mosbach, K. Some Studies of Molecularly-Imprinted Polymer Membranes in Combination with Field-Effect Devices. *Sens. Actuators Phys.* **1993**, *37*, 796–799.

(120) Piletsky, S. A.; Piletskaya, E. V.; Elgersma, A. V.; Yano, K.; Karube, I.; Parhometz, Y. P.; El'skaya, A. V. Atrazine Sensing by Molecularly Imprinted Membranes. *Biosens. Bioelectron.* **1995**, *10* (9–10), 959–964.

(121) Mazzotta, E.; Turco, A.; Chianella, I.; Guerreiro, A.; Piletsky, S. A.; Malitesta, C. Solid-Phase Synthesis of Electroactive Nanoparticles of Molecularly Imprinted Polymers. A Novel Platform for Indirect Electrochemical Sensing Applications. *Sens. Actuators B Chem.* **2016**, *229*, 174–180.

(122) Piletsky, S. A.; Ge, Y.; Li, S. *Molecularly Imprinted Sensors: Overview and Applications*; Elsevier, 2012.

(123) Frasco, M. F.; Truta, L. A.; Sales, M. G. F.; Moreira, F. T. Imprinting Technology in Electrochemical Biomimetic Sensors. *Sensors* **2017**, *17* (3), 523.

(124) Pardieu, E.; Cheap, H.; Vedrine, C.; Lazerges, M.; Lattach, Y.; Garnier, F.; Remita, S.; Pernelle, C. Molecularly Imprinted Conducting Polymer Based Electrochemical Sensor for Detection of Atrazine. *Anal. Chim. Acta* **2009**, *649* (2), 236–245.

(125) Moreira, F. T.; Ferreira, M. J. M.; Puga, J. R.; Sales, M. G. F. Screen-Printed Electrode Produced by Printed-Circuit Board Technology. Application to Cancer Biomarker Detection by Means of Plastic Antibody as Sensing Material. *Sens. Actuators B Chem.* **2016**, *223*, 927–935.

(126) Si, B.; Song, E. Molecularly Imprinted Polymers for the Selective Detection of Multi-Analyte Neurotransmitters. *Microelectron. Eng.* **2018**, *187–188*, 58–65.

(127) Roy, A. K.; Dhand, C.; Malhotra, B. D. Molecularly Imprinted Polyaniline Film for Ascorbic Acid Detection. *J. Mol. Recognit.* **2011**, *24* (4), 700–706.

(128) Peng, Y.; Wu, Z.; Liu, Z. An Electrochemical Sensor for Paracetamol Based on an Electropolymerized Molecularly Imprinted O-Phenylenediamine Film on a Multi-Walled Carbon Nanotube Modified Glassy Carbon Electrode. *Anal. Methods* **2014**, *6* (15), 5673–5681.

(129) Karimian, N.; Turner, A. P.; Tiwari, A. Electrochemical Evaluation of Troponin T Imprinted Polymer Receptor. *Biosens. Bioelectron.* **2014**, *59*, 160–165.

(130) Cai, D.; Ren, L.; Zhao, H.; Xu, C.; Zhang, L.; Yu, Y.; Wang, H.; Lan, Y.; Roberts, M. F.; Chuang, J. H. A Molecular-Imprint Nanosensor for Ultrasensitive Detection of Proteins. *Nat. Nanotechnol.* **2010**, *5* (8), 597–601.

(131) Kindschy, L. M.; Alocilja, E. C. A Molecularly Imprinted Polymer on Indium Tin Oxide and Silicon. *Biosens. Bioelectron.* **2005**, *20* (10), 2163–2167.

(132) Weetall, H. H.; Hatchett, D. W.; Rogers, K. R. Electrochemically Deposited Polymer-Coated Gold Electrodes Selective for 2, 4-Dichlorophenoxyacetic Acid. *Electroanalysis* **2005**, *17* (19), 1789–1794.

(133) Yeh, W.-M.; Ho, K.-C. Amperometric Morphine Sensing Using a Molecularly Imprinted Polymer-Modified Electrode. *Anal. Chim. Acta* **2005**, *542* (1), 76–82.

(134) Lattach, Y.; Fourati, N.; Zerrouki, C.; Fougnion, J.-M.; Garnier, F.; Pernelle, C.; Remita, S. Molecularly Imprinted Surface Acoustic Wave Sensors: The Synergy of Electrochemical and Gravimetric Transductions in Chemical Recognition Processes. *Electrochimica Acta* **2012**, *73*, 36–44.

(135) Branger, C.; Brisset, H.; Udomsap, D. Imprinted Polymer and Method for Preparing the Same, December 2015.

(136) Udomsap, D. Développement de Polymères à Empreintes Moléculaires Électrochimiques Pour La Surveillance En Micropolluants Organiques Des Eaux Dans Les Ouvrages Du Canal de Provence, Université de Toulon et du Var, 2014.

(137) Udomsap, D.; Branger, C.; Culioli, G.; Dollet, P.; Brisset, H. A Versatile Electrochemical Sensing Receptor Based on a Molecularly Imprinted Polymer. *Chem. Commun.* **2014**, *50* (56), 7488–7491.

(138) Dianin, A. P. *Condensation of Ketones with Phenols Zhurnal Russkago Fiziko-Khimicheskago Obshchestva*; J. Russ. Phys. Chem. Soc. St Petersburg, 1891; Vol. 23.

(139) Makvandi, P.; Jamaledin, R.; Jabbari, M.; Nikfarjam, N.; Borzacchiello, A. Antibacterial Quaternary Ammonium Compounds in Dental Materials: A Systematic Review. *Dent. Mater.* **2018**, *34* (6), 851–867.

(140) Reddy, P. V. L.; Kim, K.-H.; Kavitha, B.; Kumar, V.; Raza, N.; Kalagara, S. Photocatalytic Degradation of Bisphenol A in Aqueous Media: A Review. *J. Environ. Manage.* **2018**, *213*, 189–205.

(141) Bemrah, N.; Jean, J.; Rivière, G.; Sanaa, M.; Leconte, S.; Bachelot, M.; Deceuninck, Y.; Bizec, B. L.; Dauchy, X.; Roudot, A.-C.; et al. Assessment of Dietary Exposure to Bisphenol A in the French Population with a Special Focus on Risk Characterisation for Pregnant French Women. *Food Chem. Toxicol.* **2014**, *72*, 90–97.

(142) Do, T.; Baral, E. R.; Kim, J. G. Chemical Recycling of Poly(Bisphenol A Carbonate): 1,5,7-Triazabicyclo[4.4.0]-Dec-5-Ene Catalyzed Alcoholysis for Highly Efficient Bisphenol A and Organic Carbonate Recovery. *Polymer* **2018**, *143*, 106–114.

(143) Michałowicz, J. Bisphenol A – Sources, Toxicity and Biotransformation. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* **2014**, *37* (2), 738–758.

(144) Colborn, T.; vom Saal, F. S.; Soto, A. M. Developmental Effects of Endocrine-Disrupting Chemicals in Wildlife and Humans. *Environ. Health Perspect.* **1993**, *101* (5), 378–384.

(145) Nagel, S. C.; vom Saal, F. S.; Welshons, W. V. Developmental Effects of Estrogenic Chemicals Are Predicted by an in Vitro Assay Incorporating Modification of Cell Uptake by Serum. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* **1999**, *69* (1), 343–357.

(146) Sun, F.; Kang, L.; Xiang, X.; Li, H.; Luo, X.; Luo, R.; Lu, C.; Peng, X. Recent Advances and Progress in the Detection of Bisphenol A. *Anal. Bioanal. Chem.* **2016**, *408* (25), 6913–6927.

(147) Selvaraj, K. K.; Shanmugam, G.; Sampath, S.; Joakim Larsson, D. G.; Ramaswamy, B. R. GC–MS Determination of Bisphenol A and Alkylphenol Ethoxylates in River Water from India and Their Ecotoxicological Risk Assessment. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **2014**, *99*, 13–20.

(148) Herrero-Hernández, E.; Carabias-Martínez, R.; Rodríguez-Gonzalo, E. Use of a Bisphenol-A Imprinted Polymer as a Selective Sorbent for the Determination of Phenols and Phenoxyacids in Honey by Liquid Chromatography with Diode Array and Tandem Mass Spectrometric Detection. *Anal. Chim. Acta* **2009**, *650* (2), 195–201.

(149) Cela-Pérez, M. C.; Castro-López, M. M.; Lasagabáster-Latorre, A.; López-Vilariño, J. M.; González-Rodríguez, M. V.; Barral-Losada, L. F. Synthesis and Characterization of Bisphenol-A Imprinted Polymer as a Selective Recognition Receptor. *Anal. Chim. Acta* **2011**, *706* (2), 275–284.

(150) Wu, Y.; Liu, Y.; Gao, X.; Gao, K.; Xia, H.; Luo, M.; Wang, X.; Ye, L.; Shi, Y.; Lu, B. Monitoring Bisphenol A and Its Biodegradation in Water Using a Fluorescent Molecularly Imprinted Chemosensor. *Chemosphere* **2015**, *119*, 515–523.

(151) Wu, Y.; Zhang, Y.; Zhang, M.; Liu, F.; Wan, Y.; Huang, Z.; Ye, L.; Zhou, Q.; Shi, Y.; Lu, B. Selective and Simultaneous Determination of Trace Bisphenol A and Tebuconazole in Vegetable and Juice Samples by Membrane-Based Molecularly Imprinted Solid-Phase Extraction and HPLC. *Food Chem.* **2014**, *164*, 527–535.

(152) Xie, Y.; Li, H.; Wang, L.; Liu, Q.; Shi, Y.; Zheng, H.; Zhang, M.; Wu, Y.; Lu, B. Molecularly Imprinted Polymer Microspheres Enhanced Biodegradation of Bisphenol A by Acclimated Activated Sludge. *Water Res.* **2011**, *45* (3), 1189–1198.

(153) Wang, Y.; Ding, Y.; Rong, F.; Fu, D. A Study of the Precipitation Polymerization of Bisphenol A-Imprinted Polymer Microspheres and Their Application in Solid-Phase Extraction. *Polym. Bull.* **2012**, *68* (5), 1255–1270.

(154) Jiang, M.; Shi, Y.; Zhang, R.; Shi, C.; Peng, Y.; Huang, Z.; Lu, B. Selective Molecularly Imprinted Stationary Phases for Bisphenol A Analysis Prepared by Modified Precipitation Polymerization. *J. Sep. Sci.* **2009**, *32* (19), 3265-3273A.

(155) Mei, S.; Wu, D.; Jiang, M.; Lu, B.; Lim, J.-M.; Zhou, Y.-K.; Lee, Y.-I. Determination of Trace Bisphenol A in Complex Samples Using Selective Molecularly Imprinted Solid-Phase Extraction Coupled with Capillary Electrophoresis. *Microchem. J.* **2011**, *98* (1), 150–155.

(156) Nantasenamat, C.; Isarankura-Na-Ayudhya, C.; Bülow, L.; Ye, L.; Prachayasittikul, V. In Silico Design for Synthesis of Molecularly Imprinted Microspheres Specific towards Bisphenol A by Precipitation Polymerization. **2006**.

(157) Wang, Y.; Liu, Q.; Rong, F.; Fu, D. A Facile Method for Grafting of Bisphenol A Imprinted Polymer Shells onto Poly(Divinylbenzene) Microspheres through Precipitation Polymerization. *Appl. Surf. Sci.* **2011**, *257* (15), 6704–6710.

(158) Shahaidah, S.; Faizal, C. K. M.; Shareena, M. S. Characterization of Bisphenol a MIP (BPA-MIP) Synthesizing. *J. Appl. Sci.* **2014**, *14* (13), 1455–1459.

(159) Wang, J.; Cormack, P. A.; Sherrington, D. C.; Khoshdel, E. Monodisperse, Molecularly Imprinted Polymer Microspheres Prepared by Precipitation Polymerization for Affinity Separation Applications. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42* (43), 5336–5338.

(160) Garcia-Mutio, D.; Gomez-Caballero, A.; Guerreiro, A.; Piletsky, S.; Goicolea, M. A.; Barrio, R. J. Solid-Phase Synthesis of Imprinted Nanoparticles Grafted on Gold Substrates for Voltammetric Sensing of 4-Ethylphenol. *Sens. Actuators B Chem.* **2016**, *236*, 839–848.

(161) Nguema Edzang, R. W. Synthèse et Caractérisation de Polymères à Propriétés Rédox Pour Un Contrôle Des Propriétés d'adhésion Bactérienne. PhD Thesis, Toulon, 2016.

(162) Sing, K. S.; Everett, D. H.; Moscou, L.; Pierrotti, R. A.; Roquerol, J.; Siemeniewska, T. IUPAC Recommendations. *Pure Appl. Chem.* **1985**, *57*, 603–619.

(163) Rouquerol, F.; Luciani, L.; Llewellyn, P.; Denoyel, R.; Rouquerol, J. Texture Des Matériaux Pulvérulents Ou Poreux. *Tech. Ing. Anal. Caractér.* **2003**, *2* (P1050), p1050–1.

(164) Okay, O. Macroporous Copolymer Networks/O. Okay. *Prog Polym Sci* **2000**, *25*, 711–779.

(165) Meouche, W.; Laatikainen, K.; Margaillan, A.; Silvonen, T.; Siren, H.; Sainio, T.; Beurroies, I.; Denoyel, R.; Branger, C. Effect of Porogen Solvent on the

Properties of Nickel Ion Imprinted Polymer Materials Prepared by Inverse Suspension Polymerization. *Eur. Polym. J.* **2017**, *87*, 124–135.

(166) Socrates, G. *Infrared and Raman Characteristic Group Frequencies: Tables and Charts*; John Wiley & Sons, 2001.

(167) Malone, E. M.; Elliott, C. T.; Kennedy, D. G.; Regan, L. Rapid Confirmatory Method for the Determination of Sixteen Synthetic Growth Promoters and Bisphenol A in Bovine Milk Using Dispersive Solid-Phase Extraction and Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry. *J. Chromatogr. B* **2010**, *878* (15–16), 1077–1084.

(168) Salim, N. V.; Hameed, N.; Guo, Q. Competitive Hydrogen Bonding and Self-assembly in Poly(2-vinyl Pyridine)-block-poly(Methyl Methacrylate)/Poly(Hydroxyether of Bisphenol A) Blends. *J. Polym. Sci. Part B Polym. Phys.* **2009**, *47* (19), 1894–1905.

(169) Lee, W.-J.; Chang, J.-G.; Ju, S.-P. Hydrogen-Bond Structure at the Interfaces between Water/Poly (Methyl Methacrylate), Water/Poly (Methacrylic Acid), and Water/Poly (2-Aminoethylmethacrylamide). *Langmuir* **2010**, *26* (15), 12640–12647.

(170) Cortés-Arriagada, D.; Sanhueza, L.; Santander-Nelli, M. Modeling the Physisorption of Bisphenol A on Graphene and Graphene Oxide. *J. Mol. Model.* **2013**, *19* (9), 3569–3580.

(171) Fatta-Kassinos, D.; Meric, S.; Nikolaou, A. Pharmaceutical Residues in Environmental Waters and Wastewater: Current State of Knowledge and Future Research. *Anal. Bioanal. Chem.* **2011**, *399* (1), 251–275.

(172) Laviron, E. Voltammetric Methods for the Study of Adsorbed Species. *Electroanal. Chem.* **1982**, *12*, 53–157.

(173) Bedioui, F.; Griveau, S. Voltampérométrie Sur Électrode Solide Diverses Géométries d'électrode. *Tech. Ing.* **2009**, *1* (P2129).

(174) Laszlo, P.; Hoffmann, R. Ferrocene: Ironclad History or Rashomon Tale? *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39* (1), 123–124.

(175) Rice, M. E.; Galus, Z.; Adams, R. N. Graphite Paste Electrodes: Effects of Paste Composition and Surface States on Electron-Transfer Rates. *J. Electroanal. Chem. Interfacial Electrochem.* **1983**, *143* (1–2), 89–102.

(176) Švancara, I.; Schachl, K. Testing of Unmodified Carbon Paste Electrodes. *Chem Listy* **1999**, *93*, 490–499.

(177) Bean, L. S.; Heng, L. Y.; Yamin, B. M.; Ahmad, M. The Electrochemical Behaviour of Ferrocene in a Photocurable Poly(Methyl Methacrylate-Co-2-Hydroxylethyl Methacrylate) Film for a Glucose Biosensor. *Bioelectrochemistry* **2005**, *65* (2), 157–162.

(178) Lilienfeld, J. E. Method and Apparatus for Controlling Electric Currents. US1745175 (A), January 28, 1930.

(179) Didane, Y. Fonctionnalisation Du Distyryl-Bithiophène: Impact Sur La Structure Moléculaire Sur Les Performances Électriques Des Transistors à Effet de Champ. PhD Thesis, Aix Marseille 2, 2009.

(180) Kösemen, Z. A.; Kösemen, A.; Öztürk, S.; Canimkurbey, B.; San, S. E.; Yerli, Y.; Tunç, A. V. Effect of Intrinsic Polymer Properties on the Photo Sensitive Organic Field-Effect Transistors (Photo-OFETs). *Microelectron. Eng.* **2016**, *161*, 36–42.

(181) Schmid, S.; Koser, S.; Melzer, C.; Mankel, E.; Bunz, U. H. F. Investigating the Contact Material Influence on Didodecyloxy-PPE OFETs. *Synth. Met.* **2018**, *240*, 52–58.

(182) Chen, M.; Zhu, Y.; Yao, C.; Zhang, D.; Zeng, X.; Murtaza, I.; Chen, H.; Kasai, S.; Meng, H.; Goto, O. Intrinsic Charge Carrier Mobility in Single-Crystal OFET by "Fast Trapping vs. Slow Detrapping" Model. *Org. Electron.* **2018**, *54*, 237–244.

(183) Caras, S.; Janata, J. Field Effect Transistor Sensitive to Penicillin. *Anal. Chem.* **1980**, *52* (12), 1935–1937.

(184) Collins, S.; Janata, J. A Critical Evaluation of the Mechanism of Potential Response of Antigen Polymer Membranes to the Corresponding Antiserum. *Anal. Chim. Acta* **1982**, *136*, 93–99.

(185) Temple-Boyer, P.; Benyahia, A.; Sant, W.; Pourciel-Gouzy, M. L.; Launay, J.; Martinez, A. Modelling of Urea-EnFETs for Haemodialysis Applications. *Sens. Actuators B Chem.* **2008**, *131* (2), 525–532.

(186) Kumar Sarma, M.; Kumari Sharma, P.; Chandra Dutta, J. Modelling of Potassium-Doped Polypyrrole/Carbon Nanotube-Based Enzyme Field Effect Transistor for Cholesterol Detection. *Mater. Today Proc.* **2017**, *4* (9), 10346–10350.

(187) Stock, D.; Müntze, G. M.; Figge, S.; Eickhoff, M. Ion Sensitive AlGaN/GaN Field-Effect Transistors with Monolithically Integrated Wheatstone Bridge for

Temperature- and Drift Compensation in Enzymatic Biosensors. *Sens. Actuators B Chem.* **2018**, *263*, 20–26.

(188) Humenyuk, I.; Temple-Boyer, P.; Sarrabayrouse, G. The Effect of γ-Sterilization on the PH-ChemFET Behaviour. *Sens. Actuators Phys.* **2008**, *147* (1), 165–168.

(189) Larramendy, F.; Mathieu, F.; Charlot, S.; Nicu, L.; Temple-Boyer, P. Parallel Detection in Liquid Phase of N-Channel MOSFET/ChemFET Microdevices Using Saturation Mode. *Sens. Actuators B Chem.* **2013**, *176*, 379–385.

(190) White, H. S.; Kittlesen, G. P.; Wrighton, M. S. Chemical Derivatization of an Array of Three Gold Microelectrodes with Polypyrrole: Fabrication of a Molecule-Based Transistor. *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106* (18), 5375–5377.

(191) Iskierko, Z.; Sosnowska, M.; Sharma, P. S.; Benincori, T.; D'Souza, F.; Kaminska, I.; Fronc, K.; Noworyta, K. Extended-Gate Field-Effect Transistor (EG-FET) with Molecularly Imprinted Polymer (MIP) Film for Selective Inosine Determination. *Biosens. Bioelectron.* **2015**, *74*, 526–533.

(192) Adams, R. N. Carbon Paste Electrodes. *Anal. Chem.* **1958**, *30* (9), 1576–1576.

(193) Svancara, I.; Kalcher, K.; Walcarius, A.; Vytras, K. *Electroanalysis with Carbon Paste Electrodes*; CRC Press, 2012.

(194) Svancara, I.; Vytras, K.; Bobrowski, A.; Kalcher, K. Determination of Arsenic at a Gold-Plated Carbon Paste Electrode Using Constant Current Stripping Analysis. *Talanta* **2002**, *58* (1), 45–55.

(195) Hayat, A.; Marty, J. L. Disposable Screen Printed Electrochemical Sensors: Tools for Environmental Monitoring. *Sensors* **2014**, *14* (6), 10432–10453.

(196) Li, M.; Li, Y.-T.; Li, D.-W.; Long, Y.-T. Recent Developments and Applications of Screen-Printed Electrodes in Environmental Assays—A Review. *Anal. Chim. Acta* **2012**, *734*, 31–44.

(197) Su, W.-Y.; Wang, S.-M.; Cheng, S.-H. Electrochemically Pretreated Screen-Printed Carbon Electrodes for the Simultaneous Determination of Aminophenol Isomers. *J. Electroanal. Chem.* **2011**, *651* (2), 166–172.

(198) Fernández-Cori, R.; Gomero, J. C. M.; Huayhuas-Chipana, B. C.; Sotomayor, M. del P. T.; Montoya, J. G. R. Nanostructured Sensors for Determination of 3-(3, 4-Dichlorophenyl)-1, 1-Dimethylurea Based in Molecularly Imprinted Polymers (MIPs) Deposited in Screen Printed Carbon Nanotubes. *ECS Trans.* **2015**, *66* (37), 33–41.

(199) Klangphukhiew, S.; Srichana, R.; Patramanon, R. Cortisol Stress Biosensor Based on Molecular Imprinted Polymer. In *Multidisciplinary Digital Publishing Institute Proceedings*; 2017; Vol. 1, p 538.

(200) Heller, A.; Feldman, B. Electrochemical Glucose Sensors and Their Applications in Diabetes Management. *Chem. Rev.* **2008**, *108* (7), 2482–2505.

(201) Newman, J. D.; Turner, A. P. Home Blood Glucose Biosensors: A Commercial Perspective. *Biosens. Bioelectron.* **2005**, *20* (12), 2435–2453.

(202) Wilson, R.; Turner, A. P. F. Glucose Oxidase: An Ideal Enzyme. *Biosens. Bioelectron.* **1992**, *7* (3), 165–185.

(203) Jiang, L.; Liu, H.; Liu, J.; Yang, Q.; Cai, X. A Sensitive Biosensor Based on Os-Complex Mediator and Glucose Oxidase for Low Concentration Glucose Determination. *J. Electroanal. Chem.* **2008**, *619*, 11–16.

(204) Hughes, G.; Westmacott, K.; Honeychurch, K. C.; Crew, A.; Pemberton, R. M.; Hart, J. P. Recent Advances in the Fabrication and Application of Screen-Printed Electrochemical (Bio) Sensors Based on Carbon Materials for Biomedical, Agri-Food and Environmental Analyses. *Biosensors* **2016**, *6* (4), 50.

(205) Hart, A. L.; Collier, W. A.; Janssen, D. The Response of Screen-Printed Enzyme Electrodes Containing Cholinesterases to Organo-Phosphates in Solution and from Commercial Formulations. *Biosens. Bioelectron.* **1997**, *12* (7), 645–654.

(206) Huang, N.; Liu, M.; Li, H.; Zhang, Y.; Yao, S. Synergetic Signal Amplification Based on Electrochemical Reduced Graphene Oxide-Ferrocene Derivative Hybrid and Gold Nanoparticles as an Ultra-Sensitive Detection Platform for Bisphenol A. *Anal. Chim. Acta* **2015**, *853*, 249–257.

(207) Anderson, D. J.; Brozek, E. M.; Cox, K. J.; Porucznik, C. A.; Wilkins, D. G. Biomonitoring Method for Bisphenol A in Human Urine by Ultra-High-Performance Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry. *J. Chromatogr. B* **2014**, *953–954*, 53–61.

(208) Sanchis, Y.; Coscollà, C.; Roca, M.; Yusà, V. Target Analysis of Primary Aromatic Amines Combined with a Comprehensive Screening of Migrating Substances in Kitchen Utensils by Liquid Chromatography–High Resolution Mass Spectrometry. *Talanta* **2015**, *138*, 290–297.

(209) Vega-Morales, T.; Sosa-Ferrera, Z.; Santana-Rodríguez, J. J. Determination of Alkylphenol Polyethoxylates, Bisphenol-A, 17α-Ethynylestradiol and 17β-Estradiol and Its Metabolites in Sewage Samples by SPE and LC/MS/MS. *J. Hazard. Mater.* **2010**, *183* (1–3), 701–711.

(210) Shao, B.; Han, H.; Hu, J.; Zhao, J.; Wu, G.; Xue, Y.; Ma, Y.; Zhang, S. Determination of Alkylphenol and Bisphenol A in Beverages Using Liquid Chromatography/Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometry. *Anal. Chim. Acta* **2005**, *530* (2), 245–252.

(211) Gallart-Ayala, H.; Moyano, E.; Galceran, M. T. Analysis of Bisphenols in Soft Drinks by On-Line Solid Phase Extraction Fast Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry. *Anal. Chim. Acta* **2011**, *683* (2), 227–233.

(212) Chen, M.; Tao, L.; Collins, E. M.; Austin, C.; Lu, C. Simultaneous Determination of Multiple Phthalate Metabolites and Bisphenol-A in Human Urine by Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry. *J. Chromatogr. B* **2012**, *904*, 73–80.

(213) Cariot, A.; Dupuis, A.; Albouy-Llaty, M.; Legube, B.; Rabouan, S.; Migeot, V. Reliable Quantification of Bisphenol A and Its Chlorinated Derivatives in Human Breast Milk Using UPLC–MS/MS Method. *Talanta* **2012**, *100*, 175–182.

(214) Maragou, N. C.; Lampi, E. N.; Thomaidis, N. S.; Koupparis, M. A. Determination of Bisphenol A in Milk by Solid Phase Extraction and Liquid Chromatography–Mass Spectrometry. *J. Chromatogr. A* **2006**, *1129* (2), 165–173.

(215) Inouea, K.; Yamaguohia, A.; Wadaa, M.; Yoshimuraa, Y.; Makinob, T.; Nakazawa, H. Quantitative Detection of Bisphenol A and Bisphenol A Diglycidyl Ether Metabolites in Human Plasma by Liquid Chromatography—. *J. Chromatogr. B* **2001**, *765*, 121–126.

8 Publication

Biosensors and Bioelectronics 112 (2018) 156–161

Contents lists available at ScienceDirect

Biosensors and Bioelectronics

journal homepage: www.elsevier.com/locate/bios

Detection of Bisphenol A in aqueous medium by screen printed carbon electrodes incorporating electrochemical molecularly imprinted polymers

Vitalys Mba Ekomo[a], Catherine Branger[a], Raphaël Bikanga[b], Ana-Mihaela Florea[c], Georges Istamboulie[d,e], Carole Calas-Blanchard[d,e], Thierry Noguer[d,e], Andrei Sarbu[c], Hugues Brisset[a,*]

[a] Laboratoire MAPIEM, EA 4323, Université de Toulon, 83041 Toulon Cedex 9, France
[b] Laboratoire de Substances naturelles et de Synthèse organique, Université des Sciences et Techniques de Masuku, B.P. 901 Franceville, Gabon
[c] National Research and Development Institute for Chemistry and Petrochemistry ICECHIM, Advanced Polymer Materials and Polymer Recycling, 202 Splaiul Independentei, 060021 Bucharest, Romania
[d] Univ. Perpignan Via Domitia, Biocapteurs-Analyses-Environnement, 66860 Perpignan, France
[e] Laboratoire de Biodiversité et Biotechnologies Microbiennes, USR 3579 Sorbonne Universités (UPMC) Paris 6 et CNRS Observatoire Océanologique, 66650 Banyuls-sur-Mer, France

ARTICLE INFO

Keywords:
Molecularly imprinted polymer
Ferrocene
Electrochemistry
Bisphenol A
Screen printed carbon electrode

ABSTRACT

Electrochemical molecularly imprinted polymers (e-MIPs) were for the first time introduced in screen-printed carbon electrodes (SPCE) as the sensing element for the detection of an organic pollutant. To play this sensing role, a redox tracer was incorporated inside the binding cavities of a cross-linked MIP, as a functional monomer during the synthesis step. Ferrocenylmethyl methacrylate was used for this purpose. It was associated with 4-vinylpyridine as a co-functional monomer and ethylene glycol dimethacrylate as cross-linker for the recognition of the endocrine disruptor, Bisphenol A (BPA), as a target. Microbeads of e-MIP and e-NIP (corresponding non-imprinted polymer) were obtained via precipitation polymerization in acetonitrile. The presence of ferrocene inside the polymers was assessed via FTIR and elemental analysis and the polymers microstructure was characterized by SEM and nitrogen adsorption/desorption experiments. Binding isotherms and batch selectivity experiments evidenced the presence of binding cavities inside the e-MIP and its high affinity for BPA compared to carbamazepine and ketoprofen. e-MIP (and e-NIP) microbeads were then incorporated in a graphite-hydroxyethylcellulose composite paste to prepare SPCE. Electrochemical properties of e-MIP-SPCE revealed a high sensitivity in the presence of BPA in aqueous medium compared to e-NIP-SPCE with a limit of detection (LOD) of 0.06 nM. Selectivity towards carbamazepine and ketoprofen was also observed with the e-MIP-SPCE.

1. Introduction

Molecularly Imprinted Polymers (MIPs) receive a great attention due to their high selective recognition properties, their simple synthesis, high stability and low cost which can advantageously replace natural receptors in biosensor devices (Haupt and Mosbach, 2000; Uzun and Turner, 2016; Ye and Haupt, 2004). MIPs are commonly prepared by formation of a three-dimensional polymer network around a molecular template via a cross-linking step. The removal of this template creates binding cavities, which retain shape, size and orientation of the target molecule thus leading to high selectivity in the recognition process. Such polymers are frequently described as "plastic antibodies" due to this significant selectivity (Vlatakis et al., 1993).

Because of their high potential as stable recognition elements, MIPs have been quickly integrated in electrochemical sensors (Blanco-López et al., 2004; Piletsky and Turner, 2002). Thus, combined with an electrochemical transducer, they have proved to be useful for the detection of electroactive molecular targets via amperometry, potentiometry or impedance measurements. Electrosynthesized MIPs have also been widely developed to enlarge the possible targets to non-electroactive ones in electrochemical sensors (Malitesta et al., 2011). The obvious advantage of this process is the possibility to easily deposit well-defined thin MIP films with controlled thickness (Sharma et al., 2012). Although this last class of MIPs was first mainly composed of uncrosslinked polymers, a recent trend is to develop crosslinked electrosynthesized MIPs by copolymerization with some electropolymerizable crosslinkers (Sharma et al., 2016). Recently, we developed another strategy to detect non-electroactive molecular targets, based on the

* Corresponding author.
E-mail address: brisset@univ-tln.fr (H. Brisset).

https://doi.org/10.1016/j.bios.2018.04.022
Received 9 January 2018; Received in revised form 6 April 2018; Accepted 9 April 2018
Available online 21 April 2018
0956-5663/ © 2018 Elsevier B.V. All rights reserved.

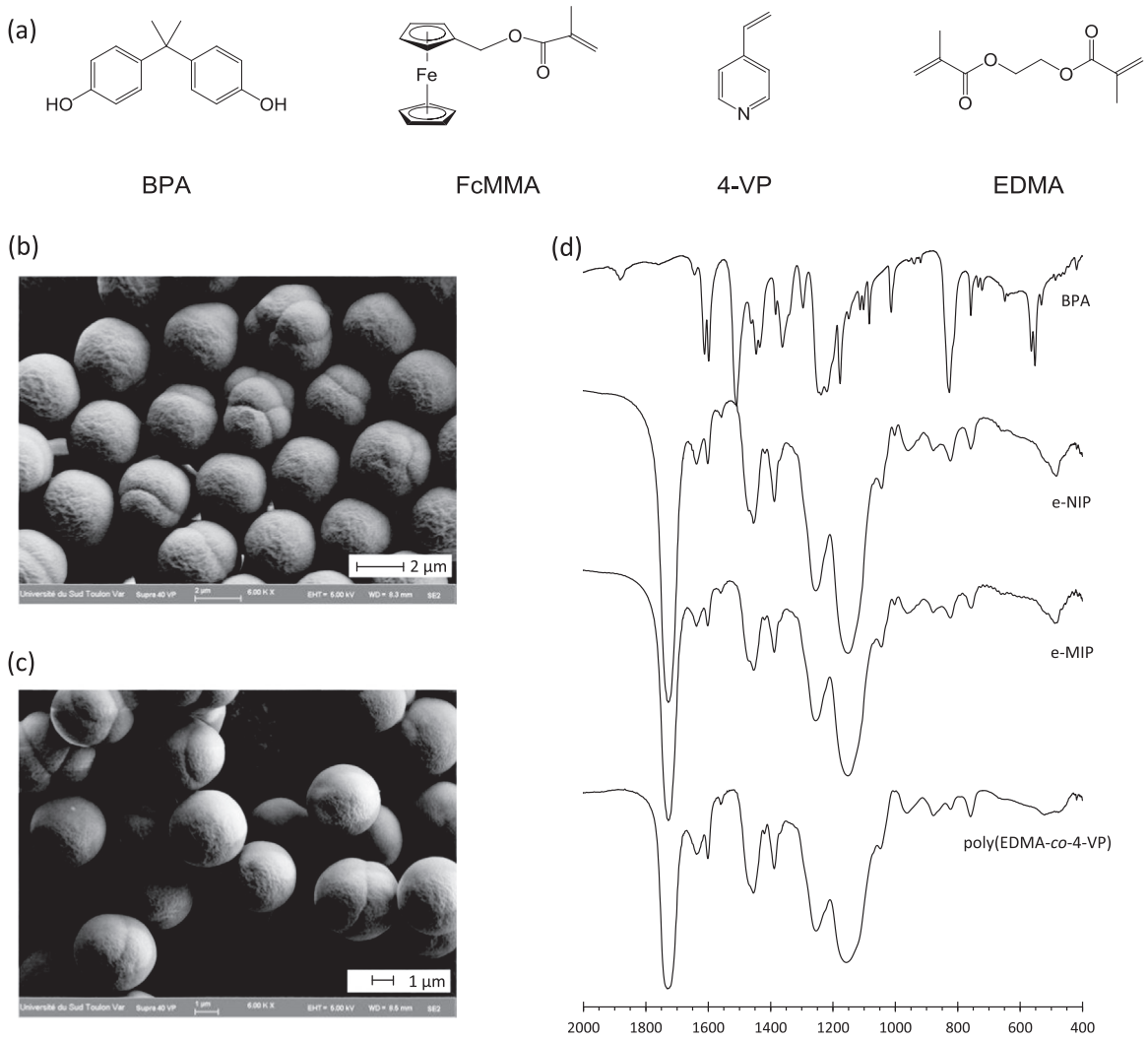


Fig. 1. (a) Molecular structures of e-MIP components, (b) SEM pictures of e-MIP microbeads, (c) SEM pictures of e-NIP microbeads and (d) FTIR spectra (KBr pellets) of BPA, washed e-MIP, washed e-NIP and poly(EDMA-*co*-4-VP) as a reference material.

introduction of a redox probe in the form of a functional monomer inside MIP microparticles prepared by free-radical polymerization (Udomsap et al., 2014). We proved that the detection of benzo(a)pyrene was thus possible by using vinylferrocene as the sensing element. This approach has also been taken up to develop electroactive nanoparticles of molecularly imprinted polymers specific for vancomycin, an antibiotic target (Mazzotta et al., 2016). As for benzo(a)pyrene, the ferrocene moiety was used as a redox tracer for the indirect electrochemical detection of vancomycin. This was based on a current attenuation upon specific interaction between the electroactive MIP particles and the molecular target.

In this next step of our study, we aim to incorporate the electrochemical MIP particles inside Screen Printed Carbon Electrodes (SPCE). SPCE present the advantage over traditional electrodes to be easy to handle and lead to potentially cheap sensors device because of their well-known and established technology for mass producing electrodes. In this context, SPCE have been employed in sensor applications and systems that require small volume or high temperature (Svancara et al., 2012).

In this article, we report a) the synthesis and characterization of electrochemical cross-linked molecularly imprinted polymers (e-MIP) based on ferrocenylmethyl methacrylate as functional redox tracer with 4-vinylpyridine co-monomer inside the binding cavities for bisphenol A (BPA) determination and b) the first electrochemical results obtained with this e-MIP incorporated in a graphite-hydroxyethyl cellulose composite paste screen-printed electrode (e-MIP-SPCE). BPA classified as an endocrine disrupting chemical is released into the environment via direct discharge, landfill leachate, natural degradation of polycarbonate plastics (Corrales et al., 2015; Sharma et al., 2009), and frequently found in drinking water, rivers, (Zhang et al., 2016) and municipal wastewater (Muhamad et al., 2016; Fan et al., 2013) and also at part per-trillion (ng/L) to part-*per*-billion (µg/L) levels in many water bodies that provide sources of drinking water (Padhye et al., 2013). Classically MIPs are currently used to separate, to bind or to extract BPA from mixture (Herrero-Hernández et al., 2011; Laatikainen et al., 2014; O'Mahony et al., 2013). Some MIPs have also been designed to prepare sensors for analysis of BPA with increased sensitivity and selectivity towards other sensors (Huang et al., 2015; Ragavan et al., 2013). With our strategy, we add to the classical role of MIP the electrochemical detection of the target molecule.

2. Experimental

2.1. Reagents and chemicals

Ferrocenyl methylmethacrylate (FcMMA), ethylene glycol dimethacrylate (EDMA), 4-vinylpyridine (4-VP), bisphenol A (BPA), carbamazepine (CBZP), ketoprofen (KP), tetrabutylammonium

Table 1
Characteristics of e-MIP and e-NIP: particles size, composition, porous properties, binding properties and selectivity.

	e-MIP	e-NIP
Particles mean diameter (μm)	3.4 ± 0.5	3.6 ± 0.4
Experimental % Fe (w/w)	1.17	1.13
Ferrocene incorporation rate (%)	28.9	28.0
Surface area (m^2/g)	2.03	1.94
S_{calc} (m^2/g)	1.4	1.7
Pore volume (cm^3/g)	0.004	0.004
Q_{max} (μmol/g)	117.5	57
IF	2.1	–
K_D (BPA)	31.30 ± 2.12	12.96 ± 0.4
K_D (CBZP)	1.04 ± 0.09	0.44 ± 0.02
K_D (KP)	0.72 ± 0.05	2.41 ± 0.49
k (BPA/CBZP)	30.44 ± 5.1	29.6 ± 0.8
k' (BPA/CBZP)	1.0 ± 0.17	–
k (BPA/KP)	43.70 ± 1.4	5.6 ± 1.1
k' (BPA/KP)	8.1 ± 1.7	–

Particles mean diameter were measured on SEM pictures (samples of around 170 particles).
S_{BET} specific surface area calculated by the BET method (Brunauer Emmett Teller).
S_{calc} specific surface area calculated from the relation S = 6/(ρ.d) with d = particles mean diameter and ρ = material density (ρ = 1 cm^3/g as an approximation).
Q_{max} = maximum binding capacity for BPA.
IF = Imprinting Factor = Q_{max} (e-MIP)/Q_{max} (e-NIP).
K_D = distribution coefficient = Q_e/C_e with Q_e = binding capacity of the polymer at the equilibrium concentration, C_e, of the target.
k = selectivity coefficient = K_D (BPA)/K_D (X).
k' = relative selectivity coefficient = *k* (e-MIP)/*k* (e-NIP).

hexafluorophosphate (TBAFP), potassium chloride (KCl) and lithium perchlorate ($LiClO_4$) were purchased from Sigma-Aldrich (France). FcMMA was purified by dissolving in hot hexane, separating impurities by filtration, and removing hexane under reduced pressure. Azobisisobutyronitrile (AIBN) was purchased from Fluka (France) and purified by recrystallization from methanol. Acetonitrile, methanol, acetic acid used for polymer synthesis and washing were analytical grade and purchased from Sigma Aldrich (France). Acetonitrile and water used for the characterization of adsorption properties were LC-MS grade. The pastes used for screen-printing, i.e. Electrodag 423SS and 6037SS, were obtained from Acheson (Plymouth, UK), Hydroxyethylcellulose (HEC) was supplied by Fluka, Timrex T15 graphite was supplied by Timcal (Lonza, Switzerland).

2.2. Instrumentation

Infrared spectra were recorded in transmission mode on KBr pellets (32 scans, resolution 0.5 cm^{-1}) on a Nexus-thermonicolet IS50 apparatus. Scanning Electron Microscope (SEM) images were taken using a Supra40 VP microscope (Gemini®). A Shimadzu UV-2501 PC was used for absorbance measurements with one centimeter matched quartz cells. Surface areas and pore volumes were determined by N_2 adsorption/desorption experiments on a volumetric adsorption analyzer Quantachrome Nova2200e (Quantachrome Instruments USA), at the liquid nitrogen temperature. The determination of BPA, CBZP and KP in aqueous solutions were performed using a LaChrom Elite HPLC (VWR Hitachi) which comprised an L-2130 quaternary pump, an L-2200 autosampler and an L-2300 column oven. Detection was performed with a mass spectrometry detector (Bruker, Esquire 6000). Compounds separation was achieved using an analytical reversed-phase column (Lichrospher® PAH, 250 3 mm, 5 μm; Merck) maintained at 30 °C, with a flow rate of 1 mL/min and an injected volume of 50 μL. All experiments in electrochemical study were carried out with a Biologic VSP-300 electrochemical potentiostat (Biologic Instruments, France).

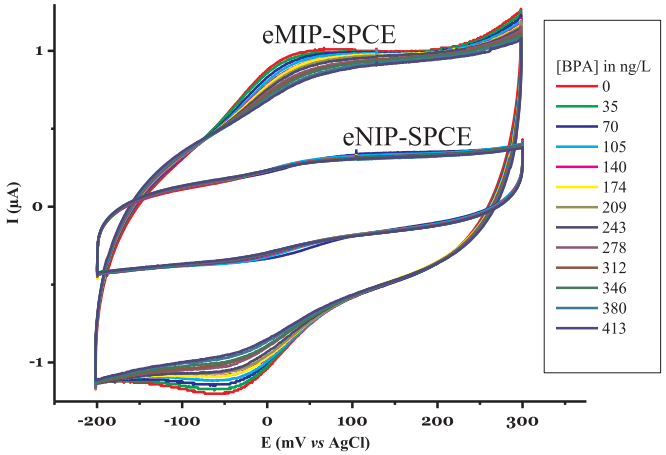


Fig. 3. CV response of e-MIP/e-NIP-SPCE in KCl 0.1 M/water to increasing BPA concentration.

2.3. Synthesis of e-MIP and e-NIP particles

e-MIP and e-NIP microbeads were prepared by precipitation polymerization. For e-MIPs, BPA (0.40 mmol), FcMMA (1.98 mmol), 4-VP (1.98 mmol) and EDMA (9.90 mmol) were dissolved in 80 mL of acetonitrile in a 120 mL cylinder-shaped pyrex tube. The solution was purged with gentle flow of dried argon for 15 min in an ice-water container in order to minimize solvent evaporation. AIBN (0.33 mmol) was then added to the polymerization mixture. The solution was purged again by argon for 5 min. Then the tube was introduced in a hybridation oven (HB-100 Hybridizer from UVP, UK) preheated at 30 °C and rotated with a stirring rate of 8 rpm. The temperature was raised from 30 to

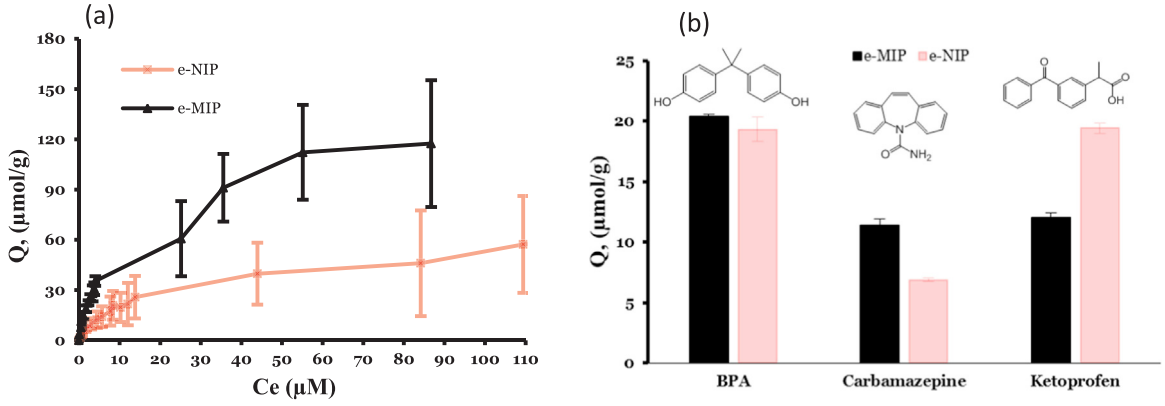


Fig. 2. (a) BPA isotherms curves of the e-MIP and the e-NIP, (b) selectivity with carbamazepine and ketoprofen.

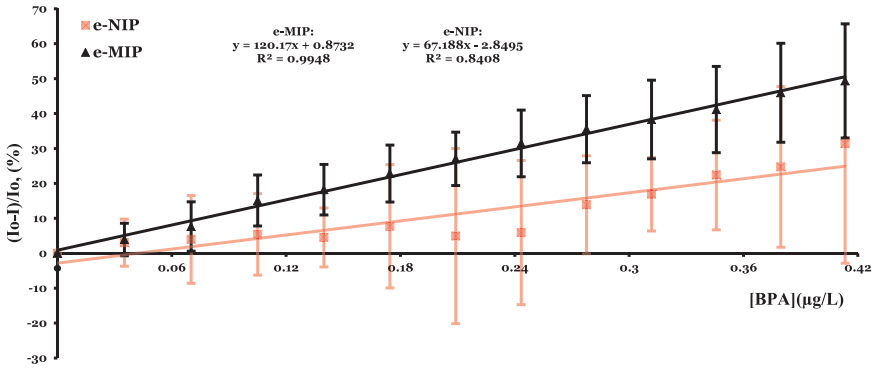


Fig. 4. Calibration curves plotting percentage decrease of anodic peak current obtained in both case from average of nine polymer-SPCEs.

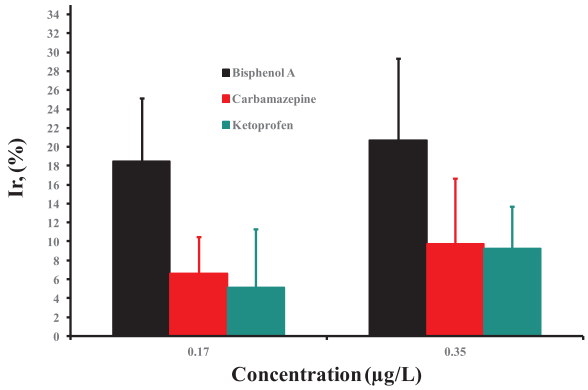


Fig. 5. Percentage decrease of current intensity (anodic peak) for bisphenol A, carbamazepine and ketoprofen. Insert: percentage decrease in bar chart.

80 °C with a ramp of 5 °C every 15 min. The polymerization was stopped after 24 h. The resultant microbeads were collected by centrifugation in Corning® tubes (10,000 rpm, 30 min). They were then washed sequentially at least four times with three different solutions: 1) with acetonitrile to remove unreacted monomers, 2) with ethanol-acetic acid (9: 1, v / v) to remove the template and 3) with acetone to remove residual monomers and matrix. To assess the efficiency of each of the three washing procedures, a control of the supernatant solutions was performed by UV–Visible spectroscopy. This was realized between 400 and 500 nm for the first step, 250 and 300 nm for the second one and 250 and 500 nm for the last one. Finally, the polymer (1.82 g) was dried under vacuum at 20 °C overnight and stored in a desiccator until use. The microbeads of NIP as a control polymer were prepared under identical conditions except for omission of the template BPA.

2.4. Binding and selectivity measurements on polymers

Binding and selectivity properties were evaluated in batch conditions in triplicate. For isotherms determination, 5 mg of polymer (e-MIP or e-NIP) were mixed in glass vials with 5 mL of a BPA solution in pure water at concentrations varying from 0.5 to 50 mg/L. The contact lasted 24 h under orbital agitation (150 rpm). The solutions were then transferred in glass syringes and finally filtered through on-line filters (VWR 13 mm Syringe Filter, 0.2 µm PTFE membrane. The remaining BPA concentrations in solution were determined by HPLC-MS in a gradient mode with pure acetonitrile as eluent.

For selectivity tests, 5 mg of polymer (e-MIP or e-NIP) were mixed in glass vials with 5 mL of a solution in pure water containing a mixture of BPA, CBZP and KP each at 21.9 µmol/L. After 24 h of contact (60 rpm), the solutions were filtered as previously described and the organic compounds quantification in solution was achieved by HPLC-MS in a gradient acetonitrile-water system with 5 mM of ammonium acetate, starting with 30% acetonitrile for 5 min, then ascending to 55% within 5 min and being maintained for 3 min before to ascending again to 100% within 3 min and maintained for 9 min to finally dropped down do 30% within 3 min and being maintained for 10 min.

2.5. Screen-printed electrodes preparation

Screen-printed electrodes were produced using a semiautomatic DEK 248 screen-printing system (DEK, UK). Transparent PVC sheets (200 mm × 100 mm × 0.5 mm) were used as printing substrates. The working electrode was a 4 mm diameter disk, the auxiliary electrode was a 16 mm × 1.5 mm curved line and the AgCl pseudo-reference electrode was a 5 mm x × 1.5 mm straight line. A glycerophthalic paint (Astral, France) was used as insulating layer (Fig SI1).

The graphite pastes modified by the e-MIP and e-NIP were prepared as follows: 250 mg of polymers were mixed with 1.0 g of Timrex T15 graphite in 20 mL of acetone. The mixture was mechanically stirred and acetone was allowed to evaporateAfter evaporation of acetone using a rotating evaporator, 10 mL of a hydroxyethyl cellulose solution (4% in bi-distilled water) were added to the polymers/graphite powder. The e-MIP/e-NIP modified pastes were screen-printed to cover working electrodes.

2.6. Electrochemical measurements

Screen printed electrodes were studied in 5 mL volume cell with 0.1 M of KCl in pure water/acetonitrile (99/1) as electrolyte solution. In these conditions anodic peak of ferrocene is not pH-dependent (Koide and Yokoyama, 1999). 1% of acetonitrile is necessary to solubilize BPA in the analysis solution. At least twelve differential pulse voltammograms (pulse width; 300 ms, pulse amplitude: 150 mV, pulse period: 400 ms, step E: 5 mV.) were applied to reduce the stabilization time of the ferrocene signal prior cyclic voltammetry (CV) measurements between − 0.05 V and 0.60 V vs AgCl at a scan rate of 25 mV/s. The stabilization was obtained when the differential pulse voltammograms were superimposed.

3. Results and discussion

3.1. Synthesis and characterization of electroactive polymers

MIP and its corresponding NIP were prepared by precipitation polymerization. As the polymers were intended to be incorporated in SPCE, polymer particles of micron size were expected. The precipitation polymerization technique is an easy way to reach this objective with well-defined particles. Indeed, when the correct solvent and dilution conditions are found, monodisperse microspheres can be obtained without addition of any additive, like surfactant (Wang et al., 2003). Electrochemical MIP and NIP were therefore synthesized by copolymerization, in acetonitrile, of ferrocenyl methylmethacrylate, as a

redox probe, 4-vinylpyridine (4-VP), as a co-functional monomer, and EDMA, as the crosslinker (Fig. 1a). As can be observed from SEM pictures (Figs. 1b and 1c), spherical particles were obtained with average diameters of 3.4 μm for the e-MIP and 3.6 μm for the e-NIP. The beads dispersity was low with coefficients of variation of 11% and 10% respectively. Nevertheless, some of the beads were not perfectly spherical but presented some wrinkles on their surface. FTIR spectroscopy was used to characterize the polymers and more specifically the presence of the ferrocene moiety and the leaching procedure of the BPA template (Fig. 1d) (Socrates, 2001). Distinctive bands of the poly(EDMA) backbone could be observed on all polymers spectra: the typical and intense C=O ester stretching band at 1727 cm^{-1} and C-O-C ester asymmetric and symmetric stretching bands at 1255 and 1150 cm^{-1} respectively. The C-H deformation vibration bands of $–OCH_2$ and $–CH_3$ of EDMA were also present at 1465 cm^{-1} and 1388 cm^{-1} and the 1637 cm^{-1} band was characteristic from pendant vinyl $CH_2=CH$ remaining groups. The C=C and C=N ring stretching bands of the 4-VP functional monomer were identified at 1601, 1560 and 1420 cm^{-1}. By comparison with the spectra of poly(EDMA-*co*-4-VP), the presence of the ferrocene moiety could be evidenced by its symmetric ring in plane vibration at 1003 cm^{-1} and ring-Fe vibration band at 484 cm^{-1}. The correct leaching of BPA from the e-MIP was confirmed by the absence of any major characteristic band of BPA in the e-MIP spectrum and by the high similitude of the e-MIP and e-NIP spectra.

The incorporation of the ferrocenyl monomer inside the copolymer structures was also checked by elemental analysis through the determination of the weight fraction of iron and its comparison with carbon (Table 1). Results prove that the monomer is incorporated with a ratio of roughly around 28–29% thus meaning that the redox probe is present inside the electroactive e-MIP and e-NIP. Porosity was studied by nitrogen/desorption experiments. The surface areas were found to be rather low (Table 1). These values are only slightly higher than surface areas calculated from the particles mean diameter (determined with the hypothesis that particles can be considered as hard spheres). So it appeared that the specific surface areas were mainly the result of the small size of the polymer particles. This can be explained by the use of acetonitrile as the precipitation polymerization solvent. Though acetonitrile is an interesting solvent for this polymerization technique, its thermodynamic compatibility with poly(EDMA) is not very good thus leading to polymers with low intrinsic porosity (Okay, 2000; Meouche et al., 2017).

3.2. Imprinting studies of polymers

The adsorption of BPA was studied in aqueous medium by batch experiments after an equilibration time of 24 h (Fig. 2a). For that contact time, the retention rate was close to 100% as determined in a preliminary kinetic study (Fig. SI2). All over the concentration range (from 0.5 to 50 mg/L), the imprinted polymer exhibited much higher affinity for BPA than the non-imprinted one leading to an imprinting factor of 2.1. The maximum binding capacity of the e-MIP, 27 mg/g, can be considered as relatively high as a result of the combination of the interaction of BPA with the two functional monomers: the aromatic ferrocenyl methylmethacrylate and the hydrogen bond acceptor 4-vinylpyridine.

The cross-selectivity of the e-MIP was studied towards two medicines, carbamazepine (CBZP) and ketoprofen (KP). These compounds were chosen for the possibility to find them as competitive organic pollutants in real aqueous samples and the similarity of their chemical structure with BPA. As BPA, both these chemicals contain two aromatic phenyl rings but with the major difference that those rings are in a blocked conformation because of the link between them (keto and seven atom rings respectively). Results showed the efficiency of the imprinting procedure as BPA is much better retained by the MIP than CBZP and KP (Fig. 2b). The comparison with the cross-selectivity results obtained on the NIP proved that the imprinting effect is even better for KP with a relative selectivity factor of 8.1 (Table 1). This is an interesting result since KP presents one hydrogen bond donor group (-COOH) that could compete with the two hydrogen bond donor groups (-OH) of BPA.

3.3. BPA electrochemical detection by screen printed electrodes

A graphite ink made of a mixture of graphite powder and hydroxyethylcellulose was chosen to design the SPCE. Such kind of ink has been widely employed in screen-printed electrodes technology (Radulescu et al., 2015), in particular to modify the surface of working electrodes with various electrochemical mediators (Kulys and D'Costa, 1991; Andreescu et al., 2002; Avramescu et al., 2001) and to screen-print biological elements (Hart et al., 1997). This ink was selected because it produces conductive layers presenting not only a good stability, conductivity and biocompatibility, but also a high porosity and hydrophilicity, allowing a good accessibility of electrolyte to immobilized molecules (Hart et al., 1997).

Cyclic voltammograms (CV) of SCPE modified with e-MIP (e-MIP-SPCE) or e-NIP (e-NIP-SPCE) were carried out in 0.1 M KCl aqueous solution at 25 mV/s. As expected in both cases, CVs revealed a reversible redox system with anodic and cathodic peaks related to the ferricenium/ferrocene couple included in the polymers whereas the CV of bare SPCE in the same solution did not show any redox system (Fig. 3). Anodic and cathodic peaks were at similar values (E_{pa}/E_{pc} = 28 mV/− 68 mV vs AgCl for e-MIP-SPCE and E_{pa}/E_{pc} = 33 mV/− 50 mV vs AgCl for e-NIP-SPCE) showing that the redox potentials are not influenced by the presence of the binding cavities. The peak separation potential ($E_{pa} - E_{pc}$) greater than (59/n) mV indicates that the system is under diffusion control which can be due to electron hopping between neighbouring redox sites and through counter-ion motion as previously described (Udomsap et al., 2014). The discrepancy from this ideal value of 59/n can also be attributed to slow electron transfers and polymer material resistance. The first CVs of both polymer-SPCE revealed an important difference of current intensity between the e-MIP-SPCE and e-NIP-SPCE. Based on elementary analysis results (Table 1), this difference could not be related to a variation of the quantity of ferrocenylmethyl methacrylate monomer integrated inside the two different polymers during their synthesis. However, for e-MIP, the first step in polymer synthesis is the formation of complexes between methyl ferrocenyl methacrylate monomer and BPA. In other words, the elimination of BPA after synthesis of e-MIP can lead to an additional number of electrochemically accessible ferrocenyl groups in the imprint cavities hence increasing the initial current intensity. After recording the first CV, BPA was progressively added to raise its concentration from 0 to 450 ng/L. As expected, a decrease of the peak intensity was immediately observed for the e-MIP-SPCEs in good agreement with the fact that the rebinding of BPA hides ferrocenyl groups present in the binding cavities (Fig. 4). In the case e-NIP-SPCE, a signal decrease was also observed but to a lower extent, in good correlation with a lower quantity of accessible ferrocenyl groups. Specifically, the interaction between BPA and ferrocenyl groups limits the diffusion of the counterions to the redox probe which stops the transfer of electrons thus causing a decrease in current intensity (Khor et al., 2011). This hypothesis is in good agreement with the behaviour of the two polymers-SPCEs and the stronger effect in the case of e-MIP-SPCE is clearly attributed to the imprints. To determine the LOD and the LOQ, the plot of percentage of current intensity variation of e-MIP/e-NIP-SPCE at 75 mV vs concentration of BPA (from 0 to 410 ng/L) were recorded for nine e-MIP/e-NIP-SPCE to establish calibration curves (Fig. SI3). Two linear segments with slopes of respectively 120 and 67%/μg/L respectively for e-MIP and e-NIP-SPCE were obtained. Whereas the average R^2 was 0.9986 for e-MIP-SPCE, the value calculated for e-NIP-SPCE ($\approx$ 0.84) translated a large variation of R^2 with sometime no possibility to trace a line as illustrated on Fig. SI2. In these conditions, only the curve obtained for e-MIP-SPCE could be used to determine LOD and LOQ. Thus,

a LOD of 13 ng/L and a LOQ of 43 ng/L i.e. 0.06 and 0.19 nM were obtained respectively. The linear range and detection limit of the sensor compared with the results reported in the literature for BPA detection indicates that the proposed e-MIP-SPCE gains greater than a factor of 10 (Huang et al., 2015).

The electrochemical behaviour of e-MIP-SPCE against BPA was compared with those obtained with KP and CBZP. For those two drugs, a decrease of the current intensity is observed but lower than that observed with BPA with a respective relative standard deviation (RSD) of 41%, 45% and 48%. This can be attributed again to the imprint effects (Fig. 5). In other words the percentage decrease of anodic current observed at 0.15 µM are 9%, 13% and 24% for KP, CBZP and BPA respectively. These results are in good agreement with the presence of ferrocenyl groups located outside of the imprinted cavities leading to non-specific interactions with those two molecules (Mazzotta et al., 2016).

4. Conclusions

Electrochemical molecularly imprinted polymer microbeads prepared for the detection of bisphenol A were for the first time introduced in screen-printed carbon electrodes. In this e-MIP, the ferrocenyl group acted as the redox probe, sensitive to the presence of BPA in the imprinted cavities. The binding of BPA was indeed detected by an attenuation of the current. A linear variation of the percentage of current intensity upon the BPA concentration was measured on nine electrodes, proving the reliability of the device and enabling to determine a LOD as low as 0.06 nM. Selectivity towards carbamazepine and ketoprofen was also evidenced. As SPCE are easy to handle and potentially cheap sensors devices, this first step in the design of e-MIP-SPCE seems to be very promising for the electrochemical detection of organic micropollutants.

Acknowledgements

The authors acknowledge financial support from ANBG (Agence Nationale des Bourses du Gabon) and SATT Sud-Est.

Appendix A. Supplementary material

Supplementary data associated with this article can be found in the online version at http://dx.doi.org/10.1016/j.bios.2018.04.022.

References

Andreescu, S., Noguer, T., Magearu, V., Marty, J.-L., 2002. Screen-printed electrode based on AChE for the detection of pesticides in presence of organic solvents. Talanta 57, 169–176.
Avramescu, A., Noguer, T., Magearu, V., Marty, J.-L., 2001. Chronoamperometric determination of d-lactate using screen-printed enzyme electrodes. Anal. Chim. Acta 433, 81–88.
Blanco-López, M.C., Lobo-Castañón, M.J., Miranda-Ordieres, A.J., Tuñón-Blanco, P., 2004. Electrochemical sensors based on molecularly imprinted polymers. TrAC Trends Anal. Chem. 23, 36–48.
Corrales, J., Kristofco, L.A., Steele, W.B., Yates, B.S., Breed, C.S., Williams, E.S., Brooks, B.W., 2015. Global assessment of bisphenol A in the environment: review and analysis of its occurrence and bioaccumulation. Dose-Response 13, 1–29.
Fan, Z., Hu, J., An, W., Yang, M., 2013. Detection and occurrence of chlorinated byproducts of bisphenol A, nonylphenol, and estrogens in drinking water of China: comparison to the parent compounds. Environ. Sci. Technol. 47, 10841–10850.
Hart, A.L., Collier, W.A., Janssen, D., 1997. The response of screen-printed enzyme electrodes containing cholinesterases to organo-phosphates in solution and from commercial formulations. Biosens. Bioelectron. 12, 645–654.
Haupt, K., Mosbach, K., 2000. Molecularly imprinted polymers and their use in biomimetic sensors. Chem. Rev. 100, 2495–2504.
Herrero-Hernández, E., Carabias-Martínez, R., Rodríguez-Gonzalo, E., 2011. Behavior of phenols and phenoxyacids on a bisphenol-A imprinted polymer. Application for selective solid-phase extraction from water and urine samples. Int. J. Mol. Sci. 12, 3322–3339.
Huang, N., Liu, M., Li, H., Zhang, Y., Yao, S., 2015. Synergetic signal amplification based on electrochemical reduced graphene oxide-ferrocene derivative hybrid and gold nanoparticles as an ultra-sensitive detection platform for bisphenol A. Anal. Chim. Acta 853, 249–257.
Khor, S.M., Liu, G., Fairman, C., Iyengar, S.G., Gooding, J.J., 2011. The importance of interfacial design for the sensitivity of a label-free electrochemical immuno-biosensor for small organic molecules. Biosens. Bioelectron. 26, 2038–2044.
Koide, S., Yokoyama, K., 1999. Electrochemical characterization of an enzyme electrode based on a ferrocene-containing redox polymer. J. Electroanal. Chem. 468, 193–201.
Kulys, J., D'Costa, E.J., 1991. Printed electrochemical sensor for ascorbic acid determination. Anal. Chim. Acta 243, 173–178.
Laatikainen, K., Bryjak, M., Laatikainen, M., Sirén, H., 2014. Molecularly imprinted polystyrene-divinylbenzene adsorbents for removal of bisphenol A. Desalin. Water Treat. 52, 1885–1894.
Malitesta, C., Mazzotta, E., Picca, R.A., Poma, A., Chianella, I., Piletsky, S.A., 2011. MIP sensors – the electrochemical approach. Anal. Bioanal. Chem. 402, 1827–1846.
Mazzotta, E., Turco, A., Chianella, I., Guerreiro, A., Piletsky, S.A., Malitesta, C., 2016. Solid-phase synthesis of electroactive nanoparticles of molecularly imprinted polymers. A novel platform for indirect electrochemical sensing applications. Sens. Actuators B Chem. 229, 174–180.
Meouche, W., Laatikainen, K., Margaillan, A., Silvonen, T., Siren, H., Sainio, T., Beurroies, I., Denoyel, R., Branger, C., 2017. Effect of porogen solvent on the properties of nickel ion imprinted polymer materials prepared by inverse suspension polymerization. Eur. Polym. J. 87, 124–135.
Muhamad, M.S., Salim, M.R., Lau, W.J., Yusop, Z., Hadibarata, T., 2016. The removal of bisphenol A in water treatment plant using ultrafiltration membrane system. Water Air Soil Pollut. 227, 250.
Okay, O., 2000. Macroporous copolymer networks. Prog. Polym. Sci. 25, 711–779.
O'Mahony, J., Moloney, M., McCormack, M., Nicholls, I.A., Mizaikoff, B., Danaher, M., 2013. Design and implementation of an imprinted material for the extraction of the endocrine disruptor bisphenol A from milk. J. Chromatogr. B 931, 164–169.
Padhye, L., Yao, H., Kung'u, F.T., Huang, C.-H., 2013. Year-long evaluation on the occurrence and fate of pharmaceuticals, personal care products, and endocrine disrupting chemicals in an urban drinking water treatment plant. Water Res. 51, 266–276.
Piletsky, S.A., Turner, A.P.F., 2002. Electrochemical sensors based on molecularly imprinted polymers. Electroanalysis 14, 317–323.
Radulescu, M.-C., Bucur, M.-P., Bucur, B., Radu, G.L., 2015. Biosensor based on inhibition of monoamine oxidases A and B for detection of β-carbolines. Talanta 137, 94–99.
Ragavan, K.V., Rastogi, N.K., Thakur, M.S., 2013. Sensors and biosensors for analysis of bisphenol-A. TrAC Trends Anal. Chem. 52, 248–260.
Sharma, P.S., Pietrzyk-Le, A., D'Souza, F., Kutner, W., 2012. Electrochemically synthesized polymers in molecular imprinting for chemical sensing. Anal. Bioanal. Chem. 402, 3177–3204.
Sharma, P.S., Wojnarowicz, A., Sosnowska, M., Benincori, T., Noworyta, K., D'Souza, F., Kutner, W., 2016. Potentiometric chemosensor for neopterin, a cancer biomarker, using an electrochemically synthesized molecularly imprinted polymer as the recognition unit. Biosens. Bioelectron. 77, 565–572.
Sharma, V.K., Anquandah, G.A.K., Yngard, R.A., Kim, H., Fekete, J., Bouzek, K., Ray, A.K., Golovko, D., 2009. Nonylphenol, octylphenol, and bisphenol-A in the aquatic environment: a review on occurrence, fate, and treatment. J. Environ. Sci. Health Part A 44, 423–442.
Socrates, G., 2001. Infrared and Raman Characteristic Group Frequencies – Tables and Charts, Third ed. J.Wiley & Sons, New-York.
Svancara, I., Kalcher, K., Walcarius, A., Vytřas, K., 2012. Electroanalysis with carbon paste electrodes. In: Analytical Chemistry Series. CRC Press, Boca Raton, FL, USA.
Udomsap, D., Branger, C., Culioli, G., Dollet, P., Brisset, H., 2014. A versatile electrochemical sensing receptor based on a molecularly imprinted polymer. Chem. Commun. 50, 7488–7491.
Uzun, L., Turner, A.P.F., 2016. Molecularly-imprinted polymer sensors: realising their potential. Biosens. Bioelectron. 76, 131–144.
Vlatakis, G., Andersson, L.I., Müller, R., Mosbach, K., 1993. Drug assay using antibody mimics made by molecular imprinting. Nature 361, 645–647.
Wang, J., Cormack, P.A.G., Sherrington, D.C., Khoshdel, E., 2003. Monodisperse, molecularly imprinted polymer microspheres prepared by precipitation polymerization for affinity separation applications. Angew. Chem. Int. Ed. 42, 5336–5338.
Ye, L., Haupt, K., 2004. Molecularly imprinted polymers as antibody and receptor mimics for assays, sensors and drug discovery. Anal. Bioanal. Chem. 378, 1887–1897.
Zhang, C., Li, Y., Wang, C., Niu, L., Cai, W., 2016. Occurrence of endocrine disrupting compounds in aqueous environment and their bacterial degradation: a review. Crit. Rev. Environ. Sci. Technol. 46, 1–59.

Vitalys Mba Ekomo

Laboratoire MAPIEM, Université de Toulon

Du polymère à empreintes moléculaires électrochimiques au capteur : étude de faisabilité pour la détection du Bisphénol A

Les polymères à empreintes moléculaires sont des matériaux aux propriétés de reconnaissance spécifiques qui peuvent être mis à profit pour la détection d'une large gamme d'analytes. Ainsi, depuis quelques années, des travaux décrivent leur utilisation dans des capteurs en raison de leur capacité à piéger une cible définie.
L'objectif de ce travail est d'ajouter des propriétés redox à des polymères à empreintes moléculaires pour détecter le Bisphénol A (BPA) par des méthodes électrochimiques simples. Ces polymères électroactifs sont synthétisés par polymérisation par précipitation d'une sonde redox, le méthacrylate de méthylferrocène (Fc), et du diméthacrylate d'éthylène glycol (EDMA) en présence du BPA pour le polymère imprimé (e-MIP-Fc) et en son absence pour le polymère non-imprimé (e-NIP-Fc). L'introduction d'un deuxième monomère fonctionnel, la 4-vinylpyridine (4-VP), conduit à deux autres polymères imprimé (e-MIP-Fc-VP) et non-imprimé (e-NIP-Fc-VP). Les propriétés d'adsorption des polymères ainsi obtenus sont caractérisés en batch à l'aide de la LC-MS et présentent une capacité de reconnaissance du BPA avec un facteur d'empreinte de 2,5 et 1,3 respectivement pour l'e-MIP-Fc-VP et e-MIP-Fc justifiant de l'efficacité de l'empreinte. Leurs caractérisations par voltampérométrie cyclique confirment d'une part la bonne intégration du monomère ferrocényle dans les e-MIP/e-NIP et d'autre part la capacité de ces polymères à révéler la présence ou pas de la cible. Les particules e-MIP-Fc ont ensuite été intégrées dans des dispositifs type microélectrode ou transistor OECT (Organic ElectroChemical Transistor). Les premiers résultats, mêmes s'ils doivent être confirmés, s'avèrent encourageants avec, comme attendu, des modifications des propriétés électriques en présence du BPA. L'e-MIP-Fc-VP après mélange avec de la pâte de carbone, a été utilisé en sérigraphie pour obtenir une électrode de travail modifiée dans des électrodes sérigraphiées (Screen Printed Electrode). Ces électrodes permettent la reconnaissance du BPA avec des limites de détection et de quantification de 60 pM et 190 pM respectivement pour une gamme de concentrations comprise entre 0,15 et 1,84 nM, ouvrant ainsi des perspectives intéressantes pour la détection du BPA en milieu aqueux.

Mot clés : Polymère à empreintes moléculaires, capteur électrochimique, Bisphénol A, transistors, électrodes sérigraphiées, voltampérométrie cyclique.

From electrochemical molecularly imprinted polymer to sensor: feasibility study for the detection of Bisphenol A

Molecularly imprinted polymers are materials with specific recognition properties that can be used for the detection of a wide range of template. In recent years, many works have been reported on their use in sensors because of their capability to specifically bind a defined analyte.
The aim of this work is to assign to the molecularly imprinted polymers redox properties in order to detect Bisphenol A (BPA) by using easy electrochemical techniques. These electroactive polymers are synthesized by precipitation polymerization of ferrocenylmethyl methacrylate (Fc) and ethylene glycol dimethacrylate (EDMA) in the presence of BPA for the imprinted polymer (e-MIP-Fc) and in its absence for the non-imprinted polymer (e-NIP-Fc). The copolymerization of the previous monomer with 4-vinylpyridine (4-VP) leads to two other imprinted (e-MIP-Fc-VP) and non-imprinted (e-NIP-Fc-VP) polymers. The resulting polymers are characterized in batch using LC-MS and have ability to recognize BPA with an imprinting factor of 2.5 and 1.3 respectively for e-MIP-Fc-VP and e-MIP-Fc the proving the recognition efficiency of these polymers. Their cyclic voltammetry recording confirm first, the good integration of the redox ferrocenyl monomer inside the polymers e-MIP/e-NIP during the polymerization, and on the other hand, the capability of these polymers to reveal the presence of BPA in the solution. The e-MIP-Fc particles were then integrated inside devices like microelectrode and OECT (Organic ElectroChemical Transistor). The first results, even if they must be confirmed, are positive regarding the modification of the electrical properties of these devices in the presence of BPA. The e-MIP-Fc-VP particles, after mixing with a carbon paste, were screen-printed to obtain a modified working electrode in a screen-printed electrode device. This electrode enable the recognition of BPA with limits of detection and quantification of 60 pM and 190 pM respectively, for a concentration range between 0.15 and 1.84 nM, thus opening up interesting perspectives for the detection of BPA in aqueous medium.

Keywords: Molecular imprinted polymer, electrochemical sensor, Bisphenol A, Transistors, Screen-Printed electrodes, cyclic voltammetry.