

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université Hadj Lakhdar - BATNA 1

Faculté des Sciences de la Matière



Département de chimie

THÈSE

Présentée en vue de l'obtention du
Diplôme de Doctorat en sciences

Par

ABERKANE Fairouz

Thème

Synthèse, Caractérisation et Etude des Nanomatériaux
Organiques à base de Composés Métalliques

Spécialité

Chimie Organique

Soutenue le: 26/09/2020

Devant le jury :

Président	A. BELGACEM BOUZIDA	Pr	Université Hadj Lakhdar Batna 1
Rapporteur	T. BENDAIKHA	Pr	Université Hadj Lakhdar Batna 1
Examineur	D. BENACHOUR	Pr	Université Ferhat Abbas Sétif 1
Examineur	B. SAIDANI	Pr	Université Abderrahmane Mira Bejaia
Examineur	L. MAKHLOUFI	Pr	Université Abderrahmane Mira Bejaia
Examinatrice	N. BENBELLAT	MCA	Université Hadj Lakhdar Batna 1

Année Universitaire 2019/2020

À tous ceux qui me sont chers

À ma famille

*À ma très chère mère
À la mémoire de mon père*

Remerciements

Ce travail de thèse a été réalisé au laboratoire de chimie et de chimie de l'environnement (LCCE) de l'Université Batna-1 sous la direction de **M^f Tahar BENDAIKHA**, professeur à l'Université Batna-1. Une partie de ce travail a été réalisée à l'Institut des Sciences Analytique (ISA), Université Claude Bernard Lyon-1 sous la direction de **M^f Abdelhamid ERRACHID**, professeur à l'Université Claude Bernard Lyon-1. Egalement, une autre partie a été réalisée au Laboratoire d'Automatique, de Génie des Procédés et de Génie Pharmaceutique (LAGEPP), Université Claude Bernard Lyon-1 sous la direction de **M^f Abdelhamid ELAISSARI**, directeur de recherche CNRS, Université Lyon-1.

En premier lieu, je voudrais d'abord remercier le directeur de ma thèse, le professeur **T.BENDAIKHA** pour son soutien, sa compréhension, et ses conseils.

Je souhaite également remercier **Pr A.BELGACEM BOUZIDA**, professeur à l'université Batna-1, d'avoir accepté de présider mon jury de thèse.

Je suis très sensible à l'honneur que m'ont fait **Dr N.BENBELLAT**, **Pr D.BENACHOUR**, **Pr L.MAKHLOUFI** et **Pr B.SAIDANI**, en acceptant de participer à ce jury. Je leur exprime toute ma reconnaissance pour l'intérêt porté à ce travail.

Mes remerciements vont plus particulièrement à **Dr A.ELAISSARI** et **Pr A.ERRACHID**, pour m'avoir accueillie dans leurs laboratoires, pour leurs confiance, leurs précieux conseils, leurs encouragements, pour toute l'attention qu'ils m'ont portée et pour les moyens mis à ma disposition durant mes stages. Qu'ils trouvent ici les marques de ma reconnaissance et de mon respect.

Pour terminer, merci à toute personne qui a participé, de près ou de loin, à la réalisation de cette thèse. Je remercie spécialement **Dr K.OULMI** et **Dr A.SMADI** pour leur aide, leurs encouragements et leur soutien.

Sommaire

Remerciements	
Sommaire	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Abréviations	
Introduction générale	1
Partie I. Les Nanomatériaux.....	5
Chapitre I.1. Etat de l'Art sur les Nanomatériaux	6
1. Introduction.....	7
2. Les Nanoparticules Métalliques.....	7
3. Synthèse des nanoparticules métalliques.....	9
3.1. Les méthodes chimiques.....	9
3.2. Les méthodes physiques.....	11
4. Propriétés optiques des nanoparticules d'Or.....	12
4.1. Bande plasmon de surface.....	12
4.2. Effet de la taille des Nanoparticules d'Or.....	13
4.3. Effet de la forme des nanoparticules d'Or.....	14
5. Mécanisme de stabilisation des Nanoparticules d'Or.....	15
5.1. Stabilisation électrostatique.....	15
5.2. Stabilisation stérique.....	16
5.3. Stabilisation électrostérique.....	16
6. Méthodes de caractérisation.....	16
6.1. La microscopie électronique.....	16
6.2. Le microscope à force atomique (AFM).....	19
6.3. Diffusion dynamique de la lumière DLS.....	20
6.4. Spectroscopie UV-Visible.....	21
7. Synthèse des nanoparticules d'Or par réduction chimique.....	21
7.1. Synthèse in-situ des nanoparticules d'Or (système monophasé).....	22
7.2. Synthèse des nanoparticules d'Or en deux phases liquid-liquid "Brust method"	23
7.3. Synthèse des nanoparticules anisotropiques à partir de noyaux "seeding-growth"	25
8. Méthodes d'élaboration des nanocomposites "polymère/nanoparticules métalliques".....	28
8.1. Mélange à l'état fondu.....	29
8.2. Mélange en solution.....	29
8.3. Polymérisation in-situ.....	30
8.4. Immobilisation du polymère sur les nanoparticules métalliques.....	30

8.4.1. Greffage de polymère.....	30
8.4.1.1. Méthode de synthèse directe (in-situ).....	31
8.4.1.2. Stratégie covalente (graft-to).....	32
8.4.1.3. Stratégie Covalente (graft-from).....	33
8.4.2. Méthodes d'encapsulation et d'adsorption physique.....	36
9. Modification chimique de surface de nanoparticules d'Or fonctionnalisées.....	37
9.1. Par échange de ligands.....	37
9.2. Par modification chimiques de ligands.....	38
10. Applications des nanoparticules d'Or	39
10.1. Diagnostique et imagerie.....	40
10.2. Les applications thérapeutiques des nanoparticules d'Or	42
10.2.1. Thérapie photothermique (PTT)	42
10.2.2. Thérapie photodynamique (PDT).....	44
10.2.3. Vectorisation des médicaments.....	46
10.3. Capteurs chimiques et biochimiques.....	48
10.4. La catalyse.....	51
Références.....	52

Chapitre I.2. Synthèse, Caractérisation et Etude des Nanoparticules d'Or et des Nanocomposites..... 63

1. Introduction.....	64
2. Matériels et méthodes.....	64
2.1. Méthodes de synthèse.....	64
2.1.1. Synthèse des nanoparticules d'Or en milieu aqueux.....	65
2.1.1.1. Réduction de l'acide chloraurique par le borohydrure de sodium.....	65
2.1.1.2. Réduction de l'acide chloraurique par le borohydrure de sodium en présence de PVA.....	65
2.1.1.3. Réduction de l'acide chloraurique par du PVA en présence de NaOH.....	66
2.1.2. Encapsulation des nanoparticules d'Or par le processus double émulsion (w/o/w).....	66
2.1.3. Synthèse des polymères par voie radicalaire.....	66
2.1.3.1. Synthèse de l'oligomère thioéther DDT-poly(4-vinyl pyridine).....	66
2.1.3.2. Synthèse de l'oligomère thioéther DDT-poly(N-vinyl pyrrolidone).....	67
2.1.3.3. Synthèse de poly(DMAEMA-co-Styrène).....	68
2.1.4. Synthèse des nanoparticules d'Or stabilisées par les oligomères Thioéther.....	68
2.2. Méthodes de caractérisation.....	69
2.2.1. Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier	69
2.2.2. Spectroscopie UV-visible.....	70
2.2.3. Chromatographie à exclusion stérique.....	70
2.2.4. Microscopie électronique.....	71
3. Résultats et discussions.....	71
3.1. Synthèse et caractérisation des nanoparticules d'Or en milieu aqueux.....	71

3.2. Encapsulation des nanoparticules d'Or par le polycaprolactone.....	76
3.3. Synthèse des nanoparticules d'Or en milieu organique.....	80
3.3.1. Synthèse de polymères par voie radicalaire et leur caractérisation	80
3.3.1.1. Synthèse et caractérisation de l'oligomère thioether DDT-Poly(N-vinyl pyrrolidone).....	80
3.3.1.2. Synthèse et caractérisation d'oligomère thioether DDT-poly(4-vinylpyridine).....	85
3.3.1.3. Synthèse et caractérisation de poly(DMAEMA-co-Styrène).....	89
3.3.2. Synthèse et caractérisation des nanoparticules d'Or fonctionnalisées par les oligomères Thioéthers.....	91
4. Conclusion.....	100
Références.....	102

PARTIE II. Elaboration des Capteurs Chimiques à Base de Polymère et des Nanoparticules d'Or «Application à la Détection de Polluants Organiques»..... 105

Chapitre II.1. Etude bibliographique..... 106

1. Introduction.....	107
2. Les matériaux plastiques.....	107
2.1. Les additifs.....	107
2.2. Les adjuvants.....	108
2.3. Toxicité des matériaux plastiques.....	108
3. Les électrodes modifiées chimiquement.....	110
3.1. Évaporation de solvants.....	110
3.2. Dépôt à la tournette (spin-coating).....	110
3.3. Adsorption couche par couche (layer by layer).....	111
3.4. Greffage des chaînes de polymères.....	111
3.4.1. Greffage par la méthode « Grafting-from».....	111
3.4.2. Greffage par la méthode « Grafting-to».....	112
4. Les capteurs électrochimiques.....	112
4.1. Définition et qualité d'un capteur électrochimiques.....	112
4.2. Principe de fonctionnement d'un capteur chimique.....	113
4.3. Les couches sensibles.....	114
4.4. Types de capteurs électrochimiques.....	114
4.4.1. Capteurs ampérométriques.....	115
4.4.2. Capteurs potentiométriques.....	115
4.4.3. Capteurs conductimétriques.....	116
5. Les techniques d'analyses électrochimiques.....	116
5.1. Voltampérométrie cyclique.....	117
5.2. Techniques voltampérométriques d'impulsion.....	118
5.2.1. Voltampérométrie à impulsion normale (NPV).....	119
5.2.2. Voltampérométrie différentielle à impulsions (DPV).....	119
5.2.3. Voltampérométrie à onde carrée (SWV).....	120

5.3. Chronoampérométrie.....	121
5.4. La spectroscopie d'impédance électrochimique.....	122
Références.....	126
Chapitre II.2. Elaboration des Electrodes Modifiées Sensibles au Polluants Organiques.....	131
1. Introduction.....	132
2. Matériels et méthodes.....	132
2.1. Dispositif électrochimique expérimental.....	132
2.2. L'électrolyte support.....	133
2.3. Cellules électrochimiques.....	133
2.4. Appareil de mesure électrochimique.....	134
3. Elaboration des électrodes modifiées à base de polymère.....	135
3.1. Synthèse de l'électrode modifiée GE/DDT-PNVP.....	135
3.2. Synthèse de l'électrode modifiée GE/DDT-PNVP-AuNPs.....	136
3.3. Synthèse de l'électrode modifiée GCE/PN-AuNPs/MB.....	136
4. Résultats et discussions.....	136
4.1. Synthèse et caractérisation de l'électrode modifiée GE/DDT-PNVP.....	136
4.2. Etude électrochimique de l'électrode d'Or modifiée GE/DDT-PNVP: Application à la détection de la BPA.....	142
4.2.1. BPA, source et toxicité.....	142
4.2.2. Comportement électrochimique du bisphénol A sur l'électrode d'Or modifiée GE/DDT-PNVP.....	144
4.2.3. Sélectivité du capteur GE/DDT-PNVP.....	147
4.2.4. Mécanisme et énergie d'adsorption des molécules du BPA sur l'électrode modifiée GE/DDT-PNVP.....	148
4.2.5. Effet de la présence des AuNPs à la surface de l'électrode modifiée GE/DDT-PNVP.....	150
4.3. Synthèse et caractérisation de l'électrode modifiée GCE/PN-AuNPs-MB.....	156
4.4. Etude électrochimique de l'électrode modifiée GE/PDMAEMA-AuNPs/MB: Application à la détection de la Mélamine.....	161
4.4.1. Mélamine source et toxicité.....	161
4.4.2. Comportement électrochimique du Mélamine sur l'électrode GCE/PN-AuNPs/MB.....	162
4.4.3. Sélectivité du capteur GCE/PN-AuNPs/MB.....	166
4.4.4. Mécanisme et énergie d'adsorption des molécules de mélamine sur le GCE/PN-AuNPs/MB.....	166
5. Conclusion.....	168
Références.....	169
Conclusion générale.....	173
Annexe: Publications.....	176
Résumé	
Abstract	

Liste des figures

Fig I.1.1. Taille des nanoparticules comparée à celles des structures chimiques et biologiques.	8
Fig I.1.2. Images TEM des différentes formes des nanoparticules d'Or	8
Fig I.1.3. Représentation schématique des deux grandes approches de synthèse des nanoparticules	9
Fig I.1.4. Solutions colloïdales de Faraday (Royal Institution of Great Britain, Londres)	12
Fig I.1.5. Le mouvement d'oscillation des électrons de la bande de conduction d'une nanoparticule après l'interaction avec le champ électromagnétique.	13
Fig I.1.6. Résonance de plasmon de surface dépendant de la taille des nanoparticules d'Or	14
Fig I.1.7. Position de la résonance plasmon de surface pour différentes formes de AuNPs	14
Fig I.1.8. Représentation schématique de la stabilisation électrostatique (A) et la stabilisation stérique (B).	15
Fig I.1.9. Image de microscopie électronique à balayage (SEM) (A) et image de microscopie électronique à transmission (TEM) (B) de nanoparticules.	17
Fig I.1.10. A: TEM image, B: EDS Cartographie d'une nanoparticule Au(Ag) ₃ typique incubée par le ligand MBIA	18
Fig I.1.11. A: AFM topographie des nanoparticules d'Or. B: AFM associé avec un Microscope Fluorescent Optique Inverti des nanoparticules d'Or.	19
Fig I.1.12. Courbes de DLS des nanoparticules d'Or. A: Polydispersés, B: Monodispersés	20
Fig I.1.13. Spectres UV-Visible et la couleur de la solution de: (A) nanoparticules d'Or monodispersés, (B) nanoparticules d'Or fortement agglomérées après l'ajout du chlorure de sodium (NaCl).	21
Fig I.1.14. Mécanisme de formation des nanoparticules d'Or	22
Fig I.1.15. Méthode de Turkevich pour synthétiser des solutions colloïdales d'Or	23
Fig I.1.16. Principales étapes de synthèse des AuNPs stabilisés par les thiols par la méthode de Brust-Schiffrin.	24
Fig I.1.17. Influence de la nature de l'halogénure sur les différentes formes des AuNPs	26
Fig I.1.18. Synthèse en trois étapes, à partir de noyaux, de longues nanobâtonnets d'Or	27
Fig I.1.19. Illustration schématique des électrons de surface des nanosphères d'Or (A), et des nanobâtonnets (B) en contact avec un rayonnement électromagnétique et leurs spectres UV-Visible correspondants.	27
Fig I.1.20. Schéma des méthodes de synthèse des nanocomposites polymère/Nanoparticule par greffage.	31
Fig I.1.21. (a) Structure et image TEM des nanoparticules stabilisées par le polymère thioéther DDT-PVAc (b) Spectres d'absorption UV-Visible de nanoparticules d'Or stabilisées avec le DDT-PVAc, dans le toluène, à différents poids moléculaires.	32
Fig I.1.22. Structure du copolymère-thioester synthétisé par la polymérisation radicalaire contrôlée RAFT et utilisé pour la fonctionnalisation des nanoparticules d'Or.	33
Fig I.1.23. Greffage du P4VP sur la surface des nanoparticules d'Or par ATRP. Image TEM des nanoparticules fonctionnalisées par le P4VP à PH=5.	35
Fig I.1.24. A et B: Synthèse de nanostructures Au-copolymère et leur image TEM correspondante. C: Images AFM en 3D d'un nanocomposite Au-copolymère.	35
Fig I.1.25. Schéma des nanoparticules d'Or encapsulées par un copolymère à bloc PS-b-PAA réticulé. A et B: Images TEM de nanoparticules d'Or préparées avec différentes épaisseurs	37

de polymères.

Fig I.1.26. Doxorubicine greffée à la surface des nanoparticules d'Or.	38
Fig I.1.27. Schéma représentant la conjugaison covalente du doxorubicine et de l'acide folique aux nanoparticules d'Or et leurs images TEM. (A) Nanoparticules d'Or fonctionnalisées par le 2-aminoéthanethiol, (B) Structure de Au-P(LA-DOX)-b-PEG-OH/FA.	39
Fig I.1.28. Schéma d'une nanoparticule d'or aux fonctionnalités multiples pour diverses applications.	40
Fig I.1.29. Représentation schématique de l'imagerie par fluorescence des cerveaux de souris avec des tumeurs traités par des nanoparticules d'Or fonctionnalisés avec EGF et Pc-4.	41
Fig I.1.30. Schéma de la réaction de fonctionnalisation des nanoparticules d'Or, A: Distribution cellulaire de nanoparticules d'Or fonctionnalisées avec coumarin-PEG- Thiol dans des cellules de cancer du sein MDA-MB-231. B: Epifluorescence image.	42
Fig I.1.31. Structure de nanoparticules d'Or conjuguées avec des polymères biocompatibles (PSS) et fonctionnalisées avec de l'acide folique (FA) et le Doxorubicine (DOX).	44
Fig I.1.32. A: Nanoparticules d'Or modifiées par fixation de chaîne de polymère en tant qu'agent de délivrance de médicament PDT, B: Photodécomposition de DPBF par 1O_2 après irradiation à 410 nm, de nanoparticules d'Or Pc-4-PEGylées, de méthylène bleu et Pc-4 dans l'éthanol.	45
Fig I.1.33. Schéma des nanoparticules d'Or recouvertes de chitosane avec l'adsorption de l'insuline sur leur surface.	47
Fig I.1.34. A: Copolymères à brosse brush-chole-BCP-thiol, B: Auto-assemblage des nanoparticules d'Or fonctionnalisées par brush-chole-BCP-thiol en présence du DOX, C: TEM image des AuNPs double encapsulées.	48
Fig I.1.35. A : Schéma représente : (A) un capteur fluorescent pour la détection de la Cysteine, (B) l'intensité de fluorescence de PFS-AuNPs à 420 nm après addition de cysteine en comparaison avec les autres acides aminés.	50
Fig I.1.36. (A) Réaction de fonctionnalisation in-situ de nanoparticules d'Or dans le DMSO, (B) Image TEM de nanoparticules d'Or fonctionnalisées associées à des nanotubes de carbone, et (C) structure du biocapteur de glucose.	50
Fig I.2.1. Image représente le spectrophotomètre à transformée de Fourier (FTIR)	70
Schéma I.2.1. Réduction chimique des ions d'Or par du PVA	72
Fig I.2.2. Spectres UV-Visibles de nanoparticules d'Or préparées par réduction chimique	74
Fig I.2.3. Spectre UV-Visible des nanoparticules d'Or (Au ₂) avec la simulation de Lorentz	75
Fig I.2.4. TEM images des AuNPs préparées par réduction chimique (échantillons Au ₁ , Au ₂ et Au ₃)	76
Fig I.2.5. Schéma du processus d'encapsulation de AuNPs par le PCL en utilisant la technique d'émulsion w/o/w	77
Fig I.2.6. Images TEM des nanoparticules d'Or encapsulées avec PCL	78
Fig I.2.7. Images SEM de particules de PCL contenant des nanoparticules d'Or préparées par la technique double émulsion à évaporation du solvant (w/o/w)	79
Schéma I.2.2. Schéma réactionnel de la polymérisation radicalaire du NVP en présence de DDT	81
Fig I.2.8. Spectres FTIR du monomère NVP et de l'oligomère thioéther DDT-PNVP	82
Fig I.2.9. Spectres FTIR montrant l'effet de la longueur de chaîne de l'oligomère sur l'intensité des bandes entre 2925 et 2892cm ⁻¹ dans les spectres des DDT-PNVP	84
Fig I.2.10. Spectre RMN ¹ H de l'oligomère thioéther synthétisé DDT-PNVP	84
Schéma I.2.3. Mécanisme de polymérisation radicalaire du 4VP en présence de DDT	86
Fig I.2.11. Spectres FTIR de 4VP et de DDT-P4VP	87
Fig I.2.12. Effet de la longueur de chaîne de l'oligomère sur l'intensité des bandes FTIR à 2853 et à 2927 cm ⁻¹	88
Fig I.2.13. Spectre RMN ¹ H de l'oligomère thioéther synthétisé DDT-P4VP	88

Schéma 2.4. Schéma réactionnel de la copolymérisation radicalaire en émulsion de styrène et de DMAEMA en présence de HDDA	89
Fig I.2.14. Spectres FTIR de poly (DMAEMA-co-styrène)	90
Fig I.2.15. Images de particules de poly(DMAEMA-co-styrène) : (A) SEM, (B) TEM	91
Schéma I.2.5. Schéma réactionnel de la réaction de réduction des ions d'Or en présence de DDT-P4VP. (A), (B) et (C) structures probables des AuNPs.	93
Fig I.2.16. AuNPs synthétisées en présence de DDT-P4VP1 de masse 685g/mol avec deux concentrations de NaBH ₄ : (P1)[NaBH ₄] élevée, (P2)[NaBH ₄] faible. Spectres UV-Vis de P1 et P2	95
Fig I.2.17. TEM images des AuNPs synthétisées en présence de DDT-P4VP1 de masse 900g/mol avec deux concentrations de NaBH ₄ : (P3) [NaBH ₄] élevée, (P4) [NaBH ₄] faible. Spectres UV-Vis de P3 et P4	96
Fig I.2.18. TEM images des AuNPs synthétisées en présence de DDT-P4VP3 de masse 900g/mol avec une concentration croissante.	97
Fig I.2.19. Spectres UV-Vis des AuNPs synthétisées avec différentes concentrations de DDT-P4VP3 de masse 900g/mol	98
Fig I.2.20. TEM images des AuNPs synthétisées en présence de DDT-PNVP de différentes masses: 285g/mol (N1), 315g/mol (N2), 1790g/mol (N3) et 2170 g/mol (N4)	99
Fig I.2.21. Spectres d'absorption UV-Visible des AuNPs préparés avec des ligands oligomère DDT-PNVP à différents poids moléculaires: (N1) 285g/mol, (N3) 315g/mol, (N5) 1790g/mol et (N7) 2170g/mol	100
Fig I.2.22. Images TEM des nanocubes d'Or obtenus avec l'oligomère DDT-P4VP2 et des AuNPs obtenues avec l'oligomère DDT-PNVP1 (Forme fleuré)	101
Fig II.1.1. Greffage des chaînes de polymères sur un substrat	111
Fig II.1.2. Principe de fonctionnement d'un capteur électrochimique	114
Fig II.1.3. Exemple de diagramme voltampérométrie cyclique avec la forme du potentiel associé.	118
Fig II.1.4. Forme d'onde potentielle pour une voltampérométrie à impulsions normale (A). Un voltammogramme à impulsion normal typique (B).	119
Fig II.1.5. Forme d'onde potentielle pour la voltampérométrie différentielle à impulsions (A). Un voltammogramme à impulsions différentielles typique (B).	120
Fig II.1.6. Forme d'onde potentielle pour la voltampérométrie à onde carrée (A). Un voltammogramme à onde carrée typique (B).	120
Fig II.1.7. Le saut du potentiel appliqué en chronoampérométrie en fonction du temps (cas d'une réduction) (A), et type de courbe obtenue (B).	121
Fig II.1.8. Courant Sinusoïdal dans un système linéaire	123
Fig II.1.9. Origine de la figure de Lissajous	124
Fig II.1.10. Tracé de Nyquist (A), Bode (B) et Circuit équivalent de Randles (C)	125
Fig II.2.1. Structures chimiques de: Bisphénol A (A), et la mélamine (B)	132
Fig II.2.2. Cellules électrochimiques à trois électrodes: Mini-cellule en Teflon (A), Cellule typique en verre (B)	134
Fig II.2.3. Dispositif de mesure électrochimique	135
Fig II.2.4. Morphologie proposée pour l'électrode d'Or modifiée GE/DDT-PNVP	137
Fig II.2.5. Voltammogrammes cycliques de substrat d'Or avant (A) et après modification par le DDT-PNVP (B)	138
Fig II.2.6. Illustration schématique du circuit équivalent de Randles et les courbes de Nyquist du: substrat d'Or non-modifié (A) et l'électrode GE/DDT-PNVP (B).	139
Fig II.2.7. Angles de contact d'une gouttelette d'eau sur substrat d'Or (A) Or traité au piranha (B) et Or après modification par le DDT-PNVP (C)	140
Fig II.2.8. Images AFM de substrats d'Or non modifié (A) et modifié par le DDT-PNVP (B)	140
Fig II.2.9. La courbe (I - t) de GE/DDT-PNVP dans du PBS contenant 5 mM de Fe(CN) ₆ ^{3-/4-} avec un potentiel de 0,2V; et le tracé de la courbe (I - t ^{-1/2}) dérivé des données de	141

chronoampérométrie pour le même échantillon inséré.

Fig II.2.10. Détection électrochimique du BPA: courbes de Nyquist(A), et courbes de Bode (B) de l'électrode GE/DDT-PNVP.	145
Fig II.2.11. Courbe d'étalonnage de l'électrode GE/DDT-PNVP	146
Fig II.2.12. Structures des produits interférents et leurs courbes d'étalonnage	148
Fig II.2.13. Isotherme de Langmuir d'adsorption de BPA sur le capteur électrochimique GE/DDT-PNVP	149
Fig II.2.14. Schéma proposé de l'électrode d'Or modifiée par le DDT-PNVP et des nanoparticules d'Or	150
Fig II.2.15. Voltamogrammes cycliques de substrat d'Or non-modifié (A), après modification par le DDT-PNVP (B) et après introduction des AuNPs (C).	151
Fig II.2.16. Courbes de Nyquist de substrat d'Or non-modifié (A), de GE/DDT-PNVP (B) et de GE/DDT-PNVP/AuNPs (C).	152
Fig II.2.17. Angles de contact d'une gouttelette d'eau sur: Substrat d'Or (A), Substrat d'Or traité au piranha (B), Substrat d'Or après modification par DDT-PNVP (C), et Substrat d'Or après modification par DDT-PNVP et AuNPs (D)	153
Fig II.2.18. La courbe $(I - t)$ et la courbe $(I - t^{-1/2})$ de l'électrode GE/DDT-PNVP/AuNPs dérivées des données de chronoampérométrie. Les mesures chronoampérométriques sont réalisées dans du PBS contenant 5mM de $Fe(CN)_6^{3-/4-}$ à un potentiel de 0,2 V.	154
Fig II.2.19. Détection électrochimique du BPA: courbes de Nyquist (A), courbes de Bode (B) et courbe de calibration (C) du capteur GE/DDT-PNVP/AuNPs obtenues à partir des concentrations croissantes de BPA	155
Fig II.2.20. Isotherme de Langmuir d'adsorption de BPA sur l'électrode GE/DDT-PNVP/AuNPs	156
Fig II.2.21. Schéma des étapes de préparation de l'électrode GCE/PN-AuNPs-MB	157
Fig II.2.22. Voltamétrie cyclique de: GCE, GCE/PN, GCE/PN-AuNPs et GCE/PN-AuNPs/MB.	158
Fig II.2.23. Courbes de DPV de: GCE (A), GCE/PN (B), GCE/PN-AuNPs (C) et GCE/PN-AuNPs/MB (D).	159
Fig II.2.24. Courbes d'impédance de: GCE (A), GCE/PN (B), GCE/PN-AuNPs (C) et GCE/PN-AuNPs/MB (D).	160
Fig II.2.25. Les courbes $(I - t)$ de: GCE (A) et GCE/PN-AuNPs-MB (B), et les tracés des courbes $(I - t^{-1/2})$ dérivés des données de chronoampérométrie correspondantes.	161
Fig II.2.26. Courbes de Nyquist de la détection électrochimique de la Mélamine.	163
Fig II.2.27. Courbe d'étalonnage de l'électrode GCE/PN-AuNPs/MB	164
Fig II.2.28. Courbe d'étalonnage basée sur la méthode des additions standard pour la détermination de la MEL.	165
Fig II.2.29. Sélectivité du GCE/PN-AuNPs/MB pour la mélamine par rapport au phénol, à l'hydroquinone et au BPA, à la concentration de $3,29 \cdot 10^{-9} M$.	166
Fig II.2.30. Isotherme de Langmuir d'adsorption de la MEL sur l'électrode GCE/PN-AuNPs/MB.	167

Liste des tableaux

Tableau I.2.1. Quantités de DDT utilisés avec le 4VP	67
Tableau I.2.2. Quantités de DDT utilisés avec le NVP	68
Tableau I.2.3. Quantités des réactifs NaBH ₄ , HAuCl ₄ et oligomère utilisés lors de la synthèse des AuNPs	69
Tableau I.2.4. Conditions chromatographiques	71
Tableau I.2.5. Synthèse des AuNPs par différentes méthodes	72
Tableau I.2.6. Masse moléculaire, indice de polydispersité et rendement des oligomères DDT-PNVP obtenus pour chaque formulation.	81
Tableau I.2.7. Masse moléculaire, indice de polydispersité et rendement des oligomères DDT-P4VP obtenus pour chaque formulation.	85
Tableau I.2.8. Nanoparticules d'Or fonctionnalisées par DDT-P4VP	92
Tableau I.2.9. Résultats obtenus des échantillons de AuNPs fonctionnalisées par DDT-PNVP	98
Tableau.II.1.1. Toxicité, utilisation et structure de quelques monomères et additifs.	109
Tableau II.2.1. Comparaison des caractéristiques analytiques de l'électrode modifiée développée et des électrodes modifiées pertinentes pour la détection de BPA, basée sur la littérature.	147
Tableau II.2.2. Formules d'isothermes d'adsorption, pentes et R ² du BPA adsorbé sur l'électrode modifiée GE/DDT-PNVP	149
Tableau II.2.3. Formules d'isothermes d'adsorption, pentes et R ² du BPA adsorbé sur l'électrode modifiée GE/DDT-PNVP/AuNPs	156
Tableau II.2.4. Comparaison des caractéristiques analytiques de l'électrode modifiée développée et des électrodes modifiées pertinentes pour la détection de la MEL, basée sur la littérature.	164
Tableau II.2.5. Dosage de la mélamine dans des échantillons d'eau distillée	165
Tableau II.2.6. Formules d'isothermes d'adsorption, pentes et R ² du MEL adsorbé sur l'électrode modifiée GCE/PN-AuNPs/MB.	167

Liste des abréviations

NPs	Nanoparticules
AuNPs.	Nanoparticules d'Or
POB	Peroxyde de benzoyle
PVA	Poly(vinyle alcool)
PCL	Polycaprolactone
tr/min	Tour par minute
DDT	Dodécanethiol
NVP	N-vinylpyrrolidone
PNVP	Poly(N-vinylpyrrolidone)
DDT-PNVP	Dodécanthiol-Poly(N-vinylpyrrolidone)
4VP	4-vinylpyridine
P4VP	Poly(4-vinylpyridine)
DDT-PNVP	Dodécanthiol -Poly(4-vinylpyridine)
DMAEMA	2-(diméthylamino)éthyle méthacrylate de méthyle
PN	Poly(DMAEMA-co-Styrène)
SDS	Dodécyl sulfate de sodium
APS	Persulfate d'ammonium
IPD	Indice de polydispersité
BPA	Bisphénol A
MEL	Mélamine
MB	Bleu de méthylène
PBS	Solution tampon phosphate
GE	Gold Electrode (Électrode d'Or)
GCE	Glassy Carbon Électrode (Electrode en carbone vitreux)
LOD	Limite de détection
TEM	Microscopie électronique en transmission
SEM	Microscopie électronique à balayage
AFM	Microscopie à force atomique
FTIR	Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier
ATR	Réflexion totale atténuée
CES	Chromatographie à exclusion stérique
SPR	Résonance plasmon de surface
CV	Voltamétrie cyclique
EIS	Spectroscopie d'impédance électrochimique
DPV	Voltamétrie différentielle à pulsations
CA	Chronoampérométrie

Introduction générale

Les nanomatériaux organiques sont des matériaux hybrides constitués par immobilisation ou incorporation des nanoparticules inorganiques ou organiques dans une matrice polymère. Les nanoparticules présentent un rapport surface/volume élevé, ce qui mène à des modifications importantes des propriétés chimiques, physiques, magnétiques et optiques du matériau, tout en produisant de nouvelles propriétés spécifiques. Pour cette raison, les nanocomposites ont de nombreuses applications intéressantes scientifiques et technologiques dans des domaines aussi variés comme l'électronique, l'optique, la photonique, la détection chimique et biochimique et la médecine (diagnostic et thérapie). Les nanoparticules métalliques possèdent des propriétés uniques, différentes de celles du matériau massif, généralement, les propriétés des nanoparticules varient selon la composition chimique, la taille et la forme. La synthèse des nanoparticules se fait par plusieurs méthodes tels que la réduction chimique, photochimique, radiochimique, sonochimique, etc. Les méthodes chimiques de synthèse se basent sur des processus de nucléation et de croissance à partir des atomes isolés. Les nanoparticules d'Or présentent, en effet, une grande aptitude de fonctionnalisation de surface, par immobilisation de molécules organiques tels que les molécules biologiques, anticorps, ADN, polymère, etc. Les produits greffés ou adsorbés sur la surface ou encore encapsules la nanoparticule, permettent d'une part le contrôle de la taille et la forme des nanoparticules et, d'autre part, leur stabilisation. Par conséquent, la modification de surface des nanomatériaux est d'une grande importance, car elle peut modifier les propriétés de la surface de façon spectaculaire et donc de contrôler l'interaction entre les nanoparticules et leur environnement.

Aujourd'hui les matériaux plastiques sont utilisés dans tous les domaines de notre vie quotidienne. Il est évident que les plastiques apportent de nombreux avantages pour la société et offrent de futures avancées technologiques et médicales. Cependant, les préoccupations concernant l'utilisation excessive des plastiques sont diverses et incluent l'accumulation des déchets dans les décharges et dans la nature. D'un autre côté, les plastiques contiennent des composés de faible poids moléculaire, des oligomères et des monomères et, en particulier, des additifs et adjuvants tels que les stabilisants, les lubrifiants, les plastifiants et les charges, qui peuvent être physiologiquement indésirables. L'ajout de ces auxiliaires est absolument nécessaire pour le traitement et la

stabilité des plastiques ainsi que pour obtenir certaines propriétés des produits finaux. Cependant, ces composés de faible poids moléculaire, possèdent souvent une grande mobilité dans les plastiques, contrairement aux macromolécules, ils peuvent facilement migrer du plastique vers le milieu environnant (eau, aliments...). Malheureusement, ces produits sont souvent dangereux et présentent un risque pour la santé des êtres vivants et pour l'environnement. Par conséquent, il est très important d'établir une méthode fiable pour la détermination et le contrôle des traces de ces produits et d'évaluer les risques potentiels associés aux expositions cumulatives.

Ces dernières années, les méthodes de détection des espèces chimiques et la mesure de leurs concentrations ont considérablement évolué. Cet intérêt est essentiellement dû aux considérations environnementales, de sécurité, de contrôle ou de diagnostic. Les capteurs chimiques sont généralement des systèmes simples, constitués d'une couche sensible permettant la reconnaissance de l'espèce chimique avec laquelle elle réagit. Ce système de reconnaissance moléculaire est, en général, basé sur une interaction spécifique entre le produit à détecter et la couche sensible. Actuellement, la détection par les capteurs électrochimiques est la plus importante en raison de leur sensibilité élevée, de leur simplicité, de leur faible coût, de leur miniaturisation et de leur rapidité de réaction par rapport aux autres méthodes. Le développement de capteurs électrochimiques via la modification d'électrode est une stratégie courante. Divers types d'électrodes ont été modifiés avec l'utilisation des nanomatériaux à base de chitosane, du graphène, de nanotubes de carbone, de nanoparticules d'Or, de nanoparticules d'oxyde de Fer et d'argile.

Ce manuscrit est composé de deux parties, chaque partie comprend deux chapitres. Dans la première partie, des généralités sur les méthodes de synthèse des nanoparticules d'Or, leur fonctionnalisation, leurs propriétés et leurs différents domaines d'application, seront énumérés. Nous présenterons aussi, les méthodes de préparation des polymères nanocomposites. Dans la partie expérimentale, nous allons expliquer la méthodologie suivie pour la préparation des nanoparticules d'Or et leur fonctionnalisation en milieu aqueux, ainsi que la méthode d'encapsulation de ces dernières par un polymère biodégradable. Également, nous présenterons la méthode de synthèse des oligomères thioéther, comme le DDT-poly(4-vinylpyridine) et le DDT-poly(N-vinylpyrrolidone) et leur

utilisation comme des agents de stabilisation des nanoparticules d'Or dans un milieu organique. La caractérisation structurale et microstructurale des produits élaborés est réalisée par les différentes méthodes d'analyse et de caractérisation telles que, la spectroscopie UV-Visible, la microscopie électronique (TEM et SEM), la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) et la résonance magnétique nucléaire du proton (RMN¹H).

Dans la deuxième partie, nous donnerons un aperçu général sur les polluants organiques présents dans certains plastiques, sur les méthodes d'élaboration des électrodes modifiées par les polymères, sur les capteurs électrochimiques, ainsi que les techniques électrochimiques d'analyse. Nous allons présenter aussi les résultats expérimentaux obtenus concernant la réalisation des capteurs chimiques et leurs caractérisations. Deux capteurs électrochimiques ont été réalisés, le premier a été élaboré par modification d'un substrat en Or par le DDT-PNVP et utilisé pour la détection du BPA. Le deuxième capteur est élaboré par modification d'une électrode de carbone vitreux, en utilisant le poly[DMAEMA-co-Styrène]. Cette électrode est utilisée pour la détection de la mélamine. La caractérisation structurale des capteurs élaborés est réalisée par les différentes méthodes d'analyse et de caractérisation telles que, les mesures d'angles de contact, la voltamétrie cyclique (CV), la spectroscopie d'impédance électrochimique (EIS), et la microscopie à force atomique (AFM). L'efficacité de détection des polluants organiques (Bisphénol A et mélamine) a été étudiée en utilisant la spectroscopie d'impédance électrochimique.

Partie I

Les Nanomatériaux

Chapitre I.1

État de l'Art sur les Nanomatériaux

1. Introduction

Les recherches sur les nanocomposites contribuent à la révolution des nouvelles applications dans le domaine de l'électronique, de l'optique, de la catalyse et surtout dans le domaine de la santé. Les nanocomposites à base des métaux sont de grand intérêt et présentent un axe de recherche très actif. En fait, sous la forme nanométrique, le métal constitue une nouvelle classe de matériaux possédant des propriétés optiques, électroniques et chimiques distinctes, différentes du métal à l'état atomique ou à l'échelle macroscopique. Ceci s'explique par l'augmentation du nombre d'atomes à la surface avec la diminution de la taille des particules. Les atomes de surface ont un nombre faible de coordinations, par rapport aux atomes de cœur; ils sont, par conséquent, plus réactifs [1].

Dans ce contexte, ce chapitre présente une synthèse bibliographique sur les nanoparticules métalliques et les nanocomposites. Des généralités sur les méthodes de synthèse des nanoparticules métalliques, leur stabilisation et leur fonctionnalisation sont présentées. Également, les méthodes d'élaboration de nanocomposites et leurs applications les plus intéressantes sont citées.

2. Les nanoparticules

Une nanoparticule est définie comme un assemblage d'atomes dont au moins une des dimensions se situe entre 1 et 100 nm (Figure I.1.1) [2]. Les nanoparticules sont généralement classées en trois catégories [3]:

- Nanoparticules organiques: les nanoparticules organiques sont des particules biodégradables et non toxiques telles que les dendrimères, les micelles et les liposomes. Elles sont les plus utilisées dans le domaine biomédical, comme des systèmes d'administration de médicaments.
- Nanoparticules inorganiques: les nanoparticules inorganiques sont des particules à base de métal ou d'oxyde métallique.
- Nanoparticules à base de carbone: ces nanoparticules sont entièrement constituées de carbone tels que les fullerènes, le graphène, les nanotubes de carbone (CNT), les nanofibres de carbone et le noir de carbone.

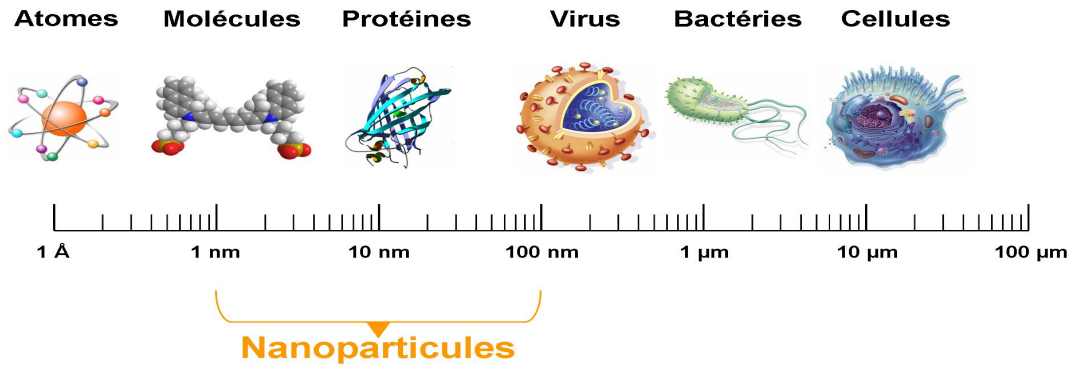


Figure I.1.1. Taille des nanoparticules comparée à celles des structures chimiques et biologiques.

Généralement, les suspensions des nanoparticules dans un liquide sont appelées souvent suspensions colloïdales. La stabilité d'une telle solution dépend de l'équilibre des interactions attractives et répulsives qui s'exercent sur les particules en solution. Les nanoparticules d'Or sont les plus synthétisées et conservées sous la forme d'une suspension colloïdale. La suspension colloïdale en Or avec des particules sphériques dans l'eau montre une couleur rouge intense. Cependant, la couleur de la solution colloïdale change en fonction de la taille et la forme des nanoparticules [4,5]. Aujourd'hui, il existe des nanoparticules d'Or de différentes formes synthétisées selon des méthodes de synthèses spécifiques (Figure I.1.2).

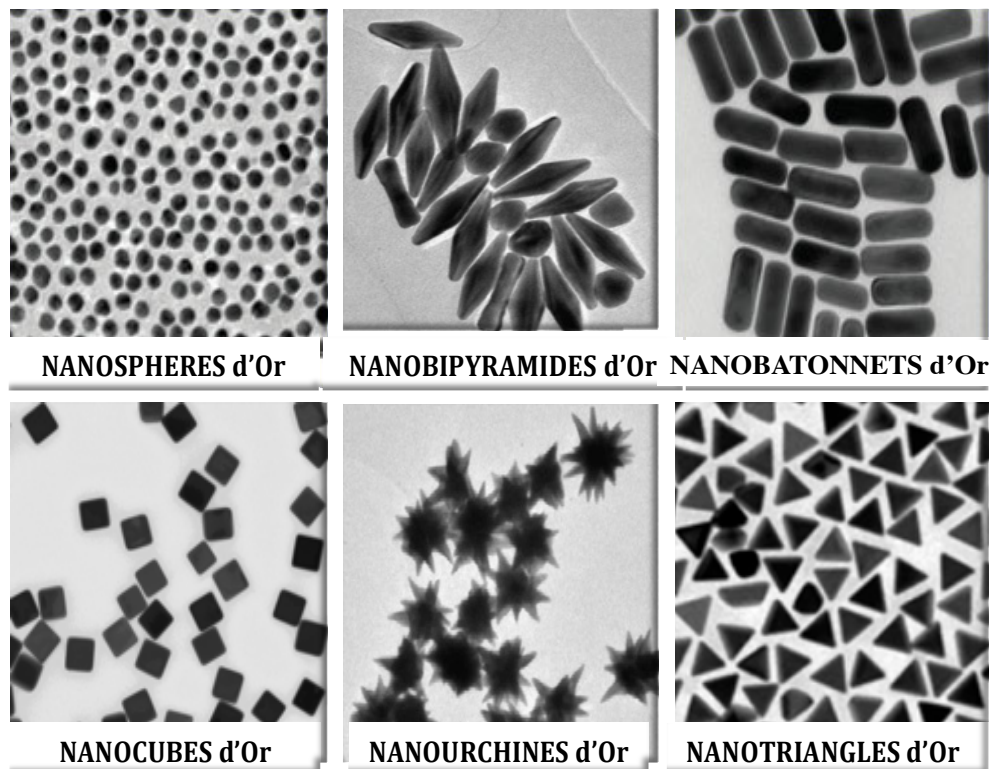


Figure I.1.2. Images TEM des différentes formes des nanoparticules d'Or

3. Synthèse des nanoparticules métalliques

Les procédés de synthèse des nanoparticules métalliques sont nombreux, la plupart sont connus depuis des décennies. Ici, seules quelques techniques de synthèse seront discutées brièvement. Il existe deux méthodes de synthèse pour les nanoparticules: l'approche ascendante «bottom-up» et l'approche descendante «top-down» (Figure I.1.3).

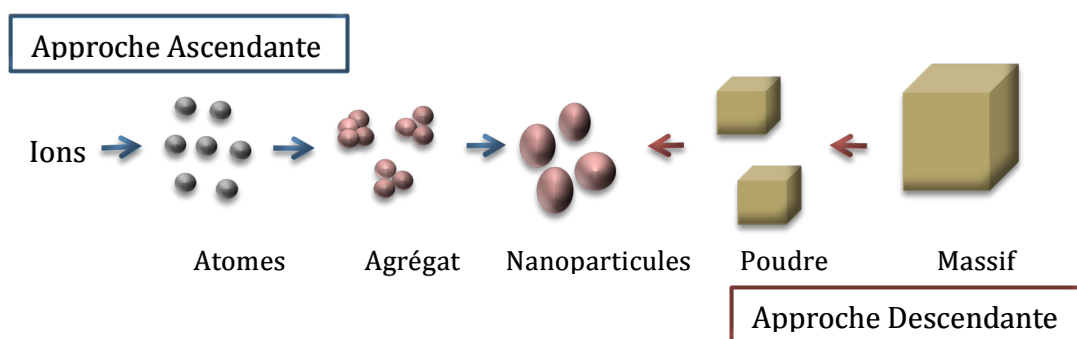


Figure I.1.3. Représentation schématique des deux grandes approches de synthèse des nanoparticules

Dans l'approche ascendante «bottom-up», les nanoparticules sont construites à partir d'ions métalliques; elle consiste à élaborer des nanoparticules via l'assemblage d'atomes. La production de nanostructures pour diverses applications est habituellement produite par cette méthode; elle permet un meilleur contrôle de la surface des nanoparticules, tel que, le revêtement et la fonctionnalisation. Par contre, dans l'approche descendante «top-down», les nanoparticules sont directement fabriquées à partir du métal à l'état massif; il est progressivement érodé par des processus physico-chimiques jusqu'à des dimensions nanométriques [4,6,7].

3.1. Les méthodes chimiques

Il existe plusieurs procédés chimiques de synthèse de nanoparticules métalliques, les plus utilisées sont: la méthode sol, la méthode sol-gel, la technique de microémulsion, la synthèse hydrothermale, la synthèse de polyol, la synthèse électrochimique et dépôt chimique en phase vapeur assisté par plasma [3,8].

- **La méthode sol:** dans le procédé sol, la production des nanoparticules est réalisée par réduction chimique des ions métalliques présents dans la solution. Ce procédé nécessite l'utilisation d'agents réducteurs dissous aussi dans la solution [9,10].

- **La méthode sol-gel:** dans le procédé sol-gel, il existe deux types de composants, le “sol” qui est une suspension colloïdale de particules solides dans une phase liquide, le “gel” qui est une macromolécule solide dissoute dans un solvant. Le sol-gel est la méthode ascendante la plus préférée en raison de sa simplicité. La plupart des nanoparticules peuvent être synthétisées à partir de cette méthode, les oxydes et les chlorures métalliques sont les précurseurs généralement utilisés dans le procédé sol-gel [11].
- **La technique de micro-émulsion:** les microémulsions peuvent être définies comme des dispersions thermiquement stables et macroscopiquement homogènes contenant au minimum trois composants, la phase polaire w (généralement l'eau), la phase non polaire O (généralement un liquide ou une huile hydrocarbonée) et un tensioactif. Les molécules des tensioactifs créent la couche interfaciale séparant les phases aqueuses et organiques, en réduisant la tension interfaciale entre la microémulsion et la phase excédentaire, en agissant comme une barrière stérique empêchant la coalescence des gouttelettes. Le système micellaire w/o est considéré comme un excellent procédé pour la synthèse des NPs [12].
- **La synthèse polyol:** le procédé polyol implique la réduction d'un sel métallique utilisé comme précurseur par un polyol, habituellement de l'éthylène glycol (EG) à une température élevée voisine de 160 °C, le polyol peut servir à la fois de solvant et d'agent réducteur. Afin d'empêcher l'agglomération des particules l'agent stabilisant couramment utilisé est le poly(vinylpyrrolidone) (PNVP). EG, comme les autres polyols, s'oxyde probablement en donnant des groupes aldéhyde. Le pouvoir de réduction de l'EG dépend fortement de la température, ce qui donne la possibilité de contrôler les processus de nucléation et de croissance en agissant sur la température de la réaction. Ce procédé a été utilisé pour synthétiser une large gamme de NPs à base de métaux (Ag, Pt, Pd, Pr, Cu) et d'oxydes métalliques (ZnO, Cu₂O, Fe₂O₃) [13].
- **La voie électrochimique:** la voie de synthèse électrochimique, largement utilisée, consiste soit à la dissolution oxydative d'une anode en Or pour former des ions métalliques qui vont ensuite être réduits à la cathode ou la réduction directe des ions métalliques issus d'un sel précurseur dissous dans la solution électrolytique. L'agglomération des atomes métalliques en présence du sel d'ammonium quaternaire servant à la fois d'électrolyte et d'agent stabilisant permet d'obtenir des nanoparticules

stabilisées par effet électrostatique [14].

- **Dépôt chimique en phase vapeur (CVD):** Le CVD est un procédé utilisé pour produire des matériaux solides de haute performance, et de grande pureté. Ce procédé est souvent utilisé dans l'industrie des semi-conducteurs pour produire des couches minces. Dans un procédé CVD typique, le substrat est exposé à un ou plusieurs précurseurs en phase gazeuse, qui réagissent et/ou se décomposent à la surface du substrat pour générer le dépôt désiré. Les films minces produits par le procédé CVD dans certaines conditions contiennent également des particules ultrafines [15].

3.2. Les méthodes physiques

Les méthodes physiques appliquent une pression mécanique, des rayonnements à haute énergie, de l'énergie thermique ou de l'énergie électrique pour provoquer l'abrasion, la fusion, l'évaporation ou la condensation du matériau afin de générer des NPs. Ces méthodes opèrent principalement avec une stratégie descendante et elles sont avantageuses car elles produisent des NPs monodispersées et uniformes [3,8]. Les approches physiques les plus importantes incluent l'évaporation-condensation et l'ablation au laser. Ces techniques sont basées sur l'évaporation d'une cible métallique, soit par chauffage à l'aide d'une résistance ou par le bombardement de la cible à l'aide d'un laser ou d'ions d'un gaz inerte, suivie de leur condensation contrôlée aux nanoparticules. Les méthodes d'ablation au laser sont devenues des techniques couramment utilisées [16]. À faible flux laser, le matériau est chauffé par l'énergie laser absorbée et s'évapore ou se sublime. À flux élevé, le matériau est converti en plasma. Après, les vapeurs métalliques doivent être condensées dans un milieu dispersant (l'hélium ou l'argon) à une pression proche de 100 Pascals. À la suite de collisions interatomiques avec des atomes de gaz, les atomes métalliques évaporés perdent leur énergie cinétique et se condensent sous la forme de petites particules. Diverses nanoparticules métalliques telles que l'argent et l'Or ont été déjà synthétisées en utilisant la méthode d'évaporation-condensation. L'absence de contamination par le solvant est l'avantage des approches physiques en comparaison avec les procédés chimiques [17].

4. Propriétés optiques des nanoparticules d'Or

Les propriétés les plus importantes des nanoparticules d'Or sont les propriétés optiques. En 1857, Faraday fabriqua de l'Or colloïdal pour la première fois en réduisant un sel d'Or (NaAuCl_4) par une solution réductrice à base de phosphore blanc dissous dans du disulfure de carbone. Il publia un article scientifique sur la synthèse de l'Or colloïdal, dans lequel il expliqua l'interaction lumière-matière. Selon Faraday la couleur rougeâtre (rubis) de la solution colloïdale (Figure I.1.4) était due à la taille extrêmement petite des particules d'Or en solution [18,19]. Depuis cette date-là, l'interaction entre les nanoparticules et la lumière a été largement étudiée. Les propriétés optiques des nanoparticules changent lorsque leur taille approche la nanométrie et que le pourcentage d'atomes à la surface d'un matériau devient significatif [20-22].



Figure I.1.4. Solutions colloïdales de Faraday (Royal Institution of Great Britain, Londres) [19]

4.1. Bande plasmon de surface

Les nanoparticules d'Or ont été largement utilisées pour des applications très intéressantes comme, par exemple, des agents de contraste pour la bio-imagerie, en raison de leurs propriétés optiques uniques. Ces propriétés sont dues à l'interaction de la lumière avec des électrons sur la surface des nanoparticules. À une longueur d'onde spécifique de la lumière, l'oscillation collective des électrons sur la surface des nanoparticules, provoquée par l'interaction avec le champ électromagnétique, conduit à la

délocalisation des électrons de la bande de conduction des nanoparticules et à l'augmentation de la polarisation des charges (Figure I.1.5). Ceci provoque un phénomène de résonance plasmon de surface (SPR en anglais), entraînant une forte extinction (absorption-diffusion) de la lumière (bande plasmon). La fréquence du SPR dépend du type de métal, de la taille et de la forme des nanoparticules, de la modification de la surface, ainsi que de la constante diélectrique du milieu environnant. Cet effet est généralement absent dans les atomes individuels et en forme massif [23,24].

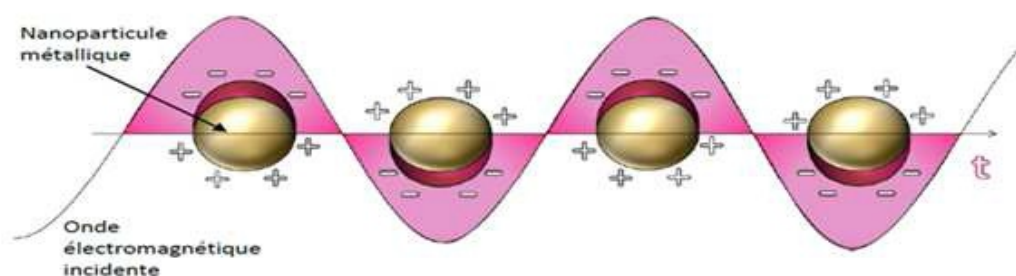


Figure I.1.5. Le mouvement d'oscillation des électrons de la bande de conduction d'une nanoparticule après l'interaction avec le champ électromagnétique

4.2. Effet de la taille des nanoparticules d'Or

Lorsque la taille des particules augmente, la longueur d'onde de l'absorption associée à la résonance de plasmon de surface se déplace vers des longueurs d'onde plus grandes selon la théorie de Mie [23,25,26]. La lumière rouge est ensuite absorbée, et la lumière bleue se réfléchit, obtenant des solutions de couleur bleue pâle ou violette (Figure I.1.6). La résonance de plasmon de surface peut être observée en modifiant la taille ou la forme des nanoparticules, ce qui conduit à des particules avec des propriétés optiques adéquates pour différentes applications [27]. L'influence de la taille des nanoparticules d'Or sur la résonance plasmonique de surface est illustrée à la figure I.1.6, ci-dessous, où le maximum d'absorption augmente de 520 nm à 570 nm pour les nanoparticules d'Or sphériques de 20 nm et 100 nm, respectivement. Les nanoparticules ayant des tailles supérieures à 100 nm ont des bandes plus larges. Cependant, les nanoparticules d'Or avec des diamètres inférieurs à 2 nm ne présentent pas de résonance plasmonique de surface.

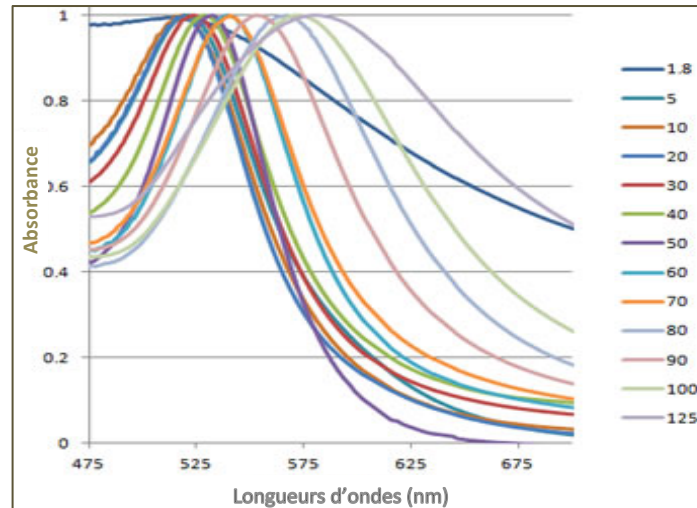


Figure I.1.6. Résonance de plasmon de surface dépendant de la taille des nanoparticules d'Or

4.3. Effet de la forme des nanoparticules d'Or

Le déterminant majeur des propriétés optiques des nanoparticules d'Or est leur forme. En synthétisant des nanoparticules d'Or de différentes formes, la résonance plasmon de surface des nanoparticules sphériques donne des maximums d'absorption compris entre 515 et 570 nm, tandis que les particules en forme irrégulière telles que les nanobâtonnets d'Or, nanocages et les nanoparticules ramifiées ont des maximums d'absorption dans la région proche du rayon infrarouge (Figure I.1.7). La différence dans les propriétés d'absorption entre les nanoparticules d'Or sphériques et irrégulières de la même taille moyenne est causée par une distribution anisotrope (inégale) des couches d'électrons de surface [28].

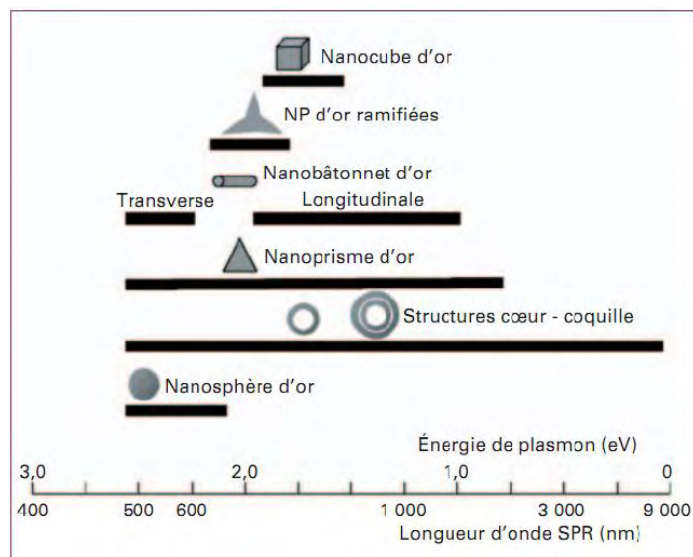


Figure I.1.7. Position de la résonance plasmon de surface pour différentes formes de AuNPs

5. Mécanismes de stabilisation des nanoparticules

Les nanoparticules métalliques ont tendance à se regrouper et même s'agglomérer sous l'effet des interactions dipôle-dipôle du type Van Der Waals (prédominant à cette échelle), et finissent par précipiter. Par conséquent, pour former une solution colloïdale de nanoparticules inorganiques stables et éviter l'agrégation des nanoparticules, lors de leur préparation, il est important de créer artificiellement une répulsion entre les nanoparticules métalliques afin de maintenir une bonne dispersion de ces dernières. De manière générale, on peut avoir recours à plusieurs moyens pour créer cette répulsion. Trois mécanismes de stabilisation sont proposés: la stabilisation électrostatique, la stabilisation stérique et la stabilisation électrostérique (la combinaison des deux mécanismes précédents) [5] (Figure I.1.8).

5.1. Stabilisation électrostatique

La stabilité d'une particule dans une solution est dépendante de l'énergie d'interaction totale (forces d'attraction du type Van der Waals et forces de répulsion) entre les nanoparticules. En effet, la stabilisation électrostatique est le résultat essentiellement de l'adsorption de molécules chargées à la surface des nanoparticules, ce qui entraîne une répulsion entre les particules de même charge (Figure I.1.8). Ces espèces vont créer un écran, qui va inhiber les interactions dipolaires et donc empêcher l'agglomération des particules [29,30].

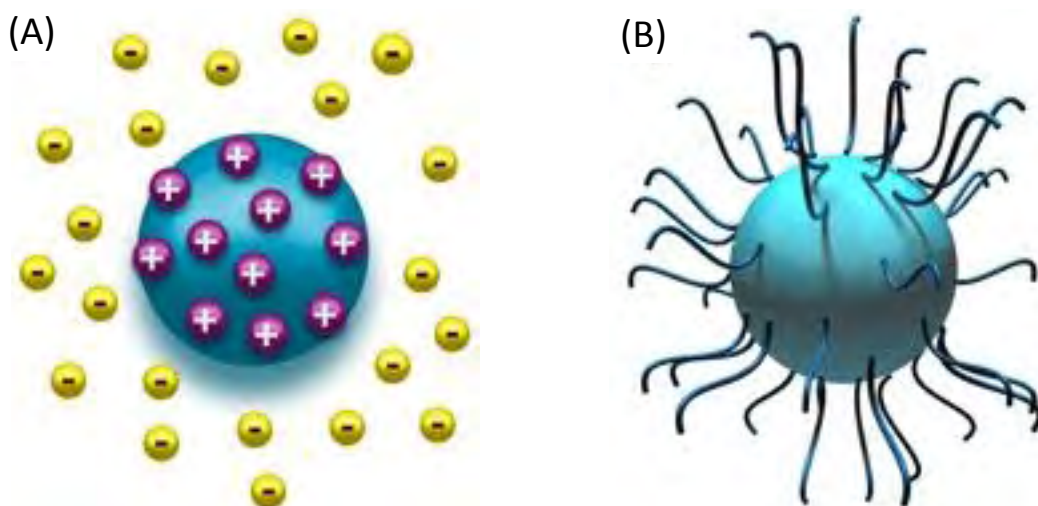


Figure I.1.8. Représentation schématique de la stabilisation électrostatique (A) et la stabilisation stérique (B).

5.2. Stabilisation stérique

La stabilisation stérique est un autre moyen de protéger les nanoparticules; elle consiste à garder les particules éloignées « physiquement » les unes des autres par répulsion stérique. On procède soit par greffage, soit par adsorption, de molécule (ou ligand) à la surface des nanoparticules (Figure I.1.8). Les ligands organiques, comme les polymères, les copolymères et les dendrimères, adsorbés à la surface des NPs forment une couche protectrice qui diminue la réactivité de surface. L'épaisseur de la couche ainsi formée autour des particules doit être supérieure aux interactions du type Van Der Waals pour pouvoir stabiliser la solution colloïdale. Contrairement à la stabilisation électrostatique (en milieux aqueux), la stabilisation stérique est efficace en milieu organique ou aqueux [9,31].

5.3. Stabilisation électrostatique

La stabilisation électrostatique est la combinaison des deux précédents mécanismes de stabilisation. Les ligands couramment employés sont, généralement, des composés organiques chargés qui bénéficient à la fois de l'effet de charge et de l'effet d'encombrement stérique. Les molécules les plus utilisées sont les polymères chargés [32].

6. Méthodes de caractérisation

Pour la caractérisation des nanoparticules métalliques, plusieurs techniques d'analyse ont été utilisées. Parmi les méthodes physico-chimiques, on peut énumérer les techniques ci-après :

6.1. Le microscope électronique

Les microscopes électroniques utilisent des électrons monocinétiques pour la formation des images. Le premier microscope électronique fut réalisé en 1932 par E. Ruska et M. Knoll. A la différence du microscope optique, le microscope électronique est doté de lentilles électromagnétiques et d'un faisceau d'électrons, alors qu'un microscope optique utilise un faisceau de lumière et des lentilles en verre. La résolution des microscopes électroniques est beaucoup plus grande; le grossissement atteint 2 millions de fois, contre 2.000 fois avec un microscope optique. L'avantage majeur du rayonnement électronique est sa courte longueur d'onde, qui permet d'obtenir une excellente résolution en des

temps raisonnables de la milliseconde à l'heure suivant le signal. Cependant, la forte interaction des électrons avec la matière empêche l'étude de matériaux macroscopiques, l'épaisseur typique d'un échantillon est de l'ordre de la dizaine de nanomètres afin d'être transparent aux électrons. Il existe plusieurs sortes de microscope électronique, les plus connus sont: le microscope électronique en transmission MET (TEM en anglais) et le microscope électronique à balayage MEB (SEM en anglais) [33].

La microscopie électronique en transmission (TEM) permet une analyse morphologique et structurale d'échantillons solides à l'échelle atomique. Cette technique repose sur l'interaction des électrons avec la matière et la détection des électrons ayant traversé l'échantillon (Figure I.1.9,B). La microscopie électronique à balayage (SEM) permet une analyse morphologique, structurale et chimique d'échantillons solides à l'échelle micronique, voire nanométrique. Elle est fondée principalement sur la détection des électrons secondaires émergents de la surface sous l'impact d'un très fin faisceau d'électrons primaires qui balaye la surface observée et permet d'obtenir des images avec un pouvoir séparateur souvent inférieur à 5 nm et une grande profondeur de champ. La SEM utilise, en complément avec les autres interactions des électrons primaires avec l'échantillon: émergence des électrons rétrodiffusés, absorption des électrons primaires, ainsi que l'émission de photons X et parfois celle de photons proches du visible. Chacune de ces interactions est souvent significative de la topographie (Figure I.1.9,A) et de la composition de la surface [34].

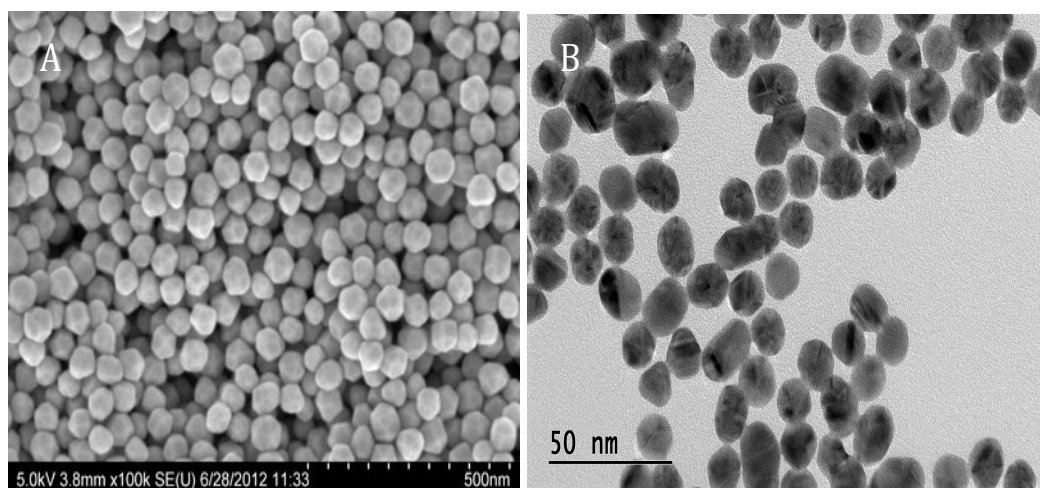


Figure I.1.9. Image de microscopie électronique à balayage (SEM) (A) et image de microscopie électronique à transmission (TEM) (B) de nanoparticules.

Les progrès de la microscopie électronique permettent d'obtenir une imagerie à haute résolution de nanoparticules uniques (NPs) pour des tailles bien inférieures à 10 nm. La microscopie électronique associée à la spectroscopie à rayons X à dispersion d'énergie (EDS) permet d'obtenir une résolution spatiale considérablement améliorée des rayons X émis. L'imagerie spectrale EDS d'une seule NP avec une résolution spatiale inférieure à 10 nm est devenue possible. L'EDS utilise le spectre des rayons X émis par un échantillon solide bombardé avec un faisceau focalisé d'électrons pour obtenir une analyse chimique localisée. Tous les éléments du numéro atomique $^4(\text{Be})$ à $^{92}(\text{U})$ peuvent être détectés par cette technique. L'analyse qualitative, impliquant l'identification des raies dans le spectre, est assez simple en raison de la simplicité des spectres de rayons X. L'analyse quantitative consiste à mesurer les intensités des raies pour chaque élément de l'échantillon et pour les mêmes éléments dans les étalons de composition connue [35]. Ceci est démontré au moyen de divers exemples de nanostructures. Le traitement de données avancé des résultats ouvre la voie à la classification automatisée des NPs par analyse des caractéristiques. Cette méthode combine la détection de structures morphologiques par traitement d'images de micrographies TEM/SEM avec la classification chimique par EDS. La figure I.1.10 représente les images d'un exemple typique des nanoparticules d'Or associées avec des nanoparticules d'argent et incubées avec le ligand acide 2-mercaptobenzoimidazole-5-carboxylique (MBIA) [36].

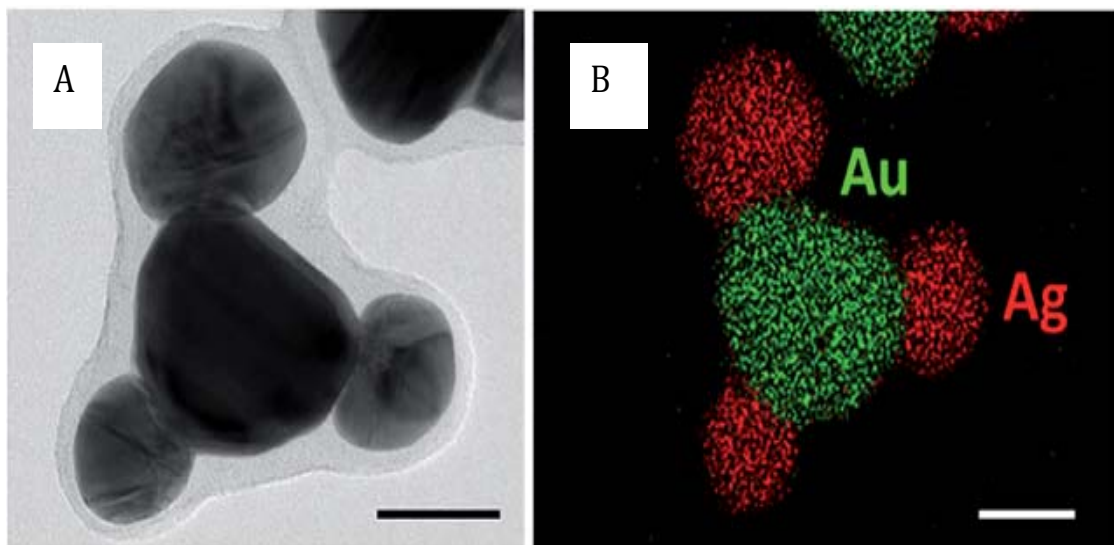


Figure I.1.10 .A: TEM image, B: EDS Cartographie d'une nanoparticule $\text{Au}(\text{Ag})_3$ typique incubée par le ligand MBIA [36].

6.2. Le microscope à force atomique (AFM)

Le microscope à force atomique (AFM) est idéal pour la caractérisation des nanoparticules. Il offre des informations qualitatives et quantitatives sur de nombreuses propriétés physiques telles que la taille, la morphologie, la texture de surface et la rugosité (Figure I.1.11). Cette technique permet d'obtenir des images tridimensionnelles d'une surface avec une résolution nanométrique. Les données statistiques, y compris les distributions de taille, de superficie et de volume, peuvent également être déterminées. Une large gamme de taille de particules peut être caractérisée dans le même balayage de 1 nanomètre à 8 micromètres. En outre, l'AFM peut caractériser les nanoparticules dans de multiples milieux, y compris l'air ambiant, les environnements contrôlés et même les dispersions liquides. La microscopie à force atomique (AFM) dessine la topographie des échantillons avec une résolution extrêmement élevée jusqu'à l'atomique en enregistrant les forces d'interaction entre la surface et une extrémité pointue montée sur un porte-à-faux. L'AFM fournit des informations spatiales parallèles et perpendiculaires à la surface. En plus des informations topographiques à haute résolution, les propriétés locales des matériaux telles que l'adhérence et la rigidité peuvent être étudiées en analysant les forces d'interaction entre les pointes et les échantillons [37].

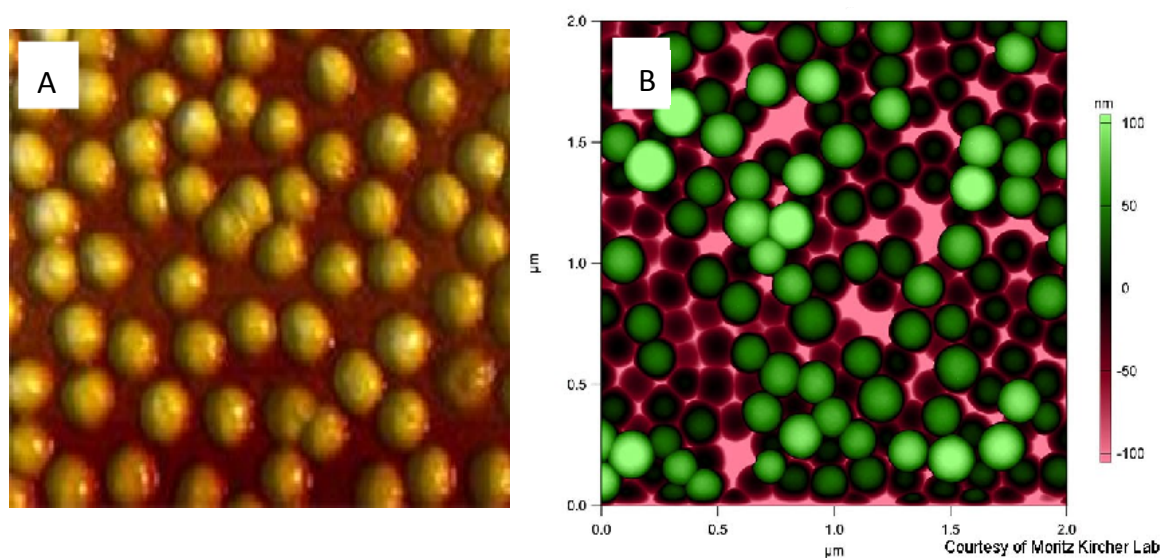


Figure I.1.11. A: AFM topographie des nanoparticules d'Or. B: AFM associé avec un Microscope Fluorescent Optique Inverti des nanoparticules d'Or.

6.3. Diffusion dynamique de la lumière (DLS)

La diffusion dynamique de la lumière (Dynamic Light Scattering DLS) est une technique analytique utilisée pour mesurer la taille et la distribution de la taille des particules de taille submicronique. Pour la mesure, une suspension de particules est éclairée par un rayon laser, et la fluctuation de la lumière diffusée est détectée et analysée afin d'acquérir la vitesse du mouvement brownien des particules en déduisant ainsi leur taille. La DLS détermine, non seulement, la taille physique du noyau des nanoparticules, mais aussi le revêtement de surface et la couche de solvant associée à la particule. Par conséquent, la conjugaison de molécules telles que les polymères à la surface des nanoparticules d'Or augmente leur taille hydrodynamique. Cette technique fournit donc un autre outil pour évaluer les modifications de surface. L'agrégation des nanoparticules d'Or peut également être mesurée avec la DLS. Comme les nanoparticules d'Or monodispersées non agrégées sont mesurées avec la DLS comme une population de taille unique, l'agrégation des particules peut présenter un élargissement du pic, une augmentation de la taille hydrodynamique et même de multiples populations (Figure I.1.12). Les mesures DLS des nanoparticules d'Or sont une technique très sensible et peuvent être appliquées pour mesurer la taille des particules, en caractérisant la modification de surface, et en surveillant la stabilité des nanoparticules d'Or sur une période de temps [38].

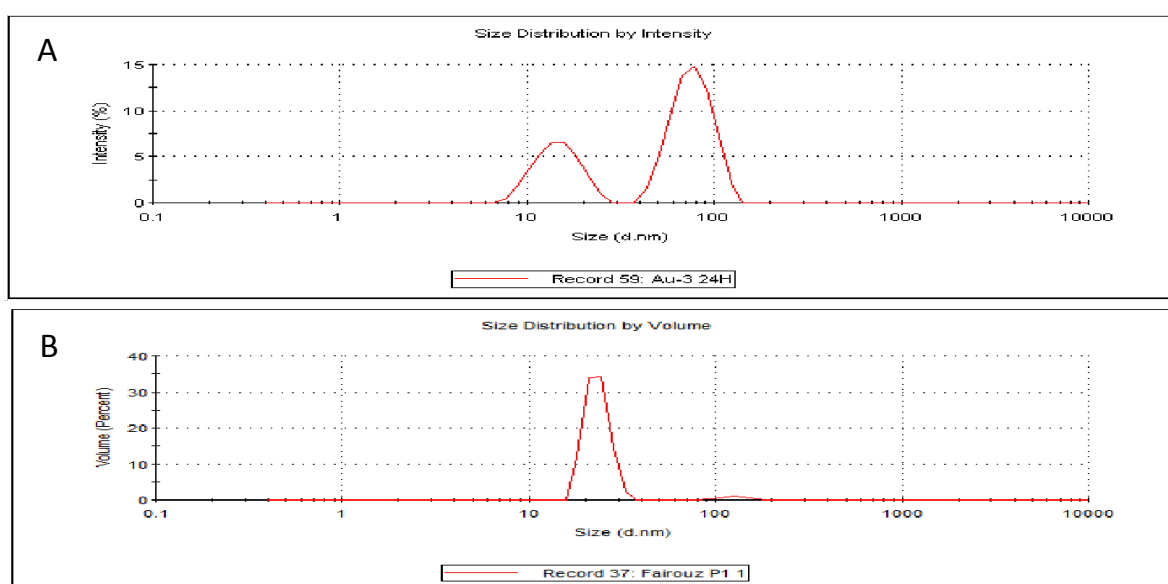


Figure I.1.12. Courbes de DLS des nanoparticules d'Or. A: Polydispersées, B: Monodispersées.

6.4. Spectroscopie UV-Visible

La spectroscopie UV-Visible a toujours été utilisée pour détecter la bande de résonance de plasmon de surface (SPR) des nanoparticules métalliques. La SPR des nanoparticules dépend fortement de la taille des particules, de la forme des particules, du ligand stabilisant et aussi du solvant [39-41]. Les spectres UV-Visibles peuvent également être utilisés pour évaluer la fonctionnalisation des nanoparticules d'Or. Lors de la liaison des ligands à la surface des nanoparticules d'Or, la bande d'absorption se déplace vers le rouge de quelques nanomètres. Ce décalage est le résultat d'une augmentation de l'indice de réfraction local à la surface des nanoparticules d'Or. De même, les états d'agrégation des nanoparticules d'Or, c'est-à-dire le couplage inter-particules irréversible, s'accompagnent également d'un décalage vers le rouge dans le spectre UV-Visible, ainsi que de l'élargissement des pics d'adsorption et d'une diminution des intensités des pics [42]. Les états d'agrégation sont également visiblement détectés par un changement de couleur de la solution du rouge au bleu-violet [43]. Les mesures par spectroscopie UV-Vis fournissent donc une méthode simple pour évaluer à la fois la stabilité des nanoparticules d'Or (Figure I.1.13), et l'évaluation de l'efficacité de modification de surface.

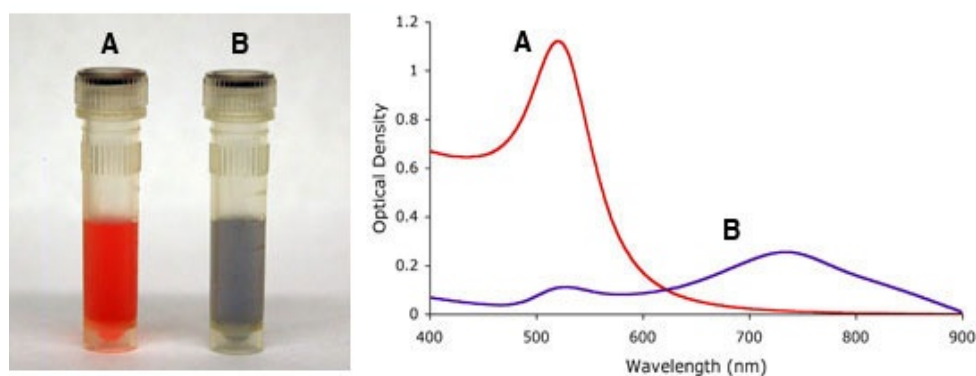


Figure I.1.13. Spectres UV-Visible et la couleur de la solution de: (A) nanoparticules d'Or monodispersées, (B) nanoparticules d'Or fortement agglomérées après l'ajout du chlorure de sodium (NaCl).

7. Synthèse des nanoparticules d'Or par réduction chimique

Depuis les travaux de Michael Faraday, de nombreuses méthodes de synthèse des nanoparticules d'Or ont été décrites en utilisant différents types de réducteurs et conduisant à des tailles et à des morphologies différentes. En général, la synthèse par voie chimique des nanoparticules la plus utilisée est basée sur la réduction des sels de

précurseur métallique (HAuCl_4 , NaAuCl_4 , AuClPPH_3 ...), en présence d'agent réducteur et d'agent stabilisant, dans des milieux aqueux ou organiques. En modifiant certains paramètres tels que la température, la nature et la concentration des réactifs et des agents stabilisants, la vitesse d'agitation ou le pH de la réaction, il est possible d'obtenir des nanoparticules contrôlées avec les propriétés souhaitées (taille et forme) [44,45]. Cette réduction aisée d'Or (III) ou Au (I) sous forme de Au (0) est due au fait que l'Or est l'élément le plus électronégatif des métaux de transition, la source d'électrons est généralement l'agent réducteur. Le mécanisme de cette réaction passe par des étapes successives de nucléation, d'aggrégation et de croissance pour obtenir des nanoparticules (Figure I.1.14).

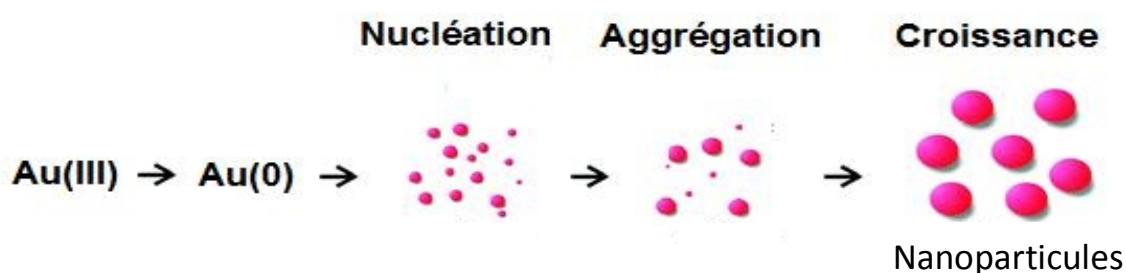


Figure I.1.14. Mécanisme de formation des nanoparticules d'Or

La réduction chimique est la méthode la plus utilisée pour la synthèse de nanoparticules. Elle permet un meilleur contrôle de la taille et de la morphologie des nanoparticules. En général, tous les produits chimiques ayant un caractère réducteur sont appropriés pour produire des nanoparticules tels que les borohydrides, l'hydrazine, l'acide ascorbique, les amines aromatiques et les alcools (hydroquinone, éthanol, poly(alcool vinylique)...). Également, l'emploi de la «chimie verte» a progressé ces dernières années, et les nanoparticules peuvent être formées par des produits organiques naturels par une réduction chimique, comme le chitosane [46], les polysaccharides [47], le thé [48] et les extraits de plantes [49].

7.1. Synthèse in-situ des nanoparticules d'Or (système monophasé)

En solution aqueuse, la méthode de synthèse proposée par Turkevich (1951) permet de produire des solutions colloïdales d'Or stables. Cette méthode est couramment utilisée et le plus souvent citée dans la littérature pour préparer une solution colloïdale de

nanoparticules d'Or en milieu aqueux. Ce procédé, permet l'obtention de nanoparticules d'Or monodispersée de forme sphérique et de taille variant entre 15 à 20 nm [50]. En raison du faible pouvoir réducteur du citrate de sodium, la préparation des nanoparticules d'Or est effectuée en chauffant jusqu'à l'ébullition une solution aqueuse d'acide chloro-aurique (HAuCl_4), puis à ajouter une solution de citrate de sodium. L'ion citrate se comporte à la fois comme agent réducteur et stabilisant; il s'adsorbe à la surface des particules pour créer une couche protectrice chargée négativement (Figure I.1.15), qui engendre une répulsion électrostatique entre ces particules empêchant leur agrégation et permettant ainsi leur stabilisation.

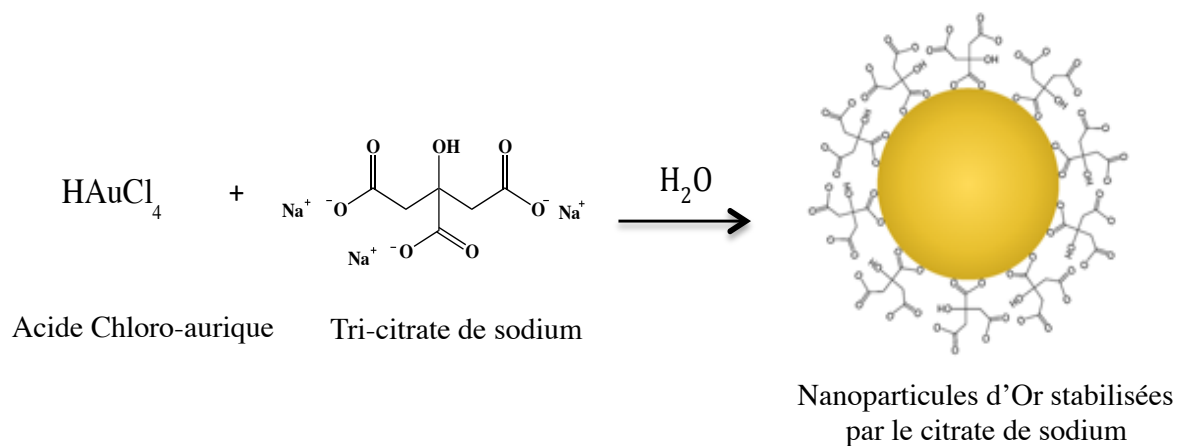


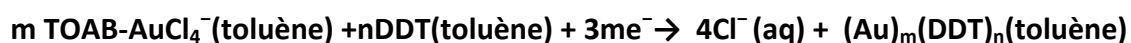
Figure I.1.15. Méthode de Turkevich pour synthétiser des solutions colloïdales d'Or.

La taille des nanosphères est contrôlée par un changement du rapport Or/citrate de sodium. En adoptant ce procédé, Frens obtenait des nanoparticules dont la taille varie entre 15 et 150 nm. Une grande concentration de citrate permet de stabiliser plus rapidement des nanoparticules d'Or de faible taille, tandis qu'une faible concentration de citrate favorise la formation de grosses particules et conduit à l'agrégation de celles-ci [51].

7.2. Synthèse des nanoparticules d'Or en deux phases liquide-liquide "B Brust method"

En 1994, Brust et Schiffrin ont proposé une méthode de synthèse de nanoparticules d'Or en milieu organique en présence d'alcanethiols: leur méthode révolutionna le monde des nanotechnologies. Cette synthèse fait intervenir un système biphasique. Une phase aqueuse contenant l'acide chloro-aurique et un agent de transfert de phase le bromure de tétra alkylammonium (TOBA), est mis en contact avec du toluène

contenant un alcanethiol (dodécane-thiol DDT). L'agent de transfert TOBA assure le passage des ions d'Or vers la phase organique. Les ions d'Or sont ensuite réduits par du borohydrure de sodium (NaBH_4), conduisant à des nanoparticules d'Or avec une taille contrôlée comprise entre 1.5 et 5 nm et recouvertes d'une mono-couche de thiol à chaîne longue [52] (Figure I.1.16). Les équations chimiques ci-dessous résument la réaction globale de formation des nanoparticules d'Or. Les nanoparticules d'Or ainsi obtenues sont solubles dans la plupart des solvants apolaires et peuvent être précipitées puis re-dispersées dans des solvants appropriés sans agrégation irréversible. Cette stabilité offrait donc une grande facilité de manipulation et une grande variété d'applications avec une grande flexibilité de caractérisation ainsi que la possibilité de procéder à des échanges de ligands. Les thiols restent les stabilisants les plus employés pour les nanoparticules d'Or avec différentes tailles à cause de la forte liaison Au-S [53-55].



Dans ce cas, la liaison des molécules de thiol à la surface des nanoparticules d'Or, et la croissance des nanoparticules d'Or se produisent simultanément. Ces nanoparticules d'Or fonctionnalisées par le thiol peuvent être facilement caractérisées et modifiées, en raison de la forte stabilité de la liaison Au-S. Il existe une hypothèse acceptée que l'utilisation de thiols conduit à la formation de thiolates (RS^-) [56,57], qui permet de contrôler la taille des nanoparticules en modifiant certains paramètres de la réaction comme l'agent réducteur et le stabilisant.

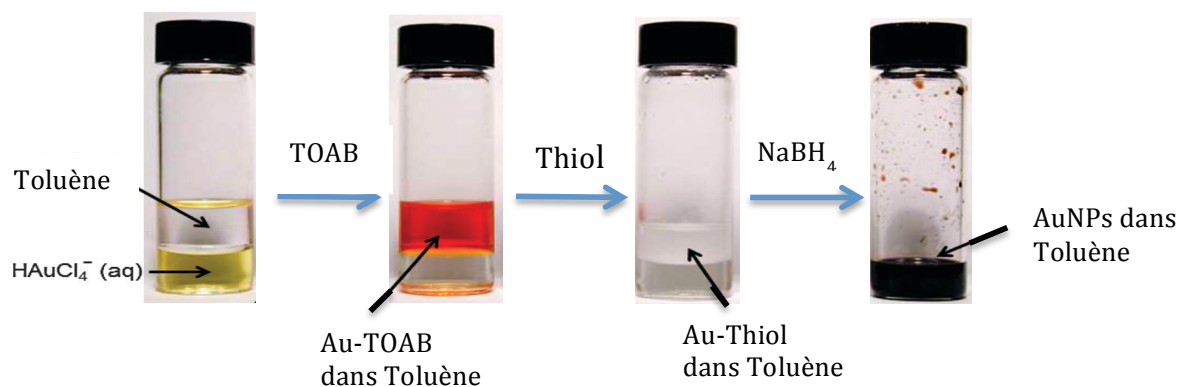


Figure I.1.16. Principales étapes de synthèse des AuNPs stabilisées par les thiols par la méthode de Brust-Schiffrin [58]

La méthode de synthèse des nanoparticules d'Or de Brust-Schiffrin a été utilisée pour générer de nouvelles nanoparticules d'Or structurées en introduisant une grande variété de groupements chimiques sur les nanoparticules. De nombreux travaux ont été réalisés en utilisant d'autres agents de fonctionnalisation tels que les alcanethiols de différentes longueurs de chaîne, les disulfures, les thioéthers et les thioacetates [52,55,59-61]. Ces méthodes permettent d'accéder facilement à des nanomatériaux fonctionnalisés avec de nouvelles propriétés. Cependant, les nanoparticules résultantes contiennent des impuretés azotées sur la surface des nanoparticules en raison de l'agent de transfert de phase [62]. En plus du problème de contamination, la méthode de Brust-Schiffrin est limitée à la formation de petites nanoparticules (<10 nm de diamètre) en raison de la forte affinité des ligands thiol à la surface des particules en Or, empêchant la croissance des NPs [63]. Plusieurs ligands autres que les composés du soufre ont été utilisés pour synthétiser des nanoparticules d'Or, particulièrement, les ligands oxygénés ou azotés tels que les amines [64], les acides carboxyliques [65,66], et les phénols [67,68]. Les amines ont été les ligands les plus utilisés pour préparer des nanoparticules d'Or en raison de leur présence dans les systèmes biologiques et environnementaux tel que l'oleylamine (OA)[69].

7.3. Synthèse des nanoparticules anisotropiques à partir de noyaux "Seeding growth"

La méthode de synthèse à partir des germes dite «Seeding-growth» a été démontrée comme une voie de synthèse puissante pour générer une gamme de différents types de nanoparticules métalliques comme les nanobâtonnets, les nanofils, les nanoprismes, les nanoétoiles, etc. L'influence de la morphologie nanocristalline sur certaines propriétés physiques et chimiques, y compris l'optique et la réponse électronique ou l'activité catalytique, est très importante. L'anisotropie offre non seulement un outil polyvalent pour régler la réponse optique des nanoparticules, grâce à des variations dans leur résonance plasmon de surface localisé (LSPR), mais aussi des changements importants dans la conductivité électrique et à l'activité catalytique grâce à la disponibilité d'un Indice élevé de facettes qui peuvent faciliter l'adsorption et les réactions de surface. Cette méthode sépare l'étape de nucléation et de croissance, lors de la synthèse des nanoparticules, en introduisant des petites particules de germes pré-

synthétisées dans la solution de croissance contenant un précurseur de métal, un agent de réduction, des tensioactifs et certains additifs. Des nanoparticules d'Or avec diverses formes peuvent être synthétisées selon le type d'agents tensioactifs, d'additifs ioniques (ions d'argent) dans la solution de croissance et de la vitesse de la réaction. Également, la nature de l'halogénure utilisé dans la synthèse des AuNPs a une forte influence sur la morphologie des AuNPs; certaines formes anisotropes ne peuvent être produites que lorsque les conditions de synthèse comprennent des concentrations élevées d'un halogénure spécifique [70] (Figure I.1.17).

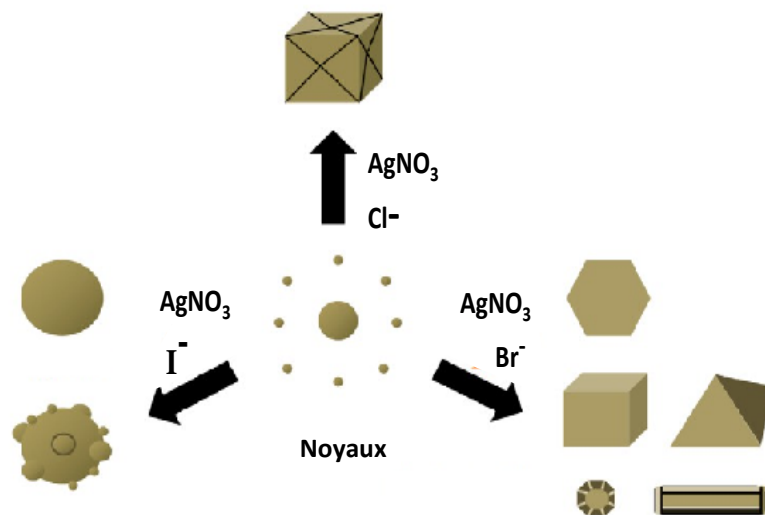


Figure I.1.17. Influence de la nature de l'halogénure sur les différentes formes des AuNPs.[70]

Les nanoparticules d'Or, de forme bâtonnets (nanorods), ont des applications très impressionnantes dans le domaine médical [71-73]. Des recherches intenses ont été réalisées pour mieux contrôler la forme de ces nanoparticules. Le protocole de synthèse consiste à préparer, en premier lieu, des particules d'Or de faibles tailles, qui sont utilisées comme des noyaux de croissance. Ces noyaux sont ensuite ajoutés à une solution contenant un sel d'Or (HAuCl_4), un réducteur faible (acide ascorbique AA) et un tensioactif (CTAB). Ici, l'utilisation d'un agent réducteur faible, incapable de réduire les ions d'Or, fait que la réduction ne se fait qu'en présence des "noyaux" ajoutés qui agissent comme catalyseurs. Ceci a pour avantage d'éviter de nouvelles nucléations indésirables lors de l'étape de croissance. En plus, l'addition de nitrate d'argent (AgNO_3) dans la solution de croissance en tant qu'agent de mise en forme améliore le rapport d'aspect des bâtonnets

(longueur/diamètre) et favorise la croissance des noyaux en 1D en formant des nanobâtonnets d'Or [70] (Figure I.1.18).

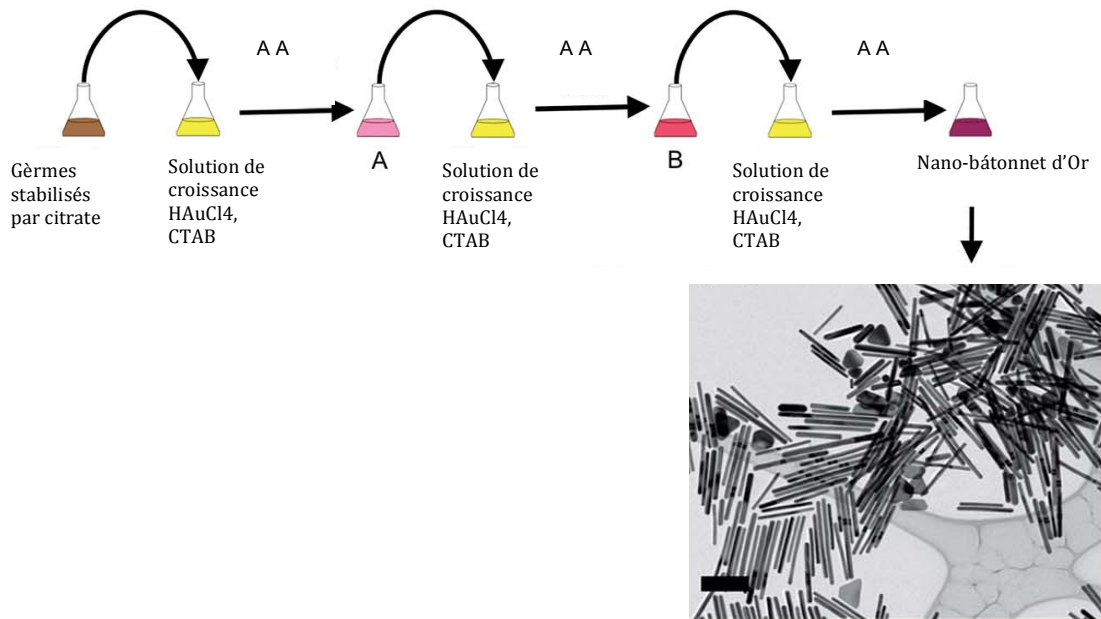


Figure I.1.18. Synthèse en trois étapes, à partir de noyaux, de longs nanobâtonnets d'Or [74]

Les nanosphères symétriques représentent une seule bande de résonance autour de 520 nm tandis que les nanobâtonnets donnent deux bandes de résonance correspondant à l'oscillation des électrons dans les directions transversales (520 nm) et longitudinales (750-800 nm), qui peuvent être clairement observées dans les spectres UV-Visible (Figure I.1.19)[75].

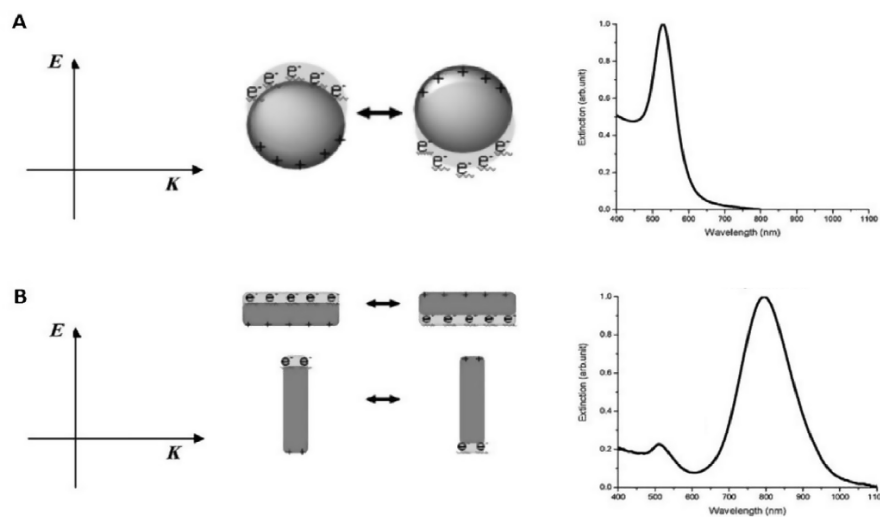


Figure I.1.19. Illustration schématique des électrons de surface des nanosphères d'Or (A), et des nanobatonnets (B) en contact avec un rayonnement électromagnétique et leurs spectres UV-Visible correspondants.

8. Méthodes d'élaboration des nanocomposites "polymère/nanoparticules métalliques"

Les nanocomposites à base de nanoparticules métalliques sont des matériaux dont les nanoparticules sont stabilisées par des polymères. Les méthodes de préparation des nanocomposites sont souvent concentrées sur l'amélioration de la dispersion des nanoparticules, car une distribution cohérente dans toute la matrice polymère s'est révélée être un facteur essentiel pour l'optimisation des performances des composites. La dispersion de nanoparticules non-modifiées est particulièrement difficile, en raison de leur tendance thermodynamique intrinsèque à se regrouper ou à s'agglomérer. Néanmoins, les méthodes de mélange à l'état fondu, de mélange en solution, de polymérisation in situ et de greffage, ont toutes montré des résultats prometteurs pour une dispersion adéquate des NPs dans la matrice polymère. Aussi, l'utilisation des nanoparticules enrobées de polymère augmente la compatibilité entre la matrice polymère et les nanoparticules [76].

Par définition, un polymère est une macromolécule formée de l'enchaînement covalent d'un grand nombre d'unités de répétition qui dérivent d'un ou de plusieurs-monomères. Généralement, la polymérisation se fait en trois étapes amorçage, propagation et terminaison (Schéma I.1.1).

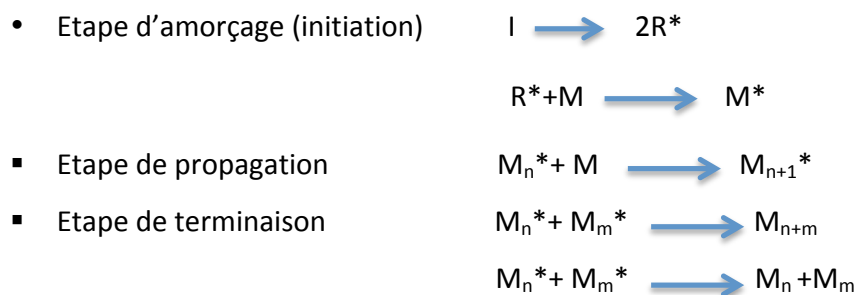


Schéma I.1.1. Les étapes de la polymérisation

La combinaison de plusieurs monomères amène à une grande variété de macromolécules (homopolymères et copolymères). Selon le type d'amorçage, il existe plusieurs types de polymérisation comme la polymérisation en chaîne (radicalaire, cationique et anionique) et la polymérisation par étapes. Les propriétés physiques et chimiques des polymères finaux sont influencées par le degré de polymérisation et la distribution des masses moléculaires et par la structure des unités répétitives. La

polymérisation radicalaire contrôlée donne des polymères avec des propriétés plus intéressantes.

L'avantage des polymères par rapport aux autres matériaux comme les métaux ou les céramiques, est de pouvoir modifier leur composition pour obtenir une plus grande variété de structures et de propriétés. S'il existe des polymères d'origine naturelle telle que la soie ou la cellulose, les polymères d'origine synthétique sont, d'une manière générale, plus intéressants par la malléabilité de leur composition. En médecine, l'inconvénient reste le manque de biocompatibilité de la majorité de ces matériaux polymères qui sont à l'origine des réactions inflammatoires lors de la mise en contact avec un milieu vivant. Malgré cela, certains de ces matériaux sont déjà très utilisés dans le milieu médical.

8.1. Mélange à l'état fondu

Le mélange à l'état fondu est une méthode couramment employée pour disperser les nanoparticules facilement et uniformément dans toute la matrice polymère. Il utilise des températures élevées et des forces de cisaillement élevées produites par des rotors contrarotatifs pour faciliter la dispersion des particules. Cette méthode est idéale pour produire des composites qui sont compatibles avec les procédés industriels modernes et très efficaces pour disperser les nanoparticules. Cependant, le mélange à l'état fondu est un processus violent et la structure du polymère peut subir des dommages à cause des forces intenses générées lors du mélange à l'état fondu [77-79].

8.2. Mélange en solution

Le mélange en solution implique la dispersion de nanoparticules en utilisant un bain ultrason à haute puissance dans un mélange à faible viscosité. Le mélange à faible viscosité est constitué de polymère et de nanoparticules dissoutes dans un solvant approprié. Une fois les nanoparticules suffisamment dispersées dans le mélange, le solvant est éliminé par évaporation ou coagulation. Plusieurs études ont été réalisées pour déterminer le solvant approprié pour diverses combinaisons polymères/nanoparticules. Cependant, la capacité du solvant à dissoudre le polymère est également un facteur important à considérer. Comme certains polymères sont insolubles dans les solvants courants, cette méthode n'est efficace qu'avec certains systèmes polymères/NPs. D'autre

part, les échantillons finaux peuvent retenir le solvant résiduel qui abaisse la T_v qui constitue un inconvénient du mélange en solution, aussi la sonification à haute puissance endommage les chaînes de polymère. Cependant, la principale raison de cette méthode est l'excellente dispersion obtenue [77,80].

8.3. Techniques in situ

La polymérisation in situ commence en dispersant les nanoparticules dans le monomère ou un mélange de monomères, puis en polymérisant la dispersion [81]. Cette méthode fournit de nombreux avantages du mélange en solution comme la bonne dispersion des NPs, due à la faible viscosité du mélange, qui ne nécessite pas l'utilisation de solvants pour dissoudre le polymère [76]. Cependant, dans certains cas, la viscosité du polymère résultant peut être trop élevée et il est nécessaire d'utiliser un solvant afin d'éviter le phénomène d'autoaccélération. Malheureusement, l'addition de solvant peut interférer avec la polymérisation et réduire la longueur des chaînes polymères due aux réactions de terminaison par transfert de chaînes.

Cette méthode convient aussi à la préparation de nanocomposite polymère/métal. En d'autres termes, les précurseurs métalliques dispersés dans la solution de monomère peuvent être réduits pendant la polymérisation in situ en formant des nanoparticules métalliques à l'intérieur du polymère. Cette méthode permet de contrôler la distribution de taille et la morphologie des NPs, et elle évite l'agglomération des nanoparticules en maintenant une bonne distribution dans le polymère [76]. D'autre part, le procédé sol-gel est l'une des méthodes les plus intéressantes pour la préparation in-situ des nanocomposites polymère/métal. Ce processus comprend deux réactions importantes, à savoir l'hydrolyse et la condensation, qui sont des processus en plusieurs étapes et se produisent successivement. La méthode sol-gel est compatible avec les polymères et les procédés de polymérisation et permet la formation de nanoparticules métalliques simultanément en cours de la réaction de polymérisation [77].

8.4. Immobilisation du polymère sur les nanoparticules métalliques

8.4.1. Greffage de polymère

Différentes techniques de greffage des chaînes de polymères sur la surface des nanoparticules sont utilisées pour permettre la déposition d'une couche de polymère à la

surface des nanoparticules. Trois stratégies de synthèse sont possibles: la méthode de synthèse directe, où la nanoparticule est synthétisée directement en présence du polymère, la méthode "Graft-to" où le polymère portant des groupements fonctionnels est greffé à la surface des nanoparticules, et la méthode "Graft-from" dans laquelle les nanoparticules sont fonctionnalisées avec des initiateurs de polymérisation ou de molécules de monomères qui permettent la croissance de la chaîne du polymère à partir de la surface des nanoparticules [82] (Figure I.1.20). Beaucoup de travaux sur la synthèse des nanoparticules d'Or fonctionnalisées par des polymères ont été rapportés au cours de la dernière décennie en utilisant des polymères contenant des groupes fonctionnels tels que thiol, thioacétate et thioether [82,83].

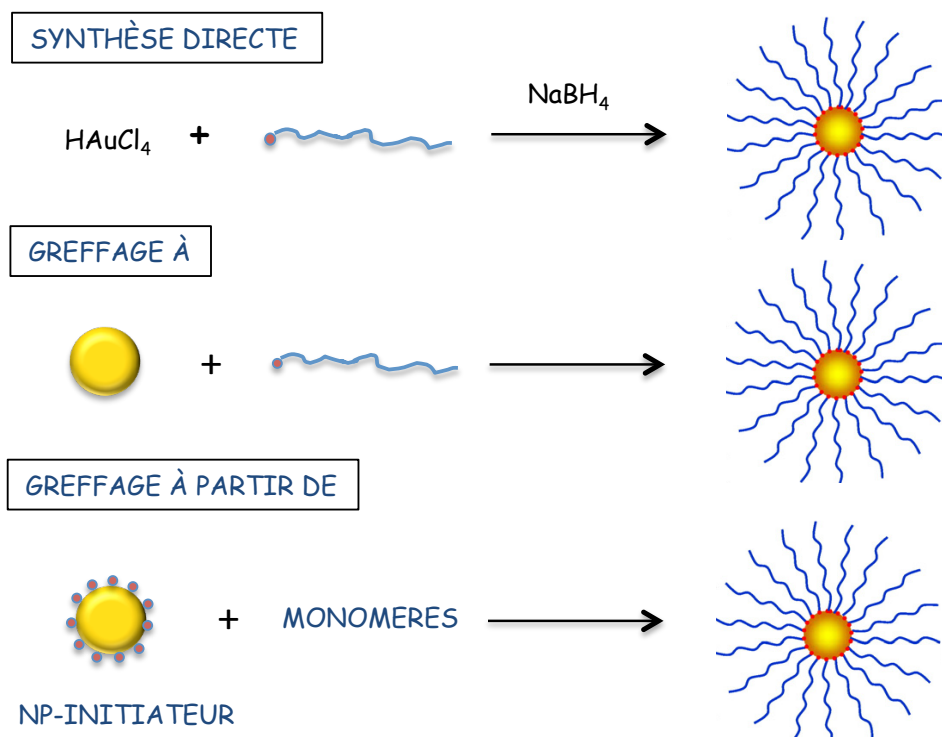


Figure I.1.20. Schéma des méthodes de synthèse des nanocomposites polymère/Nanoparticules par greffage.

8.4.1.1. Méthode de synthèse directe (in-situ)

Dans cette méthode, comme le montre la figure I.1.21, l'acide tétrachloroaurique peut être réduit directement par des agents réducteurs en présence de polymères à terminaison sulfurée, la nucléation des nanoparticules et le greffage des chaînes polymères à la surface des nanoparticules se font simultanément, dans laquelle les chaînes

polymères agissent comme un stabilisant des nanoparticules. À titre d'exemple, Xin Huang et al, ont développé une nouvelle approche pour produire des nanoparticules d'Or assez uniformes avec des diamètres d'environ 2 à 6 nm en utilisant des ligands polymères thioéther fonctionnalisés (DDT-PVAc: Dodecanethiol-poly(acétate de vinyle)) [84]. La figure I.1.21 montre la structure des nanoparticules d'Or fonctionnalisées, leurs couleurs en solution, la morphologie et les spectres UV-Visible des nanoparticules d'Or stabilisées par le DDT-PVAc, dans le toluène, à différents poids moléculaires.

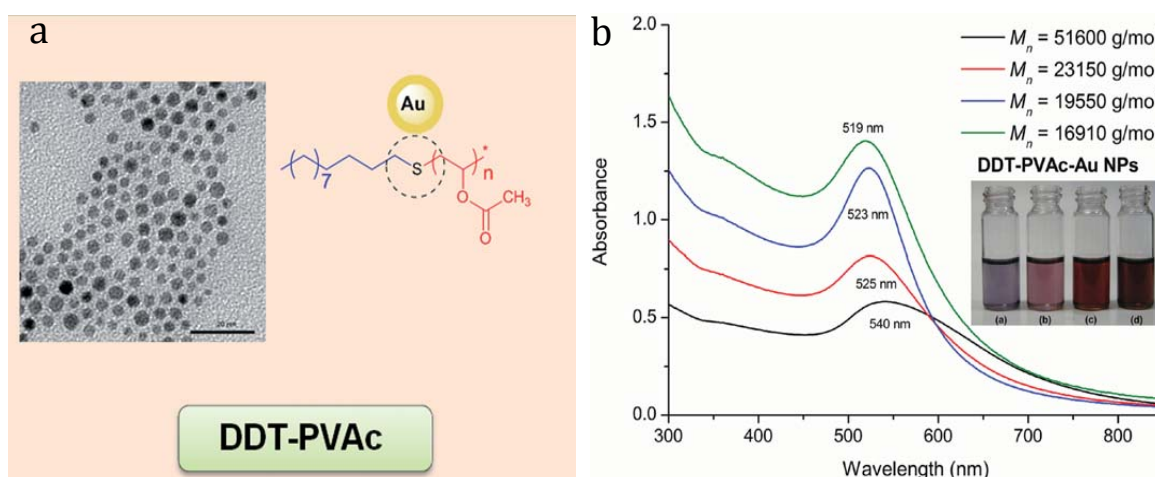


Figure I.1.21: (a) Structure et image TEM des nanoparticules stabilisées par le polymère thioéther DDT-PVAc (b) Spectres d'absorption UV-Visible de nanoparticules d'Or stabilisées avec le DDT-PVAc, dans le toluène, à différents poids moléculaires [84]

8.4.1.2. Stratégie de synthèse covalente « Graft-to »

Dans cette stratégie, les polymères à terminaison soufrée peuvent être liés directement à la surface des nanoparticules d'Or pré-synthétisées. L'avantage de la technique covalente "greffage à" est la possibilité de caractériser le polymère avant qu'il soit greffé sur la surface des nanoparticules d'Or. Dans ce qui suit, nous présentons quelques exemples de synthèse des nanoparticules d'Or enrobées par des chaînes de polymères. La synthèse des nanoparticules d'Or fonctionnalisées par le polystyrène thiol (PS-SH) et le poly(oxyde d'éthylène)thiol (PEO-SH) avec différentes masses molaires en utilisant le tétrahydrofurane (THF) comme solvant et le triéthylborohydrure de lithium (Superhydride) comme agent réducteur, a été rapportée par K. Muriel et al [85]. Dans leur travail, ils ont constaté que les densités de greffage avec les petits ligands étaient plus élevées que celles des ligands polymères. L'augmentation de la longueur de la chaîne

conduit à une augmentation de l'encombrement stérique des ligands ce qui entraîne une difficulté d'atteindre la surface de la nanoparticules, par conséquent, une diminution de la densité de greffage. Chi Thanh Nguyen et al [86], ont synthétisé des nanoparticules d'Or fonctionnalisées par un thioester polymère (copolymères à brosse brush-chol-BCP-thioester) contenant un copolymère à bloc (PMMA-g-PEO) formés de copolymères greffés et des séquences de polyméthacrylates portant un mésogène de cholestérol (Figure I.1.22). Ce copolymère contient une extrémité contenant du soufre issu de l'initiateur de polymérisation radicalaire contrôlée par l'agent RAFT, cette extrémité assure le greffage du copolymère sur les nanoparticules d'Or. La réaction de fonctionnalisation s'est produite dans le THF en tant que solvant et en présence de LiBH_4 comme agent réducteur. Les fonctions thioester situées à l'extrémité de chaîne du polymère sont préalablement réduites par le n-butylamine en thiols avant le processus de greffage sur les nanoparticules d'Or. Le produit ainsi élaboré est utilisé dans le domaine médical.

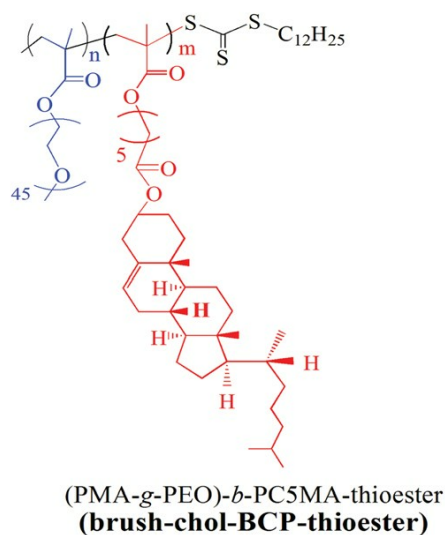


Figure I.1.22. Structure du copolymère-thioester synthétisé par la polymérisation radicalaire contrôlée RAFT et utilisé pour la fonctionnalisation des nanoparticules d'Or [86]

8.4.1.3. Stratégie de synthèse covalente « Graft from »

La stratégie de «Graft-from» a été largement utilisée pour modifier et fonctionnaliser les nanoparticules d'Or par des chaînes de polymère. Dans ce procédé, un initiateur est préalablement immobilisé sur la surface des nanoparticules d'Or. En général, l'initiateur utilisé est un dérivé thiol qui peut être facilement fixé à la surface d'Or par la

liaison Au-S. Cette étape est réalisée par réaction directe entre les nanoparticules d'Or et l'initiateur ou par échange de ligands. Ensuite, les nanoparticules d'or modifiées par l'initiateur peuvent amorcer la polymérisation de divers monomères par polymérisation radicalaire contrôlée telle que la polymérisation radicalaire contrôlée par transfert d'atome (ATRP) et la polymérisation radicalaire contrôlée par le procédé RAFT[87] (Schéma I.1.2). Dans ce cas, les chaînes polymères se développent à partir d'une monocouche de l'initiateur immobilisé à haute densité sur la surface des nanoparticules, cette dernière ne gêne pas la diffusion du monomère vers les sites de la réaction. Par conséquent, une couche uniforme de polymère peut être obtenue avec une densité de greffage relativement élevée. L'avantage de la polymérisation contrôlée est de fournir des chaînes de polymère de même longueur, ce qui conduit à la formation d'une couche d'épaisseur uniforme de polymère [88,89].

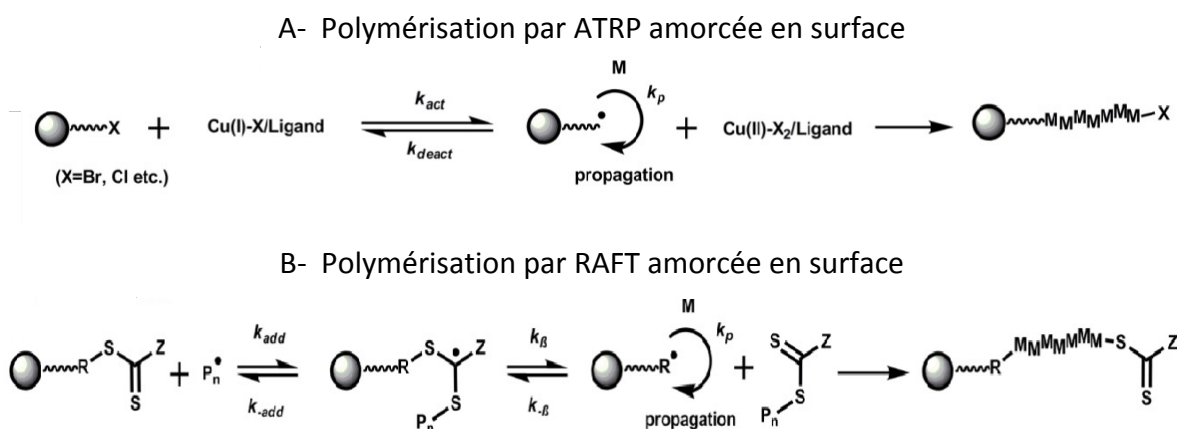


Schéma I.1.2. Mécanismes généraux de la polymérisation ATRP amorcée en surface (A), la polymérisation RAFT amorcée en surface (B)

Selon l'approche «Graft-from», Dong xiang Li et al. ont synthétisé des nanoparticules d'Or en utilisant des citrates comme réducteur et des ligands protecteurs dans des milieux aqueux et immédiatement remplacés par un initiateur disulfure [S-(CH₂)₁₁-OCOC(CH₃)₂Br]₂ par la méthode d'échange de ligand dans le DMF. Comme il est illustré schématiquement sur la figure I.1.23, la polymérisation radicalaire contrôlée par transfert d'atome (ATRP) de la 4-vinylpyridine (4VP) a été réalisée sur des nanoparticules d'Or modifiées par des molécules d'amorceur contenant une extrémité de brome, en utilisant le bromure de cuivre (I) dans un mélange de solvant (propanol/DMF) [90].

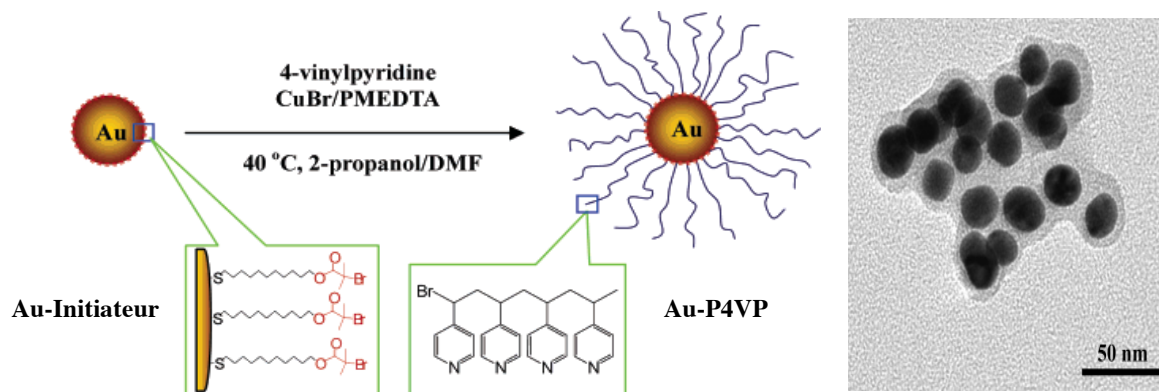


Figure I.1.23. Greffage du P4VP sur la surface des nanoparticules d'Or par ATRP. Image TEM des nanoparticules fonctionnalisées par le P4VP à pH=5. [90]

Dongxiang Li et al, ont également greffé des copolymères séquencés le poly (N-isopropylacrylamide) et le poly (méthoxy-oligo(éthylène glycol)méthacrylate) sur des nanoparticules d'Or par polymérisation radicalaire contrôlée par transfert d'atome (ATRP)[91]. La figure I.1.24 montre la préparation et les images typiques TEM et AFM des nanocomposites AuNPs-copolymère, dans lesquelles la couche de polymère externe autour des noyaux d'Or est visible, cette structure est appelée nanostructure noyau/coquille.

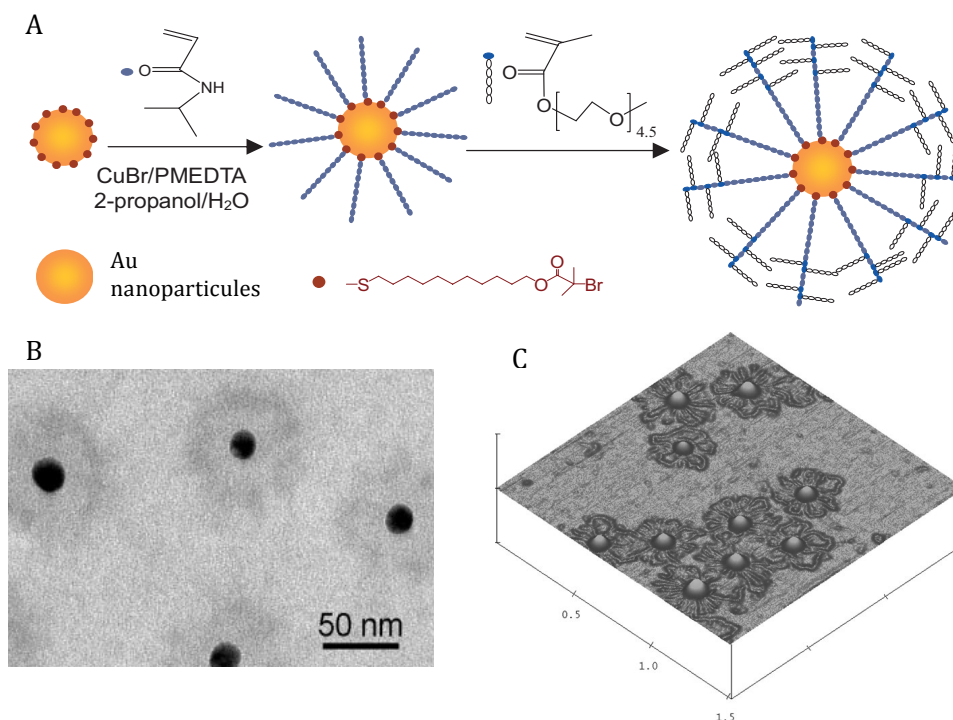


Figure I.1.24. A et B: Synthèse de nanostructures Au-copolymère et leur image TEM correspondante. C: Images AFM en 3D d'un nanocomposite Au-copolymère (Échelle 1,5 µm × 1,5 µm)[91]

8.4.2. Méthodes d'encapsulation et d'adsorption physique

Les nanoparticules inorganiques conventionnelles ont une polarité de surface élevée présentant une stabilité de dispersion extrêmement faible dans les milieux organiques. Cette faible dispersion a été surmontée en traitant la surface des nanoparticules inorganiques avec des composés organiques. Récemment, l'encapsulation de nanoparticules inorganiques dans une matrice polymère sous l'aspect colloïdal est d'une grande importance dans diverses applications telles que les cosmétiques, les peintures, etc. Au cours des dernières années l'encapsulation des nanoparticules d'Or a reçu une grande attention en tant que méthode de production de matériaux multifonctionnels. À cet égard, diverses techniques d'encapsulation à base de polymère ont été largement rapportées. Les différentes approches incluent les polymérisations en émulsion, miniémulsion et microémulsion, l'adsorption physique, l'assemblage couche par couche et le procédé double émulsion qui ont été utilisés pour l'encapsulation de nanoparticules. L'encapsulation par adsorption physique ou par la méthode couche-par-couche consiste en une seule adsorption ou l'adsorption séquentielle sur des nanoparticules chargées par des polyélectrolytes de charges opposées, cette adsorption est principalement contrôlée par une interaction électrostatique attractive, ou par des interactions spécifiques comme par exemple, la complexation, l'interaction dipôle-dipôle, etc [92].

Les polymères adsorbés à la surface des AuNPs sont susceptibles d'être détachés en raison d'un manque de liaisons chimiques entre les chaînes de polymères et la surface des AuNPs, ce qui entraîne l'assemblage des AuNPs. La réticulation entre les chaînes de polymères dans la couche de polymère située à la surface des AuNPs est un moyen efficace pour augmenter la stabilité des nanocomposites d'Or résultants. La figure I.1.25 montre des micelles à base de copolymère polystyrène-b-poly acide acrylique (PS-b-PAA) et des nanoparticules d'Or. L'enveloppe de copolymère contenant le bloc PAA hydrophile a été réticulée en utilisant un agent de réticulation, ce qui augmente efficacement la stabilité de la couche de polymère dans les solvants organiques [93].

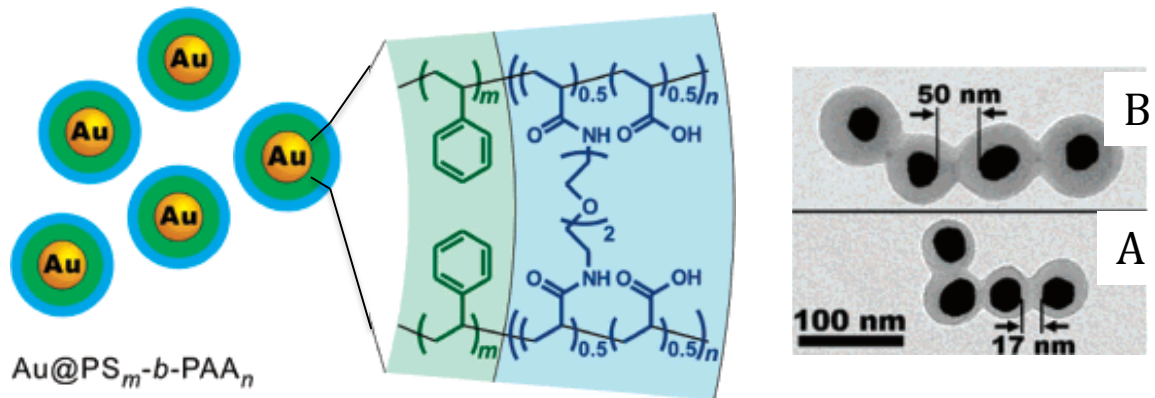


Figure I.1.25. Schéma des nanoparticules d'Or encapsulées par un copolymère à bloc PS-b-PAA réticulé. A et B: Images TEM de nanoparticules d'Or préparées avec différentes épaisseurs de polymères.[93]

9. Modification chimique de surface de nanoparticules d'Or fonctionnalisées

9.1. Par échange de ligands

Afin d'améliorer la stabilité et obtenir de nouvelles propriétés ou fonctionnalités des nanoparticules, les molécules de ligands, immobilisées à la surface des nanoparticules d'Or peuvent être échangées par d'autres molécules. Dans la stratégie d'échange de ligands, les molécules qui stabilisent les nanoparticules dans la première phase de synthèse peuvent être remplacées par d'autres ligands, par exemple en échangeant des ligands hydrophiles par des ligands hydrophobes permettent le transfert de nanoparticules d'une phase à une autre [63]. En général, les molécules de ligand couramment utilisées comprennent les groupes thiol qui se lient fortement à la surface des nanoparticules métalliques. Ces molécules remplacent les ligands faiblement liés à la surface de nanoparticules, qui sont issus, habituellement, de la phase de synthèse [94,95].

Il est bien connu que les nanoparticules d'Or uniformes peuvent être préparées par un procédé classique de réduction par les citrates (méthode de Turkevich). Les nanoparticules résultantes sont chargées négativement par des ions citrates adsorbés sur leurs surfaces entraînant ainsi la stabilisation par des répulsions électrostatiques. La couche de citrate peut être remplacée par d'autres ligands plus forts. Les chaînes de polymère, avec des extrémités soufrées, peuvent être greffées à la surface des nanoparticules d'Or par réaction d'échange de ligands. Dans un exemple typique, des nanoparticules d'Or stabilisés par les citrates, ont été greffées de manière covalente avec de la doxorubicine. La doxorubicine a été attachée à la surface des nanoparticules d'Or à

travers un groupe disulfure (Figure I.1.26). Ce dernier assure la réaction d'échange de ligands avec les molécules de citrates adsorbées à la surface des nanoparticules. Ces nanoparticules fonctionnalisées ont été utilisées pour traiter le cancer résistant aux médicaments [96].

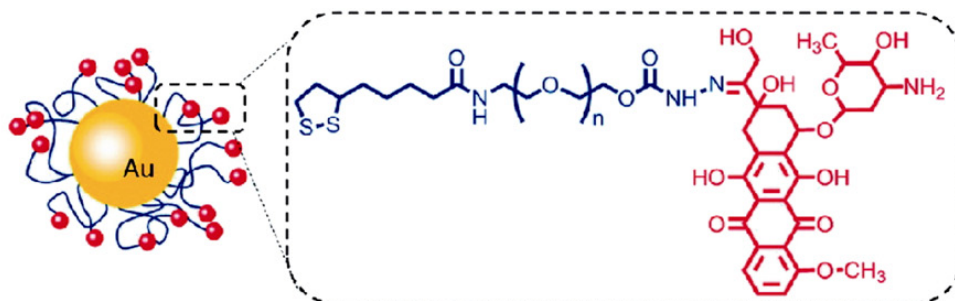


Figure I.1.26. Doxorubicine greffée à la surface des nanoparticules d'Or [96]

9.2. Par modification chimique de ligands

Les nanoparticules d'Or fonctionnalisées ont des propriétés fondamentalement différentes par rapport aux nanoparticules d'Or non fonctionnalisées; les alcanethiols fonctionnels, liés à la surface des nanoparticules d'Or, possédant des groupes réactifs tels que des groupes amine, halogène, hydroxyle et carboxylique pourraient être utilisés pour l'immobilisation covalente de nouvelles molécules avec de nouvelles fonctionnalités. La modification chimique de ligand est basée généralement sur des réactions de substitution nucléophile; La réactivité de ces systèmes dépend des groupes existant sur la surface des nanoparticules d'Or et de l'encombrement stérique des groupes entrants [53].

Les nanoparticules d'Or fonctionnalisées, avec un médicament anticancéreux le doxorubicine (DOX) et l'acide folique (FA), ont été préparées par des réactions de substitution nucléophile et de polycondensation dans un milieu organique (DMF, THF); le médicament anticancéreux, DOX, a été conjugué au polymère hydrophobe, le poly(L-aspartate-DOX) via une liaison hydrazone tandis que l'acide folique a été conjugué au polymère hydrophile, le poly(éthylène glycol-FA) (Figure I.1.27). La taille des nanoparticules Au-P(LA-DOX)- b-PEG-OH/FA a été estimée à 10-25 et 24-52 nm selon la microscopie électronique à transmission (TEM) et la diffusion dynamique de la lumière (DLS), respectivement. La liaison hydrazone est sensible au pH, ce qui conduit à un meilleur contrôle de la libération de médicaments anticancéreux [97].

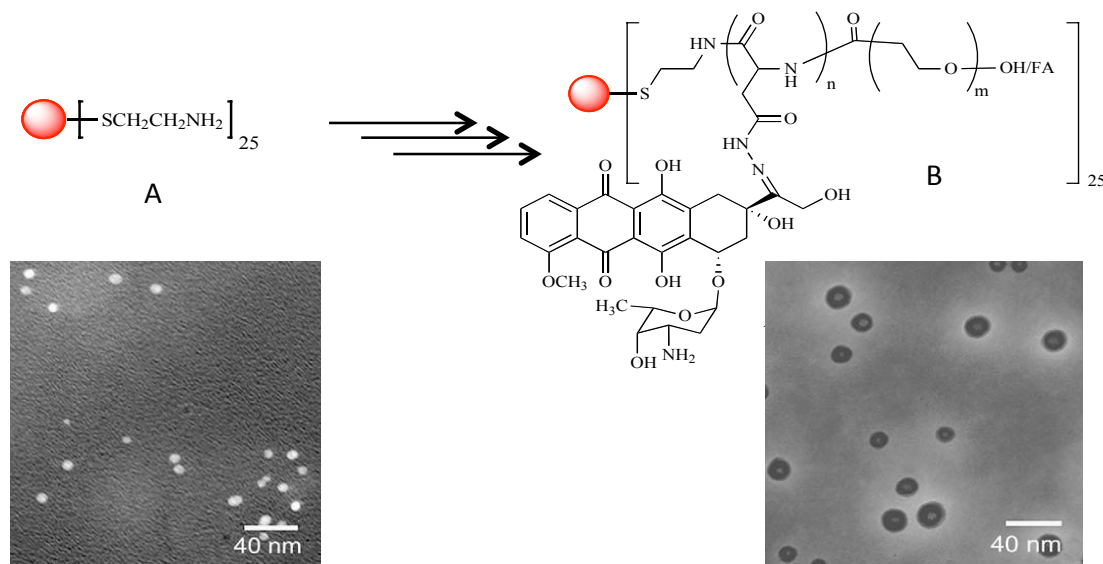


Figure I.1.27. Schéma représentant la conjugaison covalente de la doxorubicine et de l'acide folique aux nanoparticules d'Or et leurs images TEM. (A) Nanoparticules d'Or fonctionnalisées par le 2-aminoéthanethiol, (B) Structure de Au-P(LA-DOX)-b-PEG-OH/FA [97]

10. Applications des nanoparticules d'Or

Les nanoparticules d'Or colloïdales ont été utilisées pendant des siècles par les artistes en raison des couleurs produites lors de leur interaction avec la lumière visible [98]. Plus récemment, ces propriétés uniques d'optique-électronique ont été utilisées dans des applications de haute technologie telles que le photovoltaïque organique, les capteurs chimiques et biochimiques, les agents thérapeutiques, la délivrance de médicaments dans des applications biologiques et médicales et en catalyse [99-101]. Leurs possibilités d'application sont non seulement liées aux propriétés intrinsèques des nanoparticules d'Or mais aussi et surtout à leurs énormes capacités de fonctionnalisation (multi-fonctionnalisation) en surface par greffage de molécules soufrées (Figure I.1.28). Les propriétés optiques et électroniques des nanoparticules d'Or sont réglables en modifiant la taille, la forme ou les ligands à la surface des nanoparticules. Dans le domaine médical et biologique, les nanoparticules d'Or représentent en effet des objets parfaitement adaptés non seulement par leur non-toxicité mais aussi par leur gamme de taille qui leur confère une bonne biocompatibilité.

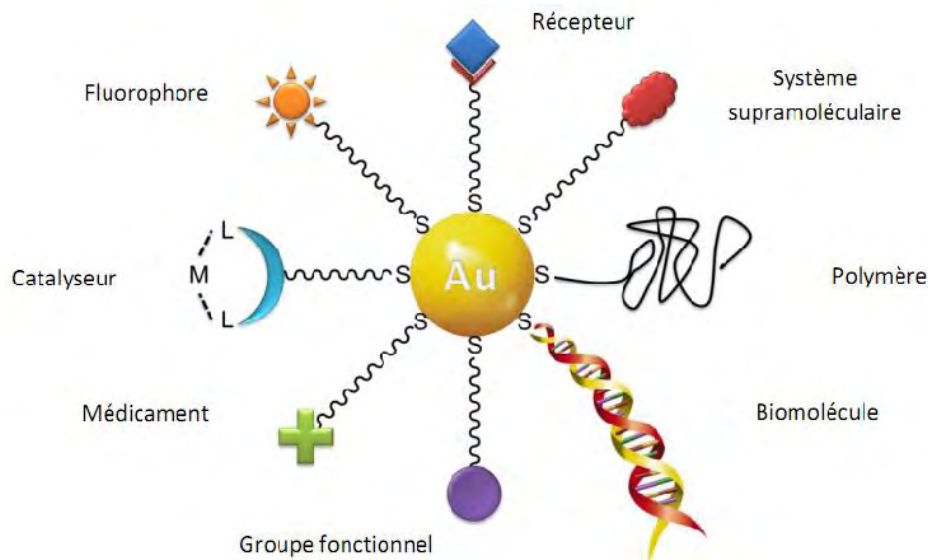


Figure I.1.28. Schéma d'une nanoparticule d'or aux fonctionnalités multiples pour diverses applications.

10.1. Diagnostic et imagerie

Les particules d'Or sont considérées comme de bons agents de contraste, puisqu'elles absorbent et diffusent la lumière, leur absorption dans la région infrarouge proche les rend appropriées pour les applications d'imagerie in vivo. L'interaction de la lumière avec des particules d'Or à l'échelle nanométrique est forte en raison de la résonance du plasmon de surface, ce qui conduit à des pics intenses d'absorption ou de diffusion dans les spectres optiques. Les nanobâtonnets sont idéaux pour les applications dans les tissus, car la pénétration de la lumière est profonde dans la gamme de 700-1100 nm, et les photons subissent moins d'absorption et de diffusion par les composants tissulaires. Les qualités de contraste optique et électronique de l'Or colloïdal ont montré d'excellente qualité de détection pour les technologies d'imagerie en microscopie électronique [21].

Un exemple des nanoparticules d'Or synthétisées et modifiées par le COOH-PEG-SH et le PEG-SH, sur lesquelles un peptide le EGF avec les 12 séquences d'acides aminés (YHWYGYTPQNVI-amide), a été immobilisé via la liaison amide en réagissant avec le groupe carboxyle du PEG bifonctionnel. Les nanoparticules d'Or obtenues montrent une bonne stabilité en solution aqueuse avant et après la modification avec le EGF. Ensuite, la phtalocyanine (Pc-4) a été adsorbée à la surface des nanoparticules d'Or par la liaison

N-Au, le nanoproduct résultant possède une émission à 685 nm en raison des propriétés de fluorescence intrinsèques de Pc-4, ce qui permet la détection de l'accumulation de médicament via l'imagerie de fluorescence in vitro et in vivo [102]. La figure I.1.29 représente l'imagerie par fluorescence des cerveaux de souris ayant des tumeurs, après un traitement par des nanoparticules d'Or fonctionnalisés par EGF et Pc-4.

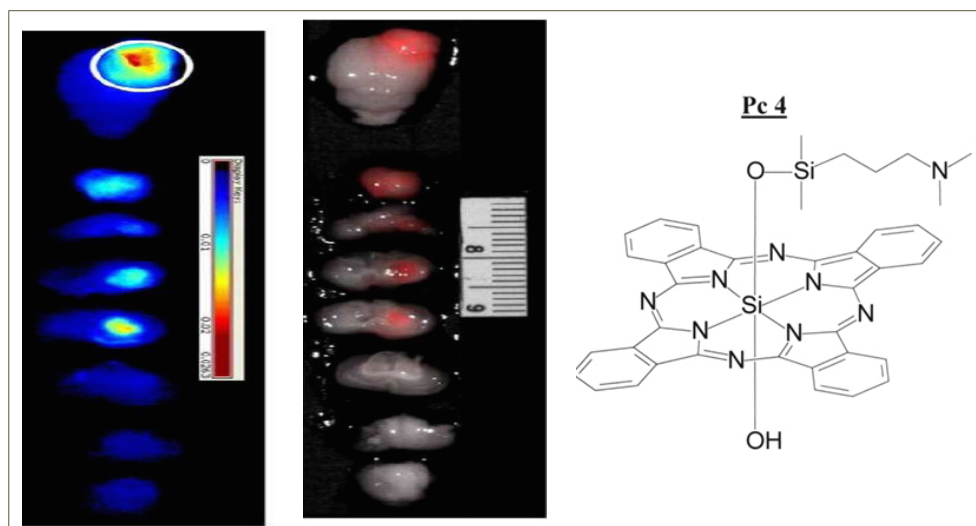


Figure I.1.29. Représentation schématique de l'imagerie par fluorescence des cerveaux de souris avec des tumeurs traités par des nanoparticules d'Or fonctionnalisés avec EGF et Pc-4 [102]

Des nanoparticules d'Or ont été synthétisées par la méthode de Turkevich et fonctionnalisées par le Coumarine-PEG-thiol en utilisant le procédé d'échange de ligands. L'immobilisation de l'agent de fluorescence (coumarine) à la surface des particules d'Or à travers la fonction thiol a été réalisée à température ambiante et en dispersion aqueuse, le produit formé a un effet fluorescent. Les mesures de la cytotoxicité du produit ont révélé que ces nanoparticules étaient non toxiques pour les cellules du cancer du sein (MDA-MB-231) et pouvaient pénétrer efficacement dans les cellules après 1 heure d'incubation. La figure I.1.30 montre la synthèse de nanoparticules d'Or fonctionnalisées par le coumarine-PEG-Thiol et leur utilisation en imagerie médicale, l'image (I.1.30,B) montre clairement l'accumulation des nanoparticules fluorescentes synthétisées dans les cellules cancéreuses [103].

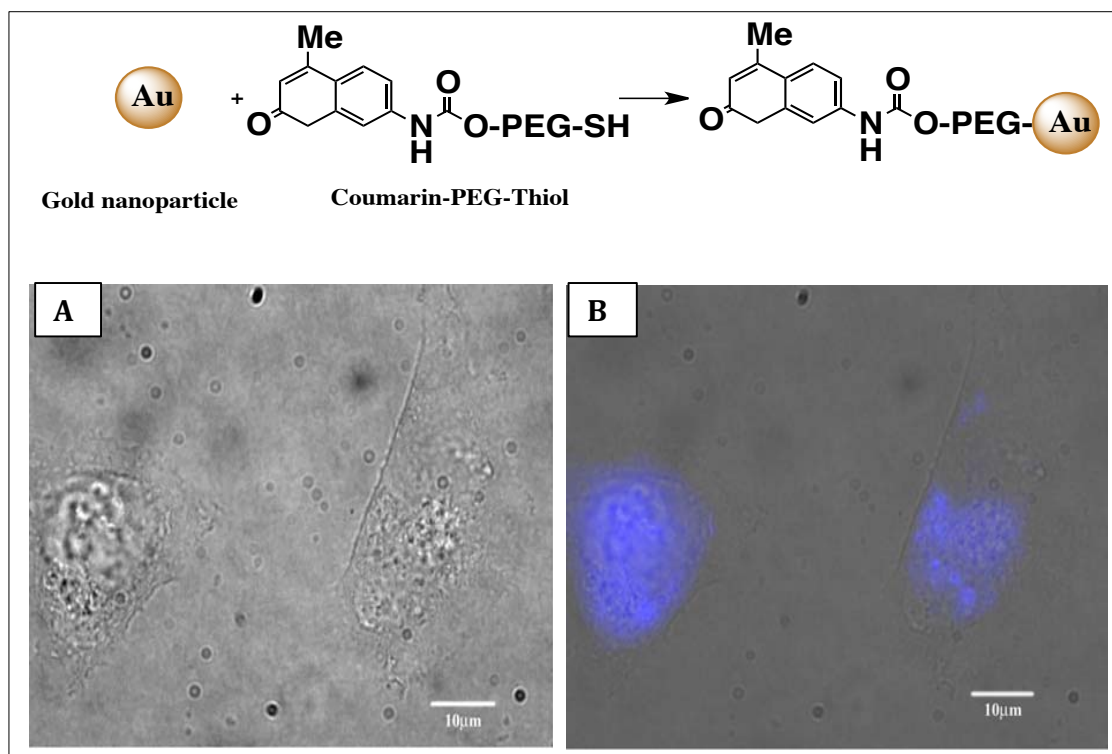


Figure I.1.30. Schéma de la réaction de fonctionnalisation des nanoparticules d'Or, A: Distribution cellulaire de nanoparticules d'Or fonctionnalisées avec coumarin-PEG- Thiol dans des cellules de cancer du sein MDA-MB-231. B: Epifluorescence image [103]

10.2. Les applications thérapeutiques des nanoparticules d'Or

10.2.1. Thérapie photothermique (PTT)

L'Hyperthermie est devenue l'une des principales méthodes de thérapie anticancéreuse. Des sources de chauffage, comme le laser, ont été introduites pour produire un chauffage modéré dans une région spécifique. L'hyperthermie est généralement définie comme le chauffage d'un tissu à une température comprise entre 41 et 45°C [104-107]. Les tumeurs sont sélectivement détruites dans cette gamme de température en raison de leur support thermique réduit par rapport au tissu normal. Cependant, les applications des sources de chauffage conventionnellement utilisées pour l'hyperthermie sont limitées en raison de leur non sélectivité, et leurs dommages aux tissus sains environnants [104], par exemple les traitements à l'aide de laser entraînent des lésions irréversibles dans les tissus sains traversés par le laser. Cependant, l'utilisation des nanoparticules d'Or diminue la puissance du laser appliqué, et la lumière absorbée est rapidement convertie en chaleur, ce qui augmente l'effet hyperthermique généré

localement par le laser ; cette technique est appelée photothermie [108]. L'utilisation des nanoparticules plasmoniques peuvent, non seulement diminuer l'énergie du laser mais aussi améliorer la sélectivité par le ciblage moléculaire sur la surface des nanoparticules. Lorsque la lumière est appliquée à une tumeur contenant des nanoparticules d'Or, les particules se réchauffent rapidement, en tuant les cellules tumorales [109]. Les nanoparticules d'Or plasmoniques, ont le potentiel de produire une hyperthermie lorsqu'elles sont exposées au rayonnement laser ou infrarouge proche [106,110]. Cependant, les nanobâtonnets d'Or, ou nanocages, sont les plus utilisés dans la thérapie photothermique [111,112] et présentent une forte absorption dans la région infrarouge proche (NIR) dans le domaine de 780-840 nm [106]. L'avantage de l'infrarouge proche est qu'elle n'a pas un effet détériorant des cellules de la peau ni sur les autres parties de l'organisme. Par contre les rayons X peuvent provoquer des mutations génétiques, quant aux rayons ultraviolets ils provoquent des brûlures de la peau [105].

Atsushi Shiotani et al, ont synthétisé des nanobâtonnets en Or revêtus de polymère thermorésistant en utilisant l'acrylamide (AAM) et le N,N-diméthylacrylamide (DMAAM) dans la copolymérisation avec le N-isopropylacrylamide (NIPAAm). Les copolymères produits Poly(NIPAAm-AAM) et poly(NIPAAm-DMAAM) ont été utilisés pour recouvrir les nanobâtonnets d'Or. Ces nanoparticules ont montré une accumulation spécifique chez les souris portant une tumeur et une réponse à l'irradiation lumineuse proche du rayon infrarouge [113]. Hussaina Banu et ses collègues ont développé des nanoparticules Or-polymère (Figure I.1.31), modifiées avec du poly(éthylène glycol) et du poly(sodium-4-styrènesulfonate) et fonctionnalisés avec du folate (acide Folique FA) et un médicament le doxorubicine. Ces matériaux ont été utilisés comme système de transport de médicaments biocompatibles pour cibler sélectivement et délivrer efficacement la doxorubicine aux cellules cancéreuses et faciliter la thérapie photothermique par laser [114].

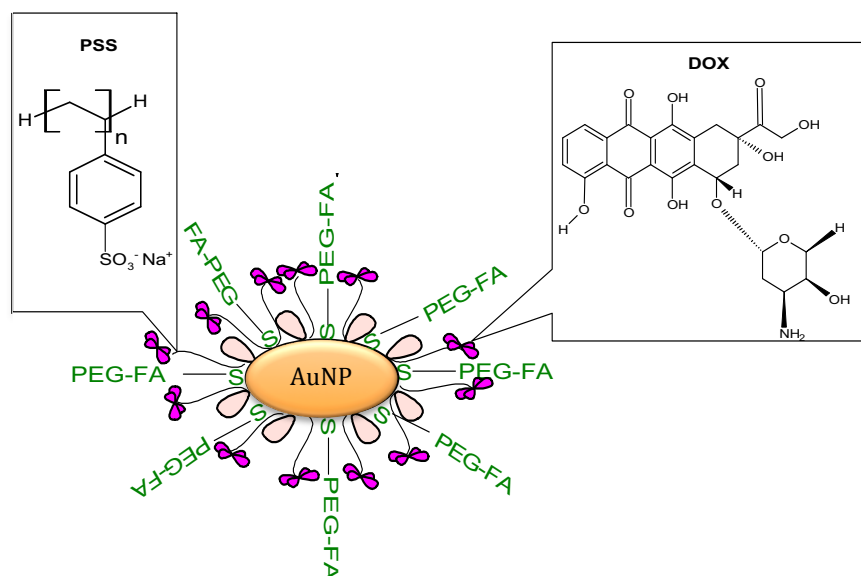


Figure I.1.31. Structure de nanoparticules d'Or conjuguées avec des polymères biocompatibles (PSS) et fonctionnalisées avec de l'acide folique (FA) et le Doxorubicine (DOX) [114]

10.2.2. Thérapie photodynamique (PDT)

Une autre méthode de thérapie tumorale employée est la thérapie photodynamique (PDT), qui implique une destruction cellulaire causée par l'oxygène singulet toxique et/ou par d'autres radicaux libres produits à partir d'une séquence de processus photochimiques et photobiologiques [111]. La PDT repose sur l'activation d'un photosensibilisateur par une longueur d'onde spécifique, dans la région de la lumière visible ou proche de l'infrarouge (NIR), induisant la formation d'espèces réactives d'oxygène qui peuvent tuer directement les cellules tumorales, ainsi que leur vascularisation associée, entraînant une destruction de la tumeur [115]. Le ciblage est essentiel dans la PDT parce que l'oxygène singulet est hautement réactif, les nanoparticules d'Or modifiées par un polymère permettent la délivrance d'une grande quantité de photosensibilisateur au niveau des cellules tumorales par des ligands spécifiques [116,117]. Les avantages supplémentaires de la PDT sont basés sur l'utilisation multiple de la PDT sans produire d'effets immunosuppresseurs et peut être appliquée même après une chirurgie, une chimiothérapie ou une radiothérapie. Bien que de nombreux produits chimiques ont été utilisés plus tard pour la thérapie photochimique dans les applications cliniques en raison de leur rétention préférentielle dans les tissus du cancer et en raison des rendements quantiques élevés de production de

l'oxygène singulet. Par exemple, les nanobâtonnets d'Or revêtus de poly (vinylpyrrolidone) (PNVP) ont été utilisés comme générateurs efficace de l'oxygène singulet [117].

Dans les travaux de Yu Cheng et al, des nanoparticules d'Or modifiées avec du polymère (HO-PEG-SH, Mw = 5000 g/mol) par une stratégie d'échange de ligands ont été préparées. Dans la première étape, les nanoparticules d'Or ont été synthétisées selon la méthode de synthèse originale décrite par Brust [52] ; la synthèse est produite en présence du bromure de tétra-n-octylammonium (TOAB) comme agent de transfert de phase et la dodécylamine (DDA) en tant qu'agent stabilisant, la réduction de HAuCl_4 a été effectuée avec NaBH_4 en solution aqueuse. Dans la deuxième étape, la DDA fixée à la surface des nanoparticules d'Or a été échangée par un polymère (HO-PEG-SH) dans le chloroforme. Les nanoparticules d'Or PEGylées résultantes ont été fonctionnalisées avec un agent photodynamique, la phthalocyanine (Pc-4) par liaison N-Au et utilisées comme vecteur médicamenteux hautement efficace pour une thérapie photodynamique in vivo, chez des souris cancéreuses. Dans le même travail, le DPBF (1,3-diphénylisobenzofurane) a été utilisé pour la détermination du rendement quantique Φ_{Δ} de l'oxygène singulet dans l'éthanol à 410 nm. Le rendement quantique de $^1\text{O}_2$ des nanoparticules d'Or Pc4-PEGylées a été mesuré et comparé au rendement quantique de $^1\text{O}_2$ formé en présence du Pc 4 et du bleu de méthylène (Figure I.1.32) [116].

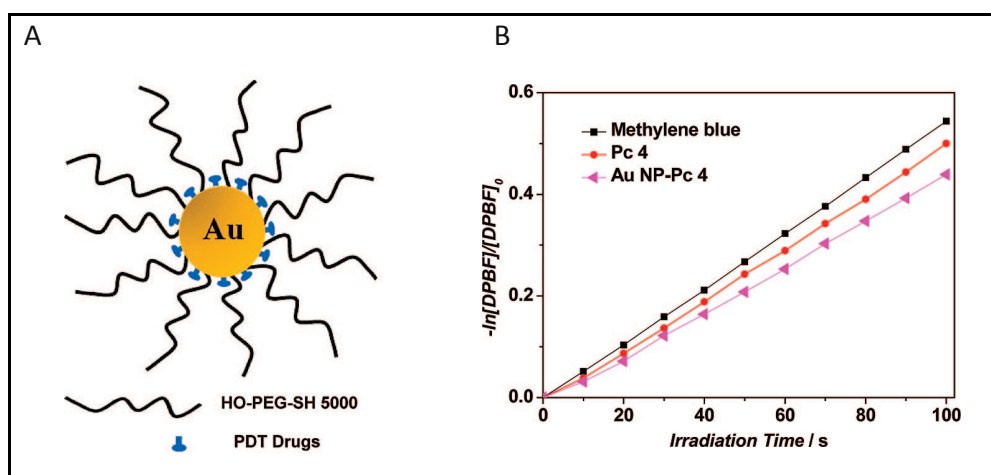


Figure I.1.32. A: Nanoparticules d'Or modifiées par fixation de chaîne de polymère en tant qu'agent de délivrance de médicament PDT, B: Photodécomposition de DPBF par $^1\text{O}_2$ après irradiation à 410 nm, de nanoparticules d'Or Pc-4-PEGylées, de méthylène bleu et Pc-4 dans l'éthanol [116].

10.2.3. Vectorisation de médicaments

La vectorisation des médicaments concerne pratiquement toutes les maladies et plus particulièrement le cancer. Elle fait l'objet de nombreuses recherches, impliquant différentes approches. Les nanoparticules sont des vecteurs efficaces car leur capacité à traiter une maladie est élevée par rapport aux techniques conventionnelles. La vectorisation à l'aide des nanoparticules est un processus qui consiste à administrer des médicaments directement à la cellule malade afin d'éviter aux cellules saines d'être affectées par le médicament, ce qui implique une baisse des risques liés à la toxicité. L'avantage est donc que l'on peut cibler chaque cellule et, surtout, doser la quantité de médicaments à administrer. La petite taille et la biocompatibilité de ces dispositifs thérapeutiques les font aisément pénétrer dans l'organisme sans altérer les organes sains ou l'équilibre physiologique du patient [103,116,118,119]. Il existe plusieurs types de vecteurs, de différentes générations, agissant tous de la même façon. En effet, il s'agit d'abord de fonctionnaliser le vecteur, c'est-à-dire lui intégrer un agent qui va lui permettre de reconnaître la cellule cible. Chaque organe est constitué de cellules qui présentent à leur surface des récepteurs spécifiques comme les cellules cancéreuses ; ces cellules possèdent de nombreux marqueurs biologiques qui nous permettent de les repérer ; par exemple les récepteurs de l'acide folique (ou vitamine B9) [108,118,120,121].

Les nanoparticules d'Or présentent d'excellentes propriétés physico-chimiques pour l'application dans la délivrance du médicament, leurs petites tailles les rendant capables d'interagir avec les biomolécules et le rapport surface-volume élevé permettant la fonctionnalisation de la surface avec plusieurs molécules pour un médicament spécifique. Par exemple, les nanoparticules d'Or attachées par liaison covalente au polymère ont été utilisées pour élaborer des vecteurs à haute efficacité pour l'administration de l'insuline. R. Bhumkar et al, ont utilisé "le chitosane", un polymère naturel, biocompatible et biodégradable, pour la synthèse et la stabilisation des nanoparticules d'Or en milieu aqueux (Figure I.1.33). Ici, le chitosane se comporte comme un agent réducteur dans la synthèse des nanoparticules d'Or et facilite la pénétration de l'insuline à travers des cellules de la muqueuse [122].

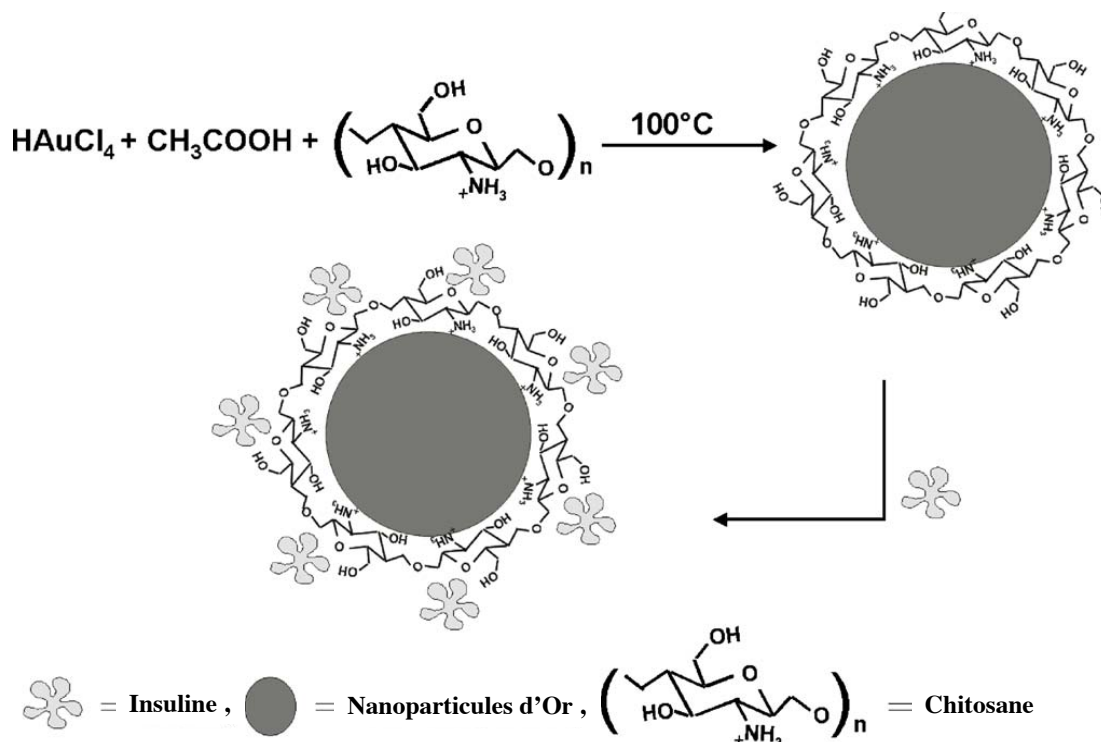


Figure I.1.33. Schéma des nanoparticules d'Or recouvertes de chitosane avec l'adsorption de l'insuline sur leur surface [122].

Le travail de Chi Thanh Nguyen et ses collègues est très intéressant puisqu'il est utilisé pour la synthèse des nanoparticules d'Or fonctionnalisées par un polymère thiol (copolymères à brosse brush-chol-BCP-thiol) contenant du poly(oxyde d'éthylène) dans un bloc et des polyméthacrylates portant du cholestérol dans l'autre Bloc. Ce copolymère est ensuite facilement auto-assemblé en solution aqueuse pour former des nanoparticules par l'interaction hydrophobe entre les fragments de cholestérol. Les nanoparticules auto-assemblées ainsi produites ont probablement une structure noyau/enveloppe avec une coquille hydrophile PEO et un noyau de cholestérol hydrophobe à terminaison thiol (Figure I.1.34) qui pourrait servir de récipient pour les médicaments anticancéreux hydrophobes (DOX) et de nanoparticules d'Or. Le potentiel des nanoparticules encapsulées pour l'administration de DOX a été évalué in vitro en mesurant la capacité de chargement du médicament, la libération du médicament, le comportement d'absorption cellulaire et la cytotoxicité. Cette plate-forme de nanoparticules peut également être adaptée pour encapsuler et délivrer d'autres combinaisons de médicaments et de nanoparticules métalliques, offrant une approche prometteuse et polyvalente pour modéliser plusieurs nanoparticules [86].

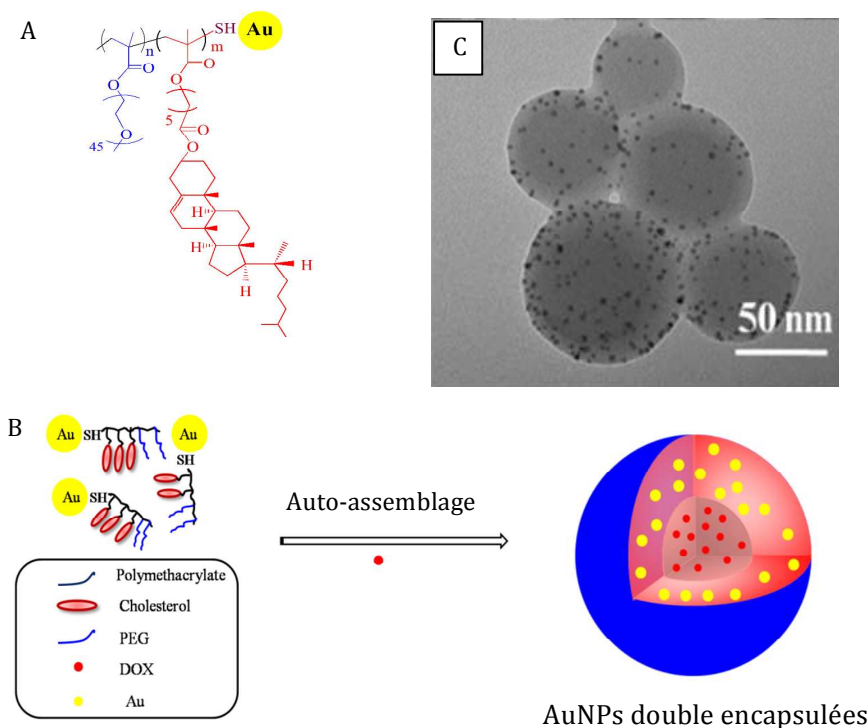


Figure I.1.34. A: Copolymères à brosse brush-chol-BCP-thiol, B: Auto-assemblage des nanoparticules d'Or fonctionnalisées par brush-chol-BCP-thiol en présence du DOX, C: TEM image des AuNPs double encapsulées [86].

10.3. Capteurs chimiques et biochimiques

Les nanoparticules métalliques sont des matériaux très intéressants pour des applications de détection grâce à leurs propriétés optiques importantes. La grande sensibilité de l'absorption plasmonique face à des changements de l'environnement local des nanoparticules permet de les utiliser comme capteurs colorimétriques. Un changement de couleur ou du signal UV-Visible peut s'observer en modifiant la distance inter-particules qui affecte directement la position spectrale de la résonance plasmonique [123]. La détection sélective utilisant des nanoparticules d'Or fonctionnalisées est devenue un axe majeur de recherche au cours de ces dernières années. En raison de la sensibilité et de la sélectivité de réponse à l'environnement biologique, les propriétés optiques des nanoparticules d'Or ont été utilisées pour détecter des biomolécules spécifiques et significatives dans certaines maladies [101,124,125].

Les capteurs à base de nanocomposite Or/polymère ont été largement étudiés. Certains polymères synthétiques comme par exemple le poly(éthylène glycol) est l'un des polymères le plus utilisé avec les nanoparticules d'Or pour le développement des capteurs

biochimiques en raison de sa haute biocompatibilité [125,126]. Dans un exemple typique, des AuNPs liées au lactose à travers le poly(éthylèneglycol) ont été examinés en tant que capteur colorimétrique de la lectine [127]. Aussi, les polymères conducteurs tels que le polypyrrole, le polythiophène, le polycarbazole, la polyaniline, le polyphénol, le polyacétylène et leurs dérivés sont utilisés intensivement dans les domaines de la science bio-analytique dans le développement de biocapteurs; ils présentent de nombreux avantages en raison de leurs propriétés inhérentes de transport de charge et de leur biocompatibilité, ainsi que leur stabilisation des biomolécules [128]. Les polymères conducteurs sont aussi utilisés en tant que capteurs de gaz hautement sensitifs et sélectifs [129,130]. Le polymère représente soit le système de transduction de signal, soit comme composant reconnaissant de l'analyte (la couche sensible). Ainsi, différents types de capteurs électrochimiques à base de polymères conducteurs ont été développés, y compris des capteurs ampérométriques et potentiométriques. Ici, l'étape limitante dans la fabrication de capteurs possédant une couche sensible basée sur des polymères est le dépôt même de ce polymère et surtout dans certains cas, le mode d'insertion de l'élément détecteur à l'intérieur de la macromolécule [131].

Les polymères fluorescents conjugués ont une grande importance dans l'élaboration des capteurs, car leurs propriétés optiques et électriques peuvent être modifiées par des perturbations minimales du milieu environnant impliquant des actions d'amplification par une réponse collective dans le polymère [132]. Li Shang et ses collègues ont développé une stratégie de fabrication d'un capteur fluorescent en utilisant un polymère conjugué fluorescent soluble dans l'eau (sel de sodium de poly(9,9-bis(4'-sulfonotobutyl) fluorène-co-alt-1,4-phénylène): PFS). Le polymère conjugué est utilisé pour la synthèse et la stabilisation des nanoparticules d'Or. Ainsi, le capteur synthétisé a été utilisé comme détecteur sensible et sélectif de la cystéine ; la fluorescence de la solution colloïdale augmente considérablement en présence de la cystéine (Figure I.1.35). Ce phénomène permet une détection sensible et sélective de la cystéine, avec une limite de détection (LOD) égale à 25 nM [133].

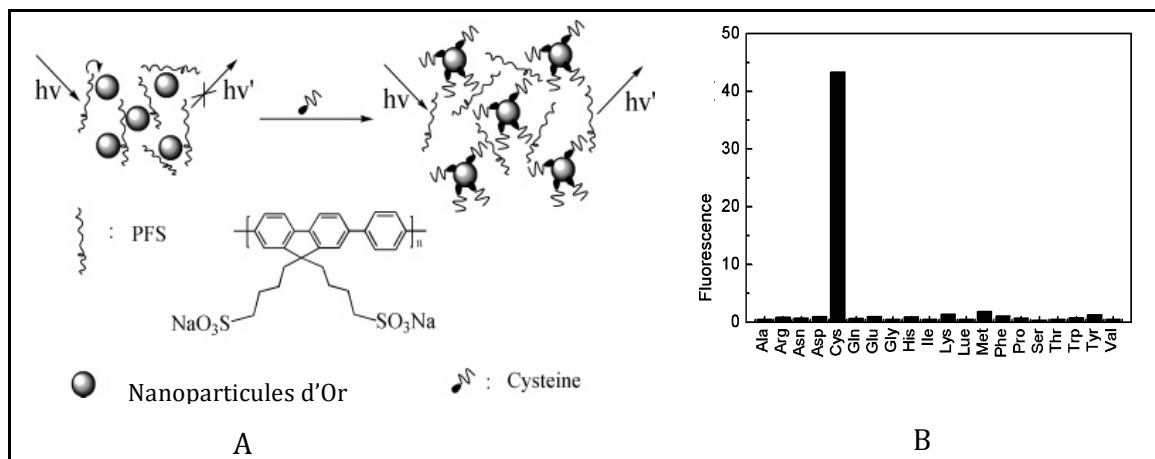


Figure I.1.35. Schéma représente : (A) un capteur fluorescent pour la détection de la cystéine, (B) l'intensité de fluorescence de PFS-AuNPs à 420 nm après addition de cystéine en comparaison avec les autres acides aminés [133].

Marcos Eguílaz et al, ont rapporté la méthode de synthèse d'un nanomatériau hybride contenant des nanoparticules d'Or fonctionnalisées avec de l'acide mercaptopropionique (MPA) et de l'acide 3-mercaptophénylboronique (MPhBA) (Figure I.1.36). Les nanoparticules d'Or fonctionnalisées résultantes ont été conjuguées avec le glucose oxydase (GOx) et avec des nanotubes de carbone (MWCNTs) en utilisant un polymère le poly(éthylèneimine) hyperbranché (PEI). Le nouveau nanomatériau hybride a été immobilisé sur une électrode de carbone vitreux (GCE), ce dispositif a été utilisé comme biocapteur sensible et sélectif du glucose [134].

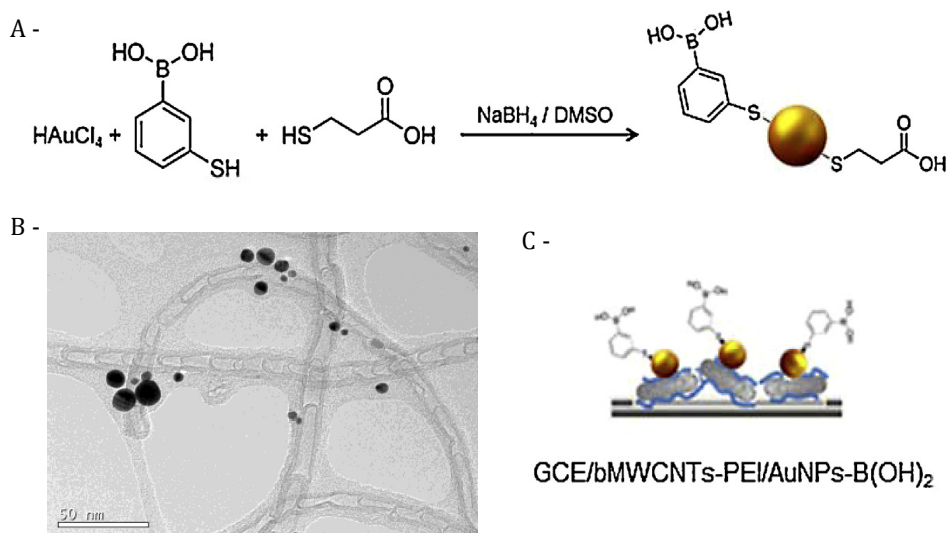


Figure I.1.36. (A) Réaction de fonctionnalisation in-situ de nanoparticules d'Or dans le DMSO, (B) Image TEM de nanoparticules d'Or fonctionnalisées associées à des nanotubes de carbone, et (C) structure du biocapteur de glucose [134].

10.4. La catalyse

Un catalyseur est un composé chimique qui permet d'accélérer et d'orienter une réaction chimique vers la formation des produits désirés dans des conditions plus douces de température et de pression. Pour la plupart de ces réactions, les catalyseurs sont des produits solides et la réaction s'effectue à la surface du catalyseur. Afin d'augmenter le rapport surface/volume, donc limiter la quantité de catalyseur utilisée, il est souvent nécessaire de préparer des catalyseurs sous forme de particules de petite taille, ces particules possèdent une surface spécifique plus importante qui, par conséquent, fournit une activité plus élevée. L'Or est considéré comme un matériau inerte chimiquement et aussi comme un catalyseur peu actif dans de nombreuses réactions. Cependant, les nanoparticules d'Or de moins de 10 nm présentent des propriétés catalytiques exceptionnelles pour de nombreuses réactions. Après la découverte, de Masatake Haruta (Japon) en 1987, de la capacité des petites NPs d'Or (environ 5 nm) à catalyser la réaction d'oxydation du monoxyde de carbone en dioxyde de carbone, même à température inférieure à 0°C, les AuNPs sont devenues le centre d'une grande activité scientifique [135]. Les nanoparticules d'Or ont montré des propriétés catalytiques à l'égard de nombreuses réactions chimiques telles que l'oxydation des alcools en acides ou en aldéhydes, l'hydrogénation sélective des liaisons, l'oxydation des amines en amides [136], la réduction du nitrophenol [137,138] et de la nitroaniline [139].

Les catalyseurs d'Or à base de polymère, présentent une activité catalytique remarquable, plusieurs types de structure de polymère ont été utilisés pour l'élaboration de catalyseurs tels que les polymères brosses et étoiles, les micelles, les capsules creuses et les particules poreuses [140,141]. Kobayashi et ses collègues ont démontré le grand potentiel de l'Or supporté par les polymères comme catalyseur pour des processus d'oxydations sélectives en phase liquide. Ils ont obtenu des performances catalytiques plus élevées pour l'Or déposé sur les polymères en comparaison avec de l'Or déposé sur les oxydes métalliques en optimisant simultanément le support et taille des AuNPs [140,142].

Références

- [1] P. Henrique, C. Camargo, K.G. Satyanarayana, et al, Nanocomposites : Synthesis , Structure , Properties and New Application Opportunities, *Materials Research*. 12 (2009) 1–39. doi.org/10.1590/S1516-14392009000100002
- [2] S. Eustis, M. a el-Sayed, Why gold nanoparticles are more precious than pretty gold: noble metal surface plasmon resonance and its enhancement of the radiative and nonradiative properties of nanocrystals of different shapes., *Chem. Soc. Rev.* 35 (2006) 209–217. doi:10.1039/b514191e.
- [3] A.M. Ealias, A review on the classification , characterisation , synthesis of nanoparticles and their application, *Materials Science and Engineering*. 263 (2017) 032019. doi:10.1088/1757-899X/263/3/032019.
- [4] P. Zhao, N. Li, D. Astruc, State of the art in gold nanoparticle synthesis, *Coord. Chem. Rev.* 257 (2013) 638–665. doi:10.1016/j.ccr.2012.09.002.
- [5] J.S. Bradley, The Chemistry of Transition Metal Colloids, Chapter 6, (1994) 459-544. 10.1002/9783527616077.ch6
- [6] A. Abedini, A.R. Daud, M. Azmi, et al, A review on radiation-induced nucleation and growth of colloidal metallic nanoparticles, *Nanoscale Res Lett.* 8 (2013) 474. doi:10.1186/1556-276X-8-474.
- [7] C. Dhand, N. Dwivedi, X.J. Loh, et al, Methods and strategies for the synthesis of diverse nanoparticles and their applications: a comprehensive overview, *RSC Adv.* 5 (2015) 105003–105037. doi:10.1039/C5RA19388E.
- [8] C. Dhand, N. Dwivedi, J. Loh, et al, Methods and strategies for the synthesis of diverse nanoparticles and their applications, *RSC Adv.* 5 (2015) 105003–105037. doi:10.1039/C5RA19388E.
- [9] M. Zhou, B. Wang, Z. Rozynek, et al, Minute synthesis of extremely stable gold nanoparticles, *Nanotechnology*. 20 (2009) 505606. doi:10.1088/0957-4484/20/50/505606.
- [10] Keith B. Male, Jianjun Li, Ching Chi Bun, et al, Synthesis and Stability of Fluorescent Gold Nanoparticles by Sodium Borohydride in the Presence of Mono-6-deoxy-6-pyridinium-cyclodextrin Chloride, *J. Phys. Chem. C*. 112 (2008) 443-451. doi.org/10.1021/jp7099515.
- [11] A. E. Danks, S. R. Hall and Z. Schnepf, The evolution of ‘sol–gel’ chemistry as a technique for materials synthesis, *Mater.Horiz.*, 3 (2016) 91–112. doi:10.1039/C5MH00260E.
- [12] Ashok K. Ganguli, Tokeer Ahmad, Sonalika Vaidya, et al, Microemulsion route to the synthesis of nanoparticles, *Pure Appl. Chem.* 80 (2008) 2451–2477. doi:10.1351/pac200880112451.
- [13] H. Dong, a Y.-C. Chena and C. Feldmanna, Polyol Synthesis of Nanoparticles: Status and Options regarding Metals, Oxides, Chalcogenides, and Non-Metal Elements, *Green Chem.* 17(2015) 4107-4132. doi:10.1039/C5GC00943J.

- [14] H. Ma, S. Huang, X. Feng, Electrochemical Synthesis and Fabrication of Gold Nanostructures Based on Poly(N-vinylpyrrolidone), *ChemPhysChem*. 7(2006) 333–335. doi:10.1002/cphc.200500398.
- [15] Adachi Motoaki, Tsukui Shigeki, Okuyama Kikuo, Nanoparticle Formation Mechanism in CVD Reactor with Ionization of Source Vapor, *Journal of Nanoparticle Research*. 5(2003) 31-37. doi: 10.1023/A:1024424518822.
- [16] Giorgetti. E, Muniz-Miranda. M, Marsili. P, et al., Stable gold nanoparticles obtained in pure acetone by laser ablation with different wavelengths, *J Nanopart Res*. 14(2012) 648. doi:10.1007/s11051-011-0648-9.
- [17] N.G. Semaltianos, Nanoparticles by Laser Ablation, *Critical Reviews in Solid State and Materials Sciences*. 35 (2010) 105-124. doi:10.1080/10408431003788233.
- [18] Michael Faraday, The Bakerian Lecture : Experimental Relations of Gold (and Other Metals) to Light, *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*, 147 (1857) 145–181.
- [19] Julius Jellinek, Nanoalloys: tuning properties and characteristics through size and composition, *Faraday Discuss*, 138 (2008) 11–35. DOI: 10.1039/b800086g
- [20] V. Amendola, M. Meneghetti, Size Evaluation of Gold Nanoparticles by UV-vis Spectroscopy, *J. Phys. Chem. C*. 113 (2009) 4277–4285. <https://doi.org/10.1021/jp8082425>.
- [21] A. Csaki, T. Schneider, J. Wirth, et al, Molecular plasmonics : light meets molecules at the nanoscale, *Phil. Trans. R. Soc. A*. 369 (2011) 3483-3496. doi:10.1098/rsta.2011.0145.
- [22] W. Rechberger, A. Hohenau, A. Leitner, et al, Optical properties of two interacting gold nanoparticles, *Optics Communications*. 220 (2003) 137–141. doi:10.1016/S0030-4018(03)01357-9.
- [23] Haiss W, Thanh NT, Aveyard J, et al, Determination of size and concentration of gold nanoparticles from UV-Vis spectra, *Anal. Chem*. 79 (2007) 4215–4221. doi:10.1021/ac0702084.
- [24] S.K. Ghosh, T. Pal, Interparticle Coupling Effect on the Surface Plasmon Resonance of Gold Nanoparticles : From Theory to Applications, *Chem. Rev*. 107 (2007) 4797-4862. <https://doi.org/10.1021/cr0680282>
- [25] B. Hourahine, K. Holms, F. Papoff, Accurate light scattering for non spherical particles from Mie-type theory, *J. Phys. Conf. Ser.* 367 (2012) 012010. doi:10.1088/1742-6596/367/1/012010.
- [26] Wriedt T. Mie Theory: A Review. In: Hergert W., Wriedt T. (eds) *The Mie Theory*. Springer Series in Optical Sciences, vol 169 (2012). Springer, Berlin, Heidelberg. DOI: 10.1007/978-3-642-28738-1_2.
- [27] Y. Zhang, W. Chu, A.D. Foroushani, et al, New gold nanostructures for sensor applications: A review, *Materials (Basel)*. 7 (2014) 5169–5201. doi:10.3390/ma7075169.

- [28] C.J. Murphy, T.K. Sau, A.M. Gole, et al, Anisotropic Metal Nanoparticles : Synthesis, Assembly, and Optical Applications, *J. Phys. Chem. B.* 109 (2005) 13857-13870. <https://doi.org/10.1021/jp0516846>.
- [29] A. Sadeghpour, I. Szilagyi, A. Vaccaro, et al, Electrostatic Stabilization of Charged Colloidal Particles with Adsorbed Polyelectrolytes of Opposite Charge, *Langmuir.* 26 (2010) 15109–15111. doi:10.1021/la102912u.
- [30] J Patel, L Neřmcova, P Maguire, et al, Synthesis of surfactant-free electrostatically stabilized gold nanoparticles by plasma-induced liquid chemistry, *Nanotechnology.* 24 (2013) 245604 (11pp). doi:10.1088/0957-4484/24/24/245604.
- [31] S.K. Bajpai, Y.M. Mohan, M. Bajpai, Synthesis of Polymer Stabilized Silver and Gold Nanostructures, *J. Nanosci. Nanotechnol.* 7 (2007) 2994–3010. doi:10.1166/jnn.2007.911.
- [32] C. Note, S. Kosmella, J. Koetz, Poly(ethyleneimine) as reducing and stabilizing agent for the formation of gold nanoparticles in w/o microemulsions, *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects.* 290 (2006) 150–156. doi:10.1016/j.colsurfa.2006.05.018.
- [33] B.J. Inkson, Scanning electron microscopy and transmission electron microscopy for materials characterization, *Materials Characterization Using Nondestructive Evaluation (NDE) Methods*, Chapter2. Elsevier Ltd, (2016) 17-43. doi:10.1016/B978-0-08-100040-3.00002-X.
- [34] D. McMullan, Scanning Electron Microscopy 1928 – 1965, *Scanning.* 17 (1995) 175–185. <https://doi.org/10.1002/sca.4950170309>.
- [35] Esnouf, C. Chemical analysis using X-ray and electron spectroscopies. *Revue De Métallurgie*, 100 (2003) 495-506. doi:10.1051/metal:2003219
- [36] Y. Feng, Y. Wang, X. Song, et al, Depletion sphere : Explaining the number of Ag islands on Au nanoparticles, *Chem. Sci.* 8 (2017) 430-436. doi:10.1039/c6sc02276f.
- [37] Johnson, D., Hilal, N., Bowen, W. R, Basic principles of atomic force microscopy. In *Atomic Force Microscopy in Process Engineering.* Elsevier Ltd. (2009) (pp. 1-30). <https://doi.org/10.1016/B978-1-85617-517-3.00001-8>
- [38] Hoo, C.M., Starostin, N., West, P. et al. A comparison of atomic force microscopy (AFM) and dynamic light scattering (DLS) methods to characterize nanoparticle size distributions. *J Nanopart Res.* 10 (2008) 89–96. doi:10.1007/s11051-008-9435-7.
- [39] J.C. Martínez, N.A. Chequer, J.L. González, et al, Alternative Methodology for Gold Nanoparticles Diameter Characterization Using PCA Technique and UV-VIS Spectrophotometry, *Nanoscience and Nanotechnology.* 2 (2012) 184–189. doi:10.5923/j.nn.20120206.06.
- [40] S. Alex, A. Tiwari, Functionalized Gold Nanoparticles: Synthesis, Properties and Applications—A Review, *J. Nanosci. Nanotechnol.* 15 (2015) 1869–1894. doi:10.1166/jnn.2015.9718.

- [41] Colleen L. Nehl and Jason H, Shape-dependent plasmon resonances of gold nanoparticles, *J. Mater. Chem.* 18 (2008) 2415–2419. DOI: 10.1039/b714950f.
- [42] Meral Yüce and Hasan Kurt, How to make nanobiosensors: surface modification and characterisation of nanomaterials for biosensing applications, *RSC Adv.* 7 (2017) 49386–49403. doi:10.1039/C7RA10479K.
- [43] Ríos-Corripio M.A., García-Pérez B.E., Jaramillo-Flores M.E, et al. UV–Visible intensity ratio (aggregates/single particles) as a measure to obtain stability of gold nanoparticles conjugated with protein A. *J Nanopart Res.* 15 (2013) 1624. doi:10.1007/s11051-013-1624-3
- [44] Q. Zhang, J. Xie, J. Yang, et al, Monodisperse Icosahedral Ag, Au, and Pd Nanoparticles: Size Control Strategy and Superlattice Formation, *ACS Nano.* 3 (2009) 139–148. <https://doi.org/10.1021/nn800531q>.
- [45] Li, C., Li, D., Wan, G. et al, Facile synthesis of concentrated gold nanoparticles with low size-distribution in water: temperature and pH controls, *Nanoscale Res Lett.* 6 (2011) 440 doi:10.1186/1556-276X-6-440.
- [46] D.R. Bhumkar, H.M. Joshi, M. Sastry, et al, Chitosan Reduced Gold Nanoparticles as Novel Carriers for Transmucosal Delivery of Insulin, *Pharmaceutical Research.* 24 (2007) 1415–1426. doi:10.1007/s11095-007-9257-9.
- [47] H. Huang, X. Yang, Synthesis of polysaccharide-stabilized gold and silver nanoparticles: a green method, *Carbohydrate Research.* 339 (2004) 2627–2631. doi:10.1016/j.carres.2004.08.005.
- [48] S.K. Nune, N. Chanda, R. Shukla, et al, Green nanotechnology from tea : phytochemicals in tea as building blocks for production of biocompatible gold nanoparticles, *Journal of Materials Chemistry.* 19 (2009) 2912–2920. doi:10.1039/b822015h.
- [49] Siavash Iravani, Green Chemistry Green synthesis of metal nanoparticles using plants, *Green Chem.* 13 (2011) 2638–2650. doi:10.1039/c1gc15386b.
- [50] J. Turkevich, P.C. Stevenson, J. Hillier, A study of the nucleation and growth processes in the synthesis of colloidal gold, *Discuss. Faraday Soc.* 11 (1951) 55–75. doi:10.1039/DF9511100055.
- [51] G. FRENS, Controlled Nucleation for the Regulation of the Particle Size in Monodisperse Gold Suspensions, *Nat. Phys. Sci.* 241 (1973) 20–22. doi:10.1038/physci241020a0.
- [52] M. Brust, M. Walker, D. Bethell, et al, Synthesis of thiol-derivatised gold nanoparticles in a two-phase liquid–liquid system, *J. Chem. Soc., Chem. COMMUN.* (1994) 801–802. doi:10.1039/C39940000801.
- [53] J. Shan, H. Tenhu, Recent advances in polymer protected gold nanoparticles : synthesis, properties and applications, *Chem. Commun.* (2007) 4580–4598. doi:10.1039/b707740h.
- [54] C.K. Yee, R. Jordan, A. Ulman, et al, Novel one-phase synthesis of thiol-functionalized gold, palladium, and iridium nanoparticles using superhydride, *Langmuir.* 15 (1999) 3486–3491. doi:10.1021/la990015e.

- [55] X. Zhou, J.M. El Khoury, L. Qu, et al, A facile synthesis of aliphatic thiol surfactant with tunable length as a stabilizer of gold nanoparticles in organic solvents, *J. Colloid Interface Sci.* 308 (2007) 381–384. doi:10.1016/j.jcis.2007.01.040.
- [56] S. Zhang, G. Leem, T. Randall Lee, Monolayer-protected gold nanoparticles prepared using long-chain alkanethioacetates, *Langmuir.* 25 (2009) 13855–13860. doi:10.1021/la901847s.
- [57] S. Link, M.A. El-Sayed, Shape and size dependence of radiative, non-radiative and photothermal properties of gold nanocrystals, *Int. Rev. Phys. Chem.* 19 (2000) 409–453. doi:10.1080/01442350050034180.
- [58] L.M. Liz-marza, Gold nanoparticle research before and after the Brust–Schiffrin method, *Chem. Commun.* 49 (2013) 16--18. doi:10.1039/c2cc35720h.
- [59] I.Hussain, S. Graham, Z. Wang, et al, Size-Controlled Synthesis of Near-Monodisperse Gold Nanoparticles in the 1 – 4 nm Range Using Polymeric Stabilizers, *J. AM. CHEM. SOC.* 127 (2005) 16398-16399. doi:10.1021/ja055321v.
- [60] Lon A. Porter, Jr., David Ji, Sarah L. Westcott, et al, Gold and Silver Nanoparticles Functionalized by the Adsorption of Dialkyl Disulfides, *Langmuir.* 14 (1998) 7378–7386. <https://doi.org/10.1021/la980870i>.
- [61] S. Zhang, G. Leem, T.R. Lee, Monolayer-Protected Gold Nanoparticles Prepared Using Long-Chain Alkanethioacetates, *Langmuir.* 25(2009) 13855–13860. doi:10.1021/la901847s.
- [62] M.P. Rowe, K.E. Plass, K. Kim, et al, Single-Phase Synthesis of Functionalized Gold Nanoparticles, *Chem. Mater.* 16 (2004) 3513-3517. <https://doi.org/10.1021/cm035049t>
- [63] A.M. Alkilany, A.C. Caravana, M.A. Hamaly, et al, Phase transfer of citrate stabilized gold nanoparticles using nonspecifically adsorbed polymers, *J. Colloid Interface Sci.* 461 (2016) 39–44. doi:10.1016/j.jcis.2015.09.010.
- [64] M. Aslam, L. Fu, M. Su, et al, Novel one-step synthesis of amine-stabilized aqueous colloidal gold nanoparticles, *J. Mater. Chem.* 14 (2004) 1795–1797. <https://doi.org/10.1039/B402823F>.
- [65] W. Liu, X. Yang, W. Huang, Catalytic properties of carboxylic acid functionalized- polymer microsphere-stabilized gold metallic colloids, *Journal of Colloid and Interface Science.* 304 (2006) 160–165. doi:10.1016/j.jcis.2006.08.040.
- [66] K.S. Mayya, V. Patil, M. Sastry, On the Stability of Carboxylic Acid Derivatized Gold Colloidal Particles : The Role of Colloidal Solution pH Studied by Optical Absorption Spectroscopy. *Langmuir.* 13 (1997) 3944-3947. <https://doi.org/10.1021/la962140l>.
- [67] Alegria, E.C.B.A.; Ribeiro, A.P.C.; Mendes, M, et al, Effect of Phenolic Compounds on the Synthesis of Gold Nanoparticles and Its Catalytic Activit in the Reduction of Nitro Compounds, *Nanomaterials.* 8 (2018) 320. <https://doi.org/10.3390/nano8050320>.
- [68] Nattinee Bumbudsanpharoke and Seonghyuk Ko, In-situ Green Synthesis of Gold Nanoparticles using Unbleached Kraft Pulp, *BioResources.* 10 (2015) 6428–6441.

- [69] S. Kim, Y. Jang, K. Youl, et al, Surface engineered gold nanoparticles through highly stable metal–surfactant complexes, *J. Colloid Interface Sci.* 464 (2016) 110–116. doi:10.1016/j.jcis.2015.10.034.
- [70] S.E. Lohse, N.D. Burrows, L. Scarabelli, et al, Anisotropic Noble Metal Nanocrystal Growth : The Role of Halides, *Chem. Mater.* 26 (2014) 34–43. <https://doi.org/10.1021/cm402384j>.
- [71] B. Jang, J. Park, C. Tung, et al, Gold Nanorod - Photosensitizer, *ACS Nano.* 5 (2011) 1086–1094. doi:10.1021/nn102722z.
- [72] H. Liao, J.H. Hafner, R. V May, et al, Gold Nanorod Bioconjugates, *Chem. Mater.* 17 (2005) 4636–4641. <https://doi.org/10.1021/cm050935k>.
- [73] J. Zhou, Z. Cao, N. Panwar, et al, Functionalized gold nanorods for nanomedicine : Past, present and future, *Coord. Chem. Rev.* 352 (2017) 15–66. doi:10.1016/j.ccr.2017.08.020.
- [74] J.G. Hinman, A.J. Stork, J.A. Varnell, et al, Seed mediated growth of gold nanorods: towards nanorod matryoshkas, *Faraday Discuss.* 191 (2016) 9–33. doi:10.1039/C6FD00145A.
- [75] J. Zhou, Z. Cao, N. Panwar, et al, Functionalized gold nanorods for nanomedicine : Past , present and future, *Coord. Chem. Rev.* 352 (2017) 15–66. doi:10.1016/j.ccr.2017.08.020.
- [76] S. Pramanik, P. Das, Chapter 3 - Metal-Based Nanomaterials and Their Polymer Nanocomposites, *Nanomaterials and Polymer Nanocomposites.* (2019) 91-121. doi:10.1016/B978-0-12-814615-6.00003-5.
- [77] P. Henrique, C. Camargo, K.G. Satyanarayana, et al, Nanocomposites: Synthesis, Structure, Properties and New Application Opportunities, *Materials Research.* 12 (2009) 1–39. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-14392009000100002>.
- [78] J. Sandler, M.S.P. Shaffer, T. Prasse, et al, Development of a dispersion process for carbon nanotubes in an epoxy matrix and the resulting electrical properties, *Polymer.* 40 (1999) 5967–5971. [https://doi.org/10.1016/S0032-3861\(99\)00166-4](https://doi.org/10.1016/S0032-3861(99)00166-4).
- [79] K. Agarwal, M. Prasad, M. Katiyar, et al, Preparation and Characterization of $\text{Ni}_{0.5}\text{Zn}_{0.5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ + Polyurethane Nanocomposites Using Melt Mixing Method, *Silicon.* 11(2019) 1035–1045. <https://doi.org/10.1007/s12633-018-9900-6>.
- [80] D. Qian and E. C. Dickey, Load transfer and deformation mechanisms in carbon nanotube-polystyrene composites, *Appl. Phys. Lett.* 76 (2000) 2868–2870. <https://doi.org/10.1063/1.126500>.
- [81] H. Wang, L. Chen, X. Shen, et al, Unconventional Chain-Growth Mode in the Assembly of Colloidal Angewandte, *Angew. Chem. Int. Ed.* 51 (2012) 8021–8025. doi:10.1002/anie.201203088.
- [82] D. Li, Q. He, J. Li, Smart core/shell nanocomposites : Intelligent polymers modified gold nanoparticles, *Adv. Colloid Interface Sci.* 149 (2009) 28–38. doi:10.1016/j.cis.2008.12.007.

- [83] S. Feineis, J. Lutz, L. Heffele, et al, Thioether – Polyglycidol as Multivalent and Multifunctional Coating System for Gold Nanoparticles, *Adv. Mater.* 30 (2018) 1704972. doi:10.1002/adma.201704972.
- [84] X. Huang, B. Li, H. Zhang, et al, Facile preparation of size-controlled gold nanoparticles using versatile and end-functionalized thioether polymer ligands, *Nanoscale.* 3 (2011) 1600–1607. doi:10.1039/C0NR00835D.
- [85] M.K. Corbierre, N.S. Cameron, R.B. Lennox, Polymer-stabilized gold nanoparticles with high grafting densities, *Langmuir.* 20 (2004) 2867–2873. doi:10.1021/la0355702.
- [86] C.T. Nguyen, T.H. Tran, X. Lu, et al, Self-assembled nanoparticles from thiol functionalized liquid crystalline brush block copolymers for dual encapsulation of doxorubicin and gold nanoparticles, *Polym. Chem.* 5 (2014) 2774–2783. doi:10.1039/c3py01636f.
- [87] Lei Wu, Ulrich Glebe, and Alexander Böker, Surface-Initiated Controlled Radical Polymerizations from Silica Nanoparticles, Gold Nanocrystals, and Bionanoparticles, *Polymer Chemistry.* 6 (2015) 5143–5184. doi:10.1039/C5PY00525F.
- [88] M. Liang, I. Lin, M.R. Whittaker, et al, Cellular Uptake of Densely Packed Polymer Coatings on Gold Nanoparticles, *ACS Nano.* 4 (2010) 403–413. <https://doi.org/10.1021/nn9011237>
- [89] T.K. Mandal, M.S. Fleming, D.R. Walt, Preparation of Polymer Coated Gold Nanoparticles by Surface-Confined Living Radical Polymerization at Ambient Temperature, *Nano.* 2 (2002) 3–7. doi:10.1021/nl015582c.
- [90] D. Li, Q. He, Y. Cui, et al, Fabrication of pH-Responsive Nanocomposites of Gold Nanoparticles/Poly(4-vinylpyridine), *Chem. Mater.* 19 (2007) 412–417. <https://doi.org/10.1021/cm062290+>
- [91] B.D. Li, Y. Cui, K. Wang, et al, Thermosensitive Nanostructures Comprising Gold Nanoparticles Grafted with Block Copolymers, *Adv. Funct. Mater.* 17 (2007) 3134–3140. doi:10.1002/adfm.200700427.
- [92] R. Ladj, A. Bitar, M.M. Eissa, et al, Polymer encapsulation of inorganic nanoparticles for biomedical applications, *Int. J. Pharm.* 458 (2013) 230–241. doi:10.1016/j.ijpharm.2013.09.001.
- [93] Y. Kang, K.J. Erickson, T.A. Taton, Plasmonic nanoparticle chains via a morphological, sphere-to-string transition, *J. Am. Chem. Soc.* 127 (2005) 13800–13801. doi:10.1021/ja055090s.
- [94] A.M. Alkilany, A.I.B. Yaseen, J. Park, et al, Facile phase transfer of gold nanoparticles from aqueous solution to organic solvents with thiolated poly(ethylene glycol), *RSC Adv.* 4 (2014) 52676–52679. doi:10.1039/C4RA11928B.
- [95] M. Liang, I.C. Lin, M.R. Whittaker, et al, Cellular uptake of densely packed polymer coatings on gold nanoparticles, *ACS Nano.* 4 (2010) 403–413. doi:10.1021/nn9011237.
- [96] F. Wang, Y.C. Wang, S. Dou, et al, Doxorubicin-tethered responsive gold nanoparticles facilitate intracellular drug delivery for overcoming multidrug resistance in cancer cells, *ACS Nano.* 5 (2011) 3679–3692. doi:10.1021/nn200007z.

- [97] M. Prabakaran, J.J. Grailer, S. Pilla, et al, Biomaterials Gold nanoparticles with a monolayer of doxorubicin-conjugated amphiphilic block copolymer for tumor-targeted drug delivery, *Biomaterials*. 30 (2009) 6065–6075. doi:10.1016/j.biomaterials.2009.07.048.
- [98] J. Carbert, Gold-based enamel colours - The constitution and applications of Purple of Cassius, *Gold Bull.* 13 (1980) 144–150. doi:10.1007/BF03215460.
- [99] N. Elahi, M. Kamali, M.H. Baghersad, Recent biomedical applications of gold nanoparticles: A review, *Talanta*. 184 (2018) 537–556. doi:10.1016/j.talanta.2018.02.088.
- [100] M. Homberger, U. Simon, On the application potential of gold nanoparticles in nanoelectronics and biomedicine, *Phil. Trans. R. Soc. A.* 368 (2010) 1405-1453. doi:10.1098/rsta.2009.0275.
- [101] K. Saha, S.S. Agasti, C. Kim, et al, Gold nanoparticles in chemical and biological sensing, *Chem. Rev.* 112 (2012) 2739–2779. doi:10.1021/cr2001178.
- [102] Y. Cheng, J.D. Meyers, R.S. Agnes, et al, Addressing Brain Tumors with Targeted Gold Nanoparticles : A New Gold Standard for Hydrophobic Drug Delivery, *Small*. 7 (2011) 2301–2306. doi:10.1002/sml.201100628.
- [103] W. Fu, D. Shenoy, J. Li, et al, Hetero-bifunctional Poly(ethylene glycol) Modified Gold Nanoparticles as an Intracellular Tracking and Delivery Agent, *NSTI-Nanotech.* 1 (2005) 324 - 327.
- [104] R.W.Y. Habash, R. Bansal, D. Krewski, et al, Thermal Therapy , Part 2 : Hyperthermia Techniques, *Critical Reviews in Biomedical Engineering.* 34 (2006) 491–542. DOI: 10.1615/CritRevBiomedEng.v34.i6.30.
- [105] J.K. Young, E.R. Figueroa, R.A. Drezek, Tunable nanostructures as photothermal theranostic agents, *Ann. Biomed. Eng.* 40 (2012) 438–459. doi:10.1007/s10439-011-0472-5.
- [106] J. Choi, J. Yang, E. Jang, et al, Gold Nanostructures as Photothermal Therapy Agent for Cancer, *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry.* 11 (2011) 953-964. doi:10.2174/187152011797927599.
- [107] L. Dykman, N. Khlebtsov, Gold nanoparticles in biomedical applications: recent advances and perspectives., *Chem. Soc. Rev.* 41 (2012) 2256–2282. doi:10.1039/c1cs15166e.
- [108] T. Curry, R. Kopelman, M. Shilo, et al, Multifunctional theranostic gold nanoparticles for targeted CT imaging and photothermal therapy, *Contrast Media Mol. Imaging.* 9 (2014) 53–61. doi:10.1002/cm.1563.
- [109] I.H. El-sayed, X. Huang, M.A. El-sayed, Selective laser photo-thermal therapy of epithelial carcinoma using anti-EGFR antibody conjugated gold nanoparticles, *Cancer Letters.* 239 (2006) 129–135. doi:10.1016/j.canlet.2005.07.035.
- [110] D. Pissuwan, S.M. Valenzuela, M.B. Cortie, Therapeutic possibilities of plasmonically heated gold nanoparticles, *Trends Biotechnol.* 24 (2006) 62–67. doi:10.1016/j.tibtech.2005.12.004.

- [111] B. Jang, J.Y. Park, C.H. Tung, et al, Gold nanorod-photosensitizer complex for near-infrared fluorescence imaging and photodynamic/photothermal therapy in vivo, *ACS Nano*. 5 (2011) 1086–1094. doi:10.1021/nn102722z.
- [112] L.R. Hirsch, R.J. Stafford, J. a Bankson, et al, Nanoshell-mediated near-infrared thermal therapy of tumors under magnetic resonance guidance., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 100 (2003) 13549–13554. doi:10.1073/pnas.2232479100.
- [113] A. Shiotani, Y. Akiyama, T. Kawano, et al, Active accumulation of gold nanorods in tumor in response to near-infrared laser irradiation, *Bioconjug. Chem.* 21 (2010) 2049–2054. doi:10.1021/bc100284s.
- [114] H. Banu, D. Kaur, A. Edgar, et al, Doxorubicin loaded polymeric gold nanoparticles targeted to human folate receptor upon laser photothermal therapy potentiates chemotherapy in breast cancer cell lines, *J. Photochem. Photobiol. B Biol.* 149 (2015) 116–128. doi:10.1016/j.jphotobiol.2015.05.008.
- [115] P. Juzenas, W. Chen, Y.P. Sun, et al, Quantum dots and nanoparticles for photodynamic and radiation therapies of cancer, *Adv. Drug Deliv. Rev.* 60 (2008) 1600–1614. doi:10.1016/j.addr.2008.08.004.
- [116] Y. Cheng, A. C Samia, J.D. Meyers, et al, Highly Efficient Drug Delivery with Gold Nanoparticle Vectors for in Vivo Photodynamic Therapy of Cancer, *J. Am. Chem. Soc.* 130 (2008) 10643–10647. doi:10.1021/ja801631c.
- [117] T. Zhao, X. Shen, L. Li, et al, Gold nanorods as dual photosensitizing and imaging agents for two-photon photodynamic therapy, *Nanoscale*. 4 (2012) 7712–7719. doi:10.1039/c2nr32196c.
- [118] S. Manju, K. Sreenivasan, Gold nanoparticles generated and stabilized by water soluble curcumin-polymer conjugate: Blood compatibility evaluation and targeted drug delivery onto cancer cells, *J. Colloid Interface Sci.* 368 (2012) 144–151. doi:10.1016/j.jcis.2011.11.024.
- [119] J.S. Lee, J.J. Green, K.T. Love, et al, Gold, poly(B-amino ester) nanoparticles for small interfering RNA delivery, *Nano Lett.* 9 (2009) 2402–2406. doi:10.1021/nl9009793.
- [120] A. Llevot, D. Astruc, Applications of vectorized gold nanoparticles to the diagnosis and therapy of cancer, *Chem. Soc. Rev.* 41 (2012) 242. doi:10.1039/c1cs15080d.
- [121] D. Bechet, P. Couleaud, C. Frochot, et al, Nanoparticles as vehicles for delivery of photodynamic therapy agents, *Trends Biotechnol.* 26 (2008) 612–621. doi:10.1016/j.tibtech.2008.07.007.
- [122] D.R. Bhumkar, H.M. Joshi, M. Sastry, et al, Chitosan reduced gold nanoparticles as novel carriers for transmucosal delivery of insulin, *Pharm. Res.* 24 (2007) 1415–1426. doi:10.1007/s11095-007-9257-9.
- [123] R. Elghanian, J.J. Storhoff, R.C. Mucic, et al, Selective Colorimetric Detection of Polynucleotides Properties of Gold Nanoparticles, *Science*. 277(1997) 1078–1081. doi:10.1126/science.277.5329.1078.

- [124] S. Zeng, K. Yong, I. Roy, A Review on Functionalized Gold Nanoparticles for Biosensing Applications, *Plasmonics*. 6 (2011) 491–506. doi:10.1007/s11468-011-9228-1.
- [125] J. Homola, Surface plasmon resonance sensors for detection of chemical and biological species., *Chem. Rev.* 108 (2008) 462–493. doi:10.1021/cr068107d.
- [126] Z. Tang, C. He, H. Tian, et al, Polymeric Nanostructured Materials for Biomedical Applications, *Prog. Polym. Sci.* 60 (2016) 86-128. doi:10.1016/j.progpolymsci.2016.05.005.
- [127] H. Otsuka, Y. Akiyama, Y. Nagasaki, et al, Quantitative and reversible lectin-induced association of gold nanoparticles modified with α -lactosyl- ω -mercapto-poly(ethylene glycol), *J. Am. Chem. Soc.* 123 (2001) 8226–8230. doi:10.1021/ja010437m.
- [128] H. Yoon, Current Trends in Sensors Based on Conducting Polymer Nanomaterials, *Nanomaterials*. 3 (2013) 524–549. doi:10.3390/nano3030524.
- [129] N. Gupta, S. Sharma, I.A. Mir, et al, Advances in sensors based on conducting polymers, *J SCI IND RES.* 65 (2006) 549–557.
- [130] B. Lakard, O. Segut, T. Patois, et al, Gas Sensors Based on Electrodeposited Polymers, *Metals*. 5(2015) 1371–1386. doi:10.3390/met5031371.
- [131] M. Ates, A review study of (bio) sensor systems based on conducting polymers, *Mater. Sci. Eng. C*. 33 (2013) 1853–1859. doi:10.1016/j.msec.2013.01.035.
- [132] C. Fan, S. Wang, J.W. Hong, et al, Beyond superquenching: hyper-efficient energy transfer from conjugated polymers to gold nanoparticles., *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 100 (2003) 6297–6301. doi:10.1073/pnas.1132025100.
- [133] L. Shang, C. Qin, T. Wang, et al, Fluorescent conjugated polymer-stabilized gold nanoparticles for sensitive and selective detection of cysteine, *J. Phys. Chem. C*. 111 (2007) 13414–13417. doi:10.1021/jp073913p.
- [134] M. Eguílaz, R. Villalonga, J.M. Pingarrón, et al, Functionalization of bamboo-like carbon nanotubes with 3-mercaptophenylboronic acid-modified gold nanoparticles for the development of a hybrid glucose enzyme electrochemical biosensor, *Sensors Actuators B. Chem.* 216 (2015) 629–637. doi:10.1016/j.snb.2015.03.112.
- [135] M. Haruta, T. Kobayashi, H. Sano, et al, Novel Gold Catalysts for the Oxidation of Carbon Monoxide at a Temperature far Below 0°C, *Chem. Lett.* 16 (1987) 405–408. doi:10.1246/cl.1987.405.
- [136] T. Jensen, S.K. Klitgaard, K. Egeblad, et al, Oxidations of Amines with Molecular Oxygen Using Bifunctional Gold—Titania Catalysts. *Green Chem.* 10 (2008) 419-423. doi:10.1039/b714232c.
- [137] K. Kuroda, T. Ishida, M. Haruta, Chemical Reduction of 4-nitrophenol to 4-aminophenol over Au nanoparticles deposited on PMMA, *Journal of Molecular Catalysis A*. 298 (2009) 7–11. doi:10.1016/j.molcata.2008.09.009.

- [138] Y. Xia, Z. Shi, Y. Lu, Gold microspheres with hierarchical structure/conducting polymer composite film : Preparation , characterization and application as catalyst, *Polymer (Guildf)*. 51 (2010) 1328–1335. doi:10.1016/j.polymer.2009.12.043.
- [139] S. Kundu, S. Lau, H. Liang, Shape-controlled catalysis by cetyltrimethylammonium bromide terminated gold nanospheres, nanorods, and nanoprisms, *J. Phys. Chem. C*. 113 (2009) 5150–5156. doi:10.1021/jp811331z.
- [140] T. Ishida, M. Haruta, Gold Catalysts : Towards Sustainable Chemistry, *Angew. Chem. Int. Ed.* 46(2007) 7154–7156. doi:10.1002/anie.200701622.
- [141] M. Takeuchi, R. Akiyama, S. Kobayashi, Polymer-micelle incarcerated scandium as a polymer-supported catalyst for high-throughput organic synthesis, *J. Am. Chem. Soc.* 127 (2005) 13096–13097. doi:10.1021/ja053176f.
- [142] H. Miyamura, R. Matsubara, Y. Miyazaki, et al, Aerobic oxidation of alcohols at room temperature and atmospheric conditions catalyzed by reusable gold nanoclusters stabilized by the benzene rings of polystyrene derivatives, *Angew. Chem. Int. Ed.* 46 (2007) 4151–4154. doi:10.1002/anie.200700080.

Chapitre I.2

Synthèse, Caractérisation et Etude des Nanoparticules d'Or
et des Nanocomposites

1. Introduction

La modification de surface des nanoparticules d'Or (AuNPs) a suscité un intérêt accru dans de nombreux domaines tels que l'administration de médicaments, le diagnostic, l'imagerie biomédicale, les capteurs et les biocapteurs [1,2]. Elle a été principalement utilisée dans le but de stabiliser les AuNPs et d'empêcher leur agrégation, de créer des nanomatériaux multifonctionnels et de contrôler l'interaction entre les AuNPs et leur environnement [3,4]. Néanmoins, la modification de la surface des AuNPs par les polymères attire de plus en plus l'attention. La combinaison des propriétés des nanoparticules (par exemple optiques) et des macromolécules offre la possibilité de préparer des matériaux nanocomposites aux propriétés fortement améliorées par rapport aux nanoparticules et aux polymères individuels [5]. De plus, le double rôle du polymère (agent de fonctionnalisation et de stabilisation) dans la méthode de synthèse élimine le besoin d'un stabilisant supplémentaire [3]. Généralement, il existe plusieurs façons de réaliser la modification de surface des nanoparticules avec des polymères; la physisorption, la chimisorption et par fixation covalente [3,6,7]. Les polymères contenant des groupes fonctionnels à forte affinité pour les surfaces des métaux nobles, et plus particulièrement les thiols, réagissent avec les surfaces des AuNPs pour former des chaînes chimiquement attachées [8].

Dans cette partie nous allons présenter la synthèse des nanoparticules d'Or fonctionnalisées par réduction chimique en milieu aqueux et en milieu organique. Des agents de stabilisation du type polymère comme l'alcool polyvinylique (PVA), le polycaprolactone (PCL) et les oligomères thioéther (DDT-PNVP et DDT-P4VP) ont été utilisés pour stabiliser et fonctionnaliser les nanoparticules d'Or. Les nanoparticules préparées ont été caractérisées en utilisant la spectroscopie UV-Visible, la microscopie électronique à transmission (TEM) et la microscopie électronique à balayage (SEM).

2. Matériels et méthodes

2.1. Méthodes de synthèse

Les différentes méthodes de synthèse employées lors de la préparation de nanoparticules d'Or, ainsi que la méthode d'encapsulation de ces particules avec le polycaprolactone sont présentées ci-après:

2.1.1. Synthèse des nanoparticules d'Or en milieu aqueux

La réduction chimique est la méthode choisie pour la préparation des nanoparticules d'Or. Trois systèmes réducteurs sont utilisés:

- Borohydrure de sodium (NaBH_4).
- NaBH_4 en présence du PVA.
- PVA en présence de NaOH .

2.1.1.1. Réduction de l'acide chloraurique par le borohydrure de sodium

Les nanoparticules d'Or ont été préparées selon les méthodes présentées dans la littérature [9]. Le nettoyage approprié de la verrerie utilisée est très important. Pour cette raison, le détergent et l'eau régale ($3\text{HCl}/1\text{HNO}_3$, v/v) ont été utilisés pour nettoyer toute la verrerie, suivie par un rinçage plusieurs fois avec de l'eau ultra pure. Ensuite, 10 mg de HAuCl_4 sont ajoutés à 100 ml d'eau Milli-Q dans un erlenmeyer. La solution aqueuse est agitée jusqu'à la dissolution complète du sel d'Or. Après, au moyen d'une micropipette, 1 mL d'une solution de NaBH_4 (0.1 M) est ajouté goutte à goutte à cette solution sous agitation. Au début, l'agent réducteur est ajouté lentement pour empêcher l'agrégation, ensuite l'addition est relativement plus rapide. La couleur de la solution passe du jaune au rubis rouge indiquant la formation des nanoparticules d'Or.

2.1.1.2. Réduction de l'acide chloraurique par le borohydrure de sodium en présence de PVA

Les nanoparticules d'Or ont été également préparées en utilisant la méthode de réduction par le borohydrure de sodium en présence de l'alcool polyvinylique. 100 mL d'une solution aqueuse de HAuCl_4 (0.25 mM) sont mélangés avec 100 mL d'une solution de PVA (0.01%) sous agitation magnétique continue pendant trois minutes. La réduction des ions d'Or est réalisée par addition de 1 mL de NaBH_4 (0.1 M) goutte à goutte. La couleur de la dispersion dans le flacon change du jaune au rubis rouge, ce qui indique la formation de nanoparticules d'Or. La solution est agitée encore pendant 15 minutes pour une homogénéisation complète.

2.1.1.3. Réduction de l'acide chloraurique par du PVA en présence de NaOH

Dans cette méthode les nanoparticules d'Or ont été obtenues en chauffant à 50°C une solution aqueuse de sel d'Or (100 mL, 0.25 mM) en présence d'un mélange de NaOH (0.1 M) et de PVA (0.01%, $M_w = 31000$ g/mol) sous agitation magnétique. La formation de nanoparticules est indiquée, également, par le changement de couleur de la solution (du jaune clair au rubis rouge) après 30 min de chauffage. L'agitation est maintenue après le changement de couleur pendant 15 min.

2.1.2. Encapsulation des nanoparticules d'Or par le processus double émulsion (w/o/w)

Les nanoparticules d'Or (AuNPs) ont été encapsulées par la technique de double émulsion à évaporation du solvant. Cette technique est un procédé d'émulsification à deux étapes en utilisant une homogénéisation par ultrason. En bref, la phase aqueuse interne (w_1) est constituée de 1.5 mL d'une solution de nanoparticules d'Or (produites par réduction par NaBH_4), tandis que la phase huileuse (o) a été préparé en dissolvant 3 g de polycaprolactone (PCL) dans 12 mL de dichlorométhane pour former une solution limpide. De la même façon, la phase aqueuse externe (w_2) est constituée d'une solution de PVA à 0.5%. Dans la première étape d'émulsification, la phase aqueuse interne (w_1) est homogénéisée avec la phase huileuse pour former une émulsion primaire (w_1/o) en utilisant l'ultrason pendant 5 minutes. Dans la deuxième étape, la première émulsion est dispersée dans 150 mL de la phase aqueuse externe (w_2) en utilisant une homogénéisation ultrasonique pendant 8 min, ce qui entraîne une double émulsion ($w_1/o/w_2$). Par la suite, les particules solides sont obtenues par évaporation du solvant organique à l'aide d'un évaporateur rotatif. Enfin, les nanoparticules d'Or revêtues de polymère sont ensuite récupérées par centrifugation à 10000 tr/min pendant 10 minutes puis lavées trois fois avec de l'eau distillée.

2.1.3. Synthèse des polymères par voie radicalaire

2.1.3.1. Synthèse de l'oligomère thioéther DDT-poly(4-vinylpyridine)

La réaction de synthèse des oligomères est effectuée comme suit: 2 mL de monomère (4VP), du dodecanethiol (DDT) et 10 mg du peroxyde de benzoyle (POB), sont introduits dans un tube à essai. Le mélange est dégazé pendant 30 minutes sous ultrason

pour chasser l'oxygène dissous dans la solution, ensuite placé dans un bain d'huile préchauffé. La température du mélange réactionnel est maintenue entre 100-110°C pendant 48h. Le produit obtenu a un aspect visqueux et de couleur allant vers le rouge. La purification du produit obtenu est faite par dissolution du produit résultant dans le THF puis par précipitation dans l'éther diéthylique froid. Cette étape a été répétée plusieurs fois pour éliminer la fraction de l'oligomère à faible masse molaire et du monomère n'ayant pas réagi. L'oligomère ainsi obtenu est séché à température ambiante puis à 50°C jusqu'à un poids constant. Le tableau I.2.1 représente les quantités de dodécane-thiol (DDT) utilisés pour chaque fraction.

Tableau I.2.1. Quantités de DDT utilisées avec le 4VP

Échantillons	DDT/4VP (mol/mol)
DDT-P4VP(1)	50%
DDT-P4VP(2)	25%
DDT-P4VP(3)	20%
DDT-P4VP(4)	10%

2.1.3.2. Synthèse de l'oligomère thioéther DDT-poly(N-vinylpyrrolidone)

La synthèse de l'oligomère thioéther (DDT-PNVP) est réalisée par polymérisation radicalaire en masse de la même façon que le DDT-P4VP. Dans un tube à essai on introduit 2 mL de N-vinylpyrrolidone (NVP), 10 mg du peroxyde de benzoyle (POB) et le dodécane-thiol (DDT). Le mélange est dégazé pendant 30 minutes en utilisant un ultrason et chauffé dans un bain d'huile à une température comprise entre 100-110°C pendant 48h. Le produit ainsi obtenu est de couleur jaune. Après l'étape de synthèse, la purification du produit final est nécessaire afin d'éliminer les fractions ayant un poids faible et le monomère qui n'a pas réagi, le produit final est dissous dans le chloroforme et re-précipité plusieurs fois dans l'éther diéthylique froid. L'oligomère ainsi obtenu est séché à température ambiante puis à 50°C jusqu'à un poids constant. Le tableau I.2.2 présente les quantités de monomère et de l'agent de transfert utilisés lors de la synthèse de l'oligomère thioéther DDT-PNVP.

Tableau I.2.2. Quantités de DDT utilisées avec le NVP

Échantillons	DDT/4VP (mol/mol)
DDT-PNVP(1)	50%
DDT-PNVP(2)	25%
DDT-PNVP(3)	20%
DDT-PNVP(4)	10%

2.1.3.3. Synthèse de poly(DMAEMA-co-Styrène)

Des particules de poly(DMAEMA-co-Styrène) sont préparées en utilisant la polymérisation radicalaire en émulsion. Pour la préparation des particules réticulées, le HDDA est utilisé comme agent de réticulation. Dans une expérience typique, 0.6 mL de DMAEMA [2-(diméthylamino) éthyle méthacrylate de méthyle] sont dispersés dans 30 mL d'une solution aqueuse de l'émulsifiant SDS (0.1 M). A cette solution, on ajoute 33.2 μ l de HDDA et 0.42 mL de styrène. Le mélange réactionnel est agité jusqu'à l'obtention d'une solution limpide. La réaction de polymérisation et de réticulation simultanée a commencé par l'addition de 1 mL de solution aqueuse à 1% d'APS. La réaction s' déroule sous agitation constante (750 tr/min) à 70°C pendant 5 h. Les particules sont ensuite lavées et précipitées en utilisant une quantité double de méthanol, puis un précipité blanc est obtenu et récupéré par centrifugation (4000 tr/min) [10].

2.1.4. Synthèse des nanoparticules d'Or stabilisées par les oligomères Thioéther

Les nanoparticules d'Or, stabilisées par des ligands oligomères thioéther, ont été synthétisées selon la méthode suivante: toute la verrerie utilisée pour la synthèse a été lavée avec l'eau régale (3HCl/HNO₃ : V/V) ensuite rincée plusieurs fois avec de l'eau ultra pure (MilliQ). Dans une synthèse typique, 10 mL d'une solution de HAuCl₄ (1 mM) a été préparée par dissolution du sel d'Or (HAuCl₄, 3H₂O) dans le DMF. La couleur de la solution résultante est jaune pâle. Ensuite, 45.2 mg d'oligomère (DDT-P4VP ou DDT-PNVP) sont ajoutés à la solution et agitée pendant 24h dans l'obscurité. La réduction des ions Au⁺³ est réalisée par addition goutte à goutte de 1 mL d'une solution aqueuse

fraîchement préparée de NaBH_4 (0.1 M), sous agitation vigoureuse en utilisant un homogénéisateur, puis une agitation magnétique continue (600 tr/min). À la fin la solution est purifiée par centrifugation (15000 tr/min) puis redispersée dans le DMF. Les AuNPs obtenues ont une couleur rose-violet. Le tableau ci-dessous regroupe les quantités de HAuCl_4 , d'oligomère et de NaBH_4 utilisés lors de la synthèse des AuNPs.

Tableau I.2.3. Quantités des réactifs NaBH_4 , HAuCl_4 et oligomères utilisés lors de la synthèse des AuNPs

Échantillons		$\text{NaBH}_4/\text{HAuCl}_4$ (mol/mol)	Oligomère/ HAuCl_4 (mg/mg)
P1	DDT-P4VP(1)-AuNPs	10	11.5
P2	DDT-P4VP(1)-AuNPs	2.9	11.5
P3	DDT-P4VP(3)-AuNPs	10	11.5
P4	DDT-P4VP(3)-AuNPs	2.9	11.5
P4-1	DDT-P4VP(3)-AuNPs	2.9	3.81
P4-2	DDT-P4VP(3)-AuNPs	2.9	19
N1	DDT-PNVP(1)-AuNPs	2.9	11.5
N2	DDT-PNVP(2)-AuNPs	2.9	11.5
N3	DDT-PNVP(3)-AuNPs	2.9	11.5
N4	DDT-PNVP(4)-AuNPs	2.9	11.5

2.2. Méthodes de caractérisation

2.2.1. Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier

Les spectres infrarouges des monomères et des oligomères synthétisés ont été enregistrés sur un spectrophotomètre du type Nexus 470 (ThermoScientific France) (Figure I.2.1) par la technique ATR (Réflexion totale atténuée) sur un Crystal de Diamond en monoreflexion (Smart-orbit, Thermo Scientific). La gamme spectrale varie de 4000 à 400 cm^{-1} , avec 256 scans et 4 cm^{-1} de résolution. Le détecteur est un DTGS (Sulfate Triglycine Deutéié). Les spectres infrarouges ont été réalisés à l'institut des sciences analytiques ISA (Université Claude Bernard, Lyon1 France).

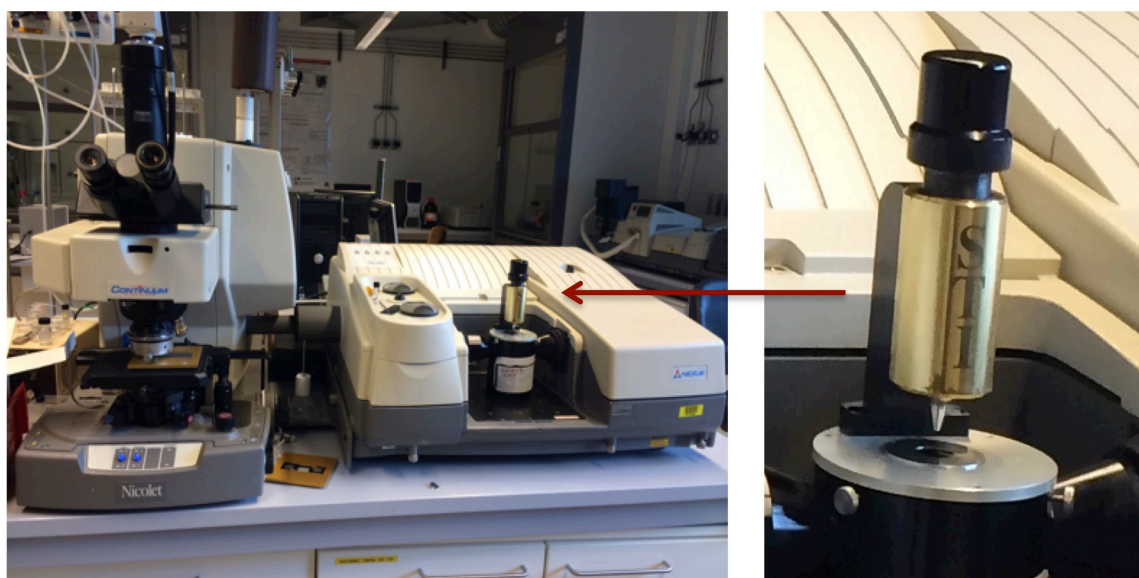


Figure I.2.1. Appareil de spectrophotomètre infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)

2.2.2. Spectroscopie UV-Visible

La caractérisation par spectroscopie UV-visible des solutions de nanoparticules d'Or (AuNPs) a été réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible (UV-1700, Shimadzu-Japan). Les mesures d'absorbance ont été effectuées sur la gamme de longueur d'onde 400 à 700 nm en utilisant des cuvettes en quartz d'épaisseur de 1 cm.

2.2.3. Chromatographie à exclusion stérique

Les masses moyennes et la polydispersité des oligomères synthétisés ont été déterminées en utilisant la Chromatographie d'exclusion stérique (CES). Les analyses sont effectuées à l'aide d'une pompe isocratique AGILENT 1200 Series équipée d'un passeur automatique AGILENT 1200 Series et d'un jeu de colonnes énuméré dans le tableau I.2.4. La détection est effectuée par un réfractomètre AGILENT 1260 Infinity Series. L'acquisition et le traitement des données se fait au moyen de deux logiciels: Agilent Chemstation (pour le pilotage de la pompe) et Astra V version 5.3.4.14 (pour la partie acquisition et interprétation des données).

Tableau I.2.4. Conditions "Chromatographiques"

Temps d'analyse	30 min
Volume d'injection	20 μ l
Jeu de colonne	précolonne PL Gel 3 μ m 2 colonnes PLGel 3 μ m MIXED-E (300 * 7.5 mm) Et/ou 1 précolonne Oligopore 2 colonnes Oligopore (250 * 4.6 mm)
Phase mobile	Dichlorométhane (série PNVP) / Tétrahydrofurane (Série P4VP + PMPS)
Débit	1.0 mL.min ⁻¹
Température(s)	30°C (colonnes)
Détecteur	Réfractomètre

2.2.4. Microscopie électronique

La microscopie électronique à transmission (TEM) et la microscopie électronique à balayage (SEM) ont été utilisées pour la détermination de la taille et la morphologie des nanoparticules préparées. Le TEM a été réalisé avec un microscope Philips CM120 au Centre Technologique des Microstructures (CT μ) à l'Université de Lyon (Villeurbanne, France). Une petite goutte de suspension est déposée sur une grille de microscope (support de cuivre recouvert de carbone). Les échantillons sont séchés et observés par TEM sous des tensions d'accélération de 100 kV. La microscopie électronique à balayage (SEM) a également été réalisée au Centre Technologique des microstructures "à l'Université de Lyon (Villeurbanne, France)". Une goutte de suspension aqueuse diluée de particules est déposée sur un support en acier plat et séchée à température ambiante. L'échantillon a finalement été revêtu sous vide par pulvérisation cathodique avec du platine. Les échantillons sont observés par SEM sous une tension d'accélération de 15 kV.

3. Résultats et discussions

3.1. Synthèse et caractérisation des nanoparticules d'Or en milieu aqueux

Des nanoparticules d'Or ont été préparées par réduction chimique à partir d'une solution aqueuse de l'acide chloraurique (HAuCl₄). Trois méthodes de synthèse ont été utilisées. La première méthode consiste à utiliser le borohydrure de sodium (NaBH₄) comme agent réducteur; le NaBH₄ est un réducteur fort et la réaction de réduction des ions d'Or est instantanée à température ambiante [11]; un changement de couleur de la

solution, du jaune vers le rouge, se produit rapidement après l'ajout de l'agent réducteur indiquant la formation des nanoparticules d'Or. Dans la deuxième méthode, les nanoparticules d'Or ont été préparées en utilisant la méthode de réduction par NaBH_4 en présence de PVA, ici le PVA est utilisé pour empêcher l'agrégation des particules et de contribuer à la stabilisation des dispersions colloïdales. Initialement, la solution de HAuCl_4 est ajoutée à une solution aqueuse de PVA (0.01%), ce dernier peut complexer les ions Au^{+3} par des interactions électrostatiques entre les ions et les groupements hydroxyles qui se trouvent le long de la chaîne de polymère. La formation des AuNPs se fait par addition de NaBH_4 . L'équation chimique de la réaction de réduction est la suivante:



Dans la troisième méthode, des nanoparticules d'Or sont obtenues par chauffage d'une solution aqueuse de sel d'Or (HAuCl_4) en présence d'un mélange constitué de PVA et NaOH sous agitation magnétique continue à $T = 50\text{-}60^\circ\text{C}$. La formation de nanoparticules se traduit par le changement progressif de la couleur de la solution virant du jaune clair au rouge. La formation des nanoparticules est complète au bout de 15 min. Après ce temps, aucun autre changement n'est observé au niveau de la coloration de la solution. La réaction de réduction des ions Au^{+3} s'effectue par le PVA [12], qui joue le rôle d'un réducteur et d'un stabilisant en même temps, la réaction de réduction se fait selon l'équation chimique proposée (Schéma I.2.1). Le tableau I.2.5 présente les trois méthodes de synthèse des AuNPs réalisées en milieu aqueux avec les résultats obtenus.

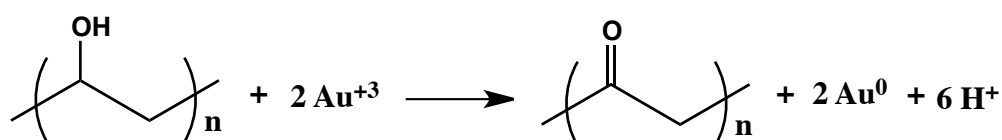


Schéma I.2.1. Réduction chimique des ions d'Or par du PVA

Tableau I.2.5. Synthèse des AuNPs par différentes méthodes

Formulation	Agent Réducteur	λ Max (nm)	TEM		Mie Théorie
			Taille (nm)	IPD	Taille (nm)
Au1	NaBH_4	513.22	3.59	0.28	3.63
Au2	NaBH_4	500.00	1.54	0.55	1.59
Au3	PVA	551.43	4.31	0.98	4.13

L'interaction des nanoparticules d'Or avec la lumière conduit à un phénomène appelé résonance plasmon de surface (SPR), qui entraîne une forte absorption dans la région du visible entre 500 nm et 800 nm selon la taille des nanoparticules, qui peut être mesurée par la spectroscopie UV-Visible. Les spectres UV-visible de nanoparticules issues des trois méthodes de synthèse présentent des pics de résonance de plasmon distincts (Figure I.2.2). Chaque formulation a montré une longueur d'onde maximale spécifique, qui reflète leurs caractéristiques optiques. La longueur d'onde maximale (λ_{\max}) des différentes formulations a été trouvée entre 513 nm et 550 nm (tableau I.2.5). Ces longueurs d'onde se situent bien dans l'intervalle généralement observé pour des nanoparticules d'Or de formes sphériques dans les dispersions aqueuses [13,14]. Les nanoparticules d'Or synthétisées en utilisant le NaBH_4 (Au1) présentent un pic de résonance de plasmon intense situé à $\lambda_{\max} = 513.22$ nm. Cependant, le spectre UV-Visible des nanoparticules d'Or, obtenu par réduction chimique par le NaBH_4 en présence du PVA, présente un pic caractéristique des nanoparticules d'Or situé à 500 nm, l'intensité du pic est faible à cause de la faible taille des nanoparticules. Selon la littérature, la résonance plasmon de surface est plus significative pour les grosses particules [15], le spectre UV-Vis des nanoparticules d'Or, obtenu par cette méthode, est présenté sur la figure I.2.2 (Au2). Le spectre UV-Visible montre aussi la présence d'un pic de résonance de plasmon à 551.43 nm qui correspond à l'échantillon Au3. Logiquement, un déplacement du pic d'absorption vers les grandes longueurs d'onde indique une augmentation de la taille des nanoparticules, ce qui n'est pas le cas puisque la taille des particules de l'échantillon Au3 est égale à 4.31 nm (calculée à partir de l'image TEM). En comparaison, avec les nanoparticules de petite taille qui résonnent à une faible longueur d'onde [15], le déplacement vers le rouge avec élargissement du pic d'absorption est expliqué par l'agrégation des petites particules en formant de grosses particules de taille comprise entre 50 à 100 nm (Figure I.2.4, Au3).

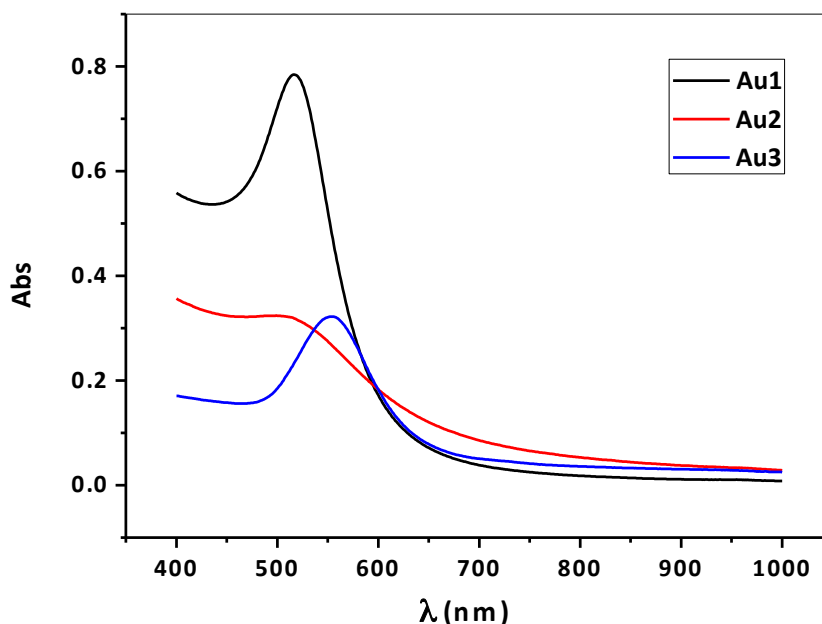


Figure I.2.2. Spectres UV-Visible des nanoparticules d'Or préparées par réduction chimique

L'estimation de la taille moyenne des nanoparticules d'Or synthétisées basée sur l'ajustement de leurs spectres UV-visible par le modèle de Mie pour les NPs sphériques [16,17] a été utilisée et explorée dans cette étude. En fait, le diamètre moyen « d » de divers métaux nobles (Ag, Au, Pt) peut être estimé à partir de la théorie électromagnétique de Mie [17-19] en utilisant la largeur à demi hauteur du pic d'absorption ($\Delta\lambda$) et la longueur d'onde caractéristique de la résonance plasmon « λ_p » (Equation I.2.1).

$$d = \frac{v_f \lambda_p^2}{\pi c \Delta\lambda} \quad \text{Equation (I.2.1)}$$

Où, " v_f " est la vitesse des électrons correspondant à l'énergie Fermi du métal ($v_f = 1.39 \cdot 10^6$ m/s), " c " est la vitesse de la lumière ($3 \cdot 10^8$ m/s). Afin d'obtenir tous ces paramètres (la largeur à demi hauteur du pic d'absorption, position SPR) le modèle de Lorentz est appliqué à nos résultats (Nous avons utilisé le logiciel «ORIGIN 8.0»). L'utilisation du modèle de Mie consiste à estimer le rayon moyen en ajustant les régions spectrales de 450 à 700 nm (Figure I.2.3). La taille des particules calculée était dans la plage de 1.5 nm à 4.30 nm (tableau I.2.5).

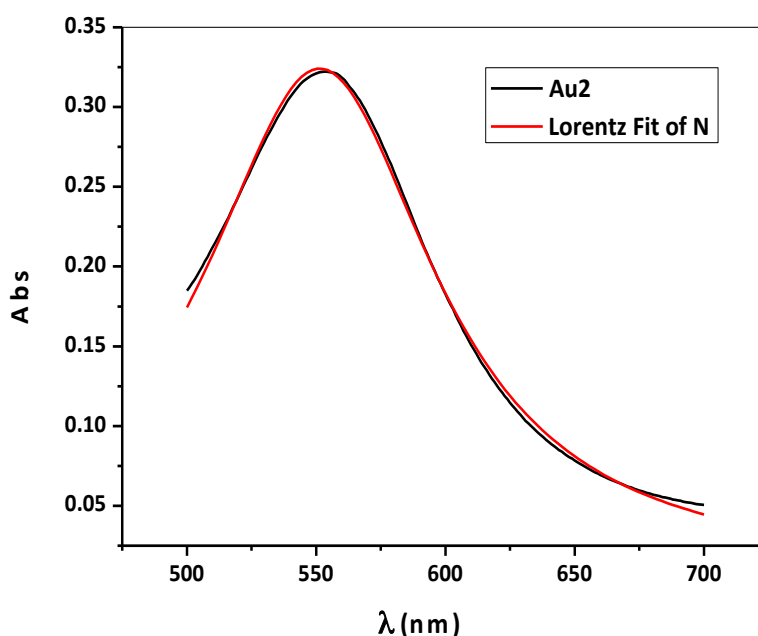


Figure I.2.3. Spectre UV-visible des nanoparticules d'Or (Au2) avec la simulation de Lorentz

La morphologie des AuNPs préparées a été observée en utilisant un microscope électronique à transmission (TEM). Une petite goutte de suspension a été déposée sur une grille de microscope (support de cuivre recouvert de carbone) et séchée lentement à l'air libre. Comme on peut le voir sur les images TEM (Figure I.2.4), les nanoparticules ont une morphologie sphérique avec une distribution de taille étroite. Le diamètre moyen des AuNPs et l'indice de polydispersité (IPD) ont été calculés pour chaque échantillon à partir de l'image TEM à l'aide du logiciel « Image J » [20]. Les tailles des nanoparticules estimées par les images TEM sont très proches des tailles mesurées par la spectroscopie UV-visible (tableau I.2.1). L'image TEM de l'échantillon Au3 révèle la présence de grandes nanoparticules sphériques de taille plus de 50 nm, formées d'un nombre important de petites particules associées (Figure I.2.4, Au3). Aussi, l'image TEM de l'échantillon Au2 révèle la présence d'un très grand nombre de nanoparticules d'Or très fines qui forment des cercles, probablement elles entourent des particules de PVA non dissoutes dans la solution aqueuse.

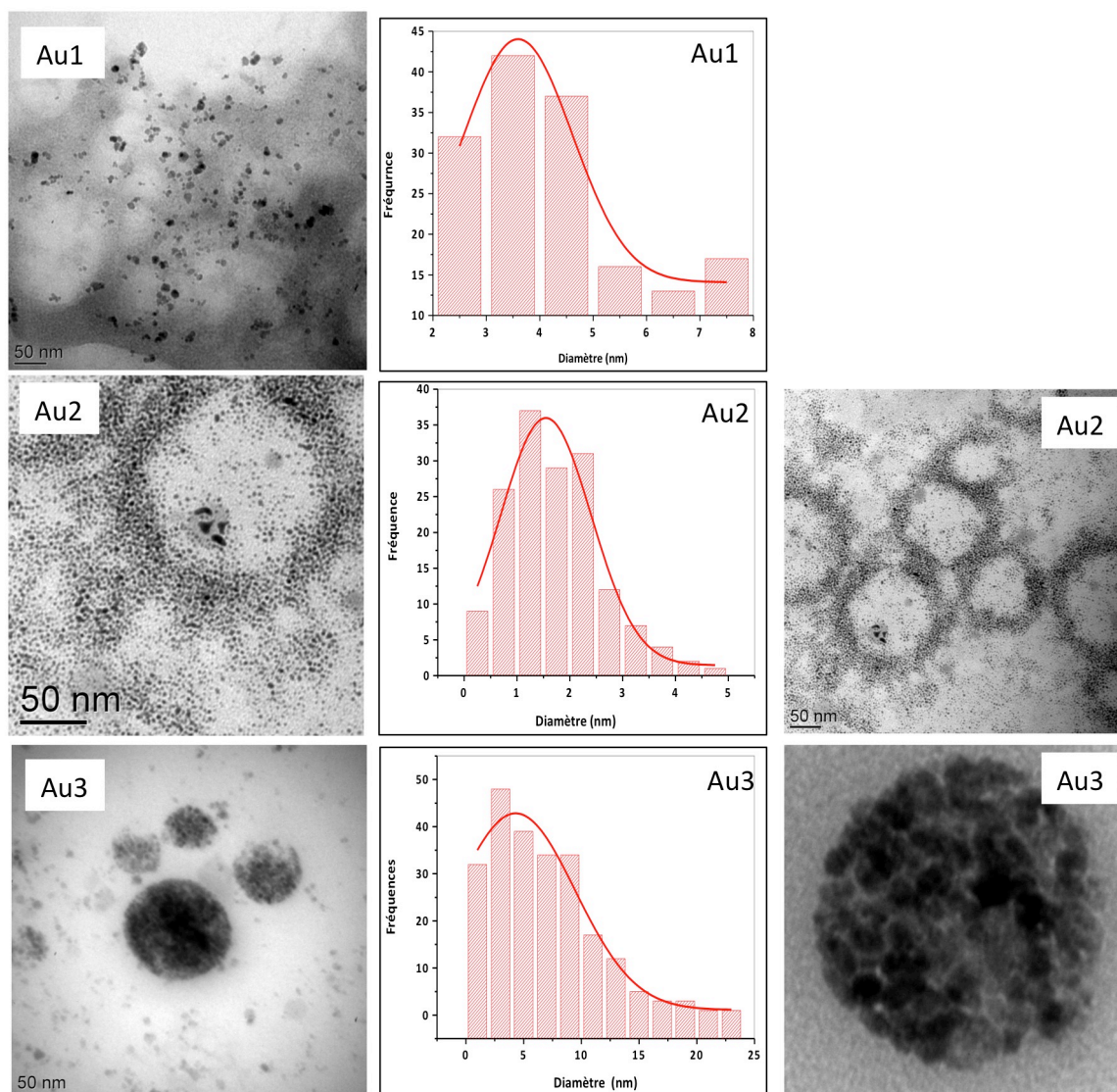


Figure I.2.4. TEM images des AuNPs préparées par réduction chimique (échantillons Au1, Au2 et Au3)

3.2. Encapsulation des nanoparticules d'Or par le polycaprolactone

La combinaison de nanoparticules et de polymères dans une phase colloïdale fournit des outils chimiques uniques pour le développement de matériaux multifonctionnels avec des propriétés caractéristiques des deux composants par exemple les noyaux inorganiques fournissent des propriétés physiques spécifiques (absorption de lumière, réponse magnétique, etc.), et les chaînes polymériques présentent des caractéristiques chimiques intéressantes. L'une des stratégies la plus polyvalente pour la synthèse de nanoparticules revêtues de polymère repose sur la technique d'encapsulation. Dans notre travail, les AuNPs préparées par réduction chimique par

NaBH_4 (Echantillon Au1) ont été encapsulées par un polymère biodégradable « le PCL » par la méthode double émulsion (eau dans l'huile dans l'eau $w_1/o/w_2$) (Figure I.2.5). Dans cette méthode, l'ultrason est utilisé pour créer des émulsions homogènes, la première étape consiste à former une émulsion eau dans l'huile (w_1/o); la phase aqueuse contient les AuNPs et la phase organique contient le PCL dissous dans le dichlorométhane. Dans la deuxième étape, la double émulsion ($w_1/o/w_2$) a été formée par dispersion de la première émulsion (w_1/o) dans une solution aqueuse contenant du PVA, qui est employé comme agent stabilisant. Les nanoparticules d'Or revêtues de PCL sont obtenues après évaporation du solvant. Cette méthode permet de créer une couche de polymère autour des nanoparticules, ce qui conduit à la modification des caractéristiques des nanoparticules comme par exemple l'hydrophilicité. La couche de polymère développée autour des AuNPs joue le rôle d'un agent de modification de surface et d'un stabilisant empêchant par la suite l'agrégation de ces dernières et apporter une nouvelle fonctionnalité.

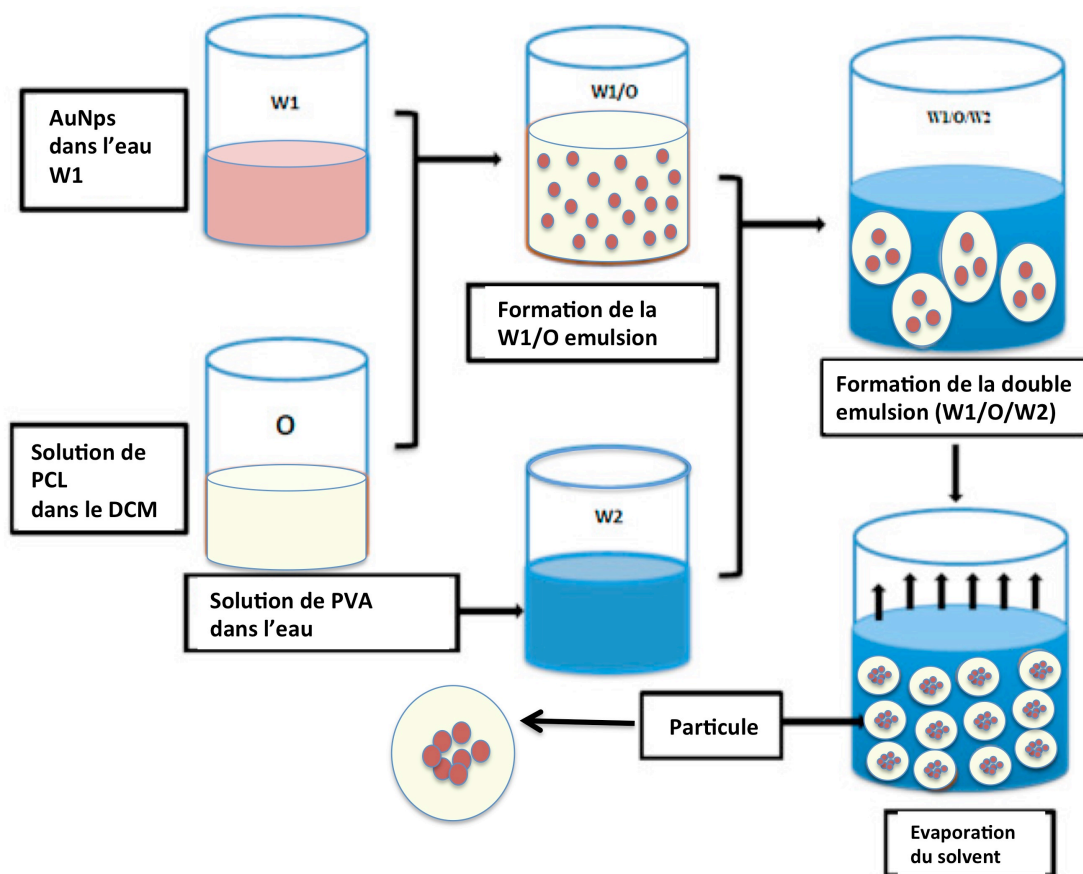


Figure I.2.5. Schéma du processus d'encapsulation des AuNPs par le PCL en utilisant la technique d'émulsion $w/o/w$

La morphologie des particules de PCL incorporées avec des AuNPs a été observée en utilisant le TEM. Les résultats ont montré que les particules obtenues sont de forme sphérique (Figure I.2.6). Marek Grzelczak et al, ont montré que l'encapsulation de nanoparticules plasmoniques dans des micelles polymériques conduit toujours à la formation de systèmes sphériques, quelle que soit la forme initiale des nanoparticules [21]. Certaines AuNPs de petite taille peuvent également être observées dans l'environnement des particules polymères, qui représentent la nanoparticule d'Or encapsulée dans le milieu (Figure I.2.6,B). Sur la figure I.2.6,C on observe la forme noyau/coquille des nanoparticules encapsulées, la couche de polymère PCL est relativement épaisse et de couleur un peu plus claire par rapport au noyau qui représente la nanoparticule d'Or.

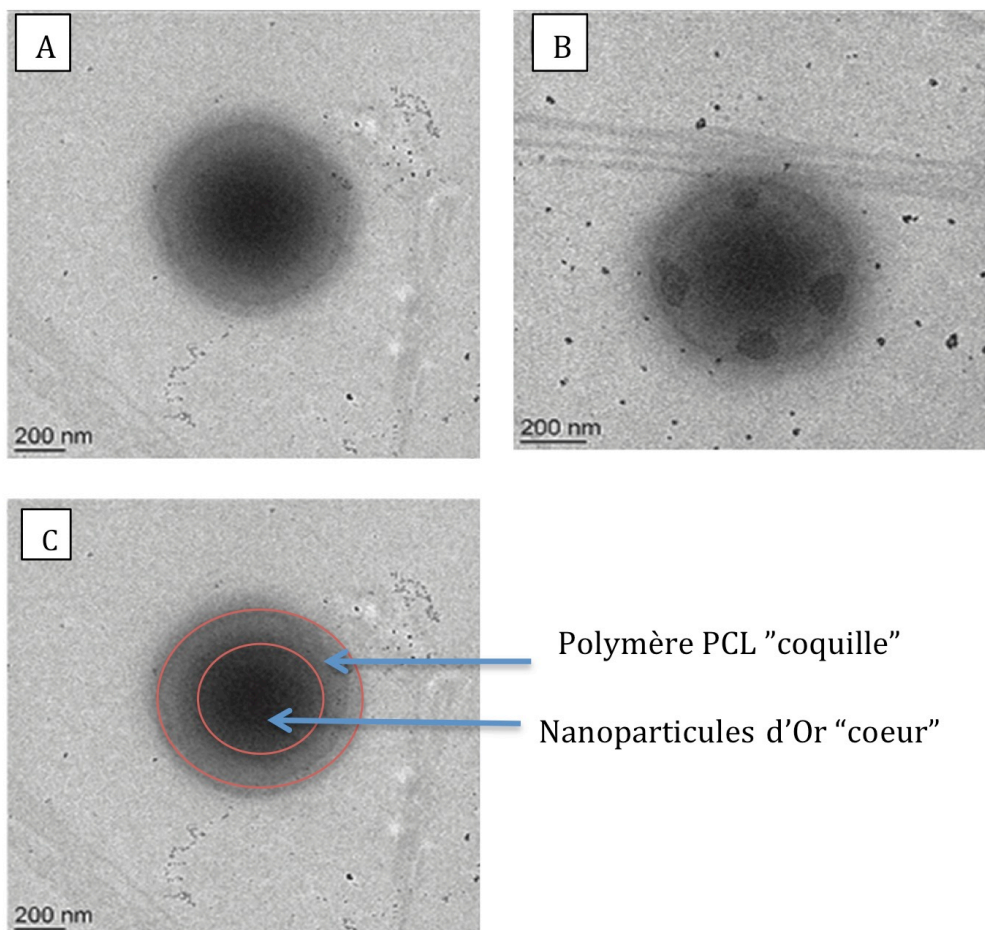


Figure I.2.6. Images TEM des nanoparticules d'Or encapsulées avec du PCL

La microscopie électronique à balayage (SEM) des nanoparticules d'Or encapsulées a également été réalisée afin d'étudier la morphologie des nanoparticules préparées (Figure I.2.7). Les images SEM montrent que les particules polymères contenant des nanoparticules d'Or, ont des surfaces lisses avec des formes sphériques. En outre, certaines particules réunies ont été observées dans les images SEM, qui peuvent se produire en raison de la présence du PVA comme stabilisant pendant le processus d'encapsulation, qui est de nature collant.

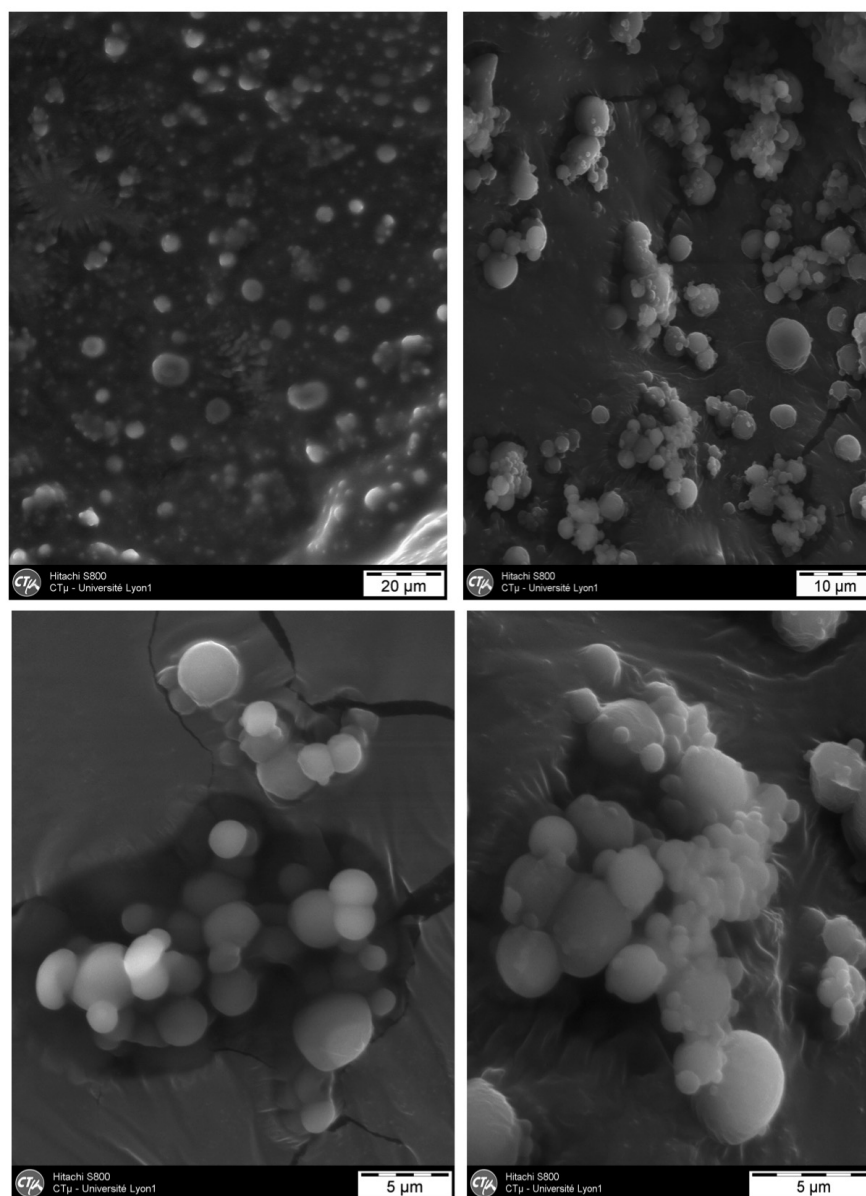


Figure I.2.7. Images SEM de particules de PCL contenant des nanoparticules d'Or préparées par la technique double émulsion à évaporation du solvant (w/o/w)

3.3. Synthèse des nanoparticules d'Or en milieu organique

La synthèse des AuNPs en milieu organique est réalisée en présence d'un polymère qui peut agir comme un agent de fonctionnalisation et de stabilisation en même temps. Des polymères de courtes chaînes (oligomères et télomères) ont été synthétisés par voie radicalaire et utilisés en tant qu'agents de fonctionnalisation tels que le Poly(N-vinylpyrrolidone) et le poly(4-vinylpyridine).

3.3.1. Synthèse de polymères par voie radicalaire et leur caractérisation

3.3.1.1. Synthèse et caractérisation de l'oligomère thioéther DDT-Poly(N-vinylpyrrolidone)

L'oligomère thioéther DDT-PNVP a été synthétisé par le procédé de polymérisation radicalaire en masse, de la N-vinylpyrrolidone (NVP) en présence du dodécane-thiol (DDT) comme agent de transfert de chaîne. La réaction de polymérisation est initiée par un amorceur thermique le POB à une température comprise entre 100-110°C pendant 48h, en réalité le DDT contribue aussi à l'amorçage de la polymérisation; le soufre a une grande affinité avec les radicaux et peut facilement perdre l'hydrogène du thiol par réaction de transfert et donner lieu à la formation du radical sulfure. Les fragments réactifs résultants de la décomposition du DDT peuvent également initier des chaînes de polymères. Comme la quantité du DDT est beaucoup plus élevée par rapport à l'amorceur, l'amorçage vient principalement des fragments du thiol (schéma I.2.2). La polymérisation radicalaire en masse est employée pour éviter les réactions de transfert de chaîne supplémentaires éventuellement produites en présence du solvant. Une série d'oligomères avec divers poids moléculaires ont été synthétisés en ajustant la quantité d'agent de transfert de chaîne DDT (tableau I.2.6). Selon les résultats obtenus, le rendement de chaque formulation n'a aucune concordance avec la quantité de l'agent de transfert DDT utilisée.

Tableau I.2.6. Masses moléculaires, indices de polydispersité et rendements des oligomères DDT-PNVP obtenus

Echantillons	DDT/NVP (mol/mol)	Masse Moléculaire moyenne (g/mol)			Rendement %
		Mn	M _w	I _p	
DDT-PNVP(1)	50%	280	285	1.02	57.05
		175	175	1.01	
DDT-PNVP(2)	25%	295	315	1.06	62.68
		175	175	1.01	
DDT-PNVP(3)	20%	1310	1790	1.37	62.72
		395	395	1.01	
		280	280	1,01	
		175	180	1.01	
DDT-PNVP(4)	10%	1570	2170	1.38	11.10
		470	490	1.04	
		270	275	1.01	
		180	180	1.01	

La polymérisation radicalaire se produit en trois étapes amorçage (a), propagation (b) et terminaison (c) (Schéma I.2.2). Compte tenu de la composition du mélange, la réaction de terminaison s'effectue principalement par transfert de chaîne à l'agent de transfert (DDT), ces réactions de transfert sont prépondérantes à côté des réactions de transfert au monomère (réamorçage).

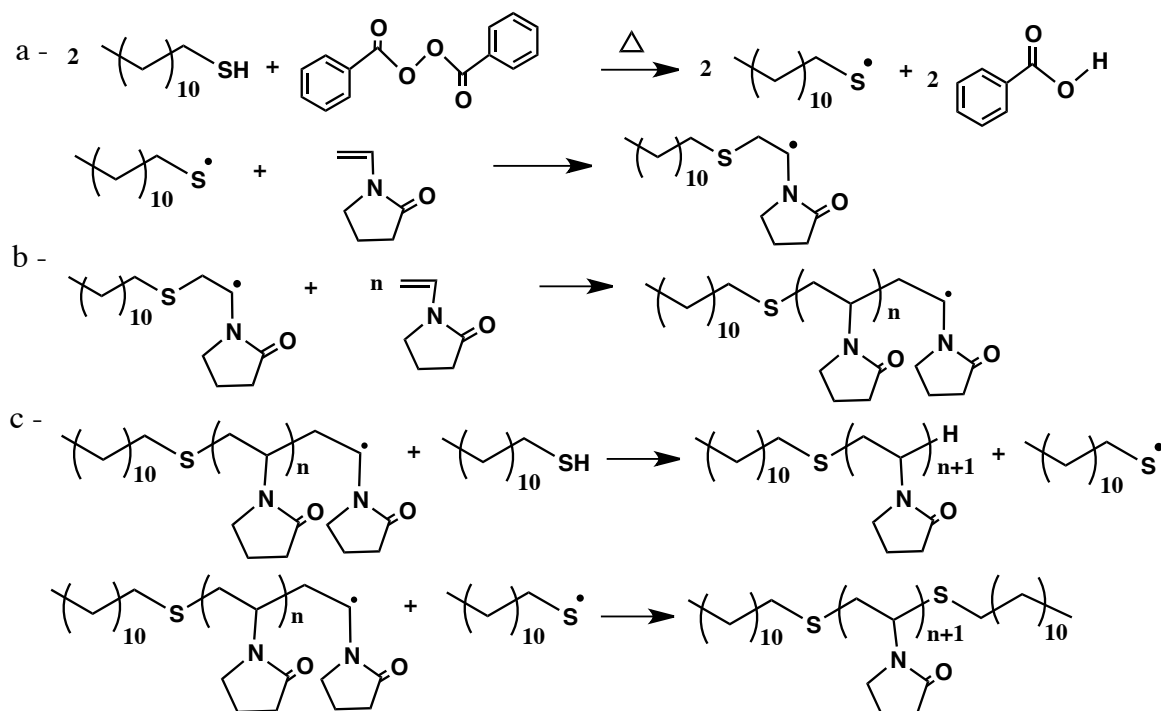


Schéma I.2.2. Schéma réactionnel de la polymérisation radicalaire du NVP en présence de DDT

La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (ATR-FTIR) a été choisie pour confirmer la structure des oligomères DDT-PNVP. Le spectre du DDT-PNVP(2) est présenté sur la figure I.2.8, les pics d'absorption à 2925 et 2852 cm^{-1} sont attribués aux élongations asymétriques et symétriques du méthylène aliphatique ($-\text{CH}_2-$) et du méthyle ($-\text{CH}_3$) provenant de l'oligomère et du groupement DDT lié à son extrémité. La bande à 1662 cm^{-1} provient de la vibration de la liaison carbonyle de lactame ($\text{C}=\text{O}$). La bande large autour de 3440 cm^{-1} est attribuée à la vibration du groupement hydroxyle $-\text{O}-\text{H}$, probablement provenant des molécules d'eau liées par des liaisons hydrogène avec les groupes carbonyle [22]. La bande forte à 1288 cm^{-1} et la bande à 1018 cm^{-1} correspondent à la vibration de la liaison $\text{C}-\text{N}$. Dans le spectre du monomère (NVP) (Figure I.2.8), les bandes fortes à 1629 cm^{-1} et 1705 cm^{-1} correspondent aux absorptions de la double liaison ($\text{C}=\text{C}$) et du carbonyle lactame, respectivement. Par contre, le pic d'absorption du groupement carbonyle dans l'oligomère est déplacé à 1662 cm^{-1} . Les pics d'absorption à 3109, 981 et 930 cm^{-1} sont attribués à la liaison ($=\text{C}-\text{H}$) de la double liaison. Cependant, la bande d'absorption de la liaison $\text{C}-\text{N}$ du monomère est apparue à 1285 cm^{-1} . Sur le spectre du polymère, les bandes caractéristiques du groupement vinyle ont disparues, ce qui confirme la disparition totale du monomère après la réaction de polymérisation et l'étape de purification.

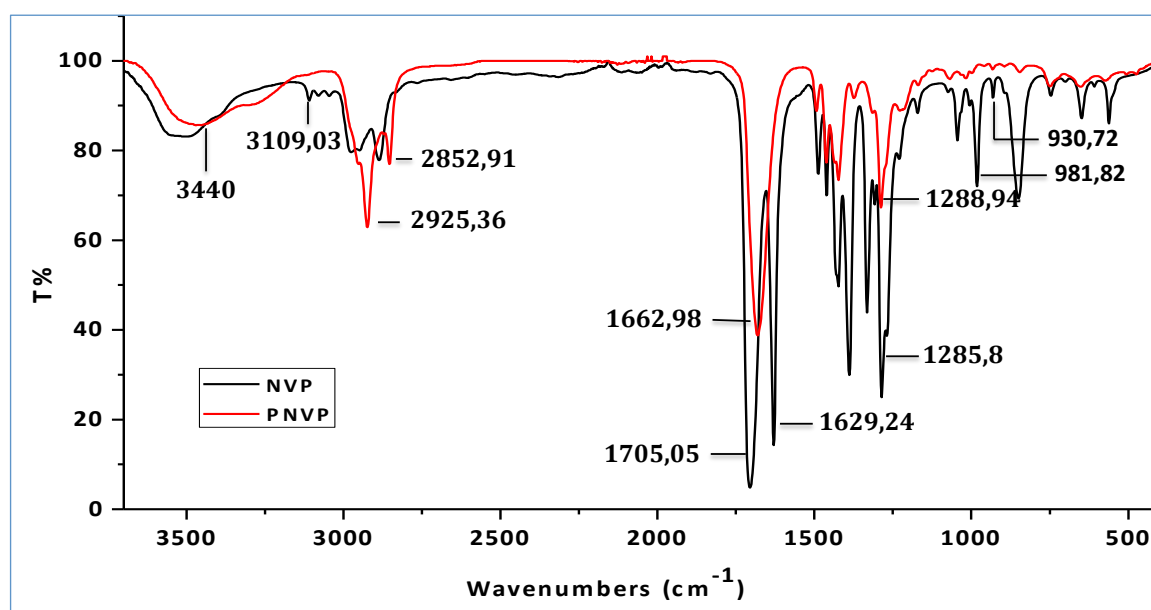


Figure I.2.8. Spectres FTIR du monomère NVP et de l'oligomère thioéther DDT-PNVP(2)

Les poids moléculaires des oligomères DDT-PNVP ont été déterminés en utilisant la chromatographie d'exclusion stérique (SEC) avec différentes colonnes. Dans les mêmes conditions de réaction, les poids moléculaires des échantillons DDT-PNVP(1), DDT-PNVP(2), DDT-PNVP(3) et DDT-PNVP(4) étaient respectivement 285, 315, 1790 et 2170 g/mol, les colonnes utilisées sont remplies de polystyrène standard avec des masses croissantes (3600, 7200, 10050, 12900 et 21720 g/mol). Ces valeurs correspondent parfaitement à la quantité d'agent de transfert de chaîne DDT utilisée 50%, 25%, 20% et 10% respectivement. L'indice de polydispersité est de l'ordre de 1.02, 1.06, 1.37 et 1.38 qui correspondent aux oligomères DDT-PNVP(1), DDT-PNVP(2), DDT-PNVP(3) et DDT-PNVP(4) respectivement. Les fractions qui possèdent un, deux ou trois unités répétitives sont appelées des télomères au lieu d'oligomère.

Évidemment, l'augmentation régulière des poids moléculaires des chaînes oligomères est conforme aux propriétés de la polymérisation radicalaire, l'utilisation d'une quantité plus grande de l'agent de transfert (DDT) produit un oligomère de courte chaîne, ce qui est confirmé par le FTIR. Dans la figure I.2.9, les bandes à 2925 et 2852 cm^{-1} correspondent aux bandes d'absorption du C-H aliphatique provenant du DDT lié à la chaîne poly(N-vinylpyrrolidone), l'intensité des deux bandes augmente avec la diminution de la longueur de chaîne d'oligomère; une chaîne d'oligomère plus longue couvre les absorptions des liaisons C-H provenant du DDT, qui conduit à une intensité plus faible de ces deux bandes. La superposition des spectres FTIR des quatre oligomères (avec normalisation à un pic standard interchangeable) révèle une différence d'intensité des deux bandes à 2925 et 2852 cm^{-1} , la différence étant proportionnelle à la longueur des chaînes; les pics plus intenses correspondent aux oligomères de chaîne plus courte.

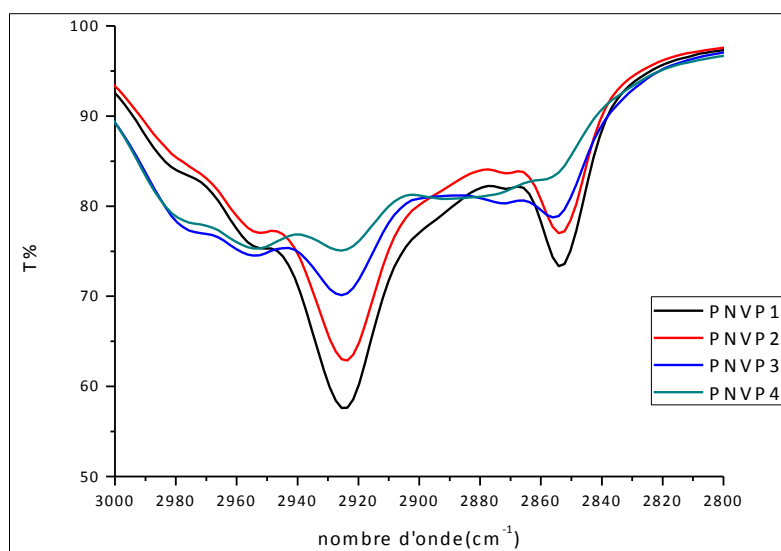


Figure I.2.9. Spectres FTIR montrant l'effet de la longueur de chaîne de l'oligomère sur l'intensité des bandes à 2925 et 2852 cm^{-1} dans les spectres des DDT-PNVP

Le spectre de résonance magnétique nucléaire du proton (RMN ^1H) du DDT-PNVP(2) synthétisé est présenté à la figure I.2.10. Pour les protons du groupe pyrrolidone de la NVP, les protons méthine (H_6) et méthylène (H_5) de la chaîne principale se situent autour de 3.6 – 4.01 ppm et de 1.5 – 1.88 ppm, respectivement. Les protons méthylène de la chaîne latérale sont attribués dans la plage de fréquences allant de 3.0 à 3.42 ppm pour H_7 , de 2.13 à 2.5 ppm pour H_9 et de 1.8 à 2.11 ppm pour H_8 [23,24]. Les signaux situés à 0.88, 1.25, 1.43 et 2.37 ppm sont attribués aux protons aliphatiques du fragment de DDT, liés à l'extrémité de la chaîne de l'oligomère, respectivement H_1 , H_2 , H_3 et H_4 [25].

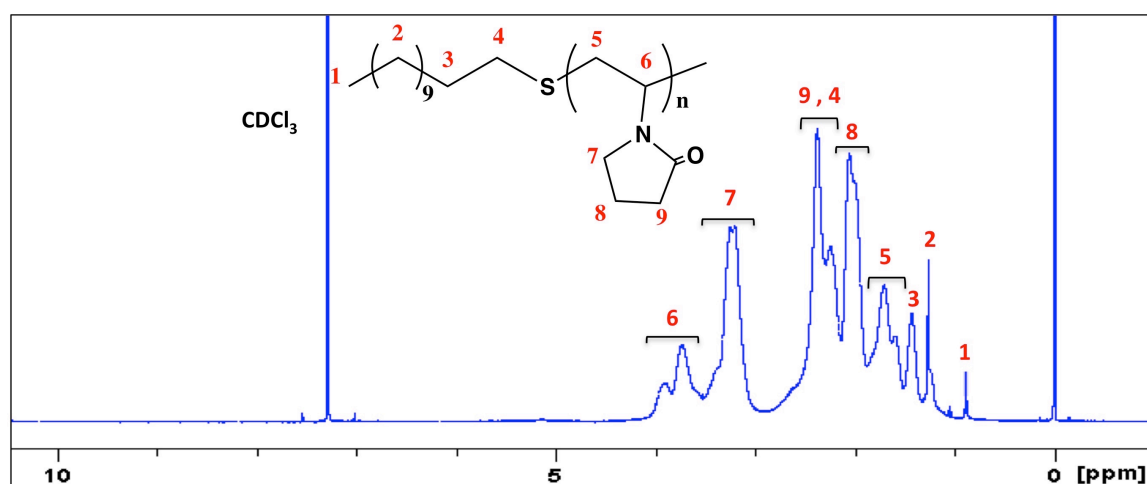


Figure I.2.10. Spectre RMN ^1H de l'oligomère thioéther synthétisé DDT-PNVP(2)

3.3.1.2. Synthèse et caractérisation de l'oligomère thioéther DDT-poly(4-vinylpyridine)

Des oligomères thioéther DDT-P4VP, ont été également, synthétisés par le procédé de polymérisation radicalaire en masse du 4-vinylpyridine (4VP) en présence de l'agent de transfert de chaîne (DDT) (Schéma I.2.3). La réaction de polymérisation est amorcée par le POB à température comprise entre 100-110°C pendant 48h. Une série de ligands oligomère avec divers poids moléculaires ont été synthétisés en ajustant la quantité d'agent de transfert de chaîne DDT (Tableau I.2.7). Selon les résultats obtenus, le rendement de chaque formulation n'a aucune concordance avec la quantité de l'agent de transfert DDT utilisée, mais l'utilisation d'une grande quantité du DDT conduit à un rendement très faible.

Tableau I.2.7. Masses moléculaires, indices de polydispersité et rendements des oligomères DDT-P4VP obtenus.

Echantillons	DDT/4VP (mol/mol)	Masse Moléculaire (g/mol)			Rendement %
		Mn	Mw	Ip	
DDT-P4VP(1)	50%	635	685	1.07	25.02
DDT-P4VP(2)	25%	870	880	1.01	55.62
		530	560	1.06	
DDT-P4VP(3)	20%	890	900	1.01	60.28
		520	555	1.06	
DDT-P4VP(4)	10%	880	890	1.01	58.70
		485	525	1.08	

Le mécanisme de la polymérisation se fait selon les trois étapes classiques de la polymérisation radicalaires, déjà énumérées précédemment (Schéma I.2.3).

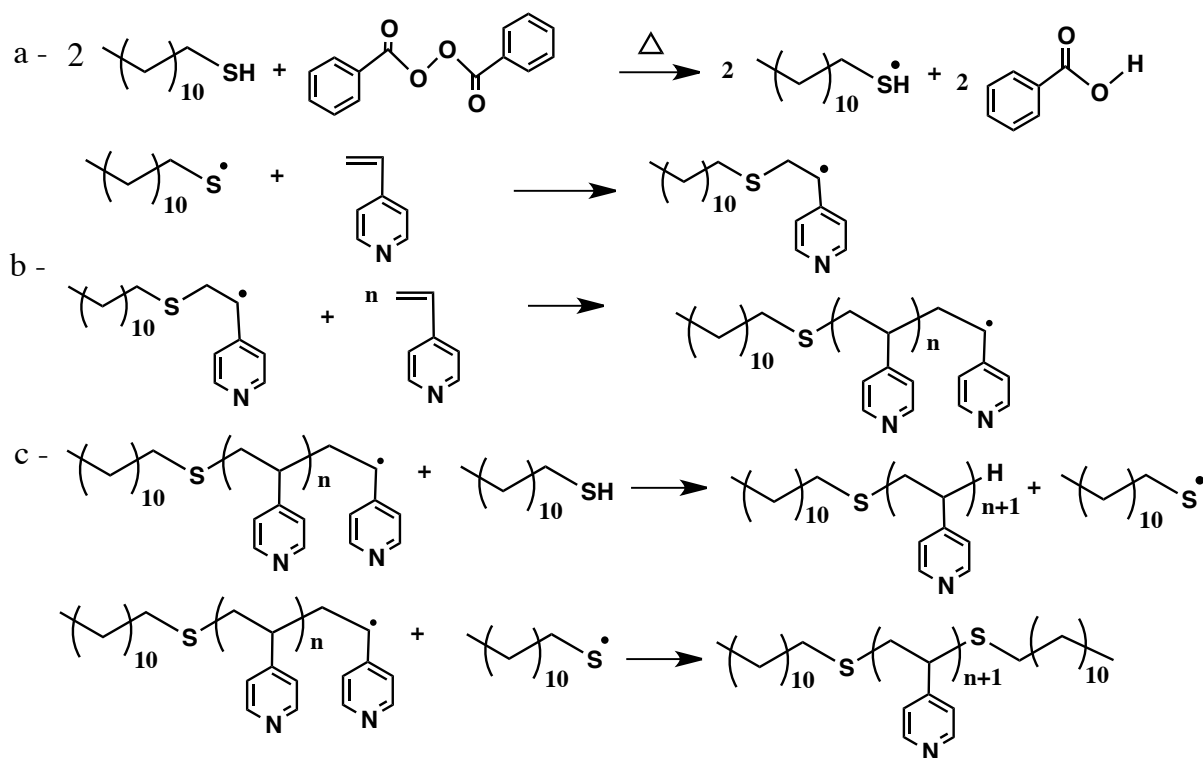


Schéma I.2.3. Mécanisme de polymérisation radicalaire du 4VP en présence de DDT

Également, la méthode ATR-FTIR a été utilisée pour caractériser les groupes fonctionnels présents dans le squelette de l'oligomère thioéther DDT-P4VP. Le spectre du DDT-P4VP(2) est présenté sur la figure I.2.11. Les pics d'absorption à 1598, 1557 et 1415 cm^{-1} peuvent être attribués à la vibration du noyau pyridine de 4VP, les bandes à 1557 et 1415 cm^{-1} ont été attribués à la vibration d'élongation des liaisons C-C aromatiques et la bande à 1598 cm^{-1} a été attribuée à l'absorption des doubles liaisons C=C du cycle pyridinique. La bande d'absorption, dans le spectre de DDT-P4VP, autour de 1220,11 cm^{-1} est attribué à la vibration d'allongement de la liaison C-N. Les unités répétitives du P4VP correspondant à la déformation du cycle apparaissent autour de 993 à 994 cm^{-1} . En outre, la présence de pic à environ 2800-3100 cm^{-1} correspond à l'élongation de la liaison C-H aromatique et aliphatique dans l'oligomère DDT-P4VP(2).

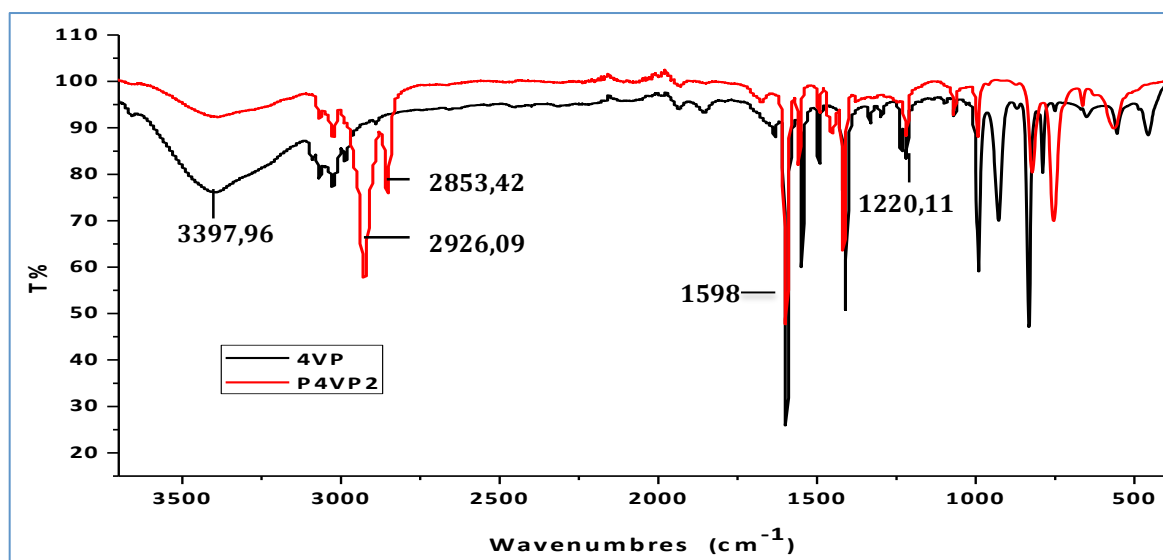


Figure I.2.11. Spectres FTIR de 4VP et de DDT-P4VP(2)

Le poids moléculaire des oligomères DDT-P4VP a été déterminé en utilisant la chromatographie d'exclusion stérique (SEC). Le masse moléculaire moyenne en poids (M_w) des échantillons DDT-P4VP(1), DDT-P4VP(2), DDT-P4VP(3) et DDT-P4VP(4) était de 685, 880, 900 et 890 g/mol par rapport au polystyrène standard, avec un indice de polydispersité de 1.07, 1.01, 1.01 et 1.01, respectivement. L'étalonnage est effectué avec quatre polystyrènes standards de masses croissantes (380, 1020, 1860, 2698). Cependant, le faible poids moléculaire du polymère (<1000) et les distributions de poids moléculaire légèrement étroites (PDI: 1.01-1.07), sont dues à la technique de polymérisation radicalaire utilisé qui ressemble grandement à la polymérisation radicalaire contrôlée. Le faible rendement du produit est principalement dû aux réactions de terminaison et de transfert de chaîne induites par le DDT, et des opérations répétées de purification.

En général, l'utilisation d'une quantité plus grande de l'agent de transfert (DDT) produit un oligomère à chaîne plus courte, ce qui est confirmé par le FTIR. Dans la figure I.2.12, les bandes à 2853 et 2926 cm^{-1} correspondent aux bandes d'absorption du C-H aliphatique provenant de l'oligomère et du DDT lié à l'extrémité. L'intensité des deux bandes à 2853 et 2926 cm^{-1} augmente avec la diminution de la longueur de la chaîne d'oligomère; une chaîne plus longue conduit à une intensité plus faible de ces deux bandes. La superposition des spectres FTIR des quatre oligomères révèle une différence

d'intensité des deux bandes à 2853 et 2926 cm^{-1} . Ainsi, la différence est proportionnelle à la quantité de DDT utilisée lors de l'étape de polymérisation mais pas avec les longueurs des chaînes obtenues.

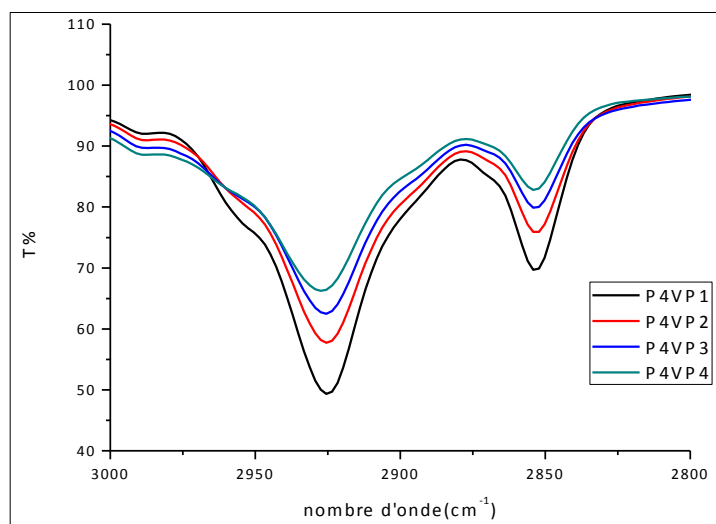


Figure I.2.12. Intensité des bandes FTIR à 2853 et à 2926 cm^{-1} dans les spectres des oligomères thioéther DDT-P4VP.

Le spectre RMN ^1H de DDT-P4VP(2) est présenté à la figure I.2.13. Les signaux des protons présentés à $\delta = 8.27$ et 6.59 ppm correspondent aux protons H_7 et H_6 du groupe pyridinium dans 4VP, respectivement, les signaux apparaissant dans la plage de 1.32 à 1.77 ppm sont attribués aux protons méthine de la chaîne (H_5) et méthylène (H_4) [26]. Les signaux situés à 0.84, 1.22 et 2.52 ppm correspondent aux protons aliphatiques, du fragment de DDT lié à l'extrémité de la chaîne de l'oligomère, H_1 , H_2 et H_3 respectivement [30]. Les spectres FTIR et RMN ^1H ont indiqué que la synthèse de l'oligomère DDT-P4VP a été réalisée avec succès.

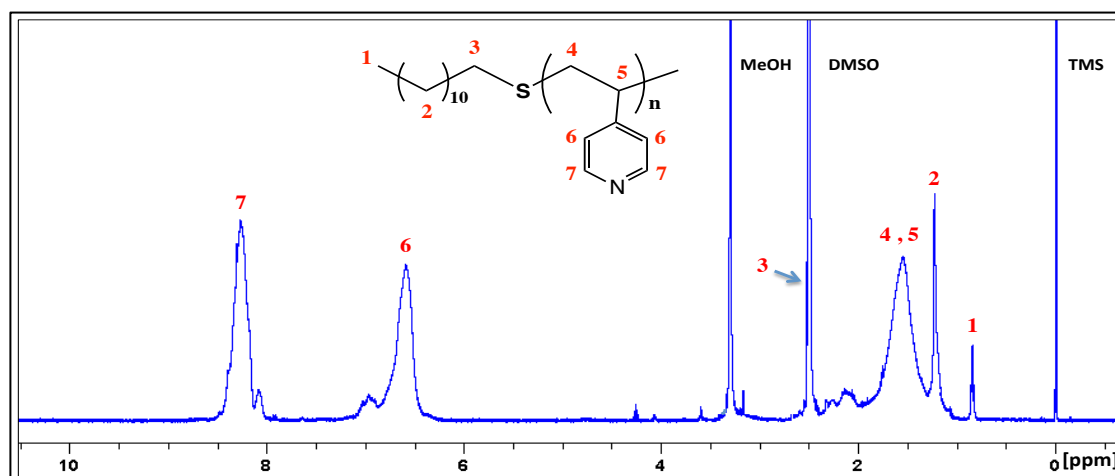
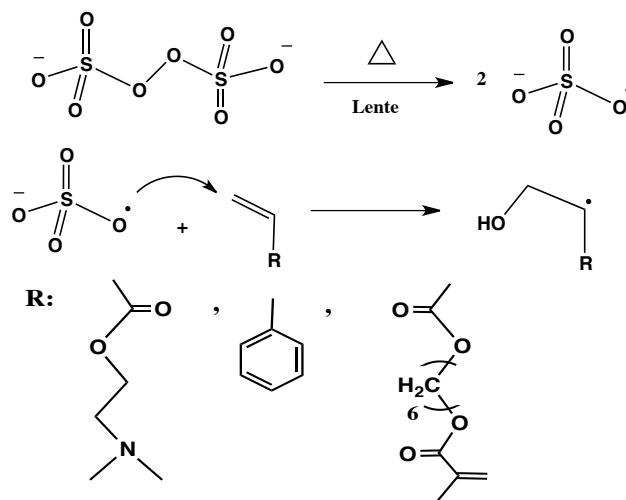


Figure I.2.13. Spectre RMN ^1H de l'oligomère thioéther synthétisé DDT-P4VP(2)

3.3.1.3. Synthèse et caractérisation de poly(DMAEMA-co-Styrène)

Des particules réticulées de poly[(2-diméthylamino)éthylméthacrylate-co-styrène] ont été synthétisées en utilisant la polymérisation en émulsion. Dans ce travail, le 2-(diméthylamino)éthylméthacrylate (DMAEMA) et le styrène sont utilisés comme comonomères, tandis que le 1,6-hexaméthylène diacrylate (HDDA) a été utilisé comme agent de réticulation. La stabilité des micelles dans l'eau est assurée par l'addition de tensioactif SDS (dodécyl sulfate de sodium). La réaction est initiée à l'aide d'un initiateur hydrophile APS (le persulfate d'ammonium), la polymérisation se déroule en trois étapes comme il est démontré dans le schéma I.2.4. La solution finale obtenue après réaction est transparente, de couleur légèrement jaune. Les monomères n'ayant pas réagis et les réactifs restants ont été éliminés par précipitations multiples du copolymère dans le méthanol, le rendement obtenu est de 78.46%.

- Amorçage



- Propagation et terminaison

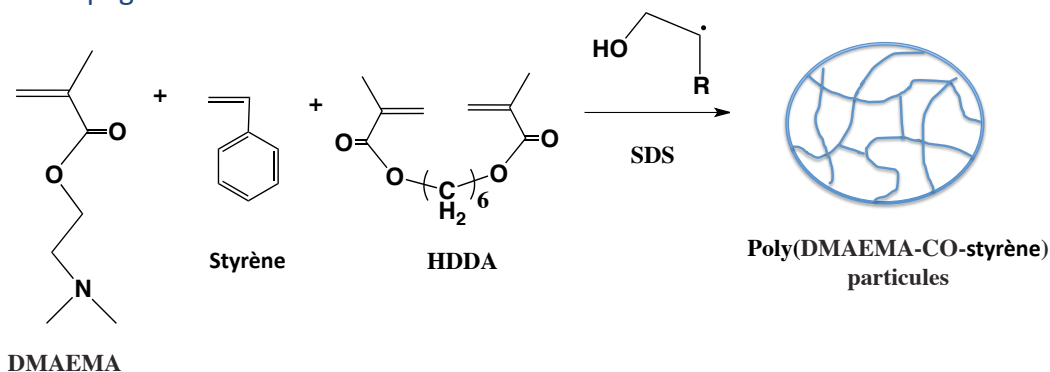


Schéma I.2.4. Schéma réactionnel de la copolymérisation radicalaire en émulsion de styrène et de DMAEMA en présence de HDDA

Le spectre FTIR (Figure I.2.14) montre les bandes caractéristiques pour le poly (DMAEMA-co-styrène). Les bandes d'absorption situées à 3070 et 3026 cm^{-1} sont attribuées aux vibrations d'élongation des liaisons C-H aromatiques. Les trois bandes d'absorption à 1600, 1450 et 1500 cm^{-1} sont dus aux vibrations des doubles liaisons C=C des noyaux benzéniques. Les bandes à 765 et 698 cm^{-1} correspondent à la vibration des C-H hors du plan. Les absorptions au nombre d'ondes de 2850, 2920 et 1459 cm^{-1} correspondent à l'existence de méthyles et méthylènes. La bande d'absorption à 3450 cm^{-1} est attribuée aux vibrations d'allongement des liaisons O-H (traces de H_2O). Les bandes caractéristiques situées à 2770 cm^{-1} et à 2822 cm^{-1} correspondent aux vibrations d'étirement (δ) des liaisons (C-H) dans (N-CH_3). Tandis que les bandes apparaissant à 1730.9 cm^{-1} et à 1100 cm^{-1} sont attribuées aux vibrations d'étirement des liaisons (C=O) et O=C=O du groupe acrylate et la bande d'absorption à 1220 cm^{-1} correspond à l'absorption de la liaison C-N du groupe amino tertiaire [27,28].

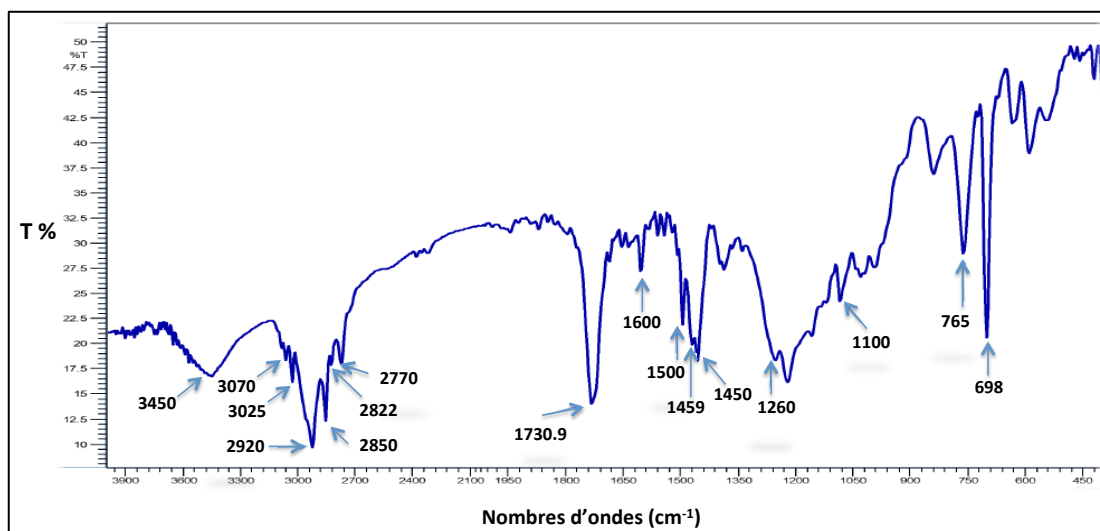


Figure I.2.14. Spectre FTIR du poly (DMAEMA-co-styrène)

Les microscopies électroniques (SEM) et (TEM) ont été également utilisées pour étudier la morphologie des particules de polymère obtenues (Figure I.2.15). L'image TEM (B) montre que le copolymère synthétisé est sous forme de grosses particules sphériques, ces particules ont une surface lisse et de différentes tailles. L'image SEM (A) montre aussi des particules de polymères de forme sphériques, mais chaque particule est

constituée d'un grand nombre de petites particules de polymère de taille nanométrique. Les petites particules se sont associées pour former de particules de tailles plus grandes.

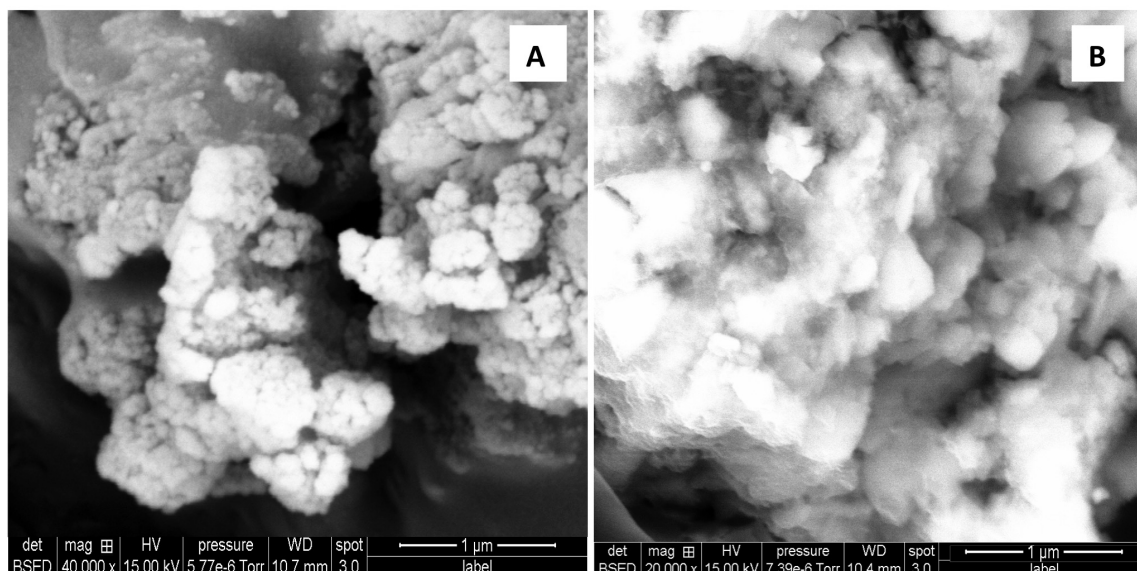


Figure I.2.15. Images de particules de poly(DMAEMA-co-styrène) : (A) SEM, (B) TEM

3.3.2. Synthèse et caractérisation des nanoparticules d'Or fonctionnalisées par les oligomères Thioéther DDT-P4VP

Des oligomères thioéther ont été synthétisés, avec différentes masses moléculaires (Tableau I.2.7), par le procédé de polymérisation radicalaire en masse en présence d'un agent de transfert DDT. L'utilisation de l'agent de transfert est dans le but d'incorporer l'atome de soufre dans la chaîne de l'oligomère. Le soufre connu par son affinité avec les métaux nobles, peut produire des interactions avec la surface des particules d'Or. Dans cette partie, nous rapportons la préparation et la fonctionnalisation des nanoparticules d'Or en milieu organique. Le choix de solvant est un facteur très important. Le solvant sélectionné doit être un bon solvant pour le sel d'Or, l'agent réducteur et le ligand oligomère. Dans un mauvais solvant, les chaînes d'oligomères se présentent sous forme de sphères et les chaînes oligomères seront faiblement attachées à la surface des nanoparticules d'Or et facilement éliminées lors de l'étape de purification. Ici, le solvant DMF est miscible avec l'eau, donc les deux solutions de l'agent réducteur et les ions d'Or forment une seule phase. La fonctionnalisation des AuNPs a été réalisée lors de la synthèse des nanoparticules en introduisant l'oligomère souhaité dans le mélange réactionnel. L'oligomère peut jouer un double rôle à la fois comme une

molécule stabilisante et un agent de fonctionnalisation de surface pendant la synthèse et probablement comme molécule régulatrice d'assemblage qui se lie à la surface des nanoparticules et guide l'organisation des nanoparticules en solution.

Les AuNPs fonctionnalisées ont été préparées en utilisant des concentrations différentes de ligands DDT-P4VP avec divers poids moléculaires pour observer son effet sur la taille moyenne et la répartition des AuNPs. En plus, pour étudier l'effet de la concentration de l'agent réducteur, deux concentrations ont été utilisées, la première étant 10 fois la concentration de HAuCl_4 et la seconde 2.9 fois la concentration de HAuCl_4 (Tableau I.2.8). Les hétéroatomes (S et N) présents dans la chaîne de l'oligomère, ont une affinité différente vis-à-vis de l'Or; le soufre présente une affinité plus élevée que l'atome d'azote, qui conduit probablement à plusieurs structures des AuNPs. La première structure est la fixation des chaînes de DDT-P4VP sur la surface des AuNPs à travers l'atome du soufre présent dans la chaîne oligomère (Schéma I.2.5,A). Dans la deuxième structure, la présence de plusieurs atomes d'azote le long de la chaîne oligomère, dans les cycles pyridiniques, peut conduire à plusieurs points de contact entre les atomes d'azote et les nanoparticules facilitant la fixation de l'oligomère à la surface des AuNPs après la réaction de réduction (Schéma I.2.5,B). Ces fragments pyridines sont capables de créer de multiples interactions avec la surface du métal et de conduire à une stabilisation stérique des nanoparticules [29]. Dans la troisième structure, les deux hétéroatomes peuvent intervenir pour stabiliser les AuNPs (Schéma I.2.4,C).

Tableau I.2.8. Nanoparticules d'Or fonctionnalisées par DDT-P4VP

Échantillon	Oligomère	NaBH_4 / HAuCl_4 (mol/mol)	Oligomère/ HAuCl_4 (mg/mg)	UV-Vis		TEM	
				λ_{max} (nm)	Abs	Taille (nm)	IPD
P1	DDT-P4VP(1)	10	11.5	581.5	0.637	66.4	0.93
P2		2.9	11.5	562	0.224	3.6	0.39
P3	DDT-P4VP(3)	10	11.5	535.5	0.648	36.8	0.58
P4		2.9	11.5	522	0.883	3.4	0.11
P4-1	DDT-P4VP(3)	2.9	3.81	523	0.709	7.2	0.27
P4-2		2.9	19	517	0.779	3.5	0.11

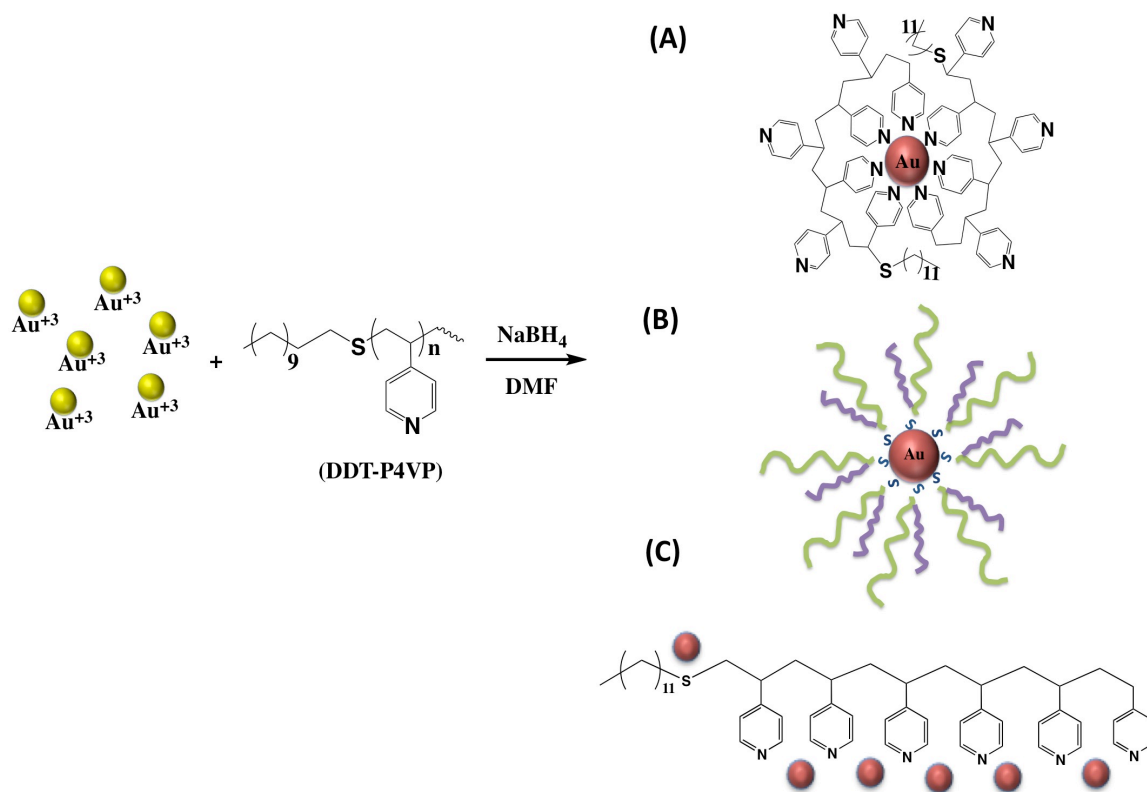


Schéma I.2.5. Schéma réactionnel de la réaction de réduction des ions d'Or en présence de DDT-P4VP. (A), (B) et (C) structures probables des AuNPs.

L'effet de la concentration en agent réducteur (NaBH_4) sur la taille et la distribution de taille des AuNPs peut être évalué en faisant varier la concentration de l'agent réducteur. Nous avons utilisé deux concentrations de NaBH_4 . Pour les deux concentrations, on utilise une seule masse moléculaire de l'oligomère DDT-P4VP. Les images TEM sur la figure I.2.16 sont les résultats de la réaction de préparation de AuNPs en présence de DDT-P4VP(1) de masse moléculaire 685 g/mol et avec deux concentrations de NaBH_4 (P1 et P2, Tableau I.2.8). Les images TEM montrent que les nanoparticules d'Or obtenues sont de formes sphériques avec différentes tailles. Le diamètre moyen des nanoparticules d'Or et l'indice de polydispersité (IPD) ont été évalués pour chaque échantillon à partir de l'image TEM en utilisant le logiciel ImageJ. Les diamètres moyens des AuNPs sont 66.4 nm pour P1 et 3.6 nm pour P2, qui correspondent à la concentration décroissante de NaBH_4 de 10 à 2.9 fois la concentration de HAuCl_4 , respectivement. Les distributions de tailles des deux échantillons obtenues sont présentées sur la figure I.2.16, une distribution de taille étroite a été observée avec la plus faible concentration en NaBH_4 , les échantillons P1 et P2 ont une distribution de

taille de 0.93 et 0.39, respectivement. En conséquent, la faible concentration de l'agent réducteur donne naissance à des AuNPs plus petits et assez uniformes. Cependant, à une concentration élevée de l'agent réducteur, les particules ont augmenté d'un facteur 18 fois. Cela peut être dû à la réduction excessive du sel d'Or en présence d'un fort excès de l'agent réducteur.

Sur la figure I.2.16 les NPs de l'échantillon (P1) possèdent une taille plus grande. En agrandissant l'échelle on remarque que, les grosses particules d'Or sont formées par l'agrégation d'un grand nombre de petites particules de taille qui ne dépasse pas 5 nm. Les petites particules d'Or ont tendance à s'associer dans des milieux dispersés pour former de grandes AuNPs de taille supérieure à 50 nm. Le comportement observé est cohérent avec les résultats des UV-visible. Selon l'image TEM les petites particules sont entourées d'une couche blanche protectrice, ce qui correspond à la structure (A) ou (B) proposée sur le schéma I.2.5.

La spectroscopie UV-Visible constitue une méthode simple pour évaluer l'état d'agrégation, la stabilité des nanoparticules d'Or et l'efficacité de modification de surface. Les états d'agrégation des nanoparticules d'Or sont le résultat d'un couplage interparticules irréversible qui s'accompagnent d'un décalage vers le rouge du spectre UV-visible, ainsi que d'un élargissement des pics d'absorption avec une diminution de leurs intensités [30]. Les spectres d'absorption UV-visible représentés sur la figure I.2.16, montrent des maximums d'absorption à 581.5 et 562 nm, qui correspondent aux AuNPs P1 et P2 préparés à deux concentrations différentes de NaBH_4 , respectivement. Les deux longueurs d'onde indiquent la présence en solution de grosses NPs, ce qui est en cohérence avec les mesures TEM pour l'échantillon P1. Cependant, l'échantillon P2 présente également un pic d'absorption large avec faible intensité et λ_{max} élevée, ceci est probablement dû à l'accumulation des petites NPs en solution colloïdale. La couche protectrice de polymère sur la surface des AuNPs est aussi observée dans l'image de l'échantillon P2.

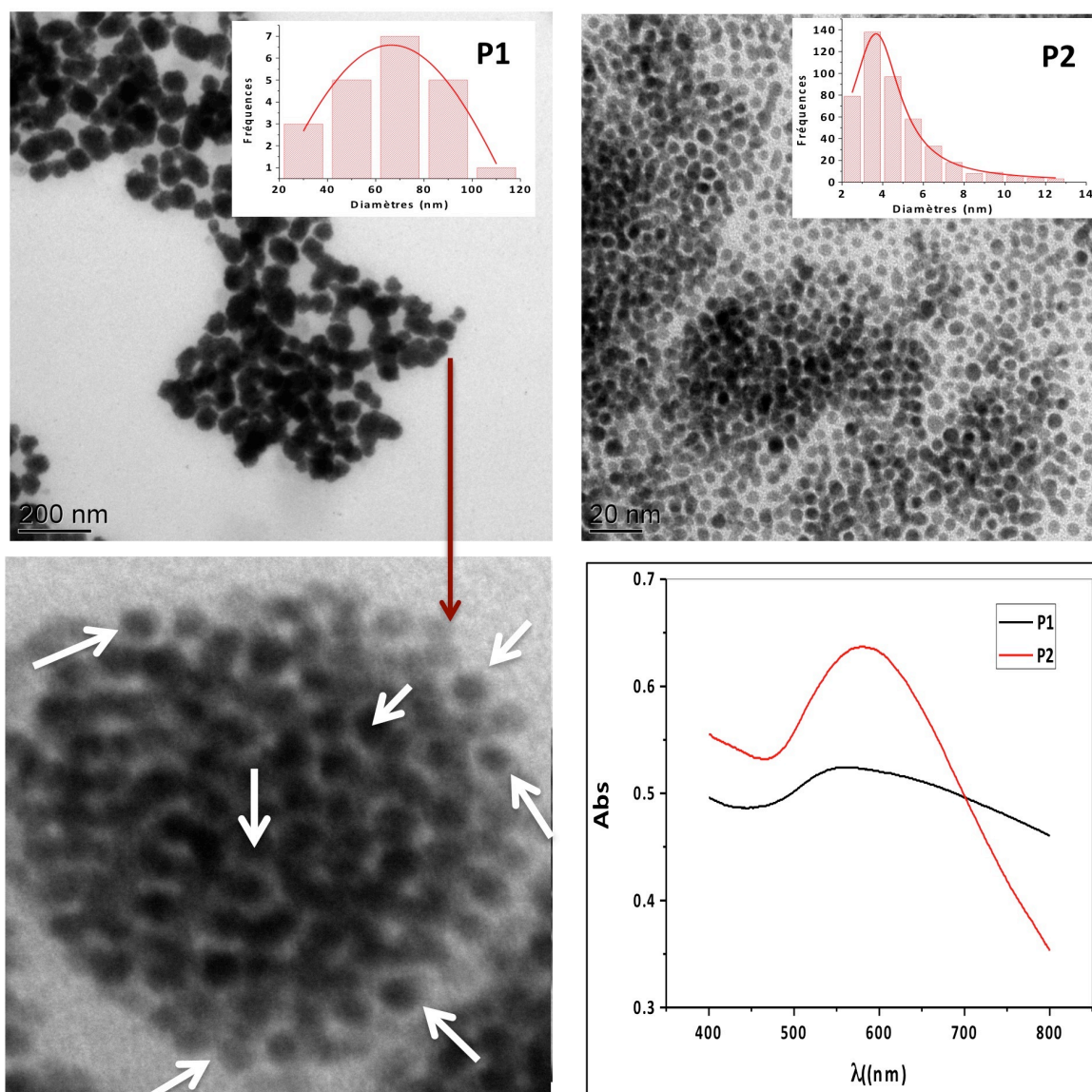


Figure I.2.16. AuNPs synthétisées en présence de DDT-P4VP(1) de masse 685 g/mol avec deux concentrations de NaBH_4 : (P1) $[\text{NaBH}_4]$ élevée, (P2) $[\text{NaBH}_4]$ faible. Spectres UV-Vis de P1 et P2

Pour étudier l'effet de la masse de l'oligomère sur la taille, la morphologie et la distribution de taille des AuNPs, une deuxième synthèse a été réalisée en utilisant une masse relativement plus élevée 900 g/mol (DDT-P4VP(3)) (Tableau I.2.7) avec deux concentrations différentes de NaBH_4 (P3 et P4, Tableau I.2.8). Les résultats obtenus sont présentés sur la figure I.2.17. On observe une amélioration au niveau de la distribution de taille des AuNPs; 0.58 et 0.11 correspondent à P3 et P4 respectivement. On observe aussi sur l'image TEM, pour l'échantillon P3, les nanoparticules de grande taille (36.8 nm) s'associent entre elles pour former une structure ramifiée ou branchée. Par contre, l'échantillon P4 présente des AuNPs parfaitement uniformes de faible taille 3.4 nm et

avec une distribution de taille étroite (0.11). Ainsi, la quantité de l'agent réducteur a un effet important sur la taille des particules.

Les résultats du TEM sont en accord avec les résultats de la spectroscopie UV-visible (Figure I.2.17); des maximums d'absorption situés à 535.5 nm et 522 nm avec des absorbances de 0.648 et 0.883 sont observés pour les deux échantillons P3 et P4 respectivement. Les AuNPs de taille élevée (P3) possèdent un pic d'absorption décalé vers les grandes longueurs d'onde (535.5 nm) avec une intensité faible.

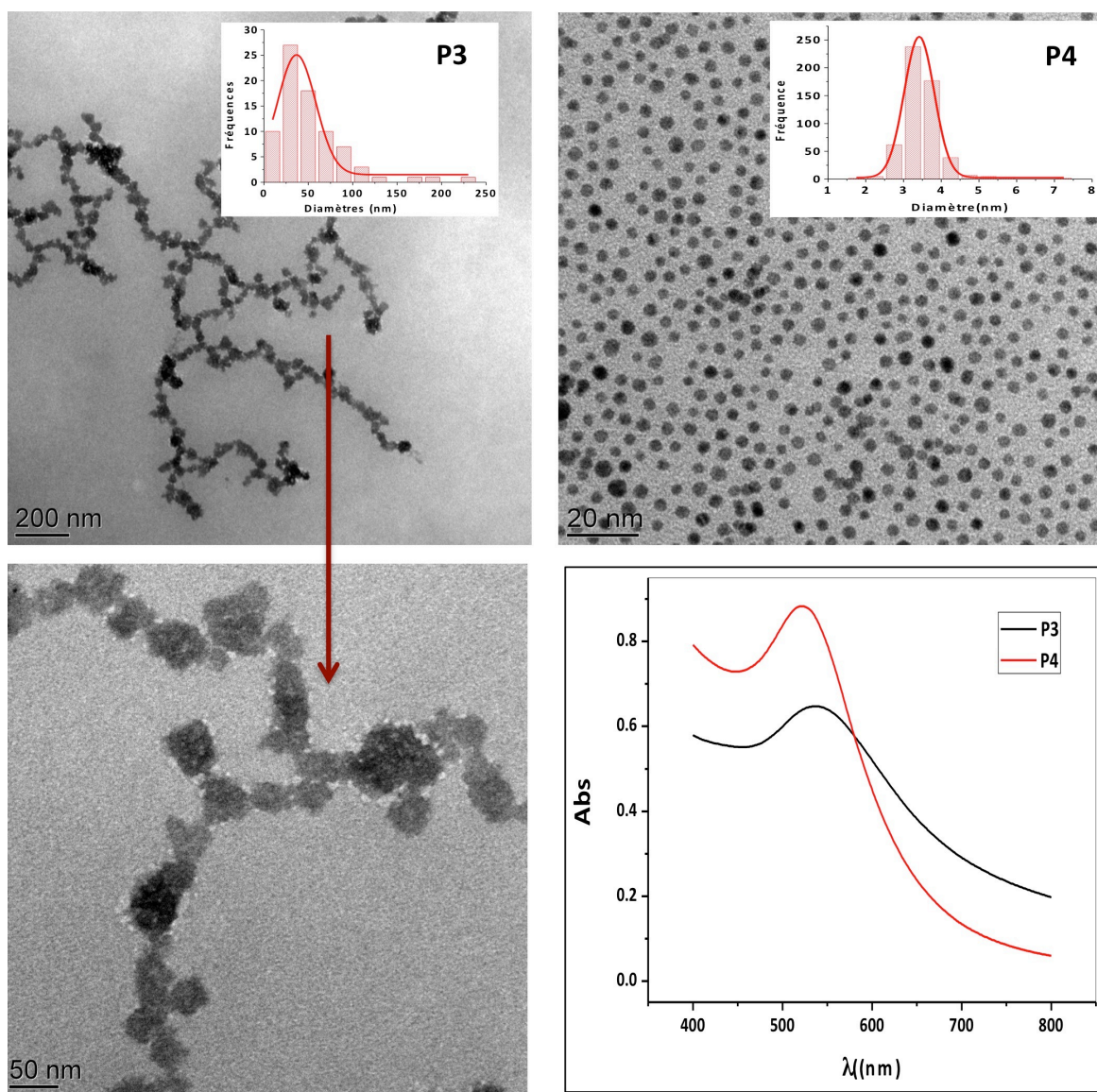


Figure I.2.17. TEM images des AuNPs synthétisées en présence de DDT-P4VP(3) de masse 900 g/mol avec deux concentrations de NaBH_4 : (P3) $[\text{NaBH}_4]$ élevée, (P4) $[\text{NaBH}_4]$ faible. Spectres UV-visible de P3 et P4.

Dans le but de déterminer l'effet de la quantité d'oligomère sur la taille moyenne et la distribution de taille des AuNPs, trois concentrations de ligand oligomère DDT-P4VP(3) ont été utilisées (Tableau I.2.8). Les études par microscopie (TEM) indiquent que les tailles des particules moyennes des AuNPs entourées par le ligand oligomère DDT-P4VP(3) sont 7.2 nm, 3.4 nm et 3.5 nm pour une quantité croissante d'oligomère. La figure I.2.18 montre que la faible concentration en DDT-P4VP(3) produit des AuNPs de taille non-uniforme et de distribution de taille relativement large, (Échantillon P4-1), par rapport au deux autres échantillons (P4 et P4-2). Lorsque la concentration en DDT-P4VP augmente, on obtient des AuNPs de taille plus faible et une distribution de taille étroite. Mais, au-delà d'une certaine concentration l'effet de la quantité de l'oligomère n'a pas un effet significatif, les deux échantillons (P4 et P4-2) ont presque la même taille et la même distribution de taille. Par conséquent, une quantité élevée de DDT-P4VP est capable de produire des AuNPs de taille contrôlée et de distribution de taille étroite.

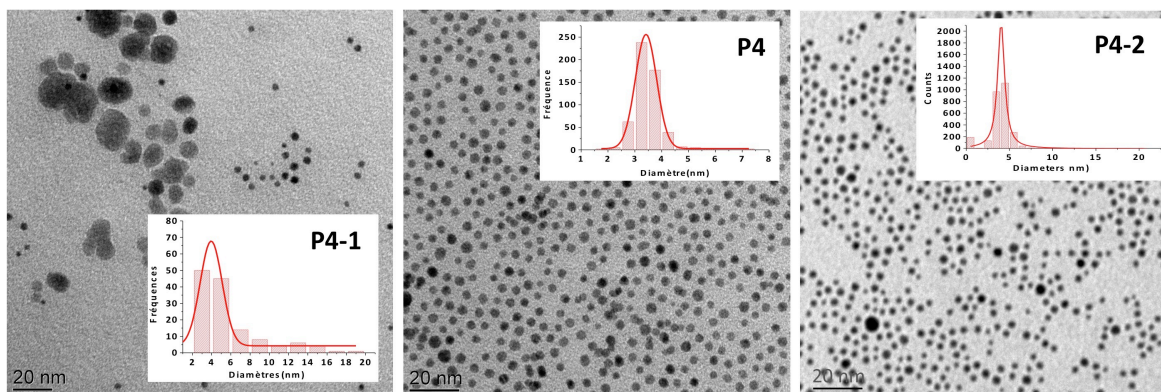


Figure I.2.18. TEM images des AuNPs synthétisées en présence de DDT-P4VP(3) de masse 900g/mol avec une concentration croissante .

Les spectres d'absorption UV-visible de la figure I.2.19, montrent des maximums d'absorption à 523 nm, 522 nm et 517 nm, qui correspondent aux AuNPs P4-1, P4 et P4-2 respectivement, préparées en utilisant différentes concentrations de l'oligomère DDT-P4VP(3). En fait, des maximums d'absorptions presque identiques sont observés pour les trois échantillons à cause des tailles très proches des NPs.

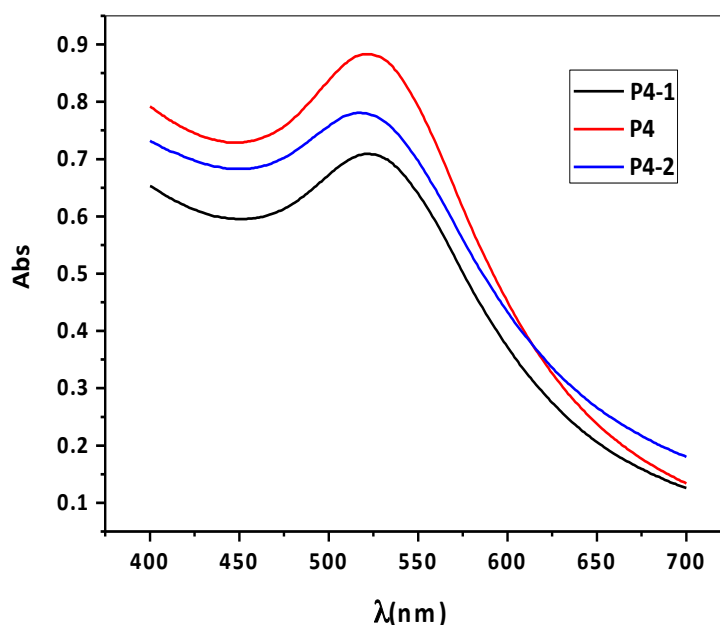


Figure I.2.19. Spectres UV-Vis des AuNPs synthétisées avec différentes concentrations de DDT-P4VP(3) de masse 900 g/mol

Les AuNPs ont été synthétisées en présence de l'oligomère thioéther DDT-PNVP avec divers poids moléculaires 285, 315, 1790 et 2170 g/mol (Tableau I.2.6), pour étudier l'effet de la longueur de chaîne sur la taille moyenne et la distribution de taille des AuNPs. Pour cela, une concentration de 4.52 mg/mL d'oligomère avec une concentration faible et constante de l'agent réducteur a été utilisée (Tableau I.2.9). D'autre part, les hétéroatomes présents dans la chaîne de l'oligomère (S et N), ont une affinité envers les AuNPs; et peuvent créer des interactions avec le métal conduisant à la stabilisation des AuNPs comme il a été déjà mentionné précédemment.

Tableau I.2.9. Résultats obtenus des échantillons de AuNPs fonctionnalisées par du DDT-PNVP.

Échantillon	Oligomère	NaBH ₄ / HAuCl ₄ (mol/mol)	Oligomère/ HAuCl ₄ (mg/mg)	UV-Vis		TEM	
				λ _{max} (nm)	Abs	Taille (nm)	IPD
N1	DDT-PNVP(1)	2.9	11.5	526	0.537	3.2	0.38
N2	DDT-PNVP(2)	2.9	11.5	524	0.784	3.1	0.20
N3	DDT-PNVP(3)	2.9	11.5	517	1.323	3.8	0.32
N4	DDT-PNVP(4)	2.9	11.5	523	1.145	5.5	0.40

La figure I.2.20 montre les images TEM des AuNPs formées avec l'oligomère DDT-PNVP. Les nanoparticules ont une forme sphérique avec des tailles aussi faibles que celles obtenues avec l'oligomère DDT-P4VP dans les mêmes conditions; le diamètre moyen calculé des AuNPs est 3.2 nm, 3.1 nm, 3.8 nm et 5.5 nm correspondant aux différents poids moléculaires d'oligomère utilisés. Malgré la différence des poids moléculaires des oligomères, la taille des AuNPs est presque identique et comprise entre 3 et 5.5 nm avec une distribution de taille relativement étroite (de 0.32 à 0.40). Selon la littérature, les polymères thioéther conduisent toujours à la formation des NPs de faible taille [31].

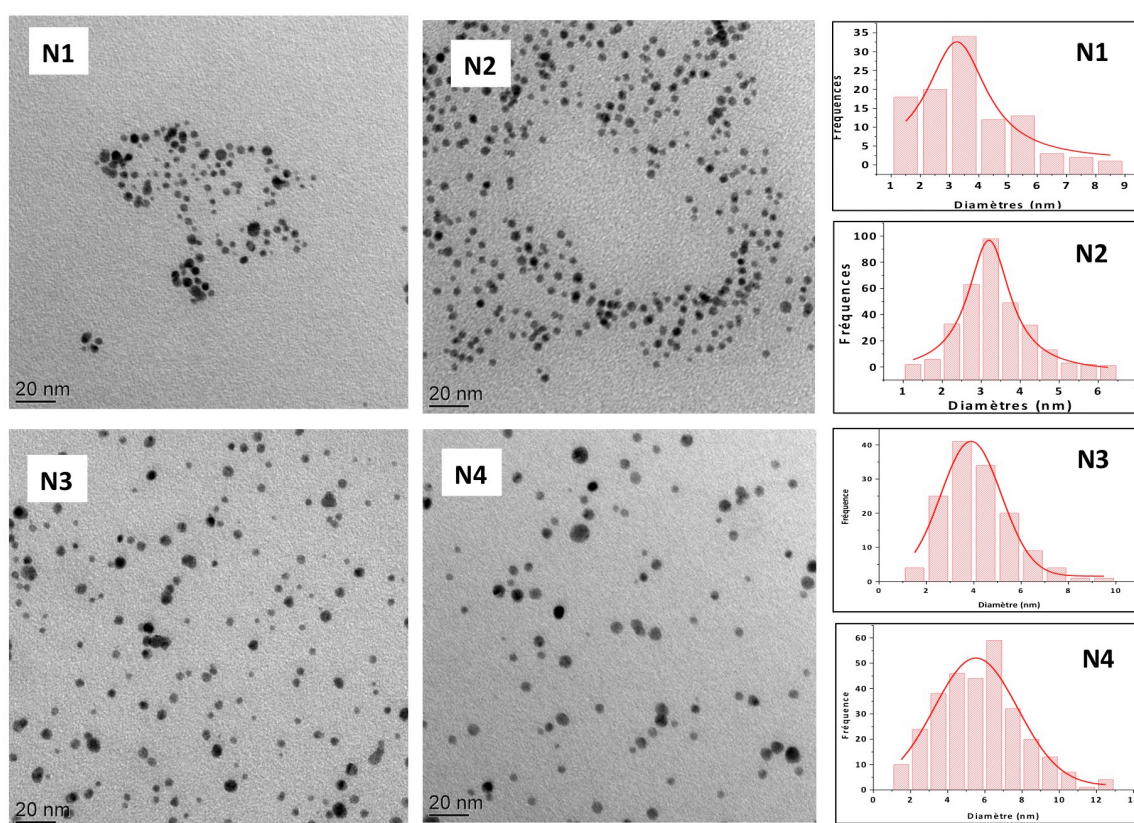


Figure I.2.20. Images TEM des AuNPs synthétisées en présence de DDT-PNVP de différentes masses: 285 g/mol (N1), 315 g/mol (N2), 1790 g/mol (N3) et 2170 g/mol (N4)

Les spectres d'absorption UV-visible, présentés sur la figure I.2.21, montrent des maximums d'absorption à 526 nm, 524 nm, 517 nm et 523 nm, qui correspondent aux AuNPs préparées avec une concentration fixe de NaBH_4 (2.9 fois la concentration de HAuCl_4), et avec des masses moléculaires d'oligomère croissantes. En fait, les maximums d'absorption sont presque identiques, ceci révèle que les tailles des nanoparticules sont

très proches.

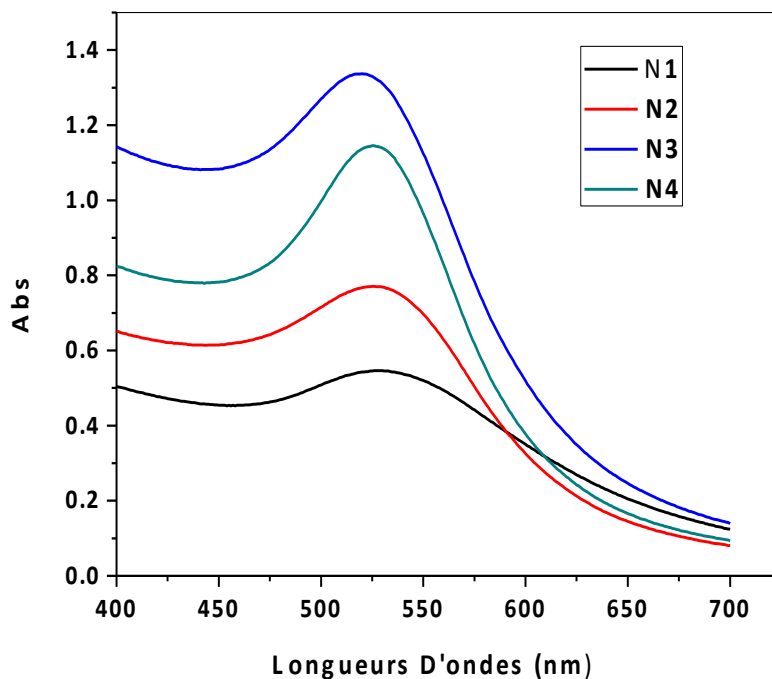


Figure I.2.21. Spectres d'absorption UV-Visible des AuNPs préparées avec des ligands oligomère DDT-PNVP à différents poids moléculaires: (N1) 285 g/mol, (N2) 315 g/mol, (N3) 1790 g/mol et (N4) 2170 g/mol

4. Conclusion

Les nanocomposites à base de nanoparticules d'Or ont une importance grandissante pour la nanotechnologie. Le grand impact des nanoparticules d'Or repose sur leurs applications en raison de leur réactivité et de leur biocompatibilité. Cependant, il est important de se focaliser sur la synthèse des particules de taille contrôlée par des voies synthétiques faciles. Dans le présent travail, nous avons étudié les procédés de synthèse des nanomatériaux à base de nanoparticules d'Or. Deux procédés ont été suivis, le premier consiste à la synthèse des AuNPs puis leur fonctionnalisation par un polymère. Le deuxième procédé repose sur la synthèse et la fonctionnalisation in situ des AuNPs en milieu organique. Dans la première méthode, des nanoparticules d'Or ont été préparées par réduction chimique en utilisant le NaBH_4 et le PVA comme des agents réducteurs. L'encapsulation des nanoparticules d'Or avec un polymère biodégradable (le polycaprolactone) a été réalisée par la méthode double émulsion à évaporation de solvant (w/o/w). Les différents produits synthétisés ont été caractérisés par différentes

techniques d'analyse telles que: la spectroscopie UV-vis, FTIR, RMN¹H, TEM et SEM. Les nanoparticules d'Or synthétisées ont une morphologie sphérique avec une distribution de taille étroite. Les images TEM et SEM des particules de PCL incorporées avec des AuNPs ont également révélé une morphologie sphérique avec une structure de type noyau-coquille avec des surfaces lisses. Les AuNPs encapsulées par un polymère biodégradable peuvent être utilisées comme agents de contraste dans diverses applications biomédicales à la fois in vitro et in vivo. Dans le deuxième procédé, la synthèse des nanoparticules d'Or et leur fonctionnalisation, par des oligomères thioéther, sont réalisées simultanément dans un milieu organique. Les oligomères thioéther ont été synthétisés et utilisés comme stabilisants pour les AuNPs. À partir des résultats obtenus, des AuNPs uniformes avec une taille faible et une distribution de taille étroite ont été préparées. L'effet de la concentration de l'agent réducteur, qui affecte la taille et la distribution de taille des particules résultantes, a été étudiée. Les résultats obtenus ont montré qu'une petite quantité d'agent réducteur conduit à des AuNPs avec une taille uniforme et une distribution de taille étroite, par contre, une concentration d'agent réducteur plus élevé produit des AuNPs de taille relativement importantes. En effet, les résultats indiquent que les ligands thioéther DDT-P4VP et DDT-PNVP ont la capacité de contrôler la taille et la distribution de taille des AuNPs. Cependant, une augmentation de la taille des nanoparticules est observée avec les oligomères de faibles poids moléculaires.

Références

- [1] L. Shang, C. Qin, T. Wang, et al, Fluorescent conjugated polymer-stabilized gold nanoparticles for sensitive and selective detection of cysteine, *J.Phys. Chem. C.* 111(2007) 13414–13417. doi:10.1021/jp073913p.
- [2] N. Elahi, M. Kamali, M.H. Baghersad, Recent biomedical applications of gold nanoparticles : A review, *Talanta.* 184 (2018) 537–556. doi:10.1016/j.talanta.2018.02.088.
- [3] J. Shan, H. Tenhu, Recent advances in polymer protected gold nanoparticles : synthesis, properties and applications, *Chem.Commun.* 44(2007) 4580–4598. doi:10.1039/b707740h.
- [4] Dongxiang Li, Qiang He, Yue Cui, et al, Fabrication of pH-Responsive Nanocomposites of Gold Nanoparticles / Poly(4-vinylpyridine), *Chem. Mater.* 19(2007) 412-417. doi:10.1021/cm062290.
- [5] S.K. Kumar, N. Jouault, B. Benicewicz, et al, Nanocomposites with Polymer Grafted Nanoparticles, *Macromolecules.* 46(2013) 3199-3214. doi.org/10.1021/ma4001385
- [6] H. Huang, C. Chang, I. Liu, et al, Synthesis of Gold Nanocomposite via Chemisorption of Gold Nanoparticles with Poly(p-methylstyrene) Containing Multiple Bonding Groups on the Chain Side, *J Polym Sci Part A: Polym Chem.* 43(2005) 4710–4720. doi:10.1002/pola.20940.
- [7] M.K. Corbierre, N.S. Cameron, R.B. Lennox, Polymer-stabilized gold nanoparticles with high grafting densities, *Langmuir.* 20 (2004) 2867–2873. doi:10.1021/la0355702.
- [8] X. Zhou, J.M. El Khoury, L. Qu, et al, A facile synthesis of aliphatic thiol surfactant with tunable length as a stabilizer of gold nanoparticles in organic solvents, *J. Colloid Interface Sci.* 308 (2007) 381–384. doi:10.1016/j.jcis.2007.01.040.
- [9] A. Low and V. Bansal, A visual tutorial on the synthesis of gold nanoparticles, *Biomedical Imaging and Intervention Journal.* 6(2014) 1–6. doi:10.2349/bij.6.1.e9.
- [10] T.J. Chem, A Facile Method for the Preparation of Poly(4-vinylpyridine) Nanoparticles and their, *Turk J Chem.*33 (2009) 23–31. doi:10.3906/kim-0710-5.
- [11] M. Valle-orta, D. Diaz, P. Santiago-jacinto, Instantaneous Synthesis of Stable Zerovalent Metal Nanoparticles under Standard Reaction, *J. Phys. Chem.* 112(2008) 14427–14434. doi.org/10.1021/jp802773r
- [12] C. Díaz-cruz, G. Alonso, H. Espinoza-gómez, et al, Effect of molecular weight of PEG or PVA as reducing-stabilizing agent in the green synthesis of silver-nanoparticles, *European Polymer Journal.* 83 (2016) 265–277. doi:10.1016/j.eurpolymj.2016.08.025.
- [13] M.A.K. Abdelhalim, M.M. Mady, M.M. Ghannam, Physical Properties of Different Gold Nanoparticles : Ultraviolet-Visible and Fluorescence Measurements, *J Nanomed Nanotechol.* 3(2012) 1-5. doi:10.4172/2157-7439.1000133.
- [14] V. Amendola, R. Pilot, M. Frasconi, Surface plasmon resonance in gold nanoparticles : a review, *J. Phys.: Condens. Matter.* 29 (2017) 203002 (48pp). doi.org/10.1088/1361-648X/aa60f3

- [15] G.L. Nealon, B. Donnio, R. Greget, et al, Magnetism in gold nanoparticles, *Nanoscale*. 4 (2012) 5244. doi:10.1039/c2nr30640a.
- [16] W. Haiss, N.T.K. Thanh, J. Aveyard, et al, Determination of size and concentration of gold nanoparticles from UV-Vis spectra, *Anal. Chem.* 79(2007) 4215–4221. doi:10.1021/ac0702084.
- [17] V. Amendola, M. Meneghetti, V. Amendola, et al, Size Evaluation of Gold Nanoparticles by UV- vis Spectroscopy, *Journal of Physical Chemistry C*. 113(2009) 4277–4285. doi:10.1021/jp8082425.
- [18] S. Baset, H. Akbari, H. Zeynali, et al, Size Measurement of Metal and Semiconductor Nanoparticles Via UV-Vis Absorption Spectra, *Digest J. Nanomater. Biostructures*. 6(2011) 709–716.
- [19] R. Desai, V. Mankad, S.K. Gupta, et al, Size Distribution of Silver Nanoparticles : UV-Visible Spectroscopic Assessment, *Nanoscience and Nanotechnology Letters*. 4(2012) 30–34. doi:10.1166/nnl.2012.1278.
- [20] M. Iqbal, G. Usanase, Kafia Oulmi, et al, Preparation of gold nanoparticles and determination of their particles size via different methods, *Materials Research Bulletin*. 79 (2016) 97–104. doi.org/10.1016/j.materresbull.2015.12.026
- [21] M. Grzelczak, A. Sanchez-Iglesias, L.M. Liz-Marzan, A general approach toward polymer-coated plasmonic nanostructures, *Cryst.Eng.Comm.* 16 (2014) 9425–9429. doi:10.1039/C4CE00724G.
- [22] V. Bhavsar, D. Tripathi, Structural , optical , and aging studies of biocompatible PVC-PVP blend films, *J Polym Eng*. 38(2017) 1-7. doi.org/10.1515/polyeng-2017-0184.
- [23] M. I. Loría-Bastarrachea, W. Herrera-Kao, J. V. Cauich-Rodríguez, et al, A TG/FTIR study on the thermal degradation of poly (vinyl pyrrolidone), *J Therm Anal Calorim*. 104 (2011) 737–742. doi:10.1007/s10973-010-1061-9.
- [24] T. Agarwal, K.A. Gupta, S. Alam, et al, Fabrication and Characterization of Iron Oxide Filled Polyvinyl Pyrrolidone Nanocomposites, *International Journal of Composite Materials*. 2 (2012) 17–21. doi:10.5923/j.cmaterials.20120203.01.
- [25] J. Jayabharathi, G.A. Sundari, V. Thanikachalam, et al, A dodecanethiol-functionalized Ag nanoparticle- modified ITO anode for efficient performance of organic light-emitting devices. *RSC Advances*, 7(2017) 38923–38934. doi:10.1039/C7RA07080B.
- [26] C. Huang, S. Kuo, J. Chen, et al, Synthesis and Characterization of Polystyrene-b-Poly (4- vinyl pyridine) Block Copolymers by Atom Transfer Radical Polymerization, *Journal of Polymer Research*. 12(2005) 449–456. doi:10.1007/s10965-004-5665-2.
- [27] Pınar Akkaş Kavaklı, Cengiz Kavaklı, Olgun Güven, Preparation of quaternized dimethylaminoethylmethacrylate grafted nonwoven fabric for the removal of phosphate, *Radiation Physics and Chemistry*. 79 (2010) 233–237. doi:10.1016/j.radphyschem.2009.08.011.
- [28] F. Junfei, X. Yimin, L.I. Qiang, Preparation of polystyrene spheres in different particle sizes and assembly of the PS colloidal crystals, *Sci. China Technol. Sci.* 53(2010) 3088–3093 doi:10.1007/s11431-010-4110-5.

- [29] J. Li, L. Shi, Y. An, et al, Reverse micelles of star-block copolymer as nanoreactors for preparation of gold nanoparticles, *Polymer (Guildf)*. 47 (2006) 8480–8487. doi:10.1016/j.polymer.2006.09.071.
- [30] H. Tyagi, A. Kushwaha, A. Kumar, et al, A Facile pH Controlled Citrate-Based Reduction Method for Gold Nanoparticle Synthesis at Room Temperature, *Nanoscale Res. Lett.* 11 (2016) 362. doi:10.1186/s11671-016-1576-5.
- [31] S. Razzaque, S.Z. Hussain, I. Hussain, et al, Design and utility of metal/metal oxide nanoparticles mediated by thioether end-functionalized polymeric ligands, *Polymers (Basel)*. 8 (2016) 156. doi:10.3390/polym8040156.

Partie II

Élaboration des Capteurs Chimiques à Base de Polymère et des Nanoparticules d'Or: Application à la Détection de Polluants Organiques

Chapitre II-1

Étude Bibliographique

1. Introduction

Au cours de ces dernières années, le contrôle de la qualité de notre environnement (surveillance des rejets industriels ou domestiques) nécessite la mise au point de méthodes analytiques de plus en plus précises et sélectives [1,2]. Actuellement, les capteurs chimiques et électrochimiques constituent des systèmes simples, fiables, rapides et sélectifs de détection [3,4]. La nanotechnologie peut être utilisée pour fabriquer des capteurs qui détectent de très petites quantités de produits chimiques (jusqu'à femto-molaire) [5,6]. Divers types de nanoparticules, tels que les nanotubes de carbone [7,8], les nanoparticules d'oxyde de zinc [9,10], le graphène [11] et les nanoparticules d'Or [12,13], ont été déjà utilisés dans l'élaboration des capteurs.

Dans ce chapitre, nous essayerons de donner un aperçu général sur les polluants organiques échappés de plastiques, sur les capteurs, les techniques électrochimiques d'analyse ainsi que sur les méthodes d'élaboration des électrodes modifiées par des polymères.

2. Les matériaux plastiques

Aujourd'hui les matériaux plastiques sont utilisés dans tous les domaines de notre vie quotidienne. La matière plastique remplace les autres matériaux traditionnels comme le métal, le carton, le bois, les verres et les céramiques. L'utilisation des matériaux plastiques apporte des solutions de fabrication simples, de réalisations fiables et esthétiques avec un prix de revient compétitif, qui concurrencent les autres matériaux [14]. La matière plastique est constituée principalement d'un polymère, un adjuvant et un additif. Ces différents composés sont introduits dans le polymère de base pour apporter certaines caractéristiques au matériau final: couleur ou transparence, souplesse ou rigidité, résistance au vieillissement naturel, etc [15]

2.1. Les additifs

Les additifs sont introduits avec un pourcentage qui dépasse 10 % de la composition du produit final tels que : les plastifiants, les charges et les renforts. Les plastifiants sont incorporés au polymère de base pour donner un matériau souple et flexible, par exemple, le PVC souple peut contenir plus de 40% en poids de plastifiants,

principalement des phtalates. Par contre les renforts sont utilisés pour augmenter la résistance mécanique du produit final comme: les fibres de verre, les fibres de carbone et les polyacrylamides (kevlar et Nomex) [15].

2.2. Les adjuvants

Les adjuvants sont utilisés avec un pourcentage inférieur à 10 % de la composition du produit final, parfois moins de 1 % tels que les colorants, les lubrifiants et les stabilisants. Les colorants sont utilisés pour donner une couleur au polymère, les lubrifiants sont destinés à faciliter la mise en œuvre de la matière en particulier au cours de l'injection, ils réduisent le frottement entre la matière et l'acier de l'outillage, quant aux stabilisants, ils sont utilisés dans le but de ralentir ou retarder la dégradation de la matière en plastique lors du processus de transformation [15].

2.3. Toxicité des matériaux plastiques

Les polymères sont généralement considérés comme étant inertes chimiquement et ne constituant pas une menace pour la santé des êtres humains ou pour l'environnement. Cependant, les monomères résiduels n'ayant pas réagi, les catalyseurs ou les amorces peuvent être trouvés dans le matériau plastique car les réactions de polymérisation sont rarement complètes. En outre, des substances dangereuses, telles que certains additifs et adjuvants, ou leurs produits de dégradation qui restent dans la masse du polymère ne sont pas liés chimiquement (de manière covalente) à la structure du plastique, ils sont capables de s'échapper de la matrice polymère par lixiviation. Donc, ils contaminent facilement et durablement l'environnement, c'est-à-dire l'air, l'eau et les aliments, par conséquent ils peuvent également contaminer les individus [16-18]. Les quantités de ces produits chimiques lessivés dépendent de divers facteurs :

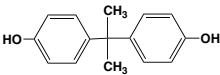
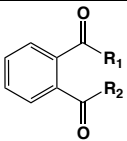
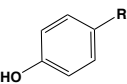
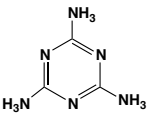
- Le contenu, la polarité, la forme et la taille (comparée aux interstices du polymère) de ces produits chimiques dans le plastique.
- Les propriétés du polymère, telles que la perméabilité de la structure du polymère.
- La taille des espaces dans le polymère dépend en grande partie de l'état physique, qui peut être vitreux, caoutchouteux ou cristallin. Par exemple, les

polymères caoutchouteux ont des espaces plus larges et donc des vitesses de diffusion plus élevées par rapport aux autres types de polymères.

- Lorsqu'on envisage la lixiviation d'additifs dans des liquides, il faut tenir compte de la taille moléculaire du liquide d'extraction. S'il est assez petit pour pénétrer dans la matrice du polymère, il peut dissoudre les additifs présents dans la matrice polymère et ceci est en relation étroite avec sa polarité, son acidité ou basicité.
- Outre les facteurs décrits ci-dessus, les facteurs environnementaux, tels que la température et les micro-organismes, peuvent également influencer sur le comportement de lessivage.

Le tableau ci-dessous regroupe les effets néfastes de quelques monomères, initiateurs, catalyseurs, additifs et adjuvants :

Tableau.II.1.1. Toxicité, utilisation et structure de quelques monomères, additifs et adjuvants.

Produits lessivés du plastique	Structure	Utilisation	Toxicité	Réf
BPA		- Monomère - Antioxydant (pour certains plastifiants)	- Toxique, Perturbateur endocrinien, mutagène et cancérigène - Peut augmenter le risque d'obésité, de diabète et de maladies cardiaques - Trouble de comportement chez les enfants	[19- 21]
Phtalates		Plastifiants	Maladies cardiovasculaires, hépatiques, urologiques, endocriniennes et génitales	[22,23]
Alkylphénols		Antioxydant et plastifiant dans certains plastiques	Perturbateurs endocriniens	[24,25]
Mélamine		Monomère	- Toxique - Insuffisance rénale - Conduit à la mort chez les enfants	[26,27]

3. Les électrodes modifiées chimiquement

Les électrodes modifiées chimiquement (CME) résultent de l'immobilisation d'un agent modificateur sur la surface de l'électrode par réactions chimiques, ou par formation de composites ou de revêtement de polymères. La couche du modificateur confère des propriétés intéressantes à la surface d'électrode. Les matériaux polymères naturels ou synthétiques, homopolymères ou copolymères, ont été utilisés comme couches sensibles en utilisant directement certaines de leurs propriétés chimiques ou indirectement comme supports pour des agents actifs. Les électrodes modifiées chimiquement ont trouvé des applications dans différents domaines tels que la détection, la conversion d'énergie, l'optique et l'électronique [28-30].

Les films de polymères sont très intéressants parce qu'ils ont une faible constante diélectrique, une bonne stabilité thermique, une bonne adhérence sur divers substrats, une bonne polarisabilité et faciles à mettre en œuvre. Les propriétés d'une couche mince de polymère sont fortement perturbées par son environnement gazeux ou liquide. Les molécules peuvent diffuser dans le film de polymère et conduire à un changement de la densité, de la polarisabilité, de l'indice de réfraction et de la conductivité (dans le cas de polymères conducteurs). Il existe de nombreuses techniques qui permettent d'élaborer des couches minces sur une grande variété de substrats.

3.1. Évaporation de solvants

Cette méthode consiste à déposer manuellement une microgoutte de polymère, dissous dans un solvant, à l'aide d'une micropipette directement sur la partie active du capteur suivi d'une évaporation du solvant [31]. Cette technique est la plus utilisée au laboratoire car elle est simple, ne nécessite pas de matériel spécifique, ni de compétence particulière. De plus, il n'y a aucune perte du produit déposé.

3.2. Dépôt à la tournette (spin-coating)

Cette méthode consiste à déposer par centrifugation une solution de polymère sur un substrat suivi d'une étape d'évaporation. Cette technique a l'avantage d'être facilement mise en œuvre, pour des investissements relativement modérés. De plus, elle est considérée comme une technique de base de la micro-électronique classique. Dans

cette méthode la rotation à vitesse constante permet l'éjection de l'excès de liquide et la diminution de l'épaisseur du film de polymère de façon uniforme. Par conséquent, en contrôlant les paramètres de rotation, il est possible de calculer l'épaisseur du film déposé [32].

3.3. Adsorption couche par couche (layer by layer)

Le dépôt couche par couche (LbL) est une technique de fabrication de couches minces. Les films sont formés en déposant des couches alternées de matériaux chargés de manière opposée avec des étapes de lavage intermédiaires. Cela peut être accompli en utilisant diverses techniques telles que l'immersion, le spin, la pulvérisation ou l'électromagnétisme [33].

3.4. Greffage des chaînes de polymères

Cette partie décrit les différentes techniques qui permettent d'obtenir une couche de polymère à la surface de substrats. Deux stratégies de synthèse sont possibles: la méthode "graft-to", et la méthode "graft-from" présentés sur la figure II.1.1.

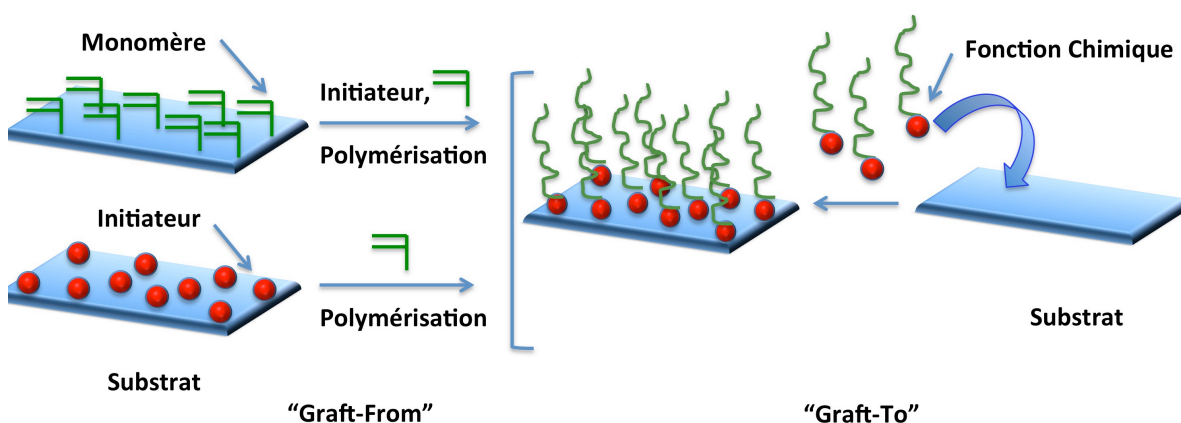


Figure II.1.1. Greffage des chaînes de polymères sur un substrat

3.4.1. Greffage par la méthode « Grafting-from »

Cette technique consiste à immobiliser, sur un substrat, un monomère ou un initiateur capable d'initier une réaction de polymérisation de manière à générer des sites de radicaux réactifs à la surface du substrat (Figure II.1.1). Une polymérisation à partir de la surface du substrat peut être déclenchée en contact d'une solution de monomère. Ainsi, un greffage des molécules de monomère se produit à la surface

du substrat par formation de liaisons covalentes entre les molécules monomères et les sites de radicaux réactifs. Grâce à cette technique, on peut obtenir de nouveaux substrats à revêtement stables [34,35].

3.4.2. Greffage par la méthode « Grafting-to »

Dans cette méthode, les polymères à terminaison active (fonctionnel) peuvent être liés directement à la surface des substrats préalablement préparés par l'interaction des groupements fonctionnels avec la surface des substrats (Figure II.1.1). L'avantage de cette technique covalente est la possibilité de caractériser le polymère avant qu'il soit greffé sur la surface des substrats. En général, cette méthode de greffage conduit à des densités de greffage faible, par rapport à la technique « Graft-from », car les premières chaînes greffées s'étalent sur la surface et masquent les sites réactifs du substrat [36]

4. Les Capteurs électrochimiques

4.1. Définition et qualité d'un capteur électrochimique

Un capteur électrochimique peut être défini comme un dispositif fournissant des informations continues sur son environnement. Idéalement, un capteur chimique fournit un certain type de réponse directement liée à la quantité d'une espèce chimique spécifique, il peut transformer l'information physico-chimique (composition, concentration, activité chimique, résistance...) en un signal analytiquement mesurable. Tous les capteurs électrochimiques contiennent, généralement, deux composants de base un transducteur, qui transforme la réponse en un signal détectable, et une couche chimiquement sélective (la couche sensible) [37]. Les caractéristiques recherchées dans un capteur chimique sont décrites ci-dessous:

- La sensibilité

La sensibilité se traduit par la capacité de la couche sensible à modifier une de ses propriétés en présence de l'analyte. Par définition, il s'agit du rapport entre la variation de la grandeur de sortie fournie par le capteur et la variation de la grandeur à mesurer. Si la réponse du capteur est linéaire, la sensibilité sera alors constante.

$$S = \frac{\Delta R}{\Delta T} \quad \text{Equation (II.1.1)}$$

Avec, S , la sensibilité de détection

ΔR , la réponse du capteur (résistance, conductivité,)

ΔT , la grandeur à mesurer

- **La sélectivité**

C'est l'une des caractéristiques la plus importante des capteurs. Par définition, la sélectivité est l'aptitude d'un dispositif à détecter quantitativement la présence d'un analyte indépendamment des variations de concentrations des autres produits capables d'interférer. On parle d'une sélectivité absolue lorsqu'un capteur ne répond qu'à une seule espèce, et que sa réponse n'est pas affectée par la présence d'une autre espèce. La sélectivité est dite relative si on dispose d'un capteur qui répond à différentes espèces susceptibles d'être présentes dans son environnement.

- **La stabilité**

Ce paramètre est utilisé pour caractériser la dérivée du signal du capteur dans le temps, c'est-à-dire la constante de réponse (sensibilité) au cours du temps. L'utilisation à long terme d'un capteur peut donc être limitée par son vieillissement.

- **La réversibilité**

La réversibilité exprime la capacité de la couche sensible, après exposition à l'espèce chimique à détecter, à se régénérer, c'est-à-dire à revenir à son état initial. Le temps nécessaire pour parvenir à cette réversibilité est un paramètre important pour une nouvelle application du capteur.

4.2. Principe de fonctionnement d'un capteur chimique

Le principe de fonctionnement de la plupart des capteurs chimiques repose sur une interaction physique et/ou chimique entre un matériau sensible (couche sensible) et l'espèce chimique à détecter. La couche sensible, partie essentielle du capteur, est un matériau qui peut être de nature organique, inorganique ou hybride organique-inorganique. Elle présente intrinsèquement des propriétés physico-chimiques particulières (conductivité, absorbance, fluorescence...) qui sont modifiées lorsqu'elle est en présence de l'espèce à détecter. Ce système de reconnaissance moléculaire est, en général, basé sur une interaction ou une réaction spécifique entre l'analyte à détecter

et le matériau sensible. Cette interaction est ensuite traduite par l'intermédiaire d'un transducteur en un signal physique mesurable (optique, électrique, piézoélectrique...) proportionnel à la concentration de l'espèce à détecter (Figure II.1.2) [37].

Les capteurs peuvent être classés en fonction de la propriété à déterminer en tant que: capteurs électriques, optiques ou thermiques. Les capteurs électrochimiques sont les plus importants en raison de leur détectabilité remarquable, de leur simplicité expérimentale et de leur faible coût. Ils ont trouvé une vaste gamme d'applications intéressantes dans les domaines des analyses cliniques, industrielles, environnementales et agro-alimentaires.

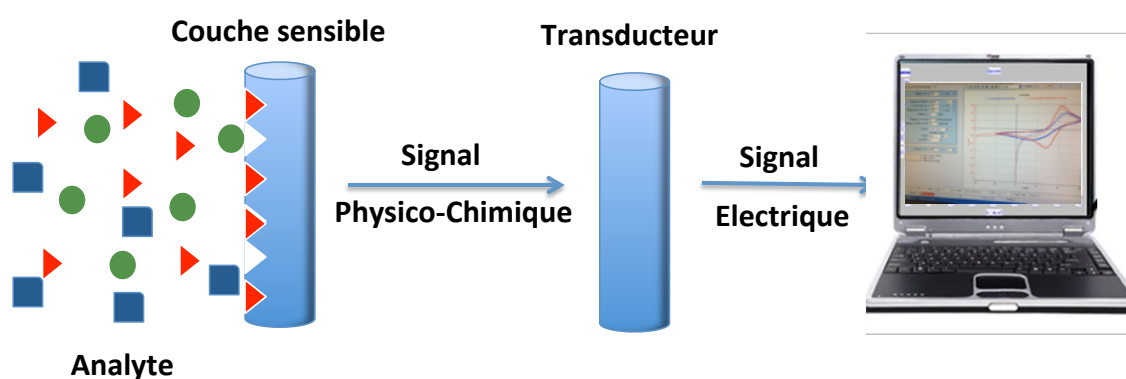


Figure II.1.2. Principe de fonctionnement d'un capteur électrochimique

4.3. Les couches sensibles

Les couches sensibles sont des matériaux utilisés pour créer une interaction spécifique avec l'analyte, pour assurer ainsi une bonne sélectivité. Cette couche est souvent construite par déposition d'un matériau tels que les oxydes métalliques et les polymères, ou par immobilisation d'un matériau biologique (enzymes, anticorps ou antigènes, ADN..) sur la surface de l'électrode. L'adsorption de l'analyte sur la surface du capteur conduit à la modification d'une grandeur physique, le plus souvent cette grandeur est la résistivité du matériau [38].

4.4. Types de capteurs électrochimiques

Il existe trois principaux types de capteurs électrochimiques: potentiométrique (variation de tension), ampérométrique (variation de courant), et conductimétrique (variation de conductivité) [39]. Les capteurs électrochimiques opèrent dans les milieux

liquides et gazeux. Dans tous les processus électrochimiques, on mesure un signal électrique généré entre deux électrodes, par une réaction d'oxydo-réduction de l'espèce à détecter.

4.4.1. Capteurs ampérométriques

Les capteurs ampérométriques exploitent l'utilisation d'un potentiel appliqué entre une électrode de référence et une électrode de travail pour amorcer l'oxydation ou la réduction d'une espèce électroactive; après le courant résultant est mesuré. Le courant mesuré dépend de la couche sensible, de la composition et de la géométrie des électrodes, des concentrations des espèces électroactives et des mécanismes de transport des espèces en phase liquide (migration, convection et diffusion). De plus, la mesure voltampérométrique est effectuée lorsque la différence de potentiel à travers la cellule électrochimique est balayée d'une valeur prédéfinie à une autre et que le courant de la cellule est enregistré en fonction du potentiel appliqué.

4.4.2. Capteurs potentiométriques

Les capteurs potentiométriques sont basés sur la mesure de la différence de potentiel entre l'électrode de travail et l'électrode de référence. Les informations sur la composition d'un échantillon sont obtenues à partir de la différence de potentiel entre les deux électrodes. Grâce à la loi de Nernst, il est alors possible de connaître la concentration de l'espèce à doser, le signal étant directement proportionnel au logarithme de la concentration (Equation II.1.2).

$$E = E^0 + \frac{RT}{nF} \ln \frac{[ox]^a}{[Red]^b} \quad \text{Equation (II.1.2)}$$

Avec:

E : le potentiel en Volt

E°: le potentiel standard en Volt

R : Constante des gaz parfaits , R = 8,3145 J·mol⁻¹·K⁻¹

T : Température en Kelvin (K)

F : Constante de Faraday (96 485 C.mol⁻¹)

n : Nombre d'électrons échangés

L'électrode sélective d'ions est une électrode indicatrice capable de mesurer sélectivement l'activité d'une espèce ionique particulière. Les types d'électrodes sont

principalement des dispositifs à membrane, constituées de matériaux conducteurs d'ions perméables, qui séparent l'échantillon à l'intérieur de l'électrode. Différentes méthodes d'élaboration d'une électrode, sélective pour une espèce, sont basées principalement sur la nature et la composition du matériau de la membrane. La recherche dans ce domaine a ouvert une variété d'applications à un nombre presque illimité d'analytes, où la seule limitation est la sélection de la matrice dopante et l'ionophore de la membrane.

4.4.3. Capteurs conductimétriques

Les méthodes de transduction par conductimétrie sont intéressantes grâce à leur simplicité de fabrication, leur facilité d'utilisation et leur faible coût car aucune électrode de référence n'est nécessaire. Les capteurs chimiques de cette classe reposent sur des changements de conductivité électrique d'un film ou d'un matériau, dont la conductivité est influencée par la présence de l'analyte. Cependant, les capteurs conductimétriques sont fondamentalement non sélectifs; ils détectent toutes les espèces ioniques présentées dans la solution, des optimisations sont nécessaires afin d'améliorer la sélectivité de la détection. Cependant, ce n'est qu'avec l'apparition des surfaces modifiées pour la sélectivité et avec une instrumentation bien améliorée que ces méthodes sont devenues plus réalisables pour concevoir des capteurs.

5. Méthodes électrochimiques d'Analyse

Les instruments classiques d'analyse pour la détection d'une espèce chimique sont généralement complexes, coûteux, volumineux et souvent difficiles à mettre en œuvre. De plus, les phases de préparation des échantillons, d'incubation, et d'exploitation des résultats augmentent souvent très fortement la durée totale d'analyse. Actuellement, de nombreuses méthodes analytiques ont été utilisées pour la détermination des polluants organiques, telles que la chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC) [40,41], la chromatographie en phase liquide-spectrométrie de masse [42,43], la chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse (GC-MS) [44,45], l'analyse par fluorescence [46,47], les méthodes colorimétriques [48] et les méthodes électrochimiques [49,53]. Cependant, les techniques électrochimiques sont les plus importantes en raison de leur sensibilité élevée, leur simplicité, leur faible coût, leur miniaturisation, leur réponse rapide et en temps réel par rapport aux autres

méthodes. Le développement de capteurs électrochimiques par la modification des électrodes est une méthode courante pour la détection des espèces chimiques. Par conséquent, divers types d'électrodes ont été modifiées à cette fin avec l'utilisation d'enzymes [54], d'anticorps [55], de chitosane [56], de graphène [57,58], de nanotubes de carbone [50], de nanoparticules d'Or [46], points quantiques [59] et polymères [60,61].

En général, en électrochimie, un électrolyte support est habituellement ajouté à la solution afin d'assurer une conductivité suffisante. La combinaison du solvant, de l'électrolyte et du matériel d'électrode spécifique utilisé détermine le domaine d'électroactivité (domaine de potentiel à l'intérieur duquel le solvant - ou l'électrolyte support - ne subissent pas de réactions d'oxydoréduction; soit le domaine de potentiel à l'intérieur duquel l'analyse peut être réalisée). Les méthodes électrochimiques utilisent une électrode de référence, une électrode de travail, et une contre-électrode (aussi appelée électrode secondaire ou électrode auxiliaire).

- Une électrode de travail sur laquelle on examine les différents processus électrochimiques à explorer.
- Une électrode de référence dont le potentiel est constant et connu, ce qui permet ainsi de contrôler le potentiel au niveau de l'électrode de travail.
- Une électrode auxiliaire qui permet de mesurer le courant circulant dans la cellule électrochimique.

Dans cette étude, les techniques d'analyse électrochimiques utilisées sont: la voltamétrie cyclique (CV), la voltampérométrie à pulsations différentielles (DPV), la chronoampérométrie (CA) et la spectroscopie d'impédance électrochimique (EIS).

5.1. Voltampérométrie cyclique

La voltampérométrie cyclique (ou voltamétrie cyclique) est une technique couramment utilisée, en raison de sa simplicité et de sa rapidité, pour la caractérisation initiale d'un système redox actif; elle est souvent la première expérience réalisée dans une étude électrochimique. Dans une expérience de voltamétrie, comme dans d'autres expériences à potentiels contrôlés, un potentiel est appliqué au système et on mesure le courant faradique de réponse, c'est-à-dire le courant dû à la réaction d'oxydo-réduction.

Pour obtenir un diagramme voltampérométrie cyclique, le potentiel appliqué doit varier suivant un cycle fermé. Le potentiel est mesuré entre l'électrode de référence et l'électrode de travail et le courant est mesuré entre l'électrode de travail et la contre-électrode. Ces données sont ensuite tracées comme l'intensité (I) en fonction du potentiel (E). Le potentiel contrôlé appliqué est un balayage de potentiel linéaire, en fonction du temps, avec une forme d'onde triangulaire, comme illustré à la figure II.1.3. En plus, les voltamétries à balayage linéaire du potentiel présentent essentiellement un intérêt pour l'étude de processus électrochimiques couplés avec des réactions chimiques, en effet, selon le mécanisme réactionnel, l'aspect des voltammogrammes se modifie de façon caractéristique [62].

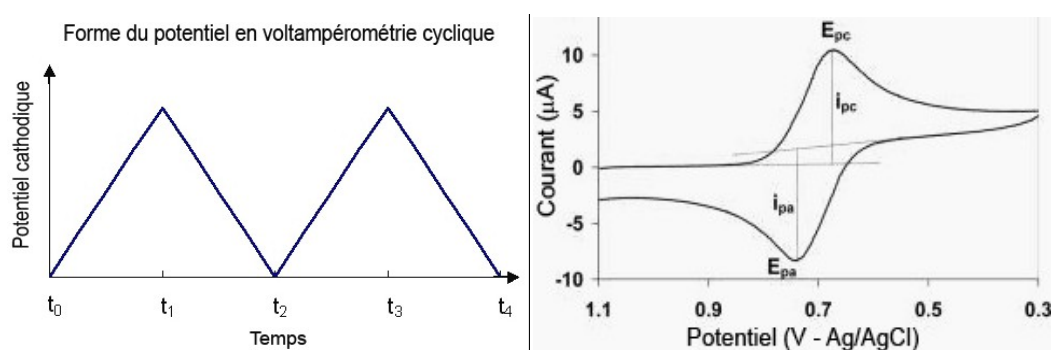


Figure II.1.3. Exemple de diagramme voltampérométrie cyclique avec la forme du potentiel associé.

La voltampérométrie cyclique (CV) est devenue une technique électroanalytique importante et largement utilisée dans de nombreux domaines de la chimie. Elle est rarement utilisée pour les déterminations quantitatives, mais elle est largement employée pour l'étude des processus redox, pour comprendre les intermédiaires de réaction et pour obtenir la stabilité des produits de réaction.

5.2. Techniques voltampérométriques d'impulsion

La base de toutes les techniques d'impulsion est la différence entre le taux de décroissance de la charge et les courants faradiques suivant une étape potentielle (ou "impulsion"). Le courant de charge décroît de façon exponentielle, tandis que le courant faradique (pour un courant à diffusion contrôlée) décroît en fonction de $1/t^{3/2}$; c'est-à-dire que le taux de décroissance du courant de charge est considérablement plus rapide que la décroissance du courant faradique. Les trois techniques d'impulsion largement

utilisées sont: la voltampérométrie à impulsion normale (NPV), la voltampérométrie différentielle à impulsion (DPV) et la voltampérométrie à onde carrée (SWV) [39].

5.2.1. Voltampérométrie à impulsion normale (NPV)

Cette technique consiste en une série d'impulsions potentielles d'amplitude croissante. La mesure du pic de courant produit s'effectue généralement vers la fin de chaque impulsion. Il est, généralement, effectué dans une solution non agitée. En NPV et à une certaine période, le courant résultant est égal à zéro. Cela peut s'expliquer par le fait qu'entre les impulsions, l'électrode est maintenue à un potentiel constant où aucune réaction chimique ne se produit dans la cellule [63]. Le voltammogramme résultant affiche le courant échantillonné sur l'axe vertical et le potentiel où l'impulsion est échelonnée sur l'axe horizontal (Figure II.1.4).

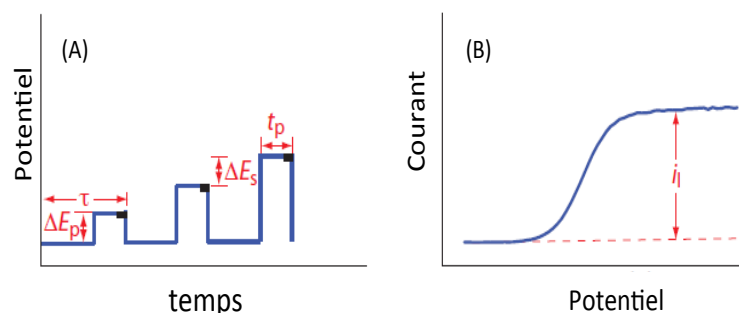


Figure II.1.4. Forme d'onde potentielle pour une voltampérométrie à impulsion normale (A). Un voltammogramme à impulsion normal typique (B).

5.2.2. Voltampérométrie différentielle à impulsions (DPV)

Cette technique est comparable à la voltampérométrie à impulsion normale où le potentiel est également analysé avec une série d'impulsions. Cependant, il diffère de la NPV car chaque impulsion potentielle est fixe, de faible amplitude (10 à 100 mV), et se superpose au potentiel de base changeant lentement. Le courant est mesuré en deux points pour chaque impulsion, le premier point (1) juste avant l'application de l'impulsion et le second (2) à la fin de l'impulsion. Ces points d'échantillonnage sont sélectionnés pour permettre la décroissance du courant non faradique (charge) [63]. La différence entre les mesures de courant à ces points pour chaque impulsion est déterminée et représentée en fonction du potentiel de base (Figure II.1.5).

La comparaison entre NPV et DPV indique que pour la DPV, l'impulsion de potentiel est fixe et se superpose au potentiel de base qui change lentement. Le courant est mesuré avant l'application de l'impulsion, et à la fin de l'impulsion. Le premier courant est soustrait du second, et la différence de courant $\Delta i = i(t_2) - i(t_1)$ est tracé en fonction du potentiel appliqué (Figure II.1.5). Le plus élevé du pic de courant produit est proportionnel à la concentration de l'analyte [63].

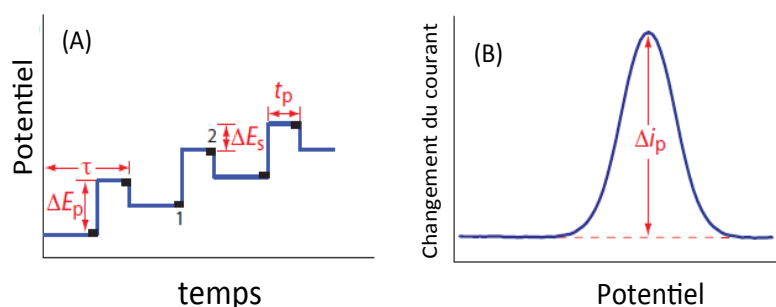


Figure II.1.5. Forme d'onde potentielle pour la voltampérométrie différentielle à impulsions (A). Un voltammogramme à impulsions différentielles typique (B).

5.2.3. Voltampérométrie à onde carrée (SWV)

En SWV, la forme d'onde consiste en une onde carrée régulière, superposée à la base du potentiel de l'escalier, elle est appliquée à l'électrode de travail. Le courant est doublé au cours de chaque cycle d'onde carrée, une fois à la fin de l'impulsion avant et l'autre à la fin de l'impulsion inverse. La différence entre les deux mesures est tracée en fonction du potentiel de base (Figure II.1.6). Le principal avantage du SWV est sa vitesse. La comparaison de la voltampérométrie à onde carrée et à impulsion différentielle pour les cas réversibles et irréversibles indique que les courants à onde carrée sont respectivement 4 et 3,3 fois plus élevés que la réponse d'impulsion différentielle analogue .

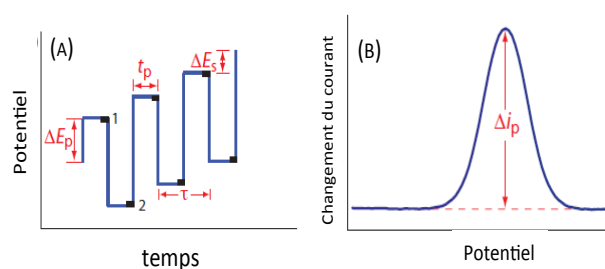


Figure II.1.6. Forme d'onde potentielle pour la voltampérométrie à onde carrée (A). Un voltammogramme à onde carrée typique (B).

5.3. Chronoampérométrie

La chronoampérométrie est une méthode électrochimique très peu utilisée en analyse électrochimique. Cette technique consiste à imposer à l'électrode de travail un saut brutal de potentiel (valeur de potentiel fixe) et à étudier l'évolution du courant en fonction du temps. Bien entendu, il faut qu'il y ait une réponse électrochimique, les conditions de potentiel doivent être telles que le système étudié soit électroactif dans la plage de valeurs impliquées par le saut. D'autre part, la diffusion est le seul phénomène de transport d'espèces électroactives vers la surface de l'électrode. Une telle transition est toujours suivie par la variation de courant jusqu'à ce que l'état stable soit accompli, comme décrit par l'équation de Cottrell (Équation II.1.3) [64]. La forme d'une courbe courant-temps est présentée sur la figure II.1.7,B.

$$i = \frac{nFD^{1/2}C}{\pi^{1/2}t^{1/2}} \quad \text{Equation (II.1.3)}$$

Où: i : La densité de courant ($\text{A}\cdot\text{cm}^{-2}$).

n : Nombre d'électrons échangés.

F : Constante de Faraday 96500 (C/mol).

D : Coefficient de diffusion ($\text{cm}^2\cdot\text{s}^{-1}$).

C : La concentration ($\text{mole}\cdot\text{cm}^{-3}$).

t : Temps (s).

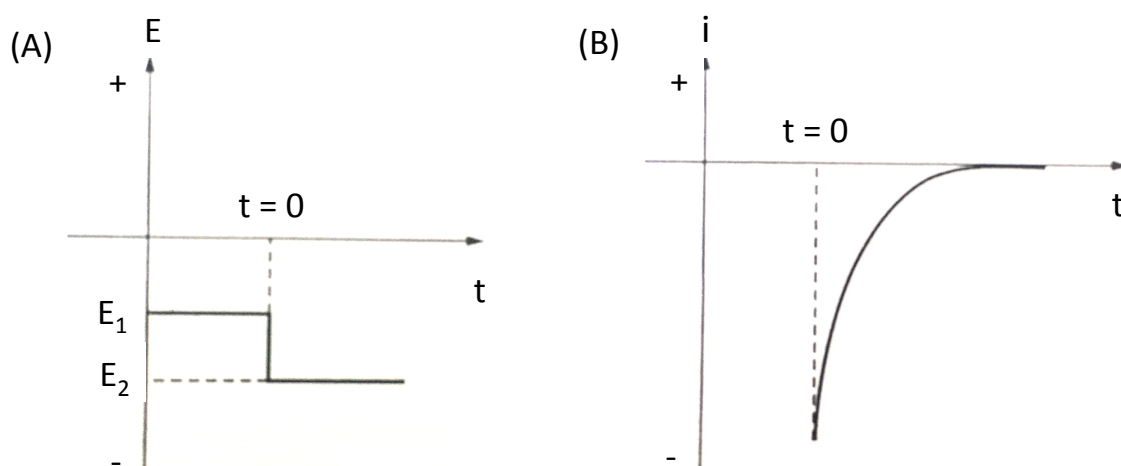


Figure II.1.7. Le saut du potentiel appliqué en chronoampérométrie en fonction du temps (cas d'une réduction) (A), et type de courbe obtenue (B).

5.4. La spectroscopie d'impédance électrochimique

Par définition, la résistance électrique c'est la capacité d'un élément de circuit à résister à la circulation du courant électrique. La loi d'Ohm (Équation II.1.4) définit la résistance en terme de rapport entre le tension, (E) et le courant, (I).

$$R = \frac{E}{I} \quad \text{Equation (II.1.4)}$$

Bien que cette relation soit bien connue, son utilisation est limitée à un seul élément de circuit - la résistance idéale. Une résistance idéale a plusieurs propriétés simplificatrices:

- Elle suit la loi d'Ohm à tous les niveaux de courant et de tension.
- Sa valeur de résistance est indépendante de la fréquence.
- Les signaux de courant alternatif et de tension à travers une résistance sont en phase les unes avec les autres.

Cependant, le monde réel contient des éléments de circuit qui présentent un comportement beaucoup plus complexe. L'impédance est une mesure de la capacité d'un circuit à résister au courant électrique, mais contrairement à la résistance, elle n'est pas limitée par les propriétés de simplification énumérées ci-dessus. L'impédance électrochimique est généralement mesurée en appliquant un potentiel alternatif à une cellule électrochimique, puis en mesurant le courant traversant la cellule. Supposons que nous appliquions une excitation potentielle sinusoïdale, la réponse à ce potentiel est un signal de courant alternatif. Ce signal de courant peut être analysé comme une somme de fonctions sinusoïdales (une série de Fourier). L'impédance électrochimique est normalement mesurée en utilisant un petit signal d'excitation. Ceci est fait pour que la réponse de la cellule soit pseudo-linéaire. Dans un système linéaire (ou pseudo-linéaire), la réponse à un potentiel sinusoïdal sera une sinusoïde à la même fréquence mais décalée en phase [39] (Figure II.1.8).

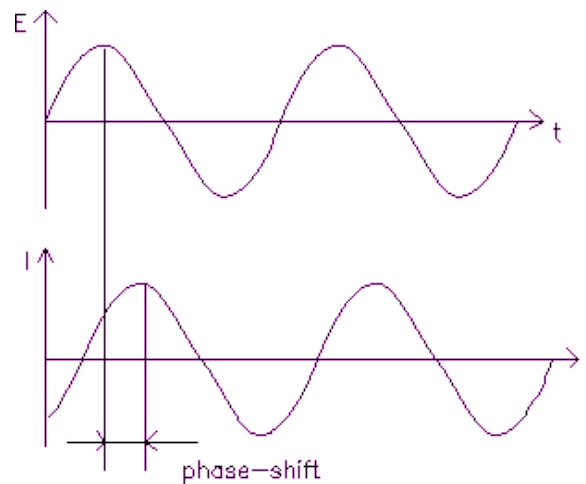


Figure II.1.8. Courant Sinusoïdal dans un système linéaire

Le signal d'excitation, exprimé en fonction du temps, a la forme suivante:

$$E_t = E_0 \sin(\omega t) \quad \text{Équation (II.1.5)}$$

où, E_t est le potentiel à l'instant t , E_0 est l'amplitude du signal et ω est la fréquence radiale. La relation entre la fréquence radiale (exprimée en radians/seconde) et la fréquence f (exprimée en hertz) est la suivante:

$$\omega = 2\pi f \quad \text{Équation (II.1.6)}$$

Dans un système linéaire, le signal de réponse, I_t , est décalé en phase (Φ).

$$I_t = I_0 \sin(\omega t + \Phi) \quad \text{Équation (II.1.7)}$$

Une expression analogue à la loi d'Ohm nous permet de calculer l'impédance du système de la manière suivante:

$$Z = \frac{E_t}{I_t} = \frac{E_0 \sin(\omega t)}{I_0 \sin(\omega t + \Phi)} = Z_0 \frac{\sin(\omega t)}{\sin(\omega t + \Phi)} \quad \text{Équation (II.1.8)}$$

L'impédance est donc exprimée en termes de magnitude Z_0 et de déphasage (Φ).

Si nous traçons le signal sinusoïdal appliqué $E(t)$ sur l'axe X d'un graphique et le signal de réponse sinusoïdal $I(t)$ sur l'axe Y, le résultat est un ovale (Figure II.1.9). Cet ovale est connu sous le nom de "figure de Lissajous". L'analyse des valeurs de Lissajous sur les écrans d'oscilloscope était la méthode acceptée de mesure de l'impédance avant la disponibilité de l'instrumentation EIS moderne [36].

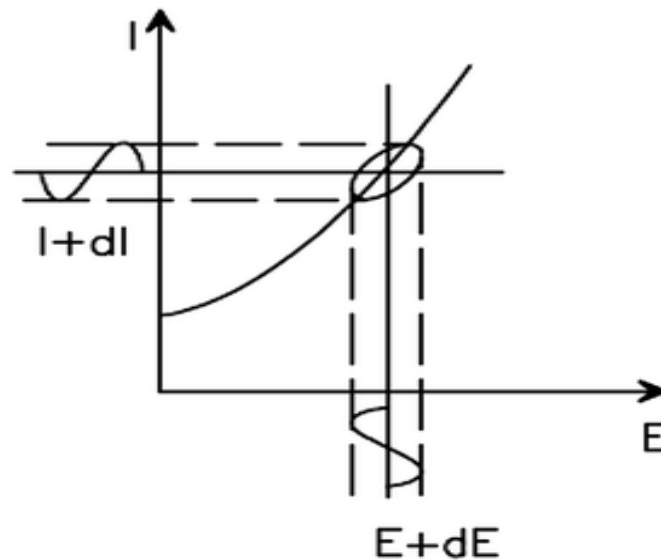


Figure II.1.9. Origine de la figure de Lissajous

Avec la relation d'Eulers,

$$\exp(j\phi) = \cos\phi + j \cdot \sin\phi \quad \text{Equation (II.1.9)}$$

il est possible d'exprimer l'impédance comme une fonction complexe. Le potentiel est décrit comme suit:

$$E_t = E_0 \exp(j\omega t) \quad \text{Equation (II.1.10)}$$

et la réponse actuelle en tant que,

$$I_t = I_0 \exp(j\omega t - \phi) \quad \text{Equation (II.1.11)}$$

L'impédance est alors représentée sous la forme d'un nombre complexe,

$$Z(\omega) = \frac{E}{I} = Z_0 \exp(j\phi) = Z_0 (\cos\phi + j\sin\phi)$$

$$Z(\omega) = \text{Re}(Z) + j \cdot \text{Im}(Z) \quad \text{Equation (II.1.12)}$$

L'expression de $Z(\omega)$ est composée d'une partie réelle ($\text{Re}|Z|$) et d'une partie imaginaire ($\text{Im}|Z|$). Si la partie réelle est tracée sur l'axe X et la partie imaginaire sur l'axe Y d'un graphique, nous obtenons un "tracé de Nyquist" (Figure II.1.10, A). Notez que dans ce graphique l'axe des Y est négatif et que chaque point du graphique de Nyquist correspond à l'impédance à une fréquence précise. Les données de basse fréquence se trouvent du côté droit du graphique et les fréquences les plus hautes de la gauche.

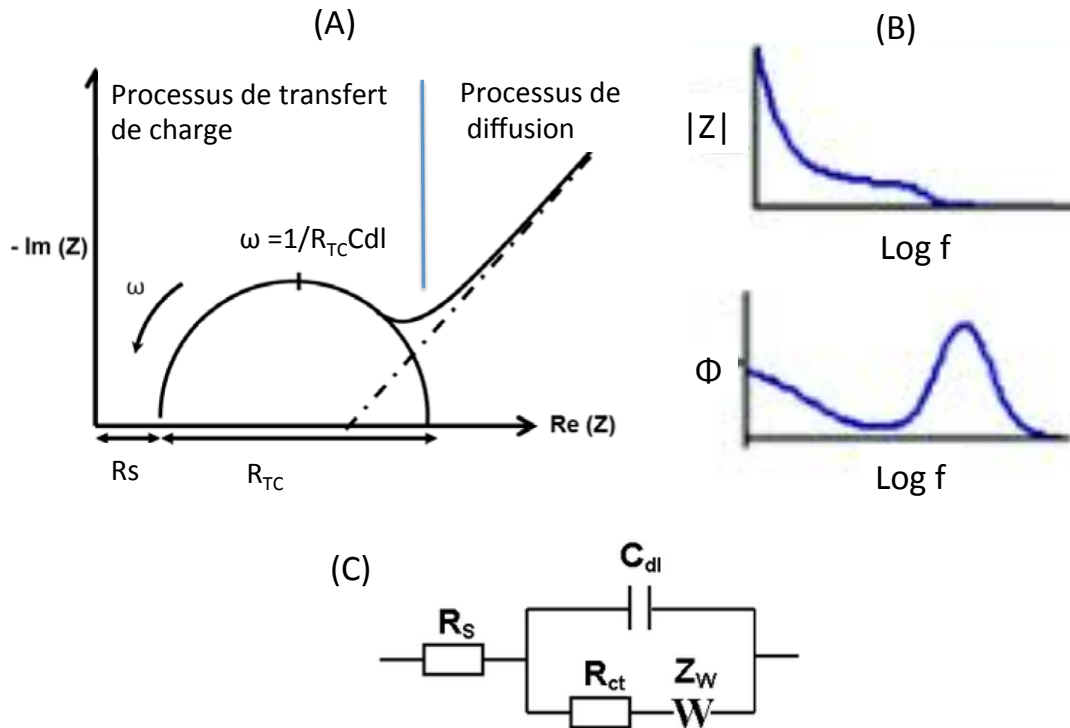


Figure II.1.10. Tracé de Nyquist (A), Bode (B) et Circuit équivalent de Randles (C) comprend la résistance de la solution (R_s), la résistance de transfert de charge (R_{ct}), l'élément de la phase constant (C_{dl}) et l'impédance de Warburg (W).

Une autre méthode de présentation courante est la représentation graphique de Bode. L'impédance est tracée avec le logarithme de fréquence sur l'axe des abscisses et les valeurs absolues de l'impédance ($|Z|$) et du déphasage sur l'axe des ordonnées (Figure II.1.10. B). Contrairement au tracé de Nyquist, le tracé de Bode affiche des informations sur la fréquence.

L'expression de l'impédance absolue en fonction de la fréquence [65] est donnée par;

$$Z(\omega) = R_s + \frac{R_{ct}}{1 + \omega^2 R_{ct}^2 C_{dl}^2} - \frac{j\omega R_{ct}^2 C_{dl}}{1 + \omega^2 R_{ct}^2 C_{dl}^2} \quad \text{Equation (II.1.13)}$$

où la partie réelle (Z') est donnée par;

$$Z'(\omega) = R_s + \frac{R_{ct}}{1 + \omega^2 R_{ct}^2 C_{dl}^2} \quad \text{Equation (II.1.14)}$$

et la partie imaginaire (Z'') est donnée par;

$$Z''(\omega) = -\frac{j\omega R_{ct}^2 C_{dl}}{1 + \omega^2 R_{ct}^2 C_{dl}^2} \quad \text{Equation (II.1.15)}$$

Références

- [1] S. Mas, A. De Juan, R. Tauler, et al, Application of chemometric methods to environmental analysis of organic pollutants: A review, *Talanta*. 80(2010) 1052–1067. doi:10.1016/j.talanta.2009.09.044.
- [2] A. Ko, K. Hungerbu, Organic Pollutant Removal versus Toxicity Reduction in Industrial Wastewater Treatment : The Example of Wastewater from Fluorescent Whitening Agent Production, *Environ. Sci. Technol.* 40(2006) 3395–3401.
- [3] U. Guth, W. Vonau, J. Zosel, Recent developments in electrochemical sensor application and technology—a review, *Meas. Sci. Technol.* 20 (2009) 042002 (14pp). doi:10.1088/0957-0233/20/4/042002.
- [4] J.R. Windmiller, J. Wang, Wearable Electrochemical Sensors and Biosensors: A Review, *ELECTROANALYSIS*, 24(2012) 1–18. doi:10.1002/elan.201200349.
- [5] F. Li, X. Han, S. Liu, Biosensors and Bioelectronics Development of an electrochemical DNA biosensor with a high sensitivity of fM by dendritic gold nanostructure modified electrode, *Biosens. Bioelectron.* 26(2011) 2619–2625. doi:10.1016/j.bios.2010.11.020.
- [6] X. Zheng, L. Zhao, D. Wen, et al, Ultrasensitive fluorescent detection of HTLV-II DNA based on magnetic nanoparticles and atom transfer radical polymerization signal amplification, *Talanta*. 207(2020) 120290. doi:10.1016/j.talanta.2019.120290.
- [7] G. Venkataprasad, T.M. Reddy, P. Shaikshavali, et al, A Novel Electrochemical Sensor Based on Multi-walled Carbon Nanotubes/Poly(L-Methionine) for the Investigation of 5-Nitroindazole : A Voltammetric Study, *Analytical Chemistry Letters*. 8(2018) 457 - 474. doi:10.1080/22297928.2018.1479304.
- [8] T. Zhao, L. Liu, G. Li, et al, Electrochemical Determination of Melamine with a Glassy Carbon Electrode Coated with a Multi-Wall Carbon Nanotube/Chitosan Composite, *Journal of The Electrochemical Society*, 159(2012) K141-K145. doi:10.1149/2.065205jes.
- [9] E. Salih, M. Mekawy, R.Y.A. Hassan, Synthesis , characterization and electrochemical-sensor applications of zinc oxide/graphene oxide nanocomposite, *J. Nanostructure Chem.* 6 (2016) 137–144. doi:10.1007/s40097-016-0188-z.
- [10] X. Li, C. Zhao, X. Liu, A paper-based microfluidic biosensor integrating zinc oxide nanowires for electrochemical glucose detection, *Microsystems & Nanoengineering*, 1 (2015) 15014. doi:10.1038/micronano.2015.14.
- [11] C.I.L. Justino, A.R. Gomes, A.C. Freitas, et al, Trends in Analytical Chemistry Graphene based sensors and biosensors, *Trends Anal. Chem.* 91 (2017) 53–66. doi:10.1016/j.trac.2017.04.003.
- [12] K. Rovina, S. Siddiquee, N. Kui, Sensing and Bio-Sensing Research Development of melamine sensor based on ionic liquid/nanoparticles/chitosan with modified gold electrode for determination of melamine in milk product, *Sens. BIO-SENSING Res.* 4(2015) 16–22. doi:10.1016/j.sbsr.2015.02.003.

- [13] L. Qin, G. Zeng, C. Lai, et al, “ Gold rush ” in modern science: Fabrication strategies and typical advanced applications of gold nanoparticles in sensing, *Coord. Chem. Rev.* 359 (2018) 1–31. doi:10.1016/j.ccr.2018.01.006.
- [14] S. Kumar, A.A.M. Hatha, K.S. Christi, Diversity and effectiveness of tropical mangrove soil microflora on the degradation of polythene carry bags Diversity and effectiveness of tropical mangrove soil microflora on the degradation of polythene carry bags, *Rev. Biol. Trop.* 55 (2007) 777–786. doi:10.15517/rbt.v55i3-4.5954.
- [15] J.N. Hahladakis, C.A. Velis, R. Weber, et al, An overview of chemical additives present in plastics : Migration , release , fate and environmental impact during their use, disposal and recycling, *J. Hazard. Mater.* 344 (2018) 179–199. doi:10.1016/j.jhazmat.2017.10.014.
- [16] P. Taylor, M.A. Gondal, M.N. Siddiqui, Toxic/Hazardous Substances and Environmental Identification of different kinds of plastics using laser-induced breakdown spectroscopy for waste management, *Journal of Environmental Science and Health:Part A.* 42 (2007) 1989–1997. doi:10.1080/10934520701628973.
- [17] R. Proshad, T. Kormoker, M.A. Haque, et al, Toxic effects of plastic on human health and environment : A consequences of health risk assessment in Bangladesh, *International Journal of Health.* 6(2018) 1-5. doi:10.14419/ijh.v6i1.8655.
- [18] N. Mathur, N. Mathur, A. Singh, TOXIGENIC EFFECTS OF PLASTICS ON HUMAN HEALTH, *Int. J. Chem. Sci.* 12 (2014) 1044–1052.
- [19] J. Michałowicz, Bisphenol A – Sources , toxicity and biotransformation, *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 37 (2014) 738–758. doi:10.1016/j.etap.2014.02.003.
- [20] S. Ikhlas, A. Usman, M. Ahmad, In vitro study to evaluate the cytotoxicity of BPA analogues based on their oxidative and genotoxic potential using human peripheral blood cells, *Toxicology in Vitro.* 60 (2019) 229–236. doi:10.1016/j.tiv.2019.06.001.
- [21] S. Dabeer, M.A. Afjal, S. Ahmad, et al, Transgenerational effect of parental obesity and chronic parental bisphenol A exposure on hormonal profile and reproductive organs of preadolescent Wistar rats of F1 generation : A one-generation study, *Human and Experimental Toxicology.* 39(2020) 1–18. doi:10.1177/0960327119873017.
- [22] S. Singh, S.S. Li, Genomics Phthalates : Toxicogenomics and inferred human diseases, *Genomics.* 97 (2011) 148–157. doi:10.1016/j.ygeno.2010.11.008.
- [23] T.J. Van Erve, E.M. Rosen, E.S. Barrett, et al, Phthalates and Phthalate Alternatives Have Diverse Associations with Oxidative Stress and Inflammation in Pregnant Women, *Environ. Sci. Technol.* 53 (2019) 3258–3267. doi:10.1021/acs.est.8b05729.
- [24] M. Isidori, M. Lavorgna, A. Nardelli, et al, Toxicity on crustaceans and endocrine disrupting activity on *Saccharomyces cerevisiae* of eight alkylphenols, *Chemosphere.* 64 (2006) 135–143. doi:10.1016/j.chemosphere.2005.10.047.
- [25] D. Sung, D. Ryul, H. Song, et al, Octylphenol and nonylphenol affect decidualization of human endometrial stromal cells, *Reprod. Toxicol.* 89 (2019) 13–20. doi:10.1016/j.reprotox.2019.06.003.

- [26] Y. Tyan, M. Yang, S. Jong, Melamine contamination, *Anal Bioanal Chem.* 395 (2009) 729–735. doi:10.1007/s00216-009-3009-0.
- [27] Q. Li, P. Song, J. Wen, Melamine and food safety : a 10-year review, *Current Opinion in Food Science.* 30(2019) 6–11. doi:10.1016/j.cofs.2019.05.008.
- [28] G. Zhao, H. Wang, G. Liu, Recent Advances in Chemically Modified Electrodes, Microfabricated Devices and Injection Systems for the Electrochemical Detection of Heavy Metals : A review. *Int. J. Electrochem. Sci.*, 12(2017) 8622–8641. doi:10.20964/2017.09.39.
- [29] Wendy U. Huynh, Janke J. Dittmer, A. Paul Alivisatos, Hybrid Nanorod-Polymer Solar Cells, *Science.* 295(2002) 2425–2427. DOI: 10.1126/science.1069156.
- [30] W.P. McConnell, J.P. Novak, L.C.B. Iii, et al, Electronic and Optical Properties of Chemically Modified Metal Nanoparticles and Molecularly Bridged Nanoparticle Arrays, *Phys. Chem. B.* 104(2000) 8925-8930. doi.org/10.1021/jp000926t.
- [31] Q. Liu, X. Zhu, Z. Huo, et al, Electrochemical detection of dopamine in the presence of ascorbic acid using PVP/graphene modified electrodes, *Talanta.* 97 (2012) 557–562. doi:10.1016/j.talanta.2012.05.013.
- [32] S. Abdelnasser, G. Park, H. Han, et al, Enhanced photocatalytic performance of poly(3,4-ethylenedioxythiophene)-coated TiO₂ nanotube electrodes, *Synth. Met.* 251(2019) 120–126. doi:10.1016/j.synthmet.2019.03.018.
- [33] W.A. Christinelli, R. Gonçalves, E.C. Pereira, A new generation of electrochemical supercapacitors based on layer- by-layer polymer films, *J. Power Sources.* 303(2016) 73–80. doi:10.1016/j.jpowsour.2015.10.077.
- [34] R. Pietschnig, Polymers with pendant ferrocenes, *Chem Soc Rev.* 45(2016) 5216-5231. doi:10.1039/c6cs00196c.
- [35] J. Pinson, Electrografting : a powerful method for surface modification, *Chem Soc Rev.* 40(2011) 3995–4048. doi:10.1039/c0cs00149j.
- [36] W. Chi, S. Liu, J. Yang, et al, Evaluation of the effects of amphiphilic oligomers in PEI based ternary complexes on the improvement of pDNA delivery, *J. Mater. Chem. B.* 2 (2014) 5387–5396. doi:10.1039/C4TB00807C.
- [37] N.R. Stradiotto, H. Yamanaka, M.V.B. Zanoni, Review, Electrochemical Sensors: A Powerful Tool in Analytical Chemistry, *J. Braz. Chem. Soc.* 14 (2003) 159–173. doi.org/10.1590/S0103-50532003000200003
- [38] Orellana G., Moreno-Bondi M. C. *Frontiers in Chemical Sensors. Novel Principles and Techniques*, Volume. 3, 2005. <https://doi.org/10.1021/ja0697018>.
- [39] Fritz Scholz, *Electroanalytical Methods: Guide to Experiments and Applications*. Volume. 2, 2010. DOI 10.1007/978-3-642-02915-8.
- [40] Y. Sun, M. Irie, N. Kishikawa, et al, Determination of bisphenol A in human breast milk by HPLC with column-switching and fluorescence detection, *Biomed. Chromatogr.* 18(2004) 501–507. doi:10.1002/bmc.345.

- [41] M. Rezaee, E. Enginee, S. Shariati, et al, Dispersive Liquid–liquid Microextraction Combined with High-performance Liquid Chromatography–UV Detection as a Very simple, rapid and sensitive method for the determination of bisphenol A in water samples, *Journal of Chromatography A*. 1216 (2009) 1511–1514. doi:10.1016/j.chroma.2008.12.091.
- [42] N.C. Maragou, E.N. Lampi, N.S. Thomaidis, et al, Determination of bisphenol A in milk by solid phase extraction and liquid chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 1129 (2006) 165–173 1129 (2006) 165–173. doi:10.1016/j.chroma.2006.06.103.
- [43] C. Liao and K. Kannan, Determination of Free and Conjugated Forms of Bisphenol A in Human Urine and Serum by Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry. *Environ. Sci. Technol.* 46(2012) 5003–5009. doi:10.1021/es300115a.
- [44] M. Olmo, N.A. Navas, J.L. Vilchez, Determination of bisphenol A (BPA) in water by gas chromatography-mass spectrometry, *Analytica Chimica Acta*. 346(1997) 87-92. doi.org/10.1016/S0003-2670(97)00182-7
- [45] G. Gatidou, N.S. Thomaidis, Simultaneous determination of the endocrine disrupting compounds nonylphenol, nonylphenol ethoxylates, triclosan and bisphenol A in wastewater and sewage sludge by gas chromatography–mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*. 1138 (2007) 32–41. doi:10.1016/j.chroma.2006.10.037.
- [46] L. Chen, Molecularly imprinted polymers-coated gold nanoclusters for fluorescent detection of bisphenol A, *Sensors and Actuators: B Chemical*. 211(2015) 507–514. doi:10.1016/j.snb.2015.01.115.
- [47] J. Zhang, S. Zhao, K. Zhang, et al, Cd-doped ZnO quantum dots-based immunoassay for the quantitative determination of bisphenol A, *Chemosphere*. 95 (2014) 105-110. doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.08.039.
- [48] J. Xu, Y. Li, J. Bie, et al, Colorimetric method for determination of bisphenol A based on aptamer-mediated aggregation of positively charged gold nanoparticles, *Microchimica Acta*. 182(2015) 2131–2138. doi:10.1007/s00604-015-1547-z.
- [49] U. Karabiberog, Sensitive Voltammetric Determination of Bisphenol A Based on a Glassy Carbon Electrode Modified with Copper Oxide-Zinc Oxide Decorated on Graphene Oxide, *Electroanalysis*. 30(2019) 91–102. doi:10.1002/elan.201800415.
- [50] J. Huang, X. Zhang, Q. Lin, et al, Electrochemical sensor based on imprinted sole gel and nanomaterials for sensitive determination of bisphenol A, *Food Control*. 22 (2011) 786–791. doi:10.1016/j.foodcont.2010.11.017.
- [51] B. Lu, M. Liu, H. Shi, et al, A Novel Photoelectrochemical Sensor for Bisphenol A with High Sensitivity and Selectivity Based on Surface Molecularly Imprinted Polypyrrole Modified TiO₂ Nanotubes, *Electroanalysis*. 23 (2013) 771–779. doi:10.1002/elan.201200585.
- [52] J. Han, F. Li, L. Jiang, et al, Analytical Methods Electrochemical determination of bisphenol A using a polyacrylamide – multiwalled carbon nanotube-modified glassy carbon electrode, *Anal. Methods*. 7 (2015) 8220-8226. doi:10.1039/C5AY02058A.

- [53] A. Thamilselvan, V. Rajagopal, V. Suryanarayanan, Highly sensitive and selective amperometric determination of BPA on carbon black / f-MWCNT composite modified GCE, *J. Alloys Compd.* 786 (2019) 698–706. doi:10.1016/j.jallcom.2019.02.020.
- [54] D.G. Mita, A. Attanasio, F. Arduini, et al, Enzymatic determination of BPA by means of tyrosinase immobilized on different carbon carriers, *Biosensors and Bioelectronics.* 23 (2007) 60–65. doi:10.1016/j.bios.2007.03.010.
- [55] K.N. Ishi, M.T. Akai, K.M. Orimune, et al, Molecular and Immunochemical Characteristics of Monoclonal and Recombinant Antibodies Selective for the Triazine Herbicide Simetryn and Application to Environmental Analysis, *J. Agric. Food Chem.* 53(2005) 5096- 5104. <https://doi.org/10.1021/jf050246t>.
- [56] C. Yu, L. Gou, X. Zhou, et al, Chitosan–Fe₃O₄ nanocomposite based electrochemical sensors for the determination of bisphenol A, *Electrochimica Acta.* 56(2011) 9056–9063. doi:10.1016/j.electacta.2011.05.135.
- [57] Y. Zhang, Y. Cheng, Y. Zhou, et al, Electrochemical sensor for bisphenol A based on magnetic nanoparticles decorated reduced graphene oxide, *Talanta.* 107(2013) 211–218. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2013.01.012>.
- [58] R.S. Staden, M. Mincu, J. Frederick, et al, Electroanalysis of Bisphenols A , F , and Z Using Graphene Based Stochastic Microsensors, *Electroanalysis.* 31(2019) 1–7. doi:10.1002/elan.201900136.
- [59] H. Yin, Y. Zhou, S. Ai, et al, Sensitivity and selectivity determination of BPA in real water samples using PAMAM dendrimer and CoTe quantum dots modified glassy carbon electrode, *Journal of Hazardous Materials.* 174 (2010) 236–243. doi:10.1016/j.jhazmat.2009.09.041.
- [60] J. Wang, Y. Su, B. Wu, et al, Reusable electrochemical sensor for bisphenol A based on ionic liquid functionalized conducting polymer platform, *Talanta.* 147 (2016) 103–110. doi:10.1016/j.talanta.2015.09.035.
- [61] Y.T. Yaman, S. Abaci, Sensitive adsorptive voltammetric method for determination of Bisphenol A by gold nanoparticle/polyvinylpyrrolidone-modified pencil graphite electrode, *Sensors.* 16(2016) 756-768. doi:10.3390/s16060756.
- [62] P.S. Joshi, A Brief Study of Cyclic Voltammetry and Electrochemical Analysis, *International Journal of ChemTech Research*, 11(2018) 77-88. doi:10.20902/IJCTR.2018.110911.
- [63] O.A. Farghaly, R.S.A. Hameed, Abd-Alhakeem H. Abu-Nawwas, Analytical Application Using Modern Electrochemical Techniques, *Int. J. Electrochem. Sci.* 9 (2014) 3287 - 3318.
- [64] A.J. Bard, L.R. Faulkner, *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications*, 2nd ed. John Wiley & Sons, Inc. (2001) pp. 163.
- [65] Asif I. Zia, S.C. Mukhopadhyay, *Smart Sensors, Measurement and Instrumentation: Electrochemical Sensing : Carcinogens in Beverages*, Volume 20, , Springer Nature (2016). DOI 10.1007/978-3-319-32655-9.

Chapitre II.2

Élaboration des Electrodes Modifiées Sensibles aux Polluants Organiques

1. Introduction

La chimie électroanalytique peut jouer un rôle très important dans la protection de notre environnement, en particulier, les capteurs chimiques et électrochimiques. Ils sont très intéressants pour la surveillance et le contrôle sur site des polluants. Ils sont intrinsèquement sensibles et sélectifs, vis-à-vis des espèces électroactives, rapides et précis, compacts, portables et peu coûteux. Dans cette partie, nous allons présenter les méthodes d'élaboration des électrodes modifiées (capteurs électrochimiques) en utilisant des polymères (préparés dans la première partie de cette thèse) et des nanoparticules d'Or. La caractérisation des électrodes modifiées élaborées a été réalisée par différentes techniques telles que la voltamétrie cyclique (CV), la spectroscopie d'impédance électrochimique (EIS) et la microscopie à force atomique (AFM). Ces électrodes modifiées ont été utilisées pour détecter deux composés toxiques le BPA et la melamine (Figure II.2.1). Plusieurs espèces interférentes, telles que le phénol, l'hydroquinone et le résorcinol, ont été utilisées et leurs comportements sur les électrodes modifiées ont été étudiés.

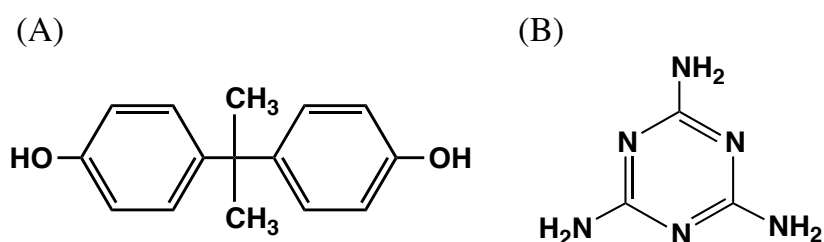


Figure II.2.1. Structures chimique de: Bisphénol A (A), et la mélamine (B)

2. Matériels et méthodes

2.1. Dispositif électrochimique expérimental

Toutes les expériences électrochimiques, la voltamétrie cyclique (CV), la chronoampérométrie (CA) et la spectroscopie d'impédance électrochimique (EIS), sont basées sur l'utilisation d'un potentiostat relié à un ordinateur, équipé d'un logiciel, pour commander l'appareil et pour l'acquisition et le traitement des données, et à une cellule électrochimique à trois électrodes (Figures II.2.2 et II.2.3).

2.2. L'électrolyte support

En électrochimie, l'électrolyte support est une solution contenant des espèces chimiques qui ne sont pas électroactives (dans la gamme des potentiels utilisés) et qui ont une force ionique et une conductivité beaucoup plus grande que celles des espèces électroactives ajoutées à l'électrolyte. Le rôle de cet électrolyte est d'augmenter la conductivité de la solution, pour éliminer le transport d'espèces électroactives par migration ionique dans le champ électrique, pour maintenir une force ionique constante, un pH constant, etc. Dans ce travail, on a utilisé le PBS; une solution tampon (pH=7.4) de phosphate ($\text{NaH}_2\text{PO}_4/\text{Na}_2\text{HPO}_4$) de concentration 0.01 M, contenant NaCl (0.1 M) et KCl (0.1 M).

2.3. Cellules électrochimiques

Les expériences électrochimiques sont réalisées dans une cellule électrochimique constituée de trois électrodes: une électrode de travail sur laquelle on examine les différents processus électrochimiques, une électrode de référence dont le potentiel est constant et connu ce qui permet ainsi de contrôler le potentiel à l'électrode de travail et une électrode auxiliaire appelée aussi contre-électrode qui permet de boucler le circuit électrique dans la cellule électrochimique. Deux cellules électrochimiques ont été utilisées; la première minicellule en Teflon, de volume de 1 mL, à trois électrodes: une électrode de travail (Substrat en Or), une électrode de référence au calomel saturé et une contre-électrode en platine (Figure II.2.2,A). La deuxième cellule est en verre, de volume de 50 mL, aussi à trois électrodes: une électrode de travail (carbone vitreux), une électrode de référence (Ag/AgCl) et une contre-électrode en platine (Figure II.2.2,B).

Les substrats d'Or utilisés pour les expériences électrochimiques sont des électrodes contenant une couche d'Or de 300 nm d'épaisseur, l'Or est déposée par évaporation sur des substrats de Si/SiO₂. Une couche de résine recouvre la surface d'Or afin de protéger sa surface durant la découpe et le stockage. La surface de contact de ces électrodes est de l'ordre de 0.3 cm² [1]. Elles sont fixées, grâce à un joint, sur la cellule électrochimique.

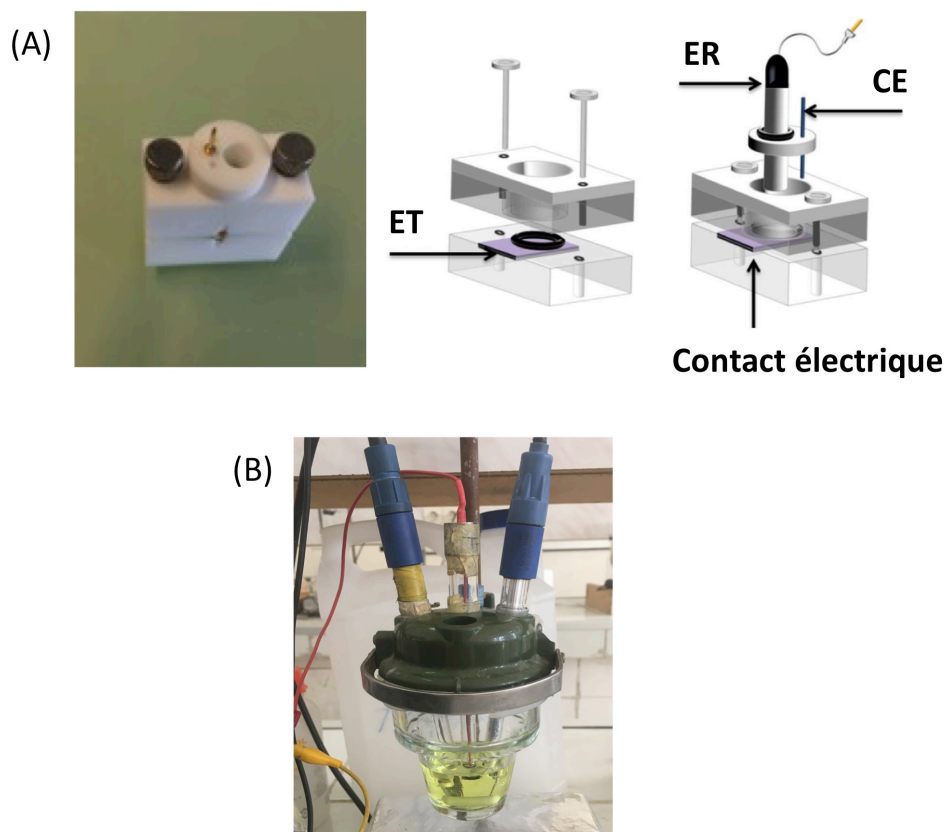


Figure II.2.2. Cellules électrochimiques à trois électrodes: Mini-cellule en Teflon (A), Cellule typique en verre (B)

2.4. Appareil de mesure électrochimique

Deux potentiostats ont été utilisés: un potentiostat multicanal VMP3 (Biologic-EC-Lab), cet appareil sert à la fois à générer le signal sinusoïdal avec l'amplitude et la fréquence désirées. L'analyseur d'impédance est piloté par un ordinateur à l'aide du logiciel (Ec-Lab 10.33). Pour pouvoir traiter les propriétés des différents systèmes, les diagrammes d'EIS sont normalisés par la surface analysée afin de ramener les valeurs à l'unité de surface. Le deuxième potentiostat est un Autolab (Potentiostat-Galvanostat PGSTAT30) piloté par deux logiciels GPES et FRA, toutes les mesures ont été effectuées à température ambiante. La figure II.2.3 représente un schéma du dispositif de mesure électrochimique.



Figure II.2.3. Dispositif de mesure électrochimique

3. Élaboration des électrodes modifiées à base de polymère

3.1. Synthèse de l'électrode modifiée GE/DDT-PNVP

Avant toute analyse, le substrat d'Or doit être nettoyé. En effet, les électrodes d'Or sont nettoyées en deux étapes: le premier nettoyage consiste à enlever la couche de résine protectrice, l'électrode est alors trempée dans l'acétone pendant 15 min sous ultrason à 50°C deux fois, ensuite lavée avec l'éthanol absolu puis avec de l'eau ultrapure. La deuxième étape de nettoyage consiste à incuber le substrat, pendant 5 min, dans la solution "piranha". Cette solution est composée d'un mélange de 3/4 d'acide sulfurique concentré (H_2SO_4 , 98%) et de 1/4 d'eau oxygénée H_2O_2 (30%). Après ce traitement, l'électrode est rincée à l'eau ultrapure et séchée sous un courant d'azote.

L'élaboration du capteur GE/DDT-PNVP a été réalisé par incubation d'une électrode d'Or dans une solution d'oligomère DDT-PNVP (0.35 g/mL) dans du chloroforme pendant 24 h. Après le substrat est rincé avec de l'éthanol puis avec l'eau distillée plusieurs fois. Ensuite, les mesures électrochimiques (CV, CA et EIS) du substrat d'Or modifié sont effectuées; le substrat d'Or décrit ici, a été utilisé comme électrode de travail (capteur électrochimique).

3.2. Synthèse de l'électrode modifiée GE/DDT-PNVP-AuNPs

Le capteur électrochimique GE/DDT-PNVP-AuNPs est élaboré par immobilisation des AuNPs dans les chaînes d'oligomère à la surface de l'électrode GE/DDT-PNVP. L'électrode GE/DDT-PNVP a été incubée dans 2 mL d'une solution de HAuCl_4 (0.25 mM) pendant 30 min; où les ions Au^{+3} se fixent à la surface de l'électrode modifiée (GE/DDT-PNVP), après, le rinçage de l'électrode par l'eau distillée est préalable pour éliminer les ions de Au^{+3} non adsorbés. Ensuite, l'électrode GE/DDT-PNVP est incubée, une deuxième fois, dans 2 mL d'une solution de NaBH_4 (2.5 mM), pendant 5 min, dans le but de réduire les ions Au^{+3} .

3.3. Synthèse de l'électrode modifiée GCE/PN-AuNPs/MB

L'électrode modifiée, GCE/PN-AuNPs-MB, a été préparée en trois étapes: la première étape était la purification de l'électrode de carbone vitreux par polissage avec de l'alumine Al_2O_3 suivie par un lavage par ultrason dans l'eau pendant 10 min, ensuite 7 μl de Poly(DMAEMA-co-styrène) (PN) gonflé de l'eau ont été déposés sur l'électrode de carbone vitreux, un séchage de 48 h est nécessaire. La deuxième étape est l'incubation de l'électrode GCE/PN dans 5 mL d'une solution de HAuCl_4 (0.25 mM), pendant 10 min, suivie par une incubation dans 5 mL d'une solution de NaBH_4 (0.026 M) pendant 5 min. La troisième étape est l'immersion de l'électrode dans 5 mL d'une solution de bleu de méthylène (0.125 mM) pendant 5 min.

4. Résultats et discussions

4.1. Synthèse et caractérisation de l'électrode modifiée GE/DDT-PNVP

L'électrode modifiée, GE/DDT-PNVP, a été préparée par une simple incubation d'un substrat en Or propre dans une solution de DDT-PNVP dans le chloroforme, la présence des fragments de DDT à l'extrémité des chaînes d'oligomère, qui contiennent du soufre, aident l'oligomère à s'attacher à la surface de l'Or. Selon la littérature, le thiol peut former des monocouches sur des surfaces d'Or, environ 85% des atomes de soufre forment des liaisons (Au-S) avec le substrat d'Or [2]. Contrairement à cela, le thioéther conserve sa structure; de nombreuses études confirment que les molécules de thioéther (sulfure de dialcyle) peuvent être adsorbées à la surface de l'Or avec une conformation à double chaîne sans clivage de la liaison C-S et que la plupart des molécules de thioéther

sont retenues à la surface par « physisorption » [3,4]. La figure II.2.4 montre une illustration schématique de la morphologie proposée de l'électrode d'Or modifiée GE/DDT-PNVP.

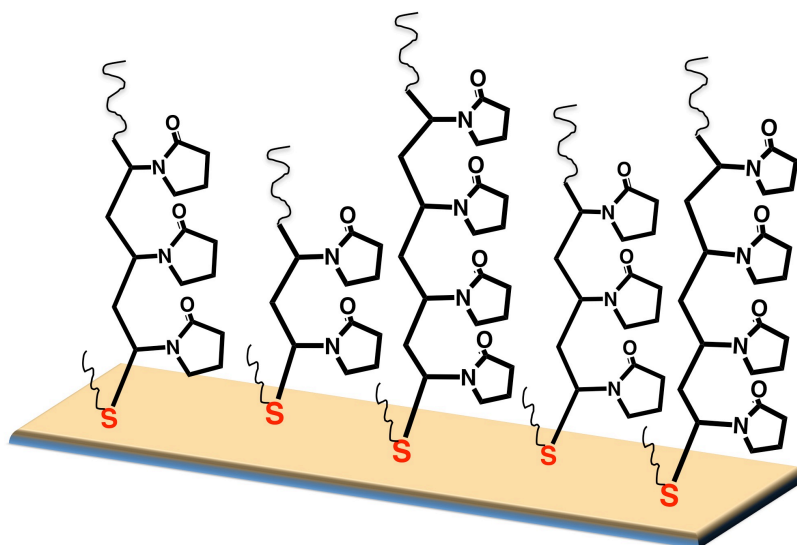


Figure II.2.4. Morphologie proposée pour l'électrode d'Or modifiée GE/DDT-PNVP

Les propriétés électrochimiques des électrodes d'Or modifiées ont été déterminées par la voltamétrie cyclique (CV) et par la spectroscopie d'impédance électrochimique (EIS). La figure II.2.5 montre l'analyse CV des substrats d'Or avant et après modification chimique de surface avec l'oligomère DDT-PNVP. La CV a été enregistrée en faisant varier le potentiel de -400 mV à +600 mV avec une vitesse de balayage de 100 mV/s. Pour l'électrode d'Or non-modifiée, un couple de pics redox de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ a été observé avec une séparation pic-à-pic (ΔI_p) de 1.66 mA et (ΔE_p) de 0.245 V. Lorsque le substrat est recouvert des chaînes de DDT-PNVP, une diminution de transfert de charge est observée; un couple de pics redox de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ a été obtenu avec une séparation pic-à-pic (ΔI_p) de 1.09 mA et (ΔE_p) de 0.312 V. La diminution du courant indique que le DDT-PNVP pourrait effectivement réduire le taux de transfert d'électrons entre la surface de l'électrode en Or et la solution de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$, qui pourrait être attribuée à la mauvaise conductivité du DDT-PNVP [5].

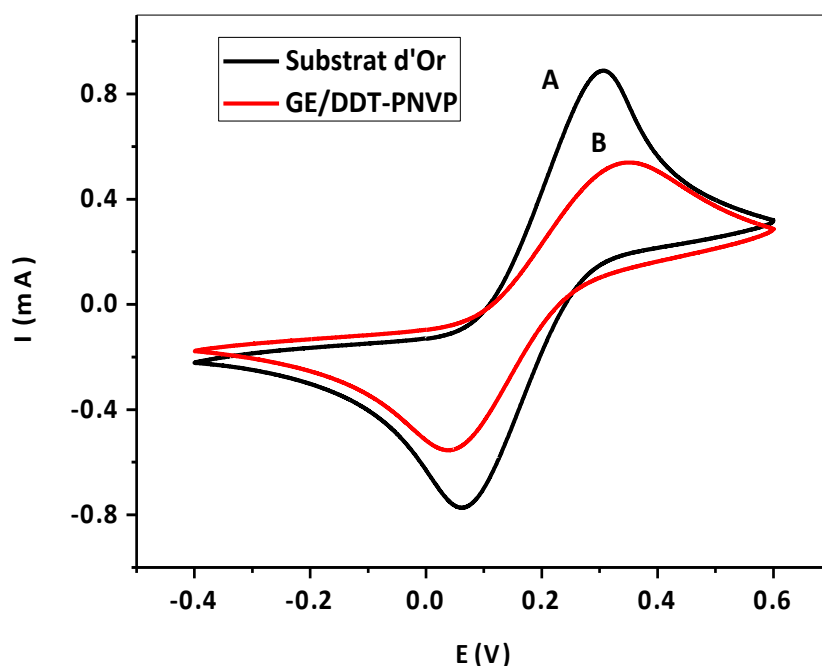


Figure II.2.5. Voltammogrammes cycliques de substrat d'Or avant (A) et après modification par le DDT-PNVP (B).

Les diagrammes de Nyquist présentés à la figure II.2.6, montrent clairement la différence d'impédance entre l'électrode d'Or modifiée par le DDT-PNVP et non modifiée. Le premier demi-cercle de Nyquist correspond à l'électrode d'Or non-modifiée avec une faible résistance de transfert de charge (R_{tc}) à l'interface électrode/électrolyte. Après la modification avec le DDT-PNVP, le diamètre du demi-cercle du diagramme de Nyquist était beaucoup plus grand avec une impédance élevée. Cette impédance accrue (augmentation de R_{tc}) a été attribuée à la formation de la couche d'oligomère sur l'électrode d'Or, en impliquant un bon comportement de blocage et un contrôle complet du processus de transfert de charge. Les mesures d'impédance faradique sont en bon accord avec les mesures CV. Le taux de recouvrement a été calculé, en utilisant l'équation (II.2.1) ci-dessous [5], et a été trouvé 67.66%. Le type d'interaction du thioéther avec la surface du substrat d'Or peut expliquer la faible valeur du taux de recouvrement; le thioéther s'adsorbe sur la surface du substrat d'Or avec une conformation à double chaîne ayant une structure plus congestionnée qui conduit à une faible densité [4].

$$\theta = 1 - \frac{R_{tc0}}{R_{tc}} \quad \text{Équation (II.2.1)}$$

Où, R_{tc_0} est la résistance de transfert de charge du substrat d'Or non modifiée et R_{tc} est la résistance de transfert de charge de l'électrode modifiée GE/DDT-PNVP dans les mêmes conditions.

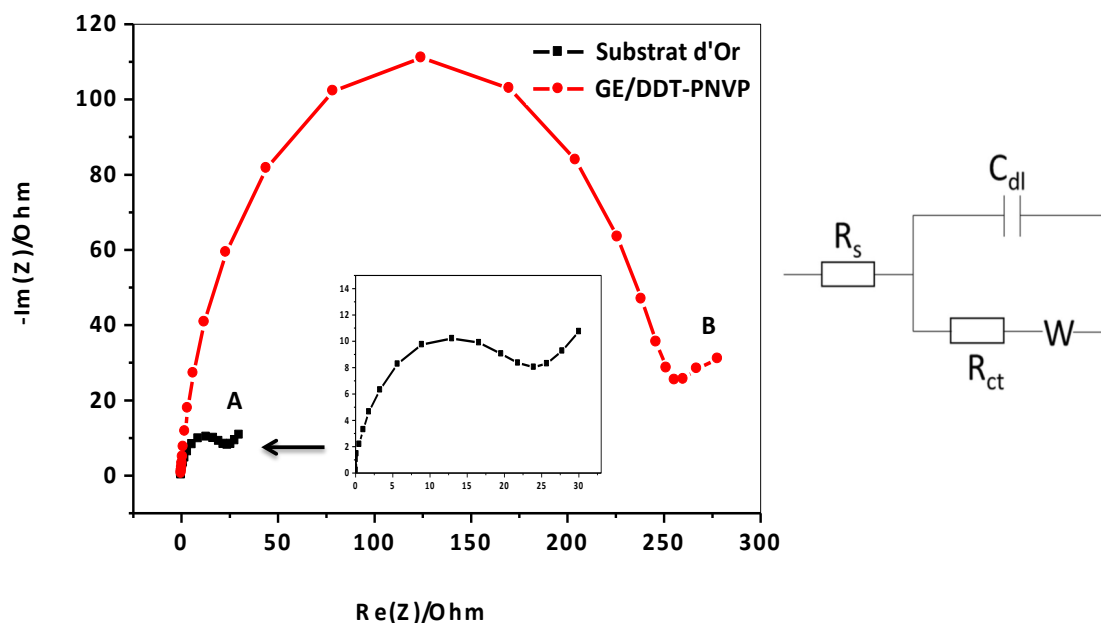


Figure II.2.6. Illustration schématique du circuit équivalent de Randles et les courbes de Nyquist du: substrat d'Or non-modifié (A) et l'électrode GE/DDT-PNVP (B). Les courbes de Nyquist ont été enregistrées en présence de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ dans une gamme de fréquences comprise entre 1Hz et 200 kHz, à un potentiel de 0.2 V.

La modification chimique de surface de l'électrode d'Or a été également confirmée par l'étude de la mouillabilité en utilisant des mesures d'angle de contact avec l'eau. Le dispositif d'angle de contact est équipé d'une caméra qui enregistre l'image de la gouttelette d'eau déposée sur la surface de l'électrode d'Or. L'angle de contact est calculé à partir de la forme de la gouttelette par un système d'analyse d'image. La valeur de l'angle de contact pour l'électrode d'Or a été établie à 67.19° ; après traitement avec la solution de piranha, une diminution de la valeur de l'angle de contact a été observée (33.49°). Après la modification avec le DDT-PNVP, l'angle de contact de substrat d'Or modifié a révélé une légère augmentation de 33.49° à 45.88° (Figure II.2.7), ce qui confirme que la surface a été modifiée et que le film de détection a été déposé sur la surface de l'électrode d'Or.

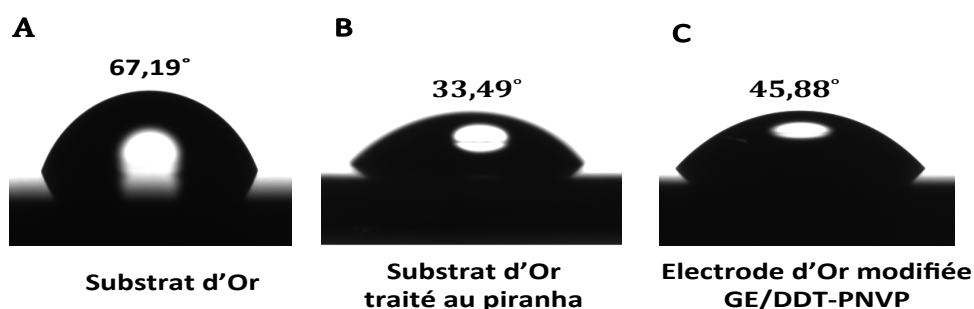


Figure II.2.7. Angles de contact d'une gouttelette d'eau sur substrat d'Or (A) Or traité au piranha (B) et Or après modification par le DDT-PNVP (C).

Le microscope à force atomique (AFM) a été utilisé pour caractériser la modification de la topographie du substrat d'Or avant (A) et après modification (B). La figure II.2.8 montre la topographie et la morphologie de la surface de l'Or, ainsi que l'épaisseur du film de DDT-PNVP déposé. À l'échelle micrométrique, la couche d'oligomère se présente sous forme de globules relativement denses et homogènes. Le paramètre de rugosité a été calculé afin de permettre la comparaison de la densité de la couche après modification, le substrat d'Or non-modifié a un facteur de rugosité de 0.43 nm, tandis que après modification, la couche d'oligomère a un facteur de rugosité de 3.7 nm. Cette augmentation du facteur de rugosité confirme la modification de surface du substrat d'Or.

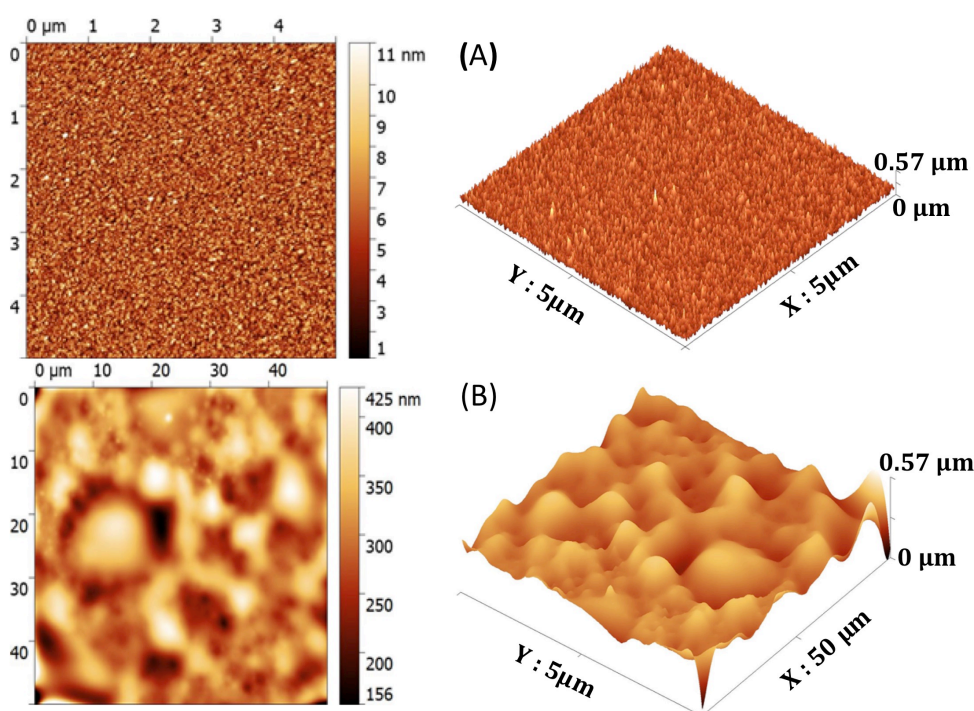


Figure II.2.8. Images AFM de substrats d'Or: non-modifié (A) et modifié par le DDT-PNVP (B).

La surface-active électrochimique de l'électrode modifiée GE/DDT-PNVP a été déterminée par chronoampérométrie. Dans cette méthode, le potentiel de l'électrode de travail est augmenté et le courant, résultant des processus faradiques produits au niveau de l'électrode, est suivi en fonction du temps. Dans les études chronoampérométriques, le courant de la réaction électrochimique des ions ferrocyanure, qui diffuse à la surface de l'électrode, est décrit par l'équation de Cottrell (Equation II.2.2) [6], qui définit la dépendance courant-temps du contrôle de diffusion linéaire.

$$I(t) = nFAC \sqrt{\frac{D}{\pi t}} \quad \text{Equation (II.2.2)}$$

$$\text{Pente} = nFAC \sqrt{\frac{D}{\pi}} \quad \text{Equation (II.2.3)}$$

Où, n est le nombre d'électrons impliqués, A est la surface-active électrochimique, F est la constante de Faraday ($96500 \text{ C}\cdot\text{mol}^{-1}$), D est le coefficient de diffusion ($7.6 \cdot 10^{-6} \text{ cm}^2\cdot\text{s}^{-1}$) et C est la concentration de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ (5 mM).

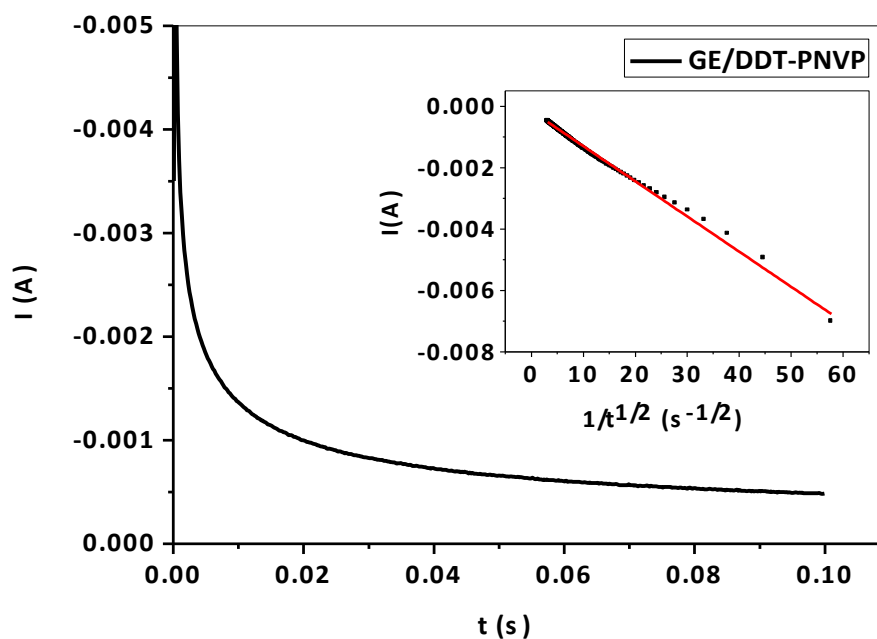


Figure II.2.9. Courbe ($I - t$) de GE/DDT-PNVP dans du PBS contenant 5 mM de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ avec un potentiel de 0.2 V; et le tracé de la courbe ($I - t^{1/2}$) dérivé des données de chronoampérométrie pour le même échantillon inséré.

La figure II.2.9 illustre la réponse chronoampérométrique, la courbe $I = f(t)$ (à un potentiel de 0.2 V) et la représentation résultante $I = f(t^{-1/2})$. Le chronoampérogramme $I = f(t^{-1/2})$ s'est révélé être une ligne droite ($I(t) = -1,517 \cdot 10^{-4} - 1,14545 \cdot 10^{-4} * t^{-1/2}$, $R^2 = 0.99$), et à partir de la pente (Équation II.2.3), la surface active électrochimique de l'électrode GE/DDT-PNVP obtenue est de 0.15 cm^2 .

4.2. Etude électrochimique de l'électrode d'Or modifiée GE/DDT-PNVP: application à la détection du BPA

4.2.1. BPA, source et toxicité

Le bisphénol A (BPA) est un composé organique obtenu par réaction entre deux équivalents de phénol et un équivalent d'acétone, sa molécule comporte deux groupements fonctionnels phénol. Il est aussi dénommé 4,4'-(propan-2-ylidène)diphénol ou p, p'-isopropylidènebisphénol. La première synthèse chimique du bisphénol A a été effectuée en 1891 par le chimiste russe Alexandre Dianine. Le BPA a été très étudié pendant les années 1930, lors de la recherche d'œstrogènes synthétiques, mais il n'a jamais été utilisé, suite à la découverte, dans la même époque, du diéthylstilbestrol aux propriétés jugées plus intéressantes [7], cependant, son utilisation n'a débuté qu'à partir de 1960 dans l'industrie du plastique [8]. Le BPA a été utilisé comme monomère dans la fabrication des polycarbonates et les résines époxy, ainsi que comme un plastifiant, antioxydant, inhibiteur de polymérisation dans le PVC ou retardateur de flamme pour les autres plastiques. Chaque année environ 3 millions de tonnes de BPA sont produites dans le monde [9,10]. Malheureusement, il a été démontré que le BPA libre peut être lessivé du plastique dans des conditions normales d'utilisation et le taux de lixiviation s'accélère lorsque la température augmente ou en contact avec des substances acides ou basiques. Aussi, la liaison ester, reliant les molécules BPA, dans les polycarbonates et la fonction éther dans les résines époxy peuvent subir une hydrolyse, ce qui entraîne la libération de BPA dans les aliments, les boissons et l'environnement [11]. En conséquence, il y a une exposition humaine extensive au BPA. Les techniques analytiques actuelles ont détecté le BPA dans plus de 95% du sang humain, du sérum, des tissus et d'urine [12]. Le bisphénol A est classé comme un composé Xenoestrogen; un type de xénohormone

qui imite l'œstrogène, qui a des effets œstrogéniques sur l'organisme vivant. Il peut interférer avec les substances œstrogéniques naturelles, produites par le système endocrinien, et perturber les niveaux hormonaux [13,14]. Les aliments et les boissons ont été identifiés comme la principale source d'exposition au BPA, en raison de sa migration des contenants en plastique vers les produits alimentaires. Malheureusement, la force du BPA est aussi élevée que l'estradiol, qui peut agir à de très faibles doses et entraîne des modifications de certaines fonctions cellulaires à des concentrations allant de 1 μM à 1 nM [12,15]. Selon l'Autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA), la dose journalière tolérable (DJA) pour le BPA est de 4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de poids corporel par jour [16] et le nouveau règlement introduit la limite de migration spécifique (LMS) à 0.05 mg de BPA par kg d'aliments. Mais, pour les matériaux en contact avec les aliments pour les nourrissons et les jeunes enfants, le nouveau règlement interdit l'utilisation du BPA par précaution [17].

Des études récentes ont rapporté que le BPA peut être mesuré, chez les femmes enceintes, dans le sérum, le liquide folliculaire, le liquide amniotique, le tissu placentaire et le sang du cordon ombilical; il existe des preuves considérables que la bioaccumulation du BPA peut se produire pendant la grossesse [10]. D'autres études suggèrent que les effets potentiels du BPA peuvent être plus prononcés chez le fœtus, les nourrissons et les jeunes enfants; ils sont moins efficaces pour éliminer les substances de leurs systèmes. Les effets potentiels du BPA sur le cerveau, le comportement et les glandes prostatiques des fœtus, des nourrissons et des jeunes enfants ont été étudiés [18]. Des risques accrus de cancer, d'obésité, de diabète, de problèmes cardiaques, de diminution de la fonction immunitaire et d'altération de la reproduction chez les adultes ont été également relevés [13,14,19]. Plus grave encore, le BPA est responsable des perturbations du système endocrinien chez les bébés, à l'origine des pubertés précoces chez les filles et d'une baisse de la fertilité chez les garçons. Par conséquent, il est très important d'établir une méthode fiable pour la détermination et le contrôle des traces de BPA et d'évaluer les risques potentiels associés aux expositions cumulatives à faible dose de BPA.

4.2.2. Comportement électrochimique du bisphénol A sur l'électrode d'Or modifiée GE/DDT-PNVP

Afin d'évaluer le comportement électrochimique de l'électrode modifiée préparée, l'électrode GE/DDT-PNVP a été immergée pendant 30 min dans une solution contenant du BPA à différentes concentrations variant de 1 pg/mL à 20 pg/mL. Après chaque incubation, le capteur électrochimique est lavé avec de l'éthanol absolu et de l'eau. Les mesures d'impédances ont été effectuées dans le PBS contenant du $\text{Fe}(\text{CN})_6^{-3/-4}$ à une concentration de 5 mM (pH = 7.4) dans la gamme de fréquences allant de 1 Hz à 200 KHz et à un potentiel de 0.2 V. La figure II.2.10 montre une réponse d'impédance distincte (diagramme de Nyquist (A) et les courbes de Bode correspondants (B)) de l'électrode GE/DDT-PNVP pour différentes concentrations de BPA. Le premier demi-cercle du diagramme de Nyquist correspond au test à blanc de l'électrode GE/DDT-PNVP, après l'incubation du capteur électrochimique dans le BPA, le deuxième demi-cercle de la courbe de Nyquist s'est déplacé et a diminué par rapport à la première, mettant en évidence l'adsorption du BPA sur la couche sensible. Le rayon des demi-cercles, dans les courbes de Nyquist, est réduit de façon linéaire, avec l'augmentation de la concentration en BPA. Le piégeage efficace des molécules de BPA dans l'oligomère de thioéther a entraîné l'augmentation du courant électrochimique. Dahlia C. Apodaca et al [20], ont également montré que l'impédance totale obtenue avec différentes concentrations de BPA sur le film de polymère à empreinte moléculaire, diminue avec l'augmentation de la concentration en BPA. Les spectres d'impédance obtenus, en présence de différentes concentrations de BPA, ont été modélisés en utilisant le circuit électrique équivalent présenté à la figure II.2.6.

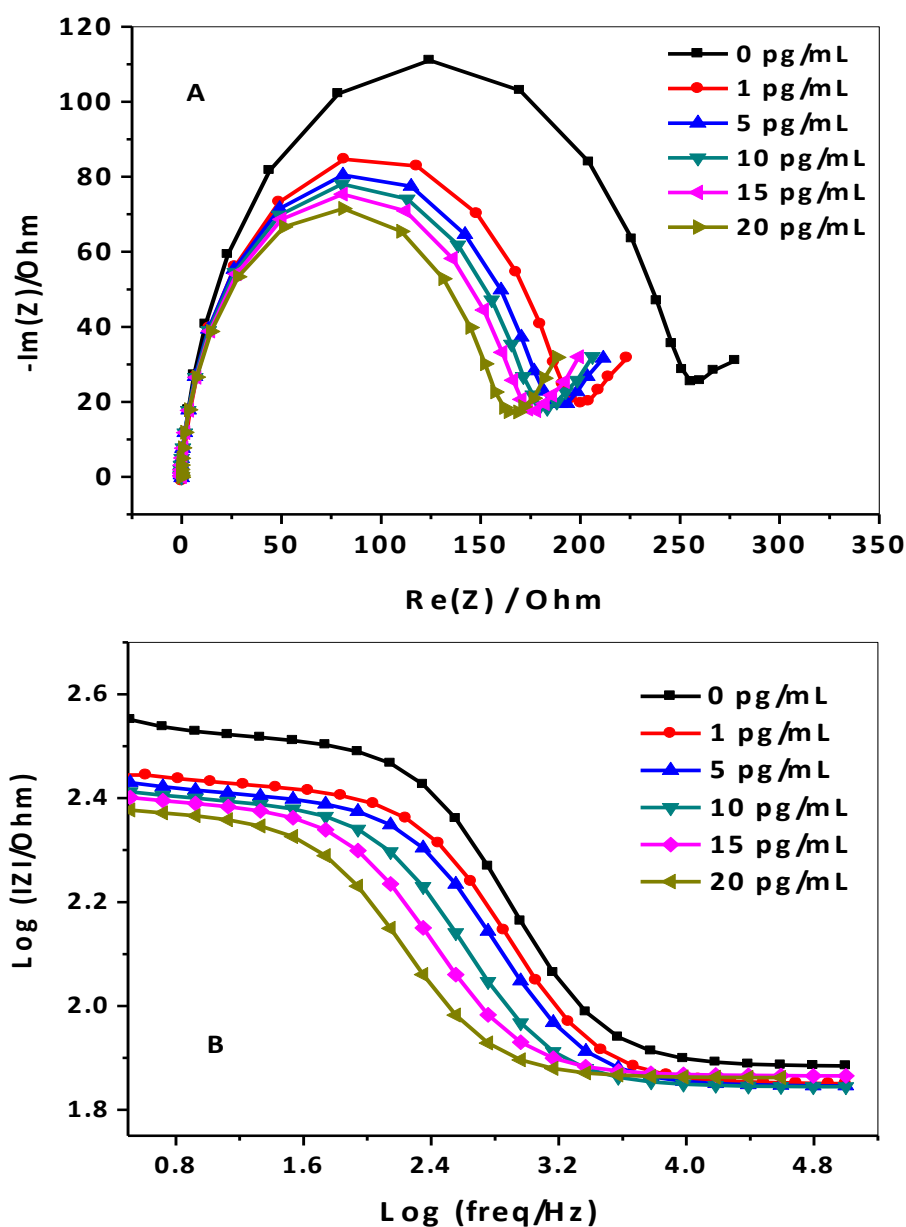


Figure II.2.10. Détection électrochimique du BPA: courbes de Nyquist (A), et courbes de Bode (B) de l'électrode GE/DDT-PNVP.

Le mécanisme de liaison entre le BPA et l'oligomère peut être expliqué par la formation de liaisons hydrogène. Les groupes hydroxyle dans les molécules de BPA (aux deux extrémités) et l'azote ou l'oxygène du carbonyle présent le long des chaînes d'oligomères ont favorisé la formation de ces interactions (liaisons hydrogène). Cela révèle que les molécules de BPA peuvent ouvrir des canaux dans la couche de polymère de sorte que $\text{Fe}(\text{CN})_6^{-3/4}$ puisse diffuser et atteindre la surface et subir un transfert électronique, ce phénomène augmente avec l'augmentation de concentration en BPA.

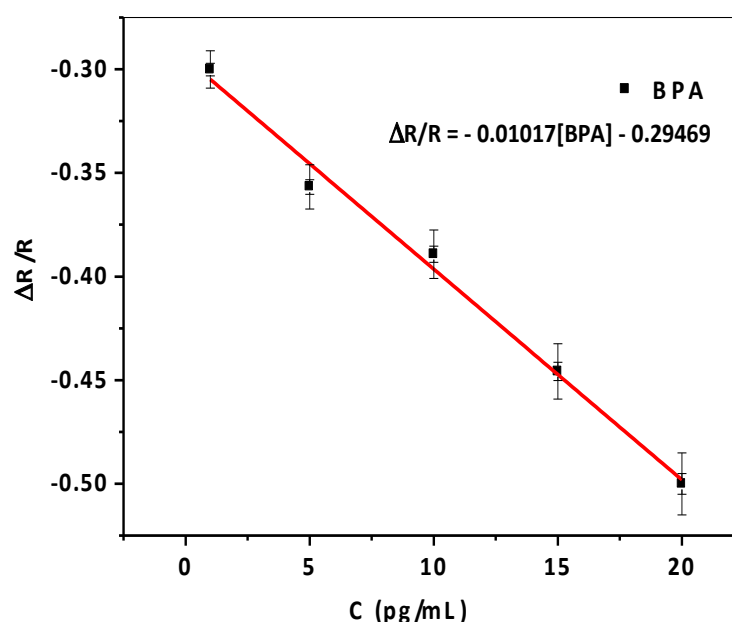


Figure II.2.11. Courbe d'étalonnage de l'électrode GE/DDT-PNVP

Pour évaluer la limite de détection (LOD), la sensibilité, et la gamme de réponse linéaire, une courbe d'étalonnage a été tracée (Figure II.2.11). Dans cette courbe d'étalonnage, le signal analytique ($\Delta R/R = (R_{tc} - R_{tc_0})/R_{tc_0}$) est représenté en fonction de la concentration en BPA. La relation linéaire, entre $\Delta R/R$ et la concentration en BPA, est obtenue à partir de l'équation suivante: $\Delta R/R = -0.01017 [\text{BPA}] - 0.29469$ avec $R^2 = 0,9885$. Toutes les mesures ont été effectuées avec $n=3$ réplicats. La limite de détection a été calculée à partir de l'équation (II.2.4) suivante [21]:

$$LOD = \frac{3SD}{b} \quad \text{Equation (II.2.4)}$$

Où, (SD) est l'écart type d'intercept de la courbe d'étalonnage linéaire et (b) est la pente de la courbe d'étalonnage. La LOD calculée est égale à 1.9 pg/mL avec un rapport S/N= 3 (équivalente à 8.32 pM). La sensibilité ($0.01 \text{ pg}^{-1}/\text{mL}^{-1}$) est la pente de la courbe d'étalonnage. De plus, la courbe d'étalonnage est linéaire dans la gamme allant de 1 à 20 pg/mL (équivalent à 4.38 à 87.6 pM). Les caractéristiques des électrodes modifiées, dans des travaux antérieurs, pour la détection du BPA sont rapportées dans le tableau II.2.1. En outre, la reproductibilité de l'électrode modifiée

GE/DDT-PNVP a été évaluée par la mesure de la réponse à 10 pg/mL de BPA dans du PBS 0.01 M contenant 5 mM $\text{Fe}(\text{CN})_6^{-3/-4}$ par spectroscopie d'impédance, la déviation standard relative a été déterminée, pour trois capteurs BPA différents ayant la même modification, et évaluée à 6.72%, ce qui indique que le capteur étudié a une bonne reproductibilité.

Tableau II.2.1. Comparaison des caractéristiques analytiques de l'électrode modifiée développée et des électrodes modifiées pertinentes pour la détection de BPA, basée sur la littérature.

Électrode	Méthode	Gamme linéaire	LOD	Réf
MIP MWCNTs-GNPs/GE	Amperiométrie	$1.13 \cdot 10^{-7} - 8.21 \cdot 10^{-3} \text{ M}$	3.6 nM	[22]
MIP PPy-TiO ₂ NTs	PEC	4.5 - 108 nM	2 nM	[23]
GO-MNPs/CGE	CV	$6 \cdot 10^{-8} - 1.1 \cdot 10^{-5} \text{ M}$	$1.7 \cdot 10^{-8} \text{ M}$	[24]
AuNPs/PVP/PGE	SWAdSV	0.03 - 1.1 μM	0.02 μM	[25]
GO-Cu ₂ O/GCE	CV	0.1 - 80 μM	$5.3 \cdot 10^{-8} \text{ M}$	[26]
GNPs-AuNPs/GCE	DPV	$5 \cdot 10^{-3} - 100 \mu\text{M}$	0.027 nM	[27]
MCH/Aptamers/Au-NPs/BDD	Impédimétrie	$1.0 \cdot 10^{-14} - 1.0 \cdot 10^{-9} \text{ M}$	$7.2 \cdot 10^{-15} \text{ M}$	[28]
DDT-PNVP/GE	Impédimétrie	4.38 pM - 87.6 pM	8.32 pM	Ce travail

4.2.3. Sélectivité du capteur GE/DDT-PNVP

La sélectivité du capteur chimique développé pour la détection du BPA a également été étudiée par rapport à d'autres espèces interférentes, qui ont les mêmes groupes fonctionnels que le BPA (fonction hydroxyle), en particulier, le phénol, l'hydroquinone et le résorcinol. Ces composés sont, habituellement, utilisés dans la fabrication des matériaux plastiques comme monomères, stabilisants ou inhibiteurs. La figure II.2.12, montre des courbes d'étalonnage, obtenues après immersion du capteur GE/DDT-PNVP dans différentes concentrations des produits interférents variants entre 1 et 20 pg/mL [29]. Celles-ci ne sont pas linéaires et indiquent que le capteur GE/DDT-PNVP n'a aucune sensibilité pour les produits testés: phénol, hydroquinone et résorcinol.

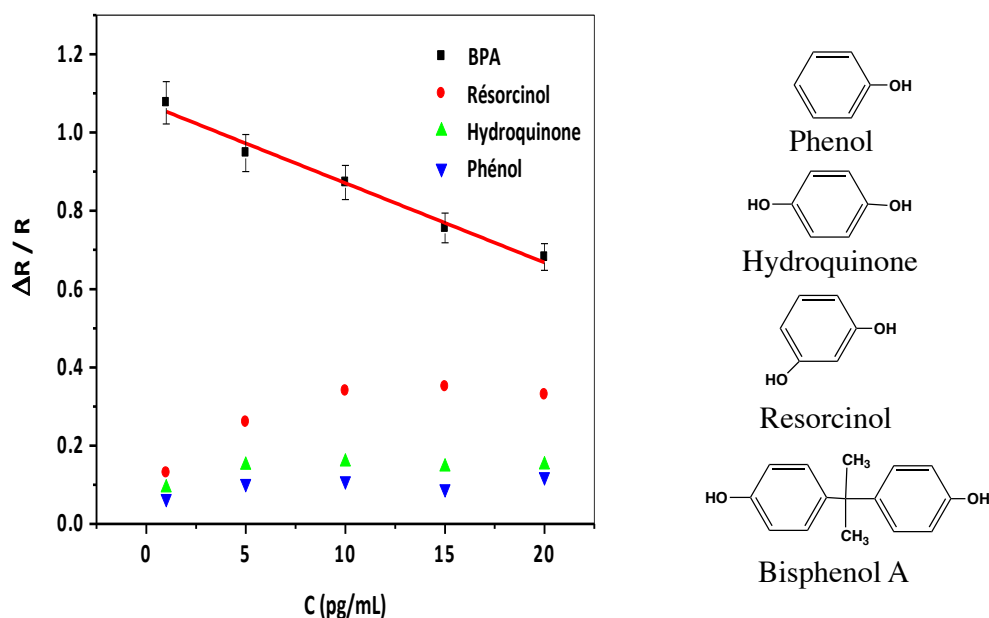


Figure II.2.12. Structures des produits interférents et leurs courbes d'étalonnage.

4.2.4. Mécanisme et énergie d'adsorption des molécules du BPA sur le capteur GE/DDT-PNVP

Le comportement d'adsorption du BPA sur le capteur a été analysé pour diverses isothermes d'adsorption telles que Langmuir, Frumkin, Temkin, Flory-Huggins.... (Tableau II.2.2). La courbe de C/θ en fonction de C a donné une ligne droite, comme le montre la figure II.2.13. Le coefficient de régression linéaire (R^2) et la pente sont presque égaux à 1, ce qui indique que l'adsorption du BPA obéit à l'isotherme de Langmuir (Équation II.2.6) [30]. L'énergie libre d'adsorption calculée est égale à -65.19 KJ/mol avec une constante d'adsorption élevée $0.2712 \cdot 10^9$ L/g, ce qui confirme que le type d'adsorption du BPA sur l'électrode modifiée est du type chimique.

$$\Theta = 1 - \frac{R_{tc}}{R_{tc(BPA)}} \quad \text{Equation (II.2.5)}$$

$$\frac{C}{\Theta} = \frac{1}{K_{ads}} + C \quad \text{Equation (II.2.6)}$$

$$\Delta G^\circ = -RT \ln 55.5 * 18K_{Ads} \quad \text{Equation (II.2.7)}$$

Où, R_{tc} et $R_{tc(BPA)}$ sont la résistance de transfert de charge de l'électrode modifiée GE/DDT-PNVP sans et en présence de BPA, respectivement. Θ est la surface recouverte,

K_{Ads} est la constante d'équilibre du processus d'adsorption chimique, et C la concentration en BPA. R la constante des gaz parfaits, T la température absolue. La valeur $(55,5 \cdot 18)$ est la concentration massique de l'eau en $g L^{-1}$. ΔG° est l'énergie libre d'adsorption.

Tableau II.2.2. Formules d'isothermes d'adsorption, pentes et R^2 du BPA adsorbé sur l'électrode modifiée GE/DDT-PNVP.

Isotherme	Formule	R^2	Pente
Langmuir	$C/\theta = 1/K+C$	0.91	0.92715
Freundlich	$\text{Log}\theta = \text{Log}K + 1/n\text{Log}C$	0.84	0.25844
Langmuir Freundlich	$\text{Log}(\theta/(1-\theta)) = f(\text{Log}C)$	0.72	0.54361
Frumkin	$\text{Log}(\theta/(1-\theta)C) = \text{Log}K + 2a\theta$	0.10	-1.09405
Florry –Huggins	$\text{Log}(\theta/C) = f(1-\theta)$	0.51	1.68856
Temkin	$\theta = \ln C$	0.80	0.12309

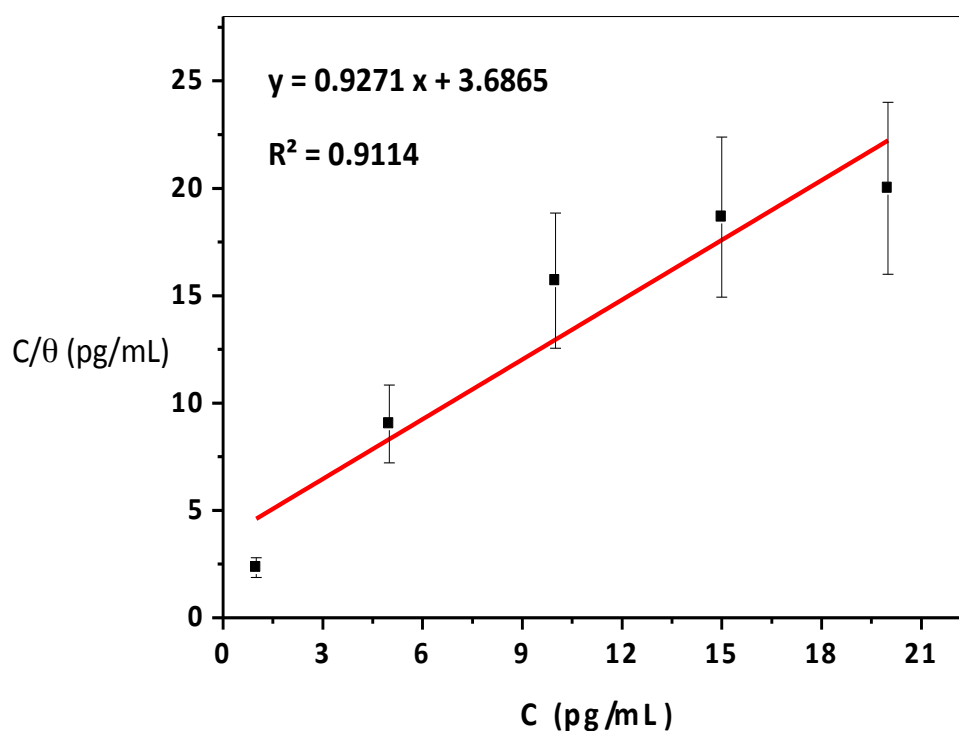


Figure II.2.13. Isotherme de Langmuir d'adsorption de BPA sur le capteur électrochimique GE/DDT-PNVP

4.2.5. Effet de la présence des AuNPs à la surface de l'électrode modifiée GE/DDT-PNVP

Les nanomatériaux jouent un rôle crucial dans l'amélioration des performances des capteurs. En raison de leur surface spécifique élevée, les AuNPs possèdent de bonnes propriétés physico-chimiques. Dans les capteurs électrochimiques, les AuNPs sont largement utilisées pour améliorer la sensibilité de détection, de faciliter le transfert d'électrons, d'amplifier le signal et comme catalyseur à cause de leur excellente conductivité et de leur catalyse efficace [31].

La deuxième électrode a été préparée de la même façon que la première, une couche d'oligomère a été déposée sur un substrat d'Or propre. Après, le substrat d'Or modifiée a été introduite dans une solution de HAuCl_4 puis dans une solution de NaBH_4 . Dans une première étape les ions Au^{+3} se sont fixés dans la couche du DDT-PNVP par des interactions chimiques, résultant de la présence de fonctions chimiques le long des chaînes de l'oligomère. La réduction des ions Au^{+3} se fait in-situ à l'intérieur de la couche d'oligomère sous l'action de l'agent réducteur. La figure II.2.14 représente un schéma proposée de l'électrode préparée, ici, le rôle des nanoparticules d'Or est d'augmenter le transfert d'électrons et d'amplifier le signal électrique [32,33].

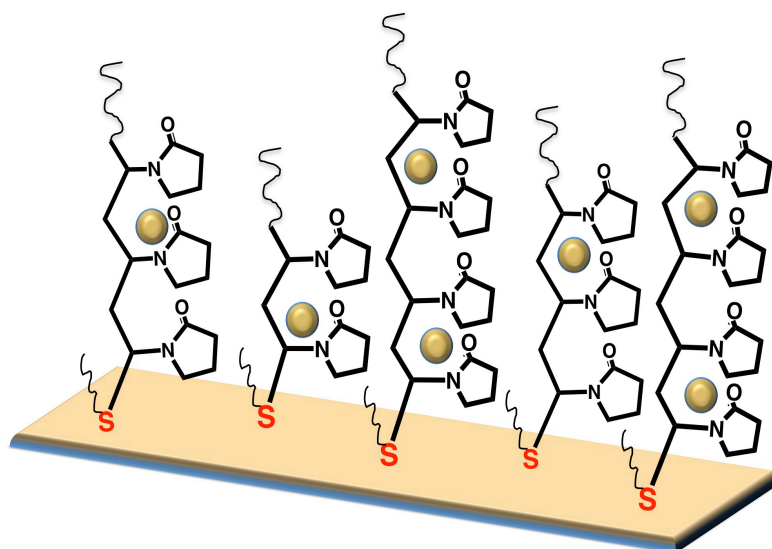


Figure II.2.14. Schéma proposé de l'électrode d'Or modifiée par le DDT-PNVP et des nanoparticules d'Or.

La figure II.2.15 montre l'analyse CV d'un substrat d'Or avant, après modification par le DDT-PNVP et après introduction des nanoparticules d'Or sur la surface de l'électrode. Les CVs ont été enregistrés en faisant varier le potentiel de - 400 mV à +600 mV avec une vitesse de balayage de 100 mV/s. Pour le substrat d'Or non-modifié, un couple de pics redox de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ a été observé avec une séparation pic-à-pic (ΔI_p) de 1.66 mA et (ΔE_p) de 0.245 V. Lorsque le substrat est recouvert d'une couche du DDT-PNVP, une diminution du transfert de charge a été observée; un couple de pics redox de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ a été obtenu avec une séparation pic-à-pic (ΔI_p) de 0.988 mA et (ΔE_p) de 0.357 V. Cependant, l'incorporation des AuNPs sur l'électrode modifiée conduit à une activation du transfert de charge, un couple de pics redox de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ a été obtenu avec une séparation pic-à-pic (ΔI_p) de 1.158 mA et (ΔE_p) de 0.294 V.

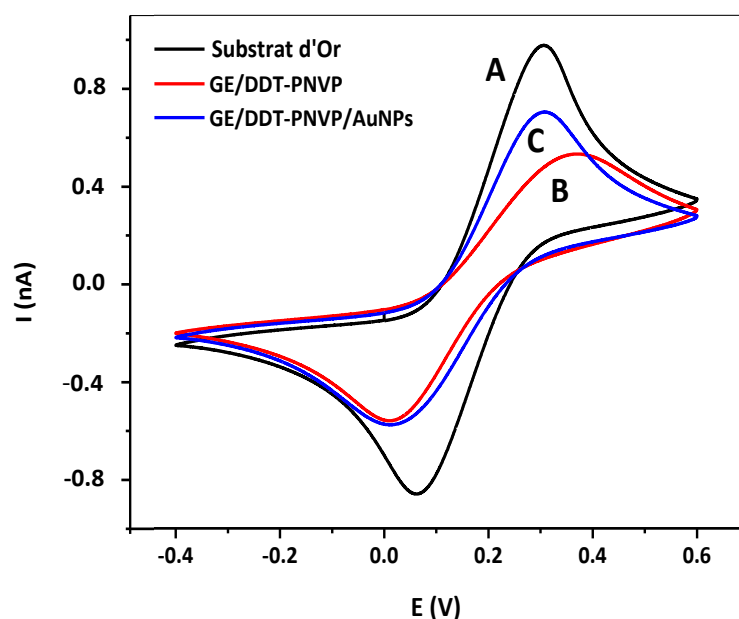


Figure II.2.15. Voltammogrammes cycliques de substrat d'Or non-modifié (A), après modification par le DDT-PNVP (B) et après addition des AuNPs (C)

Les diagrammes de Nyquist présentés à la figure II.2.16 montrent clairement la différence d'impédance entre les différentes électrodes d'Or, non-modifiée, modifiée par le DDT-PNVP et modifiée par le DDT-PNVP et des AuNPs. Le comportement d'impédance électrochimique de l'électrode est adapté au modèle de Randles (Figure II.2.6). Le premier demi-cercle dans le diagramme de Nyquist correspond à l'électrode d'Or non-modifiée avec une faible résistance de transfert de charge. Après la modification de celui-ci par le DDT-PNVP, le diamètre du demi-cercle devient beaucoup plus grand avec

une impédance élevée. Tandis qu'une diminution du diamètre du demi-cercle est observée en présence de AuNPs à la surface de l'électrode modifiée ce qui traduit une faible résistance de transfert de charge. Ceci est expliquée par la réactivité des AuNPs qui implique un bon comportement d'activation et un contrôle complet du processus de transfert de charge [34,35], les mesures d'impédances faradiques sont en bon accord avec les mesures des CVs.

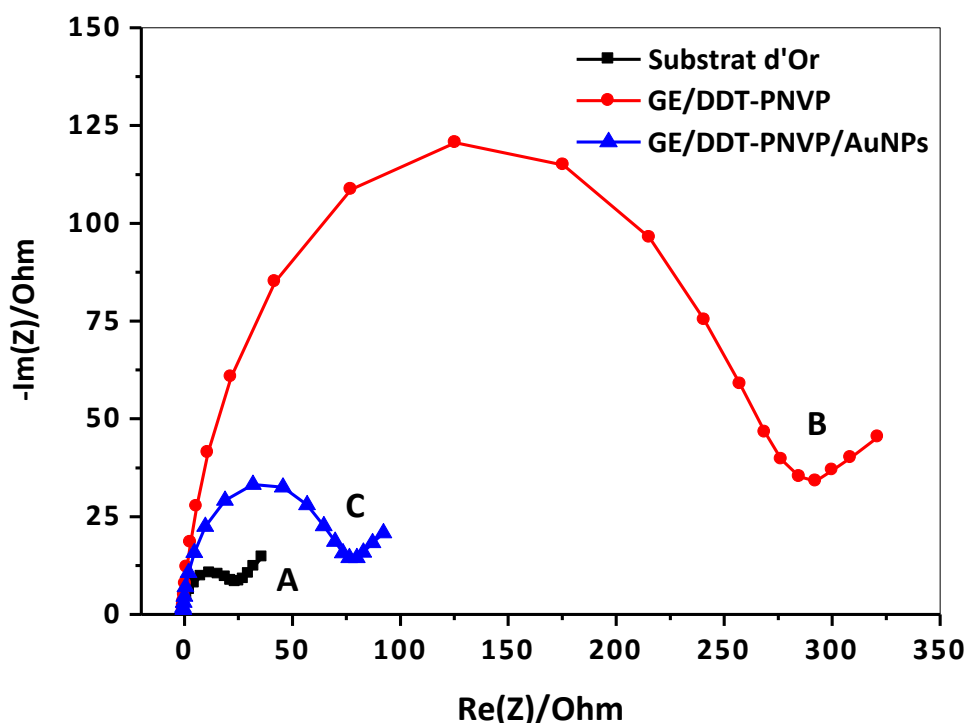


Figure II.2.16. Courbes de Nyquist de substrat d'Or non-modifiée (A), de GE/DDT-PNVP (B) et de GE/DDT-PNVP/AuNPs (C). Les courbes ont été enregistrés en présence de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ dans une gamme de fréquences comprise entre 1 Hz et 200 kHz, à un potentiel de 0.2V.

Les propriétés hydrophiles de GE/DDT-PVP/AuNPs ont été étudiées, également, en utilisant des mesures d'angles de contacts avec l'eau. L'angle de contact des substrats d'Or avant et après modification a révélé un changement considérable (Figure II.2.17). L'angle de contact a changé de 67.19° à 33.49° pour l'électrode en Or non-modifiée et l'électrode traitée avec piranha, respectivement. Tandis que, après modification avec le DDT-PNVP, l'angle de contact du substrat d'Or modifié a légèrement augmenté de 33.49° à 45.88° . Cependant, une diminution remarquable de l'angle de contact a été observée passant de 45.88° à 17.26° après déposition des

AuNPs, ceci montre clairement que la surface a été modifiée avec succès. La diminution de l'angle de contact traduit par la bonne hydrophilicité des AuNPs [36].

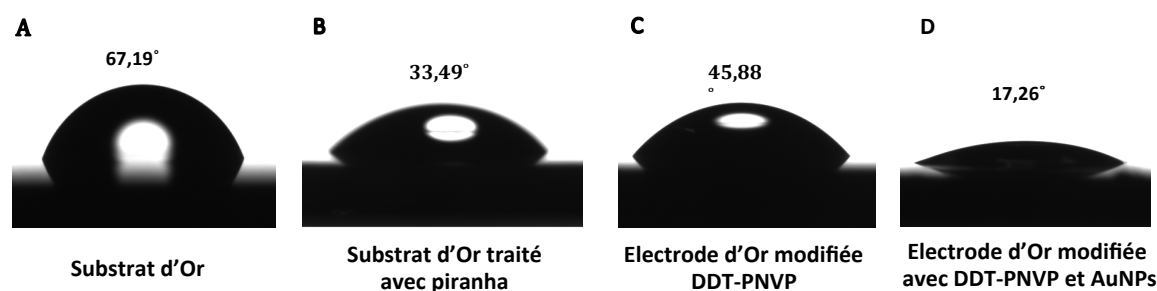


Figure II.2.17. Angles de contact d'une gouttelette d'eau sur: Substrat d'Or (A), Substrat d'Or traité au piranha (B), Substrat d'Or après modification par DDT-PNVP (C), et Substrat d'Or après modification par DDT-PNVP et AuNPs (D)

La surface-active électrochimique de l'électrode modifiée GE/DDT-PNVP/AuNPs a été déterminée en utilisant l'équation (II.2.2) et la pente de La courbe $I = f(t^{-1/2})$ ($I(t) = 1.08 \cdot 10^{-3} - 8.048 \cdot 10^{-4} \cdot t^{-1/2}$, $R^2 = 0,98$) (Figure II.2.18). La surface-active électrochimique de l'électrode GE/DDT-PNVP/AuNPs obtenue était 1.07 cm^2 . En comparaison avec la surface-active de l'électrode GE/DDT-PNVP, qui a une surface-active égale à 0.15 cm^2 , une augmentation importante de la surface active électrochimiquement et ceci est dû à la présence des AuNPs. Ce phénomène peut être expliqué par le bon effet catalytique des AuNPs, qui ont une surface spécifique énorme à cause de leurs tailles nanométriques, ce qui implique une surface de contact plus grande avec le milieu environnant (l'électrolyte) conduisant à un transfert de charge important. La surface-active électrochimiquement traduit l'efficacité et la facilité des échanges électriques à l'interface électrode-électrolyte [37,38].

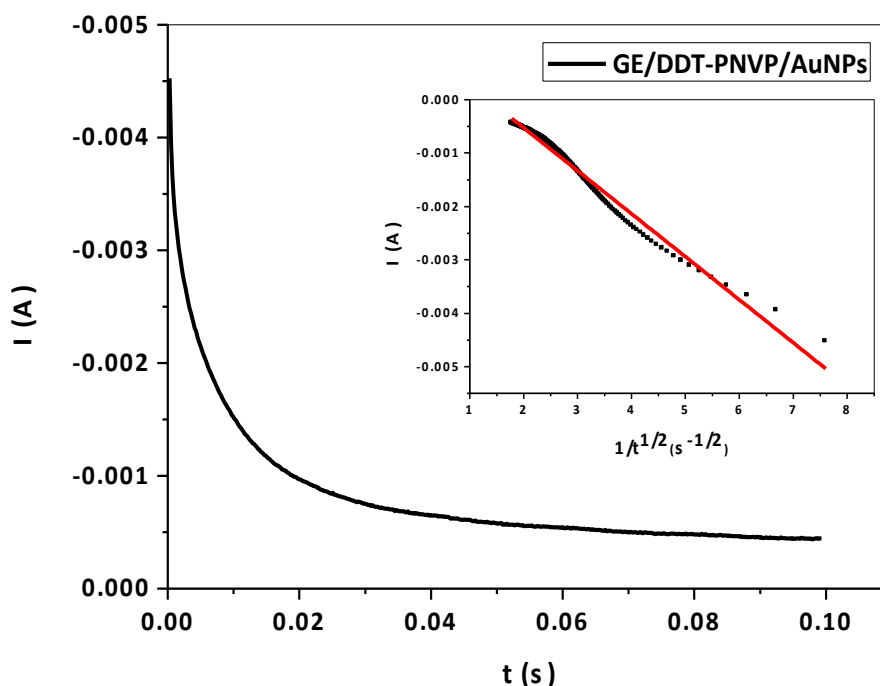


Figure II.2.18. La courbe ($I - t$) et la courbe ($I - t^{-1/2}$) de l'électrode GE/DDT-PNVP/AuNPs dérivées des données de chronoampérométrie. Les mesures chronoampérométriques sont réalisées dans du PBS contenant 5 mM de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ à un potentiel de 0,2 V.

La figure II.2.19 représente la réponse (diagrammes de Nyquist (A), les courbes de Bodes correspondantes (B) ainsi que la courbe de calibration (C)) du capteur GE/DDT-PNVP/AuNPs en variant la concentration de BPA de 1 à 20 pg/mL. La présence des AuNPs diminue l'impédance globale du système; des résistances de transfert de charges beaucoup plus faibles sont obtenues en comparaison avec celles obtenues en absence des AuNPs (Figures II.2.10). Ainsi, la dispersion dans la couche d'oligomère des AuNPs améliore d'une façon remarquable le transfert de charge. La diminution de la valeur de R_{ct} révèle que les AuNPs présentent une capacité catalytique élevée [37]. La limite de détection a été calculée à partir de l'équation (II.2.5) suivante [39]:

$$\text{LOD} = 3S_x = \frac{3}{b} e^{\frac{y_0 - a}{b}} \left[S_{y_0}^2 + S_a^2 + \left(\frac{y_0 - a}{b} \right) S_b^2 \right] \quad \text{Equation II.2.5}$$

Où, a et b sont l'intercept et la pente de la courbe d'étalonnage respectivement. S_a , S_b , S_{y_0} et S_x sont l'écart type de l'intercept, de la pente de la courbe d'étalonnage, de la réponse de l'électrode à blanc et de la concentration de l'analyte respectivement. La LOD calculée est égale à 0.44 pg/mL. En comparaison

avec la limite de détection du GE/DDT-PNVP (LOD=1.9 $\mu\text{g/mL}$), la limite de détection de GE/DDT-PNVP-AuNPs est plus faible.

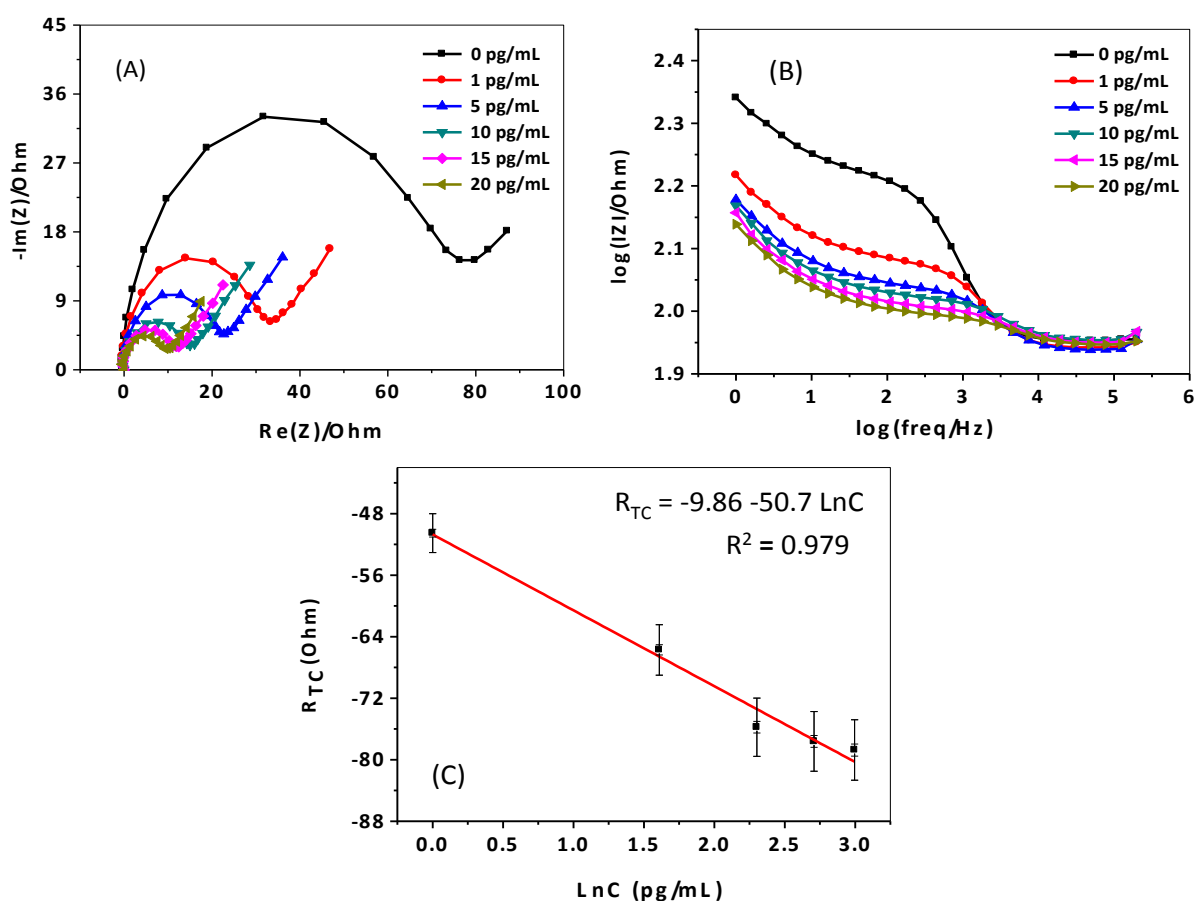


Figure II.2.19. Détection électrochimique du BPA: courbes de Nyquist (A), courbes de Bode (B) et courbe de calibration (C) du capteur GE/DDT-PNVP/AuNPs obtenue à partir des concentrations croissantes de BPA.

L'adsorption du BPA sur l'électrode modifiée GE/DDT-PNVP/AuNPs a été analysée pour diverses isothermes d'adsorption (Tableau II.2.3). La courbe de C/θ en fonction de la concentration C est une droite, comme le montre la figure II.2.20, par conséquent, l'adsorption du BPA obéit à l'isotherme de Langmuir (Équation II.2.6). L'énergie libre d'adsorption calculée est égale à -70.98 kJ/mol avec une constante d'adsorption élevée $2.8142 \cdot 10^9 \text{ L/g}$, ce qui confirme que le type d'adsorption du BPA sur le capteur est aussi de type chimique. La valeur de K_{Ads} en présence des AuNPs est plus élevée que K_{Ads} pour l'électrode GE/DDT-PNVP ($K_{\text{Ads}} = 0.2712 \cdot 10^9 \text{ L/g}$); apparemment les AuNPs aident les molécules de BPA à former des interactions plus fortes avec la couche sensible du capteur ce qui conduit à une adsorption plus forte.

Tableau II.2.3. Formules d'isothermes d'adsorption, pentes et R^2 du BPA adsorbé sur l'électrode modifiée GE/DDT-PNVP/AuNPs

Isotherme	Formule	Pente	R^2
Langmuir	$C/\theta = 1/K+C$	1.27229	0.9999
Freundlich	$\text{Log}\theta = \text{Log}K + 1/n\text{Log}C$	0.04416	0.8593
Langmuir Freundlich	$\text{Log}(\theta/(1-\theta)) = f(\text{Log}C)$	0.4520	0.9566
Frumkin	$\text{Log}(\theta/(1-\theta)C) = \text{Log}K + 2a\theta$	-7.56377	0.9511
Florry –Huggins	$\text{Log}(\theta/C) = f(1-\theta)$	9.09605	0.9635
Temkin	$\theta = \ln C$	0.04367	0.9682

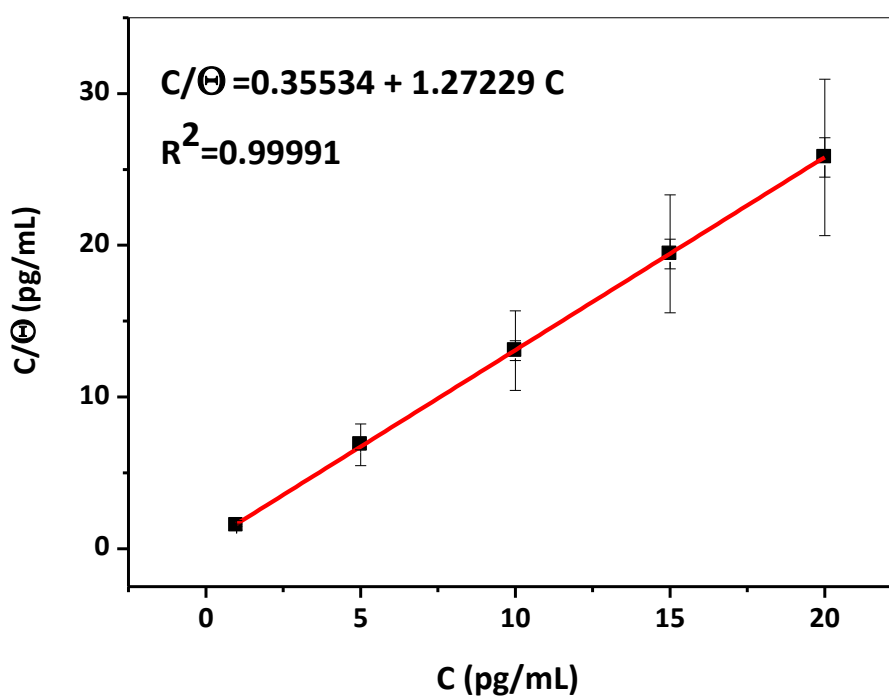


Figure II.2.20. Isotherme de Langmuir d'adsorption de BPA sur l'électrode GE/DDT-PNVP/AuNPs

4.3. Synthèse et caractérisation de l'électrode modifiée GCE/PN-AuNPs-MB

L'électrode modifiée, GCE/PN-AuNPs-MB, a été préparée en trois étapes: la première étape est la déposition d'une goutte de $7\mu\text{l}$ de PDMAEMA-co-styrène (PN), dispersée dans l'eau, sur une électrode de carbone vitreux propre, la deuxième étape est l'incubation de l'électrode dans une solution de HAuCl_4 suivie par incubation dans une solution de NaBH_4 , la troisième étape est l'immersion dans une solution du bleu de

méthylène. La modification de surface de l'électrode de carbone vitreux a été suivie et analysée par voltamétrie cyclique et par spectroscopie d'impédance électrochimique. La figure II.2.21 représente un schéma simplifié des trois étapes de préparation de l'électrode modifiée GCE/PN-AuNPs-MB.

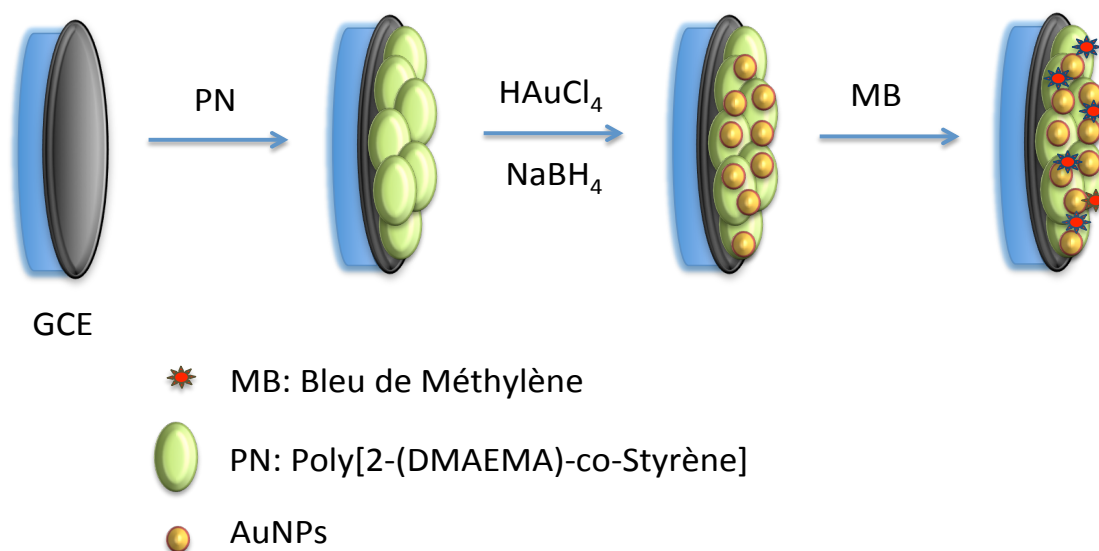


Figure II.2.21. Schéma des étapes de préparation de l'électrode GCE/PN-AuNPs-MB

L'analyse voltamétrique cyclique des électrodes GCE, GCE/PN, GCE/PN-AuNPs et GCE/PN-AuNPs-MB en présence de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ a été réalisée dans la gamme de potentiel de -0.6 à 1 V avec une vitesse de 100 V/s, comme le montre la figure II.2.22. Une paire de pics rédox intenses a été observée pour le GCE avec une séparation pic-à-pic (ΔI_p) de 0.904 mA et (ΔE_p) de 0.269 V, pour les différentes électrodes modifiées les pics rédox de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ obtenus ont des intensités plus faibles avec une séparation pic-à-pic de (ΔI_p) et (ΔE_p) égaux à 0.624 mA et 0.686 V pour GCE/PN, 0.923 mA et 0.352 V pour GCE/PN-AuNPs et 0.719 mA et 0.747 V pour GCE/PN-AuNPs-MB. Ces résultats indiquent que la présence de la couche polymère et les molécules de MB bloquent le transfert d'électrons à l'interface de l'électrode. Par contre, la conductivité de l'électrode modifiée est améliorée en présence des AuNPs par rapport à l'électrode modifiée sans AuNPs. Les AuNPs favorisent le transfert de charge, qui conduit à une augmentation du courant [32].

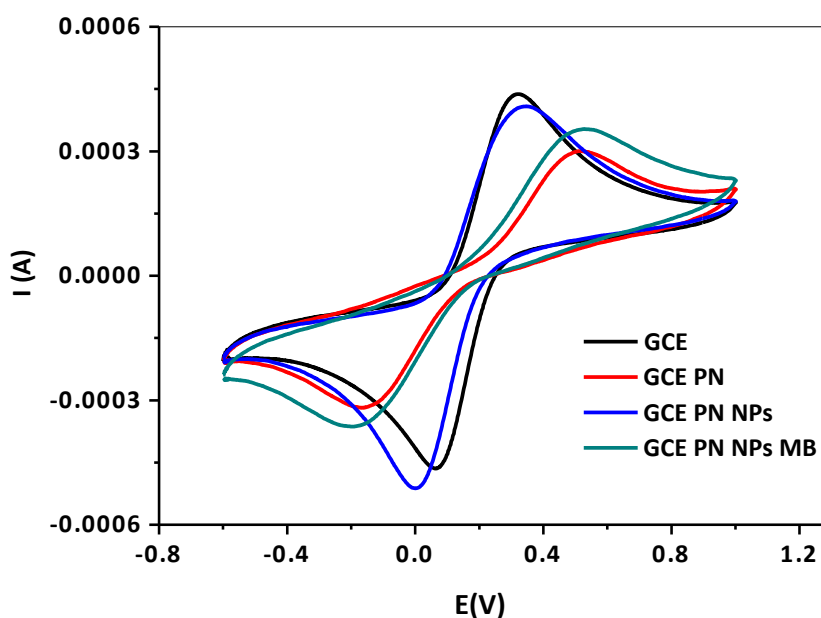


Figure II.2.22. Voltamétrie cyclique de: GCE, GCE/PN, GCE/PN-AuNPs et GCE/PN-AuNPs/MB.

Un voltampérogramme à impulsions différentielles (DPV) de l'électrode GCE modifiée, avec ses différentes couches déposées, a été obtenu dans une solution de PBS (pH 7,4) en présence de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ comme le montre la figure II.2.23. Un pic rédox typique à la surface de l'électrode GCE est observé, où la valeur du pic de courant est de $80.3 \mu\text{A}$. Le courant rédox est diminué lorsque l'électrode a été modifiée avec du PN, où la valeur du pic courant est de $35.1 \mu\text{A}$, en raison de la faible conductivité du copolymère. Une augmentation intéressante du pic courant après l'addition des AuNPs à la surface de l'électrode modifiée, où la valeur de pic de courant augmente à $92.5 \mu\text{A}$, cette augmentation est due à l'effet catalytique des AuNPs qui améliorent sensiblement le transfert d'électrons. Par contre, une diminution de l'intensité du pic est observé après ajout du MB, où la valeur du pic de courant est égale à $34.5 \mu\text{A}$, cette diminution résulte de l'effet d'inhibition du MB, car le taux de transfert d'électrons de l'électrode de travail a été efficacement bloqué.

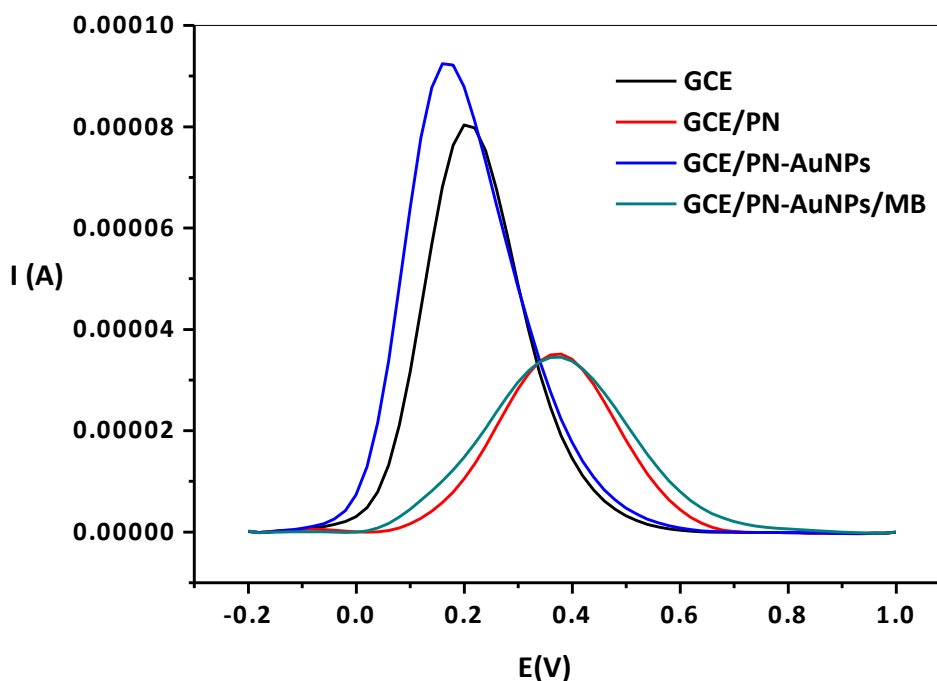


Figure II.2.23. Courbes de DPV de: GCE, GCE/PN, GCE/PN-AuNPs, et GCE/PN-AuNPs/MB.

La figure II.2.24 présente les courbes d'impédance de l'électrode non modifiée (GCE) et les électrodes modifiées GCE/PN, GCE/PN-AuNPs et GCE/PN-AuNPs-MB. Le comportement d'impédance électrochimique des électrodes est adapté au modèle de Randles (Figure II.2.6). Le premier demi-cercle de la courbe de Nyquist correspond à l'électrode de carbone vitreux (GCE) montrant une faible résistance de transfert de charge. Après la modification avec le PN, le diamètre du demi-cercle de diagramme de Nyquist est beaucoup plus grand avec une impédance élevée. Tandis que la diminution du diamètre du demi-cercle est observée en présence des AuNPs à la surface de l'électrode modifiée ce qui traduit une faible résistance de transfert de charge. Ceci est expliquée par la réactivité des AuNPs qui implique un bon comportement d'activation et un contrôle complet du processus de transfert de charge. Cependant, l'immobilisation des molécules du bleu de méthylène sur la surface de l'électrode GCE/PN-AuNPs traduit une augmentation d'impédance à cause de la mauvaise conductivité du bleu de méthylène. Le taux de recouvrement de l'électrode GCE/PN-AuNPs-MB a été calculé, en utilisant l'équation (II.2.1), et trouvé égal à $\theta = 90\%$.

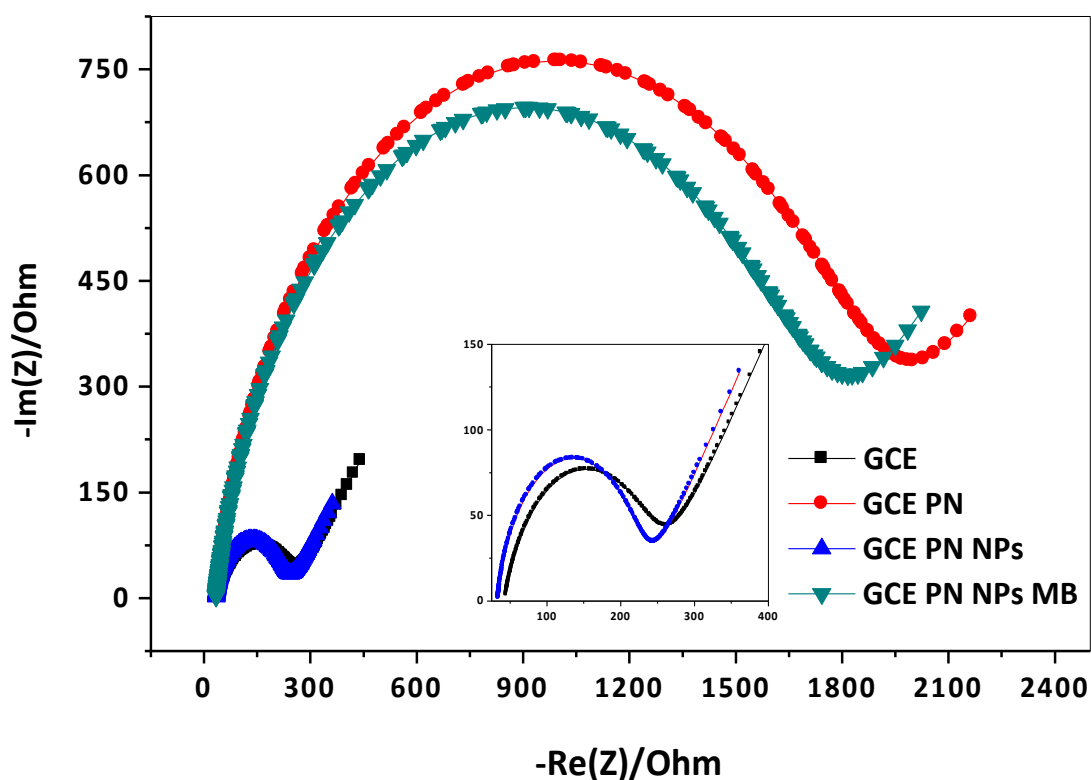


Figure II.2.24. Courbes d'impédance de: GCE, GCE/PN, GCE/PN-AuNPs et GCE/PN-AuNPs/MB. Les mesures sont réalisées en présence de PBS contenant 5 mM de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$. La fréquence est variée de 0.1 Hz à 2 kHz.

La figure II.2.25 présente les courbes $I = f(t)$ de l'électrode GCE non-modifiée et l'électrode modifiée GCE/PN-AuNPs/MB. La surface-active électrochimique de l'électrode GCE avant et après modification de surface par le PN, les AuNPs et le MB a été déterminée en utilisant l'équation (II.2.2) et la pente de la courbe $I = f(t^{-1/2})$. Les deux courbes sont linéaires avec un coefficient de régression proche de 1: ($I(t) = 2.14 \cdot 10^{-4} - 3.56 \cdot 10^{-4} \cdot t^{-1/2}$, $R^2 = 0.9913$) pour le GCE et ($I(t) = 3.65 \cdot 10^{-5} - 2.34 \cdot 10^{-4} \cdot t^{-1/2}$, $R^2 = 0.9932$) pour l'électrode GCE/PN-AuNPs/MB. Les surfaces-actives électrochimiques des électrodes GCE et GCE/PN-AuNPs/MB obtenues sont 0.47 cm^2 et 0.31 cm^2 , respectivement. En comparant les deux valeurs, la surface-active électrochimique est diminuée, la couche PN-AuNPs/MB est une couche inhibitrice provoquant une diminution du transfert d'électrons entre la surface de l'électrode modifiée GCE/PN-AuNPs/MB et l'électrolyte.

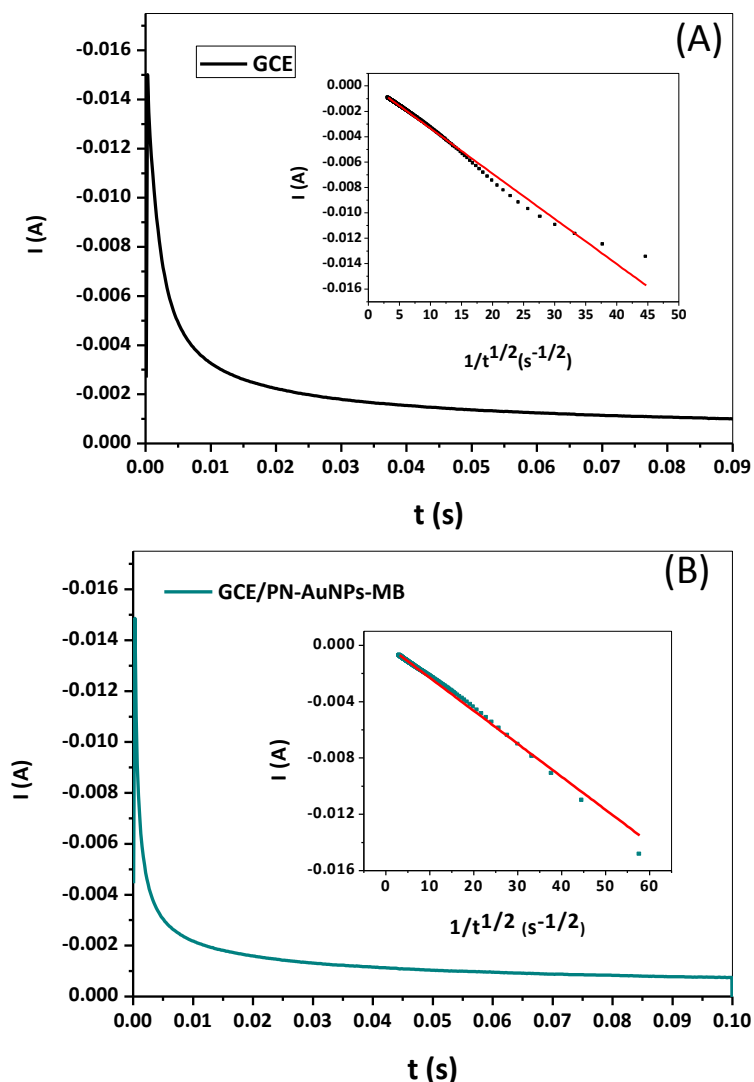


Figure II.2.25. Les courbes ($I - t$) de: GCE (A) et GCE/PN-AuNPs-MB (B), et les tracés des courbes ($I - t^{-1/2}$) dérivés des données de chronoampérométrie correspondantes. Les mesures chronoampérométriques sont réalisées dans du PBS contenant 5 mM de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ à un potentiel de 0.2 V.

4.4. Étude électrochimique de l'électrode modifiée GCE/PN-AuNPs/MB: application à la détection de la mélamine

4.4.1. Mélamine, source et toxicité

La mélamine (1,3,5-triazine-2,4,6-triamine ou $\text{C}_3\text{H}_6\text{N}_6$) contient une quantité substantielle d'azote qui représente environ 66% de sa masse. Elle est couramment utilisée dans la production des résines de polymères thermodurcissables mélamine-formaldéhyde, qui entrent dans la composition de nombreux plastiques (ustensiles de cuisine par exemple), les adhésifs, le ciment, et les peintures ignifuges [40]. Sur la base

de plusieurs études, les monomères résiduels peuvent rester dans le plastique fini après la fabrication [41,42]. Leur migration dans les aliments se produit en quantité mesurable, en particulier dans des conditions acides et à haute température, et dépend également du temps de contact. Également, la migration de la mélamine peut résulter de la dégradation du polymère. Cependant, l'exposition à la mélamine peut être particulièrement dangereuse pour la santé humaine. La mélamine a une faible toxicité par voie orale, mais des concentrations élevées peuvent induire une pathologie rénale et même la mort chez les bébés et les enfants. La mélamine peut être hydrolysée en acide cyanurique, qui s'associe à son tour à la mélamine pour former un complexe insoluble mélamine-cyanurate susceptible de former des cristaux dans le système urinaire, entraînant probablement une insuffisance rénale aiguë. En outre, il provoque divers effets toxiques sur les reins tels que l'inflammation du rein et le cancer de la vessie [40,43].

D'autre part, afin d'augmenter la «fausse» teneur apparente en protéines dans des produits alimentaires, la mélamine a été utilisée artificiellement et illégalement comme additif azoté non protéique. Selon, les rapports initiaux de préparations pour nourrissons adultérées, de la mélamine a été trouvée dans de nombreux produits alimentaires. De plus, de la mélamine a également été détectée dans divers articles importés tels que les bonbons, les boissons et les biscuits. L'organisation mondiale de la santé (OMS) a recommandé que la dose journalière tolérable de mélamine soit de 0.2 mg/kg de poids corporel par jour, la Food and Drug Administration (FDA) des États-Unis a limité les teneurs maximales de mélamine dans les préparations pour nourrissons entre 1.0 mg/kg et 2.5 mg/kg pour le lait et les autres produits laitiers [44].

4.4.2. Comportement électrochimique de la Mélamine sur l'électrode GCE/PN-AuNPs/MB

La détection électrochimique de la mélamine sur l'électrode modifiée préparée (GCE/PN-AuNPs/MB) a été évaluée par la spectroscopie d'impédance électrochimique. Des solutions contenant de la MEL, à différentes concentrations allant de $5 \cdot 10^{-13}$ à $3.3 \cdot 10^{-8}$ M, ont été analysées. L'analyse est effectuée à potentiel ouvert ($E = 0$ V) après une accumulation de 30s pour chaque concentration en variant

le potentiel de -0.2 à 1 V sous une vitesse de balayage de 100 mV/s. L'accumulation est faite sous agitation (750 tr/min). Les mesures d'impédance ont été réalisées dans le PBS contenant du $\text{Fe}(\text{CN})_6^{-3/-4}$ à une concentration de 5 mM (pH = 7,4) dans l'intervalle de fréquences allant de 0.1 Hz à 2 KHz. La figure II.2.26 montre la réponse d'impédance distincte de l'électrode GCE/PN-AuNPs/MB pour différentes concentrations de la MEL. Le premier demi-cercle du diagramme de Nyquist correspond à la réponse électrochimique du GCE/PN-AuNPs/MB en absence de la MEL. Après chaque addition de la MEL, les demi-cercles de la courbe de Nyquist augmentent au fur et à mesure que la concentration en MEL augmente. Cela, indique que l'adsorption de la MEL sur la surface de l'électrode modifiée diminue d'une façon significative le courant global électrochimique. Les diagrammes d'impédance résultants, en présence de différentes concentrations de la MEL, ont été modélisés en utilisant le circuit électrique équivalent représenté à la figure II.2.6 (Circuit de Randles).

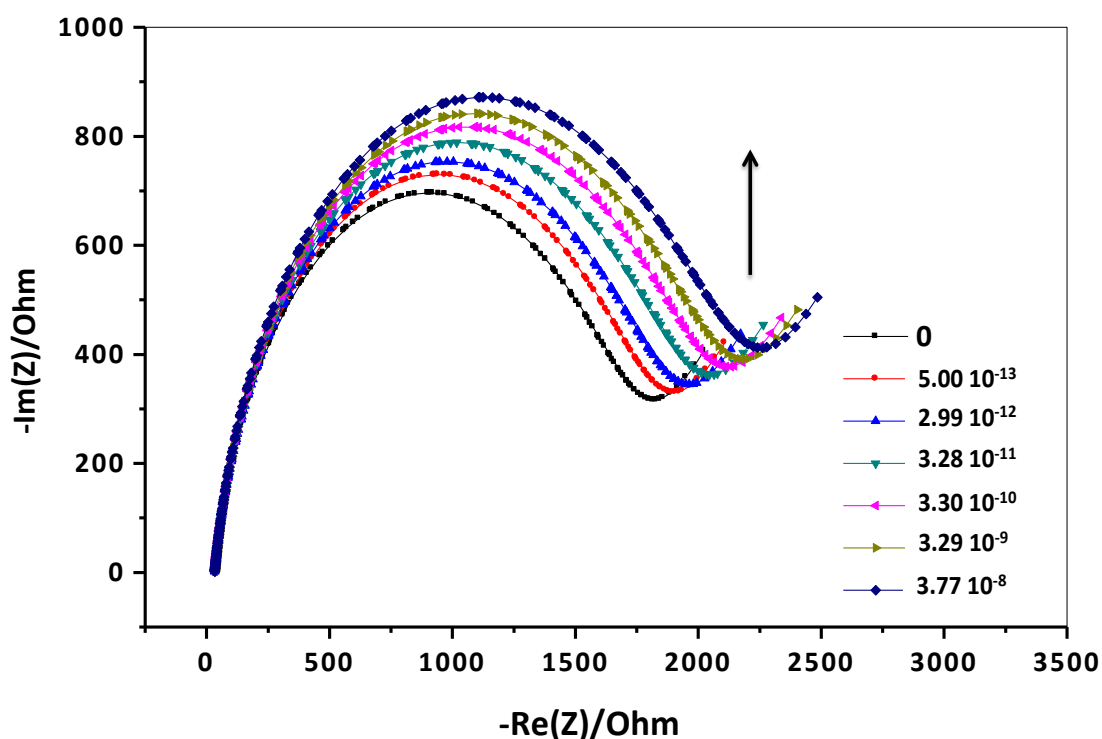


Figure II.2.26. Courbes de Nyquist de la détection électrochimique de la Mélamine.

La réponse électrochimique de l'électrode modifiée GCE/PN-AuNPs/MB en présence de la MEL avec différentes concentrations est linéaire. La figure II.2.27 montre que le signal de réponse (R_{TC}) varie d'une façon linéaire avec le logarithme de la

concentration de la MEL dans la gamme de concentrations entre $5 \cdot 10^{-13}$ mol/L et $3.77 \cdot 10^{-8}$ mol/L. L'équation de régression est: $R_{TC} = 1731.18 + 29.2 \ln C$, avec un coefficient de corrélation de 0,995. La limite de détection de la MEL est calculée en utilisant l'équation (II.2.5), la LOD calculée est égale à $3.3 \cdot 10^{-12}$ M. Les caractéristiques des électrodes modifiées, dans des travaux antérieurs, pour la détection de la MEL sont données dans le tableau II.2.4.

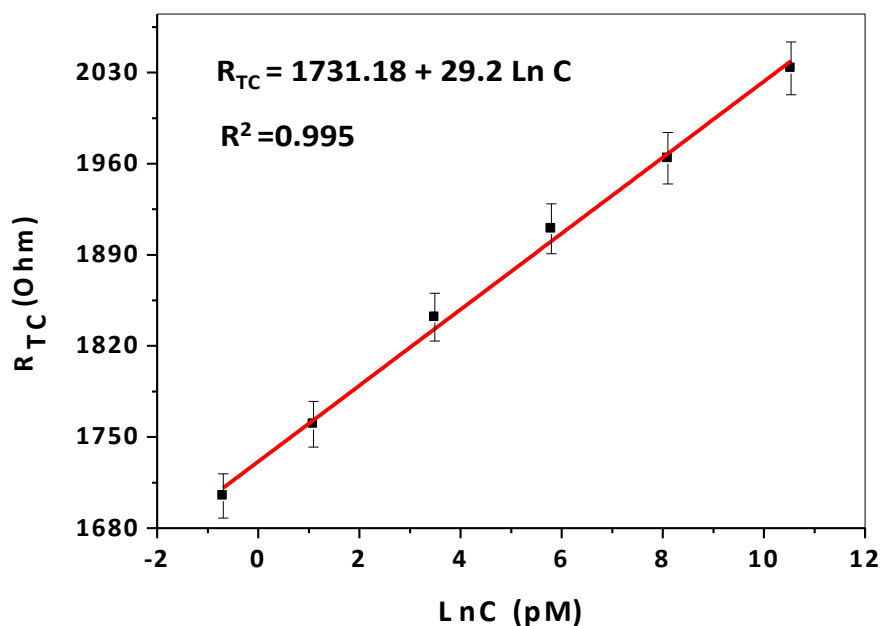


Figure II.2.27. Courbe d'étalonnage de l'électrode GCE/PN-AuNPs/MB

Tableau II.2.4. Comparaison des caractéristiques analytiques de l'électrode modifiée développée et des électrodes modifiées pertinentes pour la détection de la MEL, basée sur la littérature.

Électrode	Méthode	Gamme linéaire	LOD	Réf
AuNPs/GR-CPE	DPV	$2.0 \cdot 10^{-10} - 8.0 \cdot 10^{-7}$ M et $8.0 \cdot 10^{-7} - 8.0 \cdot 10^{-3}$ M	$1.8 \cdot 10^{-11}$ M	[45]
MIPPy/GR/GCE	DPV	$3.0 \cdot 10^{-8} - 1.0 \cdot 10^{-4}$ M	$1.02 \cdot 10^{-8}$ M	[46]
Au/MIP PMBI	Impédance	$1. \cdot 10^{-8}$ M - $5. \cdot 10^{-5}$ M	$3. \cdot 10^{-9}$ M	[47]
Au/[EMIM][Otf]/CaONPs/CHIT	DPV	$9.6 \cdot 10^{-3} - 9.6 \cdot 10^{-15}$ M	$9.6 \cdot 10^{-16}$ M	[48]
GC/ MWCNT/CS	DPV	$9.9 \cdot 10^{-9} - 1.9 \cdot 10^{-7}$ M	$3.0 \cdot 10^{-9}$ M	[49]
OMC/GCE	DPV	$1.0 \cdot 10^{-8} - 5.0 \cdot 10^{-7}$ M	$2.0 \cdot 10^{-9}$ M	[50]
GCE/PN-AuNPs-MB	Impédance	$3.77 \cdot 10^{-8} - 5 \cdot 10^{-13}$ M	$3.3 \cdot 10^{-12}$ M	Ce travail

La méthode d'addition standard a été réalisée pour tester l'efficacité du capteur GCE/PN-AuNPs-MB pour déterminer la concentration de la MEL dans des échantillons d'eau distillée. Deux solutions aqueuses de la MEL ont été préparées avec une concentration de $0.999 \cdot 10^{-11}$ M et $4.9975 \cdot 10^{-12}$ M, dans le PBS (pH = 7,4) contenant du $\text{Fe}(\text{CN})_6^{-3/4}$ (à une concentration de 5 mM). Les additions standard de la MEL ont été effectuées en ajoutant différentes concentrations $3.28 \cdot 10^{-8}$, $8.28 \cdot 10^{-9}$, $3.29 \cdot 10^{-9}$, $8.25 \cdot 10^{-10}$ et $3.30 \cdot 10^{-10}$ M de la MEL à ces deux échantillons [51,52]. Après, la pré-concentration de l'électrode modifiée dans ces solutions, les diagrammes de Nyquist ont été enregistrés dans les mêmes conditions que la figure II.2.26. Une courbe d'étalonnage a été obtenue à partir de la variation $\Delta R/R$ en fonction de $\ln C$ de la MEL (Figure II.2.28), le résultat obtenu ($0.9 \cdot 10^{-11}$ M MEL) est en bon accord avec la valeur de la MEL dans l'échantillon dilué, taux de récupération $\cong 90\%$ (Tableau II.2.5).

Tableau II.2.5. Dosage de la mélamine dans des échantillons d'eau distillée

Échantillon	Ajoutée (mol/l)	Trouvée (mol/l)	Taux de récupération (%)
1	$0.999 \cdot 10^{-11}$	$0.9 \cdot 10^{-11}$	90.00
2	$4.9975 \cdot 10^{-12}$	$4.4499 \cdot 10^{-12}$	89.04

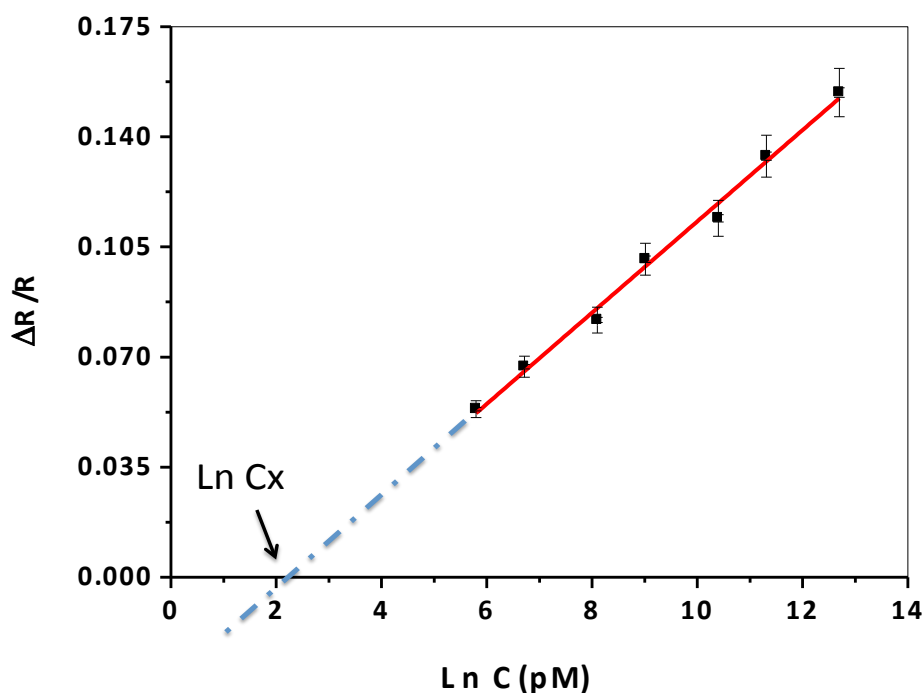


Figure II.2.28. Courbe d'étalonnage basée sur la méthode des additions standard pour la détermination de la MEL.

4.4.3. Sélectivité de l'électrode GCE/PN-AuNPs/MB

Dans les conditions optimales, le test d'interférence a été effectué en présence de la même concentration ($3.29 \cdot 10^{-9}$ M) de la mélamine, d'hydroquinone, du phénol et du BPA. Un facteur de sélectivité K est calculé pour chaque interférent en utilisant l'équation (II.2.8)[53]. Les résultats, présentés sous forme d'un histogramme (Figure II.2.29), montrent que ces composés organiques en comparaison avec la mélamine n'avaient aucun influence sur la détection de la mélamine.

$$K = \frac{\Delta R/R (\text{interfèrent})}{\Delta R/R(\text{mélamine})} \quad \text{Equation II.2.8}$$

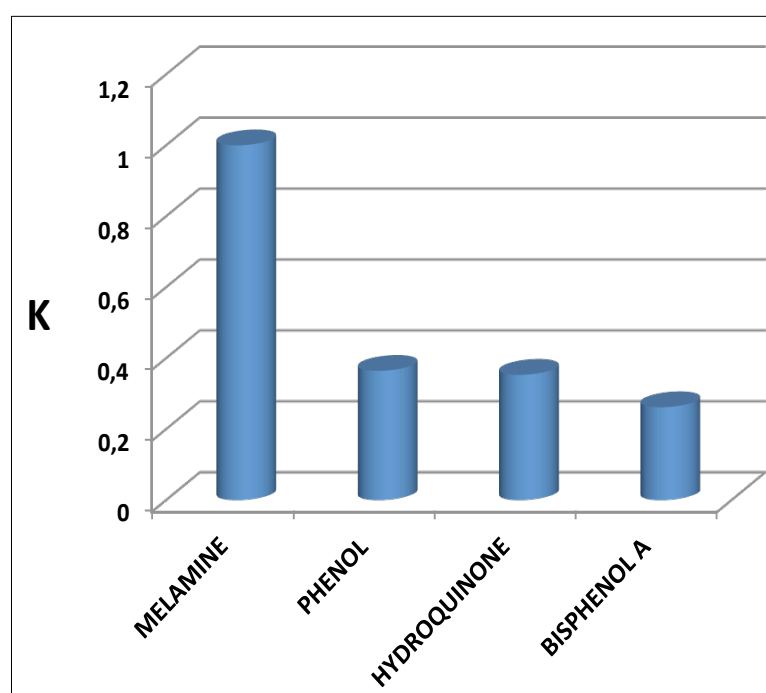


Figure II.2.29. Sélectivité du GCE/PN-AuNPs/MB pour la mélamine par rapport au phénol, à l'hydroquinone et au BPA, à la concentration de $3.29 \cdot 10^{-9}$ M.

4.4.4. Mécanisme et énergie d'adsorption des molécules de la mélamine sur le GCE/PN-AuNPs/MB

Plusieurs isothermes d'adsorption ont été utilisés afin de comprendre le mécanisme d'adsorption des molécules de la MEL sur la surface de l'électrode GCE/PN-AuNPs/MB (Tableau II.2.6). Après analyse des résultats le modèle de Langmuir s'avère le plus convenable, la courbe de C/θ en fonction de C est une droite (Figure II.2.30), par

conséquent, l'adsorption de la MEL obéit à l'isotherme de Langmuir. En utilisant l'équation (II.2.6) l'énergie libre d'adsorption a été déterminée et égale à -53.75 KJ/mol avec une constante d'équilibre égale à $1.485 \cdot 10^9$ L/mol, ce qui confirme que le type d'adsorption de la MEL sur l'électrode modifiée est aussi du type chimique. La MEL contient plusieurs atomes d'azote dans sa structure et peut facilement former des liaisons hydrogène avec tous les hétéroatomes présents à la surface de l'électrode modifiée GCE/PN-AuNPs/MB.

Tableau II.2.6. Formules d'isothermes d'adsorption, pentes et R^2 de la MEL adsorbée sur l'électrode modifiée GCE/PN-AuNPs/MB.

Isotherme	Formule	Pente	R^2
Langmuir	$C/\theta = 1/K+C$	5.0362	0.99975
Freundlich	$\text{Log}\theta = \text{Log}K + 1/n\text{Log}C$	0.12257	0.87831
Langmuir Freundlich	$\text{Log}(\theta/(1-\theta)) = f(\text{Log}C)$	0.15446	0.86104
Frumkin	$\text{Log}(\theta/(1-\theta)C) = \text{Log}K + 2a\theta$	-27.04641	0.96107
Florry –Huggins	$\text{Log}(\theta/C) = f(1-\theta)$	27.54159	0.96225
Temkin	$\theta = \ln C$	0.01349	0.97852

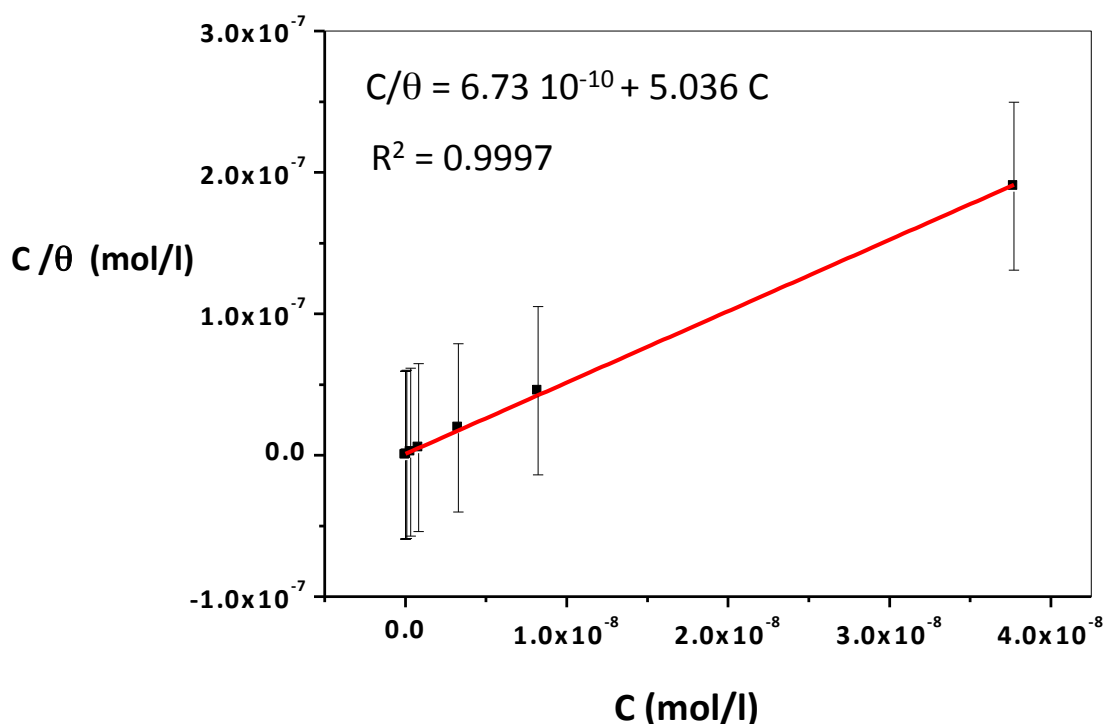


Figure II.2.30. Isotherme de Langmuir d'adsorption de la MEL sur l'électrode GCE/PN-AuNPs/MB

5. Conclusion

En conclusion, on peut dire que des électrodes modifiées ont été élaborées avec succès en utilisant des polymères et des nanoparticules d'Or. Un capteur électrochimique de Bisphénol A a été développé par immobilisation des chaînes d'un oligomère thioéther DDT-PNVP à la surface du substrat en Or. L'oligomère thioéther représente la couche sensible du capteur électrochimique. La synthèse de l'oligomère a été réalisée par polymérisation radicalaire en masse en présence du dodécane-thiol comme amorceur et agent de transfert, conduisant ainsi à la formation de chaînes oligomères contenant un atome de soufre. L'atome de soufre a une bonne affinité pour les métaux nobles, ce qui aide les chaînes d'oligomères à se fixer sur la surface de l'Or conduisant à la formation d'une couche stable. Les résultats obtenus montrent que le capteur à base d'oligomère thioéther a une bonne reproductibilité et une sensibilité élevée ($0.01 \text{ pg}^{-1}/\text{mL}^{-1}$) pour la détection du BPA, et présente d'excellentes performances pour la détermination du BPA avec une bonne relation de linéarité pour une concentration varie entre 1 pg/mL à 20 pg/mL , avec une limite de détection de 1.9 pg/mL ($S/N = 3$). Des composés interférents, comme les produits phénoliques (phénol, hydroquinone et résorcinol) ont été testés avec l'électrode d'Or modifiée. Les résultats obtenus montrent que l'électrode modifiée GE/DDT-PNVP s'est avérée plus sensible au BPA qu'avec les autres composés interférents. L'immobilisation des AuNPs sur l'électrode GE/DDT-PNVP conduit à la diminution de la limite de détection de 1.9 à 0.44 pg/mL . Un deuxième capteur électrochimique a été préparé par modification de surface d'une électrode de carbone vitreux par des particules d'un copolymère le Poly(DMAEMA-co-styrène), des AuNPs et des molécules de bleu de méthylène. Les résultats obtenus montrent que le capteur GCE/PN-AuNPs/MB présente une large gamme de détection entre $3.77 \cdot 10^{-8}$ et $5 \cdot 10^{-13} \text{ M}$ avec une faible limite de détection ($3.3 \cdot 10^{-12} \text{ mol/L}$). La sélectivité de l'électrode modifiée a été confirmée en testant l'électrode avec d'autres produits comme le phénol, l'hydroquinone et le BPA. Les résultats obtenus ont montré que l'électrode élaborée GCE/PN-AuNPs/MB est plus sélective vis-à-vis de la mélamine.

Références

- [1] M. Bougrini, A. Baraket, T. Jamshaid, et al, Development of a novel capacitance electrochemical biosensor based on silicon nitride for ochratoxin A detection, *Sensors and Actuators B: Chemical*. 234 (2016) 446–452. doi.org/10.1016/j.snb.2016.03.166.
- [2] H.J. Lee, A.C. Jamison, T.R. Lee, Boc-protected ω -amino alkanedithiols provide chemically and thermally stable amine-terminated monolayers on gold, *Langmuir*. 31 (2015) 2136–2146. doi:10.1021/la5044359.
- [3] M.W.J. Beulen, B.-H. Huisman, P.A. van der Heijden, et al, Evidence for Nondestructive Adsorption of Dialkyl Sulfides on Gold, *Langmuir*. 12 (1996) 6170–6172. doi:10.1021/la9606660.
- [4] H. Takiguchi, K. Sato, T. Ishida, et al, Delicate surface reaction of dialkyl sulfide self-assembled monolayers on Au(111), *Langmuir*. 16 (2000) 1703–1710. doi:10.1021/la981450w.
- [5] F. Aberkane, A. Barakat, A. Elaissari, et al, Electrochemical Sensor Based on Thioether Oligomer Poly(N-vinylpyrrolidone)-modified Gold Electrode for Bisphenol A Detection, *Electroanalysis*. 31(2019)2112–2119. doi:10.1002/elan.201900060.
- [6] A.J. Bard, L.R. Faulkner, *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications*, 2nd ed. John Wiley & Sons, Inc. (2001) pp. 163.
- [7] E. Ribeiro, C. Ladeira, S. Viegas, Occupational Exposure to Bisphenol A (BPA): A Reality That Still Needs to Be Unveiled, *Toxics*. 5 (2017) 22. doi:10.3390/toxics5030022.
- [8] S. Eladak, T. Grisin, D. Moison, et al, A new chapter in the bisphenol A story: Bisphenol S and bisphenol F are not safe alternatives to this compound, *Fertil. Steril.* 103 (2015) 11–21. doi:10.1016/j.fertnstert.2014.11.005.
- [9] T.H. Begley, Determination of Bisphenol-A in Reusable Polycarbonate Food-Contact Plastics and Migration to Food-Simulating Liquids, *Agric. Food Chem.* 45(1997) 3541–3544. doi:10.1021/jf970072i. J.
- [10] L.N. Vandenberg, R. Hauser, M. Marcus, et al, Human exposure to bisphenol A (BPA), *Reproductive Toxicology*. 24 (2007) 139–177. doi:10.1016/j.reprotox.2007.07.010.
- [11] P. Mercea, Physicochemical Processes Involved in Migration of Bisphenol A from Polycarbonate, *Journal of Applied Polymer Science*. 112 (2009) 579–593. doi.org/10.1002/app.29421
- [12] W. V Welshons, S.C. Nagel, F.S. Saal, Large Effects from Small Exposures . III . Endocrine Mechanisms Mediating Effects of Bisphenol A at Levels of Human Exposure, *Endocrinology* 147 (2014) 56–69. doi:10.1210/en.2005-1159.
- [13] J. Michałowicz, Bisphenol A – Sources , toxicity and biotransformation, *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 37 (2014) 738–758. doi:10.1016/j.etap.2014.02.003.
- [14] S. Santangeli, F. Maradonna, I. Olivotto, et al, Effects of BPA on female reproductive function: the involvement of epigenetic mechanism, *Gen. Comp. Endocrinol.* 245 (2017) 122–126. doi:10.1016/j.ygcn.2016.08.010.
- [15] Y.B. Wetherill, B.T. Akingbemi, J. Kanno, et al, In vitro molecular mechanisms of bisphenol A action, *Reproductive Toxicology*. 24(2007) 178–198. doi:10.1016/j.reprotox.2007.05.010.

- [16] U. Gundert-remy, J. Bodin, C. Bosetti, et al, Bisphenol A (BPA) hazard assessment protocol, *European Food Safety Authority EFSA supporting publication* 2017:EN-1354. 76 pp. (2017). doi:10.2903/sp.efsa.2017.EN-1354.
- [17] Commission Regulation (Eu) 2018/213. *Official Journal of the European Union*. 2018, 6–12.
- [18] K. Mikołajewska, J. Stragierowicz, J. Gromadzińska, Bisphenol A - Application, sources of exposure and potential risks in infants, children and pregnant women, *IJOMEH*. 28 (2015) 209–241. DOI: 10.13075/ijomeh.1896.00343
- [19] S. Nomiri, R. Hoshyar, C. Ambrosino, et al, A mini review of bisphenol A (BPA) effects on cancer-related cellular signaling pathways, *Environ Sci Pollut Res*. 26 (2019) 8459–8467. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-04228-9>
- [20] D.C. Apodaca, R.B. Pernites, R. Ponnappati, et al, Electropolymerized molecularly imprinted polymer film: EIS sensing of bisphenol A, *Macromolecules*. 44 (2011) 6669–6682. doi:10.1021/ma2010525.
- [21] A. Shrivastava, Methods for the determination of limit of detection and limit of quantitation of the analytical methods, *Chronicles of Young Scientists*. 2(2014) 21-25. doi:10.4103/2229-5186.79345.
- [22] J. Huang, X. Zhang, Q. Lin, et al, Electrochemical sensor based on imprinted sol e gel and nanomaterials for sensitive determination of bisphenol A, *Food Control*. 22 (2011) 786–791. doi:10.1016/j.foodcont.2010.11.017.
- [23] B. Lu, M. Liu, H. Shi, et al, A Novel Photoelectrochemical Sensor for Bisphenol A with High Sensitivity and Selectivity Based on Surface Molecularly Imprinted Polypyrrole Modified TiO₂ Nanotubes, *Electroanalysis*. 25 (2013) 771–779. doi:10.1002/elan.201200585.
- [24] Y. Zhang, Y. Cheng, Y. Zhou, et al, Electrochemical sensor for bisphenol A based on magnetic nanoparticles decorated reduced graphene oxide, *Talanta*. 107 (2013) 211–218.
- [25] Y.T. Yaman, S. Abaci, Sensitive adsorptive voltammetric method for determination of Bisphenol A by gold nanoparticle/polyvinylpyrrolidone-modified pencil graphite electrode, *Sensors (Switzerland)*. 16 (2016) 756. doi:10.3390/s16060756.
- [26] R. Shi, J. Liang, Z. Zhao, et al, An electrochemical bisphenol A sensor based on one step electrochemical reduction of cuprous oxide wrapped graphene oxide nanoparticles modified electrode, *Talanta*. 169 (2017) 37–43. doi:10.1016/j.talanta.2017.03.042.
- [27] J. Zou, G. Zhao, J. Teng, et al, Highly sensitive detection of bisphenol A in real water samples based on in- situ assembled graphene nanoplatelets and gold nanoparticles composite, *Microchem. J*. 145 (2019) 693–702. doi:10.1016/j.microc.2018.11.040.
- [28] Y. Ma, J. Liu, H. Li, Diamond-based electrochemical aptasensor realizing a femtomolar detection limit of bisphenol A, *Biosens. Bioelectron*. 92 (2017) 21–25. doi:10.1016/j.bios.2017.01.041.
- [29] A. Diouf, S. Motia, N. El Alami, et al, Development and characterization of an electrochemical biosensor for creatinine detection in human urine based on functional molecularly imprinted polymer, *J. Electroanal. Chem*. 788(2019) 44–53. doi:10.1016/j.jelechem.2017.01.068.
- [30] B.M. Mistry, N.S. Patel, S. Sahoo, et al, Experimental and quantum chemical studies on corrosion inhibition performance of quinoline derivatives for MS in 1N HCl, *Bull. Mater. Sci*. 35 (2012) 459–469.

- [31] E. Katz, I. Willner, Electroanalytical and Bioelectroanalytical Systems Based on Metal and Semiconductor Nanoparticles, *Electroanalysis*, 16(2004) 1-2. doi:10.1002/elan.200302930.
- [32] B. Li, Y. Wang, H. Wei, et al, Amplified electrochemical aptasensor taking AuNPs based sandwich sensing platform as a model, *Biosensors and Bioelectronics*. 23 (2008) 965–970. doi:10.1016/j.bios.2007.09.019.
- [33] E. Carlino, Role of Au (NPs) in the enhanced response of Au (NPs) -decorated MWCNT electrochemical biosensor, *International Journal of Nanomedicine*. 13 (2018) 2093–2106. DOI:10.2147/IJN.S155388
- [34] J. Zhang, M. Kambayashi, Seed Mediated Growth of Gold Nanoparticles on Indium Tin Oxide Electrodes : Electrochemical Characterization and Evaluation, *Electroanalysis*. 17(2005) 408–416. doi:10.1002/elan.200403174.
- [35] Munetaka OYAMA, Recent Nanoarchitectures in metal Nanoparticle-modified Electrodes for Electroanalysis, *Analytical Sciences*. 26 (2010) 1-12. <https://doi.org/10.2116/analsci.26.1>.
- [36] H. Lee, Y.O. Kang, S. Choi, Electrochemical-DNA Biosensor Development Based on a Modified Carbon Electrode with Gold Nanoparticles for Influenza A (H1N1) Detection : Effect of Spacer, *Int. J. Electrochem. Sci.*, 9 (2014) 6793–6808.
- [37] Chen. X, Ji. L., Zhou. Y, et al. Synergetic enhancement of gold nanoparticles and 2-mercaptobenzothiazole as highly-sensitive sensing strategy for tetrabromobisphenol A. *Sci Rep*. 6 (2016) 26044. doi:10.1038/srep26044
- [38] L. Zhao, L. Zhao, Y. Miao, et al, Gold Nanoparticle-Decorated Single-Walled Carbon Nanotubes as a Catalytic Amplification Platform for the Electrochemical Detection of Alkaline Phosphatase Activity, *Int. J. Electrochem. Sci.* 13 (2018) 1293–1307. doi:10.20964/2018.02.04.
- [39] Pham Van Hao, Chu Thi Xuan, Pham Duc Thanh, et al, Detection analysis limit of nonlinear characteristics of DNA sensors with the surface modified by polypyrrole nanowires and gold nanoparticles, *Journal of Science: Advanced Materials and Devices*. 3 (2018) 129-138. <https://doi.org/10.1016/j.jsamd.2018.04.002>
- [40] Y. Tyan, M. Yang, S. Jong, Melamine contamination, *Anal Bioanal Chem*. 395 (2009) 729–735. doi:10.1007/s00216-009-3009-0.
- [41] C.C. Attribution, I. License, P. Issn, et al, Styrene use and occupational exposure in the plastics industry, *J Work Environ Health*. 4 (1978) 7–13. doi:10.5271/sjweh.2732.
- [42] K.W.M.D. Braden, Residual monomer in acrylic polymers, *Biomaterials*. 12 (1990) 540–544. doi.org/10.1016/0142-9612(91)90047-E.
- [43] Ying Li, Jingyue Xu, Chunyan Sun, Chemical Sensors and Biosensors for the Detection of Melamine, *RSC Adv*. 5 (2015) 1125-1147. doi:10.1039/C4RA13080D.
- [44] H.M. MANAV, O. GURBUZ, D. CUMBUL, et al, INVESTIGATION OF OVERALL AND MELAMINE MIGRATION, *Acta Alimentaria*, 48 (2019) 187–195. DOI: 10.1556/066.2019.48.2.6.
- [45] Juan Peng, Yun Feng, Xiao-Xia Hana, et al, Sensitive electrochemical detection of melamine based on gold nanoparticles deposited on a graphene doped carbon paste electrode, *Anal.Methods*. 8(2016) 2526-2532. doi:10.1039/C6AY00287K.

-
- [46] Z. Ji, W. Chen, E. Wang, et al, Electropolymerized Molecular Imprinting & Graphene Modified Electrode for Detection of Melamine, *Int. J. Electrochem. Sci.* 12 (2017) 11942–11954. doi:10.20964/2017.12.34.
- [47] B. Wu, Z. Wang, D. Zhao, et al, A novel molecularly imprinted impedimetric sensor for melamine determination, *Talanta.* 101 (2012) 374–381. doi:10.1016/j.talanta.2012.09.044.
- [48] K. Rovina, S. Siddiquee, N. Kui, Sensing and Bio-Sensing Research Development of melamine sensor based on ionic liquid/nanoparticles/chitosan with modified gold electrode for determination of melamine in milk product, *Sens. BIO-SENSING Res.* 4 (2015) 16–22. doi:10.1016/j.sbsr.2015.02.003.
- [49] T. Zhao, L. Liu, G. Li, et al, Electrochemical Determination of Melamine with a Glassy Carbon Electrode Coated with a Multi-Wall Carbon Nanotube/Chitosan Composite, *J. Electrochem. Soc.* 159 (2012) K141-K145. doi:10.1149/2.065205jes.
- [50] Guo, Z., Zhao, Y., Li, Y. et al. A Electrochemical Sensor for Melamine Detection Based on Copper-Melamine Complex Using OMC Modified Glassy Carbon Electrode, *Food Anal. Methods.* 11(2018) 546–555. doi:10.1007/s12161-017-1025-9.
- [51] J. Xue, P.T. Lee, R.G. Compton, Electrochemical Detection of Melamine, *Electroanalysis.* 26(2014) 1454-1460. doi:10.1002/elan.201400166.
- [52] Mojtaba Bagherzadeh, Somayeh Ansari, Fariborz Riahi, et al, Dopamine Sensor Based on Pre-Concentration by Magnetic Nanoparticles, *International Journal of Electrochemistry.* (2013) 1-10. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/803672>.
- [53] G. Bolat, Y. Tugce, S. Abaci, Chemical Molecularly imprinted electrochemical impedance sensor for sensitive dibutyl phthalate (DBP) determination, *Sensors Actuators B. Chem.* 299 (2019) 127000. doi:10.1016/j.snb.2019.127000.

Conclusion Générale

et Perspectives

La recherche autour des AuNPs connaît une révolution très marquée dans la communauté scientifique. Ce qui est vraiment spécifique des AuNPs par rapport aux autres métaux, c'est qu'elles intéressent des axes très diversifiés comme la catalyse, l'optique, l'électronique, la biologie et la médecine. En effet, les AuNPs possèdent des propriétés physico-chimiques intéressantes qui peuvent être contrôlées finement en modifiant la taille, la forme ou la composition. De plus, leur surface peut être facilement fonctionnalisée afin de conférer aux nanoparticules un caractère hydrophile (milieux polaires), hydrophobe (milieux non polaires) ou amphiphile, ce qui permet leur dispersion dans une grande variété de matrices ou fluides. Cette surface permet aussi la chemisorption ou la physisorption d'un grand nombre de molécules et biomolécules.

Au cours de ce travail, nous avons étudié la synthèse et la caractérisation des nanoparticules d'Or, en milieu aqueux et en milieu organique, ainsi que leur stabilisation, fonctionnalisation et encapsulation par des polymères et des oligomères. Les nanoparticules d'Or sont obtenues par réduction chimique d'un sel métallique (HAuCl_4). En faisant varier certains paramètres de synthèse tels que la concentration en agent réducteur ou la concentration de l'agent stabilisant, nous avons pu ajuster la taille des nanoparticules; des nanoparticules de faible taille avec une distribution de taille étroite ont été obtenues avec les concentrations d'agent réducteur les plus faibles. Également, nous avons élaboré le copolymère poly(DMAEMA-co-styrène) par polymérisation en émulsion, et des oligomères thioéther, le DDT-P4VP et le DDT-NVP, par polymérisation radicalaire en présence du dodécane-thiol (DDT) à la fois comme amorceur et comme agent de transfert. Les produits synthétisés sont utilisés pour la stabilisation et la fonctionnalisation des AuNPs. L'utilisation des oligomères thioéther, nous a permis de préparer des nanoparticules d'Or de taille homogène entre 3 et 5 nm. La morphologie des AuNPs, observée par la microscopie (TEM), a révélé une morphologie sphérique avec une distribution uniforme. Également, les AuNPs encapsulées par le polycaprolactone ont été préparées par la méthode double émulsion à évaporation de solvant « w/o/w ». Les nanomatériaux ainsi préparés ont été caractérisés et étudiés par SEM, TEM, FTIR, RMN¹H et UV-visible.

Dans la deuxième partie, nous avons consacré notre étude à l'application des nanocomposites dans le domaine de la détection électrochimique par impédimétrie. Deux capteurs électrochimiques ont été développés par modification des électrodes. Le premier capteur électrochimique préparé est à base d'oligomère thioéther (DDT-PNVP); dont l'oligomère thioether représente la couche sensible au BPA. Les résultats obtenus montrent que le capteur développé présente une excellente performance pour la détermination du BPA avec une faible limite de détection, une bonne reproductibilité et une sensibilité appréciable. Plusieurs composés interférents, comme les produits phénoliques (phénol, hydroquinone et résorcinol) ont été utilisés et leurs comportements sur l'électrode d'Or modifiée ont été étudiés. Les résultats obtenus montrent que l'électrode élaborée GE/DDT-PNVP s'est avérée plus sensible au BPA. La présence des AuNPs à la surface de l'électrode GE/DDT-PNVP améliore la détection. Un deuxième capteur électrochimique a été préparé par modification de surface d'une électrode de carbone vitreux par des particules de copolymère le Poly[DMAEMA-co-styrène] associées à des AuNPs et des molécules de bleu de méthylène. Les résultats obtenus montrent que le capteur présente une large gamme de détection, une bonne sélectivité et une grande sensibilité. La sélectivité de l'électrode modifiée a été confirmée en testant l'électrode avec d'autres produits comme le phénol, l'hydroquinone et le BPA. Les résultats obtenus montrent que l'électrode élaborée GCE/PN-AuNPs/MB est plus sélective vis-à-vis de la mélamine.

Le domaine de la détection électrochimique est un domaine très impressionnant et très intéressant. Dans les travaux futurs, et sur la base des résultats obtenus dans ce travail, de nouveaux oligomères, polymères et copolymères doivent être synthétisés pour obtenir plus de fonctions sensibles pour la détection de polluants, en plus des nanoparticules d'oxyde de fer, du graphène et des nanoparticules de cuivre seront synthétisées et utilisées en détection électrochimique. Plus loin, les matériaux à empreintes moléculaires plus sensibles et très sélectifs seront synthétisés et utilisés pour détecter les traces de produits polluants, toxiques et cancérigènes.

ANNEXE : Publications

DOI: 10.1002/elan.201900060

Electrochemical Sensor Based on Thioether Oligomer Poly(N-vinylpyrrolidone)-modified Gold Electrode for Bisphenol A Detection

Fairouz Aberkane,^{*,[a, b, c]} Abdoullatif Barakat,^[c] Abdelhamid Elaissari,^[b] Nadia Zine,^[c] Tahar Bendaikha,^[a] and Abdelhamid Errachid^[c]

Abstract: Presently, bisphenol A (BPA) has been added to the list of substances of very high concern as endocrine disruptors. According to the literature, exposure to bisphenol A even at low doses may result in adverse health effects. In this study, electrochemical sensor of Bisphenol A based on thioether DDT-Poly(N-vinylpyrrolidone) oligomer has been developed. The thioether oligomer, which is capable of recognizing BPA, was prepared and used for gold electrode modification. The characterization of the modified gold electrode and the synthesized thioether oligomer were carried out by cyclic voltammetry (CV), electrochemical impedance spectroscopy (EIS),

atomic force microscopy (AFM), Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR), proton nuclear magnetic resonance spectroscopy (¹H NMR) and Size exclusion chromatography (SEC). Obtained results indicate that the modified electrode shows good electrochemical activity, good sensitivity and reproducibility for BPA detection. It exhibited a good linear relationship ranging from 1 to 20 pg/mL, and the detection limit was found to be 1.9 pg/mL at S/N=3. Several interfering species such as hydroquinone, phenol and resorcinol were used and their behaviors on the modified gold electrode were investigated.

Keywords: Bisphenol A · Electrochemical sensor · Modified gold electrode · Thioether oligomer · Poly(N-vinylpyrrolidone).


1 Introduction

Bisphenol A (BPA) is classified as a Xenoestrogen compound; a type of xenohormone that imitates estrogen, which has estrogenic effects on a living organism. It can interfere with natural estrogenic substances produced by the endocrine system and disrupts hormonal levels [1,2]. BPA has been extensively studied since the 1930s in the search for synthetic estrogens as medications for hormonal disorder, but it has never been used, because of the discovery at the same time of diethylstilbestrol, which has properties deemed more interesting [3]. However, its use was only started in the 1950s by the plastics industry [4,5]. It has been used as a monomer in the manufacture of plastics such as polycarbonates and epoxy resins, as well as plasticizer, antioxidant or flame-retardant for other plastics. Plastic is widely used in our daily lives such as food packaging, water bottles, baby bottles, toys, lining canned food and beverages, medical materials and water pipes [6–8]. Unfortunately, it has been demonstrated that free BPA can leach from plastics under normal conditions of use. The rate of leaching accelerates as the temperature increases and in contact with acidic or basic substances [9]. Consequently, there is extensive human exposure to BPA, the current analytical techniques have detected BPA in over 95% of human blood, serum, tissues, and urine [10]. According to the European Food Safety Authority (EFSA), the tolerable daily intake (TDI) for BPA is 4 µg/kg bw per day [11,12] and the new regulation introduces the specific migration limit (SML) of 0.05 mg

of BPA per kg of food. But, for the materials in contact with food for infants and young children, the new regulation prohibits the use of BPA as a precaution [13].

Food and drinks have been identified as the main source of BPA exposure in humans, due to its migration from the plastic containers to the food products. Research has shown that BPA is absorbed rapidly and efficiently into the gastrointestinal tract, converted to BPA-glucuronide and rapidly eliminated from the blood by urine. Nearly 100% of exposed BPA is recoverable in urine within 24 hours [14]. Unfortunately, unconjugated BPA, its strength is as high as estradiol, which can act at very low doses and results in changes in certain cell functions at concentrations ranging from 1 pM to 1 nM [10,15,16]. Studies have reported that BPA can be measured in follicular fluid, amniotic fluid, placental tissue and um-

- [a] F. Aberkane, T. Bendaikha
University of Batna 1, Laboratory LCCE, Faculty of matter sciences, Department of chemistry, 05000 Batna, Algeria
E-mail: fairouz.aberkane@univ-batna.dz
- [b] F. Aberkane, A. Elaissari
Univ Lyon, University Claude Bernard Lyon 1, CNRS, LA-GEP-UMR 5007, F-69622 Lyon, France
- [c] F. Aberkane, A. Barakat, N. Zine, A. Errachid
Univ Lyon, University Claude Bernard Lyon 1, CNRS, ISA-UMR 5280, F-69622 Lyon, France

 Supporting information for this article is available on the WWW under <https://doi.org/10.1002/elan.201900060>

bilical cord blood [8,17]; there is considerable evidence that bioaccumulation of BPA can occur during pregnancy [10]. Some other studies suggest that the effects of BPA may be more pronounced in the fetus, infants and young children; they are less effective in removing substances from their systems [1]. The potential effects of BPA on the brain, behavior and prostate glands of fetuses, infants and young children have been studied [1]. Moreover, increased risks of cancer, obesity, diabetes, heart problems, reduce immune function and impaired reproduction in adults have been also investigated [2,18–20]. Therefore, it is very important to establish a reliable method for determination and monitoring BPA trace amounts and to evaluate the potential risks associated with cumulative low-dose exposures to BPA.

Currently, many analytical methods have been used for the determination of BPA such as high performance liquid chromatography (HPLC) [21,22], liquid chromatography-mass spectrometry [23,24], gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) [25,26], fluorescence analysis [27,28], colorimetric [29] and electrochemical methods [16,30–34]. However, electrochemical technics are most important due to their high sensitivity, simplicity, low cost, miniaturization, cheap instrument, fast and real time response compared to the other methods. The development of electrochemical sensors via a modifying electrode is a common strategy for the electrochemical detection of BPA. Therefore, various types of electrodes have been modified, for this purpose, with the use of enzymes [35], antibodies [36], chitosan [37], graphene [38,39], carbon nanotube [30], gold nanoparticles [27], quantum dots [40] and polymer [41,42].

In this research, thioether oligomer DDT-Poly(N-vinylpyrrolidone) has been prepared by a simple bulk radical polymerization in presence of a thermal initiator benzoyl peroxide (BPO) and transfer agent dodecanethiol (DDT). Resulting oligomer has been used for gold electrode modification for BPA sensing for the first time. The characterization of synthesized thioether oligomer DDT-Poly(N-vinylpyrrolidone) and the corresponding modified gold electrode were carried out by ^1H NMR, FTIR, size exclusion chromatography (SEC), cyclic voltammetry (CV), electrochemical impedance spectroscopy (EIS) and atomic force microscopy (AFM).

2 Experimental

2.1 Materials

All chemicals required for experiments were of analytical purity and used as received; N-vinyl pyrrolidone (NVP, +99%) was purchased from Aldrich. Hydroquinone (+99%), Resorcinol (99%) and Phosphate buffer saline were purchased from sigma. Phenol (>99.5%) was obtained from Riedel-DeHaën. Bisphenil A ($\geq 99\%$), Potassium hexacyanoferrate(II) trihydrate (>98.5%), Potassium hexacyanoferrate(III) (>99%), hexane ($\geq 99\%$) and chloroform ($\geq 99\%$) were purchased from Sigma-

Aldrich. 1-dodecanethiol (DDT, >97%) and Benzoyl peroxide (BPO, $\geq 99\%$) was obtained from Fluka. All the measurements were carried out at room temperature in a 0.01 M PBS buffer solution containing ions $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ at a concentration of 5 mM (pH = 7.4).

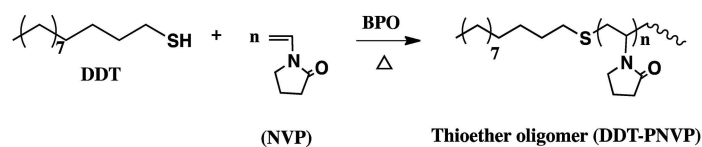
2.2 Methods

Electrochemical experiments were carried out with a VMP3 multichannel potentiostat (Biologic-EC-Lab, France) with a conventional three-electrode cell. A saturated calomel electrode (SCE) and a platinum electrode were used as reference electrode and auxiliary electrode, respectively. Gold working electrodes (WEs) (1 cm^2) based on 300 nm of gold coated onto silicon and silicon oxide substrate (Si/SiO_2) were used as transducer for the electrochemical sensor. WEs were fixed within the teflon electrochemical cell [43]. The surface of gold WEs exposed to the electrochemical measurements was 0.3 cm^2 .

Infrared spectra of monomer and synthesized thioether oligomer were recorded on FTIR spectrometer Nexus 470 (Thermoscientific France) in a total reflexing attenuated on crystal of diamond in monoreflexion (Smart-orbit, Thermo Scientific). The average weight and polydispersity of synthesized thioether oligomer was determined by using steric exclusion chromatography (SEC). The analyzes are carried out using an AGILENT 1200 Series isocratic pump equipped with an AGILENT 1200 Series, automatic switch and a set of columns. Detection is performed by an AGILENT 1260 Infinity Series Refractometer with debit of $1.0\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ in 30°C (columns). ^1H NMR spectrum was recorded in CDCl_3 on a Bruker AV400 MHz spectrometer at room temperature using the δ scale and tetramethylsilane (TMS) as an internal standard. Chemical shift was given in ppm relative to tetramethylsilane.

The hydrophilic character of the modified gold working electrodes (WEs) was investigated by contact angle measurements using 'Digidrop' from GBX (France). Here, $5\ \mu\text{L}$ of deionized water were dropped onto the modified electrode surface and the digital camera associated with the instrument captures the images. The contact angles were obtained from different areas of the WEs. The volume and the size of the water droplets were kept constant.

Atomic Force Microscopy (AFM) was performed in air under ambient conditions using a Nano observer (CSI Company, France). Measurements were made using silicon cantilever tip (ScienTec AppNano). The cantilever size L: $125\ \mu\text{m}$, W: $35\ \mu\text{m}$ and T: $4.5\ \mu\text{m}$. The tip radius: $< 10\ \text{nm}$, H: $14\text{--}16\ \mu\text{m}$ and with a frequency of $200\text{--}400\ \text{kHz}$ and spring constant of K: $25\text{--}75\ \text{N/m}$. The scanning images were performed at $669\ \text{mV}$ amplitude, $3.18\ \text{V}$ set point and Tip DC at $477\ \text{nV}$. Measurements were performed in taping mode with a speed of 0.25 lines per second and 511 resolutions.



Scheme 1. Radical polymerization reaction of NVP in the presence of DDT.

2.2.1 DDT-Poly(*N*-vinylpyrrolidone) Synthesis (DDT-PNVP)

The synthesis of thioether oligomer (DDT-PNVP) was carried out by the free-radical bulk polymerization as follow: 2 mL of *N*-vinyl pyrrolidone (NVP, 18,76 mmol) was heated at high temperature between 100 °C and 110 °C for 48 h in the presence of thermal initiator, benzoyl peroxide BPO (10 mg, 0.0413 mmol) and 0.96 mL of dodecanethiol (DDT, 4 mmol). The mixture was degassed for 30 min by using ultrasonic apparatus before heating in an oil bath. After cooling, viscous product, yellow to orange in color, was obtained. For removing unreacted monomer and oligomer with very low weight, the final product was dissolved in chloroform and re-precipitated in cold *n*-hexane several times. Oligomer thus obtained was dried, at ambient temperature then at 50 °C to a constant weight. The yield of thioether oligomer DDT-PNVP was 62.68 %.

2.2.2 Preparation of Modified Gold Electrode (GE/DDT-PNVP)

Gold substrate was washed twice with acetone in an ultrasonic bath for 15 min, followed by incubation in piranha solution ($\text{H}_2\text{SO}_4/\text{H}_2\text{O}_2:3\text{v}/1\text{v}$) for 5 min to remove the inorganic and organic impurities present on the surface. Then, the substrate was rinsed thoroughly with absolute ethanol and distilled water and finally dried with nitrogen. The cleaned gold substrate was incubated in the thioether oligomer solution (0.35 g/mL of DDT-PNVP) in chloroform for 48 hours at 4 °C. Prior to any electrochemical measurement, the gold substrate was rinsed with ethanol and distilled water several times to remove the unattached oligomer. The measurements were made in PBS buffer containing Ferro/Ferricyanide ions $\text{Fe}(\text{CN}_6)^{3-/4-}$ at a concentration of 5 mM (pH = 7.4).

3 Results and Discussion

3.1 Synthesis and Characterization of DDT-PNVP

DDT-PNVP was synthesized by the chain transfer radical polymerization method using NVP as a monomer and DDT as the chain-transfer agent (Scheme 1). The use of DDT is for the purpose of having a chain end containing sulfur. The polymerization reaction is initiated by a thermal initiator, benzoyl peroxide BPO at 100–110 °C for 48 h, in fact DDT also contributes to the initiation of the polymerization; sulfur has a great affinity to radicals and

can easily lose its thiol-hydrogen in radical form [44]. The molecular weight of the DDT-PNVP oligomer was determined using size exclusion chromatography (SEC). The average molecular weight (M_w) was found to be 1790 g/mol relative to polystyrene standards, with a polydispersity index (PDI) of 1.37. The calibration is carried out with polystyrene standards of increasing molecular weight (3600, 7200, 10050, 12900, 21720 g/mol). The molecular weight of *N*-vinylpyrrolidone is 111.14 g/mol corresponding to chain length approximately $PD=16$ (polymerization degree). However, the low molecular weight of the polymer (<2000 g/mol) and the relatively narrow molecular weight distribution, are due to the radical polymerization technique used. ^1H NMR and FTIR spectroscopy were selected to validate the structure of the ligand DDT-PNVP oligomer (Figure. SI.1 and SI.2 in the supporting data).

FTIR spectrum of DDT-PNVP, provided in Figure SI.1 (in the supporting data), illustrate the absorption peaks at 2953.36 and 2892.91 cm^{-1} . These were associated with the asymmetric and symmetric stretching vibrations of aliphatic methylene ($-\text{CH}_2-$) and methyl ($-\text{CH}_3$) coming from oligomer and from DDT linked at its extremity. The band at 1662.98 cm^{-1} originates from the vibration of the carbonyl bond ($\text{C}=\text{O}$). The large band around 3440 cm^{-1} can be attributed to the O–H stretching vibrations; this is because the carbonyl groups can form hydrogen bonds with traces of water (moisture). The strong band at 1288.94 cm^{-1} was the stretching vibration of C–N bond. In the monomer (NVP) spectrum, the strong bands at 1629.24 cm^{-1} and 1705.05 cm^{-1} correspond to the absorptions of the double bond ($\text{C}=\text{C}$) and carbonyl bond respectively. The absorption peaks at 3109.03, 981.82 and 930.72 cm^{-1} were attributed to the bond ($=\text{C}-\text{H}$) of the double bond. The stretching vibration of C–N bond in the monomer appeared at 1285.8 cm^{-1} . On the spectrum of polymer, the band characteristics of vinyl group were disappeared, which clearly shows the disappearance of the monomer after the polymerization reaction and the purification step (Figure SI.1 in the supporting data).

The proton nuclear magnetic resonance (^1H NMR) spectra of the synthesized DDT-PNVP is presented in Figure SI.2 (in the supporting data). For protons of pyrrolidone group in NVP, the main chain methine (H_6) and methylene protons (H_5) are assigned around 3.6–4.01 ppm and 1.5–1.88 ppm, respectively. The side chain methylene protons are assigned in the range 3.0–3.42 ppm (H_7), 2.13–2.5 ppm (H_9), and 1.8–2.1 ppm (H_8) [45,46]. Signals located at 0.88, 1.25, 1.43 and 2.37 ppm are

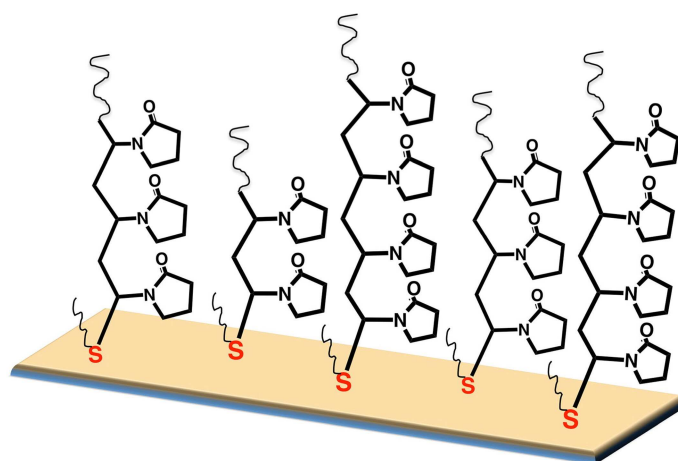


Fig. 1. Proposed morphology of gold electrode modified by thioether oligomer (GE/DDT-PNVP).

assigned to the aliphatic protons of the DDT fragment, linked to the chain end of the oligomer, H_1 , H_2 , H_3 and H_4 respectively [47].

3.2 Characterization of Modified Gold Electrode GE/DDT-PNVP

The GE/DDT-PNVP was prepared by a simple incubation of clean gold substrate in DDT-PNVP solution in chloroform. The presence of the DDT fragments at the end of the oligomer chain, which contain sulfur, helps the oligomer attach to the surface of gold, because sulfur atom is known by its affinity with gold. Thiol can form, according to the literature, monolayers on gold surfaces, with $\geq 85\%$ of their sulfur atoms forming bonds (Au–S) to the gold substrate [48]. Contrary to this, thioether retains its structure; there is many evidences confirming that thioether (dialkyl sulfides) molecules can be adsorbed on gold surface with double-chain conformation without C–S cleavage and most thioether molecules are held on the surface by “physisorption” [49,50]. Figure 1 shows a schematic illustration of the proposed morphology of GE/DDT-PNVP.

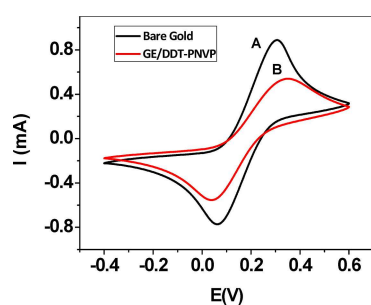


Fig. 2. Cyclic voltammograms of gold WEs (A) before and (B) after modification by DDT-PNVP. The measurements were made in PBS in the presence of $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$, scan rate 100 mV/s.

The electrochemical properties of the modified gold WEs were determined by CV and by EIS. Figure 2 shows CV analysis of the gold WEs before and after chemical surface modification with DDT-PNVP. CV was recorded by varying the potential from -400 mV to $+600$ mV with a scan rate of 100 mV/s. For bare gold, a couple of redox peaks of $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ (supporting electrolyte) were observed with peak-to-peak separation (ΔI_p) of 1.66 mA and (ΔE_p) of 24.54 mV. When the substrate was covered with DDT-PNVP, a decrease of charge transfer was observed; a couple of redox peaks of $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ were obtained with peak-to-peak separation (ΔI_p) of 1.09 mA and (ΔE_p) of 31.26 mV. The decrease in current indicates that DDT-PNVP could effectively decrease the electron transfer rate between the gold electrode surface and $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ solution which could be attributed to the bad conductivity of DDT-PNVP.

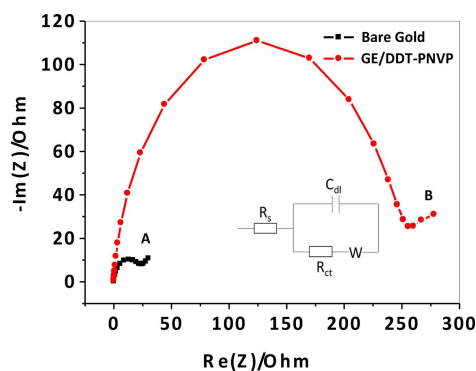


Fig. 3. Nyquist plots of bare gold WEs (A) and DDT-PNVP modified gold WEs (B). The EIS were recorded in the presence of $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ at a frequency range between 1 Hz and 200 kHz, at a potential of 0.2 V. The impedance behavior of the electrolyte can be fitted to a Randles model; that includes the solution resistance (R_s), charge transfer resistance (R_{ct}), constant phase element (C_{dl}) and Warburg impedance element (W).

Nyquist plots presented in Figure 3 clearly demonstrate the impedance difference between unmodified and DDT-PNVP modified gold WEs. The first Nyquist plot semi-circle corresponds to bare gold with low transfer charge resistance (R_{ct}) at the interface electrode/electrolyte. After the modification with DDT-PNVP, the diameter of the Nyquist plot semi-circle was much larger with high impedance. This increased impedance (increase of R_{ct}) was induced by the formation of thioether oligomer layer, on the gold WEs, and implying good blocking behavior and complete control of charge transfer for the transfer process. The Faradaic impedance measurements are in good agreement with CV measurements. The recovery rate was calculated by using the equation (1) and found to be $\theta = 67.66\%$. The interaction type of the thioether with gold surface can explain the low value of the recovery rate; thioether adsorb on the surface of gold with a double-chain conformation and this structure is more congested and leads to a low density [50].

$$\theta = 1 - \frac{R_{ct_0}}{R_{ct}} \quad (1)$$

Where, R_{ct_0} is the charge transfer resistance at bare gold and R_{ct} is the charge transfer resistance at the GE/DDT-PNVP under the same condition.

The chemical surface modification was also confirmed by the wettability study using water contact angle measurements. A camera recorded the image of the water droplet deposited on the gold electrode surface and the contact angle was calculated from the droplet shape by an image-analysis system. The contact angle value for the bare gold was found to be 67.19° ; while after treatment with the piranha solution a decrease in the contact angle value was observed (33.49°). After the modification with DDT-PNVP, the contact angle of the modified gold substrate revealed a slightly increase from 33.49° to 45.88° (Figure SI.3 in the supporting data), which confirms that the surface has been modified and the sensing film was deposited on the gold WEs surface.

Electrochemical active surface area of GE/DDT-PNVP was determined by Chronoamperometry. In this method, the potential of the working electrode is stepped and the resulting current from faradaic processes occurring at the electrode is monitored as a function of time. In chronoamperometric studies, the current for the electrochemical reaction of ferrocyanide, that diffuse to a electrode surface, is described by the Cottrell equation (Eq.2) [51], which defines the current-time dependence for linear diffusion control.

$$I_{(t)} = nFAC\sqrt{\frac{D}{\pi t}} \quad (2)$$

$$\text{Slope} = nFAC\sqrt{\frac{D}{\pi}} \quad (3)$$

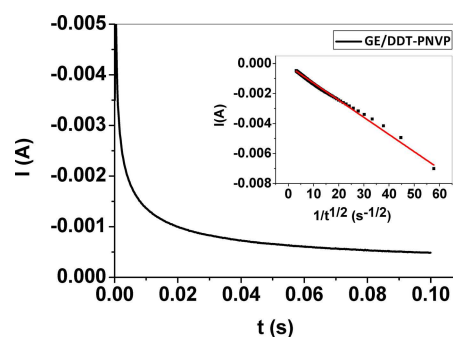


Fig. 4. Plot of I - t curve of GE/DDT-PNVP in PBS containing 5 mM $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ at a potential of 0.2 V; and the plot of I - $t^{-1/2}$ curve derived from the data of chronoamperometry for the same sample as inset ($I_{(t)} = 10^{-4} (-1.517 - 1.1454 t^{-1/2})$, $R^2 = 0.99$).

Where, n is the number of electrons involved, A is the electrochemical active area, F is the Faraday constant ($96500 \text{ C}\cdot\text{mol}^{-1}$), D is the diffusion coefficient ($7.6 \cdot 10^{-6} \text{ cm}^2\cdot\text{s}^{-1}$) and C is the concentration of $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ (5 mM). Figure 4 depicts typical chronoamperometric response, I vs t plot at a potential of 0.2 V and the resulting I vs $t^{-1/2}$ representation. The chronoamperogram I vs $t^{-1/2}$ plot was found to be straight line ($R^2 = 0.99$). From the slope (Eq.3) the electrochemical active area of the GE/DDT-PNVP electrode obtained was 0.15 cm^2 .

AFM was also used to characterize the topography modification of gold WEs before (A) and after chemical surface modification (B). Figure 5 shows gold surface topography and the surface morphology as well as the film thickness of DDT-PNVP deposited on gold WE (B). At the micrometric scale, the oligomer layer is in the form of relatively dense and homogeneous globules. The roughness parameter was calculated in order to permit the comparison of the layer density after modification. The bare gold has a roughness factor of 0.43 nm, after modification the oligomer layer has a roughness factor of

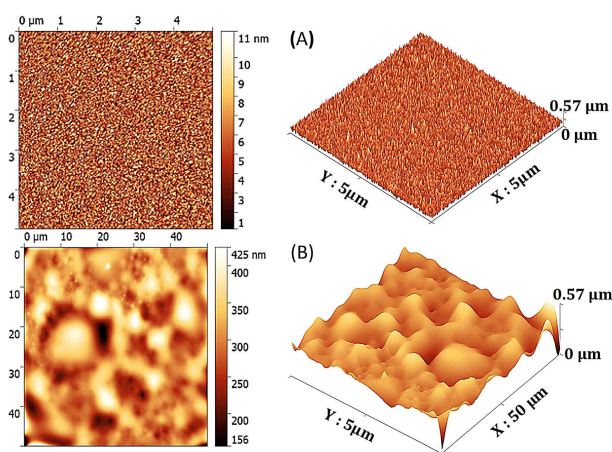


Fig. 5. AFM images of gold WEs: (A) bare gold and (B) GE/DDT-PNVP.

3.7 nm. This increase of roughness factor confirms the surface modification of the gold substrate.

3.3 Electrochemical Behavior of Bisphenol A on DDT-PNVP Modified-gold Electrode

The prepared GE/DDT-PNVP was immersed during 30 min into solution containing BPA with different concentrations ranging from 1 pg/mL to 20 pg/mL. After each incubation, the electrochemical sensor was washed with absolute ethanol and water. EIS measurements were carried out, after each incubation, in a 0.01 M PBS buffer solution containing $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ at a concentration of 5 mM (pH=7.4) within the frequency range from 1 Hz to 200 KHz and at a potential of 0.2 V. Figure 6, shows a distinct EIS response (Nyquist diagram (A) and the corresponding Bode plots (B)) of the GE/DDT-PNVP for different concentrations of BPA. The first Nyquist plot semi-circle corresponds to blank GE/DDT-PNVP. After incubation of the electrochemical sensor in BPA for 30 min, the second Nyquist plot semi-circle has shifted and decreased from the first highlighting thus the adsorption of BPA onto the sensitive membrane. The radius of the semicircles, in the Nyquist plots, decrease linearly with increasing BPA concentration. The efficient trapping of BPA molecules within thioether oligomer caused the increase in electrochemical current. In the work of Dahlia C. Apodaca et al, they also found, that the total impedance, obtained during the rebinding of the different concentrations of BPA on the imprinted film, decreases with an increase in BPA concentration [52]. The equivalent electrical circuit shown in Figure 5 modeled resulting impedance spectra, obtained in the

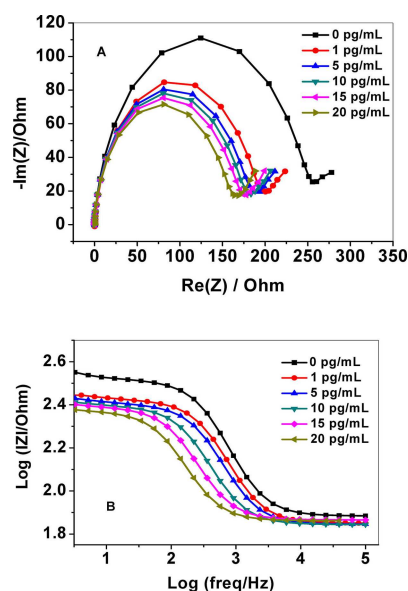


Fig. 6. EIS analysis in PBS containing 5 mM $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$, obtained from the increasing concentration of BPA from 1 to 20 pg/mL at a potential of 0.2 V: (A) Nyquist plots and (B) Bode plots of GE/DDT-PNVP electrode. Measurements was.

presence of different concentrations of BPA. The binding mechanism between BPA and the oligomer may be explained by the formation of hydrogen bonds; hydroxyl groups in the BPA molecules (on both ends) and nitrogen or oxygen presented along the oligomer chains favored the formation of these interactions (hydrogen bonds). This would imply, that the binding opens up channels in the adlayer such that $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ can reach the surface and undergo electronic transfer. This phenomenon increase with increasing BPA concentrations. Chemical adsorption energy of BPA molecules binding to the oligomer layer can be calculated by using Langmuir equation [53,54], and it was found to be $\Delta G^\circ = -65.19$ KJ/mol with a high adsorption constant $0.2712 \cdot 10^9$ L/g (SII in the supporting data).

To evaluate the detection limit (LOD), sensitivity and the linear response range, a calibration curve was formed (Figure 7). In this calibration curve, the analytical signal ($\Delta R/R = (R_{ct} - R_{ct_0})/R_{ct_0}$) is plotted versus the concentration of BPA. The linear relationship ($R^2 = 0.9885$) between the $\Delta R/R$ and the concentration of BPA is according to the equation: $\Delta R/R = -0.01017[\text{BPA}] - 0.29469$. All the measurements were performed with $n = 3$ replicates. The detection limit was calculated from $\text{LOD} = 3\text{SD}/b$, where (SD) is the standard deviation of intercept of the linear calibration curve for three independent curves and (b) is the slope of the calibration curve [55]. The LOD was found to be 1.9 pg/mL at $S/N = 3$ (equivalent to 8.32 pM), and the sensitivity ($0.01 \text{ pg}^{-1}/\text{mL}^{-1}$) is the slope of the calibration curve. In addition, it was obtained a calibration curve with a linear range from 1 to 20 pg/mL (equivalent to 4.38–87.71 pM). The characteristics of relevant and previous modified electrodes for BPA detection in terms of the concentration range and detection limit are given in Table 1. Furthermore, The reproducibility of the modified electrode GE/DDT-PNVP was evaluated by the measurement of the response to 10 pg/mL of BPA in 0.01M PBS containing 5 mM Ferro/Ferricyanide ions by impedance spectroscopy. We prepared three different BPA sensors with the same modification. The relative standard deviation was calculated and found to be 6.72 %, indicating that the proposed sensor has good reproducibility.

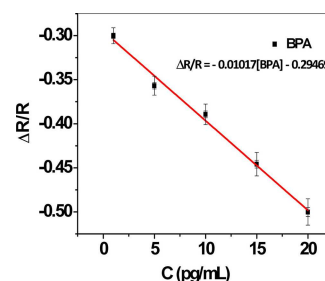


Fig. 7. Calibration plot of the BPA modified gold electrode sensor.

Table 1. A comparison of the analytical characteristics of the modified electrode developed in this work with relevant modified electrodes for BPA detection based in the literature.

Electrode	Method	Linear range	LOD	Ref
MIP MWCNTs-GNPs/GE	Amperometric	$1.13 \cdot 10^{-7}$ – $8.21 \cdot 10^{-3}$ M	3.6 nM	[30]
MIP PPy-TiO ₂ NTs	PEC	4.5–108 nM	2 nM	[31]
GO-MNPs/CGE	CV	$6.10 \cdot 10^{-8}$ – $1.1 \cdot 10^{-5}$ M	$1.7 \cdot 10^{-8}$ M	[38]
AuNPs/PVP/PGE	SWAdSV	0.03–1.1 μ M	0.02 μ M	[42]
GO-Cu ₂ O/GCE	CV	0.1–80 μ M	$5.3 \cdot 10^{-8}$ M	[56]
GNPs-AuNPs/GCE	DPV	$5.10 \cdot 10^{-3}$ –100 μ M	0.027 nM	[57]
MCH/Aptamers/Au-NPs/BDD	Impedimetric	$1.0 \cdot 10^{-14}$ – $1.0 \cdot 10^{-9}$ M	$7.2 \cdot 10^{-15}$ M	[58]
DDT-PNVP/GE	Impedimetric	4.38 pM–87.6 pM	8.32 pM	This work

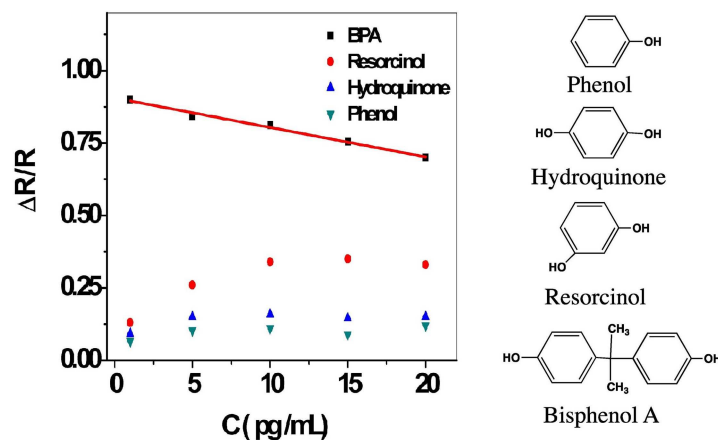


Fig. 8. Calibration plots of GE/DDT-PNVP in BPA, Hydroquinone, Phenol and Resorcinol sensing.

In this work, selectivity of the developed chemical sensor has also been studied for BPA over other interfering species, which have the same functional group as BPA (hydroxyl function). Here, Phenol, hydroquinone and resorcinol, which are used usually in plastic manufacture as a monomer, stabilizer or inhibitor, were used to check selectivity of the present sensor. As shown in Figure 8, the calibration curves, obtained after incubation of GE/DDT-PNVP in different concentrations of interfering products between 1 and 20 pg/mL, are not linear. This indicates that the GE/DDT-PNVP has no sensitivity for both phenol, hydroquinone and resorcinol products.

4 Conclusion

In the present work, an electrochemical sensor of bisphenol A has been developed by a very simple method. A thioether DDT-poly(N-vinylpyrrolidone) oligomer has been synthesized and used to modify the surface of a gold electrode. The thioether oligomer represents the sensitive layer in the chemical sensor. Synthesis of oligomer has been carried out by radical polymerization in the presence of dodecanethiol as a transfer agent, leading to formation of polymer chains with an end chain containing sulfur. Sulfur atom has a remarkable affinity for noble metals, which helps the oligomer chains to be attached on gold surface and leading to stable layer formation. Achieved

results demonstrate that the oligomer-based sensor has good reproducibility and appreciable sensitivity (0.01 pg mL^{-1}) for BPA and exhibits excellent performance for BPA determination with a good linearity relationship for concentration ranging from 1 pg/mL to 20 pg/mL (equivalent to 4.38 pM–87.71 pM), with detection limit of 1.9 pg/mL (8.32 pM) at $S/N=3$. Several interfering compounds, such as phenolic (phenol, hydroquinone and resorcinol) were used and their behaviors on the modified gold electrode were investigated. The obtained results demonstrate that the elaborated GE/DDT-PNVP electrode was found to be more sensitive to BPA than Phenol, resorcinol and hydroquinone.

Acknowledgement

We acknowledge the funding through the European Union's Horizon2020 research and innovation program entitled KardiasTool under grant agreement No 768686.

References

- [1] J. Stragierowicz, *IJOMEH*. **2015**, 28(2), 209–241.
- [2] J. Michałowicz, *Environ. Toxicol. Pharmacol.* **2014**, 37, 738–758.
- [3] E. Ribeiro, C. Ladeira, S. Viegas, *Toxicol* **2017**, 5, 22.

- [4] S. Eladak, T. Grisin, D. Moison, M. J. Guerin, T. N'Tumba-Byn, S. Pozzi-Gaudin, A. Benachi, G. Livera, V. Rouiller-Fabre, R. Habert, *Fertil. Steril.* **2015**, *103*, 11–21.
- [5] F. S. vom Saal, *Reprod. Toxicol.* **2007**, *24*, 131–138.
- [6] J. E. Biles, T. P. McNeal, T. H. Begley, H. C. Hollifield, *J. Agric. Food Chem.* **1997**, *45*, 3541–3544.
- [7] N. N. Maserejian, R. Hauser, M. Tavares, F. L. Trachtenberg, P. Shrader, S. McKinlay, *J. Dent. Res.* **2012**, *91* (11), 1019–1025.
- [8] L. N. Vandenberg, R. Hauser, M. Marcus, N. Olea, W. V. Welshons, *Reprod. Toxicol.* **2007**, *24*, 139–177.
- [9] P. Mercea, *J. Appl. Polym. Sci.* **2009**, *112*, 579–593.
- [10] W. V. Welshons, S. C. Nagel, F. S. Saal, *Endocrinology.* **2006**, *147*(6), s56–s69.
- [11] U. Gundert-remy, J. Bodin, C. Bosetti, R. Fitzgerald, A. Hanberg, C. Hooijmans, A. A. Rooney, C. Rousselle, H. Van Loveren, F. Barizzone, C. Croera, C. Putzu, A. F. Castoldi, *EFSA Support. Publ.* **2017**, *14* (12), 1354E.
- [12] P. Aids, *EFSA Journal.* **2015**, *13*(1), 3978.
- [13] Commission Regulation (Eu) 2018/213. *Official Journal of the European Union.* **2018**, 6–12.
- [14] T. Tsukiokai, J. Terasawai, S. Sato, Y. Hatayamai, T. Makino, H. Nakazawa, *J. Environ. Chem. Eng.* **2004**, *14*(1), 57–63.
- [15] Y. B. Wetherill, B. T. Akingbemi, J. Kanno, J. A. Mclachlan, A. Nadal, C. Sonnenschein, C. S. Watson, R. T. Zoeller, S. M. Belcher, *Reprod. Toxicol.* **2007**, *24*, 178–198.
- [16] U. Karabiberog, *Electroanalysis.* **2019**, *31*(1), 91–102.
- [17] Y. Ikezaki, O. Tsutsumi, Y. Takai, Y. Kamei, Y. Taketani, *Hum. Reprod.* **2002**, *17*(11), 2839–2841
- [18] S. Nomiri, R. Hoshyar, C. Ambrosino, C. R. Tyler, B. Mansouri, C. R. Tyler, *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* **2019**, *26*, 8459–8467.
- [19] Y. Zhou, Z. Wang, M. Xia, S. Zhuang, X. Gong, J. Pan, C. Li, R. Fan, Q. Pang, S. Lu, *Environ. Pollut.* **2017**, *229*, 40–48.
- [20] S. Santangeli, F. Maradonna, I. Olivotto, C. Carla, G. Gioacchini, O. Carnevali, *Gen. Comp. Endocrinol.* **2016**, *245*, 122–126.
- [21] Y. Sun, M. Irie, N. Kishikawa, M. Wada, N. Kuroda, K. Nakashima, *Biomed. Chromatogr.* **2004**, *18*, 501–507.
- [22] M. Rezaee, E. Enginee, S. Shariati, R. Branch, M. Sciences, *J. Chromatogr. A* **2009**, *1216*(9), 27, 1511–1514.
- [23] N. C. Maragou, E. N. Lampi, N. S. Thomaidis, M. A. Koupparis, *J. Chromatogr. A* **2006**, *1129*, 165–173.
- [24] C. Liao, K. Kannan, *Environ. Sci. Technol.* **2012**, *46*(9), 5003–5009.
- [25] M. del Olmo, A. González-Casado, N. A. Navas, J. L. Vilchez, *Anal. Chim. Acta* **1997**, *346*(1), 87–92.
- [26] G. Gatidou, N. S. Thomaidis, A. S. Stasinakis, T. D. Lekkas, *J. Chromatogr. A* **2007**, *1138*, 32–41.
- [27] X. Wu, Z. Zhang, J. Li, H. You, Y. Li, L. Chen, *Sens. Actuators B* **2015**, *211*, 507–514.
- [28] J. Zhang, S. Zhao, K. Zhang, J. Zhou, *Chemosphere.* **2014**, *95*, 105–110.
- [29] J. Xu, Y. Li, J. Bie, W. Jiang, J. Guo, *Microchim. Acta* **2015**, *182*, 2131–2138.
- [30] J. Huang, X. Zhang, Q. Lin, X. He, X. Xing, H. Huai, W. Lian, H. Zhu, *Food Control.* **2011**, *22*, 786–791.
- [31] B. Lu, M. Liu, H. Shi, X. Huang, G. Zhao, *Electroanalysis.* **2013**, *25*, 771–779.
- [32] J. Han, F. Li, L. Jiang, K. Li, Y. Dong, Y. Li, *Anal. Methods.* **2015**, *7*, 8220–8226.
- [33] H. Ali, S. Mukhopadhyay, N. R. Jana, *New J. Chem.* **2019**, *43*, 1536–1543
- [34] A. Thamilselvan, V. Rajagopal, V. Suryanarayanan, *J. Alloys Compd.* **2019**, *786*, 698–706.
- [35] D. G. Mita, A. Attanasio, F. Arduini, N. Diano, V. Grano, U. Bencivenga, S. Rossi, A. Amine, D. Moscone, *Biosens. Bioelectron.* **2007**, *23*, 60–65.
- [36] K. Nishi, M. Takai, K. Morimune, H. Ohkawa, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **2003**, *67*, 1358–1367.
- [37] C. Yu, L. Gou, X. Zhou, N. Bao, H. Gu, *Electrochim. Acta* **2011**, *56*, 9056–9063.
- [38] Y. Zhang, Y. Cheng, Y. Zhou, B. Li, W. Gu, X. Shi, Y. Xian, *Talanta.* **2013**, *107*, 211–218.
- [39] S. Güneş, O. Güneş, *Electroanalysis.* **2017**, *29*, 2579–2590.
- [40] H. Yin, Y. Zhou, S. Ai, Q. Chen, X. Zhu, X. Liu, L. Zhu, *J. Hazard. Mater.* **2010**, *174*, 236–243.
- [41] J. Wang, Y. Su, B. Wu, S. Cheng, *Talanta.* **2016**, *147*, 103–110.
- [42] Y. T. Yaman, S. Abaci, *Sensors* **2016**, *16*, 756.
- [43] M. Bougrini, A. Baraket, T. Jamshaid, A. El Aissari, J. Bausells, M. Zabala, N. El Bari, B. Bouchikhi, N. J. Renault, A. Errachid, N. Zine, *Sens. Actuators B* **2016**, *234*, 446–452.
- [44] X. Huang, B. Li, H. Zhang, I. Hussain, L. Liang, B. Tan, *Nanoscale.* **2016**, *3*, 1600–1607.
- [45] J. Murakami, I. Kaneko, N. Kimata, M. Mineshima, T. Akiba, *Ren. Replace. Ther.* **2016**, *2*, 36.
- [46] W. Herrera, J. Cauich, *J. Therm. Anal. Calorim.* **2011**, *104*, 737–742.
- [47] J. Jayabharathi, G. A. Sundari, V. Thanikachalam, P. Jeeva, S. Panimozhi, *RSC Adv.* **2017**, *7*, 38923–38934.
- [48] H. J. Lee, A. C. Jamison, T. R. Lee, *Langmuir* **2015**, *31*, 2136–2146.
- [49] M. W. J. Beulen, B.-H. Huisman, P. A. van der Heijden, F. C. J. M. van Veggel, M. G. Simons, E. M. E. F. Biemond, P. J. de Lange, D. N. Reinhoudt, *Langmuir* **1996**, *12*, 6170–6172.
- [50] H. Takiguchi, K. Sato, T. Ishida, K. Abe, K. Yase, K. Tamada, *Langmuir* **2000**, *16*, 1703–1710.
- [51] A. J. Bard, L. R. Faulkner, *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications, 2nd ed*, John Wiley & Sons, Inc. **2001**, pp. 161–164.
- [52] D. C. Apodaca, R. B. Pernites, R. Ponnappati, F. R. Del Mundo, R. C. Advincula, *Macromolecules.* **2011**, *44*, 6669–6682.
- [53] B. M. Mistry, N. S. Patel, S. Sahoo, S. Jauhari, *Bull. Mater. Sci.* **2012**, *35*, 459–469.
- [54] Z. V. P. Murthy, K. Vijayaragavan, *Green Chem. Lett. Rev.* **2014**, *7*(3), 209–219.
- [55] A. Shrivastava, V. B. Gupta, *Chron. Young Sci.* **2011**, *2*(1), 21–25.
- [56] R. Shi, J. Liang, Z. Zhao, A. Liu, Y. Tian, *Talanta.* **2017**, *169*, 37–43.
- [57] J. Zou, G. Zhao, J. Teng, Q. Liu, X. Jiang, F. Jiao, J. Yu, *Microchem. J.* **2019**, *145*, 693–702.
- [58] Y. Ma, J. Liu, H. Li, *Biosens. Bioelectron.* **2017**, *92*, 21–25.

Received: January 25, 2019

Accepted: June 3, 2019

Published online on July 1, 2019

Gold Nanoparticles: Synthesis and Polymeric Encapsulation Using Double Emulsion Solvent Evaporation Process

Fairouz Aberkane^{1,*}, Tahar Bendaikha¹, Waisudin Badri², Muhammad Iqbal², Kafia Oulmi¹, Karim Miladi², Nadia Zine³, Dounia Kabbaj⁴, and Abdelhamid Errachid³

¹Laboratory of Chemistry and Environmental Chemistry (LCCE), Faculty of Science, Material Science Department, University of Batna 05000, Algeria

²University of Lyon, F-69622 Lyon, France, University Lyon 1, Villeurbanne, CNRS, UMR 5007, LAGEP-CPE, 43 Bd. 11 Novembre 1918, Villeurbanne F-69622, France

³Institut des Sciences Analytiques (ISA), Université Lyon, Université Claude Bernard Lyon-1, UMR-5180, 5 rue de la Doua, F-69100 Villeurbanne, France

⁴Universiapolis, International University of Agadir, Technopole Agadir, Bab El Madina, 80000, Agadir, Morocco

The objective of this study was to synthesize and characterize gold nanoparticles in aqueous medium. For this purpose, tetrachloroauric acid was reduced by sodium tetrahydroborate and sodium hydroxide with and without poly(vinyl alcohol) (PVA). The prepared gold nanoparticles were encapsulated by biodegradable polymer (polycaprolactone) via modified double emulsion evaporation technique. Transmission electron microscopy morphology study of gold nanoparticles was performed before and after encapsulation. The encapsulated particles were also observed through scanning electron microscopy. In addition, hydrodynamic size of the prepared dispersions was investigated. An increase in gold nanoparticle size was observed with the increase in reducing agent concentration. The presence of PVA led to size reduction of gold nanoparticles.

Keywords: Gold Nanoparticles, Chemical Reduction, PVA, Polymer, Encapsulation, Polycaprolactone.

1. INTRODUCTION

Owing to the special optical, electronic, and molecular-recognition properties of gold nanoparticles (AuNPs), they are the subject of extensive research, with applications in a wide variety of areas, such as nanoelectronics, nanotechnology, biosensors, biological labeling, radiotherapy, optoelectronic, and catalysts materials.^{1–7} Gold nanoparticles (AuNPs) are also used in diagnostic, detection and drug delivery applications.^{8,9}

Different approaches such as chemical, electrochemical, irradiation method, sonochemical, photochemical, and seed-mediated methods have been used for the preparation of gold nanoparticles.^{4,10–17} Diverse synthesis methods of gold nanoparticles based on the reduction of chloroauric acid in the presence of a stabilizer have been reported. These methods lead to formation of several types of gold nanoparticles such as: nanorods, nanoshells, nanocages, nanospheres and surface enhanced Raman scattering (SERS) nanoparticles, with different particle size

(2–100 nm).^{2,18–21} The size and shape of nanostructures are the key parameters controlling diversified properties like electronic, optical, thermal and magnetic properties of materials at nano length scale.^{9,10}

The earliest scientific investigation for the synthesis of colloidal gold was carried out by Michael Faraday. The author reported a method for preparation of colloidal gold by electrochemical reduction of aqueous tetrachloroaurate ions (AuCl₄⁻).²² Almost a century later, Turkevich developed a method for synthesis of gold nanoparticles via citrate reduction of tetrachloroauric acid (HAuCl₄).²³ The advantage of the citrate reduction method was its simplicity and it produces particles with a relatively monodispersed distribution of particle sizes. A conventional gold nanoparticles synthesis method by Turkevich uses sodium citrate as reducer as well as stabilizer and results in water-soluble spherical particles with diameters of about 15–20 nm. Citrate-stabilized particles are still widely used due to their uncomplicated preparation method and excellent visibility of images in microscopy. However, they are not stable in dry form and their long-term stability in

*Author to whom correspondence should be addressed.

solution is also limited. This method has been refined by G. Frens, he controlled the over average particle size by varying the ratio of gold salt to citrate reducing agent.^{24,25} The Brust method can be used to produce gold nanoparticles in organic liquids like toluene that are not miscible with water. It involves the reaction of a tetrachloroauric acid solution with tetraoctylammonium bromide (TOAB) solution in toluene and sodium borohydride as stabilizing agent and a reducing agent, respectively.²⁶

Recently, in 2013, the polyphenols EGCG (epigallocatechin gallate) in PVA was used by Zhu²⁷ to prepare small, monodisperse and size-controlled AuNPs.

Generally, inorganic nanoparticles have high polarity and they display very low dispersion stability in organic media. However, by treating of the surface of inorganic nanoparticles with organic compounds can overcome low dispersibility problem.²⁸ After nanoparticles formation, they need to be coated with a suitable stabilizing layer/capping agent to inhibit the growth of the particles and prevent their aggregation and to increase their stability for further use. Various reagents have been reported to serve as stabilizing agents. These include polymers such as different kind of PEG (polyethylene glycol), polyvinyl alcohol, Polyvinyl pyrrolidone and surfactants such as tetraoctylammonium bromide, Tween 20 and polysaccharide like chitosan.^{9,25,29–33} Furthermore, most commonly used surface modification methods include grafting thiolated surfactants or polymers, adsorption of charged surfactants, charged ligands or polymer brushes, attachment of biological molecules such as DNA, peptides, proteins, antigens or coating a continuous polymer film on nanoparticles.^{3,25,26,34–40}

The encapsulation of colloidal nanoparticles has received great attention in recent years as a method for producing multifunctional materials. In this process a protective layer is built up around the core material (nanoparticle) to increase their chemical stability, to improve dispersibility or to confer specific properties (e.g., optical, magnetic, or mechanical properties) to the colloid dispersions. Among the different synthetic pathways, heterogeneous polymerization (i.e., emulsion, miniemulsion, and microemulsion polymerizations), physical encapsulation (polymer adsorption, layer-by-layer assembly, etc.) and double emulsion-like process have been used for the encapsulation of nanoparticles. Miniemulsion polymerization has been found to be very suitable for the production of nanoparticles with organic–inorganic nanostructures of different chemical compositions and morphologies.²⁸ Polymeric materials used for encapsulating nanoparticles for biomedical applications, such as drug delivery, diagnosis of disease or targeted chemotherapy must be biodegradable.⁶ Among natural polymers, proteins or polysaccharides tend to be degraded rapidly. Polysaccharides have been mainly used in the preparation of drug delivery systems.²⁸

The purpose of this study was to synthesize gold nanoparticles by chemical reduction technique. Tetrachloroauric acid was reduced by sodium tetrahydroborate in the presence and absence of polyvinyl alcohol (PVA). This reaction was also realized by PVA in presence of sodium hydroxide. The sodium tetrahydroborate and PVA concentration were changed and their effects on particle size and size distribution were investigated. The prepared particles were characterized in terms of particle size, particle size distribution and morphology by using photon correlation spectroscopy and transmission electron microscopy, respectively.

2. EXPERIMENTAL SECTION

2.1. Materials

Tetrachloroauric acid ($\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) ($\geq 99.999\%$) and polycaprolactone (PCL) ($M_w = 14000$ g/mol) were purchased from Sigma Aldrich. Sodium tetrahydroborate NaBH_4 (98%) was obtained from Acros Organics. Polyvinyl alcohol (PVA) ($M_w = 31000$ g/mol) and dichloromethane (DCM) were purchased from Sigma Aldrich. Sodium hydroxide, nitric acid and hydrochloric acid were obtained from BDH Prolabo-VWR International. Milli-Q water was used for the preparation of aqueous solutions, which was purified by Milli-Q purification system (Aquadem[®] from Veolia Water, France). All commercially available reagents were used as received without further purification. Ultrasonic homogenizer system “CY-500” ivymen[®] (500 W, 20 kHz) was obtained from SELECTA GROUP, Switzerland

2.2. Methods

2.2.1. Preparation of Gold Nanoparticles

The AuNPs were synthesized by the following three methods:

- Reduction of tetrachloroauric acid by sodium tetrahydroborate (NaBH_4).
- Reduction of tetrachloroauric acid by sodium tetrahydroborate in presence of PVA.
- Reduction of tetrachloroauric acid by PVA in the presence of NaOH.

2.2.1.1. Reduction of Tetrachloroauric Acid by Sodium Tetrahydroborate. Gold nanoparticles were synthesized as reported in the literature.⁴¹ The proper cleaning of glassware and stir magnetic bars is very necessary before the synthesis of AuNPs. Thus, surfactant and aqua regia (3 parts hydrochloric acid to 1 part nitric acid, v/v) were used to clean all the glassware, followed by rinsing with deionized water. For the synthesis of AuNPs by manual stirring, initially, 100 mL of Milli-Q water was poured into a flask and 10 mg of HAuCl_4 was added, the aqueous solution was then shaken to mix the solution properly. Then, NaBH_4 was added as a reducer to obtain gold nanoparticles. By using a micropipette, 2 mL of NaBH_4

(0.1 M) solution was added dropwise to the gold solution. Initially, it was added slowly to prevent aggregation, which was followed by relatively fast addition of NaBH_4 and the flask was shaken well after each small volume of reducing agent added. The color of solution in the flask changed from yellowish to ruby red indicating to the formation of gold nanoparticles (Fig. 1). In case of magnetic stirring, all other components were the same except stirring mode and the reducing agent solution was added to gold salt solution dropwise with continuous magnetic stirring.

2.2.1.2. Reduction of Tetrachloroauric Acid by Sodium Tetrahydroborate in Presence of PVA. Gold nanoparticles were also prepared by using NaBH_4 reduction method in the presence of poly vinyl alcohol as stabilizer. 100 ml of AuCl_4 solution (0.25 mM) was mixed with 100 ml of PVA solution in a conical flask under continuous magnetic stirring for three min., then, 0.1 M NaBH_4 solution was added dropwise to the flask. The color of dispersion in the flask was changed from yellow to ruby red, which indicates to the formation of gold nanoparticles. The solution was stirred for further 15 min for complete homogenization.

2.2.1.3. Reduction of Tetrachloroauric Acid by PVA in the Presence of NaOH. The AuNPs were obtained by simply heating an aqueous solution of gold salt (100 ml, 0.25 mM) in the presence of a mixture of 50 ml NaOH (0.1 M) and 100 ml PVA (0.01%) under magnetic stirring. The formation of particles was indicated by gradual change in color of the solution (from light yellow to red) over a time frame of 30 min. After preparation, the AuNPs were stored in the dark to minimize the photoinduced oxidation.

2.2.2. Encapsulation of Gold Nanoparticles

Gold nanoparticles (AuNPs) were encapsulated by the double emulsion solvent evaporation technique via two steps emulsification process using ultrasonic homogenization as already reported.⁴² In brief, the inner aqueous phase (W1) was consisting of 1.5 ml distilled water, while oil phase was prepared by dissolving 3 g of PCL in 12 ml of dichloromethane appropriately to form a clear solution. Similarly, the outer aqueous phase (W2) was consisting of 0.5% PVA solution. In the first step of emulsification, inner aqueous phase was homogenized with oil phase to

form primary emulsion by using sonication at 70% amplitude for 5 min. In the second step, the primary emulsion was dispersed in 150 ml of the outer aqueous phase by using ultrasonic homogenization (70% amplitude, 8 min), which resulted into double emulsion. Subsequently, the organic solvent evaporation from the prepared dispersion with the help of rotary evaporator resulted in formation of solidified particles. The above procedure was used for blank formulation. For AuNPs encapsulation, the inner aqueous phase was replaced by 1.5 ml of gold nanoparticles dispersion. All the experiments were performed in triplicate. Finally, the polymeric particles incorporated with AuNPs were then recovered by centrifugation at 10000 rpm for 10 min and washed three times with deionized water properly and further characterizations were performed.

2.2.3. Characterizations

2.2.3.1. Particle Size Measurement. The average particle size of the prepared colloidal dispersions was measured by photon correlation spectroscopy (PCS) using a Malvern Zetasizer 3000 HSA (Model-Nano ZS, Malvern Instruments limited, UK). Prior to measurement, the samples were diluted with 1 mM NaCl solution. The measurements were performed in triplicate at 25 °C.

2.2.3.2. Transmission Electron Microscopy and Scanning Electron Microscopy. The prepared gold nanoparticles and submicron PCL particles incorporated with AuNPs were observed by using transmission electron microscopy (TEM). TEM was performed with a Philips CM120 microscope at the “Centre Technologique des Microstructures” (CT μ) at the University of Lyon (Villeurbanne, France). A small drop of suspension was deposited on a microscope grid (copper support covered with carbon) and slowly dried in open air. The dry samples were observed by TEM under 100 kV acceleration voltages. For, submicron PCL particles incorporated with AuNPs, scanning electron microscopy (SEM) was also performed with a Hitachi S800 FEG microscope at the “Centre Technologique des Microstructures” at the University of Lyon (Villeurbanne, France). A drop of diluted aqueous suspension of submicron particles was deposited on a flat steel holder and dried at room temperature. The sample was finally coated under vacuum by cathodic sputtering with platinum. The samples were observed by SEM under an accelerating voltage of 15 kV.



Fig. 1. Schematic illustration of gold nanoparticles preparation process by NaBH_4 reduction method.

Table I. Synthesis of AuNPs under different operating conditions.

Stirring mode	Formulation code	HAuCl_4 (ml)	NaBH_4 (ml)	Diameter (nm)
Manual	Au31	100	1	18.12
	Au3	100	2	22.63
Magnetic	Au33	100	1	73.00
	Au32	100	2	167.6

Table II. Synthesis of AuNPs in presence of PVA.

Formulation code	HAuCl ₄ (ml)	PVA (ml)	NaBH ₄ (ml)	Diameter (nm)
Au1	100	100 (0.01% wt)	1	248
Au12	100	100 (0.04% wt)	3.5	92

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1. Preparation and Characterization of Gold Nanoparticles

3.1.1. Reduction of Tetrachloroauric Acid by Sodium Tetrahydroborate

The AuNPs were prepared by manual stirring as well as magnetic stirring using NaBH₄ as reducing agent. As shown in Table I, in case of manual stirring, when we used 1 ml of NaBH₄ (0.1 M), AuNPs of 18 nm particle size was obtained, and when we doubled the NaBH₄ concentration (2 ml), a slight increase in the particle size (22 nm) was observed. Similarly, in case of magnetic stirring, the particles size of AuNPs there was also increased by increasing the concentration of reducing agent. The particles size of AuNPs was 73 nm and 167 nm when we used 1 ml and 2 ml of reducing agent, respectively. However, the particles size obtained by using manual method was smaller as compared to magnetic method. The increase in particles size with increase in reducing agent concentration may be due to the excessive reduction of AuNPs even after its preparation as already reported in literature⁴² and this might be controlled by using proper capping agent.

3.1.2. Reduction of Tetrachloroauric Acid by Sodium Tetrahydroborate in Presence of PVA as Stabilizing Agent

The gold nanoparticles were also prepared by using NaBH₄ reduction method in the presence of different concentrations of PVA as stabilizing agent (Table II). Initially, when 0.01% of PVA solution (100 ml) and 1 ml of reducing agent were used, the particle size was found to be 248 nm. Subsequently, when the concentration of PVA was increased to 0.04% a dramatic decrease in particle

size i.e., 92 nm was detected, even with highest amount of reducing agent (3.5 ml). PVA act as stabilizing agent and prevent the aggregation of particles in liquid dispersions. The increase in PVA concentration augments the surface coating of the particulate systems thus contributes to the stability of colloidal dispersions.⁴³

3.1.3. Reduction of Tetrachloroauric Acid by PVA in Presence of NaOH

Gold nanoparticles were prepared by using PVA as reducing agent in the presence NaOH under magnetic stirring. The particle size of AuNPs obtained during this process was found to be 61 nm. This reaction results in destabilization of the complex between AuCl₄⁻ and PVA at 50–60 °C, resulting in the transformation of AuCl₄⁻ ion to Au(0). These results indicate that PVA can be used successfully as reducing agent for the preparation of gold nanoparticles.

3.2. Characterization

3.2.1. Particle Size Determination

The hydrodynamic particle size of AuNPs was determined by photon correlation spectroscopy (PCS). The smallest size particles were obtained when manual stirring was used in the presence of NaBH₄ as reducing agent. The average particle sizes were 22 nm and 18 nm for sample **Au3** and **Au31** respectively. The size distribution of Au31 particles was in between 13 nm to 20 nm as shown in Figure 2.

3.2.2. Transmission Electron Microscopy

The morphology of the prepared gold nanoparticles was observed by using transmission electron microscopy (TEM). A small drop of suspension was deposited on a microscope grid (copper support covered with carbon) and slowly dried in open air. Afterword, various samples of AuNPs were observed with TEM. The results showed that formation of spherical gold nanoparticles (Figs. 3(A and B)), apparently TEM images particles size seem to be smaller as compared to hydrodynamic particle size determined by dynamic light scattering analysis. Additionally, the relatively large particle size measured

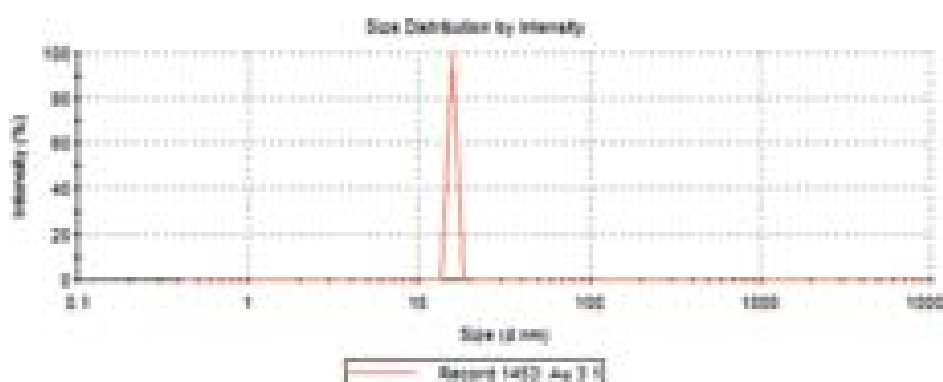


Fig. 2. Size distribution of gold nanoparticles synthesized by manual stirring in presence of NaBH₄ as reducing agent.

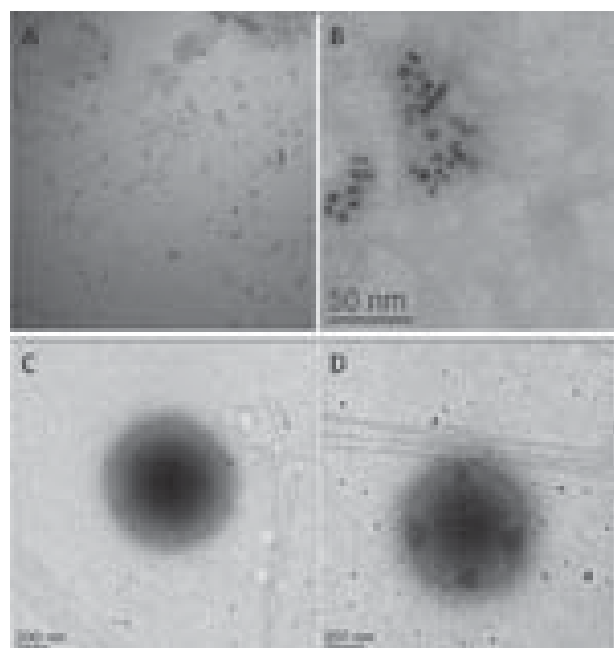


Fig. 3. TEM images of gold nanoparticles prepared with NaBH_4 reduction method (A, B) and TEM images of AuNPs encapsulated with PCL (C, D).

by DLS technique may be due to possible aggregation in particulate dispersion. The morphology of the polycaprolactone submicron particles incorporated with gold nanoparticles was also observed by using TEM. The results showed that the obtained particles are spherical in shape and the gold nanoparticles are well dispersed within the polymeric matrix (Figs. 3(C and D)). Some small size AuNPs can also be seen in surroundings of the polymeric particles, which represent the encapsulated gold nanoparticle in the medium (Fig. 3(D)).

3.2.3. Scanning Electron Microscopy

Scanning electron microscopy (SEM) of encapsulated gold nanoparticles was also performed in order to investigate the morphology the obtained particles (Fig. 4).

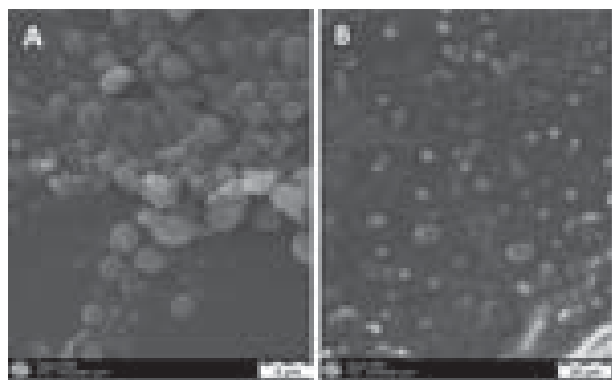


Fig. 4. SEM images of PCL particles containing AuNPs (A, B) prepared by the double emulsion solvent evaporation technique.

The SEM images showed that the polymeric particles containing AuNPs have smooth surfaces with spherical shapes. The smooth surfaces of polymeric particles support the assumption that the AuNPs release would occur through surface erosion of polymeric particle. Furthermore, some bridging among the particles were observed in the SEM images, which is possible due to presence of PVA as stabilizer during the encapsulation process, which is sticky in nature.

4. CONCLUSION

The present work was carried out in order to investigate the synthesis and characterization of gold nanoparticles and their encapsulation with a biodegradable polymer i.e., polycaprolactone. The effects of various experimental conditions on the particle size and size distribution have been studied. The formation of gold nanoparticles was evident from the change in color of gold salt solution from yellowish to ruby red with the addition of reducing agents. It has been shown that smaller nanoparticles with narrow size distribution were obtained in the case of the manual stirring method with lowest amount of reducing agent. Furthermore, the addition of PVA along with reducing agent has also significant effect on long time stabilization of dispersed system and diminishes the prospects of rapid aggregation. The gold nanoparticle size estimated from TEM images were smaller compared to the hydrodynamic particle size obtained from DLS analysis. The TEM morphology of gold nanoparticles showed their spherical morphology with uniformly dispersed distribution. TEM images of PCL particles incorporated with AuNPs have also revealed their spherical morphology with core-shell structure and the proper distribution of gold nanoparticles throughout the polymeric matrix. SEM morphology of the encapsulated particles (PCL-AuNPs) showed their smooth surfaces with spherical shapes. Some bridging among the particles was observed due to the sticky nature of the stabilizing agent PVA.

From this work, it can be concluded that reducing agents such as NaBH_4 and PVA can be used successfully for the preparation of gold nanoparticles and these AuNPs could be used as MRI contrast agent in various biomedical applications both *in vitro* and *in vivo*, and visualization of various tumor tissues. Functionalization of these particles would be possible for various other potential applications in different fields.

Acknowledgment: The authors acknowledge the financial support provided by Gomal University D. I. Khan and Higher Education Commission of Pakistan (HEC) for this work (No. PD (FFHP)/HEC/2012). The authors also would like to thank the SMARTCANCERSENS project (FP7-PEOPLE-2012-IRSES) under the grant agreement No. 31805, the SEA-on-a-CHIP project (FP7-KBBE) under the reference 614168, the NATO project, SPS

(NUKP.SFPP984173) and the HEARTEN under the grant agreement No. 643694.

References and Notes

1. F. Lu, T. L. Doane, J. Zhu, and C. Burda, *Inorg. Chim. Acta* 393, 142 (2012).
2. W. Cai, T. Gao, and H. H. J. Sun, *Nanotech, Sci. Applications* 1, 17 (2008).
3. Sardar, Rajesh, Alison, M. Funston, P. Mulvaney, and R. W. Murray, *Langmuir* 25, 40 (2009).
4. N. N. Long, L. V. Vu, C. D. Kiem, S. C. Doanh, C. T. Nguyet, P. T. Hang, N. D. Thien, and L. M. Quynh, *Journal of Physics* 187 (2009).
5. G. Doria, J. Conde, B. Veigas, L. Giestas, C. Almeida, M. Assunção, J. Rosa, and P. V. Baptista, *Sensors* 12, 57 (2012).
6. S. Basu, B. Mukherjee, S. R. Chowdhury, P. Paul, R. Choudhury, A. Kumar, L. Mondal, C. M. Hossain, and R. Maji, *Int. J. Nanomedicine* 7, 6049 (2012).
7. A. Kamiar, R. Ghotaslou, and H. Valizadeh, *Advanced Pharmaceutical Bulletin* 3, 425 (2013).
8. A. Tomar and G. Garg, *Global, J. Pharmaco* 7, 34 (2013).
9. J. Hu, Z. Wang, and J. Li, *Sensors* 7, 299 (2007).
10. Y. Y. Yu, S. S. Chang, C. L. Lee, and C. R. C. Wang, *J. Physical Chemistry B* 101, 34 (1997).
11. A. Gole and C. J. Murphy, *Chem. Mater.* 16, 3633 (2004).
12. A. Tabrizi, F. Ayhan, and H. A. Hacettepe, *J. Biol. Chem.* 37, 217 (2009).
13. A. Akhavan, H. R. Kalhor, M. Z. Kassae, N. Sheikh, and M. Hassanlou, *Chem. Eng. J.* 159, 230 (2010).
14. R. Knake and A. W. Fahmi, *Langmuir: The ACS Journal of Surfaces and Colloids* 21, 8 (2005).
15. J. Niu, T. Zhu, and Z. Liu, *Nanotechnology* 18, 325 (2007).
16. C. Murphy, J. L. B. Thompson, D. J. Chernak, J. A. Yang, S. T. Sivapalan, S. P. Boulos, J. Huang, A. M. Alkilany, and P. N. Sisco, *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* 16, 128 (2011).
17. A. A. Ashkarran, *Journal of Theoretical and Applied Physics* 6, 14 (2012).
18. C. L. Nehl, H. Liao, and J. H. Hafner, *Nano Lett.* 6, 4 (2006).
19. A. Akbarzadeh, D. Zare, A. Farhangi, M. R. Mehrabi, D. Norouzian, S. Tangestaninejad, M. Moghadam, and N. Bararpour, *American Journal of Applied Sciences* 6, 691 (2009).
20. G. Schmid and B. Corain, *Eur. J. Inorg. Chem.* 17, 81 (2003).
21. S. Bhattacharya and A. Srivastava, *Journal of Chemical Sciences* 6, 13 (2003).
22. M. Faraday, *Philosophical Transactions of the Royal Society of London* 1, 45 (1857).
23. J. Turkevich, P. C. Stevenson, and J. Hillier, *Discussions of the Faraday Society* 11, 55 (1951).
24. G. Frens, *Kolloid-Zeitschrift Und Zeitschrift Für Polymere* 7, 36 (1972).
25. P. Zhao and N. Li, *Coord. Chem. Rev.* 6, 38 (2013).
26. M. Brust, M. Walker, D. Bethell, D. J. Schiffrin, and R. Whyman, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* 7, 801 (1994).
27. H. Zhu, M. L. Du, M. Zhang, P. Wang, S. Y. Bao, Y. Q. Fu, and J. M. Yao, *Sens. Actuators, B* 185, 608 (2013).
28. R. Ladj, A. Bitar, M. M. Eissaa, H. Fessi, Y. Mugnier, R. L. Dantec, and A. Elaissari, *Int. J. Pharma.* 458, 230 (2013).
29. J. Siemieniec and P. Kruk, *Chemik* 67, 842 (2013).
30. S. Md. Nasir and H. Nur, *Journal of Fundamental Sciences* 4, 245 (2008).
31. J. Duy and L. B. Connell, *J. Nanopart. Res.* 12, 2363 (2010).
32. V. A. Dhumale and R. K. Gangwar, *Materials Express* 2, 18 (2012).
33. R. C. B. Scaravelli, R. L. Dazzi, F. C. Giacomelli, G. Machado, C. Giacomelli, and V. Schmidt, *J. Colloid and Interface Science* 397, 114 (2013).
34. P. Bhandri, P. Sharma, G. Kaur, M. S. Bakshi, and T. S. Banipal, *J. Surface Sci. Technol.* 24, 163 (2008).
35. S. Rana, A. Bajaj, R. Mout, and V. M. Rotello, *J. Advanced Drug Delivery Reviews* 64, 200 (2012).
36. Yang, J. J. Y. Lee, H. Too, G.-M. Chow, and L. M. Gan, *Chem. Phys.* 3, 12 (2006).
37. O. Azzaroni, A. A. Brown, N. Cheng, A. Wei, A. M. Jonas, and W. T. S. Huck, *J. Mater. Chem.* 17, 33 (2007).
38. L. C. Chen and D. M. Ashcroft, *Pharmacoepidemiology and Drug Safety* 7, 62 (2007).
39. N. Shalkevich, A. Shalkevich, L. S. Ahmed, and T. Bürgi, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 101, 75 (2009).
40. J. Manson, D. Kumar, Brian, and J. M. D. Dixon, *J. Gold Bulletin* 2, 99 (2011).
41. A. Low, B. App. Sci, Med, V. Bansal, *Biomed. Imaging Interv. J.* 6, e9 (2010).
42. M. Iqbal, G. Usanase, K. Oulmi, F. Aberkane, T. Bendaikha, H. Fessi, N. Zine, G. Agusti, E. S. Errachid, and A. Elaissari, *J. Materials Research Bulletin* (2015), Doi: 10.1016/j.materresbull.2015.12.026.
43. M. Iqbal, J. P. Valour, H. Fessi, and A. Elaissari, *J. Colloid and Polymer Sci.* 3, 861 (2015).

Received: 30 December 2015. Accepted: 8 January 2016.



ELSEVIER

Contents lists available at ScienceDirect

Materials Research Bulletin

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

Preparation of gold nanoparticles and determination of their particles size via different methods



Muhammad Iqbal^a, Gisele Usanase^a, Kafia Oulmi^b, Fairouz Aberkane^b,
Tahar Bendaikha^b, Hatem Fessi^a, Nadia Zine^c, Géraldine Agusti^a, El-Salhi Errachid^c,
Abdelhamid Elaissari^{a,*}

^a University of Lyon, University Lyon-1, CNRS, UMR-5007, LAGEP, F-69622 Villeurbanne, France

^b Laboratory of Chemistry and Environmental Chemistry(LCCE), Faculty of Science, Material Science Department, University of Batna, 05000, Algeria

^c Institut des Sciences Analytiques (ISA), Université Lyon, Université Claude Bernard Lyon-1, UMR-5180, 5 rue de la Doua, F-69100 Villeurbanne, France

ARTICLE INFO

Article history:

Received 8 May 2015

Received in revised form 2 November 2015

Accepted 15 December 2015

Available online 22 December 2015

Keywords:

A. Metals

A. Nanostructures

A. Optical materials

B. Optical properties

C. Transmission electron microscopy

ABSTRACT

Gold nanoparticles have been used in various applications covering both electronics, biosensors, in vivo biomedical imaging and in vitro biomedical diagnosis. As a general requirement, gold nanoparticles should be prepared in large scale, easy to be functionalized by chemical compound or by specific ligands or biomolecules. In this study, gold nanoparticles were prepared by using different concentrations of reducing agent (NaBH_4) in various formulations and their effect on the particle size, size distribution and morphology was investigated. Moreover, special attention has been dedicated to comparison of particles size measured by various techniques, such as, light scattering, transmission electron microscopy, UV spectrum using standard curve and particles size calculated by using Mie theory and UV spectrum of gold nanoparticles dispersion. Particle size determined by various techniques can be correlated for monodispersed particles and excess of reducing agent leads to increase in the particle size.

© 2015 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Over the last three decades, nanoparticles research has received an increasing interest. This is due to the unique size dependent properties of nanoparticles, which are often thought as a separate and intermediate state of matter between individual atoms and bulk material [1]. Metal nanostructures present a wide variety of remarkable physical and chemical properties, which can be modified by changing their size, morphology, composition, and various preparation parameters [2,3]. Gold nanostructure have attracted considerable attention for many years because of their extensive use in various applications such as catalysis, photonics, electronics, optoelectronics, diagnostic, delivery, chemical, biological and biomedical sensing, photothermal therapy, surface plasmon resonance and surface-enhanced raman scattering (SERS) detection [4–11]. Gold nanoparticles (AuNPs) are considered as good candidate for labeling applications due to its ability of strong interaction with visible light. Upon interaction with light, the excitation of free electrons in gold atoms lead to a state of collective oscillation called surface plasmon resonance (SPR), which provide

gold the ability to absorb and scatter visible light depending upon its size, shape and agglomeration state [12,13]. AuNPs can be targeted and accumulated at specific tissue of interest thus enable visualization of that area under study. They can be detected by several techniques including phase contrast optical microscopy, dark field microscopy, photothermal imaging [14,15] and confocal scanning optical microscopy [16,17]. AuNPs have been reported to lack the capability to induce adverse and acute toxicity, thus, they are considered biocompatible device for biomedical applications [18–21]. These properties of nanoparticles result from the extremely high proportion of surface atoms, this factor is directly dependent on the size of the nanoparticle. Indeed, the possibility to control these properties by adjusting the size of the nanoparticle, has been the cause of extensive investigation. Contrary to bulk materials that have constant physical properties regardless of mass, nanoparticles offer unique opportunities to control the electrical, magnetic and optical properties by modifying their diameter.

Nanoparticles can be prepared from various materials by relatively simple methods. In recent years, several types of methods have been published and reviewed. Currently, there are two kinds of approaches commonly used to prepare nanoparticles, the “top down approach”, which involves the constant division of bulk metals into nanoparticles and the “bottom-up

* Corresponding author.

E-mail address: elaissari@lagep.univ-lyon1.fr (A. Elaissari).

approach”, which involves the building up of nanoparticles from the atomic level (metal ions) [3,8,22]. Various techniques such as, chemical, electrochemical, irradiation, sonochemical, solvothermal, photochemical and laser ablation have been used to prepare nanoparticles from metal ions precursors in the presence or absence of a capping agent [9,23–27]. Michael Faraday was the first to study the formation of colloidal gold particles from a scientific point of view and used phosphorus agent for the reduction of $[\text{AuCl}_4]^-$ ions [28]. During the last century, numerous easy to handle reducers were found, such as sodium borohydride, thiosulfate, or organic ones like, sodium citrate, ascorbic acid, alcohols (polyalcohol) and amines [9,29–33]. The Turkevich method is still one of the most applied procedures, in which, sodium citrate reduces $[\text{AuCl}_4]^-$ in hot aqueous solution to give colloids of 15–20 nm [34]. Citrate itself and its oxidation products can act as protecting agents, even if no other stabilizer is used. However one of the most popular methods for preparation of gold nanoparticles of various sizes comes from Brust et al. It uses NaBH_4 to reduce gold salts in the presence of alkanethiols to yield gold particles of 1–3 nm. And, by varying the thiol concentration, the particles sizes can be controlled between 2 and 5 nm [35].

Characterization methods for analysis and measurement of nanomaterials are essential in the development of nanotechnology; as the sizes, shapes, and structures of nanomaterials influence their physicochemical properties. The most common technique used for characterization of metallic nanoparticles is high-resolution transmission electron microscopy (HRTEM), which generates a photomicrograph of the core of the nanoparticles, providing information regarding the particle size, size distribution and polydispersity of the samples. UV–vis (optical) spectroscopy is used for analysis of the intensely colored colloidal dispersions having characteristic surface plasmon absorption [2,36,37]. In a given preparation of nanoparticles, there is usually a mixture of different size particles, which, have characteristic surface plasmon resonance peaks and thus their UV–vis spectra are usually significantly different, which may help in determining the nanoparticle size [38].

The aim of this work is to characterize the prepared nanoparticles in terms of morphology, size and size distribution. Special attention was dedicated to comparison of particles size measured by light scattering, transmission electron microscopy, by UV using standard curve and the particles size was calculated using Mie theory and UV spectrum of gold dispersion.

2. Materials and methods

2.1. Materials

Gold(III) chloride hydrate ($\geq 99.999\%$) was purchased from Sigma–Aldrich, and sodium borohydride (NaBH_4), 98%, was purchased from Acros Organics. Water was deionized using (Aquadem[®] from Veolia Water, France). Nitric acid (68%) and hydrochloric Acid (35%) were obtained from BDH Prolabo–VWR International.

2.2. Preparation of gold nanoparticles

The preparation of gold nanoparticles was performed by NaBH_4 reduction method as described in literature [39]. Briefly, 10 mg of HAuCl_4 was dissolved in 100 ml of deionized water (≈ 0.25 mM), and shaken properly to mix the solution. And, 0.1 M solution of reducing agent (NaBH_4) was prepared by dissolving 1.891 g of NaBH_4 in 500 ml of deionized water. Then, 100 ml of HAuCl_4 (0.25 mM) were taken in 250 ml flask with magnetic stirring at 750 rpm (230 V, IKA[®] RET, Germany) and the reducing agent solution was added drop by drop with continuous stirring. The color of HAuCl_4 solution changed from pale yellow to dark red over several minutes. Stirring process was continued for another 10 min for complete homogenization. Since the HAuCl_4 is corrosive, a glass spatula was used to avoid the contact with metal. In the preparation of gold nanoparticles, cleaning of glassware is very crucial. Thus, all the glassware and stir magnetic bars were thoroughly cleaned in freshly prepared aqua regia (HCl/HNO_3 3:1, v/v) and then rinse with distilled water and dried, to avoid aggregation of residual gold particle and to avoid unwanted nucleation during synthesis. After preparation of the particles, the dispersions were centrifuge at 14000 rpm for 15 min and the collected particles were redispersed in deionized water before any characterization. All the gold nanoparticles batches were store in the dark to minimize the photo induced oxidation.

2.3. Physicochemical characterization of nanoparticles

2.3.1. Hydrodynamic particle size measurement

The hydrodynamic particles size (D_h) of the colloidal dispersions was determined by dynamic light scattering (DLS) using zetaser from Malvern (England) at room temperature (25 °C). The mean hydrodynamic diameter is calculated by using the Stokes–Einstein’s equation:

$$D_h = \frac{kT}{3\pi\eta D} \quad (1)$$

Table 1

Data from Ghosh et al.[40] in which particle size and maximum wavelengths absorption of gold nanoparticles are reported as a function of trisodium citrate concentration.

Run	HAuCl ₄ solution (10 mM, mL)	Trisodium citrate solution (1%, mL)	Color	λ_{max}	Average diameter (nm)	
					Reported	Observed
A	1.25	2.000	Dark red	518	–	8.00
B	1.25	1.600	Red	519	–	10.0
C	1.25	1.300	Red	520	–	13.0
D	1.25	1.000	Red	522	16.0	16.0
E	1.25	0.875	Red	526	–	20.0
F	1.25	0.750	Red	528	24.5	25.0
G	1.25	0.625	Pinkish red	529	–	32.0
H	1.25	0.500	Pink	532	41.0	41.0
I	1.25	0.400	Pink	534	–	55.0
J	1.25	0.300	Orange	545	71.5	73.0

where k is the Boltzmann constant, T is the absolute temperature, η is the viscosity of the medium, and D is the diffusion coefficient. Each sample was prepared by adding 2 ml of the prepared nanoparticles dispersion in quartz cell and then the cell was placed in zetazizer for analysis. Mean particle size was determined at a scattering angle of 90° for all the samples. The particle size was determined in triplicate for all samples, and then averaged.

2.3.2. Transmission electron microscopy morphology and particles size analysis

Transmission electron microscopy (TEM) was performed with a Philips CM120 microscope at the “Centre Technologique des Microstructures” (CTμ) at the University of Lyon (Villeurbanne, France). A small drop of suspension was deposited of a microscope grid (copper support covered with carbon) and slowly dried in open air. The dry samples were observed by TEM under 120 kV acceleration voltages. The average gold nanoparticles diameter and polydispersity index (PDI) were calculated for each sample by averaging 200 particles from the TEM images using ImageJ software (image processing program developed at the National Institutes of Health)

2.3.3. Size determination using reported standard curve

The absorbance of gold nanoparticles dispersions was examined using spectrophotometer (UV-1800 Shimadzu, Japan). The washed dispersions were redispersed in deionized water and the absorbance was recorded from 190 nm to 750 nm as a function of wavelength using quartz cell with a path length of 1 cm. Two major information were extracted from the obtained spectrum i.e the maximum wavelength (λ_{\max}) and full width at half maximum (FWHM). The obtained λ_{\max} were used for particle size estimation by using standard curve [40] and the deduced λ_{\max} and FWHM used for the calculation of particles using Mie theory.

Various dispersions of gold nanoparticles were prepared and then analyzed by a double beam UV–vis spectrophotometer (Shimadzu UV-1800) in the range of 190 nm to 750 nm. From the obtained spectra, maximum wavelength were extracted and used to estimate the particle size from the reported standard curve from [40] to access to the gold nanoparticle’s size.

In order to determine the particles size of our samples, the data reported in Table 1 is used to establish the standard curve reported in Fig. 2.

The reported data in Fig. 1 is fitted by the following linear equation:

$$d(\text{nm}) = 2.511\lambda_{\max}(\text{nm}) - 1294.8. \quad (2)$$

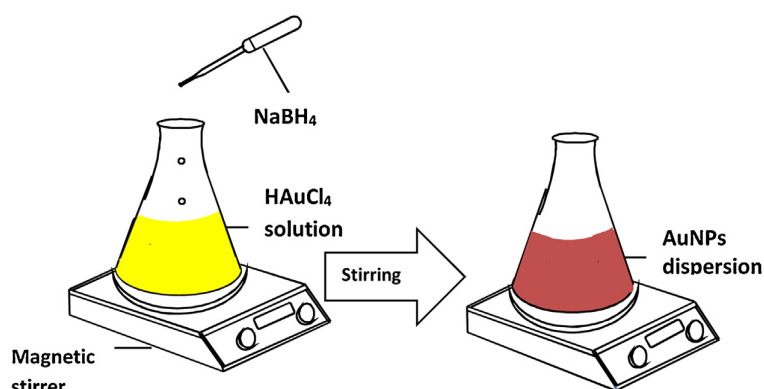


Fig. 1. Schematic illustration of gold nanoparticles preparation process using NaBH_4 as reducing agent.

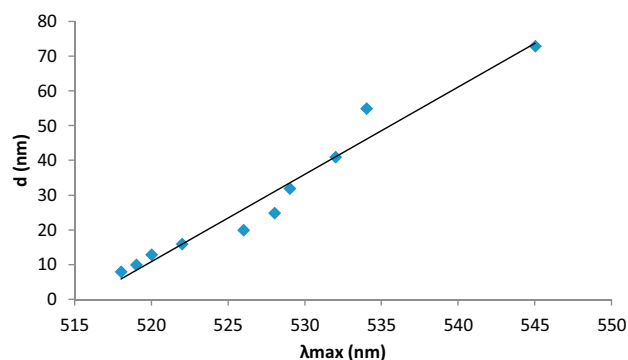


Fig. 2. Standard curve of particle size versus wavelength (nm) deduced from Table 1.

This equation gives the relation between nanoparticles size and maximum wavelength that will be used to estimate the particle size of the gold prepared particles.

2.3.4. Size determination using UV–vis spectroscopy and Mie theory

The size, concentration, and, in some cases, aggregation level of AuNP are key points for nanoparticles applications because they determine chemical, optical, electrical and biological properties [3,41]. The estimation of the average size of gold nanoparticles based on the fitting of their UV–vis spectra by the Mie model for sphere was used and explored in this study [38,41]. In fact, the average diameter d of various noble metal (Ag, Au, Pt) can be estimated from electromagnetic theory of Mie [41–44] using the half-width of resonance optical absorption peak and characteristic wave length of plasmon resonance “ λ_p ”.

$$d = \frac{vf\lambda_p^2}{\pi c \Delta\lambda} \quad (3)$$

where “ vf ” is the electron velocity corresponding to the fermi energy of the metal, “ c ” is the velocity of light, $\Delta\lambda$ is the full width at half maximum of absorption band, λ_p is the characteristic wave length at which SPR occurs [45]. In order to find all these parameters; (full width at half maximum–FWHM, SPR position, absorbance intensity) spectra were fitted to Lorentzians. We have employed “ORIGIN 8.0” software. Utilization of the Mie model consists in an estimation of the average radius by fitting the 300–800 nm spectral regions.

Table 2

Composition of various formulations for preparation of gold nanoparticles. The concentration of HAuCl_4 was fixed (0.25 mM, 100 ml) for all formulations; only the concentration of reducing agent (NaBH_4) agent was modified by changing volume of NaBH_4 (0.1 M). The nanoparticles sizes determined by using different techniques are tabulated.

Formulation code	Concentration (mM) of HAuCl_4	Concentration (mM) of NaBH_4	λ_{max} (nm)	PDI	Particle size (nm) calculation versus used methods			
					DLS	UV	TEM	Theoretical
F1	0.25	2.9	520	1.034	15.4	10.9	11.4	13.10
F2	0.25	3.8	525	1.059	18.8	23.5	13.7	8.42
F3	0.25	4.7	520	1.054	17.0	10.9	14.6	9.76
F4	0.25	6.5	523	1.035	19.4	18.5	10.1	9.70
F5	0.25	7.4	533	1.044	18.2	43.6	16.2	14.14
F6	0.25	6.9	523	1.049	17.7	18.5	15.6	8.10
F7	0.25	11.5	536.5	1.104	30.3	52.4	22.3	19.22

3. Results and discussion

As above mentioned, various gold nanoparticles samples are prepared using the same recipe but not the same amount of reducing agent in order to know the effect of reducing agent concentration on particle size, size distribution and morphology. The obtained gold dispersions were characterized in term of hydrodynamic particles size, size distribution using light scattering. The morphology, the particle size and polydispersity were calculated from TEM image. The intrinsic photophysical property

of the prepared gold nanoparticles was examined by spectrophotometry and the particles size was then examined using reported standard curve or by using Mie theory. The obtained results are reported in Table 2 as a function of used method, approach and recipe.

The physicochemical aspect of colloidal system such as, particle size and zeta potential, are known to influence the physical stability of colloids, release rate and their interaction with cells and biological environment. The particles were characterized on the basis of morphology, particle size and size distribution.

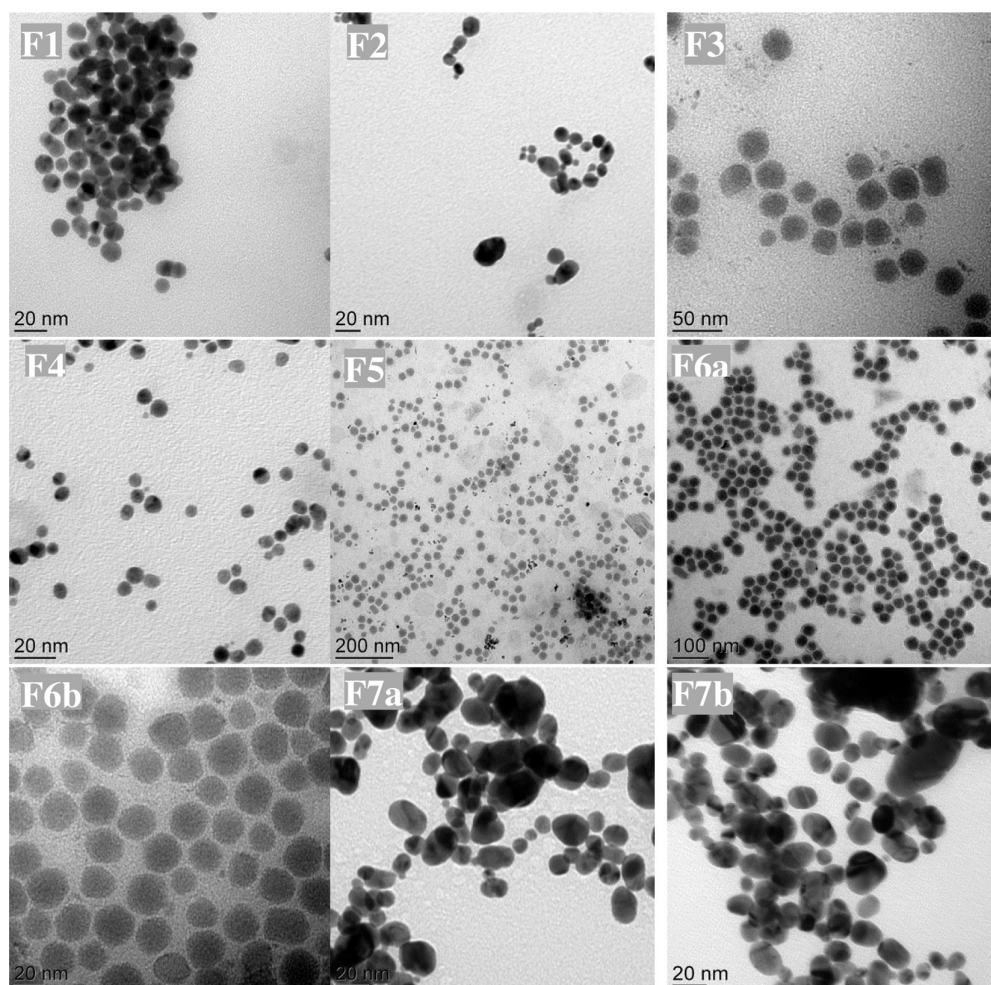


Fig. 3. TEM micrograph of formulations prepared with different concentration of reducing agent (F1) 2.9 mM, (F2) 3.8 mM, (F3) 4.7 mM, (F4) 6.5 mM, (F5) 7.4 mM, (F6a and b) 6.9 mM, and (F7a and b) 11.5 mM. Scale bars represent 50 nm in F2 and F3, 100 nm in F6a and 20 nm in all of the rest.

3.1. Transmission electron microscopy morphology analysis

Transmission electronic microscopy (TEM) was performed in order to visualize the morphology of nanoparticles prepared by NaBH_4 reduction of chloroauric acid solution. Particles were evaluated on the basis of shape, size, size distribution, and presence of interparticles bridging and aggregation. Under TEM observations, the nanoparticles produced had spherical shapes (Fig. 4), with an average particle size smaller than 30 nm. The average particle sizes were also confirmed by light scattering analysis (Table 2). TEM Images showed slight aggregation between some particles (Fig. 4(F7A) and (F7B)), this can be attributed to excessive reduction of gold salt solution; since comparatively high concentration of reducing agent was used in this formulation. However, at low reducing agent concentrations the particles were fairly detached and homogeneous (Fig. 4(F6A) and (F6B)).

3.2. Particle size analysis via various methods

3.2.1. Light scattering and TEM particles size and size distribution analysis

Different dispersions of gold nanoparticles were prepared using various concentrations of reducing agent, while the concentrations of HAuCl_4 were kept constant throughout all formulations. Seven samples (F1–F7) were prepared by using freshly prepared reducing agent solution (NaBH_4). From the obtained results, it was found that, by increasing the concentration of reducing agent from 2.9 mM (F1) to 7.4 mM (F5), there was no significant effect on particle size in all formulations and the average particle size was found between 15.4 nm and 19.4 nm when measured by using DLS technique (Table 2). However, at high concentration of reducing agent (11.5 mM) the particle was increased to 30.3 nm. Similar trend of slight increase in particles size was also found, when it was

calculated from TEM images. The average particle size calculated from TEM, was smaller compare to hydrodynamic particle size as shown in Table 2, which is logical because, usually hydrodynamic particle size is larger than TEM particle size. The obtained results showed that particle size increases with an increase in reducing agent concentration. This may be due to aggregation and over reduction of gold salt in the presence of excess of reducing agent. Though, Ghosh et al. reported a decrease in particle size with an increase in reducing agent amount, however, they prepared NP via Frens' method by using sodium citrate as reducing agent instead of NaBH_4 with adsorbed pyrene on their surface [40]. The polydispersity index (PDI) was calculated for each sample from the TEM images using ImageJ software and PDI was found between 1.034 and 1.104 (Table 2). The formulation F7 showed relatively high PDI due to slight attachments of particles.

The particle size distribution, which reflects the polydispersity of colloidal system, was also examined. It was observed that, with an increasing in NaBH_4 concentration, there was slight increase in size distribution graph as shown in Fig. 4(C). This is also evident from TEM images, which shows some particle aggregation in Fig. 4(F7A) and (F7B). This may be due to high degree of gold salt reduction leading to slight aggregation, as no stabilizing agent was used in all formulations. Increase in particle size and size distribution by increasing reducing agent concentration has been already reported [33]. The high surface energy of AuNPs makes them very reactive, which mostly leads to aggregation of particles without protection of their surfaces [46]. However, at low reducing agent concentration (F6) the size distribution plot was narrow (Fig. 4(A) and (B)) with homogenous particle size.

3.2.2. Particles size analysis by UV standard curve based method

For determination of particle size of our samples, we used the Eq. (2), which was derived from the standard curve (Fig. 2) based

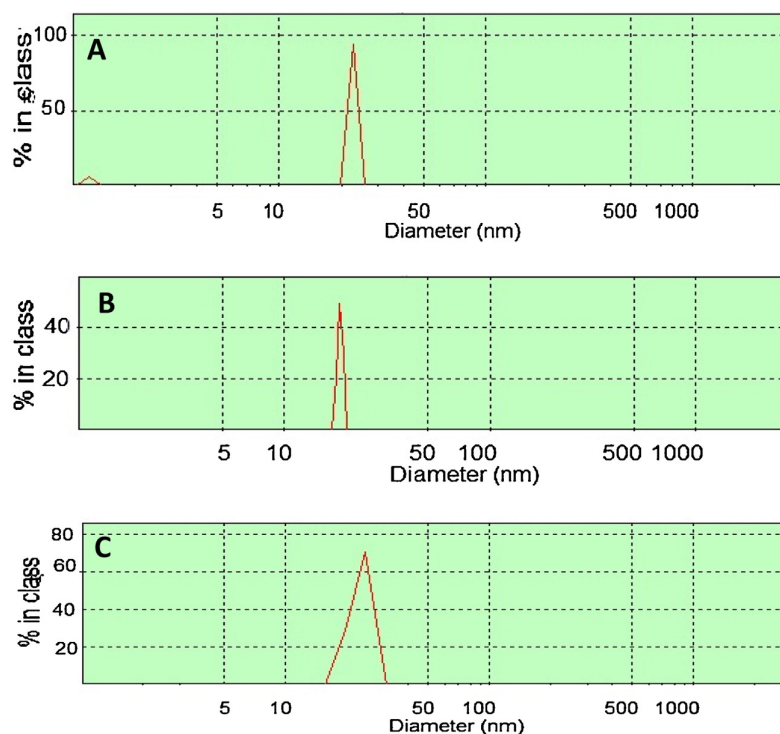


Fig. 4. Particle size distribution of various formulations prepared with different concentration of reducing agent (A, B and C represent sample F4, F6 and F7 respectively).

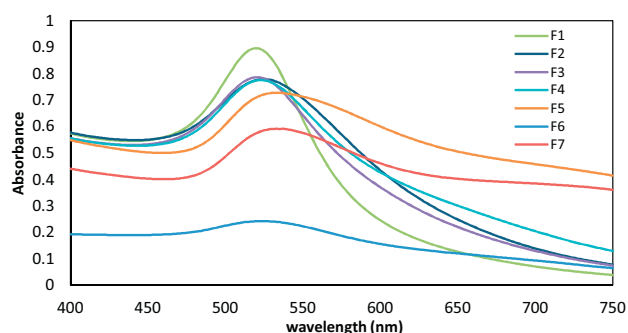


Fig. 5. Absorption spectra of gold nanoparticles dispersion prepared with different concentration of reducing agent.

on the data taken from Table 1 [40]. For this purpose, first, the wavelength of maximum absorbance (λ_{\max}) for each sample of prepared nanoparticle dispersion was determined by using UV spectrophotometer (Table 2). Subsequently, the particle size was calculated for each formulation by putting their respective λ_{\max} values in Eq. (2), which relates the λ_{\max} with particle size (diameter).

Each formulation showed specific maximum wavelength (λ_{\max}), which reflect their photochemical characteristics. The λ_{\max} of different formulations was found between 520 nm and 536.5 nm (Fig. 5), and the particles size calculated were in the range of 10.97 nm to 52.40 nm (Table 2). A tendency of an increase in absorbance was found as the particle size increase, which were in agreement to those previously reported [47,48]. The absorbance increase is due to the progressive increase in particle size; larger particles have larger molar extinction coefficient values [49–51]. Moreover, the particle size obtained from this calculation was in agreement with particle size determined by DLS (Table 2) in case of samples F2, F4 and F6, whereas slight deviations are shown in samples F5 and F7. The particle size calculated by this technique was large than DLS results, this may be due to partial aggregation of particles, especially in sample F7, which can also be seen from TEM images (Fig. 3(F7)). This equation (Eq. (2)) can be ideal for completely monodispersed preparations and can be used to obtain information regarding nanoparticles polydispersity.

3.2.3. Size determination using UV–vis spectroscopy and Mie theory

AuNPs show strong plasmon resonance absorption that is dependent on the particle size, shape and agglomeration. For almost spherical gold nanoparticles, the plasmon band maximum

is generally between 520 and 530 nm [52–54]. In order to determine the particle size, the obtained data of optical absorption spectra of each sample were fitted using Lorentz equation as below illustrated in Fig. 6 (for sample F6) in which optical absorption spectra was presented and mathematically fitted.

The results of particles size estimation deduced from the best fitting using Mie theory are listed in Table 2. The determined diameters are in between 8 nm to 19 nm and almost in good agreement with those deduced from standard UV curve and TEM analysis. This method is more accurate and more establish theory compared to UV standard-based method. This Mie theory based approach has been already examined and totally approved as already reported [38]. The reported results showed that for the particle size larger than 25 nm, both the theoretical and experimental peak positions precisely fit better compared to particle size smaller than 25 nm. This may be attributed to the proclaimed increase of the ratio of the surface atoms to bulk atoms for particle diameter smaller than 20 nm. Amendola et al. [41] show that the size of free or functionalized gold nanoparticles in water and other solvents, with diameters in between 4 and 25 nm, can be measured with an accuracy of about 6%. The literature value for Plasmon bands is usually in between 520 and 530 nm for spherical gold nanoparticles [3]. The maximum and the bandwidth of the plasmon band are both strongly dependent on the size and interactions with the surrounding medium. One can see that the SPR width increases for decreasing sizes in the 4–28 nm intervals.

4. Conclusion

In this study, the gold nanoparticles were fabricated that can be used for biomedical applications as imaging contrast agent both in vitro and in vivo. The effect of reducing agent concentration on the particle size, size distribution and morphology was investigated and also the particle size was determined via different techniques such as, DLS, TEM, UV–vis spectrophotometry and Mie theory. It was found that concentration of reducing agent did not affect the particle size and size distribution of gold nanodispersion up to specific concentration (F6), however, when NaBH_4 was used in excess, the particle size was increased with relatively broad size distribution at high concentration of reducing agent. The reducing agent concentration had slight effect on particle morphology too, and TEM images showed that by increasing reducing agent the practice color become darker with distinct boundaries of particles and also probability of aggregations increases due to excessive reduction of gold salt. Moreover, when the particle size was analyzed by UV standard curve based technique using standard

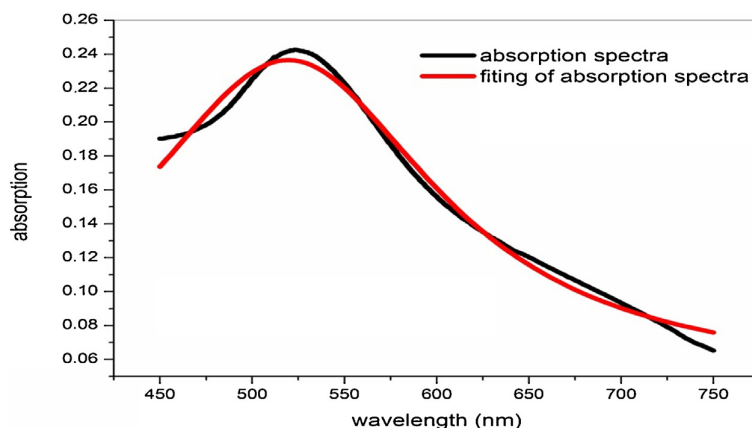


Fig. 6. Optical absorption spectra of the prepared gold nanoparticle (Lorentz fit of sample F6) best fit of the optical surface plasmon absorption spectra using Mie equation.

curve, the obtained results were in agreement with particle size measured by DLS in samples where low concentration of reducing agent was used, however, at high concentration of NaBH_4 the particle size calculated was larger than those of DLS technique because of slight particles aggregation in the sample as already reported in literature, that UV standard curve based technique works better for fully monodispersed preparations. The nanoparticle size was also determined by using TEM images, and the average particle size was found to be smaller as compared to hydrodynamic particle size determined by DLS technique. Nanoparticle size was also determined by using Mie theory based approach, optical absorption spectra of each sample were fitted using Lorentz equation and the particle size was found between 8 nm and 19 nm and almost in good agreement with those deduced from standard UV curve and TEM analysis.

From this study, it was concluded that the gold nanoparticles can be prepared successfully by NaBH_4 reduction of HAuCl_4 , and their particle size can be verified through different methods. Furthermore, these particles can be used in biomedical imaging techniques as contrast agent such as MRI to visualize different tissues both for *in vivo* and *in vitro* applications and AuNPs can be surface functionalized for other potential applications in several field. These particles can be co-encapsulated with anticancer active agent for theranostic purpose.

Acknowledgment

I would like to acknowledge the financial support provided by Gomal University D.I. Khan and Higher Education Commission of Pakistan (HEC) for this work (No. PD (FFHP)/HEC/2012).

References

- G. Schmid, *Nanoparticles: From Theory to Application*—Günter Schmid, Wiley, 2006.
- M.A.K. Abdelhalim, M.M. Mady, M.M. Ghannam, Physical properties of different gold nanoparticles: Ultraviolet-visible and fluorescence measurements, *J. Nanomed. Nanotechnol.* (2012) 03.
- G. Schmid, B. Corain, *Nanoparticulated gold: syntheses, structures, electronics, and reactivities*, *Eur. J. Inorg. Chem.* 2003 (2003) 3081–3098.
- S. Basu, B. Mukherjee, S.R. Chowdhury, P. Paul, R. Choudhury, A. Kumar, L. Mondal, C.M. Hossain, R. Maji, Colloidal gold-loaded, biodegradable, polymer-based stavudine nanoparticle uptake by macrophages: an *in vitro* study, *Int. J. Nanomed.* 7 (2012) 6049–6061.
- G. Doria, J. Conde, B. Veigas, L. Giestas, C. Almeida, M. Assunção, J. Rosa, P.V. Baptista, Noble metal nanoparticles for biosensing applications, *Sensors* 12 (2012) 1657–1687.
- C. Iodice, A. Cervadoro, A. Palange, J. Key, S. Aryal, M.R. Ramirez, C. Mattu, G. Ciardelli, B.E. O'Neill, P. Decuzzi, Enhancing photothermal cancer therapy by clustering gold nanoparticles into spherical polymeric nanoconstructs, *Opt. Lasers Eng.* 76 (2016) 74–81.
- A. Kamiar, R. Ghotalou, H. Valizadeh, Preparation: physicochemical characterization and performance evaluation of gold nanoparticles in radiotherapy, *Adv. Pharm. Bull.* 3 (2013) 425–428.
- M. Kaya, Preparation and surface modification of noble metal nanoparticles with tunable optical properties for sers applications, Thesis Middle East Tech. Univ. (2011). <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.632.8006&rep=rep1&type=pdf>.
- N.N. Long, L.V. Vu, C.D. Kiem, S.C. Doanh, C.T. Nguyet, P.T. Hang, N.D. Thien, L.M. Quynh, Synthesis and optical properties of colloidal gold nanoparticles, *J. Phys. Conf. Ser.* 187 (2009) 012026.
- F. Lu, T.L. Doane, J.-J. Zhu, C. Burda, Gold nanoparticles for diagnostic sensing and therapy, *Inorg. Chim. Acta* 393 (2012) 142–153.
- R. Sardar, A.M. Funston, P. Mulvaney, R.W. Murray, Gold nanoparticles: past, present, and future, *Langmuir* 25 (2009) 13840–13851.
- X. Huang, I.H. El-Sayed, W. Qian, M.A. El-Sayed, Cancer cell imaging and photothermal therapy in the near-infrared region by using gold nanorods, *J. Am. Chem. Soc.* 128 (2006) 2115–2120.
- S. Kumar, N. Harrison, R. Richards-Kortum, K. Sokolov, Plasmonic nanosensors for imaging intracellular biomarkers in live cells, *Nano Lett.* 7 (2007) 1338–1343.
- Z.-Z. Lim, J.-E.J. Li, C.-T. Ng, L.-Y.L. Yung, B.-H. Bay, Gold nanoparticles in cancer therapy, *Acta Pharmacol. Sin.* 32 (2011) 983–990.
- J. Roth, The silver anniversary of gold: 25 years of the colloidal gold marker system for immunocytochemistry and histochemistry, *Histochem. Cell Biol.* 106 (1996) 1–8.
- J.-L. Li, L. Wang, X.-Y. Liu, Z.-P. Zhang, H.-C. Guo, W.-M. Liu, S.-H. Tang, *In vitro* cancer cell imaging and therapy using transferrin-conjugated gold nanoparticles, *Cancer Lett.* 274 (2009) 319–326.
- K. Sokolov, M. Follen, J. Aaron, I. Pavlova, A. Malpica, R. Lotan, R. Richards-Kortum, Real-time vital optical imaging of precancer using anti-epidermal growth factor receptor antibodies conjugated to gold nanoparticles, *Cancer Res.* 63 (2003) 1999–2004.
- E.E. Connor, J. Mwamuka, A. Gole, C.J. Murphy, M.D. Wyatt, Gold nanoparticles are taken up by human cells but do not cause acute cytotoxicity, *Small Weinh. Bergstr. Ger.* 1 (2005) 325–327.
- S.A. Costa Lima, S. Reis, Temperature-responsive polymeric nanospheres containing methotrexate and gold nanoparticles: a multi-drug system for theranostic in rheumatoid arthritis, *Colloid Surf. B Biointerfaces* 133 (2015) 378–387.
- R. Shukla, V. Bansal, M. Chaudhary, A. Basu, R.R. Bhonde, M. Sastry, Biocompatibility of gold nanoparticles and their endocytic fate inside the cellular compartment: a microscopic overview, *Langmuir ACS J. Surf. Colloid* 21 (2005) 10644–10654.
- M. Singh, D.C.C. Harris-Birtill, S.R. Markar, G.B. Hanna, D.S. Elson, Application of gold nanoparticles for gastrointestinal cancer theranostics: a systematic review, *Nanomed. Nanotechnol. Biol. Med.* 11 (2015) 2083–2098.
- M. Iqbal, S. Robin, P. Humbert, C. Viennet, G. Agusti, H. Fessi, A. Elaissari, Submicron polycaprolactone particles as a carrier for imaging contrast agent for *in vitro* applications, *Colloid Surf. B Biointerfaces* 136 (2015) 488–495.
- T. Ahmad, I.A. Wani, I.H. Lone, A. Ganguly, N. Manzoor, A. Ahmad, J. Ahmed, A.S. Al-Shihri, Antifungal activity of gold nanoparticles prepared by solvothermal method, *Mater. Res. Bull.* 48 (2013) 12–20.
- A. Akhavan, H.R. Kalhor, M.Z. Kassaee, N. Sheikh, M. Hassanlou, Radiation synthesis and characterization of protein stabilized gold nanoparticles, *Chem. Eng. J.* 159 (2010) 230–235.
- N. Fattori, C.M. Maroneze, L.P.D. Costa, M. Strauss, I.O. Mazali, Y. Gushikem, Chemical and photochemical formation of gold nanoparticles supported on viologen-functionalized SBA-15, *Colloid Surf. Physicochem. Eng. Asp.* 437 (2013) 120–126.
- K. Okitsu, M. Ashokkumar, F. Grieser, Sonochemical synthesis of gold nanoparticles: effects of ultrasound frequency, *J. Phys. Chem. B* 109 (2005) 20673–20675.
- H. Wender, M.L. Andrezza, R.R.B. Correia, S.R. Teixeira, J. Dupont, Synthesis of gold nanoparticles by laser ablation of an Au foil inside and outside ionic liquids, *Nanoscale* 3 (2011) 1240–1245.
- M. Faraday, The Bakerian lecture: experimental relations of gold (and other metals) to light, *Philos. Trans. R. Soc. Lond.* 147 (1857) 145–181.
- C. Li, D. Li, G. Wan, J. Xu, W. Hou, Facile synthesis of concentrated gold nanoparticles with low size-distribution in water: temperature and pH controls, *Nanoscale Res. Lett.* 6 (2011) 440.
- P. Lloret, G. Longinotti, G. Ybarra, L. Socolovsky, C. Moina, Synthesis, characterization and biofunctionalization of magnetic gold nanostructured particles, *Mater. Res. Bull.* 48 (2013) 3671–3676.
- Paul H. Davis, Cody P. Morrisey, Sean M.V. Tuley, Chris I. Bingham, Synthesis and stabilization of colloidal gold nanoparticle suspensions for SERS. In nanoparticles: synthesis, stabilization, passivation, and functionalization, *Am. Chem. Soc.* (2008) 16–30.
- A.R.M. Salcedo, F.B.S.I. Sevilla III, Citrate-capped gold nanoparticles as colorimetric reagent for copper(II) ions, *Philippines Sci. Lett.* 6 (2013) 90–96.
- A. Tabrizi, F. Ayhan, H. Ayhan, Gold nanoparticle synthesis and characterisation, *Hacettepe J. Biol. Chem.* 37 (2009) 217–226.
- J. Turkevich, P.C. Stevenson, J. Hillier, A study of the nucleation and growth processes in the synthesis of colloidal gold, *Discuss. Faraday Soc.* 11 (1951) 55–75.
- M. Brust, M. Walker, D. Bethell, D.J. Schiffrin, R. Whyman, Synthesis of thiol-derivatised gold nanoparticles in a two-phase liquid-liquid system, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* (1994) 801–802.
- D. Ibraheem, M. Iqbal, G. Agusti, H. Fessi, A. Elaissari, Effects of process parameters on the colloidal properties of polycaprolactone microparticles prepared by double emulsion like process, *Colloid Surf. Physicochem. Eng. Asp.* 445 (2014) 79–91.
- M. Iqbal, J.-P. Valour, H. Fessi, A. Elaissari, Preparation of biodegradable PCL particles via double emulsion evaporation method using ultrasound technique, *Colloid Polym. Sci.* 293 (2014) 861–873.
- W. Haiss, N.T.K. Thanh, J. Aveyard, D.G. Fernig, Determination of size and concentration of gold nanoparticles from UV-vis spectra, *Anal. Chem.* 79 (2007) 4215–4221.
- P. Selvakannan, S. Mandal, S. Phadtare, R. Pasricha, M. Sastry, Capping of gold nanoparticles by the amino acid lysine renders them water-dispersible, *Langmuir* 19 (2003) 3545–3549.
- S.K. Ghosh, A. Pal, S. Kundu, S. Nath, T. Pal, Fluorescence quenching of 1-methylaminopyrene near gold nanoparticles: size regime dependence of the small metallic particles, *Chem. Phys. Lett.* 395 (2004) 366–372.
- V. Amendola, M. Meneghetti, Size evaluation of gold nanoparticles by UV-vis spectroscopy, *J. Phys. Chem. C* 113 (2009) 4277–4285.
- H. Akbari, Size measurement of metal and semiconductor nanoparticles via UV-vis absorption spectra, *Dig. J. Nanomater. Biostruct.* 6 (2011) 709–716.
- R. Desai, V. Mankad, S.K. Gupta, P.K. Jha, Size Distribution of silver nanoparticles: UV-visible spectroscopic assessment, *Nanosci. Nanotechnol. Lett.* 4 (2012) 30–34.

- [44] N. Prikhodko, N. Manabaev, N. Maksimova, Plasmon resonance in a-C: H films modified with platinum nanoclusters, *J. Nano- Electron. Phys.* (2014) 6.
- [45] D. Manikandan, S. Mohan, K.G.M. Nair, Absorption and luminescence of silver nanocomposite soda-lime glass formed by Ag⁺-Na⁺ ion-exchange, *Mater. Res. Bull.* 38 (2003) 1545–1550.
- [46] S. Guo, E. Wang, Synthesis and electrochemical applications of gold nanoparticles, *Anal. Chim. Acta* 598 (2007) 181–192.
- [47] M. Iwamoto, K. Kuroda, J. Kanzow, S. Hayashi, F. Faupel, Size evolution effect of the reduction rate on the synthesis of gold nanoparticles, *Adv. Powder Technol.* 16 (2005) 137–144.
- [48] P.N. Njoki, I.-I.S. Lim, D. Mott, H.-Y. Park, B. Khan, S. Mishra, R. Sujakumar, J. Luo, C.-J. Zhong, Size correlation of optical and spectroscopic properties for gold nanoparticles, *J. Phys. Chem. C* 111 (2007) 14664–14669.
- [49] C.-H. Kuo, T.-F. Chiang, L.-J. Chen, M.H. Huang, Synthesis of highly faceted pentagonal- and hexagonal-shaped gold nanoparticles with controlled sizes by sodium dodecyl sulfate, *Langmuir* 20 (2004) 7820–7824.
- [50] S. Link, M.A. El-Sayed, Spectral properties and relaxation dynamics of surface plasmon electronic oscillations in gold and silver nanodots and nanorods, *J. Phys. Chem. B* 103 (1999) 8410–8426.
- [51] H.N. Verma, P. Singh, R.M. Chavan, Gold nanoparticle: synthesis and characterization, *Vet. World* 7 (2014) 72–77.
- [52] N.R. Jana, L. Gearheart, C.J. Murphy, Evidence for seed-mediated nucleation in the chemical reduction of gold salts to gold nanoparticles, *Chem. Mater.* 13 (2001) 2313–2322.
- [53] N.R. Jana, L. Gearheart, C.J. Murphy, Seeding growth for size control of 5–40 nm diameter gold nanoparticles, *Langmuir* 17 (2001) 6782–6786.
- [54] T. Shimizu, T. Teranishi, S. Hasegawa, M. Miyake, Size evolution of alkanethiol-protected gold nanoparticles by heat treatment in the solid state, *J. Phys. Chem. B* 107 (2003) 2719–2724.

Résumé

Cette thèse comporte deux parties principales: la première concerne la synthèse et la fonctionnalisation des nanoparticules d'Or (AuNPs). Les AuNPs sont obtenues par réduction chimique d'un sel métallique (HAuCl_4). Cette partie est consacrée à la synthèse des oligomères thioéther, le DDT-PNVP et le DDT-P4VP, et leurs utilisations comme agents de stabilisation et de fonctionnalisation des AuNPs. Également, des AuNPs, encapsulées par un polymère biodégradable «le polycaprolactone», ont été préparées par la technique double émulsion «w/o/w». Des particules de polymère poly[DMAEMA-co-Styrène] ont été aussi préparées. Les nanomatériaux ainsi synthétisés ont été caractérisés et étudiés par la SEM, TEM, FTIR, RMN¹H et UV-Vis. Dans la deuxième partie, deux capteurs électrochimiques ont été développés, le premier a été élaboré par modification d'un substrat en Or par le DDT-PNVP et utilisé pour la détection du BPA. Le deuxième capteur est élaboré par modification d'une électrode en carbone vitreux en utilisant le poly[DMAEMA-co-Styrène], cette électrode est utilisée pour la détection de la mélamine. La caractérisation des électrodes modifiées a été réalisée par les différentes techniques d'analyse AFM, CV, DPV, EIS et CA. L'étude électrochimique par la spectroscopie d'impédance, a révélé une sensibilité et une sélectivité de ces dispositifs.

Abstract

This thesis has two main parts: the first concerns the synthesis and functionalization of gold nanoparticles (AuNPs). AuNPs are obtained by chemical reduction of metal salt (HAuCl_4). This part is devoted to the synthesis of the thioether oligomers, DDT-PNVP and DDT-P4VP, and their uses as stabilization and functionalization agents for synthesized AuNPs. Also, AuNPs, encapsulated by a biodegradable polymer "polycaprolactone", were prepared by the double emulsion technique "w/o/w". Poly[DMAEMA-co-Styrene] polymer particles were also prepared. The nanomaterials thus synthesized have been characterized and studied by SEM, TEM, FTIR, ^1H NMR and UV-Vis spectroscopy. In the second part, two electrochemical sensors have been developed, the first was elaborated by modification of a gold substrate by DDT-PNVP and used for the BPA detection. The second sensor is developed by modification of a glassy carbon electrode using poly[DMAEMA-co-Styrene]. This electrode is used for the detection of melamine. The characterization of the modified electrodes was carried out by the different analysis techniques AFM, CV, DPV, EIS and CA. The electrochemical study by impedance spectroscopy revealed a sensitivity and a selectivity of these devices.

Résumé

Cette thèse comporte deux parties principales: la première concerne la synthèse et la fonctionnalisation des nanoparticules d'Or (AuNPs). Les AuNPs sont obtenues par réduction chimique d'un sel métallique (HAuCl_4). Cette partie est consacrée à la synthèse des oligomères thioéther, le DDT-PNVP et le DDT-P4VP, et leurs utilisations comme agents de stabilisation et de fonctionnalisation des AuNPs. Également, des AuNPs, encapsulées par un polymère biodégradable «le polycaprolactone», ont été préparées par la technique double émulsion «w/o/w». Des particules de polymère poly[DMAEMA-co-Styrène] ont été aussi préparées. Les nanomatériaux ainsi synthétisés ont été caractérisés et étudiés par la SEM, TEM, FTIR, RMN¹H et UV-Vis. Dans la deuxième partie, deux capteurs électrochimiques ont été développés, le premier a été élaboré par modification d'un substrat en Or par le DDT-PNVP et utilisé pour la détection du BPA. Le deuxième capteur est élaboré par modification d'une électrode en carbone vitreux en utilisant le poly[DMAEMA-co-Styrène], cette électrode est utilisée pour la détection de la mélamine. La caractérisation des électrodes modifiées a été réalisée par les différentes techniques d'analyse AFM, CV, DPV, EIS et CA. L'étude électrochimique par la spectroscopie d'impédance, a révélé une sensibilité et une sélectivité de ces dispositifs.

Abstract

This thesis has two main parts: the first concerns the synthesis and functionalization of gold nanoparticles (AuNPs). AuNPs are obtained by chemical reduction of metal salt (HAuCl_4). This part is devoted to the synthesis of the thioether oligomers, DDT-PNVP and DDT-P4VP, and their uses as stabilization and functionalization agents for synthesized AuNPs. Also, AuNPs, encapsulated by a biodegradable polymer "polycaprolactone", were prepared by the double emulsion technique "w/o/w". Poly[DMAEMA-co-Styrene] polymer particles were also prepared. The nanomaterials thus synthesized have been characterized and studied by SEM, TEM, FTIR, ¹H NMR and UV-Vis spectroscopy. In the second part, two electrochemical sensors have been developed, the first was elaborated by modification of a gold substrate by DDT-PNVP and used for the BPA detection. The second sensor is developed by modification of a glassy carbon electrode, using poly[DMAEMA-co-Styrene]. This electrode is used for the detection of melamine. The characterization of the modified electrodes was carried out by the different analysis techniques AFM, CV, DPV, EIS and CA. The electrochemical study by impedance spectroscopy revealed a sensitivity and a selectivity of these devices.
