

Université de Montréal

**Propriétés des monocouches auto-assemblées du liquide
ionique 1-(12-mercaptododécyl)-3-méthylimidazolium**

Par
Mathieu Ratel

Département de chimie
Faculté des arts et des sciences

Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures
en vue de l'obtention du grade de Maîtrise ès science (M.Sc.)
En chimie

Août 2011

© Mathieu Ratel, 2011

Université de Montréal
Faculté des études supérieures et postdoctorales

Ce mémoire intitulé :

Propriétés des monocouches auto-assemblées du liquide ionique 1-(12-mercaptopodécyl)-
3-méthylimidazolium

Présenté par :
Mathieu Ratel

A été évalué par un jury composé des personnes suivantes :

Professeur Dominic Rochefort, *Ph.D*, président-rapporteur
Professeur Jean-François Masson, *Ph.D*, directeur de recherche
Professeure Françoise Winnik, *Ph.D*, membre du jury

Résumé

Les propriétés d'une nouvelle classe de chimie de surface basée sur les monocouches auto-assemblées de liquides ioniques (ILs-SAMs), ont été étudiées pour une utilisation dans la construction de biocapteurs basés sur la résonance des plasmons de surface (SPR). Les biocapteurs sont utiles pour détecter des biomolécules spécifiques dans une matrice biologique complexe. Cependant, le signal analytique de la biomolécule spécifique peut être masqué par l'adsorption non spécifique de la matrice biologique, produisant une réponse faussement positive. Par ailleurs, l'activité des récepteurs moléculaires est souvent réduite par des techniques d'immobilisation chimique. Ainsi, il est essentiel de déterminer une surface idéale pour la préparation de biocapteurs. Les liquides ioniques sont bien connus pour favoriser l'activité des récepteurs moléculaires et cette étude enquête si cette propriété importante peut se traduire sur des capteurs SPR. Différents liquides ioniques ont été utilisés pour former des monocouches auto-assemblées sur une surface d'or. Les ILs-SAMs sont tous basés sur les sels de mercapto-(chaîne alkyle)_nCH₂-méthylimidazolium avec différentes chaînes alkyles (n = 3, 6, 9, 12) et différents contre-anions (Br⁻, BF₄⁻, PF₆⁻, NTf₂⁻). Des études cinétiques de l'adsorption non spécifique de sérum bovin ont été réalisées sur des capteurs SPR avec un instrument construit sur mesure, basé sur l'interrogation des longueurs d'ondes SPR sur un prisme d'inversion d'image (dove). Par la suite, l'anti-IgG de chèvre sélective à l'IgG humain a été utilisé en tant que modèle pour la confection de biocapteurs sur les ILs-SAMs. En solution, il est possible d'effectuer des échanges du contre-anion des liquides ioniques pour un contre-anion de plus en plus hydrophobe. Cependant, l'échange inverse, soit vers des anions de plus en plus hydrophile, s'avère impossible. Toutefois, il a été observé par les travaux présentés dans ce mémoire, que les liquides ioniques immobilisés sur une surface d'or ont la capacité d'échanger leurs contre-anions réversiblement, procurant une méthode simple de moduler leurs propriétés physico-chimiques. Ce phénomène a été observé par la mesure d'angles de contacts et par les techniques spectroscopiques de l'infrarouge moyen (mid-IR), des photoélectrons de rayon-X (XPS) et par la diffusion Raman exaltée par les surfaces (SERS)

ainsi que par la spectrométrie de masse (MS). La connaissance des propriétés d'échange d'anion est importante pour prédire le comportement de ces surfaces de liquides ioniques dans les tampons et fluides biologiques.

Mots-clés : Liquide ionique, monocouche auto-assemblée, chimie de surface, adsorption non spécifique, biocapteur, résonance des plasmons de surface.

Abstract

The properties of a novel class of surface chemistry based on ionic liquid self-assembled monolayers (IL-SAM) were investigated for use with surface plasmon resonance (SPR) biosensors. Biosensors are useful to detect specific biomolecules in a complex biological matrix. However, the analytical signal of a specific biomolecule can be masked by nonspecific adsorption of the biological matrix, resulting in a false positive response. Moreover, the activity of molecular receptors is often reduced by current immobilization chemistry. Thus, it is essential to determine an ideal surface for the preparation of biosensors. Ionic liquids are well-known to promote the activity of molecular receptors and this study investigates if this important property translates to SPR sensors. Different ionic liquids were used to form self-assembled monolayers on a gold surface. IL-SAM were based on mercapto(alkyl chain)_n methylimidazolium salts with different alkyl chain (n = 3, 6, 9, 12) and counter anions (Br⁻, BF₄⁻, PF₆⁻, NTf₂⁻). Kinetic studies of the nonspecific adsorption of bovine serum were carried on SPR sensors with a custom built instrument based on wavelength interrogation SPR on a dove prism. Thereafter, anti-goat IgG selective to human IgG was used as a model for biosensor employing ILs-SAM surface chemistry. Exchange of counter anion of ionic liquids was believed impossible for most hydrophobic counter anions. However, it was observed that ionic liquids immobilized on a gold surface have the ability to exchange their counter anions reversibly, allowing a simple method to modulate their physico-chemical properties. This phenomenon was observed by contact angle technique and by attenuated total reflectance mid-infrared (ATR mid-IR), X-ray photoelectron spectroscopy (XPS), surface enhanced raman spectroscopy (SERS) and mass spectrometry (MS). Better understanding of the anion exchange properties is crucial in predicting the behaviour of IL-SAM in presence of biological buffers and fluids.

Keywords: Ionic liquid, self-assembled monolayers, surface chemistry, non-specific adsorption, biosensor, surface plasmon resonance.

Table des matières

Résumé.....	i
Abstract.....	iii
Table des matières.....	iv
Liste des tableaux.....	vii
Liste des figures.....	viii
Liste des sigles et des abréviations.....	xiii
Remerciements.....	xvii
Chapitre 1 Introduction.....	1
1.1 Les liquides ioniques.....	1
1.1.1 Historique des liquides ioniques.....	1
1.1.2 Sphères d'application des liquides ioniques.....	3
1.2 Adsorption non spécifique des biomolécules aux surfaces.....	2
1.3 L'adsorption non spécifique des biomolécules contrôlée par des monocouches auto-assemblées.....	4
1.4 Biocapteurs.....	6
1.5 Techniques d'analyses de surface.....	7
1.6 La résonance des plasmons de surface pour les biocapteurs.....	8
1.6.1 Avantage de la technique SPR.....	8
1.6.2 Historique de découverte de la résonance des plasmons de surface.....	9
1.6.3 Analyse de surface par la technique spectroscopique de la résonance des plasmons de surface.....	10
1.7 Utilisation des monocouches auto-assemblées de ILs pour empêcher l'adsorption non-spécifique de protéines et l'utilisation pour les biocapteurs.....	13
1.8 Métathèse de contre-anions dans les liquides ioniques.....	16
1.8.1 Technique de mouillabilité de la surface par angle de contact statique.....	17
1.8.2 Réflexion totale atténuée des infrarouges moyens (ATR mid-IR).....	18
1.8.3 Spectroscopie des photoélectrons de rayon-X (XPS).....	21

1.8.4	Spectrométrie de masse par désorption / ionisation laser, assistée par matrice et analyseur par temps de vol (MALDI-TOF)	23
1.8.5	Spectroscopie des surfaces améliorées pour la diffusion Raman (SERS)	25
1.9	Objectifs de recherche.....	27
Chapitre 2	: Étude de l'adsorption non spécifique du sérum bovin sur des monocouches auto-assemblées de liquides ioniques 1-(12-mercaptopodécyl)-3-méthylimidazolium.....	28
2.1	Introduction et problématique.....	28
2.2	Partie expérimentale.....	30
2.2.1	Confection des monocouches auto-assemblées de liquides ioniques	30
2.2.2	Préparation des échantillons et analyse de l'adsorption non-spécifique de protéines sur les ILs-SAMs par SPR.....	30
2.3	Résultats et discussion	32
2.3.1	Analyse de l'adsorption non-spécifique de sérum bovin sur les ILs-SAMs de 1-(12-mercaptopodécyl)-3-méthylimidazolium	32
Chapitre 3	Synthèse non-conventionnelle du carbonate de 1-(12-mercaptopodécyl)-3-imidazolium, auto-assemblé sur une surface d'or, par échange d'anions.....	41
3.1	Introduction et problématique.....	41
3.2	Modification des liquides ioniques par la métathèse	42
3.3	Étude de la métathèse d'anions sur des liquides ioniques en solution.....	43
3.4	Partie expérimentale.....	46
3.4.1	Fabrication des lames d'Or fonctionnalisées avec des monocouches auto-assemblées de liquides ioniques ILs-SAMs et métathèse d'anion.....	46
3.4.2	Préparation des échantillons pour l'analyse de la mouillabilité des MDMI-X SAMs	47
3.4.3	Préparation des échantillons pour l'analyse des MDMI-X SAMs par ATR mid-IR	47
3.4.4	Préparation des échantillons pour l'analyse des MDMI-X SAMs par XPS	47
3.4.5	Préparation des échantillons pour l'analyse des MDMI-X SAMs par MALDI-TOF	48

3.4.6	Préparation des échantillons pour l'analyse des MDMI-X SAMs par SERS ..	48
3.5	Résultats et discussion	49
3.5.1	Analyses de la mouillabilité des MDMI-X SAMs	49
3.5.2	Analyses des MDMI-X SAMs par XPS	51
3.5.3	Analyses des MDMI-X SAMs par ATR mid-IR	56
3.5.4	Analyses des MDMI-X SAMs par MALDI-TOF	58
3.5.5	Analyses des MDMI-X SAMs par SERS	61
3.6	Conclusion	63
Chapitre 4	Étude de l'adsorption non-spécifique de protéines sur des monocouches auto-assemblées de 1-(alkylthiol)-3-méthylimidazolium avec le contre-anion HCO_3^- et confection de biocapteurs.....	64
4.1	Adsorption non-spécifique des ILs-SAMs possédant tous l'anion bicarbonate ..	64
4.2	Relaxation ultra-lente des liquides ioniques	67
4.3	Transition de conformation pour le C6	69
4.4	Préparation des substrats pour la confection de biocapteurs à base de ILs-SAMs	70
4.5	Confection de biocapteurs à base de 1-carboxyméthyl-3-(12-mercaptododécyl)-imidazolium SAMs	72
4.6	Conclusion	74
Chapitre 5	Conclusion	76
5.1	Perspectives.....	78
	Bibliographie.....	79
	Annexe 1 : Principe physique de la résonance des plasmons de surface	i

Liste des tableaux

Tableau 1.1 : Division de la zone des infrarouges du spectre électromagnétique	19
Tableau 2.1 : Ions présents dans le PBS et dans le sérum bovin.	40
Tableau 3.1 : Fraction de fluor analysée par XPS des différents contre anions pour les SAMs de MDMI.	55

Liste des figures

Figure 1.1 : Croissance du nombre de publications scientifiques portant sur les liquides ioniques	2
Figure 1.2: Structure du nitrate d'éthylammonium.....	3
Figure 1.3 : Structure du chloroaluminate de sodium.....	3
Figure 1.4 : Structure du liquide ionique 1-éthyl-3-méthylimidazolium chloride.....	3
Figure 1.5 : Processus d'adsorption des protéines sur une surface.....	3
Figure 1.6 : Formation de monocouche auto-assemblée d'alkylthiol sur une surface d'or (A) et d'alkylsiloxane sur une surface de silice hydroxylée (B).	5
Figure 1.7 : Structure de la biotine. Les pointillés relient la biotine aux sites de liaison respectifs de la streptavidine.....	6
Figure 1.8 : Principe de base de fonctionnement d'un biocapteur.....	7
Figure 1.9 : Déplacement de la longueur d'onde du pic d'absorption due à un changement de l'indice de réfraction à l'interface métal solution.	11
Figure 1.10 : Déplacement du pic d'absorption due à un changement de l'indice de réfraction à l'interface métal solution lors d'un essai de biodétection.....	12
Figure 1.11 : Représentation d'un essai cinétique d'une biodétection SPR grâce au changement de la longueur d'onde d'absorption.	13
Figure 1.12 : Adsorption non-spécifique vs l'adsorption spécifique sur une surface d'Au non fonctionnalisée.	14
Figure 1.13 : Adsorption non-spécifique vs l'adsorption spécifique sur une surface d'or muni d'une monocouche auto-assemblée de liquide ionique.	14
Figure 1.14 : Structure du liquide ionique 1-(alkylthiol)-3-méthylimidazolium où n = 3, 6, 9 ou 12 et X = Br ⁻ , BF ₄ ⁻ , PF ₆ ⁻ ou NTf ₂ ⁻	15
Figure 1.15 : Structure du liquide ionique 1-carboxyméthyl-3-(12-mercaptopdodecyl)-imidazolium où X = Br ⁻ , BF ₄ ⁻ , PF ₆ ⁻ ou NTf ₂ ⁻	15
Figure 1.16 : Présentation des vecteurs de tension de surface qui régissent le phénomène de mouillabilité d'une surface par un liquide.	17

- Figure 1.17 : Illustration de l'accessoire ATR où le faisceau IR est en réflexion totale interne et produisant une onde évanescente à l'intérieur du cristal en contact avec l'échantillon. 19
- Figure 1.18 : Spectre typique de la spectroscopie infrarouge en mode transmission. Chaque pic représente l'énergie de vibration des liens de différents groupements fonctionnels présents dans la molécule..... 20
- Figure 1.19 : Spectre typique d'un échantillon analysé par XPS. Chaque pic représente l'énergie de liaison, en eV (axe des X), spécifique pour les électrons de cœur de chaque orbital pour tous les atomes présents dans l'échantillon. L'intensité du signal (axe des Y) permet de quantifier les atomes présents dans l'échantillon irradié ⁴⁹. 22
- Figure 1.20 : Spectre typique d'une analyse par spectromètre de masse..... 25
- Figure 1.21 : Spectre typique de la spectroscopie Raman 26
- Figure 2.1 : Étude cinétique de l'adsorption non-spécifique de protéine du sérum bovin sur une monocouche de C12-BF₄ 32
- Figure 2.2 : Étude cinétique en SPR de l'adsorption non-spécifique de protéine du sérum bovin sur les SAMs de C12-Br (A), C12-BF₄ (B), C12-PF₆ (C) et C12-NTf₂ (D)..... 34
- Figure 2.3 : Test de contrôle de l'adsorption non-spécifique de sérum bovin sur une SAM de dodécane-thiol. 35
- Figure 2.4 : Étude cinétique en SPR de l'adsorption non-spécifique de protéines avec plusieurs injections successives de sérum bovin sur les SAMs de C12-Br⁻ (A), C12-BF₄⁻ (B), C12-PF₆⁻ (C) et C12-NTf₂⁻ (D)..... 36
- Figure 2.5 : Étude cinétique en SPR de l'adsorption non-spécifique de protéines sur une SAM de bromure de 1-carboxyméthyl-3-(12-mercaptododécyl)-imidazolium en triplicata (essai 1 (A), essai 2 (B) et essai 3 (C)) 38
- Figure 2.6 : Structure zwitterionique de la molécule 1-carboxyméthyl-3-(12-mercaptododécyl)-imidazolium dans un environnement à pH 7. 39
- Figure 3.1 : RMN ¹H (A), ¹³C (B) et ¹⁹F (C) pour l'enquête de la métathèse d'anions sur le 1-undécyl-3-méthylimidazolium NTf₂⁻ en solution après une exposition au HCO₃⁻. Il

n'y a pas de changement apparaissant dans les spectres RMN avant et après la tentative.....	45
Figure 3.2 : Structure du 1-undécyl-3-méthylimidazolium bis(trifluorométhane)sulfonimide	45
Figure 3.3 : Structure du MDMI-Br.....	49
Figure 3.4 : Réaction d'échange d'anions de MDMI-X (X = Br ⁻ , BF ₄ ⁻ , PF ₆ ⁻ et NTf ₂ ⁻) avec du NaHCO ₃ aqueux, où R est le 12-mercaptododécane immobilisé sur une surface d'Au.....	50
Figure 3.5 : Différence dans l'angle de contact de surface selon la variation des contre-anions. Le contrôle a été effectué avec une monocouche de dodécane-thiol.....	50
Figure 3.6 : Métathèse d'anion analysé par XPS sur la SAM de MDMI-BF ₄ (A) et après l'exposition à l'anion HCO ₃ ⁻ (B). Le pic de 690 eV, représentant l'orbitale 1s du fluor, disparaît après l'exposition à une solution de HCO ₃ ⁻ . Ensuite, la surface a été exposée à nouveau à l'anion BF ₄ ⁻ (C) pour effectuer une métathèse inverse vers l'anion initial soit BF ₄ ⁻	52
Figure 3.7 : Métathèse d'anion analysé par XPS sur la SAM de MDMI-PF ₆ (A) et après l'exposition à l'anion HCO ₃ ⁻ (B). Le pic de 690 eV, représentant l'orbitale 1s du fluor, disparaît après exposition à une solution de HCO ₃ ⁻ . Ensuite, la surface a été exposée à nouveau à l'anion PF ₆ ⁻ (C) pour effectuer une métathèse inverse vers l'anion initial, soit PF ₆ ⁻	53
Figure 3.8 : Métathèse d'anions analysés par XPS sur la SAM de MDMI-NTf ₂ (A) et après l'exposition à l'anion HCO ₃ ⁻ (B). Le pic de 690 eV, représentant l'orbitale 1s du fluor, disparaît après exposition à une solution de HCO ₃ ⁻ . Ensuite, la surface a été exposée à nouveau à l'anion NTf ₂ ⁻ (C) pour effectuer une métathèse inverse vers l'anion initial soit NTf ₂ ⁻	54
Figure 3.9 : Spectre IR de la métathèse d'anions sur MDMI-BF ₄ SAM, après l'exposition au HCO ₃ ⁻ . Le pic à 1074 cm ⁻¹ , représentant la vibration BF (en gris), disparaît après le trempage dans la solution de HCO ₃ ⁻ (en noir).	56

- Figure 3.10 : Spectre IR de la métathèse d'anions sur MDMI-PF₆ SAM, après l'exposition au HCO₃⁻. Le pic à 863 cm⁻¹, représentant la vibration PF (en gris), disparaît après le trempage dans la solution de HCO₃⁻ (en noir). 57
- Figure 3.11 : Spectre IR de la métathèse d'anions sur MDMI-NTf₂ SAM, après l'exposition au HCO₃⁻. Le pic à 1207 et 1353 cm⁻¹, représentant respectivement les vibrations •SO₂ et •CF₃ (en gris), disparaît après trempage dans la solution de HCO₃⁻ (en noir). 57
- Figure 3.12 : Spectre de masse en mode d'ionisation positif pour le MDMI⁺ auto-assemblé sur une surface d'au 283.8 m/z (A) et le spectre de masse en mode d'ionisation négatif pour le Br⁻ à 79 et 81 m/z (B). 59
- Figure 3.13 : Structure du MDMI-carboxylate. Le groupement carboxylate peut se retrouver sur les positions 2, 4 ou 5 du noyau imidazolium. 59
- Figure 3.14 : Spectre SERS du RT-IL SAM de MDMI-X immobilisé sur des Au-NPs avant (A) et après (B) une métathèse avec l'anion HCO₃⁻. X = Br⁻ (mauve), BF₄⁻ (bleu), PF₆⁻ (noir) and NTf₂⁻ (rouge). 62
- Figure 4.1 : Étude cinétique en SPR de l'adsorption non-spécifique de sérum bovin sur des ILs-SAMs des chaînes alkyles C3 (A), C6 (B), C9 (C) et C12 (D) possédant tous le contre-anion HCO₃⁻. 65
- Figure 4.2 : Étude cinétique de l'adsorption non-spécifique de multiple injection de sérum bovin sur les ILs-SAMs des chaînes alkyles C3 (A), C9 (B) et C12 (C). 66
- Figure 4.3 : Dépendance temporelle de la tension interfaciale (a) et du courant (b) lors d'un changement de potentiel de -200 à -400 mV à t = 0 s à l'interface TOMA⁺-C₄C₄N⁻ et 0,1 M LiCl en solution aqueuse. Dépendance temporelle (c) du courant pour les 12 premières secondes après l'étape de potentiel. Reproduit de la référence ⁸⁴ 68
- Figure 4.4 : Structure du liquide ionique 1-carboxyméthyl-3-(12-mercaptododecyl)-imidazolium 71
- Figure 4.5 : Biocapteur SPR de l'IgG humain sélectif à l'anti-IgG de chèvre, conçu sur une SAM de 16-MHA. 72

Figure 4.6 : Étude SPR, en temps réel, de la construction de biocapteurs avec les SAMs de 1-carboxyméthyl-3-(12-mercaptododécyl)-imidazolium Br ⁻ (A), BF ₄ ⁻ (B), PF ₆ ⁻ (C) et NTf ₂ ⁻ (D).	73
Figure A.1 : Mouvement des électrons libres à la surface d'un métal diélectrique dans le plan XZ.	i
Figure A.2 : Région où se situe le phénomène des plasmons de surface à l'interface métal /solution.	ii
Figure A.3 : Montage SPR selon la configuration de Kretschmann.	iii
Figure A.4 : Spectre théorique du couple θ/λ où l'excitation des plasmons de surface est possible.	iv
Figure A.5 : Spectre typique de la spectroscopie SPR. L'axe des X représente une variation de la longueur d'onde incidente ou une variation de l'angle incident du photon.	v

Liste des sigles et des abréviations

Note : Pour simplifier la consultation des références, les abréviations en anglais sont utilisées dans ce mémoire. La description en français est donnée, puis celle en anglais est inscrite en *italique*.

16-MHA : Acide 16-mercapohexadécanoïque

ANS: Adsorption non-spécifique

Anti-IgG : Anti immunoglobuline gamma

APCI : Ionisation chimique à pression atmosphérique, *atmospheric pressure chemical ionization*

ATR : Réflexion totale atténuée, *attenuated total reflectance*

Au-NP : Nanoparticule d'or

CI : Ionisation chimique, *chemical ionization*

EDC : Éthyl(diméthylaminopropyl) carbodiimide

EI : Ionisation électronique, *electronic ionisation*

ELISA : Dosage d'immunoabsorption par enzyme liée, *enzyme-linked immunosorbent assay*

E_{pzc} : Potentiel de zéro charge

ESI : Ionisation par électro-nébulisation, *electrospray ionisation*

ϵ_m : Constante diélectrique du métal

ϵ_s : Constante diélectrique de la solution

FAB : Bombardement d'atomes rapides, *fast atoms bombing*

FT-ICR : Résonance cyclotronique par transformée de Fourier, *Fourier transform ion cyclotron resonance*

HCO_3^- : Anion bicarbonate

IgG : Immunoglobuline gamma

IL: Liquide ionique, *ionic liquid*

IL-SAM: Monocouche auto-assemblée de liquide ionique, *ionic liquid self-assembled monolayer*

IT : trappes ioniques, *ion trap*

k_x : Vecteur d'onde de la lumière en réflexion totale interne

k_{sp} : Vecteur d'onde du plasmon de surface

l_d : Profondeur de propagation du plasmon de surface

m : La sensibilité de la surface en SPR

MALDI : Désorption / ionisation laser assisté d'une matrice, *matrix assisted laser desorption / ionisation*

MDMI et C12 : 1-(12-mercaptododécyl)-3-méthylimidazolium

MNMI et C9 : 1-(9-mercaptononyl)-3-méthylimidazolium

MHMI et C6: 1-(6-mercaptohexyl)-3-méthylimidazolium

MPMI et C3: 1-(3-mercaptopropyl)-3-méthylimidazolium

Mid-IR : Région spectrale de l'infrarouge moyen, *mid-infrared*

MM : Masse molaire

MS : Spectrométrie de masse, *mass spectrometry*

m/z : Ratio masse sur charge

NHC : N-hétérocyclique

NHS : N-Hydroxysuccinimide

NTf_2^- : Bis(trifluorométhane)sulfonimide

PBS : Tampon de phosphate salin, *phosphate buffer saline*

Q : Quadripôle, *quadrupole*

RIU: Unité d'indice de réfraction, *refractive index unit*

RMN : Résonance magnétique nucléaire

RT-IL: Liquide ionique à température pièce, *room temperature ionic liquid*

SAM: Monocouche auto-assemblée, *self-assembled monolayer*

SERS : Diffusion Raman exaltée par les surfaces, *surface enhanced raman spectroscopy*

SPR: Résonance des plasmons de surface, *surface plasmon resonance*

TFA: acide Trifluoroacétique

TOF: Temps de vol, *time of flight*

TOMA⁺-C₄C₄N⁻: Trioctylmethylammonium bis(nonafluorobutanesulfonyl)-amide

TS-IL : Liquide ionique spécifique à la tâche, *task specific ionic liquid*

X : Contre anion Br⁻, BF₄⁻, PF₆⁻ ou NTf₂⁻

XPS : Spectroscopie des photoélectrons de rayon-X, *X-ray photoelectron spectroscopy*

°C: Température en degré Celsius

Γ: Densité de surface

ρ: Masse volumique

Δ: Variation

λ: Longueur d'onde

η : Indice de réfraction

γ : Tension de surface ou interfaciale

η_D: Indice de réfraction du prisme produisant la réflexion totale interne

θ: Angle d'incidence du photon

*Celui qui se perd dans sa passion est moins
perdu que celui qui perd sa passion.*

Saint-Augustin

Remerciements

À mes parents: Jacinthe Paquette et Daniel Ratel, qui, sans eux, je n'aurais jamais été si loin dans la vie. Qui m'ont supporté tant dans les joies que dans les peines. Qui m'ont disputé, conseillé, sermonné, réconforté, enduré et j'en passe. C'est grâce à vous si je suis devenu l'homme que je suis aujourd'hui: Merci énormément!

À ma sœur, Marie-Christine Ratel, avec qui, malgré les multiples anicroches rencontrées pendant notre jeunesse, nous avons su développer une très grande amitié et complicité.

À mon amour, Laurence St-Arnaud, qui a non seulement lu, commenté et corrigé ce mémoire, mais m'a supporté pendant cette dernière année et demi et pour plusieurs années futures: Je t'aime!

À la famille de ma bien-aimée: Julien St-Arnaud, Sylvie Charest et Dr Marc St-Arnaud, qui m'ont très chaleureusement accueilli au sein de leur famille. Je tiens aussi à remercier personnellement le Dr Marc St-Arnaud pour tous ses excellents conseils d'ordre scientifique qui mon grandement servi depuis le début de ma maîtrise et ce jusqu'à la rédaction de mon premier article et de mon mémoire: Merci!

À mes amis: Dominic Asselin, Mathieu Nantel, Pascal Bélanger, Patrick Collin Emmanuel Tessier, Sébastien Major, Raphael Vallé: Merci pour tout le bon temps passé ensemble.

À tous mes comparses: Mon mentor de chimie Olivier Bolduc, Maxime Couture, Julien Breault-Turcot, Sandy Shuo Zhao, Ludovic Live, Audrey Provencher-Girard, Debby Correia Ledo et Rita Faid. C'est toujours agréable de se réveiller et d'aller travailler le matin en votre compagnie: Merci pour votre support quotidien!

À mon directeur de recherche, Jean-François Masson, celui-qui-décèle-les-failles plus vite que son ombre. N'abandonne jamais ta grande passion pour la chimie et continue toujours à nous la transmettre: Merci de m'avoir laissé ma chance!

Chapitre 1: Introduction

Les travaux exposés dans ce mémoire portent sur divers aspects des propriétés physico-chimiques des liquides ioniques immobilisés aux surfaces d'or, incluant l'adsorption non-spécifique de protéines, la fabrication de biocapteur SPR ainsi qu'une étude de la métathèse des contre-anions sur des monocouches auto-assemblées de liquide ioniques. Ce mémoire est divisé en trois sections. Le chapitre 1 portera sur la présentation des liquides ioniques, de l'adsorption non-spécifique de protéines sur les surfaces, de biocapteur, ainsi qu'un survol des différentes techniques analytiques utilisées. Le chapitre 2 portera sur l'adsorption non-spécifique de protéine et sur la fabrication de biocapteur sur des monocouches auto-assemblées de liquide ionique. Le chapitre 3 présentera l'étude de la métathèse des contre-anions de liquides ioniques. Finalement le dernier chapitre sera la conclusion et les perspectives futures.

1.1 Les liquides ioniques

1.1.1 Historique des liquides ioniques

Au cours des dernières années, une nouvelle catégorie de sel, les liquides ioniques (ILs), a connu une forte croissance d'applications diverses. Les sels inorganiques conventionnels, par exemple le NaCl, possèdent de très hauts points de fusion, ce qui les rend difficilement utilisables en tant que solvants pour les réactions chimiques et biologiques. Les liquides ioniques, quant-à-eux, sont des sels ayant une structure cationique organique en combinaison avec un anion inorganique ou organique. Cette différence structurelle avec les sels inorganiques permet d'obtenir des températures de fusion beaucoup plus basses, ouvrant ainsi la voie à des sels organiques dans leur état liquide à température ambiante. L'adoption de telles idées a suscité l'utilisation et le développement des liquides ioniques dans de nombreux domaines de la chimie au cours de la dernière décennie, mais plus particulièrement depuis les 5 dernières années (Fig. 1.1).

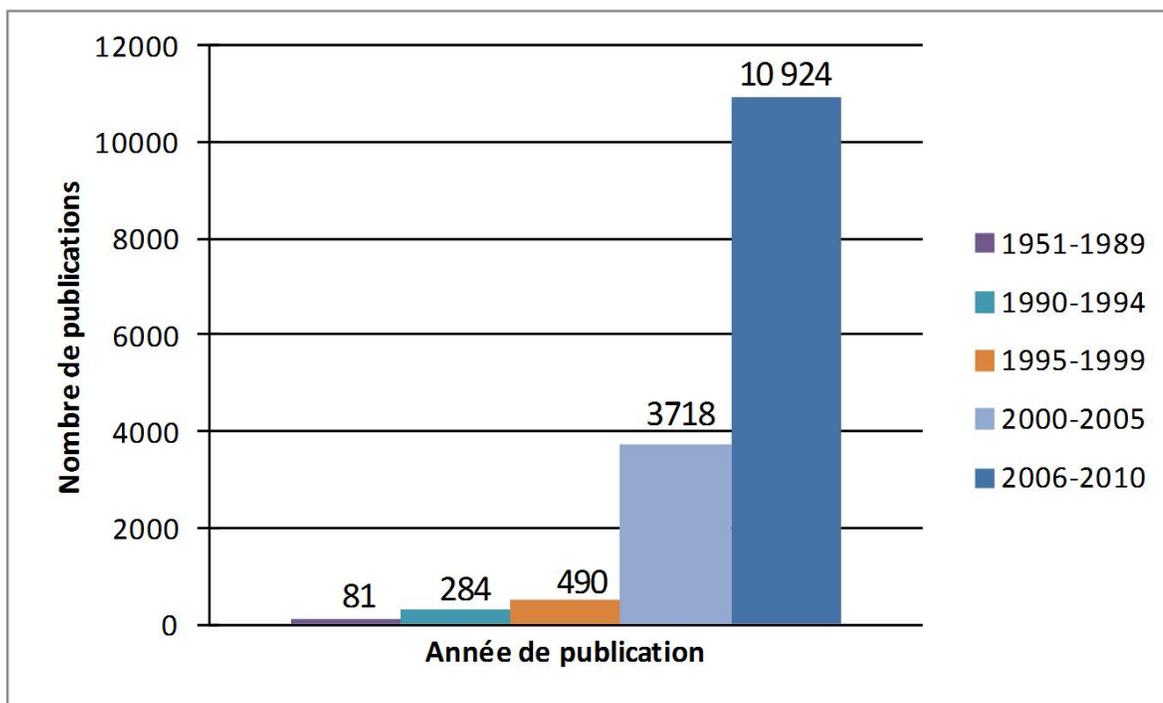


Figure 1.1 : Croissance du nombre de publications scientifiques portant sur les liquides ioniques. Les nombres de publications proviennent de la base de données Thomson-Reuters par une recherche utilisant le mot clé *ionic liquid*.

La définition du terme « liquide ionique » inclue tous sels organiques possédant un point de fusion près de la température pièce, *i.e.* 25°C. De façon plus spécifique, ils doivent posséder un point de fusion entre 0°C et 100°C. Quelques jalons sont importants dans le développement des liquides ioniques. En 1914, le nitrate d'éthylammonium fût le premier liquide ionique à température pièce (RT-ILs) à être rapporté dans la littérature ¹ (Fig. 1.2). Cette découverte suscitât peu d'intérêt initialement, car la deuxième génération de liquides ioniques arriva seulement en 1951 par la découverte du chloroaluminate de sodium ² (Fig. 1.3). À cette époque, ces molécules ne provoquèrent que peu d'intérêt en tant que solvant chimique. Ce fût la découverte du chlorure de 1-éthyl-3-méthylimidazolium en 1982 par Wilkes et coll. qui a inversé la tendance et la popularité de ces sels organiques a crût depuis ³ (Fig. 1.4). Cette popularité est en partie due aux multiples combinaisons possibles de

structures cationiques combinées à un large éventail d'anions. Ces possibilités procurent aux liquides ioniques une grande versatilité dans leurs propriétés physico-chimiques. Ainsi, les scientifiques ont déterminé des combinaisons possibles de couples cation/anion possédant une grande stabilité à l'air et à l'eau ⁴, une pression de vapeur négligeable ⁵ et une grande résistance thermique ⁶, parmi les propriétés les plus intéressantes.

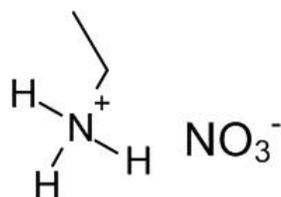


Figure 1.2: Structure du nitrate d'éthylammonium

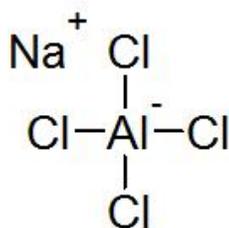


Figure 1.3 : Structure du chloroaluminate de sodium

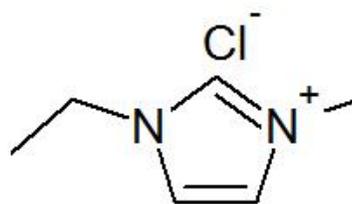


Figure 1.4 : Structure du liquide ionique 1-éthyl-3-méthylimidazolium chloride

1.1.2 Sphères d'application des liquides ioniques

Les ILs ont connu un accroissement de popularité vis-à-vis des solvants organiques traditionnels, dû aux nombreux inconvénients que peuvent engendrer ces derniers : une grande toxicité, inflammabilité et volatilité. Ces propriétés conférant à ces solvants un grand pouvoir de diffusion et par conséquent, un danger pour l'environnement ⁷. Ainsi, les ILs peuvent être une solution dans le développement de solvants propres et recyclables en raison de leur potentiel comme alternative écologique aux solvants organiques traditionnels ⁸. Ils peuvent être utilisés dans les systèmes à très basse pression ainsi qu'éliminer les

problèmes de confinement de solvants usés due à une pression de vapeur négligeable, *e.g.* 12 μPa pour le 1-éthyl-3-méthyl imidazolium bis(trifluorométhane)sulfonimide (NTf_2^-) pour une température de 25°C⁹. Ils sont de bons solvants pour un large éventail de matériaux organiques et inorganiques, permettant des combinaisons inhabituelles de réactifs pouvant être introduits dans la même phase. Ils sont une bonne alternative aux solvants organiques lors de synthèses¹⁰ et pour la catalyse¹¹. Dépendamment de la combinaison du cation et de l'anion, les liquides ioniques peuvent être immiscibles avec certains solvants organiques, produisant une phase non aqueuse et polaire dans un système à deux phases, idéale pour des extractions liquide-liquide¹² ainsi que dans les techniques de séparation⁹. Aussi, les ILs peuvent être utilisés en électrochimie¹³ car, dépendamment du contre anion présent, une électrode de travail fonctionnalisée avec un IL peut influencer le passage des électrons sur l'électrode en question¹⁴. Les ILs se retrouvent même dans le domaine des nanotechnologies, par exemple, ils furent utilisés dans la synthèse et la stabilisation de nanoparticules d'or¹⁵. Finalement, ils sont aussi de plus en plus utilisés dans les dispositifs de stockages d'énergie, pour les cellules solaires^{16,17} ainsi que dans les piles ioniques¹⁸.

1.2 Adsorption non spécifique des biomolécules aux surfaces

La fabrication de matériaux est très importante dans les domaines biotechnologiques, biologiques et médicaux. En effet, le dosage immuno-enzymatique (ELISA), la culture cellulaire, les matériaux pour les lentilles de contact, les prothèses dentaires, les cathéters et les dispositifs de délivrance de médicaments et les matériaux pour la chromatographie et de stockage des protéines¹⁹, utilisent tous une surface exposée à des milieux biologiques. Le manque de contrôle sur les processus d'adsorption de biomolécule limite ces applications. Les surfaces doivent avoir des propriétés physico-chimiques bien définies, pour éviter le processus d'adsorption des protéines en matrice complexe. En effet, le premier événement qui se produit habituellement, au contact de matériaux synthétiques avec une matrice biologique, est une adsorption des protéines en solution à leur surface. La

motivation première de ces recherches est la création de matériaux biocompatibles. Dans certains cas, il est très important de réduire au maximum l'adsorption de protéines aux surfaces. Par exemple, un minimum d'adsorption est essentiel sur des prothèses pour éviter un rejet par le corps ²⁰ ou sur des biocapteurs pour ne pas interférer dans le signal analytique ²¹. En raison de l'importance de ce phénomène, l'adsorption des protéines sur des surfaces artificielles a été la cible de très nombreuses études dans le but de comprendre les interactions des matériaux synthétiques avec des protéines. Cependant, malgré toutes ces études, il n'existe toujours pas de modèle mécanistique pour décrire avec précision les interactions des protéines avec une surface au niveau moléculaire.

Les processus d'adsorption sont compliqués et ce, même dans le cas le plus simple où une seule protéine s'adsorbe sur une surface uniforme et bien définie (Fig. 5).

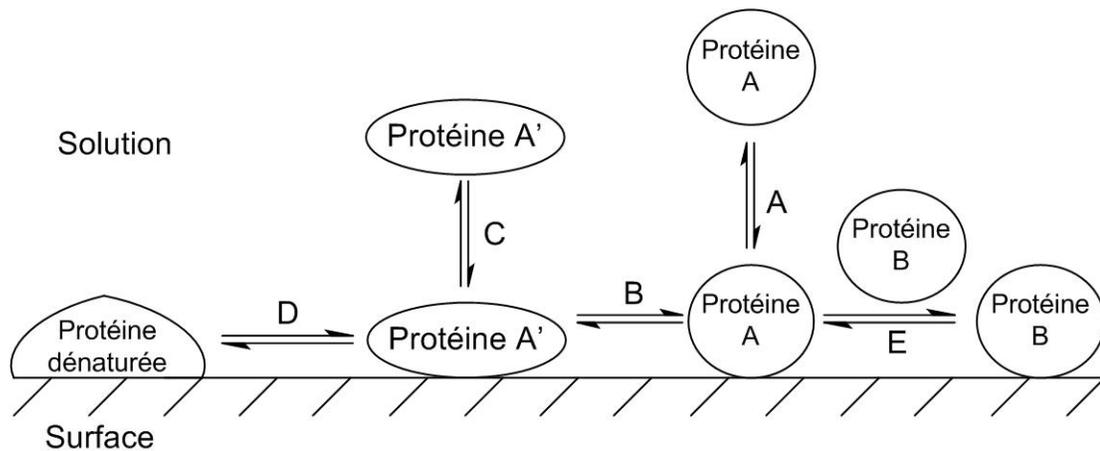


Figure 1.5 : Processus d'adsorption des protéines sur une surface.

Après une adsorption initiale, ce processus étant réversible, la protéine peut se dissocier de la surface et revenir en solution (Étape A); changer d'orientation / de conformation tout en conservant son activité biologique (Étape B) et par la suite se désorber de la surface (Étape C); se dénaturer (changement irréversible de conformation) et perdre son activité (Étape D); être échangée avec une autre protéine en solution (Étape E) ¹⁹. Ces processus peuvent être

encore plus complexes dû à une gamme d'états conformationnels altérés et/ou dénaturés, rendue accessible à la protéine par des microenvironnements créés à la surface où il peut y avoir des hétérogénéités. Aussi, les interactions protéine-protéine peuvent dominer les interactions protéine-surface. La présence de plusieurs protéines peut augmenter de beaucoup le degré de complexité pour le développement de modèles mécanistiques d'adsorption protéinique ²². Bien que l'objectif de ce mémoire ne soit pas de mieux comprendre ces interactions, il est important de les prendre en considération lors du design de surface protégeant contre l'adsorption non-spécifique.

1.3 L'adsorption non spécifique des biomolécules contrôlée par des monocouches auto-assemblées

Pour contrôler les interactions entre des molécules biologiques en solution et la surface des matériaux, celle-ci peut-être recouverte d'une monocouche auto-assemblée (SAM) permettant le contrôle des propriétés physico-chimiques de l'interface matériaux / milieu biologique à l'échelle moléculaire. Par exemple, la formation de ces SAMs est possible par l'adsorption de chaînes d'alcane thiolés sur les surfaces d'or ou d'alkylsilanes sur les surfaces hydroxylées, produisant des surfaces organiques bien ordonnées (Fig. 1.6). La formation de SAMs, en particulier celles formées par l'adsorption d'alcanethiols sur l'or, a été développée pour étudier les interactions des surfaces avec des protéines.

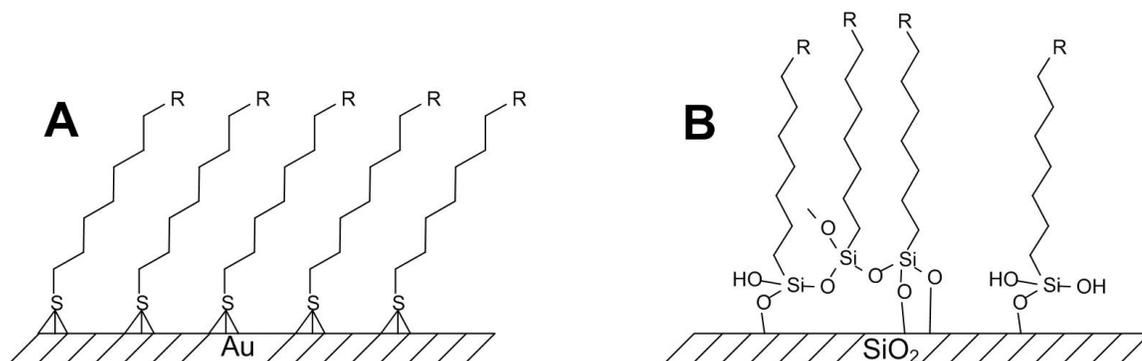


Figure 1.6 : Formation de monocouche auto-assemblée d'alkylthiol sur une surface d'or (A) et d'alkylsiloxane sur une surface de silice hydroxylée (B).

Étant donné que les SAMs modulent les propriétés physico-chimiques des surfaces sur lesquelles elles sont adsorbées, les molécules organiques, dû à la variété de groupements fonctionnels disponibles, offrent la capacité de contrôler la composition et les propriétés des SAMs. Grâce à la synthèse organique, combinée aux méthodes pouvant moduler leurs groupements fonctionnels, ce type de surface est maintenant le meilleur disponible pour les études fondamentales mécanistiques de l'adsorption des protéines.

Une catégorie de molécules, les surfaces zwitterioniques, telles les polycarboxy bétaines²³, ont démontré des propriétés anti-adhésives intéressantes, tout en permettant la fabrication de biocapteurs. Toutefois, la création de SAMs de liquides ioniques pourraient être une bonne alternative aux composés organiques traditionnels, car ils sont eux aussi zwitterioniques et très modelables, dû aux nombreuses combinaisons possibles des différentes structures cationiques avec la grande diversité des contre-anions, en plus d'être beaucoup moins toxiques. De plus, certaines études ont commencé à rapporter l'utilisation des « task-specific » TS-ILs SAM pour se lier à une surface d'Au. Il serait donc intéressant d'étudier les propriétés des IL-SAM pour tenter de réduire l'adsorption non spécifique de protéines.

1.4 Biocapteurs

Servant pour la biodétection, les SAMs sont de plus en plus utilisées pour adapter les mécanismes de reconnaissance moléculaire. En effet, la conception de surfaces sur lesquelles se lie un analyte ciblé est particulièrement importante pour les biocapteurs, en chromatographie d'affinité, pour le revêtement des implants et organes artificiels ¹⁹. Ces surfaces doivent posséder une spécificité pour une protéine particulière et simultanément résister à l'adsorption non spécifique des autres protéines. Les systèmes d'immobilisation basés sur les interactions biotine-streptavidine ont été largement étudiés par Spinke et coll. ²⁴. Ils ont étudié la reconnaissance de la streptavidine par des SAMs modifiées avec des ligands biotine (Fig. 1.7).

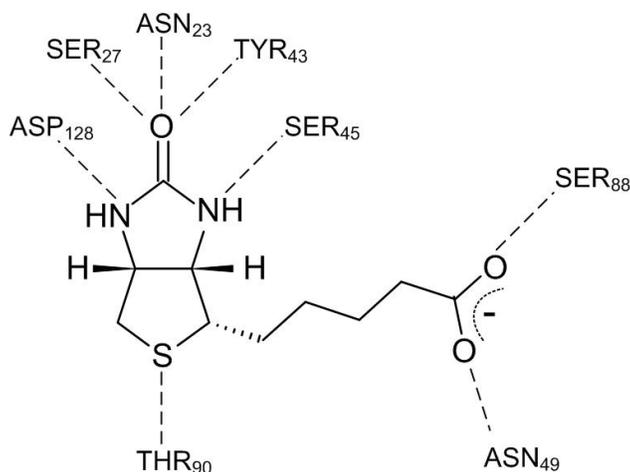


Figure 1.7 : Structure de la biotine. Les pointillés relient la biotine aux sites de liaison respectifs de la streptavidine.

Les interactions de la streptavidine et sa liaison à la biotine, ont été très bien caractérisées par une grande variété de méthodes. Elle se lie à la biotine avec une constante d'affinité très forte ($K_a = 10^8 \text{ M}^{-1}$) ²⁵, ce qui rend le processus de liaison efficace et quasi-irréversible. Cette haute constante d'affinité non covalentes entre ces deux molécules rend leurs liaisons une des plus fortes connues dans la nature. Ainsi, comme la biotine peut

facilement être fonctionnalisée pour donner une grande variété d'espèces biotinylées, la paire streptavidine / biotine peut parfaitement être adaptée pour la construction de systèmes supramoléculaires pour les essais immunologiques de type ELISA. Ainsi, la création de biocapteurs basés sur la streptavidine / biotine a menée à la détection d'antibiotiques (*e.g.* chloramphénicol ²⁶), de virus (*e.g.* l'hépatite C ²⁷ et le virus de la grippe H1N1 ²⁸), de cancers (*e.g.* le cancer de la prostate ²⁹), parmi quelques exemples.

Les biocapteurs sont en fait des éléments de reconnaissance moléculaires accompagnés d'un transducteur. Les éléments de reconnaissance moléculaires sont des récepteurs biomoléculaires spécifiques à une biomolécule. Ils dépendent donc du choix de l'analyte à détecter. Le transducteur quant à lui agit lors de l'analyse en convertissant l'évènement de reconnaissance moléculaire en un signal facilement mesurable par un détecteur (Fig. 1.8).

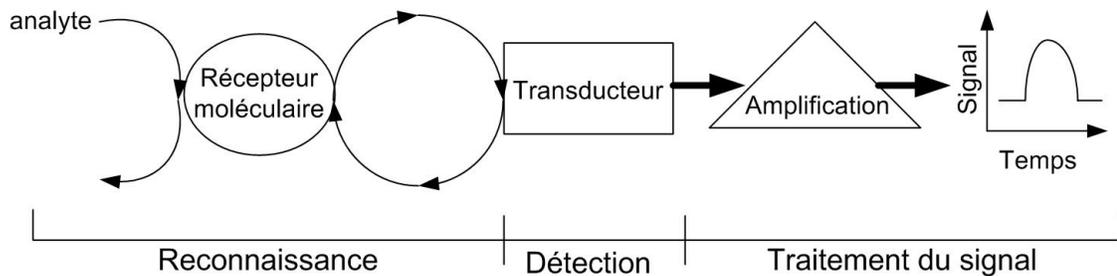


Figure 1.8 : Principe de base de fonctionnement d'un biocapteur

1.5 Techniques d'analyses de surface

Il existe de nombreuses techniques analytiques pouvant être utilisées pour mesurer l'adsorption des protéines sur des surfaces. Ces techniques doivent être compatibles avec une variété de surfaces et doivent pouvoir effectuer des mesures *in situ* et en temps réel ²². Parmi les techniques disponibles, les méthodes mesurant la propriété diélectrique d'une résonance interface / surface : la spectroscopie des plasmons de surface ³⁰, l'interférométrie

par ondes guidées ³¹ et l'ellipsométrie ³² sont couramment utilisés. Aussi, les méthodes mesurant les changements de fréquence de résonance d'un matériel piézo-électrique, *e.g.* les microbalances de cristaux de quartz ³³, sont particulièrement bien adaptées pour les analyses de surfaces. La mesure de changements de propriétés de la solution environnante et à l'interface est l'inconvénient principal de ces méthodes. Celles-ci ne fournissent pas ou peu de détail sur les interactions au niveau atomique ou moléculaire. Ainsi, les études de diffraction des rayons-X sur des monocouches et les techniques de spectroscopie vibrationnelle sont encore les principales techniques fournissant des informations à l'échelle moléculaire. Néanmoins, la résonance des plasmons de surface est particulièrement bien adaptée pour l'analyse des SAMs, car les deux techniques, SPR et la formation de monocouches auto-assemblées, utilisent de minces couches d'Au comme substrats et la technique SPR mesure en temps réel les interactions moléculaire se produisant à l'interface de ce film métallique.

1.6 La résonance des plasmons de surface pour les biocapteurs

1.6.1 Avantage de la technique SPR

Une technique couramment utilisée pour l'analyse des surfaces auto-assemblées de liquides ioniques est la spectroscopie par résonance des plasmons de surface. Comme mentionné précédemment, l'adsorption non-spécifique de protéines est un problème majeur pour les matériaux qui entrent en contact avec des environnements biologiques. En utilisant la résonance des plasmons de surface, ce problème d'adsorption non spécifique est d'autant plus critique pour les dispositifs SPR due à l'augmentation drastique de l'indice de réfraction à l'interface surface / liquide lors de l'adsorption de protéines. Néanmoins, l'optimisation de la technique SPR est souhaitable, car la technique possède plusieurs avantages non négligeables pour la création de nouveaux biocapteurs :

1. L'injection de marqueurs fluorescents ou radioactifs chez le patient est obsolète;
2. Le temps de préparation des échantillons pour la détection est grandement réduit;
3. L'analyse est très rapide et en temps réel;
4. La grande flexibilité des systèmes SPR permet l'adaptation pour la détection d'une grande variété d'analyte.

Ainsi, la création de nouveaux biocapteurs, autre que le glucomètre et le test de grossesse, permettrait à la médecine moderne de diagnostiquer beaucoup plus rapidement de graves maladies, *e.g.* les cancers. Comme les chances de survie du patient diminuent avec l'avancement de la maladie, un diagnostic précoce permettrait d'augmenter de beaucoup le succès des traitements et ainsi rallonger l'espérance de vie des patients atteints par la maladie. L'adsorption non spécifique des protéines est présentement un facteur important limitant des nouvelles technologies. Ainsi, il sera utile de procéder à une étude sur l'applicabilité des liquides ioniques, en tant que monocouches protectrices des interactions protéiques avec les surfaces.

1.6.2 Historique de la découverte de la résonance des plasmons de surface

La première découverte qui introduisit le phénomène de la résonance des plasmons de surface au monde scientifique fut effectuée par Wood en 1902³⁴. En observant le spectre d'une source lumineuse diffractée par un réseau recouvert d'une couche métallique, Wood remarqua de fines bandes sombres dans le spectre diffracté. À cette époque, il ne put définir ce phénomène qui fut baptisé l'anomalie de Wood. Bien qu'il y ait eu plusieurs recherches sur ce phénomène entrepris par Wood³⁵ lui-même et Rayleigh³⁶, il s'écoula 40 ans avant que Fano entreprit des analyses théoriques sur ce phénomène³⁷. Bien que les analyses apportées par Fano raffinèrent la compréhension du phénomène, une explication complète n'a été possible qu'en 1968 par Otto³⁸, Kretschmann et Raether³⁹ en rapportant l'excitation des plasmons de surface par un dispositif utilisant la réflexion totale interne et introduisit

par le fait même la résonance des plasmons de surface dans l'optique moderne. Suite à leurs travaux, l'intérêt pour la SPR a considérablement augmenté à partir de ce moment pour la caractérisation de films minces et pour toutes autres études de processus se déroulant sur des interfaces métalliques. La première application de la SPR pour la détection de biomolécules à base de capteurs, a été démontrée en 1983 par Liedberg et coll.⁴⁰ pour la détection de gaz et de biomolécules.

1.6.3 Analyse de surface par la technique spectroscopique de la résonance des plasmons de surface

La technique de la résonance des plasmons de surface (SPR) est une méthode optique qui mesure le changement d'indice de réfraction, *i.e.* 10^{-6} à 10^{-7} unité d'indice de réfraction (RIU), sur des métaux possédant une constante diélectrique appropriée pour la création du plasmon de surface⁴¹. Lorsqu'il y a un changement à la surface du métal diélectrique, *e.g.* formation d'une monocouche auto-assemblée, ou l'immobilisation d'un récepteur moléculaire, d'une biomolécule ou de protéines non-spécifique, il y a un changement local de l'indice de réfraction à la surface. Il est donc possible d'exploiter cette précision dans la mesure de l'indice de réfraction pour la création de biocapteur à la surface d'un métal avec des limites de détection pouvant atteindre 10^{-9} – 10^{-12} M.

Il a été mentionné auparavant que les plasmons de surface sont sensibles aux changements à l'indice de réfraction. L'équation 1.1 montre la relation entre la constante diélectrique et l'indice de réfraction.

Où η_s est l'indice de réfraction de la solution en contact avec le métal et ϵ_s est la constante diélectrique de la solution en contact avec le métal. Le vecteur d'onde du plasmon de surface (Éq. A.2) peut ainsi être approximé par :

Où k_{sp} est le vecteur d'onde du plasmon de surface et λ est la longueur d'onde de la lumière incidente. Donc, lorsqu'il y a un changement de la constante diélectrique à la surface du métal, il y aura également un changement de l'indice de réfraction dans le champ du plasmon de surface. Dans toutes les expériences SPR de ce mémoire, l'angle du faisceau incident sera fixé à $72,8^\circ$ par rapport à la normale du film d'or. Ainsi, un changement d'indice de réfraction implique un changement de longueur d'onde d'excitation du plasmon de surface (Fig. 1.9).

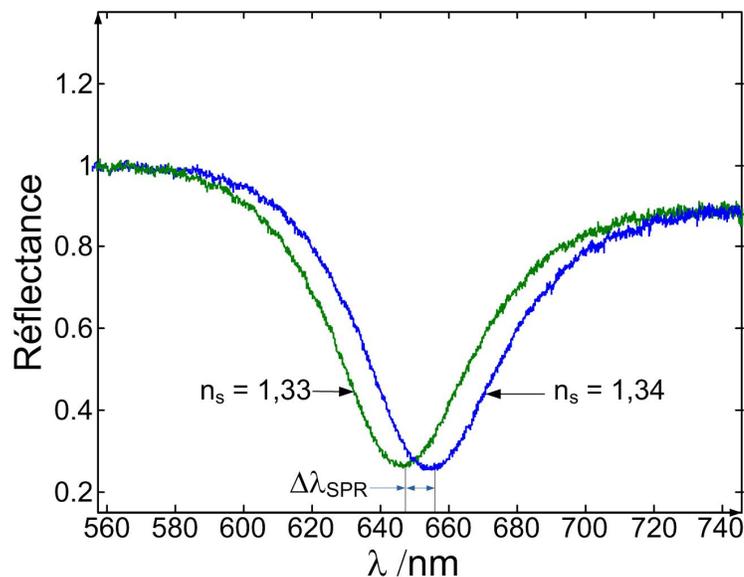


Figure 1.9 : Déplacement de la longueur d'onde du pic d'absorption dû à un changement de l'indice de réfraction à l'interface métal solution.

La mesure de biomarqueurs est un domaine d'application de grande importance des sondes SPR. Pour cette application, une sonde est recouverte du récepteur moléculaire spécifique à la molécule biologique d'intérêt. Lors de l'attachement de la molécule à son

récepteur, la molécule biologique déplace le milieu aqueux dans la proximité de la sonde SPR. Étant donné que l'indice de réfraction d'une protéine (molécule biologique typique, approx. 1,57 RIU) est significativement plus grand que celui du milieu aqueux (1,33-1,34 RIU), l'indice de réfraction apparent à la surface augmentera causant un changement de signal SPR (Fig. 1.10).

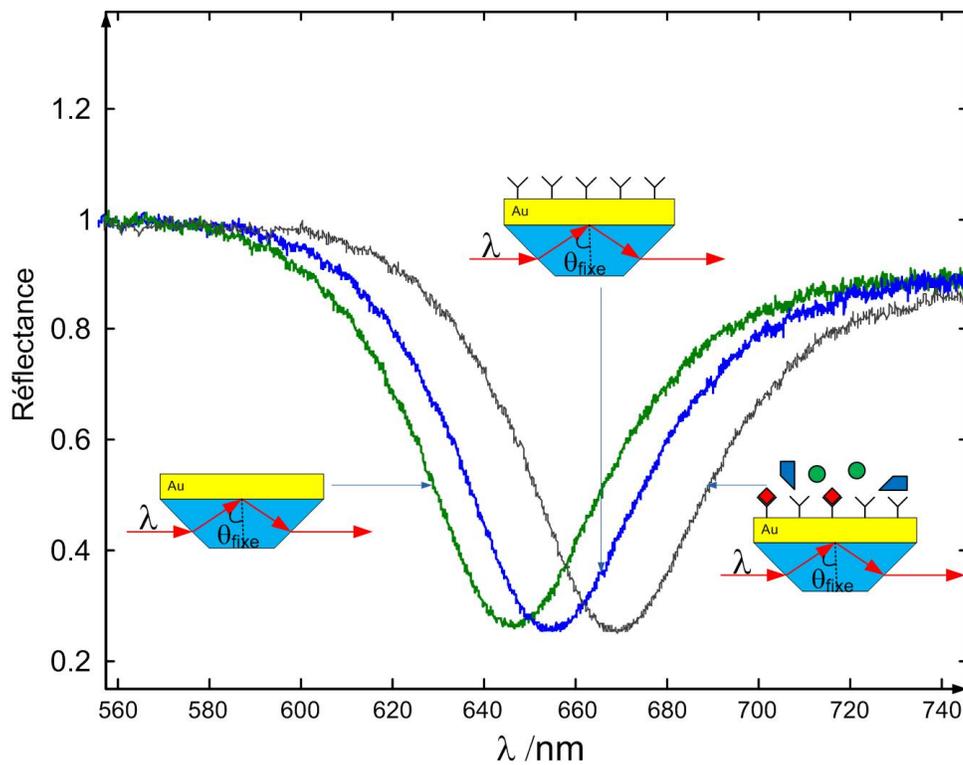


Figure 1.10 : Déplacement du pic d'absorption due à un changement de l'indice de réfraction à l'interface métal solution lors d'un essai de biodétection.

Il est possible de réaliser des essais de biodétection en temps réel grâce à la technique SPR. Il suffit de suivre temporellement la position du pic SPR pendant toute la durée de l'analyse. Par la suite, un graphique de la longueur d'onde SPR en fonction du temps peut être réalisé pour la quantification de l'essai (Fig. 1.11).

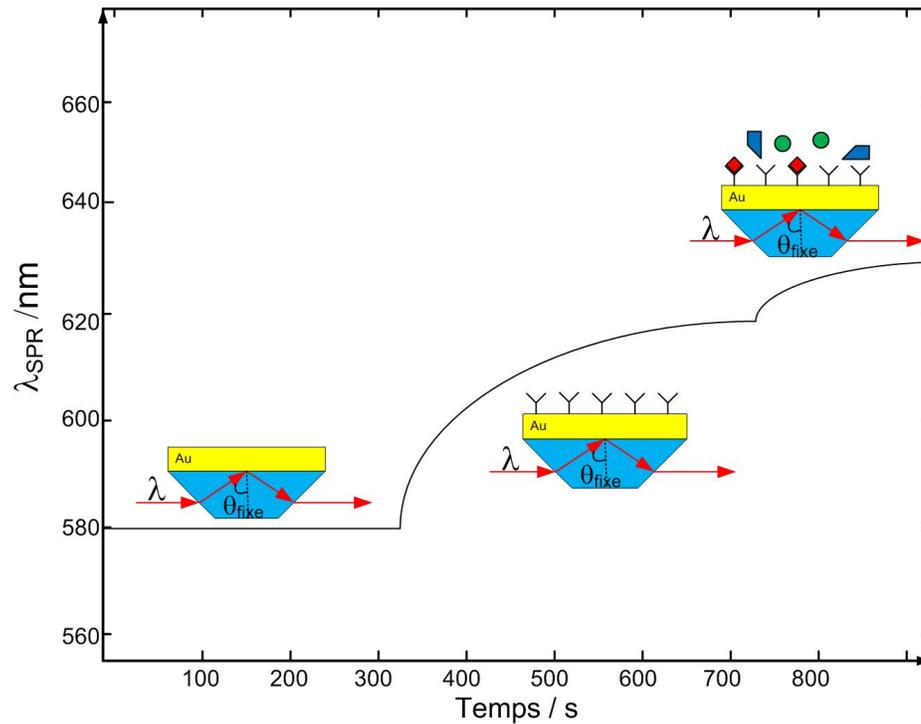


Figure 1.11 : Représentation d'un essai cinétique d'une biodétection SPR grâce au changement de la longueur d'onde d'absorption.

1.7 Utilisation des monocouches auto-assemblées de ILs pour empêcher l'adsorption non-spécifique de protéines et l'utilisation pour les biocapteurs

Lors d'essai dans des matrices biologiques, *e.g.* le sang ou l'urine, la présence de centaines de protéines provoquent un changement d'indice de réfraction à l'interface métal / solution. Ce changement n'est pas spécifique à la molécule analysée, d'où l'appellation d'adsorption non-spécifique (Fig. 1.12).

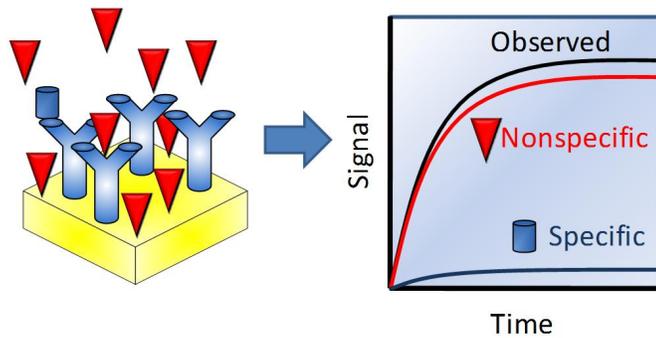


Figure 1.12 : Principe de l'adsorption non-spécifique vs l'adsorption spécifique sur une surface d'Au non fonctionnalisée.

Dans ce cas, le signal généré par l'adsorption non spécifique est plus important que le signal provoqué par l'adsorption spécifique de l'analyte d'intérêt. Le travail entrepris ici vise à développer des SAMs basé sur le liquide ionique à base d'imidazolium, pour potentiellement réduire l'adsorption non spécifique de protéines dans une matrice complexe (*e.g.* le sérum sanguin) sur des surfaces d'or pour la création de biocapteur SPR (Fig. 1.13).

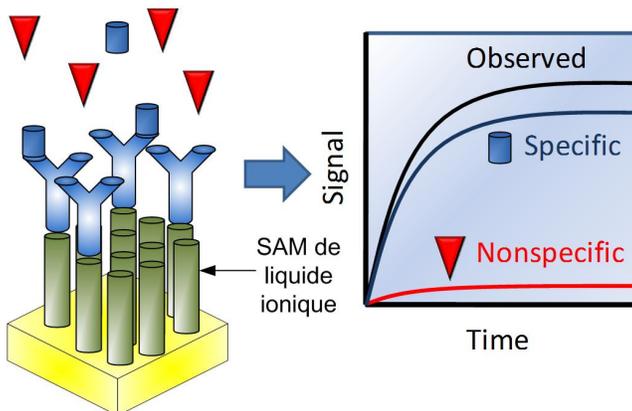


Figure 1.13 : Principe de l'adsorption non-spécifique vs l'adsorption spécifique sur une surface d'or muni d'une monocouche auto-assemblée de liquide ionique.

Pour démontrer l'utilisation de ces monocouches, il sera présenté, dans un premier lieu, une étude sur l'adsorption non-spécifique sur des SAMs du ILs 1-(alkylthiol)-3-méthylimidazolium (Fig. 1.14).

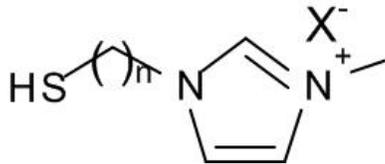


Figure 1.14 : Structure du liquide ionique 1-(alkylthiol)-3-méthylimidazolium où $n = 3, 6, 9$ ou 12 et $X^- = Br^-, BF_4^-, PF_6^-$ ou NTf_2^- .

En second lieu, un biocapteur sera présenté avec le système modèle du couplage de l'anti-immunoglobuline gamma de chèvre (Goat anti-IgG) sélectif pour les immunoglobulines gammas d'humains (Human IgG). Les anti-IgG seront attachés sur une monocouche auto-assemblée du liquide ionique 1-carboxyméthyl-3-(12-mercaptododecyl)-imidazolium (Fig. 1.15), grâce à la chimie du EDC / NHS.

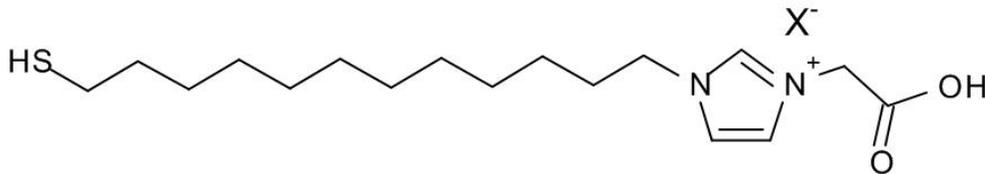


Figure 1.15 : Structure du liquide ionique 1-carboxyméthyl-3-(12-mercaptododecyl)-imidazolium où $X^- = Br^-, BF_4^-, PF_6^-$ ou NTf_2^- .

Ensuite, la fixation d'IgG à la sonde peut être déterminée en temps réel grâce à la technique SPR précédemment présenté. La sensibilité spatiale de la sonde est ici d'une importance capitale, car tous ces changements à l'indice de réfraction doivent se produire dans la zone de pénétration du plasmon. Si la combinaison d'une monocouche, récepteur et

molécule cible, dépasse une distance de 200 nm de la surface d'or, le changement de l'indice de réfraction ne sera pas perçu par la sonde SPR et créera un signal faussement négatif. Donc, la technique SPR sera d'une grande utilité pour mesurer ces processus d'adsorption sur les IL-SAM.

1.8 Métathèse de contre-anions dans les liquides ioniques

En second lieu pour ce mémoire, il sera présenté une étude sur l'influence de l'anion bicarbonate (HCO_3^-) sur le liquide ionique 1-(12-mercaptododécyl)-3-méthylimidazolium. D'un point de vue synthétique, la formation de IL- HCO_3^- stable pourrait être une structure intermédiaire intéressante pour la synthèse d'une grande variété de ILs. L'utilisation d'acide plus fort que H_2CO_3 peut conduire à la formation de IL avec la base conjuguée de l'acide⁴²⁻⁴⁴. Les sous-produits de la réaction du IL carbonaté avec les acides sont l'eau et le CO_2 , les autres gaz étant facilement retirés du mélange réactionnel. Par conséquent, ce processus de synthèse de IL avec différents contre-anions halogénures est simple et pourrait être exempt de métaux lors de la synthèse.

Ce mémoire rapporte une métathèse d'anion inattendue du liquide ionique 1-(12-mercaptododécyl)-3-méthylimidazolium, lorsque celui-ci est auto-assemblé en une monocouche, reposant sur la métathèse de l'anion bicarbonate. Plusieurs évidences sur la réversibilité seront démontrées par un test sur la mouillabilité de la surface, la spectrométrie de masse (MS) et par les techniques spectroscopiques de l'infrarouge moyen (ATR mid-IR), du photoélectron de rayons-X (XPS) et par les surfaces améliorées pour la diffusion Raman (SERS).

1.8.1 Technique de mouillabilité de la surface par angle de contact statique

Le mouillage d'un solide par un liquide est une partie cruciale de nombreux processus naturels et industriels. Par exemple, dans le revêtement d'un liquide sur un solide, il est essentiel que le liquide humidifie dynamiquement la surface solide. Cependant, malgré de nombreuses recherches dans ce domaine depuis de nombreuses années, le mécanisme précis par lequel un front de liquide avance sur un solide ne reste que partiellement compris ⁴⁵. Ainsi, la capacité à prédire le comportement de mouillage d'une surface et de modéliser les processus physiques qui s'en découlent est très limitée.

Le phénomène de mouillabilité des surfaces peut être décrit par les différentes tensions de surface aux interfaces solide-vapeur, solide-liquide et liquide-vapeur (Fig. 1.16).

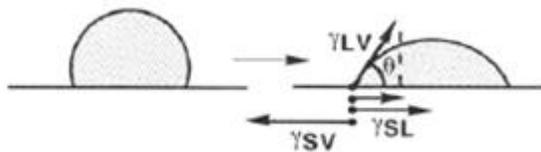


Figure 1.16 : Présentation des vecteurs de tension de surface qui régissent le phénomène de mouillabilité d'une surface par un liquide.

Le modèle mathématique qui décrit le mieux le phénomène de mouillabilité, régi par les tensions de surface, est l'équation de Young ⁴⁶ :

Où γ_{sv} est la tension de surface de l'interface solide-vapeur, γ_{sl} la tension de surface de l'interface solide-liquide, γ_{lv} est la tension de surface de l'interface liquide-vapeur et θ est

l'angle de contact statique formé entre l'interface liquide-vapeur et l'interface liquide-solide au point de contact des trois phases. L'angle de contact détermine si un liquide s'étale totalement, partiellement ou reste sous forme de goutte sur une surface. Il y a différents niveaux de mouillabilité de surface, dépendamment de l'angle formé. Un liquide mouille parfaitement une surface si l'angle est de 0° et est parfaitement non mouillant si l'angle est de 180° . Pour toutes les mesures d'angles de contact, la phase liquide est constamment l'eau. Ainsi, le vecteur de tension de surface γ_{lv} sera invariable. Seul les valeurs de γ_{sl} et γ_{sv} varieront selon le type de monocouche qui fonctionnalisera les surfaces ou de l'anion présent sur les ILs-SAMs. Une fois les surfaces fonctionnalisées, les tensions interfaciales γ_{sl} et γ_{sv} seront fixes. Ainsi, les différentes surfaces pourront être différenciées l'une de l'autre par l'angle de contact statique qui se formera au point de contact des trois phases solide-liquide-vapeur.

1.8.2 Réflexion totale atténuée des infrarouges moyens (ATR mid-IR)

La technique d'analyse infrarouge mesure l'adsorption de photons, avec une longueur d'onde de l'ordre du micromètre, à travers un échantillon gazeux, liquide ou solide. Le rayonnement IR ne contient pas assez d'énergie pour induire des transitions électroniques, comme il est possible de le voir avec les rayons UV. L'absorption de photon IR permet aux molécules des transitions de leurs états vibrationnels et rotationnels. Lorsqu'une molécule absorbe un photon IR, les vibrations ou les rotations au sein de celle-ci provoquent un changement net dans le moment dipolaire de la molécule. Le champ électrique du rayonnement IR interagit avec les fluctuations du moment dipolaire de la molécule. Si la fréquence de la radiation correspond à la fréquence de vibration de la molécule, alors le rayonnement sera absorbé, ce qui provoquera un changement dans l'amplitude des vibrations moléculaires. Les positions des atomes dans une molécule ne sont pas fixes, puisqu'ils sont soumis à un certain nombre de différentes vibrations. La gamme de longueurs d'onde couramment utilisée pour les analyses en IR est dans l'ordre

de l'infrarouge moyen (Tableau 1.1), car la majorité des vibrations caractéristiques des molécules se trouve dans cette gamme de longueurs d'onde.

Tableau 1.1 : Division de la zone des infrarouges du spectre électromagnétique

Région de l'infrarouge	Plage des longueurs d'ondes / μm	Plage des nombres d'ondes / cm^{-1}
Proche	0,78 - 2,5	12 800 - 4000
Moyen	2,5 - 50	4000 - 200
Loin	50 - 1000	200 - 10

En quantifiant l'énergie absorbée par la molécule, les groupements fonctionnels et leur position spatiale ainsi que les types de vibrations des liens et sont caractérisés par les bandes d'absorption propres à l'infrarouge.

Un grand problème avec la région spectrale de l'IR-moyen en transmission est qu'il y a de forte diminution du signal IR dans les échantillons très absorbants, tels que les solutions aqueuses ou les solides. Pour pallier ce problème, la technique de la réflexion totale atténuée (ATR) peut être employée. L'ATR dans la région spectrale de l'IR-moyen fonctionne en mesurant les changements qui se produisent pour un rayon infrarouge en réflexion interne totale lorsque le faisceau entre en contact avec un échantillon (Fig. 1.17).

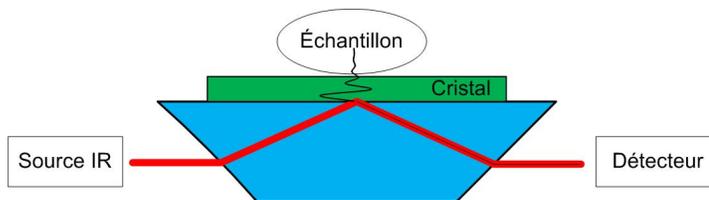


Figure 1.17 : Illustration de l'accessoire ATR où le faisceau IR est en réflexion totale interne et produisant une onde évanescente à l'intérieur du cristal en contact avec l'échantillon.

Un faisceau infrarouge est dirigé sur un cristal optiquement dense avec un haut indice de réfraction dans un certain angle. Cette réflexion totale interne crée une onde évanescente qui se prolonge au-delà de la surface du cristal jusqu'à l'échantillon maintenu en contact avec le cristal. Cette onde évanescente ne dépasse que de quelques microns (0,5 à 5 μm) au-delà de la surface du cristal et dans l'échantillon. Par conséquent, il doit y avoir un bon contact entre l'échantillon et la surface du cristal. Dans les régions du spectre infrarouge où l'échantillon absorbe de l'énergie, l'onde évanescente sera atténuée ou modifiée. L'énergie atténuée de chaque onde évanescente module l'intensité du faisceau infrarouge, qui sort ensuite à l'extrémité opposée du cristal et atteint le détecteur dans le spectromètre infrarouge. Le système génère ensuite un spectre infrarouge (Fig. 1.18).

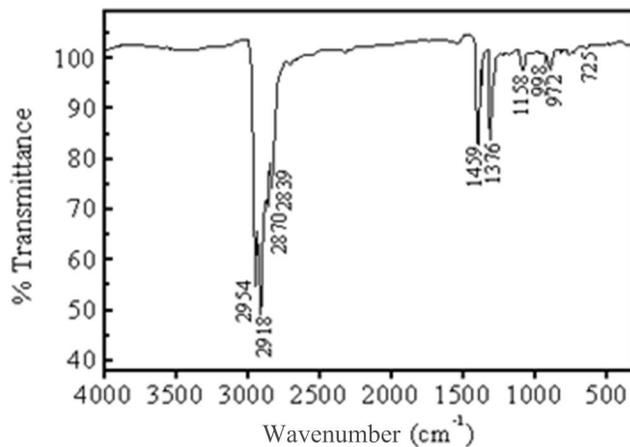


Figure 1.18 : Spectre typique de la spectroscopie infrarouge en mode transmission. La position spectrale de chaque pic représente l'énergie de vibration des liens de différents groupements fonctionnels présents dans la molécule.

Ainsi, dans ce mémoire, la technique ATR IR-moyen a permis de déterminer la présence, ou non, des différentes vibrations des anions BF_4^- , PF_6^- et NTf_2^- sur les surfaces d'au fonctionnalisées avec des ILs. Les différents groupements fonctionnels furent donc

identifiés, *i.e* les anions, présents avant et après une exposition des surfaces à l'anion HCO_3^- .

1.8.3 Spectroscopie des photoélectrons de rayon-X (XPS)

Parmi les techniques exploitant les vides poussés, qui ont été développés de façon spectaculaire au cours des dernières années, la spectroscopie des photoélectrons de rayon-X (XPS) est particulièrement prisée dans le domaine des matériaux pour les analyses de surface ⁴⁷. Le XPS fournit de l'information sur la composition des surfaces sous forme de spectres de régions bien définies (microanalyse). Ceci est possible grâce à l'utilisation de la technique pour convertir l'information de la composition de la surface en déplacements chimiques bien connus de l'énergie des photoélectrons ⁴⁸. Le XPS est maintenant une technique possédant un haut degré de connaissance expérimentale et de données dans presque tous les domaines de la chimie des matériaux ⁴⁸.

Le principe du XPS tire son origine de l'effet photoélectrique dans lequel les rayons-X sont utilisés comme la source de photons excitants. En plus des électrons de valence, qui fournissent les liaisons entre les différents atomes d'une molécule, chaque atome, sauf H_2 et He, possède des électrons de cœur qui ne sont pas directement impliqués dans les liaisons chimiques. L'énergie de liaison de chaque électron de cœur est caractéristique des atomes individuels auquel il est lié ⁴⁹. Dans les expériences de base en XPS, la surface de l'échantillon est irradiée par une source de faible énergie de rayon-X dans des conditions de très basse pression. La photoionisation se déroule à la surface de l'échantillon, avec une distance de pénétration variant entre 15 et 60 Å ⁴⁹. Des photoélectrons en résultent, qui sont des particules émises avec une énergie cinétique dans la gamme de 20 à 2000 eV. En quantifiant les niveaux d'énergie, les photoélectrons ont une distribution de l'énergie de liaison composée d'une série de bandes discrètes qui reflètent la forme des structures électroniques des atomes dans l'échantillon analysé. En bref, la technique XPS est la détermination expérimentale de la distribution de l'énergie de liaison

des électrons de cœur d'atome par l'analyse des photoélectrons produits par l'exposition aux rayons-X (Fig 1.19).

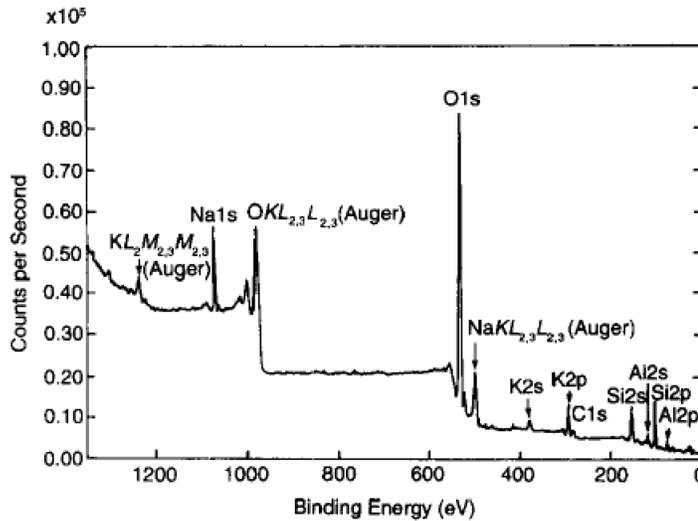


Figure 1.19 : Spectre typique d'un échantillon analysé par XPS. Chaque pic représente l'énergie de liaison, en eV (axe des X), spécifique pour les électrons de cœur de chaque orbital pour tous les atomes présents dans l'échantillon. L'intensité du signal (axe des Y) permet de quantifier les atomes présents dans l'échantillon irradié ⁴⁹.

Ainsi, la technique XPS a permis de connaître, dans les travaux présentés dans le chapitre 3, la composition élémentaire présente sur les surfaces d'Au fonctionnalisées avec des SAMs de ILs. Les électrons de l'orbital 1s des atomes de fluor ont été utilisés, car étant donné que les anions BF_4^- , PF_6^- et NTf_2^- possèdent tous du fluor et que l'anion HCO_3^- n'en possède pas, cette étude a permis de quantifier l'échange d'anions qui se produit sur des surfaces fonctionnalisées avec des ILs.

1.8.4 Spectrométrie de masse par désorption / ionisation laser, assistée par matrice et analyseur par temps de vol (MALDI-TOF)

La spectrométrie de masse est une technique d'analyse permettant de détecter et d'identifier des molécules par mesure de leur ratio masse sur charge ainsi que de caractériser leur structure chimique. Le principe physique consiste à une séparation en phase gazeuse de molécules chargées (ions) en fonction de leur rapport masse / charge (m/z). La MS permet l'identification de molécules, les analyses structurales, les analyses quantitatives et faire de l'imagerie.

Plusieurs sources d'ionisation sont disponibles en MS : l'ionisation électronique (EI), chimique (CI), par bombardement d'atomes rapides (FAB), par électronébulisation (ESI), par ionisation chimique à pression atmosphérique (APCI) et par désorption-ionisation laser assistée par matrice (MALDI). L'ionisation permet de charger la molécule pour que celle-ci puisse être entraînée à l'intérieur du spectromètre de masse. Une fois introduit dans le spectromètre, les ions passent dans un analyseur de masse pour que ceux-ci soient séparés selon leurs masses. Les types d'analyseurs disponibles sont : les quadripôles (Q), les trappes ioniques (IT), le temps de vol (TOF), l'analyseur à résonance cyclotronique (FT-ICR), l'orbitrap ainsi que les analyseurs à secteur magnétique. Pour l'étude de IL-SAM sur des surface d'Au, la source d'ionisation utilisée fût le MALDI couplé avec l'analyseur TOF.

Le MALDI est une technique d'ionisation douce permettant l'analyse de biomolécules et des grosses molécules organiques qui tendent à se fragmenter lorsqu'elles sont ionisées par des méthodes conventionnelles. L'ionisation en MALDI est provoquée par un faisceau laser qui bombarde la surface à une fréquence donnée. Pour effectuer l'analyse en MALDI, une matrice organique cristallisée est utilisée afin de protéger l'analyte d'une dégradation pouvant être causée par le bombardement direct du laser et celle-ci sert à absorber l'énergie du laser pour le retransmettre à l'analyte pour faciliter son ionisation. Ce

choix d'ionisation fût jugé le mieux adapté pour l'analyse de ILS-SAMs. En effet, il a suffi de recouvrir d'une matrice la surface d'Au fonctionnalisée avec des ILS-SAMs et de la bombarder d'un laser. La technique est assez forte pour briser les liens S-Au, mais assez douce pour ne pas fragmenter les molécules de ILS. Une fois désorbées de la surface et ionisées, les molécules de ILS sont introduites dans un analyseur TOF.

Le choix de l'utilisation de l'analyseur TOF provient du fait qu'il soit compatible avec les sources d'ionisation pulsées telles que le MALDI. Le TOF est une méthode dans laquelle les ions sont accélérés par un champ électrique. Cette accélération procure aux ions de même charge électrique la même énergie cinétique. Cependant, la vitesse des ions ne dépend que du rapport masse/charge selon :

$$\frac{m}{z} = \frac{2eV}{v^2}$$

Où t est le temps de vol, e est la charge de l'électron, V est la différence de potentiel, m est la masse des différents fragments, z est la charge de l'ion fragment et D est la distance de parcours des ions jusqu'au détecteur. Le temps pris par une particule chargée pour atteindre le détecteur dépendra uniquement du rapport m/z (Fig. 1.20).

Une analyse MS par MALDI-TOF permettra de désorber les ILS-SAMs des plaques d'Au pour permettre une introduction des molécules dans le MS pour ainsi identifier les molécules présentes sur la surface par leur rapport m/z . Dépendamment du mode d'ionisation, positif ou négatif, il sera possible d'analyser la structure cationique du IL et par la suite de son contre-anion présent à la surface.

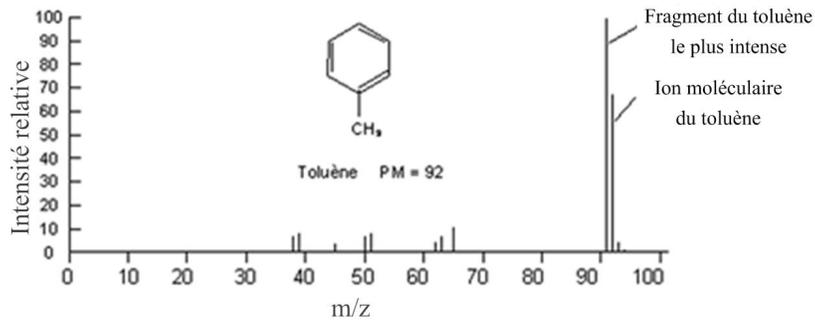


Figure 1.20 : Spectre typique d'une analyse par spectromètre de masse.

1.8.5 Spectroscopie des surfaces améliorées pour la diffusion Raman (SERS)

La spectroscopie Raman est une technique analytique qui mesure les vibrations des molécules. Bien que la spectroscopie IR mesure aussi les vibrations des molécules, la technique d'acquisition en Raman est différente. En effet, en spectroscopie Raman, les longueurs d'onde d'excitation sont de l'ordre de l'UV-vis plutôt que de l'infrarouge. De plus, la diffusion de la lumière est acquise à un angle de 90° par rapport à la source, contrairement à la spectroscopie infrarouge qui subit un changement d'intensité par rapport au signal initial. Lors d'une diffusion de lumière, il y a deux phénomènes qui peuvent survenir :

1. Une diffusion de lumière avec la même longueur d'onde (Rayleigh);
2. Une diffusion de lumière avec une longueur d'onde différente.

Le premier phénomène est dû à la diffusion élastique de la lumière et constitue approximativement à 99,999% de la diffusion mesurée. La deuxième diffusion est le phénomène de diffusion Raman et constitue 0,001% de la diffusion totale (Fig. 1.21).

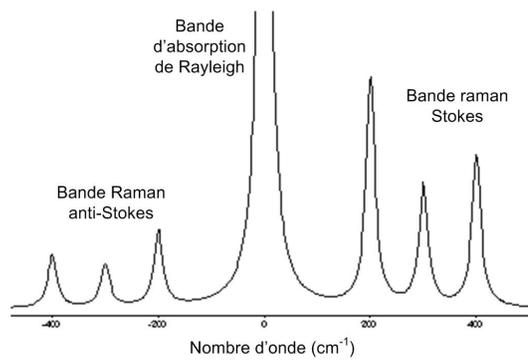


Figure 1.21 : Spectre typique de la spectroscopie Raman

Bien que la spectroscopie Raman mesure elle aussi les vibrations des molécules, les bandes vibrationnelles actives en Raman ne sont pas nécessairement les mêmes qu'en IR et vice-versa. Les vibrations d'une molécule induisant un changement de polarisabilité seront actives en Raman, alors qu'en IR, les vibrations menant à un changement de moment dipolaire seront actives.

Il est possible de produire une amplification du signal Raman à l'aide de nanoparticules possédant des plasmons de surface⁵⁰. Lorsqu'un photon interagit avec une nanoparticule, ses électrons libres se déplacent avec le champ électrique de la lumière. L'oscillation du nuage d'électrons de la nanoparticule est conceptuellement comparable à un changement de polarisabilité d'une molécule. Le champ électrique résultant du plasmon de surface résonnera avec le champ électrique de la lumière; pour augmenter localement le champ électrique. Ainsi, avec un champ local électrique augmenté, il y aura une plus grande probabilité d'obtenir un photon Raman. Pour que ce phénomène soit à son plein potentiel, la résonance entre la lumière et la nanoparticule doit se produire *grosso modo* aux mêmes longueurs d'ondes d'excitation. En déposant des molécules actives en Raman sur une nanoparticule, si les molécules se retrouvent dans l'une des zones de champ amplifiées par les nanoparticules, le signal Raman sera amplifié par un facteur pouvant aller à 10^6 - 10^7 pour des nanoparticules d'au et d'Ag⁵¹.

Toutes les techniques présentées serviront à caractériser les surfaces d'Or fonctionnalisées avec des ILs-SAMs de 1-(12-mercaptododécyl)-3-méthylimidazolium, mais possédant différents contre-anions. En effet, une caractérisation préliminaire a été réalisée pour les contre-anions Br^- , BF_4^- , PF_6^- et NTf_2^- . Par la suite, une métathèse a été effectuée pour toutes les monocouches pour un échange avec l'anion HCO_3^- . Les résultats à ces différents tests, avant et après l'échange avec l'anion HCO_3^- , serviront de preuve pour démontrer la réversibilité des échanges d'anions sur des ILs-SAMs.

1.9 Objectifs de recherche

Les objectifs de ce mémoire peuvent être séparés en trois sections. La première partie de ce mémoire portera sur une étude de l'adsorption non-spécifique des protéines, par SPR, sur des monocouches du liquide ionique 1-(12-mercaptododécyl)-3-méthylimidazolium avec les différents contre-anions Br^- , BF_4^- , PF_6^- et NTf_2^- , dans le but de déterminer la surface minimisant l'adsorption non-spécifique de protéines sur les surfaces. Ensuite, le mémoire présentera une étude de la réversibilité des échanges des contre-anions du 1-(12-mercaptododécyl)-3-méthylimidazolium auto-assemblé en monocouche par l'anion HCO_3^- . La dernière partie du mémoire, discutera de l'adsorption non-spécifique de protéines sur les monocouches de 1-(alkylthiol)-3-méthylimidazolium avec le contre-anion HCO_3^- , ainsi que de la construction de biocapteur SPR à base de IL-SAM. Ces trois sections serviront à une meilleure compréhension des liquides ioniques lorsque ces derniers forment une monocouche auto-assemblées sur des surfaces d'Or.

Chapitre 2: Étude de l'adsorption non spécifique du sérum bovin sur des monocouches auto-assemblées de liquides ioniques 1-(12-mercaptododécyl)-3-méthylimidazolium

2.1 Introduction et problématique

Les liquides ioniques spécifiques à la tâche (TS-ILs) sont une classe de ILs portant un groupe fonctionnel attaché soit au cation ou à l'anion ⁵². Les TS-ILs sont de plus en plus populaires pour les applications en catalyse, synthèse, extraction d'ions métalliques et pour la construction de nanostructures et des matériaux conducteurs d'ions ⁵². Dans cette réalisation, un des groupes fonctionnels créés est une chaîne d'alkylthiol, qui sert à former une monocouche auto-assemblée (SAM) sur une surface d'or. Une grande partie de l'intérêt des monocouches auto-assemblées de liquides ioniques à température ambiante (RT-ILs SAM) a été dirigée vers l'immobilisation du 1-(alkylthiol)-3-méthylimidazolium SAM, pour la construction de biocapteurs ^{53 54} et pour la synthèse de nanostructures ⁵⁵ ou des matériaux conducteurs d'ions ¹⁴. Les biocapteurs électrochimiques profitent des propriétés de l'imidazolium RT-IL SAM pour la détection de la nicotinamide adénine dinucléotide (NADH) ⁵³ et de glucose ⁵⁴. Une autre application implique la synthèse et la stabilisation de nanoparticules d'or par les RT-ILs SAM, produisant des nanoparticules de moins de cinq nm de diamètre ⁵⁵⁻⁵⁸. Bien que plusieurs applications importantes soient envisagées pour les RT-ILs SAMs, leurs propriétés de surface et leur réactivité sont encore relativement inconnues.

Pour améliorer l'activité et la stabilité des enzymes, plusieurs approches ont été explorées, telles que l'ingénierie génétique, protéinique, de matrice et de substrats ⁵⁹. Récemment, la catalyse enzymatique dans les solvants non-aqueux est devenue le champ de

recherche le plus intéressant et prometteur dans le secteur de l'enzymologie ⁶⁰. L'usage de solvant non-aqueux est spécialement avantageux pour transformer les substrats qui sont instables ou très peu solubles dans l'eau. De plus, les réactions secondaires qui sont dépendantes à l'eau peuvent être évitées et ainsi diminuer le risque de dénaturation de l'enzyme. Les solvants organiques, les liquides ioniques, les fluides supercritiques et les microémulsions en tant que solvant dans les réactions non-aqueux ont tous été intensivement décrits dans la littérature ^{20,61}. Les solvants qui se sont avérés être les meilleurs pour promouvoir l'activité des enzymes furent les mélanges de solvants organiques et de liquides ioniques. Par exemple, un mélange 1 :1 de benzène avec le IL 1-butyl-3-méthylimidazolium augmente d'une fois et demie l'activité de la lipase *Burkholderia cepacia* ⁶².

Comme les SAMs transfèrent leurs propriétés aux surfaces sur lesquelles elles sont greffées, la création de biocapteurs à base de IL-SAM pourrait potentiellement faire augmenter l'activité du récepteur moléculaire qui sera greffé sur la surface. Ceci pourrait être un avantage capital, car il est bien connu que l'activité des récepteurs moléculaires est souvent réduite par les techniques d'immobilisation chimique ⁶³. Avant d'étudier si cette propriété importante peut se traduire sur des capteurs SPR, il est important de déterminer l'adsorption non-spécifique de protéines sur ces surfaces. Ainsi, plusieurs ILs-SAMs seront testés pour vérifier laquelle possède une adsorption non spécifique la plus faible afin de déterminer une surface idéale à la préparation de biocapteurs à base de IL-SAM. Les différentes ILs-SAMs seront analysées par un montage SPR pour en déterminer l'adsorption non spécifique grâce à du sérum bovin. Par la suite, des biocapteurs seront confectionnés sur ces ILs-SAMs à partir de l'anti-IgG.

2.2 Partie expérimentale

2.2.1 Confection des monocouches auto-assemblées de liquides ioniques

Le IL 1-(12-mercaptododécyl)-3-méthylimidazolium bromure fut synthétisé comme décrit par Lee et coll. ⁶⁴. Toutes les lames de verre, 22 par 22 mm, recouvertes d'au étaient préparées par le dépôt de 1 nm de Cr et 50 nm d'au par pulvérisation cathodique par un appareil de déposition de métaux de marque Cressington™. Les ILs-SAMs ont été formées par trempage des lames d'au dans une solution à 5 mM de 1-(12-mercaptododécyl)-3-imidazolium bromure dans l'éthanol pendant 16 heures. Les lames devaient maintenant être lavées dans de l'éthanol puis séchées avec de l'azote. Les plaques ont été trempées pendant une heure dans de l'eau milli-Q pour permettre une hydratation de la surface pour ensuite être à nouveau séchées à l'azote. Par la suite, pour effectuer le changement de contre-anions, les lames d'au ont été immergées dans une solution saline de NaBF₄, NaPF₆ ou LiNTf₂ (10 mM dans l'eau pendant six heures) afin d'effectuer un échange du contre-anion bromure avec l'anion BF₄⁻, PF₆⁻ ou NTf₂⁻.

2.2.2 Préparation des échantillons et analyse de l'adsorption non-spécifique de protéines sur les ILs-SAMs par SPR

Une lame d'au fonctionnalisée a été déposée sur le prisme d'inversion d'image (Dove) où une goutte d'huile de qualité optique assurait le contact optique entre les deux surfaces. Par la suite, une cellule micro-fluidique, ayant un compartiment de 100 µL, a été fixée sur la lame d'au pour permettre l'injection des différentes composantes sur la surface fonctionnalisée. La source, une lumière à l'halogène, entrait en réflexion totale interne à l'intérieur du prisme pour venir transférer une partie de son *momentum* à la lame d'au pour la création du plasmon de surface. Les photons étaient analysés par un spectrophotomètre Ocean Optic™ pouvant mesurer les longueurs d'ondes comprises entre 550 et 800 nm. Les

essais cinétiques se déroulaient en 30 minutes, où la séquence d'injection suivait l'ordre suivant :

- 1- 3 mL de PBS, 5 minutes;
- 2- 3 mL de sérum bovin, 20 minutes;
- 3- 3. mL de PBS, 5 minutes.

Ensuite, des tests pour mesurer l'adsorption non-spécifique de protéines ont été réalisés en effectuant quelques injections successives de sérum bovin lors d'une même cinétique. L'ordre de déroulement des cinétiques à injection successive de sérum, d'une durée de 50 minutes, suivait la séquence décrite ci-dessous :

- 1- 3 mL de PBS, 5 minutes;
- 2- 3 mL de sérum bovin, 10 minutes;
- 3- 3 mL de sérum bovin, 10 minutes;
- 4- 3 mL de PBS, 10 minutes;
- 5- 3 mL de sérum bovin, 10 minutes
- 6- 3 mL de PBS, 5 minutes.

Les données ont été recueillies par le programme Spectra Suite pour être analysées, par la suite, par le programme MatLab pour l'obtention des courbes cinétiques. Chaque chaîne alkyle, *i.e.* les chaînes à 3, 6, 9 et 12 carbones, fût analysée avec chaque contre-anion en triplicata.

2.3 Résultats et discussion

2.3.1 Analyse de l'adsorption non-spécifique de sérum bovin sur les ILS-SAMs de 1-(12-mercaptododécyl)-3-méthylimidazolium

Pour vérifier l'adsorption non-spécifique de protéines, différents ILS furent utilisés pour former des SAMs sur une surface d'or. Les ILS-SAMs choisies furent tous basées sur le 1-(12-mercaptododécyl)-3-méthylimidazolium, et ce pour les différents contre-anions (Br^- , BF_4^- , PF_6^- , NTf_2^-). La variation des contre-anions peut faire varier les propriétés physico-chimiques des surfaces. Par exemple, l'hydrophobicité des surfaces peut être augmentée en passant du contre-anion Br^- vers le contre-anion NTf_2^- ¹². Il est donc très important d'étudier l'effet du changement d'hydrophobicité des surfaces sur l'adsorption non-spécifique de protéines. Ainsi, pour déterminer l'adsorption non-spécifique, plusieurs tests cinétiques, à l'aide de sérum bovin, ont été réalisés pour obtenir la différence de longueur d'onde SPR entre le début et la fin de l'adsorption des protéines sur la surface fonctionnalisée de liquides ioniques (Fig. 2.1).

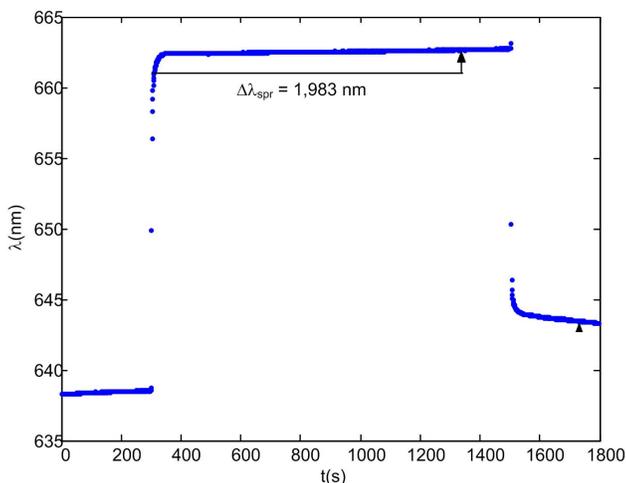


Figure 2.1 : Étude cinétique de l'adsorption non-spécifique de protéine du sérum bovin sur une monocouche de C12-BF₄

Une courbe typique d'adsorption est composée de plusieurs sections. Premièrement, la section entre 0 et ~ 300 s, constitue la ligne de base de la longueur d'onde SPR obtenue par l'injection de PBS sur la surface. Lors de l'injection du sérum bovin, la première augmentation du signal SPR, de 638 à 660 nm, provient de l'augmentation drastique de l'indice de réfraction dû au sérum environnant la zone sensible de la surface. Ensuite, la deuxième augmentation du signal, de 660 à 662 nm, provient de l'adsorption des protéines sur la surface d'Or. Cette étape doit produire une courbe respectant l'isotherme de Langmuir, pour permettre de déterminer la quantité de protéines s'étant fixées à la surface. À la fin, la surface a été rincée avec la même solution initiale, soit du PBS, pour retirer la solution de sérum bovin en contact avec la surface. La différence entre les deux lignes de bases correspond aux protéines qui sont fixées sur la monocouche et ce malgré le rinçage final. La variable importante ici est l'adsorption non-spécifique des protéines lors de l'injection du sérum bovin. Ainsi, il faut calculer le $\Delta\lambda_{\text{SPR}}$ après l'augmentation de l'indice de réfraction dû au sérum et ce jusqu'à l'atteinte du plateau. Maintenant, il est possible de calculer la densité de protéines adsorbées à la surface de la monocouche à l'aide de l'équation 2.1 :

$$\Gamma = \frac{\rho \cdot l_d \cdot \Delta\lambda_{\text{SPR}}}{m \cdot n_{\text{IL}} \cdot n_s \cdot \text{MM}_{\text{IL}}}$$

Où Γ est la densité de surface (mol/cm^2), ρ est la masse volumique du liquide ionique (g/cm^3), l_d est la profondeur de propagation du plasmon de surface (cm), $\Delta\lambda_{\text{SPR}}$ est la différence de longueur d'onde entre le début et la fin de l'adsorption des protéines sur la surface (nm), m est la sensibilité de la surface en SPR (nm/RIU), n_{IL} est l'indice de réfraction du IL utilisé pour faire la monocouche (RIU), n_s est l'indice de réfraction de la solution en contact avec la surface (RIU), MM_{IL} est la masse molaire du IL utilisé pour

faire la monocouche (g/mol). Par la détermination de $\Delta\lambda_{\text{spr}}$ lors de l'adsorption du sérum bovin, la quantité de protéine adsorbée est déterminée, d'où l'intérêt de faire des études cinétiques avec du sérum bovin. Grâce à cette valeur, il sera possible de comparer les valeurs de densité de surface de protéines adsorbées sur des surfaces avec différentes ILS-SAMs, pour ainsi déterminer celle permettant de diminuer l'adsorption non-spécifique des protéines.

Pour débiter, le IL 1-(12-mercaptopodécyl)-3-méthylimidazolium (C12-X) a été testé avec les quatre contre-anions, précédemment mentionnés, en triplicata (Fig. 2.2).

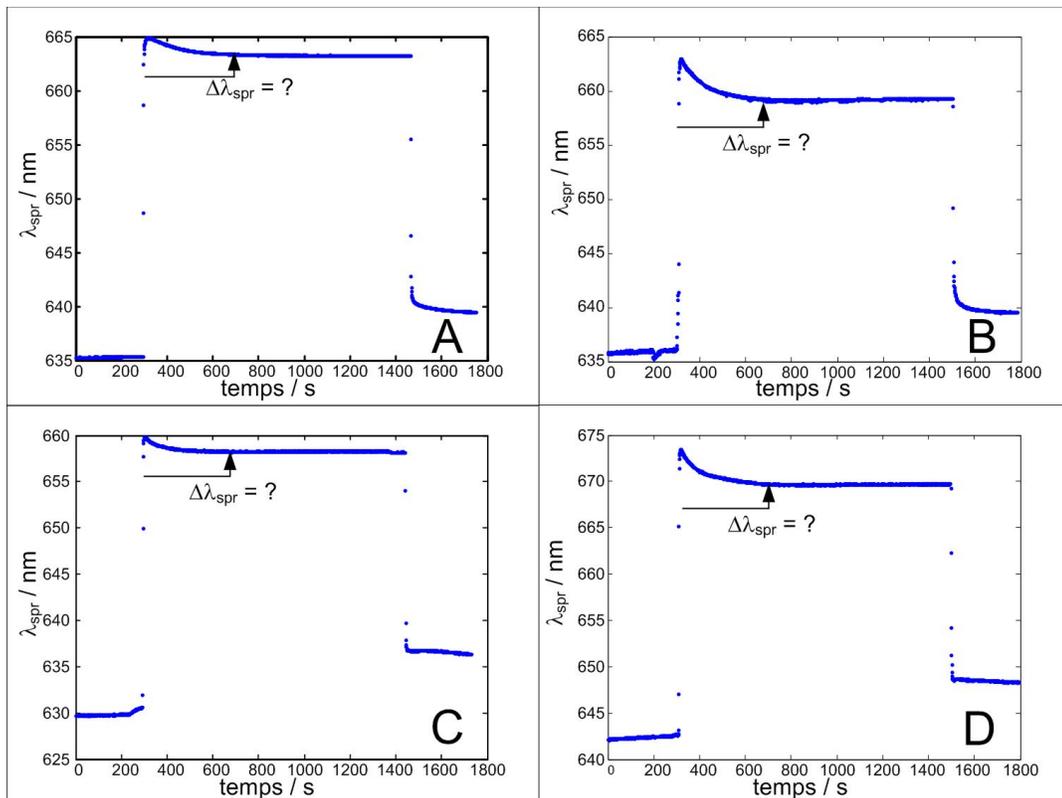


Figure 2.2 : Étude cinétique en SPR de l'adsorption non-spécifique de protéine du sérum bovin sur les SAMs de C12-Br (A), C12-BF₄ (B), C12-PF₆ (C) et C12-NTf₂ (D).

Ces courbes d'adsorption, pour la série C12-X, ne présentent pas une adsorption respectant l'isotherme de Langmuir. En effet, au lieu d'augmenter jusqu'à l'atteinte du plateau, le λ_{spr} augmente rapidement pour ensuite diminuer jusqu'à l'atteinte d'un plateau. Ce type de courbe ne permet pas de déterminer le $\Delta\lambda_{\text{spr}}$ pour l'adsorption des protéines du sérum bovin. Peu importe le contre-anion présent dans la monocouche, l'adsorption se comporte essentiellement de la même manière. Pour déterminer si cette adsorption atypique des protéines est due à une erreur expérimentale, un test de contrôle a été réalisé avec une monocouche de dodécane-thiol sur une surface d'Au (Fig. 2.3).

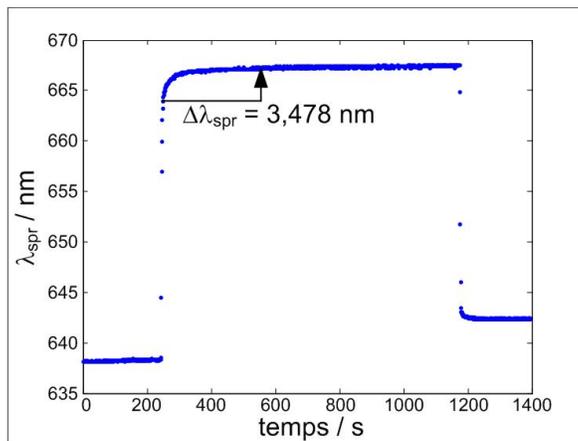


Figure 2.3 : Test de contrôle de l'adsorption non-spécifique de sérum bovin sur une SAM de dodécane-thiol.

Les courbes d'adsorption pour le dodécane-thiol se sont avérées idéales pour le calcul d'une différence de longueur d'onde SPR causée par l'adsorption non-spécifique de protéines. En effet, ici l'adsorption des protéines respecte parfaitement l'isotherme d'adsorption de Langmuir. Il est clair que la cause provoquant une augmentation plus prononcée au début de l'adsorption est due à la structure du liquide ionique et non pas à une erreur expérimentale. Pour continuer l'étude de l'adsorption atypique, une autre étude

d'adsorption non-spécifique de protéines sur le IL de la série C12-X a été réalisée, mais cette fois-ci il y aura plusieurs injections successives de sérum bovin au cours d'un même test (Fig. 2.4). En effet, ce test a servi essentiellement à déterminer si le phénomène d'adsorption atypique est causé par l'expérimentateur lors des injections de sérum bovin ou si c'est bel et bien dû à l'IL-SAM.

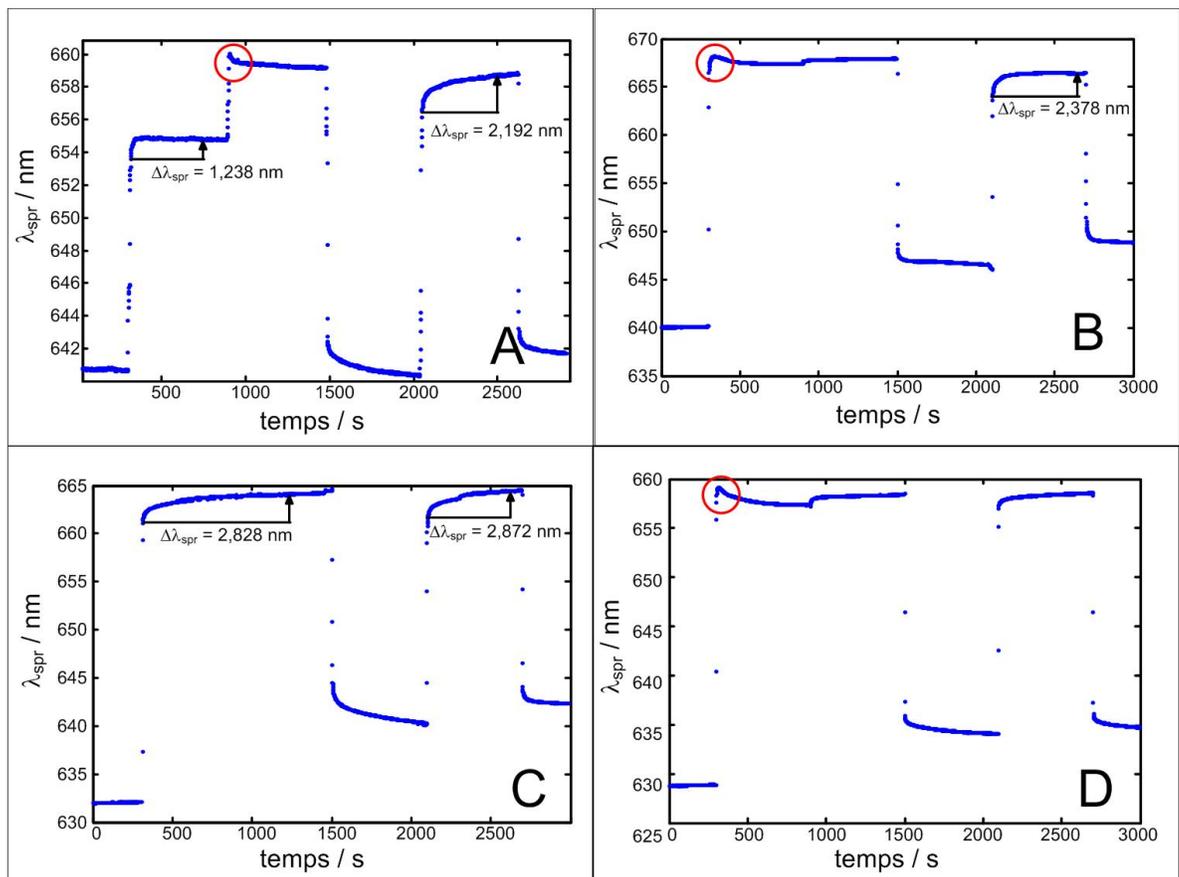


Figure 2.4 : Étude cinétique en SPR de l'adsorption non-spécifique de protéines avec plusieurs injections successives de sérum bovin sur les SAMs de C12-Br (A), C12-BF₄ (B), C12-PF₆ (C) et C12-NTf₂ (D).

Plusieurs phénomènes peuvent être observés dans la figure 2.4. Premièrement, l'adsorption atypique des protéines ne se produit pas nécessairement au premier contact du sérum bovin, mais peut se produire lors d'un deuxième contact au sérum bovin (Fig. 2.4 A). Deuxièmement, le pic lors de l'injection du sérum peut se produire lors du premier contact du sérum au IL (Fig 2.4 B et D). Finalement, l'adsorption atypique peut ne pas se produire (Fig. 2.4 C). Une chose est cependant commune lors de toutes les expérimentations d'injection successives réalisées. Une fois qu'il y a eu le pic avant l'atteinte du plateau (les encerclés rouge), le phénomène ne se produit plus lors des autres injections de sérum bovin et ce pour tous les contre-anions. Une mise au point est cependant nécessaire pour la figure 2.4. Cette dernière n'a été choisie que pour démontrer les trois phénomènes qui ont été observés lors des expérimentations. Il ne faut donc pas catégoriser les contre-anions avec le scénario qui lui a été attribué à la figure 2.4, car les trois différents scénarios ont tous été observés pour chacun des contre-anions Br^- , BF_4^- , PF_6^- et NTf_2^- . Comme la courbe se stabilise assez rapidement après l'injection du sérum, cette implication pourrait être avantageuse pour la construction de biocapteur. En effet, une première exposition au sérum semble saturer la surface assez rapidement et ensuite, les analyses directement dans le sérum pourraient être simplifiées.

Le pic lors de l'injection de sérum bovin ne permet pas de déterminer la valeur de $\Delta\lambda_{\text{spr}}$. Ainsi, la courbe d'adsorption ne respecte pas le modèle de l'isotherme de Langmuir et par conséquent, il n'est pas possible d'établir la concentration de surface de protéines adsorbées. Il serait possible d'interpréter le niveau relatif de protéines grâce aux valeurs de λ_{spr} du PBS mesurées après l'exposition au sérum. Cependant, ces valeurs sont beaucoup moins constantes que les valeurs de $\Delta\lambda_{\text{spr}}$ obtenues par la courbe d'adsorption de Langmuir. Il est ainsi plus difficile de déterminer avec précision une surface possédant l'adsorption non-spécifique de protéines la plus basse.

Avant la réalisation de biocapteurs à base de ILS-SAMs, il était nécessaire de vérifier l'adsorption non-spécifique des protéines sur une SAM de 1-carboxyméthyl-3-(12-mercaptododécyl)-imidazolium (Fig. 2.5). Pour l'utilisation des ILS-SAMs dans le design de biocapteurs, un groupement acide carboxylique doit être fixé sur la structure moléculaire de l'imidazolium. Cette modification implique que le IL ne possède pas de contre-anion labile, car le groupement COO⁻ (au pH physiologique), agit comme contre-anion.

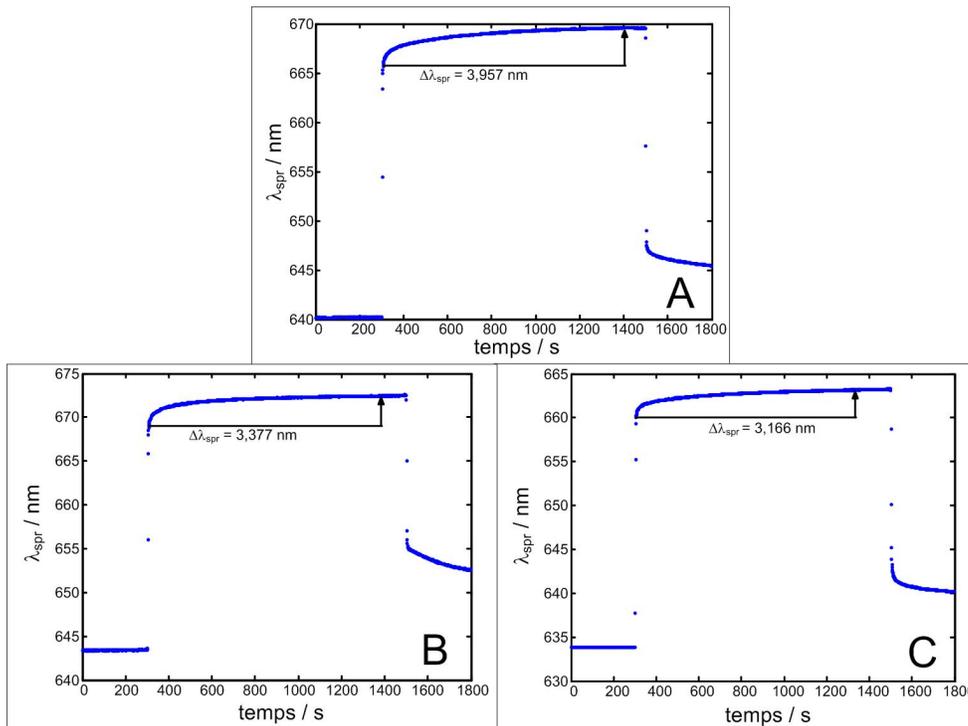


Figure 2.5 : Étude cinétique en SPR de l'adsorption non-spécifique de protéines sur une SAM de bromure de 1-carboxyméthyl-3-(12-mercaptododécyl)-imidazolium en triplicata (essai 1 (A), essai 2 (B) et essai 3 (C))

Contrairement aux sels d'imidazolium précédemment étudiés, il n'y a aucun phénomène de variation supérieur du λ_{spr} lors de l'adsorption de protéines avec la monocouche de bromure de 1-carboxyméthyl-3-(12-mercaptododécyl)-imidazolium. Le groupement carboxylique est le seul facteur qui a changé en comparaison avec les

monocouches de 1-(12-mercaptododécyl)-3-méthylimidazolium. Une piste de compréhension implique le pH du PBS et du sérum bovin, qui sont d'environ 7. Comme l'acide carboxylique possède un pK_a d'environ 4⁶⁵, lorsque la monocouche entre en contact avec un environnement à pH 7, le groupement acide carboxylique se retrouve déprotoné, d'où la formation d'un zwitterion (Fig. 2.6).

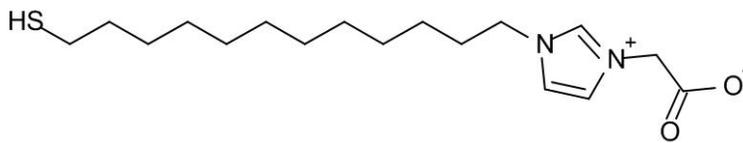


Figure 2.6 : Structure zwitterionique de la molécule 1-carboxyméthyl-3-(12-mercaptododécyl)-imidazolium dans un environnement à pH 7.

Dans un environnement de pH neutre, le groupement négatif du carboxylate balance la charge positive de l'imidazolium, provoquant l'expulsion du contre-anion de la monocouche. Ce dernier n'étant pas fixé de façon covalente à la molécule, il peut facilement être dispersé dans la solution lors de la formation de la monocouche, dans le PBS ou même dans le sérum bovin pendant l'étude cinétique. Ainsi, la première hypothèse explorée pour l'adsorption atypique, serait dû au contre-anion des ILS-SAMs.

Comme le pic supérieur se produit dans le sérum bovin et non pas dans le PBS, sachant que l'anion est en cause dans ce phénomène, la force ionique et les anions présents dans les deux solutions ont été comparés (Tableau 2.1).

Tableau 2.1 : Ions présents dans le PBS et dans le sérum bovin.

Ions	
<i>PBS</i>	<i>Sérum bovin</i>
154 mM NaCl	22-25 mM HCO_3^-
1,06 mM KH_2PO_4	135-148 mM Na^+
5,6 mM Na_2HPO_4	100-110 mM Cl^-
	4,5-5,9 mM K^+
	8-10 mg/dL Ca^+
	2,4-4 mg/dL de phosphate

Grâce à ces renseignements, il a été possible de constater que la différence majeure dans la composition anionique de ces solutions réside dans la présence des anions bicarbonates dans le sérum bovin, qui sont absents dans le PBS. Ainsi, la première hypothèse, stipulant que l'adsorption atypique est due aux contre-anions, a été raffinée en ajoutant que ce serait un échange d'anions avec le bicarbonate qui serait la cause du pic lors de l'injection de sérum bovin.

À prime abord, l'anion HCO_3^- présent dans le sérum bovin semble être la cause de l'adsorption atypique de protéines sur les monocouches du liquide ionique 1-(12-mercaptododécyl)-3-méthylimidazolium. En effet, peu importe le contre anion présent dans la monocouche, les courbes cinétiques ne représentent pas l'isotherme d'adsorption de Langmuir et aucun calcul de la concentration de surface de protéines adsorbées ne peut être réalisé. Ainsi, il a été entrepris une étude sur l'échange des contre-anions avec l'anion bicarbonate sur le liquide ionique 1-(12-mercaptododécyl)-3-méthylimidazolium auto-assemblé sur des surface d' Au pour tenter d'élucider le phénomène d'adsorption atypique des protéines sur des ILs-SAMs.

Chapitre 3: Synthèse non-conventionnelle du carbonate de 1-(12-mercaptododecyl)-3-imidazolium, auto-assemblé sur une surface d'or, par échange d'anions

3.1 Introduction et problématique

Les stratégies actuelles de la synthèse de l'imidazolium-2-carboxylate sont relativement complexes. Il s'agit notamment de la réaction du CO₂ avec un carbène N-hétérocyclique (NHC) obtenu à partir de la déprotonation du proton acide sur la position C2 de l'imidazolium^{66,67} et de la N-alkylation et C-carboxylation du 1-méthylimidazole avec le diméthylcarbonate⁶⁸. Les imidazolium-2-carboxylates ont été étudiés pour le transfert efficace de groupes de NHC par le Rh, Ir, Ru, Pt ou Pd⁶⁹, en tant que catalyseurs pour la synthèse de carbonate de glycérol⁷⁰ et en tant que transporteurs de CO₂⁴⁴. Cependant, la synthèse qui utilise le diméthylcarbonate nécessite des températures élevées et il est impossible d'insérer une chaîne alkyle plus longue que le butyle. Donc, la mise au point de stratégies alternatives pour la préparation de IL-carbonate est hautement désirable.

La synthèse simple de IL carbonaté sur des surfaces permet des applications catalytiques et facilite la synthèse de IL modifiés aux surfaces avec des propriétés adaptées pour l'application désirée. Un RT-IL présente des propriétés différentes selon la nature de l'anion. Cette dépendance a été illustrée par la solubilité dans l'eau d'un IL par rapport à la nature de l'anion; la solubilité diminuant dans l'ordre suivant : Br⁻ > BF₄⁻ > PF₆⁻ > NTf₂⁻⁷¹. Par exemple, les nanoparticules d'or (Au-NP) modifiées avec un RT-IL portant un anion chlorure sont solubles dans l'eau. Lorsque le Cl⁻ est échangé par l'anion PF₆⁻, les Au-NPs deviennent insolubles dans l'eau et sont transférés dans la phase organique⁵⁵. Le changement de solubilité lors d'échanges d'anions sur des matériaux fonctionnalisés avec des imidazoliums permet une transition entre deux phases différentes⁷¹. La modification de la mouillabilité des surfaces est une autre conséquence de l'échange d'anions, démontrée

pour les surfaces d'Au modifiées avec le 1-(12-mercaptododecyl)-3-imidazolium (MDMI)⁶⁴. En effet, l'angle de contact de l'eau pour plusieurs RT-IL SAM augmente avec des anions d'hydrophobicité croissante : de 23 ° pour le bromure, à 65 ° pour NTf₂⁻⁷².

3.2 Modification des liquides ioniques par la métathèse

La métathèse est la technique la plus commune pour élaborer des liquides ioniques avec différents contre-anions^{64,73,74}. Généralement, le processus commence avec un anion halogénure qui peut être échangé par un autre anion. Cet échange d'anion s'effectue en phase liquide, par une solution contenant le IL et l'anion d'intérêt à introduire dans la structure du IL. Une autre possibilité consiste à utiliser des colonnes d'échange d'anions, où un RT-IL est injecté sur une colonne remplie d'une résine chargée de l'anion devant être «inséré» dans le RT-IL. Habituellement, en solution, l'échange d'anions est possible à partir d'anions très hydrophiles vers des anions de plus en plus hydrophobes, mais l'inverse s'avère impossible selon les expériences RMN présentées dans les sections suivantes.

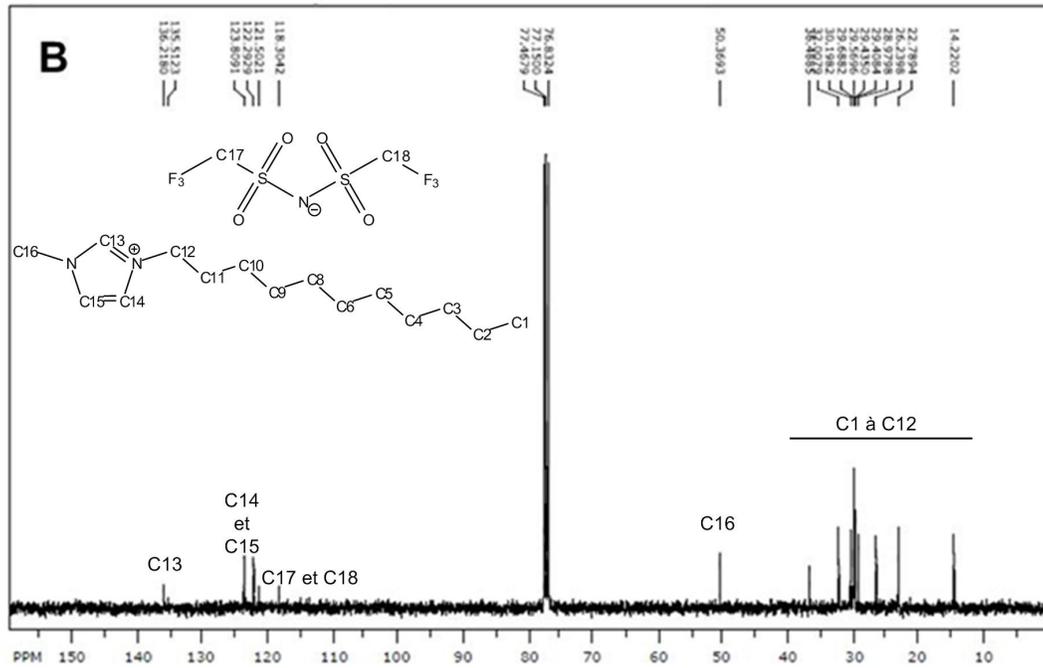
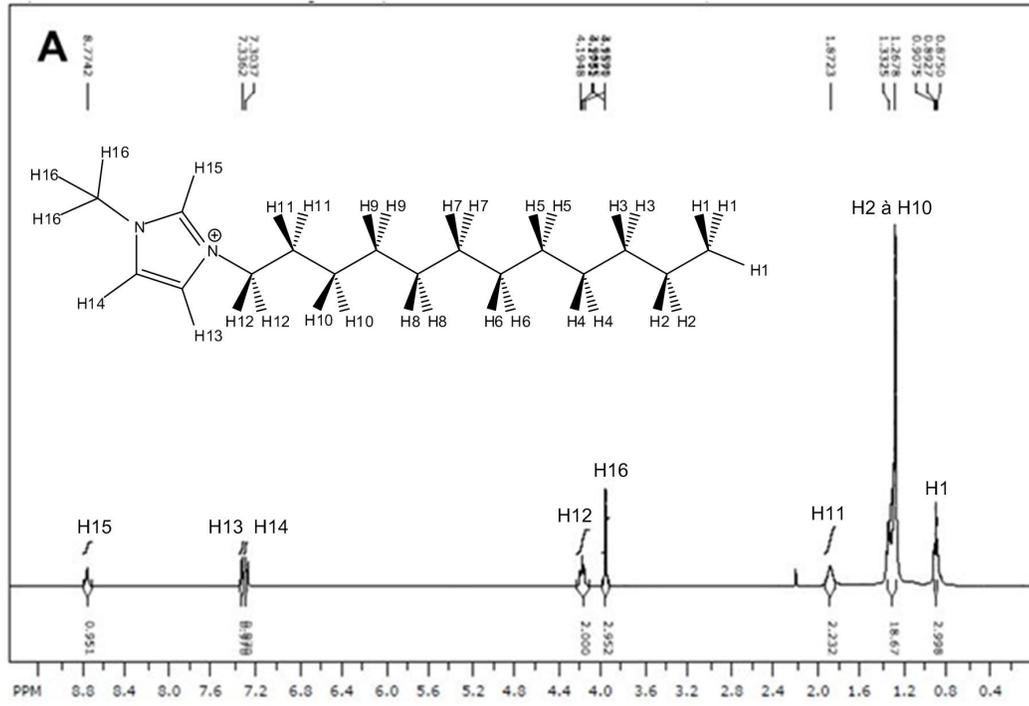
Les propriétés des liquides ioniques sont modulées lorsque ceux-ci sont immobilisés sur une surface. Une fois auto-assemblés à une surface, les échanges d'anions sur les RT-ILs deviennent possibles et réversibles. Il a été démontré antérieurement que pour les polyélectrolytes organiques, tel que le polychlorure de diallyldiméthylammonium, le processus d'échange est également possible et réversible⁷⁵. Toutefois, cette réversibilité n'a jamais été réalisée pour les RT-ILs jusqu'à ce que Chi et coll.¹⁴ le démontre récemment. Dans l'objectif de développer des surfaces électrochimiquement actives ou inactives, ils ont utilisé la réaction d'échange de contre-anions sur une RT-ILs SAM pour accomplir cet objectif. En effet, ils ont réalisé une métathèse de l'ion ferrocénium avec une électrode d'Au fonctionnalisée par le RT-IL 1,3-dialkylimidazolium. Les propriétés électrochimiques de l'électrode d'Au fonctionnalisée avec le RT-IL peuvent être activées ou désactivées si le contre-anion est Fe(CN)₆³⁻ (état « on ») ou SCN⁻ ou OCN⁻ (état « off »)¹⁴. L'échange de l'anion pour le Fe(CN)₆^{3-/4-} permet un transfert d'électrons de Ru(NH₃)₆^{2+/3+} à son couple

redox. Sans cet échange d'anion vers le $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$, le transfert d'électrons est complètement entravé par l'électrode fonctionnalisée avec le IL ⁷⁶. Ces exemples montrent l'importance de l'échange d'anions dans les propriétés des RT-ILs SAMs ⁷⁷.

En raison du manque d'informations disponibles sur le comportement des SAMs de RT-ILs exposés à du bicarbonate ou carbonate, de l'importance de l'IL-carbonaté comme précurseur pour la synthèse de divers ILs et de la persistance de carbonate dans l'eau, la réactivité des SAMs de RT-ILs doit être établie en présence de carbonate. En effet, exposer une solution aqueuse à l'air ambiant se traduira par une concentration non négligeable d'anions H_2CO_3 et de ses anions connexes, *i.e.* HCO_3^- et CO_3^{2-} , d'environ 0,01 à 0,02 mM. En outre, plusieurs applications dans les biocapteurs nécessitent l'exposition de RT-ILs aux tampons contenant du carbonate. Certaines questions importantes doivent être abordées, par exemple, s'il est possible d'échanger des anions hydrophiles ou hydrophobes par le HCO_3^- et l'effet sur les propriétés de surface des SAMs de RT-ILs suite à l'exposition au HCO_3^- .

3.3 Étude de la métathèse d'anions sur des liquides ioniques en solution

En raison de la forte force ionique entre l'anneau imidazolium et ces anions ^{7,73,77}, il a été initialement anticipé que la métathèse d'anions ne se produirait pas lorsque le mélange d'une solution de bicarbonate et d'un IL à base imidazolium avec des anions hydrophobes tels que PF_6^- ou NTf_2^- . Pour confirmer que la métathèse ne se produit pas pour les ILs en solution, une expérience a été réalisée en RMN d'une solution aqueuse de 1-(undécyl)-3-imidazolium NTf_2^- et un grand excès de NaHCO_3 , lesquels ont été vigoureusement agités à température ambiante pendant sept jours (Fig. 3.1). Comme prévu, le IL de départ était complètement rétabli et aucune trace de carbonate n'a été détectée par l'analyse RMN. Les spectres RMN confirment donc la présence du LI NTf_2^- démontrant ainsi que l'échange d'anions n'est pas possible en solution.



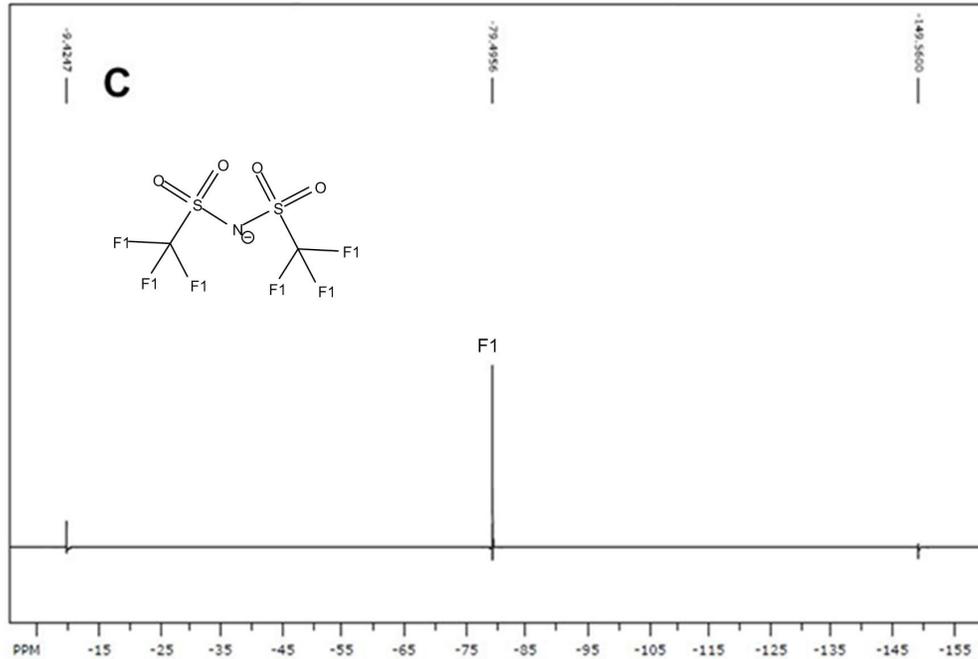


Figure 3.1 : RMN ^1H (A), ^{13}C (B) et ^{19}F (C) pour l'enquête de la métathèse d'anions sur le 1-undécyl-3-méthylimidazolium NTf_2^- en solution après une exposition au HCO_3^- . Il n'y a pas de changement apparaissant dans les spectres RMN avant et après la tentative.

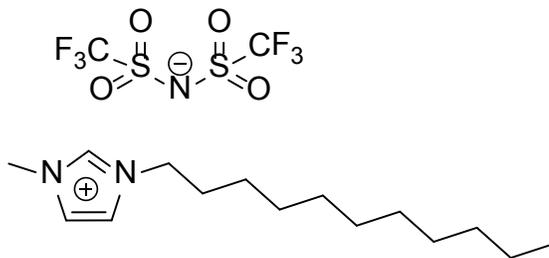


Figure 3.2 : Structure du 1-undécyl-3-méthylimidazolium bis(trifluorométhane)sulfonimide

Déplacements chimiques d'une solution de IL exposé au carbonate :

^1H -RMN (400 MHz, CDCl_3): (δ , ppm): 0.84-0.90 (t, $J=7.0$ Hz, 3H), 1.21-1.34 (m, 18H), 1.78-1.90 (m, 2H), 3.94 (s, 3H), 4.11-4.19 (t, $J=7.0$ Hz, 2H), 7.28 (s, 1H), 7.31 (s, 1H), 8.75 (s, 1H).

^{13}C -RMN (100 MHz, CDCl_3): (δ , ppm): 14.2, 22.8, 26.2, 29.0, 29.4, 29.4, 29.6, 29.7, 30.2, 32.0, 36.5, 50.4, 118.3-121.5 (d, $J_{\text{C-F}} = 320$ Hz), 122.3, 123.8, 136.2.

^{19}F -RMN (160 MHz, CDCl_3): (δ , ppm): -79.5.

3.4 Partie expérimentale

3.4.1 Fabrication des lames d'Or fonctionnalisées avec des monocouches auto-assemblées de liquides ioniques ILs-SAMs et métathèse d'anion

Le IL MDMI-Br était synthétisé comme décrit par Lee et coll.⁶⁴. Le MDMI-carboxylate, quant à lui, a été synthétisé comme décrit par Voutchkova et coll.⁶⁹. Toutes les lames de verre recouverte d'Or étaient préparées par le dépôt de 1 nm de Cr et 50 nm d'Or par pulvérisation cathodique par un appareil de déposition de métaux de marque CressingtonTM. Les ILs-SAMs ont été formées par trempage des lames d'Or dans une solution à 5 mM de 1-(12-mercaptododécyl)-3-imidazolium bromure (MDMI-Br) dans l'éthanol pendant 16 heures. Par la suite, les lames d'Or ont été immergées dans une solution saline (10 mM dans l'eau), pendant six heures, afin d'échanger le contre-anion bromure avec le BF_4^- , PF_6^- ou NTf_2^- . Par la suite, les lames d'Or fonctionnalisées avec les ILs-X (X = Br^- , BF_4^- , PF_6^- ou NTf_2^-) ont été immergées dans un tampon de bicarbonate (20 mM NaHCO_3 , 9g / L de NaCl et pH = 7,60) pendant 16 heures, produisant une deuxième métathèse d'anion. Pour évaluer si la métathèse des contre-anions initiaux était réversible, les lames étaient de nouveau immergées, après une analyse de surface initiale, dans une solution saline contenant leur anion initial respectif (10 mM dans l'eau) pendant 16 heures. Dans chaque cas, pour les mesures en angle de contact, ATR mid-IR, XPS, et MS étaient réalisées sur l'IL-SAM avec l'anion d'origine et après l'échange dans un tampon bicarbonate.

3.4.2 Préparation des échantillons pour l'analyse de la mouillabilité des MDMI-X SAMs

Les angles de contacts étaient mesurés pour tous les échantillons avec de l'eau en tant que solvant. Une gouttelette de 30 μL d'eau a été déposée sur les ILS-SAMs. Une image de la gouttelette a été acquise avec une caméra numérique et l'angle de contact a été mesuré en utilisant le programme informatique Image J. Les données pour chaque anion ont été mesurées par une moyenne de quatre échantillons.

3.4.3 Préparation des échantillons pour l'analyse des MDMI-X SAMs par ATR mid-IR

Les analyses des ILS-SAMs ainsi que du processus d'échanges d'anions étaient réalisées par ATR IR-moyen sur un FTIR équipé d'un accessoire pour la réflexion totale atténuée avec un cristal de Ge (Bruker Optics) de 4 cm^{-1} de résolution. Les données ont été obtenues en effectuant une moyenne de quatre échantillons préparés de façon identique pour tous les anions.

3.4.4 Préparation des échantillons pour l'analyse des MDMI-X SAMs par XPS

Toutes les mesures en XPS étaient effectuées en utilisant un ESCALAB 3 MKII avec une source MgK α possédant une puissance de 206 W et une résolution 0,05 eV. Les données ont été obtenues par XPS moyenne de quatre échantillons préparés de façon identique.

3.4.5 Préparation des échantillons pour l'analyse des MDMI-X SAMs par MALDI-TOF

Pour les analyses MS, une matrice de 10 mg / ml de solution d'acide 2,5-dihydroxybenzoïque dissous dans un mélange 1: 1 éthanol/H₂O + 0,1% d'acide trifluoroacétique (TFA) était déposée directement sur les couches d'au modifiées avec le MDMI-X. Les analyses ont été effectuées par un MALDI-TOF MS en utilisant un spectromètre de masse UltrafleXtreme exploité par le logiciel Flex Control 3.0 (Bruker Daltonics, Boston, MA). L'acquisition des données a été réalisée avec un réflectron optimisé sous conditions d'extraction retardées par une source de tension d'accélération de + 0 - 25 kV dans la gamme de m / z entre 10 - 2000. Le logiciel d'analyse Flex (Bruker Daltonics) fut ensuite utilisé pour les analyses des spectres de masse.

3.4.6 Préparation des échantillons pour l'analyse des MDMI-X SAMs par SERS

Les Au-NPs ont été synthétisées par réduction du citrate de AuCl₄⁻⁷⁸. Par la suite, le MDMI-Br était auto-assemblé sur les nanoparticules d'au en exposant les Au-NPs encapsulées dans le citrate à une solution du IL. Pour 10 ml de solution de nanoparticules d'au (5 à 10 nM), 20 µL de MDMI-Br (450 µM) étaient ajoutés et agités pendant une heure. Ensuite, 32 µL d'une solution à 1 mM (car les Au-NPs s'agglomèrent avec 10 mM du sel de l'anion) du contre-anion (BF₄⁻, PF₆⁻ ou NTf₂⁻) spécifique ont été ajoutés au mélange réactionnel et agités pendant une nuit. Les Au-NPs, réagissant avec les ILs, ont été centrifugées et décantées pour récupérer les Au-NPs modifiées avec le IL. Une première partie des Au-NPs était mise de côté pour être utilisée en tant que contrôle lors de l'analyse par spectroscopie Raman. La deuxième partie était exposée à 5 mL de HCO₃⁻ (1 mM, 0,45 g / L de NaCl, pH = 7,40) pendant la nuit. Après l'échange d'anions, chaque échantillon a été centrifugé et décanté pour l'analyse par spectroscopie Raman. Les spectres Raman étaient acquis sur un microscope Raman Renishaw InVia avec un laser de 633 nm

d'excitation. Chaque spectre Raman a été acquis avec une puissance du laser de 10% (environ 2-3 mW à l'échantillon) avec un temps d'intégration de 10s.

3.5 Résultats et discussion

3.5.1 Analyses de la mouillabilité des MDMI-X SAMs

Pour évaluer l'influence des solutions de carbonate sur les SAMs de RT-ILs, une SAM de bromure de 1-(12-mercaptododécyl)-3-méthylimidazolium (MDMI-Br⁻) (Fig. 3.3) a été formée sur un mince film d'au lisse. Cette expérience fut répétée pour les anions BF₄⁻, PF₆⁻ ou NTf₂⁻.

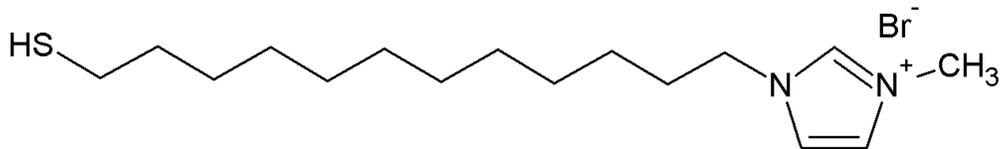


Figure 3.3 : Structure du MDMI-Br.

L'expérience de l'angle de contact a été reproduite selon le protocole de Lee et coll.⁶⁴. Il a été observé lors de cette expérience que l'angle de contact caractéristique des anions, à $24^\circ \pm 1$, $38^\circ \pm 3$, $53^\circ \pm 2$ et $71^\circ \pm 3$ pour les anions Br⁻, BF₄⁻, PF₆⁻ et NTf₂⁻ fut respectivement reproduite (Fig. 3.5)⁶⁴. Les différents angles de contact obtenus pour chaque anion indiquent leur impact significatif sur la mouillabilité de la surface.

Comme première observation, l'exposition des SAMs de RT-ILs à des tampons salins de bicarbonates (20 mM NaHCO₃ et pH 7,4 et 150 mM de NaCl ajusté à pH 7,4 (Fig. 3.4)) a radicalement changé l'angle de contact à $43^\circ \pm 2$ et ceci pour chaque anion de départ (Fig. 3.5).

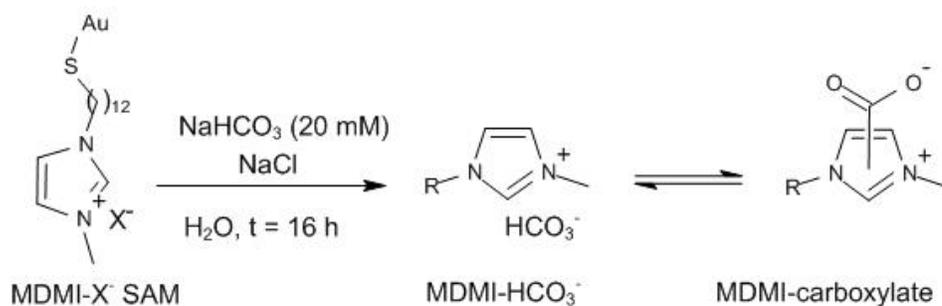


Figure 3.4 : Réaction d'échange d'anions de MDMI-X ($X = \text{Br}^-$, BF_4^- , PF_6^- et NTf_2^-) avec du NaHCO_3 aqueux, où R est le 12-mercaptododécane immobilisé sur une surface d'Au

Une expérience contrôle a été effectuée avec une SAM de 1-dodécane-thiol, n'ayant pas la tête du groupe imidazolium, afin de s'assurer que le changement de mouillabilité est spécifique aux SAMs de RT-ILs. En effet, l'adsorption de carbonate peut se produire sur des surfaces métalliques⁷⁹. Aucun changement dans l'angle de contact de la SAM de 1-dodécane-thiol n'a été observé après l'exposition au tampon bicarbonate (Fig 3.5), ce qui indique que le changement observé dans l'angle de contact du MDMI-X est une conséquence directe de l'échange d'anions.

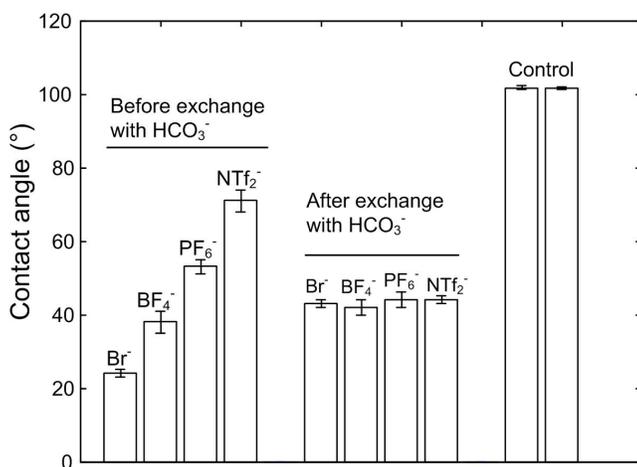


Figure 3.5 : Différence dans l'angle de contact de surface selon la variation des contre-anions. Le contrôle a été effectué avec une monocouche de dodécane-thiol.

3.5.2 Analyses des MDMI-X SAMs par XPS

Une analyse XPS de l'exposition des monocouches suivantes au tampon carbonate salin n'ont pas montré la présence de Cl^- , suggérant que la présence de bicarbonate est le facteur dominant de l'échange d'anions. Il est également important de souligner que la présence de NaCl n'est pas indispensable pour modifier les propriétés de surface en présence de bicarbonate (sans NaCl) et que la mouillabilité est également altérée en présence de K_2CO_3 salin. Toutefois, un tampon salin peut contribuer en favorisant la réaction d'échange d'anions en diminuant la longueur de Debye à la surface et en augmentant la force ionique de la solution.

Afin d'étudier l'échange d'anions à la surface des SAMs de RT-ILs, une analyse élémentaire par XPS permet d'obtenir la composition chimique de la surface. Comme les atomes de fluor sont présents dans trois des anions étudiés, *i.e.* BF_4^- , PF_6^- et NTf_2^- , l'analyse XPS a été axée sur l'orbitale 1s du fluor, possédant une énergie de liaison de près de 690 eV⁸⁰. Les résultats XPS n'ont pas été concluants pour la monocouche MDMI possédant le Br^- comme contre anion. Le pic du bromure ne présente qu'un faible épaulement sur pic de l'orbitale 4f de l'Au, difficile à détecter et à quantifier. Pour comparer le niveau de fluor pour la RT-IL avant et après exposition à un tampon bicarbonate, l'orbitale 4f de l'Au a été utilisée en tant qu'étalon interne. Comme prévu, le fluor n'a pas été détecté pour la SAM avec le Br^- avant et après l'exposition à du bicarbonate. Pour chacune des autres SAMs, BF_4^- (Fig. 3.6), PF_6^- (Fig. 3.7) et NTf_2^- (Fig. 3.8), aucun fluor résiduel n'a été détecté par XPS suivant une exposition au tampon bicarbonate. Ce résultat suggère que les contre-anions initiaux ne sont plus présents à la surface suivant l'exposition de la surface au bicarbonate.

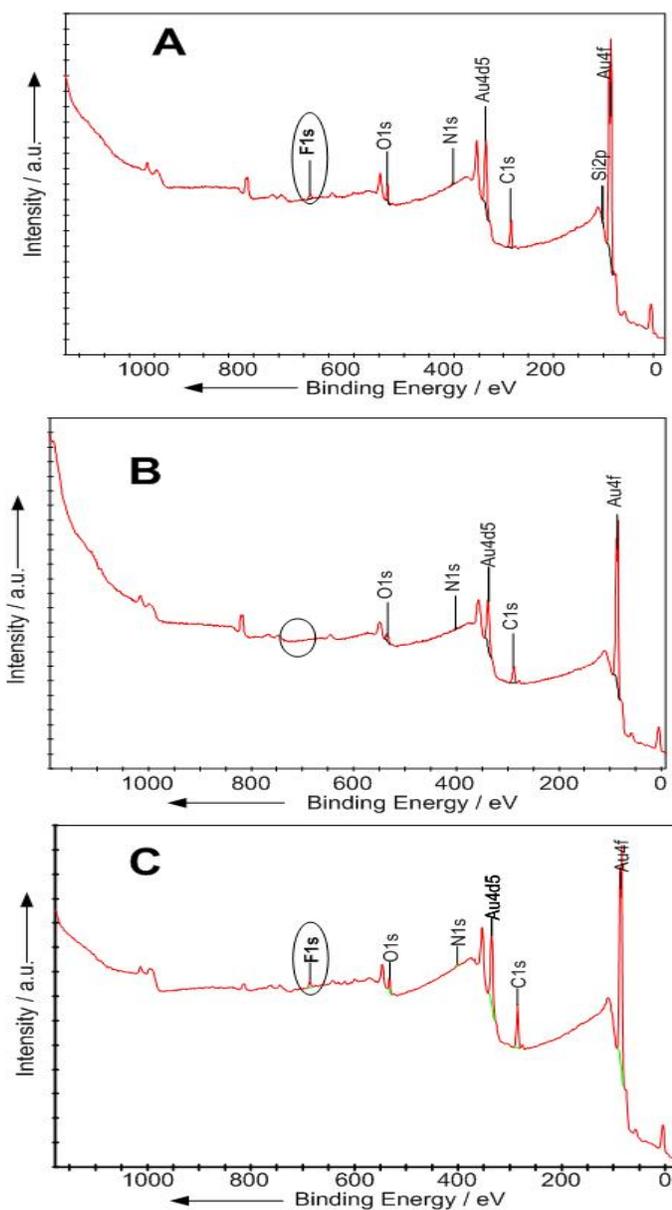


Figure 3.6 : Analyse de la métathèse d'anion par XPS pour des surfaces d'Au-IL sur la SAM de MDMI-BF₄ avant (A) et après l'exposition à l'anion HCO₃⁻ (B). Le pic de 690 eV, représentant l'orbitale 1s du fluor, disparaît après l'exposition à une solution de HCO₃⁻. Ensuite, la surface a été exposée à nouveau à l'anion BF₄⁻ (C) pour effectuer une métathèse inverse vers l'anion initial soit BF₄⁻.

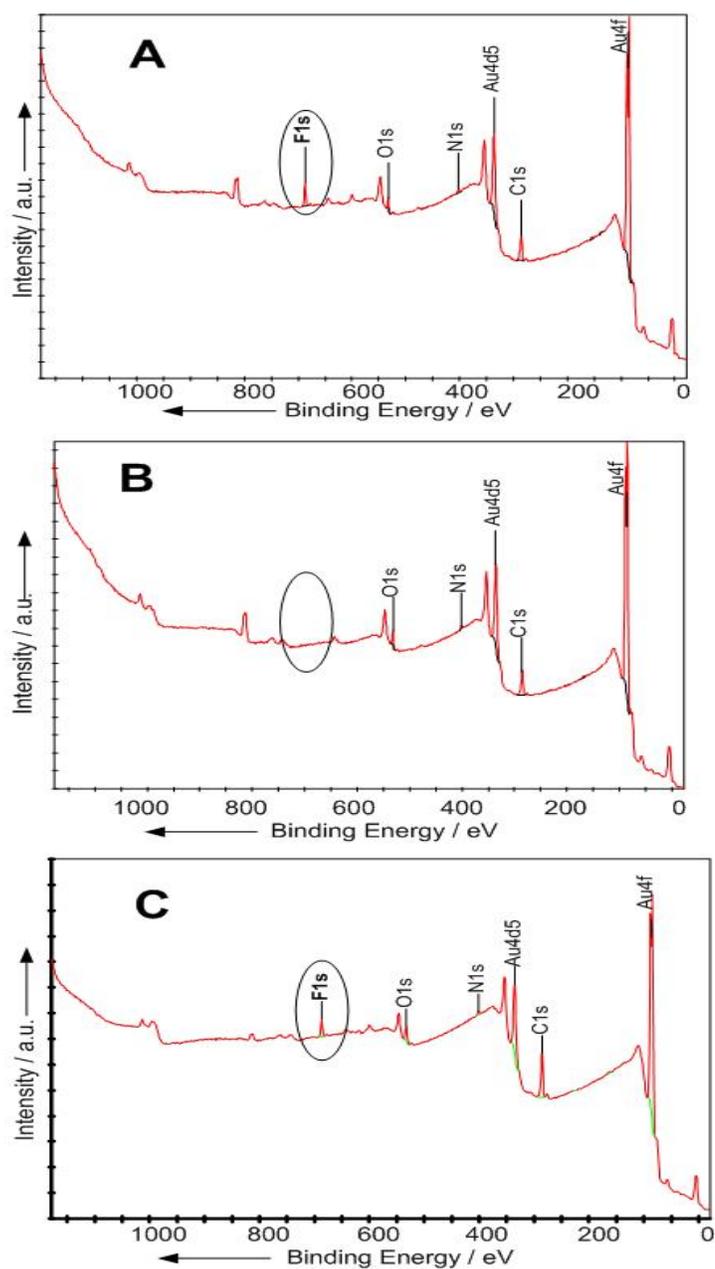


Figure 3.7 : Analyse de la métathèse d'anion par XPS pour des surfaces d'Au-IL sur la SAM de MDMI-PF₆ avant (A) et après l'exposition à l'anion HCO₃⁻ (B). Le pic de 690 eV, représentant l'orbitale 1s du fluor, disparaît après exposition à une solution de HCO₃⁻. Ensuite, la surface a été exposée à nouveau à l'anion PF₆⁻ (C) pour effectuer une métathèse inverse vers l'anion initial, soit PF₆⁻.

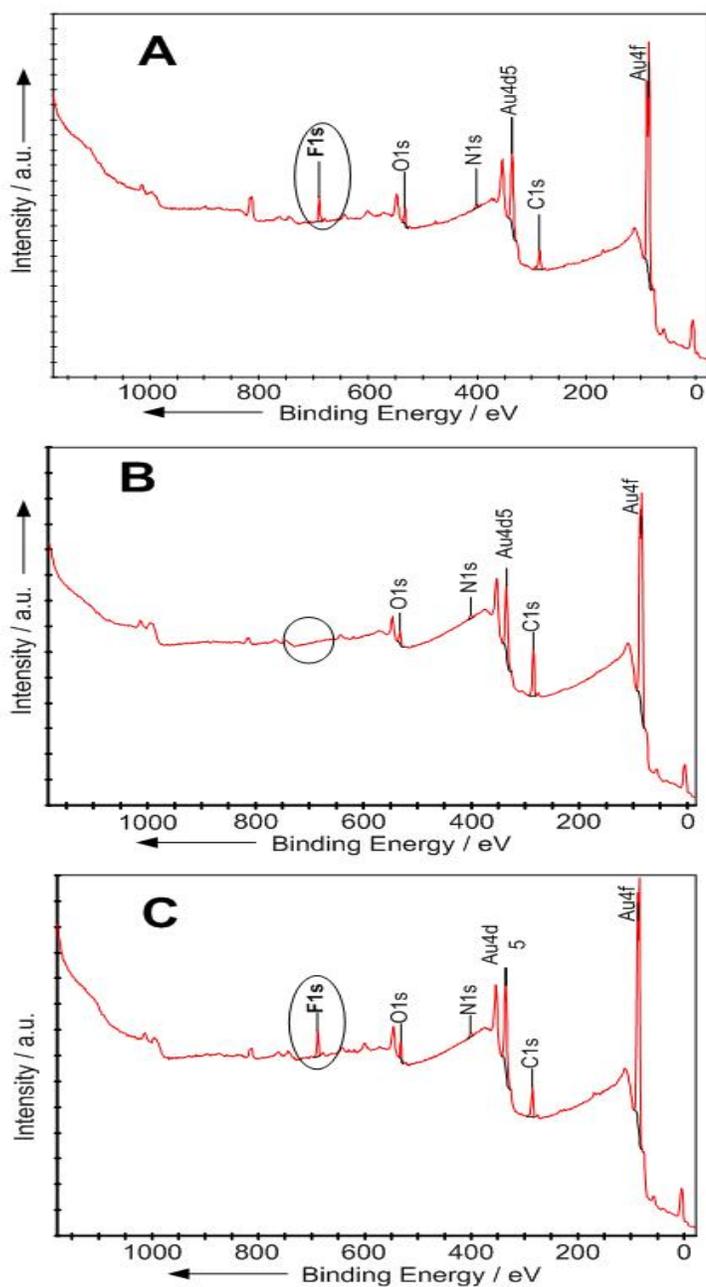


Figure 3.8 : Analyse de la métathèse d'anion par XPS pour des surfaces d'Au-IL sur la SAM de MDMI-NTf₂ avant (A) et après l'exposition à l'anion HCO₃⁻ (B). Le pic de 690 eV, représentant l'orbitale 1s du fluor, disparaît après exposition à une solution de HCO₃⁻. Ensuite, la surface a été exposée à nouveau à l'anion NTf₂⁻ (C) pour effectuer une métathèse inverse vers l'anion initial soit NTf₂⁻.

Étant donné que l'intensité des pics peut varier d'une analyse XPS à l'autre, l'intensité de l'orbital 4f de l'or a été utilisée en tant qu'étalon interne. Ainsi, l'intensité des pics du fluor 1s ont été divisé par l'intensité des pics de l'or 4f pour tous les spectres de la présente analyse. Puisque le marqueur des contre-anions pour cette analyse est l'orbitale 1s de l'atome de fluor, il a été impossible de suivre l'évolution de l'anion Br^- par cette technique. Les résultats en XPS indiquent que le rendement de l'échange est $> 99\%$ pour BF_4^- , PF_6^- et NTf_2^- puisque le pic du fluor a complètement disparu pour les trois anions. Ces résultats suggèrent que la surface de la SAM de RT-IL est complètement appauvrit de l'anion initial après l'exposition au tampon bicarbonate. La réversibilité de la réaction a été mesurée en exposant chaque surface avec une solution saline contenant leur anion initial respectif. Le rendement de la réaction inverse a été de 97% pour BF_4^- , 68% pour PF_6^- et 87% pour le NTf_2^- (Tableau 3.1).

Tableau 3.1 : Fraction de fluor analysée par XPS des différents contre anions pour les SAMs de MDMI.

	Tel que déposé	Après l'exposition à HCO_3^-	Après à réexposition à l'anion initial	la	Rendement d'échange (%)
				à	X^- à HCO_3^- à HCO_3^- à X^-
Br^-	0	0	0		ND ND
BF_4^-	0.038 ± 0.003	0.000 ± 0.000	0.037 ± 0.005		>99 97
PF_6^-	0.11 ± 0.01	0.000 ± 0.000	0.075 ± 0.004		>99 68
NTf_2^-	0.11 ± 0.02	0.000 ± 0.000	0.096 ± 0.009		>99 87

ND : non disponible

La réaction d'échange pour le PF_6^- et le NTf_2^- est quelque peu surprenante. En solution, les échanges sont possibles si l'anion de remplacement est plus hydrophobe que l'anion initial. Ainsi, un échange de HCO_3^- avec le Br^- et BF_4^- devrait être normal, mais l'échange avec le PF_6^- et NTf_2^- n'aurait pas du se produire, car l'échange ici est dans le sens inverse de l'hypothèse d'hydrophobicité, soit d'un anion hydrophobe vers un plus hydrophile. Par conséquent, la caractérisation moléculaire a été entreprise pour confirmer la réaction d'échange avec l'anion bicarbonate.

3.5.3 Analyses des MDMI-X SAMs par ATR mid-IR

Alors que les tests sur la mouillabilité et en XPS fournissent des solides preuves de la modification des propriétés de surface et de la composition élémentaire, une analyse par spectroscopie en ATR-IR-moyen a permis d'obtenir des informations moléculaires supplémentaires sur les SAMs de RT-ILs. Les bandes de vibration de BF_4^- (Fig. 3.9), PF_6^- (Fig. 3.10) et NTf_2^- (Fig. 3.11) ont toutes été observées dans les spectres de l'infrarouge moyen.

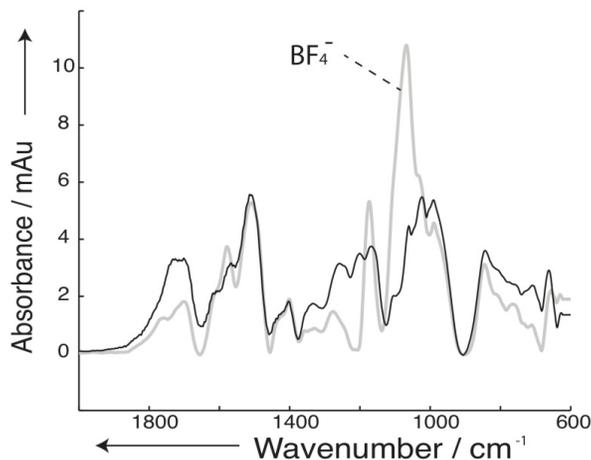


Figure 3.9 : Spectre IR de la métathèse d'anions sur MDMI- BF_4 SAM, après l'exposition au HCO_3^- . Le pic à 1074 cm^{-1} , représentant la vibration BF (en gris), disparaît après le trempage dans la solution de HCO_3^- (en noir).

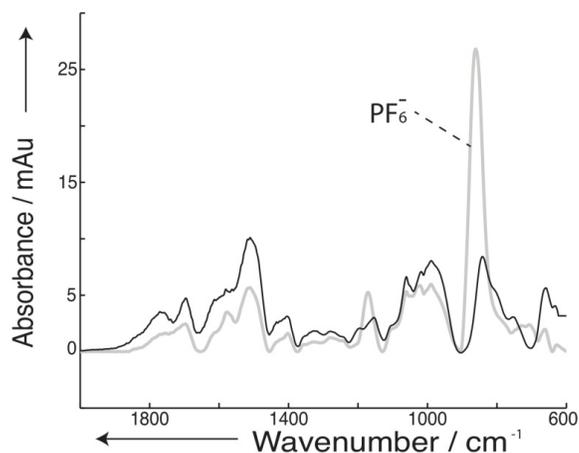


Figure 3.10 : Spectre IR de la métathèse d'anions sur MDMI-PF₆ SAM, après l'exposition au HCO₃⁻. Le pic à 863 cm⁻¹, représentant la vibration PF (en gris), disparaît après le trempage dans la solution de HCO₃⁻ (en noir).

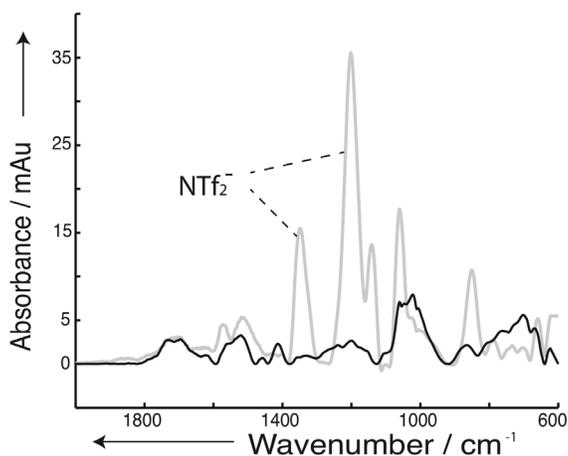


Figure 3.11 : Spectre IR de la métathèse d'anions sur MDMI-NTf₂ SAM, après l'exposition au HCO₃⁻. Le pic à 1207 et 1353 cm⁻¹, représentant respectivement les vibrations •SO₂ et •CF₃ (en gris), disparaît après trempage dans la solution de HCO₃⁻ (en noir).

Ces signatures vibrationnelles confirment la composition chimique de chaque monocouche. Les bandes caractéristiques ont été identifiées pour chaque contre-anion directement sur les SAMs de RT-ILs: 1074 cm^{-1} (BF_4^-), 863 cm^{-1} (PF_6^-), 1207 cm^{-1} ($\bullet\text{SO}_2$ du NTf_2^-) et 1353 cm^{-1} ($\bullet\text{CF}_3$ du NTf_2^-). Ces bandes vibrationnelles sont compatibles avec celles rapportées dans la littérature: 1060 cm^{-1} (BF_4^-)⁸, 865 cm^{-1} (PF_6^-)⁸¹, 1237 cm^{-1} ($\bullet\text{SO}_2$ du NTf_2^-) et 1354 cm^{-1} ($\bullet\text{CF}_3$ du NTf_2^-)⁷⁷. Évidemment, aucune bande vibrationnelle ne peut être observée pour le contre-anion bromure en ATR mid-IR. Ainsi, il a été impossible d'effectuer le suivi du Br^- lors des diverses expositions par cette technique. Après l'échange avec le tampon bicarbonate, les spectres montrent que les bandes caractéristiques de chaque contre-anion sont fortement réduites en intensité relative et dans certains cas les bandes ne sont plus observées. L'analyse IR-moyen a fournit des preuves convaincantes que les anions sont échangés à la surface de la SAM de RT-IL en présence de tampon bicarbonate salin. Bien que l'échange d'anions est inattendu, surtout pour PF_6^- et NTf_2^- , l'IR-moyen confirme que le changement observé dans la mouillabilité de la SAM de RT-IL après l'exposition au tampon bicarbonate est du à l'échange d'anions. Malheureusement, il n'y a pas de forte signature caractéristique du produit final, *i.e.* HCO_3^- , après l'échange.

3.5.4 Analyses des MDMI-X SAMs par MALDI-TOF

Pour établir la nature de l'échange des SAMs de RT-ILs suivant l'échange d'anions dans un tampon bicarbonate, leur composition chimique a été analysée par spectrométrie de masse (MS), utilisée en combinaison avec une désorption/ionisation par laser assistée d'une matrice (MALDI), pour analyser le contenu chimique des surfaces. La monocouche de MDMI-Br a été caractérisée par un seul pic à m/z 283,8 Da en mode d'ionisation positive, correspondant à MDMI^+ et à m/z 79 et 81 Da en mode d'ionisation négative, correspondant à l'ion Br^- avec le bon rapport isotopique (Fig. 3.12).

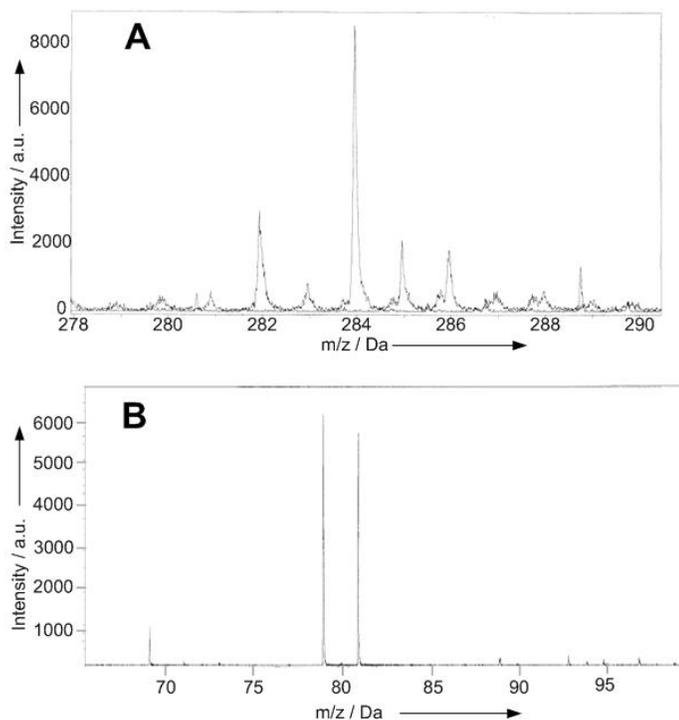


Figure 3.12 : Spectre de masse en mode d'ionisation positif pour le MDMI⁺ auto-assemblé sur une surface d'Au 283.8 m/z (A) et le spectre de masse en mode d'ionisation négatif pour le Br⁻ à 79 et 81 m/z (B).

Après l'exposition au tampon bicarbonate, le pic caractéristique du MDMI⁺ m/z 283,6 Da est toujours présent dans l'ionisation positive, en plus d'un signal à m/z 326,2 Da. Cet ion correspond au MDMI-carboxylate (Fig. 3.13), sans identification précise de la position du carboxylate sur le noyau imidazolium.

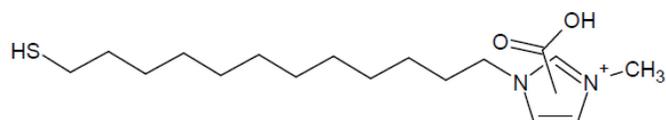


Figure 3.13 : Structure du MDMI-carboxylate. Le groupement carboxylate peut se retrouver sur les positions 2, 4 ou 5 du noyau imidazolium.

Alors que le proton le plus acide est en position 2, susceptible de réagir et que la synthèse du 2-carboxylate a été précédemment rapportée, l'analyse MS ne peut élucider la position de la substitution carboxylation et l'analyse par RMN ne peut pas être effectuée sur la surface d'au. En plus, l'isomérisation du carboxylate entre les positions 2 et 4 sur le noyau imidazolium a été signalée, bien que la réaction nécessite une température élevée ⁴⁴. Une ionisation en mode négatif du MS confirme l'absence du pic Br^- après l'échange d'anion et l'apparition du pic de l'ion HCO_3^- à m/z 62,5 Da fut observée. La présence du MDMI-carbonate et carboxyle à la surface du film d'au est une conséquence de l'équilibre cinétique entre le MDMI-HCO_3^- et le MDMI-carboxylate ⁴². La procédure pour la formation du carboxylate est par la déprotonation du cation imidazolium par le bicarbonate pour former le carbène, qui réagit avec le CO_2 ainsi permettre de former le MDMI-carboxylate. Cette réaction a également été observée avec méthylimidazole et diméthylcarbonate ⁶⁹.

Un échange d'anion partiel peut survenir même en présence de faible concentration de bicarbonate. L'analyse MS de MDMI-Br, qui a été exposée à l'eau, mais pas au tampon bicarbonate, montre le pic caractéristique de MDMI^+ . De plus, l'analyse MS a révélé des traces de MDMI-carboxylate dans la solution, mais avec un ratio de l'aire de pic favorisant fortement l'espèce MDMI^+ . Fait important, l'aire du pic du MALDI-TOF ne tient pas compte de la probabilité d'ionisation qui peut être différente pour les deux molécules, rendant ainsi la mesure seulement qualitative. La présence du MDMI-carboxylate est certainement surprenante, en raison de la faible concentration de carbonate dans l'eau exposée à l'air ambiant. La loi de Henry stipule que le carbonate est présent dans l'eau à une concentration de 10-20 μM , en supposant une concentration atmosphérique typique de CO_2 d'environ 0,03 à 0,06 % de la pression absolue ⁷⁹. Par la présence de H_2CO_3 qui persiste dans l'eau, dû au CO_2 atmosphérique, même quand aucun bicarbonate n'est intentionnellement ajouté ⁸², l'échange d'anion a encore lieu et conduit à la formation de MDMI-carboxylate lors de l'hydratation de la SAM de RT-IL. Ce résultat est d'une

importance capitale pour le stockage à long terme ou d'exposition de SAMs de RT-ILs dans l'eau.

Basé sur ces résultats, le MDMI-carboxylate a été synthétisé par la déprotonation de l'anneau imidazolium pour former un carbène et ensuite réagit avec du CO₂, comme précédemment décrit⁸³, pour former le MDMI-carboxylate. Le MS a démontré la présence d'ions à m/z 283 et 326 Da, pour les structures du MDMI⁺ et MDMI-carboxylate respectivement. L'angle de contact d'une SAM de MDMI-carboxylate est de 54 ± 3 °, un peu différent de celui observé à 43° par la voie d'échange d'anions. Ceci s'explique par le fait que la SAM n'a pas été laissée dans l'eau pour atteindre l'équilibre, afin de démontrer que la mouillabilité sera différente par rapport à la proportion de MDMI-HCO₃⁻ et MDMI-carboxylate. Ce résultat confirme la présence d'un équilibre entre le carbonate et la forme carboxylée du MDMI, même sur des surfaces d'Au.

3.5.5 Analyses des MDMI-X SAMs par SERS

La stabilisation des nanoparticules d'or (Au-NPs) par les RT-ILs fut rapportée⁵⁵⁻⁵⁸. Il était donc important de vérifier si la métathèse d'anions se produit également sur les Au-NPs fonctionnalisées avec des RT-ILs. Les Au-NPs encapsulées avec le citrate, ont été synthétisées en utilisant la méthode Turkevitch⁷⁸. L'échange d'anions a été réalisé avec du bicarbonate sur les Au-NPs fonctionnalisées avec le MDMI-Br. Les surfaces adaptées pour l'exaltation de la diffusion Raman par les nanoparticules (SERS) ont été utilisées pour démontrer que l'échange d'anions se produit également sur une SAM MDMI-X sur des Au-NPs. Pour les Au-NPs modifiées avec le MDMI-X, où X est Br⁻, BF₄⁻, PF₆⁻ ou NTf₂⁻, 5 mL de Au-NPs ont été exposées à du bicarbonate (450 µL à une concentration de 1mM). Une nouvelle bande vibrationnelle est apparue à 2118 cm⁻¹, attribuée à la bande vibrationnelle du bicarbonate (Fig. 3.14).

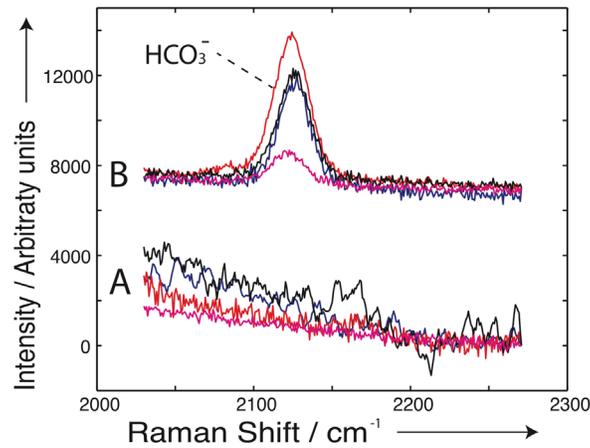


Figure 3.14 : Spectre SERS du RT-IL SAM de MDMI-X immobilisé sur des Au-NPs avant (A) et après (B) une métathèse avec l'anion HCO_3^- . X = Br^- (mauve), BF_4^- (bleu), PF_6^- (noir) and NTf_2^- (rouge).

Cette bande vibrationnelle caractéristique de l'anion bicarbonate était absente dans le spectre Raman des Au-NPs fonctionnalisées avec du citrate, n'ayant pas été exposée à du bicarbonate. L'assignation a été validée en mesurant la réponse SERS des Au-NPs encapsulées avec le citrate et ensuite exposées à un tampon HCO_3^- , confirmant que la bande à 2118 cm^{-1} correspond au HCO_3^- . Par la suite, la mesure de la réponse SERS du MDMI-carboxylate sur les Au-NPs a été utilisée pour effectuer un test de contrôle supplémentaire. Après une courte exposition à l'eau, tel que l'équilibre n'a pas été atteint entre les espèces MDMI- HCO_3^- et MDMI-carboxylate, le spectre Raman révèle des bandes à 2118 et 2241 cm^{-1} . Ces bandes vibrationnelles sont respectivement attribuées au bicarbonate et carboxylate. Ce résultat montre clairement que l'échange d'anions a été également possible sur les NPs métalliques fonctionnalisées avec le IL MDMI-X, offrant une approche synthétique du MDMI-carbonate sur les Au-NPs. Ce résultat soulève aussi la prudence que les Au-NPs stabilisées avec des RT-ILs doivent être soigneusement entreposées afin de maintenir leur contre-anion.

3.6 Conclusion

En conclusion, malgré l'impossibilité d'effectuer la métathèse de contre-anions pour des solutions de IL MDMI-X (sauf pour le bromure, comme le montre l'enquête RMN), l'échange d'anions avec du bicarbonate est en effet possible des SAMs de MDMI-X sur une surface d'Au. La métathèse de l'anion bicarbonate est complète pour tous les anions étudiés, *i.e.* BF_4^- , PF_6^- et NTf_2^- , quelle que soit leur hydrophobicité ou leurs propriétés de coordination avec l'anneau imidazolium. La réversibilité des échanges a été démontrée avec des rendements supérieurs à 69%. Il est également important de souligner que l'échange se produit sur des Au-NPs fonctionnalisées avec le IL MDMI-X. En raison de la décarboxylation de Krapcho, il existe un équilibre cinétique entre les espèces MDMI-carboxylate et MDMI- HCO_3 . Il a été démontré que l'échange d'anions peut se produire même en présence de bicarbonate dilué à partir de la dissolution du CO_2 atmosphérique. Ainsi, la synthèse simple de ce précurseur important de l'IL a été démontrée, ce qui pourrait être employé dans la synthèse de surface à base de différentes SAMs de RT-ILs. Considérant les avantages pratiques et environnementaux, l'étude décrit non seulement une nouvelle voie générale pour la préparation de ILs ayant des contre-anions non coordonnés ou non nucléophiles, incluant les ILs fonctionnalisés, mais contribue également à la compréhension des processus physico-chimiques qui sont particuliers aux surfaces métalliques fonctionnalisées avec des ILs.

Chapitre 4: Étude de l'adsorption non-spécifique de protéines sur des monocouches auto-assemblées de 1-(alkylthiol)-3-méthylimidazolium avec le contre-anion HCO_3^- et confection de biocapteurs.

4.1 Adsorption non-spécifique des ILs-SAMs possédant tous l'anion bicarbonate

Maintenant que le phénomène d'échange d'anions avec le tampon bicarbonate est mieux compris, il est important d'étudier l'adsorption non-spécifique sur des ILs-SAMs. En effet, si la tendance observée au début de l'injection des solutions de sérum bovin est en effet due à l'échange d'anions, effectuer les mesures d'adsorption non-spécifique sur une surface préalablement échangée avec l'anion bicarbonate devrait en principe éliminer le phénomène de changement supérieur du λ_{spr} lors de l'ajout du sérum bovin. Donc, des lames d'Au fonctionnalisées avec les ILs ont été trempées dans une solution tampon de bicarbonate (20 mM NaHCO_3 , 9g / L de NaCl et pH = 7,60) pour que les SAMs aient préalablement le contre-anion HCO_3^- avant l'ajout du sérum bovin. Par la suite, les imidazolium-SAMs des chaînes alkyles C3, C6, C9 et C12, possédant tous l'anion HCO_3^- , ont été testées pour l'adsorption non-spécifique de protéines (Fig. 4.1).

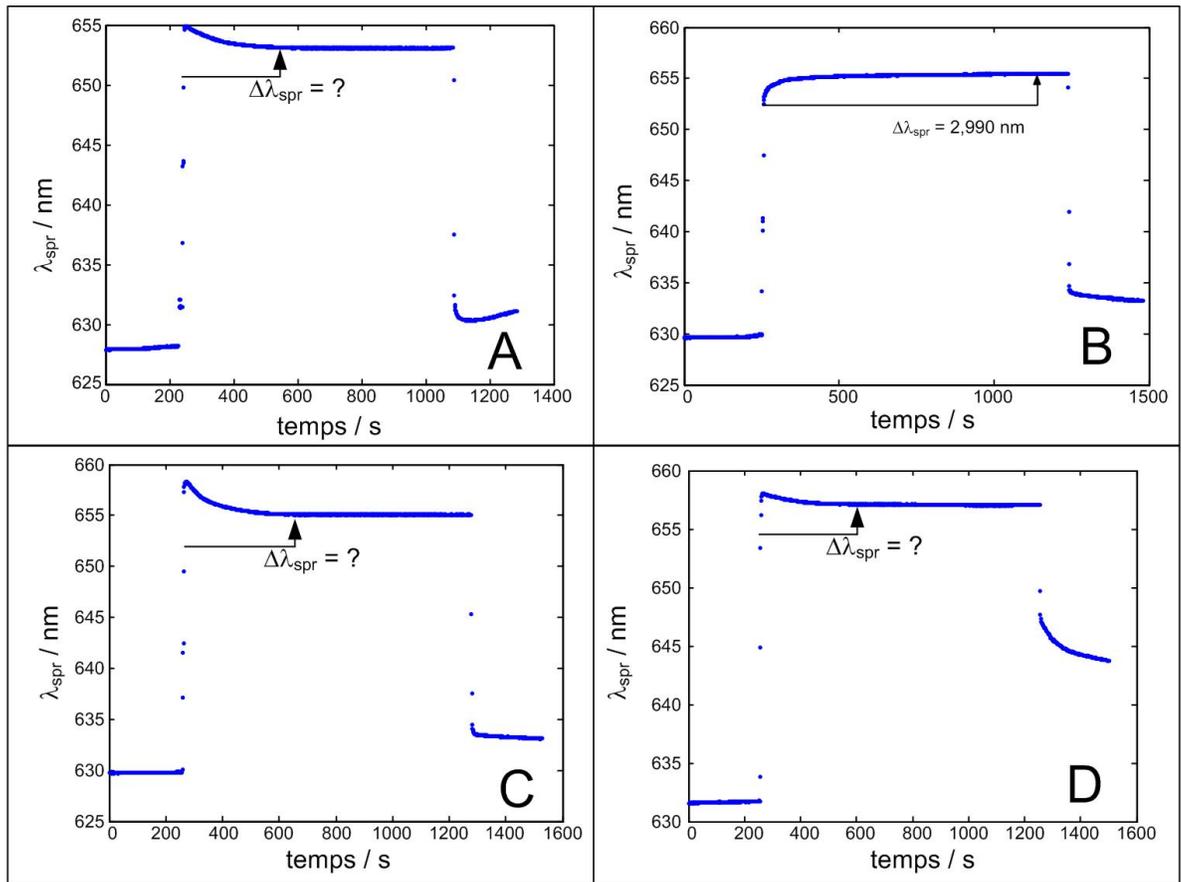


Figure 4.1 : Étude cinétique en SPR de l'adsorption non-spécifique de sérum bovin sur des ILs-SAMs des chaînes alkyles C3 (A), C6 (B), C9 (C) et C12 (D) possédant tous le contre-anion HCO_3^- .

Bien que les contre-anions de chaque échantillon fussent échangés pour l'anion bicarbonate, l'augmentation drastique du λ_{spr} lors de l'injection de sérum bovin est encore présente pour les ILs-SAMs des chaînes alkyles C3, C9 et C12, mais pas pour la chaîne C6. Pour étudier ce phénomène, des études cinétiques supplémentaires, avec plusieurs injections successives de sérum bovin, ont été réalisées pour les chaînes C3, C9 et C12 (Fig. 4.2).

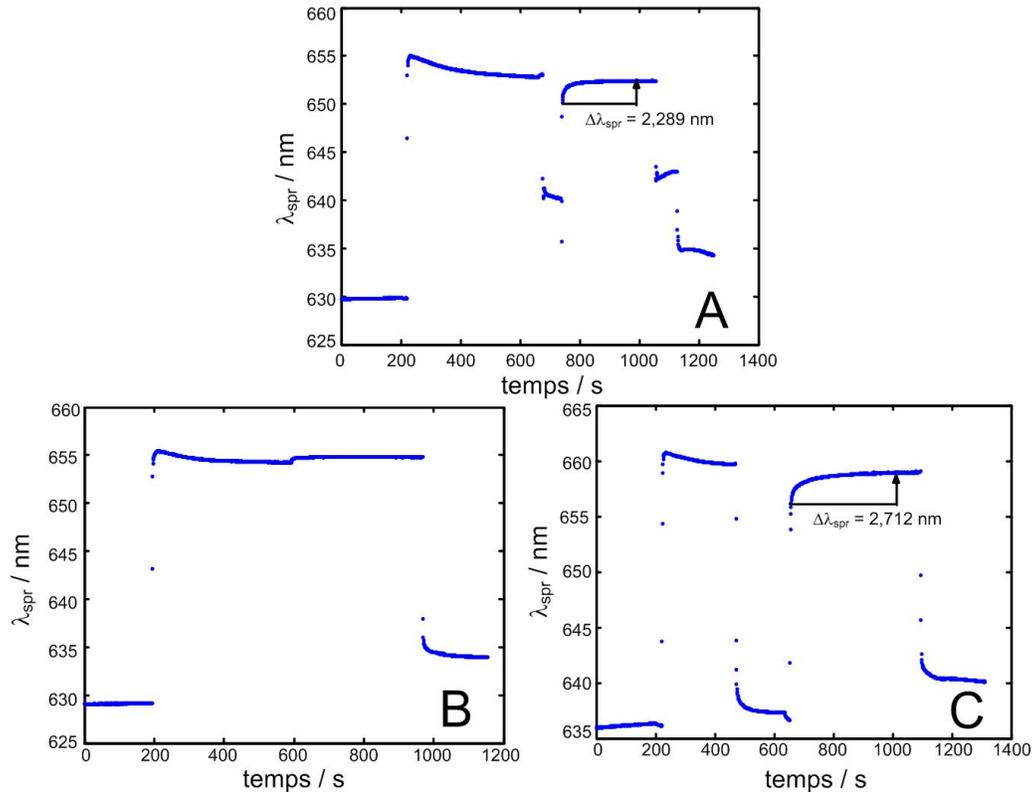


Figure 4.2 : Étude cinétique de l'adsorption non-spécifique de multiple injection de sérum bovin sur les ILs-SAMs des chaînes alkyles C3 (A), C9 (B) et C12 (C).

Encore une fois, tel qu'observé à la figure 4.2, dès la deuxième injection de sérum bovin, le phénomène du changement supérieur de λ_{spr} ne se produit plus. Malgré un échange préalable du contre-anion avec l'anion bicarbonate, le problème n'a pas été réglé. Ceci confirme du moins que le phénomène ne se produit qu'une seule fois et que par la suite, des adsorptions normales de protéines ont lieu sur les ILs-SAMs. Cependant, il est impossible de prendre les valeurs de $\Delta\lambda_{\text{spr}}$ lors des injections successives, car il est impossible de déterminer les protéines qui se sont préalablement déposées sur la lame lors de la première injection. Ainsi, les valeurs de protéines adsorbées sur les surfaces se retrouveraient sous-estimées. L'hypothèse que le phénomène soit dû à une métathèse avec un anion HCO_3^- fut réfutée par ces expériences.

4.2 Relaxation ultra-lente des liquides ioniques

Après plusieurs recherches de littérature pour tenter d'élucider le phénomène d'adsorption atypique des protéines, il semble que ce dernier soit dû à une relaxation ultra-lente des RT-ILs ⁸⁴. Le phénomène de relaxation ultra-lente des RT-ILs est dû au changement de tension interfaciale (γ) pouvant être causé par des changements dans l'environnement proche des RT-ILs, *e.g.* la température, la pression, la force ionique et le champ électrique, pour n'en nommer que quelques-uns. Ce phénomène a été intensivement étudié sous divers aspects tels que la dynamique moléculaire ⁶¹, la spectroscopie de fluorescence ⁶⁰, et par la spectroscopie diélectriques à haut débit ⁵⁹. Par exemple, une étude récente sur la dynamique moléculaire a démontré que le temps de relaxation de la polarisation du chlorure de diméthylimidazolium est de l'ordre de picosecondes ⁶¹. Aussi, les études du temps de vie en fluorescence ont démontré que la solvation du 3-butyl-1-méthylimidazolium est de l'ordre de 100 fs à 10 ns ⁶⁰. Cependant, Yasui et coll. ⁸⁴ ont rapporté une réponse très lente, de l'ordre de minutes, de la tension interfaciale, due à une modification de potentiel (E) à l'interface LiCl et le RT-IL trioctylmethylammonium bis(nonafluorobutanesulfonyl)-amide ($\text{TOMA}^+ \text{-C}_4\text{C}_4\text{N}^-$) (Fig. 4.3).

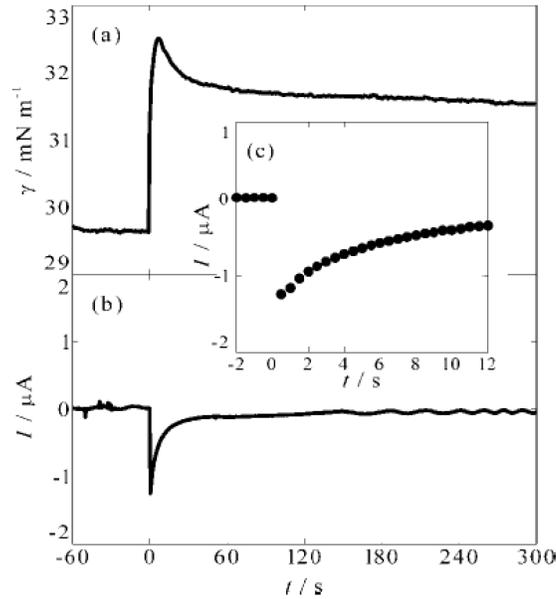


Figure 4.3 : Dépendance temporelle de la tension interfaciale (a) et du courant (b) lors d'un changement de potentiel de -200 à -400 mV à $t = 0$ s à l'interface $\text{TOMA}^+ - \text{C}_4\text{C}_4\text{N}^-$ et 0,1 M LiCl en solution aqueuse. Dépendance temporelle (c) du courant pour les 12 premières secondes après l'étape de potentiel. Reproduit de la référence ⁸⁴

Suivant un changement de potentiel, durant lequel le potentiel est passé à un potentiel plus négatif que le potentiel de charge zéro ($E_{\text{pzc}} = -330$ mV), la tension interfaciale (γ) a d'abord augmenté pour ensuite diminuer. Lorsque E est intensifié de -200 à -400 mV, le signe de la densité de charge de surface excédentaire est passée d'une valeur négative à positive. Cette inversion de charge peut être atteinte que par le réarrangement des espèces ioniques adsorbées dans le voisinage de l'interface. Au cours de ce réarrangement de charge, il est logique de s'attendre à ce que la tension interfaciale devienne en premier plus grande. La densité surfacique, chargée négativement, est progressivement neutralisée par l'approche d'espèces positivement chargées, en réponse au saut de potentiel, jusqu'à ce que la charge positive domine sur le côté RT-ILs de l'interface. Au cours de cette inversion de charge, la structure de l'interface doit être transitoirement neutralisée et prendre une structure similaire à celle du potentiel de charge zéro lorsque la γ

atteint un maximum. Puis, γ devient plus petite pour atteindre une valeur stationnaire à $E = -400$ mV. Ainsi, il n'est pas surprenant de voir le pic, qui peut à son tour être considéré comme une preuve du changement ultra-lent de la structure de la double couche électrique à l'interface.

Ce phénomène de relaxation ultra-lente de la tension interfaciale peut très bien être associé au phénomène de l'adsorption atypique observé lors des études de l'adsorption non-spécifique de protéines en SPR. En effet, les réponses SPR obtenues lors de ces études contient la même variation de signal que les tests sur la relaxation ultra-lente réalisés par Yasui et coll.⁸⁴. Ainsi, lors de l'injection de sérum bovin sur les ILs-SAMs, il pourrait y avoir un changement physique à l'interface IL-SAM / sérum bovin, produisant une relaxation ultra-lente dans le IL. Ce changement physique est probablement lié à la force ionique du milieu exposé à la surface modifiée avec les IL-SAM. En effet, la force ionique du PBS est moindre que pour le sérum. Donc, la longueur de Debye sera ainsi modulée. De plus, ce changement de force ionique pourrait induire un changement de conformation du IL à la surface d'Au. Tel que démontré dans la littérature, ce changement peut se produire de façon ultra-lente.

4.3 Transition de conformation pour le C6

La raison pour laquelle les ILs-SAMs de chaîne alkyle C6 ne présentent pas de relaxation ultra-lente de la tension interfaciale lors de l'ajout de sérum bovin reste encore obscure. Cependant, une hypothèse peut être avancée grâce aux recherches de Branca et coll.⁷⁶. Ce collègue a rapporté que la température de déposition des RT-ILs influence la structure moléculaire des SAMs. Une modélisation moléculaire du 1-(12-mercaptododecyl)-3-méthylimidazolium bromure démontre que la structure est bien ordonnée avec une conformation *trans* de la chaîne aliphatique à basse température, mais devient désordonnée à plus haute température. Un changement de conformation peut

influencer sur la mouillabilité, l'épaisseur de la monocouche, la fréquence de vibration mesurée en spectroscopie Raman et sur les propriétés de transfert d'électrons⁶³. L'auteur a déterminé une température de transition proche de 25°C, soit la température où étaient fabriquées les ILs-SAMs pour les études d'ANS, pour les ILs 1-(alkylthiol)-3-méthylimidazolium. Sans en connaître la raison précise à ce moment, il est possible que la structure moléculaire des ILs-SAMs C6 fasse en sorte que les charges se retrouvent plus profondément dans la structure et non pas à l'interface. Fait à noter, les simulations moléculaires de Branca *et coll.* suggèrent que le contre-anion pénètre plus profondément dans la monocouche à des températures supérieures à la transition de phase. Ceci pourrait expliquer la raison pour laquelle il n'y a pas de relaxation ultra-lente qui se produit lors de l'injection de sérum bovin pour les monocouches C6. Ces hypothèses devraient être vérifiées dans les travaux futurs de ce projet.

4.4 Préparation des substrats pour la confection de biocapteurs à base de ILs-SAMs

Pour la confection de biocapteurs, un groupement acide carboxylique est nécessaire pour effectuer la liaison entre la monocouche et le récepteur moléculaire. Le couplage entre la monocouche et le récepteur sera possible grâce à la chimie de l'éthyl(diméthylaminopropyl) carbodiimide (EDC) jumelé au *N*-hydroxysuccinimide (NHS). Pour ceci, le IL 1-carboxyméthyl-3-(12-mercaptododecyl)-imidazolium bromure fut utilisé pour la réalisation des monocouches (Fig. 4.4).

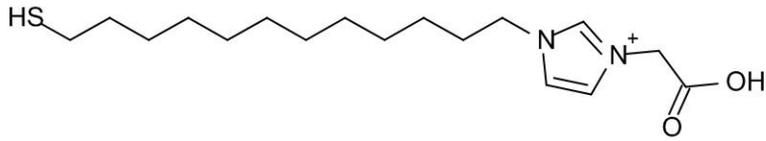


Figure 4.4 : Structure du liquide ionique 1-carboxyméthyl-3-(12-mercaptododecyl)-imidazolium

Le modèle utilisé fut celui de l'anti-IgG de chèvre sélective à l'IgG humain. La création du biocapteur fut réalisée en temps réel, en utilisant la micro-fluidique du montage SPR pour effectuer les injections des solutions et réactifs. Les essais cinétiques se déroulaient en 53 minutes où le volume total, l'ordre ainsi que les temps d'injection suivirent l'ordre suivant :

- 1- 2 mL de H₂O, 2 minutes;
- 2- 1 mL de mélange 1 :1 EDC (500 mM) / NHS (100 mM), 2 minutes;
- 3- 2 mL de PBS (pH 4,5), 2 minutes;
- 4- 300 µL Anti-IgG (1,5 µM), 15 minutes;
- 5- 2 mL de PBS (pH 7), 2 minutes;
- 6- 2 mL d'éthanolamine (1 M, pH 8,5), 5 minutes;
- 7- 2 mL PBS (pH 7), 5 minutes;
- 8- 300 µL IgG (500 nM), 15 minutes;
- 9- 2 mL PBS (pH 7), 5 minutes.

4.5 Confection de biocapteurs à base de 1-carboxyméthyl-3-(12-mercaptododécyl)-imidazolium SAMs

Quelques tests préliminaires ont été réalisés pour la confection de biocapteurs. Ces tests servirent à déterminer s'il serait viable de concevoir des biocapteurs à base de liquide ionique. Pour ce faire, une monocouche de 1-carboxyméthyl-3-(12-mercaptododécyl)-imidazolium a été testée avec les contre-anions Br^- , BF_4^- , PF_6^- et le NTf_2^- . Premièrement, pour comparer la sélectivité de l'IgG humain à l'anti-IgG de chèvre sur les ILs-SAMs, un test de contrôle avec une monocouche d'acide 16-mercapohexadécanoïque (16-MHA) a été réalisé (Fig. 4.5).

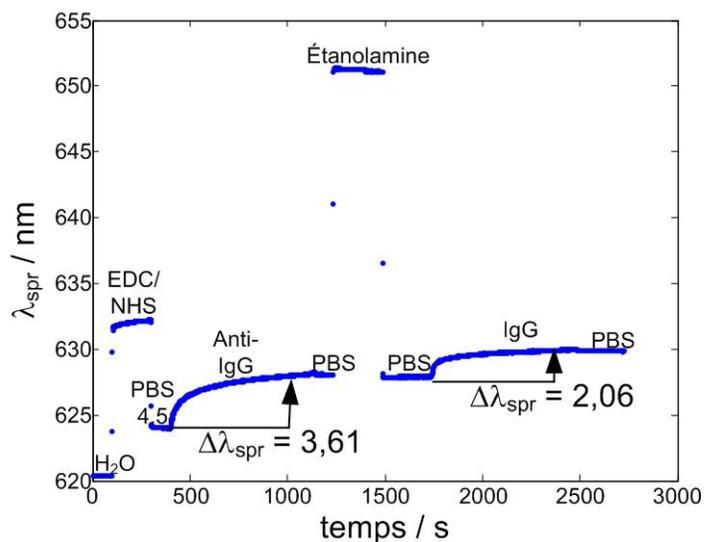


Figure 4.5 : Biocapteur SPR de l'IgG humain sélectif à l'anti-IgG de chèvre, conçu sur une SAM de 16-MHA.

Maintenant, ayant une valeur de base pour la fixation de l'anti-IgG et pour l'adsorption de IgG, les biocapteurs SPR à base de IL furent ensuite testés (Fig. 4.6).

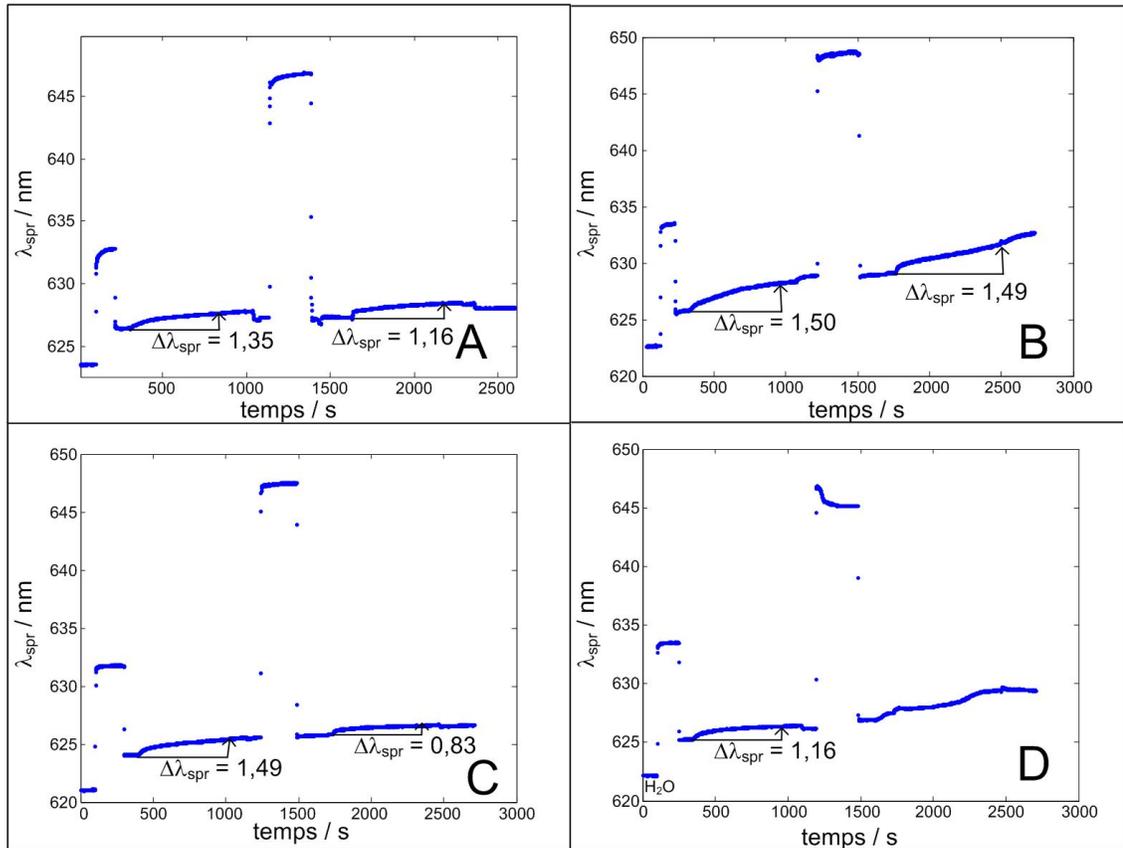


Figure 4.6 : Étude SPR, en temps réel, de la construction de biocapteurs avec les SAMs de 1-carboxyméthyl-3-(12-mercaptododécyl)-imidazolium Br^- (A), BF_4^- (B), PF_6^- (C) et NTf_2^- (D).

La fixation de l'anti-IgG sur ces ILs-SAMs produit une variation de λ_{spr} d'environ 1,38 nm contre une variation de $\lambda_{\text{spr}} = 3,61$ nm sur le 16-MHA. Peu importe le contre-anion utilisé, la fixation de l'anti-IgG est toujours inférieure à comparer sur une monocouche de 16-MHA. Utilisées seules, les ILs-SAMs ne présentent aucune amélioration lors de la fixation du récepteur et pour la capture de biomolécules. Cependant, ceci pourrait bien être normal, car bien qu'un mélange de solvant organique avec un IL améliore l'activité des enzymes comparativement au solvant organique pur, un mélange composé à 100% de IL le diminuera⁶². Ainsi, l'utilisation d'une monocouche composée à 100% de IL ne semble pas

appropriée pour la confection de biocapteurs. Comme certaines monocouches de peptides éliminent au maximum l'adsorption non-spécifique de protéines⁸⁵, il serait intéressant de vérifier si une monocouche hétérogène composée d'un mélange de peptides et de liquides ioniques, pourrait présenter un avantage sur l'activité des récepteurs moléculaires tout en diminuant l'adsorption non-spécifique. Aussi, fait intéressant à remarquer dans la figure 4.5 D, à l'étape de l'injection de l'éthanolamine (1200 s), il s'est produit une relaxation ultra-lente des ILs. Bien que ce phénomène fût identifié, il ne se produit qu'à l'occasion lors de la confection de biocapteurs et il n'est pas encore clair quelle est l'influence de la relaxation ultra-lente lors de la fabrication de biocapteurs.

4.6 Conclusion

L'hypothèse de l'adsorption atypique de protéines sur des ILs-SAMs était causée par l'anion bicarbonate. Donc, une étude de l'adsorption non-spécifique de protéines a été réalisée sur des ILs-SAMs ayant tous le contre-anion HCO_3^- . Malheureusement, bien que les anions furent tous préalablement échangés avant l'injection du sérum bovin, le pic lors de l'injection du sérum est toujours présent. Finalement, l'adsorption atypique, ne respectant pas l'isotherme de Langmuir, est probablement causée par une relaxation ultra-lente des liquides ioniques, lorsque ces derniers subissent un changement d'environnement ionique drastique. En effet, l'injection du sérum bovin change grandement la force ionique de l'environnement autour de la IL-SAM. Le réarrangement des monocouches cause une augmentation supérieure de la λ_{spr} pour ensuite diminuer jusqu'à l'atteinte d'un plateau.

La relaxation ultra-lente des liquides ioniques a été observée pour toutes les ILs-SAMs à l'exception du 1-(6-mercaptohexyl)-3-méthylimidazolium. La différence entre ce liquide ionique est qu'il ne possède pas de transition de conformation pour des températures ambiantes, contrairement aux autres chaînes alkyles, 3, 9 et 12, où elles possèdent toutes une transition de conformation. Ainsi, la conformation que possède le 1-(6-mercaptohexyl)-

3-méthylimidazolium ne doit pas pouvoir effectuer de relaxation ultra-lente. Par conséquent, cette monocouche est la seule qui ne produit pas d'adsorption atypique lors de l'injection de sérum bovin. Cette hypothèse devra être confirmée dans des travaux futurs.

Finalement, la confection de biocapteurs est possible sur des ILs-SAMs. Cependant, la fixation de l'anticorps est moins efficace que sur une monocouche de 16-MHA. En effet, 100 % de liquide ionique diminue l'activité des protéines / enzymes à comparer des solvants organiques. Ainsi, une monocouche hétérogène pourrait être une solution pour l'amélioration des activités des récepteurs moléculaires tout en diminuant au maximum l'adsorption non-spécifique de protéines sur les surfaces.

Chapitre 5: Conclusion

Les monocouches auto-assemblées sont un bon moyen pour contrôler l'adsorption non-spécifique de protéines sur les surfaces. Pour la confection de biocapteurs SPR, ce phénomène est très important pour l'utilisation de matrices complexes telles que l'urine ou le sang. Étant donné que la technique SPR possède une grande sensibilité à l'indice de réfraction, 10^6 à 10^7 RIU, l'introduction d'une matrice contenant des protéines, possédant un indice de réfraction élevé, pourrait venir masquer le signal de la molécule d'intérêt. Ainsi, la détermination d'une monocouche auto-assemblée, permettant d'empêcher l'adsorption non spécifique des protéines, est capitale pour minimiser au maximum le signal non spécifique provenant de matrices complexes.

L'utilisation des monocouches de liquides ioniques repose sur le fait qu'en solution ces derniers améliorent grandement l'activité et la stabilité des enzymes, protéines, récepteurs moléculaires, pour ne nommer que les plus importants. Ainsi, des monocouches auto-assemblées sur des surfaces d'Or du liquide ionique 1-(mercapto(chaine alkyle)_n)-3-méthylimidazolium X, où n = 3, 6, 9 ou 12 et X = Br⁻, BF₄⁻, PF₆⁻ et NTf₂⁻, furent étudiées pour déterminer laquelle possède l'adsorption non-spécifique de protéines la plus faible. L'étude a été réalisée par la technique analytique de la résonance des plasmons de surface. Des tests cinétiques de l'adsorption non-spécifique ont été réalisés à l'aide de sérum bovin. La quantité de protéines adsorbées sur les monocouches n'a pas pu être évaluée à cause de la relaxation ultra-lente des liquides ioniques. En effet, la tension interfaciale entre le liquide ionique et le sérum bovin provoque un réarrangement des charges à l'interface, causant une augmentation supérieure de l'indice de réfraction, pour ensuite diminuer. La courbe cinétique SPR ne permet ainsi plus d'évaluer la différence de longueur d'onde SPR lors de l'adsorption des protéines. Seul le liquide ionique avec une chaîne de six carbones ne démontrait pas de relaxation ultra-lente. Ainsi, le liquide ionique 1-(6-mercaptohexyl)-3-méthylimidazolium devra être investigué en profondeur pour déterminer la raison pour

laquelle cette molécule de possède pas de relaxation ultra-lente lorsqu'elle entre en présence de sérum bovin.

Ensuite, quelques expériences préliminaires de biocapteurs à base de la monocouche auto-assemblée du liquide ionique 1-carboxyméthyl-3-(12-mercaptododecyl)-imidazolium ont été réalisées dans ce mémoire. Les résultats démontraient qu'une monocouche composée entièrement de liquide ionique résulte en une fixation inférieure du récepteur moléculaire, ainsi que de la capture de l'analyte spécifique, comparativement à une monocouche de l'acide 16-mercapohexadécanoïque. La confection de monocouches auto-assemblées composées à 100% de liquide ionique ne serait probablement pas viable pour la confection de biocapteurs. Par contre, il a été démontré qu'un mélange de liquide ionique avec un solvant organique améliore grandement l'activité des enzymes. Comme travaux futurs, il serait important de vérifier si une monocouche hétérogène de peptides et de liquides ioniques combinerait à la fois une adsorption non-spécifique au minimum ainsi qu'une augmentation de l'activité du récepteur moléculaire greffé sur la monocouche.

La métathèse des contre-anions est une des techniques utilisée pour échanger les anions présents dans les liquides ioniques. Avec la métathèse, il est possible de passer d'un anion hydrophile vers un anion hydrophobe, mais le contraire est impossible en solution. Cependant, une fois que les liquides ioniques forment une SAM, peu importe l'anion sur le liquide ionique, l'échange devient possible dans les deux sens. En effet, sur une SAM de 1-(12-mercaptododécyl)-3-méthylimidazolium, peu importe le contre-anion présent, Br^- , BF_4^- , PF_6^- ou NTf_2^- , il y a un échange avec l'anion bicarbonate. Il a aussi été démontré que la réversibilité des échanges est également possible sur les ILs-SAMs, sur les nanoparticules et qu'il y avait un équilibre cinétique entre les espèces MDMI-HCO_3^- et MDMI-carboxylate .

5.1 Perspectives

Les liquides ioniques fascinent un grand nombre de chercheurs en plus de connaître une véritable explosion d'applications depuis les cinq dernières années. Bien que les recherches se multiplient, il en reste encore beaucoup à apprendre sur les liquides ioniques. Il y a beaucoup de domaines d'application encore peu explorés où les liquides ioniques semblent être très prometteurs. La science des polymères, la chimie des matériaux, la catalyse, la nanotechnologie, la biotechnologie et les applications électrochimiques sont tous des domaines très prometteurs, qui bénéficieraient des avantages des liquides ioniques. Cependant, beaucoup de recherches doivent être effectuées pour en percer les derniers mystères. La confection de biocapteurs est l'un des domaines qui a une bonne perspective d'avenir. Bien que ce dernier domaine soit très prometteur, il reste encore des recherches à réaliser avant la création de biocapteurs à base de liquide ionique, malgré le fait que plusieurs phénomènes ont été mis à jour. Il serait intéressant de déterminer la raison précise de pourquoi le liquide ionique 1-(6-mercaptophexyl)-3-méthylimidazolium ne provoque pas de relaxation ultra-lente et d'étudier davantage l'activité des protéines en présence de monocouches de liquide ionique afin de voir un jour un biocapteur amélioré grâce aux liquides ioniques.

Bibliographie

- (1) Walden, P., "Über die Molekulargröße und elektrische Leitfähigkeit einiger geschmolzenen Salze", *Bull. Acad. Imp. Sci. St.-Petersbourg* **1914**, 8, 405.
- (2) Hurley, F. H.; Wier, T. P., Electrodeposition of metals from fused quaternary ammonium salts, *J. Electrochem. Soc.* **1951**, 98, 203.
- (3) Wilkes, J. S.; Levisky, J. A.; Wilson, R. A.; Hussey, C. L. Dialkylimidazolium chloroaluminate melts - A new class of room-temperature ionic liquids for electrochemistry, *Inorg. Chem.* **1982**, 21, 1263.
- (4) Wilkes, J. S.; Zaworotko, M. J. Air and water stable 1-ethyl-3-methylimidazolium based ionic liquids, *J. Chem. Soc. Chem. Comm.* **1992**, 965.
- (5) Marsh, K. N.; Deev, A.; Wu, A. C. T.; Tran, E.; Klamt, A. Room temperature ionic liquids as replacements for conventional solvents - A review, *Korean. J. Chem. Eng.* **2002**, 19, 357.
- (6) Huddleston, J. G.; Willauer, H. D.; Swatloski, R. P.; Visser, A. E.; Rogers, R. D. Room temperature ionic liquids as novel media for 'clean' liquid-liquid extraction, *Chem. Commun.* **1998**, 34, 1765.
- (7) Welton, T. Room-temperature ionic liquids. Solvents for synthesis and catalysis, *Chem. Rev.* **1999**, 99, 2071.
- (8) Dupont, J.; de Souza, R. F.; Suarez, P. A. Z. Ionic liquid (molten salt) phase organometallic catalysis, *Chem. Rev.* **2002**, 102, 3667.
- (9) Berthod, A.; Ruiz-Angel, M.; Carda-Broch, S. Ionic liquids in separation techniques, *J. Chromatogr. A* **2008**, 1184, 6.
- (10) Jain, R.; Yadav, T.; Kumar, M.; Yadav, A. K. Facile Ionic Liquid-Mediated Protocol for the Regioselective Synthesis of 1,5-Benzothiazepines, *Synth. Commun.* **2011**, 41, 1889.
- (11) Wang, B.; Zhou, S. A.; Sun, Y. C.; Xu, F.; Sun, R. C. Salt-Type Organic Acids: A Class of Green Acidic Catalysts in Organic Transformations, *Curr. Org. Chem.* **2011**, 15, 1392.
- (12) Lee, B. S.; Lee, S. Synthesis of thiol-functionalized ionic liquids and formation of self-assembled monolayer on gold surfaces: effects of alkyl group and anion on the surface Wettability, *B. Korean. Chem. Soc.* **2004**, 25, 1531.

- (13) Hayes, R.; Borisenko, N.; Tam, M. K.; Howlett, P. C.; Endres, F.; Atkin, R. Double Layer Structure of Ionic Liquids at the Au(111) Electrode Interface: An Atomic Force Microscopy Investigation, *J. Phys. Chem. C* **2011**, *115*, 6855.
- (14) Chi, Y. S.; Hwang, S.; Lee, B. S.; Kwak, J.; Choi, I. S.; Lee, S. Anion exchange-promoted Ru³⁺/2⁺ redox switch in self-assembled monolayers of imidazolium ions on a gold electrode, *Langmuir* **2005**, *21*, 4268.
- (15) Kim, K. S.; Dembereinyamba, D.; Lee, H. Size-selective synthesis of gold and platinum nanoparticles using novel thiol-functionalized ionic liquids, *Langmuir* **2004**, *20*, 556.
- (16) Kang, S. M.; Lee, B. S.; Lee, S. G.; Choi, I. S. Biomimetic coating of gold nanoparticles with ultrathin silica layers, *Colloid Surface A* **2008**, *313*, 150.
- (17) Mikoshiba, S.; Murai, S.; Sumino, H.; Kado, T.; Kosugi, D.; Hayase, S. Ionic liquid type dye-sensitized solar cells: increases in photovoltaic performances by adding a small amount of water, *Curr. Appl. Phys.* **2005**, *5*, 152.
- (18) Sutto, T. E.; Duncan, T. T.; Wong, T. C.; McGrady, K. Ionic liquid batteries: Chemistry to replace alkaline/acid energy storage devices, *Electrochim. Acta* **2011**, *56*, 3375.
- (19) Mrksich, M.; Whitesides, G. M. Using self-assembled monolayers to understand the interactions of man-made surfaces with proteins and cells, *Annu. Rev. Bioph. Biom.* **1996**, *25*, 55.
- (20) Murray-Methot, M. P.; Ratel, M.; Masson, J. F. Optical Properties of Au, Ag, and Bimetallic Au on Ag Nanohole Arrays, *J. Phys. Chem. C* **2010**, *114*, 8268.
- (21) Bolduc, O. R.; Masson, J. F. Monolayers of 3-Mercaptopropyl-amino Acid to Reduce the Nonspecific Adsorption of Serum Proteins on the Surface of Biosensors, *Langmuir* **2008**, *24*, 12085.
- (22) Ramsden, J. J. Experimental methods for investigating protein adsorption-kinetics at surfaces, *Q. Rev. Biophys.* **1994**, *27*, 41.
- (23) Homola, J.; Dostalek, J.; Chen, S. F.; Rasooly, A.; Jiang, S. Y.; Yee, S. S. Spectral surface plasmon resonance biosensor for detection of staphylococcal enterotoxin B in milk, *Int. J. Food Microbiol.* **2002**, *75*, 61.
- (24) Spinke, J.; Liley, M.; Schmitt, F. J.; Guder, H. J.; Angermaier, L.; Knoll, W. Molecular recognition at self-assembled monolayers-optimization of surface functionalization, *J. Chem. Phys.* **1993**, *99*, 7012.

- (25) Liang, H. M.; Miranto, H.; Granqvist, N.; Sadowski, J. W.; Viitala, T.; Wang, B. C.; Yliperttula, M. Surface plasmon resonance instrument as a refractometer for liquids and ultrathin films, *Sensor Actuat. B-Chem.* **2010**, *149*, 212.
- (26) Sai, N.; Chen, Y. P.; Liu, N.; Yu, G. G.; Su, P.; Feng, Y.; Zhou, Z. J.; Liu, X. Y.; Zhou, H. Y.; Gao, Z. X.; Ning, B. A. A sensitive immunoassay based on direct hapten coated format and biotin-streptavidin system for the detection of chloramphenicol, *Talanta* **2010**, *82*, 1113.
- (27) Xie, L.; Guang, Y. P.; Liu, F.; Shi, H. B.; Yan, L.; Lou, J. L. A magnetic microparticle-based immunoassay for hepatitis C virus NS3 antigen, *Afr. J. Microbiol. Res.* **2011**, *5*, 28.
- (28) Shao, H. X.; Ye, J. Q.; Vincent, A. L.; Song, H. C.; Hickman, D.; Qin, A. J.; Lamichhane, C.; Perez, D. R. A monoclonal antibody-based ELISA for differential diagnosis of 2009 pandemic H1N1, *Influenza Other Respir. Viruses* **2011**, *5*, 138.
- (29) Lind, K.; Kubista, M. Development and evaluation of three real-time immuno-PCR assemblages for quantification of PSA, *J. Immunol. Methods* **2005**, *304*, 107.
- (30) Liedberg, B.; Lundstrom, I.; Stenberg, E. Principles of biosensing with an extended coupling matrix and surface-plasmon resonance, *Sensor Actuat. B-Chem.* **1993**, *11*, 63.
- (31) Lopez, G. P.; Albers, M. W.; Schreiber, S. L.; Carroll, R.; Peralta, E.; Whitesides, G. M. Convenient methods for patterning the adhesion of mammalian-cells to surfaces using self-assembled monolayers of alkanethiolates on gold, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 5877.
- (32) Mandenius, C. F.; Welin, S.; Danielsson, B.; Lundstrom, I.; Mosbach, K. The interaction of proteins and cells with affinity ligands covalently coupled to silicon surfaces as monitored by ellipsometry, *Anal. Biochem.* **1984**, *137*, 106.
- (33) Ward, M. D.; Buttry, D. A. Insitu interfacial mass detection with piezoelectric transducers, *Science* **1990**, *249*, 1000.
- (34) Wood, R. W. On a Remarkable Case of Uneven Distribution of Light in a Diffraction Grating Spectrum, *Proc. Phys. Soc. London* **1902**, *18*, 269.
- (35) Wood, R. W. On the remarkable case of uneven distribution of a light in a diffractive grating spectrum, *Philos. Mag.* **1912**, *23*, 310.
- (36) Rayleigh, L. Dynamical theory of the grating, *Proc. Phys. Soc. London* **1907**, *79*, 399.

- (37) Fano, U. The Theory of Anomalous Diffraction Gratings and of Quasi-Stationary Waves on Metallic Surfaces (Sommerfeld's Waves), *JOSA A*, **1941**, 31, 213.
- (38) Otto, A. Excitation of Nonradiative Surface Plasma Waves in Silver by the Method of Frustrated Total Reflection, *Z. Phys.* **1968**, 216, 398.
- (39) Kretschmann, E.; Raether, H. Radiative decay of nonradiative surface plasmons excited by light, *Z. Naturf.* **1968**, 23, 2135.
- (40) Liedberg, B.; Nylander, C.; Lundstrom, I. Surface-plasmon resonance for gas-detection and biosensing, *Sensor. Actuat.* **1983**, 4, 299.
- (41) Pattnaik, P. Surface plasmon resonance - Applications in understanding receptor-ligand interaction, *Appl. Biochem. Biotech.* **2005**, 126, 79.
- (42) Bridges, N. J.; Hines, C. C.; Smiglak, M.; Rogers, R. D. An intermediate for the clean synthesis of ionic liquids: Isolation and crystal structure of 1,3-dimethylimidazolium hydrogen carbonate monohydrate, *Chem. a-Eur. J.* **2007**, 13, 5207.
- (43) Smiglak, M.; Holbrey, J. D.; Griffin, S. T.; Reichert, W. M.; Swatloski, R. P.; Katritzky, A. R.; Yang, H. F.; Zhang, D. Z.; Kirichenko, K.; Rogers, R. D. Ionic liquids via reaction of the zwitterionic 1,3-dimethylimidazolium-2-carboxylate with protic acids. Overcoming synthetic limitations and establishing new halide free protocols for the formation of ILs, *Green Chem.* **2007**, 9, 90.
- (44) Tommasi, I.; Sorrentino, F. Utilisation of 1,3-dialkylimidazolium-2-carboxylates as CO₂-carriers in the presence of Na⁺ and K⁺: application in the synthesis of carboxylates, monomethylcarbonate anions and halogen-free ionic liquids, *Tetrahedron Lett.* **2005**, 46, 2141.
- (45) Blake, T. D. The physics of moving wetting lines, *J. Colloid Interf. Sci.* **2006**, 299, 1.
- (46) De Coninck, J.; Blake, T. D. Wetting and molecular dynamics simulations of simple liquids, *Ann. Rev. Mater. Res.* **2008**, 38, 1.
- (47) Briggs, D.; Beamson, G. XPS studies of the oxygen-1s and oxygen-2s levels in a wide-range of functional polymers, *Anal. Chem.* **1993**, 65, 1517.
- (48) J.M. Walls (Editor), *Methods of Surface Analysis*, Cambridge University Press, Cambridge, 1989.
- (49) Stocker, M. X-ray photoelectron spectroscopy on zeolites and related materials, *Microporous Mater.* **1996**, 6, 235.

- (50) Vo-Dinh, T. Surface-enhanced Raman spectroscopy using metallic nanostructures, *Trac-Trend. Anal. Chem.* **1998**, *17*, 557.
- (51) Kneipp, K.; Wang, Y.; Dasari, R. R.; Feld, M. S. Approach to single-molecule detection using surface-enhanced resonance raman-scattering (SERRS) - A study using rhodamine 6G on colloidal silver, *Appl. Spectrosc.* **1995**, *49*, 780.
- (52) Lee, S. G. Functionalized imidazolium salts for task-specific ionic liquids and their applications, *Chem. Commun.* **2006**, *42*, 1049.
- (53) Shan, C. S.; Yang, H. F.; Han, D. X.; Zhang, Q. X.; Ivaska, A.; Niu, L. Electrochemical determination of NADH and ethanol based on ionic liquid-functionalized graphene, *Biosens. Bioelectron.* **2010**, *25*, 1504.
- (54) Yang, F.; Jiao, L. S.; Shen, Y. F.; Xu, X. Y.; Zhang, Y. J.; Niu, L. Enhanced response induced by polyelectrolyte-functionalized ionic liquid in glucose biosensor based on sol-gel organic-inorganic hybrid material, *J. Electroanal. Chem.* **2007**, *608*, 78.
- (55) Itoh, H.; Naka, K.; Chujo, Y. Synthesis of gold nanoparticles modified with ionic liquid based on the imidazolium cation, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 3026.
- (56) Tatumi, R.; Fujihara, H. Remarkably stable gold nanoparticles functionalized with a zwitterionic liquid based on imidazolium sulfonate in a high concentration of aqueous electrolyte and ionic liquid, *Chem. Commun.* **2005**, *41*, 83.
- (57) Jin, Y.; Wang, P. J.; Yin, D. H.; Liu, J. F.; Qin, L. S.; Yu, N. Y.; Xie, G. Y.; Li, B. M. Gold nanoparticles prepared by sonochemical method in thiol-functionalized ionic liquid, *Colloid Surface A* **2007**, *302*, 366.
- (58) Wang, Z. J.; Zhang, Q. X.; Kuehner, D.; Ivaska, A.; Niu, L. Green synthesis of 1-2 nm gold nanoparticles stabilized by amine-terminated ionic liquid and their electrocatalytic activity in oxygen reduction, *Green Chem.* **2008**, *10*, 907.
- (59) Rivera, A.; Rossler, E. A. Evidence of secondary relaxations in the dielectric spectra of ionic liquids, *Phys. Rev. B* **2006**, *73*.
- (60) Arzhantsev, S.; Jin, H.; Ito, N.; Maroncelli, M. Observing the complete solvation response of DCS in imidazolium ionic liquids, from the femtosecond to nanosecond regimes, *Chem. Phys. Lett.* **2006**, *417*, 524.
- (61) Pinilla, C.; Del Popolo, M. G.; Kohanoff, J.; Lynden-Bell, R. M. Polarization relaxation in an ionic liquid confined between electrified walls, *J. Phys. Chem. B* **2007**, *111*, 4877.

- (62) Pan, S. T.; Liu, X.; Xie, Y. D.; Yi, Y. Y.; Li, C.; Yan, Y. J.; Liu, Y. Esterification activity and conformation studies of Burkholderia cepacia lipase in conventional organic solvents, ionic liquids and their co-solvent mixture media, *Bioresour. Technol.* **2010**, *101*, 9822.
- (63) Parikh, A. N.; Allara, D. L.; Azouz, I. B.; Rondelez, F. An intrinsic relationship between molecular-structure in self-assembled n-alkylsiloxane monolayers and deposition temperature, *J. Chem. Phys.* **1994**, *98*, 7577.
- (64) Lee, B. S.; Chi, Y. S.; Lee, J. K.; Choi, I. S.; Song, C. E.; Namgoong, S. K.; Lee, S. G. Imidazolium ion-terminated self-assembled monolayers on Au: Effects of counteranions on surface wettability, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 480.
- (65) Saracino, G. A. A.; Improta, R.; Barone, V. Absolute pKa determination for carboxylic acids using density functional theory and the polarizable continuum model, *Chem. Phys. Lett.* **2003**, *373*, 411.
- (66) Tommasi, I.; Sorrentino, F. Synthesis of 1,3-dialkylimidazolium-2-carboxylates by direct carboxylation of 1,3-dialkylimidazolium chlorides with CO₂, *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 6453.
- (67) Duong, H. A.; Tekavec, T. N.; Arif, A. M.; Louie, J. Reversible carboxylation of N-heterocyclic carbenes, *Chem. Commun.* **2004**, *40*, 112.
- (68) Holbrey, J. D.; Reichert, W. M.; Tkatchenko, I.; Bouajila, E.; Walter, O.; Tommasi, I.; Rogers, R. D. 1,3-dimethylimidazolium-2-carboxylate: the unexpected synthesis of an ionic liquid precursor and carbene-CO₂ adduct, *Chem. Commun.* **2003**, *39*, 28.
- (69) Voutchkova, A. M.; Feliz, M.; Clot, E.; Eisenstein, O.; Crabtree, R. H. Imidazolium carboxylates as versatile and selective N-heterocyclic carbene transfer agents: Synthesis, mechanism, and applications, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 12834.
- (70) Naik, P. U.; Petitjean, L.; Refes, K.; Picquet, M.; Plasseraud, L. Imidazolium-2-Carboxylate as an Efficient, Expeditious and Eco-Friendly Organocatalyst for Glycerol Carbonate Synthesis, *Adv. Synth. Catal.* **2009**, *351*, 1753.
- (71) Park, M. J.; Lee, J. K.; Lee, B. S.; Lee, Y. W.; Choi, I. S.; Lee, S. G. Covalent modification of multiwalled carbon nanotubes with imidazolium-based ionic liquids: Effect of anions on solubility, *Chem. Mat.* **2006**, *18*, 1546.
- (72) Chi, Y. S.; Lee, J. K.; Lee, S.; Choi, I. S. Control of wettability by anion exchange on Si/SiO₂ surfaces, *Langmuir* **2004**, *20*, 3024.
- (73) Dinares, I.; de Miguel, C. G.; Ibanez, A.; Mesquida, N.; Alcalde, E. Imidazolium ionic liquids: A simple anion exchange protocol, *Green Chem.* **2009**, *11*, 1507.

- (74) Marcilla, R.; Blazquez, J. A.; Rodriguez, J.; Pomposo, J. A.; Mecerreyes, D. Tuning the solubility of polymerized ionic liquids by simple anion-exchange reactions, *J. Polym. Sci. Pol. Chem.* **2004**, *42*, 208.
- (75) Wang, L. M.; Lin, Y.; Su, Z. H. Counterion exchange at the surface of polyelectrolyte multilayer film for wettability modulation, *Soft Matter* **2009**, *5*, 2072.
- (76) Branca, M.; Correia-Ledo, D.; Bolduc, O. R.; Ratel, M.; Schmitzer, A. R.; Masson, J. F. Phase transitions of an ionic liquid self-assembled monolayer on Au, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2011**, *13*, 12015.
- (77) Chiappe, C.; Pieraccini, D. Ionic liquids: solvent properties and organic reactivity, *J. Phys. Org. Chem.* **2005**, *18*, 275.
- (78) Turkevich, J. H., J.; Stevenson, P.C., *Discuss. Faraday Soc.* **1951**, *11*, 55.
- (79) Arakawa, H.; Aresta, M.; Armor, J. N.; Barteau, M. A.; Beckman, E. J.; Bell, A. T.; Bercaw, J. E.; Creutz, C.; Dinjus, E.; Dixon, D. A.; Domen, K.; DuBois, D. L.; Eckert, J.; Fujita, E.; Gibson, D. H.; Goddard, W. A.; Goodman, D. W.; Keller, J.; Kubas, G. J.; Kung, H. H.; Lyons, J. E.; Manzer, L. E.; Marks, T. J.; Morokuma, K.; Nicholas, K. M.; Periana, R.; Que, L.; Rostrup-Nielson, J.; Sachtler, W. M. H.; Schmidt, L. D.; Sen, A.; Somorjai, G. A.; Stair, P. C.; Stults, B. R.; Tumas, W. Catalysis research of relevance to carbon management: Progress, challenges, and opportunities, *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 953.
- (80) Bonadeo, H.; Silberman, E. Infrared studies on BF_4^- in alkali halide solid solutions, *J. Mol. Spectrosc.* **1969**, *32*, 214.
- (81) Nanse, G.; Papirer, E.; Fioux, P.; Moguet, F.; Tressaud, A. Fluorination of carbon blacks: An X-ray photoelectron spectroscopy study .1. A literature review of XPS studies of fluorinated carbons. XPS investigation of some reference compounds, *Carbon* **1997**, *35*, 175.
- (82) Adamczyk, K.; Premont-Schwarz, M.; Pines, D.; Pines, E.; Nibbering, E. T. J. Real-Time Observation of Carbonic Acid Formation in Aqueous Solution, *Science* **2009**, *326*, 1690.
- (83) Zhou, H.; Wang, Y. M.; Zhang, W. Z.; Qu, J. P.; Lu, X. B. N-Heterocyclic carbene functionalized MCM-41 as an efficient catalyst for chemical fixation of carbon dioxide, *Green Chem.* **2011**, *13*, 644.
- (84) Yasui, Y.; Kitazumi, Y.; Ishimatsu, R.; Nishi, N.; Kakiuchi, T. Ultraslow Response of Interfacial Tension to the Change in the Phase-Boundary Potential at the Interface between Water and a Room-Temperature Ionic Liquid, Trioctylmethylammonium bis(nonafluorobutanesulfonyl)amide, *J. Phys. Chem. B* **2009**, *113*, 3273.

- (85) Bolduc, O. R.; Pelletier, J. N.; Masson, J. F. SPR Biosensing in Crude Serum Using Ultralow Fouling Binary Patterned Peptide SAM, *Anal. Chem.* **2010**, *82*, 3699.
- (86) Live, L. S.; Masson, J. F. High Sensitivity of Plasmonic Microstructures near the Transition from Short-Range to Propagating Surface Plasmon, *J. Phys. Chem. C* **2009**, *113*, 10052.
- (87) Live, L. S.; Bolduc, O. R.; Masson, J. F. Propagating Surface Plasmon Resonance on Microhole Arrays, *Anal. Chem.* **2010**, *82*, 3780.

Annexe 1 : Principe physique de la résonance des plasmons de surface

Le phénomène des plasmons de surface est en fait une oscillation collective d'électrons à la surface d'un métal diélectrique (Fig. A.1).

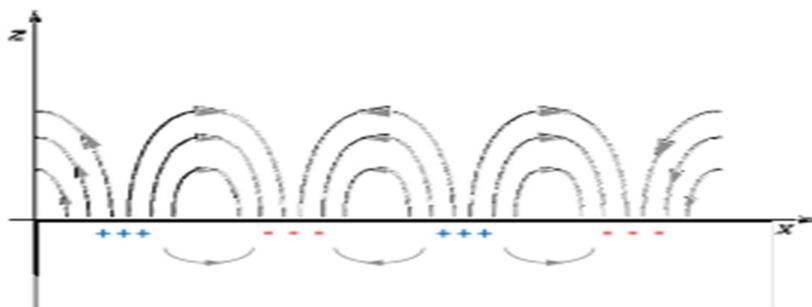


Figure A.1 : Mouvement des électrons libres à la surface d'un métal diélectrique dans le plan XZ.

Lorsqu'un champ électromagnétique vient frapper sur un film métallique, une fraction de l'énergie est transférée aux électrons libres à la surface du film. Le plasmon de surface est maximal à l'interface où le champ électromagnétique est entré en contact avec le métal, possédant une distance de pénétration dans le milieu d'indice de réfraction différent de ~ 200 nm, et diminue exponentiellement dans les deux directions, perpendiculaires à l'interface métal / solution (Fig. A.2).

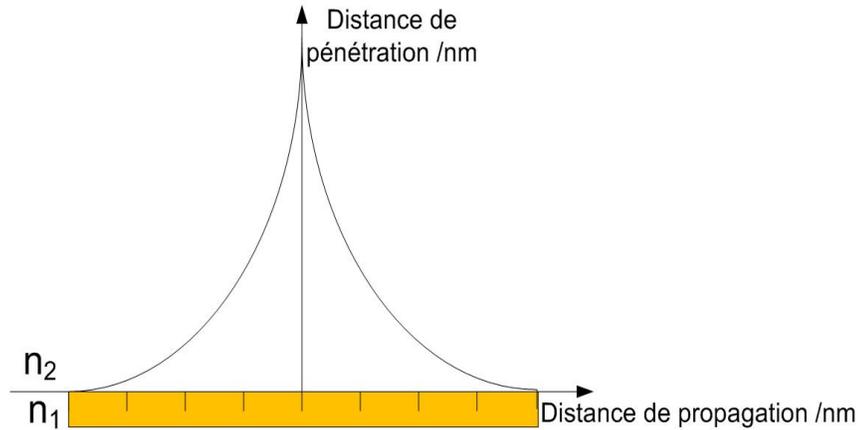


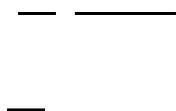
Figure A.2 : Région où se situe le phénomène des plasmons de surface à l'interface métal /solution.

Étant donné que les plasmons de surfaces sont un phénomène localisé, la sensibilité spatiale des plasmons de surface est proportionnelle à la distance de pénétration du plasmon de surface dans la solution submergeant la surface, soit de l'ordre de 200 nm⁸⁶.

Cependant, pour produire le plasmon de surface, plusieurs paramètres doivent être respectés pour qu'il y ait excitation du plasmon de surface. Premièrement, la constante diélectrique du métal doit posséder une partie réelle négative pour que ce métal puisse supporter un plasmon de surface.

Où ϵ est la constante diélectrique totale, n et k sont des paramètres spécifiques pour chaque métaux et i est la partie imaginaire. Par exemple, pour l'or, où $n = 0,12$ et $k = 3,45$, la constante diélectrique réelle $\epsilon' = -11,89$ et imaginaire $\epsilon'' = 0.828$ pour $\lambda = 563,6$ nm. L'or est un métal supportant la création d'un plasmon de surface car il contient une constante diélectrique réelle négative. Deuxièmement, la surface métallique doit être excitée par un rayon de lumière incident, arrivant à un angle et à une longueur d'onde bien définis pour la création du plasmon. Cette combinaison θ/λ spécifique pour la création d'un

plasmon doit faire en sorte que le vecteur d'onde du photon (k_x) soit identique au vecteur d'onde du plasmon de surface (k_{sp}). Une surface métallique frappée directement par un photon possèdera un vecteur k_x toujours supérieur à k_{sp} . La seule façon de diminuer k_x pour qu'il puisse être égal à k_{sp} , c'est d'exciter le métal par un photon en réflexion totale interne.



Où k_{sp} est le vecteur d'onde du plasmon de surface, k_x est le vecteur d'onde de la lumière en réflexion totale interne, λ est la longueur d'onde de la lumière incidente, m et s sont les indices pour identifier s'il s'agit du métal ou de la solution respectivement, ϵ est la constante diélectrique totale (partie réelle et imaginaire), η_D est l'indice de réfraction du prisme produisant la réflexion totale interne et θ_{inc} est l'angle d'incidence du vecteur d'onde du photon. La plus commune des configurations géométriques pour la SPR est la configuration de Kretschmann (Fig. A.3). La lumière incidente est située sur le côté opposé du film métallique où est situé l'adsorbat. Pour que le plasmon de surface soit excité, les photons doivent induire un champ évanescent qui viendra frapper le film métallique.

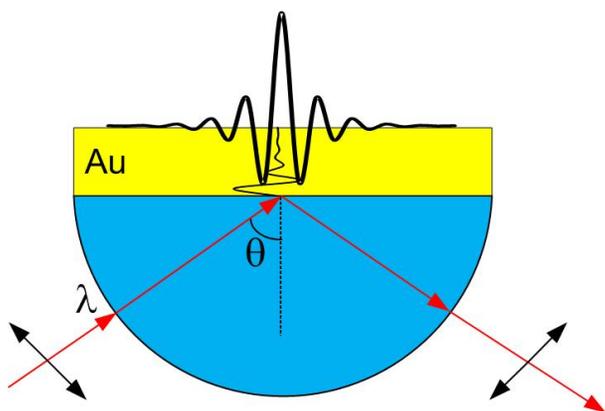


Figure A.3 : Montage SPR selon la configuration de Kretschmann.

Normalement, il n'y a pas de transport de photons possible grâce à ce domaine, mais à un angle d'incidence particulier, certains photons seront capable de passer à travers le champ et d'exciter les plasmons de surface sur le côté où est situé l'adsorbat, *i.e.* les monocouches auto-assemblées, les récepteurs moléculaires, les biomolécules, etc. Chaque fois qu'un plasmon est excité, une partie de l'énergie du photon est utilisée pour avoir excité le plasmon. Ainsi, la bande lumineuse qu'auront absorbée les électrons délocalisés viendra réduire l'intensité de lumière réfléchiée et créera ainsi une bande d'absorption au couple θ/λ précise où la création du plasmon de surface est possible (Fig. A.4).

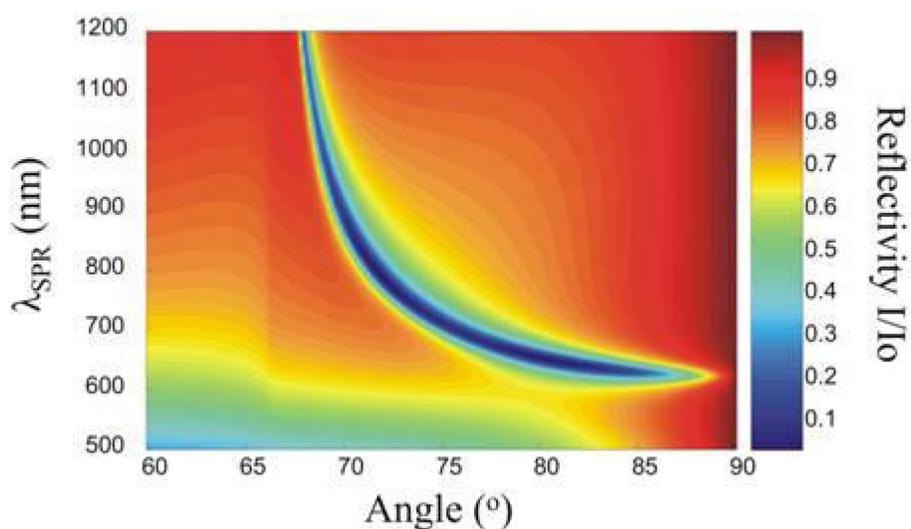


Figure A.4 : Spectre théorique du couple θ/λ où l'excitation des plasmons de surface est possible.

La ligne bleue sur la figure A.4 démontre une très faible réflectivité de la lumière à ces couples précis θ/λ , car celle-ci a été absorbée par les électrons libres à la surface du métal pour permettre leurs oscillations. La raison pour laquelle l'égalité entre k_{sp} et k_x ne peut être atteinte que selon un couple précis θ/λ peut être expliquée par les équations 2 et 3. Pendant un essai SPR, plusieurs facteurs expérimentaux sont invariables : le support optique (η_D), le métal (ϵ_m) et la solution qui submerge le métal (ϵ_s). Il ne reste donc que λ et θ qui peuvent être variés pendant l'expérimentation. En règle générale, les couples θ/λ qui

satisfont à la création d'un plasmon, sont situés à des longueurs d'ondes entre 600 nm et 1200 nm pour des angles allant de 66° à 88° . Cependant, ceci est vrai que pour un film continu de métal, car si celui-ci est altéré, *e.g.* présence de nanostructures ou de nanoparticules, les couples θ/λ peuvent varier⁸⁷. Ainsi, en fixant un des deux paramètres et en faisant varier le deuxième, il est possible d'obtenir un spectre typique de la spectroscopie de résonance des plasmons de surface (Fig. A.5).

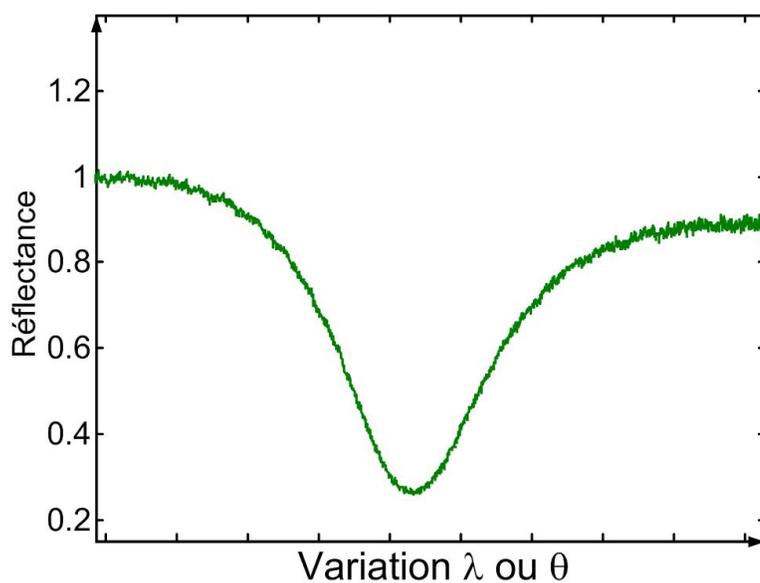


Figure A.5 : Spectre typique de la spectroscopie SPR. L'axe des X représente une variation de la longueur d'onde incidente ou une variation de l'angle incident du photon.