

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
UNIVERSITÉ FERHAT ABBAS SETIF 1  
FACULTÉ DE TECHNOLOGIE  
DÉPARTEMENT DE GÉNIE DES PROCÉDÉS



## Thèse

Présentée par :

**NESSARK Faiza**

En vue de l'obtention du diplôme de

**DOCTORAT EN SCIENCES**

Option : **GENIE ELECTROCHIMIQUE**

**THEME :**

**Elaboration et caractérisation d'électrodes modifiées par des films de polypyrroles : Application en biocapteur**

Soutenue le 21/03/2018

Devant le jury composé de :

Président :	T. DOUADI	Professeur	UFA, Sétif 1
Rapporteur :	A. ZOUAOUI	Professeur	UFA, Sétif 1
Co-Rapporteur :	A. ERRACHID EL SALHI	Professeur	U. Claude Bernard, Lyon 1
Examineurs :	B. SAIDANI	Professeur	UAM, Béjaïa
	A. MERROUCHE	Professeur	UMB, M'Sila
	L. ZERROUAL	Professeur	UFA, Sétif 1

*A mes chers parents*

*A mes sœurs et frères et à leurs familles*

*A toute la famille*

## *Remerciements*

Ce travail a été réalisé au Laboratoire de Croissance et Caractérisation de Nouveaux Semi-conducteurs (LCCNS), Université Ferhat Abbas Sétif 1, et à l'Institut des Sciences Analytiques (ISA), Université Claude Bernard Lyon 1 (France), sous la direction du Pr. Ahmed ZOUAOUI ; je tiens à lui exprimer toute ma reconnaissance pour les conseils et le soutien nécessaires pour la réalisation de cette thèse.

Je voudrais bien évidemment remercier très sincèrement le Pr. Abdelhamid ERRACHID EL SALHI, Professeur à l'Université Claude Bernard Lyon 1, pour m'avoir accueilli dans son laboratoire et pour avoir co-dirigé cette thèse et apporté toute son énergie et son aide à la réalisation de ce travail durant ma formation des 18 mois en France.

Mes remerciements et toute ma reconnaissance s'adressent à Monsieur le Pr. Tahar DOUADI pour avoir accepté de présider le jury de cette thèse.

Mes remerciements vont également à Monsieur le Pr. Boualem SAIDANI, Professeur à l'Université de Béjaia pour avoir accepté de donner de son temps et juger ce travail, et ce malgré son énorme charge de Recteur.

Monsieur le Professeur Larbi ZERROUAL, a accepté de donner de son temps et juger ce travail, qu'il trouve ici mes vifs remerciements.

Mes vifs remerciements vont aussi à Monsieur le Pr. Abdellah MERROUCHE, Professeur à l'Université de M'Sila pour avoir accepté de juger et participer au jury.

Un merci tout particulier à Alvaro Garcia-Cruz, Abdoullatif Baraket, Michael Lee et Mohamed Braiek pour leur disponibilité, et leur précieux soutien tout au long de mon séjour en France.

A mes chères ; Nadia Zine et Fakri-Bouchet Latifa, je leur exprime ma profonde amitié en leur souhaitant un bon courage et plein de succès dans leur recherche.

Je tiens à remercier chaleureusement Monsieur Mohamed Eissa, Professeur Associé au Centre National de Recherche - Le Caire, Egypte, pour ses conseils, ses encouragements et son aide.

Mes remerciements vont également à Anne Bonhomme pour avoir effectué les analyses et pour m'avoir aidé dans l'interprétation des spectres IR, et Pedro Marote, Kamal Lmimouni, pour avoir réalisé les images MEB.

J'adresse tous mes remerciements à l'ensemble du personnel des deux laboratoires (professeurs, ingénieurs ; techniciens, étudiants ;) qui par leur aide ou simplement leur amitié ont contribué à la réalisation de ce travail, ainsi qu'à mes collègues de la faculté de technologie de l'université Ferhat Abbas Sétif 1 et de la faculté des sciences et technologie de l'université de M'Sila.

Je tiens également à remercier le Ministère Algérien de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique de m'avoir accordé ce financement (bourse PNE) qui m'a permis d'achever ma thèse de doctorat en sciences.

Je ne peux oublier de remercier tous mes amis : Lamia Dreibine, Mickael Mateos, Gallardo-Gonzalez Juan, Salim Bejaoui et Jamshaid Talha pour les précieux moments passés en leur compagnie au cours de mes séjours à Lyon.

Aussi ; je ne peux oublier de remercier tous mes amies : Louiza Ouksal, Hafiza Mezzi, Rafika Ferhet Hamida, Yasmina Felkaoui, Samia Yousfi et Chelbia Regoui pour les précieux moments passés en leur compagnie.

Enfin, mes vifs remerciements vont à ma famille et principalement mes parents pour l'affection et le soutien constant qu'ils m'ont apporté durant mon parcours universitaire.

**INTRODUCTION GENERALE** 01

*Chapitre I*

**GENERALITES SUR LES POLYMERES ORGANIQUES  
CONDUCEURS - ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE** 05

<b>I.1. Polymères conducteurs</b>	05
I.1.1. Propriétés électroniques de polymères conducteurs	05
I.1.2. Polypyrrole	07
I.1.2.1. Structure chimique du polypyrrole	07
I.1.2.2. Méthodes de préparation standard de polypyrrole	08
<i>I.1.2.2a. Synthèse électrochimique</i>	08
<i>I.1.2.2b. Synthèse chimique</i>	09
I.1.2.3. Applications des polypyrroles	11
<b>I.2. Electrocatalyse</b>	12
I.2.1. Métaux de transition pour l'électrocatalyse	12
I.2.2. Polypyrrole pour les applications en électrocatalyse	13
<b>I.3. Biocapteurs</b>	15
I.3.1. Définition	16
I.3.2. Matériaux utilisé pour la conception d'un biocapteur- le nitrure de silicium	18
I.3.2.1. Structures cristallines du nitrure de silicium	19
I.3.2.2. Modification de surface du nitrure de silicium	20
I.3.2.3. Modification des surfaces par le pyrrole-alkyl silane	22
I.3.3. Activation des surfaces par greffage des sels de diazonium pour des applications de détection	24
I.3.4. Polypyrrole pour les applications d'immunocapteurs électrochimiques	27
I.3.4.1. Exemples d'application d'immunocapteurs électrochimiques à base de polypyrrole	28
I.3.4.2. Biocapteurs pour la détection des interleukines cytokines	30
<b>Références Bibliographiques</b>	34

## *Chapitre II*

<b>METHODES ET TECHNIQUES EXPERIMENTALES</b>	42
<b>II.1. Produits chimiques</b>	42
II.1.1. Solvants	42
II.1.2. Réactifs	43
<b>II.2. Fabrication de matériaux composites CV/PPyAB-M</b>	46
<b>II.3. Fabrication de matériaux hybrides Al/Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-(SPy-PPy)</b>	47
II.3.1 Fabrication du substrat Al/Si-p/SiO <sub>2</sub> /Si <sub>3</sub> N <sub>4</sub>	47
II.3.2. Procédure de nettoyage et d'activation des substrats Al/Si/SiO <sub>2</sub> /Si <sub>3</sub> N <sub>4</sub>	48
II.3.3. Processus de silanisation des substrats Al/Si/SiO <sub>2</sub> /Si <sub>3</sub> N <sub>4</sub>	48
II.3.4. Dépôt chimique de la couche PPy via la polymérisation oxydative du pyrrole	49
<b>II.4. Fonctionnalisation du substrat Al/Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-(SPy-PPy) avec CMA</b>	50
<b>II.5. Immobilisation de l'anticorps monoclonal de l'interleukine-10 cytokine</b>	51
<b>II.6. Instrumentation et cellule de mesure utilisée</b>	52
II.6.1. En électrocatalyse	52
II.6.2. En biocapteur	52
<b>II.7. Techniques expérimentales utilisées</b>	53
II.7.1. Voltampérométrie cyclique	53
II.7.2. Coulométrie à potentiel contrôlé	55
II.7.3. Spectroscopie d'impédance électrochimique	56
II.7.4. Technique de mesure de l'angle de contact	59
II.7.5. Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier	61
II.7.6. Microscopie électronique à balayage	62
II.7.7. Spectroscopie de rayons X à dispersion d'énergie	63
<b>Références Bibliographiques</b>	64

### *Chapitre III*

#### **PREPARATION ET CARACTERISATION ELECTROCHIMIQUE ET SPECTROSCOPIQUE D'UN MATEREAU COMPOSITE :**

#### **CV/PPyAB- METAUX DE TRANSITION 65**

<b>III.1. Comportement électrochimique du cuivre et du nickel sur une électrode de carbone vitreux non et modifiée par le film de PPyAB</b>	<b>65</b>
III.1.1. Electropolymérisation de l'acide 4-(pyrrol-1-yl methyl) benzoïque	65
III.1.2. Comportement électrochimique du cuivre sur une électrode de carbone vitreux	67
III.1.3. Comportement électrochimique du nickel sur une électrode de carbone vitreux	68
III.1.4. Comportement électrochimique du cuivre et du nickel sur une électrode de carbone vitreux	69
III.1.5. Comportement électrochimique du cuivre sur une électrode de carbone vitreux modifiée par le film de PPyAB	70
III.1.6. Comportement électrochimique du nickel sur une électrode de carbone vitreux modifiée par le film de PPyAB	71
III.1.7. Comportement électrochimique du nickel et du cuivre sur une électrode de carbone vitreux modifiée par le film de PPyAB	72
<b>III.2. Etude de la complexation du cuivre et du nickel dans les films de PPyAB</b>	<b>73</b>
III.2.1. Caractérisation par voltampérométrie cyclique	73
III.2.1.1. Influence de pH de la solution de complexation sur le taux d'incorporation	73
III.2.1.2. Effet de la concentration de la solution de complexation sur le taux d'incorporation	74
III.2.1.3. Influence de la charge utilisée pour fabriquer les films du PPyAB sur le taux d'incorporation	75

III.2.1.4. Effet de la durée de trempage des films du PPyAB sur le taux d'incorporation	76
III.2.2. Caractérisation par spectroscopie d'impédance	77
III.2.2.1. Influence de pH de la solution de complexation sur le taux d'incorporation	77
III.2.2.2. Effet de la concentration de la solution de complexation sur le taux d'incorporation	79
III.2.2.3. Influence de la charge utilisée pour fabriquer les films du PPyAB sur le taux d'incorporation	80
III.2.2.4. Effet de la durée de trempage des films du PPyAB sur le taux d'incorporation	81
III.2.3. Caractérisation par microscopie électronique à balayage	83
III.2.4. Analyse par spectroscopie de rayons X à dispersion d'énergie du polymère modifié par l'incorporation du cuivre et du nickel	84
<b>III.3. Conclusion</b>	85
<b>Références Bibliographiques</b>	86

## *Chapitre IV*

<b>BIOCAPTEUR IMPEDIMETRIQUE A BASE DE POLYPYRROLE POUR LA DETECTION DE L'INTERLEUKINE-10 CYTOKINE</b>	87
<b>IV.1. Fabrication et caractérisation d'un biocapteur à base de polypyrrole</b>	87
IV.1.1. Caractérisation par mesure d'angle de contact	87
IV.1.2. Caractérisation des substrats Si/SiO <sub>2</sub> /Si <sub>3</sub> N <sub>4</sub> -(SPy-PPy) par spectroscopie infrarouge	88
IV.1.3. Caractérisation morphologique par microscopie électronique à balayage des films de PPy	92
IV.1.4. Caractérisation électrochimique des substrats Si/SiO <sub>2</sub> /Si <sub>3</sub> N <sub>4</sub> -(SPy-PPy)	94
IV.1.4.1. Analyse par voltampérométrie cyclique	94
IV.1.4.2. Analyse par spectroscopie d'impédance électrochimique	96

IV.1.5. Comportement électrochimique de Si/SiO <sub>2</sub> /Si <sub>3</sub> N <sub>4</sub> et Si/SiO <sub>2</sub> /Si <sub>3</sub> N <sub>4</sub> -(SPy-PPy) à différents potentiels appliqués	100
IV.1.6. Electrodéposition de diazonium carboxylique sur la surface du film PPy	102
IV.1.7. Étude électrochimique de la couche PPy avant et après le dépôt de CMA	103
<b>IV.2. Détection de l'interleukine-10 humaine recombinante par la mesure SIE</b>	105
<b>IV.3. Conclusion</b>	107
<b>Références bibliographiques</b>	109
<b>CONCLUSION GENERALE</b>	111

## INTRODUCTION GENERALE

Au siècle dernier, les polymères conducteurs (PCs) ont attiré l'attention des scientifiques en raison de leurs fascinantes propriétés électroniques et mécaniques. Par conséquent, des efforts ont été concentrés sur la synthèse de divers polymères conducteurs, comme le polypyrrole (PPy) et la polyaniline (PANI) qui ont trouvé des applications intéressantes en particulier dans l'électrocatalyse pour les industries chimiques et dans l'analyse électrochimique pour les applications de détection. En électrocatalyse, le dopage des polymères conducteurs avec des métaux (Cu, Au, Ag, Ni, etc...) améliore les propriétés catalytiques de ces matériaux moléculaires. D'autre part, l'immobilisation de composés biologiquement actifs sur les polymères conducteurs conduit à la formation de biocapteurs ; en vue de les utiliser dans diverses applications pour diagnostiquer de manière rapide et sensible, ce qui est nécessaire pour l'analyse biomédicale et environnementale.

De nos jours, la nécessité de surveiller et de détecter les éléments biologiques, liés à la santé humaine et environnementale, de manière rapide et fiable, est l'un des défis auxquels l'humanité doit faire face à l'aube du XXIe siècle. Les tests effectués aujourd'hui dans les laboratoires (tels que le dosage immuno-enzymatique (ELISA), la réaction en chaîne par polymérase (PCR), les cultures cellulaires, etc.) sont lents (nécessitant de plusieurs heures à quelques jours) et coûteux. Cela peut être dû au rythme de la biologie lors de l'utilisation de cultures cellulaires ou à l'utilisation d'étiquettes fluorescentes qui rendent le processus de détection plus compliqué, y compris la préparation laborieuse d'échantillons, l'utilisation d'équipements volumineux, le traitement lent des données et le besoin de personnel qualifié. Une méthode de détection idéale devrait être simple, rapide et directe (sans étiquetage), avec une sensibilité et une sélectivité élevées, permettant de multiples détections simultanées à faible coût par du personnel non qualifié [1].

Récemment, les maladies cardiovasculaires sont une cause prédominante de mortalité dans les pays développés. Le décès post opératoire dû à une chirurgie cardiaque peut être exprimé par des niveaux élevés de cytokines et de cellules immunitaires variables. Ce rejet aigu fatal peut être déterminé en mesurant des biomarqueurs spécifiques qui fournissent une inflammation clinique dans les événements cellulaires et biochimiques. La cytokine anti-inflammatoire, l'interleukine-10 (IL-10), contribue à ce processus lorsque les patients éprouvent un excès de cytokine.

L'IL-10 est l'un parmi les nombreux antigènes sécrétés dans les stades aigus de l'inflammation après implantation du dispositif assisté par ventricule gauche (LVAD, left ventricle assisted device) chez les patients souffrant d'insuffisance cardiaque (HF, heart failure) [2, 3].

L'interleukine-10 est l'une des cytokines et des biomarqueurs sécrétés pendant le processus pro- et anti-inflammatoire au stade aigu de l'inflammation. Généralement, ces biomarqueurs sont analysés et quantifiés avec une technique standard basée sur un dosage immunoenzymatique [4, 5]. L'application de cette technique prend du temps, nécessite du personnel spécialisé et l'utilisation d'une étiquette.

Cependant, pour détecter ces biomarqueurs à des faibles concentrations et prédire les premiers signes d'inflammation, il existe un besoin croissant de diagnostic médical rapide, en temps réel et fiable. Pour cet intérêt, plusieurs biocapteurs thérapeutiques, hautement sensibles et miniaturisés capables de détecter ou de reconnaître une biomolécule spécifique, ont été développés dans la littérature [6]. Les biocapteurs électrochimiques ont également été largement utilisés pour la détection des cytokines. Afin d'améliorer la sensibilité des biocapteurs, d'autres polymères conducteurs tels que le polypyrrole (PPy), le poly(méthylpyrrole) (PMPy), la polyaniline (PANI) et le polythiophène (PT) ont été largement utilisés dans la littérature pour des applications comme biocapteurs [7]. La conductivité de ces polymères conjugués et de leurs dérivés (allant de  $10^{-10}$  S/cm à  $10^{-5}$  S/cm) [8], peut être modifiée de manière contrôlable entre le régime isolant et le régime semi-conducteur par oxydation (dopage de type p) ou réduction (dopage de type n) [9]. Les biocapteurs utilisés pour cet intérêt dans la littérature étaient principalement basés sur l'or ou le substrat polymère [10].

Récemment, le substrat de nitrure de silicium ( $\text{Si}_3\text{N}_4$ ) à base de technologie de micro et nano-fabrication a été combiné avec succès à la biochimie, permettant la fabrication de nouveaux dispositifs de biosensibilité avec une grande sensibilité et une bonne sélectivité [11-13]. Ce matériau offre plus d'avantages par rapport à d'autres, tels que l'absence d'impuretés indésirables et l'excellent contrôle de la composition et de l'épaisseur du film. La combinaison de ses propriétés électroniques et mécaniques [14, 15] fait de nitrure de silicium un matériau extrêmement attractif pour les applications de biocapteurs. La littérature est basée sur des monocouches auto-assemblées (SAM) sur différents métaux [16-18], en particulier des thiols sur l'or. Cependant, moins d'efforts ont été consacrés à l'étude des propriétés électroniques des SAM déposés sur  $\text{Si}_3\text{N}_4$ . La surface de ce dernier est habituellement modifiée par des organosilanes portant des groupes chimiquement actifs [19], pour fournir une interface appropriée entre le transducteur à base de silicium et les biomolécules immobilisées.

Le premier chapitre concerne l'étude bibliographique sur les polymères organiques conducteurs, et leurs différentes applications, notamment, en électrocatalyse et comme biocapteurs. Les généralités sur le nitrure de silicium, le sel de diazonium, et les biocapteurs, leurs préparations et leurs différentes applications, notamment, en biomédicale font partis de ce chapitre.

Le deuxième chapitre est consacré à la présentation des différentes méthodes et techniques expérimentales, voltampérométrie cyclique (VC), spectroscopie d'impédance électrochimique (SIE), spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR), microscopie électronique à balayage (MEB) et la microanalyse par énergie dispersive de rayons X (EDX). Y sont décrits les produits chimiques, les cytokines, les électrodes et les cellules électrochimiques utilisées dans ce travail.

Le troisième chapitre porte sur la synthèse, la caractérisation électrochimique et spectrométrique, et l'analyse des propriétés d'un matériau composite (CV/poly(acide 4-(pyrrol-1-yl méthyl) benzoïque)) (PPyAB), modifiée par incorporation d'un ou des deux métaux de transition Cu ou/et Ni. Cette partie du travail a été porté essentiellement par les différentes méthodes physicochimiques décrites ci-haut. L'étude porte sur l'effet du pH, la concentration de la solution de complexation en cations de cuivre et nickel, la quantité d'électricité et la durée du trempage sur la teneur des métaux incorporés.

Enfin, dans le quatrième chapitre, nous présentons les résultats expérimentaux concernant la préparation et la caractérisation électrochimique et spectroscopique du film de poly(pyrrole-silane-co-pyrrole) symbolisé sous (SPy-PPy) déposé sur des substrats de nitrure de silicium, modifiés électrochimiquement par un sel de diazonium et enfin son utilisation comme biocapteur.

## Références Bibliographiques

- [1] E. Domínguez, A. Narváez, *Biosensors and Modern Biospecific Analytical Techniques*, Ed. L. Gorton, Elsevier: Amsterdam, the Netherlands (2005) 429.
- [2] R. Caruso, S. Trunfio, F. Milazzo, J. Campolo, R. D. Maria, T. Colombo, M. Parolini, A. Cannata, C. Russo, R. Paino, M. Frigerio, L. Martinelli, O. Parodi, *American Society for Artificial Internal Organs Journal*, 56 (2010) 313.
- [3] R. Caruso, A. Verde, M. Cabiati, F. Milazzo, C. Boroni, S. D. Ry, M. Parolini, C. Vittori, R. Paino, L. Martinelli, D. Giannesi, M. Frigerio, O. Parodi, *J Heart Lung, Transplant*. 31 (2012) 625.
- [4] A. Nuntaprasert, Y. Mori, K. Tsukiyamakohara, C. Kai, *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 28 (2005) 121.
- [5] G. Soman, X. Yang, H. Jiang, S. Giardina, G. Mitra, *J. Immunol. Methods* 373 (2011) 181.
- [6] A. Baraket, M. Lee, N. Zine, R. Caruso, M. G. Trivella, A. Errachid, *Int. J. Cardiovasc. Res.* 6 (2017). DOI 10.4172/2324-8602.1000294.
- [7] N. Wang, G. Li, Z. Yu, X. Zhang, X. Qi, *Carbohydr. Polym.* 127 (2015) 332.
- [8] E. T. Tenório-Neto, A. Baraket, D. Kabbaj, N. Zine, A. Errachid, H. Fessi, M. H. Kunita, A. Elaissari, *Mater. Sci. Eng. C* 61 (2016) 688.
- [9] L. M. Dai, P. Soundarrajan, T. Kim, *Pure Appl. Chem.* 74 (2002) 1753.
- [10] M. M. Barsan, M. E. Ghica, C. M. A. Brett, *Anal. Chim. Acta* 881 (2015) 1.
- [11] K. Awsiuk, A. Bernasik, M. Kitsara, A. Budkowski, P. Petrou, S. Kakabakos, S. Prauzner-Bechcicki, J. Rysz, I. Raptis, *Colloids Surf. B* 90 (2012) 159.
- [12] N. H. Z. Ariffin, H. Yahaya, S. Shinano, S. Tanaka, A. M. Hashim, *Microelectron. Eng.* 133 (2015) 1.
- [13] Q. Liu, X. Tu, K. W. Kim, J. S. Kee, Y. Shin, K. Han, Y.-J. Yoon, G.-Q. Lo, M. K. Park, *Sens. Actuators, B* 188 (2013) 681.
- [14] N. H. Z. Ariffin, H. Yahaya, S. Shinano, S. Tanaka, A. M. Hashim, *Microelectron. Eng.* 133 (2015) 1.
- [15] J. Y. Kim, K. Choi, D. Moon, J. H. Ahn, T. J. Park, S. Y. Lee, Y. K. Choi, *Biosens. Bioelectron.* 41 (2013) 867.
- [16] A. Szwajca, J. Wei, M. I. Schukfeh, M. Tornowa, *Surf. Sci.* 633 (2015) 53.
- [18] M. S. Góes, J. J. Davis, P. R. Bueno, *Biosens. Bioelectron.* 50 (2013) 437.
- [19] J. Lehr, F. C. Bedatty, P. R. Bueno, J. J. Davis, *Anal. Chem.* 86 (2014) 2559.

## *Chapitre I*

### **GENERALITES SUR LES POLYMERES ORGANIQUES CONDUCEURS - ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE**

#### **I.1. Polymères conducteurs**

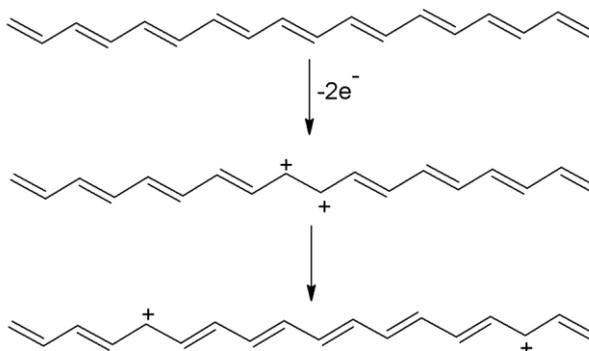
Les polymères conducteurs (PCs) sont des matériaux émergents montrant les propriétés électroniques des métaux et des semi-conducteurs associés aux propriétés mécaniques des macromolécules organiques. Depuis la première préparation du polyacétylène (PA) hautement conducteur en 1977, de nombreux efforts ont porté sur la synthèse d'autres polymères conducteurs organiques en particulier la polyaniline (PANI) et le polypyrrole (PPy). Dans le même temps, la grande polyvalence de ces matériaux a produit des applications passionnantes dans de nombreux appareils combinant des propriétés optiques, électrochimiques et conductrices [1, 2]. La polyaniline et le polypyrrole sont attrayants en raison de leur conductivité et stabilité dans l'air [3] qui permettent les applications dans les écrans électroniques [4], les matériaux d'électrode [5], les éléments de circuits électroniques moléculaires [6], la restauration des données [7], les capteur à gaz [8] et les analyses biochimiques [9].

##### **I.1.1. Propriétés électroniques de polymères conducteurs**

Une importante conductivité électrique est souvent réalisée à partir de la résonance de la structure et la mobilité des électrons  $\pi$  comme il est présenté dans le polyacétylène (figure I.1). La présence d'une langue conjugaison de ces matériaux permet de réduire la différence d'énergie (bande interdite ou gap) entre la HOMO (bande de valence) et la LUMO (bande de conduction). Cependant, cette réduction de la largeur de bande interdite est insuffisante pour atteindre des conductivités électriques appréciables. Les conductivités les plus élevées sont habituellement obtenues dans les polymères dopés où les dopants induisent une perturbation de la structure électronique, entraînant la formation de porteurs de charge «électrons» ou «trous» selon le type de dopant. Ces caractéristiques de polymères conducteurs permettent un parallèle avec les modèles physiques appliqués aux semi-conducteurs inorganiques [10].

Le dopage résulte soit de l'oxydation ou la réduction du squelette du polymère. L'oxydation conduit à la production d'un polymère chargé positivement (p-dopé) et la réduction conduit à la formation d'un polymère chargé négativement (n-dopé). Le dopage est effectué par exposition directe du polymère conjugué à un agent de transfert de charge (dopant) soit dans la phase gazeuse ou en solution, ou par oxydation ou réduction électrochimique.

Le dopage est généralement quantitatif et la concentration de porteurs est directement proportionnelle à la concentration en dopant. Le procédé de dopage conduit à la formation de défauts de conjugaison, comme solitons (polarons et bipolarons) dans la chaîne du polymère [11].



**Figure I.1.** Illustration de la formation de deux solutions chargées sur une chaîne de transpolyacétylène [11].

Les polymères conducteurs présentent généralement des caractéristiques communes. Grâce à leur vaste conjugaison, ils ont une conformation similaire à celle des molécules rigides. La plupart des polymères conducteurs sont insolubles dans les solvants organiques usuels. Les polymères conducteurs organiques ont également tendance à être infusible (ne fondent pas). En outre, ces matériaux sont habituellement fragiles et ont des propriétés mécaniques médiocres. Toutes ces propriétés sont probablement liées aux interactions résultant du système- $\pi$  conjugué de la chaîne de polymère, ce qui explique l'insolubilité et l'infusibilité avec le solvant. En outre, les propriétés mécaniques modestes en raison de potentiels des points de rupture résulte du caractère anisotrope de l'interaction intermoléculaire de systèmes- $\pi$  produisant un matériau amorphe. Tous ces aspects conduisent à une caractérisation difficile par la plupart des méthodes conventionnelles [12]. Néanmoins, la polyaniline et le polypyrrole sont d'un grand intérêt en raison de leurs propriétés remarquables tel que la conductivité importante et la stabilité dans l'air [3].

## I.1.2. Polypyrrole

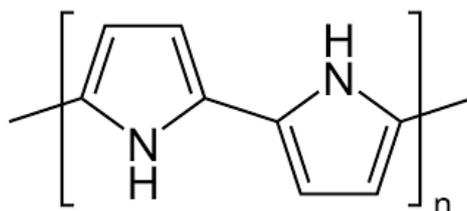
Parmi les polymères conducteurs connus à ce jour, le polypyrrole (PPy) a suscité un intérêt particulier en raison de sa haute conductivité [13, 14], de sa facilité et de sa grande flexibilité dans la préparation [15], de la stabilité chimique et thermique [16], de la biocompatibilité [17] et de bonnes propriétés mécaniques.

Le polypyrrole est un polymère organique conducteur conjugué formé par polymérisation du monomère pyrrole (Py). Selon les conditions de dopage et de synthèse, sa conductivité peut être différente (allant de l'isolant au conducteur). Depuis sa découverte et en raison de ses propriétés fascinantes, le PPy a été appliqué avec succès dans une grande variété de domaines : électronique, cellules photovoltaïques, membranes, couches de protection de surface, capteurs et biocapteur. A titre d'exemple, on peut citer son utilisation comme électrode ou transducteur de signal d'un élément de détection à un dispositif d'enregistrement. En outre, il pourrait être utilisé comme couche de protection semi-perméable, qui préserve l'élément détecteur d'un effet environnemental nuisible et permet à l'analyte d'atteindre le récepteur en même temps.

Lors de la procédure de synthèse, le polypyrrole pourrait être obtenu sous différentes formes et structures. En général, les propriétés électriques, électrochimiques, mécaniques et morphologiques des films PPy dépendent fortement des conditions de préparation et des traitements postérieurs. Parmi les différents facteurs, le contre-ion ou l'anion dopant joue le rôle important [18].

### I.1.2.1. Structure chimique du polypyrrole

La structure chimique de base de PPy conducteur est présentée dans la figure I.2. Le groupe amine secondaire (-NH-) présent dans le squelette de pyrrole est d'autant moins basique que le groupe correspondant aux composés aliphatiques. Le passage acide-base dans les polymères est responsable de la forte variation de leurs conductivités. En effet, la déprotonation du polypyrrole abaisse la conductivité de 0,5 à  $3,2 \times 10^{-9}$  S/cm [19].



**Figure I.2.** Structure chimique du polypyrrole.

### **I.1.2.2. Méthodes de préparation standard de polypyrrole**

Le polypyrrole peut être préparé par de nombreuses méthodes telles que la photochimie, la polymérisation chimique ou électrochimique, l'émulsion concentrée et le plasma. Parmi ces procédés de préparation, la polymérisation électrochimique et chimique ont été largement appliquées dans l'industrie. La polymérisation chimique [20, 21] est la méthode la plus employée pour la préparation de grandes quantités de polymère [22]. L'introduction de réactifs et de produits peut affecter leurs propriétés.

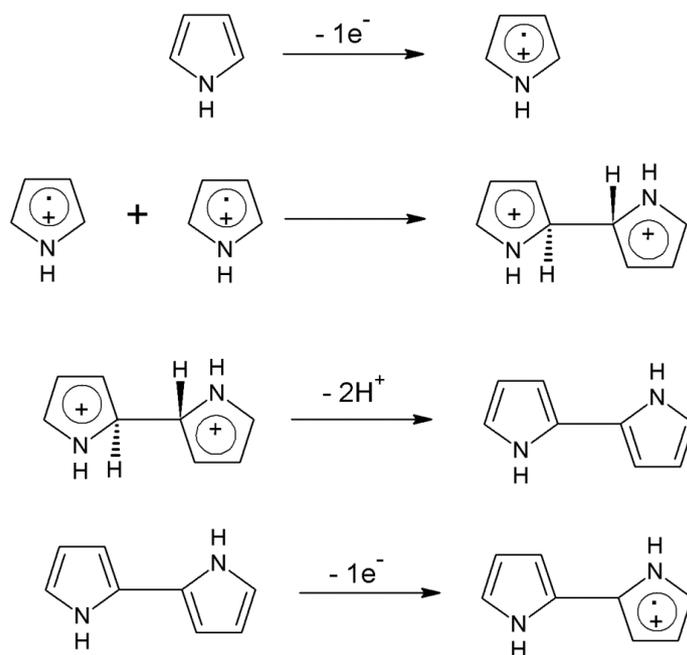
#### ***I.1.2.2a. Synthèse électrochimique***

La technique électrochimique a reçu une large attention, en raison de la simplicité, de l'obtention simultanément des polymères conducteurs dopés, le contrôle facile de l'épaisseur du film et de la morphologie. Dans ce procédé de polymérisation électrochimique, un plus grand choix de cations et d'anions sous forme d'ion de dopant est disponible. Les films de polymères conducteurs électroniques sont généralement déposés sur une surface de support d'électrodes par oxydation anodique (électropolymérisation) du monomère correspondant en présence d'une solution d'électrolyte [23]. Le choix du solvant et l'électrolyte nécessite une attention particulière, car ils devraient être stables au potentiel d'oxydation. Les solvants organiques comme l'acétonitrile ou le carbonate de propylène ont un large domaine de stabilité de potentiel [24]. Du fait que le pyrrole a un potentiel d'oxydation relativement faible, sa polymérisation en milieu aqueux est permise [25].

L'oxydation commence par la formation du radical cation monomère qui se couple avec d'autres monomères présents dans la solution pour former premièrement des oligomères et ensuite le polymère. Le prolongement de la conjugaison conduit à une diminution du potentiel d'oxydation du polymère par rapport au monomère.

La synthèse et le dopage du polymère sont généralement réalisés simultanément. L'anion dopant est incorporé dans le polymère pour assurer la neutralité électrique du film. Le mécanisme de polymérisation électrochimique de PPy est représenté dans la figure I.3. Bien que le mécanisme d'électropolymérisation est encore un sujet de recherche d'intérêt pertinent, l'interprétation contrastée de polymérisation du pyrrole est emblématique.

Selon les travaux de Funt et Diaz [26], soutenu par Waltman et Bargon [27], l'activation du pyrrole se fait en plusieurs étapes par transfert d'électrons à partir du monomère formant une solution riche en cations radicaux près de la surface d'électrode. Afin de mener à bien le processus d'électropolymérisation, différentes techniques telles que potentiostatique (potentiel constant), galvanostatique (courant constant) et potentiodynamique (voltammétrie cyclique) [28] peuvent être utilisées.



**Figure I.3.** Mécanisme de synthèse du polypyrrole par voie électrochimique [26].

### *1.1.2.2b. Synthèse chimique*

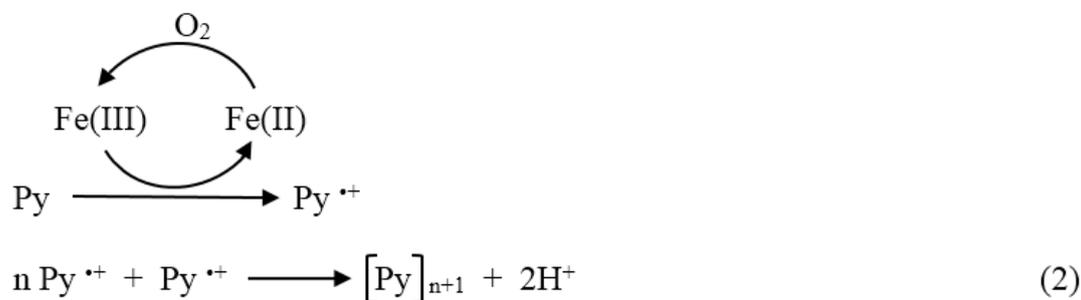
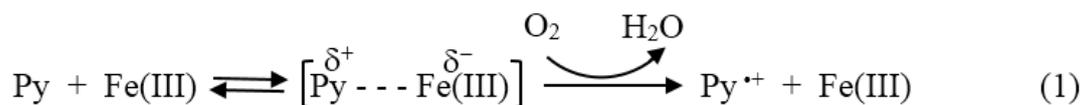
La synthèse chimique est la voie la plus ancienne et la plus utilisée pour la préparation de grandes quantités de polymère organique. La polymérisation chimique est habituellement mise en œuvre en utilisant des oxydants chimiques relativement forts tels que le  $\text{KIO}_3$ ,  $\text{KMnO}_4$ ,  $\text{FeCl}_3$ ,  $\text{K}_2\text{CrO}_4$ ,  $\text{KBrO}_3$ ,  $\text{KClO}_3$ ,  $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$  [20, 21]. Ces oxydants sont capables d'oxyder les monomères en solution, conduisant à la formation de radicaux cationiques.

Ces radicaux réagissent ensuite avec d'autres monomères ou oligomères, donnant des polymères insolubles. Les propriétés chimiques et physiques des polymères obtenus dépendent fortement des propriétés de l'agent oxydant, du rapport molaire oxydant/monomère, de l'électrolyte et de la température [29].

La polymérisation chimique a une certaine limitation liée à la gamme limitée des oxydants chimiques disponibles. Le contre-ion de l'oxydant va agir comme dopant ou co-dopant dans le polymère. Le type de dopant et le taux de dopage sont des paramètres influents les propriétés finales du polymère conducteur tels que le poids moléculaire, la réticulation et la conductivité [30]. En outre, un fort inconvénient dans l'utilisation de ces oxydants stœchiométriques est la formation d'une grande quantité de sous-produits. Dans le cas du persulfate d'ammonium, la quantité de sulfate d'ammonium résultant est d'environ 1 kg par kg de polymère organique.

De nombreux catalyseurs (Cu, Pd, Au et Fe) ont été étudiés pour favoriser la polymérisation oxydante du pyrrole et de l'aniline, constitués principalement d'ions métalliques solubles dans des états d'oxydation élevés ou de systèmes hétérogènes plus complexes.

Cependant, un inconvénient dans l'utilisation de FeCl<sub>3</sub> est qu'au moins deux moles de réactif par mole de pyrrole sont nécessaires et que du chlorure d'hydrogène est formé comme sous-produit [31]. Dans les conditions de polymérisation, le couple Fe (II)/Fe (III) agit comme transporteur d'oxygène assurant ainsi un effet catalytique. Comme le montre le schéma I.1, deux mécanismes possibles ont été suggérés pour la polymérisation catalysée par du fer. La polymérisation est assurée par la formation du complexe pyrrole-fer (mécanisme 1) ou sans complexe intermédiaire (mécanisme 2).



**Schéma I.1.** Polymérisation catalytique par : (1) Oxydation par formation de complexe et (2) Sans formation de complexe.

Dans le mécanisme 1, le chlorure de fer (III) favorise l'oxydation du pyrrole avec l'oxygène moléculaire en formant le complexe  $\text{Py}^{\gamma+} - \text{FeCl}_3^{\gamma-}$ .

Dans le mécanisme 2, le pyrrole est oxydé par le fer (III), et le fer (II) produit est oxydé par l'oxygène moléculaire. Dans ce dernier cas, L'effet de solvant peut être expliqué par le fait que le potentiel redox du complexe de fer (III) dépend du solvant. Ainsi, le Fer (III) a un potentiel plus élevé dans le carbonate de propylène que dans l'acétonitrile ou l'éthanol.

### **I.1.2.3. Applications des polypyrroles**

Le polypyrrole présente d'excellentes propriétés, y compris les propriétés électriques, thermiques et mécaniques. Par conséquent, le PPy a été largement étudié et présente de larges applications potentielles, telles que les matériaux d'affichage électrochromes [32], les transistors [33], les interrupteurs, les condensateurs électrolytiques [34], les capteurs [35] et les biocapteurs [36, 37], Les phases stationnaires chromatographiques [38], les piles légères et les cellules photovoltaïques [39, 40], la séparation des membranes [41], la protection de la surface [42] et d'autres.

Récemment, dans le domaine biomédical, le polypyrrole a reçu une attention particulière dans la recherche cellulaire en raison de sa biocompatibilité *in vitro* et *in vivo* [43, 44], sa facilité de synthèse à faible coût [45] et sa conductivité électrique. Il est aussi considéré comme un bon matériau pour l'ingénierie tissulaire [46, 47]. Des études *in vitro* ont prouvé que PPy soutient l'adhésion et la croissance de divers types de cellules, telles que les cellules neuronales [48], les cellules endothéliales [49], les kératinocytes [50], les cellules du muscle squelettique [51] et les cellules de phéochromocytome du rat [52]. Selon ses applications finales, le polypyrrole (PPy) peut être préparé et fabriqué sous diverses formes, y compris les composites PPy, les nanoparticules PPy et les couches PPy.

La formation de mélanges de PPy ou de composites conduit à de nouveaux matériaux polymères avec des combinaisons intéressantes de propriétés physiques. Par exemple, la fragilité des films PPy pourrait être surmontée par la combinaison ou le mélange de PPy avec d'autres types de polymères isolants pour améliorer les propriétés mécaniques des composites résultants [53]. D'autre part, les nanoparticules de PPy sont largement utilisées dans divers domaines expérimentaux tels que l'électronique et la photonique [54], les capteurs et la médecine [55], la biologie et la biotechnologie [56] et l'environnement [57].

Récemment, des fibres courtes de silice amorphe revêtues de nanoparticules de PPy (PPy-ASF, PPy nanoparticles-coated amorphous short silica fibers) ont été préparées et mélangées avec un copolymère issu d'un dérivé de polystyrène comme charge conductrice pour développer un composite conducteur en caoutchouc [58]. Cependant, les couches de PPy sont généralement obtenues en utilisant la synthèse électrochimique ou la polymérisation par plasma ainsi que la synthèse chimique et la précipitation [59, 60, 61]. Les propriétés des couches obtenues sont améliorées en ajoutant différents matériaux à la structure PPy formée tels que des nanotubes de carbone à parois multiples ou simples [62], des nanoparticules métalliques [63], des composés organométalliques [64], des polysaccharides [65] et d'autres matériaux. Les composites obtenus pourraient être appliqués dans différents domaines, tels que les capteurs pour les gaz, les médicaments, le glucose ou les ions métalliques [65], l'ingénierie tissulaire [66], et comme revêtement protecteur contre la corrosion [67].

## **I.2. Electrocatalyse**

L'électrocatalyse est un domaine particulier de l'électrochimie qui a connu une croissance particulière après la fin des années quatre-vingt grâce à l'application de nouvelles techniques hybrides. L'électrocatalyse est un type de catalyse qui entraîne la modification de la vitesse d'une réaction électrochimique se produisant sur une surface d'électrode en présence d'un électrocatalyseur. Ce dernier intervient dans la modification de la vitesse des réactions chimiques sans être consommé par le processus. En outre, les électrocatalyseurs fonctionnent sur les surfaces des électrodes ou peuvent être la surface de l'électrode elle-même. De nos jours, il existe diverses applications de l'électrocatalyse pour les réactions électrochimiques technologiques, l'électrosynthèse organique, les capteurs d'électrode, les piles à combustible, les préparations de batteries, etc. [68].

### **I.2.1. Métaux de transition pour l'électrocatalyse**

En raison de leur activité catalytique élevée, les métaux nobles (par exemple Pt, Pd) ont été largement étudiés pour des réactions électrocatalytiques telles que les réactions d'évolution de l'hydrogène (HER, hydrogen evolution reaction) et d'évolution de l'oxygène (OER, oxygen evolution reaction) dans les piles à combustible. Cependant, le prix et la rareté de ces métaux nobles constituent des obstacles à leur utilisation à grande échelle.

Par conséquent, un effort considérable et des progrès ont été réalisés en vue d'obtention de catalyseurs efficaces OER et HER avec des matériaux abondants sur terre (comme les métaux de transition) tels que le phosphate de cobalt, les oxydes pérovskite et les oxydes de métaux de transition (TMOs, transition metal oxides)/double couche d'hydroxydes pour OER [69].

### **I.2.2. Polypyrrole pour les applications en électrocatalyse**

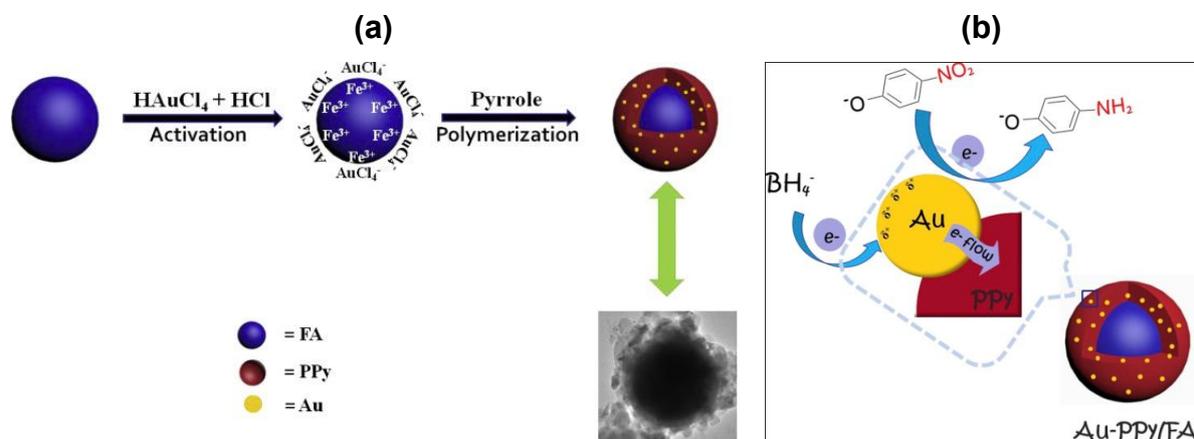
Au cours des dernières décennies, les composites constitués de polymères conducteurs et de nanoparticules métalliques (NP) ont reçu une attention considérable en raison des possibilités potentielles permettant de créer des matériaux appropriés pour l'électrocatalyse, les capteurs chimiques et les dispositifs microélectroniques [70]. Des polymères conducteurs avec des hétéroatomes tels que le polypyrrole (PPy) et la polyaniline (PANI), ont été utilisés pour des réactions électrocatalytiques ; HER ou OER en milieu alcalin. Les calculs de la théorie fonctionnelle de la densité démontrent que les N-hétéroatomes dans les polymères conducteurs peuvent induire la formation des centres actifs électrocatalytiques. Pour améliorer encore les performances, les polymères conducteurs dopés aux ions de métaux de transition (tels que PPy dopé au Co (II) et PANI dopé au Fe (III)) supportés sur de la mousse de nickel sont développés comme électrocatalyseurs à faible coût et haute performance HER ou OER [71].

L'introduction de petites particules de métal dans des matrices de polymères conducteurs augmente la surface spécifique de ces matériaux et améliore ainsi leur efficacité catalytique [72]. Les particules métalliques peuvent être incorporées dans le film de polymère par réduction de leurs sels métalliques, soit par voie chimique, soit par des techniques d'incorporations électrochimiques [73].

En général, des nanocomposites métal/polymère conducteur peuvent être préparés par trois approches principales :

- 1- l'électrodéposition du polymère à partir d'un bain contenant à la fois du monomère et des ions métalliques ;
- 2- l'électrodéposition du polymère pur, suivie d'une galvanoplastie métallique (galvanisation des métaux) ;
- 3- l'incorporation de nanoparticules indépendamment synthétisées lors de l'électropolymérisation [74, 75].

Les nanocomposites PPy-Pd ont été synthétisés en utilisant la polymérisation chimique oxydante in situ, où PdCl<sub>2</sub> a été utilisé comme oxydant. Ces particules nanocomposites ont agi comme catalyseur efficace pour les réactions de couplage de type Suzuki dans des milieux aqueux pour la formation de liaisons carbone-carbone [76]. Le composite polypyrrole-cobalt sous forme de nanofils comme catalyseur efficace pour la réaction de réduction de l'oxygène a également été rapporté [77]. Récemment, une nouvelle et simple stratégie pour construire des microsphères composites noyau-coquille (core-shell) avec des nanoparticules de cendre volante (FA, fly ash) et d'au noyées dans des chaînes de polypyrrole a été aussi rapportée (figure I.4a) [78]. En présence de NaBH<sub>4</sub> en tant qu'agent réducteur, ces microsphères composites Au-PPy/FA ont présenté un rendement catalytique élevé pour la réduction du nitrophénol en aminophénol (figure I.4b).



**Figure I.4.** (a) Préparation des microsphères composites Au-PPy/FA, et (b) Mécanisme proposé pour la réduction du 4-nitrophénol à l'aide du catalyseur Au-PPy/FA [78].

D'autres métaux précieux comme l'or (Au), l'argent (Ag), le platine (Pt), le palladium (Pd), le manganèse (Mn) et le cobalt (Co) ont également été utilisés. Cependant, leur utilisation peut être limitée en raison de leur coût élevé [77, 79, 80]. Les nanoparticules métalliques de nickel (Ni) et de cuivre (Cu) ont été fréquemment utilisées pour les réactions électrocatalytiques, en raison de leur sélectivité et de leur faible coût [72, 73].

Sen et ses collaborateurs ont préparé des composites PPy à base de nanoparticules de métal Cu et Ni par la polymérisation chimique [81]. Les composites métal/PPy obtenus ont des conductivités et des stabilités thermiques supérieures à celles de PPy.

Zouaoui et coll. ont synthétisé des matériaux d'électrode composite à base de polypyrrole fonctionnalisé et des microparticules de nickel ou de cuivre en utilisant différentes stratégies comprenant la réduction électrochimique des ions métalliques libre ou sous la forme complexée soit par échange d'ions ou par complexation sur des électrodes en carbone. L'activité électrocatalytique et la stabilité des différents composites ont ensuite été évaluées en termes d'hydrogénation électrocatalytique de cétones et d'étones [82] et de la fonction nitro dans des électrolytes aqueux [83].

Les composites de Ni-polymère synthétisés par électroréduction d'ions  $\text{Ni}^{2+}$  complexés dans les films de poly[pyrrole-acide carboxylique] ont montré une activité catalytique élevée et une bonne stabilité [82, 84]. De plus, l'électrodéposition de particules de cuivre sur des films de PPy a également été étudiée et utilisé pour la réaction d'hydrogène catalytique [85]. L'activité catalytique pour l'électroréduction de nitrate utilisant des films de polypyrrole nano-structuré/Cu a également été rapportée [86, 87].

Hamam et coll. ont préparé un substrat cellulosique revêtu de polypyrrole décoré de CuO en tant qu'électrode pour l'électroréduction de nitrate. Le PPy a été synthétisé chimiquement sur un substrat cellulosique en utilisant du  $\text{FeCl}_3$  comme oxydant, suivi de l'incorporation de particules d'oxyde de cuivre par la procédure galvanostatique à partir d'une solution de  $\text{CuCl}_2$  [87].

### **I.3. Biocapteurs**

De nos jours, la nécessité de surveiller et de détecter des éléments biologiques, liés à la santé humaine et environnementale, de manière rapide et fiable, est l'un des défis auxquels l'humanité est confrontée au début du XXI<sup>e</sup> siècle. À l'heure actuelle, les tests biologiques réalisés dans des laboratoires (tels que dosage immuno-enzymatique (ELISA, enzyme-linked immunosorbent assay), PCRs (PCR, polymerase chain reaction), cultures cellulaires, etc.) sont lents (nécessitant de plusieurs heures à jours) et coûteux. Cela peut être dû au rythme de la biologie lors de l'utilisation de cultures cellulaires ou à l'utilisation d'étiquettes fluorescentes qui rendent le processus de détection plus compliqué, y compris les préparations laborieuses, l'utilisation d'équipements volumineux, le traitement lent des données et le besoin de personnel qualifié.

Une méthode de détection idéale doit être simple, rapide et directe (sans étiquetage), avec une sensibilité et une sélectivité élevées, permettant de détecter simultanément plusieurs détecteurs à faible coût par un personnel non qualifié [88].

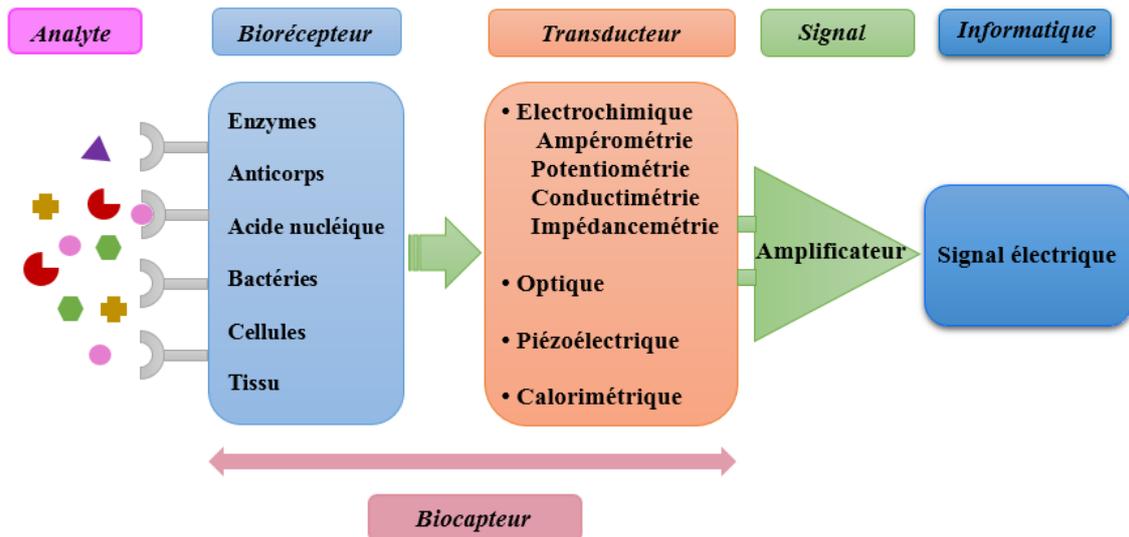
Au cours des dernières décennies, la recherche et le développement dans le domaine des capteurs ont augmenté de manière exponentielle en termes d'investissement financier. Les capteurs fournissent des informations sur notre environnement physique, chimique et biologique. Par conséquent, les biocapteurs ont attiré l'attention mondiale. La recherche active dans le monde entier est consacrée au développement de nouveaux biocapteurs, en vue de trouver des applications dans toutes les sphères de la vie, y compris le diagnostic, la technologie alimentaire, la biotechnologie, le génie génétique, le suivi environnemental et d'autres domaines similaires [89].

### **I.3.1. Définition**

Un biocapteur est un dispositif analytique qui incorpore un élément biologiquement actif avec un transducteur physique approprié pour générer un signal mesurable proportionnel à la concentration d'espèces chimiques dans n'importe quel type d'échantillon. Il est constitué généralement de :

- 1- un élément biologique pour détecter (l'ADN, les anticorps, l'enzyme, le tissu, la cellule, etc.),
- 2- un élément de transduction physico-chimique,
- 3- un système de lecture pour le post-traitement du signal.

Les biocapteurs peuvent être distingués selon les principes fondamentaux de la transduction du signal et des éléments de bioreconnaissance. Dans le schéma général d'un biocapteur (figure I.5), l'élément de bioreconnaissance répond au composé cible, tandis que le transducteur convertit la réponse biologique en un signal détectable qui peut être mesuré de manière électrochimique, optique, acoustique, mécanique, calorimétrique ou électronique, et ensuite corrélée avec la concentration d'analyte [90]. Sur la base du principe de la transduction, les biocapteurs sont classés en biocapteurs électrochimiques, mécaniques, acoustiques, calorimétriques, thermiques, optiques, à base d'acide nucléique, etc. Parmi ceux-ci, les biocapteurs électrochimiques et optiques offrent les avantages d'une sensibilité très élevée, directe, en temps réel et un fonctionnement sans étiquette en plus des capacités multiplexées [91, 92].



**Figure I.5.** Principe de fonctionnement du biocapteur : sous-systèmes principaux.

Dans les biocapteurs électrochimiques, l'immobilisation de la molécule biologique sur les transducteurs est une étape fondamentale dans le développement et la fabrication de biocapteurs, dans lequel les polymères conducteurs agissent comme élément transducteur. Cela peut être attribué à leurs propriétés électriques, électroniques, magnétiques et optiques [93].

Parmi les polymères conducteurs, le polypyrrole a été largement étudié pour la conception de capteurs bioanalytiques, en raison de sa bonne biocompatibilité, de sa haute conductivité électrique, de ses bonnes propriétés redox et de sa stabilité environnementale à long terme [94]. Par conséquent, il est considéré comme un candidat efficace pour l'immobilisation de matériaux bioactifs et pour la transduction/amplification du signal analytique dans les dispositifs d'immunosensibilité [95].

L'immobilisation des molécules bioactives pourrait être réalisée par diverses méthodes, y compris :

- 1- l'entraînement de biomolécules dans un film électro-polymérisé formé avec un mélange de monomères et de biomolécules;
- 2- la liaison physique ou électrostatique des biomolécules directement sur des groupes spécifiques sur la surface du substrat; et
- 3- la fixation chimique ou covalente de biomolécules au film polymère conducteur comportant des groupes réactifs, (comme des groupes amine (-NH<sub>2</sub>) ou carboxyliques (-COOH) [95-97].

L'approche chimique est considérée comme la plus favorable et efficace, car la croissance du film de polymère et l'immobilisation des biomolécules peuvent être réalisées dans des conditions expérimentales différentes et contrôlées.

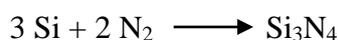
En outre, il permet de résoudre les problèmes de dénaturation et le détachement de biomolécules immobilisées rencontrées pendant ou après l'immobilisation par des méthodes physiques. De plus, l'immobilisation covalente maintient l'activité des molécules, augmente la stabilité et assure l'accessibilité de l'analyte pour effectuer un événement biologique spécifique (par exemple, liaison antigène-anticorps, hybridation d'oligonucléotides complémentaires ou réactions catalysées par des enzymes) [98].

Dans le cas de biocapteurs électrochimiques, le point clé est l'intégration des éléments biologiques avec des substrats appropriés. À cet égard, différents immunocapteurs basés sur une structure électrolyte-isolant-semi-conducteur (EIS) ont été développés dans lesquels la fixation de l'antigène à l'anticorps correspondant déclenche une réponse électrique dans le capteur. Par conséquent, le substrat ou le matériau semi-conducteur est également un élément important dans la structure des capteurs et devrait être sélectionné avec beaucoup d'attention. Parmi ces matériaux utilisés, le nitrure de silicium ( $\text{Si}_3\text{N}_4$ ) est un matériau important en microélectronique en raison de sa haute résistivité, de sa constante diélectrique plus élevée (par rapport au dioxyde de silicium), de sa forte résistance mécanique et sa haute stabilité chimique et thermique [99].

### **I.3.2. Matériaux utilisé pour la conception d'un biocapteur- le nitrure de silicium**

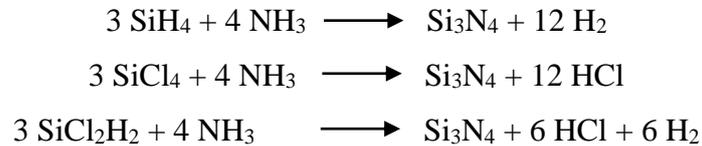
Le nitrure de silicium ( $\text{Si}_3\text{N}_4$ ) est un composé chimique solide blanc, inerte et de point de fusion élevé. Il est attaqué par des acides forts (par exemple HF dilué et  $\text{H}_2\text{SO}_4$  chaud). En outre, il est très dur (8,5 sur l'échelle Mohs) et c'est le plus stable thermodynamiquement des nitrures de silicium [100].

Le nitrure de silicium est généralement préparé en chauffant du silicium en poudre entre 1300 °C et 1400 °C dans une atmosphère d'azote :



Les produits obtenus à haute température dépendent des conditions de réaction (par exemple le temps, la température et les matières de départ, y compris les réactifs et les matériaux de récipient), ainsi que le mode de purification.

Les films de nitrure de silicium de qualité électronique sont formés en utilisant un dépôt chimique en phase vapeur (CVD, chemical vapor deposition) ou l'une de ses variantes, telles que le dépôt chimique en phase vapeur assisté par plasma (PECVD, plasma-enhanced chemical vapor deposition) [101, 102] :



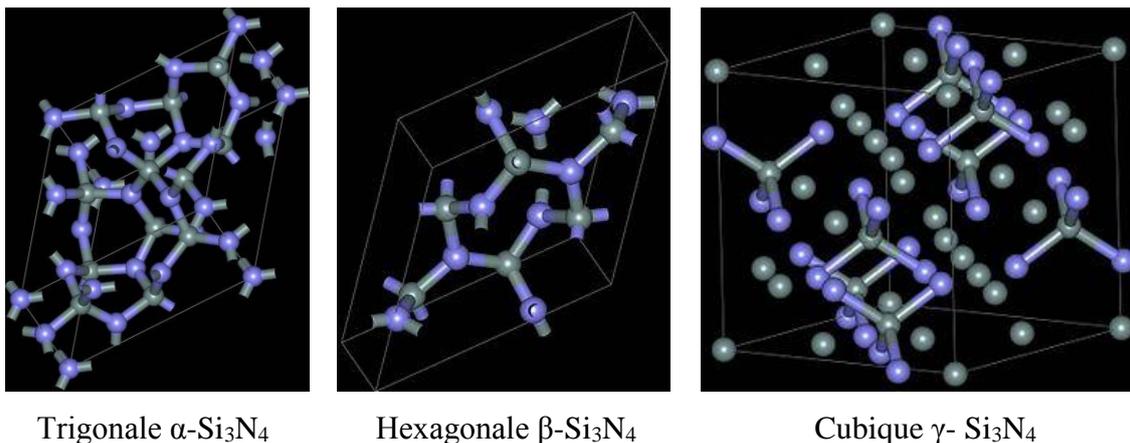
Pour le dépôt de couches de nitrure de silicium sur des substrats semi-conducteurs (habituellement en silicium), deux méthodes sont utilisées [102] :

- 1- le dépôt chimique en phase vapeur à basse pression (LPCVD, low pressure chemical vapor deposition), qui fonctionne à une température assez élevée et se fait soit dans un four à tube vertical ou horizontal [103].
- 2- le dépôt chimique en phase vapeur assisté par plasma (PECVD), qui fonctionne à des conditions de température et de vide assez basses.

### **I.3.2.1. Structures cristallines du nitrure de silicium**

Selon les conditions de préparation, le nitrure de silicium existe dans trois structures cristallographiques, appelées phases  $\alpha$ ,  $\beta$  et  $\gamma$ . Les phases  $\alpha$  et  $\beta$  sont les formes les plus courantes de  $\text{Si}_3\text{N}_4$  et peuvent être produites sous condition de pression normale. La phase  $\gamma$  ne peut être synthétisée que sous des pressions et des températures élevées et à une dureté de 35 GPa (figure I.6) [104].

Les  $\alpha$ - $\text{Si}_3\text{N}_4$  et  $\beta$ - $\text{Si}_3\text{N}_4$  ont respectivement des structures trigonales et hexagonales. Cependant, la phase  $\alpha$  est chimiquement instable par rapport à la phase  $\beta$ . A des températures élevées lorsqu'une phase liquide est présente, la phase  $\alpha$  se transforme toujours en phase  $\beta$ . Par conséquent, le  $\beta$ - $\text{Si}_3\text{N}_4$  est la principale forme utilisée dans les céramiques  $\text{Si}_3\text{N}_4$  [105].

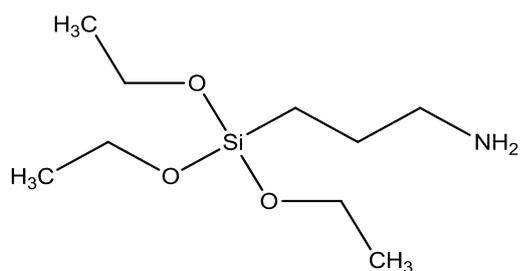


**Figure I.6.** Structures cristallographiques de  $\text{Si}_3\text{N}_4$ .

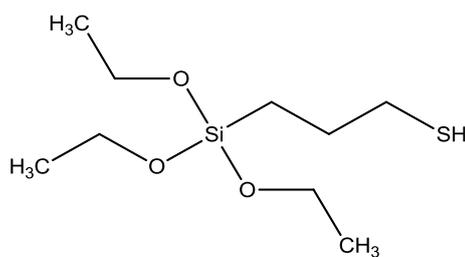
### I.3.2.2. Modification de surface du nitrure de silicium

En raison de ses propriétés fascinantes,  $\text{Si}_3\text{N}_4$  a trouvé une large gamme d'applications, y compris l'électronique, la médicale, les matériaux de roulement, l'industrie automobile, les applications à haute température. Dans le domaine des biocapteurs, le développement de surfaces modifiées biochimiquement adéquates présente un intérêt important [106] en raison de l'obtention d'une détection et d'une analyse hautement sensibles et sélectives des processus de biorecognition [107]. A cet égard, plusieurs méthodes largement disponibles pour l'immobilisation d'éléments biologiques sur le substrat  $\text{Si}_3\text{N}_4$  reposent sur des procédures de silanisation [108].

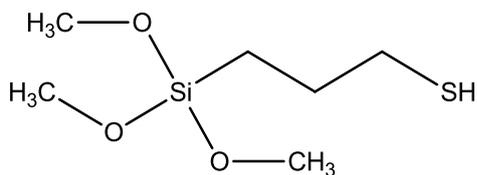
Cependant, l'activation du silane est toujours nécessaire pour fournir des groupes fonctionnels appropriés (par exemple  $-\text{COOH}$ ,  $-\text{NH}_2$ ,  $-\text{SH}$ ,  $\text{CHO}$ , Oxirane, etc...) sur la surface par une liaison covalente avec des biomolécules. Les structures chimiques des agents silanes communs de la surface  $\text{Si}_3\text{N}_4$  sont représentées sur la figure I.7.



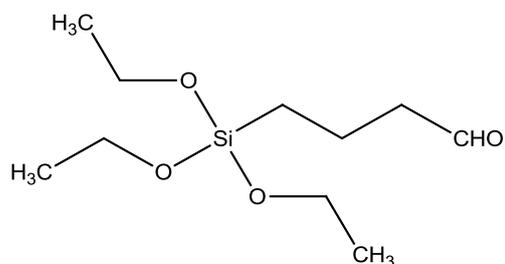
3-Aminopropyltriéthoxysilane (APTES)



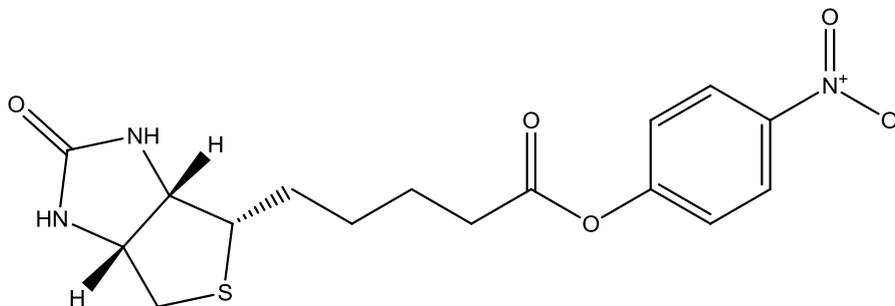
3-Mercaptopropyltriéthoxysilane (MPTES)



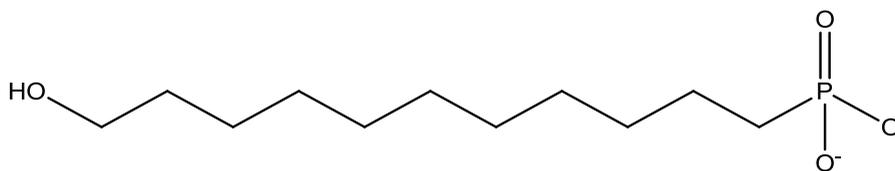
3- Mercaptopropyltrimethoxysilane (MPTMS)



4-(triethoxysilyl) butanal (TESB)



Biotin 4-nitrophenyl ester (BNPE)

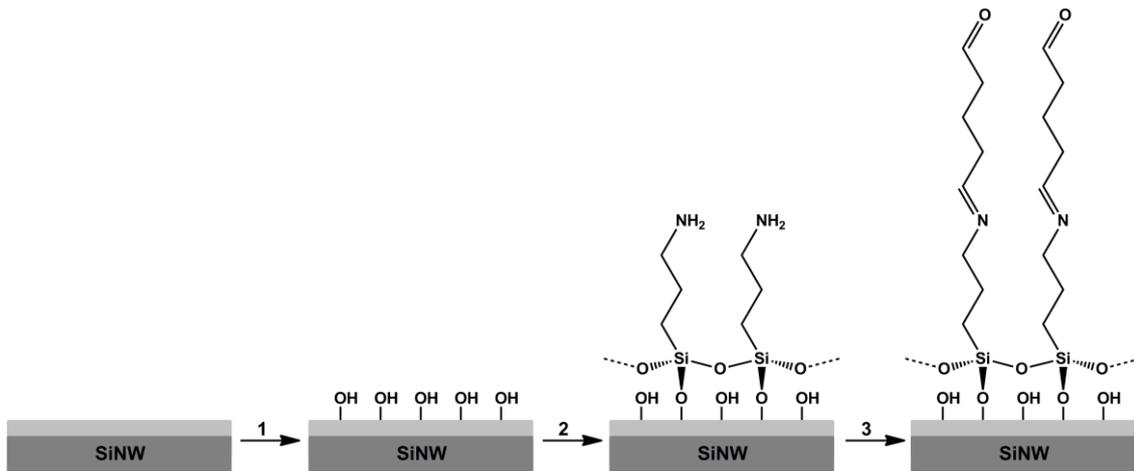


11-Hydroxy undecyl-phosphonate (HUP)

**Figure I.7.** Structures chimiques des agents silanes communs

Dans le procédé de silanisation, les groupes silanol de l'agent silanisant réagissent avec les groupes hydroxylés de surface de la silice activée, formant une fixation covalente sur les surfaces de silice (schéma I.2) [109]. Habituellement, le procédé de silanisation nécessite des groupes alcoxy hydrolysables (OR) de silanes qui seront hydrolysés pour former des groupes silanol actifs (SiOH) en présence d'eau ou d'humidité. Les équilibres des processus d'hydrolyse et de condensation ont lieu dans la solution selon les réactions suivantes [110] :





**Schéma I.2.** Représentation schématique de : (1) nettoyage/activation de la surface SiO<sub>x</sub>, (2) silanisation avec APTES et (3) fonctionnalisation ultérieure avec glutaraldéhyde [109].

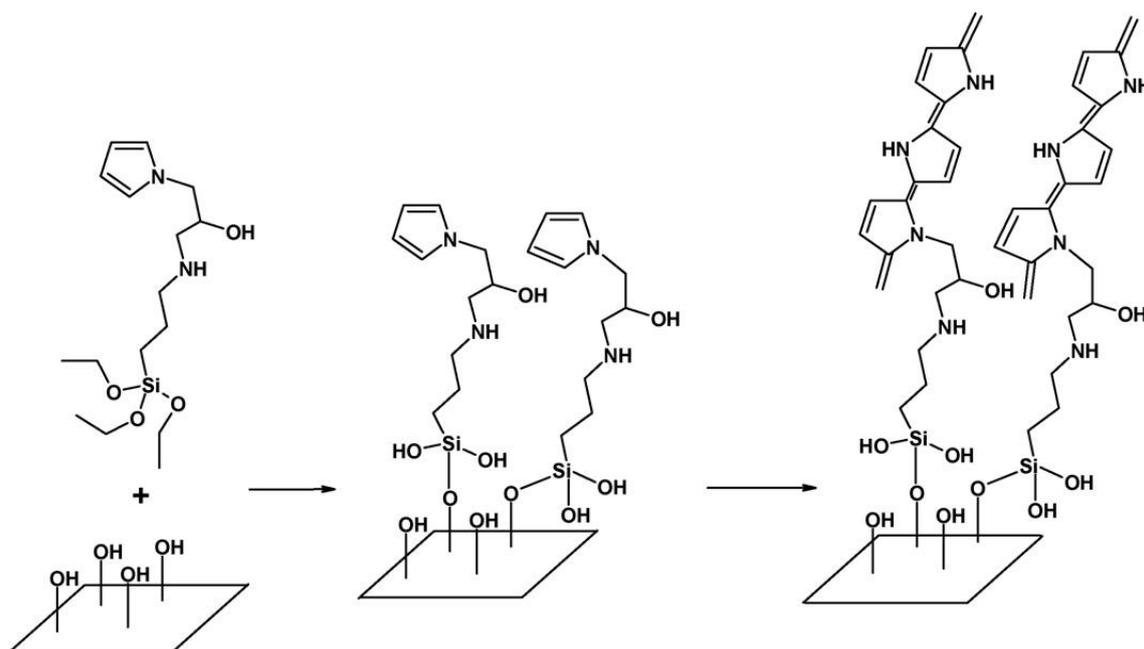
### I.3.2.3. Modification des surfaces par le pyrrole-alkyl silane

Afin d'améliorer les propriétés conductrices de la couche de Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> et la performance des biocapteurs (spécificité, stabilité, sensibilité et limite de détection), des études récentes ont porté sur l'utilisation de polymères conducteurs comme outils (transducteurs) pour l'amplification de la réponse du signal découlant des interactions anticorps-antigène.

Divers polymères conducteurs tels que le polypyrrole (PPy), le poly(méthyle pyrrole) (PMPy), la polyaniline (PANI) et le polythiophène (PT) ont été largement utilisés dans la littérature pour les applications de biocapteurs [111]. La conductivité de ces polymères conjugués et de leurs dérivés varie de 10<sup>-10</sup> S/cm à 10<sup>-5</sup> S/cm [112]. Elle peut varier de manière contrôlée de l'état isolant à semi-conducteur ou même à un état métallique par oxydation (dopage de type-p) ou réduction (dopage de type-n) [113].

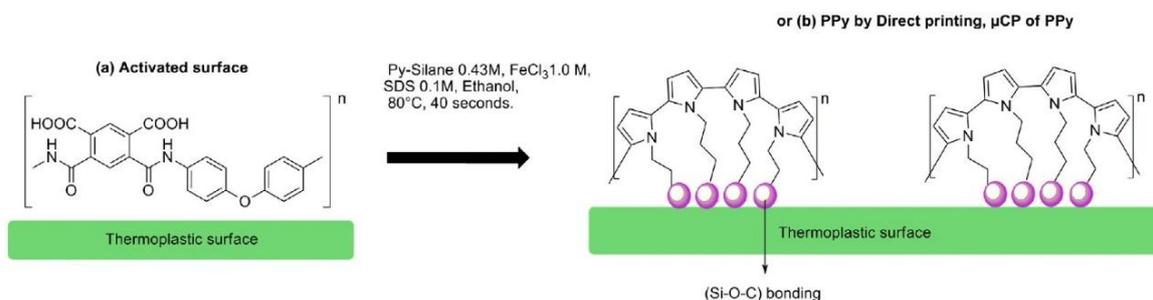
Afin de développer de nouveaux matériaux conducteurs pour diverses applications en tant que matériaux antistatiques, capteurs, matériaux pour le blindage électromagnétique et les utilisations biomédicales, les alkylsilanes substitués par un groupe pyrrole ont attiré une attention particulière en tant qu'agent de couplage et adhérent pour le greffage de polymères conducteurs sur des substrats oxydés et en tissu (schéma I.3) [114]. Une procédure de silanisation pour favoriser le dépôt de PPy sur un substrat de silicium a d'abord été rapportée par R. A. Simon et coll. [115]. Ce travail consiste en la synthèse d'un silane à base de pyrrole (N-(3-(triméthoxysilyl)propyl)pyrrole (SPy)), en tant qu'agent de dérivation sur des anodes de silicium du type-n pour la polymérisation chimique du pyrrole.

Plus tard, des dérivés similaires ont été utilisés sur la plaquette de silicium de type-p et SiO<sub>2</sub>/Si [116], les fibres de verre [117], et plus récemment sur des substrats de titane [118]. Par exemple, l'amorce de silane à base de pyrrole a été utilisée pour la protection contre la corrosion des alliages d'aluminium commerciaux [119].



**Schéma I.3.** Polypyrrole fixé à la surface textile à travers des tissus traités par pyrrole-silane [114].

Récemment, des alkylsilanes substitués par un pyrrole ont été fixées chimiquement sur des polymères thermoplastiques flexibles en tant que matériau biosensible (schéma I.4) [120].

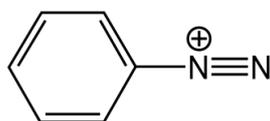


**Schéma I.4.** Représentation schématique de : (a) activation de surface du polymère thermoplastique et (b) technique de "impression directe" de PPy [120].

Après le dépôt de la couche de polypyrrole sur un substrat semi-conducteur  $\text{Si}_3\text{N}_4$ , l'étape d'activation ou de fonctionnalisation de surface de la couche PPy est d'une importance primordiale afin de créer une couche PPy réactive pour l'immobilisation de diverses biomolécules (par exemple, anticorps, enzymes, etc.). Parmi l'agent de fonctionnalisation utilisé, les sels de diazonium sont couramment utilisés pour la modification ou la fonctionnalisation de différentes surfaces organiques et inorganiques.

### I.3.3. Activation des surfaces par greffage des sels de diazonium pour des applications de détection

Les composés de diazonium ou les sels de diazonium sont des composés organiques partageant un groupe fonctionnel commun  $\text{R-N}\equiv\text{N}^+\text{X}^-$ , où R peut être un groupe organique, tel que un groupe alkyle ou aryle et  $\text{X}^-$  est un anion inorganique (halogène) ou organique. Les sels de diazonium, en particulier ceux où R est un groupe aryle, sont des intermédiaires importants dans la synthèse organique des colorants azoïques (figure I.8).



**Figure I.8.** Cation intermédiaire du phenyldiazonium.

Le processus de formation de composés de diazonium s'appelle diazotation, ou diazotization. IL a été découvert par Peter Griess en 1858. Les ions diazonium sont principalement formés par la nitration des amines primaires (aromatiques ou aliphatiques) en milieu acide [121]. Dans une solution aqueuse, ces sels sont instables à des températures supérieures à + 5 °C. Le groupe  $-\text{N}^+\equiv\text{N}$  a tendance à être perdu sous la forme  $\text{N}_2$ . Les composés de diazonium peuvent être isolés sous forme de sels de tétrafluoroborate, stables à température ambiante. Généralement, une fois préparés, ils sont utilisés immédiatement dans d'autres réactions.

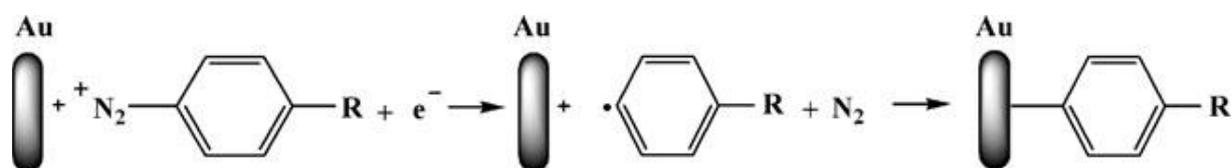
Les sels de diazonium trouvent de larges applications dans divers procédés industriels, y compris :

- 1- la synthèse de composés azoïques principalement utilisés dans le domaine des colorants.
- 2- l'halogénéation [122], le couplage benzylique [123], la fluoration [124] et l'arylation [125].
- 3- la synthèse de composés organiques comprenant un pont azoïque hétérocyclique, en particulier la synthèse de la cinnoline [126] utilisée en pharmacologie, ainsi que la synthèse de triazine [127] utilisée dans les procédés d'extraction liquide-liquide, notamment pour la séparation d'uranium.

En plus des utilisations mentionnées ci-dessus des sels de diazonium, elles ont été largement utilisées pour la modification ou la fonctionnalisation de différentes surfaces pour des applications de biosensibilité. La modification de surface par greffage de molécules organiques sur les substrats (par exemple carbone, semi-conducteurs et métaux) par une liaison covalente stable représente un moyen efficace pour améliorer la liaison interfaciale [128, 129]. De nos jours, l'une des procédures électrochimiques les plus utilisées pour modifier le carbone et les diverses surfaces métalliques consiste en la réduction des sels d'aryle diazonium qui a été la plus utilisée comme méthode pour la dérivation covalente des surfaces de carbone vitreux (CV) [129].

La réduction électrochimique des dérivés du diazonium est une technique élégante et polyvalente pour la fonctionnalisation de la surface, qui a été d'abord rapportée en 1992 par M. Delamar et coll. [129]. Le mécanisme de fixation a été décrit comme une génération de radicaux aryles suivis d'une formation ultérieure de liaisons covalentes entre la surface métallique et les groupes aryle (schéma I.5) [129].

Cette approche présente plusieurs avantages, y compris la facilité de la modification de la surface, une grande fenêtre de potentiel pour une électrochimie ultérieure et une grande stabilité pendant le stockage à long terme dans l'air [130]. De plus, il est possible de contrôler la couche superficielle et la densité du film résultant [131].



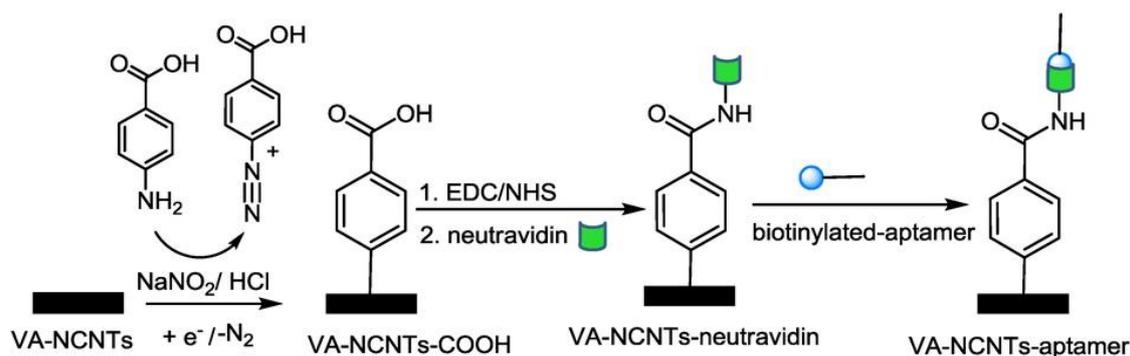
**Schéma I.5.** Électrogreffage et fonctionnalisation de la surface de l'électrode Au par l'aryle de diazonium via électroréduction (R = groupe fonctionnel).

Plus tard, ce processus a été ensuite utilisé pour la modification d'autres types de matériaux. Il a été utilisé en particulier, pour améliorer la dispersion des matériaux dans les solvants [132], pour conférer des propriétés de conduction ionique [133] ou pour protéger le matériau contre la corrosion [134].

En outre, des sels d'aryle diazonium substitués par une large gamme de groupes ont été proposés pour la fonctionnalisation de la surface, y compris la biotine [135], le carboxyle [136] et l'amine [137]. A titre d'exemple, on peut citer le greffage électrochimique de groupes aryle sur différentes surfaces d'électrode (or, carbone vitreux, graphite) [130-141] par réduction des sels de diazonium pour développer différents biocapteurs, comme les biocapteurs électrochimiques à ADN [142], les biocapteurs électrochimiques de cytokine [143, 144] et les immunocapteurs utilisant des anticorps fonctionnalisés au diazonium pour la détection de l'ochratoxine A [145]. Les sels de diazonium ont été également utilisés pour la fabrication de capteurs électrochimiques pour la détermination du tétrabromobisphénol A [146] et pour les membranes sélectives d'échange de cations [147].

Récemment, une électrode hautement sensible pour l'analyse du sérum chez des patients atteints d'une maladie inflammatoire de l'intestin (IBD, inflammatory bowel disease) a été développée. Cette électrode a été utilisée pour la détection du lysozyme dans le sérum, une protéine qui est régulée dans les maladies inflammatoires de l'intestin. Comme le montre le schéma I.6, l'obtention de la surface sensible est basée sur la modification de la surface de l'électrode de nanotubes de carbone dopée à l'azote alignée verticalement (VA-NCNTs, vertically-aligned nitrogen-doped carbon nanotubes) par électroréduction in situ du sel de 4-carboxyphényl diazonium, suivi d'une immobilisation covalente de la neutravidine et d'une interaction avec l'aptamère de lysozyme biotinylé.

Le capteur développé présentait une limite de détection de  $\approx 100$  fM sans besoin d'amplification et approprié pour la détection des niveaux de lysozymes dans le sérum et l'urine. En outre, ce capteur développé pourrait être utilisé comme une alternative intéressante pour l'analyse et le diagnostic de patients souffrant de leucémie et d'autres maladies associées à des niveaux de lysozymes plus ou moins élevés [148].



**Schéma I.6.** Modification de surface de l'électrode VA-NCNT par l'intermédiaire d'une électroréduction du sel de 4-carboxyphényl diazonium formé in situ suivi d'une immobilisation covalente de la neutravidine et d'une interaction avec l'aptamère de lysozyme biotinylé [148].

### I.3.4. Polypyrrole pour les applications d'immunocapteurs électrochimiques

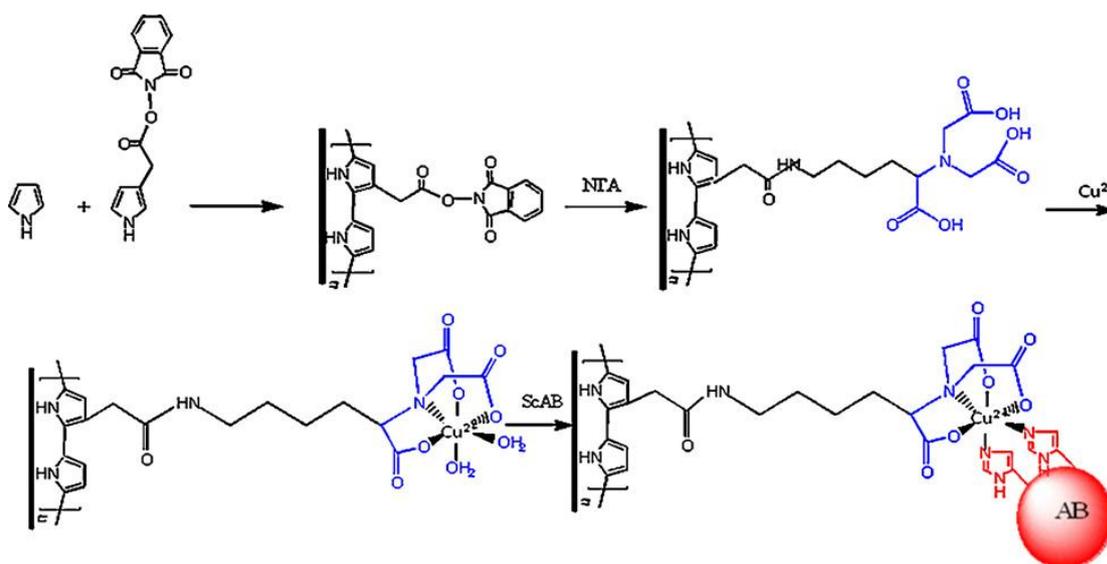
La combinaison efficace de l'immunochimie et de l'électrochimie dans un dispositif analytique pourrait servir comme une base de la détection électrique directe d'une large gamme d'analytes avec une grande sensibilité et spécificité [149]. Les immunocapteurs de détection directe sont les plus attirants car ils ne nécessitent aucune immunochimie supplémentaire [150]. En outre, en raison des possibilités simples de miniaturisation, les immunocapteurs électrochimiques sont les plus appropriés pour la détection directe de l'analyte dans le corps du patient étudié.

Les immunocapteurs électrochimiques basés sur la formation de complexes antigène-anticorps (Ag-Ac) sont couramment utilisés pour des applications de diagnostic direct. Cette interaction peut être détectée électrochimiquement par des méthodes d'alternance de courant, d'impédance et de potentiels. Dans ces cas, la variance de la capacité et/ou de la résistance est mesurée [151]. Au cours des interactions Ag-Ac, la modification de la capacité et/ou de la résistance résultant du système électrochimique est convertie en signaux électriques facilement contrôlé pour le diagnostic de la leucémie bovine, par exemple [152].

De plus, divers immunocapteurs à base de polymères conducteurs ont été appliqués à des anticorps/antigènes [153], des tissus animaux [154], des cellules entières [155], de l'ADN [156], etc... D'autres matières biologiquement actives, y compris les enzymes, les composés redox, les cofacteurs, et les liposomes, ont été appliqués comme étiquettes dans les immunocapteurs électrochimiques [157]. De plus, la biotine et l'avidine comme agents de couplage sont appliquées dans des biocapteurs à base de polypyrrole comme outil d'immobilisation de molécules bioactives [158].

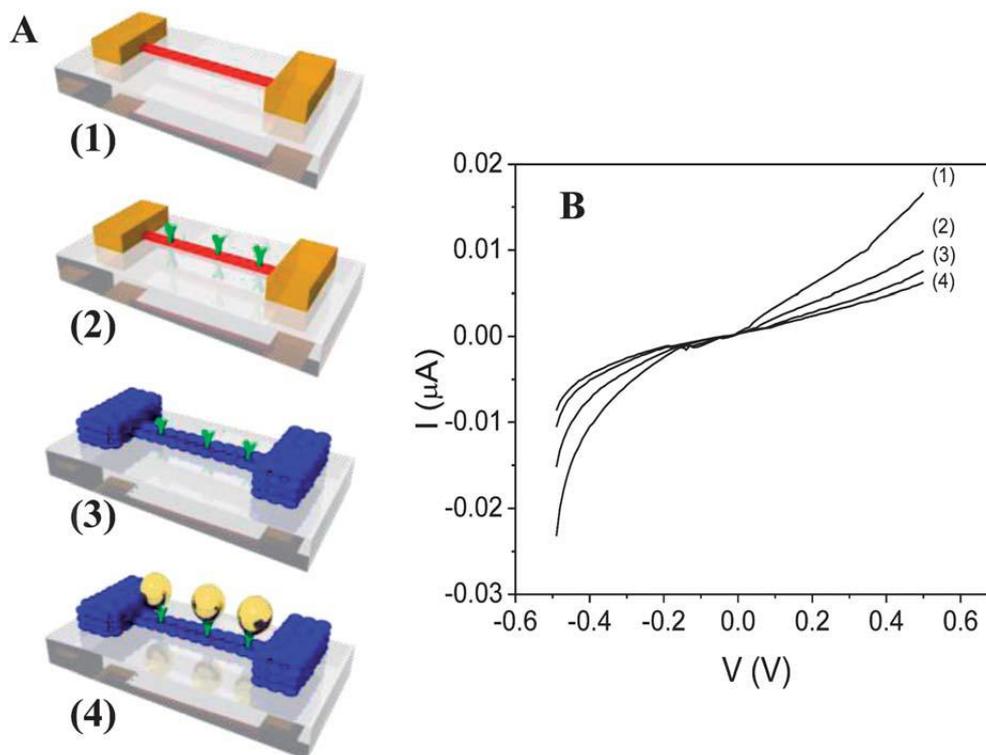
### I.3.4.1. Exemples d'application d'immunocapteurs électrochimiques à base de polypyrrole

En 2010, I. Hafaid et coll. ont développé un nouveau immunocapteur impédimétrique à base d'un film de copolypyrroles auquel un anticorps d'histidine-tag a été lié en utilisant un chélatant  $N_{\alpha},N_{\alpha}$ -bis(carboxyméthyl)-l-lysine hydrate (NTA) coordonné avec du cuivre métallique (schéma I.7). Les propriétés électriques du film de copolymère ont été caractérisées par SIE. Cet immunocapteur présentait une grande sensibilité, stabilité et reproductibilité, la limite de détection est de l'ordre de 1 ng/ml [93].



**Schéma I.7.** Représentation schématique du processus de fabrication du système multicouche de l'immunocapteurs sur l'électrode d'or [93].

Des capteurs chimiothérapeutiques exempts d'étiquettes à base de nanoruban de polypyrrole ont été fabriqués pour la détection du virus de la mosaïque du concombre (CMV, cucumber mosaic virus). Un anticorps spécifique de pathogène végétal a été conjugué de manière covalente à la surface de nanoruban de PPy par la chimie du carbodiimide N-(3-diméthylaminopropyl)-N'-éthylcarbodiimide (EDC)/N-hydrosuccinimide (NHS) (figure I.9). La sensibilité des nano-immunocapteurs a été améliorée en réduisant la conductivité électrique ou en diminuant l'épaisseur du nanoruban. Le capteur optimal a montré une excellente sensibilité à l'antigène du virus CMV avec une limite de détection comprise entre 10 ng/ml et 100 mg/ml [159].



**Figure I.9.** (A) Représentations schématiques du nanoruban PPy biofonctionnalisé pour la détection du CMV (B) Caractéristiques intensité-potential correspondantes après chaque étape : (1) nanoruban PPy non fonctionnalisé, (2) nanoruban PPy fonctionnalisé par un anticorps CMV à l'aide de la chimie du carbodiimide EDC/NHS, (3) après prévention de la liaison non spécifique en immobilisant l'albumine de sérum bovin (BSA, bovine serum albumin) sur le nanoruban et (4) détection chimiothérapeutique du CMV [159].

D'autres chercheurs ont synthétisé des nanofils de polypyrrole pour un dispositif de capteur chimiorésistant. La surface des nanofils PPy a été fonctionnalisée avec un anticorps anti-cancer 125 (CA 125, cancer antigen 125). Les mesures des changements de conductivité dus aux événements de reconnaissance biomoléculaire ont été mesurées [160].

Le même principe d'interaction Ac-Ag pour l'immunodétection a été utilisé par de nombreux chercheurs pour la détection d'autres protéines réactives (par exemple protéine PB1-F2 de la grippe A, glycoprotéine d-dimère et cytochrome c) [161-163]. Un autre immunocapteur électrochimique sans étiquette à base d'un anticorps biotinylé à fragment variable de chaîne simple (Sc-Fv, biotinylated single-chain variable fragment) immobilisé sur un film de copolypyrrole a été décrit en utilisant un système de biotine/streptavidine.

La réponse du biocapteur à la détection de l'antigène a été surveillée par la résonance des plasmons de surface (SPR, surface plasmon resonance) et par l'analyse électrochimique de la réponse de polypyrrole par voltammétrie d'impulsion différentielle (DPV, differential pulse voltammetry). La détection de l'antigène spécifique a été démontrée à la fois par SPR et DPV, et une faible concentration de 1 pg/ml a été détectée en mesurant la variation du signal redox du polypyrrole [164].

Des agents immunocapteurs à base de polypyrrole ont également été utilisés pour détecter l'hybridation d'ADN en utilisant une spectroscopie d'impédance électrochimique non faradique. La technique a été appliquée à un système de sondes d'ADN portant des groupes amine qui sont immobilisés par greffe covalente sur une matrice de polypyrrole de support fonctionnalisée avec des groupes ester activés. La limite de sensibilité et de détection (0,2 nM) a été déterminée et la limite de détection était inférieure à un ordre de grandeur que celle obtenue avec le même système et mesurait la variation du courant d'oxydation à un potentiel constant [165].

D'autres biocapteurs de PPy ont été utilisés pour l'immobilisation enzymatique. A titre d'exemple, on peut citer le biocapteur électrochimique hautement sensible pour la détection du l-glutamate. Ce biocapteur est basé sur l'immobilisation de la glutamate oxydase (GluOx) sur les nanotiges d'oxyde de zinc (ZnONR, zinc oxide nanorods)/PPy. Il présente une excellente sensibilité (limite de détection de 0,18 nM), avec un temps de réponse rapide (moins de 5 s) et une large gamme linéaire (0,02-500  $\mu$ M). L'électrode enzymatique a perdu 30 % de son activité initiale après 100 utilisations sur une période de 90 jours, lorsqu'il a été stocké à 4 °C [166].

#### **I.3.4.2. Biocapteurs pour la détection des interleukines cytokines**

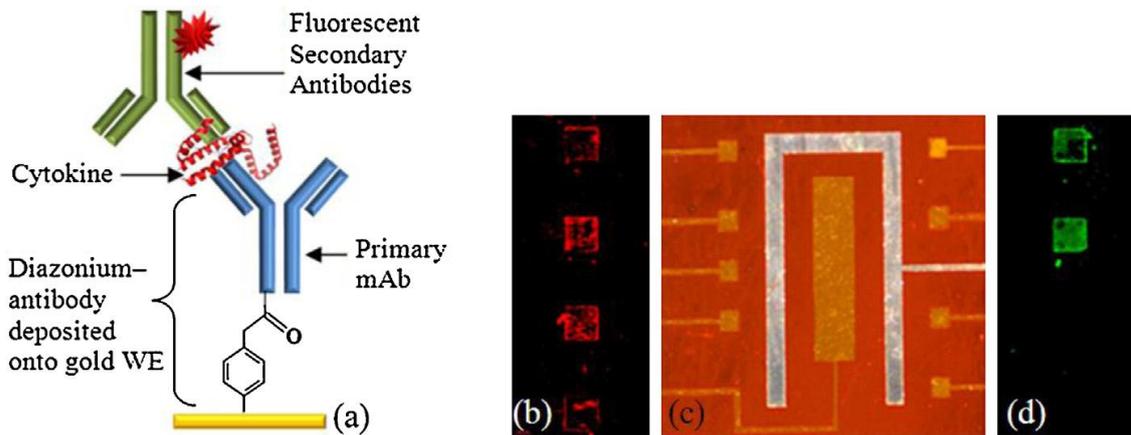
De nos jours, les maladies cardiovasculaires sont une cause prédominante de mortalité dans les pays développés. La mort post-opératoire due à une chirurgie cardiaque peut être exprimée par des niveaux élevés de cytokines et de cellules immunitaires élevés. Ce rejet aigu fatal peut être déterminé en mesurant des biomarqueurs spécifiques qui provoquent une inflammation clinique dans les événements cellulaires et biochimiques.

Les cytokines sont une large catégorie de petites protéines qui sont importantes dans la détection cellulaire en tant qu'agents immunomodulateurs. Ils sont produits par un large éventail de cellules, y compris les cellules immunitaires, les lymphocytes B, les lymphocytes T, les mastocytes, les cellules endothéliales, les fibroblastes et diverses cellules stromales. Leur libération a un effet sur le comportement des cellules qui les entourent. Ils comprennent les chimiokines, les interférons, les interleukines (IL), les lymphokines et les facteurs de nécrose tumorale (TNF) [167].

L'interleukine-10 (IL-10), est une cytokine anti-inflammatoire, un type de petites protéines qui sont importantes dans la signalisation cellulaire. On l'appelle également le facteur d'inhibition de la synthèse de la cytokine humaine (CSIF, cytokine synthesis inhibitory factor). Chez l'homme, l'interleukine-10 a une règle importante pour contrer la réponse immunitaire hyperactive dans le corps humain [167]. Par conséquent, des milliers de patients souffrant d'une variété de maladies auto-immunes sont traités avec de l'interleukine-10 humaine recombinante (rh IL-10, recombinant human IL-10) dans des essais cliniques [168].

La cytokine anti-inflammatoire (IL-10) contribue à ce processus lorsque les patients subissent une tempête de cytokine. L'IL-10 est l'un parmi les nombreux antigènes qui sont sécrétés dans les stades aigus de l'inflammation après l'implantation du dispositif assisté du ventricule gauche (LVAD, left ventricle assisted device) pour les patients souffrant d'insuffisance cardiaque (HF, heart failure). Ainsi, la détection de biomarqueurs inflammatoires primaires (par exemple IL-10) après une intervention chirurgicale est d'une grande importance, ce qui aide à la gestion et au traitement rapides [169, 170].

De nos jours, les progrès dans le domaine de la microélectronique et des biocapteurs ont conduit à la création d'une nouvelle génération de biocapteurs électrochimiques qui répondent à ces exigences [171-173]. Récemment, A. Baraket et coll. ont signalé la détection de la cytokine interleukine-10 dans la gamme de 1 à 15 pg/ml en utilisant un système micro-électromécanique entièrement intégré (BioMEMS, bio micro-electro-mechanical systems) basé sur des mesures de spectroscopie d'impédance électrochimique [171]. L'anticorps monoclonal humain IL-10 (mAc IL-10) (mAb IL-10, monoclonal antibody IL-10) a été immobilisé sur des microélectrodes d'or en utilisant du carboxyle diazonium. La détection multiple des cytokines correspondantes a été vérifiée par fluorescence (figure I.10). Tandis que l'analyse par la spectroscopie impédance électrochimique a quantifié une concentration détectable de cytokine IL-10 de 1 à 15 pg/ml.



**Figure I.10.** (a) Schéma de biorecognition de la cytokine par la fonctionnalisation de la surface de l'électrode d'or, (b) Images superposées de l'électrode d'or de fluorescence de rhodamine, (c) Electrode d'or modifié par le diazonium-mAc sous la lumière blanche, et (d) Images superposées de la fluorescence sur l'électrode d'or sans fluorescence attribuable au test négatif [171].

Pour améliorer la limite de détection et la sensibilité de l'immuncapteur, M. Lee et coll. ont proposé un nouveau matériau basé sur le dioxyde de hafnium pour la détection de l'IL-10 dans la gamme linéaire de 0,1 à 20 pg/ml [172]. Dans ce cas, les auteurs ont utilisé la monocouche auto-assemblée (SAM, self-assembled monolayer) de l'aldéhyde-silane (TESUD, 11-(triéthoxysilyl) undecanal) pour immobiliser directement le mAc IL-10 via une liaison covalente.

Plus récemment, A. Baraket et coll. ont développé un nouveau biocapteur basé sur des anticorps monoclonaux humains anti-interleukine-10 immobilisés sur des microélectrodes d'or par fonctionnalisation avec des monocouches auto-assemblées d'acide 16-mercaptohexadécanoïque [173]. Le biocapteur développé a été utilisé pour la détection des antigènes de cytokine biomarqueur rh IL-10 qui sont sécrétés dans le plasma humain pendant les stades aigus de l'inflammation après l'implantation du dispositif assisté du ventricule gauche (LVAD) pour les patients souffrant d'insuffisance cardiaque (HF). Le biocapteur a montré une sélectivité élevée et une sensibilité à la cytokine IL-10 correspondantes avant et après 24 h et 72 h d'implantation de LVADs à 16,9 pg/ml, 62,4 pg/ml et 37,6 pg/ml, respectivement.

De plus, un microbiocapteur électrochimique flexible sur une puce ( $\mu$ LoC, micro lab-on-chip) a été fabriqué pour la détection de l'interleukine-10 [174]. Ce biocapteur est basé sur du polydiméthylsiloxane scellé sur un substrat de polyimide (PI) flexible par un réactif APTES.

Afin d'améliorer la sensibilité des biocapteurs IL-10, des polymères conducteurs comme le polypyrrole ont été incorporés dans la structure du biocapteur en tant qu'élément de biorecognition. Récemment, A. Garcia-Cruz et coll. [120] ont utilisé une nouvelle technologie à faible coût pour fabriquer des microfils de polypyrrole (PPy- $\mu$ Ws, polypyrrole microwires) par impression par microcontact ( $\mu$ CP, microcontact printing) et polymérisation chimique contrôlée ( $\mu$ CP-CCP, controlled chemical polymerization) sur substrat de silicium [120]. L'immunocapteur présente une sensibilité de 0,026 pg/ml à la rh IL-10 dans une gamme linéaire de 1 à 50 pg/ml et une limite de détection à 0,36 pg/l.

Plus tard, A. Garcia-Cruz et coll. [175] ont développé un nouveau biocapteur basé sur des nanofils de poly(pyrrole) (PPy-NWs, poly(pyrrole)-nanowires) qui ont été utilisés forme de nano empreintes sur des thermoplastiques flexibles (par exemple surfaces de poly (éthylène téréphtalate) et de poly(étheréthercétone) pour la quantification de l'interleukine-6 humaine recombinante (rh IL-6) cytokine en utilisant la spectroscopie d'impédance électrochimique. Les PPy-NWs ont été fonctionnalisés par une réaction de couplage de diazonium et une réticulation chimique de carbodiimide pour l'immobilisation d'anticorps monoclonaux humains anti-interleukine-6 (mAc IL-6). L'immunocapteur développé présentait une sensibilité de 0,013 pg/ml et une limite de détection de 0,36 pg/ml dans une gamme linéaire de 1 à 50 pg/ml pour la rh IL-6.

Ce travail porte dans un premier temps sur la synthèse et la caractérisation de composites polymère-particules métalliques par l'inclusion de particules bimétalliques (cuivre - nickel) dans des films de poly(acide pyrrole-benzoïque) (PPyAB), possédant les propriétés complexantes, grâce au groupement carboxylique (COOH) présent dans la structure monomère. Dans un deuxième temps ce travail consiste en la conception d'un nouveau biocapteur sensible, basé sur le film de poly(pyrrole-silane-co-pyrrole) (SPy-PPy) déposé sur un substrat de nitrure de silicium ( $\text{Si}_3\text{N}_4$ ). Le biocapteur développé sera utilisé pour la détection de l'interleukine-10.

## Références Bibliographiques

- [1] K. Mallick, M. J. Witcomb, A. Dinsmore, M. S. Scurrall, *Macromol. Rapid Commun.* 26 (2005) 232.
- [2] K. Mallick, M. J. Witcomb, A. Dinsmore, M. S. Scurrall, *J. Polym. Res.* 13 (2006) 397.
- [3] X. Lu, D. Chao, J. Chen, W. Zhang, Y. Wei, *Mater. Lett.* 60 (2006) 2851.
- [4] H. Yoneyama, K. Wakamoto, H. J. Tamuré, *J. Electrochem. Soc.* 132 (1985) 2414.
- [5] K. Kaneto, M. Maxfield, D. P. Nairns, A. G. MacDiarmid, A. J. Heeger, *J. Chem. Soc. Faraday Trans.* 78 (1982) 3417.
- [6] J. W. Thackeray, H. S. White, M. S. Wrighton, *J. Phys. Chem.* 89 (1985) 5133.
- [7] S. Kuwabata, S. Ito, H. Yoneyama, *J. Electrochem. Sci. Technol.* 135 (1998) 1691.
- [8] P. N. Bartlett, S. K. Ling Chung, *Sens. Actuators* 20 (1989) 287.
- [9] D. T. Hao, T. N. Suresh Kumar, R. S. Srinivasa, R. Lal, N. S. Punekar, A. Q. Contractor, *Anal. Chem.* 64 (1992) 2645.
- [10] S. Elliott (Ed.), *The physics and chemistry of solids*, Chichester, John Wiley & Sons, 1998.
- [11] D. C. Trivedi, *Handbook of Organic Conductive Molecules and Polymers: Synthesis and Electrical Properties*, Ed. H. S. Nalwa, vol. 2, John Wiley & Sons, Chichester, UK (1997) 505.
- [12] T. Huber, P. Saville, D. Edwards, Defence R&D Canada, Technical Memorandum DRDC-Atlantic TM 2003-005 (2003).
- [13] N. Toshima, O. Ihata, *Synthetic Metals*, 79 (1996) 165.
- [14] Y. X. Zhao, K. F. Ren, Y. X. Sun, Z. J. Li, J. Ji, *RSC Advances*, 4 (2014) 24511.
- [15] S. Lee, Y. Lee, M.-S. Cho, J.-D. Nam, *J. Nanosci. Nanotechnol.* 8 (2008) 4722.
- [16] X. Wan, N. Xu, G. Xue, *Macromolecules* 36 (2003) 276.
- [17] A. Vaitkuvienė, V. Kasetas, J. Voronovic, G. Ramanauskaite, G. Biziuleviciene, A. Ramanaviciene, A. Ramanavicius, *J. Hazard. Mater.* 250 (2013) 167.
- [18] J. V. Thombare, S. K. Shinde, G. M. Lohar, U. M. Chougale, S. S. Dhasade, H. D. Dhaygude, B. P. Relekar, V. J. Fulari, *Journal of Semiconductors* 35 (2014) 063001.
- [19] N. V. Blinova, J. Strejskal, M. Trchová, J. Prokes, M. Omastová, *Eur. Polym. J.* 43 (2007) 2331.
- [20] S. A. Chen, C. C. Tsai, *Macromolecules* 26 (1993) 2234.
- [21] Y. Wei, J. Tian, A. G. MacDiarmid, J. G. Masters, A. L. Smith, D. Li, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 7 (1994) 552.

- [22] A. Ohtani, T. Shimadzu, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 62 (1989) 234.
- [23] S. Sadki, P. Schottland, N. Brodie, G. Sabouraud, *Chem. Soc. Rev.* 29 (2000) 283.
- [24] A. J. Bard, L. R. Faulkner, *Electrochemical methods: fundamentals and applications*, John Wiley & Sons, Hoboken (2007).
- [25] J. Rodriguez, H. J. Grande, T. F. Otero, *Handbook of Organic Conductive Molecules and Polymers*, Ed. H. S. Nalwa, vol. 2, John Wiley & Sons, New York (1997) 415.
- [26] B. L. Funt, A. F. Diaz, *Organic Electrochemistry: an Introduction and a Guide*, Ed. H. Lund, Marcel Dekker, (1991) 1337.
- [27] R. J. Waltman, J. Bargon, *Tetrahedron* 40 (1984) 3963.
- [28] K. Doblhofer, K. Rajeshwar, T. A. Skotheim, R. L. Elsenbaumer, J. R. Reynolds (Eds.), *Handbook of Conducting Polymers*, Marcel Dekker, (1998) 531.
- [29] S. K. Ghosh (Ed.), *Functional coatings by polymer microencapsulation*, Wiley-VCH, Weinheim, (2009).
- [30] M. S. Freund, B. A. Deore (Eds.), *Self-Doped Conducting Polymers*, John Wiley & Sons, UK, (2007).
- [31] S. Machida, S. Miyata, A. Techagumpuch, *Synth. Met.* 31 (1989) 311.
- [32] P. Somani, S. Radhakrishnan, *Chem. Phys. Lett.* 192 (1998) 218.
- [33] J. W. Park, C. Lee, J. Jang, *Sens. Actuator B-Chem.* 208 (2015) 532.
- [34] L. Krings, E. Havinga, J. Donkers, F. Vork, *Synth. Met.* 54 (1993) 453.
- [35] U. Lange, N. V. Roznyatovskaya, V. M. Mirsky, *Anal. Chim. Acta* 614 (2008) 1.
- [36] K. Xue, S. Zhou, H. Shi, X. Feng, H. Xin, W. Song, *Sens. Actuator B-Chem.* 203 (2014) 412.
- [37] A. Hamilton, C. B. Breslin, *Electrochim. Acta* 145 (2014) 19.
- [38] H. Chriswanto, H. Ge, G. G. Wallace, *Chromatographia* 37 (1993) 423.
- [39] N. Mermilliod, *J. Electrochem. Soc.* 133 (1986) 1073.
- [40] L. S. Priyadharshni, M. Selvaraj, *Int. J. Polym. Mater.* 64 (2014) 47.
- [41] A. Mirmohseni, W. Price, G. Wallace, H. Zhao, *J. Intell. Material Syst. Struct.* 4 (1993) 43.
- [42] S. Sathiyarayanan, S. S. Azim, G. Venkatachari, *Electrochim. Acta* 52 (2007) 2068.
- [43] X. Wang, X. Gu, C. Yuan, S. Chen, P. Zhang, T. Zhang, J. Yao, F. Chen, G. Chen, J. *Biomed. Mater. Res. A*, 68 (2004) 411.
- [44] A. Ramanaviciene, A. Kausaite, S. Tautkus, A. Ramanavicius, *J. Pharm. Pharmacol.* 56 (2007) 311.
- [45] K. Leonavicius, A. Ramanaviciene, A. Ramanavicius, *Langmuir*, 27 (2011) 10970.

- [46] L. Zhang, W. R. Stauffer, E. P. Jane, P. J. Sammak, X. T. Cui, *Macromol. Biosci.* 10 (2010) 1456.
- [47] C. R. Broda, J. Y. Lee, S. Sirivisoot, C. E. Schmidt, B. S. Harrison, *J. Biomed. Mater. Res. A* 98 (2011) 509.
- [48] S. Lakard, G. Herlem, A. Propper, A. Kastner, G. Michel, N. Vallès-Villarreal, T. Gharbi, B. Fahys, *Bioelectrochemistry* 62 (2004) 19.
- [49] B. Garner, A. J. Hodgson, G. G. Wallace, P. A. Underwood, *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, 10 (1999) 19.
- [50] D. D. Ateh, P. Vadgama, H. A. Navsaria, *Tissue Eng.* 12 (2006) 645.
- [51] K. J. Gilmore, M. Kita, Y. Han, A. Gelmi, M. J. Higgins, S. E. Moulton, G. M. Clark, R. Kapsa, G. G. Wallace, *Biomaterials* 30 (2009) 5292.
- [52] J. Y. Lee, C. A. Bashur, A. S. Goldstein, C. E. Schmidt, *Biomaterials* 30 (2009) 4325.
- [53] J. M. Davey, S. F. Ralph, C. O. Too, G. G. Wallace, *Synth. Met.* 99 (1999) 191.
- [54] C. Paquet, E. Kumacheva, *Materials Today* 11 (2008) 48.
- [55] R. Dersch, M. Steinhart, U. Boudriot, A. Greiner, J. H. Wendorff, *Polym. Adv. Technol.* 16 (2005) 276.
- [56] P. N. Prasad, *Curr. Opin. Solid State Mater. Sci.* 8 (2004) 11.
- [57] P. Zhang, J. Chen, F. Huang, Z. Zeng, J. Hu, P. Yi, F. Zeng, S. Wu, *Polym. Chem.* 4 (2013) 2325.
- [58] C. Merlini, B. S. Rosa, D. Müller, L. G. Ecco, S. D. A. S. Ramôa, G. M. O. Barra, *Polym. Test.* 31 (2012) 971.
- [59] Z. Zhang, J. Dou, F. Yan, X. Zheng, X. Li, S. Fang, *Plasma Processes Polym.* 8 (2011) 923.
- [60] Z. Zhang, S. Liu, Y. Shi, J. Dou, S. Fang, *Biopolymers* 101 (2014) 496.
- [61] M. Zawadzka, J. Kulawik, D. Szwagierczak, K. Zaraska, *Microelectron. Int.* 31 (2014) 158.
- [62] A. R. Sadrolhosseini, A. S. M. Noor, A. Bahrami, H. N. Lim, Z. A. Talib, M. A. Mahdi, *PLoS ONE* 9 (2014) 93962.
- [63] B. Endrődi, A. Kormányos, C. Janáky, O. Berkesi, C. Visy, *Electrochim. Acta* 122 (2014) 282.
- [64] I. C. Ciobotaru, E. Matei, C. C. Ciobotaru, S. Polosan, *Synth. Met.* 198 (2014) 323.
- [65] A. R. Sadrolhossein, A. S. M. Noor, M. M. Abdi, A. F. Abas, M. A. Mahdi, Y. Al-Qazwini, *Polym. Plast. Technol. Eng.* 53 (2014) 520.

- [66] A. Ruhparwar, P. Piontek, M. Ungerer, A. Ghodsizad, S. Partovi, J. Foroughi, G. Szabo, M. Farag, M. Karck, G. M. Spinks, S. J. Kim, *Artifi. Organs*, 38 (2014) 1034.
- [67] A. Kalendová, D. Veselý, M. Kohl, J. Stejskal, *Prog. Org. Coat.* 78 (2015) 1.
- [68] C. F. Zinola, M. E. Martins, E. P. Tejera, N. P. Neves, *Int. J. Electrochem.* 2012 (2012) 1.
- [69] H. Wang, H. Lee, Y. Deng, Z. Lu, P. Hsu, Y. Liu, Y. Cui, *Nat. Commun.* 6 (2015) 7261.
- [70] V. Sridevi, S. Malathi, *Chemical Sciences Journal*, 2 (2011) 1.
- [71] Y. Dong, J. Feng, G. Li, *Macromol. Chem. Phys.* 218 (2017) 1700359.
- [72] C. Lamy, J.-M. Léger, F. Garnier, *Handbook of Organic Conductive Molecules and Polymers*, H. Nalwa (Ed.), vol. 3, Wiley, Chichester (1997) 471.
- [73] R. Gangopadhyay, A. De, *Chem. Mater.* 12 (2000) 608.
- [74] B. Bozzini, P. Bocchetta, A. Gianoncelli, *Energies* 8 (2005) 8145.
- [75] T. F. Otero, S. O. Costa, M. J. Ariza, M. Marquez, *J. Mater. Chem.* 15 (2005) 1662.
- [76] S. Fujii, S. Matsuzawa, Y. Nakamura, A. Ohtaka, T. Teratani, K. Akamatsu, T. Tsuruoka, H. Nawafune, *Langmuir* 26 (2010) 6230.
- [77] X. Yuan, L. Li, Z. Ma, X. Yu, X. Wen, Z.-F. Ma, L. Zhang, D. P. Wilkinson, J. Zhang, *Sci. Rep.* 6 (2016) 20005.
- [78] X. Sun, L. Sun, Y. Zheng, Q. Lin, H. Su, F. Li, C. Qi, *Synth. Met.* 220 (2016) 635.
- [79] R. Gupta, K. Jayachandran, J. S. Gamare, B. Rajeshwari, S. K. Gupta, and J. V. Kamat, *Journal of Nanoparticles* 2015 (2015) 1.
- [80] S. Malinowska, M. Gniadek, T. Rapecki, E. Kurek, Z. Stojek, M. Donten, *J. Solid State Electrochem.* 18 (2014) 3049.
- [81] S. Şen, A. Gök, H. Gülce, *J. Appl. Polym. Sci.* 106 (2007) 3852.
- [82] A. Zouaoui, O. Stéphan, A. Ourari, J.-C. Moutet, *Electrochim. Acta* 46 (2000) 49.
- [83] J.-C. Moutet, A. Zouaoui, *Electrochim. Acta* 46 (2001) 4035.
- [84] T. Melki, A. Zouaoui, B. Bendemagh, I. M. Oliveira, G. F. Oliveira, J. Leprêtre, J.-C. Moutet, *J. Braz. Chem. Soc.* 20 (2009) 1523.
- [85] I. Chikouche, A. Sahari, A. Zouaoui, A. Zegadi, *Surf. Rev. Lett.* 23 (2016) 1550086.
- [86] T. P. Nguyen, V. T. Nguyen, V. H. Le, *Adv. Nat. Sci.: Nanosci. Nanotechnol.* 1 (2010) 015003.
- [87] A. Hamam, D. Oukil, A. Dib, H. Hammache, L. Makhoulfi, B. Saidani, *Surf. Rev. Lett.* 22 (2015) 1550065.
- [88] E. Domínguez, A. Narváez, *Biosensors and Modern Biospecific Analytical Techniques*, Ed. L. Gorton, Elsevier: Amsterdam, Netherlands, (2005) 429.

- [89] T. Ahuja, I. Mir, D. Kumar, R., *Biomaterials* 28 (2007) 791.
- [90] R. Vargas-Bernal, E. Rodríguez-Miranda, G. Herrera-Pérez, *Advances in Chemical and Botanical Pesticides*, Ed. R.P. Soundararajan, InTech, (2012) p. 329.
- [91] X. Fan, I. M. White, S. I. Shopova, H. Zhu, J. D. Suter, Y. Sun, *Anal. Chim. Acta* 620 (2008) 8.
- [92] X. Fan, I. M. White, *Nat. Photonics* 5 (2011) 591.
- [93] I. Hafaid, S. Chebil, H. Korri-Youssoufi, F. Bessueille, A. Errachid, Z. Sassi, Z. Ali, A. Abdelghani, N. Jaffrezic-Renault, *Sens. Actuators, B.* 144 (2010) 323.
- [94] A. Ramanavicius, K. Habermüller, E. Csöregi, V. Laurinavicius, W. Schuhmann, *Anal. Chem.* 71 (1999) 3581.
- [95] M. Gerard, *Biosens. Bioelectron.* 17 (2002) 345.
- [96] W. Khan, M. Kapoor, N. Kumar, *Acta Biomater.* 3 (2007) 541.
- [97] U. Lange, N. V. Roznyatovskaya, V. M. Mirsky, *Anal. Chim. Acta.* 614 (2008) 1.
- [98] N. K. Guimarda, N. Gomez, Ch. E. Schmidt, *Prog. Polym. Sci.* 32 (2007) 876.
- [99] D. Caballero, J. Samitier, J. Bausells, A. Errachid, *Small*, 5 (2009) 1531.
- [100] Mellor, Joseph William. Longmans, Green and Co. 8 (1947) p. 115.
- [101] F. L. Riley, *J. Am. Ceram. Soc.* 83 (2004) 245.
- [102] Y. Nishi, R. Doering, *Handbook of semiconductor manufacturing technology*, CRC Press. Taylor & Francis (2000) p. 324.
- [103] D. V. Morgan, K. Board (Eds.), *An Introduction to Semiconductor Microtechnology*, Chichester, West Sussex, England: John Wiley & Sons. (1990) p. 27.
- [104] J. Z. Jiang, F. Kragh, D. J. Frost, K. Ståhl, H. Lindelov, *J. Phys. Condens. Matter.* 13 (2001) 515.
- [105] A. Togo, P. Kroll, *J. Comput. Chem.* 29 (2008) 2255.
- [106] J. D. Hoff, L. J. Cheng, E. Meyhofer, L. J. Guo, A. J. Hunt, *Nano Lett.* 4 (2004) 853.
- [107] K. S. Midwood, M. D. Carolus, M. P. Danahy, J. E. Schwarzbauer, J. Schwartz, *Langmuir* 20 (2004) 5501.
- [108] M. Manning, G. Redmond, *Langmuir* 21 (2005) 395.
- [109] D. K. Aswal, S. Lenfant, D. Guerin, J. V. Yakhmi, D. Vuillaume, *Anal. Chim. Acta* 568 (2006) 84.
- [110] B. Arkles, J. R. Steinmetz, J. Zazyczny, P. Mehta, *J. Adhesion Sci. Technol.* 6 (1992) 193.
- [111] N. Wang, G. Li, Z. Yu, X. Zhang, X. Qi, *Carbohydr. Polym.* 127 (2015) 332.

- [112] E. T. Tenório-Neto, A. Baraket, D. Kabbaj, N. Zine, A. Errachid, H. Fessi, M. H. Kunita, A. Elaissari, *Mater. Sci. Eng. C* 61 (2016) 688.
- [113] L. M. Dai, P. Soundarrajan, T. Kim, *Pure Appl. Chem.* 74 (2002) 1753.
- [114] M. Mičušík, T. Nedelčev, M. Omastová, I. Krupa, K. Olejníková, P. Fedorko, M. M. Chehimi, *Synth. Met.* 157 (2007) 914.
- [115] R. A. Simon, A. J. Ricco, M. S. Wringhton, *J. Am. Chem. Soc.* 104 (1982) 2031.
- [116] C. G. Wu, C.Y. Chen, *J. Mater. Chem.* 7 (1997) 1409.
- [117] F. Faverolle, A. J. Attias, B. Bloch, P. Audebert, C. P. Andrieux, *Chem. Mater.* 10 (1998) 740.
- [118] Z. Mekhalif, D. Cossement, L. Hevesi, J. Delhalle, *Appl. Surf. Sci.* 254 (2008) 4056.
- [119] M. Trueba, S. P. Trasatti, *Prog. Org. Coat.* 66 (2009) 265.
- [120] A. Garcia-Cruz, M. Lee, N. Zine, M. Sigaud, J. Bausells, A. Errachid, *Sens. Actuator B-Chem.* 221 (2015) 940.
- [121] K. Peter, C. Vollhardt, N. E. Schore, «*Traité de chimie organique, Edition 4*», De Boeck Université (2004).
- [122] T. Sandmeyer, *Ber.* 17 (1884) 1633.
- [123] M. Gomberg, W. E. Bachmann, *J. Am. Chem. Soc.* 46 (1924) 2339.
- [124] G. Balz, G. Schiemann, *Ber.* 60 (1927) 1186.
- [125] H. Meerwein, E. Buchner, K. van Emsterk, *J. Prakt. Chem.* 152 (1939) 237.
- [126] R. Stoermer, H. Fincke, *Ber.* 42 (1909) 3115.
- [127] E. Bamberger, E. Wheelwright, *Ber.* 25 (1892) 3201.
- [128] L. Pilan, M. Raicopol, A. Pruna, V. Branzoi, *Surf. Interface Anal.* 44 (2012) 1198.
- [129] M. Delamar, R. Hitmi, J. Pinson, J. M. Saveant, *J. Am. Chem. Soc.* 114 (1992) 5883.
- [130] G. Liu, T. Bocking, J. J. Gooding, *J. Electroanal. Chem.* 600 (2007) 335.
- [131] M. Ceccato, A. Bousquet, M. Hinge, S. U. Pedersen, K. Daasbjerg, *Chem. Mater.* 23 (2011) 1551.
- [132] C. A. Dyke, J. M. Tour, *Chem. Eur. J.* 10 (2004) 812.
- [133] G. Selvarani, A. K. Sahu, N. A. Choudhury, P. Sridhar, S. Pitchumani, A. K. Shukla, *Electrochim. Acta* 52 (2007) 4871.
- [134] B. L. Hurley, R. L. McCreery, *J. Electrochem. Soc.* 151 (2004) B252.
- [135] M. Dequaire, C. Degrand, B. J. Limoges, *J. Am. Chem. Soc.* 121 (1999) 6946.
- [136] B. P. Corgier, C. A. Marquette, L. J. J. Blum, *J. Am. Chem. Soc.* 127 (2005) 18328.
- [137] A. Shabani, A. W. H. Mak, I. Gerges, L. A. Cuccia, M. F. Lawrence, *Talanta* 70 (2006) 615.

- [138] A. Vacca, M. Mascia, S. Rizzardini, S. Palmas, L. Mais, *Electrochim. Acta* 126 (2014) 81.
- [139] D. Bello-Gil, B. Maestro, J. Fonseca, J. M. Feliu, V. Climent, J. M. Sanz, *PLoS ONE* 9 (2014) 87995.
- [140] M. Kullapere, M. Marandi, L. Matisen, F. Mirkhalaf, A. E. Carvalho, G. Maia, K. Tammeveski, *J. Solid State Electrochem.* 16 (2011) 569.
- [141] S. Abdellaoui, B. C. Corgier, C. A. Mandon, B. Doumèche, C. A. Marquette, L. J. Blum, *Electroanalysis* 25 (2013) 671.
- [142] L. Hai, S. Reisberg, A. Chevillot-Biraud, V. Noel, M. Pham, B. Piro, *Electrochim. Acta* 140 (2014) 49.
- [143] A. Baraket, M. Lee, N. Zine, N. Yaakoubi, M. G. Trivella, M. Zabala, A. Errachid, *Procedia Engineering* 47 (2012) 1181.
- [144] I. Ojeda, M. Barrejón, L. M. Arellano, A. González-Cortés, P. Yáñez-Sedeño, F. Langa, J. M. Pingarrón, *Biosens. Bioelectron.* 74 (2015) 24.
- [145] R. Polsky, J. C. Harper, D. R. Wheeler, S. M. Dirk, D. C. Arango, S. M. Brozik, *Biosens. Bioelectron.* 23 (2008) 757.
- [146] H. Chen, Z. Zhang, R. Cai, W. Rao, F. Long, *Electrochim. Acta* 117 (2014) 385.
- [147] X. T. Le, P. Viel, P. Jégou, A. Garcia, T. Berthelot, T. H. Bui, S. Palacin, *J. Mater. Chem.* 20 (2010) 3750.
- [148] Q. Wang, P. Subramanian, A. Schlechter, E. Teblum, R. Yemini, G. D. Nessim, A. Vasilescu, M. Li, R. Boukherroub, S. Szunerits, *ACS Appl. Mater. Interfaces* 8 (2016) 9600.
- [149] R. A. Porter, *J Immunoassay* 21 (2000) 51.
- [150] A. Warsinke, A. Benkert, F. Scheller, *Fresenius J. Anal. Chem.* 366 (2000) 622.
- [151] M. Knichel, P. Heiduschka, W. Beck, G. Jung, W. Göpel, *Sens. Actuator B-Chem.* 28 (1995) 85.
- [152] A. Ramanaviiien, A. Vilkanauskyt, J. Aait, A. Ramanaviius, *Biologija.* 2 (2000) 67.
- [153] A. Sargent, T. Loi, S. Gal, O. A. Sadik, *Electroanal. Chem.* 470 (1999) 144.
- [154] C. Wrotnowski, *Genet. Eng. News.* 17 (1997) 14.
- [155] T. E. Campbell, A. J. Hodgson, G. G. Wallace, *Electroanal.* 11 (1999) 215.
- [156] J. Wang, M. Jiang, *Langmuir* 16 (2000) 2269.
- [157] J. C. Thomson, J. A. Mazoh, A. Hochberg, S. Y. Tseng, J. L. Seago, *Anal. Biochem.* 194 (1991) 295.
- [158] S. Cosnier, A. Lepellec, *Electrochim. Acta.* 44 (1999) 1833.

- [159] N. Chartuprayoon, Y. Rheem, J. C. K. Ng, J. Nam, W. Chen, N. V. Myung, *Anal. Methods* 5 (2013) 3497.
- [160] M. Bangar, D. Shirale, W. Chen, N. Myung, A. Mulchandani, *Anal. Chem.* 81 (2009) 2168.
- [161] A. Miodek, H. Sauriat-Dorizon, C. Chevalier, B. Delmas, J. Vidic, H. Korri-Youssoufi, *Biosens. Bioelectron.* 59 (2014) 6.
- [162] S. Chebil, I. Hafaied, H. Sauriat-Dorizon, N. Jaffrezic-Renault, A. Errachid, Z. Ali, H. Korri-Youssoufi, *Biosens. Bioelectron.* 26 (2010) 736.
- [163] M. Pandiaraj, N. K. Sethy, K. Bhargava, V. Kameswararao, C. Karunakaran, *Biosens. Bioelectron.* 54 (2014) 115.
- [164] H. Lê, H. Sauriat-Dorizon, H. Korri-Youssoufi, *Anal. Chim. Acta* 674 (2010) 1.
- [165] C. Tlili, H. K. Youssoufi, L. Ponsonnet, C. Martelet, N. Jaffrezic-Renault, *Talanta* 68 (2005) 131.
- [166] B. Batra, M. Yadav, C. S. Pundir, *Biochem. Eng. J.* 105 (2016) 428.
- [167] J. Eskdale, D. Kube, H. Tesch, G. Gallagher, *Immunogenetics* 46 (1997) 120.
- [168] H. Braat, P. Rottiers, D. W. Hommes, N. Huyghebaert, E. Remaut, J. P. Remon, S. J. V. Deventer, S. Neiryneck, M. P. Peppelenbosch, L. Steidler, *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* 4 (2006) 754.
- [169] R. Caruso, S. Trunfio, F. Milazzo, J. Campolo, R. D. Maria, T. Colombo, M. Parolini, A. Cannata, C. Russo, R. Paino, M. Frigerio, L. Martinelli, O. Parodi, *American Society for Artificial Internal Organs Journal* 56 (2010) 313.
- [170] R. Caruso, A. Verde, M. Cabiati, F. Milazzo, C. Boroni, S. D. Ry, M. Parolini, C. Vittori, R. Paino, L. Martinelli, D. Giannessi, M. Frigerio, O. Parodi, *J. Heart Lung Transplant.* 31 (2012) 625.
- [171] A. Baraket, M. Lee, N. Zine, M. Sigaud, N. Yaakoubi, M. G. Trivella, M. Zabala, J. Bausells, N. Jaffrezic-Renault, A. Errachid, *Sens. Actuator B-Chem.* 189 (2013) 165.
- [172] M. Lee, N. Zine, A. Baraket, M. Zabala, F. Campabadal, R. Caruso, M. G. Trivella, N. Jaffrezic-Renault, A. Errachid, *Sens. Actuator B-Chem.* 175 (2012) 201.
- [173] A. Baraket, M. Lee, N. Zine, R. Caruso, M. G. Trivella, A. Errachid, *Int. J. Cardiovasc. Res.* 6 (2017). DOI 10.4172/2324-8602.1000294.
- [174] A. Baraket, M. Lee, N. Zine, N. Yaakoubi, J. Bausells, A. Errachid, *Microchim. Acta* 183 (2016) 2155.
- [175] A. Garcia-Cruz, F. Nessark, M. Lee, N. Zine, M. Sigaud, R. Pruna, A. Errachid, *Sens. Actuator B-Chem.* 255 (2018) 2520.

## *Chapitre II*

### **METHODES ET TECHNIQUES EXPERIMENTALES**

Dans ce chapitre nous décrivons les méthodes expérimentales : réactifs chimiques, solvants, cellules et électrodes utilisés. Y sont présentés aussi les techniques électrochimiques et spectroscopiques utilisées pour caractériser nos électrodes de carbone vitreux (CV) modifiées par des films de poly(acide 4-(pyrrol-1-yl methyl) benzoïque) (PPyAB) dopé par incorporation de métaux de transition utilisées dans le chapitre III et nos électrodes en substrat, Al/Si-p/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> modifiées chimiquement par des films de polypyrrole (PPy) après la silanisation, utilisés pour les applications de biocapteurs dans le chapitre IV.

#### **II.1. Produits chimiques**

##### **II.1.1. Solvants**

Le solvant utilisé en milieu organique est l'acétonitrile (CH<sub>3</sub>CN) (produit HPLC), et en milieu aqueux l'eau distillée (H<sub>2</sub>O).

L'électrolyte support utilisé en milieu organique est le perchlorate de lithium (LiClO<sub>4</sub>) (produit Sigma-Aldrich). En milieu aqueux, l'électrolyte est le sulfate de sodium (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) (produit Recta-Pur Prolabo). Ces composés sont des produits purs pour analyse.

Le solvant utilisé pour nettoyer les substrats du nitrure de silicium (Al/Si-p/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>) est l'acétone (C<sub>3</sub>H<sub>6</sub>O) (produit Sigma-Aldrich). Pour l'activation, on a utilisé l'hydroxyde de sodium (NaOH), le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (35 %), l'acide sulfurique (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) (30 %) et l'acide chlorhydrique (HCl) (37 %) (produits Sigma-Aldrich ou Acros Organics).

Le solvant utilisé pour la silanisation est le chloroforme (CHCl<sub>3</sub>) (produit Fisher Scientific). Pour la polymérisation oxydante, on a utilisé le méthanol (CH<sub>3</sub>OH) (produit Sigma-Aldrich).

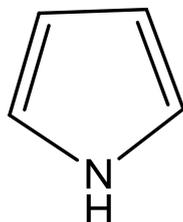
Les solvants utilisés pour la préparation de sel de diazonium est l'éthanol (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH) (produit Sigma-Aldrich).

Dans le cas du biocapteur, la solution d'analyse utilisée est une solution aqueuse tampon de phosphate salin (PBS) (produit Acros Organics) (pH 7,4) contenant : NaCl (137 mM) + KCl (2,7 mM) + KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (10 mM) + K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (10 mM).

### II.1.2. Réactifs

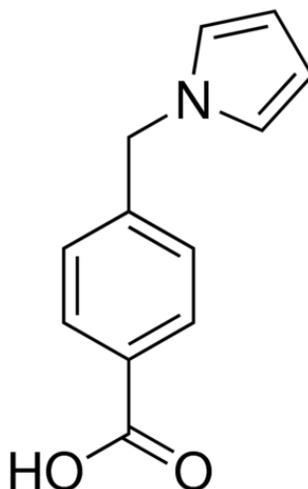
Les structures moléculaires des produits chimiques utilisés au cours de ce travail sont représentées ci-dessous :

- Le pyrrole (Py) ( $C_4H_5N$ ) (98 %) est un produit Sigma-Aldrich, sa structure moléculaire est représentée dans la figure II.1.



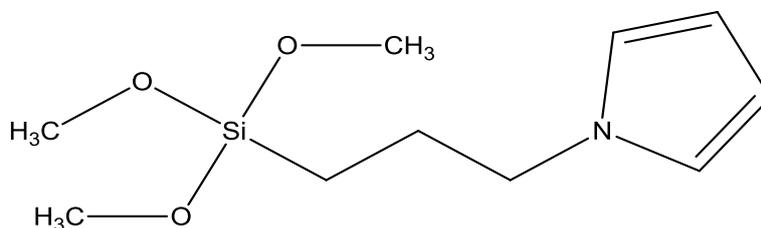
**Figure II.1.** Structure de pyrrole.

- Le monomère acide 4-(pyrrol-1-yl methyl) benzoïque (PyAB), a été préparé selon la méthode de A. Deronzier et coll. [1] au Laboratoire d'Electrochimie Organique et de Photochimie Redox, Université Joseph Fourier de Grenoble. Sa structure moléculaire est représentée dans la figure II.2. Les métaux de transition incorporés dans les films de PPyAB sont le cuivre et le nickel, via les solutions de sels de sulfate de cuivre ( $CuSO_4$ ) et de sulfate de nickel ( $NiSO_4$ ) (produits Recta-Pur Prolabo).



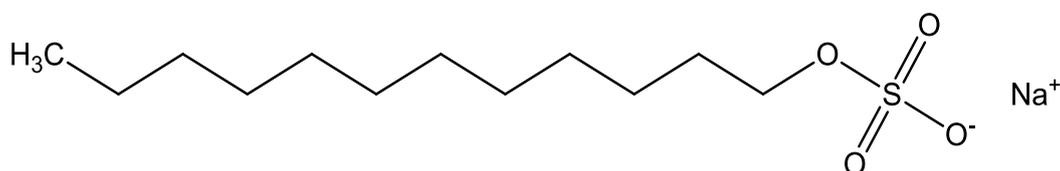
**Figure II.2.** Structure de l'acide 4-(pyrrol-1-yl méthyl) benzoïque.

- Le N-(3-triméthoxysilypropyl)pyrrole (SPy) ( $C_{10}H_{19}NO_3Si$ ) (produit ABCR GmbH & Co. KG, Germany), est utilisé comme monomère d'encre avec le pyrrole. Sa structure moléculaire est représentée dans la figure II.3.



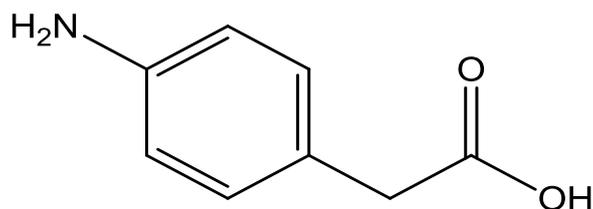
**Figure II.3.** Structure de N-(3-triméthoxysilypropyl) pyrrole.

- Le dodécylsulfate de sodium (SDS) ( $C_{12}H_{25}NaO_4S$ ) (produit Sigma-Aldrich), sa structure moléculaire est représentée dans la figure II.4.



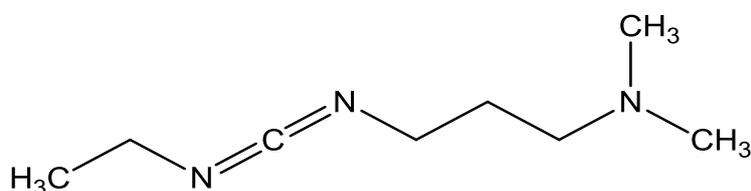
**Figure II.4.** Structure de dodécylsulfate de sodium.

- Le 4- carboxyméthylaniline (CMA) ( $H_2NC_8H_4CH_2CO_2H$ ) (produit Fisher Scientific), sa structure moléculaire est représentée dans la figure II.5.

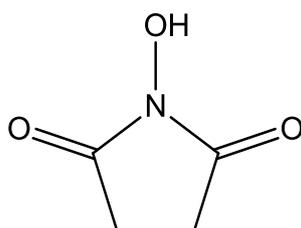


**Figure II.5.** Structure de l'acide 4-aminophénylacétique.

- Le N-(3-(diméthylamino)propyl)-N-éthyl-carbodiimide (EDC) ( $C_8H_{17}N_3$ ) et le N-hydroxy-succinimide (NHS) ( $C_4H_5NO_3$ ) (produits Sigma-Aldrich), dont les structures moléculaires sont représentées dans la figure II.6 et II.7.

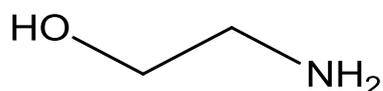


**Figure II.6.** Structure de N-(3-(diméthylamino)propyl)-N-éthyl-carbodiimide.



**Figure II.7.** Structure de N- hydroxy-succinimide.

- L'éthanolamine ( $C_2H_7NO$ ) (produit Sigma-Aldrich), a été utilisé pour bloquer les groupes libres d'acides carboxyliques activés. Sa structure moléculaire est représentée dans la figure II.8.



**Figure II.8.** Structure de l'éthanolamine.

- Le chlorure de fer (III) ( $FeCl_3$ ) (produit Sigma-Aldrich) est utilisé comme un oxydant pour la polymérisation chimique.

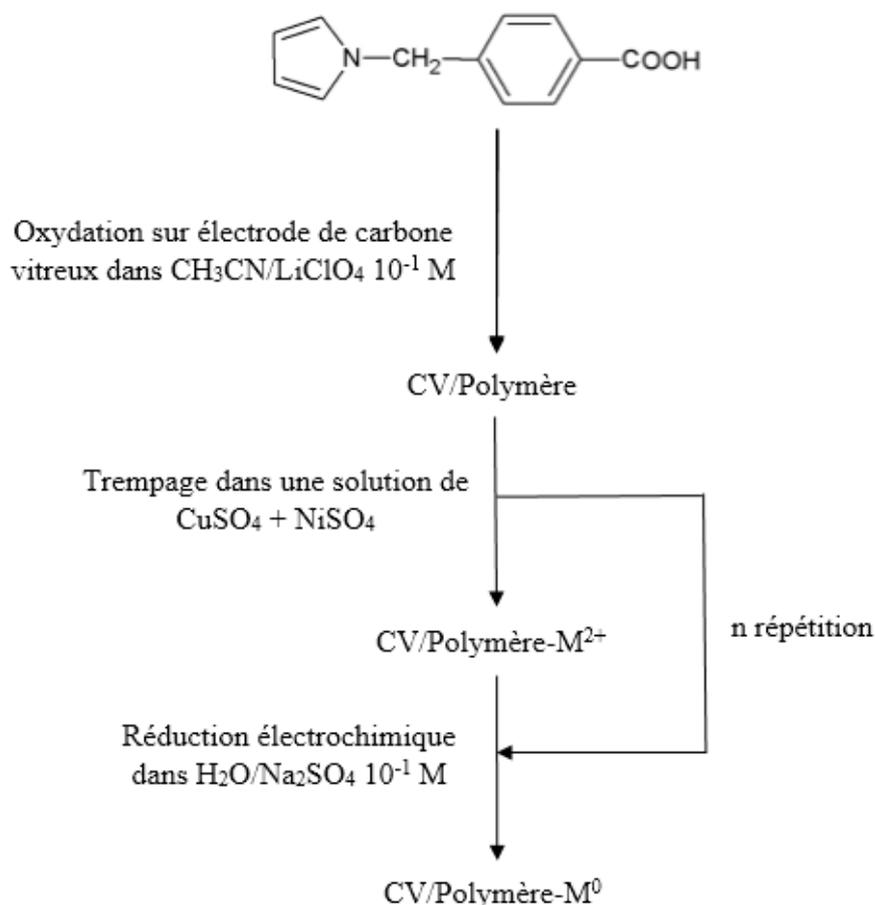
- Le nitrite de sodium ( $NaNO_2$ ) (produit Sigma-Aldrich), est utilisé pour la nitrosation des amines aromatiques primaires en présence d'acide fort.

- Les Cytokines biologiques comprenant l'anticorps monoclonal humain (mAc IL-10) (dilué à 10 g/ml dans du PBS) et ses protéines recombinantes humaines : le rh IL-10 ; (diluée à 25 g/ml dans du PBS) ; le rh IL-8 et le facteur de nécrose tumorale alpha (rh TNF- $\alpha$ ), ont été achetés auprès de R&D Systems, France.

## **II.2. Fabrication de matériaux composites CV/PPyAB-M**

Après le dépôt de PPyAB sur le carbone vitreux par l'oxydation électrochimique du monomère dans une solution d'acétonitrile 0,1 M en LiClO<sub>4</sub>, l'électrode modifiée est immergée dans une solution aqueuse contenant un sel métallique, NiSO<sub>4</sub> ou CuSO<sub>4</sub> ou dans une solution contenant les deux sels en même temps, pendant quelques minutes, pour échanger les ions H<sup>+</sup> se trouvant dans le film du PPyAB et les cations métalliques de la solution aqueuse. L'électrode est par la suite soigneusement lavée à l'eau plusieurs fois pour éliminer l'excès de cations métalliques non- associés au PPyAB, puis plongée dans une solution aqueuse 0,1 M en Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Elle est alors réduite au potentiel contrôlé de - 1,4 V/ECS pour le cation Ni<sup>2+</sup> et - 0,8 V/ECS pour le cation Cu<sup>2+</sup>, pendant 2 min pour électroprécipiter le métal dans le film PPyAB.

Ce processus peut être répété plusieurs fois pour augmenter la quantité de métal incorporée dans le film PPyAB. Le procédé de préparation d'une électrode modifiée peut être résumé par la figure II.9.

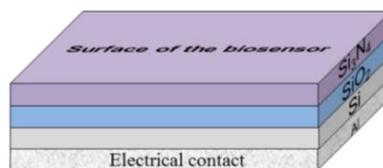


**Figure II.9.** Technique de préparation d'une électrode modifiée par un film de PPyAB complexant contenant des microparticules de cuivre.

### II.3. Fabrication de matériaux hybrides Al/Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-(SPy-PPy)

#### II.3.1 Fabrication du substrat Al/Si-p/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>

La structure du substrat du capteur Al/Si-p/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> utilisé dans cette étude a été fabriquée selon la technologie microélectronique standard avec une plaquette de silicium de type p <100>, dopée avec le bore ( $1 \times 10^{15} \text{ cm}^{-2}$ ) [2]. La couche de dioxyde de silicium (SiO<sub>2</sub>) (1000 Å) a été obtenue par croissance thermique (recuit). Ensuite, une couche de Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> d'épaisseur 1000 Å a été obtenue par dépôt en phase vapeur à basse pression (LPCVD). Enfin, les substrats Al/Si-p/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> préparés ont été rincés soigneusement et soumis à une sonication dans de l'eau désionisée pendant 20 min. Le contact ohmique est réalisé par un dépôt d'aluminium de 1 µm d'épaisseur sur la face arrière (schéma II.1). Des copeaux uniformes (1,2 x 1,2 cm<sup>2</sup>) Al/Si-p/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> ont été préparés comme matériau de substrat de capteur de base.



**Schéma II.1.** Fabrication de base Al/Si-p/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> sur le dessus des plaquettes de silicium de type p avec une couche conductrice d'aluminium basée sur l'arrière.

### II.3.2. Procédure de nettoyage et d'activation des substrats Al/Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>

Avant le procédé de silanisation, les substrats Al/Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> (1,44 cm<sup>2</sup>) ont été nettoyés deux fois par ultrasons dans l'acétone pendant 15 min à 50 °C, puis rincés avec de l'eau ultra pure et enfin séchés sous jet d'azote [3]. L'activation a été soigneusement réalisée par un dépôt de gouttelettes des solutions oxydantes sur la couche supérieure de substrats Al/Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> (c.-à-d. Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> couche supérieure), évitant ainsi le contact avec la couche de l'aluminium. Dans ce cas, les substrats ont été traités avec une solution piranha (1:3 V/V H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>:H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) à 90 °C pendant 30 min, puis rincés à fond avec de l'eau ultra pure. Les substrats sont ensuite traités respectivement, par la solution aqueuse de NaOH (0,5 M) pendant 20 min, puis avec du HCl (0,1 M) pendant 10 min et une autre fois par le NaOH (0,5 M) pendant 10 min. Entre ces traitements, les substrats ont été rincés avec de l'eau ultra pure. Enfin, les échantillons ont été rincés abondamment avec HCl (0,1 M) et de l'eau ultra pure, puis séchés dans un four à 120 °C pendant 10 min [3]. Tous les traitements mentionnés ci-dessus permettent de créer les sites actifs (groupes réactifs -OH) sur la surface du Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> (schéma II.2a).

### II.3.3. Processus de silanisation des substrats Al/Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>

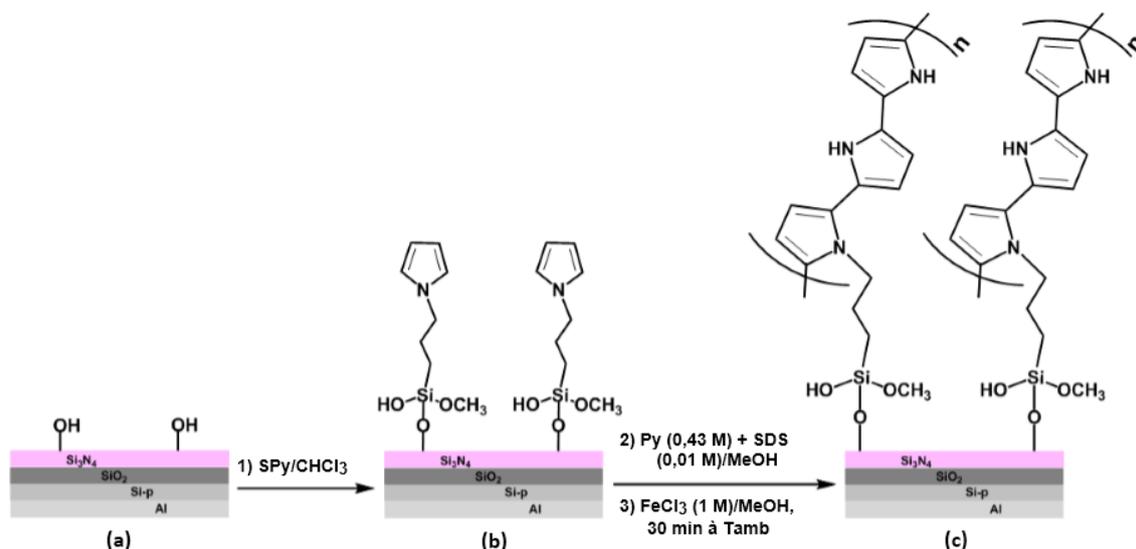
Après le processus d'activation, les substrats activés (Al/Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-OH), ont été divisés en deux groupes de quatre (groupe 1 et groupe 2). Ces substrats ont été silanisés avec le SPy à différentes concentrations (4,3 mM, 21,5 mM, 43 mM et 107,5 mM) dans CHCl<sub>3</sub> anhydre.

Le solvant anhydre et les matériaux déshydratés favorisent la formation monocouche de SPy très dense [4, 5]. A l'aide d'une seringue en verre gradué, 50 µl de chaque solution a été déposée sur la face supérieure du substrat activé pour empêcher la dégradation de la couche d'aluminium par le CHCl<sub>3</sub>. Après le dépôt SPy, les substrats ont été séchés à la température ambiante (T<sub>amb</sub>) pour le groupe 1 et à 90 °C pour le groupe 2 pendant 1 h.

La fonctionnalisation des substrats Al/Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-OH avec la couche SPy est représentée dans le schéma II.2b. Ici, les molécules SPy ont été liées de manière covalente aux substrats activés par l'intermédiaire d'une réaction de condensation avec les groupes hydroxyle (-OH) sur la surface de nitrure de silicium activée formant une liaison Si-O-Si. Après le processus de la silanisation, les substrats ont été rincés plusieurs fois avec du CHCl<sub>3</sub> pour éliminer les molécules de SPy qui n'ont pas réagi, Puis séché à la température ambiante.

#### **II.3.4. Dépôt chimique de la couche PPy via la polymérisation oxydative du pyrrole**

Après le procédé de silanisation, tous les substrats silanisés (Al/Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-SPy) ont été modifiés par l'ajout de 50 µl d'une solution contenant un mélange de monomère Py (0,43 M) et d'agent stabilisant SDS (0,01 M) dans le CH<sub>3</sub>OH. Ce solvant a été rapporté comme étant le meilleur solvant utilisé pour la préparation de PPy à haute conductivité (190 S/cm), par polymérisation chimique [5, 6]. Ainsi, la polymérisation oxydante de Py a été effectuée par l'addition de 50 µl de FeCl<sub>3</sub> (1 M) dans du CH<sub>3</sub>OH à T<sub>amb</sub> pendant 30 min. Le rapport molaire du monomère pyrrole et l'agent oxydant (Py:FeCl<sub>3</sub>) utilisé a été de 1:2,33 [6-8]. Ensuite, la polymérisation du monomère d'ancrage SPy avec le monomère Py est entamée simultanément par addition de l'oxydant FeCl<sub>3</sub> pour produire le matériau hybride Al/Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-(SPy-PPy). Après la polymérisation, les substrats ont été rincés plusieurs fois avec du CH<sub>3</sub>OH pour éliminer le FeCl<sub>3</sub> hydraté et le monomère Py qui n'a pas réagi, puis séché dans un four à 50 °C pendant 12 h. Les différentes étapes d'élaboration du matériau hybride Al/Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-(SPy-PPy) sont représentées dans le schéma II.2.



**Schéma II.2.** Représentation schématique de : (a) substrat activé (Al/Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-OH), (b) substrat silanisé (Al/Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-SPy) et (c) développement du matériau hybride (Al/Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-(SPy-PPy)).

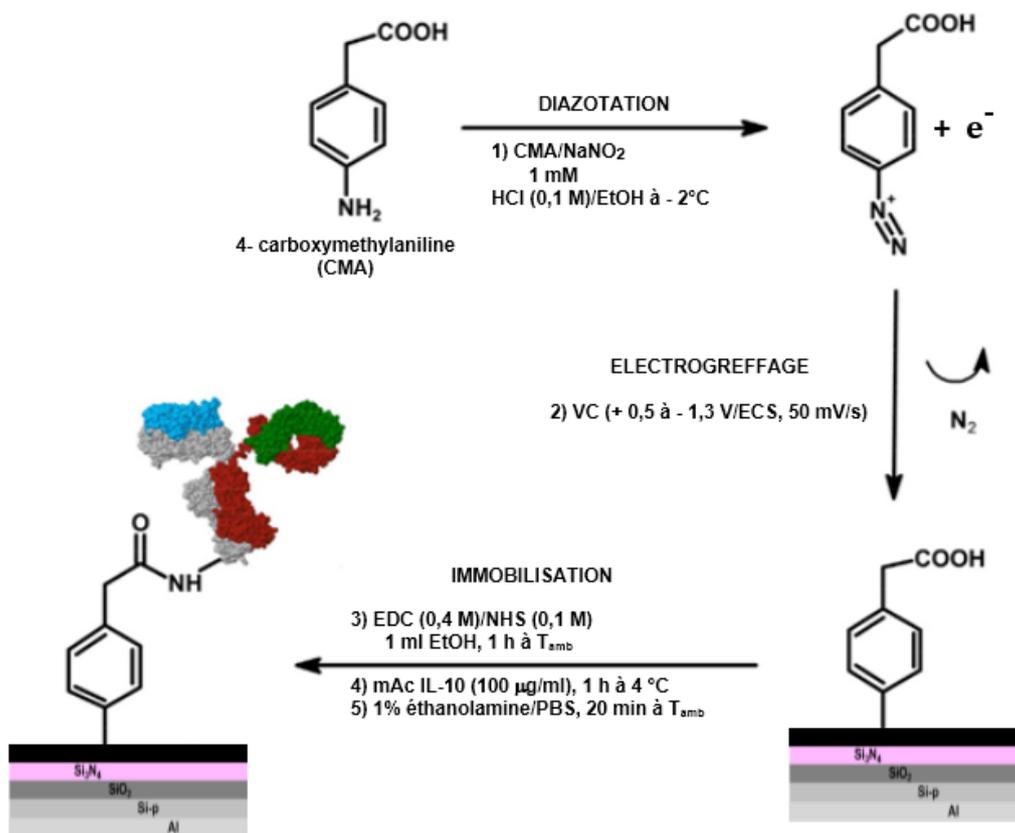
#### II.4. Fonctionnalisation du substrat Al/Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-(SPy-PPy) avec CMA

Après la fabrication des substrats Al/Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-(SPy-PPy), la couche de PPy déposée a été modifiée électrochimiquement avec du sel de diazonium fonctionnalisé par un carboxyle (CMA). Cette réaction a été effectuée par mélange 1 ml de CMA (22 mM) dissous dans HCl (1 M)/EtOH (50:50) (V/V), avec 1 ml de solution de NaNO<sub>2</sub> (22 mM) dans H<sub>2</sub>O/EtOH (50:50) (V/V), sous agitation magnétique continue pendant 5 min dans un bain de glace. Le mélange a ensuite été dilué dans 20 ml de HCl (0,1 M)/EtOH (50:50) (V/V) pour obtenir 1 mM de la solution de sel de diazonium (CMA). Ensuite, cette dernière solution a été transférée immédiatement dans une cellule électrochimique en verre pour effectuer une réduction électrochimique du sel de diazonium sur le film PPy en utilisant une voltammétrie cyclique (VC), dans une gamme de potentiel de + 0,5 à - 1,3 V/ECS à une vitesse de balayage de 50 mV/s.

## II.5. Immobilisation de l'anticorps monoclonal de l'interleukine-10 cytokine

Après la fonctionnalisation de la surface du PPy avec du sel de carboxyle de diazonium, les groupes acide carboxylique ont été activés en ajoutant 1 ml de mélange d'EDC (0,4 M) et de NHS (0,1 M) dans C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH pendant 1 h à T<sub>amb</sub>. Ensuite, la surface du PPy modifiée a été rincée avec du PBS puis incubée dans 100 µl d'mAc IL-10 (100 µg/ml) pendant 1 h à 4 °C. Enfin, les substrats ont été rincés avec du PBS pour éliminer les anticorps non liés et ensuite traités avec une solution d'aminéthanol à 1 % dans du PBS pendant 20 min à T<sub>amb</sub> afin de désactiver les groupes d'acides carboxyliques activés. Le substrat développé a ensuite été utilisé pour la biorecognition de la cytokine IL-10 humaine recombinante (rh IL-10).

La procédure de fonctionnalisation du substrat Al/Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-(SPy-PPy) avec le sel de diazonium carboxylique, suivie de l'immobilisation du mAc IL-10 est représentée dans le schéma II.3.



**Schéma II.3.** Procédure de fonctionnalisation du substrat Al/Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-(SPy-PPy) avec le sel de diazonium carboxylique, suivie de l'immobilisation du mAc IL-10 à l'aide de la chimie du carbodiimide.

## II.6. Instrumentation et cellule de mesure utilisée

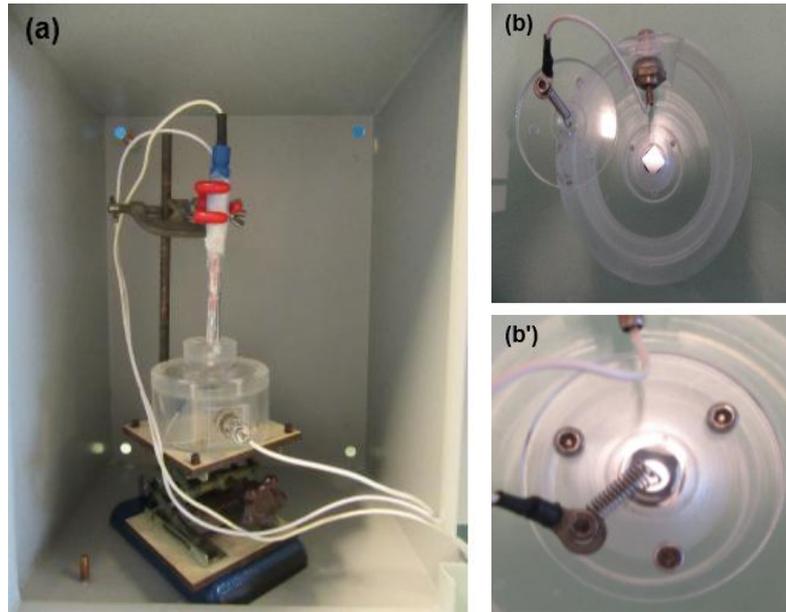
### II.6.1. En électrocatalyse

Les études par voltampérométrie cyclique (VC) et par spectroscopie d'impédance électrochimique (SIE), ont été réalisées à l'aide d'un Voltalab 40 (PGZ 301) de marque Radiomètre lié à un microordinateur piloté par un logiciel VoltaMaster 4. Les expériences ont été effectuées dans une cellule électrochimique à trois électrodes. L'électrode de travail est un disque de carbone vitreux ( $\phi = 3$  mm), modifiée par un film de PPyAB dans lequel sont incorporer des nanoparticules métalliques de cuivre ou/et de nickel. L'électrode de référence est une électrode au calomel saturée (ECS). La contre électrode est un fil de platine de 1 mm de diamètre.

L'électrode de travail est nettoyée par polissage sur un tissu imbibé avec de la pâte diamantée, elle est ensuite rincée avec de l'eau distillée, puis séchée avec du papier Joseph, avant chaque manipulation. Les analyses de VC, ont été réalisées dans une solution de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , entre 0,5 et - 0,8 V/ECS à une vitesse de balayage de 10 mV/s. Les mesures de SIE, ont été effectuées dans une même solution au potentiel d'abandon ( $e_{ab}$ ) avec une amplitude de 10 mV, dans une gamme de fréquences comprise entre 100 kHz et 10 mHz.

### II.6.2. En biocapteur

Les mesures électrochimiques (VC et SIE) ont été réalisées à l'aide d'un potentiostat/galvanostat AutoLab (EC-lab VMP3 instruments version 9.9) de marque Bio-Logic-Science Instruments piloté par à un ordinateur de logiciel (EC-Lab V10.33, 2014). Les mesures SIE ont été réalisées dans une cellule électrochimique miniaturisée en matière plastique avec un système à trois électrodes (figure II.10). Le fil de platine (Pt) a été utilisé comme contre-électrode (CE) et l'électrode de calomel saturée (ECS) a été utilisée comme électrode de référence ( $E_R$ ). Les substrats Al/Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-(SPy-PPy) ( $\phi = 0,503$  cm<sup>2</sup>, de surface active) ont été utilisés comme électrodes de travail ( $E_T$ ). Il convient de mentionner que pour les mesures VC, le contact électrique a été réalisé à travers la couche PPy pour l'électrodéposition de diazonium et pour les mesures SIE, le contact électrique a été effectué à travers la couche d'aluminium à partir de la face arrière du substrat. Toutes les mesures électrochimiques ont été effectuées à  $T_{amb}$  dans une solution de PBS à pH 7,4, dans une cage Faradique. Les mesures par VC ont été réalisées entre - 0,8 et + 0,5 V/ECS à une vitesse de balayage de 25 mV/s et le dépôt de sel de diazonium a été effectué entre 0,5 et - 1,3 V/ECS à une vitesse de balayage de 50 mV/s. Les analyses SIE ont été réalisées à un potentiel appliqué - 0,1 V/ECS avec une amplitude de 25 mV, dans une gamme de fréquences de 100 kHz à 50 mHz.



**Figure II.10.** (a) Illustration schématique de la cellule électrochimique en plastique à trois électrodes, utilisée pour les mesures SIE, dans une cage Faradique. La zone active a été définie par anneau de caoutchouc. (b) Arrière de la cellule en plastique pour le raccordement des électrodes de travail  $\text{Al/Si/SiO}_2/\text{Si}_3\text{N}_4\text{-(SPy-PPy)}$  et  $\text{Al/Si/SiO}_2/\text{Si}_3\text{N}_4\text{-(SPy-PPy)-CMA}$  à travers la couche conductrice en Al. (b') est l'agrandissement de (b).

## II.7. Techniques expérimentales utilisées

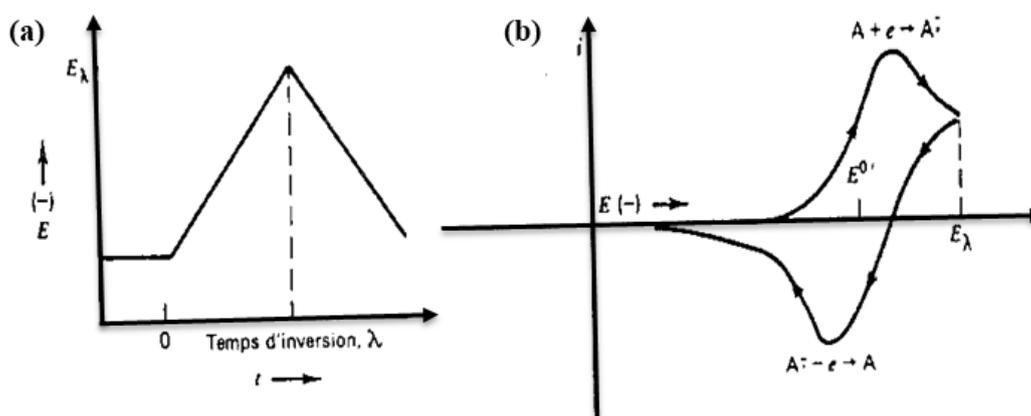
### II.7.1. Voltampérométrie cyclique

La voltampérométrie cyclique (VC) est utilisée pour caractériser les réactions électrochimiques simples et complexes, elle trouve également beaucoup d'applications analytiques, et elle sert aussi pour l'étude des phénomènes d'adsorption [9]. Pour des systèmes réversibles les grandeurs caractéristiques de telles courbes sont, d'une part le rapport des intensités des courants de pics  $i_{pa}/i_{pc}$  et d'autre part, l'écart des potentiels de pic  $E_{pa} - E_{pc}$ . Elle est généralement utilisée pour :

- 1- détecter la présence de différentes espèces en solution.
- 2- déterminer le rapport  $i_{pa}/i_{pc}$ . Si ce rapport est égal à 1, la réaction est réversible, sinon la réaction chimique est couplée au transfert de charge ou que des phénomènes plus complexes se produisent à l'électrode.
- 3- déterminer les coefficients de diffusion et la surface spécifique des matériaux conducteurs.

Dans le cas d'une réaction  $Ox + ne^- \rightleftharpoons Red$ , où la concentration initiale de Red en solution est nulle, le potentiel initial  $E_i$  est choisi suffisamment positif que  $E^0$  pour qu'aucune réaction ne se produise à l'électrode, la diffusion est linéaire et semi-infinie, et  $v$  indique la vitesse de balayage de potentiel. En tenant compte d'une variation linéaire du potentiel avec le temps (figure II.11), le potentiel à un instant donné est :

$$E(t) = E_i - vt$$



**Figure II.11.** (a) Balayage cyclique de potentiel et (b) Voltampérogramme correspondant.

Dans le cas d'un système réversible régi par une cinétique de transfert électronique rapide, comparée à celle de diffusion de réactif, le courant et le potentiel de pic sont donnés par les expressions suivantes :

$$I_{pa} = (2.69 \times 10^5) n^{3/2} SD^{1/2}_{ox} C^0_{ox} v^{1/2}$$

$$|E_{pa} - E_{pa/2}| = 2,2 \left( \frac{RT}{nF} \right) = \frac{56,5}{n} \quad \text{en mV à } 25^\circ C$$

Un mécanisme réversible est aussi caractérisé par un écart  $\Delta E_p = E_{pa} - E_{pc} = 60 \text{ mV}$  et un rapport des courants, anodique et cathodique :  $I_{pa}/I_{pc}$  égal à 1.

### II.7.2. Coulométrie à potentiel contrôlé

En coulométrie à potentiel contrôlé, on déduit la quantité de substance électrolysée par la mesure du nombre de coulombs consommé au cours de l'électrolyse. Ainsi, dans les méthodes à potentiel contrôlé, l'électrode de travail est maintenue à un potentiel constant par rapport au potentiel de l'électrode de référence. Puisque le potentiel de l'électrode de travail est la variable fondamentale qui régit, dans la plupart des cas, le cours d'un processus électrolytique, les méthodes à potentiel contrôlé sont les mieux adaptées aux macroélectrolyses [9].

La variation du courant instantané  $i(t)$  obéit alors à une loi, en fonction du temps  $t$ , selon l'expression [10] :

$$i(t) = i_o e^{(-at)}$$

Avec  $i_o$  est la valeur de l'intensité du courant au temps initial  $t = 0$  et  $a$  est La constante de vitesse,

L'intégration, relativement au temps, de  $i(t)$ , conduit à la quantité d'électricité  $Q(t)$  :

$$Q_t = \int I_t dt = \int i_o e^{(-at)}. dt = \left(\frac{i_o}{a}\right) [1 - e^{(-at)}] = (i_o - i_t)/a$$

D'où

$$i_t = i_o - aQ_t$$

Ces expressions montrent l'allure de variation de  $Q_t$  en fonction du temps d'une part, et de  $i_t$  en fonction de  $Q_t$  d'autre part. On constate aisément que  $i_t = f(Q_t)$  est une droite de même pente que la droite représentative de la variation de  $\log(i_t)$  en fonction de  $t$ , puisque :

$$\log(i_t) = \log(i_o) - at$$

Ces propriétés sont la base de certaines techniques de mesure de la quantité mise en jeu lors de l'électrolyse d'une espèce. Suivant les notations adoptées, cette quantité correspond à  $Q = i_o/a$ .

### II.7.3. Spectroscopie d'impédance électrochimique

La spectroscopie d'impédance électrochimique (SIE) est un outil appliqué pour l'étude de systèmes difficile et complexes [11]. La méthode consiste à introduire une perturbation au moyen d'un signal électrique alternatif (sinusoïdal) de faible amplitude [quelques millivolts] et à étudier la façon dont le système électrochimique y répond à cette perturbation de l'état stationnaire. Le signal d'entrée est donné par [9] :

$$V(t) = \Delta V \sin \omega t \quad (1)$$

Le signal de sortie est donnée par :

$$I(t) = \Delta I \sin(\omega t + \varphi) \quad (2)$$

Le rapport entre le signal de sortie et celui d'entrée transformée dans le plan de Laplace, définit la fonction de transfert qui est l'impédance  $Z = V(t)/I(t)$ . Cette impédance est une grandeur complexe pouvant être représentée dans le plan complexe par ses composants imaginaire  $Z''(\omega)$  en fonction de réelle  $Z'(\omega)$ , Cette impédance est donnée par :

$$Z(\omega) = Z'(\omega) + jZ''(\omega) \quad (3)$$

Notée aussi  $Z = R - jX$

Les valeurs physiques recherchées sont : la fréquence  $f$ , le déphasage  $\varphi$  et le module  $Z$ .

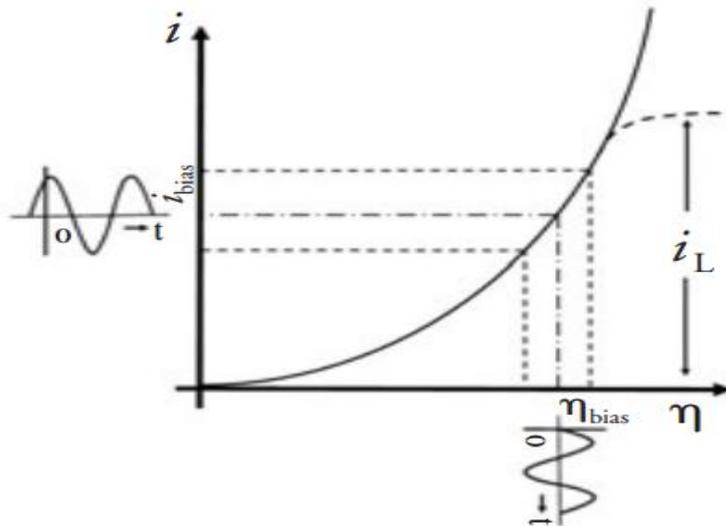
Le module de l'impédance est la longueur du vecteur donné par :

$$|Z| = \left( Z'^2(\omega) + jZ''^2(\omega) \right)^{1/2} \quad (4)$$

L'angle (déphasage) entre l'axe des  $x$  et le vecteur, définit la phase  $\varphi$  qui est donné par :

$$\tan \varphi = Z''(\omega)/Z'(\omega) \quad \text{ou} \quad \tan \varphi = X/R \quad (5)$$

Une expérience dans laquelle une série d'augmentation des potentiels continus (une rampe) appliquée à l'électrode de travail dans une cellule électrochimique contenant une espèce électroactive est envisagée. Une courbe courant-potential (figure II.12) est obtenue. Celle-ci est décrite par l'équation de Butler-Volmer.



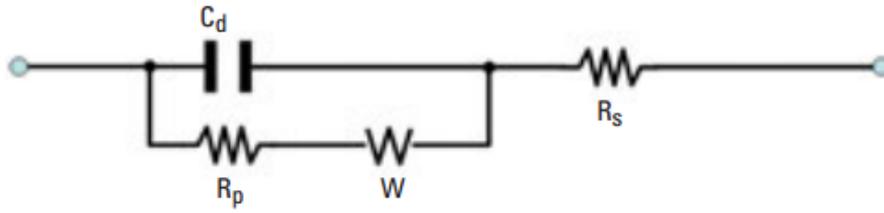
**Figure II.12.** Principe de l'analyse en petits signaux d'un système non-linéaire.

$$i = i_o \left[ e^{-\frac{\alpha F \eta}{RT}} - e^{\frac{(1-\alpha) n F \eta}{RT}} \right] \quad (6)$$

Dans lequel  $\eta$  est la surtension défini comme  $E - E_{eq}$ , avec  $E$  et  $E_{eq}$  représentant le potentiel appliqué et le potentiel d'équilibre ; respectivement ;  $i_o$  est le courant d'échange à  $\eta = 0$ ,  $n$  est le nombre d'électrons transférés ;  $F$  est la constante de Faraday ;  $R$  est la constante des gaz ;  $T$  est la température absolue et  $\alpha$  est le coefficient de transfert d'électrons.

Le courant continu tracée en fonction de la surtension selon l'équation de Butler-Volmer (trait plein), est limitée par les transports de masse sur une large gamme de surtensions (ligne en pointillée qui se courbe vers la droite), une tension alternative de faible amplitude,  $\eta(t) = \Delta\eta \sin(\omega t)$ , est superposée a la tension de polarisation continu  $\eta_{bias}$ . Par suite, un courant sinusoïdale d'amplitude  $i(t) = \Delta i \sin(\omega t + \varphi)$ , se trouve superposé au courant continu  $i_{bias}$ . Ainsi, la mesure de l'impédance électrochimique tout au long de la courbe de polarisation permet une caractérisation complète de l'interface et rend possible la comparaison avec un modèle.

Dans un cas simple, l'interface peut être modélisée par un circuit équivalent (figure II.13), également appelé circuit Randles [12], qui se compose de la résistance de la solution ( $R_s$ ) pour la conductance des ions dans la solution. La capacité de la double couche ( $C_d$ ) peut également être modélisée comme l'élément de phase constante ( $CPE$ ). En parallèle, la résistance de polarisation ( $R_p$ ) est en série avec l'impédance de Warburg ( $Z_w$ ). Selon les types de réactions électrochimiques intervenant à l'interface, le circuit équivalent peut être beaucoup plus complexe.



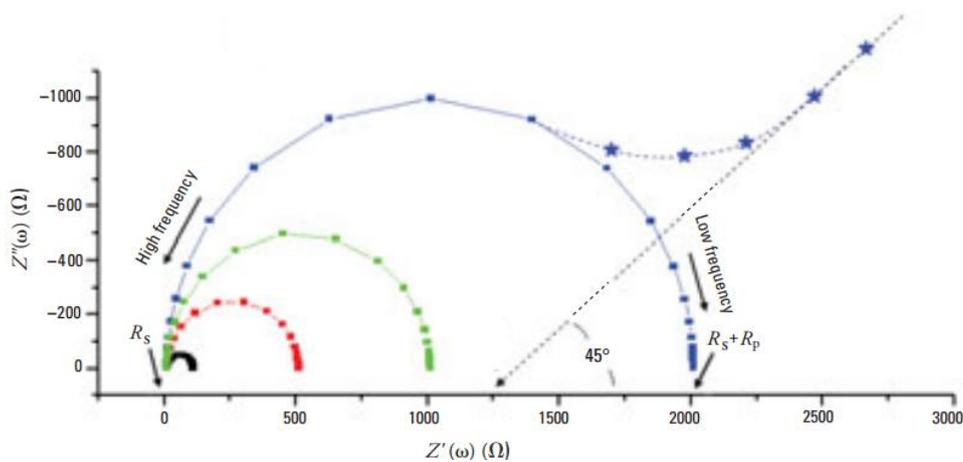
**Figure II.13.** Circuit équivalent de Randles [12].

Pour un circuit équivalent (figure II.13), une expression d'impédance directe peut être obtenue en appliquant la loi d'Ohm à deux composants connectés en parallèle. L'un d'entre eux est ( $R_p$ ), et l'autre est  $1/(jC_d)$ , dans laquelle ( $C_d$ ) est la capacité de la double couche.

$$Z(\omega) = Z'(\omega) + jZ''(\omega) = R_s + R_p/(1 + j\omega R_p C_d)$$

$$Z(\omega) = R_s + R_p/(1 + \omega^2 R_p^2 C_d^2) - j\omega R_p^2 C_d/(1 + \omega^2 R_p^2 C_d^2) \quad (7)$$

Pour rendre la dérivation de l'équation et son interprétation simple, nous avons négligé la contribution de la composante Warburg. Ainsi, l'impédance de l'interface se compose de deux parties, un nombre réel  $Z'$  et un nombre imaginaire  $Z''$  avec une représentation complexe,  $Z(\omega) = Z'(\omega) + jZ''(\omega)$  avec  $\varphi$  (l'angle de phase) =  $\tan^{-1}[Z''(\omega)/Z'(\omega)]$ . Bien que la capacité soit relativement constante par rapport au potentiel d'une électrode donnée, la  $R_p$  varie en fonction de  $\eta_{bias}$  appliquée à l'électrode.



**Figure II.14.** Exemple d'un diagramme de Nyquist d'augmentation/diminution des courbes avec les valeurs de  $R_p$  et  $W$  (étoiles bleues) [13].

Pour interpréter le tracé de Nyquist, l'équation (7) est appliquée. Aux hautes fréquences, le terme  $\omega$  dépendant est éliminé de l'équation (7) et  $Z(\omega) = Z'(\omega) = R_s$ . Ceci est sur le point d'intersection  $Z'(\omega)$  comme  $Z''(\omega) = 0$  (figure II.14). Lorsque  $\omega$  est supérieur à 0, l'équation (7) est  $Z(\omega) = R_s + R_p$ , sur le côté  $\omega$  faible pour le  $Z'$  d'interception ( $\omega$ ). Lorsque le  $\omega$  maximum pour  $Z''(\omega)$  est observée pour une donnée  $\omega$ , le résultat est,  $R_p \cdot C_d = 1/\omega_{max} = 1/(2\pi f_{max}) = \tau_{rxn}$ , qui est la constante de temps indiquant la rapidité de la réaction. En outre, le  $C_d$  peut être obtenue par la valeur connue de  $R_p$  sur l'axe  $Z'(\omega)$  par  $R_p \cdot C_d$ . Par conséquent, les valeurs calculées  $R_s, R_p$  et  $C_d$  peuvent fournir toutes les informations requises pour l'interface électrode-électrolyte et de la réaction donnée.

#### II.7.4. Technique de mesure de l'angle de contact

La technique de mesure de l'angle de contact est intéressante pour la caractérisation de surfaces. Elle permet de vérifier l'homogénéité d'une surface avec une bonne résolution spatiale [14, 15] et de déterminer exactement l'énergie libre d'adhésion entre liquide et solide à leur interface d'interaction [16]. Cette technique nous renseigne sur la mouillabilité d'un substrat qui peut être caractérisée par l'angle de contact statique d'une goutte d'eau déposée à sa surface, ce qui permettra de caractériser les réactions ayant lieu au niveau des interfaces.

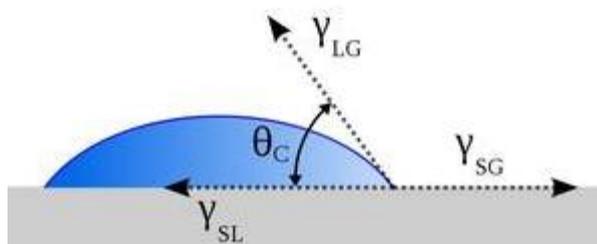
La forme adoptée par la goutte sur le substrat est caractéristique des interactions entre l'eau, le substrat et l'atmosphère environnante. Ainsi, son profil va varier en fonction des forces d'origine moléculaire (Van der Waals, électrostatique, liaisons accepteur-donneur d'électrons) et d'origine topologique (conformation).

Nous pourrions ainsi déterminer le caractère hydrophobe ou hydrophile de la surface et aboutir à la notion d'énergie libre et sa composante basique. La technique de mouillabilité est basée sur la détermination de l'angle de raccordement à la jonction des phases solide/liquide/vapeur. Cet angle de raccordement du liquide sur le solide est déterminé par les énergies superficielles du liquide et du solide ( $\gamma_{LG}, \gamma_{SG}$ ) et interfaciales ( $\gamma_{SL}$ ) des phases en équilibre suivant la relation de Young-Dupré [17]:

$$\gamma_{LG} \cos \theta + \gamma_{SL} - \gamma_{SG} = 0$$

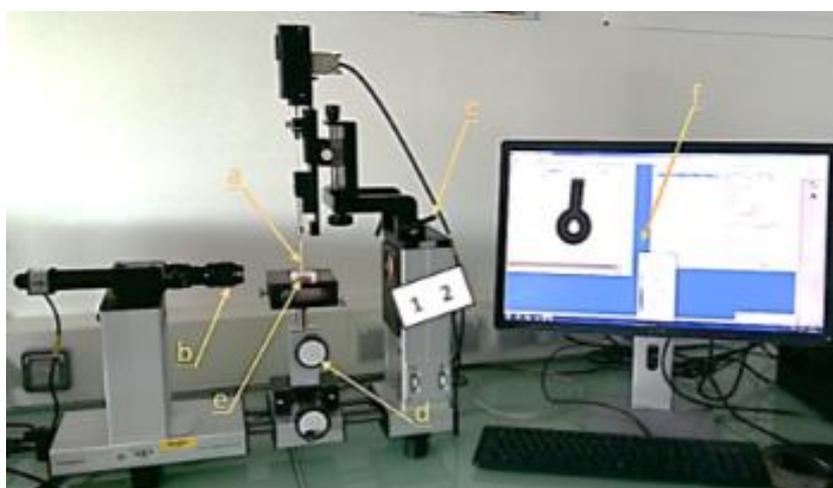
où :  $\gamma_{SG}$  est la tension superficielle du solide en présence de la vapeur du liquide ;  $\gamma_{SL}$  est l'énergie libre interfaciale entre le solide et le liquide ;  $\gamma_{LG}$  est la tension superficielle du liquide en présence de sa vapeur ;  $\theta$  est l'angle de contact.

La relation donnée par l'équation précédente peut être représentée vectoriellement suivant le modèle de Young-Dupré comme montré au schéma II.4.



**Schéma II.4.** Angle de mouillage d'un liquide sur une surface solide et l'équilibre des forces à l'interface air/liquide/solide.

Le dispositif utilisé est composé d'un appareil (Digidrop, GBX Scientific Instrument) et d'un système d'acquisition et d'analyse d'images (Figure II.15). Le système GBX permet le déplacement du porte échantillon selon l'axe vertical puis le dépôt d'un volume précis du liquide sur la surface de cet échantillon. L'image de l'évolution d'une goutte de 2  $\mu\text{l}$  déposée à l'aide d'une micro seringue est enregistrée par une caméra puis traitée pour déterminer l'angle de contact et calculer l'énergie libre de surface. La procédure de mesure est répétée plusieurs fois en différents points de l'échantillon.



**Figure II.15.** Appareil de mesure de l'angle de contact « contact angle system OCA data physic ».

Il est constitué généralement de :

- a. Aiguille,
- b. Caméra pour visualiser l'angle de contact,
- c. Manivelle,
- d. Bouton pour contrôler la distance entre l'échantillon et l'aiguille,
- e. Echantillon,
- f. Logiciel SCA 20-U.

L'énergie de surface de l'interface solide-liquide n'est en général pas connue. Des modèles d'interaction ont été développés afin de l'estimer et de rendre la description cohérente.

### **II.7.5. Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier**

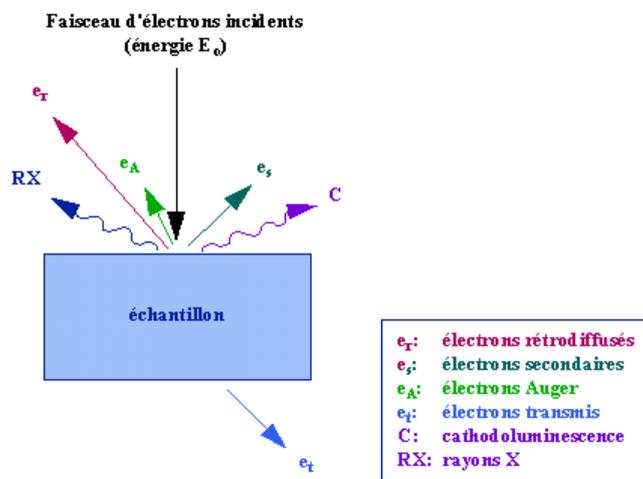
La spectroscopie infrarouge (IR) est basée sur l'absorption d'un rayonnement infrarouge par le matériau analysé. Elle permet via la détection des vibrations caractéristiques des liaisons chimiques, d'effectuer l'analyse des fonctions chimiques présentes dans le matériau [18].

Ces absorptions sont des fréquences résonantes, c'est-à-dire la fréquence de la radiation absorbée correspond à l'énergie de transition de la liaison vibrante. Le spectre IR qui en résulte permet d'identifier les liaisons. Dans les spectres d'absorption de l'infrarouge, chaque bande correspond à des mouvements de vibration des atomes ou des groupes atomiques qui constituent le composé donnant naissance à un moment dipolaire oscillant [18]. La grandeur physique placée en ordonnée de ces spectres infrarouge peut être soit la transmission  $T = I/I_0$ , soit l'absorption  $A = -\log(T)$ , où  $I_0$  et  $I$  représentent respectivement les intensités incidente et transmise par l'échantillon.

La composition chimique des substrats préparés avant et après dépôt de polypyrrole a été identifiée par spectroscopie infrarouge (IR) à l'aide du spectromètre infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) modèle NEXUS (Nicolet-Thermo Fisher, UK). Les spectres ont été enregistrés en mode de réflectance totale (ATR : attenuated total reflectance) atténuée avec un accessoire Thunderdome (Spectra-Tech) contenant du cristal de germanium avec une réflexion mono à 45°. Un détecteur DTGS a été utilisé avec une résolution de 4 cm<sup>-1</sup> et une apodisation Happ-Genzel à 256 scans.

## II.7.6. Microscopie électronique à balayage

La microscopie électronique à balayage (MEB) repose sur l'interaction d'un faisceau d'électrons avec la matière (figure II.16). Sous l'impact du faisceau d'électrons incidents balayant la surface de l'échantillon, des électrons secondaires et des rayonnements électromagnétiques sont générés dans le volume d'interaction et recueillis pour former des images. Le balayage de l'échantillon par le faisceau d'électrons permet d'enregistrer une suite de valeurs, et de reconstruire point par point la cartographie de l'effet mesuré à la surface de l'échantillon. Le principe consiste à balayer point par point la surface de l'échantillon par un faisceau électronique. La source d'électrons la plus utilisée est obtenue en chauffant un filament de tungstène en forme de pointe, par effet thermoélectronique, le filament émet un faisceau électronique qui est focalisé localement.



**Figure II.16.** Représentation schématique de l'impact d'un faisceau d'électrons sur la surface d'un échantillon solide.

L'efficacité de la source est définie par sa brillance, c'est-à-dire sa densité de émission électronique par unité d'angle. Les lentilles électrostatiques et magnétiques affinent le faisceau, le corrigent et le focalisent sur la surface de l'échantillon par un balayage. Lors de l'interaction électrons primaires et matière des électrons rétrodiffusés, des électrons secondaires sont émis. Ces électrons sont recueillis sélectivement par des détecteurs qui transmettent le signal à un écran cathodique dont le balayage est synchronisé avec celui du faisceau d'électrons.

La morphologie de la couche de polypyrrole déposée sur les substrats Al/Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> ont été examinés en utilisant le microscope électronique à balayage (MEB), FEI Quanta 250 FEG, France.

### **II.7.7. Spectroscopie de rayons X à dispersion d'énergie**

La spectroscopie de rayons X à dispersion d'énergie (EDX) résulte de l'émission des rayons X lors du bombardement électronique d'un matériau (figure II.16). Lorsque les électrons placés sur des niveaux d'énergie inférieurs sont enlevés, les électrons du même atome situés sur des niveaux énergétiques supérieurs vont prendre la place des premiers, libérant une quantité d'énergie qui correspond à la différence d'énergie entre ces niveaux. Cette énergie est émise sous la forme de rayons X et chaque atome possède une émission caractéristique des rayons X. La quantification de l'échantillon devient ainsi possible. Le spectre EDX présente des pics pour chaque espèce atomique qui constitue le matériau analysé et l'intégration d'un pic donne le pourcentage atomique.

## Références Bibliographiques

- [1] A. Deronzier, M. J. Marques, *J. Electroanal. Chem.* 265 (1989) 341.
- [2] I. A. Marques d'Oliveira, J. Torrent-Burgués, M. Pla, N. Zine, J. Bausells, L. Escriche, J. Casabó, A. Errachid, J. Samitier, *Anal. Lett.* 39 (2006) 1709.
- [3] Z. Wei, C. Wang, C. Bai, *Surf. Sci.* 467 (2000) 185.
- [4] P. H. Mutin, G. Guerrero, A. Vioux, *J. Mater. Chem.* 15 (2005) 3761.
- [5] A. Glaser, J. Foisner, H. Hoffmann, G. Friedbacher, *Langmuir* 20 (2004) 5599.
- [6] S. Machida, S. Miyata, A. Techagumpuch, *Synth. Met.* 31 (1989) 311.
- [7] A. Garcia-Cruz, M. Lee, N. Zine, M. Sigaud, J. Bausells, A. Errachid, *Sensor. Actuat. B-Chem.* 221 (2015) 940.
- [8] D.-V. Brezoi, *Am. J. Sci. Arts* 1 (2010) 53.
- [9] A. J. Bard, L. R. Faulkner, *Electrochimie, Principes, Méthodes et Applications*, Ed. Masson, Paris (1983).
- [10] M. Machtinger, R. Molina, *Techniques de l'Ingénieur, Méthodes Electrochimiques, Coulométrie*. P 2185 (1978) 1.
- [11] S. M. Park, J. S. Yoo, *Anal. Chem.* 75 (2003) 455.
- [12] J. E. B. Randles, *Trans. Faraday Soc.* 44 (1948) 327.
- [13] K. S. Saravan, O. Gul, H. Basaga, U. Sezerman, Y. Gurbuz, *Sens. Lett.* 6 (2008) 873.
- [14] Y. C. Hong, D. H. Shin, H. S. Uhm, *Surf. Coat. Technol.* 201 (2007) 5025.
- [15] R. Kannan, D. Sivakumar, *Colloids Surf. A* 317 (2008) 694.
- [16] M. Ma, R. M. Hill, *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* 11 (2006) 193.
- [17] C. J. Van Oss, W. Wu, R. F. Giese, J. O. Naim, *Colloids Surf. B* 4 (1995) 185.
- [18] N. L. Allinger, M. P. Cava, D. C. De Jongh, C. R. Johnson, N. A. Lebel, C. L. Stevens, *Chimie Organique*, Ed, McGraw-Hill, Paris., (1976).

### *Chapitre III*

## **PREPARATION ET CARACTERISATION ELECTROCHIMIQUE ET SPECTROSCOPIQUE D'UN MATEREAU COMPOSITE : CV/PPyAB- METAUX DE TRANSITION**

Ce chapitre porte sur la synthèse et la caractérisation de composites polymère-particules métalliques par inclusion de particules bimétalliques (cuivre - nickel) dans des films de poly[acide pyrrole-benzoïque], possédant les propriétés complexantes, grâce au groupement carboxylique (COOH) présent dans la structure monomère. Cette synthèse consiste en la complexation in-situ des cations métalliques par le film de polymère suivi d'une électroréduction de complexes ainsi générés, pour précipiter les métaux dans le film de polymère sous forme de particules métalliques.

Ainsi, dans cette partie du travail, nous avons modifié les électrodes de carbone vitreux par un film de polypyrrole substituée (PPyAB) contenant des nanoparticules métalliques (Ni et/ou Cu), dans le but de l'utiliser en électrocatalyse. La procédure de fabrication a été décrite en détail dans la partie expérimentale (chapitre II). L'incorporation de l'un ou des deux métaux de transitions dans le film a été suivie par les diverses méthodes de caractérisations telles que la spectroscopie de rayons X à dispersion d'énergie (EDX), la microscopie électronique à balayage (MEB) et les mesures électrochimiques comme la voltammétrie cyclique (VC) et la spectroscopie d'impédance électrochimique (SIE).

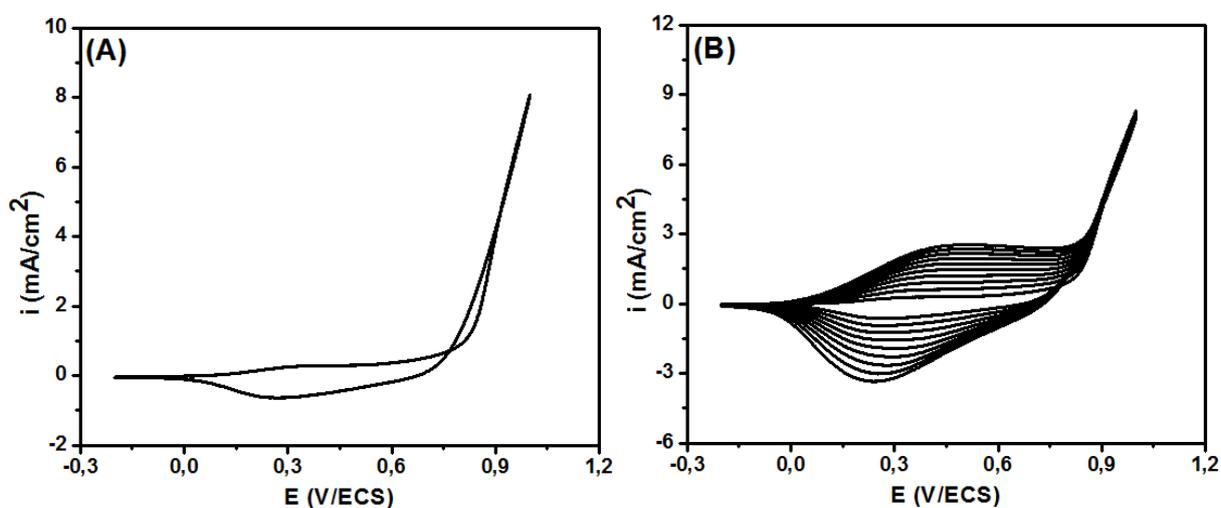
### **III.1. Comportement électrochimique du cuivre et du nickel sur une électrode de carbone vitreux non et modifiée par le film de PPyAB**

#### **III.1.1. Electropolymérisation de l'acide 4-(pyrrol-1-yl methyl) benzoïque**

La figure III.1A représente le premier cycle du voltampérogramme, relatif à une solution de  $\text{CH}_3\text{CN}/\text{LiClO}_4$   $10^{-1}$  M, contenant PyAB  $4 \cdot 10^{-3}$  M sur une électrode de carbone vitreux (CV) ( $\phi = 3$  mm), enregistré sur une gamme de potentiel comprise entre - 0,2 et 1 V/ECS, à une vitesse du balayage de 10 mV/s. On observe lors du balayage de potentiel positif, un pic anodique qui apparaît à 0,34 V/ECS correspondant à l'oxydation du monomère en son radical cation qui conduit à la formation d'un film de PPyAB.

Au balayage de potentiel négatif, on constate un pic de réduction situé à 0,26 V/ECS correspondant à la réduction du film de PPyAB déposé sur l'électrode. Toutefois, on signale que l'électrode se couvre totalement dès le premier cycle par un film de polymère.

La figure III.1B représente l'enregistrement successif de voltampérogrammes cycliques (cyclage) du même monomère. Le potentiel du pic d'oxydation se déplace vers des valeurs plus positives et le potentiel du pic de réduction se déplace vers des valeurs plus négatives, un écart à la réversibilité est ainsi remarqué au fur et à mesure qu'un film se développe sur l'électrode. L'augmentation de courant des vagues d'oxydation et des pics de réduction, est le signe qu'un polymère est entrain de se déposer sur l'électrode. L'intensité du courant des pics se stabilise après plusieurs cycles. L'électropolymérisation de ce monomère peut être réalisée également par oxydation à potentiel contrôlé (0,80 à 0,95 V/ECS), potentiel correspondant au pied de la vague d'oxydation du PyAB.

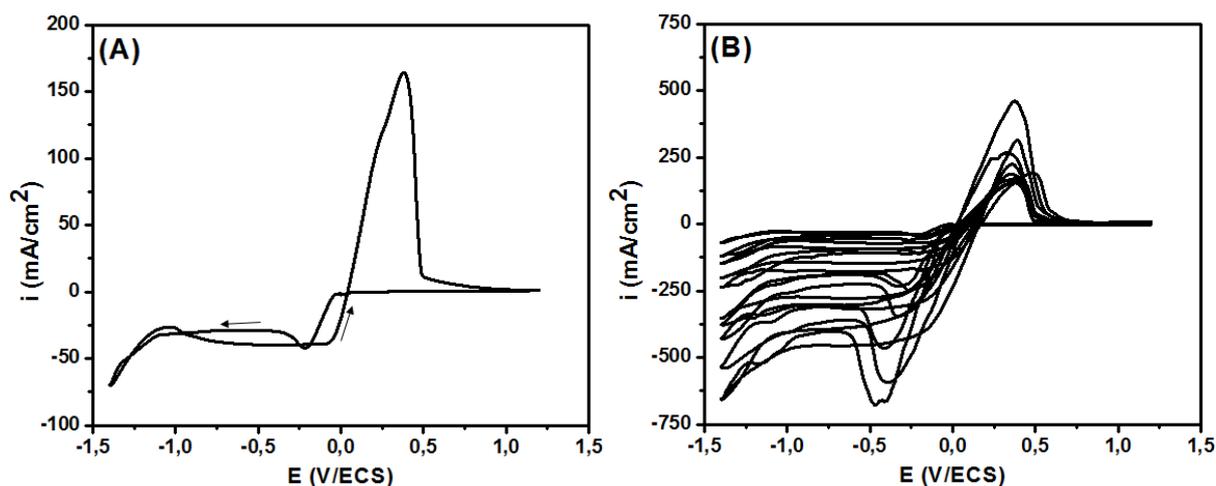


**Figure III.1.** Voltampérogrammes cycliques relatifs à une solution de CH<sub>3</sub>CN/LiClO<sub>4</sub> 10<sup>-1</sup> M contenant le PyAB 4.10<sup>-3</sup> M, obtenus sur une électrode de CV, entre - 0,2 et 1 V/ECS à 10 mV/s ; (A) Premier cycle et (B) Enregistrement successif de voltampérogrammes (cyclage).

### III.1.2. Comportement électrochimique du cuivre sur une électrode de carbone vitreux

Le comportement électrochimique de cuivre a été étudié, sur une électrode de carbone vitreux ( $\phi = 3$  mm), dans une solution aqueuse contenant  $\text{Na}_2\text{SO}_4$   $10^{-1}$  M comme électrolyte support et le sel  $\text{CuSO}_4$   $10^{-1}$  M, à pH 4. Le voltampérogramme cyclique, enregistré à une vitesse de balayage de 10 mV/s dans une gamme de potentiel comprise entre - 1,4 et 1,2 V/ECS (figure III.2A) montre lors du balayage de potentiel négatif un pic cathodique à - 0,25 V/ECS correspondant à la réduction du cuivre. Au balayage de potentiel positif, on constate un épaulement à + 0,15 V/ECS et un pic d'oxydation à + 0,3 V/ECS qui peuvent correspondre à la première et à la deuxième oxydation du cuivre.

La figure III.2B représente l'enregistrement successif de voltampérogrammes cycliques relatifs à une solution de cuivre. Nous remarquons lors du balayage de potentiel que la hauteur de ces pics augmente au cours du cyclage. Le potentiel du pic d'oxydation se déplace très légèrement vers des valeurs positives et le potentiel du pic de réduction se déplace vers des valeurs négatives ; montrant par ce fait que le processus cinétique varie au cours du cyclage. L'augmentation de courant des vagues d'oxydation et des pics de réduction, est le signe qu'un le cuivre est entrain de se déposer sur l'électrode.

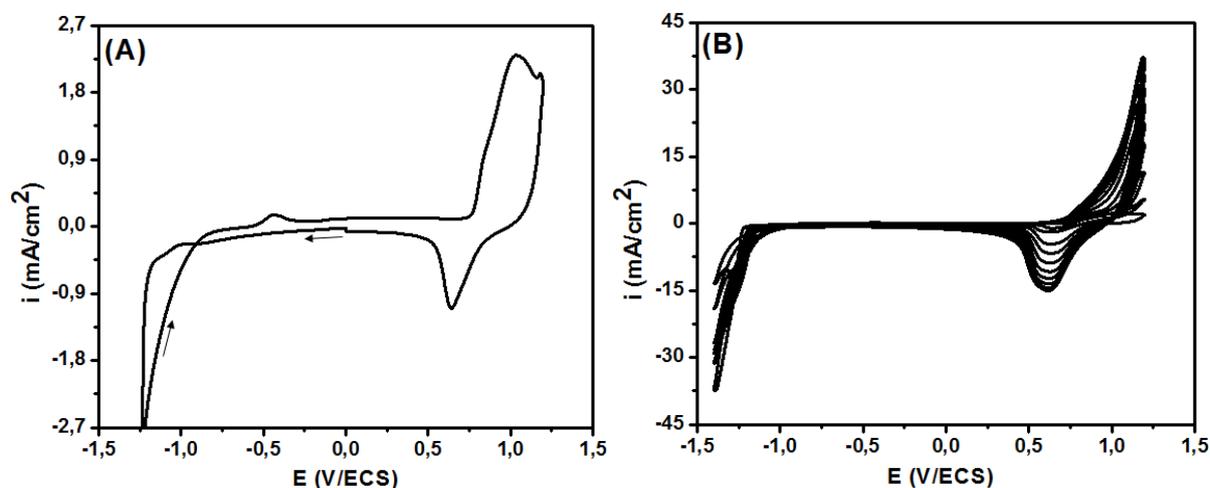


**Figure III.2.** Voltampérogrammes cycliques relatifs à une solution de  $\text{CuSO}_4$   $10^{-1}$  M à pH 4 dans  $\text{H}_2\text{O}/\text{Na}_2\text{SO}_4$   $10^{-1}$  M, sur une électrode de CV, entre - 1,4 et 1,2 V/ECS à 10 mV/s ; (A) Premier cycle et (B) Cyclage.

### III.1.3. Comportement électrochimique du nickel sur une électrode de carbone vitreux

La figure III.3A représente le premier cycle du voltampérogramme, relatif à une solution de  $\text{NiSO}_4$   $10^{-1}$  M, à pH 4 dans  $\text{H}_2\text{O}/\text{Na}_2\text{SO}_4$   $10^{-1}$  M, obtenus sur une électrode de carbone vitreux ( $\phi = 3$  mm), enregistré sur une gamme de potentiel comprise entre - 1,4 et 1,2 V/ECS, à une vitesse du balayage de 10 mV/s. Nous constatons lors de balayage de potentiel négatif deux pics de réduction observé à + 0,65 et à - 1,1 V/ECS qui peuvent être attribués à la réduction des différents espèces oxydées du nickel. Au balayage de potentiel positif, on constate deux pics d'oxydation à - 0,45 et + 1 V/ECS qui peuvent être attribués aux différents états d'oxydation.

La figure III.3B représente l'enregistrement successif de voltampérogrammes cycliques relatifs à une solution de nickel. Nous remarquons que la hauteur des pics augmente au cours du cyclage. L'augmentation de courant des pics d'oxydation et des pics de réduction, est le signe qu'un le nickel est entrain de se déposer sur l'électrode.

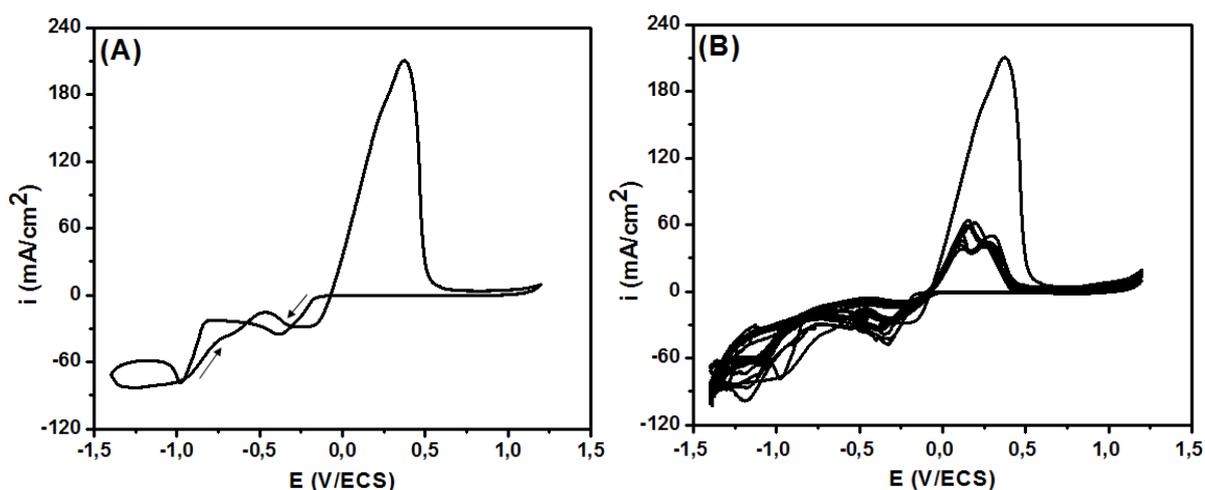


**Figure III.3.** Voltampérogrammes cycliques relatifs à une solution de  $\text{NiSO}_4$   $10^{-1}$  M à pH 4 dans  $\text{H}_2\text{O}/\text{Na}_2\text{SO}_4$   $10^{-1}$  M, obtenus sur une électrode de CV, entre - 1,4 et 1,2 V/ECS, à 10 mV/s ; (A) Premier cycle et (B) Cyclage.

### III.1.4. Comportement électrochimique du cuivre et du nickel sur une électrode de carbone vitreux

Le comportement électrochimique de cuivre et de nickel a été étudié, sur une électrode de carbone vitreux ( $\phi = 3$  mm), dans une solution aqueuse contenant  $\text{Na}_2\text{SO}_4$   $10^{-1}$  M comme électrolyte support et les deux sels  $\text{CuSO}_4$   $10^{-1}$  M et  $\text{NiSO}_4$   $10^{-1}$  M à pH 4. Le voltampérogramme cyclique, enregistré à une vitesse de balayage de 10 mV/s dans une gamme de potentiel comprise entre - 1,4 et 1,2 V/ECS (figure III.4A) montre lors du balayage de potentiel négatif un pic cathodique observé à - 0,4 V/ECS correspondant à la réduction du cuivre et un deuxième pic à - 0,95 V/ECS correspondant à la réduction de nickel. Toutefois ; il n'est pas exclu qu'à ce potentiel, la réduction de l'oxygène ou de l'eau peut avoir lieu. Au balayage de potentiel positif, on constate trois pics à - 0,5, + 0,15 et + 0,3 V/ECS qui peuvent être correspondant respectivement à l'oxydation du nickel, et de la première et la deuxième oxydation du cuivre.

La figure III.4B représente l'enregistrement successif de voltampérogrammes cycliques de cuivre et de nickel. On remarque, une diminution de courant des vagues d'oxydation et des pics de réduction, indiquant que l'un ou les deux métaux sont entrain de se déposer sur l'électrode ou résulte d'une inhibition de l'électrode par des espèces moins électroactives. Le potentiel des pics cathodiques se déplace très légèrement vers des valeurs négatives. L'intensité du courant des pics d'oxydation et des pics de réduction se stabilise après quelques cycles.

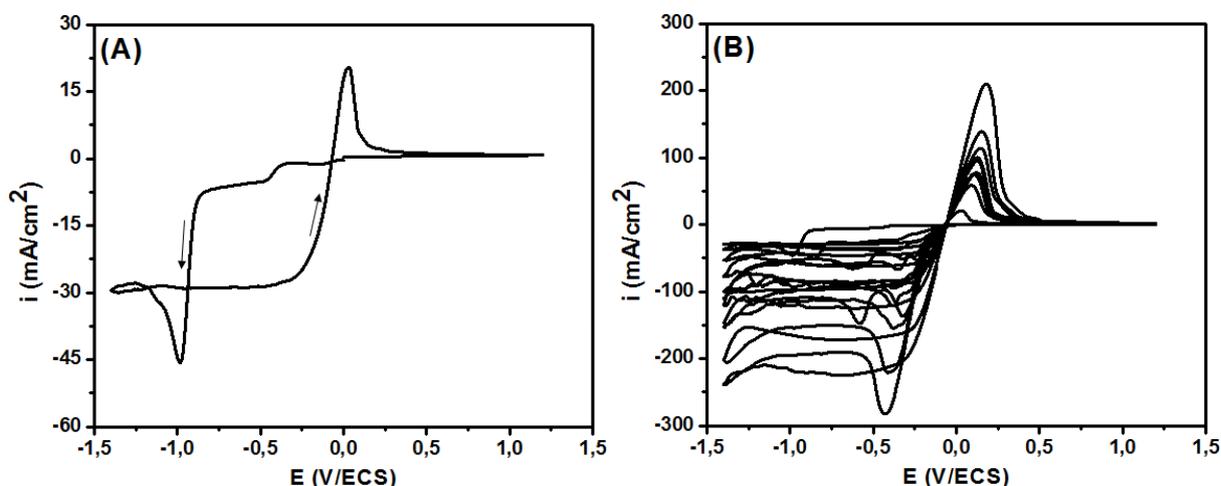


**Figure III.4.** Voltampérogrammes cycliques relatifs à une solution de  $\text{NiSO}_4$   $10^{-1}$  M +  $\text{CuSO}_4$   $10^{-1}$  M à pH 4 dans  $\text{H}_2\text{O}/\text{Na}_2\text{SO}_4$   $10^{-1}$  M, obtenus sur une électrode de CV ( $\phi = 3$  mm), entre - 1,4 et 1,2 V/ECS, à 10 mV/s ; (A) Premier cycle et (B) Cyclage.

### III.1.5. Comportement électrochimique du cuivre sur une électrode de carbone vitreux modifiée par le film de PPyAB

La figure III.5A représente le voltampérogramme cyclique relatif à une solution de  $\text{H}_2\text{O}/\text{NaSO}_4$   $10^{-1}$  M contenant  $\text{CuSO}_4$   $10^{-1}$  M à pH 4, entre - 1,4 et 1,2 V/ECS, à 10 mV/s, obtenus sur une électrode de carbone vitreux modifiée par un film de PPyAB après passage de 6 mC, suivi d'une suroxydation [1], pour éliminer l'électroactivité du PPyAB et obtenir ainsi des voltammogrammes montrant juste les pics correspondants à l'oxydation et à la réduction de métal. Nous remarquons lors de balayage de potentiel négatif un pic cathodique à - 0,15 V/ECS attribué à la réduction des cations  $\text{Cu}^{2+}$  libres, puis un deuxième pic cathodique à - 0,45 V/ECS correspondant à la réduction du complexe cuivre-polymère à un potentiel plus négatif que les ions cuivre libres [2]. Au balayage de potentiel positif, nous observons un pic anodique à 0,05 V/ECS correspondant à l'oxydation du cuivre. Le pic observé à - 1 V/ECS correspond à la réduction des protons du film de polymère. En effet, après réduction du cuivre complexé le film doit se protoner, au moins partiellement, dans ce milieu de pH 4 [2].

La figure III.5B représente l'enregistrement successif de voltampérogrammes cycliques relatifs au film de PPyAB ; immergé dans une solution  $\text{CuSO}_4$  ; en vue d'une incorporation ou d'une complexation du cuivre par le film. La hauteur de ces pics augmente au cours du cyclage. Le potentiel du pic d'oxydation se déplace très légèrement vers des valeurs positives et le potentiel du pic de réduction se déplace vers des valeurs négatives ; montrant par ce fait que le processus cinétique varie au cours du cyclage.

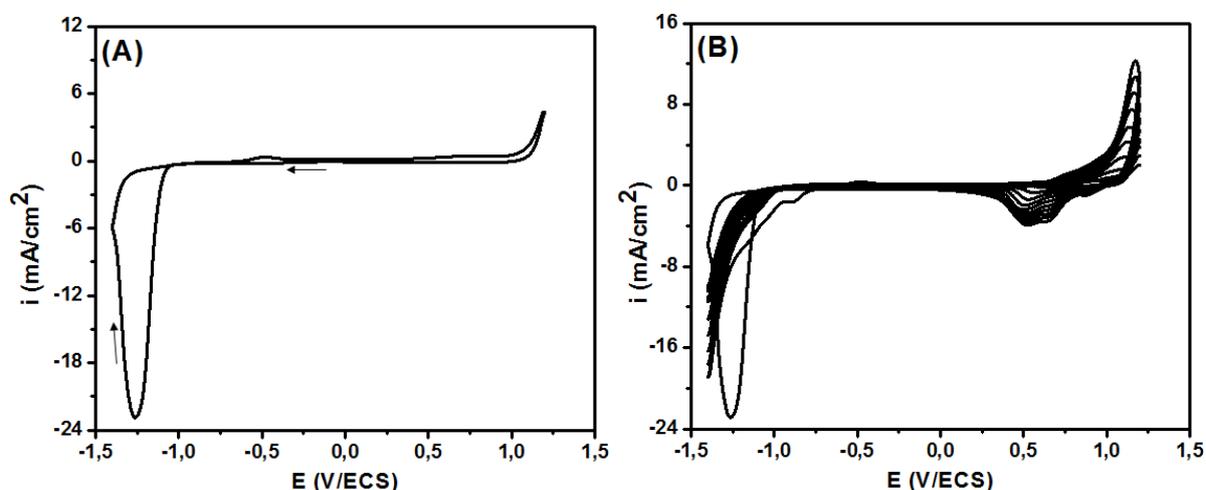


**Figure III.5.** Voltampérogrammes cycliques relatifs à une solution de  $\text{H}_2\text{O}/\text{NaSO}_4$   $10^{-1}$  M contenant  $\text{CuSO}_4$   $10^{-1}$  M, obtenus sur une électrode de CV modifiée par le film de PPyAB (charge utilisée 6 mC), entre - 1,4 et 1,2 V/ECS à 10 mV/s ; (A) Premier cycle et (B) Cyclage.

### III.1.6. Comportement électrochimique du nickel sur une électrode de carbone vitreuse modifiée par le film de PPyAB

La figure III.6A représente le voltampérogramme cyclique relatif à une solution de  $\text{H}_2\text{O}/\text{NaSO}_4$   $10^{-1}$  M contenant  $\text{NiSO}_4$   $10^{-1}$  M, à pH 4, entre - 1,4 et 1,2 V/ECS, à 10 mV/s, obtenus sur une électrode de CV modifié par un film de PPyAB après passage 6 mC, suivi d'une suroxydation à 1,5 V/ECS. Nous remarquons lors de balayage de potentiel négatif un pic cathodique à - 1,25 V/ECS correspondant à la réduction du nickel et lors du balayage de potentiel positif deux pics anodiques aux environs de - 0,5 et + 0,75 V/ECS ; ces derniers correspondant aux différents états d'oxydation du nickel [3].

La figure III.6B représente l'enregistrement successif de voltampérogrammes cycliques relatifs à une solution de nickel. Le potentiel du pic d'oxydation se déplace vers des valeurs plus positives et le potentiel des pics de réduction se déplace très légèrement vers des valeurs négatives.

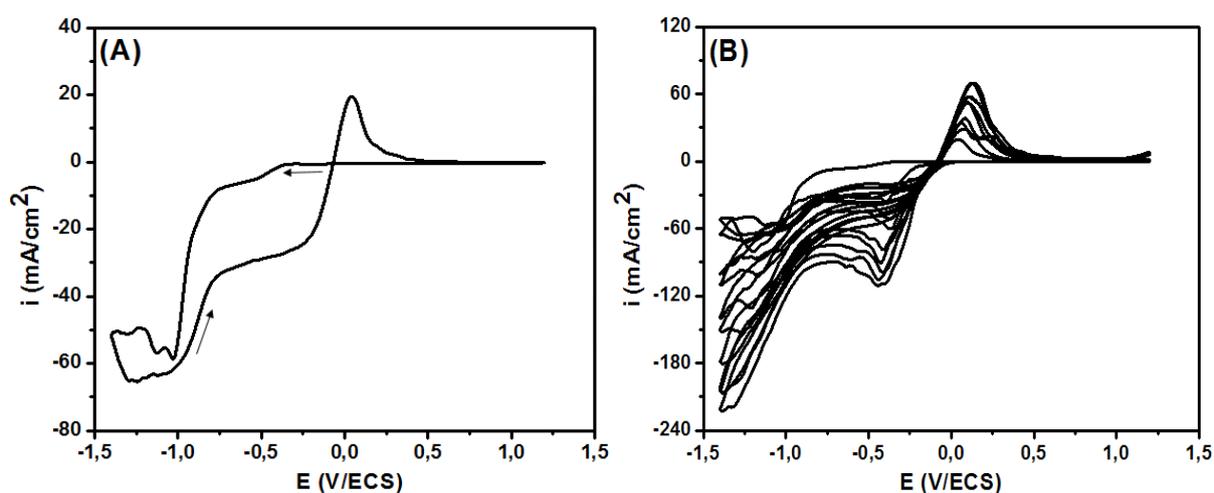


**Figure III.6.** Voltampérogrammes cycliques relatifs à une solution de  $\text{H}_2\text{O}/\text{NaSO}_4$   $10^{-1}$  M contenant  $\text{NiSO}_4$   $10^{-1}$  M, obtenus sur une électrode de CV modifié par un film de PPyAB (charge utilisée 6 mC), entre - 1,4 et 1,2 V/ECS à 10 mV/s ; (A) Premier cycle et (B) Cyclage.

### III.1.7. Comportement électrochimique du nickel et du cuivre sur une électrode de carbone vitreux modifiée par le film de PPyAB

Le comportement électrochimique de cuivre et de nickel a été étudié, sur une électrode de CV modifiée par le film de PPyAB après passage 6 mC, et suivi d'une suroxydation à 1,5 V/ECS, dans une solution aqueuse contenant  $\text{Na}_2\text{SO}_4$   $10^{-1}$  M comme électrolyte support et les deux sels  $\text{CuSO}_4$   $10^{-1}$  M et  $\text{NiSO}_4$   $10^{-1}$  M à pH 4. Le voltampérogramme cyclique, enregistré dans une gamme de potentiel comprise entre -1,4 et 1,2 V/ECS à 10 mV/s (figure III.7A) montre deux pics cathodiques à - 0,15 et - 0,5 V/ECS correspondant respectivement à la réduction des cations  $\text{Cu}^{2+}$  libres et du complexe cuivre-polymère [2]. Les deux autres pics mal définis aux environs de - 1 et - 1,15 V/ECS attribuée à la réduction du nickel complexé, en compétition avec la réduction de l'eau [3]. Au balayage de potentiel positif on constate un pic à 0 V/ECS correspondant à l'oxydation du cuivre.

La figure III.7B représente l'enregistrement successif de voltampérogrammes cycliques relatifs à une solution de nickel et de cuivre. Ainsi ; comme le montre la figure nous remarquons que le potentiel du pic d'oxydation se déplace très légèrement vers des valeurs plus positives et du pic de réduction vers des valeurs plus négatives ; attestant par ce fait que le processus électrochimique devient de moins en moins réversible. L'augmentation de courant des vagues d'oxydation et des pics de réduction, est le signe que les ions de cuivre et de nickel se déposent sur l'électrode.



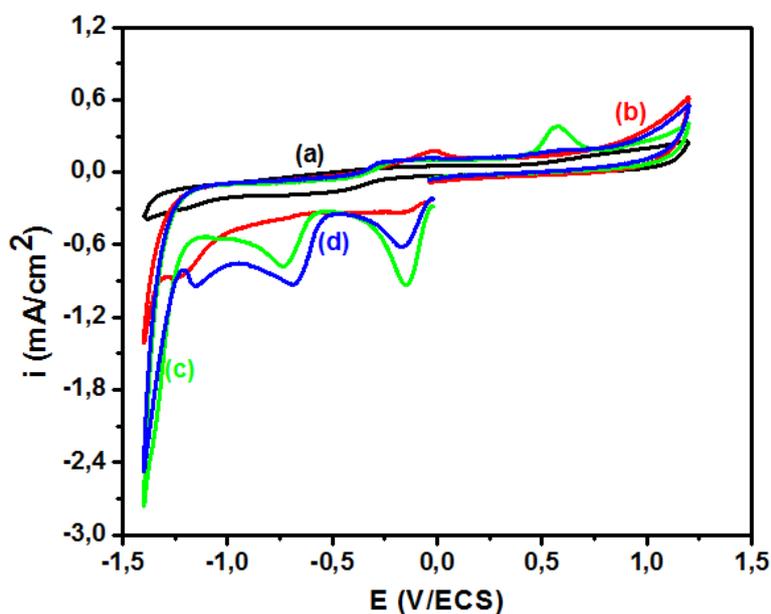
**Figure III.7.** Voltampérogrammes cycliques relatifs à une solution de  $\text{H}_2\text{O}/\text{NaSO}_4$   $10^{-1}$  M contenant  $\text{NiSO}_4$   $10^{-1}$  M et  $\text{CuSO}_4$   $10^{-1}$  M à pH 4, obtenus sur une électrode de CV modifiée par un film de PPyAB (charge utilisée 6 mC), entre - 1,4 et 1,2 V/ECS à 10 mV/s ; (A) Premier cycle et (B) Cyclage.

## III.2. Etude de la complexation du cuivre et du nickel dans les films de PPyAB

### III.2.1. Caractérisation par voltampérométrie cyclique

#### III.2.1.1. Influence de pH de la solution de complexation sur le taux d'incorporation

La figure III.8 représente les voltampérogrammes cycliques du nickel et du cuivre incorporé dans les films de PPyAB, à 0,95 V/ECS (charge passée 6 mC), déposé sur les électrodes de carbone vitreux. Ces électrodes modifiées ont été plongées pendant 10 min dans une solution aqueuse de  $(\text{NiSO}_4 + \text{CuSO}_4) 10^{-1} \text{ M}$ , à différents pH : (a) 1, (b) 3, (c) 4 et (d) 5, pour permettre l'incorporation des deux cations métalliques dans le film de polymère par la complexation, puis rincée à l'eau pour éliminer l'excès de cations  $\text{Cu}^{2+}$  et  $\text{Ni}^{2+}$  non associés au polymère. Toutes ces expériences ont été réalisées avec des films de PPyAB suroxydé [1], pour éliminer l'électroactivité du polypyrrole et obtenir ainsi des vagues et des pics qui sont caractéristiques des métaux incorporés uniquement. L'analyse faite dans une solution aqueuse contenant  $\text{Na}_2\text{SO}_4 10^{-1} \text{ M}$  à 10 mV/s.



**Figure III.8.** Voltampérogrammes cycliques des électrodes de carbone vitreux modifiées par un film de PPyAB (charge utilisée 6 mC) contenant du cuivre et du nickel, dans une solution de  $\text{Na}_2\text{SO}_4 10^{-1} \text{ M}$ , à 10 mV/s. Les électrodes sont immergées pendant 10 min dans une solution aqueuse de  $(\text{NiSO}_4 + \text{CuSO}_4) 10^{-1} \text{ M}$ , à différents pH : (a) 1, (b) 3, (c) 4 et (d) 5.

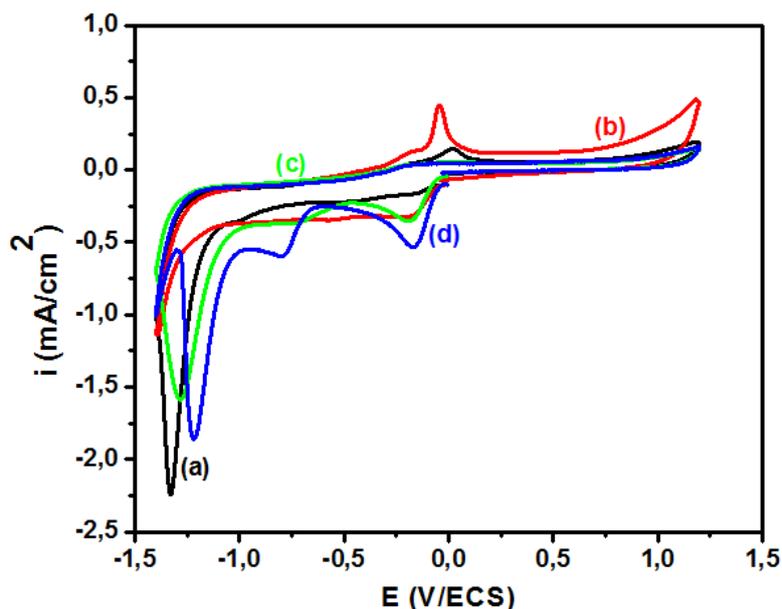
Les voltammogrammes cycliques présentent des pics cathodiques dont le premier est à - 0,18 V/ECS, attribué à la réduction des cations  $\text{Cu}^{2+}$  non complexés, qui diffusent à travers le polymère de la solution vers l'interface polymère/carbone vitreux (courbes b, c et d), le second est observé à - 0,68 V/ECS, correspond à la réduction du complexe cuivre-polymère [2] et le troisième pic cathodique observé à - 1,14 V/ECS, correspond à la réduction du nickel [3]. Cette réduction est en compétition avec la réduction des protons du film de polymère.

Lors du balayage de potentiel positif, un pic d'oxydation est observé à - 0,25 V/ECS, correspondant à la dissolution du cuivre localisé à l'interface carbone/polymère. On remarque aussi l'absence du pic d'oxydation du nickel. A pH 1, les voltammogrammes ne présentent que l'activité du solvant-électrolytes. En effet, à ce pH, les cations du cuivre et du nickel ne sont pas retenus dans le film de polymère ni par complexation ni par interaction. En augmentant le pH du milieu, On remarque l'apparition des pics de réduction et d'oxydation, leurs hauteurs sont plus importantes dans le cas de pH 5. Ceci est probablement dû à la déprotonation du groupement carboxylique présent dans le film de polymère qui à partir du pH 3. Donc, l'incorporation des cations  $\text{Ni}^{2+}$  et  $\text{Cu}^{2+}$  dans le film de PPyAB est due à une complexation plutôt qu'à un échange d'ion.

### **III.2.1.2. Effet de la concentration de la solution de complexation sur le taux d'incorporation**

Des électrodes de carbone vitreux modifiées par des films de PPyAB obtenus après passage d'une charge de 6 mC, ont été trempées pendant 15 min dans une solution aqueuse ( $\text{NiSO}_4 + \text{CuSO}_4$ ) à pH 4, à différentes concentrations : (a)  $10^{-4}$  M, (b)  $10^{-3}$  M, (c)  $10^{-2}$  M et (d)  $10^{-1}$  M. Les électrodes obtenues sont rincées à l'eau pour éliminer l'excès des cations métalliques non associés aux films de PPyAB. Elles ont été ensuite étudiées par voltammétrie cyclique dans une solution aqueuse  $10^{-1}$  M en  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Les courbes de voltammétrie cyclique correspondantes sont présentées dans la figure III.9.

Comme le montre, les voltampérogrammes cycliques, on observe lors du balayage de potentiel positif, deux pics anodiques et lors de balayage de potentiel négatif trois pics cathodiques qui correspondent aux différents états d'oxydation et de réduction des deux métaux de transitions incorporés dans le film de polymère. En augmentant la concentration des solutions de complexation de  $10^{-4}$  à  $10^{-1}$  M, on remarque une évolution des pics caractéristiques du cuivre et du nickel. Ce qui démontre l'incorporation plus importante de ces particules métalliques.

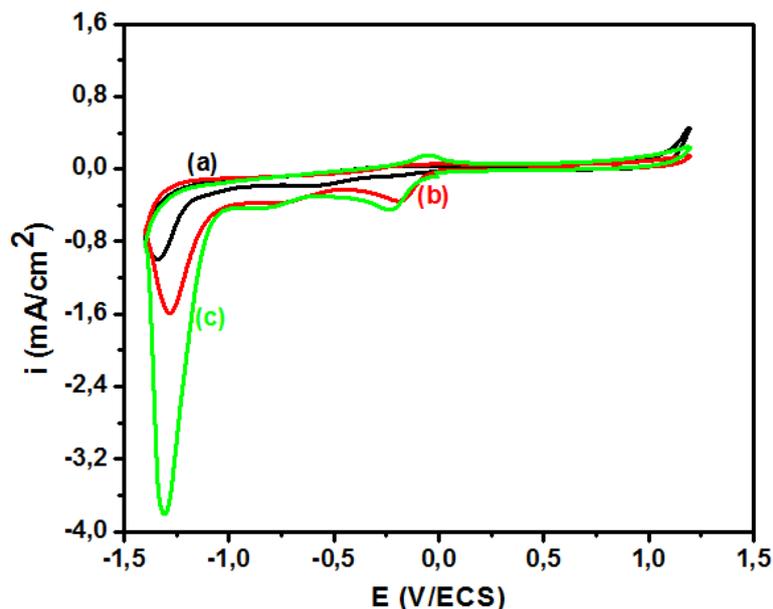


**Figure III.9.** Voltampérogrammes cycliques du nickel et du cuivre incorporé dans les films de PPyAB (charge utilisée 6 mC), après immersion pendant 15 min dans une solution aqueuse de  $(\text{NiSO}_4 + \text{CuSO}_4)$  à pH 4, à différentes concentrations : (a)  $10^{-4}$  M, (b)  $10^{-3}$  M, (c)  $10^{-2}$  M et (d)  $10^{-1}$  M. L'analyse faite dans une solution aqueuse contenant  $\text{Na}_2\text{SO}_4$   $10^{-1}$  M à 10 mV/s.

### III.2.1.3. Influence de la charge utilisée pour fabriquer les films du PPyAB sur le taux d'incorporation

La figure III.10 représente les voltampérogrammes cycliques du nickel et du cuivre incorporé dans les films de PPyAB, obtenus respectivement après une charge consommée de : (a) 3 mC, (b) 6 mC et (c) 12 mC. Ces électrodes modifiées ont été plongées pendant 15 min dans une solution aqueuse de  $(\text{NiSO}_4 + \text{CuSO}_4)$   $10^{-2}$  M à pH 4, puis rincée à l'eau pour éliminer l'excès de cations  $\text{Cu}^{2+}$  et  $\text{Ni}^{2+}$  non associés aux films de PPyAB. L'étude est effectuée dans une solution aqueuse contenant  $\text{Na}_2\text{SO}_4$   $10^{-1}$  M exempte de nickel et du cuivre pour décomposer les complexes formés dans les films de PPyAB et ainsi y faire précipiter les métaux de transition.

On remarque que l'intensité des pics de réduction du cuivre et du nickel augmentent avec l'épaisseur du film de polymère. La quantité des cations métalliques incorporés est par conséquent plus importante.

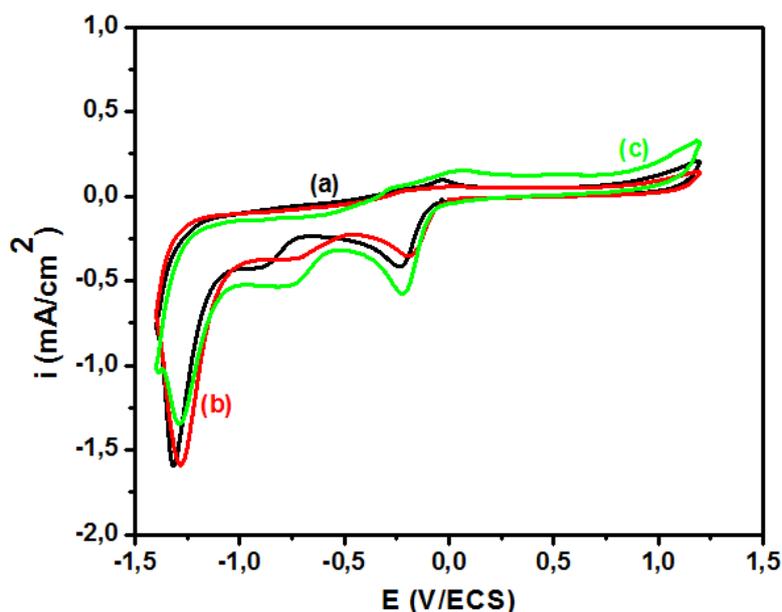


**Figure III.10.** Voltampérogrammes cycliques du nickel et du cuivre incorporé dans les films de PPyAB obtenus respectivement après une charge consommée de : (a) 3 mC, (b) 6 mC et (c) 12 mC, après immersion pendant 15 min dans une solution aqueuse de  $(\text{NiSO}_4 + \text{CuSO}_4) 10^{-2}$  M à pH 4. Etude faite dans une solution aqueuse contenant  $\text{Na}_2\text{SO}_4 10^{-1}$  M à 10 mV/s.

#### III.2.1.4. Effet de la durée de trempage des films du PPyAB sur le taux d'incorporation

Des électrodes de carbone vitreux modifiées par les films de PPyAB, obtenus après passage d'une charge 6 mC à 0,95 V/ECS, sont plongées dans une solution aqueuse de  $(\text{NiSO}_4 + \text{CuSO}_4) 10^{-2}$  M à pH 4, pour différentes durées de trempage : (a) 5 min, (b) 15 min et (c) 30 min, puis rincée à l'eau pour éliminer l'excès de cations  $\text{Cu}^{2+}$  et  $\text{Ni}^{2+}$  non associés aux films de polymère. Les électrodes modifiées sont ensuite étudiées dans une solution aqueuse  $10^{-1}$  M en  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  exempte des cations métalliques. Le comportement électrochimique des électrodes modifiées par le nickel et le cuivre ont été ensuite étudiées par voltampérométrie cyclique à 10 mV/s (figure III.11).

Les résultats obtenus montrent l'apparition des pics de réduction des deux métaux incorporés dans les films de polymère même pour une durée de trempage n'excédant pas 5 minutes. L'intensité de ces pics augmente avec le temps du trempage. L'augmentation du temps de trempage, permet une diffusion et une complexation plus efficace des cations métalliques dans des films de polymère.



**Figure III.11.** Voltampérogrammes cycliques du nickel et du cuivre incorporé, dans les films de PPyAB (charge utilisée 6 mC), après immersion dans une solution aqueuse de  $(\text{NiSO}_4 + \text{CuSO}_4) 10^{-2} \text{ M}$  à pH 4; pour différentes durées de trempage : (a) 5 min, (b) 15 min et (c) 30 min. Etude faite dans une solution aqueuse contenant  $\text{Na}_2\text{SO}_4 10^{-1} \text{ M}$  à 10 mV/s.

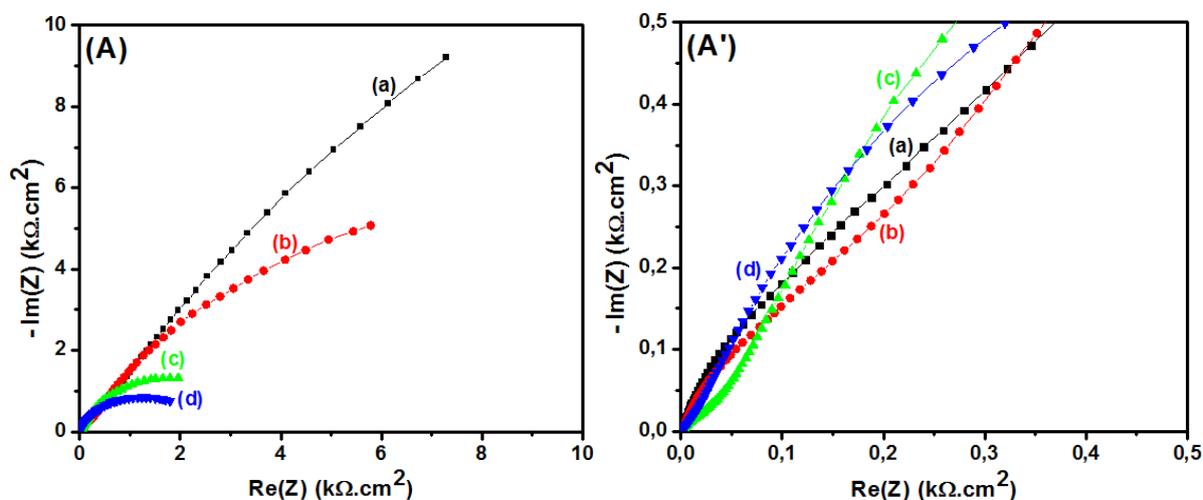
### III.2.2. Caractérisation par spectroscopie d'impédance

#### III.2.2.1. Influence de pH de la solution de complexation sur le taux d'incorporation

La figure III.12 représente les diagrammes d'impédance relatifs aux films de PPyAB (obtenu après passage d'une charge de 6 mC), trempés pendant 10 min dans une solution aqueuse de  $(\text{NiSO}_4 + \text{CuSO}_4) 10^{-1} \text{ M}$ , pour différents pH : (a) 1, (b) 3, (c) 4 et (d) 5, puis rincée à l'eau pour éliminer l'excès de cations  $\text{Cu}^{2+}$  et  $\text{Ni}^{2+}$  non associés aux films de polymère. L'étude est effectuée sur une gamme de fréquences comprise entre 100 kHz et 10 mHz, avec une perturbation de 10 mV, dans un système  $\text{H}_2\text{O}/\text{Na}_2\text{SO}_4 10^{-1} \text{ M}$  au potentiel d'abandon, après la réduction de cations métalliques au potentiel - 1,4 V/ECS pendant 2 min.

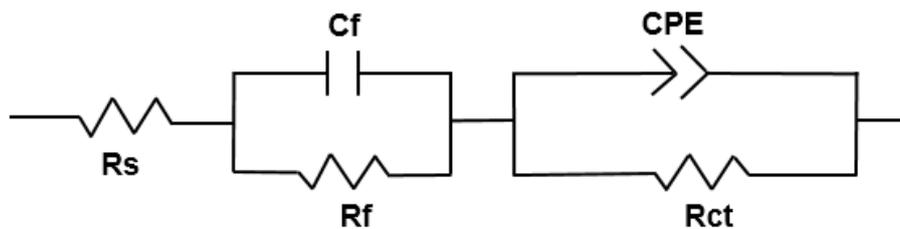
Les diagrammes obtenus, sont composés, généralement par un petit arc de cercle à hautes fréquences suivi d'un grand arc de cercle dans la gamme des basses fréquences suggérant deux systèmes de transfert de charge, qui se produisent aux différentes interfaces du matériau composite CV/PPyAB-M. Les diamètres de deux arcs de cercle diminuent en augmentent le pH de la solution de complexation. Cela suggère une diminution de la résistance et par conséquent une augmentation de la conductivité du film de polymère.

La comparaison des quatre diagrammes montre que l'allure des courbes obtenues dépend de pH de la solution de complexation, suggérant par ce fait que le pH utilisé influe sur le processus cinétique se produisant à l'électrode.



**Figure III.12.** Diagrammes d'impédance relatifs aux films de PPyAB (charge utilisée 6 mC), après trempage pendant 10 min dans des solutions aqueuses ( $\text{NiSO}_4 + \text{CuSO}_4$ )  $10^{-1}$  M, à différents pH : (a) 1, (b) 3, (c) 4 et (d) 5, suivi d'une réduction de cations métalliques à - 1,4 V/ECS dans une solution aqueuse contenant  $\text{Na}_2\text{SO}_4$   $10^{-1}$  M, sur une gamme de fréquences comprise entre 100 kHz et 10 mHz, avec une perturbation de 10 mV. (A') est l'agrandissement de (A).

Les diagrammes de Nyquist relatifs aux électrodes de carbone vitreux modifiées par les films de PPyAB contenant de cuivre et de nickel ont été analysés en utilisant le modèle du circuit équivalent, approprié pour des films de polymères conducteurs déposés sur des surfaces d'électrodes, décrit dans la littérature [4-6]. Nous ne considérons que le simple circuit équivalent illustré à la figure III.13, où les différents paramètres électriques apportés dans les mesures d'impédance électrochimique sont représentés par : la résistance de la solution ( $R_s$ ), la capacité du film de polymère ( $C_f$ ), la résistance du film de polymère ( $R_f$ ), l'élément de phase constante (CPE) et la résistance de transfert de charge à l'interface polymère/électrolyte ( $R_{ct}$ ).

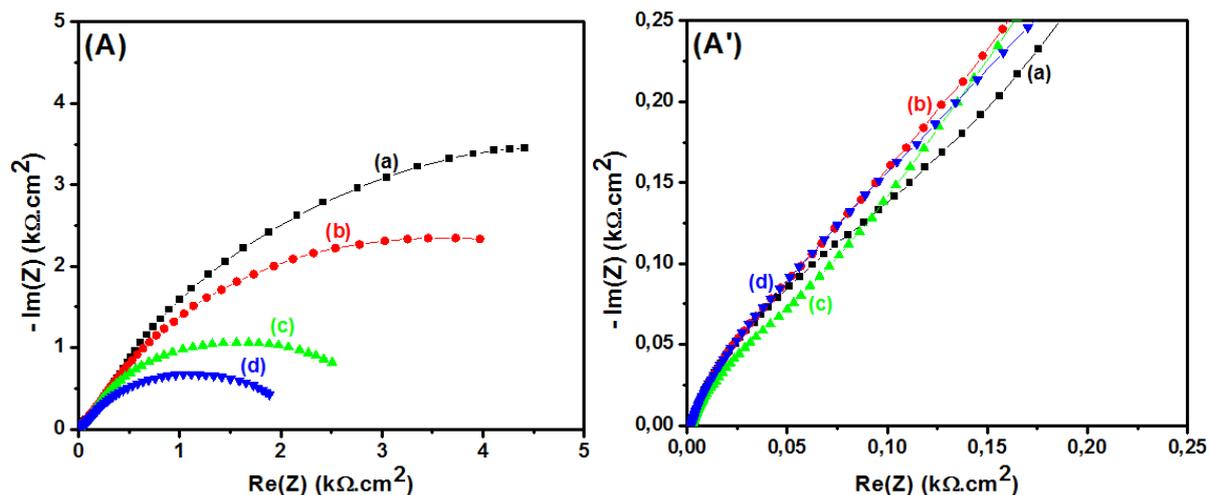


**Figure III.13.** Modèle de circuit électrique équivalent pour les matériaux composites CV/PPyAB-M.

### III.2.2.2. Effet de la concentration de la solution de complexation sur le taux d'incorporation

La figure III.14 représente les diagrammes de Nyquist ; variation de la partie imaginaire en fonction de la partie réelle relatifs aux films de PPyAB, obtenu après passage de 6 mC à un potentiel imposé 0,95 V/ECS, déposé sur les électrodes de carbone vitreux. Les électrodes modifiées sont immergées pendant 15 min dans une solution aqueuse ( $\text{NiSO}_4 + \text{CuSO}_4$ ) à pH 4 ; à différentes concentrations : (a)  $10^{-4}$  M, (b)  $10^{-3}$  M, (c)  $10^{-2}$  M et (d)  $10^{-1}$  M. Les électrodes obtenues sont rincées à l'eau pour éliminer l'excès des cations métalliques non associés aux films de PPyAB, suivi d'une réduction de cations métalliques au potentiel - 1,4 V/ECS pendant 2 min dans un système  $\text{H}_2\text{O}/\text{Na}_2\text{SO}_4$   $10^{-1}$  M. L'étude est effectuée sur une gamme de fréquences comprise entre 100 kHz et 10 mHz au potentiel d'abandon, avec une perturbation de 10 mV, dans un système  $\text{H}_2\text{O}/\text{Na}_2\text{SO}_4$   $10^{-1}$  M au potentiel d'abandon.

Les diagrammes d'impédances montrent deux arcs de cercle, l'un vers les hautes valeurs de fréquences et l'autre vers les faibles valeurs de fréquences qui sont caractéristiques de deux processus de transfert de charge. Les diamètres de deux arcs de cercles diminuent avec l'augmentation de la concentration de cations métalliques dans la solution de complexation. La comparaison des quatre diagrammes montre que l'allure (la forme) des courbes obtenues est similaire dans les trois cas de solution de complexation suggérant par ce fait que la concentration n'influe pas sur le processus cinétique se produisant à l'électrode.



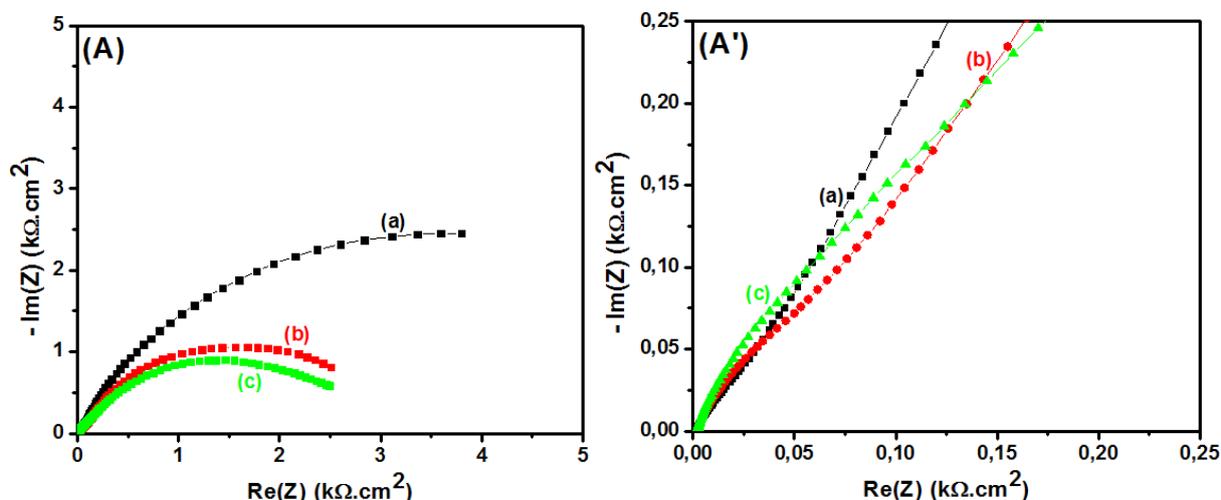
**Figure III.14.** Diagrammes de Nyquist correspondant respectivement aux films PPyAB (charge utilisée 6 mC), après trempage pendant 15 min dans une solution aqueuse ( $\text{NiSO}_4 + \text{CuSO}_4$ ) à pH 4, à différentes concentrations : (a)  $10^{-4}$  M, (b)  $10^{-3}$  M, (c)  $10^{-2}$  M et (d)  $10^{-1}$  M, suivi d'une réduction de cations métalliques à - 1,4 V/ECS dans une solution aqueuse contenant  $\text{Na}_2\text{SO}_4$   $10^{-1}$  M, sur une gamme de fréquences comprise entre 100 kHz et 10 mHz, avec une perturbation de 10 mV. (A') est l'agrandissement de (A).

### III.2.2.3. Influence de la charge utilisée pour fabriquer les films du PPyAB sur le taux d'incorporation

La figure III.15 représente trois diagrammes d'impédance relatifs aux films de PPyAB obtenus respectivement après une charge consommée de : (a) 3 mC, (b) 6 mC et (c) 12 mC, suivi d'immersion pendant 15 min dans une solution aqueuse ( $\text{NiSO}_4 + \text{CuSO}_4$ ) à pH 4. Les électrodes obtenues sont rincées à l'eau pour éliminer l'excès des cations métalliques non associés aux films de PPyAB, suivi d'une réduction de cations métalliques au potentiel - 1,4 V/ECS pendant 2 min dans un système  $\text{H}_2\text{O}/\text{Na}_2\text{SO}_4$   $10^{-1}$  M. L'étude est effectuée sur une gamme de fréquences comprise entre 100 kHz et 10 mHz, avec une perturbation de 10 mV, dans un système  $\text{H}_2\text{O}/\text{Na}_2\text{SO}_4$   $10^{-1}$  M au potentiel d'abandon.

Les diagrammes obtenus sont caractérisés, dans la plus part des cas, et ce dans toute la gamme de fréquences par deux arcs de cercle, suggérant deux systèmes de transfert de charge. Le rayon du demi-cercle a été le plus important dans le cas de la plus faible charge (3 mC), suggérant par ce fait que le film obtenu est moins conducteur et plus capacitif.

La comparaison des trois diagrammes montre que l'allure des courbes obtenues est indépendante de la charge d'électricité consommée suggérant par ce fait que la charge utilisée pour fabriquer le film n'influe pas sur le processus cinétique se produisant à l'électrode.

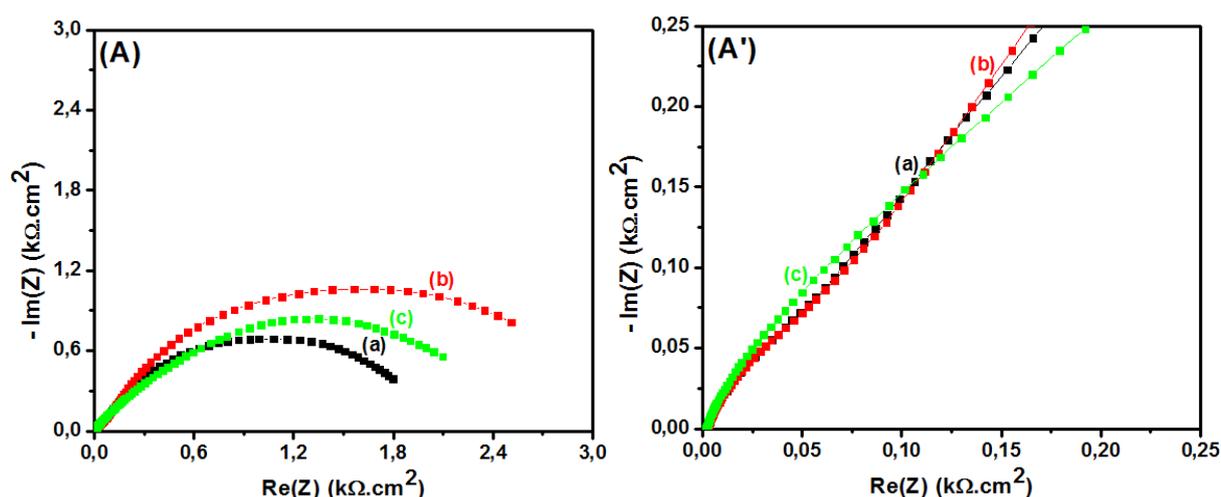


**Figure III.15.** Diagrammes d'impédance relatifs aux films PPyAB obtenus après passage : (a) 3 mC, (b) 6 mC et (c) 12 mC, après trempage pendant 15 min dans une solution aqueuse de  $(\text{NiSO}_4 + \text{CuSO}_4)$  à pH 4, suivi d'une réduction de cations métalliques à  $-1,4 \text{ V/ECS}$  ; dans une solution aqueuse contenant  $\text{Na}_2\text{SO}_4 10^{-1} \text{ M}$ , sur une gamme de fréquences comprise entre 100 kHz et 10 mHz, avec une perturbation de 10 mV. (A') est l'agrandissement de (A).

#### III.2.2.4. Effet de la durée de trempage des films du PPyAB sur le taux d'incorporation

La figure III.16 représente les diagrammes de Nyquist, variation de la partie imaginaire en fonction de la partie réelle correspondent aux films PPyAB obtenus après passage de 6 mC à un potentiel imposé  $0,95 \text{ V/ECS}$ , déposé sur les électrodes de carbone vitreux. Ils sont tracés au potentiel d'abandon, sur une gamme de fréquences comprise entre 100 kHz et 10 mHz, avec une perturbation de 10 mV, après trempage dans une solution aqueuse de  $(\text{NiSO}_4 + \text{CuSO}_4) 10^{-2} \text{ M}$  à pH 4, pour différentes durées du trempage : (a) 5 min, (b) 15 min et (c) 30 min, suivi de la réduction de cations  $\text{Cu}^{2+}$  et  $\text{Ni}^{2+}$  dispersé dans le polymère, au potentiel  $-1,4 \text{ V/ECS}$  dans un système  $\text{H}_2\text{O}/\text{Na}_2\text{SO}_4 10^{-1} \text{ M}$ .

Les courbes obtenues sont souvent caractérisées, par deux demi-cercles, suggérant deux systèmes de transfert de charge. Le rayon du demi-cercle a été le plus important pour 15 min, suggérant par ce fait que le film obtenu est moins conducteur. La comparaison des trois diagrammes montre que l'allure des courbes obtenues est très similaire montrant par ce fait que le temps d'immersion des matériaux composites CV/PPyAB dans la solution de complexation, n'influe pas beaucoup sur le processus cinétique se produisant à l'électrode. Ceci suggère aussi que ces courbes peuvent être schématisées par un même circuit équivalent décrit ci-haut.



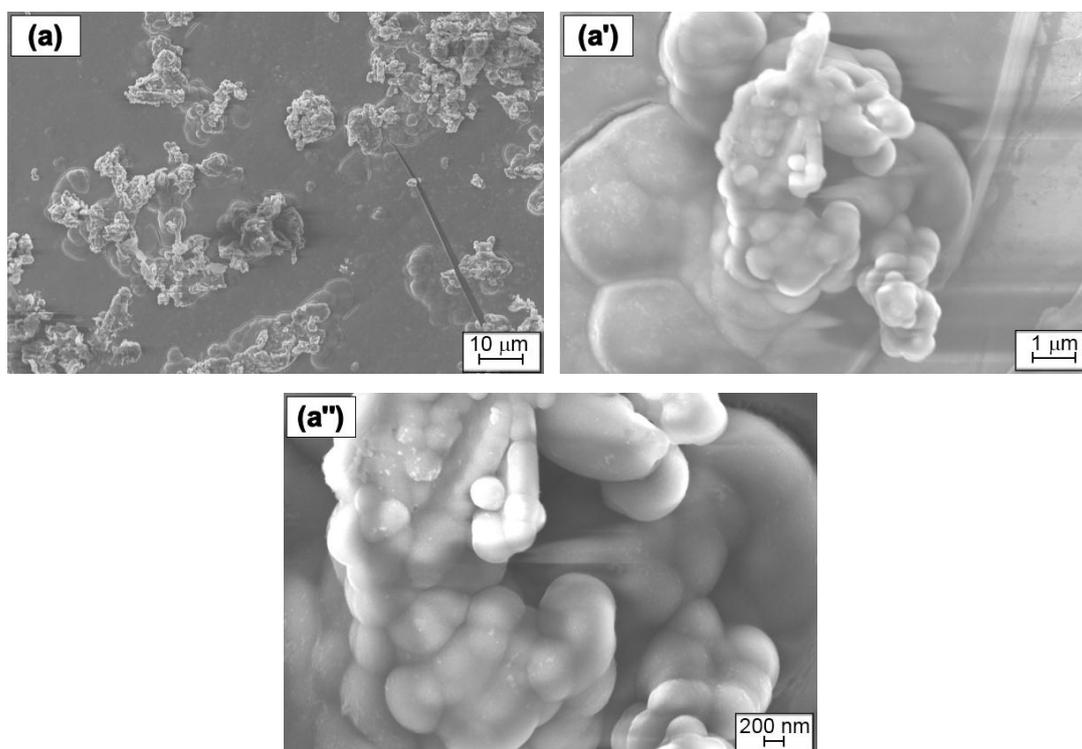
**Figure III.16.** Diagrammes d'impédance relatifs aux films de PPyAB (charge utilisée 6 mC), après trempage dans une solution aqueuse de  $(\text{NiSO}_4 + \text{CuSO}_4) 10^{-2} \text{ M}$  à pH 4, pour différent temps de trempage : (a) 5 min, (b) 15 min et (c) 30 min, suivi d'une réduction de cations métalliques à  $-1,4 \text{ V/ECS}$  ; dans une solution aqueuse contenant  $10^{-1} \text{ M}$  en  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , sur une gamme de fréquences comprise entre 100 kHz et 10 mHz, avec une perturbation de 10 mV. (A') est l'agrandissement de (A).

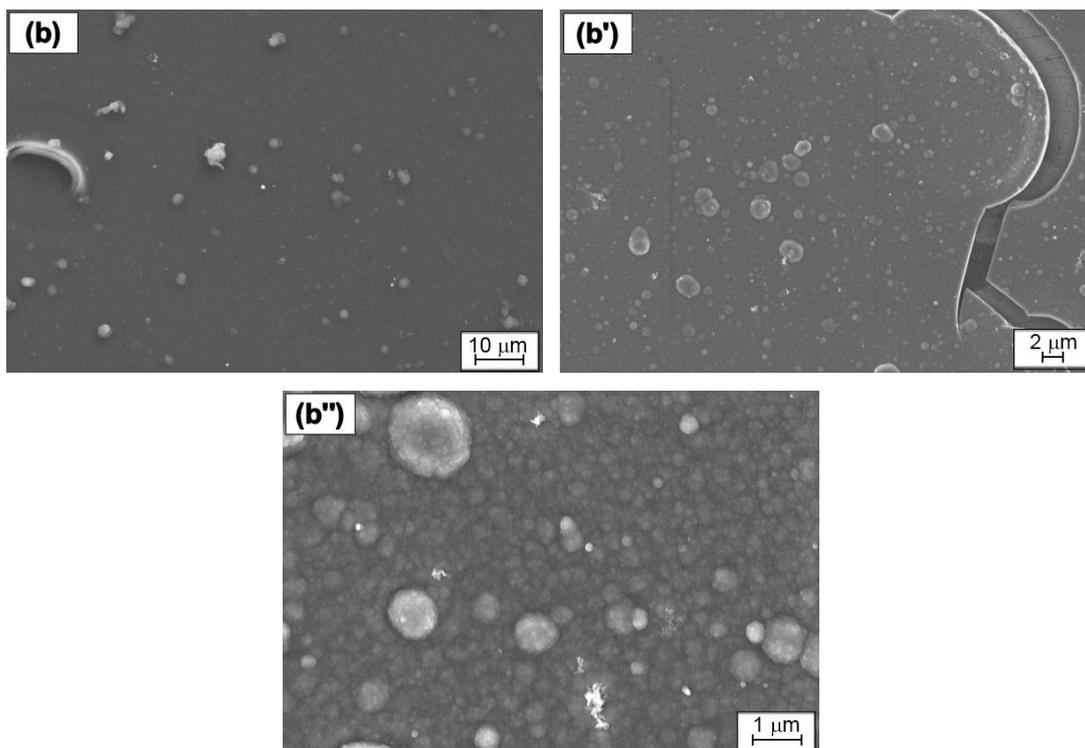
### III.2.3. Caractérisation par microscopie électronique à balayage

La figure III.17 représente les photos MEB correspondant à l'électrode de carbone vitreux modifiée par un film de PPyAB, avant et après immersion dans une solution ( $\text{CuSO}_4 + \text{NiSO}_4$ )  $10^{-2}$  M à pH 4, pendant 30 min, puis réduite à - 1,4 V/ECS dans une solution 0,1 M en  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ .

Les photos MEB montre la présence d'agrégats répartis d'une manière non homogène sur la surface de l'électrode. Comme le montre les photos obtenues avec le grossissement de  $1\ \mu\text{m}$  ou  $200\ \text{nm}$  ; Ces agrégats sont constitués généralement de particules qui sont collées l'une à l'autre, réparties de façon non uniforme dans le film de PPyAB. Remarquons aussi qu'avant ou après immersion la présence de craquelures dans le film ; ceci est une caractéristique du film de polypyrrole. Ces craquelures qui s'effectuent généralement quand le film se sèche, résultent de la mise en contact de ce dernier avec l'oxygène.

La comparaison des photos MEB obtenues avant et après complexation, effectuée par immersion de l'électrode modifiée par le PPyAB, dans une solution contenant des ions de nickel et de cuivre, montre bien une modification de la morphologie de la surface de l'électrode.



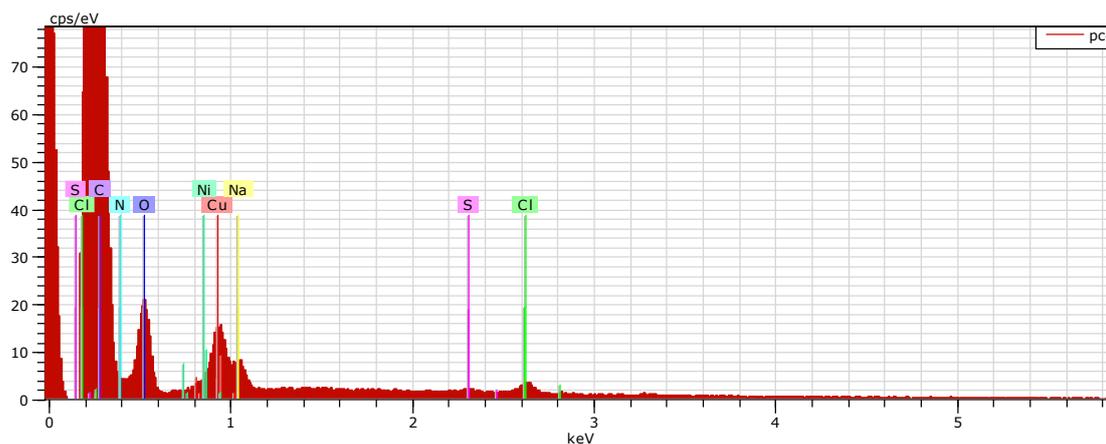


**Figure III.17.** Images MEB des films de PPyAB : (a, a', a'') avant et (b, b', b'') après la complexation de cuivre et de nickel.

#### **III.2.4. Analyse par spectroscopie de rayons X à dispersion d'énergie du polymère modifié par l'incorporation du cuivre et du nickel**

Le spectre EDX de film PPyAB modifié par incorporation du cuivre et du nickel (figure III.18) présente un pic du carbone (C) à 0,25 keV et d'azote (N) à 0,38 keV caractéristiques du PPyAB. Les bandes du Cl à 2,62 KeV, O à 0,53 keV, Na à 1,04 keV et de S à 2,30 keV indiquent que le film de PPyAB est dopé par des ions perchlorates ( $\text{ClO}_4^-$ ) et sulfates ( $\text{SO}_4^{2-}$ ). Ces ions proviennent des sels  $\text{LiClO}_4$  et  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , utilisés comme électrolyte support, respectivement, lors de la synthèse du film en milieu acétonitrile et de l'analyse en milieu aqueux. Nous observons également deux pics à 0,80 et à 0,90 keV respectivement de nickel (Ni) et de cuivre (Cu) montrant par ce fait que ces deux métaux sont incorporés dans le film.

L'intensité du cuivre est plus importante que celle du nickel, ce qui suggère par ce fait que le cuivre s'incorpore beaucoup plus facilement que le nickel. Ceci justifie les résultats obtenus par voltampérométrie cyclique où les intensités des pics du cuivre sont généralement mieux définis et plus intenses.



**Figure III.18.** Analyse par EDX de film de PPyAB après la complexation de cuivre et de nickel.

### III.3. Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons montré qu'il est possible d'incorporer des particules de cuivre et de nickel dans le film de polymère par complexation de cations  $\text{Cu}^{2+}$  et  $\text{Ni}^{2+}$  dans du poly(acide 4-(pyrrol-1-yl methyl) benzoïque), suivie d'une électroréduction.

La déprotonation du polymère en milieu aqueux, en fonction du pH a été étudiée par voltammétrie cyclique et par spectroscopie d'impédance électrochimique.

La complexation in situ des cations cuivre et nickel a été mise en évidence par des études électrochimiques (VC et SIE) et de spectroscopie (MEB et EDX). Ainsi, il a été montré que le taux de complexation varie avec le pH, le temps d'immersion, la charge utilisée pour former le film et la concentration en cations métalliques de la solution de complexation. L'électroréduction des complexes ainsi générés permet la dispersion des particules de métal dans le polymère.

## Références Bibliographiques

- [1] S. Cosnier, A. Deronzier, J.-C. Moutet, J. F. Roland, *J. Electroanal. Chem.* 271 (1989) 69.
- [2] J.-C. Moutet, A. Zouaoui, *Electrochim. Acta* 46 (2001) 4035.
- [3] A. Zouaoui, O. Stéphan, A. Ourari, J.-C. Moutet, *Electrochim. Acta* 46 (2000) 49.
- [4] I. Hafaid, S. Chebil, H. Korri-Youssoufi, F. Bessueille, A. Errachid, Z. Sassi, Z. Ali, A. Abdelghani, N. Jaffrezic-Renault, *Sens. Actuators, B* 144 (2010) 323.
- [5] S. Bourigua, I. Hafaid, H. Korri-Youssoufi, A. Maaref, N. Jaffrezic-Renault, *Sens. Lett.* 7 (2009) 731.
- [6] N. Jaffrezic-Renault, A. Errachid, *Biocybern. Biomed.* 31 (2011) 3.

## *Chapitre IV*

### **BIOCAPTEUR IMPEDIMETRIQUE A BASE DE POLYPYRROLE POUR LA DETECTION DE L'INTERLEUKINE-10 CYTOKINE**

Dans ce chapitre un nouveau biocapteur sensible basé sur le film de poly(pyrrole-silane-co-pyrrole) (SPy-PPy) déposé sur un substrat de nitrure de silicium a été développé dans le but de combiner la haute stabilité de  $\text{Si}_3\text{N}_4$  avec la bonne conductivité de ce polymère organique (PPy). Le biocapteur développé a été utilisé pour la détection de l'interleukine-10 (IL-10). On dépose ici une couche conductrice de polypyrrole par polymérisation oxydante du monomère de pyrrole (Py), en utilisant du  $\text{FeCl}_3$  comme oxydant, sur du nitrure de silicium silanisé par le N- (3-triméthoxysilylpropyl) pyrrole (SPy).

Ainsi, cette partie du travail concerne la fabrication d'un immunocapteur impédimétrique à base de polypyrrole, et ce en vue, de l'utiliser pour le diagnostic précoce de l'inflammation par la détection de l'interleukine-10 (IL-10). La procédure de préparation a été décrite en détail dans la partie expérimentale (chapitre II). L'élaboration des substrats  $\text{Si}/\text{SiO}_2/\text{Si}_3\text{N}_4$ -(SPy-PPy) et  $\text{Si}/\text{SiO}_2/\text{Si}_3\text{N}_4$ -(SPy-PPy)-CMA a été suivie par les diverses méthodes de caractérisations spectrométriques (spectroscopie d'infrarouge à transformée de Fourier (FTIR), microscopie électronique à balayage (MEB)) et électrochimiques (voltammétrie cyclique (VC) et spectroscopie d'impédance électrochimique (SIE)).

#### **IV.1. Fabrication et caractérisation d'un biocapteur à base de polypyrrole**

##### **IV.1.1. Caractérisation par mesure d'angle de contact**

Dans ce travail, nous nous sommes intéressés à la caractérisation de la surface de nitrure de silicium ( $\text{Si}_3\text{N}_4$ ) qui est d'un grand intérêt pour l'élaboration de dispositifs électrochimiques (capteurs). En effet, l'état de surface joue un rôle clé dans la performance d'un tel dispositif, notamment lorsqu'il est appliqué aux biocapteurs.

Par conséquent, des substrats Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> et de l'eau (liquide sonde) ont été utilisés pour caractériser l'hydrophile et l'hydrophobie de Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> avant et après nettoyage/activation et après silanisation avec une couche de SPy, respectivement par mesure d'angle de contact ( $\theta$ ) entre les deux phases (tableau IV.1). Avant le nettoyage, la surface du substrat Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> présente un caractère hydrophobe marqué par un angle de contact égal à 54 °. Après les processus de nettoyage/activation, comme décrit dans la section expérimentale (partie II), la surface est devenue active ( $\theta = 12$  °). Puis après, la mesure dynamique de l'angle de contact ( $\theta = 52$  °) de la surface Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> modifiée par le SPy indique le caractère hydrophobe qui confirme le succès de la fixation SPy et montre l'hydrophobie de SPy obtenue par le procédé de dépôt. De plus, l'obtention du même angle de contact en différents points de la surface atteste de l'homogénéité du dépôt SPy sur la surface du substrat.

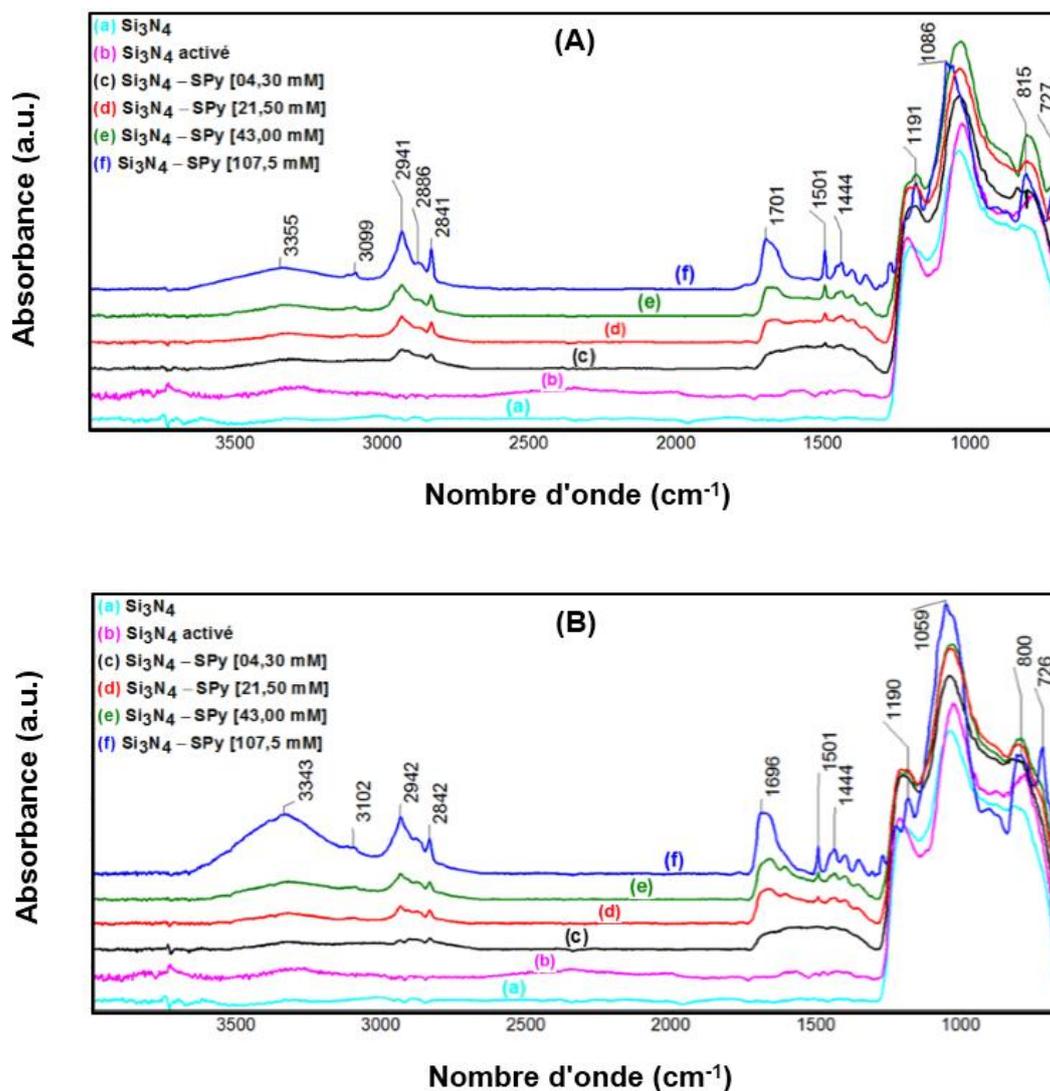
**Tableau IV.1.** Mesures de l'angle de contact des substrats Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> non nettoyés, propres/activés et SPy-modifiés.

Si/SiO <sub>2</sub> /Si <sub>3</sub> N <sub>4</sub> Avant le nettoyage	Si/SiO <sub>2</sub> /Si <sub>3</sub> N <sub>4</sub> Après le nettoyage /activation	Si/SiO <sub>2</sub> /Si <sub>3</sub> N <sub>4</sub> Après la salinisation avec SPy
		
54 ± 1 °	12 ± 1 °	52 ± 1 °

#### IV.1.2. Caractérisation des substrats Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-(SPy-PPy) par spectroscopie infrarouge

Les surfaces des substrats Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> ont été examinées par une analyse FTIR. Comme le montre clairement la figure IV.1, les spectres FTIR obtenus avant et après l'activation montrent des bandes intenses entre 1200 cm<sup>-1</sup> et 800 cm<sup>-1</sup> attribuées respectivement aux liaisons Si-O et Si-N du substrat. Après l'activation des substrats, une bande légèrement large entre 3200-3400 cm<sup>-1</sup> a été apparue, suggérant que la surface Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> est rapidement hydrolysée pour générer des groupes -OH sur la surface du substrat [1, 2].

L'effet de la concentration de SPy et de la température de silanisation sur le procédé de silanisation a également été étudié (figure IV.1A et IV.1B pour le groupe 1 et le groupe 2 obtenu respectivement à  $T_{amb}$  et à  $90\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). Les spectres FTIR de tous les substrats modifiés par SPy ( $\text{Si}/\text{SiO}_2/\text{Si}_3\text{N}_4\text{-SPy}$ ) n'ont pas clairement montré les bandes Si-O-Si typiques de Si-O-SPy, en raison du chevauchement avec le signal de substrat, qui apparaît généralement dans la région comprise entre  $800$  et  $1200\text{ cm}^{-1}$ .

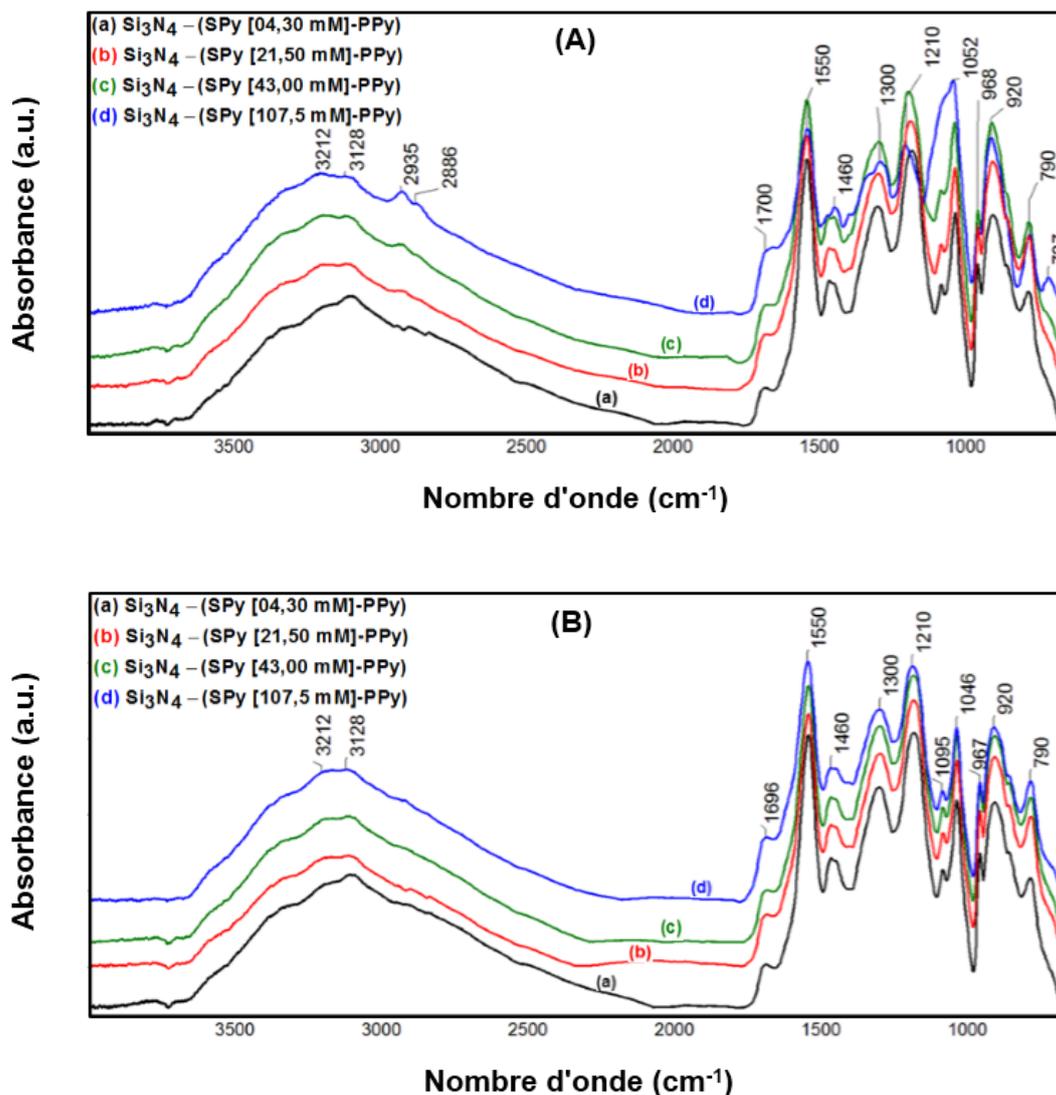


**Figure IV.1.** Spectres FTIR correspondants aux substrats  $\text{Si}/\text{SiO}_2/\text{Si}_3\text{N}_4$  avant et après l'activation, et après traitement à différentes concentrations molaires de SPy à la  $T_{amb}$  (A) et  $90\text{ }^{\circ}\text{C}$  (B).

De plus, les substrats modifiés par le SPy ont montré des bandes de vibration caractéristiques de la molécule de SPy à  $1501\text{ cm}^{-1}$  et  $1444\text{ cm}^{-1}$  attribuées respectivement aux vibrations d'élongation C-C et C-N du cycle pyrrole. Il est à mentionner que l'intensité des bandes caractéristiques est relativement plus intense pour les échantillons traités à la température ambiante que ceux traités à  $90\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Cela peut être dû à l'effet de la chaleur qui peut conduire à l'évaporation de certaines molécules SPy pendant le traitement conduisant à une réduction de la concentration de molécules SPy immobilisées sur la surface de  $\text{Si}_3\text{N}_4$  ; étant donné que l'intensité des bandes d'absorption augmente avec la concentration de SPy.

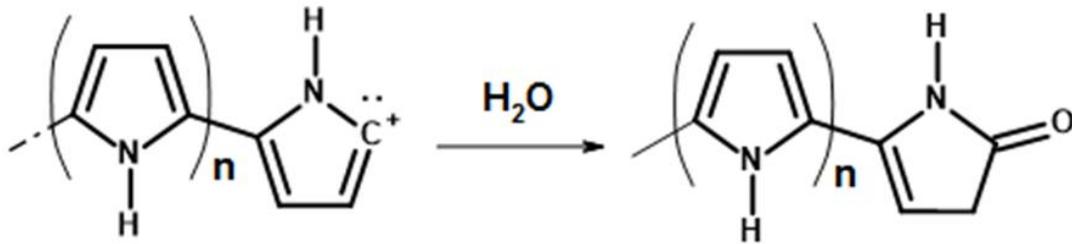
D'autres bandes caractéristiques SPy apparaissent au voisinage  $3100\text{ cm}^{-1}$  attribuée à la vibration d'élongation de C-H du cycle de pyrrole (=C-H) [3] et entre  $2800\text{ cm}^{-1}$  et  $3000\text{ cm}^{-1}$  attribuée aux vibrations d'élongation des groupes aliphatiques  $-\text{CH}_2$  et  $-\text{CH}_3$ . À la concentration la plus élevée ( $107,5\text{ mM}$ ) de SPy, le substrat traité a montré une bande à  $1190\text{ cm}^{-1}$ , caractéristique de la vibration de déformation du  $\text{CH}_3$  du groupe  $\text{Si-O-CH}_3$  et une autre bande proche de  $1090\text{ cm}^{-1}$  pour la vibration de valence asymétrique de la liaison  $\text{Si-O-C}$ . En outre, une large bande entre  $3340\text{-}3350\text{ cm}^{-1}$  est présente pour le substrat traité par SPy. Cette bande caractéristique est liée à la vibration d'élongation du groupe  $-\text{OH}$ , suggérant la présence de groupe silanol  $\text{Si-OH}$ . De plus, l'apparition d'une bande à  $1059\text{ cm}^{-1}$ , non observée sur le spectre du SPy pur, semble être caractéristique de la formation de liaison de type  $\text{Si-O-Si}$ .

Après la polymérisation du pyrrole, les bandes de vibration caractéristiques du PPy déposé sur les substrats  $\text{Si/SiO}_2/\text{Si}_3\text{N}_4\text{-SPy}$  sont apparues, confirmant la formation des substrats hybrides  $\text{Si/SiO}_2/\text{Si}_3\text{N}_4\text{-(SPy-PPy)}$ . Comme le montre la figure IV.2A et IV.2B, l'apparition d'un large pic près de  $3200\text{ cm}^{-1}$  est attribuée à la présence de vibrations d'élongation N-H. Les bandes de vibration de déformation du C-N à  $1300\text{ cm}^{-1}$  et de flexion dans le plan du C-H à  $1210\text{ cm}^{-1}$  ont été également observées [4, 5]. Les pics apparaissant à  $3128\text{ cm}^{-1}$ ,  $1550\text{ cm}^{-1}$  et  $1460\text{ cm}^{-1}$  sont attribués respectivement aux vibrations de valence du =C-H, C=C, et C-N du cycle de pyrrole [5-7]. De plus, les bandes caractéristiques du PPy ont été observées à  $920\text{ cm}^{-1}$  et à  $790\text{ cm}^{-1}$  en raison du cycle C-H hors du plan de mode flexion [8, 9].



**Figure IV.2.** Spectres FTIR de la couche PPy déposée sur les substrats Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> traités par SPy avec différentes concentrations molaires de SPy à T<sub>amb</sub> (A) et à 90 °C (B).

En outre, une nouvelle bande autour de 1700 cm<sup>-1</sup> a également été observée, celle-ci est liée à la vibration d'élongation du groupement carbonyle (C=O). L'apparition de ce groupe peut être attribuée à la réaction entre les cations radicalaires du pyrrole et l'eau qui conduisent à la résiliation ou l'extinction de la réaction de polymérisation [10-12], comme indiqué dans le schéma IV.1, ou en raison de l'oxydation en présence d'oxygène et d'eau pendant le processus de séchage [4]. En fait, indépendamment de la concentration de SPy ou de la température de silanisation, l'analyse des spectres FTIR a prouvé la silanisation de la surface Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> et le dépôt chimique efficace de la couche PPy, formant des substrats hybrides Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-(SPy-PPy).



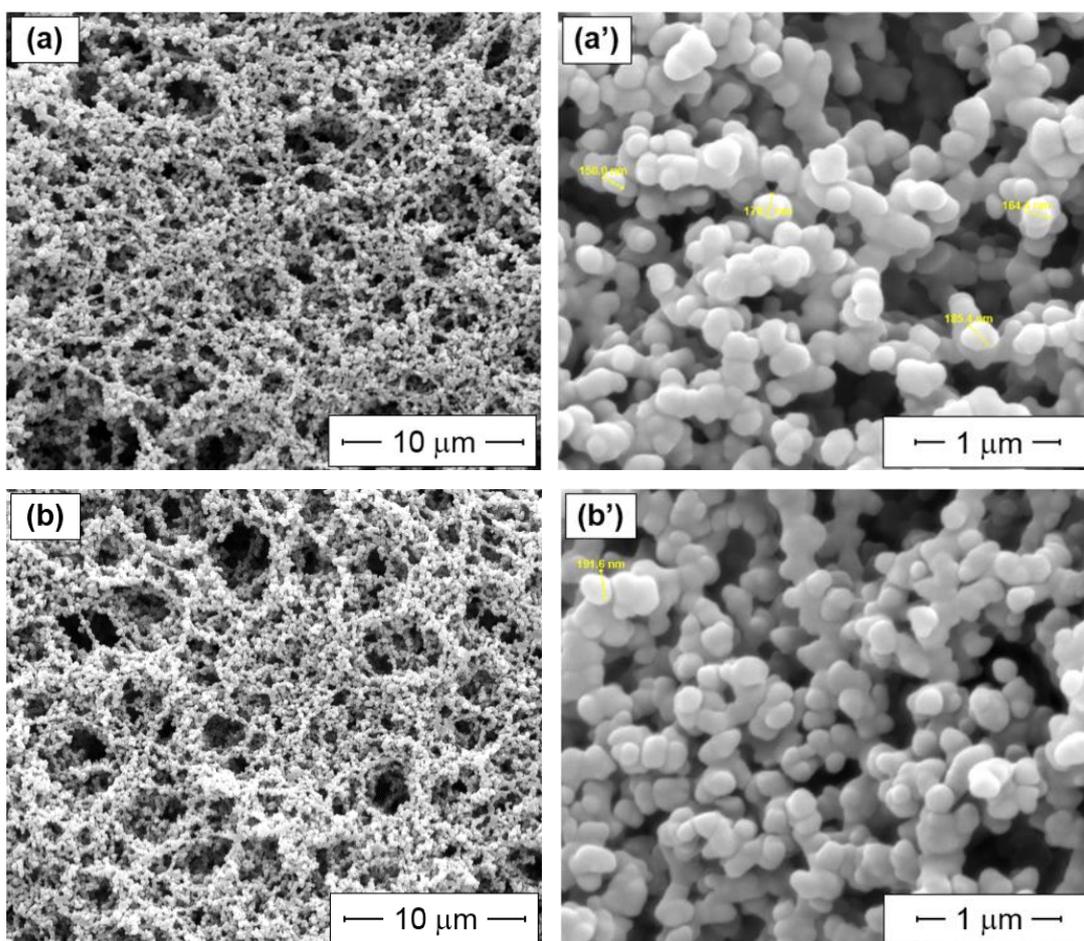
**Schéma IV.1.** Schéma proposé pour la terminaison de la polymérisation du pyrrole par la réaction de propagation du radical cation de PPy avec de l'eau [6].

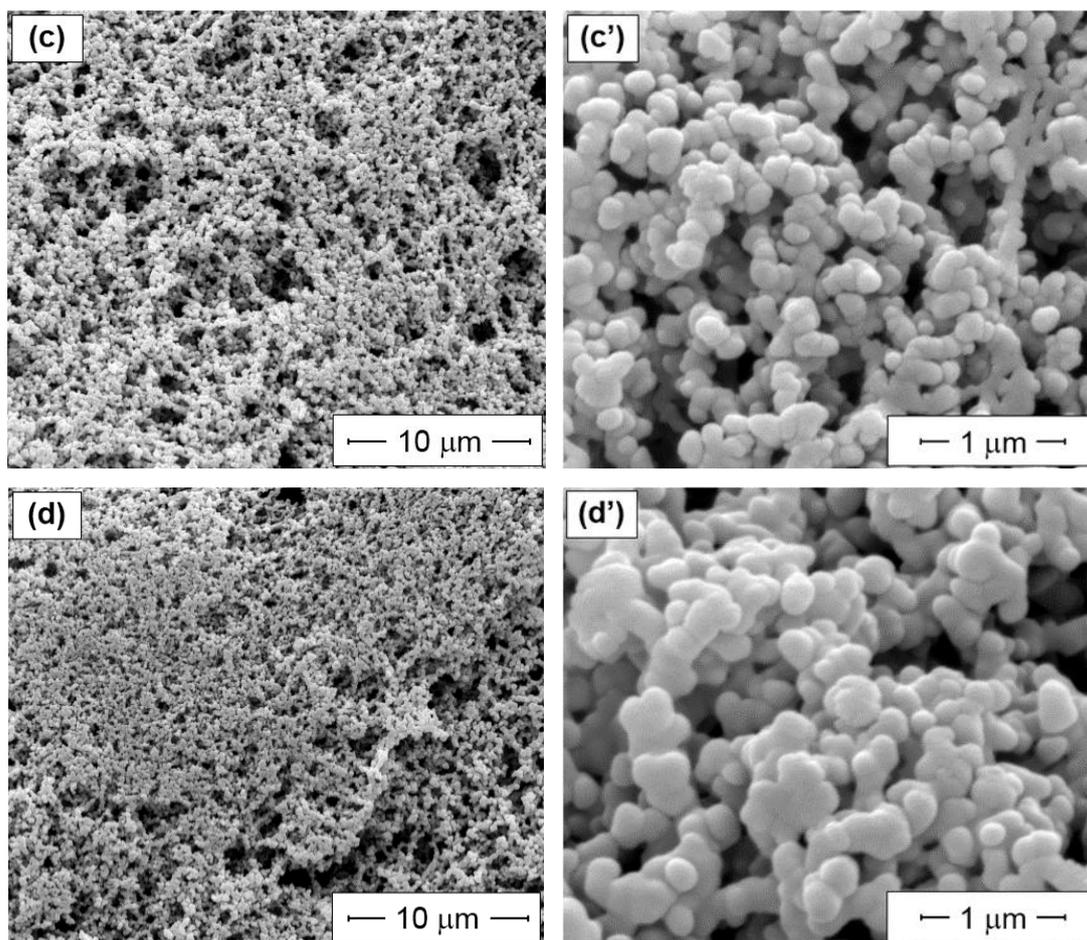
Il est à noter que les spectres enregistrés à la même température ne présentent aucune différence significative entre eux, ceci montre que la température de séchage ne modifie pas les propriétés physiques ou structurales de la plaque. Cependant une augmentation de l'intensité des bandes d'absorption en fonction de la concentration du SPy a été observée. Ceci montre que ce dernier peut bien servir comme base d'accrochage du PPy et que le taux de recouvrement de la surface modifiée par le PPy varie avec la concentration de SPy. Enfin, les spectres infrarouges ont montré la formation des surfaces  $\text{Si}_3\text{N}_4$  modifiée par le PPy, quelle que soit la concentration de SPy ou la température de la réaction.

#### **IV.1.3. Caractérisation morphologique par microscopie électronique à balayage des films de PPy**

La morphologie de la couche PPy déposée sur des substrats  $\text{Si}/\text{SiO}_2/\text{Si}_3\text{N}_4$  modifiés avec différentes concentrations molaires de SPy à  $90^\circ\text{C}$  a été examinée par MEB (figure IV.3). Les images MEB ont clairement montré le dépôt de la couche PPy sur la surface du substrat  $\text{Si}/\text{SiO}_2/\text{Si}_3\text{N}_4\text{-SPy}$ . La couche PPy a été déposée sous la forme de grains ou de particules emmêlées l'une avec l'autre, formant une structure poreuse uniforme. La taille de ces grains varie entre 150 nm et 379 nm. Il est intéressant de noter que la couche PPy déposée à faible concentration SPy (4,3 mM) contient des ponts à structure géométrique uniforme. En augmentant progressivement la concentration de SPy, les grains de PPy ont été fusionnés. En conséquence, des couches PPy moins poreuses et beaucoup plus denses ont été obtenues.

Ces observations suggèrent que les particules de PPy ont été déposées de manière covalente sur la couche SPy des substrats silanisés (Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-SPy) qui ont modifié de façon significative la morphologie finale du polymère PPy. Ceci a été mis en évidence par l'apparition de particules PPy relativement empilées sur une couche de molécules SPy. En outre, la structure géométrique uniforme des particules PPy indique que les molécules SPy sous la couche PPy ont été uniformément réparties sur la surface du substrat Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> qui contribue à la formation de la couche PPy poreuse avec une surface élevée. Cela améliorera à son tour les propriétés physico-chimiques du substrat hybride Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-(SPy-PPy) préparé telles que la réactivité chimique, la conductivité électrique, etc., qui sont considérés comme des exigences de base pour les capteurs électrochimiques.





**Figure IV.3.** Images MEB de la couche PPy déposée sur les substrats Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> traités avec SPy à différentes concentrations molaires à 90 °C : (a, a') 4,3 mM (b, b') 21,5 mM, (c, c') 43 mM, et (d, d') 107,5 mM.

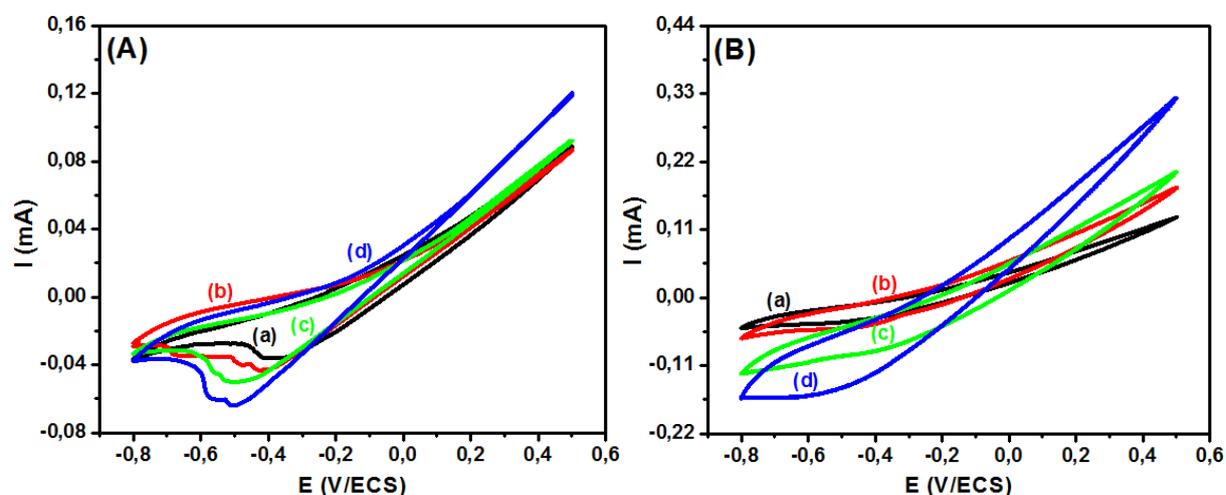
#### IV.1.4. Caractérisation électrochimique des substrats Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-(SPy-PPy)

##### IV.1.4.1. Analyse par voltampérométrie cyclique

Les substrats préparés, Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-(SPy-PPy), modifiés avec SPy à différentes concentrations et à différentes températures (à T<sub>amb</sub> (groupe 1) et à 90 °C (groupe 2)) ont été caractérisés par VC pour analyser le comportement électrochimique de la couche de PPy (figure IV.4). Les courbes ont été enregistrées sur une gamme de potentiel comprise entre - 0,8 et 0,5 V/ECS, à une vitesse du balayage de 25 mV/s. L'analyse de la couche PPy a été réalisée dans une solution tampon PBS d'électrolyte physiologique (pH 7,4), qui est couramment utilisée dans les applications de biocapteurs, car elle est isotonique et non toxique pour la plupart des cellules.

Comme le montrent les voltammogrammes cycliques, aucun pic d'oxydation n'a été observé lors du balayage du potentiel positif pour les substrats du groupe 1 et du groupe 2. Cependant, un fort courant capacitif a été observé lors du balayage de potentiel positif, qui peut être attribué à la surface spécifique importante du film poreux PPy déposé sur le substrat Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>, comme en témoigne les images MEB (figure IV.3).

Dans certains cas de réaction, la contribution du courant capacitif peut être minimisée en diminuant la vitesse de balayage. Cependant, même à faible vitesse de balayage, le courant capacitif reste élevé. En effet, différents phénomènes de polarisation peuvent avoir lieu telle que la polarisation de concentration et de résistance, en raison de la présence de la couche SPy sur l'électrode, ce qui rend la diffusion des espèces électroactives à la surface et à l'intérieur du film difficile. Cela contribue à augmenter le courant capacitif, alors que la contribution du courant faradique devient négligeable.



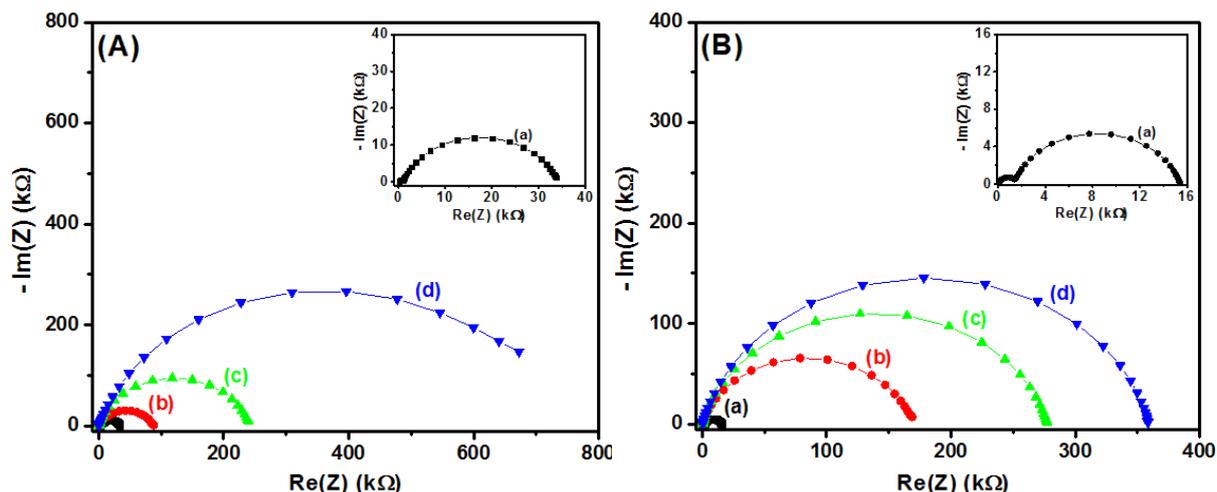
**Figure IV.4.** Voltampérométries cycliques de la couche de PPy déposée sur les substrats Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> modifiés par différentes concentrations de SPy : (a) 4,3 mM, (b) 21,5 mM, (c) 43 mM, et (d) 107,5 mM, à T<sub>amb</sub> (A) et à 90 °C (B) à 25 mV/s.

Lors du balayage de potentiel négatif, un pic de réduction de PPy est observé au environ - 0,4 V/ECS. En outre, une augmentation de l'intensité du courant accompagnée d'un déplacement de potentiel du pic de réduction vers des valeurs de potentiel plus négatives, a été remarquée lors de l'augmentation de la concentration de SPy. Le léger déplacement du potentiel vers des valeurs plus négatives montre une modification des propriétés physico-chimiques de la surface qui a lieu lorsque la concentration de SPy augmente. Ce dernier devient de plus en plus négatif lorsque le taux de recouvrement de la surface par les molécules SPy augmente. On remarque aussi que ces voltampérogrammes cycliques sont nettement inclinés, plus particulièrement dans le cas du groupe 2 (traitement SPy à 90 °C), et progressivement en augmentant la concentration SPy.

#### **IV.1.4.2. Analyse par spectroscopie d'impédance électrochimique**

Les mesures SIE du substrat hybride Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-(SPy-PPy) modifié avec différentes concentrations SPy à deux températures différentes (groupe 1 et groupe 2) sont représentées sur la figure IV.5. L'analyse SIE a été réalisée dans une solution physiologique PBS (pH 7,4) à un potentiel appliqué de - 0.1 V/ECS, sur une gamme de fréquence comprise entre 100 kHz et 50 mHz, et à une tension alternative de 25 mV. Les diagrammes de Nyquist des films PPy sont obtenus pour les différentes concentrations SPy, où Re(Z) est la partie réelle et Im(Z) est la partie imaginaire de l'impédance de complexe Z (figure IV.5).

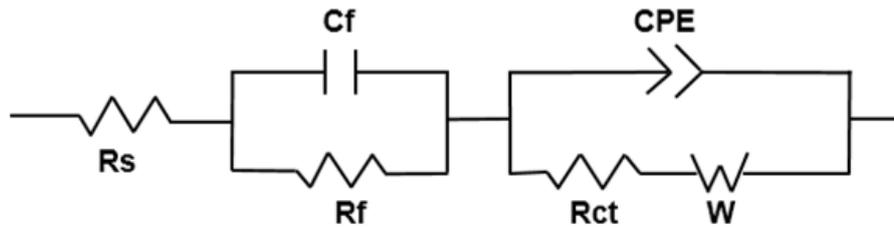
Ces diagrammes sont composés de deux demi-cercles pour des faibles concentrations de SPy et d'un seul arc de cercle pour des concentrations élevées. Ils sont caractéristiques du processus de transfert de charge à travers la couche PPy. Les propriétés électriques dépendent de la nature et de la structure du film formé sur Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-SPy, qui, elles, dépendent de la concentration de SPy. En effet, le diamètre des demi-cercles augmente avec la concentration SPy, ce qui indique une augmentation de la résistance de transfert de charge ( $R_{ct}$ ), qui se traduit par une diminution de la conductivité électrique de la couche PPy. La présence de la couche SPy à des concentrations plus élevées sur le substrat Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> rend le substrat moins conducteur et par conséquent empêche ou retarde le processus de transfert d'électrons. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par M. Micusik et coll. [13].



**Figure IV.5.** Diagrammes de Nyquist de la couche de PPy déposée sur les substrats Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> modifiés par SPy à différentes concentrations: (a) 4,3 mM, (b) 21,5 mM, (c) 43 mM, et (d) 107,5 mM, à T<sub>amb</sub> (groupe 1) (A) et à 90 °C (groupe 2) (B), sur une gamme de fréquence comprise entre 100 kHz et 50 mHz, avec une perturbation de 25 mV.

Les diagrammes d'impédance obtenus sous forme de boucles capacitives pourraient être bien expliqués par la forte contribution du courant capacitif, comme il a été indiqué précédemment lors des tracés des voltampérogrammes cycliques, où une forme inclinée de la courbe (mal définie) résultant d'une forte participation du courant capacitif est observée lors de balayage de potentiel positif du VC (figure IV.4). Les diagrammes de Nyquist des substrats Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-(SPy-PPy) ont été analysés en utilisant le modèle du circuit équivalent, approprié pour des films de polymères conducteurs déposés sur des surfaces d'électrodes, décrit dans la littérature [14-16].

Nous ne considérons que le simple circuit équivalent illustré à la figure IV.6, où les différents paramètres électriques apportés dans les mesures d'impédance électrochimique sont représentés par : la résistance de la solution ( $R_s$ ), la capacité du film de polymère ( $C_f$ ), la résistance du film de polymère ( $R_f$ ), l'élément de phase constante ( $CPE$ ), la résistance de transfert de charge à l'interface polymère/électrolyte ( $R_{ct}$ ), et l'impédance de Warburg ( $W$ ) découlant de la diffusion des espèces d'électrolytes à travers la couche de diffusion de Nernst.



**Figure IV.6.** Modèle de circuit électrique équivalent pour les matériaux hybrides Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-(SPy-PPy).

Les valeurs des paramètres électriques obtenues à partir des données ajustées sont résumées dans le tableau IV.2. Tous les paramètres électriques ont été obtenus avec un très bon ajustement (c'est-à-dire avec des valeurs de coefficient de corrélation de très faible ajustement  $x^2$ ), où ( $C_{SPy}$ ) est la concentration de SPy,  $\alpha$  est le coefficient de déphasage et sa valeur  $0 < \alpha < 1$ , ( $W$ ) est l'impédance de diffusion de Warburg et  $x^2$  est le coefficient de corrélation de l'ajustement.

En fait, ce circuit équivalent permet de distinguer les caractéristiques électriques intrinsèques liées à  $C_f$  et  $R_f$  du film de polymère, qui sont liées à la mobilité des charges ioniques à travers le squelette du polymère pendant le processus de dopage/dédopage et à la résistance de transfert de charge ( $R_{ct}$ ) des interfaces polymère/électrolyte ou électrode/polymère [17]. En ce qui concerne la résistance de transfert de charge ( $R_{ct}$ ), comme indiqué clairement dans le tableau IV.2, la valeur de  $R_{ct}$  augmente avec la concentration de SPy. Cela s'explique par la formation d'une couche isolante dense de SPy qui peut empêcher ou entraver le transfert de charge électronique à travers le film PPy déposé ou résultant d'autres phénomènes physiques. Ceux-ci incluent, par exemple, une dispersion hétérogène des charges provenant de la modification de la morphologie et de la variation de la surface réelle du film PPy, dépendant de la concentration de SPy.

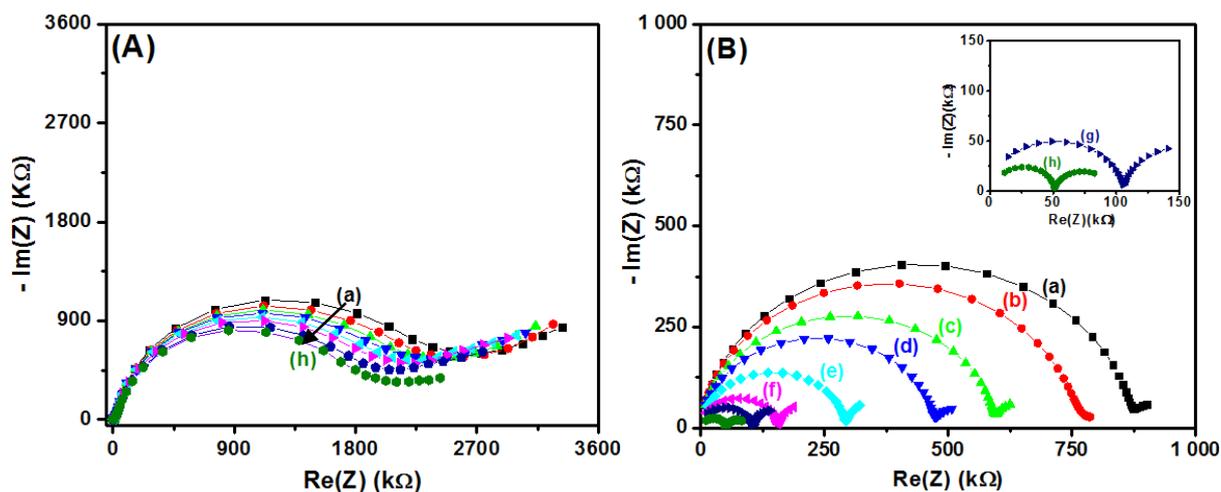
**Tableau IV.2.** Paramètres électrochimiques obtenus à partir d'ajustement des résultats expérimentaux de la couche PPy déposée sur les substrats Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> traités avec différentes concentrations de SPy à T<sub>amb</sub> (groupe 1) et à 90 °C (groupe 2).

Groupe	C <sub>SPy</sub>	R <sub>S</sub>	C <sub>f</sub> 10 <sup>-9</sup>	R <sub>f</sub>	CPE 10 <sup>-9</sup>	α <sub>CPE</sub>	R <sub>ct</sub>	W	x <sup>2</sup>	
n°	(mM)	(Ω)	(F)	(Ω)	(F.s <sup>(α-1)</sup> )		(Ω)	(Ω.s <sup>-1/2</sup> )		
Groupe 1	à T <sub>amb</sub>	4.3	141	13.77	717.7	919.4	0.80	33190	22.32	0.07834
		21.5	109.8	11.53	465.4	162.5	0.78	86412	630.2	0.02213
		43.0	83.86	16.49	320.5	75.29	0.85	239164	2969	0.01298
		107.5	93.21	10.45	335.6	87.42	0.82	688077	83676	0.05840
Groupe 2	à 90 °C	4.3	109.7	6.379	1276	835.1	0.84	13979	21.58	0.06894
		21.5	46.2	9.581	128.3	60.77	0.85	167430	4808	0.05030
		43.0	79.1	13.75	190.9	44.67	0.87	266372	5769	0.03616
		107.5	165.8	5.71	383.3	36.85	0.90	347700	7625	0.01727

En général, on a constaté que les valeurs plus faibles de R<sub>ct</sub> (meilleures conductivités) ont été obtenues pour les substrats Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-(SPy-PPy) traités avec la plus faible concentration de SPy, à T<sub>amb</sub> ou à 90 °C. Cependant, les valeurs de R<sub>ct</sub> sont relativement plus élevées pour les substrats du groupe 1 que ceux du groupe 2. Cela peut être attribué à l'effet du traitement thermique à 90 °C pendant le processus de silanisation, ce qui peut conduire à une évaporation partielle et par conséquent à la diminution de la concentration de molécules SPy sur la surface du substrat Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>. De plus, lors de l'augmentation successive de la concentration de SPy, les valeurs de R<sub>ct</sub> du substrat Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-(SPy-PPy) du groupe 2 sont supérieures à celles du groupe 1. En fait, à haute température, la réaction de SPy en grande quantité avec le substrat activé ne peut pas être contrôlée. Ce phénomène est commun à tous les trialkoxysilanes (par ex. le pyrrole-silane), notons que la polymérisation peut se produire au niveau du groupe silanol libre (Si-OH) de SPy en surface ou en solution avant la condensation avec le substrat solide. Cela conduit à une surface hautement polymérique et hétérogène ou à des molécules SPy n'ayant pas réagi à la surface du substrat, un inconvénient potentiel lors de la préparation de surfaces homogènes pour les applications de biosensibilité [18].

#### IV.1.5. Comportement électrochimique de Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> et Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-(SPy-PPy) à différents potentiels appliqués

Les substrats Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> et Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-(SPy-PPy) ont été analysés par SIE sur une gamme de fréquences comprise entre 100 kHz et 50 mHz, avec une perturbation de 25 mV, dans une solution tampon de PBS à différents potentiels appliqués allant de 0 à - 500 mV/ECS, couvrant la gamme dans laquelle le film de polymère transite des états isolants vers des états conducteurs (figure IV.7). Comme on peut le voir sur la figure IV.7A, les diagrammes de Nyquist des substrats Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> montrent un demi-cercle dans la région des hautes fréquences et une ligne droite dans la région des basses fréquences, caractéristiques respectivement du transfert de charge et du processus de diffusion. Tous les demi-cercles commencent à partir du point zéro, ce qui signifie que la résistance de l'électrolyte est négligeable. Ainsi, nous notons que la variation de potentiel ne modifie pas le comportement électrochimique du substrat Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>. Cependant, le diamètre du demi-cercle diminue avec la diminution du potentiel appliqué. Cela suggère une diminution de la résistance et par conséquent une augmentation de la conductivité du film.



**Figure IV.7.** Diagrammes de Nyquist : (A) Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> et (B) Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-(SPy-PPy) substrats à différents potentiels : (a) 0, (b) - 10, (c) - 30, (d) - 50, (e) - 100, (f) - 200, (g) - 300, (h) - 500 mV/ECS; l'analyse a été effectuée dans une solution tampon PBS (pH 7,4), sur une gamme de fréquences comprise entre 100 kHz et 50 mHz, avec une perturbation de 25 mV.

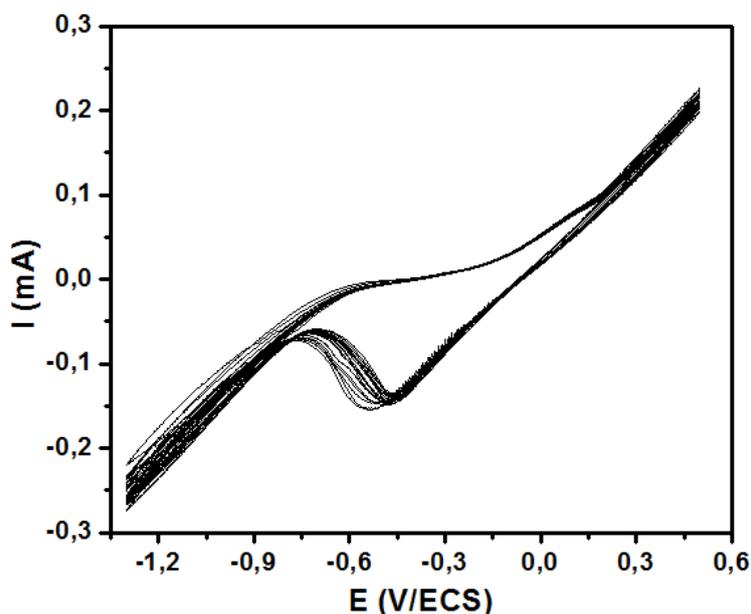
D'autre part, les diagrammes de Nyquist des substrats Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-(SPy-PPy) obtenus à différents potentiels appliqués sont représentés sur la figure IV.7B. Ces diagrammes sont composés d'un demi-cercle à hautes fréquences suivi d'un début d'un petit demi-cercle dans la gamme des basses fréquences. Ces diagrammes sont caractéristiques respectivement de deux successifs processus de transferts de charges. Notons aussi que le potentiel ne change pas la forme du diagramme de Nyquist, ce qui signifie que le comportement électrochimique du film reste inchangé. Cependant, le diamètre du demi-cercle diminue en diminuant le potentiel appliqué. Ceci suggère une diminution de la résistance et par conséquent une augmentation de la conductivité du film PPy. Ainsi, il est probable que cette amélioration de la conductivité observée dans les deux cas résulte de l'augmentation des porteurs de charge dans le film.

Ces diagrammes de Nyquist montrent clairement que la diminution du diamètre du demi-cercle observée avec la diminution du potentiel est trop faible pour Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> nu par rapport au substrat modifié Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-(SPy-PPy). Cela peut être attribué aux propriétés conductrices de PPy qui facilitent le transfert de charge à l'interface PPy/PBS en diminuant le potentiel. En outre, ceci suggère que la diminution du potentiel cathodique entraîne une augmentation de la conductivité du film PPy, en raison des transformations qui se produisent dans le film lors de sa transition de l'état isolant à l'état conducteur [19, 20].

L'allure des diagrammes de Nyquist montre deux boucles pour Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-(SPy-PPy) modifié au lieu d'une boucle pour Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> nu, lorsque le potentiel est très négatif. Le transfert de charge pour le nitrure de silicium nu s'est produit entre une seule interface de Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>/PBS. Alors que pour Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-(SPy-PPy), le transfert de charge s'est produit entre les interfaces Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>/(SPy-PPy) d'abord, et entre (SPy-PPy)/PBS en deuxième temps. Ces résultats sont en parfaite concordance avec ceux trouvés par I. Hafaid et coll. [14]. Ces tests ont été effectués pour mettre en évidence les bonnes propriétés conductrices du film de polymère PPy et choisir également le potentiel optimal pour les mesures SIE pour la caractérisation de l'électrode de travail et pour la détection des cytokines.

#### IV.1.6. Electrodeposition de diazonium carboxylique sur la surface du film PPy

La solution de sel de diazonium fonctionnalisée à base de carboxylique (1 mM) a été déposée électrochimiquement sur la surface de film PPy en utilisant la VC, sur une gamme de potentiel de + 0,5 à - 1,3 V/ECS, à une vitesse de balayage de 50 mV/s (figure IV.8). Le contact électrique a été réalisé directement sur la couche conductrice PPy. Comme le montrent clairement les voltammogrammes cycliques, lors du balayage de potentiel négatif, un pic cathodique à - 0,6 V/ECS a été observé, confirmant la réduction du cation aryle de diazonium en radical aryle, suivi du greffage sur la surface du film PPy. Un pic similaire a été observé à - 1,3 V/ECS par A. Garcia-Cruz et coll. [21], dans le cas des nanofiles de poly(pyrrole) déposés sous forme d'empreintes sur des thermoplastiques flexibles. D'autre part, aucun pic d'oxydation n'a été observé pendant le balayage de potentiel positif. Ceci confirme que le radical d'aryle de diazonium a été greffé sur la surface du film PPy et ne s'est pas oxydé.



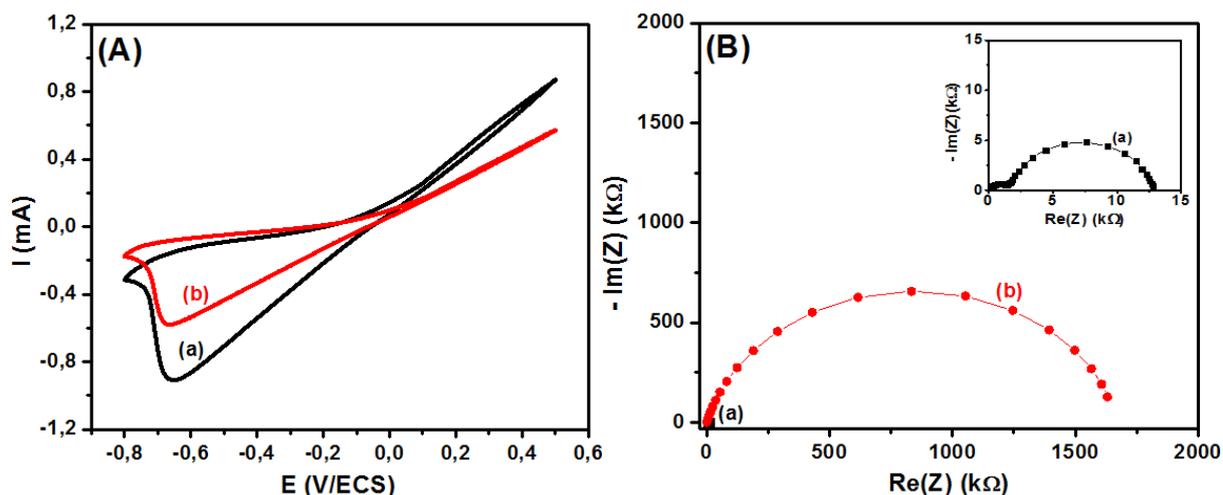
**Figure IV.8.** Voltammogrammes cycliques successifs d'aryle diazonium (CMA) greffé sur la surface du film PPy, obtenus sur une gamme de potentiel comprise entre + 0,5 et - 1,3 V/ECS, à 50 mV/s.

L'intensité du pic de réduction du diazonium reste sensiblement constante même après plusieurs cycles (20 cycles). Par contre, dans le cas de la microélectrode d'or, Baraket et ses collaborateurs ont observé que le pic de réduction du diazonium devenait moins évident et disparaît après le quatrième cycle, confirmant la saturation (blocage) de la surface de l'électrode d'or par les molécules de diazonium [22]. Ce qui confirme dans notre cas que la surface de l'électrode n'est pas encore saturée par le diazonium. Cela peut être attribué à la surface élevée du film conducteur PPy. Un léger déplacement des pics cathodiques vers des valeurs positives a été observé (figure IV.8), indiquant l'existence d'un changement des propriétés physico-chimiques de la surface de la couche conductrice PPy, ce qui confirme la continuation du dépôt de CMA.

#### **IV.1.7. Étude électrochimique de la couche PPy avant et après le dépôt de CMA**

La surface du substrat Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-(SPy-PPy) a été caractérisée dans une solution PBS (pH 7,4) en utilisant la voltammétrie cyclique avant et après le dépôt de diazonium (figure IV.9A). Dans les deux cas, aucun pic anodique n'est observé en raison de la forte contribution du courant capacitif, qui masque le courant faradique. L'origine du courant capacitif est attribuée à l'augmentation de la surface réelle de l'électrode en raison de la porosité du film PPy [23]. Cependant, un pic cathodique à - 0,67 V/ECS a été observé avant et après le dépôt de diazonium. Ceci est attribué à la réduction du film PPy. Après l'électrogreffage du diazonium sur la couche PPy, le voltammogramme cyclique montre une diminution significative du courant du pic cathodique par rapport à celui de la couche PPy seul, confirmant la formation d'une monocouche isolante de diazonium sur la surface de la couche PPy.

Dans le but de confirmer le greffage électrochimique du diazonium sur la couche PPy, nous avons effectué la SIE. Les mesures d'impédance ont été effectuées dans une solution tampon de PBS à un potentiel appliqué de - 0,1 V/ECS, dans une gamme de fréquences de 100 kHz à 50 mHz, avec une perturbation de 25 mV. La figure IV.9B montre les diagrammes de Nyquist de substrats : (a) Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-(SPy-PPy) et (b) Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-(SPy-PPy)-CMA. Le diagramme de Nyquist (figure IV.9B(a)) représente le comportement conducteur du film PPy qui correspond à une faible résistance au transfert de charge ( $R_{ct}$ ) de la couche PPy. Après l'électrogreffage de diazonium, une augmentation très significative du diamètre du demi-cercle a été observé (figure IV.9B(b)), par conséquent, une augmentation du  $R_{ct}$ , confirmant le greffage réussi du diazonium sur la couche PPy.



**Figure IV.9.** (A) Voltammogrammes cycliques de substrats : (a) Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-(SPy-PPy) et (b) Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-(SPy-PPy)-CMA, dans une solution tampon PBS (pH 7,4), obtenus sur une gamme de potentiels comprise entre - 0,8 et + 0,5 V/ECS, à 10 mV/s, (B) Diagrammes de Nyquist de substrats : (a) Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-(SPy-PPy) et (b) Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-(SPy-PPy)-CMA dans du PBS (pH 7,4), dans une gamme de fréquences comprise entre 100 kHz et 50 mHz, avec une perturbation de 25 mV.

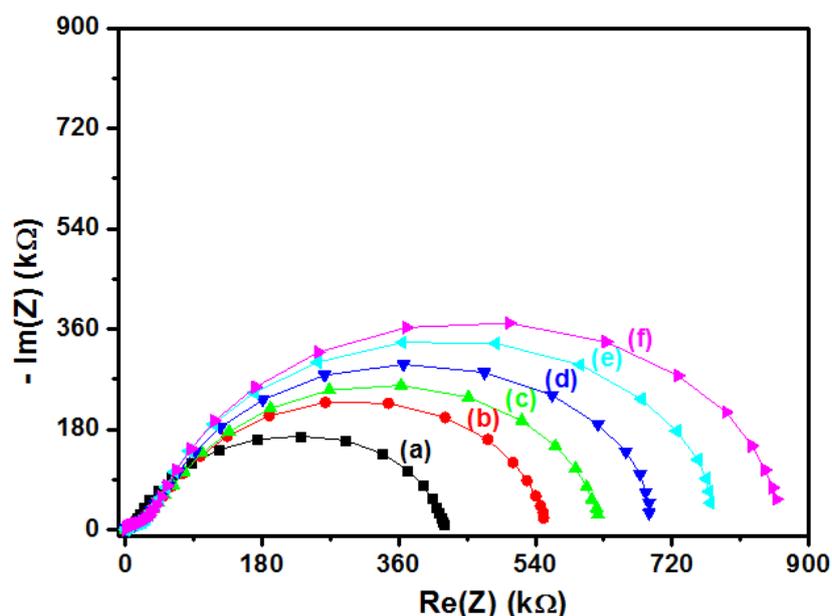
Le taux de recouvrement ( $\theta$ ) du PPy, de la surface active modifiée par CMA, peut être calculé à partir des diagrammes de Nyquist en utilisant l'équation suivante [24, 25] :

$$\theta = 1 - R_{ct}^o / R_{ct}$$

Les résistances  $R_{ct}^o$  et  $R_{ct}$  déterminées à partir des diagrammes de Nyquist des substrats respectivement Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-(SPy-PPy) et Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-(SPy-PPy)-CMA, permettent d'évaluer le taux de recouvrement. Dans notre étude le taux de recouvrement du diazonium est de 96%. Ce pourcentage élevé de couverture confirme la forte densité de diazonium électrogreffé sur la surface de l'électrode de travail Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-(SPy-PPy), ce qui permet une plus grande immobilisation des anticorps.

## IV.2. Détection de l'interleukine-10 humaine recombinante par la mesure SIE

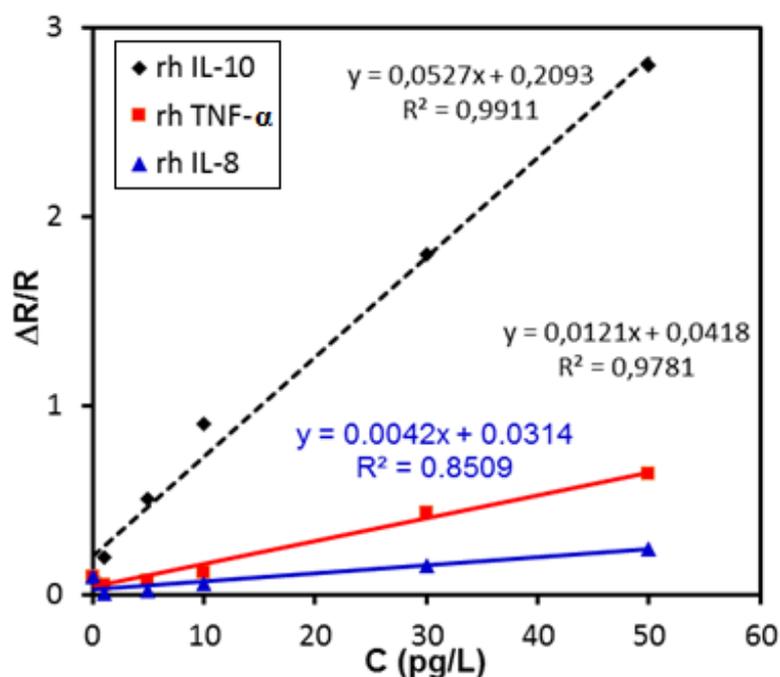
L'anticorps monoclonal de l'interleukine-10 (mAc IL-10) a été immobilisé sur la surface Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-(SPy-PPy)-CMA comme il a été décrit précédemment dans la section expérimentale. La figure IV.10 montre les diagrammes de Nyquist de l'immunocapteur analysé dans la solution tampon PBS à pH 7,4 à un potentiel appliqué - 0,1 V/ECS ; avec une amplitude de 25 mV, dans une gamme de fréquences de 100 kHz à 50 mHz. Le premier demi-cercle (a) correspond à mAc IL-10 (100 µg/ml) immobilisé sur la surface du substrat Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-(SPy-PPy)-CMA. Ensuite, l'immunocapteur a été incubé à diverses concentrations d'antigène de cytokine rh IL-10 : (b) 1 pg/ml, (c) 5 pg/ml, (d) 10 pg/ml, (e) 30 pg/ml et (f) 50 pg/ml, dans la solution tampon PBS pendant 30 min à 4°C. L'immunocapteur a été lavé après chaque période d'incubation avec une solution de PBS pour éliminer toute cytokine rh IL-10 non liée. Comme le montre clairement la figure IV.10, les diagrammes de Nyquist montrent une augmentation de la résistance de transfert de charge ( $R_{ct}$ ) avec la concentration de cytokine rh IL-10, ce qui confirme la biorecognition de cytokine rh IL-10 par des sites spécifiques de l'anticorps mAc IL-10 immobilisé sur la surface active (CMA) de l'électrode.



**Figure IV.10.** Diagrammes de Nyquist : (a) substrat Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-(SPy-PPy)-CMA immobilisé avec mAc IL-10 (100 µg/ml) pendant 1 h à 4 °C et après incubation avec rh IL-10 à différentes concentrations pendant 30 min à 4 °C : (b) 1 pg/ml, (c) 5 pg/ml, (d) 10 pg/ml, (e) 30 pg/ml et (f) 50 pg/ml, sur une gamme de fréquences comprise entre 100 kHz et 50 mHz, avec une perturbation de 25 mV.

Les diagrammes d'impédance obtenus à différentes concentrations de rh IL-10 ont été ajustés en utilisant le modèle de circuit équivalent afin de normaliser les paramètres électrochimiques de PPy modifié par une couche de CMA immobilisé avec mAc IL-10 et après incubation avec rh IL-10 à différentes concentrations [26]. Le circuit électrique équivalent appliqué pour la simulation qui a formulé le meilleur ajustement pour les données est celui appliqué dans le cas de substrat modifié par le polypyrrole (figure IV.6).

Afin de comparer les différentes mesures de l'immunocapteur dans des conditions équivalentes, on utilisait les valeurs relatives  $\Delta R/R = (R_{ct} - R_{ct}^o)/R_{ct}^o$ , où  $R_{ct}^o$  et  $R_{ct}$  sont respectivement la résistance au transfert de charge de l'immunocapteur avant et après la biorecognition de rh IL-10. La figure IV.11 montre le diagramme d'étalonnage dérivé, il correspond à la résistance de transfert de charge à l'interface de détection en fonction de la concentration de rh IL-10. Une bonne relation linéaire ( $y_1 = 0,0527x_1 + 0,2093$  avec  $R_1^2 = 0,9911$ ) a été observée dans la plage de concentration étudiée de rh IL-10 de 1 à 50 pg/ml.



**Figure IV.11.** Courbes d'étalonnage décrivant la variation  $\Delta R/R$  du substrat Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>- (SPy-PPy)-CAM pour la reconnaissance de divers antigènes : (a) rh IL- 10, (b) rh TNF- $\alpha$  et (c) rh IL-8 pour différentes concentrations allant de 1 à 50 pg/ml.

Il est important de signaler que cette limite de détection élevée de l'immunocapteur développé pour la cytokine rh IL-10 est supérieure à celle obtenue dans les rapports publiés précédemment [22, 26]. En outre, le biocapteur développé peut être utilisé pour tenir compte des concentrations plus importantes de cytokine rh IL-10, en raison de sa surface élevée.

Afin d'étudier la sélectivité de l'immunocapteur développé, d'autres interférences de cytokines comme facteur de nécrose tumorale alpha (TNF- $\alpha$ ) et IL-8 ont été utilisées. Ces cytokines sont également sécrétées lors des processus d'inflammation, de sorte qu'elles peuvent représenter les principales interférences pour la détection de l'IL-10. Le même principe de détection a été utilisé pour ces deux cytokines en immobilisant le même mAc IL-10 sur l'immunocapteur PPy développé en déterminant la résistance relative  $\Delta R/R$ .

Comme le montre clairement la figure IV.11, la détection des lymphocytes IL-8 et TNF- $\alpha$  a montré des relations linéaires similaires à rh IL-10 dans la limite de détection étudiée (de 1 à 50 pg/ml). Cependant, la pente des relations linéaires pour les deux interférences était considérablement très faible ( $S_3 = 0,0121 \text{ pg/ml}$  pour TNF- $\alpha$  et  $S_4 = 0,0042 \text{ pg/ml}$  pour IL-8) par rapport à la cytokine rh IL-10. Ceci confirme la sensibilité et la sélectivité supérieure de l'immunocapteur à la cytokine rh IL-10 que les autres cytokines parasites.

### IV.3. Conclusion

Ainsi, une nouvelle méthodologie pour la fabrication d'un immunocapteur très sensible pour la détection ultrasensible de la cytokine interleukine-10 (IL-10) a été introduite. Le nouveau immunocapteur développé est basé sur la modification du substrat à base de  $\text{Si}_3\text{N}_4$  avec une couche conductrice de polypyrrole fonctionnalisée par un carboxyle. Le substrat semi-conducteur à base de  $\text{Si}_3\text{N}_4$  a été chimiquement modifié avec une couche de PPy en utilisant du  $\text{FeCl}_3$  comme oxydant après la silanisation de substrats  $\text{Si}/\text{SiO}_2/\text{Si}_3\text{N}_4$  avec SPy. Ensuite, le substrat obtenu ( $\text{Si}/\text{SiO}_2/\text{Si}_3\text{N}_4\text{-(SPy-PPy)}$ ) a été fonctionnalisé électrochimiquement (greffé) avec du diazonium fonctionnalisé par un carboxyle (CMA). Le greffage de CMA sur la surface du film PPy entraîne la diminution des courants anodiques et cathodiques, comme en témoignent les mesures de VC. Par conséquent, cela a entraîné une augmentation de la résistance de transfert de charge ( $R_{ct}$ ) du film PPy par rapport à celle non modifiée, comme le montre l'analyse SIE.

De manière plus intéressante, l'immunocapteur développé présente une sensibilité et une sélectivité élevée à la cytokine IL-10 dans la gamme de 1 à 50 pg/ml par rapport à d'autres interférences de cytokines (par exemple IL-8 et TNF- $\alpha$ ). Par conséquent, la méthodologie de détection actuelle représente un moyen attrayant et alternatif aux méthodes existantes pour la détection de l'IL-10. Ces résultats représentent un avenir prometteur pour la création d'immunocapteur exempts d'étiquettes à base de PPy et caractérisés par une stabilité chimique, une analyse rapide, une haute sensibilité et une sélectivité pour le diagnostic de maladies aux premiers stades d'une inflammation ou une infection à coût réduit.

## Références bibliographiques

- [1] V. M. Bermudez, *J. Electrochem. Soc.* 152 (2005) F31.
- [2] C. Merlini, B. S. Rosa, D. Muller, L. G. Ecco, S. D. Ramoa, G. M. Barra, *Polym. Test.* 31 (2012) 971.
- [3] B. I. Łydźba-Kopczyńska, K. B. Beć, J. Tomczak, J. P. Hawranek, *J. Mol. Liq.* 172 (2012) 34.
- [4] M. M. Baizer, H. Lund (Eds.), *Organic Electrochemistry-an Introduction and a Guide*, Marcel Dekker, New York (1983).
- [5] S. V. Kasisomayajula, X. Qi, C. Vetter, K. Croes, D. Pavlacky, V. J. Gelling, *J. Coat. Technol. Res.* 7 (2009) 145.
- [6] N. Jadhav, C. A. Vetter, V. Gelling, *J. Electrochim. Acta* 102 (2013) 28.
- [7] M. A. Chougule, S. G. Pawar, P. R. Godse, R. N. Mulik, S. Sen, V. B. Patil, *Soft Nanoscience Letters* 01 (2011) 6.
- [8] B. Tian, G. Zerbi, *J. Chem. Phys.* 92 (1990) 3886.
- [9] B. Tian, G. Zerbi, *J. Chem. Phys.* 92 (1990) 3892.
- [10] G. Sabouraud, S. Sadki, N. Brodie, *Chem. Soc. Rev.* 29 (2000) 283.
- [11] E. Genies, G. Bidan, A. Diaz, *J. Electroanal. Chem. Interfacial Electrochem.* 149 (1983) 101.
- [12] B. L. Funt, A. F. Diaz, *Organic Electrochemistry: an Introduction and a Guide*, Ed. H. Lund, Marcel Dekker, New York (1991) 1337.
- [13] M. Mičušík, T. Nedelčev, M. Omastová, I. Krupa, K. Olejníková, P. Fedorko, M. M. Chehimi, *Synthetic Met.* 157 (2007) 914
- [14] I. Hafaid, S. Chebil, H. Korri-Youssoufi, F. Bessueille, A. Errachid, Z. Sassi, Z. Ali, A. Abdelghani, N. Jaffrezic-Renault, *Sens. Actuators, B* 144 (2010) 323.
- [15] S. Bourigua, I. Hafaid, H. Korri-Youssoufi, A. Maaref, N. Jaffrezic-Renault, *Sens. Lett.* 7 (2009) 731.
- [16] N. Jaffrezic-Renault, A. Errachid, *Biocybern. Biomed.* 31 (2011) 3.
- [17] A. Hallik, A. Alumaa, J. Tamm, V. Sammelselg, M. Väärtnõu, A. Jänes, E. Lust, *Synth. Met.* 156 (2006) 488.
- [18] C. M. Halliwell, A. E. Cass, *Anal. Chem.* 73 (2001) 2476.
- [19] Z. Wei, C. Wang, C. Bai, *Surf. Sci.* 467 (2000) 185.
- [20] A. Diaz, J. I. Castillo, J. Logan, W.-Y. Lee, *J. Electroanal. Chem. Interfacial Electrochem.* 129 (1981) 115.

- [21] A. Garcia-Cruz, F. Nessark, M. Lee, N. Zine, M. Sigaud, R. Pruna, A. Errachid, *Sens. Actuator B-Chem.* 255 (2018) 2520.
- [22] A. Baraket, M. Lee, N. Zine, M. Sigaud, N. Yaakoubi, M. G. Trivella, M. Zabala, J. Bausells, N. Jaffrezic-Renault, A. Errachid, *Sens. Actuator B-Chem.* 189 (2013) 165.
- [23] J. Roncali, R. Garreau, A. Yassar, P. Marque, F. Garnier, M. Lemaire, *J. Phys. Chem. A* 91 (1987) 6706.
- [24] J. R. de Sousa, M. M. V. Parente, I. C. N. Diógenes, L. G. F. Lopes, P. L. Neto, M. L. A. Temperini, A. A. Batista, Í. S. Moreira, *J. Electroanal. Chem.* 566 (2004) 443.
- [25] M. Khoshroo, A. A. Rostami, *J. Electroanal. Chem.* 647 (2010) 117.
- [26] M. Lee, N. Zine, A. Baraket, M. Zabala, F. Campabadal, R. Caruso, M. G. Trivella, N. Jaffrezic-Renault, A. Errachid, *Sensors and Actuators B: Chemical.* 175 (2012) 201.

## CONCLUSION GENERALE

Des films de poly(acide 4-(pyrrol-1-yl methyl) benzoïque) (PPyAB) préalablement électrodéposé sur une électrode de carbone vitreux puis modifié par incorporation d'un ou des deux métaux de transition (Cu, Ni) ont été caractérisés au cours de ce travail. Le dépôt du film de polymère organique conducteur est effectué par oxydation électrochimique du monomère en milieu acétonitrile. L'incorporation de particules métalliques est obtenue en deux étapes. La première étape consiste à tremper l'électrode modifiée dans une solution de sulfate de cuivre ou/et de nickel pour complexer les cations métalliques par le film de polymère grâce au groupement carboxylique porté par le film de polymère. La deuxième étape est une électroréduction du complexe formé ; pour précipiter les particules métalliques dans le film de polymère. Le processus d'électrodéposition et la caractérisation du matériau d'électrode obtenu ont été examinés par voltampérométrie cyclique et par spectroscopie d'impédance. En effet, une incorporation de l'un ou des deux métaux de transitions dans le film, est mise en évidence par voltampérométrie cyclique, par la présence des pics d'oxydation et de réduction propre aux métaux incorporés. Les diagrammes d'impédance correspondants à ces électrodes modifiées montrent deux arcs de cercle, l'un vers les hautes valeurs de fréquences et l'autre vers les faibles valeurs de fréquences qui sont caractéristiques de deux processus de transfert de charge, qui se produisent aux différentes interfaces du matériau composite CV/PPyAB-M. L'étude montre aussi que l'allure des diagrammes de Nyquist est indépendante des conditions d'incorporation du métal.

La comparaison des photos MEB obtenues avant et après complexation, effectuée par émergence de l'électrode modifiée par le PPyAB, dans une solution contenant des ions de nickel et de cuivre, montre bien une modification de la morphologie de la surface de l'électrode. L'intensité du cuivre est plus importante que celle du nickel, ce qui suggère par ce fait que le cuivre s'incorpore beaucoup plus facilement que le nickel. Ceci justifie les résultats obtenus par voltampérométrie cyclique où les intensités des pics du cuivre sont généralement mieux définis et plus intenses.

Ce nouveau matériau composite présente une activité électrocatalytique très importante. La modification de l'électrode par le film de polymère complexant permet également de détecter les métaux par complexation de ces derniers. L'électrode ainsi obtenue peut être utilisée dans différentes applications, notamment, en électrocatalyse et protection des électrodes métallique et semi-conductrice contre la corrosion et la photocorrosion.

Une méthode de synthèse efficace pour l'élaboration de matériaux hybrides Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-(SPy-PPy) a été aussi réalisée dans ce travail. Cette méthode a été assistée par l'activation et la modification de la surface du substrat Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> avec des molécules de pyrrole-silane (SPy), suivie d'une polymérisation par oxydation du pyrrole sur la surface Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>. Ceci a conduit à la formation d'une couche conductrice PPy, et par conséquent à l'obtention de matériaux hybrides Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-(SPy-PPy). Pour assurer l'adhérence du polymère PPy au substrat ; le SPy a été utilisé comme promoteur d'adhérence ou base d'accrochage entre le substrat et la couche PPy. L'obtention du matériau hybride, Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-(SPy-PPy) est caractérisée par spectroscopie IR. Les diverses bandes caractéristiques de SPy et de PPy à la surface de substrat activé (Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-OH), ont bien montré la formation réussie de ce composite. En outre, les images MEB ont montré que la morphologie de la couche conductrice de PPy était fortement modifiée avec la concentration de SPy, ce qui a favorisé la formation et l'adhérence de la couche conductrice de PPy sur le substrat Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>. Ceci met en évidence également l'existence d'une relation entre le mécanisme de croissance PPy sur la surface Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> et le nombre de molécules SPy greffées, ayant conduit à la formation d'une structure géométrique poreuse et uniforme de PPy à la surface du substrat Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-SPy.

La concentration SPy et la température du processus de silanisation jouent un rôle important dans la conductivité des composites Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-(SPy-PPy) obtenus. L'étude par VC et SIE, ont montré que la conductivité optimale a été obtenue pour le composite Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-(SPy-PPy) traité avec la plus faible concentration molaire SPy (4,3 mM) à 90 °C, relativement plus conductrice en comparaison avec le substrat traité avec la même concentration de SPy à T<sub>amb</sub>. Ceci a été attribué à l'effet accélérateur de la chaleur qui conduit à une fixation efficace (par interaction covalente) des molécules SPy à la surface du substrat Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>. De plus, l'augmentation de la concentration de SPy, conduit aux films de PPy plus résistants (moins conducteurs). Ceci peut être expliqué par la formation d'une monocouche dense de SPy qui empêche le transfert électronique de charges ou qui résulte d'un autre effet secondaire.

Cette étude, nous a permis d'introduire une nouvelle méthode pour la fabrication d'immunocapteur à base d'un substrat capacitif Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> chimiquement modifié par le film PPy en utilisant FeCl<sub>3</sub> comme catalyseur oxydant après la silanisation du substrat Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> avec SPy à T<sub>amb</sub>. L'électrogreffage du sel d'aryle de diazonium sur le film de PPy par VC montre que le courant de pic de réduction observé à - 0,6 V/ECS du sel de diazonium reste constant. Aussi, un léger déplacement du potentiel de ce pic vers des valeurs plus positives mettant en évidence une surface insaturée et un changement physico-chimique du comportement électrochimique de la surface du film PPy est observé. La présence du sel d'aryle de diazonium sur la surface du film PPy, a conduit à une diminution du courant anodique et cathodique observé en VC, et à une augmentation de la valeur de la résistance de transfert de charge par rapport au film PPy seul, comme l'a montré la SIE. Le polypyrrole modifié par le sel d'aryle de diazonium a été développé pour la détection d'IL-10. Il est mis en évidence par SIE et conduit à une augmentation de la résistance de transfert de charge par rapport à celle de l'anticorps. L'immunocapteur développé présente une sensibilité et une sélectivité élevée vis-à-vis de l'IL-10 avec une limite de détection de quelques pg/l. La sensibilité élevée de l'immunocapteur est due à la formation du film conducteur PPy, accompagné par l'augmentation de la surface réelle de l'électrode, ce qui offre les avantages de la simplicité et l'efficacité du diazonium électrogreffé.

Ainsi, il ressort de ce travail que les résultats préliminaires sont prometteurs et peuvent être exploités à l'avenir pour le développement de nouveaux matériaux hybrides Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-(SPy-PPy) pour les applications comme transducteurs et biocapteurs.



# Fabrication of new polypyrrole/silicon nitride hybrid materials for potential applications in electrochemical sensors: Synthesis and characterization

Faiza Nessark, Ahmed Zouaoui, Alvaro Garcia-Cruz, Anne Bonhomme, Michael Lee, Belkacem Nessark, Nadia Zine, Pedro Marote, Joan Bausells, Abdoulatif Baraket & Abdelhamid Errachid

To cite this article: Faiza Nessark, Ahmed Zouaoui, Alvaro Garcia-Cruz, Anne Bonhomme, Michael Lee, Belkacem Nessark, Nadia Zine, Pedro Marote, Joan Bausells, Abdoulatif Baraket & Abdelhamid Errachid (2017) Fabrication of new polypyrrole/silicon nitride hybrid materials for potential applications in electrochemical sensors: Synthesis and characterization, Journal of Macromolecular Science, Part A, 54:11, 827-834, DOI: [10.1080/10601325.2017.1336728](https://doi.org/10.1080/10601325.2017.1336728)

To link to this article: <http://dx.doi.org/10.1080/10601325.2017.1336728>



Published online: 31 Jul 2017.



Submit your article to this journal [↗](#)



Article views: 36



View related articles [↗](#)



View Crossmark data [↗](#)



## Fabrication of new polypyrrole/silicon nitride hybrid materials for potential applications in electrochemical sensors: Synthesis and characterization

Faiza Nessark<sup>a,b</sup>, Ahmed Zouaoui<sup>c</sup>, Alvaro Garcia-Cruz<sup>a</sup>, Anne Bonhomme<sup>a</sup>, Michael Lee<sup>a</sup>, Belkacem Nessark<sup>b</sup>, Nadia Zine<sup>a</sup>, Pedro Marote<sup>a</sup>, Joan Bausells<sup>d</sup>, Abdoullatif Baraket<sup>a</sup> and Abdelhamid Errachid<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Institut des Sciences Analytiques (ISA), Université Claude Bernard Lyon 1, 5 rue de la Doua, Villeurbanne cedex, France; <sup>b</sup>Laboratoire d'Electrochimie et Matériaux (LEM), Université Ferhat Abbas Sétif 1, Algeria; <sup>c</sup>Laboratoire de Croissance et Caractérisation de Nouveaux Semi-conducteurs (LCCNS), Université Ferhat Abbas Sétif 1, Algeria; <sup>d</sup>Centro Nacional de Microelectrónica (CNM), Universidad Autónoma de Barcelona, Bellaterra, Spain

### ABSTRACT

In this research, an efficient fabrication process of conducting polypyrrole (PPy)/silicon nitride ( $\text{Si}_3\text{N}_4$ ) hybrid materials were developed in order to be employed as transducers in electrochemical sensors used in various environmental and biomedical applications. The fabrication process was assisted by oxidative polymerization of pyrrole (Py) monomer on the surface of  $\text{Si}/\text{SiO}_2/\text{Si}_3\text{N}_4$  substrate in presence of  $\text{FeCl}_3$  as oxidant. To improve the adhesion of PPy layer to  $\text{Si}_3\text{N}_4$  surface, a pyrrole-silane (SPy) was chemically bonded through silanization process onto the  $\text{Si}_3\text{N}_4$  surface before deposition of PPy layer. After Py polymerization,  $\text{Si}/\text{SiO}_2/\text{Si}_3\text{N}_4$ -(SPy-PPy) substrate was formed. The influence of SPy concentration and temperature of silanization process on chemical composition and surface morphology of the prepared  $\text{Si}/\text{SiO}_2/\text{Si}_3\text{N}_4$ -(SPy-PPy) substrates was studied by FTIR and SEM. In addition, the electrical properties of the prepared substrates were characterized by cyclic voltammetry (CV) and electrochemical impedance spectroscopy (EIS). It was found that the best silanization reaction conditions to get  $\text{Si}/\text{SiO}_2/\text{Si}_3\text{N}_4$ -(SPy-PPy) substrate with high PPy adhesion and good electrical conductivity were obtained by using SPy at low concentration (4.3 mM) at  $90^\circ\text{C}$ . These promising findings open the way for fabrication of new hybrid materials which can be used as transducers in miniaturized sensing devices for various environmental and biomedical applications.

### ARTICLE HISTORY

Received March 2017,  
Revised and Accepted  
May 2017

### KEYWORDS

Silicon nitride; Polypyrrole;  
Oxidative polymerization;  
Surface characterization;  
Cyclic voltammetry;  
Electrochemical impedance  
spectroscopy

## 1. Introduction

Silicon nitride ( $\text{Si}_3\text{N}_4$ ) plays an important role in microelectronics, integrated circuits technology, memory and thin film transistors, optoelectronics, optics, and hard surface coating (1, 2).  $\text{Si}_3\text{N}_4$  offers a number of advantages when compared to other materials, such as the absence of undesirable impurities and the excellent control of the film composition and thickness (3). In addition,  $\text{Si}_3\text{N}_4$  is considered as a biocompatible material in contact with bone *in-vitro* and it has been suggested as a load-bearing implant material due to its favorable mechanical properties (4). Also, the application of  $\text{Si}_3\text{N}_4$  thick film for the fabrication and development of novel biosensors have been reported (5, 6). However, only few  $\text{Si}_3\text{N}_4$ -based biosensors have been successfully developed. This is due to the lack of an efficient and direct protocol for the integration of biological elements with  $\text{Si}_3\text{N}_4$ -based substrates and it is still one of its main drawbacks.

Nowadays, there is a great challenge to develop  $\text{Si}_3\text{N}_4$  based devices. In this regard, the application of conductive polymers (CPs) has opened a new alternative to easily modify the  $\text{Si}_3\text{N}_4$  substrate and to generate new materials with novel properties. Among all CPs, polypyrrole (PPy) is one

of the most successfully employed polymers due to its high electrical conductivity, good environmental stability, biocompatibility, electro activity in neutral environments, and easy synthesis (7). PPy presents good electrical and optical properties for biosensor technology due to its  $\pi$ -electron conjugation along the polymer backbone (8, 9). Therefore, to enhance the conducting properties of  $\text{Si}_3\text{N}_4$  semiconducting-based materials, recent studies have focused on the use of PPy conducting polymers as tools (transducers) which have the ability for amplification of the response signal arise from biomolecules interactions (e.g. in DNA biosensors, glucose sensing electrodes, amperometric enzyme biosensors, amperometric cholesterol biosensors, etc) (10–13).

Recently,  $\text{Si}_3\text{N}_4$  and PPy have been used to generate novel  $\text{Si}_3\text{N}_4$ -PPy composites by using different techniques. For example,  $\text{Si}_3\text{N}_4$  nanoparticles have been coated with PPy by the sonoelectrochemical synthesis of PPy (14). Besides, other techniques including the electrochemical grafting of PPy on porous silicon (Si) was used for gas sensors applications (15). Previously, we have reported PPy microstructures printed on glass and polyethylene terephthalate (PET) substrates for biosensing applications (16).

**CONTACT** Faiza Nessark ✉ [faiza\\_nessark@yahoo.fr](mailto:faiza_nessark@yahoo.fr) Institut des Sciences Analytiques (ISA), Laboratoire d'Electrochimie et Matériaux (LEM) Université Claude Bernard Lyon 1, 5 rue de la Doua, 69100 Villeurbanne cedex, France; Abdelhamid Errachid ✉ [abdelhamid.errachid@univ-lyon1.fr](mailto:abdelhamid.errachid@univ-lyon1.fr) Institut des Sciences Analytiques (ISA), Université Claude Bernard Lyon 1, 5 rue de la Doua, 69100 Villeurbanne cedex, France.

Color versions of one or more of the figures in the article can be found online at [www.tandfonline.com/lmsa](http://www.tandfonline.com/lmsa).

© 2017 Taylor & Francis Group, LLC

In this paper, we present a new technology to chemically synthesize Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-(SPy-PPy) hybrid materials that provide unique thermal, mechanical and electrical properties and could be employed for transducers in miniaturized sensing devices for various environmental and biomedical applications. This technique depends on chemical grafting of SPy on the activated Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> surface, followed by PPy deposition via oxidative polymerization of Py monomer. Factors affecting the properties of the prepared substrates were also studied including the concentration of silanizing agent (SPy) and the silanization reaction temperature, at which chemical grafting of SPy occurs at room temperature (r.t.) and at 90°C. Chemical structure and morphology of the prepared substrates were characterized at both temperatures using Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR) and scanning electron microscopy (SEM). In addition, the electrical properties of the resulting Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-(SPy-PPy) substrates were measured by cyclic voltammetry (CV) and electrochemical impedance spectroscopy (EIS).

## 2. Materials and equipment

### 2.1. Materials

N-(3-trimethoxysilylpropyl)pyrrole (C<sub>10</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>3</sub>Si) or SPy was purchased from ABCR GmbH & Co. KG, Germany. Chloroform (CHCl<sub>3</sub>) was purchased from Fisher Scientific, France. Sulfuric acid (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) (30%), hydrochloric acid (HCl) (37%), sodium dodecyl sulphate (C<sub>12</sub>H<sub>25</sub>NaO<sub>4</sub>S) or SDS, iron (III) chloride (FeCl<sub>3</sub>), methanol (CH<sub>3</sub>OH), acetone (C<sub>3</sub>H<sub>6</sub>O), and pyrrole (C<sub>4</sub>H<sub>5</sub>N) (98%) were purchased from Sigma-Aldrich, France. Hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (35% wt.), sodium hydroxide (NaOH), and phosphate buffer saline (PBS) (pH 7.4) were obtained from Acros Organics, France. Uniform chips (1.2 × 1.2 cm<sup>2</sup>) of the basic sensor substrate material [Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>] were used in this study.

### 2.2. Equipment

#### 2.2.1. FTIR spectroscopy

Chemical composition of the prepared substrates before and after polypyrrole deposition was identified by infrared (IR) spectroscopy analysis using Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR) spectrometer model NEXUS (Nicolet-Thermo Fisher, UK). The spectra were recorded in attenuated total reflectance (ATR) mode with a Thunderdome (Spectra-tech) accessory containing Germanium crystal with a mono reflection at 45°. A DTGS detector was employed with 4 cm<sup>-1</sup> resolution and Happ-Genzel Apodization at 256 scans.

#### 2.2.2. Electronic microscopy

Morphology of the deposited polypyrrole layer of the prepared Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-(SPy-PPy) hybrid substrates was examined using scanning electron microscope (SEM), FEI Quanta 250 FEG, France.

#### 2.2.3. Electrochemical experiments

The conductivity of the prepared Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-(SPy-PPy) substrates was evaluated by electrochemical measurements consisting of EIS and CV using a potentiostat/galvanostat Auto Lab

(EC-lab VMP3 instruments version 9.9), Bio-Logic-Science Instruments, France. The controlling software (EC-Lab V10.39, 2014) was used for modeling and fitting the impedance data. The experiments were achieved in a miniaturized electrochemical plastic cell (Ø = 0.503 cm<sup>2</sup>, active area) with a three electrodes system. Here, the Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-(SPy-PPy) substrate was applied as the working electrode (WE), a platinum wire was applied as the counter electrode (CE), and a saturated calomel electrode (SCE) was used as the reference electrode (RE). A freshly prepared PBS (200 µL at 10 mM, pH 7.4) solution was employed for all analyses as the electrolyte solution. The CV experiments were performed at a potential between -0.8 and +0.5 V/SCE with scanning rate 25 mV/s. The EIS parameters for the potential, sinus amplitude, and frequency range, were adjusted at -0.1 V/SCE, 25 mV, and 100 kHz to 50 mHz, respectively. For the Nyquist plot fitting, the randomize + simplex method was used with randomize stopped on 10000 iterations and the fitting was stopped on 5000 iterations.

## 3. Production of Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-(SPy-PPy) substrates

### 3.1. Fabrication of Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> substrate

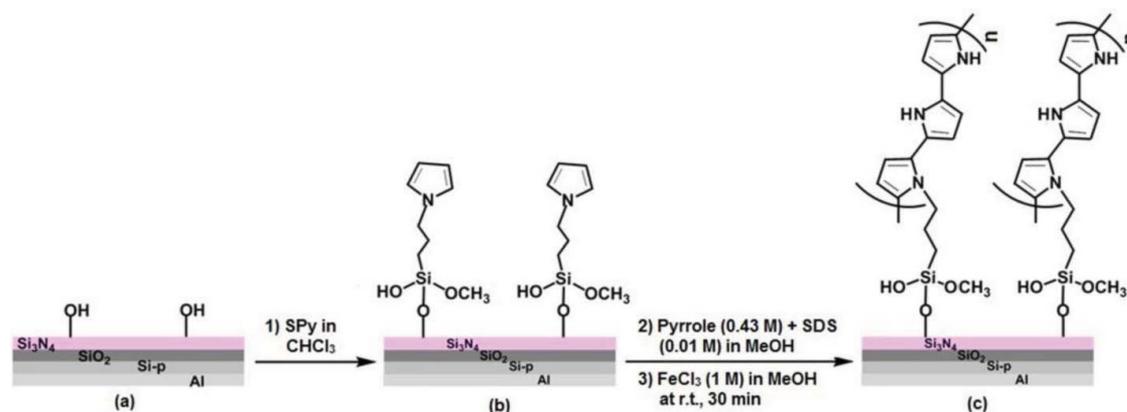
The structure of Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> sensor substrate used in this study was fabricated according to standard microelectronic technology with a p-type <100> silicon wafer doped with Boron (17). Silicon dioxide (SiO<sub>2</sub>) layer (1000 Å) was thermally grown. Afterwards, a layer (1000 Å) of Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> was deposited by low-pressure chemical vapor deposition (LPCVD) technique (18). Finally, the prepared Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> substrates were rinsed thoroughly and sonicated in deionized water for 20 min. Uniform chips (1.2 × 1.2 cm<sup>2</sup>) of the Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> were prepared as the basic sensor substrate material used in this study.

### 3.2. Substrate cleaning and activation process

Before silanization process, Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> substrates were cleaned with acetone using ultrasonication (15 min, twice), then rinsed with ultra-pure water and finally dried under Nitrogen flow. After that the substrates were treated with a piranha solution (3:1 V/V, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>:H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) at 90°C for 30 min, followed by thoroughly rinsing with ultra-pure water. The substrates were then subjected to successive alkaline and acidic treatments as follow: 1) Treatment with NaOH (0.5 M) aqueous solution for 20 min, followed by rinsing with ultra-pure water. 2) Treatment with HCl (0.1 M) solution for 10 min, and then rinsing with ultra-pure water. 3) Alkali treatment with NaOH (0.5 M) for 10 min. Finally, the samples were rinsed thoroughly with HCl (0.1 M) and ultra-pure water and then dried in an oven at 120°C for 10 min (19). All above mentioned treatments allow to create active sites (-OH reactive groups) on the Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> substrate surface (Scheme 1(a)).

### 3.3. Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> substrate silanization process

After activation process, the activated substrates (Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-OH) were silanized with SPy at different concentrations (4.3 mM, 21.5 mM, 43 mM, and 107.5 mM) in CHCl<sub>3</sub> anhydrous by depositing a drop of the solution onto the Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> surface. The



**Scheme 1.** Schematic procedure for fabrication of Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-(SPy-PPy) substrate via: (a) activation of Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> substrate, (b) silanization of substrate by SPy forming Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-SPy substrate and (c) development of Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-(SPy-PPy) substrate via polypyrrole layer deposition through oxidative polymerization of Py monomer on the silanized substrate.

anhydrous solvent and dehydrated materials promote the formation of a very dense SPy monolayer (20, 21). After SPy deposition, the substrates were divided into two groups and silanization reaction was left to proceed for 1 hour at room temperature (r.t.) till the complete evaporation of solvent (group 1) and at 90°C for 1 h (group 2). The functionalization of Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> substrates with SPy is represented in Scheme 1(b). Here, the SPy molecules were covalently bonded to the Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> substrate via condensation reaction with the hydroxyl (-OH) groups on the activated silica surface forming Si-O-Si link. After silanization process, the substrates were rinsed several times with chloroform in order to remove unreacted SPy molecules, and then left to dry at room temperature.

### 3.4. Chemical deposition of PPy layer via oxidative Py polymerization

After silanization process, all silanized substrates (Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-SPy) were modified by adding 50 μL of a solution containing a mixture of Py monomer (0.43 M) and SDS (0.01 M) stabilizing agent in methanol. This solvent has been reported as the best solvent used for preparation of PPy with high conductivity (190 S/cm) by chemical polymerization (18, 19). Subsequently, the oxidative polymerization of Py was performed by the addition of 50 μL of FeCl<sub>3</sub> (1 M) in methanol at r.t. for 30 min. The molar ratio of pyrrole monomer to the oxidant (Py: FeCl<sub>3</sub>) was employed at 1:2.33 (9, 22, 23). Then, the polymerization of SPy anchoring monomer with the Py monomer was started simultaneously by addition of FeCl<sub>3</sub> oxidant to produce Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-(SPy-PPy) hybrid material, as shown in Scheme 1(c). After polymerization, the substrates were rinsed several times with methanol to remove the hydrated FeCl<sub>3</sub>, and unreacted Py monomer, and then dried in an oven at 50°C for 12 h.

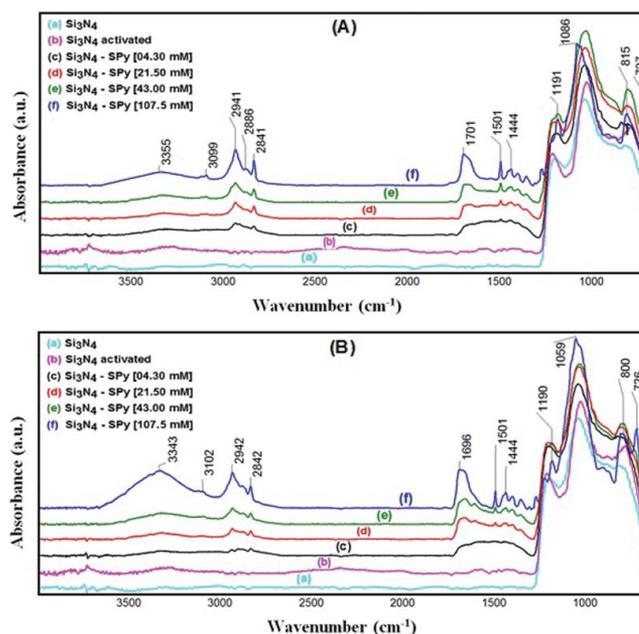
## 4. Results and discussion

### 4.1. Characterization of Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-(SPy-PPy) substrates by FTIR

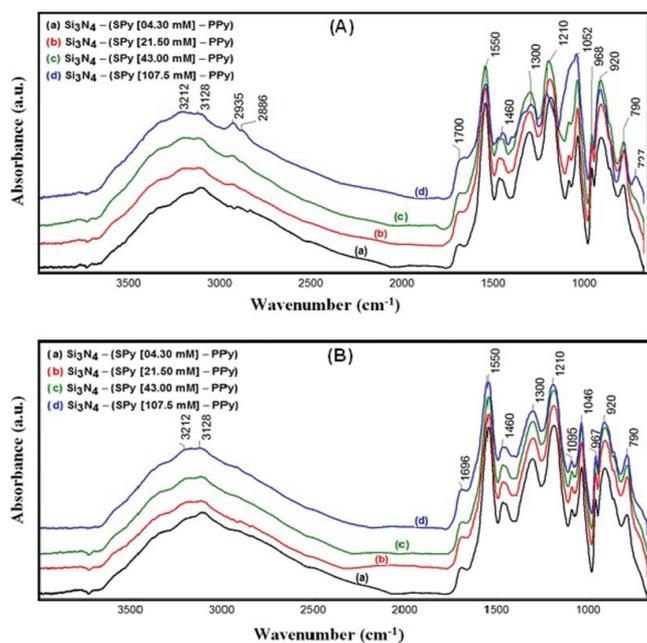
After cleaning and activation processes, FTIR spectra of the Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> surface were examined. As clearly seen from

Fig. 1, the FTIR spectra of Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> before and after activation showed intense bands between 1200 cm<sup>-1</sup> and 800 cm<sup>-1</sup> due to Si-O and Si-N bonds of the substrate, respectively. In addition, a slightly broad band at 3200-3400 cm<sup>-1</sup> appeared for activated substrate, suggesting that Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> surface is rapidly hydrolyzed to generate -OH groups on the substrate surface (24, 25).

The effect of SPy concentration and silanization temperature on the silanization process have been also studied using FTIR measurements (Fig. 1(A) and 1(B) for group 1 and group 2 respectively). The FTIR spectra of all SPy-modified substrates (Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-SPy) did not clearly show the typical Si-O-Si bands of Si-O-SPy due to the overlapping with the substrate signal, which generally appears in the region of 800-1200 cm<sup>-1</sup>. Moreover, the SPy-modified substrates showed characteristic vibration bands of the SPy molecule at



**Figure 1.** FTIR spectra of Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> substrates before and after activation, and after treatment with different molar concentrations of SPy at r.t. (group 1) (A), and at 90°C (group 2) (B).



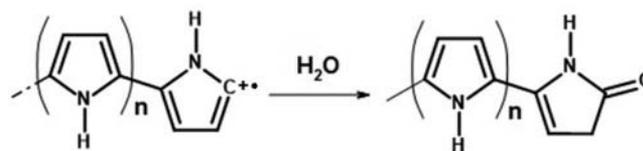
**Figure 2.** FTIR spectra of PPy layer deposited on the SPy-treated Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> substrates with different SPy molar concentrations at r.t. (group 1) (A), and at 90°C (group 2) (B).

1501 cm<sup>-1</sup> and 1444 cm<sup>-1</sup> which assigned to the C–C and C–N stretching vibration of pyrrole ring, respectively.

Other characteristic bands of SPy appeared at ≈3100 cm<sup>-1</sup> due to C–H stretching vibration of pyrrole cycle (= C–H) (26), as well as between 2800 cm<sup>-1</sup> and 3000 cm<sup>-1</sup> which are related to the stretching vibrations of aliphatic –CH<sub>2</sub> and –CH<sub>3</sub> groups. At the highest SPy concentration (107.5 mM), the treated substrate showed a band at 1190 cm<sup>-1</sup> that is characteristic to the deformation vibration of the CH<sub>3</sub> of Si–O–CH<sub>3</sub> and near to 1090 cm<sup>-1</sup> for the asymmetric vibration of Si–O–C bond. In addition, a broad band at 3340–3350 cm<sup>-1</sup> was visible for the SPy-treated substrate. This characteristic band is related to stretching vibration of the –OH group, suggesting the presence of silanol group Si–OH.

After pyrrole polymerization, the characteristic vibration bands of PPy deposited on the Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-SPy substrate were appeared, confirming the formation of Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-(SPy-PPy) hybrid substrate. As shown in Fig. 2 (A) and (B), the appearance of a broad peak near to 3200 cm<sup>-1</sup> is assigned to the presence of N–H stretching vibrations. The deformation C–N bands at 1300 cm<sup>-1</sup> and C–H on plane bending vibration at 1210 cm<sup>-1</sup> were also observed (27, 28). Moreover, the peaks appeared at 3128 cm<sup>-1</sup>, 1550 cm<sup>-1</sup>, and 1460 cm<sup>-1</sup> are attributed to the = C–H, C = C, and C–N vibrations of pyrrole cycle, respectively (28–30). In addition, the characteristic bands of PPy were observed at 920 cm<sup>-1</sup> and at 790 cm<sup>-1</sup> due to C–H ring out-of-plane bending mode (31, 32).

Moreover, a new band around 1700 cm<sup>-1</sup> was also observed, which is related to the characteristic stretching vibration of carbonyl group (C = O). The arising of this group may be attributed to the reaction between the propagating pyrrole radical cations and water that lead to the termination or quenching of polymerization reaction (33–35), as shown in Scheme 2, or due to oxidation in the presence of oxygen and water during the drying process (27).



**Scheme 2.** Proposed scheme for termination of pyrrole polymerization via reaction of propagating PPy radical cation with water [29].

In fact, regardless of the SPy concentration or silanization temperature, the FTIR spectra analysis proved the successful silanization of Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> surface and the effective chemical deposition of PPy layer, forming Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-(SPy-PPy) hybrid substrates.

## 4.2. SEM characterization

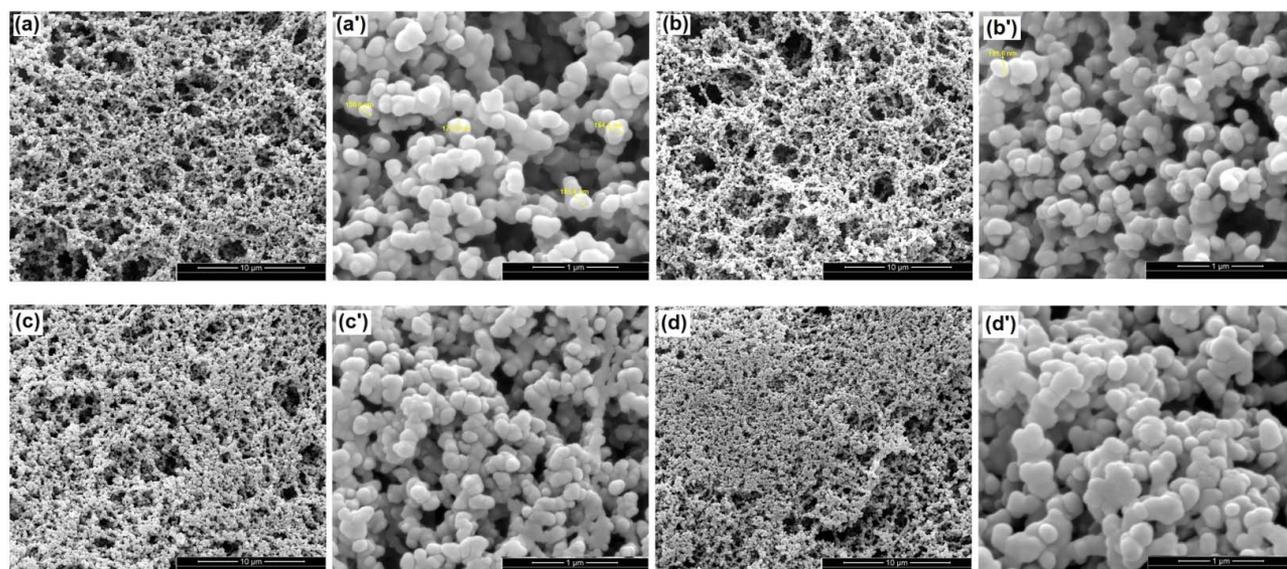
Morphology of the PPy layer deposited on Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-SPy substrates modified with different molar concentrations of SPy at 90°C was examined by SEM (Fig. 3). The SEM images clearly showed the successful deposition of PPy layer on Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-SPy substrate surface. The PPy layer was deposited in the form of grains or particles tangled with each other, forming a uniform porous structure. The size of these grains is ranged from 150 nm to 379 nm. Here, it is interesting to notice that the PPy layer deposited at low SPy concentration (4.3 mM) contains bridges with uniform geometric-like structure. By increasing the concentration of SPy progressively, the PPy grains were fused together. As a result, less porous and much denser PPy layers were obtained. Similarly, the SEM images of Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-(SPy-PPy) substrates silanized at room temperature showed the same morphology (results are not shown here).

These observations suggest that the PPy particles were covalently deposited on the SPy layer of the silanized substrates (Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-SPy) which significantly modified the final morphology of the PPy polymer. This was evidenced by the appearance of PPy particles which are relatively piled on a layer of SPy molecules. In addition, the uniform geometric-like structure of the PPy particles indicates that the SPy molecules under the PPy layer were uniformly distributed on the Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> substrate surface which contributes in the formation of PPy porous layer with high surface area. This in turn will improve the physicochemical properties of the prepared Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-(SPy-PPy) hybrid substrate such as chemical reactivity, electrical conductivity, etc., which are considered as basic requirements for electrochemical sensor devices.

## 4.3. Electrochemical characterization of the Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-(SPy-PPy) substrates

### 4.3.1. Cyclic voltammetry (CV) analysis

The prepared Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-(SPy-PPy) substrates modified with SPy at different concentrations and different temperatures (at room temperature (group1) and at 90°C (group2)) were characterized by CV in order to analyze the electrochemical behavior of the PPy layer. The potential range applied was between - 0.8 and + 0.5 V/SCE with a scan rate 25 mV/s. The



**Figure 3.** SEM images of PPy layer deposited on the Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> substrates-treated with SPy at different molar concentrations at 90°C: (a, a') 4.3 mM, (b, b') 21.5 mM, (c, c') 43 mM, and (d, d') 107.5 mM.

analysis of the PPy layer was carried out in a physiological electrolyte PBS buffer solution (pH 7.4), which is commonly used in biosensors applications because it is isotonic and non-toxic to most cells. As shown in the cyclic voltammograms (Fig. 4), no oxidation peaks were observed during scanning of the positive potential for both group 1 and group 2 substrates. Here, it is worth to mention that a strong capacitive current (*I*) was observed during the positive potential sweeps which may lead to the disappearance of the PPy oxidation peak. This high capacitive current may be attributed to the high specific surface area of the porous PPy film deposited on the Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> substrate, as evidenced by SEM measurements (Fig. 3). In some reaction cases the capacitive current contribution can be minimized by decreasing the scan rate. However, even at low scanning speed, the capacitive current remains high in the case of conductive polymers. Indeed, different phenomena of polarization can take place; such as, for example, concentration and resistance polarizations, due to the presence of the polymer film on the electrode, which make the diffusion of the electrolyte species on the surface and inside the film difficult. This in turn contributes to increasing the capacitive current, whereas the contribution of the Faradic current becomes negligible.

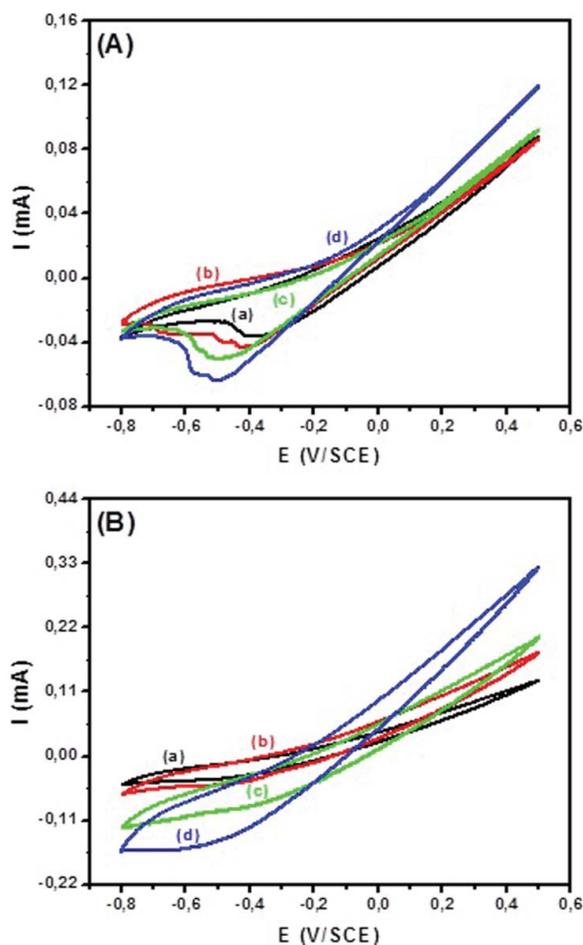
On the other hand, the characteristic PPy reduction peak at around -0.4 V/SCE was observed during scanning of the negative potentials. In addition, an increasing in the height (intensity) of the reduction peak, accompanied by a reduction peak displacement to more negative potential values, was noticed by increasing SPy concentration. The potential is a thermodynamic parameter; its slight displacement towards other negative values shows a slight modification in the physicochemical properties of the surface which takes place when the concentration of SPy increases. The latter becomes more and more negative when the rate of overlap of the surface by the molecules SPy increases. Indeed, these cyclic voltammograms are significantly inclined, more particularly in case of group 2 (SPy treatment at 90°C), and progressively by increasing SPy concentration.

#### 4.3.2. Electrochemical impedance spectroscopy (EIS) measurements

EIS measurements of the Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-(SPy-PPy) hybrid substrate modified with different SPy concentrations at two different temperatures (group 1 and group 2) are represented in Fig. 5. The EIS analysis was performed in PBS physiological solution (pH 7.4) with an applied potential of -0.1 V/SCE, a frequency range between 100 kHz and 50 mHz, and AC voltage of 25 mV. As shown in Fig. 5, the Nyquist impedance plots of the PPy films are measured as a function of SPy concentrations, where Re(*Z*) is the real part and Im(*Z*) is the imaginary part of the complex impedance *Z*. The Nyquist impedance plots are composed of two semi-circles at low SPy concentrations and a single arc at high SPy concentrations. The electrical properties depend on the nature and structure of the film formed on the electrode, which is dependent on the concentration of SPy. These semi-circle plots are characteristic for the charge transfers process through the PPy layer. The diameter of the semi-circles increases in parallel with the SPy concentration, indicating the increase of impedance or charge transfer resistance (*R<sub>ct</sub>*), which in turn reduces the electrical conductivity of PPy layer by increasing SPy concentration. The presence of SPy layer at higher concentrations on the Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> substrate makes the substrate less conductive and consequently prevents or retards the electron transfer process. These results are in agreement with those obtained by Micusiket al (36).

Indeed, impedance diagram in the form of capacitive loops may well explain the strong contribution of capacitive current, as previously indicated in CV measurements by the inclined shape (ill-defined) and the by high capacitive current observed during the positive potential sweeps of CV (Fig. 4).

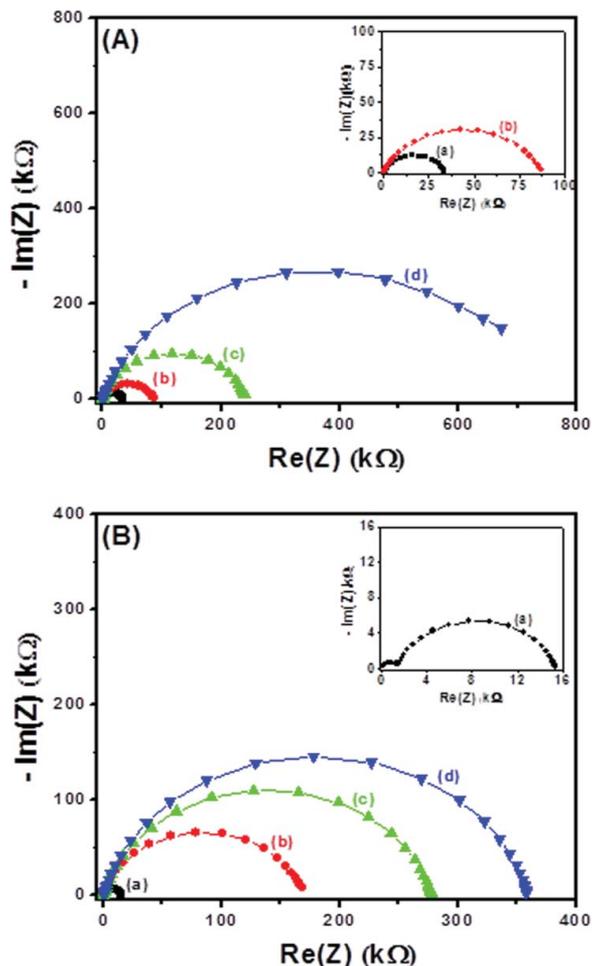
For more explanation of the electrochemical properties, the impedance spectra of Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-(SPy-PPy) substrates were analyzed by using the equivalent circuit's models, which are appropriate for conducting polymer films deposited on electrode surfaces, as described in the literature (37–39). Here it is worth to mention that impedance (*Z*) is a totally complex



**Figure 4.** Cyclic voltammograms of PPY layer deposited on the SPy-modified Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> substrates at different SPy concentrations: (a) 4.3 mM, (b) 21.5 mM, (c) 43 mM, and (d) 107.5 mM, at r.t. (group1) (A), and at 90°C (group2) (B). (Scale bar for a, b, c, and d is 10  $\mu$ m and for a', b', c', and d' is 1  $\mu$ m).

resistance encountered when a current flows through a circuit made of resistors, capacitors, or inductors, or any combination of these. Depending on how the electronic components are configured, both the magnitude and the phase shift ( $\alpha \cdot \pi/2$ ) of an alternating current (AC) can be determined. Because, the inductive effect is not usually encountered in electrochemistry, we consider only the simple equivalent circuit shown in Fig. 6 in which no inductor is present. In this equivalent circuit model, the various electrical parameters contributed in the electrical impedance measurements are represented as: solution resistance ( $R_s$ ), capacitance of the polymer film ( $C_f$ ), polymer film resistance ( $R_f$ ), constant phase element (CPE), charge transfer resistance at the polymer film/electrolyte interface ( $R_{ct}$ ), and Warburg impedance ( $W$ ) which is created as a result of electrolyte species diffusion through the Nernst diffusion layer and can be also expressed by Warburg impedance (40).

The electrical parameters values obtained by fitting data, using the equivalent circuit depicted in Fig. 6, are summarized in Table 1. As clearly seen, all electrical parameters were obtained with very good fitting (i.e. with very low fitting correlation coefficient  $\chi^2$  values). In fact, this equivalent circuit allows the distinguishing between the intrinsic electrical characteristics related to  $C_f$  and  $R_f$  of the polymer film, which are related to the ionic charges mobility through the polymer

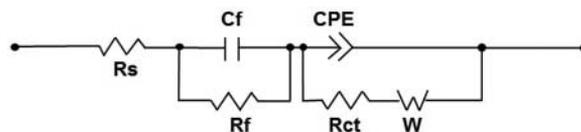


**Figure 5.** Nyquist plots of PPY layer deposited on the SPy-modified Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> substrates at different SPy concentrations: (a) 4.3 mM, (b) 21.5 mM, (c) 43 mM, and (d) 107.5 mM, at r.t. (group1) (A), and at 90°C (group2) (B).

backbone during the doping/dedoping process and to the charge transfer resistance ( $R_{ct}$ ) at the polymer/electrolyte or electrode/polymer interfaces (41).

Concerning the charge transfer resistance  $R_{ct}$ , as clearly indicated in Table 1, the value of  $R_{ct}$  increases by increasing SPy concentration. This can be explained by the formation of a dense insulating layer of SPy which may prevents or impede the electronic charge transfer through the deposited PPY film or that result from other secondary physical phenomena. These include, for example, heterogeneous dispersion of charges which may arise from modification of the morphology and variation in the real surface area of PPY film, which depend on SPy concentration.

In general, it was found that the lowest  $R_{ct}$  values (i.e. the best conductivities) were obtained for the Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-(SPy-PPy) substrates treated with the lowest SPy concentration,



**Figure 6.** Equivalent electrical circuit model for Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-(SPy-PPy) substrates.

**Table 1.** Electrochemical parameters obtained from fitting of the experimental results of PPy layer deposited on the Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> substrates treated with different concentrations of SPy at room temperature (group 1), and at 90°C (group 2).

Group no.	C <sub>SPy</sub> (mM)	R <sub>s</sub> (Ω)	C <sub>r</sub> 10 <sup>-9</sup> (F)	R <sub>f</sub> (Ω)	CPE 10 <sup>-9</sup> (F.s <sup>(α-1)</sup> )	α <sub>CPE</sub>	R <sub>ct</sub> (Ω)	W(Ω.s <sup>-1/2</sup> )	χ <sup>2</sup>
<b>Group 1 at room temp.</b>	4.3	141	13.77	717.7	919.4	0.80	33190	22.32	0.07834
	21.5	109.8	11.53	465.4	162.5	0.78	86412	630.2	0.02213
	43.0	83.86	16.49	320.5	75.29	0.85	239164	2969	0.01298
	107.5	93.21	10.45	335.6	87.42	0.82	688077	83676	0.05840
<b>Group 2 at 90°C</b>	4.3	109.7	6.379	1276	835.1	0.84	13979	21.58	0.06894
	21.5	46.2	9.581	128.3	60.77	0.85	167430	4808	0.05030
	43.0	79.1	13.75	190.9	44.67	0.87	266372	5769	0.03616
	107.5	165.8	5.71	383.3	36.85	0.90	347700	7625	0.01727

C<sub>SPy</sub> is the SPy concentration, α is phase shift coefficient and its value = 0 < α < 1, W is Warburg diffusion resistance, and χ<sup>2</sup> is the fitting correlation coefficient.

weather at room temperature or at 90°C. However, at the lowest SPy concentration investigated, the R<sub>ct</sub> values are relatively higher for group 1 substrates than those of group 2. This can be attributed to the effect of thermal treatment at 90°C during silanization process, which may lead to partial evaporation and consequently lowering in the concentration of SPy molecules on the surface of Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> substrate. Moreover, in case of group 2 substrates, upon successive increasing of SPy concentration, the R<sub>ct</sub> values of Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-(SPy-PPy) substrate turned to be higher than those in group 1. In fact, at high temperature the reaction of SPy in excess amount with the activated substrate cannot be controlled. This phenomenon is common to all trialkoxysilanes (e.g. pyrrole-silane), namely, that polymerization can occur at the free SPy silanol group (Si-OH) on the surface or in solution prior to condensation with the solid substrate. This leads to a highly polymeric and heterogeneous surface or unreacted SPy molecules to the substrate surface, a potential disadvantage when preparing homogeneous surfaces for biosensing applications (42).

#### 4. Conclusions

In the present research, an efficient synthetic method for elaborating conducting Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-(SPy-PPy) hybrid materials was reported. This method was assisted by activation and modification of the Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> semi-conducting substrate surface with pyrrole-silane (SPy) molecules, followed by chemical deposition of PPy conducting polymer layer via chemical oxidative polymerization of Py on the SPy-modified substrate. FTIR spectra showed the successful formation of Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-(SPy-PPy) substrates, as proved by the several characteristic bands of SPy and PPy on the surface of activated Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> substrate. In addition, SEM images showed the successful chemical deposition of PPy layer on Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-SPy substrate. Moreover, the structure, morphology and surface area of PPy conducting layer were significantly modified with the concentration of SPy grafted on Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> substrate.

More interestingly, SPy concentration and temperature of the silanization process played an important role for determining the conductivity of the prepared Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-(SPy-PPy) hybrid substrates. Based on CV and EIS measurements, the best conductivity was obtained for the Si/SiO<sub>2</sub>/Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-(SPy-PPy) hybrid substrates treated with the lowest SPy concentration (4.3 mM), in general, and more particularly at 90°C. Oppositely, by increasing the concentration of

SPy, the PPy films obtained were more resistant (less conductive).

These preliminary results are promising and can be exploited for creating new conducting polymer hybrid materials with controlled electrochemical properties depending on the preparation conditions. In addition, they can be integrated as transducers (for amplification of the electrochemical signal response arising from the biomolecules interaction with PPy layer) in electrochemical sensors or in lab-on chip devices that have wide environmental and biomedical applications (e.g. biosensors).

#### Acknowledgements

We acknowledge the funding through the European Communities Seventh Framework Programme entitled Sea-on-a-Chip (FP7-OCEAN-2013) (No.614168), and the European Union's Horizon 2020 research and innovation program entitled HEARTEN under grant agreement No 643694, and FP7-PEOPLE-2012-IRSES under the grant agreement No. 318053 (SMARTCANCERSENS).

#### References

- Custer, J. S., Smith, P. M., Fleming, J. G., Roherty-Osmun, E. (1999) ACS Symposium Series Inorganic Materials Synthesis, 86–99.
- Joshi, B. C., Eranna, G., Runthala, D. P., Dixit, B. B., Wadhawan, O. P., Vyas, P. D. (2000) Indian J. Eng. Mater. S., 7: 303–309.
- Caballero, D., Martinez, E., Bausells, J., Errachid, A., Samitier, J. (2012) Anal. Chim. Acta, 720: 43–48.
- Gustavsson, J., Altankov, G., Errachid, A., Samitier, J., Planell, J. A., Engel, E. (2008) J. Mater. Sci-Mater. M., 19(4): 1839–1850.
- Travas-Sejdic, J., Peng, H., Cooney, R., Bowmaker, G., Cannell, M., Soeller, C. (2006) Curr. Appl. Phys., 6: 562–566.
- Choi, C. K., English, A. E., Jun, S.-I., Kihm, K. D., Rack, P. D. (2007) Biosen. Bioelectron., 22(11): 2585–2590.
- Caballero, D., Samitier, J., Bausells, J., Errachid, A. (2009) Small, 5(13): 1531–1534.
- Ates, M. (2013) Mater. Sci. Eng. C Mater. Biol. Appl., 33(4): 1853–1859.
- Dridi, F., Marrakchi, M., Gargouri, M., Garcia-Cruz, A., Dzyadevych, S., Vocanson, F., Lagarde, F. (2015) Sensor. Actuat. B-Chem., 221: 480–490.
- Garcia-Cruz, A., Lee, M., Zine, N., Sigaud, M., Bausells, J., Errachid, A. (2015) Sensor. Actuat. B-Chem., 221: 940–950.
- Gursoy, S. S., (Gok), A. U., Tilki, T. (2010) J. Macromol. Sci. A, 47: 681–688.
- Özer, B. O., Çete, S. (2016) Artif. Cells Nanomed. Biotechnol., 45: 824–832.
- Guiseppi-Elie, A., Brahim, S., Narinesingh, D. (2001) J. Macromol. Sci. A, 38: 1575–1591.
- Ashassi-Sorkhabi, H., Bagheri, R. (2014) Synthetic Met., 195: 1–8.

15. Tebizi-Tighilt, F.-Z., Zane, F., Belhaneche-Bensemra, N., Belhousse, S., Sam, S., Gabouze, N.-E. (2013) *Appl. Surf. Sci.*, 269: 180–183.
16. Garcia-Cruz, A., Zine, N., Sigaud, M., Lee, M., Marote, P., Lanteri, P., Errachid, A. (2014) *Microelectron. Eng.*, 121: 167–174.
17. Oliveira, I. A. M. D., Torrent-Burgués, J., Pla, M., Zine, N., Bausells, J., Escriche, L., Samitier, J. (2006) *Anal. Lett.*, 39(8): 1709–1720.
18. Oliveira, I. M. D., Pla, M., Escriche, L., Casabo, J., Zine, N., Bausells, J., Errachid, A. (2004) *Proc. IEEE Sensors*.
19. Wei, Z., Wang, C., Bai, C. (2000) *Surf. Sci.*, 467(1–3): 185–190.
20. Mutin, P. H., Guerrero, G., Vioux, A. (2005) *J. Mater. Chem.*, 15(35–36): 3761.
21. Glaser, A., Foisner, J., Hoffmann, H., Friedbacher, G. (2004) *Langmuir*, 20(13): 5599–5604.
22. Machida, S., Miyata, S., Techagumpuch, A. (1989) *Synth. Met.*, 31(3): 311–318.
23. Brezoi, D.-V. (2010) *Am. j. sci. arts*, 1: 53–58.
24. Bermudez, V. M. (2005) *J. Electrochem. Soc.*, 152 (2): F31–F36.
25. Merlini, C., Rosa, B. S., Müller, D., Ecco, L. G., Ramôa, S. D., Barra, G. M. (2012) *Polym. Test.*, 31(8): 971–977.
26. Łydźba-Kopczyńska, B., Beć, K., Tomczak, J., Hawranek, J. (2012) *J. Mol. Liq.*, 172: 34–40.
27. *Organic Electrochemistry-an Introduction and a Guide*, 2nd Ed., Edited by Manuel M. Baizer, and Henning Lund (1983) Marcel Dekker, New York, p. 1166. *J. Polymer Sci. Polymer Lett. Ed.*, 22 (1984) 459–459
28. Kasisomayajula, S. V., Qi, X., Vetter, C., Croes, K., Pavlacky, D., Gelling, V. J. (2009) *J. Coat. Technol. Res.*, 7(2): 145–158.
29. Jadhav, N., Vetter, C. A., Gelling, V. J. (2013) *Electrochim. Acta*, 102: 28–43.
30. Chougule, M. A., Pawar, S. G., Godse, P. R., Mulik, R. N., Sen, S., Patil, V. B. (2011) *Soft Nanoscience Letters*, 01(01): 6–10.
31. Tian, B., Zerbi, G. (1990) *J. Chem. Phys.*, 92(6): 3886–3891.
32. Tian, B., Zerbi, G. (1990) *J. Chem. Phys.*, 92(6): 3892–3898.
33. Sabouraud, G., Sadki, S., Brodie, N. (2000) *Chem. Soc. Rev.*, 29(5): 283–293.
34. Genies, E., Bidan, G., Diaz, A. (1983) *J. Electroanal. Chem. Interfacial Electrochem.*, 149: 101–113.
35. Funt, B. L., Diaz, A. F. (1991) *Organic Electrochemistry: an Introduction and a Guide*, Marcel Dekker, New York, p. 1337.
36. Mičušík, M., Nedelčev, T., Omastová, M., Krupa, I., Olejníková, K., Fedorko, P., Chehimi, M. M. (2007) *Synthetic Met.*, 157(22–23): 914–923.
37. Hafaid, I., Chebil, S., Korri-Youssoufi, H., Bessueille, F., Errachid, A., Sassi, Z., Ali, Z., Abdelghani, A., Jaffrezic-Renault, N. (2010) *Sens. Actuat. B-Chem.*, 144: 323–331.
38. Bourigua, S., Hafaid, I., Korri-Youssoufi, H., Maaref, A., Jaffrezic-Renault, N. (2009) *Sens. Lett.*, 7: 731–738.
39. Jaffrezic-Renault, N., Errachid, A. (2011) *Biocybern. and Biomed.*, 31: 3–16.
40. Park, S., Yoo, J. (2003) *Analytical Chemistry*, 75(21): 455A–461A.
41. Hallik, A., Alumaa, A., Tamm, J., Sammelseg, V., Väärtnõu, M., Jänes, A., Lust, E. (2006) *Synthetic Met.*, 156: 488–494.
42. Halliwell, C. M., Cass, A. E. (2001) *Analytical Chemistry*, 73(11), 2476–2483.



## Research Paper

# Efficient fabrication of poly(pyrrole)-nanowires through innovative nanocontact printing, using commercial CD as mold, on flexible thermoplastics substrates: Application for cytokines immunodetection



Alvaro Garcia-Cruz<sup>a,\*</sup>, Faiza Nessark<sup>b</sup>, Michael Lee<sup>a</sup>, Nadia Zine<sup>a</sup>, Monique Sigaud<sup>a</sup>, Raquel Pruna<sup>c</sup>, Manuel Lopez<sup>c</sup>, Pedro Marote<sup>a</sup>, Joan Bausells<sup>d</sup>, Nicole Jaffrezic-Renault<sup>a</sup>, Abdelhamid Errachid<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Institut des Sciences Analytiques, Université Claude Bernard Lyon, 5 rue de la Doua, 69100 Villeurbanne, France

<sup>b</sup> Laboratoire d'Electrochimie et Matériaux (LEM), Université de Sétif-1, 19000, Algérie

<sup>c</sup> Departament d'Enginyeries: Electrònica, Universitat de Barcelona, C/Martí i Franquès 1, E-08028 Barcelona, Spain

<sup>d</sup> Centro Nacional de Microelectrónica, Universidad Autónoma de Barcelona, 08193 Bellaterra, Spain

## ARTICLE INFO

## Article history:

Received 18 April 2017

Received in revised form 30 August 2017

Accepted 8 September 2017

Available online 18 September 2017

## Keywords:

Poly(pyrrole)-nanowires

Nanocontact printing

Immunosensor

Electrochemical impedance spectroscopy

Diazonium chemistry

## ABSTRACT

Poly(pyrrole)-nanowires (PPy-NWs) were efficiently printed by using nano printing on flexible thermoplastics, and then used to device an impedimetric immunosensor. The present pioneering technology allow to create high sensitive and disponsible immunosensor devised using a low cost and simple fabrication. The innovative nanocontact printing uses a PDMS stamp replicated from a CD mold. The PPyNW printing uses controlled chemical polymerization to print PPy-NWs on poly (ethylene terephthalate) and polyether ether ketone surfaces. Atomic force microscopy analysis of PPyNW revealed a width, height and a separation length of  $125 \pm 8$  nm,  $377 \pm 5$  nm and  $172 \pm 4$  nm, respectively. The PPy-NWs were characterized by scanning electron microscopy (SEM), X-ray photoelectron spectroscopy (XPS) and electrochemical impedance spectroscopy (EIS). The XPS results evidenced the covalent bonding between the thermoplastic surface and the PPyNws. As a final point, the immunosensor was tested for the quantification of Interleukin 6 recombinant human (IL6, Ag) using EIS. The PPy-NWs were functionalized via diazonium coupling reaction and carbodiimide crosslinker chemistry for the immobilization of Anti-human IL-6 monoclonal antibodies (IL6 mAb's). The developed immunosensor exhibited a sensitivity of  $0.013$  (pg/mL)<sup>-1</sup> (linear fitting at  $R^2 = 0.99$ ) and limit of detection (LOD) of  $0.36$  pg/mL in a linear range of 1–50 pg/mL for Ag IL-6, with a relative standard deviation percentage (RSD%) at 7.6%.

© 2017 Published by Elsevier B.V.

## 1. Introduction

The new field of nanomedicine integrates nanowire (NW) arrays for the development of novel platforms for various applications such as biosensing [1]. In the recent years, the increasing demand for biosensors has been reported. There is certainly a need to improve their performance and to reduce costs. Nanoscale materials provide an alternative solution, such as NWs that have gained tremendous interest because of their interesting electrical and optical properties and quantum confinement effect, when applied to

sensing applications [2]. Also, NWs are very attractive for their integration as a sensing element [3], due to their higher surface area-to-volume ratio. These nanostructures increase sensor sensitivity, offers label-free, direct, and real-time detection at very low concentrations. Devices based on NWs have emerged as one of the most powerful and general platforms for the ultrasensitive direct detection of biological and chemical species, including low concentrations of proteins and viruses [4].

Electrochemical biosensors based on submicron patterned surfaces are of great importance in many fields, especially in medicine for label free detection [5], health care [6], food industry, agriculture, and environmental control [7]. Specially, nanostructured conducting polymers (CPs) are excellent sensing platforms in the design of bio analytical sensors because of their electronic conduc-

\* Corresponding authors.

E-mail addresses: [alvaro.garcia-cruz@etu.univ-lyon1.fr](mailto:alvaro.garcia-cruz@etu.univ-lyon1.fr) (A. Garcia-Cruz), [abdelhamid.errachid@univ-lyon1.fr](mailto:abdelhamid.errachid@univ-lyon1.fr) (A. Errachid).

tivity, low energy optical transitions, biocompatibility, and room temperature operation [8]. Among them, polypyrrole (PPy) is one of the most extensively used conducting polymers because of a number of properties such as redox activity, rapid electron transfer, and ability to link a variety of biomolecules to pyrrole groups by chemical treatment [9]. However, the use of conducting polymer nanowires (CP-NWs) for biosensing applications is limited due to their incompatibility with traditional micro-fabrication processes such as lithography and focused ion beam due to its potential thermal damage during these processes. Numerous methods of assembling CP-NWs to fabricate biosensors have been reported, for e.g., electro spinning, electro polymerization etc [10,11]. Generally, PPy-NWs are largely synthesized by electrochemical polymerization and applied to biosensors [12,13]. Commonly, PPy-NW are synthesized by electropolymerization using a template [14] and then used to fabricate chemiresistive biosensors [15]. Despite the increasing number of nano-engineered technologies and materials, the PPy-NW fabrication require several steps, different time consuming techniques, which are expensive and limited.

New biosensor technologies integrate PPy-NWs functionalized with biomarkers and antibodies for healthcare diagnosis [16,17]. Recent advances in proteomics make in evidence new biomarkers (for e.g. cytokines), resulting in promising tools to diagnose cancer [18]. These studies intended to detect the inflammatory cytokines that might augment in serum as a diagnostic marker for cancer. Additionally, cytokines are very useful for clinical evaluation of patients [19]. Typical biomarker diagnostics is based on the detection of cytokines levels (interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ )), tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), tumor growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ), and interleukins (IL) (IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, or IL-13) in several types of cancer such as bladder [20], pancreas [21], prostate [22], lungs [23], and thyroid [24] cancer. These cancer biomarkers are usually detected by common immunoassay techniques. The gold standard is enzyme-linked immunosorbent assays (ELISAs) [25–27].

Electrochemical immuno-sensors are promising alternative to ELISA tests that are vastly used for cancer and clinical diagnosis [28,29]. Immuno electrochemical sensors devices are based on electrical measurements that employ the specific bio molecular recognition of the antibody-antigen (Ab-Ag) complex, for a desired biomarker of interest. An electrochemical biosensor provides quantitative values for the analyte of interest at reduced costs and analysis time. However, despite the wide spectrum of possibilities, there are still some limitations to improve. Unfortunately, the current fabrication technology of immunosensor requires several steps and time consuming process such as photolithography and expensive semiconductive materials. Currently those techniques are not suitable for large scale production and also difficult to employ for common medical applications as diagnostics. Next generation sensor platforms will require important improvements in fabrication, reproducibility, and flexibility, however especially in sensitivity and specificity [30] in order to meet the future needs in medicine prevention of cancer and chronic diseases.

Here, in this work, we overcame these difficulties by introducing an efficient, low-cost, and easy Poly(pyrrole) nanowires (PPy-NW) printing process. The conducting PPy-NW were printed using the nanocontact printing and controlled chemical polymerization (nCP-CCP) technique on flexible thermoplastic films (poly (ethylene terephthalate) (PETE) and Polyether ether ketone (PEEK)). PPy-NWs were functionalized via diazonium coupling reaction and carbodiimide crosslinker chemistry for the immobilization of specific antibodies (anti-human IL-6 monoclonal antibodies, mAbs). The modified PPy-NW was tested as an impedimetric immunosensors for the detection of human IL-6. The innovative fabrication technology presented herein, bring the disposable immunosensors high sensitive, accessible and easy to produce with inexpensive.

The diazonium chemistry [31,32] has been used to tailor functionalities in a large variety of materials [33], for e.g., carbon (single-walled carbon nanotubes (SWCNTs), glass carbon, diamond, etc), semiconductors (silicon), metals (gold and platinum), and PPy [34–37]. The fabrication of electrochemical immunosensors [38,70] based on the covalent immobilization of linkers via diazotization coupling reaction have been successfully reported before in different materials, for e.g., screen printed carbon electrodes (SPCEs), glassy carbon electrodes (GCEs), graphene modified electrodes, gold electrodes, gold nanoparticles, and diamond electrodes [39–44].

Here, we present the fabrication of an impedimetric immunosensor based on PPy-NWs functionalized via diazonium coupling reaction for the immobilization of specific antibodies (anti-human IL-6 mAbs). At first, 4-phenylacetic acid film was grafted by electrochemical reduction of the diazonium salt (from the 4-aminophenylacetic acid, (4APAC)), followed by terminal carboxylic group activation by *N*-hydroxysuccinimide (NHS) and *N*-(3-dimethylaminopropyl)-*N*-ethyle-carbodiimide hydrochloride (EDC). Subsequently, the carboxyl group activation of 4-phenylacetic acid was conjugated to the terminal amine groups from the antibodies through amide bond formation. After antibodies immobilization, detection of the respective antigen was achieved by using electrochemical impedance spectroscopy (EIS). The PPy-NW functionalization was evaluated using electrochemical methods (cyclic voltammetry (CV)) and EIS, as well as by scanning electron microscopy (SEM).

## 2. Experimental section

### 2.1. Chemicals

#### 2.1.1. Polymers

PDMS (Sylgard 184) was purchased from Dow Corning, France. The applied thermoplastic films were PEEK (HN, 125  $\mu$ m, DuPont) and PETE (125  $\mu$ m, Goodfellow).

#### 2.1.2. Chemicals and reagents

11-(triethoxysilyl)undecanal (TESUD) was purchased from Gelest, USA. *N*-(3-trimethoxysilyl-propyl) pyrrole (Py-silane) was purchased from ABCR GmbH & Co. KG, Germany. 3-Aminopropyltriethoxysilane (APTES), Sulfuric acid (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 30 wt.% in H<sub>2</sub>O), phosphate buffered saline (PBS) buffer, sodium dodecyl sulphate (SDS), iron (III) chloride, Pyrrole, 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide hydrochloride (EDC), *N*-hydroxysuccinimide (NHS) were purchased from Sigma Aldrich, France. Hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (35% wt.) and potassium hydroxide (KOH) were obtained from Acros Organics, France.

#### 2.1.3. Biological reagents

Preparations were performed following the recommendation from the supplier (R&D systems, USA) [45].

The *E. coli*-derived recombinant human IL-1 beta/IL-1F2 (IL-1) was reconstituted at 25  $\mu$ g/mL in sterile PBS. The corresponding *E. coli*-derived recombinant human IL-1 $\beta$ /IL-1F2 antibody (IL-1 rh antibody) was reconstituted at 0.5 mg/mL in sterile PBS.

The *E. coli*-derived recombinant human IL-6 (IL-6) was reconstituted at 100  $\mu$ g/mL in sterile PBS. The respective *E. coli*-derived recombinant human IL 6 monoclonal antibody (IL-6 rh antibody) was reconstituted at 0.5 mg/mL in PBS.

The *E. coli*-derived recombinant human IL-8 (IL-8) was reconstituted at 100  $\mu$ g/mL in sterile PBS. The corresponding *E. coli*-derived recombinant human CXCL8/IL 8 antibody (IL-8 rh antibody) was reconstituted at 0.5 mg/mL in sterile PBS.

The Sf 21-derived recombinant human IL-10 (IL-10) was reconstitution at 0.5 mg/mL in PBS. The respective Sf 21-derived

recombinant Human IL-10 (IL-10 rh antibody), mouse IgG1 class. Monoclonal antibody was reconstituted at 0.5 mg/mL in PBS.

## 2.2. Methods and techniques

Microcontact Printer: Semi-automatic Micro-Contact-Printing System  $\mu$ -CP 3.0 from GeSiM Gesellschaft fuer Silizium-Mikrosysteme mbH, Germany.

### 2.2.1. EIS measurements

Experiments were accomplished in a miniaturized electrochemical Teflon cell and the PPy electrode was set as the working electrode (WE). Perpendicular to that, a platinum counter electrode (CE) and a silver (Ag/AgCl) reference electrode (RE) were used to complete the three electrode system. The experiments were carried out in a freshly prepared 5 mM PBS buffer solution at pH 7.4 as electrolyte. The EIS technique was performed in a Potentiostat EC-lab VMP3 instruments version 9.9 and controlled and modelled using EC-Lab software V10.39, 2014 by Bio-Logic-Science Instruments, France. The data impedance was normalized with the fitting software. For the Z-fit, the Nyquist plots were observed with randomize+simplex method, with randomize stopped on 10,000 iterations and the fit stopped on 5000 iterations respectively. The applied conditions (potential, sinus amplitude, and frequency) were at  $-0.1$  V, 25 mV, 100 kHz to 100 MHz, respectively (35 s/scans). The fitting was dependent on the form of the semi-circle curves obtained in the Nyquist plot. The selection of the equivalent circuit was dependent upon the interfaces of the Nyquist plot to produce the smallest error that was expressed in the standard deviation ( $X^2$ ).

### 2.2.2. Microscopy

All optical microscope images were made with an Axio Vision (Carl Zeiss Microscopy, France). The stereo microscopy images were obtained with an EZ4D (Leica Microsystems, France).

Scanning electron microscope (SEM) images were obtained with a Hitachi SEM S800, France.

Atomic force microscopy (AFM) images were obtained with a Nano observer (CSI Company). The maximum and minimum resolution of the AFM was  $110 \mu\text{m}^2$  and  $5 \mu\text{m}^2$ , respectively. An Ultrasharp Silicon Cantilever CSC17/Ti-Pt/15 MikroMasch tip was employed. The silicon chip thickness of the silicon cantilever (SC17) was 0.4 mm and less than 35 nm for the curvature radius. Tip characteristics were: height of 15–20  $\mu\text{m}$ , full tip cone angles less than  $30^\circ$ , tip and both sides of the cantilever were consecutively coated by continuous films of Ti (15 nm, 1st layer) and Pt (10 nm, 2nd layer). Cantilever Specifications: typical length at  $460 \pm 5 \mu\text{m}$ , width at  $50 \pm 3 \mu\text{m}$ , and thickness of 2  $\mu\text{m}$ . The resonant frequency was 304.14 kHz and an amplitude of 1.756 V. The Force constant was 0.15 N/m (0.05–0.30). Measurements were taken in contact mode with a speed of 0.75 line/s and 1024 resolution.

### 2.3. Activation process

The effectiveness of NaOH (aq) treatment to the modified PEEK [46,47] and PETE [48–50] was established previously. Here, the thermoplastic substrates were cleaned by sonication and rinsed, first with propanol and then with distilled water. PETE and PEEK substrates were treated with ultraviolet irradiation (320 nm, 10 min) and then activated in KOH (3 M) solution for 5 min [51]. This treatment generated hydroxyl groups onto the surface. Afterwards, the substrates were thoroughly rinsed with distilled water and dried with nitrogen. The activated polymers were characterized after activation using SEM as shown in Fig. S1. The PPyNW are covalently

bonded to the activated thermoplastic surface via silane chemistry [52,53].

### 2.4. Master mold preparation

A standard CD contains a nano-patterned plastic layer, this layer consists of wire arrays with a typical depth and width of  $\sim 180$  nm and  $\sim 800$  nm, respectively [54]. The AFM characterization of the CD mold is shown in Fig. S2. The nanostructured master mold was obtained from a commercially compact disk (CD, 700MB, 52X, Maxell). The samples ( $1 \text{ cm}^2$ ) were first ultrasonically cleaned in acetone for 5 min. The nanopatterned plastic layer was obtained by treating the sample with nitric acid (60% solution, 5 min), then rinsed in Milli-Q water and ethanol, and finally dried under nitrogen. The nanopatterned plastic layer was used as the mold, and replicated in PDMS.

### 2.5. PDMS stamp fabrication

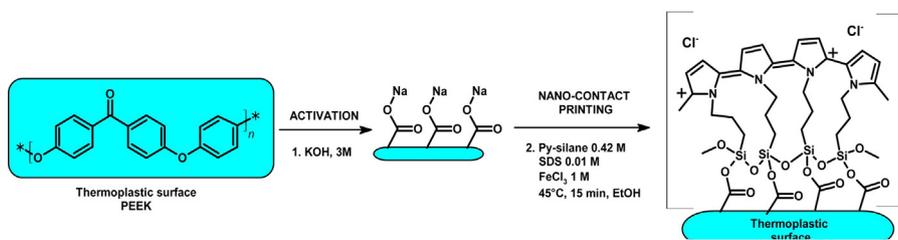
The nanostructured PDMS stamp was obtained by replica molding using the nanostructured plastic part of a commercial CD as a master mold. Stamps for nCP were fabricated from elastomeric PDMS by mixing a 10:1 ratio (w/w) of the pre-polymer and the cross-linker following the recommendations of the supplier [55]. The mixture was first degassed, poured on the nanopatterned plastic surface, and cured at  $80^\circ\text{C}$  for 1 h. The CD nanopatterned arrays were transferred to the PDMS surface by casting. After curing, the nanopatterned PDMS stamps were fixed to a semi-automated microcontact printer. The nano patterned PDMS stamps produce a high quality printing of PPy-NWs and this printing mode has been used before within our group for nCP of thiols [56–58]. The AFM imaging for the PDMS stamp is shown in Fig. S2.

### 2.6. PPy-NW printing process

We have developed a nCP of PPyNW on thermoplastics substrates using a PDMS stamp replicated from a CD mold. The thermoplastic surfaces were previously activated. Subsequently, the nanostructured PDMS stamp was inked with a monomer, catalyst, and surfactant (0.42 M Py-silane, 0.01 M SDS and 1 M  $\text{FeCl}_3$ ). Before printing, the  $\mu$ -CP printer was configured with a pressure of 128.5–129 KPa, printing level of 25.8 mm and 4  $\mu\text{L}$  ink per  $1 \text{ cm}^2$ . Afterwards, the surfaces were brought into conformal contact and the printed surface was then heated at  $45^\circ\text{C}$ . The inking time was 20 s and printing time of 15 min at  $45^\circ\text{C}$ . The process occurred in a single step. The PPyNW were characterized using AFM and SEM (FigS and FigS).

### 2.7. Preparation of diazonium salts

A 4.2 mM solution of 4-aminophenylacetic acid (4APAC) was prepared in 1 mL of an aqueous HCl solution (1M)/ethanol 50:50 (v/v), named solution 1, ( $S_1$ ). A second solution ( $S_2$ ) was prepared containing 89 mM of sodium nitrite in 1 mL of a water/ethanol mixture (50:50). For the diazotisation, 44  $\mu\text{L}$  from  $S_2$  was mixed with 956  $\mu\text{L}$  of  $S_1$  and then stirred in ice ( $-2^\circ\text{C}$ , 5 min). Successively, the mixture  $S_1$ - $S_2$  is diluted in 20 mL of a solution containing HCl (0.1 M)/ethanol (50/50) aqueous solution (stirring at  $0^\circ\text{C}$ ) to obtain a 0.19 mM solution ( $S_3$ ) of the diazonium salt [59]. The solution ( $S_3$ ) was placed into the electrochemical cell for the electro reduction. Electro reduction of the aryldiazonium salt on the PPy electrode is performed by cyclic voltametry (CV) between a potential of 0.1–1.3 V at 50 mV/s (see, Fig. 4).



**Fig. 1.** (1) Activation process and (2) PPy-NW printing by nCP-CCP to finally produce the chemical structure of PPy oxidized.

### 3. Results and discussion

#### 3.1. Thermoplastic polymers activation

PEEK and PETE surface was characterized using SEM as shown in Fig. S1a/c (section 1, Supporting Information). Here, we observed that PEEK and PETE behaved different to the activation process due their chemical structure coffering resistance to the KOH treatment. Both thermoplastic surfaces after activation became more hydrophilic and roughness was increased. The PETE and PEEK during the activation process produced carboxylic groups by hydrolysis, as shown schematically in Fig. 1.

#### 3.2. PPy-NW electrode fabrication

Conductive PPy-NWs were printed on the thermoplastic substrates by using nCP-CCP. A commercial CD was replicated to produce a nano patterned PDMS stamps, and then employed to print PPy-NWs. The CD mold and PDMS as well as the PPyNW printed on thermoplastic surfaces wer characterized using SEM (Fig. S1) and AFM (Fig. S2). Additionally, an analysis of the nanocontact printing pattern transfer is presented in supporting information Section 2. Further discussion regarding the reproducibility and reliability of the PPyNW fabrication method can be found in this section.

The printed PPy-NWs were fabricated at  $747 \pm 12.2$  nm (width),  $114 \pm 8$  nm (height) and a separation length of  $573 \pm 13.4$  nm, as shown in Fig. S1 b/d. The ink formulation was composed of *N*-(3-trimethoxysilypropyl) pyrrole monomer (Py-silane, 0.42 M), sodium dodecyl sulphate as structural agent (SDS, 0.01 M) and Iron(III) chloride as catalyst (FeCl<sub>3</sub>, 1 M) in ethanol solvent. The molar ratio catalyst to monomer was set at 7:3. The nCP-CCP was performed at 45 °C for 15 min. The nCP-CCP technique enabled chemical bonding of the PPy to the thermoplastic surface. The printed PPy-NW on thermoplastic films were used as electrodes. The fabrication process is shown schematically in Fig. 1.

#### 3.3. PPy-NW characterization by X-ray photoelectron spectroscopy (XPS)

PEEK and PETE thermoplastic films were studied before and after PPy printing using X-ray Photoelectron Spectroscopy (XPS). The activated thermoplastic surfaces show the characteristic signals of C 1s and O1s species. Subsequently to the PPy printing, the relative increment on C1s and O1s species were detected, besides new species were present, for e.g., N1s, Si 2p, Fe 2p<sup>3</sup> and Cl 2p, that probed PPy silane was deposited on the thermoplastic surfaces. Additionally, the presence of Cl 2p and Fe 2p revealed that the PPy was oxidized [60]. After XPS spectra normalization, atomic relative percentage was calculated for the elemental analysis from each sample.

#### 3.3.1. PETE characteristics

The PETE polymer presents typical signals of C1s and O1s species [61] (Fig. S3). XPS high-resolution spectra from PETE activated surface displays distinctive peaks located at 284, 285.5, and 288.4 eV attributed to the C–C/C–H, C–O/C–O–C, O–C=O/C=O signals, respectively (Fig. 3a).

After PPy printing, the N1s signal appeared (from the PPy), the C1s signal decreased and the O1s increased. The O1s, Si 2s, and Si 2p species were increased due to the presence of silane Si–O groups on the PPy-silane. These characteristic signals demonstrated that PPy-silane was covalently bonded to PETE surface. In addition, the presence of Cl 2p and Fe 2p corresponded to the oxidant of FeCl<sub>3</sub> which reveals that the PPy-NW film was in its oxidized state [62]. The collection of XPS spectra from PETE activated and modified with PPy-NW is shown in Fig. S3 and Table S2 (Section 3, Supporting Information). The apparition of the N1s, Si 2p, Cl 2p, and Fe 2p<sup>3</sup>, and also the oxygen content in the sample increased proving that PPy was successfully deposited on the surface. XPS high-resolution demonstrate the presence of PPy, distinctive peaks were observed at 285.5 and 287.8 eV corresponded to the C–O/C–O–C and O–C=O/C=O signals, respectively. This surface modification caused decrement on the carboxyl groups (C–O, C=O) as shown in Fig. S4.

#### 3.3.2. PEEK film characterization

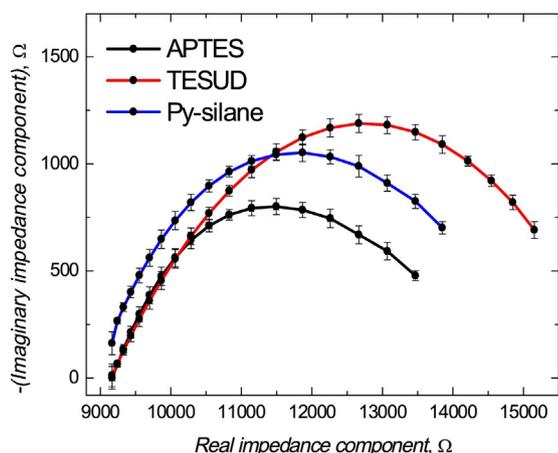
The activated PEEK polymer presents specific signals of C1s and O1s species [63–65] (Fig. S5 and Table S3, Section 3, Supporting Information). After PPy-NW printing, the N1s signal appeared (from the PPy), the oxygen increased. The O1s, Si 2s and Si 2p species increased due to the presence of the siloxane polymer part (Si–O groups) on the PPy-silane. These signals provide evidence that PPy-silane was deposited on the PEEK thermoplastic surface. Furthermore, the presence of Cl 2p and Fe 2p proved that the PPy-NW film was doped [66].

XPS high-resolution analysis (Fig. S5) for activated PEEK surface exhibited distinctive peaks at 284.3, 285.4 and 291.4 eV attributed which corresponded to the C–C/C–H, C–O/C–O–C and the  $\pi - \pi^*$  satellite band, respectively (Fig. S5a). Subsequently, the PEEK modified surface with PPy-NW presented C–C/C–H, C–O/C–O–C, O–C=O/C=O signals at 284.4, 285.3 and 287.6 eV respectively (Fig. S5b). The deposition of the PPy-NW caused the decrement of carboxyl groups (C–O, C=O) due to the presence of the silane bonding.

#### 3.4. Electrochemical studies

##### 3.4.1. PPy characterization by electrochemical impedance spectroscopy (EIS)

The electrical properties of the PPy films were studied by EIS. The obtained EIS data was plotted as a Nyquist plot model with a corresponding equivalent circuit [67]. The resulting EIS curves were fitted and the component values were extracted using equivalent circuit chosen according to the interfaces obtained in the Nyquist plot of the semicircles. The Nyquist plot represented the imaginary impedance  $-\text{Im}(Z)$  against the real impedance  $\text{Re}(Z)$ . Here,



**Fig. 2.** Nyquist plot of PPy films prepared with: a) APTES and Py-silane, b) TESUD, and c) Py-silane. The experiments were carried out at a frequency range between 100 kHz and 100 MHz and a drop potential of ( $E = -0.138 \text{ V}/(\text{Ag}/\text{AgCl})$ ).

we applied the equivalent circuit ( $R_1 + Q_2/R_2$ ) to calculate the best fit of the data. The equivalent circuit consistent of capacitive and resistive components, where:  $R_1$  represented the resistance due to the electrolyte solution.  $R_2$  is the resistance of the WE (PPy matrix) and the  $Q$  is the constant phase element, related to the capacitive phenomena.

#### 3.4.2. Influence of the silane linker into the PPy properties

We studied the electrical properties and topography changes induced by the silane linker into PPy chemically polymerized into the PEEK surfaces. Silane linker was chemically bonded on PEEK surface (previously activated). Silane linker was deposited by drop coating and then cured at  $80^\circ\text{C}$  for 1 h. PPy chain was chemically polymerized on the top of the silane linker layer as shown in Fig. S6 (Section 4, Supporting Information). We studied three different silane linkers for PPy deposition, 11-(triethoxysilyl)undecanal (TESUD), *N*-(3-trimethoxysilyl-propyl) pyrrole (Py-silane) and 3-Aminopropyltriethoxysilane (APTES). We observed that each silane assembled differently due to their affinity to the activated thermoplastic surface, resulting in different PPy properties. More detailed experimental information concerning the silanes linkers deposition and PPy chemical polymerization is shown in Fig. S6.

Electrical properties and structuration of the PPy film was affected by the silane linkers. PPy films were imaged and measured using SEM and EIS, respectively. The resulting PPy films were firstly studied by EIS and represented in a Nyquist plot shown in Fig. 2. Apparently, the PPy conductivity and adherence to the thermoplastic surface was improve when using APTES. The silane linkers influenced the PPy film conductivity in this order  $\text{TESUD} < \text{Py-silane} < \text{APTES}$  (Fig. 2). Furthermore, SEM imaging demonstrate the surface modification for each step, firstly the silane linker deposition on PEEK, subsequently to the PPy deposition and then electrodeposition of diazonium salts on the PPy surface (PPyPAC).

SEM imaging for the silane deposition on PEEK is shown in Fig. 3a/d/g. Py-silane produced a rough surface with grains (Fig. 3a). APTES deposition resulted in the formation of a crystalline web (Fig. 3d). TESUD deposition resulted in flakes formation (Fig. 3g). Succeeding to the silane linker deposition, PPy was chemically deposited on the top as shown in Fig. 3b/e/h. The PPy grew using Py-silane resulted in a rough surface decorated with grains and crystals (Fig. 3b). The PPy produced using APTES presented a filament assembling. TESUD linker produced multilayer structures of PPy covered with grains (Fig. 3h). Finally, the PPy film was modified by the electroreduction of diazonium salts (Fig. 3c/f/i). The electrodeposition modified the PPy topography, resulting in a highly

porous assembling. In conclusion, the APTES linker after electro-modification resulted enhanced electrical properties and presented best adherence.

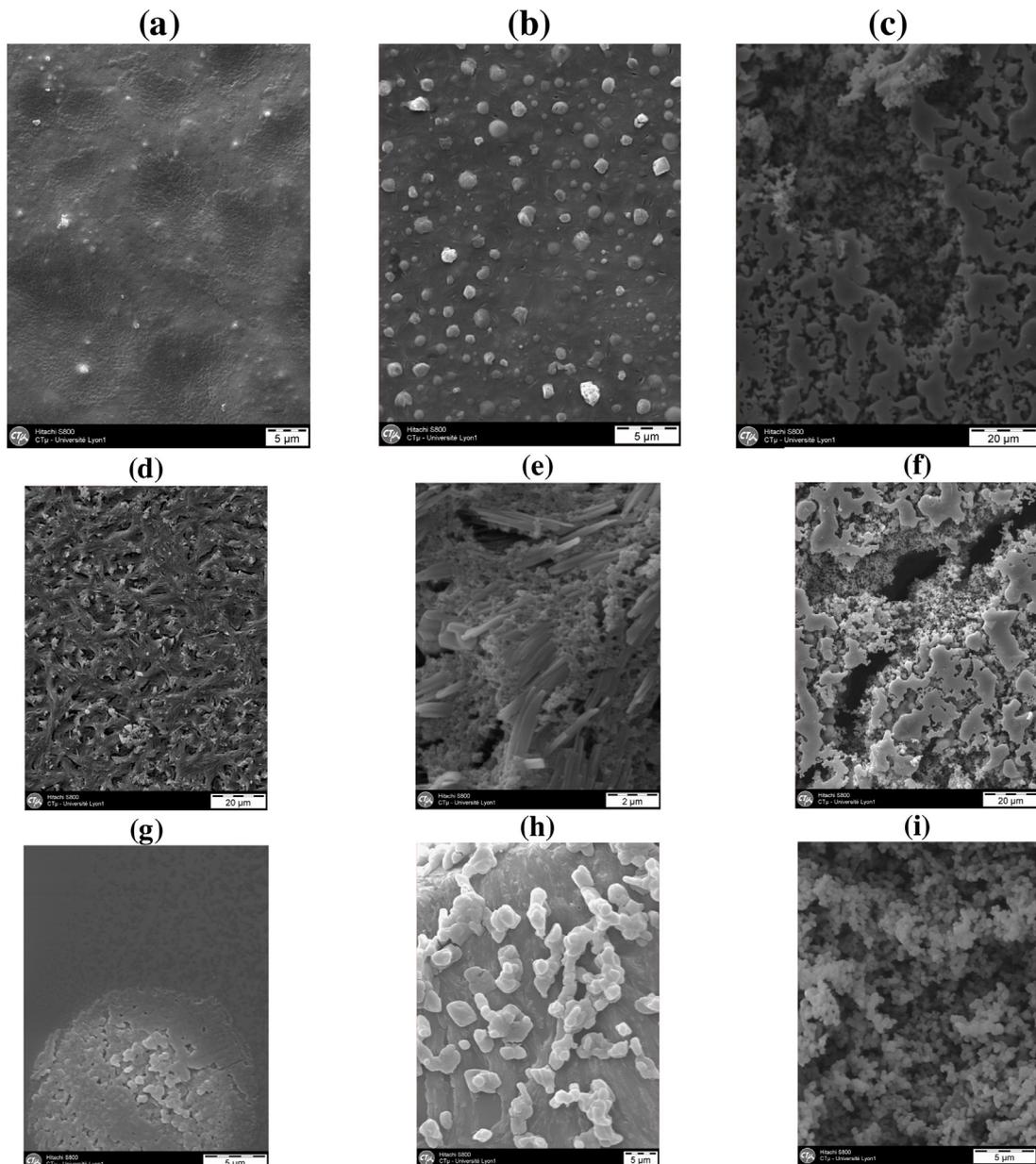
#### 3.4.3. Electroreduction of aryldiazonium salts on PPy electrodes

PPy-NWs were functionalized via electro reduction of diazonium salts. Diazotization of 4-amino-phenyl acetic acid, subsequently to their electro reduction resulted in electrodeposition of 4-phenyl acetic acid layer on PPyNW (see, Section 2.7). Electro-reduction was carryout using CV performed in a potential range between 0.1 and  $-1.3 \text{ V}/(\text{Ag}/\text{AgCl})$  and a scan rate of  $50 \text{ mV/s}$ , 15 cycles (until saturation) in PBS buffer. The first cycle presented a reduction wave, for the diazonium, proving successful electrodeposition of 4-phenyl acetic acid layer at the PPy-NW electrode surface (Fig. 4A). Also a slightly reduction peak was observed at  $-0.5 \text{ V}/(\text{Ag}/\text{AgCl})$  attributed to the reduction of hypo phosphorous acid  $\text{H}_3\text{PO}_2$  from the buffer solution. The second reduction wave, observed at  $-0.9 \text{ V}/(\text{Ag}/\text{AgCl})$  was higher and more defined. This second wave corresponded to the reduction of the cation aryl diazonium at the polymer surface, by the reduction of nitrogen and the phenyl acetic acid radical deposition on the PPy surface. The reduction of the cation aryl diazonium salt is typically observed by other authors at  $-0.75 \text{ V}/(\text{Ag}/\text{AgCl})$  on graphite microarrays [68], at  $-1.1 \text{ V}/(\text{Ag}/\text{AgCl})$  in the case of gold [69] and graphite electrodes [69], and in reduced PTFE at  $-1.4 \text{ V}/(\text{Ag}/\text{AgCl})$  [71]. The diazonium species reduction is an irreversible cathodic process. Afterwards, the electrode surface during cycling was saturated due to the isolating organic film deposition on the PPy-NW surface. This provided the formation of phenyl acetic acid layers. Contrary to our experience, diazonium salt reduction into carbon electrodes is observed from the first cycle and there are not saturation phenomena during cycling. During the reduction process, the organic film growth into the PPy surface resulted in an increment of surface area of the electrode and, therefore, it became rougher and less conductive [72,73].

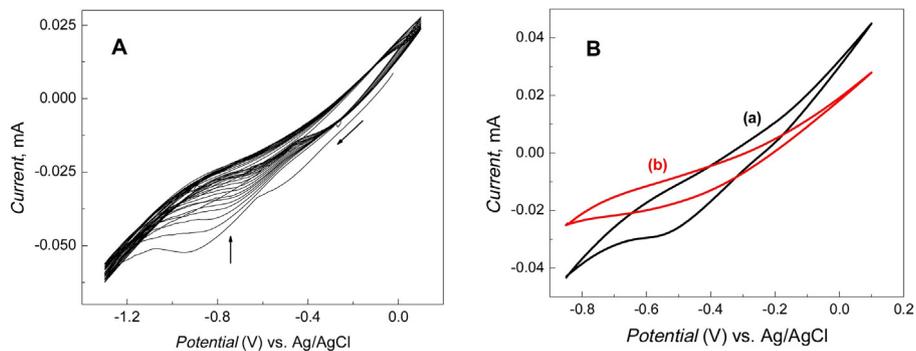
The previously reported electro reduction of diazonium salts on PPy film [4] showed in the first voltammetric cycle, a reduction peak at  $+0.16 \text{ V}$  due to reduction of the diazonium salt. Peaks corresponding to reduction and oxidation of the polymer were observed at  $-0.25 \text{ V}$  at  $-0.15 \text{ V}$ , respectively. In the next cycle, only the reduction and oxidation peaks of the polymer can be observed. The redox potentials of the PPy films stabilized at about  $-0.4 \text{ V}$  for reduction and at about  $0.3 \text{ V}$  for oxidation. These differences are related to the PPy-NW electrochemical properties, which differs from the PPy film prepared electrochemically, since our printing technology is based in a chemical polymerization. On the other hand, compared with the carbon electrode [3–6], the saturation was obtained from the first cycle. Furthermore, a shift on the reduction potential from the aryl diazonium compound was located in more positive values. In our case, we did not observe any positive sweep potential. This confirmed that the diazonium did not oxidize and the surface grafting process was irreversible. The coverage rate of the phenyl acetic acid deposited film was calculated at  $\Theta = 76.54\%$ .

#### 3.4.4. Electrochemical characterization of the PPy modified electrodes (PPyPAC)

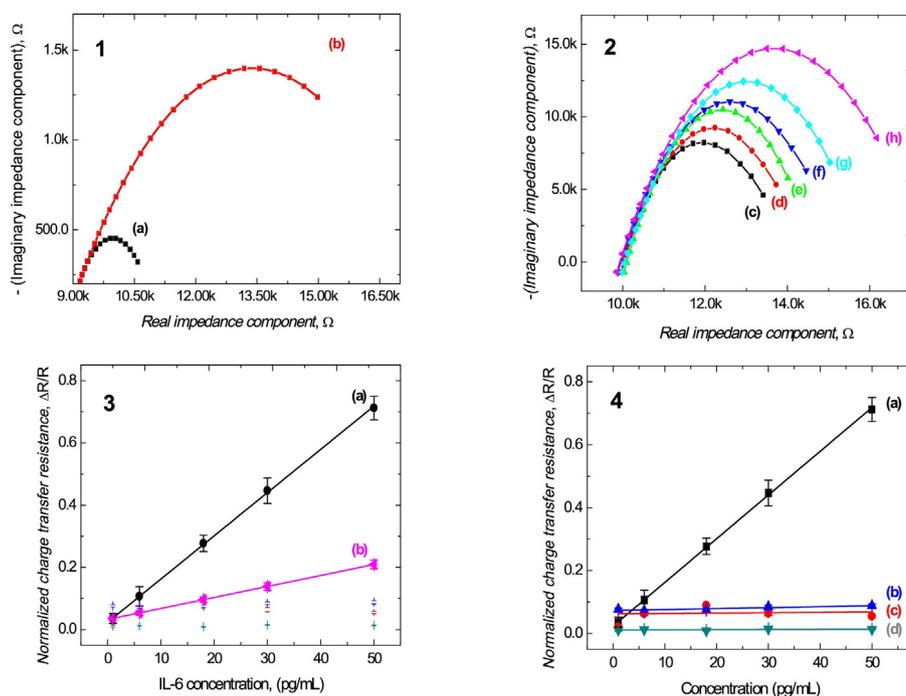
The electrochemical performance of PPyPAC electrodes was studied firstly by CV. The voltammograms from the original PPy and modified PPyPAC electrodes were compared as shown in Fig. 4B. The cyclic voltammograms were recorded over a range of potential between  $-0.85$  and  $0.1 \text{ V}/(\text{Ag}/\text{AgCl})$  and a scanning rate of  $50 \text{ mV/s}$  in PBS buffer solution (pH 7.4, surface electrode area,  $\Phi = 50.3 \text{ mm}^2$ ). The voltammogram from the PPy electrode (Fig. 4Ba) showed (cathodic potentials) a weak PPy oxidation wave observed at  $0 \text{ V}/(\text{Ag}/\text{AgCl})$ , and (anodic potentials) displayed two weak peaks at  $-0.2 \text{ V}$  and  $-0.5 \text{ V}/(\text{Ag}/\text{AgCl})$ , respectively. These



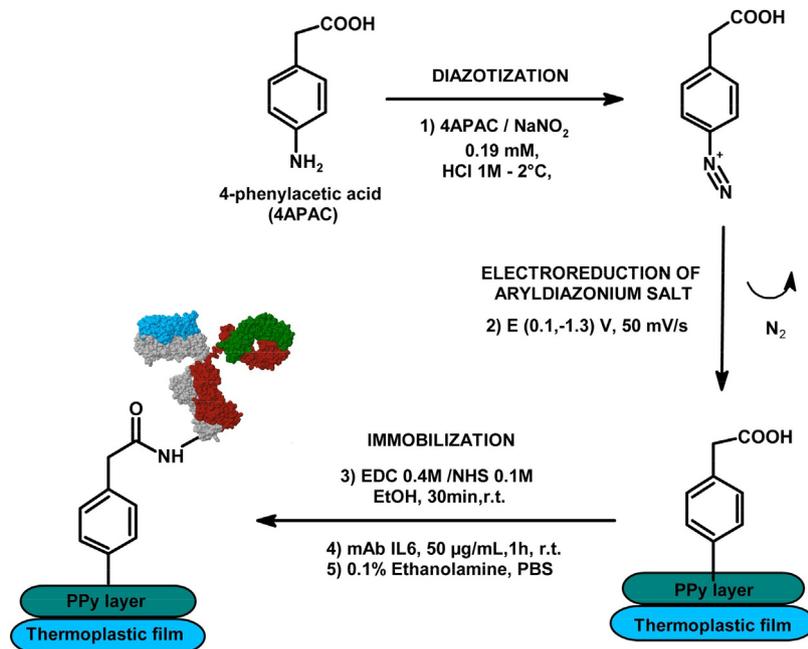
**Fig. 3.** SEM images of silane linker deposition (a, d, c) on PETE substrates. Later on, PPy growth (d, e, h), and after electro reduction of diazonium salts on the PPy surface (c, f, i). In (a) Py-silane deposition on PETE (5  $\mu\text{m}$  scale bar). (b) PPy obtained using Py-silane (scale 5  $\mu\text{m}$ ). (c) PPy modified by electro reduction of diazonium salts (scale 20  $\mu\text{m}$ ). (d) APTES grafted on PETE. (e) PPy on APTES layer. (f) The electro modified PPy film with diazonium salts. (g) TESUD silane deposition on PETE (scale 5  $\mu\text{m}$ ). (h) PPy prepared on TESUD. (i) The PPyPAC modified surface.



**Fig. 4.** (A) Successive voltammograms from the aryldiazonium (0.19 mM) electro reduction on PPy\* electrode over a potential range between 0.1 and  $-1.3\text{ V}/(\text{Ag}/\text{AgCl})$  at 50 mV/s (\*conductive PPy-NW printed on PETE). (B) Cyclic voltammograms from (a) PPy electrode and in (b) after modification with PPyPAC. Experiments were recorded between  $-0.85$  and  $0.1\text{ V}/(\text{Ag}/\text{AgCl})$  at 50 mV/s (PBS, pH 7.4,  $\theta = 50.3\text{ mm}^2$ ).



**Fig. 5.** Nyquist plot 1, shows the (a) PPy electrode and the (b) PPyPAC electrode. Nyquist plot 2, present in (c) the PPyPAC modified with antibody IL6. Afterwards, detection of the corresponding IL6 antigen: (d) 1 pg/mL (e) 6 pg/mL, (f) 18 pg/mL (g) 30 pg/mL and (h) 50 pg/mL. In 3, comparison of the EIS determination of antigen IL-6 using (a) PPyNW and (b) bulk PPy. In 4, response of the immunosensor selective to IL-6 for (a) IL-6, (b) IL-8, (c) IL-10 and (d) IL-1. The immunosensor presented a LOD of 0.36 pg/mL. The analysis was performed in PBS solution (pH 7.4) at r.t., over a range of frequency between 100 KHz and 100 MHz at a drop potential of ( $E = -0.138 \text{ V}/(\text{Ag}/\text{AgCl})$ ).



**Fig. 6.** The immunosensor is fabricated by modifying the PPy-NW via electro reduction of a 4-phenylacetic diazonium salt (PPyPAC layer). IL6-mAb are immobilized using EDC/NHS chemistry.

corresponded to the reduction of the PPy film and the hypo phosphorous acid  $\text{H}_3\text{PO}_2$  from the electrolyte solution. The last signal was also observed during the electro reduction of the aryl diazonium salt into the PPy electrode. The voltammogram in (Fig. 4Bb) from the modified electrode PPyPAC, showed a complete disappearance of oxidation and reduction waves from PPy film. This evidenced the electro deposition of the isolating phenyl acetic acid layer. This method on PPy film surface offers the advantages of pre-

serving the electrical conductivity and mechanical strength of the film.

#### 3.4.5. Electrode characterization and antigen interleukin 6 detection by EIS

EIS measurements were performed and the Nyquist plots from the PPyPAC modified electrode was compared against the original PPy electrode (Fig. 5Aa). EIS was carried out in PBS (pH 7.4) at a drop potential of ( $E = -0.138 \text{ V}/(\text{Ag}/\text{AgCl})$ ) and at a frequency range

**Table 1**  
Immuno-sensors comparison of their analytical parameters

Cytokine	Concentration range (pg/mL)	LOD (pg/mL)	Transducing technique	Ref
IL-6	$1 \times 10^{-5}$ –0.1	$1 \times 10^{-5}$	EIS	[78]
IL-6	0.005–0.05	0.005	Amperometry	[79]
IL-6	1–50	0.013	EIS	This work
IL-6	0.02–20	0.02	EIS	[80]
IL-4	50–70000	0.02	Chemiluminescent	[81]
IL-8	0.1–1000	0.03	EIS	[82]
IL-1, IL-6	0.015–11	0.01–0.04	Amperometry	[83]
IL-6	$0.1-1 \times 10^5$	0.059	LSV	[84]
IL-6	$0.5-1 \times 10^4$	0.1	DPSV	[85]
IL-10	0.1–20	0.1	EIS	[86]
IL-6	1–40	0.3	Amperometry	[87]
IL-1	0.5–100	0.38	Amperometry	[88]
IL-6	$1.0-1 \times 10^4$	0.38	Amperometry	[89]
IL-6	1.75–500	0.39	Amperometry	[90]
IL-6	0–400	0.41	Amperometry	[91]
IL-6	2–20,000	1.0	SWV	[92]
IL-6	4.0–800	1.0	Amperometry	[93]
IL-6	1.0–100	1.37	FET	[94]
IL-6	$5-5 \times 10^4$	2	SWV	[95]
IL-12	$0-1 \times 10^4$	4	EIS	[96]
IL-6	4.7–300	4.7	FET	[97]
IL-6	20–400	20	Amperometry	[98]
IL-8	62.5–2000	72.4	Amperometric	[99]
IL-8	$0.9-9 \times 10^5$	90	EIS	[100]
IL-6	$1 \times 10^3-1 \times 10^5$	1000	Amperometry	[101]
IL-10	1.0–10	–	EIS	[102]
IL-1, IL-6, IL-10	1.0–15	–	EIS	[103]

between 100 KHz and 100 mHz. The resulting PPyPAC electrode after reduction of the diazotization process showed more capacitive behaviour than the PPy polymer alone. The isolating deposited on PPy surface was evidenced by the increase of the charge transfer resistance ( $R_{ct}$ ). (Fig. 5Ab). After PPy film was modified with diazonium salts into PPyPAC, the antibody immobilization was performed via carbodiimide chemistry.

The carboxyl groups of 4-phenylacetic acid film (PPyPAC modified electrodes) was activated by EDC/NHS (0.4 M/0.1 M in ethanol, 30 min at r.t.) and then conjugated to terminal amine group from the antibodies through amide bond formation. Subsequently, PPyPAC electrodes were functionalized with anti-IL-6 mAb's (50  $\mu$ g/mL in PBS for 1 h). After incubation, 0.1% ethanolamine in PBS was added to deactivate the unreactive sites (30 min). The comparison between PPyPAC electrode before and after antibody immobilization (PPy-Ab) is shown in (Fig. 5Bc). The recognition of the respective antigen human IL6 was determined using EIS. For that purpose, a standard calibration curve was prepared measuring IL6 solutions with a concentration range of 1 pg/mL to 50 pg/mL (incubation 30 min at r.t. in PBS), (Fig. 5Bd–h). The curve obtained after the immobilization of anti-IL6 mAb became less capacitive with respect to the PPyPAC curve due to the charge transfer properties conferring to the surface (Fig. 5B). We found that during IL6 detection, the Nyquist plot presented in the high frequencies similar angle phase of  $45^\circ$  (Fig. 5B).

The immobilization process is schematically presented in Fig. 6. Determination occurred only at the low frequencies. This is accompanied by the increase of the polarization resistance due to the capacitive layer phenomenon owing to the detection on the PPy-Ab electrode surface. After incubation with different increasing concentrations, the plot clearly shows that  $R_{ct}$  increases with the increased concentration of IL-6 antigen. This indicates that the PPy-IL6-mAb electrode was successfully operational as an immunosensor. From the Nyquist plot antigen IL6 detection (1–50 pg/mL) a calibration curve (Fig. 5C) was obtained plotting the normalized  $R_{ct}$  measured ( $\Delta R = [R_{ct_{\text{Detection}}} - R_{ct_{\text{Antibody}}}] / R_{ct_{\text{Antibody}}}$ ) against the IL-6 concentration [74]. The immunosensor presented a sensitivity of  $0.013 \text{ (pg/mL)}^{-1}$  (linear

fitting at  $R^2 = 0.99$ ) and a limit of detection (LOD) of 0.36 pg/mL. The reproducibility of the Immunosensor was calculated with a relative standard deviation percentage (RSD%) at 7.6%.

In addition, the PPy bulk film presented a sensitivity  $0.004 \text{ (pg/mL)}^{-1}$  and LOD of 3.3, ( $R^2 = 0.98$ ). These results revealed that PPyNW are 3.2 times higher sensitive when compared to the PPy bulk, proving that the high sensitivity of the PPyNWs.

The immunosensors is highly selective to IL-6, as shown in Fig. When the immunosensors was exposed to a different IL interferent (IL-1, IL-8 and IL-10) the response was three orders of magnitude lower and nonlinear response was obtained.

#### 3.4.6. Performance PPyNW base immunosensor

Previous reported electrochemical cytokine interleukin immunosensors have shown the possibility of determination at sub nano scale concentration. Nevertheless, the sensor preparation methods still tedious, time consuming, costly materials and techniques for surface modification are needed [75,76].

Besides, those immunosensors that include nanostructures present a lack of control for the structuration and positioning of nano objects. Furthermore, the modulation of the electrical properties still challenging.

Herein, we overcome those problems with the present pioneering technique. Our technology involves the nano contact printing technique which integrate the low cost electrode fabrication in nonconductive materials and the efficient electro-immobilization of antibodies. The technology presented on this work is highly sensitive and easy to device. Successfully determination of cytokines can be performed at pg/mL concentrations and can reach LOD of sub ng/mL.

Furthermore, several studies have documented high IL-6 levels in body fluids of patients with certain carcinomas. Typically, normal concentration of IL-6 in healthy individuals is less than 6 pg/mL, while mean serum IL-6 in patients is higher than 20 pg/mL [77]. The LOD and linear range of the present immunosensors permit to differentiate a healthy patient (Table 1).

#### 4. Conclusions

We effectively fabricated PPyNWs using our pioneering printing technology on flexible thermoplastics (PEEK and PETE). PPy-NWs were characterized using AFM, SEM, XPS, CV, and EIS. Anti-human IL-6 monoclonal antibodies (mAb's, IL6) were chemically immobilized on a PPyNWs film using diazonium chemistry and cross linkers (carbodiimide). The successfully devised impedimetric immunosensors presented a sensitivity of  $0.013 \text{ (pg/mL)}^{-1}$  and LOD of  $0.36 \text{ pg/mL}$ . The current technology can be applied for development of diagnostic tools and for biomarker determination.

#### Acknowledgements

To CONACYT (Mexican National Council of Science and Technology) Scholarship Program, the SMARTCANCERSENS project (FP7-PEOPLE-2012-IRSES) under the grant agreement No. 31805, the NATO project, SPS (NUKP.FSPP984173), the SEA-on-a-CHIP project (FP7-KBBE) (614168) and it reflects only the author's views.

#### Appendix A. Supplementary data

Supplementary data associated with this article can be found, in the online version, at <http://dx.doi.org/10.1016/j.snb.2017.09.057>.

#### References

- [1] G. Zheng, F. Patolsky, Y. Cui, W.U. Wang, C.M. Lieber, *Nat. Biotechnol.* 23 (10) (2005) 1294–1301.
- [2] S.K. Ray, A.K. Katiyar, A.K. Raychaudhuri, *Nanotechnology* 28 (9) (2017) 092001.
- [3] X. Liu, X. Huo, P. Liu, Y. Tang, J. Xu, H. Ju, *Biosens. Bioelectron.* 92 (2017) 171–178.
- [4] A. Zhang, G. Zheng, C.M. Lieber, *Nanowire Field-Effect Transistor Sensors*, in: *Nanowires*, Springer International Publishing, 2016, pp. 255–275.
- [5] X. Sun, N. Hui, X. Luo, *Microchim. Acta* 184 (3) (2017) 889–896.
- [6] S. Tripathy, S.R.K. Vanjari, V. Singh, S. Swaminathan, S.G. Singh, *Biosens. Bioelectron.* 90 (2017) 378–387.
- [7] V. Kumar, P. Guleria, S.K. Mehta, *Environ. Chem. Lett.* (2017) 1–13.
- [8] C. Zhan, G. Yu, Y. Lu, L. Wang, E. Wujcik, S. Wei, *J. Mater. Chem. C* 5 (7) (2017) 1569–1585.
- [9] N. Aydemir, J. Malmström, J. Travas-Sejdic, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 18 (12) (2016) 8264–8277.
- [10] J.H. Kim, W.S. Chang, D. Kim, S.H. Cho, S.K. Seol, *Mater. Chem. Phys.* 147 (3) (2014) 1171–1174.
- [11] M. Šetka, J. Drbohlavová, J. Hubálek, *Sensors* 17 (3) (2017) 562.
- [12] T.L. Tran, T.X. Chu, D.C. Huynh, D.T. Pham, T.H.T. Luu, A.T. Mai, *Appl. Surf. Sci.* 314 (2014) 260–265.
- [13] F. Xiao, L. Wang, H. Duan, *Biotechnol. Adv.* 34 (3) (2016) 234–249.
- [14] Z.D. Kojabad, S.A. Shojaosadati, *Mater. Des.* 96 (2016) 378–384.
- [15] D.J. Shirale, M.A. Bangar, M. Park, M.V. Yates, W. Chen, N.V. Myung, A. Mulchandani, *Environ. Sci. Technol.* 44 (23) (2010) 9030.
- [16] J. Shan, Z. Ma, *Microchim. Acta* (2017) 1–11.
- [17] J.M. Moon, Y.H. Kim, Y. Cho, *Biosens. Bioelectron.* 57 (2014) 157–161.
- [18] D.V. Kalvakolanu, *Cytokine* 89 (2017) 1–3.
- [19] T. Koga, K. Migita, S. Sato, M. Umeda, F. Nonaka, S.Y. Kawashiri, T. Origuchi, *Medicine (Baltimore)* 95 (16) (2016).
- [20] D. Margel, M. Pevsner-Fischer, J. Baniel, O. Yossepowitch, I.R. Cohen, *Eur. Urol.* 59 (1) (2011) 113–119.
- [21] S.O. Dima, C. Tanase, R. Albulescu, V. Herlea, M. Chivu-Economescu, R. Purnichescu-Purtan, T. Dumitrascu, D.G. Duda, I. Popescu, *Pancreas* 41 (7) (2012) 1001–1007.
- [22] H. Sellami, N. Said-Sadier, A. Znazen, R. Gdoura, D.M. Ojcius, A. Hammami, *Mol. Cell Probes* 28 (4) (2014) 147–154.
- [23] Y.J. Du, H.Y. Zhang, B. Li, X. Wu, Y.B. Lv, H.L. Jin, Y.X. Cao, J. Sun, Q.L. Luo, W.Y. Gong, B.J. Liu, J.F. Wu, S.X. Shi, J.C. Dong, *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 47 (2013) 6.
- [24] M. Tahara, M. Schlumberger, R. Elisei, M.A. Habra, N. Kiyota, R. Paschke, T. Kadowaki, *Eur. J. Cancer* 75 (2017) 213–221.
- [25] A. Abdel-Haq, B. Kusnierz-Cabala, D. Darczuk, E. Sobota, P. Dumnicka, A. Wojas-Pelc, M. Chomyszyn-Gajewska, *J. Periodontol.* 85 (7) (2014) 956–965.
- [26] C.H. Xu, P. Zhan, L.K. Yu, X.W. Zhang, *Tumor Biol.* 35 (2) (2014) 17.
- [27] S.H. Faulkner, K.L. Spilsbury, J. Harvey, A. Jackson, J. Huang, M. Platt, A. Tok, M.A. Nimmo, *Eur. J. Appl. Physiol.* 114 (6) (2014) 1207–1216.
- [28] Y. Liang, T. Ma, A. Thakur, H. Yu, L. Gao, P. Shi, X. Li, H. Ren, L. Jia, S. Zhang, Z. Li, M. Chen, *Glycobiology* 25 (3) (2015) 331–340.
- [29] M.T. Lokant, R.K. Naz, *Andrologia* 47 (3) (2015) 328–332.
- [30] U. Yogeswaran, S.M. Chen, *Sensors* 8 (1) (2008) 290–313.
- [31] C. Cao, Y. Zhang, C. Jiang, M. Qi, G. Liu, *ACS Appl. Mater. Interfaces* 9 (6) (2017) 5031–5049.
- [32] C. Jiang, S.M. Silva, S. Fan, Y. Wu, M.T. Alam, G. Liu, J. Gooding, *J. Electroanal. Chem.* 785 (2017) 265–278.
- [33] M.M. Chehimi, *Aryl Diazonium Salts: New Coupling Agents and Surface Science*, John Wiley & Sons, 2012.
- [34] M. Raicopol, A. Prună, C. Damian, L. Pilan, *Nanoscale Res. Lett.* 8 (1) (2013) 1–8.
- [35] V. Mévellec, S. Roussel, L. Tessier, J. Chancolon, M. Mayne-L'Hermite, G. Deniau, P. Viel, S. Palacin, *Chem. Mater.* 19 (25) (2007) 6323–6330.
- [36] J. Pinson, F. Podvorica, *Chem. Soc. Rev.* 34 (5) (2005) 429–439.
- [37] M. Raicopol, C. Andronescu, R. Atasei, A. Hanganu, L. Pilan, *J. Electrochem. Soc.* 161 (12) (2014) G103–113.
- [38] S. Khetani, R. Aburashed, A. Singh, A. Sen, A. Sanati-Nezhad, *Sens. Actuators B Chem.* 247 (2017) 163–169.
- [39] A. Hayat, L. Barthelmebs, A. Sasselos, J.L. Marty, *Talanta* 85 (1) (2011) 513–518.
- [40] R. Wang, C. Xue, *Anal. Methods* 5 (19) (2013) 5195–5200.
- [41] H. Qi, M. Li, R. Zhang, M. Dong, C. Ling, *Anal. Chim. Acta* 792 (2013) 28–34.
- [42] G. Liu, S.G. Iyengar, J. Gooding, *J. Electroanal. Chem.* 24 (7) (2012) 1.
- [43] R. Polsky, J.C. Harper, D.R. Wheeler, S.M. Dirk, D.C. Arango, S.M. Brozik, *Biosens. Bioelectron.* 235 (6) (2008) 757–764.
- [44] G. Liu, J. Liu, T.P. Davis, J. Gooding, *Biosens. Bioelectron.* 265 (8) (2011) 3660–3665.
- [45] R&D systems, USA., <http://www.rndsystems.com/>.
- [46] M. Pino, N. Stingelin, K.E. Tanner, *Acta Biomater.* 4 (6) (2008) 1827–1836.
- [47] H. Zhou, V.K. Goel, S.B. Bhaduri, *Mater. Lett.* 125 (2014) 96–98.
- [48] A. Hadjizadeh, A. Aji, M.N. Bureau, *J. Mech. Behav. Biomed.* 3 (8) (2010) 574–583.
- [49] R. Ng, X. Zhang, N. Liu, S.T. Yang, *Process Biochem.* 44 (9) (2009) 992–998.
- [50] G.P. Karayannidis, A.P. Chatziavgoustis, D.S. Achilias, *Adv. Polym. Technol.* 21 (4) (2002) 250–259.
- [51] A. Garcia-Cruz, N. Zine, M. Sigaud, M. Lee, P. Marote, P. Lanteri, J. Bausells, A. Errachid, *Microelectron. Eng.* 121 (2014) 167–174.
- [52] A. Baraket, N. Zinean, M. Lee, J. Bausells, N. Jaffrezic-Renault, F. Bessueille, N. Yaakoubi, A. Errachid, *Microelectron. Eng.* 111 (2013) 332–338.
- [53] M. Lee, M.J. Lopez-Martinez, A. Baraket, N. Zine, J. Esteve, J.A. Plaza, N. Jaffrezic-Renault, A.J. Errachid, *Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.* 51 (1) (2013) 59–70.
- [54] G. Hammouri, A. Dana, B. Sunar, *Cryptographic Hardware and Embedded Systems - CHES Ed. Christophe Clavier and Kris Gaj, Lecture Notes in Computer Science 5747*, Springer Berlin Heidelberg, 2009, pp. 348–362.
- [55] GeSiM (2011). <http://www.gesim.de/en/contact-printers/procedure/>.
- [56] R. Mukherjee, R.C. Pangule, A. Sharma, I. Banerjee, *J. Chem. Phys.* 127 (2007) 064703.
- [57] Viswanathan Meenakshi, Babayan Yelizaveta, W.J. Odom Teri, *Chem. Educ.* 84 (2007) 1795.
- [58] D. Chowdhury, A. Paul, A. Chattopadhyay, *Nano Lett.* 1 (8) (2001) 409.
- [59] D. Bello-Gil, B. Maestro, J. Fonseca, J.M. Feliu, V. Climent, J.M.S.M. Wanunu, *PLoS One* 9 (1) (2014).
- [60] Y. Qiao, L. Shen, Y. Guo, *Mater. Lett.* 86 (1) (2012) 38–41.
- [61] E. Gonzalez, M.D. Barankin, P.C. Guschl, R.F. Hicks, *Langmuir* 24 (21) (2008) 12636–12643.
- [62] Y. Qiao, L. Shen, Y. Guo, *Mater. Lett.* 86 (2012) 38–41.
- [63] S. Zhang, F. Awaja, N. James, D.R. McKenzie, A. Ruys, *J. Colloids Surf. A* 374 (1) (2011) 88–95.
- [64] S. Zhang, F. Awaja, N. James, D.R. McKenzie, A. Ruys, *J. Polym. Adv. Technol.* 22 (12) (2011) 2496–2502.
- [65] F. Awaja, S. Zhang, N. James, D.R. McKenzie, *Plasma Processes Polym.* 7 (9–10) (2010) 866–875.
- [66] Yongsheng Qiao, Lazhen Shen, Yong Guo, *Mater. Lett.* 86 (2012) 38–41.
- [67] J.E.B. Randles, *Disc. Faraday Soc.* 1 (0) (1947) 11–19.
- [68] B.P. Corgier, C.A. Marquette, L.J. Blum, *J. Am. Chem. Soc.* 127 (51) (2005) 18328–18332.
- [69] A. Baraket, M. Lee, N. Zine, M. Sigaud, N. Yaakoubi, M.G. Trivella, M. Zabala, J. Bausells, N. Jaffrezic-Renault, A. Errachid, *Sens. Actuators B* 189 (2013) 165–172.
- [70] B.P. Corgier, A. Laurent, P. Perriat, L.J. Blum, C.A. Marquette, *Angew. Chem. Int. Ed.* 46 (22) (2007) 4108–4410.
- [71] C. Combellas, F. Kanoufi, D. Mazouzi, A. Thiébault, P. Bertrand, N. Médard, *Polymer* 44 (1) (2003) 19–24.
- [72] P.A. Brooksby, A.J. Downard, *Langmuir* 20 (2) (2004) 5038–5045.
- [73] F. Anariba, S.H. DuVall, R.L. McCreery, *Anal. Chem.* 75 (15) (2003) 3837–3844.
- [74] I. Vancurova, *Cytokine Bioassays-Methods Protocols* 1172 (2014) 49–64.
- [75] B.S. Munge, T. Stracensky, K. Gamez, D. Dibiasi, *Electroanalysis* 28 (2016) 2644–2658.
- [76] B.V. Chikkaveeraiah, A.A. Bhirde, N.Y. Morgan, H.S. Eden, X. Chen, *ACS Nano* 8 (2012) 6546–6561.
- [77] R. Laocharoensuk, *Electroanalysis* 28 (2016) 1716–1729.
- [78] T. Yang, S. Wang, H. Jin, W. Bao, S. Huang, J. Wang, *Sens. Actuators B Chem.* 178 (2013) 310–315.
- [79] R. Malhotra, V. Patel, B.V. Chikkaveeraiah, B.S. Munge, C. Cheong, R.B. Zain, M.T. Abraham, D.K. Dey, J.S. Gutkind, *Anal. Chem.* 84 (14) (2013) 6249–6255.

- [80] L.S.S. Kumar, X. Wang, J. Hagen, R. Naik, I. Papautsky, J. Heikenfeld, *Anal. Methods* 20 (2016) 1–5.
- [81] Z. Yang, M. Lu, J. Li, Z. Tan, H. Dai, X. Jiao, X. Hu, *Biosens. Bioelectron.* 89 (2017) 558–564.
- [82] M. Braiek, Y. Yang, C. Farre, C. Chaix, *Bessueille Electroanal.* 28 (2016) 1810–1816.
- [83] C.E. Krause, B.A. Otieno, G.W. Bishop, G. Phadke, L. Choquette, R.V. Lalla, D.E. Peterson, J.F. Rusling, *Anal. Bioanal. Chem.* 407 (2015) 7239–7243.
- [84] Y. Lou, T. He, F. Jiang, J. Shi, J. Zhu, *Talanta* 122 (2014) 135–139.
- [85] J. Peng, J. Peng, L. Feng, Z. Ren, L. Jiang, J. Zhu, *Small* 7 (2011) 2921–2928.
- [86] M. Lee, N. Zine, A. Baraket, M. Zabala, F. Campabadal, R. Caruso, M.G. Trivella, N. Jaffrezic-Renault, A. Errachid, *Sens. Actuators B Chem.* 175 (2012) 201–207.
- [87] G. Wang, X. He, L. Chen, Y. Zhu, X. Zhang, *Colloids Surf. B Biointerfaces* 116 (2014) 714–719.
- [88] E. Sanchez-Tirado, C. Salvo, A. Gonzalez-Cortes, P. Yanez-Sedeno, F. Langa, J.M. Pingarron, *Anal. Chim. Acta* 959 (2017) 66–73.
- [89] G. Fan, X. Ren, C. Zhu, J. Zhang, J. Zhu, *Biosens. Bioelectron.* 59 (2014) 45–53.
- [90] I. Ojeda, M. Moreno-Guzmán, A. Gonzalez-Cortes, P. Yanez-Sedeno, J.M. Pingarron, *Anal. Bioanal. Chem.* 406 (2014) 6363–6371.
- [91] G.A. Messina, N.V. Panini, N.A. Martinez, J. Raba, *Anal. Biochem.* 380 (2008) 262–267.
- [92] T. Li, M. Yang, *Sens. Actuators B Chem.* 158 (1) (2011) 361–365.
- [93] G. Wang, H. Huang, G. Zhang, X. Zhang, B. Fang, L. Wang, *Langmuir* 27 (25) (2011) 1224–1231.
- [94] H. Chen, T. Kian, J. Huang, Y. Wang, Y. Liu, M. Platt, A. Palaniappan, B. Liedberg, A. Ling, Y. Tok, *Mater. Des.* 90 (2016) 852–857.
- [95] C. Deng, F. Qu, H. Sun, M. Yang, *Sens. Actuators B Chem.* 160 (1) (2011) 471–474.
- [96] J.T. Belle, K. La Demirok, R. Patel, C.B. Cook, *Analyst* 136 (2011) 1496–1501.
- [97] Jingfeng Huang, James Harvey, W.H. Derrick Fam, Myra A. Nimmo, I.Y. Alfred Tok, Novel biosensor for Interleukin-6 detection, *Procedia Eng.* 60 (2013) 195–200.
- [98] G.C. Jensen, C.E. Krause, A. Sotzing, J.F. Rusling, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 13 (2011) 4888–4894.
- [99] S. Campuzano, V.R. Montiel, M. Gamella, *Biosens. Bioelectron.* 77 (2016) 543–548.
- [100] R. Sharma, S.E. Deacon, D. Nowak, S.E. George, M.P. Szymonik, A.A.S. Tang, D.C. Tomlinson, A.G. Davies, M.J. Mcpherson, C. Wälti, *Biosens. Bioelectron.* 80 (2016) 607–613.
- [101] K. Zhong, W. Jun, *Anal. Chim. Acta* 580 (2006) 128–135.
- [102] M. Lee, N. Zine, A. Baraket, M. Zabala, F. Campabadal, R. Caruso, M. Giovanna, N. Jaffrezic-renault, A. Errachid, *Sens. Actuators B Chem.* 175 (2012) 201–207.
- [103] A. Baraket, M. Lee, N. Zine, M.G. Trivella, M. Zabala, J.A. Bausells, *Procedia Eng.* 87 (2014) 377–379.

## Biographies



**Alvaro Garcia Cruz** received his BSc (Hons) in Chemistry from the University of Guanajuato (Mexico) and his master degree (Hons) in Catalysis and Physical Chemistry at the University Claude Bernard Lyon 1 (France) in 2010. He completed his Ph.D. studies at the University Claude Bernard Lyon 1 (France) under the supervision of Prof. Abdelhamid Errachid and Prof. Monique Sigaud in Nano and Biotechnology under the scholarship excellence program sponsored by the National Council of Science and Technology (CONACYT) from 2012 to 2015. He worked as assistant professor in the Institute of Physical Chemistry of the Polish Academy of Science in Warsaw (Poland) in the group of Prof. W. Kutner from 2015 to 2017. Currently he is working at the University of Leicester (UK) in the group of Prof Sergey A. Piletsky on chemosensors based on molecularly imprinted polymers (MIPs). His research interest focuses on electrochemical sensors, bioelectronics, paper based sensors, gas sensors, microfabrication and microfluidics, bio-functionalization and nano-biotechnology.

currently he is working at the University of Leicester (UK) in the group of Prof Sergey A. Piletsky on chemosensors based on molecularly imprinted polymers (MIPs). His research interest focuses on electrochemical sensors, bioelectronics, paper based sensors, gas sensors, microfabrication and microfluidics, bio-functionalization and nano-biotechnology.



**Faiza NESSARK** obtained her engineer degree in 2003 and in 2006 her master degree in electrochemical engineering from the University of Ferhat Abbas Setif 1, Algeria. In 2014, she was visiting researcher at the Institute of Analytical Sciences (ISA), Lyon, France. She obtained her PhD in 2017 under supervision of Prof. Errachid. Since 2010 she is assistant researcher in Laboratory of Electrochemistry and Materials at the Faculty of Technology, University of Ferhat Abbas Setif 1. She is working also as lecturer at the University of M'Sila, Algeria. Her research interest focuses on the development and characterization of composites and new materials modified with polypyrrole films for electrocatalysis.



writer.

**Michael Lee** received his BSc (Hons) in Forensic Science from Northumbria University, Newcastle (UK) in 2004 and his MSc (Hons) in Analytical Chemistry from Teesside University, Middlesbrough (UK) in 2006. In 2013, he completed his Ph.D. in Analytical Chemistry and Bioengineering at the Université de Lyon1 (Lyon, France) in the group of Prof. Errachid. Between 2014–2015, he continued as a postdoctoral research to develop a functionalized Lab-on-Chip unit. From 2015 to 2016, he joined the group of Prof. Robert S. Marks at Nanyang Technological University (Singapore) as a postdoctoral research fellow. He has a research background in bioengineering and nanotechnology and most recently as a scientific grant



**Nadia Zine** was graduated in Chemistry from the University M. Ismail, Meknes, in 1994. She received a Master in Material Science in 1997 and a PhD degree in Chemistry in 2005, both from the Universitat Autònoma de Barcelona, Spain. From 2006 to 2009 she worked in the Barcelona Scientific Park within the Spanish Juan de la Cierva Program. From 2010, she became a lecturer at the UCBL. She's author and co-author of 45 papers and more than 68 communications in scientific meetings. Her research interest is the electrochemical Characterization of Chemical Sensors and Biosensors, Especially of ISFET devices and microelectrodes.



**Monique Sigaud** was born Baret on 1969/12/10 in Bourgoin-Jallieu (France). She received his BSc in chemistry from the Joseph Fourier University of Grenoble (France) and his Ph. D. in Ion Selective Electrodes and Chemometrics at the Vrije Universiteit Brussel (Belgium). Monique Sigaud was lecturer at the Ecole Nationale Supérieure d'Electrochimie et d'Electrometallurgie de Grenoble (INP Grenoble) from 2000 to 2003. She is researcher at Institute of Analytical Sciences (Lyon) since 2003 and head of the Chemistry Department of IUT Lyon1 since 2016.



**R. Pruna** graduated in Physics (Universitat de Barcelona, 2014), and is MSc. in Biomedical Engineering (Universitat de Barcelona and Universitat Politècnica de Catalunya, 2016). Currently she is a Ph.D. student at the Universitat de Barcelona, and her research is focused on new nanostructured transducers for electrochemical biosensors.



**Manel López**, PhD (2000) is associate professor at the University of Barcelona (UB). His research is basically focused in the field of sensor networks, working from the development of the sensor itself to the design of the whole network. Nowadays he is working in the instrumentation needed to supply and acquire the signals from the sensors.



**Pedro Marote** received his BSc in Chemistry 1996 from University Claude Bernard Lyon 1 (France). In 1996 he worked as researcher in the Laboratory of Energy and Inorganic Synthesis. In 2001 he received his Ph.D. in Chemistry. He worked at the Laboratory of Analytical Sciences from 2002 to 2011. Since 2006 he works as engineer in the Institute of Analytical Sciences. Their research interest focus on Formulation topics and surface analysis (MEB).



**Joan Bausells** received the Ph.D. degree in Physics from the University of Barcelona, Spain, in 1986. From 1981 to 1986, he was an R&D Engineer in the semiconductor industry. In 1986 he joined IMB-CNM, where he has been a permanent researcher since 1988, and a Research Professor since 2002. At IMB-CNM, he has been a Manager of the Sensors and Actuators Group (1990–1996), the Microsystems Department (1999–2002), the Nanotechnology Group (2002–2006), and has been Vicedirector (2008–2012) and Acting Director (2012). His early work was on theory of condensed matter and in microelectronics technology. His research activities in the microsystems field include contributions to micromachining technology, CMOS, sensors, MEMS design kits and (bio)chemical sensors. He has managed 11 projects of the Research Framework Programmes of the European Union and has coordinated two of them. He is the coauthor of more than 100 journal papers and 230 conference presentations. His current research interests include micro- and nano-electromechanical structures and nano-electronic devices, and their applications to micro/nano (sensor) systems.



**Nicole Jaffrezic-Renault** received her engineering degree from the Ecole Nationale Supérieure de Chimie, Paris, in 1971 and the Doctorat d'Etat ès Sciences Physiques from the University of Paris in 1976. She joined Ecole Centrale de Lyon, France in 1984 and Claude Bernard University Lyon 1 in 2007. As Director of Research at the Centre National de la Recherche Scientifique, past President of the Chemical Micro Sensor Club (CMC2), President of the Analytical Division of the French Chemical Society, her research activities in the Institute of Analytical Sciences, include conception and design of (bio)chemical sensors and their integration in microsystems. She is President of the Analytical Chemistry Division of the Chemical Society

of France. She coordinates several European and national projects for the development of microsystems for biomedical and environmental monitoring and for food safety. She published more than 500 papers with more than 7900 citations.



**Prof. Abdelhamid Errachid** received his Ph.D degree from the Universitat Autònoma de Barcelona in 1997. From 1997 until 2001 he worked as junior research scientist at the CNM. From 2001 till 2008 he worked as senior research at the department de electronica, Universidad de Barcelona and IBEC. Finally, since the end of 2008, he is a full professor at the University Claude Bernard-Lyon 1. He has been involved as a coordinator, principal investigator, and team leader in several European projects under 5th, 6th, 7th and H2020 framework programmes: FP6: (DVT-IMP, MAPTech, SPOT-NOSED, Nano2Life, Ares, Vector), FP7 (SensorART, BOND and H2020 (HEARTEN), as well as NATO, INTAS and TEMPUS International projects and national Spanish projects (MIROMINCE, MINAHE, I, MINAHE II and PETRI). Prof. Errachid was a head of the SIMS (Surfaces- (bio) Interface- Micro/nano Systèmes) group from 2009 until 2013 and now he is a head of the micro&nanobiotechnology group.

## Résumé

Ce travail concerne le développement d'un nouveau biocapteur électrochimique pour la détection rapide de l'inflammation aux stades précoces via la détection directe de l'interleukine-10 (IL-10), une cytokine anti-inflammatoire, à partir d'échantillons biologiques. Ce biocapteur est basé sur un substrat semi-conducteur au nitrure de silicium ( $\text{Si}_3\text{N}_4$ ) modifié successivement par le pyrrole silane (SPy) puis par une couche conductrice de polypyrrole (PPy) formant ainsi le composite  $\text{Si}_3\text{N}_4$ -(SPy-PPy). Ensuite, la couche de PPy a été modifiée électrochimiquement avec le sel de diazonium (acide 4-aminophénylacétique, CMA) afin d'être utilisée pour l'immobilisation directe de l'anticorps monoclonal humain interleukine-10 (mAc IL-10) responsable de la reconnaissance et de la détection d'antigène recombinant IL-10 (rh IL-10). La morphologie de surface du composite  $\text{Si}_3\text{N}_4$ -(SPy-PPy) a été étudiée par microscopie électronique à balayage (MEB) et spectroscopie infrarouge (FTIR). Le comportement électrochimique du film PPy avant et après la fonctionnalisation avec CMA a été caractérisé par la voltammétrie cyclique (VC) et la spectroscopie d'impédance électrochimique (SIE). La formation de la biocouche d'immunocapteur et la reconnaissance d'un antigène spécifique d'IL-10 par l'anticorps, immobilisé sur le substrat  $\text{Si}_3\text{N}_4$ -(SPy-PPy)-CMA a été surveillée par SIE. Les résultats ont montré que l'IL-10 a été détectée avec succès par le nouvel immunocapteur développé sur une plage de concentrations de 1-50 pg/ml. De plus, l'immunocapteur à base de PPy présentait une sensibilité et une sélectivité élevées de rh IL-10 par rapport à d'autres cytokines interférentes (p. ex. IL-8 et TNF- $\alpha$ ). Ce nouveau composite montre une sensibilité élevée et constitue une nouvelle approche pour le développement de nouvelles stratégies d'obtention de biocapteurs et de détection précoce et rapide des maladies.

**Mots clés :** Polypyrrole, Nitrure du silicium, Interleukine-10, Spectroscopie d'impédance électrochimique.

## Abstract

This work concerns with the development of a novel electrochemical biosensor for the early detection of inflammation via the direct detection of interleukin-10 (IL-10), an anti-inflammatory cytokine, from biological samples. This biosensor is based on a silicon nitride semiconductor substrate ( $\text{Si}_3\text{N}_4$ ) modified successively with pyrrole-silane (SPy) and then by a conductive layer of polypyrrole (PPy), forming the  $\text{Si}_3\text{N}_4$ -(SPy-PPy) substrate. Then, the PPy layer was electrochemically modified with the diazonium salt (4-aminophenylacetic acid, CMA) for the direct immobilization of the human IL-10 monoclonal antibody (mAb IL-10) responsible for the recognition and detection of its recombinant IL-10 (rh IL-10) antigen. The surface morphology of the  $\text{Si}_3\text{N}_4$ -(SPy-PPy) substrate was studied by scanning electron microscopy (SEM) and infrared spectroscopy (FTIR). The electrochemical behavior of the PPy layer before and after functionalization with CMA was characterized by cyclic voltammetry (CV) and electrochemical impedance spectroscopy (EIS). The recognition of the rh IL-10 antigen by the immobilized IL-10 antibody on the  $\text{Si}_3\text{N}_4$ -(SPy-PPy)-CMA substrate was monitored by EIS. The results showed that rh IL-10 was successfully detected by the developed immunosensor over a range of 1-50 pg/ml concentrations. In addition, the PPy-based immunosensor showed high sensitivity and selectivity of rh IL-10 as compared with other interfering cytokines (e.g. IL-8 and TNF- $\alpha$ ). These results represent a promising future for creation of a label-free, highly selective, and ultrasensitive biosensors for diagnostic applications for the early detection of diseases.

**Keywords:** Polypyrrole, Biosensor, Interleukin-10 cytokine, Electrochemical impedance spectroscopy.

## المخلص

هذا العمل يتعلق بتطوير جهاز استشعار بيولوجي كهروكيميائي جديد للكشف السريع عن الالتهاب في المراحل المبكرة من خلال الكشف المباشر عن بعض دلالات الأمراض الموجودة في العينات البيولوجية للمرضى وهو انترلوكين-10 (IL-10)، السيتوكين المضاد للالتهابات والذي يمكن أن يوجد في العينات البيولوجية للمرضى. ويستند هذا الجهاز الاستشعاري البيولوجي على ركيزة أشباه الموصلات التي تدعى نيتريد السيليكون ( $\text{Si}_3\text{N}_4$ ) والتي ترسب عليها طبقة رقيقة من البيروول سيلان (SPy) تليها طبقة من البولي بيروول النشطة كيميائياً (PPy)، وبالتالي يتشكل مركب  $\text{Si}_3\text{N}_4$ -(SPy-PPy). تم دراسة مورفولوجية سطح المركب  $\text{Si}_3\text{N}_4$ -(SPy-PPy) عن طريق المسح المجهر الإلكتروني (SEM) وطيف الأشعة تحت الحمراء (FTIR). كما تم معالجة طبقة البولي بيروول كهروكيميائياً بأحد أملاح الديازونيوم (CMA) وذلك لاستخدامها في التثبيت المباشر للجسم المضاد المسؤول عن الكشف المباشر عن السيتوكين المضاد للالتهاب. كما تم دراسة السلوك الكهروكيميائي لطبقة البولي بيروول قبل وبعد تعديله ب CMA باستخدام تحليل الجهد الحلقى (CV) وطيف المقاومة الكهربائية (EIS). كما تم التأكد من عملية الكشف عن دلالات الالتهاب انترلوكين-10 (rh IL-10) وذلك باستخدام طيف المقاومة الكهربائية (EIS). وقد أظهرت النتائج مدى نجاح جهاز الاستشعار البيولوجي المستحدث في الكشف عن الأجسام المسببة للالتهاب بتركيزات متناهية الصغر (من 1-50 بيكوغرام/مل) كما أظهرت النتائج الانتقائية العالية للجهاز المستحدث في الكشف عن rh IL-10 في وجود بعض دلالات الالتهاب الأخرى مثل (IL-8 و TNF- $\alpha$ ). وتمثل هذه النتائج مستقبلاً واعداداً لإستحداث أجهزة استشعار بيولوجية فائقة الحساسية وذات انتقائية عالية للتطبيقات التشخيصية للكشف المبكر عن بعض الأمراض المزمنة.

**الكلمات الدالة:** بولي بيروول، نيتريد السيليكون، أجهزة استشعار بيولوجية، سيتوكين الانترلوكين-10، طيف المقاومة الكهربائية.