



UNIVERSITE SULTAN MOULAY SLIMANE
Faculté des Sciences et Techniques
Béni-Mellal



Centre d'Études Doctorales : Sciences et Techniques
Formation Doctorale : Ressources Naturelles, Environnement et Santé (RNES)

THÈSE

Présentée par

Sakina TOUZARA

Pour l'obtention du grade de

DOCTEUR

Spécialité : Electrochimie et Matériaux

**Elaboration de Nouvelles Electrodes pour Biopiles et
Biocapteurs Electrochimiques**

Soutenue le 13/12/2017 à 11h devant la commission d'examen composée de :

Président	: Pr. Abderrafia HAFID	PES	FST - Béni Mellal
Rapporteurs	: Pr. El madani SAÄD	PH	FST - Settat
	Pr. Amina IBNLFASSI	PES	FST - Settat
	Pr. Nourre-eddine KOUIDER	PH	FST - Béni Mellal
Examineurs	: Pr. Latifa ZERROUK	PH	FST - Settat
	Pr. Jamaa BENGOURRAM	PES	FST – Béni Mellal
Directeurs de thèse	: Pr. Abdelilah CHTAINI	PES	FST - Béni Mellal

A Mes Parents, Mes Frères, Mes Sœurs

et à tous ceux qui me sont chers

Remerciements

Ce Travail a été effectué sous la direction du Professeur Abdelilah Chtaini Responsable du Laboratoire d'Electrochimie Moléculaire et des Matériaux Inorganiques (LEMMI) de la Faculté des Sciences et Techniques de Beni-Mellal.

Ma première pensée va naturellement à mon encadrant, le Professeur Abdelilah Chtaini qui m'a accueilli au sein de l'Equipe d'Electrochimie Moléculaire et des Matériaux Inorganiques et guidé tout au long de mes recherches. Ses précieux conseils m'ont éclairée durant ces trois années de thèse. Je le remercie sincèrement pour son soutien et pour m'avoir fait découvrir le monde de la recherche.

Ma gratitude s'adresse à Monsieur A. Zeghal, Doyen de la Faculté des Sciences et Techniques de Beni Mellal et à Monsieur S. MELLIANI Directeur de CED « Sciences et Techniques » Faculté des Sciences et Techniques.

Mes remerciements vont à tous les enseignants de la Faculté des Sciences et Techniques, en particulier au Professeur Rachida NAJIH pour tous ses précieux conseils, au professeur Abderrafia HAFID, au professeur Nourre-eddine KOUIDER...

Je tiens à remercier tous les membres du jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à mon travail et l'honneur qu'ils m'ont fait pour avoir accepté de juger ce travail.

Je voudrais réserver mes remerciements à mes parents, pour les encouragements et tous sacrifices qu'ils ont consentis pour moi.

Je suis extrêmement reconnaissant à ma famille et mes amis qui m'ont soutenu et encouragé à tout moment.

Mes remerciements vont aussi à tous mes collègues du Centre de Recherche de la Faculté des Sciences et Techniques de Beni Mellal et particulièrement l'équipe du Laboratoire d'Electrochimie Moléculaire et Matériaux Inorganiques (LEMMI), pour leur sympathie et pour leur encouragement pendant toute la durée de cette thèse.

Merci,

SOMMAIRE

LISTE DES FIGURES	10
RÉSUMÉ.....	17
INTRODUCTION GENERALE	19
CHAPITRE I. BIBLIOGRAPHIE.	22
Introduction	23
I. L'intoxication avec les métaux lourds.....	23
I. 1. Pollution de l'écosystème aquatique par les métaux lourds.....	23
I. 2. Bioaccumulation des métaux lourds.....	24
I. 2. 1. Adsorption et assimilation	25
I. 2. 2. Bioconcentration.....	25
I. 2. 3. Bioamplification.....	25
I. 3. Origine et devenir des métaux lourds	26
I. 3. 1. Introduction	26
I. 3. 2. Les rejets des métaux lourds dans l'eau	26
I. 3. 3. Effet sur la santé humaine	26
II. Mode de détection et de conversion des substances chimiques par voie électrochimique.....	28
II. 1. Généralités sur les électrodes modifiées	28
II. 1. 1. Modification de la surface des électrodes solides	30
II. 1. 1. 1. Modification covalente	30
II. 1. 1. 2. Modification par adsorption	31
II. 1. 1. 3. Modification par film polymérique ou modification multicouches.....	32
II. 1. 2. Modification directe : les électrodes à pâte de carbone.....	34
II. 2. 1. Electrodes à pâte de carbone à liant non conducteur	35
II. 2. 2. Electrode à pâte de carbone à liant conducteur	35
II. 2. 3. Les électrodes métalliques.....	35
II. 2. 4. Les électrodes non métalliques	37
III. Généralités sur les argiles et les phosphates naturels	37
III. 1. Les Argiles	37
III. 1. 1. Définition de l'argile.....	37
III. 1. 2. Utilisation des argiles	37
III. 2. Les phosphates naturels	38
III. 2. 1. Introduction	38

III. 2. 2. Utilisation des phosphates naturels	38
IV. L'ADN	39
IV. 2. L'ADN électrique	40
IV. 2. 1. Les molécules sont des assemblages de particules électriques	40
IV. 2. 2. L'ADN composant électronique.....	42
IV. 3. La conductivité de l'ADN en présence des métaux	43
V. Les biocapteurs	43
V. 1. Introduction et historique	43
V. 2. Définition	44
V. 3. Les différents types de Biocapteurs électrochimiques.....	45
V. 3. 1. Les capteurs potentiométriques	45
V. 3. 2. Les capteurs conductimétriques	46
V. 3. 3. Les capteurs ampérométriques.....	46
V. 3. 4. Les capteurs enzymatiques ampérométriques	46
V. 3. 5. Les différentes méthodes d'immobilisation des enzymes	49
VI. Les biopiles.....	52
VI. 1. Introduction et historique	52
VI. 2. Principales caractéristiques de performance.....	57
References	58
CHAPITRE II. LES TECHNIQUES EXPERIMENTALES.....	68
I. La voltamétrie	69
I. 1. Composants et principes des techniques voltamétriques.....	69
I. 2. Analyses voltamétriques [1]	70
I. 2. 1. La voltamétrie cyclique.....	70
I. 2. 2. La voltamétrie à onde carrée (SWV : square wave voltammetry)	73
III. Chronoampérométrie.....	75
IV. Le microscope optique.....	76
V. Le microscope à force atomique (AFM).....	77
References	78

CHAPITRE III. ETUDE ELECTROCHIMIQUE DE LA CHELATION DU PLOMB (Pb²⁺) PAR UNE ELECTRODE A PATE DE CARBONE MODIFIEE PAR L'ADN..... 79

Introduction :..... 80

I. Partie Expérimentale 82

I. 1. Réactifs et produits chimiques :..... 82

I. 2. Appareil..... 82

I. 3. Préparation des électrodes 82

I. 4. Procédure 82

II. Résultats..... 83

II. 1. Optimisation des conditions expérimentale 83

II. 1. 1. Influence du temps de séjours..... 83

II. 1. 2. Influence du temps de préconcentration des ions Pb²⁺ 87

II. 1. 3. Effet de la vitesse de balayage 88

II. 2. La courbe d'étalonnage..... 91

II. 3. Interférence des ions Hg²⁺, Pb²⁺ et Cu²⁺ 93

II. 4. Application analytique : eau du robinet..... 94

II. 5. Comportement électrochimique de l'électrode modifiée Polymère-ADN-CPE.. 95

II. 5. 1. Chélation du plomb 99

II. 5. 2. Effet de la vitesse de balayage..... 100

II. 5. 3. Courbe de calibrage..... 100

II. 5. 4. Etude de la morphologie..... 103

Conclusion :..... 104

References 105

CHAPITRE IV : CAPTEUR ELECTROCHIMIQUE A BASE DE CARBONE MODIFIE PAR 2-BENZIMIDAZOLETHIOLE POUR LA CHELATION THERAPEUTIQUE DU PLOMB. 106

Introduction 107

I. Partie expérimentale..... 108

I. 1. Appareillages 108

I. 2. Réactifs et produits chimiques 108

I. 3. Préparation des électrodes. 108

I. 3. 1. Préparation des électrodes pâte de carbone..... 108

I. 3. 2. Dépôt de la molécule organique sur l'électrode à pâte de carbone..... 109

I.3. 3. Préparation de l'électrode modifiée par mixage..... 109

I. 4. Procédure 109

II. Résultats et discussion.....	110
II. 1. Optimisation des conditions expérimentale	110
II. 1. 1. Comportement électrochimique	110
II. 1. 2. Influence du temps d'accumulation	111
II. 1. 3. Effet de la vitesse de balayage.....	112
II. 1. 4. Influence de séjours dans la solution organique	114
II. 1. 5. Influence de pH	118
II. 1. 6. La courbe d'étalonnage	119
II. 2. Optimisation des conditions expérimentale pour l'électrode modifiée par mixage	123
II. 2. 1. Comportement électrochimique	123
II. 2. 2. Influence du pH.....	124
II. 3. Comparaison entre les deux méthodes de préparation des électrodes (méthode par mixage et auto-assemblage)	127
II. 4. Interférence des ions Hg²⁺, Pb²⁺ et Cu²⁺	129
II. 5. Application Analytique : Jus d'orange et eau du robinet.....	130
III. Comportement électrochimique de l'électrode modifiée par Polymère-MO-CPE.....	131
III. 1. Procédure	131
III. 2. Comportement électrochimique de l'électrode Polymère-MO-CPE.....	132
III. 3. Activité de l'électrode Polymère-MO-CPE.....	134
III. 4. Chélation des ions plomb (II)	135
III. 5. Variation de la vitesse de balayage	136
III. 6. Courbe de calibrage	137
Conclusion	139
References	140
CHAPITRE V. ETUDE ELECTROCHIMIQUE DE LA CHELATION DU PLOMB PAR L'ELECTRODE DE PATE DE CARBONE MODIFIEE PAR UN FILM DE L'EDTA AUTO ASSEMBLE.....	142
Introduction :.....	143
I. Partie Expérimentale	144
I. 1. Réactifs et produits chimiques :	144
I. 2. Appareillages	144
I. 3. Préparation de l'électrode modifiée.....	144
I. 4. Procédure	145
II. Résultats	145
II. 1. Optimisation des conditions expérimentale.....	145

II. 1. 1. Comportement électrochimique de l'électrode modifiée par la molécule proposée	145
II. 1. 2. Influence du temps de préconcentration des ions Pb^{2+}	146
II. 1. 3. Effet de la vitesse de balayage.....	147
II. 1. 4. Influence du temps de séjours.....	149
II. 1. 5. Influence de pH	152
II. 1. 6. La courbe d'étalonnage	153
II. 2. Détection du mercure	155
II. 3. Etude des interférences des ions Hg^{2+} , Pb^{2+} et Cu^{2+}	158
II. 4. Application Analytique : Jus d'orange et eau du robinet	159
II. 5. Comportement électrochimique de l'électrode modifiée CPE-EDTA-Polymère.	160
II. 5. 1. Pouvoir chélateur du plomb.....	162
II. 5. 2. Effet de la vitesse de balayage.....	163
II. 5. 3. Courbe de calibrage.....	164
II. 5. 4. Etude de la morphologie de l'électrode.....	167
Conclusion :	169
Références	170
CHAPITRE VI : DEVELOPPEMENT DES COMPOSES DE GRAPHITE-ADN-POLYMERE COMME ELECTRODE POUR LES PILES A COMBUSTIBLE A METHANOL.	171
Introduction	172
81	
I. 1. Appareillage.....	173
I. 2. Réactifs.....	173
I. 3. Préparation du CPE.....	174
II. Résultats et discussion	174
II. 1. Etude morphologique	174
II. 2. Comparaison entre différents types d'électrode modifiée par ADN pour le même type de polymère (polymère enrobage).....	175
II. 3. Comportement électrochimique de l'électrode modifiée Polymère-ADN-CPE.	177
II. 4. Oxydation du méthanol	180
II. 5. Variation de la vitesse de balayage.....	182
II. 6. Effet de la concentration du combustible	183
Conclusion	188

References	189
CONCLUSION GENERALE.....	190

Liste des figures

Figure 1: Cycle de l'eau	24
Figure 2: Structure d'un nucléotide.....	39
Figure 3: Structure des deux familles de nucléosides composant l'ADN ainsi que leur appariement dans l'ADN via des liaisons hydrogènes (- - -)	40
Figure 4: Liaison d'une adénosine et d'une guanosine via une liaison 5'-3' phosphodiester sur un ADN monocaténaire [88].	40
Figure 5. Représentation schématique du principe de fonctionnement d'un biocapteur [98].....	44
Figure 6. Schéma du principe de fonctionnement des trois types de biocapteurs ampérométriques : (a) première génération, (b) deuxième génération, (c) troisième génération [110].	48
Figure 7. Différentes méthodes d'immobilisation de l'enzyme, représentée par le « camembert » bleu, à l'électrode.	49
Figure 8. Schéma de principe d'une biopile à combustible.....	54
Figure 9. Echelle des potentiels standards des couples rédox mis en jeu dans une biopile glucose/O ₂ [161].	55
Figure 10. Nombre de publications par année depuis la première publication sur le thème «biopile enzymatique» [162].	56
Figure 11. Représentation schématique du circuit électronique d'un potentiostat.	69
Figure 12. Fonction imposée	71
Figure 13. Voltammogramme cyclique enregistré pour une espèce Red seule en solution.	71
Figure 14. Allure de la tension imposée en escalier en fonction de temps.....	74
Figure 15. Voltammogramme résultant de la voltamétrie à onde carrée.....	75
Figure 16. Chronoampérogramme typique ; ires le courant résiduel [8].....	76
Figure 17. Les voltammogrammes cycliques enregistrés dans une solution tampon (pH 7), à CPE et ADN-CPE, vitesse de balayage 100 mV / s.	83
Figure 18. Voltammogrammes cycliques obtenus par les électrodes ADN-CPE et CPE à 100 mV / s, dans une solution tampon, après l'accumulation de Pb ²⁺	85
Figure 19. Voltammogrammes SQW de différentes électrodes préparées dans une solution tampon après l'accumulation du plomb.	87
Figure 20. Influence du temps de préconcentration sur l'intensité du pic d'oxydation, pH=7 pour CPE-ADN.	88

Figure 21. Voltammogramme cyclique, enregistré, dans une solution tris HCl 0.1M après l'accumulation de Pb^{2+} , à différentes vitesses de balayage, pour l'électrode CPE-ADN.....	89
Figure 22. Influence de la vitesse de balayage sur les intensités de pics d'oxydation dans une solution de trisHCl 0.1M après l'accumulation de Pb^{2+} (pH=7).....	89
Figure 23. Influence de la vitesse de balayage sur les potentiels de pics d'oxydation dans une solution de trisHCl 0.1M après l'accumulation de Pb^{2+} (pH=7).....	90
Figure 24. Voltammogrammes SQW enregistrés à l'ADN-CPE, dans une solution tampon après la préconcentration à différentes concentrations de plomb.	91
Figure 25. Evolution des densités de courant des pics en fonction de la concentration de Pb (II).....	92
Figure 26. Microscopie optique correspondant à a-CPE/Pb(II), b-CPE-ADN/Pb(II), c-CPE et d-ADN-CPE.....	93
Figure 27. Effet des interférences des trois cations étudiés en solution tampon.	94
Figure 28. Voltammogrammes enregistrés dans les deux milieux jus d'orange (C) et l'eau de robinet (D) de l'électrode CPE-ADN en présence (b) et en absence (a) de plomb (II).	95
Figure 29. Voltammogrammes cycliques de CPE-Polymer (courbe a) et CPE-ADN-Polymère (courbe b), enregistré à une vitesse de balayage de 0,1 V / s dans une solution de trisHCl 0,1 M.	96
Figure 30. Voltammogrammes cycliques de CPE-ADN (courbe a) et CPE-ADN-Polymère (courbe b), enregistré à une vitesse de balayage de 0,1 V / s dans une solution de trisHCl 0,1 M.....	97
Figure 31. Voltammogrammes cycliques de CPE-Polymer (courbe a) et CPE-ADN-Polymère (courbe b), enregistré à une vitesse de balayage de 0,1 V / s dans une solution de trisHCl 0,1 M, la solution de préconcentration est de 0,602 mmol / L de plomb.	98
Figure 32. Voltammogrammes à onde carré de CPE-Polymère (courbe a) et CPE-ADN-Polymère (courbe b), enregistré à une vitesse de balayage de 0,1 V / s dans une solution de trisHCl 0,1 M, la solution de préconcentration est 0,602 mmol / L de plomb.	98
Figure 33. Voltammogrammes cycliques de CPE-ADN-Polymère avant préconcentration (courbe a) et après préconcentration dans une solution contenant 1,806 mmol/l de Plomb (courbe b) dans une solution de trisHCl 0,1 M, enregistré à une vitesse de balayage de 0,1 V.	99
Figure 34. Voltammogrammes cycliques de CPE-ADN-polymère, enregistrés à différents vitesses de balayage dans une solution de trisHCl 0,1 M, la solution de préconcentration contient 4,214 mmol / L du plomb.....	100
Figure 35. Voltammogrammes cycliques de CPE-ADN-polymère, enregistré une vitesse de balayage de 0,1 mV / s dans une solution 0,1M de trisHCl, après préconcentration dans des solutions contenant différentes concentrations du plomb (II).	101
Figure 36. Voltammogrammes à onde carrée de Polymer-ADN-CPE, enregistré à des vitesses de balayage de 0,1 mV / s dans une solution 0,1M de trisHCl, après la préconcentration dans des solutions contenant différentes concentrations du plomb (II).	102

Figure 37. Evolution de la densité électrique avec la concentration du plomb.	102
Figure 38. Images AFM de l'électrode polymère-ADN-CPE utilisé.	103
Figure 39. 2-Benzimidazolethiole.	109
Figure 40. Les voltammogrammes cycliques enregistrés dans une solution tampon (pH 7), à CPE(a) et MO-CPE(b), vitesse de balayage 100 mV / s.	111
Figure 41. Effet du temps d'accumulation sur le pic d'oxydation de 10 mg/L de Pb ²⁺ (pH=7) dans 0.1M TrisHCl sur CPE-MO.	112
Figure 42. Voltammogramme cyclique, enregistré, dans une solution tris Hcl 0.1M après l'accumulation de Pb ²⁺ , à différentes vitesses de balayage, pour l'électrode CPE-MO.	113
Figure 43. Influence de la vitesse de balayage sur les intensités de pics d'oxydation dans une solution de trisHcl 0.1M après l'accumulation de Pb ²⁺ (pH=7).	114
Figure 44. CV enregistrés à 100 mV / s pour les électrodes CPE et MO-CPE. Effet de temps de séjour de MO-CPE.	115
Figure 45. voltammogrammes enregistrés au MO-CPE, à différents temps de séjour, dans une solution tampon après l'accumulation du Pb ²⁺	116
Figure 46. Voltammogrammes SQW enregistrés à MO-CPE, dans une solution tampon après l'accumulation de l'ion Pb ²⁺	117
Figure 47. Evolution des densités de courant des pics en fonction de la concentration de Pb (II)....	117
Figure 48. SQW's enregistrés pour l'électrode MO-CPE, dans une solution tampon après l'accumulation du Pb ²⁺ , à différents pH.	118
Figure 49. Evolution des densités de courant des pics en fonction de la concentration de Pb (II)....	119
Figure 50. VC's enregistrés pour l'électrode MO-CPE, dans un solution tampon après l'accumulation du Pb ²⁺ , à pH 7.	120
Figure 51. SQW's enregistrés pour l'électrode MO-CPE, dans une solution tampon après l'accumulation du Pb ²⁺ , à pH 7.	121
Figure 52. Evolution des densités de courant des pics en fonction de la concentration de Pb (II)....	121
Figure 53. Images prises par microscopie optique pour: a- CPE et b-MO-CPE	123
Figure 54. Les voltammogrammes cycliques enregistrés dans une solution tampon (pH acide), à CPE(a) et MO-CPE(b), vitesse de balayage 100 mV / s.	124
Figure 55. Voltammogrammes, enregistrés, dans une solution tris Hcl 0.1M, à différentes pH, pour l'électrode MO-CPE.	125
Figure 56. Voltammogramme cyclique, enregistré, dans une solution tris Hcl 0.1M après préconcentration des ions Pb ²⁺ , à différentes pH, pour l'électrode MO-CPE.	125

Figure 57. Voltammogrammes, enregistrés, dans une solution tris HCl 0.1M à différentes pH, pour l'électrode MO-CPE après l'accumulation du Pb ²⁺	126
Figure 58. Evolution des densités de courant des pics en fonction de la concentration de Pb (II), à MO-CPE modifiée par mixage.....	126
Figure 59. Les voltammogrammes cycliques enregistrés dans une solution 0.1M trisHCl, à MO-CPE (modifiée par mixage (a) et par auto-assemblage (b)), vitesse de balayage 100 mV / s.	127
Figure 60. Les voltammogrammes cycliques enregistrés dans une solution 0.1M trisHCl après l'accumulation du Pb ²⁺ , à MO-CPE (modifiée par mixage (a) et par auto-assemblage (b)), vitesse de balayage 100 mV / s.	128
Figure 61. SQW's enregistrés dans une solution 0.1M trisHCl, pour les électrodes MO-CPE préparées respectivement par mixage (a) et par auto-assemblage (b)), après préconcentration dans une solution contenant Pb ²⁺ , à vitesse de balayage 100 mV / s.	129
Figure 62. Effet des interférences des trois cations étudiés en solution tampon.	130
Figure 63. Voltammogrammes enregistrés dans les deux milieux jus d'orange (C) et l'eau de robinet (D) de l'électrode CPE-MO en présence (b) et en absence (a) de plomb (II).	131
Figure 64. Voltammogrammes cycliques de CPE (courbe a) et Polymer-CPE, enregistrés à une vitesse de balayage de 0,1 V / s dans une solution de 0,1 M trisHCl.....	133
Figure 65. Voltammogrammes cycliques de l'MO- CPE (courbe a) et Polymer-MO –CPE (courbe b), enregistré à une vitesse de balayage de 0,1 V / s dans une solution de trisHCl 0,1 M.....	133
Figure 66. Voltammogrammes cycliques de CPE-Polymer (courbe a) et Polymer-MO –CPE (courbe b), enregistré à une vitesse de balayage de 0,1 V / s dans une solution de trisHCl 0,1 M.....	134
Figure 67. Voltammogrammes cycliques de CPE-Polymer (courbe a) et Polymer-MO –CPE (courbe b), enregistré à une vitesse de balayage de 0,1 V / s dans une solution de trisHCl 0,1 M, après l'accumulation de 0,602 mmol / L de plomb.	135
Figure 68. Voltammogrammes cycliques de Polymer-MO–CPE en absence (courbe a) et présence de 0,602 mmol/l de Plomb (courbe b) enregistré à une vitesse de balayage de 0,1 V / s	136
Figure 69. Voltammogrammes cycliques de Polymer-MO-CPE, enregistrés à différents vitesse de balayage dans une solution de trisHCl 0,1 M après l'accumulation de 3,01 mmol / L du plomb.	137
Figure 70. Voltammogrammes à onde carrée de Polymer-MO-CPE, enregistré à des vitesses de balayage de 0,1 mV / s dans une solution 0,1M de trisHCl à différentes concentrations de plomb.....	138
Figure 71. Evolution de la densité électrique avec la concentration du plomb.	138
Figure 72. Disodium ethylenediaminetetraacetate dihydrate	145
Figure 73. Voltammogrammes cycliques enregistrés dans une solution tampon (pH 5,06), à la surface des électrodes, CPE(a) et EDTA-CPE(b), vitesse de balayage 100 mV / s.....	146

Figure 74. Influence du temps de préconcentration sur l'intensité du pic d'oxydation du Pb^{2+} dans une solution de trisHCl 0.1M, pH=5.06 pour CPE-ADN.	147
Figure 75. Voltammogramme cyclique, enregistré, dans une solution tris HCl 0.1M après l'accumulation du Pb^{2+} , à différentes vitesses de balayage, pour l'électrode CPE-EDTA.	148
Figure 76. Influence de la vitesse de balayage sur les intensités de pics d'oxydation dans une solution de trisHCl 0.1M après l'accumulation de Pb^{2+} (pH=5.06).	148
Figure 77. Les voltammogrammes cycliques enregistrés dans une solution tampon (pH 7), à CPE et ADN-CPE, vitesse de balayage 100 mV / s.	149
Figure 78. Voltammogrammes cycliques obtenus par les électrodes EDTA-CPE et CPE à 100 mV / s, dans une solution tampon, après l'accumulation de Pb^{2+}	150
Figure 79. Voltammogrammes SQW de différentes électrodes préparées dans une solution tampon après l'accumulation du plomb.	151
Figure 80. Evolution des densités de courant des pics en fonction de la concentration de Pb (II).	151
Figure 81. SQW's enregistrés pour l'électrode CPE-EDTA, après la variation de pH de la solution de préconcentration.	152
Figure 82. Evolution des densités de courant des pics en fonction de la concentration de Pb (II).	153
Figure 83. Voltammogrammes SQW enregistrés à l'EDTA-CPE, dans une solution tampon après la préconcentration dans différentes concentrations de plomb.	154
Figure 84. Evolution des densités de courant des pics en fonction de la concentration de Pb (II).	154
Figure 85. Voltammogrammes SQW enregistrés à l'EDTA-CPE, dans une solution tampon après la préconcentration dans différentes concentrations de mercure.	156
Figure 86. Courbe de calibration du mercure à la surface de l'électrode de CPE-EDTA.	157
Figure 87. Effet des interférences des trois cations étudiés en solution tampon.	158
Figure 88. Voltammogrammes enregistrés dans les deux milieux jus d'orange (C) et l'eau de robinet (D) de l'électrode CPE-EDTA en présence (b) et en absence (a) de plomb (II).	159
Figure 89. Voltammogrammes cycliques de CPE (courbe a) et CPE-Polymer, enregistrés à une vitesse de balayage de 0,1 V / s dans une solution de 0,1 M trisHCl à pH = 5.06.	160
Figure 90. Voltammogrammes cycliques de CPE-Polymer (courbe a) et CPE-EDTA-Polymère (courbe b), enregistré à une vitesse de balayage de 0,1 V / s dans une solution de trisHCl 0,1 M pH= 5.06. .	161
Figure 91. Voltammogrammes cycliques de CPE-EDTA (courbe a) et CPE-EDTA-Polymère (courbe b), enregistré à une vitesse de balayage de 0,1 V / s dans une solution de trisHCl 0,1 M.	162
Figure 92. Voltammogrammes cycliques de CPE-EDTA-polymère en absence (courbe a) et présence de 0,602 mmol/l de Plomb préconcentré (courbe b) dans une solution de trisHCl 0,1 M, enregistré à une vitesse de balayage de 0,1 V / s.	163

Figure 93. Voltamogrammes cycliques de Polymer-EDTA-CPE, enregistrés à différents vitesses de balayage dans une solution de trisHCl de 0,1 M (pH= 5.06) après la préconcentration dans une solution de 6,0 2 mmol / L du plomb.	164
Figure 94. Voltamogrammes cyclique de CPE-EDTA-polymère, enregistré à des vitesses de balayage de 0,1 mV / s dans une solution 0,1M de trisHCl à pH = 5.06 après la préconcentration à différentes concentrations de plomb.....	165
Figure 95. Voltamogrammes à onde carrée de CPE-EDTA-Polymère, enregistré à des vitesses de balayage de 0,1 mV / s dans une solution 0,1M de trisHCl, après la préconcentration dans différentes concentrations de plomb à pH = 5.06.....	166
Figure 96. Evolution de la densité électrique avec la concentration du plomb.	167
Figure 97. Images AFM du polymère utilisé.....	168
Figure 98. Images AFM de l'électrode polymère-ADN-CPE.....	175
Figure 99. Voltamogrammes cycliques des électrodes modifiées ADN-Polymère-CPE, ADN-Polymère-Argile et ADN-Polymère-NP/carbone enregistrés à une vitesse de balayage de 0,1 V / s dans une solution 0,1 M de NaCl.....	176
Figure 100. Voltamogrammes cycliques des électrodes modifiées ADN-Polymère-CPE, ADN-Polymère-Argile et ADN-Polymère-NP/carbone enregistrés à la vitesse de balayage de 0,1 V / s dans une solution 0,1 M de NaCl, contenant 13,5 µmol / L de méthanol.....	177
Figure 101. Voltamogrammes cycliques de CPE (courbe a) et Polymer-CPE, enregistrés à une vitesse de balayage de 0,1 V / s dans une solution de NaCl 0,1 M.....	178
Figure 102. Voltamogrammes cycliques de CPE (courbe a) et Polymer-CPE, enregistrés à une vitesse de balayage de 0,1 V / s dans une solution de NaCl 0,1 M contenant 13,5 µmol / L de méthanol.	179
Figure 103. Voltamogrammes cycliques de l'ADN-CPE (courbe a) et Polymer-DNA-CPE, enregistré à une vitesse de balayage de 0,1 V / s dans une solution de NaCl 0,1 M.....	180
Figure 104. Voltamogrammes cycliques sur l'ADN-CPE (courbe a) et Polymer-DNA-CPE (courbe b), enregistré à une vitesse de balayage de 0,1 V / s dans une solution de NaCl 0,1 M contenant 13,5 µmol / L de méthanol.....	181
Figure 105. Voltamogrammes à ondes carrées enregistrés respectivement à la surface des électrodes, ADN-CPE (courbe a) et Polymère-ADN-CPE, enregistrés dans une solution de NaCl 0,1 M contenant 13,5 µmol / L de méthanol.	182
Figure 106. Voltamogrammes cycliques de Polymer-ADN-CPE, enregistrés à différents vitesses de balayage dans une solution de NaCl 0,1 M contenant 13,5 µmol / L de méthanol.	183
Figure 107. Voltamogrammes cycliques de Polymer-ADN-CPE, enregistré à des vitesses de balayage de 0,1 mV / s dans une solution de NaCl 0,1M contenant différentes concentrations de méthanol....	184
Figure 108. chronoampérométries de Polymère-l'ADN-CPE, enregistré à la vitesse de balayage de 0,1 mV / s dans une solution de NaCl 0,1M contenant différentes concentrations de méthanol.	185

Figure 109. Evolution de la puissance électrique avec la concentration de Méthanol.....	186
Figure 110. Micrographies optiques pour les électrodes CPE, Polymer-CPE et Polymer-DNA-CPE après oxydation du méthanol.....	187

RÉSUMÉ

L'étude menée concerne la préparation d'un capteur électrochimique capable de détecter des métaux lourds, tels que, le plomb (II), le cuivre (II) et le mercure (II).

Il s'agit des électrodes à pâte de carbone modifiées par : l'ADN, 2-benzimidazolthiole et l'EDTA. L'activité électrochimique intrinsèque des électrodes, ainsi que l'effet de la cinétique de l'incorporation des composites utilisés ont été évalués par voltamétrie cyclique, voltamétrie à onde carrée, la structure et la morphologie des couches ont été examinées par microscopie optique et Microscopie à Force Atomique (AFM).

Dans le but de conserver au maximum la durée de vie et l'état des modificateurs nous avons procédé à revêtir la matrice modificatrice de la pâte de carbone par un polymère à base de l'acide polyacrylique.

En conclusion, nous avons pu mettre à profit le pouvoir chélateur des électrodes préparées, qui ont prouvé aussi une grande performance pour la détection des métaux lourds contenus dans des milieux aqueux synthétiques.

Le test de ces capteurs sur des solutions naturelles telles que, les eaux de robinet et le jus d'orange, a montré qu'il est possible d'utiliser ces électrodes pour la chélation et l'analyse dans des systèmes naturels complexes.

Dans le cas de l'analyse des métaux lourds, l'intensité du pic correspondant à l'électroactivité de l'élément analysé augmente avec la durée d'accumulation jusqu'à atteindre une limite. La cinétique d'adsorption de ces métaux sur les matrices modificatrices a été étudiée.

Dans un autre sens, nous avons étudié l'oxydation catalytique de méthanol par électrode à pâte de carbone modifiée par l'ADN et revêt par polymère. Il en ressort de cette étude que cette électrode peut jouer le rôle d'anode d'une pile à combustible, quelle est active et présente une bonne stabilité pour l'oxydation de méthanol.

Abréviations

ADN : Acide Désoxyribonucléique

AE : Electrode Auxiliaire

AFC : Pile à Combustible Alcaline

AFM : Absorption à Force Atomique

CPE : Electrode à Pâte de Carbone

CV : Voltamétrie Cyclique

DMFC : Pile à Combustible à Méthanol Direct

ECS : Electrode à Calomel Saturée

EDTA : Disodium Ethylenediaminetetraacetate

LD : Limite de détection

LQ : Limite de quantification

MO : Molécule Organique

PAA : Poly(acide acrylique)

PAC : Pile à Combustible

PN : Phosphate Naturel

PSF : polysulfone

SWV : Voltamétrie à onde carrée

SCE : Electrode au Calomel Saturé

SQW : Voltamétrie à Onde Carrée

WE : Electrode de Travail

Introduction générale

La réduction des émissions de gaz à effet de serre est un enjeu majeur pour limiter l'accroissement de la température sur une terre où la population mondiale augmente. Les citadins, en particulier, représentent aujourd'hui 54% de la population totale et cette proportion atteindrait 70% d'ici 15 ans.

En matière d'énergie l'utilisation des piles à combustible est une solution attrayante. Cette technologie permet de convertir directement l'énergie chimique en énergie électrique. Elle est présentée comme étant un moyen écologique de production d'énergie puisque le seul déchet que la pile produit est l'eau. C'est pourquoi depuis le début des années 1990, elle connaît un regain d'intérêt.

De plus, la sécurité, la « bio-défense », la surveillance environnementale ou encore le diagnostic médical sont des domaines, en plein essor, où la demande en biocapteurs est de plus en plus importante. En effet, en général, la thérapeutique, la détection et le dosage d'espèces chimiques sont faits à l'aide de différentes méthodes et types d'appareils de mesure comme des spectromètres ou des chromatographes. Cependant, ces instruments présentent plusieurs inconvénients ; volumineux, coûteux, complexes et difficiles et longs à mettre en œuvre, pour ces raisons le développement de capteurs miniaturisés, biocompatibles, avec une réponse en temps réel et plus simple d'utilisation est apparu comme une priorité. Les biocapteurs, notamment ampérométriques (basés sur la mise au point d'une bioélectrode) répondent très bien à ce cahier des charges.

Dans ce contexte, une technologie semble correspondre totalement aux exigences nécessaires au développement durable et à la préservation de l'écosystème : « la bioélectrochimie ». Cette discipline peut être définie comme une science mettant en jeu les principes de l'électrochimie associés au domaine du vivant. Ici nous nous intéresserons particulièrement au couplage électrochimie/molécule organique. En effet, la conversion de l'activité molécule organique oxydo-réductrice en courant électrique a ouvert la voie au développement de bioélectrodes diverses et variées. Leurs domaines d'application sont actuellement multiples et notamment dans les domaines tels que l'énergie (biopiles) et les applications analytiques (biocapteurs).

La recherche sur les électrodes modifiées a connu un essor remarquable durant les dernières décennies si l'on considère le rôle primordial qu'elles jouent dans différents aspects d'application à la fois en analyse et en synthèse. L'actualité de ces études peut s'analyser en

examinant les publications majeures qui ont jalonné ces dernières années, ce qui permet d'observer la situation des thèmes récurrents et de détecter les thèmes émergents. La préoccupation commune et relativement nouvelle, qui sous-tend la plupart des travaux qu'ils proviennent des groupes industriels ou des équipes universitaires, est la prise en compte des problèmes écologiques et environnementaux.

Les électrodes modifiées peuvent être des solides (graphite, carbone vitreux, silicium, diamant dopé, etc.), des métaux solides (or, platine, palladium, etc.) ou liquide (mercure, aluminium fondu, etc.).

Dans ce contexte, cette thèse a pour objectif de développer des électrodes modifiées et des méthodes électrochimiques pour la chélation, la détection des métaux lourds et l'électrocatalyse de l'oxydation des alcools aliphatiques à chaîne courte comme le méthanol.

Ces travaux s'inscrivent dans la continuité de précédentes études réalisées au sein de l'Equipe de Recherche : Electrochimie Moléculaire et Matériaux Inorganiques (EMMI), accréditée à l'Université Sultan Moulay Slimane. Il s'agit des électrodes à pâte de carbone modifiées par des substances biologique ou organique dans le cadre d'élaboration des biocapteurs et des biopiles, L'activité électrochimique intrinsèque des électrodes, ainsi que leurs performances ont été évalués principalement par les méthodes voltammétriques, la structure et la morphologie des couches ont été examinées par Microscopies optique et par absorption à force atomique (AFM).

De très nombreuses recherches sont actuellement menées pour développer des bioélectrodes possédant simultanément de grande sensibilité, une bonne conductivité électrique, une meilleure stabilité et une grande surface spécifique. C'est dans cette démarche que s'inscrit notre étude, qui a pour objectif global le développement des électrodes modifiées à faible coût avec une grande stabilité, telles que:

- Electrode à pâte de carbone modifiée par l'EDTA (CPE-EDTA),
- Electrode à pâte de carbone modifiée par l'EDTA protégé par polymère (CPE-EDTA-polymère),

- Electrode à pâte de carbone modifiée par le 2-benzimidazolethiole (CPE-MO).
- Electrode de pâte de carbone modifiée par le 2-benzimidazolethiole protégé par polymère (CPE-MO-polymère).

- Electrode à pâte de carbone modifiée par l'ADN (CPE-ADN),
- Electrode de pâte de carbone modifiée par l'ADN protégé par polymère (CPE-ADN-polymère),

Cette thèse s'articule autour de six chapitres :

Le premier est une étude bibliographique. Après avoir présenté le contexte sanitaire et environnemental de ces recherches et le principe de fonctionnement de la biopile et biocapteur, une attention particulière a été portée aux différents modes de modifications des électrodes.

Le deuxième chapitre présente les principes et les méthodes électrochimiques utilisées au cours de la réalisation de ce travail, pour l'élaboration, la caractérisation et l'étude électrochimique de nos électrodes modifiées.

Le troisième chapitre décrit d'une part le protocole de la préparation des deux électrodes modifiées : CPE modifiée par l'ADN (CPE-ADN) et CPE-ADN recouverte par le polymère et d'autre part évaluer leurs activités de chélation et détection des métaux lourds.

Dans le quatrième chapitre, nous étudierons la réactivité des électrodes à pâte de carbone modifiées par la molécule organique 2-benzimidazolethiole et recouverte ou non par un polymère, destinées à la chélation et la détection des métaux lourds (Plomb, mercure et le Cuivre) à l'état de traces.

Dans le cinquième chapitre, nous avons étudié la possibilité d'analyser des métaux lourds, en solution aqueuse à l'aide de l'électrode à pâte de carbone modifiée par l'EDTA. Cette modification est basée sur l'accumulation à circuit ouvert de cette molécule sur la surface d'électrode à pâte de carbone.

Cette étude sera enchaînée par une application analytique, les échantillons choisis sont :

- les eaux de robinets de la région de Tadla-Azilal,
- le jus d'orange.

Le sixième chapitre est consacré à la préparation et la caractérisation des anodes CPE-AND-polymère par des méthodes électrochimique, afin de tester leurs activités catalytiques de l'oxydation de méthanol. Ce chapitre décrit aussi une description relativement détaillée sur l'appareillage, les réactifs et les modes opératoires utilisés.

Chapitre I. Bibliographie.

Introduction

Les métaux lourds présentent une forte toxicité [1]. En conséquence leur présence dans l'eau, qui est une ressource essentielle pour la vie et pour les activités humaines, nécessite la réalisation d'un dispositif d'alerte et de contrôle immergé, rapide et efficace. Pour ce faire, les biocapteurs sont considérés comme des instruments avantageux par rapport aux autres moyens existants qui apparaissent lourds et fastidieux. En effet, ils allient facilité et simplicité d'utilisation avec fiabilité et rapidité des mesures. De surcroît ils présentent un faible coût de fabrication.

Dans ce chapitre, nous présentons le contexte de l'étude, notamment les propriétés de quelques métaux lourds, le mécanisme de leurs bioaccumulations et leurs effets, particulièrement sur la santé humaine que nous retiendrons comme un sujet de recherche. Le principe général d'un biocapteur est rappelé, ainsi que les principaux éléments le constituant, en détaillant davantage des électrodes modifiées retenus pour nos travaux... Ces éléments de l'état de l'art s'appuient sur de nombreuses références bibliographiques, dont beaucoup de récentes montre l'intérêt de la communauté scientifique pour l'enjeu de tels systèmes dans le cadre de ce type d'application.

I. L'intoxication avec les métaux lourds

I. 1. Pollution de l'écosystème aquatique par les métaux lourds

Sont considérés comme des métaux lourds, les éléments du tableau périodique qui ont une masse volumique supérieure à $4,5 \text{ g/cm}^3$ d'après le protocole d'Aarhus (Danemark, juin 1998) dans la convention de Genève.

Les métaux lourds les plus souvent considérés comme poisons pour l'homme sont le plomb (Pb), le mercure (Hg), l'arsenic (As), le cadmium (Cd), d'autres comme le cuivre (Cu), le zinc (Zn), le chrome (Cr) pourtant nécessaires à l'organisme en petites quantités, mais deviennent toxiques à des doses plus importantes [2,3].

Par le biais du cycle de l'eau (Figure 1) les écosystèmes aquatiques sont susceptibles d'être contaminés par les métaux lourds par des voies diverses et variées, d'origines accidentelles ou d'usage, entraînant des effets dommageables pour les êtres vivants.

Les problèmes associés à la contamination par les métaux lourds ont été mis en évidence pour la première fois dans les pays industriellement avancés en raison de leurs

déversements industriels plus importants. En effet, pendant des dizaines d'années, les fleuves ont hérité des rejets, des eaux résiduaires et des déchets liquides résultant de l'extraction ou de la transformation de matières premières et de toutes les formes d'activités de production industrielle. A l'heure actuelle, bien que le niveau des activités industrielles soit relativement moins élevé dans des régions sous développées comme l'Afrique, on y observe néanmoins une prise de conscience croissante de la nécessité de gérer rationnellement les ressources aquatiques et notamment de maîtriser les rejets de déchets dans l'environnement.

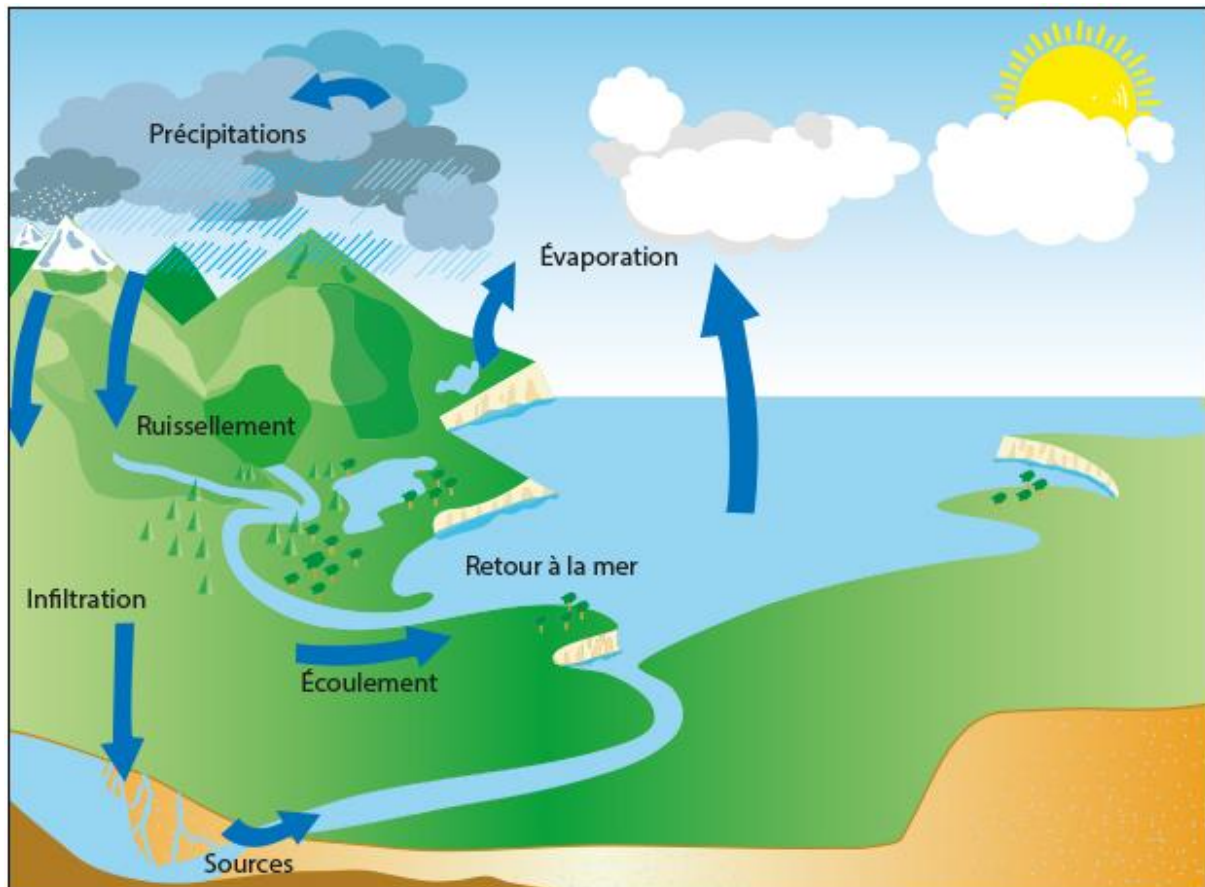


Figure 1: Cycle de l'eau

I. 2. Bioaccumulation des métaux lourds

L'eau est évidemment un élément particulièrement important pour les polluants en général et les métaux lourds en particulier, qui apparaissent comme des micro-polluants susceptibles d'être impliqués dans des réactions chimiques liées à l'acidité, l'alcalinité, la température et l'oxygénation notamment.

Les milieux aquatiques sont très sensibles à ces éléments, même à l'état de traces, par la coexistence de deux phénomènes : la bioaccumulation et la bioamplification qui peuvent entraîner une forte accumulation dans certains organismes vivants. De ce fait les métaux lourds se retrouvent au final dans la chaîne alimentaire. Le processus de bioaccumulation des métaux lourds se développe en trois parties, décrites en suivant.

I. 2. 1. Adsorption et assimilation

Lors de l'exposition, l'adsorption de polluants métalliques concerne la seule fraction soluble et biodisponible, généralement 95%, l'autre fraction, soit 5%, est insoluble et sera éliminée par différentes voies (digestive, urinaire et cutanée). La partie biodisponible et assimilable se concentre dans certains organes, c'est ce qu'on appelle l'organotropisme. Par exemple le cadmium se concentre presque exclusivement dans le tube digestif, le foie et les reins [4]. Le plomb diffuse également dans la peau, les muscles et la colonne vertébrale. Le mercure, dans sa forme organique, diffuse dans tout le système nerveux et le fœtus [5].

I. 2. 2. Bioconcentration

Les organismes, notamment les espèces aquatiques vivantes concentrent les métaux lourds. Cette bioconcentration des métaux lourds par les organismes vivants présente une hiérarchie entre les espèces, qui sont classées selon leur disposition à les concentrer.

I. 2. 3. Bioamplification

Le polluant, présent dans les algues et les microorganismes, est ingéré par un herbivore, lui-même proie d'un carnivore, qui est à son tour proie d'un supercarnivore, animal ou homme. En fin de chaîne, on trouve ainsi un consommateur final ayant bioaccumulé les formes solubles des métaux.

Il peut arriver que les concentrations augmentent au fur et à mesure que l'on progresse dans la chaîne trophique. C'est le cas du plomb et surtout du mercure sous la forme méthylée. Le mercure s'accumule à chaque étape et se retrouve concentré en bout de chaîne alimentaire, notamment dans les gros poissons piscivores. On nomme ce phénomène la «bioamplification» (ou « biomagnification », du terme anglo-saxon). Un facteur de l'ordre de 10⁶ est généralement retenu entre les concentrations relevées au niveau des organes concentrateurs chez l'être humain par rapport aux concentrations dans l'eau.

I. 3. Origine et devenir des métaux lourds

I. 3. 1. Introduction

On appelle métaux lourds les éléments métalliques naturels dont la masse volumique dépasse 5g/cm^3 [6]. Ceux-ci sont présents le plus souvent dans l'environnement sous forme de traces : mercure, plomb, cadmium, cuivre, arsenic, nickel, zinc, cobalt, manganèse. Les plus toxiques d'entre eux sont le plomb, le cadmium et le mercure. Ceux-ci sont présents dans l'eau, l'air et le sol. Comme tous les minerais, ils sont présents dans les roches. Ces réserves naturelles ne constituent pas en elles-mêmes de danger à proprement parler. L'exploitation des gisements, l'érosion, les prélèvements d'eau ou les éruptions volcaniques, vont répandre des traces de ces éléments dans l'environnement. Ils peuvent alors devenir toxiques s'ils se retrouvent en quantités suffisantes dans les organismes vivants.

La classification en métaux lourds est d'ailleurs souvent discutée car certains métaux toxiques ne sont pas particulièrement « lourds » (le zinc), tandis que certains éléments toxiques ne sont pas tous des métaux (l'arsenic) [7]. Pour ces différentes raisons, la plupart des scientifiques préfèrent les appelés « éléments trace ».

I. 3. 2. Les rejets des métaux lourds dans l'eau

Les éléments traces, présents sous une forme particulière dans les sols, apparaissent sous l'effet de l'érosion. Le ruissellement sur les surfaces imperméables ainsi que les sources anthropiques s'ajoutent à ces sources naturelles liées à l'érosion. Outre que les phénomènes naturels, l'activité humaine, même si elle ne crée pas de métaux lourds, participe à leur diffusion dans l'environnement. De fait de leurs propriétés physicochimiques intéressantes (thermiques, électriques, mécaniques, catalytiques, etc...) les métaux lourds sont très largement utilisés. L'industrie métallurgique et minière est la principale source d'émission humaine, le plomb étant présent dans les déchets d'exploitation. On peut citer également la présence de plomb dans les batteries automobiles. Les rejets atmosphériques sont responsables du quasi totalité des métaux, mercure, cadmium, arsenic, chrome, plomb.

I. 3. 3. Effet sur la santé humaine

Le plomb peut se retrouver dans l'eau et les sols lors de la corrosion des tuyauteries en plomb des systèmes de transport d'eau et lors de l'usure des peintures au plomb. Ainsi les

soudures au plomb utilisées dans la fabrication des boîtes de conserve peuvent également contaminer les aliments [8]. Le plomb ne peut être détruit, il peut seulement changer de forme. C'est un élément toxique par inhalation et ingestion: saturnisme, toxique pour les organismes vivants (plantes etc.), perturbe la photosynthèse et d'autres mécanismes du métabolisme. Il a des effets toxiques sur le système nerveux central et périphérique. Les enfants exposés de manière prolongée à de faibles doses de plomb peuvent développer le saturnisme (maladie caractérisée par divers troubles : croissance, développement du système nerveux central, développement intellectuel et comportement). Chez les adultes, à fortes doses, celui-ci peut induire des troubles de la reproduction, des insuffisances rénales, et des encéphalopathies.

Le cadmium est connu depuis les années de la 2^{ème} siècle. Très toxique sous toutes ses formes (métal, vapeur, sels, composés organiques) [9], le cadmium est l'un des rares éléments n'ayant aucune fonction connue dans le corps humain ou chez l'animal. Il faut éviter son contact avec des aliments. Chez l'homme, il provoque notamment des problèmes rénaux et l'augmentation de la tension.

Une exposition de courte durée à des fortes concentrations de poussières ou de fumées, de composés de cadmium est irritante pour les cellules des systèmes respiratoires et gastro-intestinaux [10]. Une exposition de courte durée à des concentrations de cadmium supérieures aux concentrations maximales recommandées peut causer des nausées, des vomissements, de la diarrhée, des crampes musculaires, de la salivation, des troubles sensoriels, des lésions hépatiques, des convulsions, un état de choc et de l'insuffisance rénale. Lors d'une exposition prolongée à des concentrations supérieures aux limites recommandées, le cadmium peut entraîner de l'emphysème, des dommages aux reins et au foie et le ramollissement des os.

Le mercure présent dans l'eau a diverses origines : l'industrie papetière, l'électronique, les thermomètres, l'extraction aurifère et est également présent dans les amalgames dentaires. On peut donc le retrouver chez les poissons se trouvant dans les parties les plus « hautes » de la chaîne alimentaire comme le thon, les huîtres et les moules qui servent de la nourriture pour l'être humain.

Le mercure est reconnu comme une substance puissamment neurotoxique qu'il soit inhalé ou ingéré (contaminant alimentaire). On peut citer les graves conséquences sur la population de pêcheurs de la baie de Minamata (Japon, années 1950, utilisation de Methyl mercure comme catalyseur) qui a fait plus de 1000 morts [11].

La toxicité du mercure provient de son extrême volatilité, de sa relative solubilité dans l'eau ainsi que de sa capacité à se lier avec d'autres molécules qu'il va modifier ou dont il va transformer les fonctions. Ainsi, dans l'organisme, le mercure peut se lier aux molécules constituant la cellule vivante (protéines, acides nucléiques, etc.) et modifie leur structure ou inhibe leur activité biologique.

Il présente des effets indésirables sur la santé tels que perte de mémoire, dépression, tendances suicidaires, troubles de fonctions cérébrales, asthénie, troubles visuels, paralysie, infections répétées ou cancer [12]. C'est un sujet qui a beaucoup intéressé les chercheurs. Par exemple, des laboratoires de recherche médicale ont établi le fait que l'amalgame dentaire est un contributeur majeur à la charge corporelle en mercure. En 1997, une équipe scientifique a démontré que l'inhalation de vapeurs de mercure par les animaux produisait une lésion moléculaire dans le métabolisme des protéines du cerveau similaire aux lésions observées dans 80% des cerveaux affectés de la maladie d'Alzheimer. Récemment, des expériences effectuées par des scientifiques de la faculté de médecine de l'université de Calgary ont révélé avec des preuves visuelles directes des cultures de neurones, comment les ions de mercure altèrent la fabrication des cellules neuronales en développement, pour mieux comprendre l'effet du mercure sur le cerveau. En effet, les dérivés organico-métalliques du mercure comme le méthyle mercure, forment un complexe très puissant qui peut provoquer des lésions permanentes dans les neurones, ainsi que la désamination de l'ADN ou sa méthylation.

II. Mode de détection et de conversion des substances chimiques par voie électrochimique

II. 1. Généralités sur les électrodes modifiées

Les travaux effectués ces dernières années se situent essentiellement à l'interface entre la chimie et la physique. Ils ont pour but de structurer et de fonctionnaliser la surface d'une électrode afin de lui conférer des propriétés nouvelles, absentes d'une électrode nue, qui permettent ensuite une application entre autres dans le domaine de l'analyse chimique. Ceci a permis de créer de véritables architectures supramoléculaires à la surface d'une électrode, avec une grande variété de constituants, allant de simples molécules ou particules inorganiques jusqu'à des molécules complexes.

Un des objectifs essentiels des électrochimistes est le contrôle de la réactivité de l'interface électrode-solution. L'application d'un potentiel permet de faire varier le niveau énergétique de l'interface mais généralement sans contrôle de sélectivité. De façon à imposer et à contrôler les propriétés de l'interface, de nombreux chercheurs de plusieurs disciplines

ont modifié la surface d'électrodes par toutes sortes de composés organiques ou organométalliques [13-17]. Depuis l'électropolymerisation du pyrrole par Diaz et ses collaborateurs [17], les électrodes modifiées ont été essayées dans des domaines d'applications divers : photosensibilisation, électrochromisme, anti-corrosion [18], batterie et accumulateur de faible poids, et également électrocatalyse [19,20]. Ces recherches permettent l'étude des réactions de transfert de matière aux interfaces solide/solution et le développement de méthodologies électro-analytiques permettant de caractériser et d'exploiter les propriétés des matériaux inorganiques tels que les zéolithes, apatite, les silices, et d'autres solides apparentés.

Les objectifs principaux de ces recherches sont, d'une part, de contribuer à une meilleure compréhension des réactions de transfert de matière dans l'environnement et, d'autre part, de proposer de nouveaux moyens d'investigation, de contrôle, de mesure, et de remédiation des milieux liquides et des interfaces solide/solution faisant intervenir des solutés toxiques (notamment des espèces métalliques). L'accroissement des connaissances dans ce domaine nécessite des efforts de recherche privilégiant à la fois le développement de nouvelles méthodologies permettant l'analyse de ces phénomènes dans des conditions *in situ*, la mise au point de capteurs permettant l'étude de la spéciation et l'analyse de traces, ainsi que l'émergence de nouveaux procédés de dépollution à la surface d'un électrocatalyseur.

Le contrôle des propriétés physico-chimiques de l'interface électrode/électrolyte vise essentiellement à élargir le champ d'application des électrodes à l'étude de molécules peu ou non réactives (électrocatalyse), afin d'améliorer, voire de contrôler la réactivité, d'accroître la sensibilité des mesures et la sélectivité d'une réaction électrochimique. Ce contrôle est en particulier rendu possible par la modification de la surface de l'électrode. L'électrode ainsi modifiée acquiert les propriétés chimiques et électrochimiques du système modifié.

Le terme général d'électrode chimiquement modifiée [21] désigne toute électrode à la surface de laquelle une espèce chimique aux propriétés spécifiques (groupe rédox, catalyseur, complexant, adsorbant,...) a été délibérément fixée. Les premiers dans ce domaine ont été Lane et Hubbard [22] qui, en 1973, ont démontré l'influence importante de la modification d'électrodes de platine, par adsorption de dérivés éthyléniques, sur la cinétique de réaction électrochimiques. A la suite de ces premiers travaux, les méthodes qui ont été d'abord développées pour préparer des électrodes modifiées chimiquement ont fait appel à l'adsorption ou à la fixation covalente (greffage) de molécules simples, conduisant à la

modification de la surface de l'électrode par une monocouche de réactif [23,24]. Cependant, la technique de modification d'électrodes qui a été la plus développée est celle basée sur le dépôt de multicouches de réactif, opération généralement réalisée par l'adsorption de film de polymères à la surface de l'électrode, qui permet d'obtenir de véritables matériaux moléculaires d'électrode de structure tridimensionnelle [25,26].

Un des avantages de ces systèmes est qu'ils nécessitent l'utilisation d'une quantité minimum de réactifs, souvent coûteux, pour réaliser des analyses. Un autre avantage est la sélectivité des électrodes chimiquement modifiées. En effet, par un choix judicieux du réactif immobilisé, il est possible de contrôler la sélectivité de l'analyse. De plus ces électrodes permettent d'augmenter la sensibilité grâce à l'étape de préconcentration. Pendant cette étape d'accumulation, l'espèce cible est préconcentrée dans un petit volume à la surface de l'électrode, ce qui permet de mesurer de très faibles concentrations. L'étape de préconcentration est aussi une étape de séparation, extrayant l'espèce cible du milieu. Elle présente l'avantage d'être réalisée en circuit ouvert.

Il faut toutefois noter que pendant l'analyse voltamétrique l'espèce cible peut ne pas être redissoute dans la solution d'analyse et l'électrode modifiée doit alors être régénérée chimiquement afin d'être de nouveau utilisable ; de cette façon, elle permet de contrôler la sélectivité, d'augmenter la sensibilité et leur méthode de préparation va influencer la stabilité du système.

Dans ce contexte, les électrodes chimiquement modifiées sont une voie prometteuse pour l'analyse de traces des polluants par différentes méthodes électrochimiques : voltamétrie cyclique, voltamétrie à impulsion différentielle, voltamétrie à onde carré, chronoampérométrie, chronopotentiométrie, etc...

Il existe deux procédures importantes de modification des électrodes que nous allons décrire brièvement.

II. 1. 1. Modification de la surface des électrodes solides

Cette procédure a été adoptée par plusieurs auteurs pour la détection des micropolluants organiques et inorganiques.

II. 1. 1. 1. Modification covalente

Elle implique des liaisons covalentes entre la surface de l'électrode et le modificateur pour former une monocouche. On peut citer le travail de J. Schreurs et *al.* [27] qui ont étudié

la liaison de l'ion cobalt (Co^{2+}) par une fonction amide à la surface d'une électrode de carbone vitreux.

II. 1. 1. 2. Modification par adsorption

Cette stratégie a été adoptée par plusieurs auteurs [28-32]. Les métaux tels que le platine, l'or, l'argent et l'acier sont depuis longtemps utilisés en raison de leurs excellentes propriétés électriques et mécaniques. Ces électrodes sont très sensibles à des phénomènes d'adsorption.

Le phénomène d'adsorption à la surface des solides peut se mettre en évidence de façon la plus directe en enfermant dans une enceinte une certaine quantité d'adsorbat mise en présence d'un solide. L'expérience montre que dans, certains cas, la concentration du substrat diminue, ce que l'on ne peut expliquer que par une fixation des molécules du substrat à la surface du solide en excluant leur dissolution dans la masse du solide qui est exceptionnelle. Le même phénomène d'adsorption peut aussi s'observer lorsqu'on met au contact d'un solide un gaz dont on suit la variation de la pression.

On a progressivement été amené à distinguer deux grands types d'adsorption : l'adsorption physique et l'adsorption chimique ou encore la physisorption et chimisorption respectivement. Les différences entre elles sont celles qui existent entre transformations physiques et transformations chimiques, c'est-à-dire entre celles qui supposent la mise en jeu d'interactions moléculaires du types Van Der Waals, donc peu énergétiques, et celles qui supposent la mise en jeu de liaisons beaucoup plus solides et plus spécifiques dites liaisons chimiques.

L'adsorption repose sur un échange électronique entre la surface et les espèces de la solution, elle dépend donc des caractéristiques des deux éléments et notamment de leurs états énergétiques respectifs.

D'un point de vue électrochimique, nous devons considérer que le processus à l'électrode englobe les molécules, atomes, ions et radicaux intermédiaires de réaction, qui sont susceptibles de s'adsorber. Cette hétérogénéité se traduit par l'existence d'une double couche dont les caractéristiques sont modifiées lors de l'adsorption qui sera alors physique ou chimique.

a. Adsorption physique

Aucune liaison chimique n'est formée entre le substrat et l'électrolyte, leurs nuages électroniques demeurent séparés mais ils subissent une déformation. La forme la plus simple de l'adsorption physique est électrostatique : liaison d'un ion avec une charge de surface. Les molécules neutres peuvent aussi être sujettes à une adsorption physique par l'intermédiaire des forces de Van Der Waals. Ainsi, les charges électriques libres et les dipôles induits ou permanents participent à la mise en place de la physisorption : ceci implique que le champ électrique de la couche d'adsorption et donc le potentiel de l'électrode l'influence directement.

b. Adsorption Chimique

Elle est engendrée par des forces beaucoup plus intenses que celles rencontrées dans la physisorption. Il y a formation d'une liaison de coordination entre un atome polaire de la molécule et un atome du métal.

L'adsorption d'une molécule ne met pas en jeu des énergies suffisantes pour la dissocier, elle se situe alors à environ 6-8 Å de la surface. L'adsorption chimique est cinétiquement plus lente que l'adsorption physique.

II. 1. 1. 3. Modification par film polymérique ou modification multicouches

Une première étude décrivant la préparation électrochimique d'un film conducteur de polypyrrole a été publiée en 1968 [33]. En 1979, Diaz et ses collaborateurs [17] décrivent une électropolymérisation du pyrrole dans l'acétonitrile. Puis, d'autres polymères ont pu être obtenus par voie électrochimique : polyzulène, polythiophène, polyindole [34], polycarbazole [35], polyfluorènes [36].

Les premières électrodes modifiées par des complexes possédant un groupement électropolymérisable a été décrites par Meyer et ses collaborateurs [37].

Différents complexes de fer, de ruthénium et d'osmium ont été électropolymérisés à la surface d'une électrode de platine et de carbone vitreux. D'autres électropolymérisations ont été publiées concernant des complexes à ligands polypyridines [38-40] et porphyrines [41,42].

La modification d'une surface d'or par des polymères a suscité beaucoup d'intérêt depuis la première publication de Nuzzo et *al.* [43]. Elle apparaît comme une bonne approche pour l'accumulation des espèces cibles par complexation. En effet, elle permet d'immobiliser une grande quantité de ligands à la surface d'électrode, donc d'accumuler une plus grande

quantité d'analyte et d'obtenir ainsi une sensibilité plus élevée. Wallace et *al.* [44] ont étudié en 1986 une électrode modifiée par un polypyrrole fonctionnalisé par le dithiocarbamate pour la détection de cuivre.

La modification d'une électrode solide par un film de polymère permet de former des multicouches d'espèces actives à sa surface. Typiquement, les polymères utilisés pour la modification chimique d'électrode ont un groupement électrochimiquement ou chimiquement actif, comme par exemple des sites redox ou chélateurs [45,46].

Un des axes majeurs des méthodes électrochimiques est le développement des électrodes modifiées dans des études antérieures d'électrodéposition des métaux nobles (Ag, Au, Pt, Pd...) [47-49]. Il a été trouvé que le métal noble déposé offre une grande activité catalytique pour plusieurs réactions de réduction et d'oxydation.

L'état très dispersé du métal noble sur la surface de substrat, et la surface de substrat était prouvé pour être plus actif que les électrodes du métal. Viltscinka et *al.* ont été les premiers à modifier l'électrode de graphite par un film d'or afin de déterminer le mercure en utilisant la voltamétrie linéaire par redissolution anodique [50]. Le même film a été utilisé pour la détermination de l'arsenic en modifiant différentes électrodes comme le carbone vitreux et l'électrode de platine [51,52].

Svancara et *al.* ont utilisé l'électrode à pâte de carbone modifiée par un film de mercure pour la détermination de Zn(II) dans l'eau potable en utilisant la voltamétrie pulsionnelle différentielle par redissolution anodique [53].

Un des grands progrès dans l'électrochimie réside dans l'utilisation des électrodes chimiquement modifiées en vue d'éliminer certains polluants organiques et/ou inorganiques. Les méthodes chimiques et photochimiques ont été remplacées par des électrodes modifiées par des oxydes [54-57] ou par des électrodes de diamant dopé au bore [58-61].

En fait, la conversion et/ou l'incinération d'une variété large de composés aromatiques peut avoir lieu à la surface de la matière des électrodes avec une efficacité satisfaisante. Dans le processus de la conversion, les composés aromatiques sont seulement transformés en composés biocompatibles pour permettre leur élimination supplémentaire par les traitements biologiques. Selon la matière de l'électrode, le mécanisme d'oxydation se fait à travers l'introduction préliminaire d'oxygène dans le réseau d'oxyde et qui en résulte un changement

d'état d'oxydation du métal. Ce mécanisme a lieu dans le cas par exemple des électrodes à base d'(IrO_2 et RuO_2 , SnO_2 , PbO_2) [55,62-66].

II. 1. 2. Modification directe : les électrodes à pâte de carbone

Les électrodes à pâte de carbone (EPC) sont un exemple d'électrodes composites, fabriquées à partir d'une mixture de plusieurs composés. Cette méthode a été décrite pour la première fois par Adams en 1958 [69]. Les EPCs sont préparées en mélangeant de la poudre de carbone avec un liant adapté comme la paraffine liquide ou la graisse de silicone. La pâte mixée est en suite mise en forme dans un corps d'électrode, comme une seringue en plastique ou un tube de verre. Une électrode à pâte de carbone chimiquement modifiée (EPCCM) est obtenue par ajout d'un réactif chimique à la mixture [70,71] la surface d'une telle électrode peut être renouvelée par essai léger.

Plusieurs modes de modification de l'électrode ont été utilisés, pour la détermination d'ions ou de molécules organiques et bio-organiques : introduction dans la pâte d'un adsorbant tel que les polymères [72,73] et la silice [74], dissolution directe de molécules complexantes [75] dans le liant ou fixation de ces molécules sur un solide...

En 1964 Kuwana et *al.* [76,77] ont modifié l'électrode à pâte de carbone par dissolution de composés organiques électroactifs tels que l'antraquinone ou les 5-aminobenzophénone dans le liant. Ces auteurs ont montré que l'électrode à pâte de carbone contenant un constituant autre que le liant, peut avoir un comportement distinct, lui permettant d'améliorer ses performances. Cette méthode a beaucoup contribué au développement de cette électrode, principalement en électroanalyses [78,79]. En fonction de l'électrolyte support, l'électrode à pâte de carbone peut être utilisée dans un large domaine de potentiels, -1.4 V/ECS à +1.3 V/ECS et même atteindre un potentiel de +1.7V/ECS selon Lindquist [80].

La réponse de l'électrode dépend de la quantité et la nature de modificateur, de l'électrolyte et éventuellement de temps de préconcentration et de la concentration de la solution à analyser. La fixation de l'espèce cible en solution à la surface de modificateur introduit dans la pâte atteint l'équilibre au bout d'une durée fixe et implique une saturation de l'électrode. La réponse de l'électrode est invariable après cet équilibre.

Deux types d'électrodes doivent être envisagés selon le liant assurant la cohésion de la pâte est conducteur ou non conducteur.

II. 2. 1. Electrodes à pâte de carbone à liant non conducteur

Les liants utilisés sont généralement les huiles de paraffine ou de silane, le nujol, bromoforme ou le bromonaphtalène. La vitesse de transfert des électrons diminue avec l'addition du liant [81]. Le rapport liant-carbone est déterminé selon la consistance et les propriétés désirées de la pâte. Généralement ces rapports sont de 18 ml de paraffine pour 5g de carbone ou 2ml de nujol pour g de carbone. Dans le cas de ces électrodes, seule la fraction de composé électroactif se trouvant à l'interface pâte de carbone-electrolyte extrême participe aux transferts de charges.

Depuis 1975, les électrodes à pâte de carbone à liant non conducteur modifiées ont trouvé un grand nombre d'applications en électroanalyse des solutions [82]. Yao *et al.* [83] ont appliqué la méthode décrite par Kuwana [71] en dissolvant directement dans le liant, paraffine, un aldehyde afin de fixer l'espèce électroactive à analyser. Cette modification de l'électrode permet l'amélioration de sa performance par une augmentation de sa sensibilité et de sa sélectivité ou par protection de sa surface de réaction non désirées.

II. 2. 2. Electrode à pâte de carbone à liant conducteur

Dans ces électrodes, le liant conducteur peut être identique à l'électrolyte ou de nature différente. Contrairement aux électrodes à pâte de carbone à liant non conducteur, celles à liant conducteur fournissent des courbes voltampérométriques présentant uniquement des pics attribuables, soit à des réductions, soit à des oxydations, se produisant à des potentiels bien déterminés et très reproductibles. Il convient de souligner que, quel que soit le mécanisme envisagé, les différents auteurs s'accordent pour reconnaître que la transformation électrochimique des solides incorporés dans ce type d'électrode peut être totale si les quantités de solide ne sont pas trop importantes et si les vitesses de balayage sont suffisamment faibles. Il ne s'agit donc plus de réactions superficielles, se produisant uniquement à l'interface de l'électrolyte à pâte de carbone, comme dans les électrodes à liant non conducteur avec un échange électronique s'opérant au sein de la masse de la pâte de carbone. De ce fait les quantités d'électricité mises en jeu sont beaucoup plus grandes et on observe des quantités de courants d'oxydation ou de réduction plus importantes.

II. 2. 3. Les électrodes métalliques

Les électrodes métalliques se répartissent eux-mêmes en électrodes métalliques purs d'où un seul constituant, le métal lui-même, et électrodes à plusieurs constituants. Dans les

premiers on rencontre des poudres métalliques, des fils, des feuilles, des films évaporés ou des métaux colloïdaux. Dans les secondes on trouve les métaux supportés ou additionnés.

a) Electrodes à base des métaux purs

Les métaux tels que le platine, l'argent, l'or et l'acier sont depuis longtemps utilisés [82,83] en raison de leurs excellentes propriétés électriques et mécaniques. Ces électrodes sont très sensibles à des phénomènes d'adsorption. L'électro-oxydation des molécules organiques est affectée par la nature et la structure des substrats [84,85].

b) Electrodes à base des métaux supportés ou additionnés

Le métal peut être simplement dispersé sur un support dans le but d'accroître sa surface spécifique sans que le support ne joue de rôle catalytique. Il peut encore être additionné de certaines substances qui améliorent son activité. En fin, il arrive que le support soit catalytiquement actif et que l'on ait ce que l'on appelle un catalyseur bifonctionnel. Comme exemple important de ce dernier cas, on peut citer les catalyseurs dans lesquels le platine et le palladium sont supportés sur le charbon actif pour l'oxydation de l'acide formique [85].

Les propriétés d'un catalyseur métallique dépendent le plus souvent de l'état de dispersion de la phase active, de la nature du support et du précurseur utilisé, ainsi que du protocole opératoire.

Le Dépôt de précurseur s'effectue par imprégnation (faible interaction précurseur/support), par échange de ligands ou par échange d'ions. Quelque soit la méthode utilisée, l'état de dispersion du métal dépendra de la surface spécifique du support, c'est-à-dire soit directement (cas de l'imprégnation) soit indirectement (cas de l'échange) car le nombre de sites d'échange est en général proportionnel à la surface du support.

La méthode par imprégnation consiste en un dépôt du métal sur la surface du support par adsorption physique (interaction par force de Van Der Waals). Dans ce cas la faible interaction précurseur/support ne permet généralement pas d'obtenir une dispersion très élevée.

La méthode par échange ionique consiste en un échange anionique ou cationique, entre les solutions de précurseur métallique et certains sites particuliers du support. Cette méthode est particulièrement adaptée à l'obtention d'une grande dispersion de la phase active que l'on veut déposer. La plupart des supports oxydes peuvent adsorber soit des acides soit des bases.

Toutefois le point d'équilibre pour ce caractère amphotère se situe dans des zones de pH fort différentes selon la nature du support.

La méthode par échange de ligands est effectuée dans le cas où le précurseur est un organométallique. L'échange peut se produire entre les groupements hydroxyles de surface et les ligands du précurseur. Par conséquent ceci aboutit à une forte interaction précurseur/support.

II. 2. 4. Les électrodes non métalliques

Ces solides peuvent être utilisés soit à l'état massif, ce qui est le cas le plus fréquent, soit sous forme de film à la surface du métal de base massif [86]. Le film d'oxyde peut être préparé par oxydation ménagée et contrôlée du métal.

III. Généralités sur les argiles et les phosphates naturels

III. 1. Les Argiles

III. 1. 1. Définition de l'argile

L'argile désigne tout matériau naturel composé de grains fins, qui passe à l'état plastique en présence de teneurs en eau appropriées et durcit par séchage ou par chauffage [87], la plasticité étant l'aptitude du matériau à acquérir et conserver toute forme possible au façonnage. Les applications scientifiques et technologiques des argiles sont très nombreuses et dépendent pour la plupart non seulement de la structure et des propriétés spécifiques de l'espèce argileuse considérée mais aussi et souvent de sa minéralogie locale c'est-à-dire des minéraux ou impuretés qui lui sont associées et susceptibles de modifier certaines de ses propriétés. Or pour un même type d'argile, les impuretés varient d'une région du globe à l'autre, il s'en suit que les traitements que doit subir le matériau argileux pour la même application varieront également.

Ces observations nous ont amené à entreprendre une étude des matériaux argileux marocaine, en vue de leur éventuelle utilisation scientifique ou technologique.

III. 1. 2. Utilisation des argiles

Les argiles sont utilisées par l'homme depuis la nuit des temps [87]. Leur emploi, par exemple pour la fabrication de briques de terre crue, de pisé, de tablettes d'argile ou de récipient a contribué au même titre que l'agriculture au développement des premières civilisations. Aujourd'hui elles sont employées aussi bien comme constituant mineur

(Peintures, matières plastiques, cosmétiques, produits pharmaceutiques, adsorbant, catalyseur, etc) que comme matière première majoritaire, par exemple pour la production de matériaux céramiques de grande diffusion. Alors que la consommation de ces produits tend à se généraliser, leur production reste très peu développée dans certains pays en voie de développement.

III. 2. Les phosphates naturels

III. 2. 1. Introduction

Le sous-sol marocain recèle une richesse importante en phosphate sédimentaire qui classe le Maroc dans les premiers rangs du marché des phosphates et ses dérivés.

Le phosphate naturel désigne le produit issu de l'exploitation et du traitement métallurgique ultérieur des minerais contenant du phosphore. En plus du minéral principal contenant du phosphore, les gisements de PN contiennent également des minéraux accessoires ou des impuretés de gangue.

Les phosphates naturels sédimentaires sont composés principalement d'apatites. Ces apatites montrent une substitution isomorphe étendue dans le réseau cristallin. Ainsi, elles présentent une grande variation dans leur composition chimique et montrent en conséquence un large éventail de propriétés. Dans les dépôts sédimentaires, les principaux minéraux phosphatés sont des francolites (fluoroapatites microcristallines carbonatées), qui sont en association avec une grande variété de minéraux accessoires et d'impuretés.

Le travail que nous allons présenter rentre dans le cadre de la valorisation du phosphate naturel marocain pour le développement d'une nouvelle utilisation en tant que Capteurs/adsorbant pour la dépollution des eaux usées. De ce fait le développement de procédés permettant l'élimination des métaux toxiques ou nuisibles aux écosystèmes, est l'une aussi des priorités de la recherche actuelle.

III. 2. 2. Utilisation des phosphates naturels

En raison de leur composition chimique extrêmement variable et complexe, les PN sont des sources d'éléments nutritifs autres que le phosphore. Ils sont habituellement appliqués pour compléter le niveau du statut phosphaté du sol, mais leur dissolution fournit également d'autres éléments nutritifs présents dans le Phosphate naturel. Les PN jouent un rôle important en contribuant à améliorer la fertilité du sol et le contrôle de la dégradation du sol, en particulier, pour éviter la surexploitation des éléments nutritifs (épuisement). Les

phosphates naturels sont la source commerciale de phosphore utilisée comme matière pour la fabrication des engrais phosphatés et de certains produits chimiques. Ils sont utilisés dans la catalyse hétérogène, ils sont aussi utilisés dans la protection de l'environnement tel que l'élimination des métaux lourds des eaux polluées etc...

IV. L'ADN

L'Acide DéoxyriboNucléique (ADN) est universel. Cette molécule est le support de l'information génétique. Il a été isolé pour la première fois par Friedrich Miesher en 1869. Sa structure en double-hélice a été décrite en 1953 par James D. Watson, Francis H. Crick et Rosalind Elsie Franklin. L'ADN est un polymère de nucléotide. Chaque nucléotide, dont la structure est représentée Figure 2, est composé d'un groupement phosphate (en rouge), d'un sucre : le désoxyribose (également appelé 2'-désoxy-β-D-ribose) (en noir) et d'une base azotée (en bleu). Chaque base est fixée sur un désoxyribose via une liaison N-glycosidique.

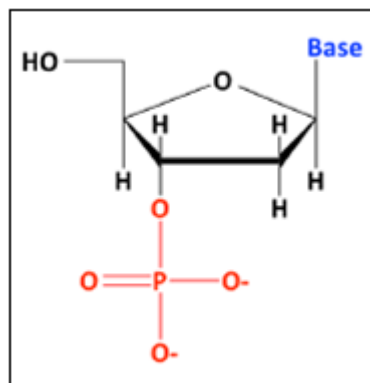


Figure 2: Structure d'un nucléotide

Il existe quatre types de bases qui rentrent dans la composition de l'ADN : l'adénine (notée A), la thymine (notée T), la cytosine (notée C) et la guanine (notée G). L'uracile (notée U) se retrouve uniquement dans l'ARN (Acide RiboNucléique). Ces bases sont classées en deux familles : les pyrimidines (T, C et U) et les purines (A et G). Les bases puriques sont complémentaires des bases pyrimidiques ainsi l'adénine s'apparie avec la thymine et la guanine avec la cytosine formant ainsi une paire de base. Les liaisons hydrogènes existant entre les bases complémentaires (2 liaisons hydrogènes entre l'adénine et la thymine et 3 liaisons hydrogènes entre la guanine et la cytosine) assurent la stabilité de la structure de l'ADN. La structure de ces bases azotées ainsi que leur appariement est présenté Figure 3.

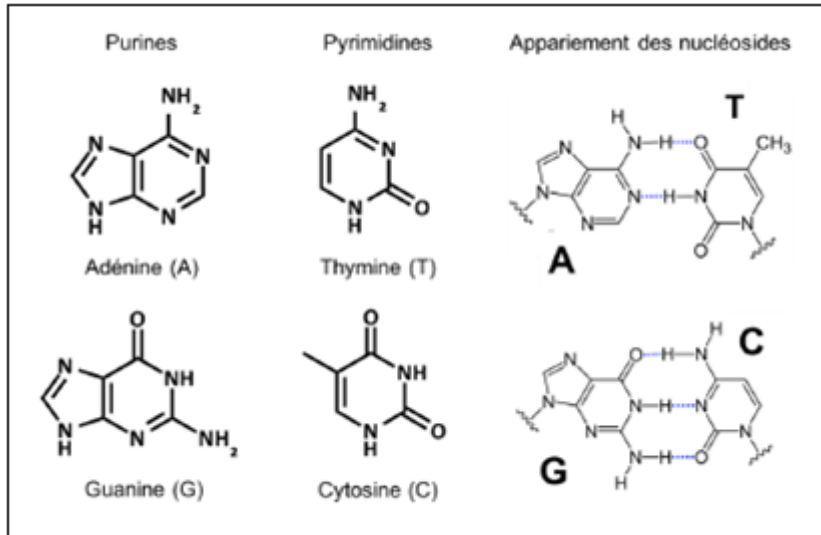


Figure 3: Structure des deux familles de nucléosides composant l'ADN ainsi que leur appariement dans l'ADN via des liaisons hydrogènes (- - -)

Dans l'ADN, les nucléotides sont reliés entre eux par une liaison 5'-3' phosphodiester (Figure 4) qui unit le carbone C5' d'une unité osidique au carbone C3' de la suivante (la notation 5' et 3' fait référence à la numérotation des sucres).

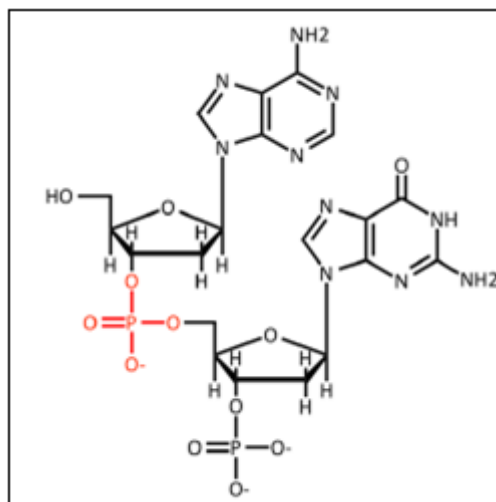


Figure 4: Liaison d'une adénosine et d'une guanosine via une liaison 5'-3' phosphodiester sur un ADN monocaténaire [88].

IV. 2. L'ADN électrique

IV. 2. 1. Les molécules sont des assemblages de particules électriques

Toute molécule, y compris la molécule d'ADN, est faite d'un assemblage d'atomes. Un atome est constitué d'un noyau chargé d'électricité positive, et d'électrons de charge électrique

négative qui gravitent autour du noyau. Or, une charge électrique crée un champ électrique tout autour d'elle, c'est-à-dire une sphère d'influence électrique qui exerce des forces sur les autres charges électriques. On peut donc dire que tout atome est un espace de charges électriques et d'influences électriques.

Dans une molécule, les atomes sont maintenus en place par des liaisons électriques plus ou moins élastiques, plus ou moins souples (liaisons covalentes). Toute molécule est aussi un espace de charges électriques et d'influences électriques. Sa forme même résulte des interactions entre ses différentes parties. Par exemple si deux parties un peu éloignées d'une même molécule s'attirent, cette force d'attraction provoque la courbure ou le repliement de la molécule. La molécule est structurée par l'électricité et fonctionne grâce à elle.

L'électricité est aussi la force qui maintient les assemblages de molécules sous forme de matière, liquide ou solide. Entre elles, les molécules peuvent s'attirer ou se repousser à cause de leurs influences électriques. Lorsqu'elles s'attirent, elles peuvent se coller, s'emboîter, par des liaisons électriques plus faibles que celles qui unissent leurs atomes constitutifs (liaisons de type Van der Waals, liaisons hydrogène). Cette association reste légère, relativement libre et facilement défaire, par élévation de température par exemple, ou par l'intervention d'ions.

La nature électrique de la matière se manifeste aussi au niveau de la cellule. La membrane qui enveloppe la cellule est polarisée comme une pile entre l'intérieur et l'extérieur. Les charges électriques sont mobiles et circulent dans la cellule. C'est ainsi que les neurones, cellules du système nerveux, transmettent l'influx électrique d'une cellule à l'autre dans les nerfs. En réalité, les organismes vivants sont des "machines" électriques extrêmement élaborées.

- **L'électronique moléculaire :**

L'aspect électrique des molécules est bien connu des chimistes. Une catégorie d'entre eux et de physiciens en ont fait leur monde quotidien de recherche en électronique moléculaire. Ils cherchent à construire et étudier des dispositifs électroniques miniatures (nanotechnologie) des machines dont la taille est de l'ordre du nanomètre (un millionième de millimètre) et qui peuvent se loger partout, y compris dans le corps, dans les cellules, dans le sang, pour le meilleur... ou pour le pire! Dans cette approche, la synthèse des molécules souvent linéaires

ou cycliques, et l'étude comment elles se comportent en tant que minuscules fils électriques, diodes, condensateurs, ou antennes électro-magnétiques. De nombreuses équipes travaillent sur ce sujet qui a le vent en poupe dans la recherche et la faveur des grosses sociétés industrielles électroniques.

Il est donc surprenant que la nature électrique des molécules soit si peu abordée dans les descriptions de la biologie moléculaire, aussi bien dans l'enseignement que dans la recherche (sauf rares exceptions). Sans doute parce que la physique rebute le biologiste. Mais aussi parce qu'il existe un cloisonnement important entre les disciplines.

IV. 2. 2. L'ADN composant électronique

Puisque la molécule d'ADN est composée d'électricité, certains chercheurs se sont demandé si elle était capable de conduire le courant électrique comme un fil minuscule. Le but est intéressé. Les recherches sur la conductivité sont menées dans l'espoir d'en trouver des applications technologiques.

S'il est possible de fabriquer des microcircuits qui emploient des fils moléculaires. Parmi les molécules qui sont susceptibles d'être employées comme fil électrique, celles d'ADN possèdent de nombreux avantages. Elles ont la faculté de s'assembler spontanément en ensembles ordonnés (auto-assemblage), de se dupliquer et d'adopter des conformations variées.

Les électrons qui gravitent autour des atomes sur les orbites les plus éloignées sont très peu astreints à rester sur cette orbite et peuvent sauter d'un atome à l'autre. Dans les fils métalliques, ils sont tellement libres que lorsqu'ils sont soumis à une tension électrique, ils circulent en flot groupé, comme de l'eau soumise à une aspiration. C'est ce qui crée le courant électrique.

Dans les molécules organiques telles que l'ADN, les mécanismes sont plus complexes (sauts d'électrons, solitons, polarons, bipolarons), mais de toute façon, ces termes désignent des mouvements d'électrons. Certains chercheurs ont tenté de calculer la conductivité théorique, selon des modèles plus ou moins représentatifs de la réalité, sans conclusion nette.

IV. 3. La conductivité de l'ADN en présence des métaux

Les études de conductivité rapportées précédemment ont été effectuées sur un ADN nu. C'est logique puisque le but est d'en tirer parti pour des nanocircuits électroniques et des nano-ordinateurs. Or il est connu que des molécules organiques autres que l'ADN sont conductrices de l'électricité, et ceci depuis les années 1970. Il s'agit de certains polymères (le nom chimique des constituants des matières plastiques et des gels) comme le polyparaphénylène, le polyacétylène, la polyaniline. Toutefois, leur molécule n'est pas conductrice lorsqu'elle est isolée et nue. Ils ne sont pas des conducteurs intrinsèques. Ils deviennent conducteurs lorsqu'on les "dope", c'est-à-dire lorsqu'on leur ajoute des ions (métalliques, chlore, iode, etc.) qui viennent se coller sur les molécules.

La conductivité de l'ADN est également très influencée par les ions métalliques. Ainsi, l'adjonction de ruthénium ou de rhodium augmente la conductivité de l'ADN de façon significative. Lorsqu'on place un seul atome de ruthénium à chaque extrémité d'un brin d'ADN (court), la conductivité du brin est multipliée par 10'000 (David Paterson, Scientific American, mai 1995, 33).

Les métaux ont une importance cruciale pour le fonctionnement de l'ADN dans son environnement cellulaire. L'ADN baigne dans l'eau physiologique, chargée d'ions et d'autres molécules, qui peuvent s'approcher de l'ADN et se fixer sur lui. C'est de cette façon que certains ions métalliques jouent un rôle important dans l'ouverture (la séparation locale) des deux brins et dans leur fermeture (Étienne Guillé, L'alchimie de la vie). On sait aussi qu'une plus grande concentration de certains d'entre eux est liée à l'apparition du cancer. La présence trop abondante d'aluminium est incriminée dans la maladie d'Alzheimer. [89, 90, 91, 92, 93]

V. Les biocapteurs

V. 1. Introduction et historique

Le premier biocapteur a été l'œuvre de Leland Clark en 1950 dans le but de mesurer la concentration en oxygène dissous dans le sang [94]. En 1962, ce même biocapteur est adapté afin de quantifier le taux (ou concentration) de glucose dans le sang [95]. Puis en 1967, Updike et Hicks élaborent les premières électrodes enzymatiques [96]. Depuis les années 70, un effort considérable a été fait dans leur développement du fait de leurs applications dans des domaines divers et variés (médecine, agro-alimentaire, ou contrôle environnemental). En

effet, de par leur petite taille, leur facilité d'utilisation et la possibilité de les utiliser sur site, ce sont des éléments d'analyse particulièrement avantageux et intéressants.

V. 2. Définition

Un biocapteur est un système analytique alliant des technologies différentes issues par exemple de la biologie moléculaire, la microélectronique, l'optique et l'informatique. Il se compose d'un élément biologique, que l'on appelle « ligand » ou biorécepteur, lui-même lié à un transducteur (pouvant être optique ou plus généralement électromagnétique, électrochimique, piézoélectrique, calorimétrique ou acoustique) permettant de transformer un signal biochimique en un signal physique quantifiable (Figure 5). Selon l'Union Internationale de Chimie Pure et Appliquée (IUPAC) [97], un biocapteur est un appareil qui utilise des réactions biochimiques spécifiques médiées par des enzymes isolées, des immuno-systèmes, des tissus, organites ou des cellules entières pour détecter des composés chimiques en général par des signaux électriques, thermiques ou optiques.

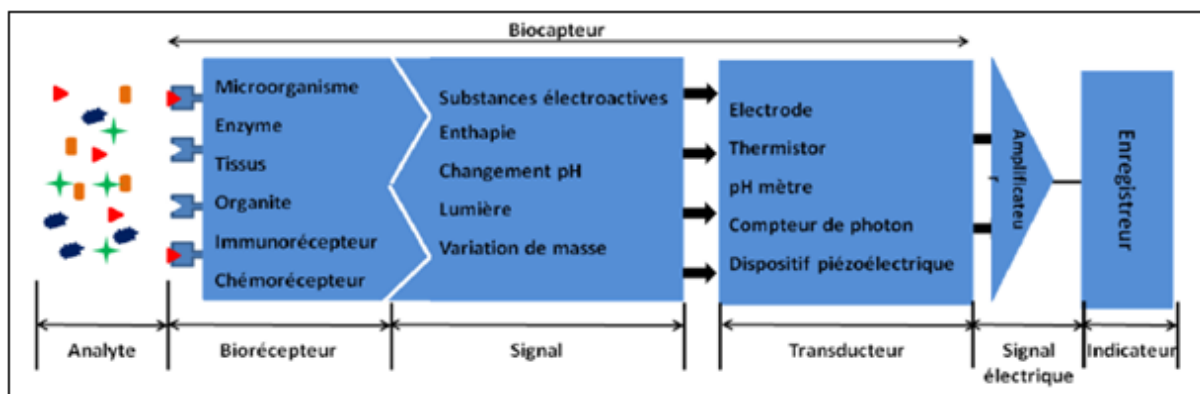


Figure 5. Représentation schématique du principe de fonctionnement d'un biocapteur [98].

Comme l'illustre la figure 5 ci-dessus, ils existent différents types de biorécepteur :

Les enzymes [99] qui sont les plus utilisées et les plus commercialisées. En effet, elles présentent un grand nombre d'avantages notamment la reproductibilité des lots mais par contre il peut y avoir une instabilité de leur fonctionnement et la nécessité d'utiliser un cofacteur ou plusieurs enzymes associées pour un même biocapteur.

Les microorganismes [100] (cellules entières) principalement utilisés en cas de systèmes réactionnels complexes puisque les enzymes et cofacteurs essentiels y sont intrinsèquement présents.

Les tissus et organites [101-102] (structures spécialisées contenues dans les cellules) aussi bien d'origine animale que végétale. Ils sont surtout utilisés pour la détection des aminoacides de par leur robustesse et leur bonne cohésion.

Les immunorécepteurs et les chémorécepteurs [103-104] fonctionnant sur le principe réaction antigène/anticorps qui induit généralement une faible variation de signal (variation de potentiel par exemple). Cette modification est très difficile à détecter, c'est pourquoi il faut amplifier le signal (en utilisant par exemple un marquage de l'antigène ou de l'anticorps) qui catalysera la production d'un composé détectable.

V. 3. Les différents types de Biocapteurs électrochimiques

Depuis Faraday (1791-1867), ont été établies les relations qui régissent les réactions électrochimiques, c'est-à-dire les réactions dans lesquelles interviennent des particules chargées électriquement, généralement des ions et des électrons, dans un milieu dissociant comme l'eau. Un capteur électrochimique est donc, avant tout, un conducteur électrique que l'on implante au sein du milieu à étudier ; il s'établit alors un transfert de charges entre les espèces chargées présentes et le capteur ; la variation résultante d'énergie libre à l'interface est détectée par le capteur, et transmise à la chaîne de mesure sous la forme d'un signal électrique : courant ou tension [105].

Compte tenu de la diversité des types de capteurs électrochimiques actuellement utilisés, il est nécessaire d'en établir un classement sur la base de leur principe de fonctionnement. Ainsi, les capteurs électrochimiques peuvent être répartis en trois groupes principaux.

V. 3. 1. Les capteurs potentiométriques

L'utilisation de ces capteurs repose sur la détermination de la différence de potentiel qui s'établit entre une électrode de mesure associée à une électrode de référence (électrode dont le potentiel est constant et reproductible quel que soit le milieu dans lequel elle est plongée). Cette différence de potentiel est fonction de l'activité de l'ion (ou des ions) présent dans l'électrolyte où le capteur est plongé. Les conditions opératoires sont dites «potentiométrie à courant nul » si l'on n'impose pas de courant dans le circuit de mesure, ce qui est le cas le plus fréquent ; dans le cas contraire, il s'agit de « potentiométrie à courant imposé ».

V. 3. 2. Les capteurs conductimétriques

Pour la mise en œuvre de ces capteurs, on impose une tension ou un courant alternatif à deux électrodes plongeant dans la cellule de mesure ; l'emploi de courant alternatif permet de limiter les erreurs dues à la polarisation qui résulte des réactions aux électrodes. La mesure, soit de l'intensité du courant, la tension étant imposée, soit de la tension, lorsque l'intensité est imposée, permet de déterminer la résistance ou la conductance du milieu étudié.

V. 3. 3. Les capteurs ampérométriques

Le fonctionnement de ces capteurs fait appel au passage d'un courant dans le circuit de mesure ; pour cela, une différence de potentiel est appliquée entre deux électrodes généralement une électrode métallique et une électrode de référence ; la concentration de l'espèce étudiée est proportionnelle à l'intensité du courant qui circule entre les deux électrodes. L'ampérométrie est une technique qui repose sur la détermination de l'intensité du courant qui traverse une cellule électrochimique dans des conditions déterminées : l'intensité de ce courant est fonction notamment de la concentration des corps électroactifs et du potentiel imposé. Dans des conditions précises, il est possible, après étalonnage, de déterminer la concentration de certains corps présents à partir de la mesure de l'intensité.

Dans la plupart des cas, on effectue une oxydation ou une réduction d'une espèce à une électrode indicatrice, la seconde électrode étant en général une électrode de référence. Si on applique à l'électrode indicatrice un potentiel E variable par rapport à l'électrode de référence, et que l'on trace la courbe de polarisation $i = f(E)$, la valeur i du palier limite de diffusion est proportionnelle à la concentration du corps oxydé ou réduit à l'électrode indicatrice [106].

Depuis que Faraday, Galvani et autres ont démontré l'existence de processus électrochimiques dans des systèmes biologiques, la recherche actuelle a pour objectif d'aider à mieux comprendre les réactions les plus importantes de la régulation biologique, étant donné que le transfert électronique se réalise de plusieurs manières dans le domaine biologique [107].

V. 3. 4. Les capteurs enzymatiques ampérométriques

Cette technique combine la spécificité de l'enzyme pour un substrat naturel avec les avantages de la détection sélective ampérométrique.

Dans le cas des capteurs enzymatiques ampérométriques, il est absolument nécessaire que l'enzyme immobilisée consomme ou produise une espèce électroactive au cours de la

réaction enzymatique. L'intensité du courant enregistré est ainsi directement dépendante de la concentration d'un substrat cible qui est consommé dans l'épaisseur de la couche enzymatique. Une nécessité fondamentale pour le développement des électrodes enzymatiques ampérométriques est un transfert électronique effectif entre le centre de réaction catalytique et l'électrode [108, 109].

Les biocapteurs ampérométriques peuvent être classés en trois catégories. La première correspond aux biocapteurs dont l'espèce enzymatiquement générée est directement oxydée ou réduite à l'électrode. Pour les biocapteurs de la seconde catégorie, la détection s'effectue à travers l'oxydation ou la réduction d'un médiateur rédox qui interagit avec l'espèce enzymatiquement générée ou qui régénère la forme active du groupe prosthétique de l'enzyme. Ce principe permet, par exemple, d'abaisser le potentiel de détection du substrat.

Enfin, pour les biocapteurs appartenant à la troisième catégorie, l'enzyme est directement connectée à l'électrode au moyen de composés conducteurs afin de simplifier le transfert électronique (Figure 6).

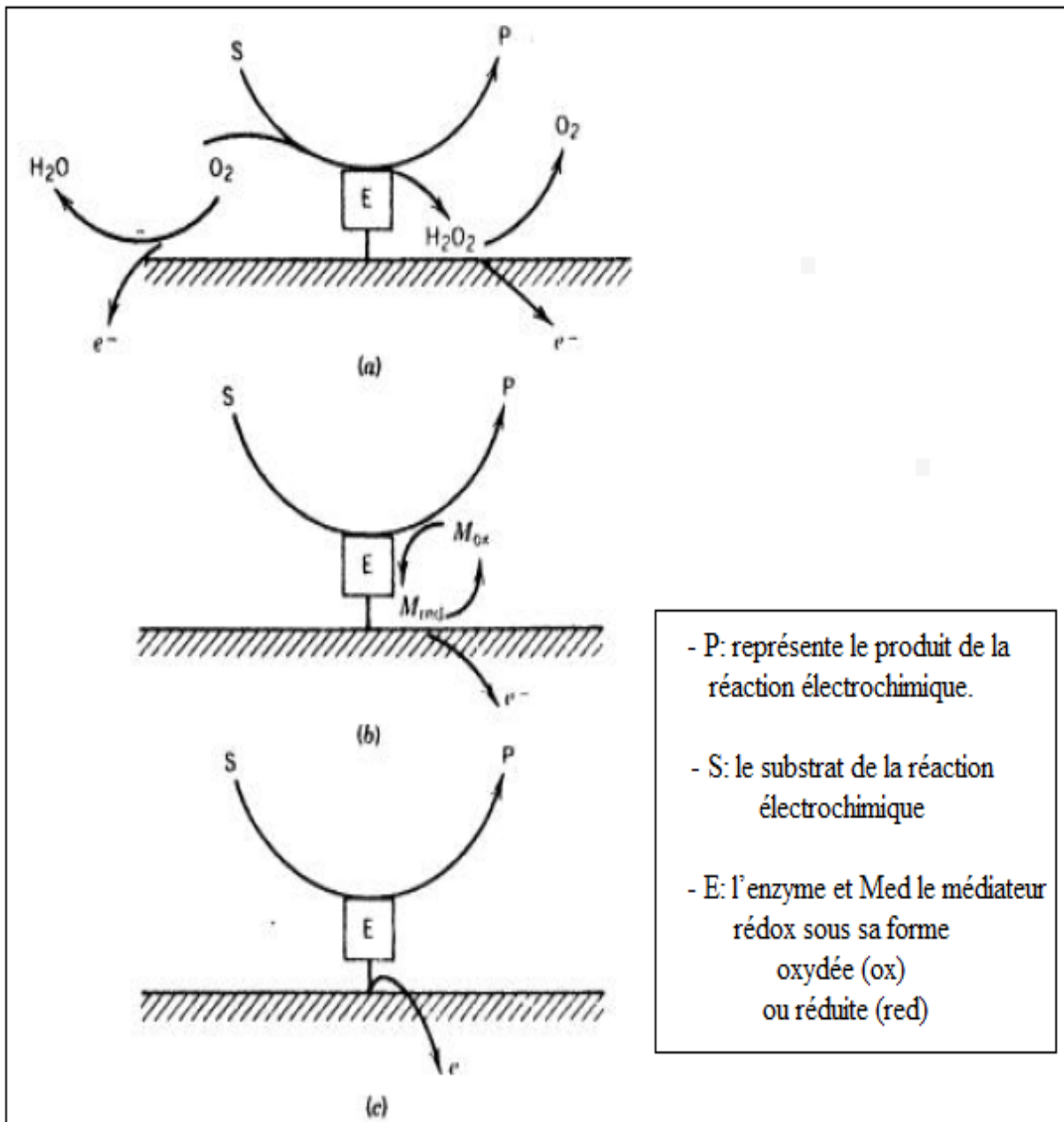


Figure 6. Schéma du principe de fonctionnement des trois types de biocapteurs ampérométriques : (a) première génération, (b) deuxième génération, (c) troisième génération [110].

V. 3. 5. Les différentes méthodes d'immobilisation des enzymes

Les différentes méthodes d'immobilisation, résumées dans la figure 7, reposent sur les interactions possibles entre l'enzyme et l'électrode.

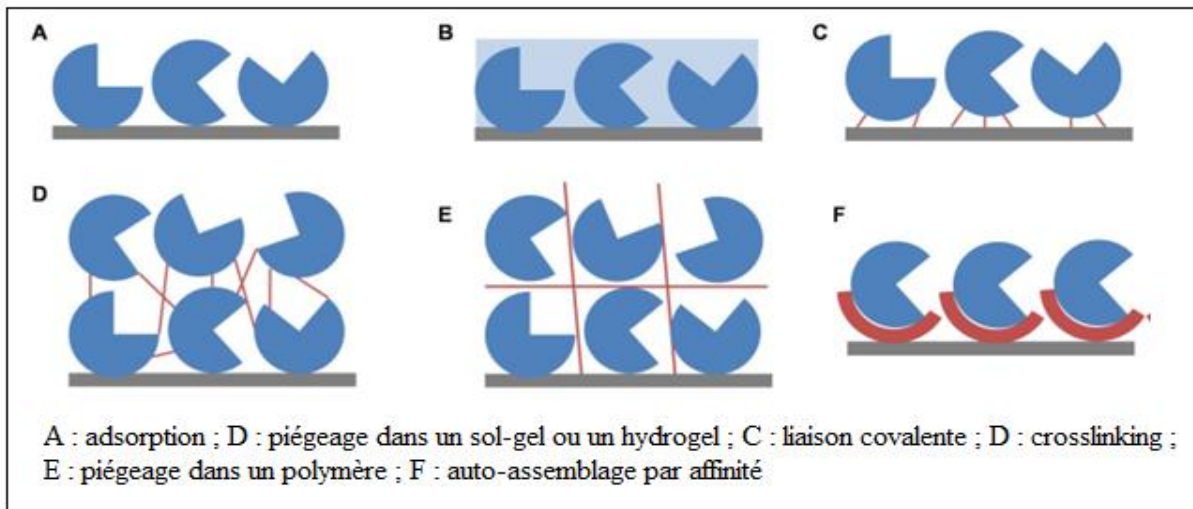


Figure 7. Différentes méthodes d'immobilisation de l'enzyme, représentée par le « camembert » bleu, à l'électrode.

On peut distinguer grossièrement les méthodes physiques et méthodes chimiques. Les premières comptent l'adsorption (physisorption) (Figure 7 A), le piégeage dans un hydrogel ou un solgel (Figure 7 B) et l'encapsulation. La liaison covalente (Figure 7 C), le cross-linking (Figure 7 D), le piégeage dans un polymère par électropolymérisation (Figure 7 E) constituent les principales méthodes chimiques. Plusieurs d'entre elles ont été adoptées pour l'immobilisation d'enzymes sur des électrodes nanostructurées.

- *Adsorption :*

La méthode la plus simple, et a priori la plus douce pour l'enzyme, est l'adsorption (physisorption), qui ne fait intervenir que des interactions faibles (liaisons électrostatiques, hydrophobes-hydrophobes ou de Van der Waals). Elle peut être réalisée sur des matériaux non modifiés [119, 121, 131-132]. Une influence néfaste de l'adsorption sur le matériau nu sur l'activité de certaines enzymes a cependant été montrée [111, 128]. La difficulté à attacher des enzymes sur des surfaces d'or ou de carbone non modifiées est aussi décrite [133]. D'autres approches ont donc été développées, comme l'utilisation de surfactants et de polymères biocompatibles [114, 115, 124, 126-127, 130], ou l'immobilisation après modification de la surface du matériau pour fournir à l'enzyme un environnement plus favorable et éviter la désorption. A titre d'exemples, la horseradish peroxydase est immobilisée sur un composite formé de microfibrilles de carbone et de nanotube de carbone modifiés par le pyrène hexanoïque acide, les carboxylates étant introduits pour augmenter l'hydrophilicité de la surface [137]. La bilirubine oxydase peut aussi être immobilisée sur des

nanotubes de carbone monoparoi modifiés par divers dérivés du pyrène [138], la liaison du pyrène sur les nanotubes de carbone monoparoi étant vérifiée par spectroscopie Raman avant adsorption de l'enzyme.

L'adsorption de l'enzyme peut être réalisée soit en incubant des nanoparticules dans la solution enzymatique avant dépôt sur électrode [111, 129], ou par incubation de l'électrode modifiée dans la solution enzymatique [114, 115, 121, 132], ou encore par dépôt d'une goutte de la solution d'enzyme sur l'électrode modifiée [120, 129, 134].

- ***Encapsulation (polymères, sol-gels) :***

Des polymères tels que le Nafion® [118], l'Eastman AQTM [139] ou la cellulose permettent de former des membranes qui assurent un confinement étroit de l'enzyme à l'électrode. Bien que souvent utilisés en bioélectrochimie, ces polymères non conducteurs présentent des inconvénients non négligeables. Selon la charge de surface des enzymes, le Nafion® et l'Eastman AQTM, eux-mêmes chargés, peuvent n'être pas compatibles. Dans le cas du Nafion®, la taille des mailles du polymère n'est le plus souvent pas adaptée aux enzymes. Elle peut cependant être ajustée grâce à l'addition d'ions présentant une forte affinité avec les fonctions sulfonates, comme les bromures d'ammonium quaternaires. Cette modification a permis l'immobilisation fonctionnelle de plusieurs enzymes déshydrogénases (alcool, aldéhyde, glucose déshydrogénases) dans des membranes à base de Nafion® [140].

L'enzyme peut également être encapsulée dans des matrices inorganiques telles que les solgels de silice, ou dans des matrices polymères obtenues par électropolymérisation. Le transfert d'électrons direct est alors plus difficilement obtenu, mais peut être amélioré grâce au piégeage simultané de nanoparticules conductrices dans la matrice organique [125]. Le sol gel de silice peut ainsi être formé après adsorption de l'enzyme sur des nanotubes de carbone monoparoi disposés aléatoirement [138] ou sur des forêts de nanotubes alignés verticalement [141].

- ***Liaison covalente :***

Il est aussi possible de lier covalamment l'enzyme à l'électrode. Cette méthode nécessite la fonctionnalisation préalable de la surface des nanomatériaux pour créer les fonctions chimiques nécessaires à la réaction, ou la modification de l'enzyme par ingénierie moléculaire [142-143]. Les méthodes de fonctionnalisation des surfaces utilisées sont essentiellement la liaison de pyrènes par interactions π - π [113, 116], le traitement acide, l'incubation dans des

solutions de thiols pour créer des monocouches autoassemblées [131-132, 133], la réduction de sels de diazonium [122, 134].

Toutes ces méthodes sont suivies par une étape de liaison covalente qui fait la plupart du temps intervenir un cross-linker pour promouvoir la liaison entre un groupe réactif de l'enzyme et les fonctions chimiques portées par l'électrode modifiée. Différentes liaisons covalentes peuvent être formées, suivant les fonctions mises en jeu à la surface de l'enzyme et de l'électrode. Par exemple l'activation de fonctions carboxyliques par un carbodiimide permet la formation de liaisons amides avec des amines ; l'oxydation des parties glycosylées fournit des groupements carbonyles qui peuvent former des liaisons imines avec les amines.

Quelques exemples faisant appel à des modifications de matériaux carbonés méritent d'être mentionnés. La liaison covalente d'une enzyme à un matériau carboné modifié par un dérivé du pyrène est ainsi introduite en 2008 par Göbel et. al [135]. Des nanotubes de carbone multiparois sont modifiés par π -stacking de différents composés aromatiques portant des groupements carboxyliques, en particulier la pyrroloquinoline quinone. L'enzyme, une bilirubine oxydase, est alors liée covalamment aux composés aromatiques portés par les nanotubes de carbone. En utilisant également la modification de nanotube de carbone par π -stacking de composés aromatiques, quelques études sont réalisées par la suite avec d'autres enzymes : la Bilirubine oxydase de *M. verrucaria* [113, 144], la laccase de *T. verrucaria* [144] ou l'hydrogénase Hyd-1 d'*E. coli* [113].

La réduction de sels de diazonium permet de greffer une grande diversité des fonctions sur l'électrode, et donc d'adapter la modification de surface à l'enzyme que l'on désire lier. Cette méthode a ainsi été utilisée pour générer des fonctions permettant l'accroche covalente de diverses enzymes. On peut citer, sans être exhaustif, des glucoses oxydases [145-146], des laccases [147], des hydrogénases à [NiFe] ou à [FeFe] [123, 148-149], une horseradish peroxydase [150], une cellobiose déhydrogénase [120].

- ***Affinité : Interaction hôte-invité :***

Quand la structure tridimensionnelle de l'enzyme est connue et le permet, la modification de la chimie de surface peut avoir pour cible une interaction spéciale avec une région de l'enzyme. Un tel procédé tire ainsi parti de la poche hydrophobe entourant le cuivre T1 des laccases : un groupement polyaromatique hydrophobe peut en effet interagir avec cette cavité en imitant les interactions « hôte-invité » [136,151-152]. La grande affinité entre l'enzyme et

l'électrode qui en résulte entraîne une amélioration de la réduction bioélectrocatalytique de l'O₂ par la laccase connectée en transfert d'électrons direct, et la stabilisation du système même sans liaison covalente.

Ces groupements peuvent être introduits grâce à la liaison π - π sur des nanotubes de carbone monoparoi hydroxylés de dérivés du pyrène portant un groupement anthracène [153], ou la fonction 1-(2-anthraquinonylaminométhyle), ou encore 1-[bis (2 anthraquinonyl) aminométhyle] [154]. Les fonctions nécessaires peuvent être également introduites par réduction des sels de diazoniums correspondants [136, 151, 155]. Les composés qui se révèlent les plus efficaces sont l'anthracène-2-diazonium [136] et le chrysène-2-diazonium [151].

VI. Les biopiles

VI. 1. Introduction et historique

Le réchauffement climatique, le coût toujours plus élevé des sources traditionnelles d'énergie et bien d'autres facteurs poussent à l'essor des énergies renouvelables. Elles sont définies comme un ensemble de filières diversifiées dont la mise en œuvre n'aboutit pas à l'épuisement de la ressource originelle et est renouvelable à l'échelle de l'homme. Ces énergies renouvelables sont multiples et diverses par leur origine physique, chimique ou biologique, comme par exemple le solaire, l'éolien, l'hydraulique, la géothermie ou les biocarburants.

Une des voies étudiées est le développement de dispositifs électrochimiques que l'on peut subdiviser en deux catégories : les cellules photovoltaïques et les piles à combustible. Les piles à combustible se présentent comme une alternative crédible à plus ou moins long terme aux systèmes utilisant les énergies fossiles. Aujourd'hui, on distingue cinq types principaux de piles à combustible : les piles à combustible alcalines (AFC), les piles à membrane échangeuse de protons (PEMFC), les piles à acide phosphorique (PAFC), les piles à "carbonate fondu" (MCFC) et les piles à oxyde solide (SOFC) (Tableau 1).

Tableau 1. Principaux type de pile à combustible [156].

Type de piles à combustible	Porteur de charge	Température de fonctionnement (°C)	Combustible	Puissance
AFC	OH^-	50-200	H_2	5kW
PEMFC	H^+	50-100	H_2	5-250 kW
PAFC	H^+	~220	H_2	200kW
MCFC	CO_3^{2-}	~650	H_2 -CO- CH_4 autres hydrocarbures	200kW-MW
SOFC	O^{2-}	500-1000	H_2 -CO- CH_4 autres hydrocarbures	2kW-MW

Dans la suite de ce travail, nous nous intéresserons à une autre classe de piles : les biopiles à combustible et plus particulièrement aux biopiles enzymatiques. Le premier à avoir fait le lien entre la biologie et l'électricité fut Galvani [157] à la fin du XVIII^e siècle, quand il observa que sous l'effet du courant d'un générateur d'électricité statique une patte de grenouille se contracta. Le concept de pile à combustible est connu quant à lui depuis 1831, lorsque Grove inversa avec succès l'action de l'électrolyse de l'eau, la réaction de l'hydrogène pour générer un courant électrique. Cependant, la première demi-pile, utilisant des micro-organismes, ne fut réellement mise au point qu'en 1910 lorsque M.C. Potter [158], professeur de Botanique à l'Université de Durham, a observé la production d'électricité par la bactérie *E. coli*. Puis en 1931, Cohen exploita ces résultats en mettant plusieurs biopiles en série obtenant un système ayant une tension de 35V [159]. Le véritable essor des piles à combustible a eu lieu véritablement à partir des années 1960 sous l'impulsion des besoins du programme spatial des Etats-Unis. En effet, la possibilité d'éliminer les déchets organiques tout en produisant de l'énergie présentait un intérêt indéniable pour les missions spatiales. Finalement en 1963, les premières piles à combustible biologique furent commercialisées [160] mais avec un succès très limité qui ne permit pas leur développement du fait du faible coût des énergies fossiles à cette époque.

Les biopiles à combustible ont été définies comme des dispositifs biologiques capables de transformer directement l'énergie chimique en énergie électrique par des réactions électrochimiques impliquant des voies biochimiques. Dans ces systèmes, les réactions chimiques mises en œuvre sont inspirées et analogues à celles que l'on peut observer dans le monde du vivant et nécessitent des éléments biologiques (enzymes, bactéries, etc.). Les biopiles enzymatiques utilisent exclusivement les enzymes comme catalyseurs (Figure 8).

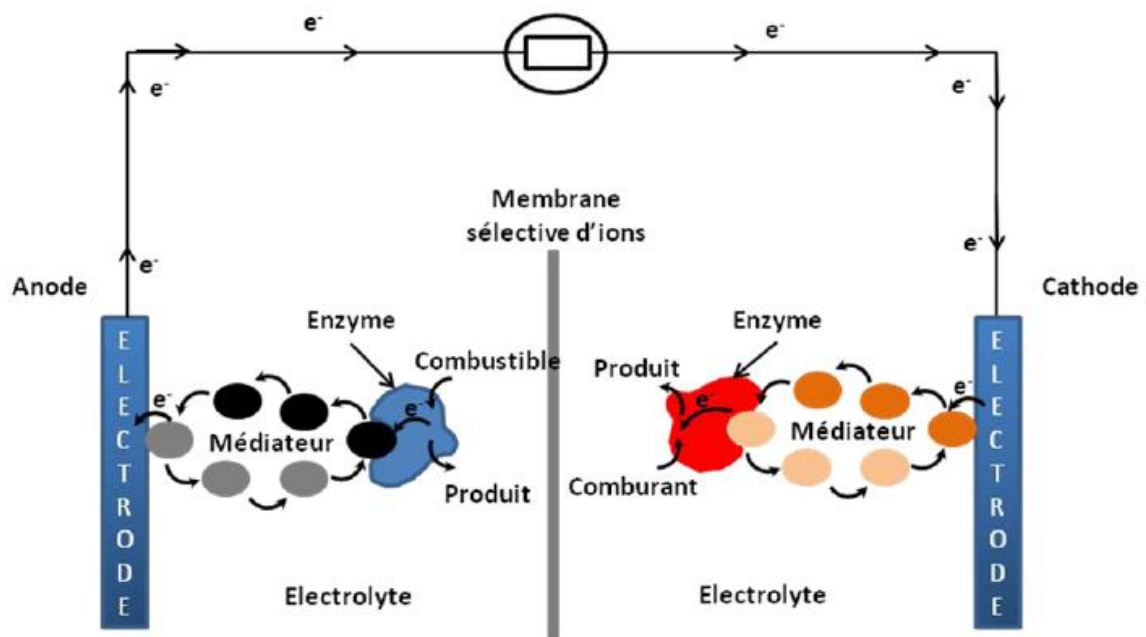


Figure 8. Schéma de principe d'une biopile à combustible.

Cette technologie a connu un essor important spécialement du fait de sa similitude avec la technologie des biocapteurs ampérométriques. Le système est composé de deux électrodes, sièges des réactions d'oxydoréduction, entre lesquelles se fait le transfert d'électrons. Ces réactions se font en présence de différentes enzymes afin de les catalyser. A l'anode, la réaction d'oxydation est catalysée généralement par une oxydoréductase (la glucose oxydase ou encore le glucose déshydrogénase par exemple), c'est le centre de production des électrons. Ceux-ci sont transportés jusqu'à la cathode, centre de la réduction toujours sous l'effet catalytique d'une oxydoréductase (la laccase, la bilirubine oxydase, la ceruloplasmine ou encore le cytochrome oxydase par exemple).

Tout comme pour les biocapteurs ampérométriques, des médiateurs (Figure 9) peuvent être utilisés afin de faciliter le transfert des électrons entre le site actif de l'enzyme et l'électrode ce qui améliore les performances de la biopile.

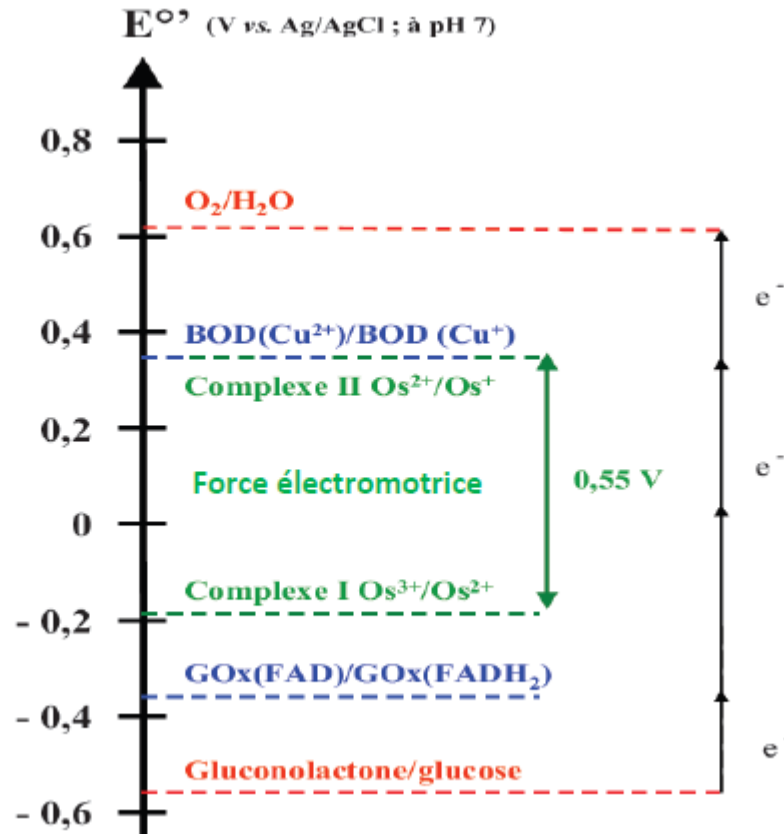


Figure 9. Echelle des potentiels standards des couples rédox mis en jeu dans une biopile glucose/O₂ [161].

La sélection du médiateur est importante. D'une part, le médiateur est spécifique de l'enzyme, et d'autre part il est un des acteurs indispensables au bon fonctionnement d'une pile. Si le transfert des électrons est difficile, alors l'efficacité de la pile est grandement réduite. Par exemple, pour transporter les électrons du glucose oxydase à l'électrode, il existe de nombreuses possibilités, comme l'utilisation des couples rédox benzoquinone/hydroquinone (Q/QH₂), ferrocénium/ferrocène (Fc⁺/Fc), ferro/ferricyanure (Fe(CN)₆³⁻/Fe(CN)₆⁴⁻) ou encore des complexe d'osmium.

Ce type de biopile présente une grande sélectivité de par les propriétés des enzymes.

Cependant, elles présentent des performances assez faibles (en termes de densité de puissance, stabilité opérationnelle et durée de vie) en comparaison des piles à combustible à catalyseur métallique. C'est pourquoi leurs applications sont plutôt pour des dispositifs implantables ou bien pour des sources d'énergie portable. Néanmoins, elles présentent plusieurs avantages. Les enzymes sont des catalyseurs à faible coût en comparaison des catalyseurs à base de métaux nobles. De plus leur grande sélectivité permet de s'affranchir de tout processus de purification, souvent coûteux. Contrairement aux piles à combustible classiques, elles peuvent fonctionner dans des conditions douces (20-40° C, pH physiologique) et permettent l'utilisation de combustibles non toxiques et biocompatibles en adéquation avec les priorités écologiques du moment. Un regain d'intérêt est donc apparu depuis une dizaine d'année notamment du fait de l'amélioration du transfert des électrons vers l'électrode (Figure 10).

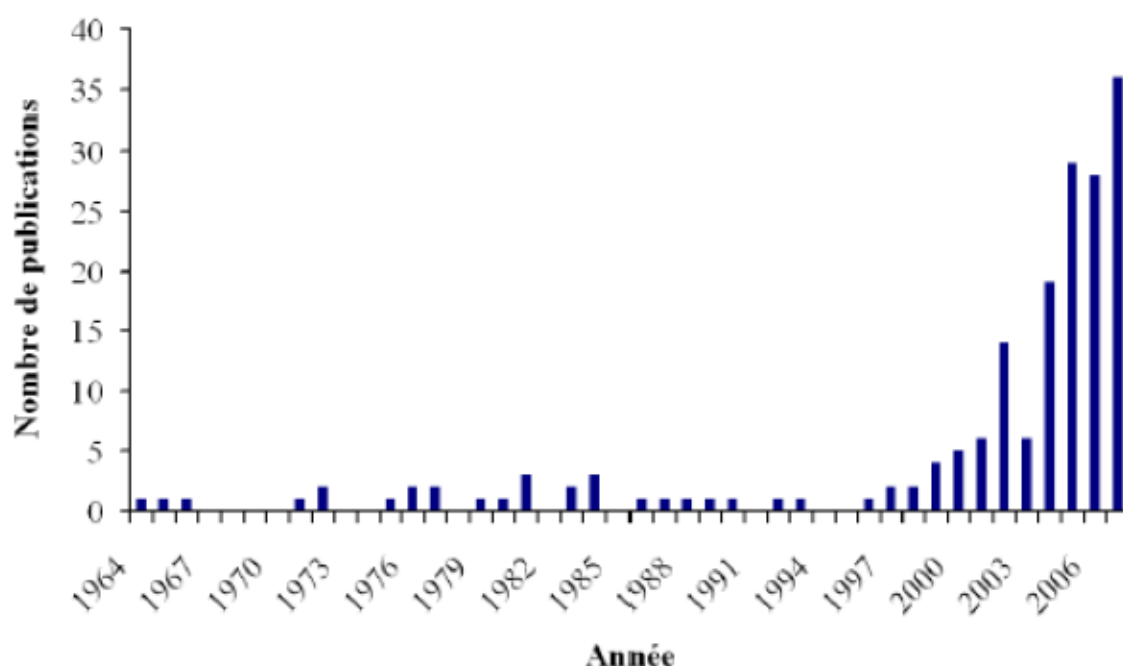


Figure 10. Nombre de publications par année depuis la première publication sur le thème «biopile enzymatique» [162].

VI. 2. Principales caractéristiques de performance

La puissance enregistrée à la sortie de la pile à combustible, P_{cell} , est le paramètre majeur permettant de caractériser la pile et ceci quel que soit le type de pile considéré [163].

$$P_{cell} = E_{cell} \int I dt \quad (1)$$

$$\text{Avec: } E_{cell} = E_C - E_A - \Sigma I R_e \quad (2)$$

Donc pour un courant constant, on a $P_{cell} = E_{cell} I$.

E_C = potentiel expérimental à la cathode au courant I

E_A = potentiel expérimental à l'anode au courant I

R_e = résistance ohmique du système

D'après l'équation (2), afin d'obtenir une biopile avec les meilleures performances possibles, deux paramètres entrent en jeu. En effet, il est important d'avoir une différence de potentiel ($E_C - E_A$) la plus grande possible tout en minimisant au maximum les pertes par résistance ohmique. Pour ce dernier point, deux possibilités s'offrent à nous :

- Diminuer la chute ohmique entre les électrodes grâce à un design de la pile approprié.
- Travailler à une densité de courant faible.

Au vu des applications envisagées pour les biopiles enzymatiques, d'autres paramètres sont à prendre en compte :

La densité surfacique de puissance, $\frac{P_{cell}}{A_e}$ avec A_e la surface de l'électrode

La densité volumique de puissance, $\frac{P_{cell}}{V_e}$ avec V_e le volume du système

La densité massique de puissance, $\frac{P_{cell}}{M}$ avec M la masse du système

Références

- [1] Y. Yi, Z. Yang, S. Zhang, *Environmental Pollution* 159 (2011) 2575-2585.
- [2] S-R. Lim, Julie M. Schoenung, *Journal of Hazardous Materials* 177 (2010) 251–259.
- [3] M. Stewart, N. R. Phillips, G.Olsen, C. W. Hickey, G.Tipa, *Science of the Total Environment* 409 (2011) 2029–2039.
- [4] J. Burger, *Science of the totale environment* 389 (2008)37–45.
- [5] R. Pamphlett, S. Kum-Jew, *Neurotoxicology and Teratology* 23 (2001) 191-196.
- [6] C. Baird, *Environmental Chemistry*, W.H. Freeman and company, New York, (1995).
- [7] S.E. Manahan, *Environmental Chemistry*, 6^{ème} édition, Lewis Publishers, (1994).
- [8] J.S. Meyer, *Marine Environ. Res.*, 53 (2002) 423.
- [9] N. Ghosh, *Biomed Environ. Sci.*, 5(3) (1992) 236.
- [10] D. Purves, *Fundamental Aspects of pollution Control and Environmental Science*, 1, ed. Wakeman, Elsevier.
- [11] *Evaluation mondiale de mercure, programme des nations unies pour l'environnement, substances chimiques*
- [12] E. Ada, H. Mussalo-Rauhamaab, M. Kantolac, F. Atroshid, T.Westermarcke, *TheScience of the Total Environment* 186 (1996) 251-256.
- [13] J. Schreurs, E. Barendrecht, *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas*, 103 (1984) 205.
- [14] L.R. Faulkner, *Chem. Engen. News*, 29 (1984).
- [15] R.J. Waltman, J. Bargon, *Can. J. Chem.*, 64 (1986) 76.
- [16] H.D. Abruna, *Coord. Chem. Rev.*, 86 (1988) 135.
- [17] A.F. Diaz, K.K. Knazawa, G.P. Gardini, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 635 (1975).
- [18] A. El Mhammedi, A. Chtaini, A. El Bouadili, *Bull. Electrochem.*, 20 (12) (2004) 533-537.
- [19] M.A. El Mhammedi, M. Bakasse, A. Chtaini, *Leonardo Electronic Journal of Practices and Technologies*, 10 (2007) 1-12
- [20] M.A. El Mhammedi, M. Bakasse, A. Chtaini, *J. Hazard. Mater.*, 145 (2007) 1–7.
- [21] J.L. Anderson, L.A. Coury, Jr. et J. Leddy, *Anal. Chem.*, 70 (1998) 519-89.
- [22] R.F. Lane, A.T. Hubbard, *J. Phys. Chem.*, 77(1973) 1401-10.
- [23] H.O. Finklea, *Electroanal. Chem.*, 19(1996) 109-335.
- [24] A.J. Downard, *Electroanalysis*, 12(2000) 1085-96.
- [25] R.W. Murray, *Electroanal. Chem.*, 13 (1984) 191-386.

- [26] M. Kaneko, D. Woehrle, *Adv. Polym. Sci.*, 84 (1998) 141-228.
- [27] J. Schreurs, Thesis, Eindhoven University of Technology, 1983.
- [28] R.F. Lane, A.T. Hubbard, *J. Phys. Chem.*, 77 (1973) 1401.
- [29] J.M. Pinilla, L. Hernandez, A.J. Conesa, *Anal Chim. Acta*, 319 (1996) 25.
- [30] Yull. D'yachenko, V.V. Kondrat'ev, Z.H. *Anal. Khim.*, 53 (1998) 401.
- [31] Y. Bonfil, M. Brand, E. Kirowa-Eisner, *Anal. Chim. Acta*, 387 (1999) 85.
- [32] M. Kopanica, L. Novotny, *Anal. Chim. Acta*, 368 (1998) 211.
- [33] A. Dall'Olio, G. Dascola, V. Varacca, V. Bocchi, *C.R. Acad. Sci. Paris*, 267 (1968) 433.
- [34] G. Touillon, F. Garnier, *J. Electroanal. Chem.*, 135 (1982) 173.
- [35] a- A. Desbene-Monvernay, P.C. Lacaze, J.E. Dubois, *J. electroanal. Chem.*, 129 (1981) 229.
- b- A. Desbene-Monvernay, J.E Dubois, P.C Lacaze, *J. Electroanal. Chem.*, 189 (1985) 51.
- [36] J. Rault-Berthelot, J. Simonet, *N. J. de chimie*, 10 (1986)169.
- [37] H.D. Abruna, P. Denisevich, M. Umana, T.J. Meyer, R.W. Murray, *J. Am. Chem. Soc.*, 103 (1981) 1.
- [38] J.M. Galvert, R.H. Schmehl, B.P. Sullivan, J.S. Facci, T.J. Meyer, R.W. Murray, *Inorg. Chem.*, 22(1983) 2151.
- [39] G.E. Jeffrey, H.S. Munro, D. Parker, *Inorg. Chem.*, 26 (1987) 644.
- [40] S. Cosnier, A. Deronzier, J.C. Moutet, *Inorg. Chem.*, 27 (1988) 2390.
- [41] K.A. Macor, T.G. Spiro, *J. Am. Chem. Soc.*, 105(1983) 5601.
- [42] A. Bettelheim, B.A. White, S.A. Raybuck, R.W. Murray, *Inorg. Chem.*, 26 (1987) 1009.
- [43] R.G. Nuzzo, D.L. Allara, *J. Am. Chem. Soc.*, 105 (1983) 4481-3.
- [44] D.M.T. O'Riordan, G.G. Wallace, *Anal. Chem.*, 58 (1986) 131.
- [45] M.A. Rahman, M.-S. Won, Y.-B. Shim, *Anal. Chem*, 75 (2003) 1129.
- [46] M.A. Rahman, D.S. Park, M.-S. Won, S.-M. Park, Y.-B. Shim, *Electroanalysis*, 16 (2004) 1370.
- [47] E. Theodoridou, A. D. Jannakoudakis and D. Jannakoudakis, *Synth. Met.*, 9 (1984) 19
- [48] A. D. Jannakoudakis, E. Thcodoridou, D. Jannakoudakis, *Synth. Met.*, 10 (1985) 131.
- [49] E. Theodoridou, A. D. Jannakoudakis, J. O. Besenhard and R. F. Sauter, *Synth. Met.*, 14 (1986) 125.
- [50] E.A. Vitchiniskaia, L.L. Zeigman, S.G. Morton, *Electroanalysis*, 7 (1995) 264.
- [51] A.M. Vasil'ev, Z.A. Temerdashev, T.G. Tsyupko, *Zh Anal. Khim*, 54 (1999) 728.
- [52] H. Huang, P.K Dasgupta, *Anal. Chim. Acta*, 380 (1999) 27.

- [53] I. Svancara, M. Pravda, M. Hvizdalova, K. Vytras, K. Kalcher and *Electroanalysis*, 6 (1994) 663.
- [54] Ch. Comninellis, G.P. Vercesi, *J. Appl. Electrochem.*, 21 (1991) 335.
- [55] R. Kotz, S. Stucki, B.J. Carcer, *J. Appl. Electrochem.*, 21 (1991) 14-99.
- [56] N.J. Bunce, S.G. Merica, J. Lipkowski, *Chemosphere*, 35 (1997) 2719.
- [57] Y.J. Feng, X.Y. Li, *Water Res*, 37 (2003) 2399.
- [58] M. Panizza, P.-A. Michaud, G. Cerisola, Ch. Comninellis, *J. Electroanal. Chem.*, 507 (2001) 206.
- [59] M. Panizza, P.-A. Michaud, G. Cerisola, Ch. Comninellis, *Electrochem. Commun.*, 3 (2001) 336.
- [60] P. Canizares, J. Garcí'a-Gomez, C. Saez, M.A. Rodrigo, *J. Appl. Electrochem.*, 33 (2003) 917.
- [61] L. Codognoto, S.A.S. Machado, L.A. Avaca, *J. Appl. Electrochem.*, 33 (2003) 951.
- [62] Ch. Comninellis, C. Pulgarin, *J. Appl. Electrochem.*, 23 (1993) 108.
- [63] S. Stucki, R. Kotz, B.J. Carcer, W. Suter, *J. Appl. Electrochem.*, 21 (1991) 99.
- [64] A.M. Polcaro, S. Palmas, S. Dernini, *Curr. Top. Electrochem.*, 4 (1997) 137.
- [65] J. Iniesta, J. Gonza´lez-Garcí'a, E. Expo´sito, V. Montiel, A. Aldaz, *Water Res*, 35 (2001) 3291.
- [66] B. Idbelkas, D. Takky, *Ann. Chim. Sci. Mater.*, 26 (2001) 33.
- [67] R.N. Adams, *Anal. Chem.*, 0 (1958) 1576.
- [68] K. Ravichandran, R.P. Baldwin, *Anal. Chem.*, 55 (1983) 1586-91.
- [69] T. Kuwana, W.G. French, *Anal. Chem.*, 36 (1964) 241-2.
- [70] R.C. Bower, R.W. Murray, *Anal. Chem.*, 38 (1966) 461.
- [71] G.L. Lundquist, G. Washinger, J.A. Cox, *Anal. Chem.*, 47(1975) 319.
- [72] M.A. Ruizbarrio, J.M. Pingarron Carrazon, *J. Anal. Chem.*, 344 (1992) 34.
- [73] A.R. Paniagva, M.D. Vazquez, M.L. Tascon, P.S. Batanero, *Electroanalysis*, 5 (1993) 155.
- [74] T. Kuwana, W.G. French, *Anal. Chem.*, 36 (1964) 241.
- [75] F.A. Schult, T. Kuwana, *J. Electroanal. Chem.*, 10 (1995) 95.
- [76] R.P. Baldwin, L. Kryger, *Anal. Chem.*, 58 (1986) 1790.
- [77] J. Wang, T. Martinez, *Electroanalysis*, 2 (1990) 419.
- [78] J. Linqvist, *Anal. Chem.*, 45 (1973) 1006.
- [79] K. Kalcher, *Electroanalysis*, 2 (1990) 419.
- [80] B.F. Walknis, J.R. Sehling, E. Kariv, L.L. Miller, *J. Amer. Chem. Soc.*, 97 (1975) 3549.

- [81] T. Yao, S. Musha, *Anal. Chim. Acta*, 110 (1979) 203.
- [82] C. Lamy, J.-M. Léger, *J. Chim. Phys.*, 88 (1991) 1649.
- [83] E. Morallon, F. Cases, J.L. Vasanez, A. Aldaz, ISE 42nd Meeting, Montreux-Switzerland, p. 70-81.
- [84] Z. Liu, L. Hong, M.P. Tham, T.H. Lim, H. Jiang, *J. Power Sources*, 161 (2006) 831-835.
- [85] L. Xuguang, I.-M. Hsing, *Electrochim., Acta*, 51 (2006) 3477–3483.
- [86] M. A. El Mhammedi, M. Achak, M. Bakasse, A. Chtaini, *Appl. Surf. Sci.*, 253 (2007) 5925.
- [87] D. L. CARROLL, T. H.KEMP, T. J.BASTOW, M. E.SMITH. *Solid State Nuclear Magnetic Resonance*, 28 (2005) 31-43.
- [88] D. Voët, J. Voët, *Biochimie*, 2 édition. Édité Par De Boeck et Larcier, ISBN 978-2-8041-4795-2. Ième, 2005.
- [89] Roy et col. *Nano Lett.*, Direct Electrical Measurements on Single-Molecule Genomic DNA Using Single-Walled Carbon Nanotubes, 2008, 8, 26–30
- [90] CJ Murphy, MR Arkin, Y Jenkins, ND Ghatlia, SH Bossmann, NJ Turro, and JK Barton, Long-range photoinduced electron transfer through a DNA helix; *Science*, 262, 5136, 1025-1029.
- [91] John Wiley and Sons Ed, *Metal Complex - DNA Interactions*, March 2009.
- [92] Yi-Gui Gao, M.Sriram and Andrew H.-J.Wang, *Crystallographic studies of metal ion - DNA interactions: cobalt, copper and barium Nucleic Acids Research*, 1993, 21, 17, 4093 - 4101.
- [93] D. R. Crapper, S. Quittkat, S. S. Krishnan, A. J. Dalton, U. De Boni, Intranuclear aluminum content in Alzheimer's disease, dialysis encephalopathy, and experimental aluminum encephalopathy, *Acta Neuropathologica*, 50, 1, janvier 1980.
- [94] L. C. Clark, Monitoring and control of blood and tissue O₂ tensions. *Trans. Am. Soc. Artif. Intern. Organs*, 2 (1956), 41.
- [95] L.C. Jr. Clark; C. Lyons, Electrode systems for continuous monitoring in cardiovascular surgery, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 102, (196) 229-45.
- [96] S.J. Updike, G.P. Hicks, The enzyme electrode, *Nature*, 214, (1967) 986-988.
- [97] PAC, 1992, 64, 143 (Glossary for chemists of terms used in biotechnology (IUPAC Recommendations 1992)) page 148.
- [98] C. Tran-Minh (1991). *Les biocapteurs. Principes, construction et applications* Masson Paris

- [99] M. Delvaux and S. Demoustier-Champagne, Immobilisation of glucose oxidase within metallic nanotubes arrays for application to enzyme biosensors. *Biosensors and Bioelectronics* 18, (2003) 943-951.
- [100] J. J. Pancrazio, J. P. Whelan, D. A. Borkholder, W. Ma and D. A. Stenger, Development and Application of Cell-Based Biosensors. *Annals of Biomedical Engineering* 27, (1999) 697-711.
- [101] B. R. Eggins, C. Hickey, S. A. Toft and D. M. Zhou, Determination of flavanols in beers with tissue biosensors. *Analytica Chimica Acta* 347, (1997) 281-288.
- [102] R. Rizzuto, P. Pinton, M. Brini, A. Chiesa, L. Filippin and T. Pozzan, Mitochondria as biosensors of calcium microdomains. *Cell Calcium* 26, (1999) 193-200.
- [103] P. Blinder, Immunocapteurs et biocapteurs non enzymatiques: principes et applications possibles en analyse. *Immuno-analyse & Biologie Spécialisée* 5 (1990) 23-33.
- [104] R. M. Buch and G. A. Rechnitz, , Intact chemoreceptor-based biosensors: responses and analytical limits. *Biosensors* 4, (1989) 215-230.
- [105] Borman, S. (1987). "Biosensors: potentiometric and amperometric." *Anal. Chem.* 59(18): 1091A-1098A.
- [106] Frew, J. E. and H. A. O. Hill (1987). "Electrochemical biosensors." *Anal. Chem.* 59(15): 933A-944A.
- [107] Brett, A. M. O. (1993). *Electrochemical Biosensors. Uses of immobilized biological compounds.* M. M. G.G. Guilbault, Kluwer Academics: 201-210.
- [108] Coche-Guerente, L., S. Cosnier, et al. (1993). "Controlled electrochemical preparation of enzymatic layers for the design of amperometric biosensors." *Electroanalysis* 5: 647-652.
- [109] Schuhmann, W. (1995). "Conducting polymer based amperometric enzyme electrodes." *Mikrochimica Acta* 121: 1-29.
- [110] Kauffmann, J. M. and G. G. Guilbault (1992). *Enzyme electrode biosensors: Theory and applications.* Bioanalytical Applications of Enzymes/Methods of Biochemical Analysis Series, John Wiley and Sons, Inc. 36: 63-113.
- [111] W. Wei, P.P. Li, Y. Li, X.D. Cao, S.Q. Liu, Nitrogen-doped carbon nanotubes enhanced laccase enzymatic reactivity towards oxygen reduction and its application in biofuel cell, *Electrochem. Commun.*, 22 (2012) 181-184.
- [112] W. Zheng, H.Y. Zhao, J.X. Zhang, H.M. Zhou, X.X. Xu, Y.F. Zheng, Y.B. Wang, Y. Cheng, B.Z. Jang, A glucose/O₂ biofuel cell base on nanographene platelet-modified electrodes, *Electrochem. Commun.* 12 (2010) 869-871.

- [113] S. Krishnan, F.A. Armstrong, Order-of-magnitude enhancement of an enzymatic hydrogen-air fuel cell based on pyrenyl carbon nanostructures, *Chemical Science*, 3 (2012) 1015-1023.
- [114] J. Filip, J. Sefcovicova, P. Gemeiner, J. Tkac, Electrochemistry of bilirubin oxidase and its use in preparation of a low cost enzymatic biofuel cell based on a renewable composite binder chitosan, *Electrochim. Acta*, 87 (2013) 366-374.
- [115] Y. Kamitaka, S. Tsujimura, N. Setoyama, T. Kajino, K. Kano, Fructose/dioxygen biofuel cell based on direct electron transfer-type bioelectrocatalysis, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 9 (2007) 1793-1801.
- [116] L. Halamkova, J. Halamek, V. Bocharova, A. Szczupak, L. Alfonta, E. Katz, Implanted Biofuel Cell Operating in a Living Snail, *J. Am. Chem. Soc.*, 134 (2012) 5040-5043.
- [117] A. Zebda, C. Gondran, A. Le Goff, M. Holzinger, P. Cinquin, S. Cosnier, Mediatorless highpower glucose biofuel cells based on compressed carbon nanotube-enzyme electrodes, *Nature Communications*, 2 (2011) 6.
- [118] K.Q. Wang, H. Yang, L. Zhu, J.H. Liao, T.H. Lu, W. Xing, S.Y. Xing, Q. Lv, Direct electrochemistry and electrocatalysis of glucose oxidase immobilized on glassy carbon electrode modified by Nafion and ordered mesoporous silica-SBA-15, *Journal of Molecular Catalysis BEnzymatic*, 58 (2009) 194-198.
- [119] T. Kihara, X.Y. Liu, C. Nakamura, K.M. Park, S.W. Han, D.J. Qian, K. Kawasaki, N.A. Zorin, S. Yasuda, K. Hata, T. Wakayama, J. Miyake, Direct electron transfer to hydrogenase for catalytic hydrogen production using a single-walled carbon nanotube forest, *International Journal of Hydrogen Energy*, 36 (2011) 7523-7529.
- [120] F. Tasca, W. Harreither, R. Ludwig, J.J. Gooding, L. Gorton, Cellobiose Dehydrogenase Aryl Diazoniunn Modified Single Walled Carbon Nanotubes: Enhanced Direct Electron Transfer through a Positively Charged Surface, *Anal. Chem.*, 83 (2011) 3042-3049.
- [121] D. Svedruzic, J.L. Blackburn, R.C. Tenent, J.D.R. Rocha, T.B. Vinzant, M.J. Heben, P.W. King, High-Performance Hydrogen Production and Oxidation Electrodes with Hydrogenase Supported on Metallic Single-Wall Carbon Nanotube Networks, *J. Am. Chem. Soc.*, 133 (2011) 4299-4306.
- [122] C. Gutierrez-Sanchez, M. Pita, C. Vaz-Dominguez, S. Shleev, A.L. De Lacey, Gold Nanoparticles as Electronic Bridges for Laccase-Based Biocathodes, *J. Am. Chem. Soc.*, 134 (2012) 17212-17220.

[123] M.A. Alonso-Lomillo, O. Rudiger, A. Maroto-Valiente, M. Velez, I. Rodriguez-Ramos, F.J.

Munoz, V.M. Fernandez, A.L. De Lacey, Hydrogenase-coated carbon nanotubes for efficient H₂ oxidation, *Nano Letters*, 7 (2007) 1603-1608.

[124] Y.M. Yan, L. Su, L.Q. Mao, Multi-walled carbon nanotube-based glucose/O₂ biofuel cell with glucose oxidase and laccase as biocatalysts, *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 7 (2007) 1625-1630.

[125] K. Szot, W. Nogala, J. Niedziolka-Jonsson, M. Jonsson-Niedziolka, F. Marken, J. Rogalski, C.N. Kirchner, G. Wittstock, M. Opallo, Hydrophilic carbon nanoparticle-laccase thin film electrode for mediatorless dioxygen reduction SECM activity mapping and application in zinc-dioxygen battery, *Electrochim. Acta*, 54 (2009) 4620-4625.

[126] J.Y. Lee, H.Y. Shin, S.W. Kang, C. Park, S.W. Kim, Improvement of electrical properties via glucose oxidase-immobilization by actively turning over glucose for an enzyme-based biofuel cell modified with DNA-wrapped single walled nanotubes, *Biosens. Bioelectron.*, 26 (2011) 2685-2688.

[127] J.Y. Lee, H.Y. Shin, S.W. Kang, C. Park, S.W. Kim, Application of an enzyme-based biofuel cell containing a bioelectrode modified with deoxyribonucleic acid-wrapped single-walled carbon nanotubes to serum, *Enzyme and Microbial Technology*, 48 (2011) 80-84.

[128] V.A. Karachevtsev, S.G. Stepanian, A.Y. Glamazda, M.V. Karachevtsev, V.V. Eremenko, O.S. Lytvyn, L. Adamowicz, Noncovalent Interaction of Single-Walled Carbon Nanotubes with 1-Pyrenebutanoic Acid Succinimide Ester and Glucoseoxidase, *Journal of Physical Chemistry C*, 115 (2011) 21072-21082.

[129] X.J. Luo, M. Brugna, P. Tron-Infossi, M.T. Giudici-Ortoni, E. Lojou, Immobilization of the hyperthermophilic hydrogenase from *Aquifex aeolicus* bacterium onto gold and carbon nanotube electrodes for efficient H₂ oxidation, *Journal of Biological Inorganic Chemistry*, 14 (2009) 1275-1288.

[130] Y. Kamitaka, S. Tsujimura, K. Kano, High current density bioelectrolysis of D-fructose at fructose dehydrogenase-adsorbed and Ketjen black-modified electrodes without a mediator, *Chemistry Letters*, 36 (2007) 218-219.

[131] X.J. Wang, M. Falk, R. Ortiz, H. Matsumura, J. Bobacka, R. Ludwig, M. Bergelin, L. Gorton, S. Shleev, Mediatorless sugar/oxygen enzymatic fuel cells based on gold nanoparticle-modified electrodes, *Biosens. Bioelectron.*, 31 (2012) 219-225.

- [132] M. Falk, V. Andoralov, Z. Blum, J. Sotres, D.B. Suyatin, T. Ruzgas, T. Arnebrant, S. Shleev, Biofuel cell as a power source for electronic contact lenses, *Biosens. Bioelectron.*, 37 (2012) 38-45.
- [133] H. Matsumura, R. Ortiz, R. Ludwig, K. Igarashi, M. Samejima, L. Gorton, Direct Electrochemistry of *Phanerochaete chrysosporium* Cellobiose Dehydrogenase Covalently Attached onto Gold Nanoparticle Modified Solid Gold Electrodes, *Langmuir*, 28 (2012) 10925-10933.
- [134] C. Gutierrez-Sanchez, W.Z. Jia, Y. Beyl, M. Pita, W. Schuhmann, A.L. De Lacey, L. Stoica, Enhanced direct electron transfer between laccase and hierarchical carbon microfibers/carbon nanotubes composite electrodes. Comparison of three enzyme immobilization methods, *Electrochim. Acta*, 82 (2012) 218-223.
- [135] G. Gobel, F. Lisdat, Organic interlayers for oxygen reducing electrodes based on bilirubin oxidase and MWCNT modified gold, *Electrochem. Commun.*, 10 (2008) 1691-1694.
- [136] C.F. Blanford, R.S. Heath, F.A. Armstrong, A stable electrode for high-potential, electrocatalytic O₂ reduction based on rational attachment of a blue copper oxidase to a graphite surface, *Chemical Communications*, (2007) 1710-1712.
- [137] W.Z. Jia, S. Schwamborn, C. Jin, W. Xia, M. Muhler, W. Schuhmann, L. Stoica, Towards a high potential biocathode based on direct bioelectrochemistry between horseradish peroxidase and hierarchically structured carbon nanotubes, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 12 (2010) 10088-10092.
- [138] M. Jonsson-Niedziolka, A. Kaminska, M. Opallo, Pyrene-functionalised single-walled carbon nanotubes for mediatorless dioxygen bioelectrocatalysis, *Electrochim. Acta*, 55 (2010) 8744-8750.
- [139] T. Lojou, P. Bianco, Buildup of polyelectrolyte-protein multilayer assemblies on gold electrodes. Role of the hydrophobic effect, *Langmuir*, 20 (2004) 748-755.
- [140] C.M. Moore, N.L. Akers, A.D. Hill, Z.C. Johnson, S.D. Minter, Improving the environment for immobilized dehydrogenase enzymes by modifying Nafion with tetraalkylammonium bromides, *Biomacromolecules*, 5 (2004) 1241-1247.
- [141] A. Zloczewska, M. Jonsson-Niedziolka, J. Rogalski, M. Opallo, Vertically aligned carbon nanotube film electrodes for bioelectrocatalytic dioxygen reduction, *Electrochim. Acta*, 56 (2011) 3947-3953.
- [142] M. Frasconi, A. Heyman, I. Medalsy, D. Porath, F. Mazzei, O. Shoseyoy, Wiring of Redox Enzymes on Three Dimensional Self-Assembled Molecular Scaffold, *Langmuir*, 27 (2011) 12606-12613.

- [143] J.T. Holland, C. Lau, S. Brozik, P. Atanassov, S. Banta, Engineering of Glucose Oxidase for Direct Electron Transfer via Site-Specific Gold Nanoparticle Conjugation, *J. Am. Chem. Soc.*, 133 (2011) 19262-19265.
- [144] R.P. Ramasamy, H.R. Luckarift, D.M. Ivnitski, P.B. Atanassov, G.R. Johnson, High electrocatalytic activity of tethered multicopper oxidase-carbon nanotube conjugates, *Chemical Communications*, 46 (2010) 6045-6047.
- [145] C. Bourdillon, M. Delamar, C. Demaille, R. Hitmi, J. Moiroux, J. Pinson, IMMOBILIZATION OF GLUCOSE-OXIDASE ON A CARBON SURFACE DERIVATIZED BY ELECTROCHEMICAL REDUCTION OF DIAZONIUM SALTS, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 336 (1992) 113-123.
- [146] M. Pellissier, F. Barriere, A.J. Downard, D. Leech, Improved stability of redox enzyme layers on glassy carbon electrodes via covalent grafting, *Electrochem. Commun.*, 10 (2008) 835-838.
- [147] C. Vaz-Dominguez, S. Campuzano, O. Rudiger, M. Pita, M. Gorbacheva, S. Shleev, V.M. Fernandez, A.L. De Lacey, Laccase electrode for direct electrocatalytic reduction of O₂ to H₂O with high-operational stability and resistance to chloride inhibition, *Biosens. Bioelectron.*, 24 (2008) 531- 537.
- [148] O. Rudiger, J.M. Abad, E.C. Hatchikian, V.M. Fernandez, A.L. De Lacey, Oriented immobilization of *Desulfovibrio gigas* hydrogenase onto carbon electrodes by covalent bonds for nonmediated oxidation of H₂, *J. Am. Chem. Soc.*, 127 (2005) 16008-16009.
- [149] C. Baffert, K. Sybirna, P. Ezanno, T. Lautier, V. Hajj, I. Meynial-Salles, P. Soucaille, H. Bottin, C. Leger, Covalent Attachment of FeFe Hydrogenases to Carbon Electrodes for Direct Electron Transfer, *Anal. Chem.*, 84 (2012) 7999-8005.
- [150] R. Polsky, J.C. Harper, S.M. Dirk, D.C. Arango, D.R. Wheeler, S.M. Brozik, Diazoniumfunctionalized horseradish peroxidase immobilized via addressable electrodeposition: Direct electron transfer and electrochemical detection, *Langmuir*, 23 (2007) 364-366.
- [151] C.F. Blanford, C.E. Foster, R.S. Heath, F.A. Armstrong, Efficient electrocatalytic oxygen reduction by the 'blue' copper oxidase, laccase, directly attached to chemically modified carbons, *Faraday Discussions*, 140 (2008) 319-335.
- [152] N. Lalaoui, K. Elouarzaki, A. Le Goff, M. Holzinger, S. Cosnier, Efficient direct oxygen reduction by laccases attached and oriented on pyrene-functionalized polypyrrole/carbon nanotube electrodes, *Chemical Communications*, 49 (2013) 9281-9283.

- [153] F. Giroud, S.D. Minter, Anthracene-modified pyrenes immobilized on carbon nanotubes for direct electroreduction of O₂ by laccase, *Electrochem. Commun.*, 34 (2013) 157-160
- [154] M. Bourourou, K. Elouarzaki, N. Lalaoui, C. Agnes, A. Le Goff, M. Holzinger, A. Maaref, S. Cosnier, Supramolecular Immobilization of Laccase on Carbon Nanotube Electrodes Functionalized with (Methylpyrenylaminomethyl)anthraquinone for Direct Electron Reduction of Oxygen, *Chemistry-a European Journal*, 19 (2013) 9371-9375.
- [155] M. Sosna, J.M. Chretien, J.D. Kilburn, P.N. Bartlett, Monolayer anthracene and anthraquinone modified electrodes as platforms for *Trametes hirsuta* laccase immobilisation, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 12 (2010) 10018-10026.
- [156] R. A. Bullen, T. C. Arnot, J. B. Lakeman and F. C. Walsh, Biofuel cells and their development. *Biosensors and Bioelectronics* 21 (2006) 2015-2045.
- [157] L. Galvani De Bononiensi Scientiarum et Artium Instituto atque Academia Commentarii. 7 (1791) 363.
- [158] M.C. Potter, Electrical Effects Accompanying the Decomposition of Organic Compounds. *Proc. R. Soc. Lond.*, B84 (1911) 260-276.
- [159] B. Cohen, The bacterial culture as an electrical half-cell, *J. Bacteriol* 21 (1931) 18.
- [160] A. K. Shukla, Suresh, P., Berchmans, S., Rajendran, A., Biological fuel cells and their applications, *Current Science* 87 (2004) 455-468.
- [161] N. Mano, F. Mao and A. Heller, A Miniature Biofuel Cell Operating in A Physiological Buffer. *Journal of the American Chemical Society* 124 (2002) 12962-12963.
- [162] G. MERLE, Conception d'électrodes enzymatiques pour l'élaboration de biopiles glucose/oxygène, thèse soutenue à Montpellier (2008).
- [163] K. Rabaey, G. Lissens, S. D. Siciliano and W. Verstraete, A microbial fuel cell capable of converting glucose to electricity at high rate and efficiency. *Biotechnology Letters* 25 (2003) 1531-1535.

Chapitre II. Les techniques expérimentales.

Dans le présent chapitre nous décrivons les fondements théoriques et pratiques sur lesquels s'appuient les techniques expérimentales utilisées pour la réalisation de ce travail.

I. La voltamétrie

La voltamétrie est une technique d'électroanalyse basée sur la mesure du flux de courant résultant de la réduction ou de l'oxydation des composés, présents dans la solution sous l'effet d'une variation contrôlée de la différence de potentiel appliquée entre deux électrodes spécifiques. Elle permet d'une part d'identifier un grand nombre de composés (cations, certains anions, composés organiques) et de déterminer leurs concentrations d'autre part, sans oublier son rôle dans l'étude cinétique des réactions mises en jeu.

I. 1. Composants et principes des techniques voltamétriques.

Les unités de base d'un analyseur voltamétrique sont illustrées par la Figure 11. Elles sont composées par :

- Une cellule électrochimique de mesure comportant trois électrodes immergées dans la solution à analyser. Les trois électrodes sont:
 - i) une électrode de travail (parfois appelée électrode indicatrice), constituée par l'électrode modifiée utilisée ;
 - ii) une électrode de référence (calomel saturée) reliée à un capillaire de Luggin ;
 - iii) une contre électrode constituée par une plaque de platine.
- Un circuit électronique, appelé potentiostat, permettant de modifier le potentiel et d'enregistrer le courant.

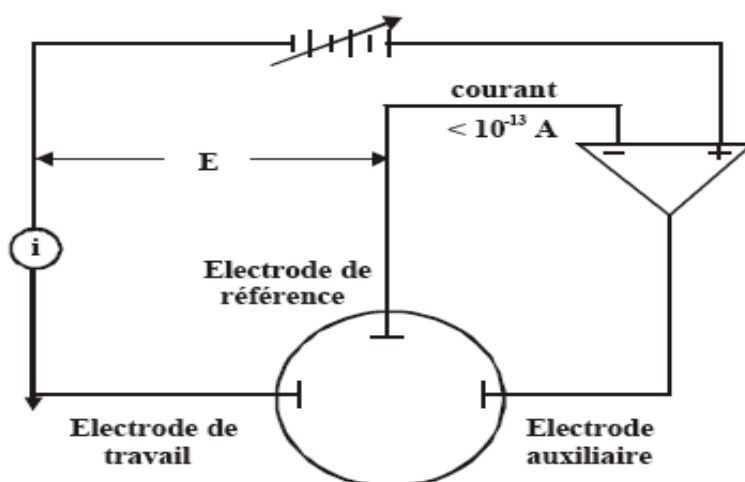


Figure 11. Représentation schématique du circuit électronique d'un potentiostat.

I. 2. Analyses voltamétriques [1]

Les techniques voltamétriques sont basées sur l'enregistrement du courant i , qui passe entre une électrode de travail (WE) et une électrode auxiliaire (AE), dû à la réduction ou à l'oxydation de l'élément à analyser.

Les différentes techniques voltamétriques découlent des innovations portant sur la façon dont le signal $E=f(t)$ est imposé et le signal $i=f(E)$ mesuré, qui ont été développées dans le but d'obtenir un rapport $i(\text{Faradique})/i(\text{capacitif})$ maximal afin d'augmenter la sensibilité.

En voltamétrie, le potentiel E appliqué à l'électrode de travail varie en fonction du temps selon la relation :

$$E = E_i \pm vt$$

où v est la vitesse de variation de potentiel, $v = dE/dt$, t est le temps et E_i le potentiel de départ. Le courant i est mesuré en fonction du potentiel E . Les courbes $i=f(E)$ obtenues sont appelées des voltamogrammes.

La variation du potentiel E peut être linéaire ou modulée, donnant lieu à des techniques possédant des caractéristiques différentes. Le courant i dans le circuit est principalement la somme de deux courants : le courant faradique, i_f , et le courant capacitif, i_c .

Les techniques voltamétriques utilisées dans ce travail sont :

- La voltamétrie cyclique,
- La voltamétrie à onde carré.

I. 2. 1. La voltamétrie cyclique

Le principe de la voltamétrie cyclique est comparable à la voltamétrie linéaire, mais le balayage des potentiels s'effectue de façon cyclique. Par exemple, après avoir balayé vers les potentiels anodiques ($E_{\text{supérieur}}$) et réalisé des oxydations, on inverse le sens de variation du potentiel effectue pour une exploration vers les potentiels cathodiques ($E_{\text{inférieur}}$). On enregistre donc sur le voltamogramme les courbes de polarisations anodiques et cathodiques du système. Trois cas sont à considérer : les systèmes dits réversible, irréversible ou quasi-réversible. Sur la Figure 13 sont présentés les voltamogrammes cycliques caractéristiques de ces trois situations. Cette méthode consiste à analyser le comportement électrochimique d'un système en appliquant à une électrode un balayage de potentiel variant avec le temps et enregistré $I(E)$, ceci revient à construire une surface tridimensionnel $[I, E, t(E(t))]$ (figure 12).

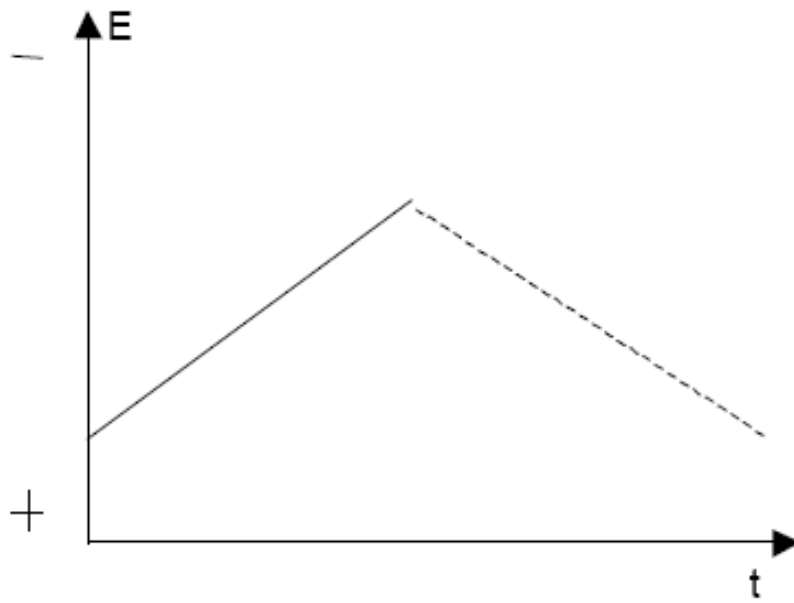


Figure 12. Fonction imposée

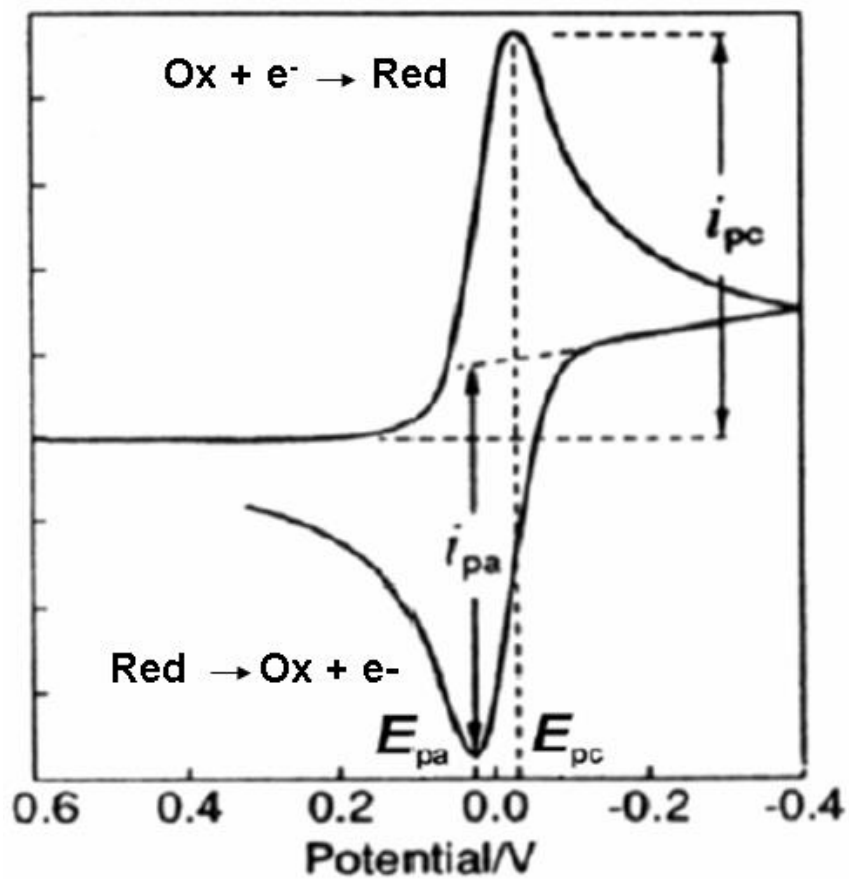


Figure 13. Voltammogramme cyclique enregistré pour une espèce Red seule en solution.

Le signal électrique est fourni par un générateur qui délivre une tension en « dents de scie », les balayages anodiques et cathodiques sont alors réalisés à la même vitesse. Mais il est également possible d'effectuer un balayage aller lent et revenir rapidement (ou l'inverse).

La voltamétrie est largement utilisée sur le plan fondamental par des chimistes inorganiciens, des physico-chimistes et des biochimistes qui étudient le mécanisme et la cinétique des réactions d'oxydation et de réduction dans divers milieux, et celui du processus d'adsorption et de transfert électronique sur des surfaces chimiquement modifiées.

Au milieu des années 1960, divers développements nouveaux ont amélioré significativement la sensibilité et la sélectivité des méthodes voltamétriques, c'est à cette époque que sont apparus les amplificateurs opérationnels, dispositifs peu coûteux, qui ont permis l'essor commercial d'une nouvelle génération d'appareils très performants qui ont tiré l'attention de plusieurs auteurs [2-6].

La voltamétrie cyclique, s'est surtout développée en tant que moyen d'étude des mécanismes des réactions d'oxydo-réduction. Ses applications en analyse quantitative étant limitées.

La principale fonction d'un potentiostat est de contrôler le potentiel et de mesurer le courant. Le potentiostat à trois électrodes est relié aux électrodes de travail, de référence, et contre électrode, ces électrodes sont immergées dans la solution à étudier.

La voltamétrie cyclique est la méthode de choix pour l'étude de la réversibilité d'un transfert électronique puisque l'on trace, sur le même voltammogramme, les courbes d'oxydation et de réduction.

En électrochimie, on utilise souvent l'équation de Nernst (1):

$$E = E^\circ + \frac{RT}{nF} \ln \frac{[Ox]}{[Red]} \quad (1)$$

Avec E° : le potentiel standard du couple Ox/Red,

R : la constante des gaz parfaits,

T : la température en Kelvin

n : le nombre d'électrons mis en jeu

F : la constante de Faraday.

Cette loi relie le potentiel E de l'électrode à la concentration des espèces qui participent à la réaction électrochimique :



Si le potentiel de l'électrode peut être calculé à l'aide de la relation de Nernst ou d'une équation qui en dérive, la réaction d'électrode est appelée réversible. On dit aussi que l'électrode a un comportement nernstien.

Les deux caractéristiques d'un voltammogramme sont le courant de pic (i_p) et le potentiel de pic (E_p). Le courant de pic est donné par l'équation de Sevcik-Randles [7]:

$$I_p = K A n^{3/2} D^{1/2} \nu^{1/2} C \quad (3)$$

avec K : coefficient numérique,
 A : surface de l'électrode (cm^2),
 D : coefficient de diffusion de l'espèce étudiée ($\text{cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$),
 ν : vitesse de balayage ($\text{v} \cdot \text{s}^{-1}$),
 C : concentration de l'espèce étudiée ($\text{mol} \cdot \text{cm}^{-3}$).

Le courant i_p étant proportionnel à la concentration de C de l'espèce analysée, remarquons que la grandeur $i_p/C\nu^{1/2}$ est constante. Ce critère est souvent utilisé (à C variable) pour vérifier qu'il n'y a pas de réaction chimique couplée à la réaction électrochimique.

Pour ce système, l'écart entre les potentiels de pics d'oxydation et de réduction est indépendant de la vitesse de balayage :

$$\Delta E_p = E_{p,a} - E_{p,c} = 0.06/n \quad (4)$$

avec n nombres d'électron mis en jeu.

Le potentiel standard pour un système réversible est donné par :

$$E^\circ = (E_{p,a} + E_{p,c})/2 \quad (5)$$

Dans le cas d'un système irréversible, la loi de Nernst ne s'applique plus à l'électrode et ΔE_p est plus grand et varie avec la vitesse de balayage.

I. 2. 2. La voltamétrie à onde carrée (SWV : square wave voltammetry)

La voltamétrie à onde carrée est basée sur la combinaison d'une modulation d'onde carrée d'amplitude $\Delta E = 50 \text{ mV}$ et de période $1/f$ (typiquement la fréquence $f = 50$ à 200 Hz) avec une rampe en escalier (figure 14). Le signal mesuré est la différence Δi entre les courants mesurés, à la fin de chaque pulse montant et descendant de l'onde carrée, (figure 15). Le pas

de potentiel ΔE_p , la durée et l'amplitude sont des paramètres susceptibles d'influencer la largeur et la hauteur de pic, c'est-à-dire, le pouvoir de résolution et la sensibilité de la méthode. Le principal avantage de la SWV, est qu'elle permet de varier le potentiel à des vitesses beaucoup plus élevées, typiquement $v = 400$ à 1600 mV s^{-1} , et ainsi permettent d'augmenter le rapport i_f/i_c et par la sensibilité, en prenant avantage des réponses temporelles différentes du i_f et i_c . En effet, après un changement instantané de potentiel, la décroissance du courant capacitif a lieu plus rapidement que la décroissance du courant faradique. En voltamétrie à onde carré, deux courants sont mesurés : celui mesuré à la fin de pulse haut et celui mesuré à la fin du pulse bas. Ces deux courants sont ensuite automatiquement soustraits pour donner le courant (visualisé). Le signal est sous forme de pics et la variation de potentiel peut être rapide. Cette méthode autorise des vitesses de balayage de plus de 1 V s^{-1} .

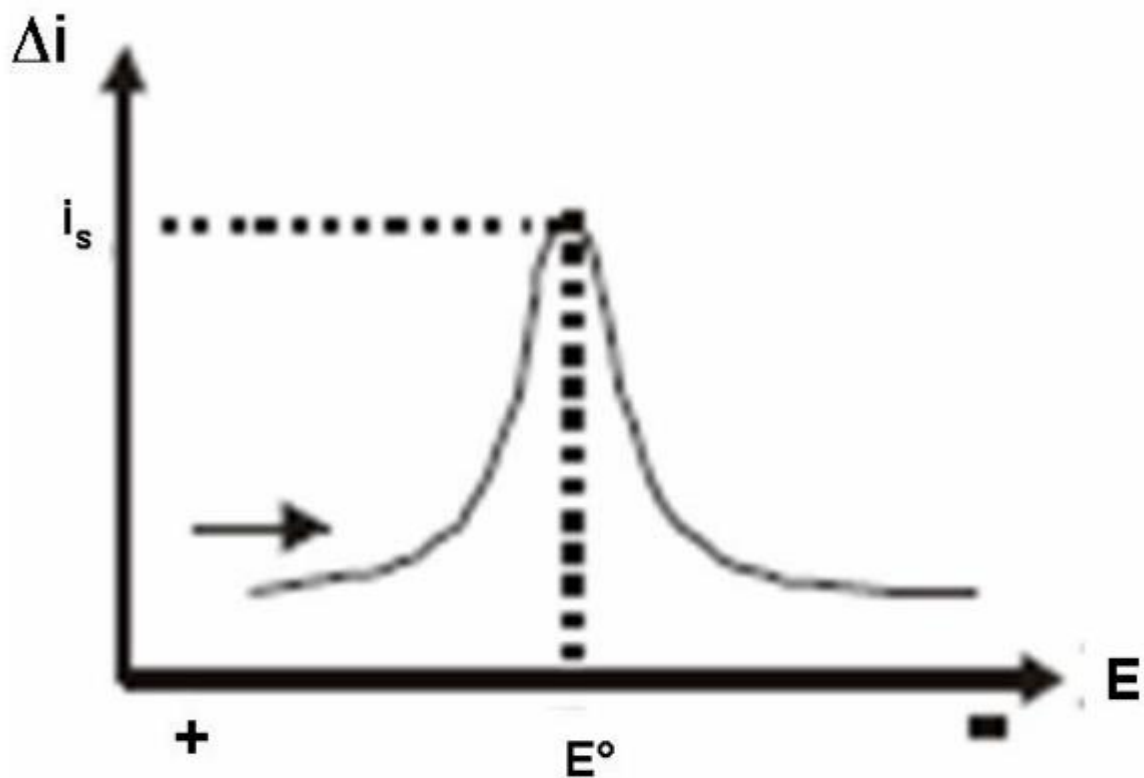


Figure 14. Allure de la tension imposée en escalier en fonction de temps.

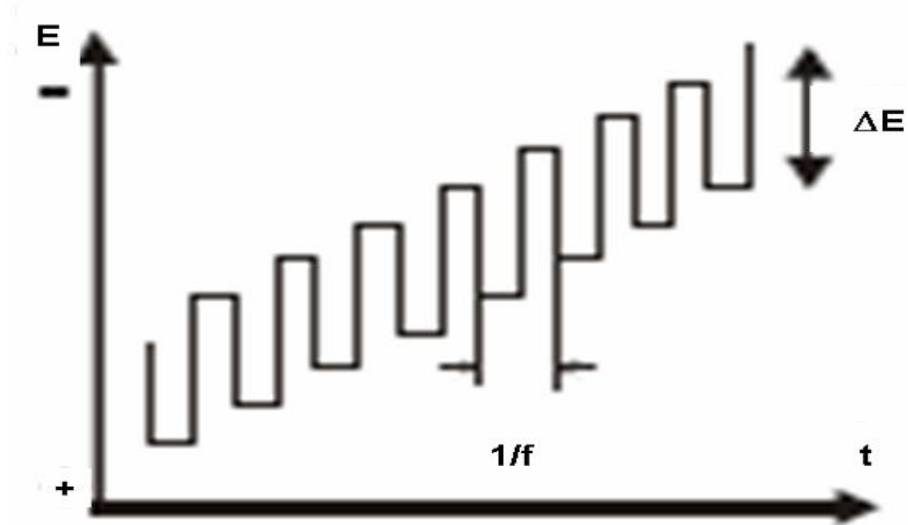


Figure 15. Voltamogramme résultant de la voltamétrie à onde carrée.

III. Chronoampérométrie

La Chronoampérométrie consiste à mesurer la variation de l'intensité de courant qui traverse une cellule électrochimique à trois électrodes en imposant un potentiel qui permet le transfert électrochimique d'une espèce donnée.

La Figure 16 montre une courbe chronoamperométrique typique caractérisée par la diminution de courant avec le temps. On définit le temps t_s , comme l'intersection de la tangente de cette courbe et l'axe du temps. Le courant résiduel est en rapport avec la morphologie du dépôt.

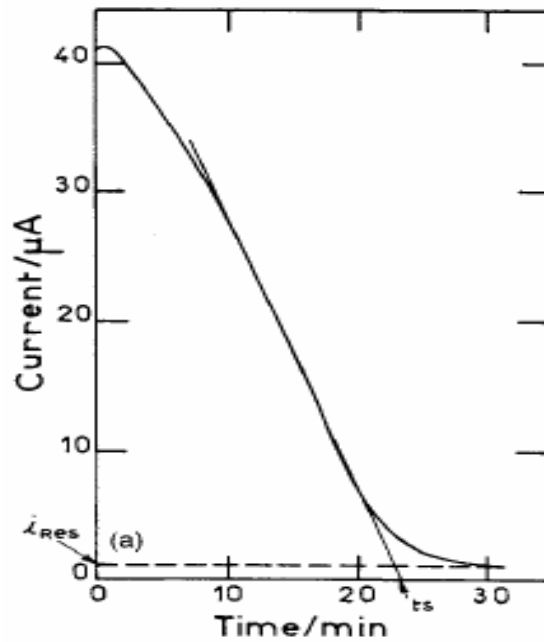


Figure 16. Chronoampérogramme typique ; i_{res} le courant résiduel [8].

Les analyses ampérométriques se réfèrent à une droite d'étalonnage, en vérifiant expérimentalement le coefficient de proportionnalité entre le courant limite de diffusion et la concentration de l'analyte électroactive :

$$i = K C (D/t)^{1/2} \quad (6)$$

avec K : coefficient numérique,
 D : coefficient de diffusion de l'espèce étudiée ($\text{cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$),
 C : concentration de l'espèce étudiée ($\text{mol} \cdot \text{cm}^{-3}$).

La sensibilité de l'analyse est influencée par la présence des impuretés électro-actives dans l'électrolyte, ceci donne un courant appelé résiduel, ce dernier dépend également de la nature de l'électrode et des traitements chimiques et électrochimiques qui lui ont été imposés [9,10]. La mise sous tension d'électrode de travail crée un courant capacitif qui s'annule rapidement.

IV. Le microscope optique

Le microscope optique ou microscope photonique est un instrument d'optique muni d'un objectif et d'un oculaire qui permet de grossir l'image d'un objet de petites dimensions (ce

qui caractérise son grossissement) et de séparer les détails de cette image (et son pouvoir de résolution) afin qu'il soit observable par l'œil humain. Il est utilisé en biologie, pour observer les cellules, les tissus, en pétrographie pour reconnaître les roches, en métallurgie et en métallographie pour examiner la structure d'un métal ou d'un alliage.

Le microscope optique est un système optique à lentilles dans le but d'obtenir une image agrandie de l'échantillon à observer.

V. Le microscope à force atomique (AFM)

Le microscope à force atomique (AFM pour atomic force microscope) est un type de microscope à sonde locale permettant de visualiser la topographie de la surface d'un échantillon. Inventé en 1985, par Gerd Binnig, Calvin Quate et Christoph Gerber, ce type de microscopie repose essentiellement sur l'analyse d'un objet point par point au moyen d'un balayage via une sonde locale, assimilable à une pointe effilée. Ce mode d'observation permet alors, de réaliser la cartographie locale des grandeurs physiques caractéristiques de l'objet sondé (force, capacité, intensité de rayonnement, courant...), mais également de travailler dans des environnements particuliers tels que les milieux sous vide, liquides ou ambiants.

La technique AFM exploite l'interaction (attraction/répulsion) entre les atomes de l'apex nanométrique d'une pointe et les atomes surfaciques d'un échantillon. Elle permet d'analyser des zones allant de quelques nanomètres à quelques microns de côtés et de mesurer des forces de l'ordre du nanonewton.

Le microscope à force atomique permet donc de balayer la surface d'un échantillon grâce à une pointe très fine, positionnée à l'extrémité libre d'un micro-levier flexible, pouvant se déplacer dans toutes les directions de l'espace, grâce à un tube piézoélectrique.

L'analyse des flexions du micro-levier permet de déterminer l'exact parcours de la pointe, ainsi que la mesure des forces d'interactions intervenant entre elle et l'échantillon. Capable de définir la topographie de surface, l'AFM est dans ce cas assimilable à un profilomètre.

Références

- [1] H.H. Girault, Electrochimie : physique et analytique, Presses polytechnique et universitaires romandes, 2001.
- [2] W. Kemula, Z. Kublik, Nature, 182 (1958) 793.
- [3] R.S. Nicholson, Anal. Chem. 37 (1965) 667.
- [4] A.J. Bard, L.R. Faulkner, Electrochimie, principes, methods et applications, Masson, Paris, 1983.
- [5] R.N. Adams, Electrochemistry at solid electrodes, M. Dekker, New York, 1969.
- [6] R.S. Nicholson, I. Shain, Anal. Chem., 36 (1964) 706.
- [7] P. Skladal, Electroanalysis, 9 (1997) 745.
- [8] C. Gabrielli, M. Keddam, H. Perrot, A. Khalil, R. Rosset, M. Zidoune, J. Appl. Electrochem., 26 (1996) 1125-1132.
- [9] B.D. Epstein, E. Dalle-Molle, J.S. Mattson, Carbon, 9 (1971) 609.
- [10] V.L. Snoeyink, W.J. Weber, Progr. Surface Membrane Sci., 5 (1972) 63.

Chapitre III. Etude Electrochimique de la Chélation du Plomb (Pb^{2+}) par une Electrode à Pâte de Carbone Modifiée par l'ADN.

Introduction :

Un biocapteur est par définition, selon *l'Union Internationale de Chimie pure et Appliquée (IUPAC)*, un dispositif intégré qui est capable de fournir des informations analytiques quantitatives ou semi-quantitatives spécifiques à l'aide d'un élément de reconnaissance biologique (récepteur biochimique) qui est en contact direct avec un élément de transduction [1].

Le biocapteur à base d'ADN est un système qui incorpore l'ADN, immobilisé en tant qu'élément de reconnaissance moléculaire, à la surface d'un substrat, et mesure des processus de liaisons spécifiques entre la molécule active et l'ADN, principalement en utilisant des transducteurs électrochimiques, optiques et piézoélectriques. Le fait que les séquences d'ADN soient uniques à chaque organisme, signifie que tout organisme biologique auto-répliquable peut être distingué. Le biocapteur à base d'ADN est également un outil complémentaire pour l'étude des mécanismes d'interaction biomoléculaire des composés avec l'ADN, permettant le criblage et l'évaluation de l'effet causé à l'ADN par les composés dangereux pour la santé et les substances oxydantes. Il existe des centaines de composés qui se lient et interagissent avec l'ADN, comme les molécules organiques toxiques ou les métaux lourds. L'exposition de l'homme à des produits chimiques toxiques est la cause de nombreux cancers humains; Ces substances cancérogènes agissent en endommageant chimiquement l'ADN. Il est donc très important d'expliquer les facteurs qui déterminent l'affinité et la sélectivité dans les molécules de liaison à l'ADN, d'identifier ces produits chimiques et de planifier à minimiser l'impact de l'exposition humaine à ces produits.

Les techniques électrochimiques sont les plus qualifiées pour étudier les phénomènes de la reconnaissance moléculaire de plusieurs molécules actives par l'ADN, en raison des avantages suivants :

- un temps de réponse rapide,
- quantitatif,
- sensible,
- approprié pour l'automatisation,
- rentable,

- permettant la génération, in situ, d'intermédiaires réactifs,
- détection des dommages à l'ADN,
- la résolution de problèmes analytiques dans une large gamme des contextes afin d'être commercialement viables.

Plusieurs études récentes, ont fait le point sur l'ADN et la détection de l'ADN [2-10], et ont montré les grandes possibilités d'utilisation de la transduction électrochimique dans le diagnostic de l'ADN.

Les électrodes à pâte de carbone chimiquement modifiées sont douées de nombreuses qualités, comme la facilité de manipulation et la possibilité de les utiliser comme anodes pour étudier des réactions d'oxydation, en particulier dans les piles à combustible [11].

L'utilisation du carbone graphite comme support, a connu un essor très important, dans la mesure où le carbone engage facilement un électron pour la réalisation d'une liaison covalente avec différents modificateurs. Récemment, des méthodes impliquant des mécanismes radicalaires ont été développées pour la modification de surfaces de carbone avec des films organiques, fixés de manière covalente à la surface. Le dépôt de mono ou multicouches sur les surfaces de pâte de carbone a permis de découvrir une nouvelle génération d'électrodes, appelées électrodes fonctionnalisées à des fins analytiques, comme l'électroanalyse des métaux lourds ou des pesticides [12,13].

L'objectif de ce travail est de mettre en évidence les possibilités d'utiliser les systèmes d'ADN pour l'élaboration et la caractérisation des biocapteurs électrochimiques. Les électrodes préparées ont été utilisées pour la chélation chimique de différents métaux lourds à l'état de traces. Pour compléter le travail nous avons protégé la surface de l'électrode par un polymère synthétisé. L'électrode à pâte de carbone modifiée par l'ADN (ADN-CPE) peut préconcentrer les métaux lourds de la solution aqueuse à la surface du CPE modifié en formant des complexes avec ces ions et en augmentant considérablement la sensibilité de sa détermination. Les données expérimentales montrent que les électrodes préparées, de type ADN-CPE ont une sensibilité élevée, une sélectivité et une reproductibilité adéquates et permettent de couvrir une large plage de concentrations, linéaires opératoires pour la détermination de métaux lourds dans des échantillons, tel que l'eau. Les électrodes ADN-CPE sont facilement préparées et ne sont pas très solubles dans l'eau.

I. Partie Expérimentale

I. 1. Réactifs et produits chimiques :

Tous les produits chimiques utilisés dans ce travail, sont de haute qualité. La poudre de graphite (qualité spectroscopique RWB, Rings dorff-Werke GmbH, Bonn-Bad Godesberg, Allemagne) est utilisée à l'état brut, elle n'a pas subi de purification ou prétraitements au préalable. Le PbSO_4 a été obtenu auprès de Merck chemicals. De l'eau déionisée a été utilisée pour préparer toutes les solutions. Les systèmes d'ADN ont été extraits au laboratoire à partir des plantes.

I. 2. Appareil

Les mesures électrochimiques ont été réalisées à l'aide d'un potentiostat voltalab (modèle PGSTAT 100, Eco Chemie B. V., Utrecht, Pays-Bas) piloté par le logiciel de traitement des données électrochimiques de service général (voltalab master 4).

Toutes les expériences électrochimiques ont été réalisées dans une cellule à trois électrodes standard à un seul compartiment. L'électrode au calomel saturé (SCE) a été utilisée comme référence, la contre-électrode est une plaque de platine de dimensions 0.5 cm x 0.5 cm x 0.1 mm. Tous les potentiels d'électrodes ont été référés à l'électrode de référence. L'électrode de travail, où se dérouleront toutes les réactions étudiées, est l'électrode élaborée, en l'occurrence ADN-CPE.

I. 3. Préparation des électrodes

La pâte de carbone a été préparée en mélangeant la poudre de carbone graphite à l'huile de paraffine utilisée comme liant. Par la suite, la pâte est insérée manuellement dans la cavité cylindrique du corps de l'électrode (surface géométrique d'environ 0.1256 cm²). Le contact électrique est établi avec une barre de carbone. L'électrode à pâte de carbone, modifiée par l'ADN (DNA-CPE) a été préparée en immobilisant le système d'ADN par trempage de l'électrode à pâte de carbone préformée dans une solution contenant la solution d'ADN. L'effet du temps de contact de l'électrode CPE avec la solution d'ADN a été étudié. Par la suite, la surface de l'électrode préparée est recouverte par le polymère.

I. 4. Procédure

La surface d'électrode obtenue a été lavée avec de l'eau bidistillée, et séchée à la température du laboratoire. En fin l'électrode est transférée dans la cellule électrochimique, de 100 ml de capacité, contenant 0.1 mol.l⁻¹ de NaCl. L'ensemble est barboté avec l'azote pur

pendant 10 min. L'électrode de travail a été préconcentrée dans la solution contenant l'analyte à un circuit ouvert.

Le comportement électrochimique de l'électrode préparée a été étudié par voltamétrie cyclique (CV) et voltamétrie à onde carrée (SWV).

II. Résultats

II. 1. Optimisation des conditions expérimentale

II. 1. 1. Influence du temps de séjours

Au début, nous avons enregistré les voltammogrammes cycliques, relatifs aux électrodes, CPE (électrode mère avant modification) et l'électrode modifiée (ADN-CPE), en milieu électrolytique à pH 7. En comparant les voltammogrammes des deux électrodes (Figure 17), nous pouvons constater que l'allure des CVs est différente dans les deux électrodes, ce qui correspond à un changement de la morphologie de surface et confirme la modification de cette dernière par l'ADN.

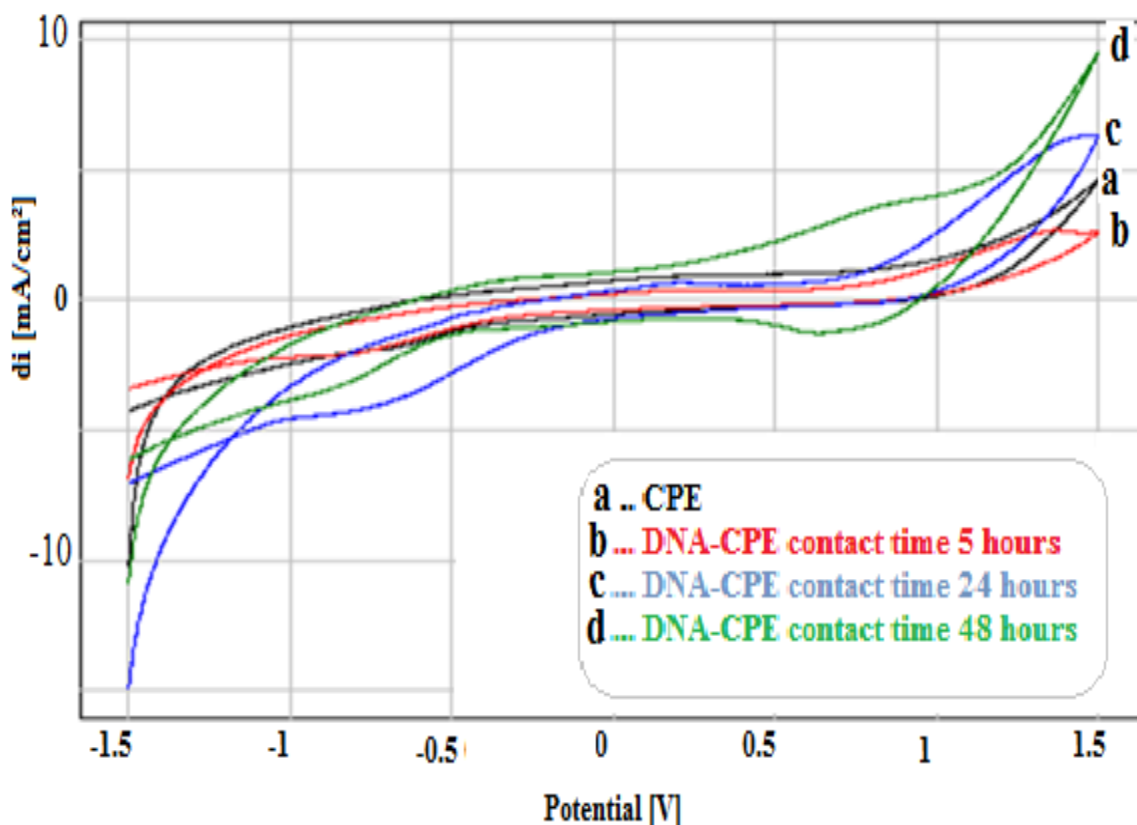


Figure 17. Les voltammogrammes cycliques enregistrés dans une solution tampon (pH 7), à CPE et ADN-CPE, vitesse de balayage 100 mV / s.

Le CV enregistré par l'électrode ADN-CPE, en milieu électrolytique, à court temps de séjours ne présente aucun pic redox, ce qui laisse penser que l'établissement de la liaison ADN-carbone dépend fortement du temps. Le dépôt de l'ADN sur la surface CPE nécessite environ 48 heures (Figure 17), Le CV comporte alors, quatre pics, deux anodiques, respectivement, vers -0.4 V et 1.2 V et deux pics dans le sens de balayage cathodique vers environ, -0.6 V et 1.3 V. La structure de l'ADN comporte plusieurs fonctions susceptibles à se réduire ou à s'oxyder. En suite, l'électrode à pâte de carbone modifiée par l'ADN (ADN-CPE) a été trempée, respectivement, dans des solutions contenant différentes concentrations des métaux lourds, en particulier le plomb, Pb^{2+} , puis transférée dans la cellule électrochimique de mesure après rinçage. La Figure 18 montre les CVs enregistrés respectivement, à la surface de l'électrode mère (CPE) et les différentes électrodes modifiées, ADN-CPE, qui se diffèrent par le temps de contact de l'électrode CPE et la solution d'ADN. Dans tous les cas, le CV présente un large pic de réduction, dans le sens du balayage cathodique, qui correspond à la réduction des ions Pb^{2+} chélatés à la surface de la matrice de l'ADN, ensuite après changement du sens de balayage, les CVs font apparaitre, un pic par fois deux pics anodiques enchevauchés, qui correspondent à l'oxydation du plomb introduit à la surface de l'électrode. Les densités de courant des pics anodiques, les plus élevées sont enregistrées, dans le cas de l'électrode ADN-CPE, lorsque l'électrode mère (CPE) a séjourné pendant 24 heures dans la solution contenant l'ADN, par la suite le temps de séjour retenu pour le dépôt du film d'ADN est 24 heures. La présence de deux pics d'oxydation sur le voltammogramme cycliques, montre la formation de deux complexes à différents degrés d'oxydation.

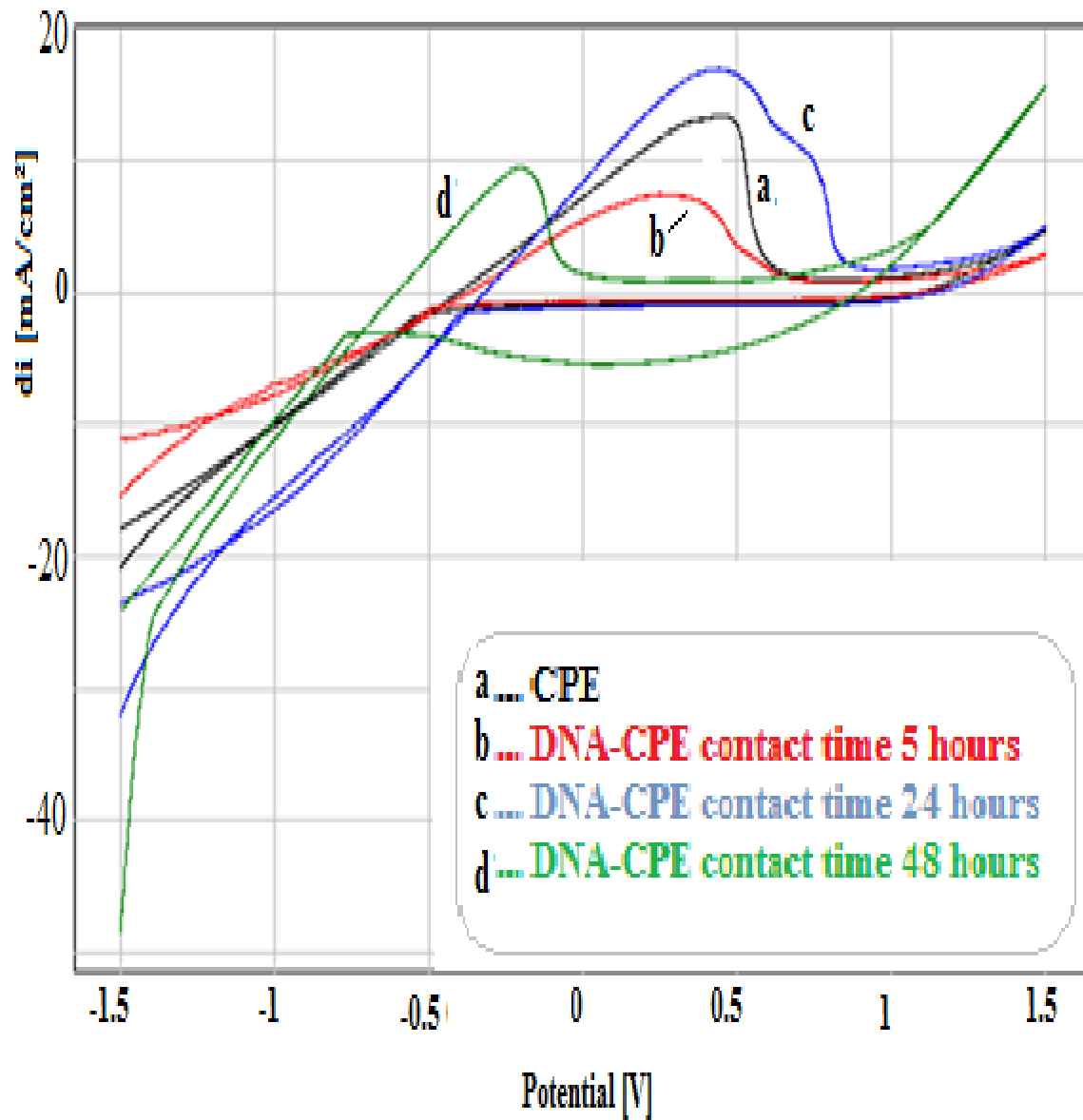
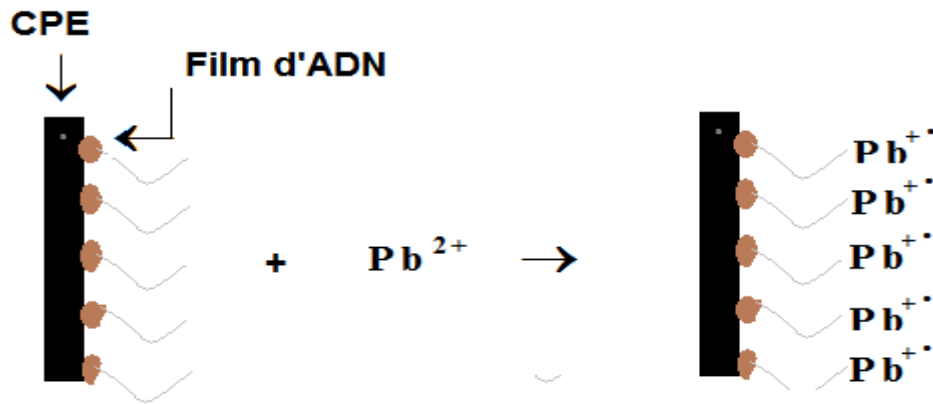


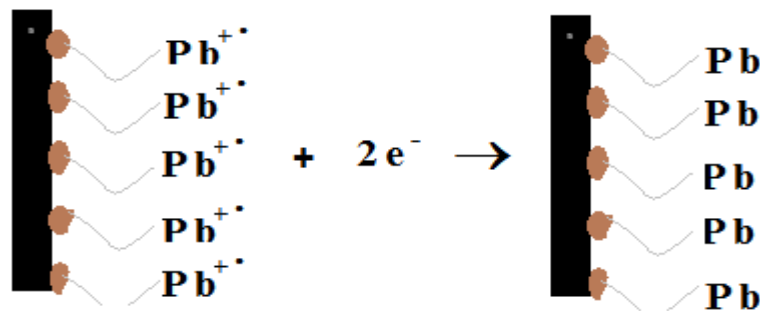
Figure 18. Voltammogrammes cycliques obtenus par les électrodes ADN-CPE et CPE à 100 mV / s, dans une solution tampon, après l'accumulation de Pb^{2+} .

Le mécanisme que nous proposons pour ce processus est schématisé comme suit :

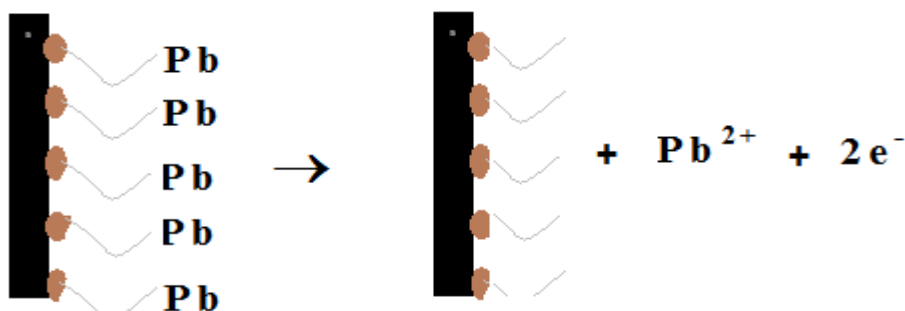
Etape 1 : Accumulation des ions Pb^{2+} à la surface du film d'ADN, dans cette étape les ions du plomb sont insérés à la surface et forment un complexe.



Etape 2 : Réduction électrochimique des ions Pb^{2+} accumulés à la surface de l'électrode



Etape 3 : Oxydation électrochimique du plomb accumulé à la surface de l'électrode



Les résultats obtenus par la voltammétrie cycliques ont été confirmés par voltammétrie à ondes carrées (SWV). La figure 19 présente les SWVs enregistrés respectivement, à la surface des électrodes CPE et ADN-CPE à différents temps de séjours dans la solution à ADN. La SWV présente l'avantage d'augmenter la sensibilité d'une électrode par l'annulation capacitif de la valeur globale de la densité de courant. Les SWVs Enregistrées à des électrodes de pâte de carbone modifiées avec un système d'ADN, après exposition, pendant

20 minutes, à la solution de plomb, dans des solutions agitées, sont par la Figure 19. Les densités de courant les plus élevées sont obtenues par l'électrode ADN-CPE pour laquelle le dépôt de séjours est 24 heures.

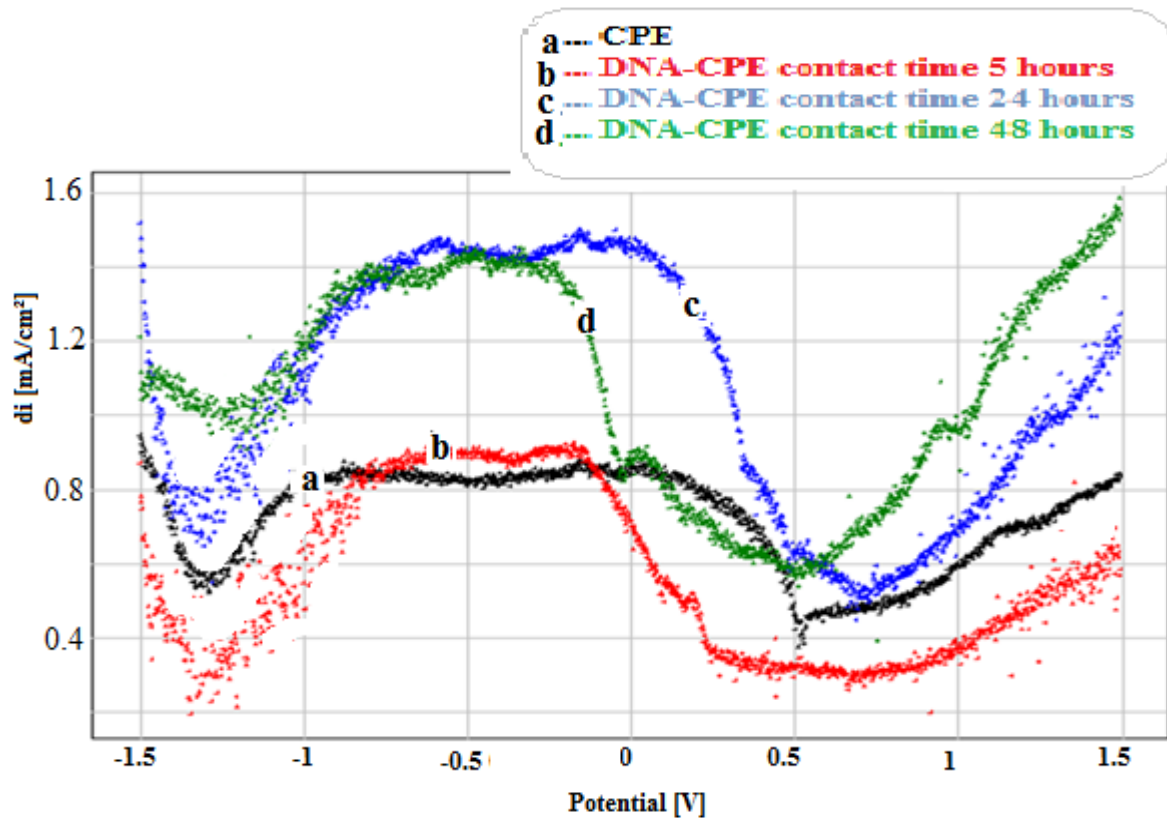


Figure 19. Voltammogrammes SQW de différentes électrodes préparées dans une solution tampon après l'accumulation du plomb.

II. 1. 2. Influence du temps de préconcentration des ions Pb^{2+}

La Figure 20 représente l'influence du temps d'accumulation sur la densité de courant du pic d'oxydation du plomb (I_{pic}). Nous pouvons constater que I_{pic} relative, à l'oxydation de 3.3 mmol.L^{-1} de plomb, Les densités de courant du pic d'oxydation atteignent leur valeur maximale à 20 minutes d'accumulation du plomb. Ce temps est retenu pour la suite de ce travail.

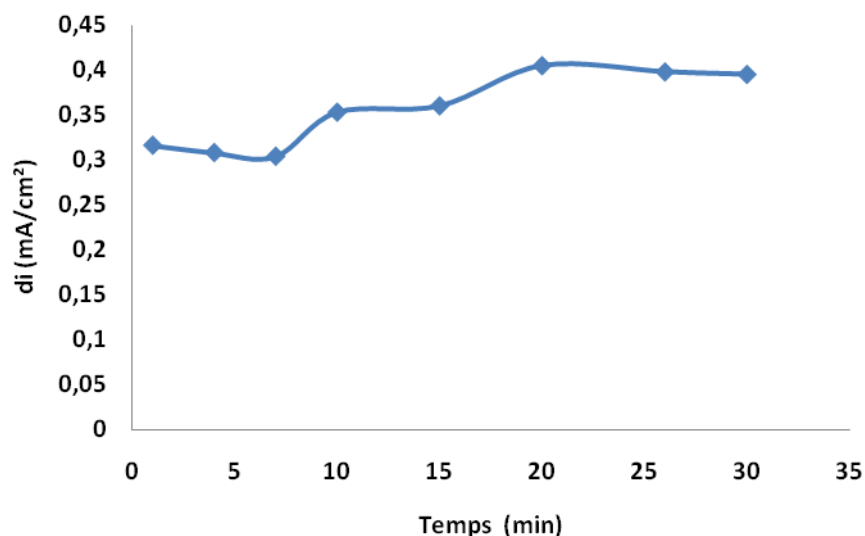


Figure 20. Influence du temps de préconcentration sur l'intensité du pic d'oxydation, pH=7 pour CPE-ADN.

II. 1. 3. Effet de la vitesse de balayage

La Figure 21, représente les voltamogrammes cycliques, enregistrés après accumulation du plomb, pendant 20 min à la surface de l'électrode ADN-CPE, en milieu électrolytique. A des vitesses de balayage variables de 40 à 140 mV/S, nous pouvons constater que la densité du pic d'oxydation relatif à pic d'oxydation du plomb, augmente avec la vitesse de balayage. La figure 22 représente la relation linéaire entre les densités de courants anodiques et la vitesse de balayage, ce qui laisse suggérer que le processus est contrôlé par la diffusion. Le potentiel du pic d'oxydation varie fortement avec la vitesse de balayage (Fig. 23), la linéarité confirme que la cinétique de la réaction est contrôlée par la diffusion.

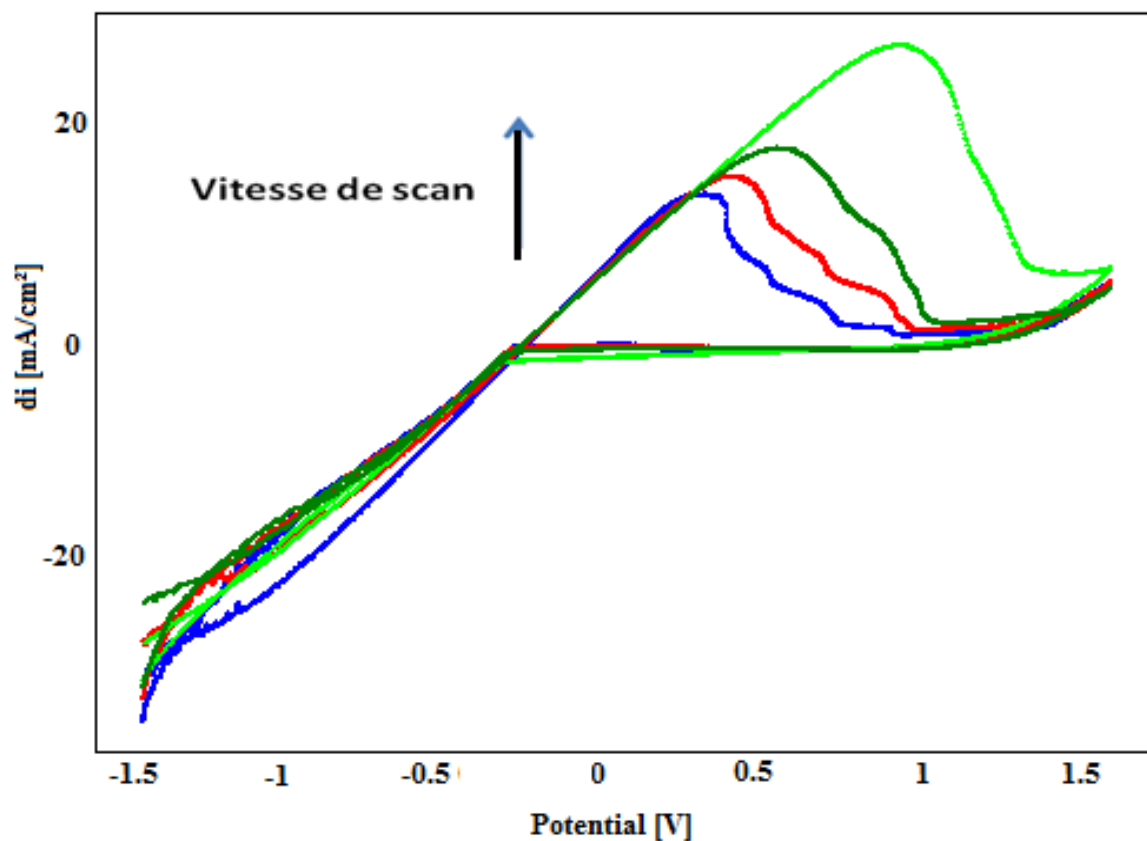


Figure 21. Voltammogramme cyclique, enregistré, dans une solution tris HCl 0.1M après l'accumulation de Pb^{2+} , à différentes vitesses de balayage, pour l'électrode CPE-ADN.

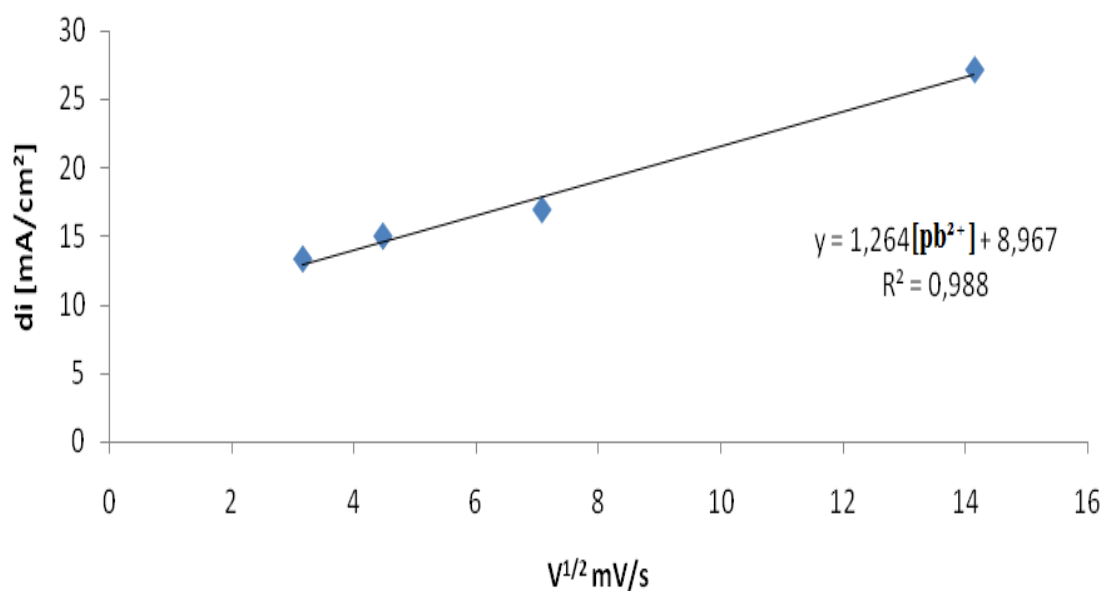


Figure 22. Influence de la vitesse de balayage sur les intensités de pics d'oxydation dans une solution de trisHCl 0.1M après l'accumulation de Pb^{2+} (pH=7)

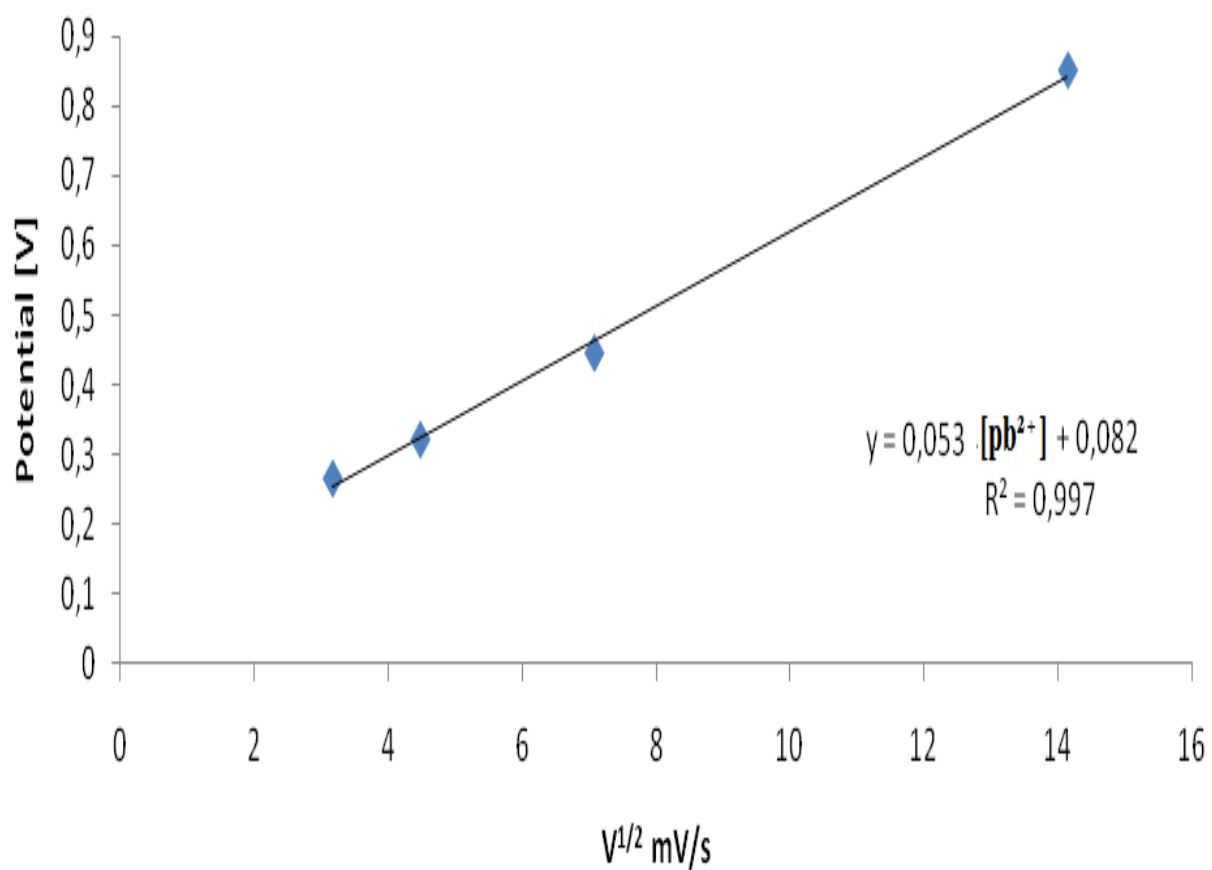


Figure 23. Influence de la vitesse de balayage sur les potentiels de pics d'oxydation dans une solution de trisHCl 0.1M après l'accumulation de Pb^{2+} (pH=7).

II. 2. La courbe d'étalonnage

La Figure 24 présente des courbes typiques de SWV enregistrées pour l'électrode ADN-CPE, après 20 min du temps d'accumulation, sur des solutions contenant des concentrations de plomb comprises entre 5 mmol.L⁻¹ et 25 mmol.L⁻¹. Les intensités des pics d'oxydation du plomb augmentent linéairement avec la concentration de Pb²⁺ (Fig. 25). L'oxydation est donc limitée par l'adsorption du plomb sur la matrice de l'ADN.

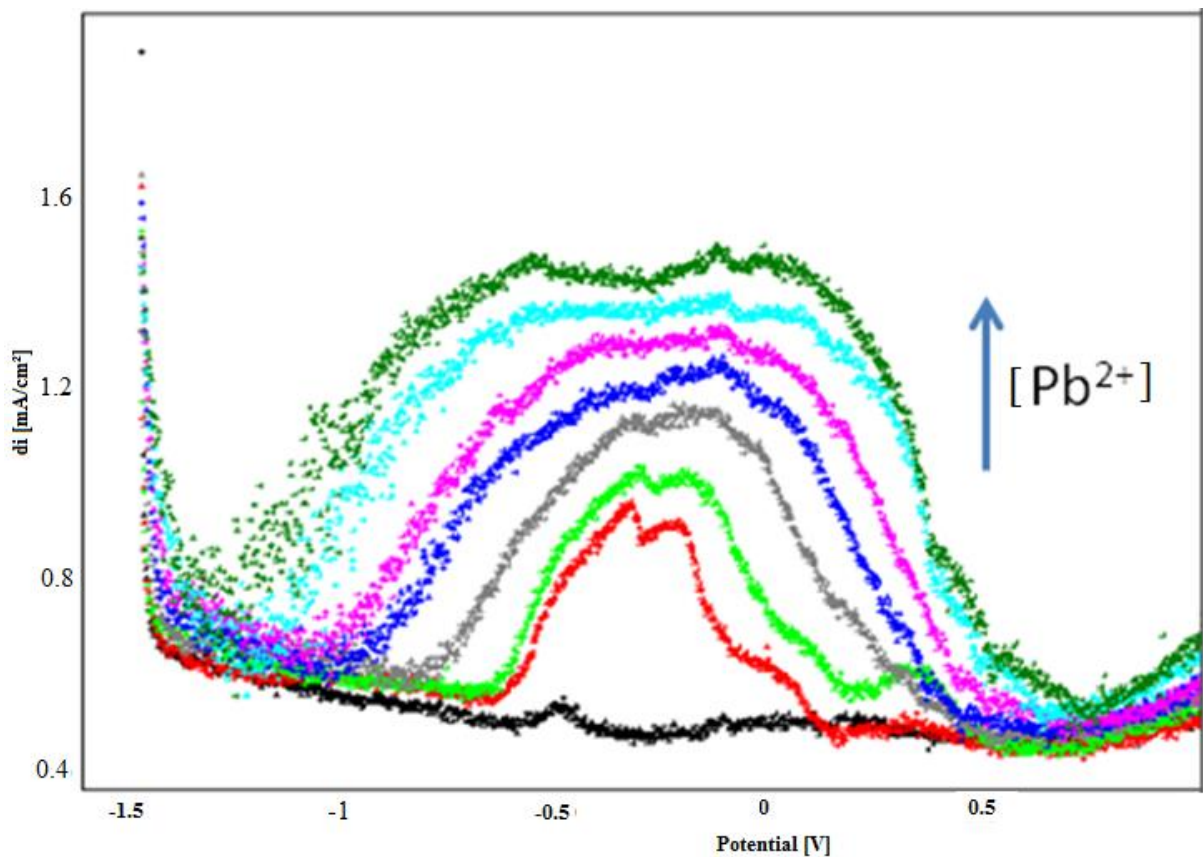


Figure 24. Voltammogrammes SQW enregistrés à l'ADN-CPE, dans une solution tampon après la préconcentration à différentes concentrations de plomb.

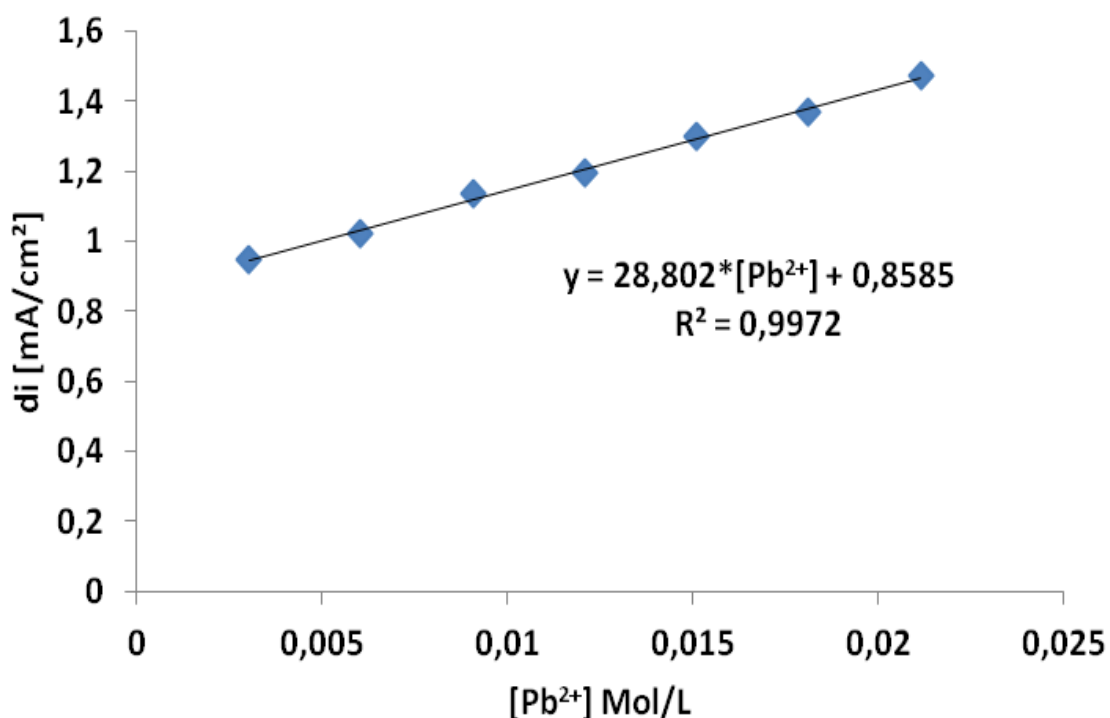


Figure 25. Evolution des densités de courant des pics en fonction de la concentration de Pb (II).

L'écart-type calculé a été utilisé pour la détermination de la limite de détection (DL, $3 \times \text{Std}$) et de la limite de quantification (QL, $10 \times \text{Std}$). A partir de ces valeurs, la détection était de $1,23 \cdot 10^{-5}$ mol / L. Cette valeur reste correcte par rapport à celle trouvée avec une électrode CPE modifiée par des molécules organiques [14].

La Figure 26 représente les images prises par microscopie optique, enregistrées respectivement, pour l'électrode CPE (c) et ADN-CPE (d). Nous notons qu'après accumulation des électrodes étudiées dans la solution contenant les ions Pb^{2+} , les clichés montrent des agglomérats de plomb adsorbé à la surface, la densité du plomb est plus importante sur l'électrode modifiée par l'ADN, ce qui confirme l'activité de cette électrode, vis-à-vis de la détermination des ions Pb^{2+} .

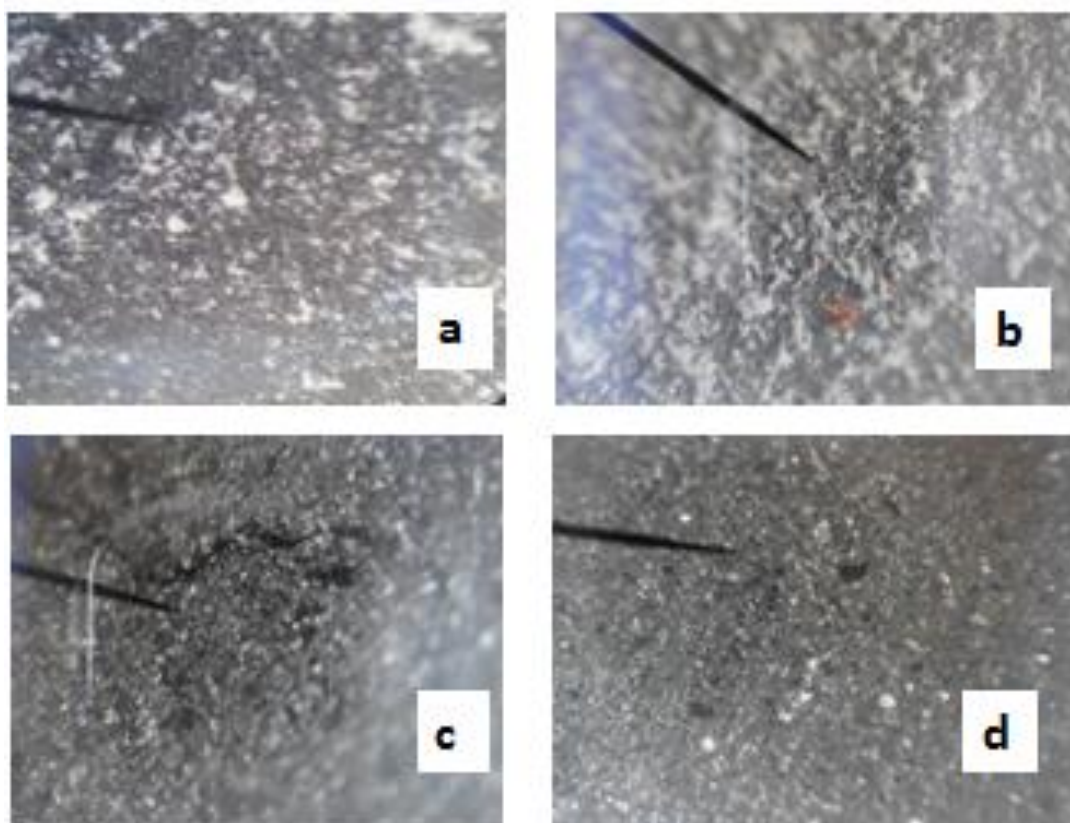


Figure 26. Microscopie optique correspondant à a-CPE/Pb(II), b-CPE-ADN/Pb(II), c-CPE et d-ADN-CPE.

II. 3. Interférence des ions Hg^{2+} , Pb^{2+} et Cu^{2+}

Nous avons testé des éléments qui peuvent présenter une certaine compétition au niveau des sites sur ADN-CPE. Ces tests ont été utilisés sous les conditions optimisées.

L'oxydation anodique du plomb se produit au potentiel -0.4 V/ECS, inférieur à celle de mercure du -0.1 V/ECS. Le pic d'oxydation du cuivre métallique se manifeste, à environ $+0.2$ V/ECS, supérieur à celui d'oxydation du mercure. La séparation nette des trois pics nous offre la possibilité de doser les trois métaux simultanément (Fig.17).

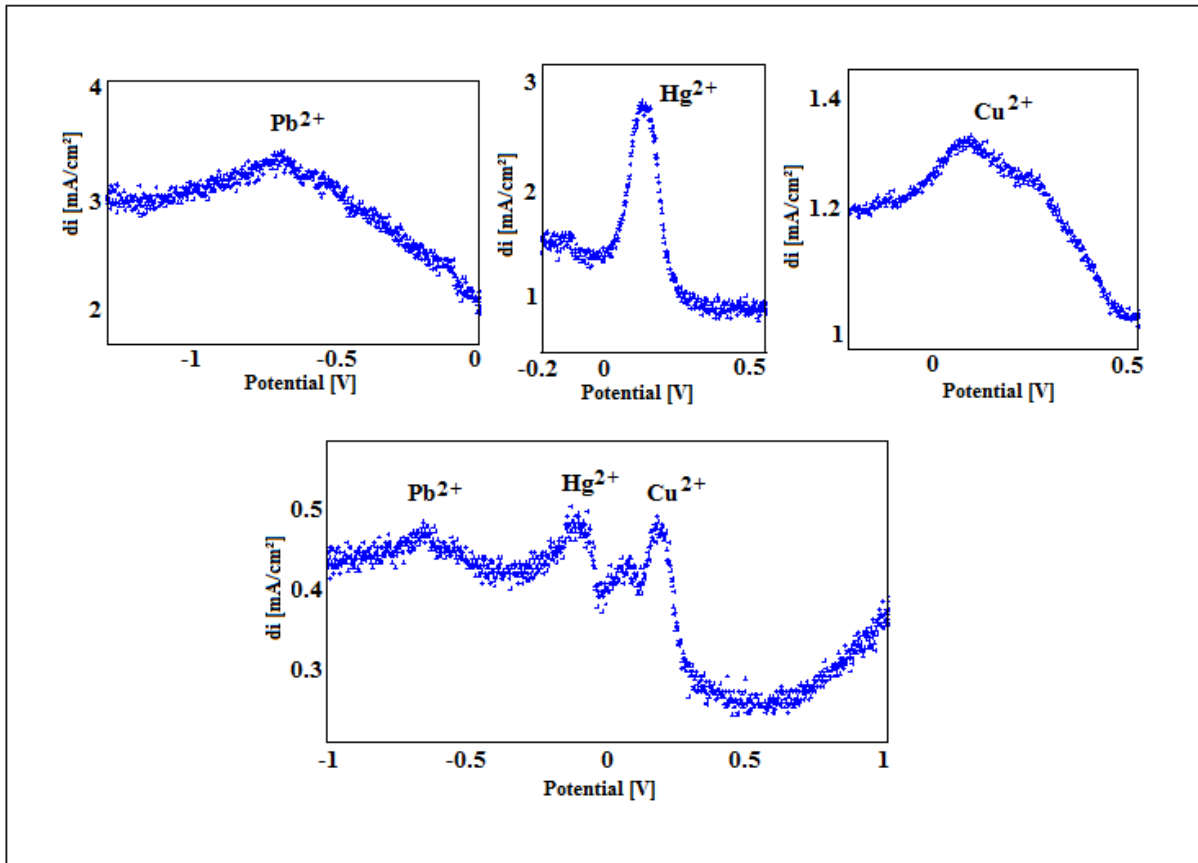


Figure 27. Effet des interférences des trois cations étudiés en solution tampon.

Nous constatons une diminution des densités de courant des pics d'oxydation des 3 ions étudiés. Ceci est expliqué par la capacité de l'ADN à adsorber ces ions. A l'issue de cette étude, il apparaît que le domaine de potentiel d'application d'électrode à pâte de carbone modifiée est large. Il nous permettra de détecter simultanément des ions métalliques ce qui n'est pas le cas avec d'autres électrodes.

II. 4. Application analytique : eau du robinet

La présence de ces métaux lourds est souvent associée à d'autres espèces (nitrates, zinc, etc...), ce qui rend l'analyse parfois difficile. Pour cet effet les performances de l'électrode élaborée (ADN-CPE) ont été évaluées dans des échantillons réels, tel que, l'eau destinée à la boisson (eau du robinet) fig.28D et le jus d'orange (fig. 28C). La présence du plomb (II) dans les deux milieux, se manifeste en voltmmétrie cyclique par deux pics redox, le premier cathodique vers environ, 0 V et le second dans le sens du balayage anodique à -0.1 V.

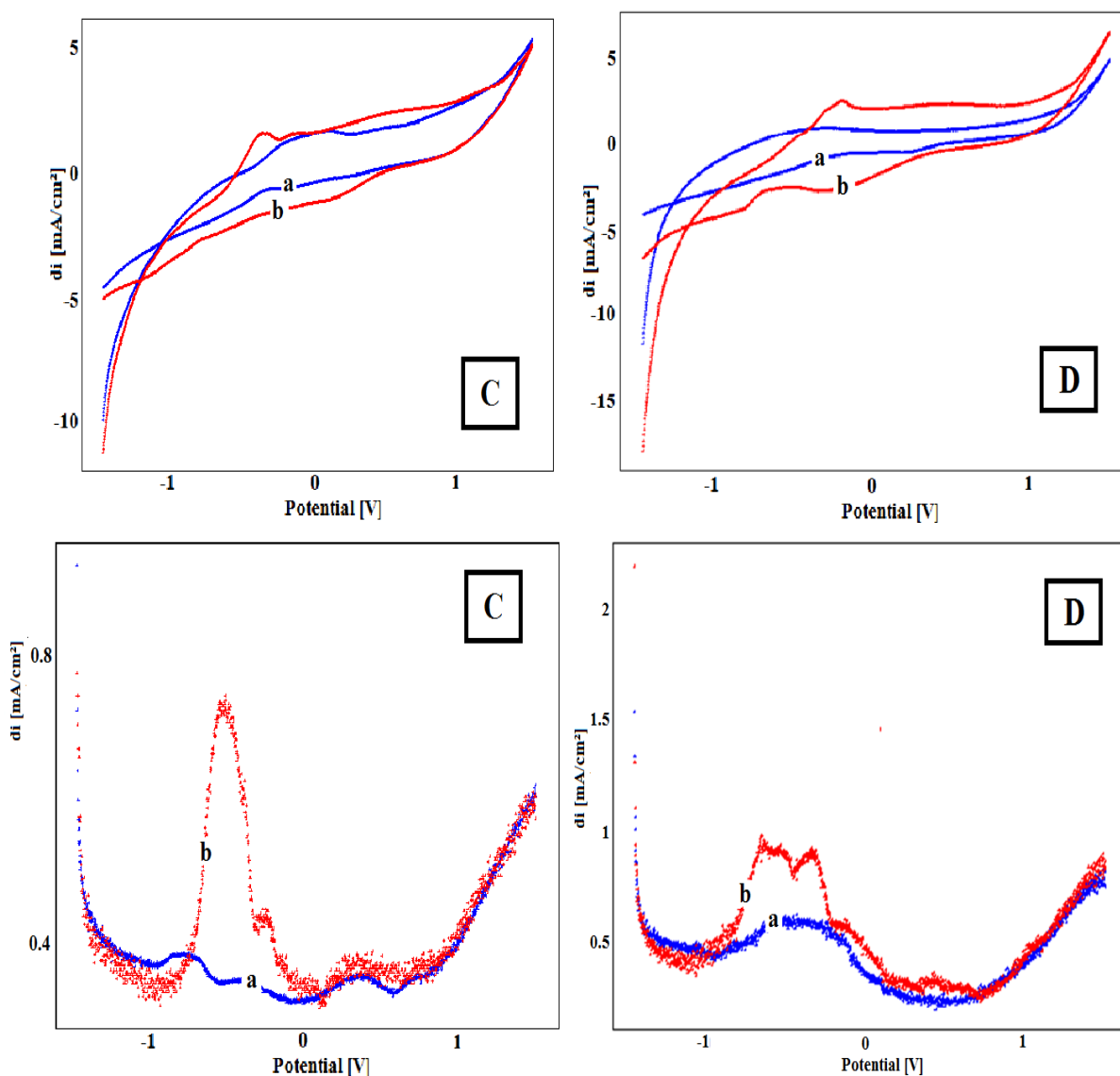


Figure 28. Voltammogrammes enregistrés dans les deux milieux jus d'orange (C) et l'eau de robinet (D) de l'électrode CPE-ADN en présence (b) et en absence (a) de plomb (II).

II. 5. Comportement électrochimique de l'électrode modifiée Polymère-ADN-CPE

La Figure 29 donne les voltammogrammes cycliques enregistrés, respectivement, pour les électrodes polymère-CPE (courbe a) et polymère-ADN-CPE (courbe b), dans une solution de 0.1 M trisHCl. Les deux voltammogrammes n'ont pas la même allure, ce qui confirme la modification de l'électrode par l'ADN. La présence des pics redox (anodique à 0.6 V et cathodique vers 0 V) montre que le film d'ADN déposé par auto assemblage à la surface de l'électrode CPE possède des propriétés redox.

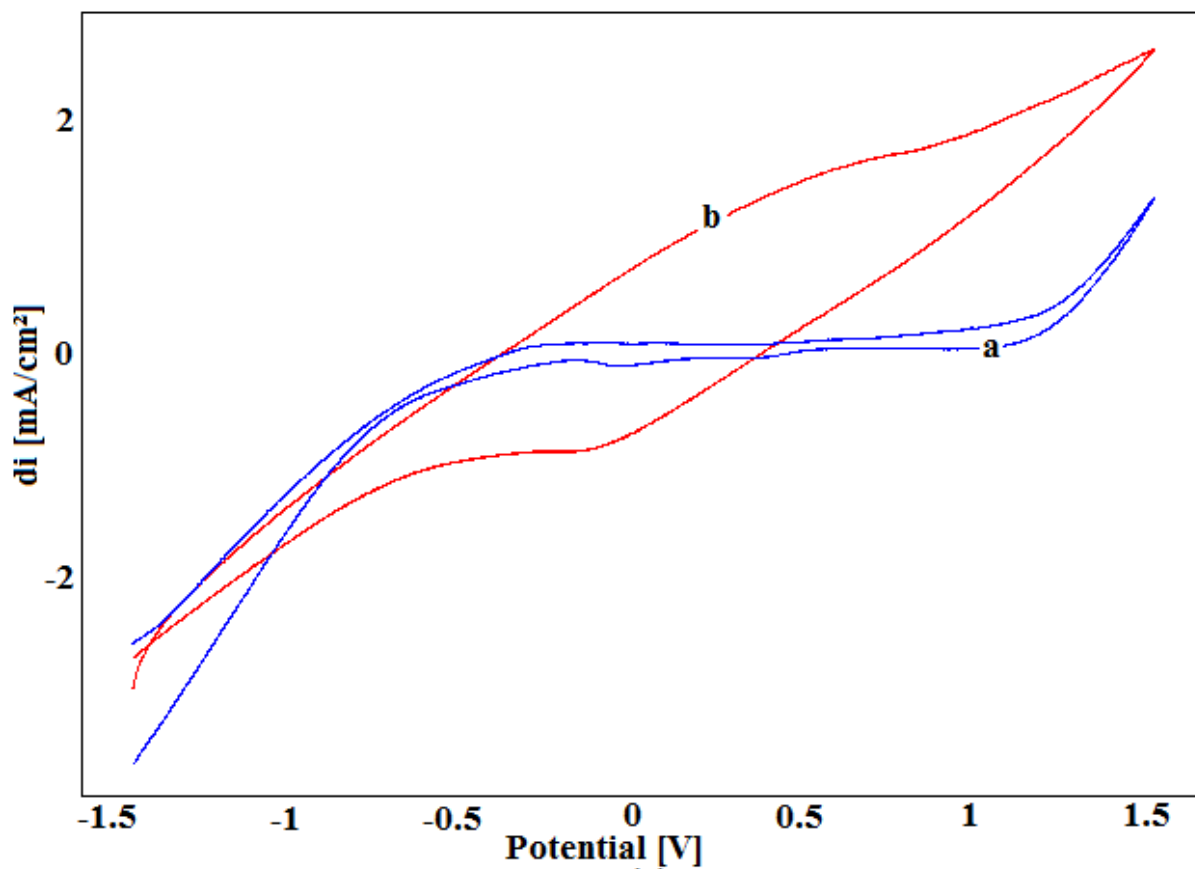


Figure 29. Voltamogrammes cycliques de CPE-Polymer (courbe a) et CPE-ADN-Polymère (courbe b), enregistré à une vitesse de balayage de 0,1 V / s dans une solution de trisHCl 0,1 M.

La couverture de l'électrode ADN-CPE par un polymère, affecte considérablement les propriétés électrochimiques de l'électrode, probablement en raison de la chute de la conductivité de la matrice (Fig. 30).

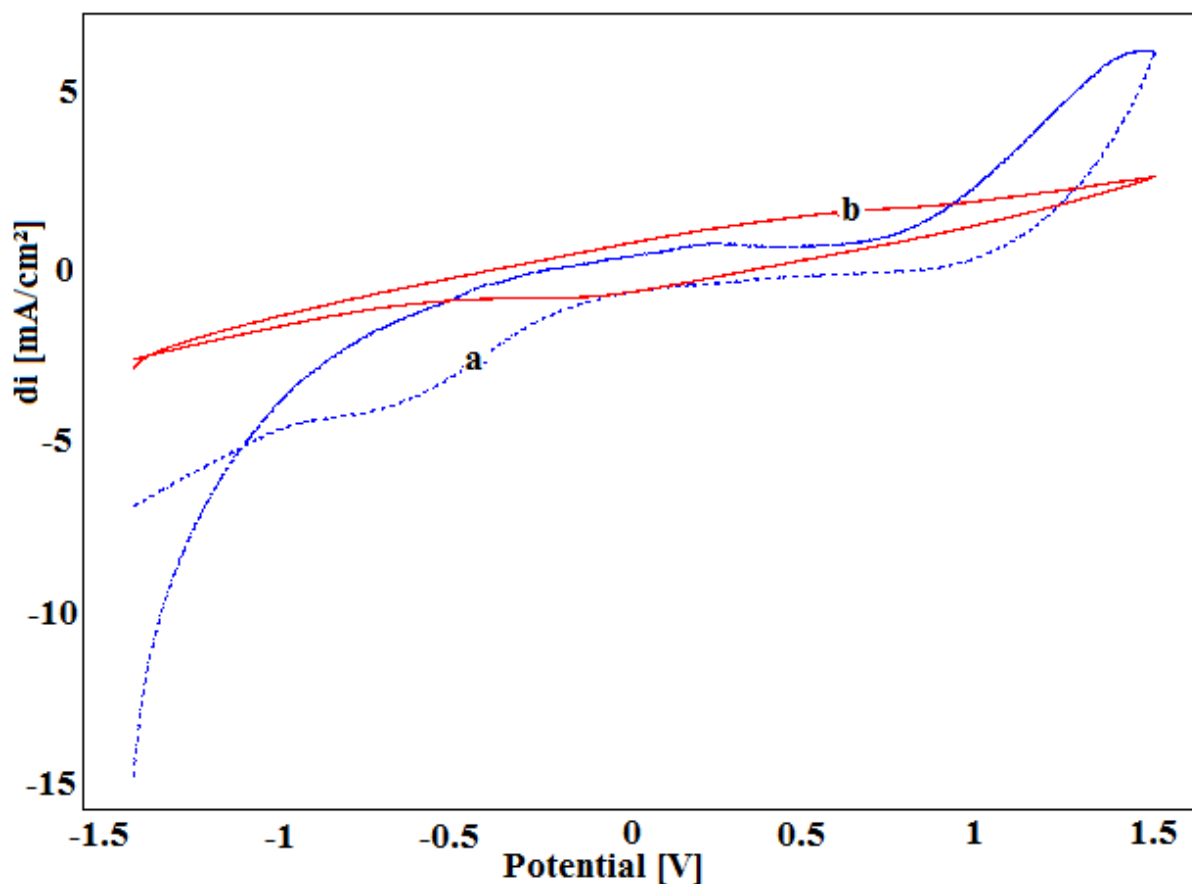


Figure 30. Voltammogrammes cycliques de CPE-ADN (courbe a) et CPE-ADN-Polymère (courbe b), enregistré à une vitesse de balayage de 0,1 V / s dans une solution de trisHCl 0,1 M.

Pour justifier la modification de l'électrode à pâte de carbone par l'ADN, nous avons comparé les activités des électrodes polymère-CPE et polymère-ADN-CPE, vis-à-vis de l'oxydoréduction des ions Pb^{2+} . La Figure 31 présente les voltammogrammes cycliques enregistrés, respectivement, pour les électrodes polymère-CPE et polymère-ADN-CPE, préconcentrées dans une solution contenant $6,02 \times 10^{-4}$ mol l^{-1} des ions Pb^{2+} , en milieu électrolytique et à 100 mV/s. Nous constatons que la présence de l'ADN augmente l'activité de l'électrode, et fait apparaître clairement le pic de réduction du plomb (II) vers environ 0.1 V. Comme il a été démontré auparavant, le polymère utilisé assure une sélectivité des ions Pb^{2+} qui, une fois traversés la membrane seront chélatés par le film biologique. Ces résultats sont confirmés par voltammétrie à onde carrée, (Fig. 32), qui présente un pic de réduction bien défini à -0.5 V.

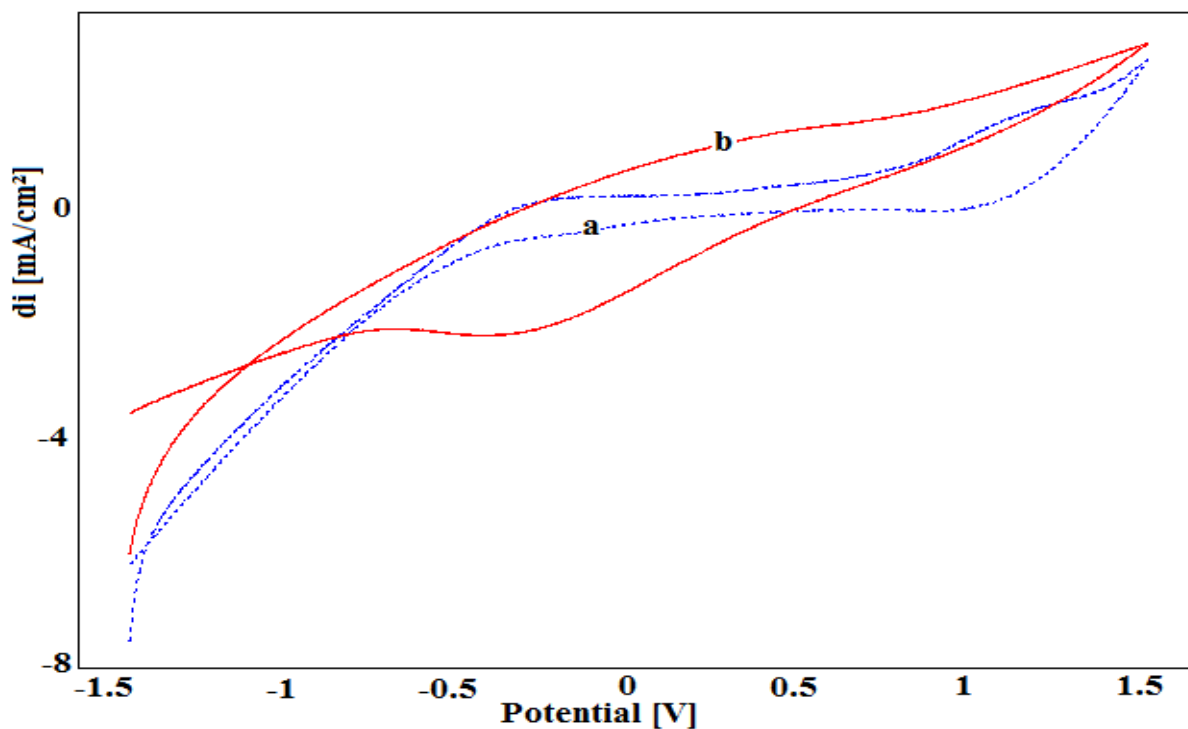


Figure 31. Voltamogrammes cycliques de CPE-Polymer (courbe a) et CPE-ADN-Polymère (courbe b), enregistré à une vitesse de balayage de 0,1 V / s dans une solution de trisHCl 0,1 M, la solution de préconcentration est de 0,602 mmol / L de plomb.

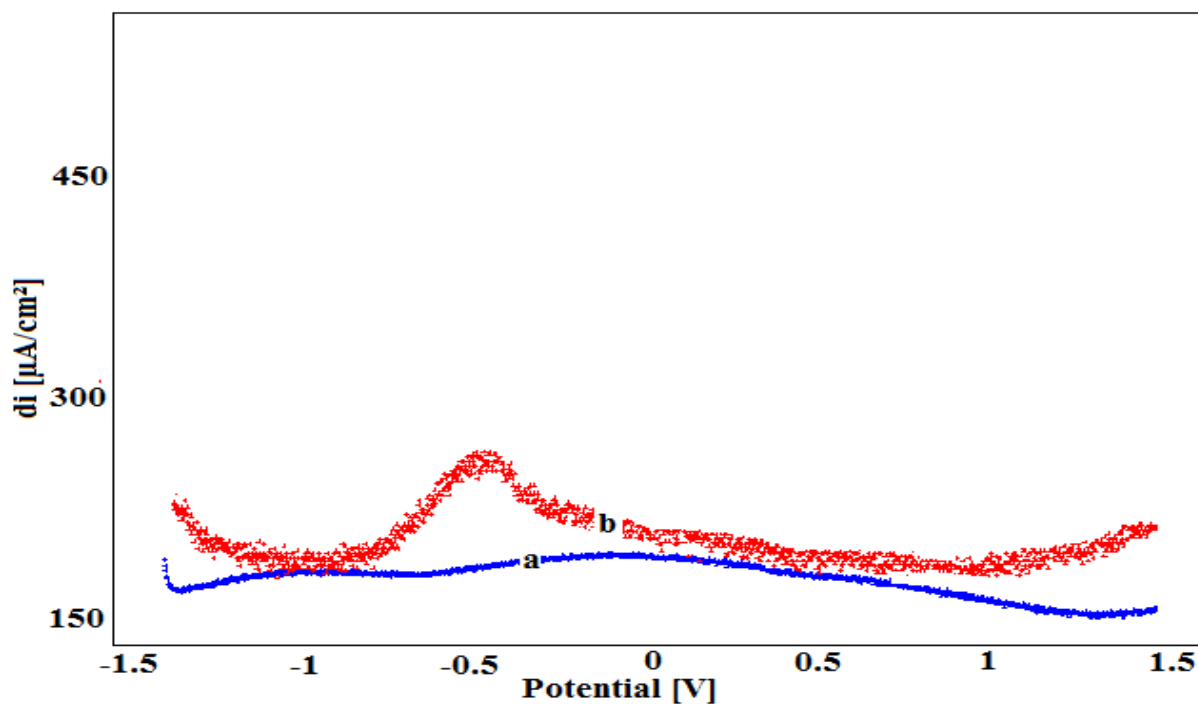


Figure 32. Voltamogrammes à onde carré de CPE-Polymère (courbe a) et CPE-ADN-Polymère (courbe b), enregistré à une vitesse de balayage de 0,1 V / s dans une solution de trisHCl 0,1 M, la solution de préconcentration est 0,602 mmol / L de plomb.

II. 5. 1. Chélation du plomb

La Figure 33 illustre les voltammogrammes cycliques enregistrés pour l'électrode polymère-ADN-CPE avant et après préconcentration dans les conditions optimales, dans une solution contenant les ions Pb^{2+} . L'augmentation des densités de courant montre l'activité de l'électrode élaborée, vis-à-vis, de la réaction d'oxydoréduction du plomb. Le pic apparaît dans le sens du balayage cathodique, vers environ -0.4 V, correspond à la réduction des ions Pb^{2+} préconcentrés dans la matrice de l'électrode, alors que le pic anodique visible à 0.5 V est attribué à l'oxydation du plomb (Pb).

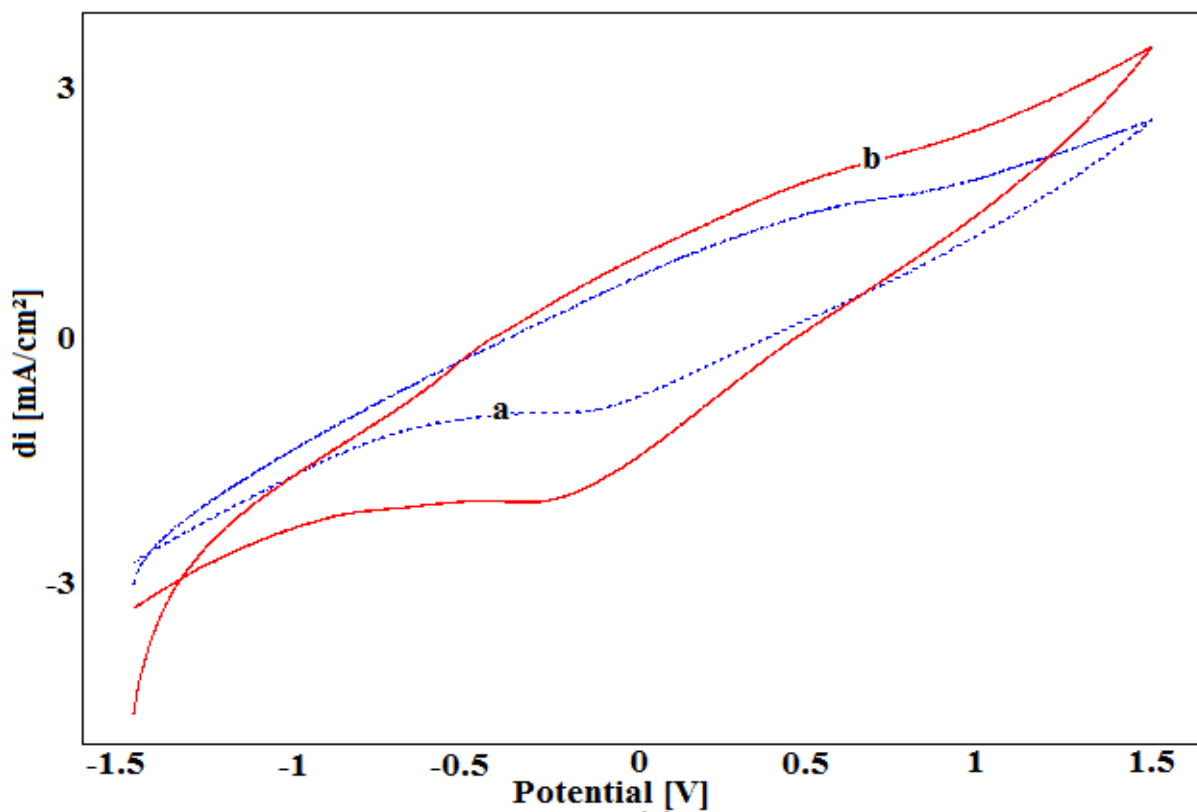


Figure 33. Voltammogrammes cycliques de CPE-ADN-Polymère avant préconcentration (courbe a) et après préconcentration dans une solution contenant 1,806 mmol/l de Plomb (courbe b) dans une solution de trisHCl 0,1 M, enregistré à une vitesse de balayage de 0,1 V.

II. 5. 2. Effet de la vitesse de balayage

Sur la Figure 34, nous présentons les voltammogrammes cycliques, enregistrés par l'électrode de CPE-ADN-polymère préconcentrée dans une solution contenant les ions Pb^{2+} , à différentes vitesses de balayage (de 50 à 200mv/s). Les densités de courant augmentent linéairement avec la vitesse de balayage justifiant la présence d'un processus de diffusion.

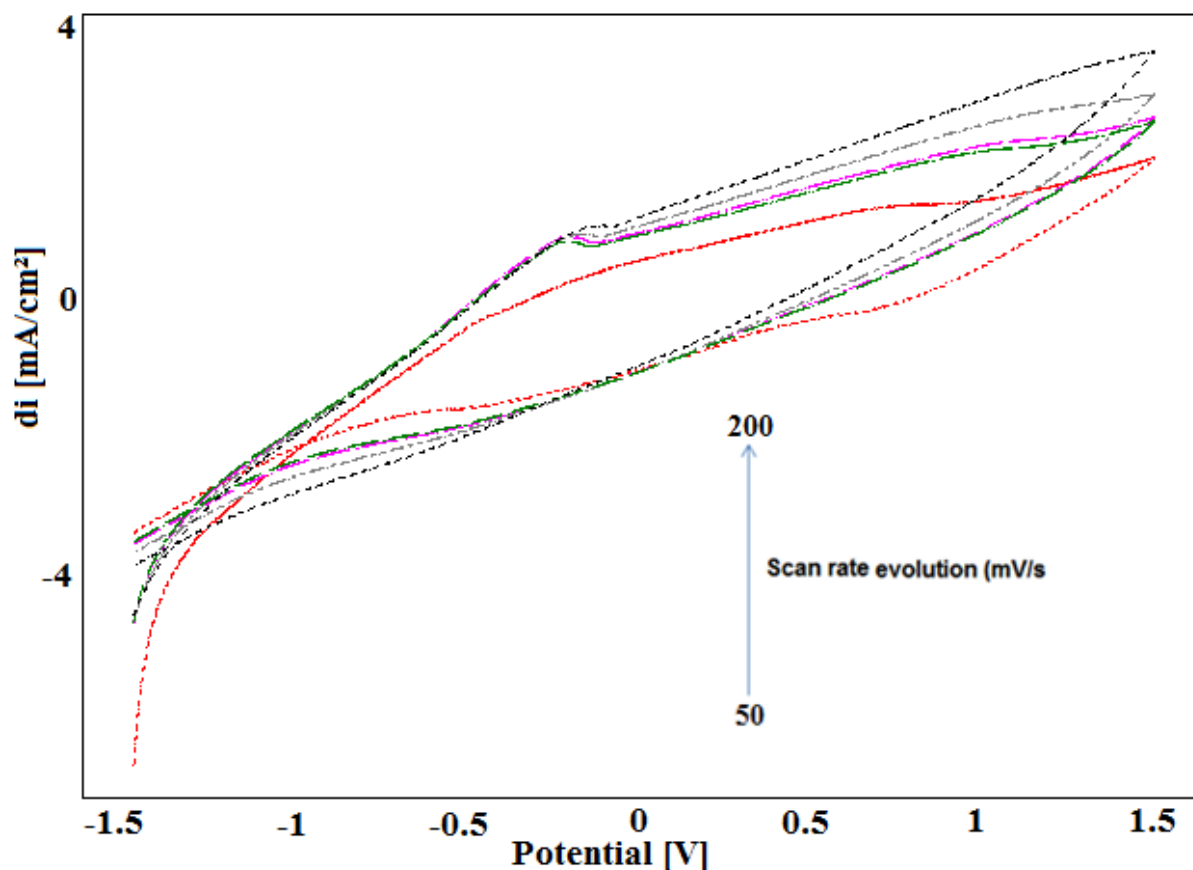


Figure 34. Voltammogrammes cycliques de CPE-ADN-polymère, enregistrés à différents vitesses de balayage dans une solution de trisHCl 0,1 M, la solution de préconcentration contient 4,214 mmol / L du plomb.

II. 5. 3. Courbe de calibration

L'effet de la concentration en ion Pb^{2+} , a été étudié conjointement par voltammétrie cyclique et voltammétrie à onde carrée (Figs. 35 et 36). L'augmentation de la concentration du plomb est traduite par une augmentation des densités de courant, ce qui montre que l'électrode n'est pas limitée par l'effet de la saturation de sa surface. La droite de calibration est déduite de la voltammétrie à onde carrée (Fig. 37), les densités de courante augmentent linéairement avec la concentration du plomb. Cette linéarité est exprimée par la relation suivante:

$$di = 0,0238[\text{Pb}^{2+}] + 0,2094 \quad R^2 = 0,9475$$

- La limite de détection : $1,73 \times 10^{-7} \text{ mol.L}^{-1}$.
- La limite de quantification : $5,77 \times 10^{-7} \text{ mol.L}^{-1}$.

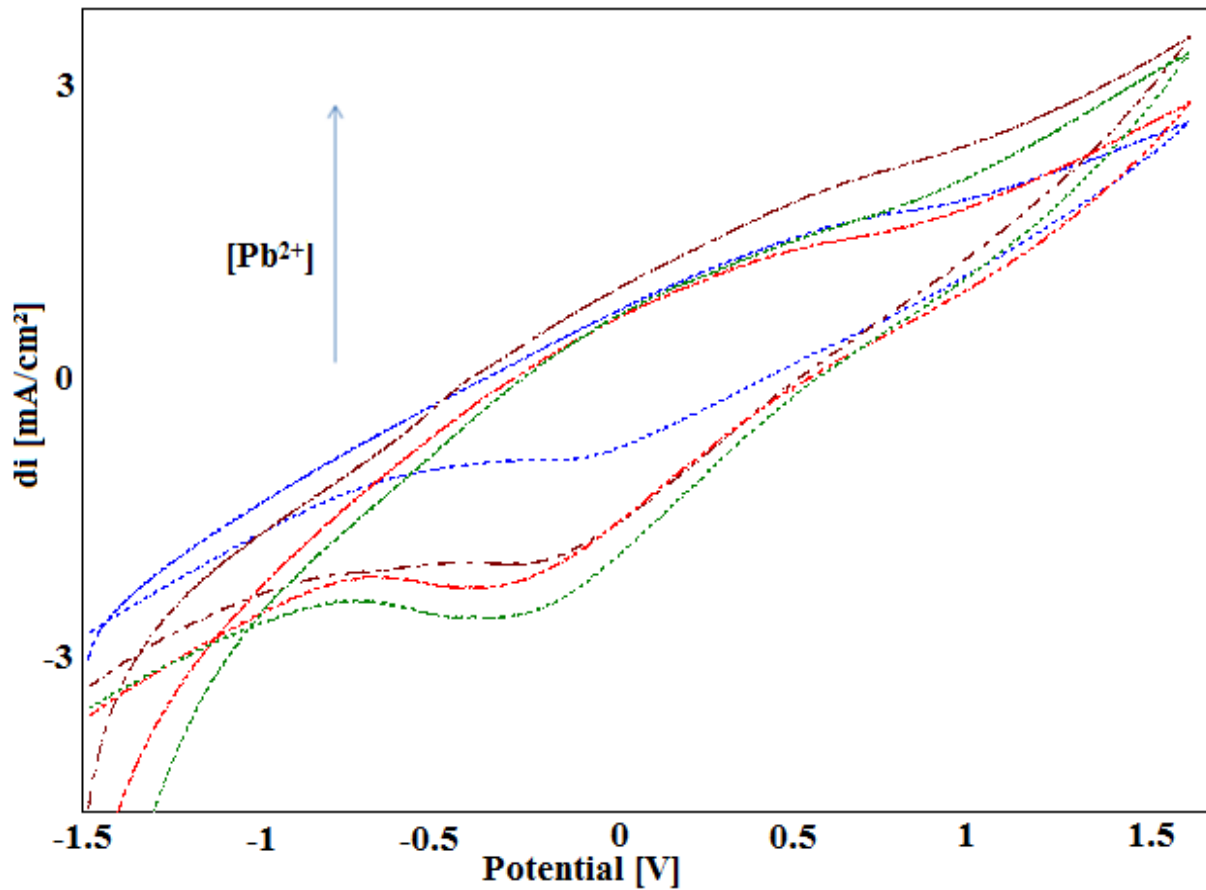


Figure 35. Voltammogrammes cycliques de CPE-ADN-polymère, enregistré une vitesse de balayage de 0,1 mV / s dans une solution 0,1M de trisHCl, après préconcentration dans des solutions contenant différentes concentrations du plomb (II).

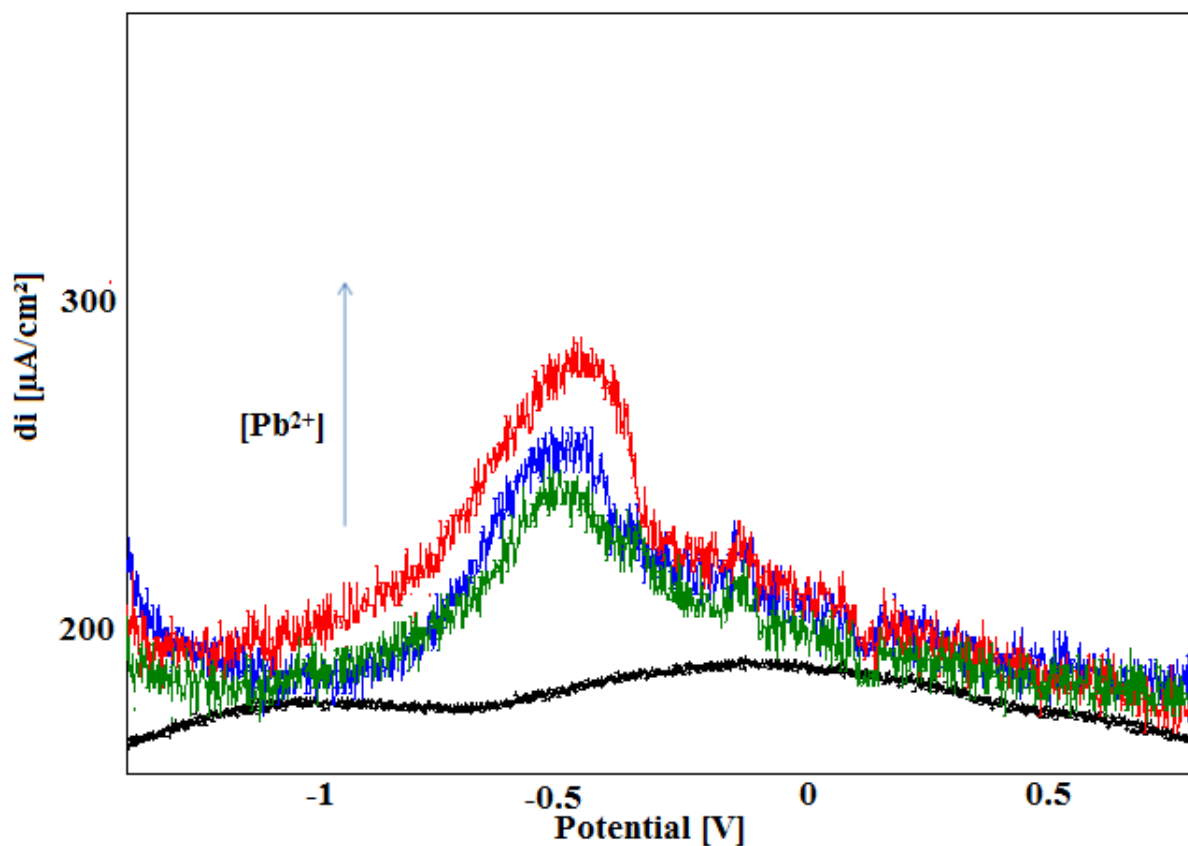


Figure 36. Voltamogrammes à onde carrée de Polymer-ADN-CPE, enregistré à des vitesses de balayage de 0,1 mV / s dans une solution 0,1M de trisHCl, après la préconcentration dans des solutions contenant différentes concentrations du plomb (II).

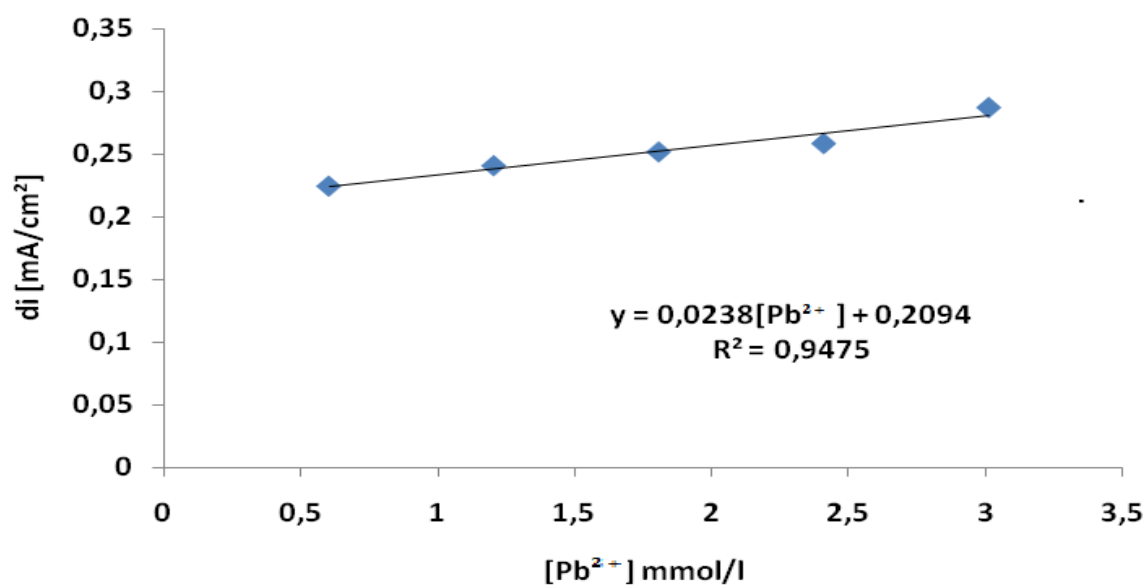


Figure 37. Evolution de la densité électrique avec la concentration du plomb.

II. 5. 4. Etude de la morphologie.

La morphologie de la surface de l'électrode élaborée a été effectuée par AFM, Les clichés de la Figure 38 montre que le polymère est adhéré à la surface même après traitement électrochimique, aucune dissolution de la matrice de l'électrode n'est observée. La surface du polymère (PSF/PAA : 95/05) [15] présente une structure poreuse à l'échelle nanométrique.

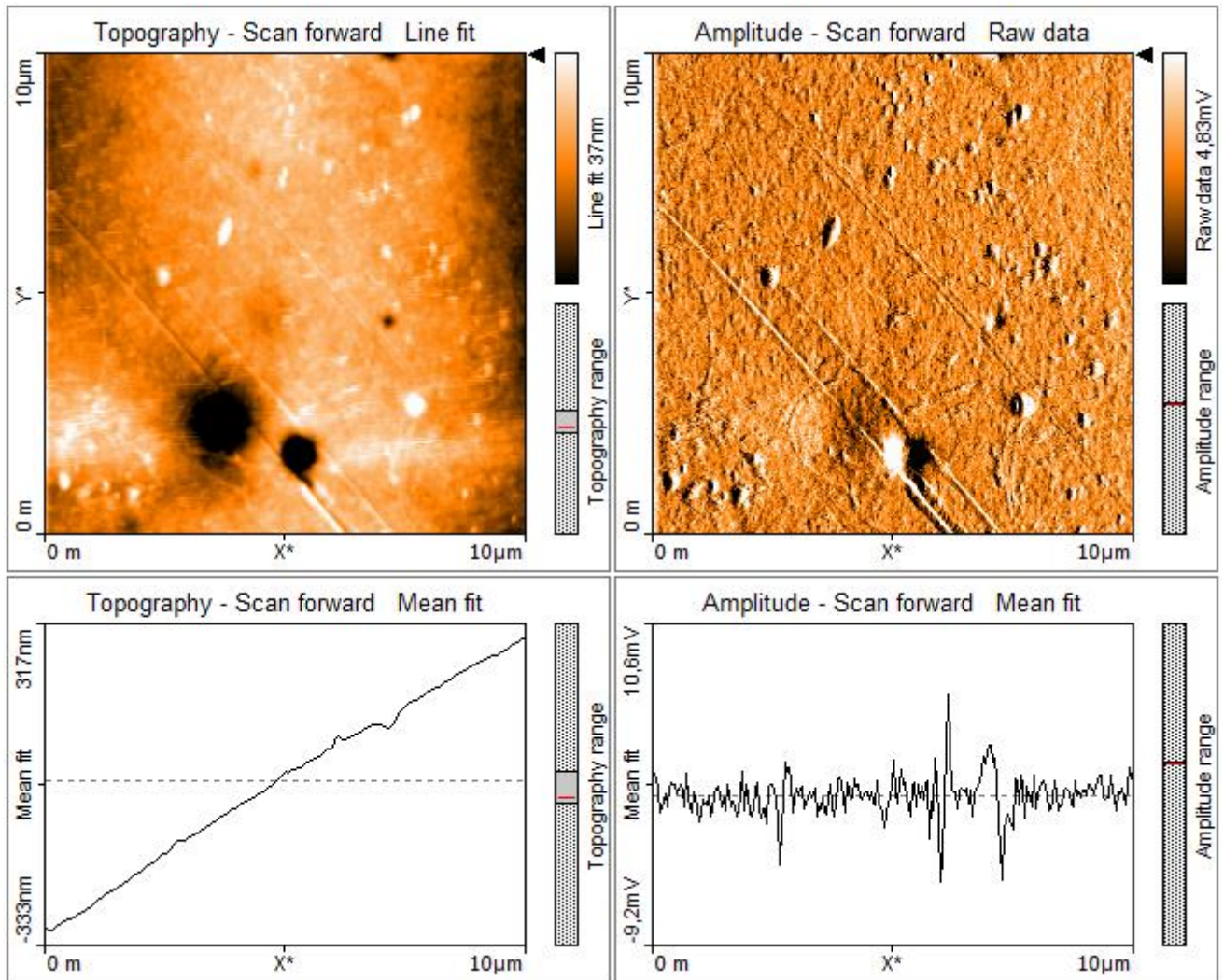


Figure 38. Images AFM de l'électrode polymère-ADN-CPE utilisé.

Conclusion :

En conclusion, il a été possible de démontrer la potentialité des électrodes proposées pour la chélation des métaux lourds. Un tel biocapteur est caractérisé par une sensibilité et une reproductibilité supérieure à celle de l'électrode en pâte de carbone non modifiée [16]. La recherche électrochimique sur l'ADN est d'une grande pertinence pour expliquer de nombreux mécanismes biologiques. L'électrode modifiée par l'ADN est un très bon modèle pour simuler l'interaction acide nucléique avec les membranes cellulaires, les composés carcinogènes potentiels pour l'environnement et pour clarifier les mécanismes d'action des médicaments utilisés comme métaux lourds.

Les techniques voltammétriques ont montré que l'électrode CPE-ADN-polymère présente une sensibilité très élevée par rapport à l'électrode CPE-ADN, Le polymère empêche la détérioration du film d'ADN.

References

- [1] Theâvenot, Toth K, Durst RA, Wilson GS (1999) Wilson, *Electrochemical Biosensors: Recommended Definitions and Classification*. *Appl Chem* 71: 2333-2348.
- [2] Palecek E (2002) Past, present and future of nucleic acids electrochemistry. *Talanta* 56: 809-819.
- [3] Mikkelsen SR (1996) Electrochemical biosensors for DNA sequence detection. *Electroanalysis* 8: 15-19.
- [4] Wang J, Rivas G, Cai X, Palecek E, Nielsen P, et al. (1997) DNA electrochemical biosensors for environmental monitoring. A review. *Anal Chim Acta* 347: 1-8.
- [5] Wang J, Cai X, Rivas G, Shiraishi H, Dontha N (1997) Nucleic-acid immobilization, recognition and detection at chronopotentiometric DNA chips. *Biosens Bioelectron* 12: 587-599.
- [6] Palecek E, Fojta M, Jelen F, Vetterl V (2002) *Bioelectrochemistr*. In: Bard AJ, Stratmann M (eds.) *The Encyclopedia of Electrochemistry*. Wiley-VCH Verlag, Weinheim.
- [7] Oliveira Brett M, Serrano SHP, Piedade JAP (1999) *Comprehensive Chemical Kinetics, Applications of Kinetic Modelling*. Elsevier, Oxford, UK.
- [8] Pividori MI, Merkoçi A, Alegret S (2000) Electrochemical genosensor design: immobilisation of oligonucleotides onto transducer surfaces and detection methods. *Biosens Bioelectron* 15: 291-303.
- [9] Mascini M, Palchetti I, Marrazza G (2001) DNA electrochemical biosensors. *Fresenius J Anal Chem* 369: 15-22.
- [10] Palecek E, Fojta M (2001) Detecting DNA Hybridization and Damage. *Anal Chem* 73: 74 A-83 A.
- [11] PaneliMG, Voulgaropoulos A (1993) Applications of adsorptive stripping voltammetry in the determination of trace and ultra-trace metals. *Electroanalysis* 5: 355-373.
- [12] Kotkar R, Srivastava K (2006) Voltammetric determination of paraaminobenzoic acid using carbon paste electrode modified with macrocyclic compounds. *Sensors and Actuators* 119: 524-530.
- [13] Valery HG, Ngono TR, Saâdane H, Ennachete M, Khouili M, et al. (2013) Evaluation of Carbon Paste Electrodes Modified with Organic Molecules for the Analysis of Heavy Metals by Square Wave Voltammetry. *Pharmaceut Anal Acta* 4: 271.
- [14] Lauriane NTR, Najih R, Chtaini A (2014) Electrochemical Sensor of Heavy Metals Based on Chelating Compounds. *Pharm Anal Acta* 5: 4.
- [15] Chamekh Ould M'Bareck, Quang Trong Nguyen, Stephane Alexandre, Irene Zimmerlin, *Journal of Membrane Science* 278 (2006) 10–18.
- [16] Touzara S, Najih R, Chtaini A (2015) Electrochemical Chelation of Lead by NDA Modified Carbon Paste Electrode. *J Biosens Bioelectron* 6: 177.

**Chapitre IV : Capteur électrochimique à base de carbone modifié
par 2-benzimidazolethiole pour la chélation thérapeutique du
plomb.**

Introduction

La surcharge du plomb est une substance fortement toxique ; l'exposition à cette substance peut produire un éventail d'effets défavorables sur la santé. Les adultes et les enfants peuvent souffrir des effets dus à l'empoisonnement au plomb, mais l'empoisonnement au plomb chez l'enfant est beaucoup plus fréquent. Le plomb a été classé comme métal toxique, même répandu à de très faibles concentrations, il a des effets préjudiciables sur les plantes [1]. Le plomb est un métal toxique persistant qui a la capacité de s'accumuler chez l'homme, les animaux et les plantes. Trouver la méthode analytique sensible, rapide et simple pour la détermination et la chélation précise du Pb^{2+} est donc obligatoire.

Il existe quelques revues sur l'utilisation des capteurs électrochimiques en raison des avantages tels que la sensibilité élevée, la rapidité de réponse, la simplicité, le faible coût, les dispositifs miniaturisés et automatisés [2, 3]. Les activités de recherche dans la préparation de capteurs électrochimiques pour détecter les métaux lourds ont considérablement augmenté au cours des dernières décennies avec le développement de nouveaux matériaux et de nouveaux processus de fabrication [4, 5].

Récemment, l'assemblage de couches organiques sur des surfaces a été largement utilisé dans la fabrication de capteurs électrochimiques en raison de leurs caractéristiques uniques telles que la surface élevée et une forte capacité d'adsorption [6, 7].

Les électrodes à pâte de carbone modifiées chimiquement sont dotées de nombreuses qualités, comme la facilité de manipulation et l'applicabilité aux oxydations anodiques [8, 9]. Différents modificateurs de la pâte de carbone ont été rapportés au cours des dernières années pour l'analyse électrochimique discriminante des métaux lourds.

Récemment, des méthodes impliquant des mécanismes radicalaires ont été développées pour la modification de surfaces de carbone avec des couches d'espèces organiques fixées de manière covalente. Le dépôt de mono ou multicouches sur les surfaces de la pâte de carbone sert à la fonctionnalisation des électrodes à des fins analytiques, comme l'électroanalyse de métaux lourds [10].

Dans ce chapitre, un nouveau capteur électrochimique a été développé par l'incorporation de molécules organiques dans l'électrode de carbone. Ces nouvelles électrodes ont été utilisées pour la préconcentration chimique du plomb à des niveaux de traces [11]. L'électrode à pâte de carbone modifiée (MO-CPE) [12] par la molécule organique (2-benzimidazolethiole) peut préconcentrer le plomb métallique en solution aqueuse à la surface

du CPE modifiée en formant des complexes avec ces ions et augmente considérablement la sensibilité de sa détermination. Les données expérimentales montrent que certaines MO-CPE's ont une sensibilité élevée, une sélectivité et une reproductibilité adéquates et une large gamme linéaire opérationnelle de concentrations pour la détermination de métaux lourds dans des échantillons d'eau, dans le cadre d'augmenter la puissance et la durée de vie d'électrode modifiée nous avons protégé le film déposé par le revêtement polymère.

I. Partie expérimentale

I. 1. Appareillages

Les expériences électrochimiques ont été menées par un potentiostat voltalab (modèle PGSTAT 100, Eco Chemie B.V., Utrecht, Pays-Bas) contrôlé par le logiciel voltalab master 4. L'électrode à pâte du carbone modifiée (MO-CPE), a été utilisée comme électrode de travail (ET) ; l'électrode au calomel saturé (ECS) comme électrode de référence (ER) et une plaque de platine a été utilisée comme contre électrode (EC).

I. 2. Réactifs et produits chimiques

Tous les produits chimiques sont de qualité analytique et n'ont subi aucune autre purification. Toutes les solutions ont été préparées avec de l'eau bidistillée. Les solutions tampons de dihydrogénophosphate de sodium ($\mu = 0,1$ M), à différentes valeurs de pH, sont utilisées comme électrolytes supports pour le dosage du plomb. Le PbSO_4 a été obtenu à partir de produits chimiques Merck. La pâte de carbone (spectroscopic grade RWB, Ringsdorff-Werke GmbH, Bonn-Bad Godesberg, Germany) a été obtenue auprès d'Aldrich.

I. 3. Préparation des électrodes.

I. 3. 1. Préparation des électrodes pâte de carbone

L'électrode de carbone a été préparée en mélangeant la poudre de carbone à un liant, dans ce travail nous avons utilisé la paraffine liquide qui est un liant non conducteur. La pâte obtenue est mise en forme dans un corps d'électrode, la conductivité électronique est assurée par une tige de carbone. La modification de la surface a été effectuée par la molécule organique 2-Benzimidazolethiole, dont la structure est donnée par la Figure 39.

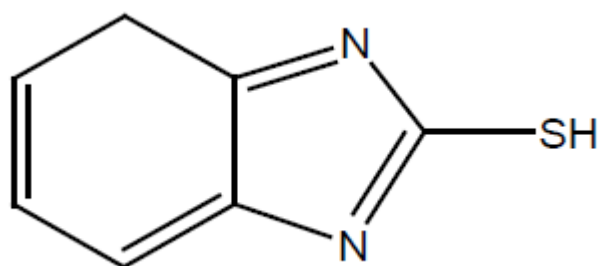


Figure 39. 2-Benzimidazolethiole.

I. 3. 2. Dépôt de la molécule organique sur l'électrode à pâte de carbone

Les électrodes à pâte de carbone modifiées par des composés organiques (MO-CPE) ont été préparées par l'immobilisation du 2-benzimidazolethiole, par trempage de l'électrode mère préformée dans une solution contenant le produit organique. L'effet du temps préconcentration qui correspond à la durée de contact de l'électrode CPE avec la solution organique a été étudié.

I.3. 3. Préparation de l'électrode modifiée par mixage

L'électrode de carbone modifiée par mixage a été préparée en mélangeant la poudre de carbone et celle de la molécule organique avec des pourcentages égaux (50% de carbone et 50% de 2-benzimidazolethiole) en présence d'un liant. Dans ce travail, nous avons utilisé la paraffine liquide, qui est un liant non conducteur. La pâte obtenue est mise en forme dans un corps d'électrode en plastique.

I. 4. Procédure

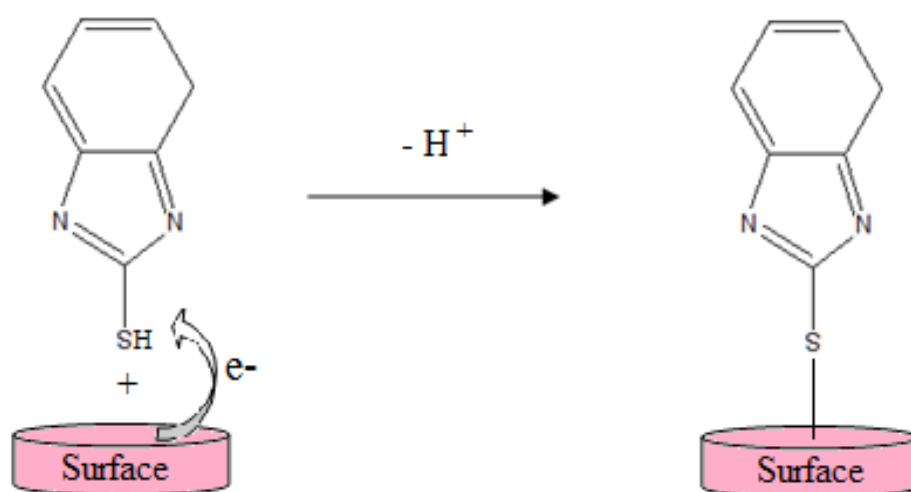
L'électrode, après avoir été lavée à l'eau bidistillée (BDW), a été transférée dans la cellule électrochimique de mesure de capacité (100 mL), la solution a été barbotée à l'azote pendant 10 minutes. Une étape de préconcentration était nécessaire; L'électrode de travail a été immergée dans la solution électrolytique en circuit ouvert. La procédure de travail initial consistait à mesurer la réponse électrochimique de l'électrode MO-CPE dans un électrolyte tampon phosphate 0,1 M.

II. Résultats et discussion

II. 1. Optimisation des conditions expérimentale

II. 1. 1. Comportement électrochimique

Les voltammogrammes cycliques (CV's), enregistrés simultanément pour l'électrode à pâte de carbone modifiée par la molécule organique (MO-CPE) [13] et l'électrode de pâte de carbone (CPE), en milieu électrolytique sont illustrés par la Figure 40. L'allure du voltammogramme a changé considérablement en présence de la molécule organique à la surface du carbone, ce qui confirme la modification de l'électrode de base selon la réaction proposée suivante :



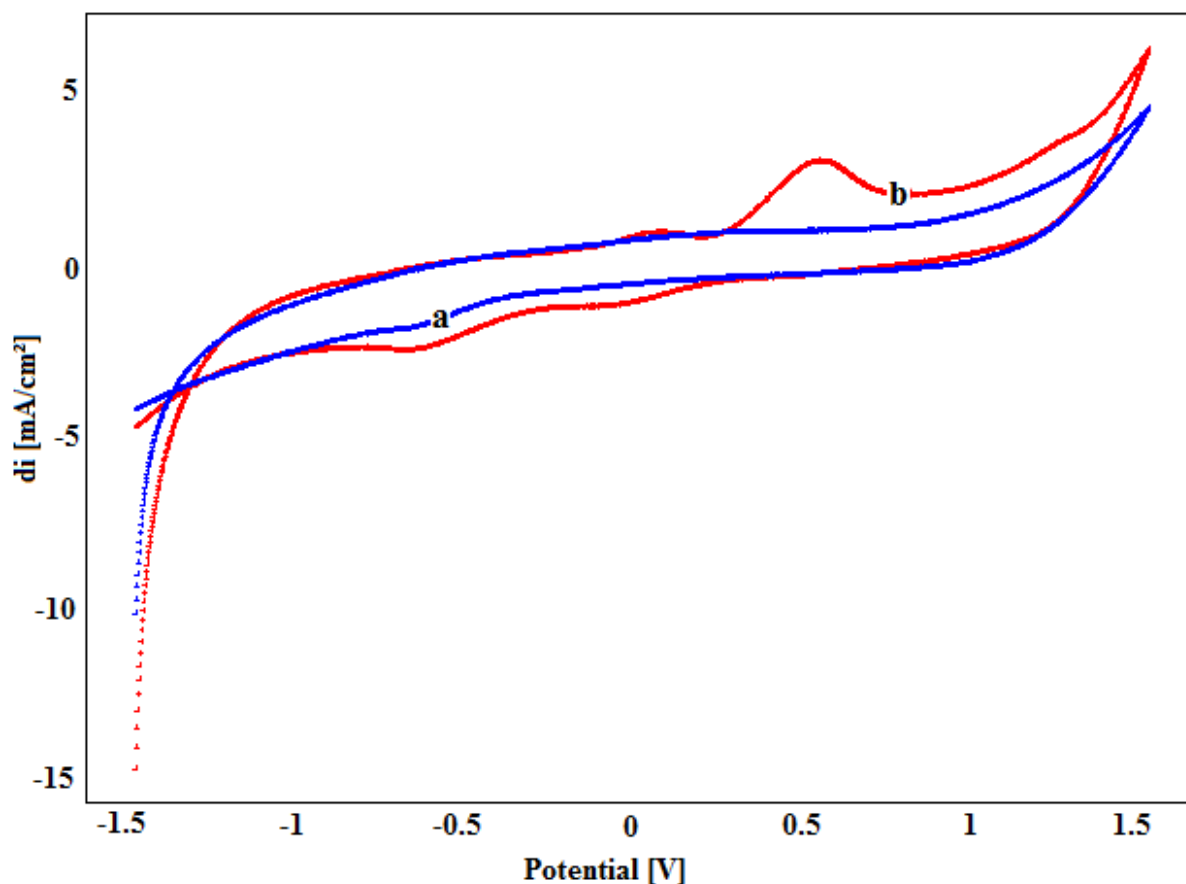
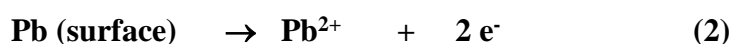
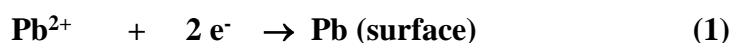


Figure 40. Les voltammogrammes cycliques enregistrés dans une solution tampon (pH 7), à CPE(a) et MO-CPE(b), vitesse de balayage 100 mV / s.

II. 1. 2. Influence du temps d'accumulation

L'influence du temps de préconcentration a été examinée, dans une solution contenant le Pb^{2+} ($3,3 \text{ mmol.L}^{-1}$), par voltamétrie cyclique (Figure 41). Dans le sens du balayage cathodique, le voltammogramme présente des densités de courant négatives, correspondant à la réaction de réduction des ions Pb^{2+} cumulés à la surface de l'électrode lors de l'étape de préconcentration, selon la réaction (1). Dans le sens du balayage anodique, le voltammogramme montre un pic aux environs de 0.1V, qui correspond à l'oxydation du plomb à la surface de l'électrode suivant la réaction (2).



La densité de courant du pic anodique augmente avec le temps de préconcentration, en particulier, entre 0 et 40 min. Au-delà de 5 minutes, la densité de courant devient presque constante en raison de la saturation probable de la surface de l'électrode modifiée (Fig. 41). Par la suite le temps de préconcentration du plomb, adopté dans les manipulations antérieures est 5 minutes.

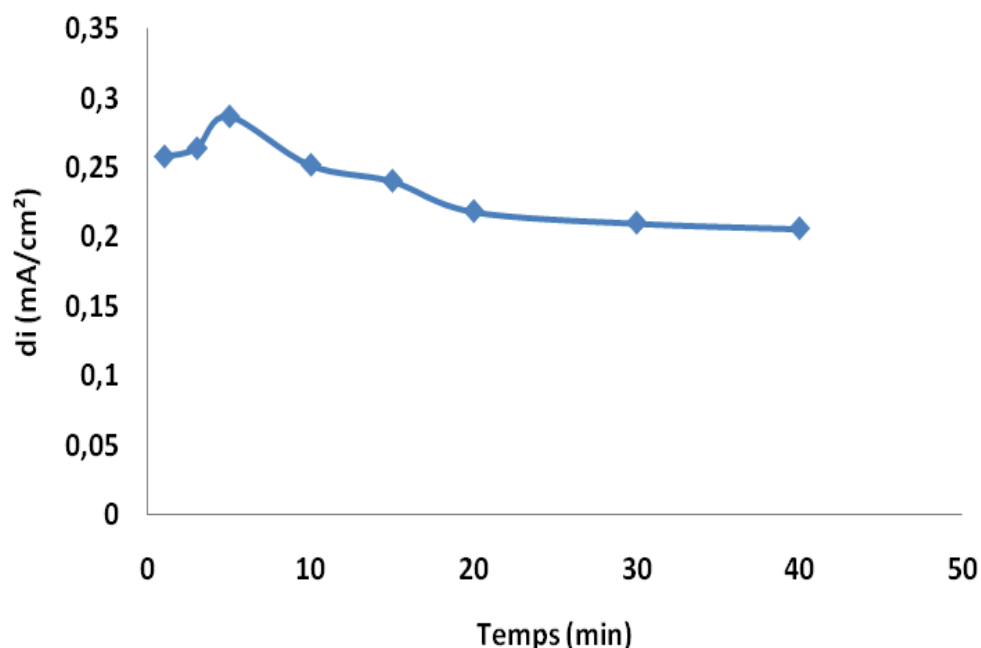


Figure 41. Effet du temps d'accumulation sur le pic d'oxydation de 10 mg/L de Pb^{2+} (pH=7) dans 0.1M TrisHCl sur CPE-MO.

II. 1. 3. Effet de la vitesse de balayage

Sur la Figure 42, nous présentons les voltammogrammes cycliques, enregistrés pour l'électrode de carbone graphite modifiée par la molécule organique, à différentes vitesses de balayage (de 40 à 150 mV/S), en milieu électrolytique contenant le plomb.

D'après les voltammogrammes cycliques, nous constatons que les pics anodiques se déplacent vers les potentiels positifs, au fur et à mesure, que la vitesse de balayage augmente.

Sur la figure 43, nous montrons la linéarité de l'évolution des densités de courant, anodiques avec la vitesse de balayage. Comme la densité de courant et le potentiel du pic

anodique, augmentent avec la vitesse de balayage, des processus contrôlés par la diffusion sont à prendre en compte.

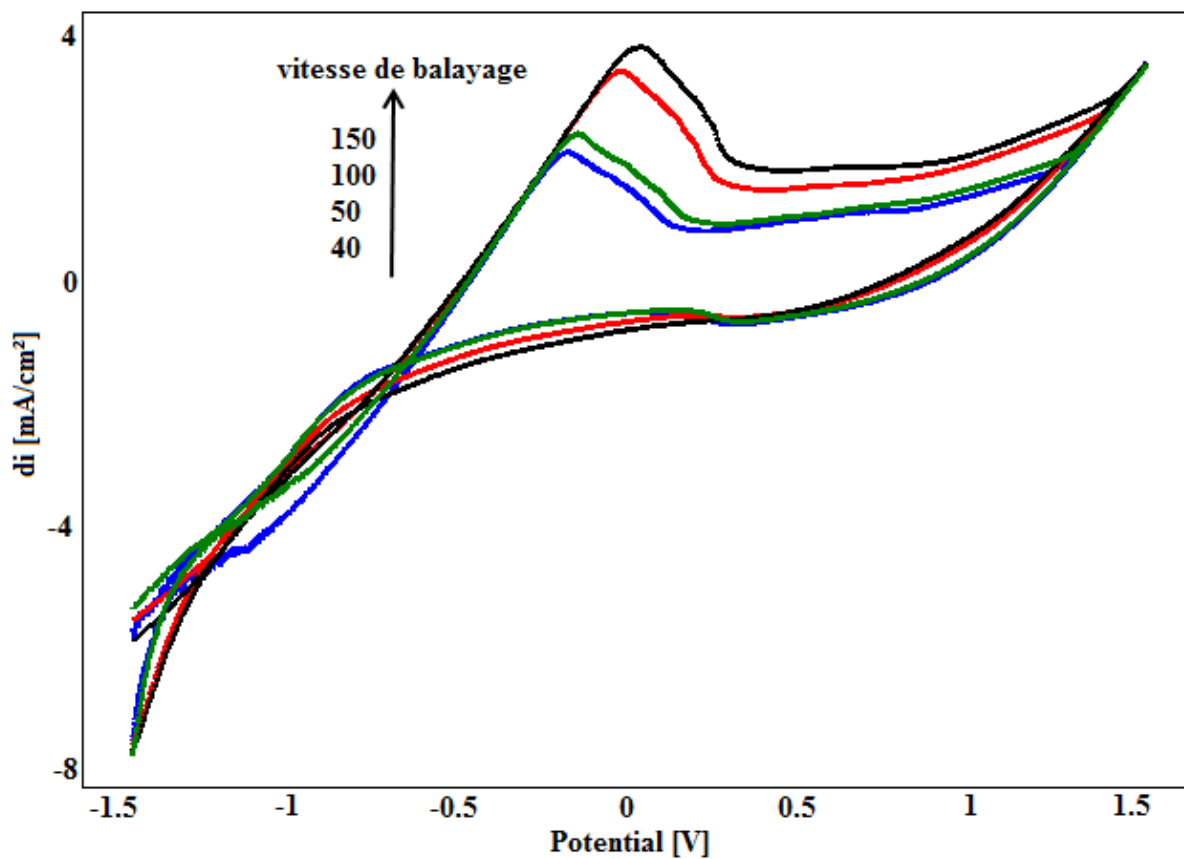


Figure 42. Voltammogramme cyclique, enregistré, dans une solution tris Hcl 0.1M après l'accumulation de Pb^{2+} , à différentes vitesses de balayage, pour l'électrode CPE-MO.

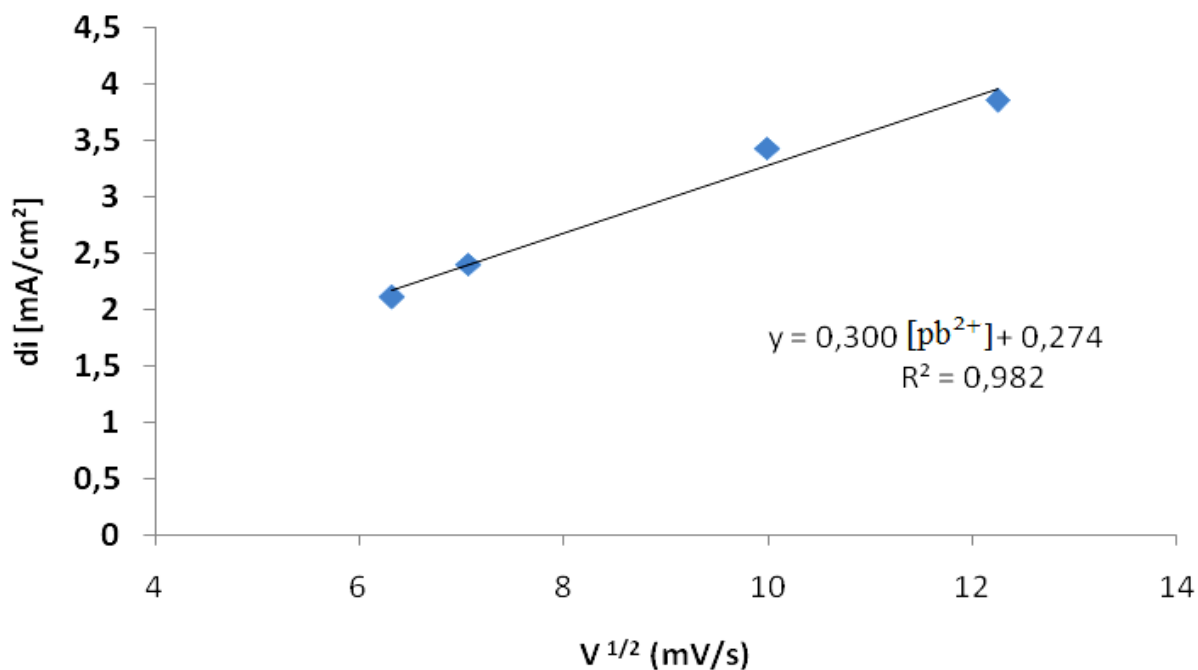


Figure 43. Influence de la vitesse de balayage sur les intensités de pics d'oxydation dans une solution de trisHCl 0.1M après l'accumulation de Pb^{2+} (pH=7).

II. 1. 4. Influence de séjours dans la solution organique

L'effet du temps de contact de l'électrode de CPE avec la solution de la molécule organique a été également étudié sur la Figure 44, nous avons examinés trois temps de séjour, 3 heures, 24 heures et 48 heures.

Après déposition douce de la matière organique à la surface de l'électrode à pâte de carbone, le voltammogramme enregistré en milieu électrolytique, fait apparaître deux pics anodiques, respectivement, à 0.8 V et 0.4V, qui pourraient correspondre à l'oxydation de la molécule déposée et de ses dérivées. Dans le sens de balayage nous rencontrons un pic vers environ -0.5V, dans un domaine très éloigné des pics d'oxydation, ce qui laisse suggérer, qu'il s'agit d'un phénomène de réduction non réversible. Pour un temps de séjour égal à 24 H, le voltammogramme correspondant présente des pics d'oxydation et de réduction bien définis et de densité de courant très importante, donc ce temps de séjour sera adopté par la suite dans la préparation des électrodes, MO-CPE's. Dans le même sens, l'électrode modifiée MO-CPE, préparée avec un temps de contact de 24 heures, avec la solution organique, a donné les meilleurs résultats, envers la reconnaissance des ions Pb^{2+} (Fig. 45). Les densités de courant du pic anodique des 3 temps de séjours varient comme suit :

MO-CPE (24 heures) > MO-CPE (48 heures) > MO-CPE (3 heures)

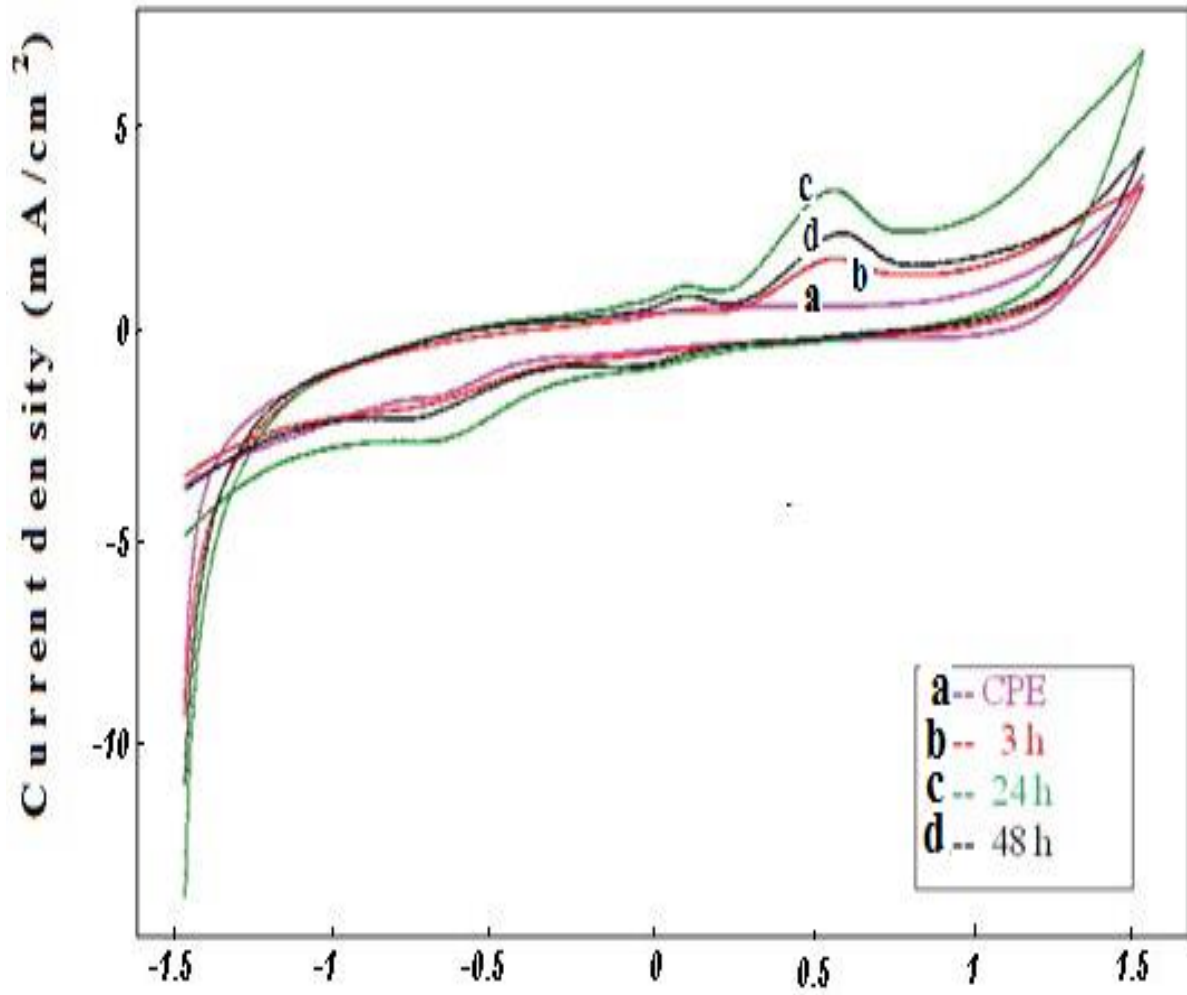


Figure 44. CV enregistrés à 100 mV / s pour les électrodes CPE et MO-CPE. Effet de temps de séjour de MO-CPE.

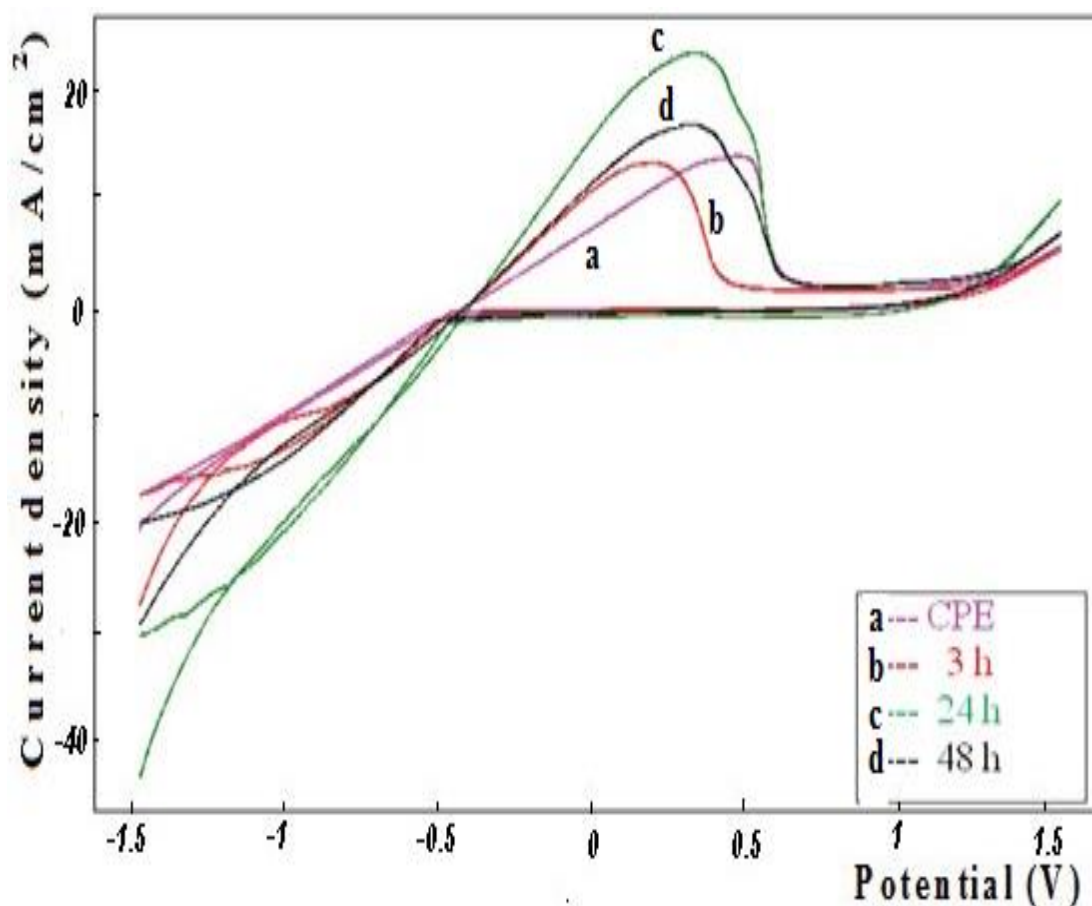


Figure 45. voltammogrammes enregistrés au MO-CPE, à différents temps de séjour, dans une solution tampon après l'accumulation du Pb^{2+} .

Ces résultats ont été confirmés par voltammétrie à ondes carrées (SWV), enregistrés pour l'électrode élaborée exposée aux ions Pb^{2+} pendant 5 minutes, en milieu électrolytique (Fig. 46). Le voltammogramme enregistré montre un pic large entre -1 v et 0.5 V, il s'agit du chevauchement de plusieurs pics, en l'occurrence, le pic de réduction cathodique des ions Pb^{2+} préconcentrés à la surface de l'électrode à pâte de carbone (CPE), le pic d'oxydation du plomb à la surface de CPE, et le pic d'oxydation et relargage dans la solution de Pb^{2+} . Les densités de courant les plus élevées sont obtenues par l'électrode modifiée MO-CPE avec un temps de séjour de 24 heures [14].

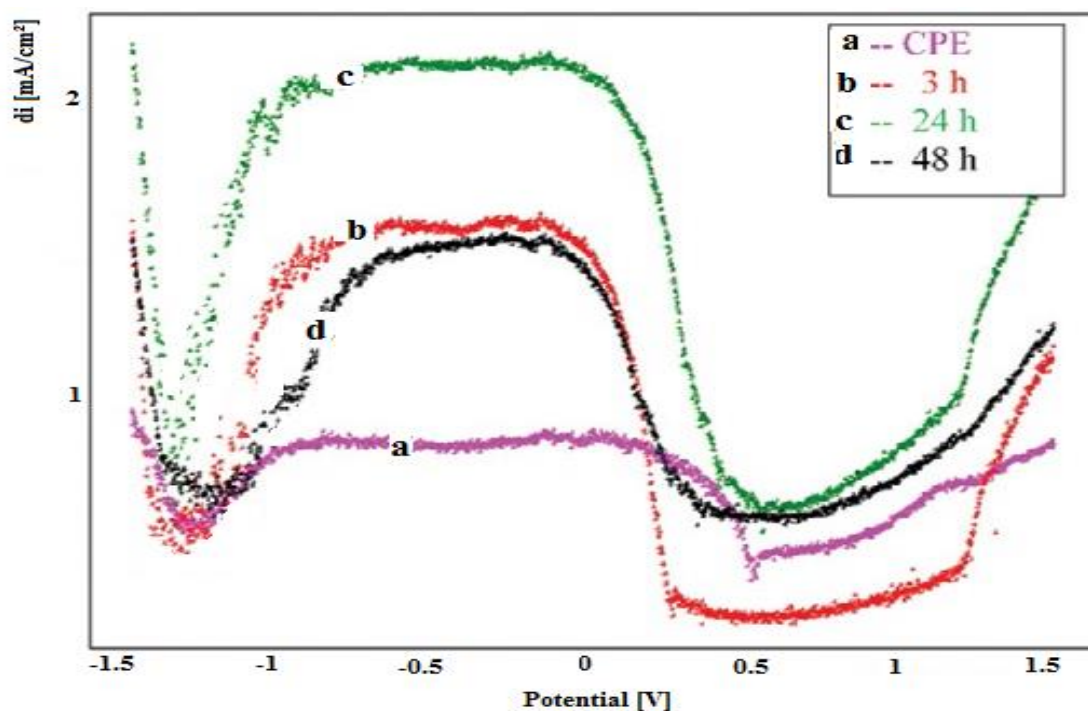


Figure 46. Voltammogrammes SQW enregistrés à MO-CPE, dans une solution tampon après l'accumulation de l'ion Pb^{2+} .

Les densités de courant des pics des voltammogrammes à ondes carrées croissent linéairement avec la concentration des ions Pb^{2+} . La figure 47, illustre la corrélation entre les densités de courant et la concentration de l'analyte.

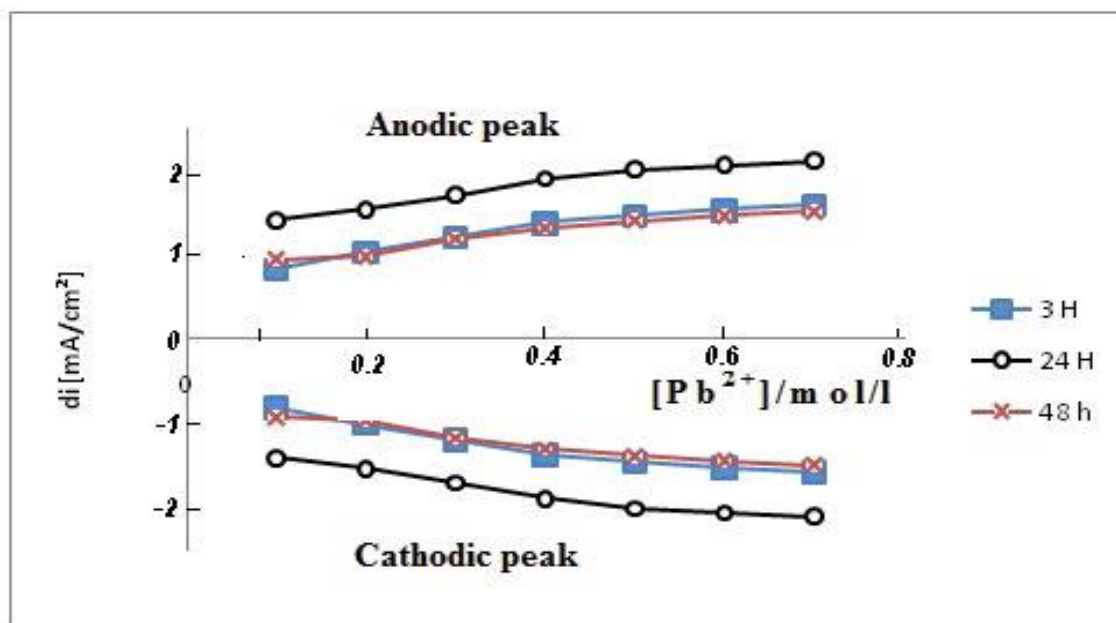


Figure 47. Evolution des densités de courant des pics en fonction de la concentration de Pb (II).

II. 1. 5. Influence de pH

L'influence du pH sur la chélation d'ions Pb^{2+} par l'électrode MO-CPE a été étudiée dans la gamme de pH comprise entre 5 et 10. En comparant les résultats obtenus pour les trois pH étudiés, nous constatons que les densités de courant des pics les plus importantes sont enregistrées à pH neutre, ce qui laisse suggérer que les ions Pb^{2+} ont des concurrents potentiels pour l'adsorption à la surface de l'électrode, en particulier les ions de l'eau, H^+ et OH^- . Le pH 7 est donc retenu pour la suite des manipulations.

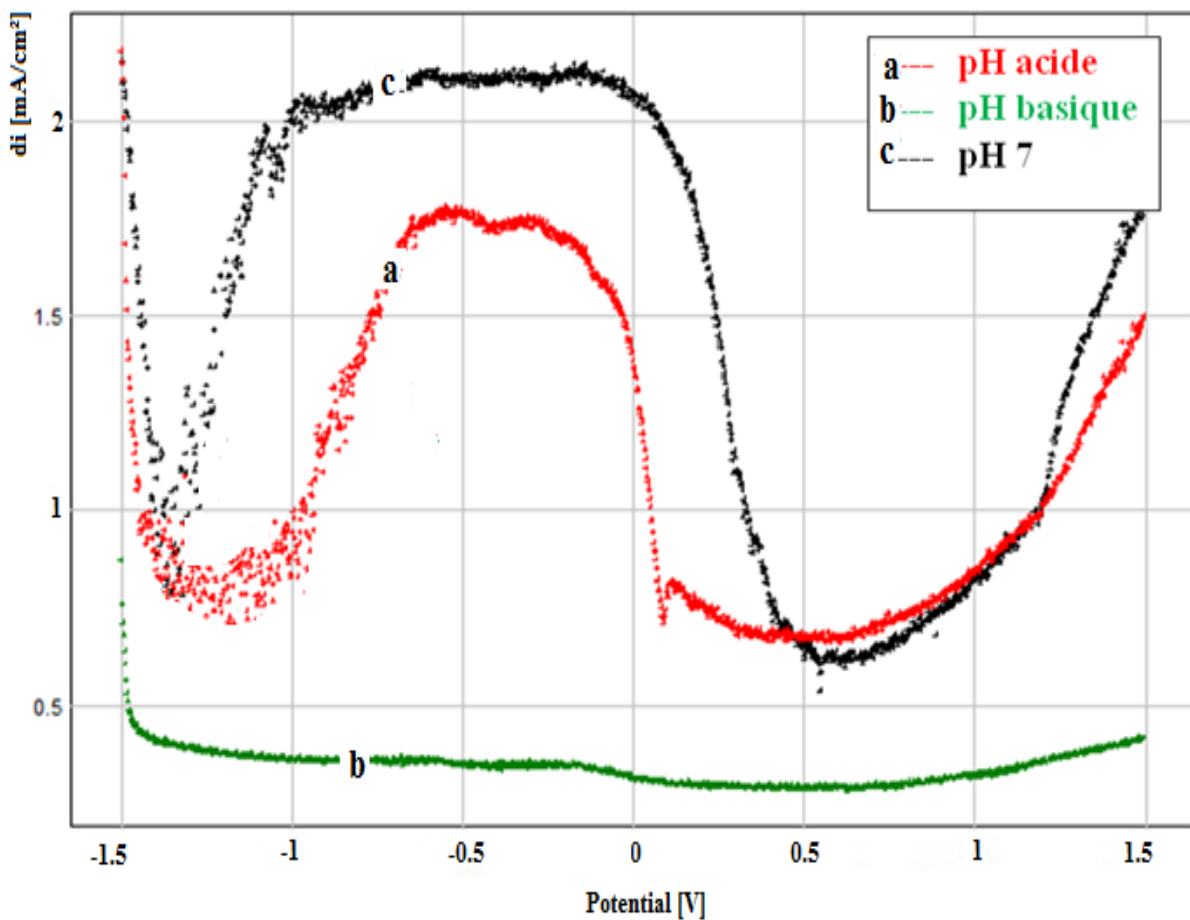


Figure 48. SWV's enregistrés pour l'électrode MO-CPE, dans une solution tampon après l'accumulation du Pb^{2+} , à différents pH.

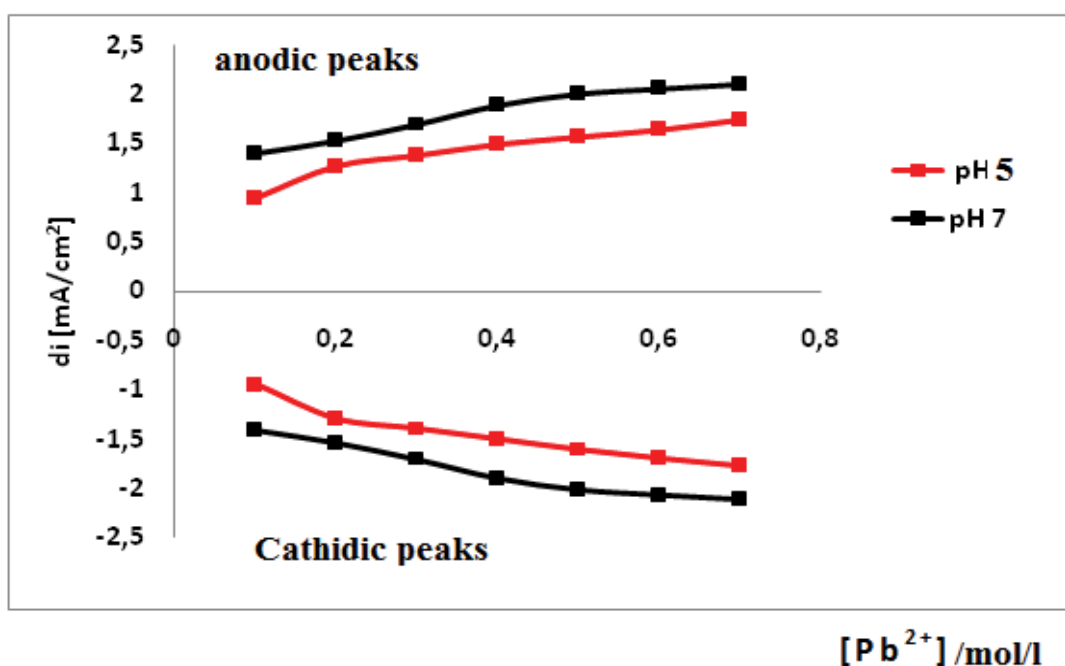


Figure 49. Evolution des densités de courant des pics en fonction de la concentration de Pb (II).

II. 1. 6. La courbe d'étalonnage

Les Figures 50 et 51 présentent des courbes typiques, respectivement, de CV et SWV enregistrées pour l'électrode MO-CPE, après 5 min du temps d'accumulation, sur des solutions contenant des concentrations de Pb²⁺ comprises entre 3.3×10^{-6} mol.L⁻¹ et 2×10^{-4} mol.L⁻¹. Les densités des pics de réduction et d'oxydation augmentent linéairement avec la concentration des ions de plomb (Fig.52).

$$i_{P_{\text{anodique}}} = 1.240 [Pb^{2+}] + 1.319 ; \quad R^2 = 0.955$$

$$i_{P_{\text{cathodique}}} = -1.240 [Pb^{2+}] - 1.319 ; \quad R^2 = 0.955$$

D'après Miller et Miller [15], la déviation standard du courant moyen (SD) mesuré au potentiel de l'oxydation du plomb pour sept voltammogrammes de la solution vierge dans l'électrolyte pure peut être modélisée par l'équation:

$$SD = \frac{1}{(n-2)} \sum_{j=0}^n (i_j - I_j)^2 \quad (10)$$

Où i_j est la valeur expérimentale du courant calculé à la manipulation j et I_j est la valeur correspondante recalculée à la même concentration en utilisant l'équation de calibration.

La valeur de S.D. calculée a été utilisée pour la détermination de la détection limite (DL, $3 \times S.D./\text{pente}$) et la quantification limite (QL, $10 \times S.D./\text{pente}$).

De cette équation nous déduisons les valeurs suivantes :

- La limite de détection : $3.57 \times 10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$.
- La limite de quantification : $1.19 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$.

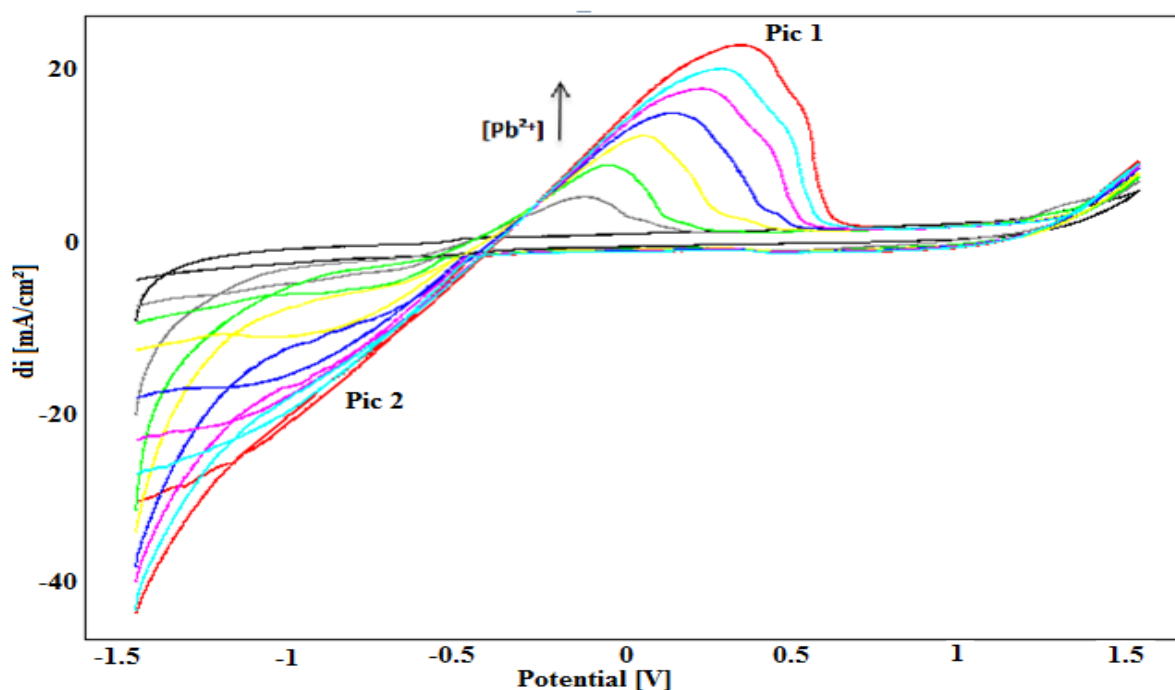


Figure 50. VC's enregistrés pour l'électrode MO-CPE, dans une solution tampon après l'accumulation du Pb^{2+} , à pH 7.

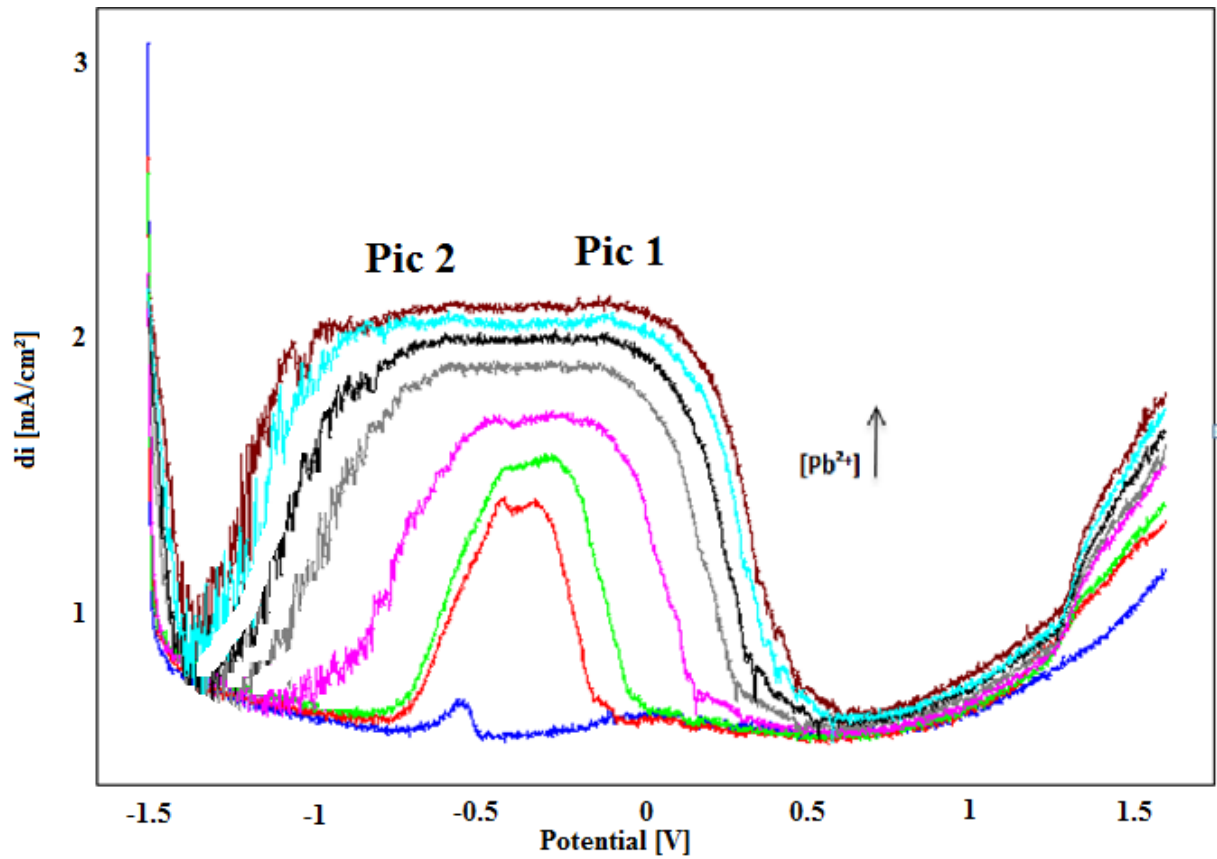


Figure 51. SQW's enregistrés pour l'électrode MO-CPE, dans une solution tampon après l'accumulation du Pb^{2+} , à pH 7.

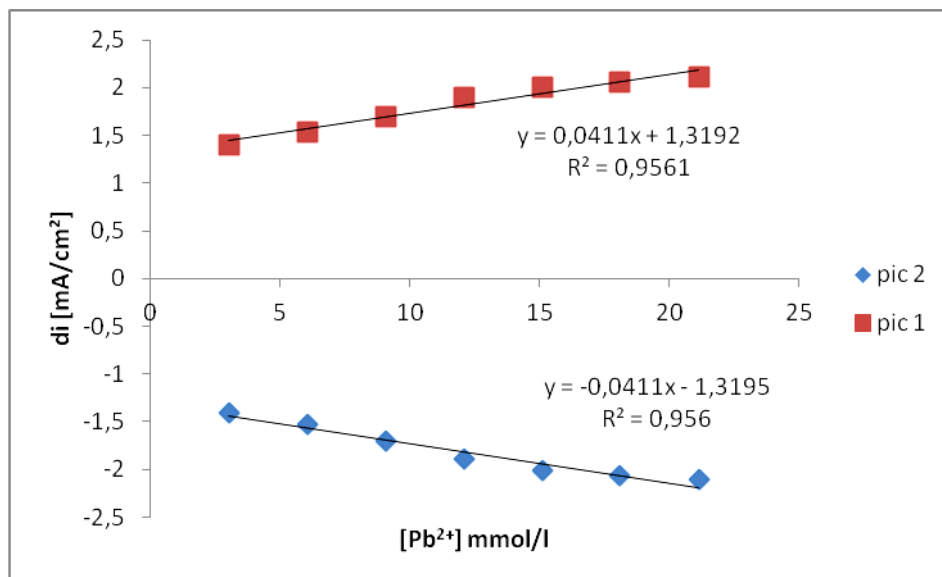
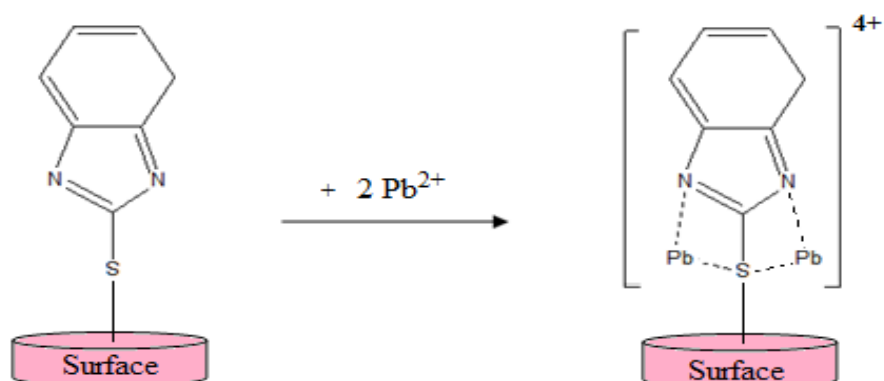


Figure 52. Evolution des densités de courant des pics en fonction de la concentration de Pb (II).

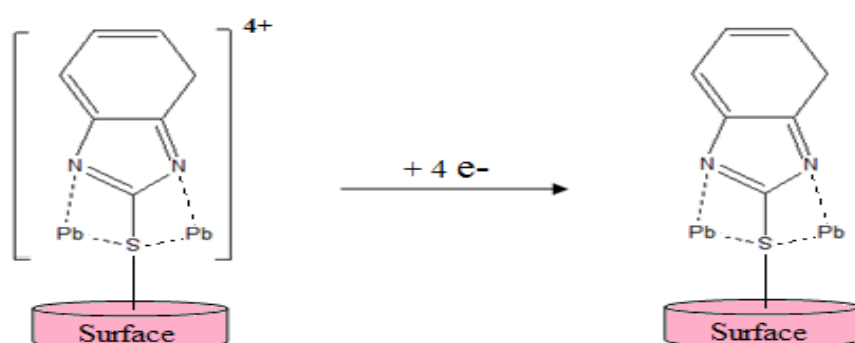
Après avoir déterminé les conditions optimales et les courbes de calibration de l'électroanalyse des ions Pb^{2+} , nous proposons le mécanisme suivant :

1- Etape de préconcentration

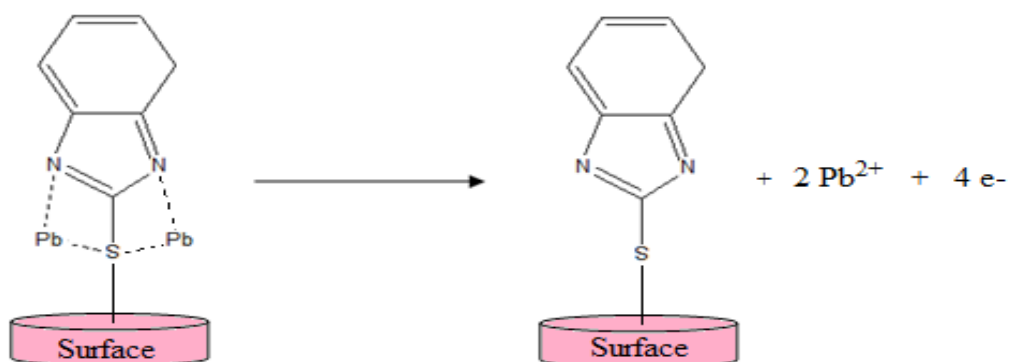
Dans cette étape les ions de plomb se sont complexés dans le film organique déposé à la surface de l'électrode à pâte de carbone selon le mécanisme :



2- Réduction du complexe



3- Oxydation du plomb et relargage des ions Pb^{2+}



La morphologie des surfaces des électrodes MO-CPE et CPE, après complexation, a été étudiée par microscopie optique (Fig. 53). Les deux images montrent que les deux surfaces ont des structures différentes, nous pouvons observer que le film organique sur l'image (b), est déposé sur toute la surface du carbone, ainsi que de gros amas dispersés qui pourraient correspondre au complexe développé à la surface.

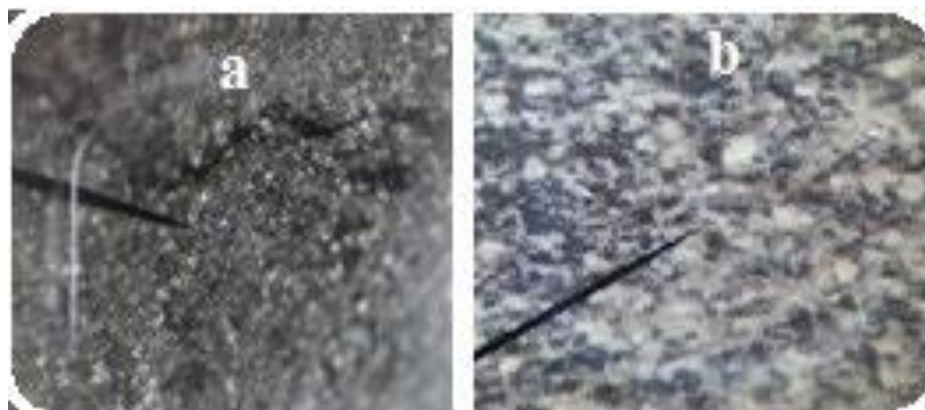


Figure 53. Images prises par microscopie optique pour: a- CPE et b-MO-CPE

II. 2. Optimisation des conditions expérimentale pour l'électrode modifiée par mixage

Les électrodes à pâte du carbone modifiées ont été préparées en mélangeant entièrement le modificateur (2-benzimidazolthiole en poudre) par la poudre de graphite dans un petit mortier jusqu'à l'obtention d'une pâte homogène. Par la suite, la pâte est insérée manuellement dans la cavité cylindrique du corps de l'électrode (surface géométrique d'environ 0.1256 cm^2). Le contact électrique est établi avec une barre de carbone.

II. 2. 1. Comportement électrochimique

Dans un premier temps, nous avons enregistré les voltammogrammes cycliques, respectivement pour les électrodes CPE et MO-CPE, en milieu tampon acide et à 100 mV/s (Fig. 54). En comparant les deux voltammogrammes ; nous constatons qu'ils n'ont pas la même allure, ce qui correspond en électrochimie à un changement de la morphologie de la surface de l'électrode. Les densités de courant électrique sont très faibles, probablement, en raison de la faible conductivité du film organique développé.

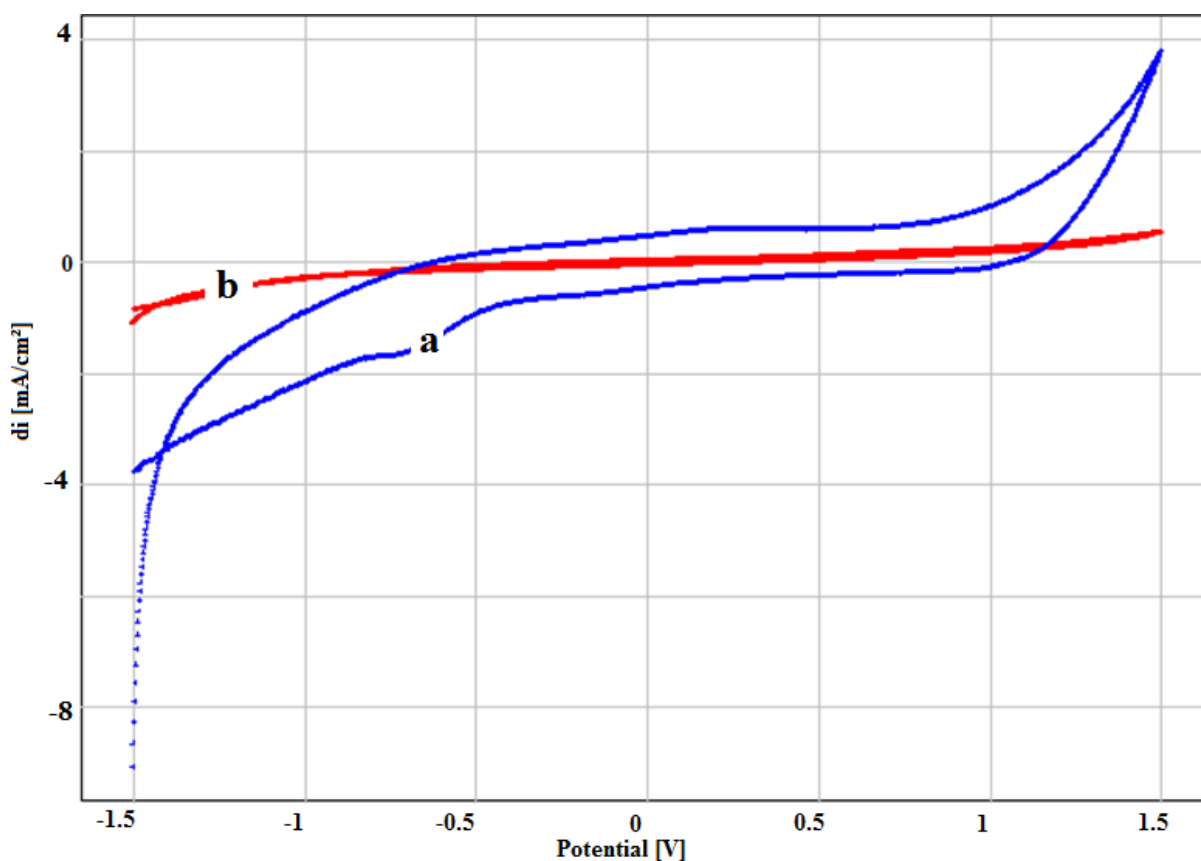


Figure 54. Les voltammogrammes cycliques enregistrés dans une solution tampon (pH acide), à CPE(a) et MO-CPE(b), vitesse de balayage 100 mV / s.

II. 2. 2. Influence du pH

Pour étudier l'effet du pH, nous avons tracé les CV's, en trois milieux électrolytiques, solution tampon acide, solution tampon basique et solution tampon neutre, pour l'électrode préparée par mixage, avant et après accumulation des ions Pb^{2+} . (Figs. 55 et 56). En absence de la préconcentration des ions de plomb, les voltammogrammes ont pratiquement les mêmes allures pour les trois pH, ils se différencient uniquement au niveau des densités de courant, qui sont relativement élevées à pH acide et neutre. Après préconcentration de l'électrode modifiée dans une solution contenant les ions Pb^{2+} , les CV's enregistrés à pH acide et neutre présentent un pic anodique bien défini, respectivement à 0V à pH acide et 0.4 V à pH neutre, nous pouvons remarquer qu'à pH basique, l'électrode ne présente aucune activité, vis-à-vis de la réduction des ions Pb^{2+} . Les densités de courant, du pic anodique, les plus élevées sont obtenues à pH acide.

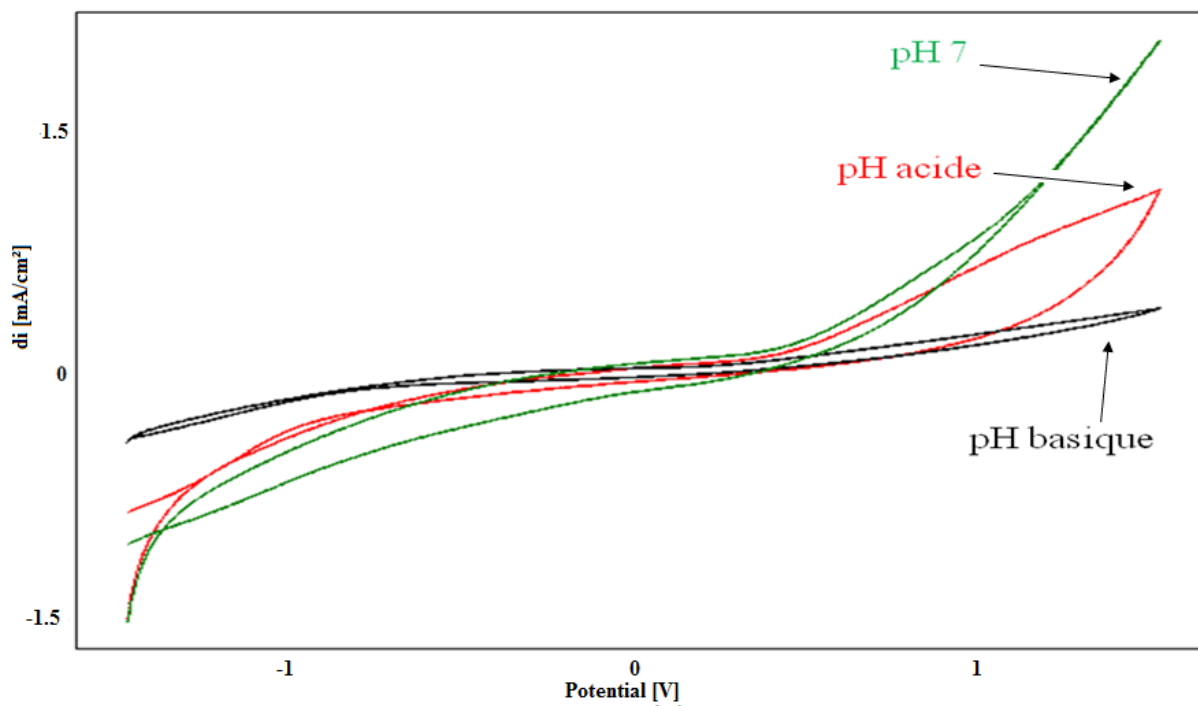


Figure 55. Voltammogrammes, enregistrés, dans une solution tris HCl 0.1M, à différentes pH, pour l'électrode MO-CPE.

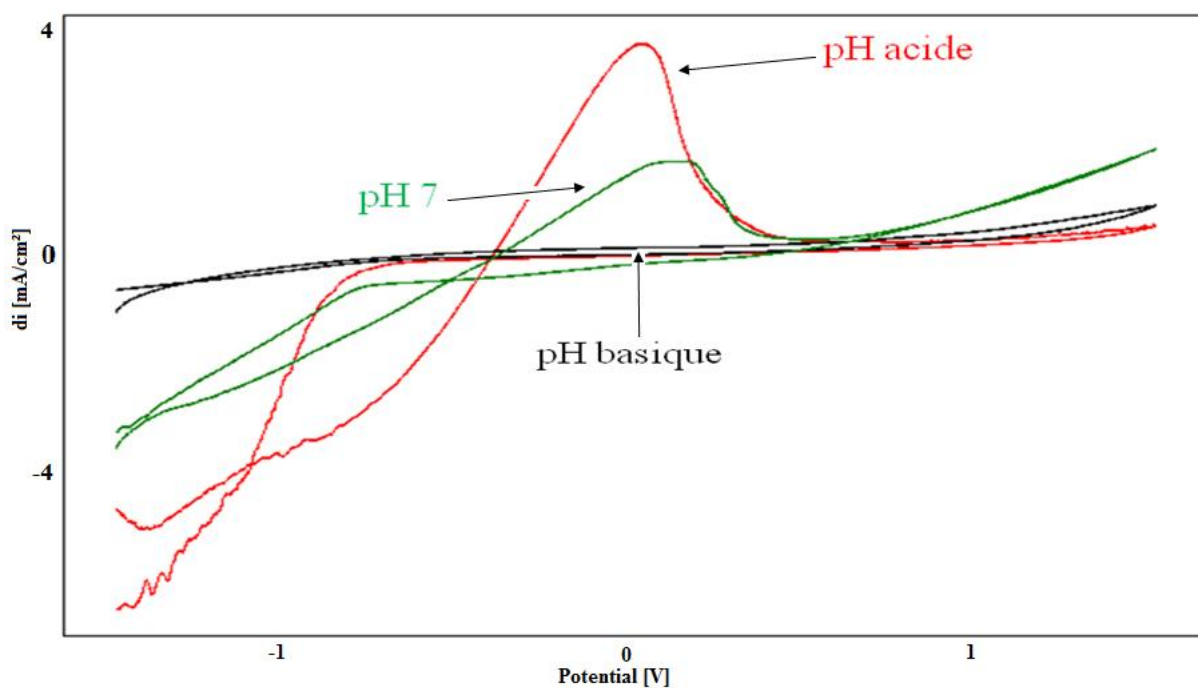


Figure 56. Voltammogramme cyclique, enregistré, dans une solution tris HCl 0.1M après préconcentration des ions Pb^{2+} , à différentes pH, pour l'électrode MO-CPE.

Pour confirmer les résultats antérieurs obtenus par voltammétrie cyclique, nous avons fait appel à la voltammétrie à ondes carrées. Les SWV's présentés dans la Figure 57, montrent un pic mal défini, comme avancé ultérieurement, il s'agit d'un chevauchement de plusieurs pics, notamment le pic de réduction du complexe film organique-Pb²⁺ et l'oxydation du plomb inséré au sein de ce film. Les densités de courant les plus élevées sont obtenues en milieu acide. Ces densités de courant varient linéairement avec la concentration de l'analyte, ce qui laisse penser que l'étape de préconcentration est déterminante (Fig. 58).

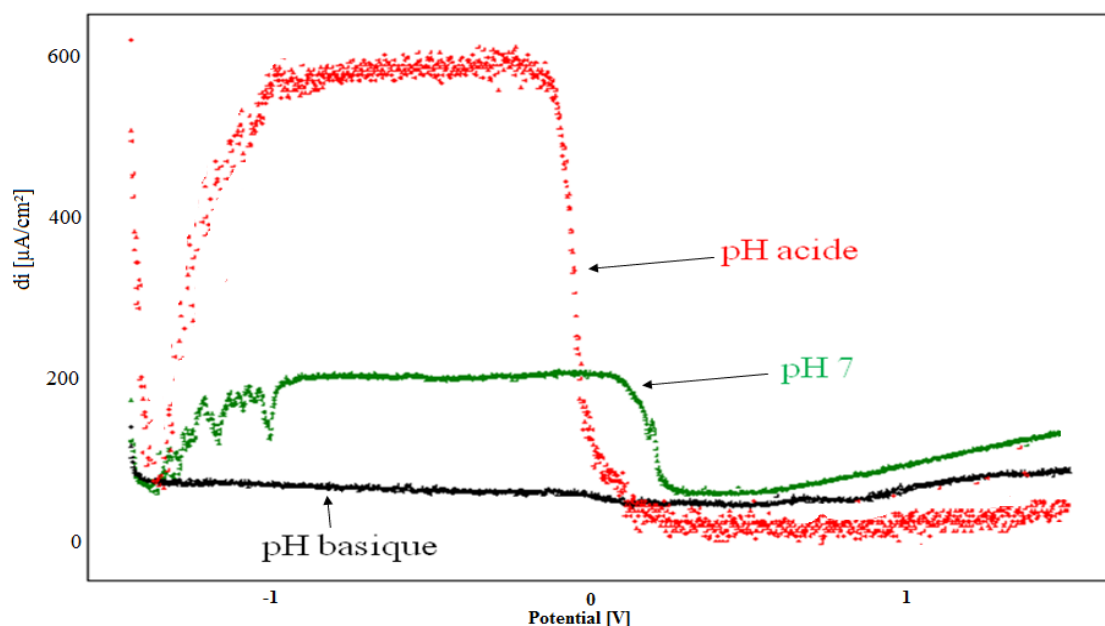


Figure 57. Voltammogrammes, enregistrés, dans une solution tris HCl 0.1M à différentes pH, pour l'électrode MO-CPE après l'accumulation du Pb²⁺.

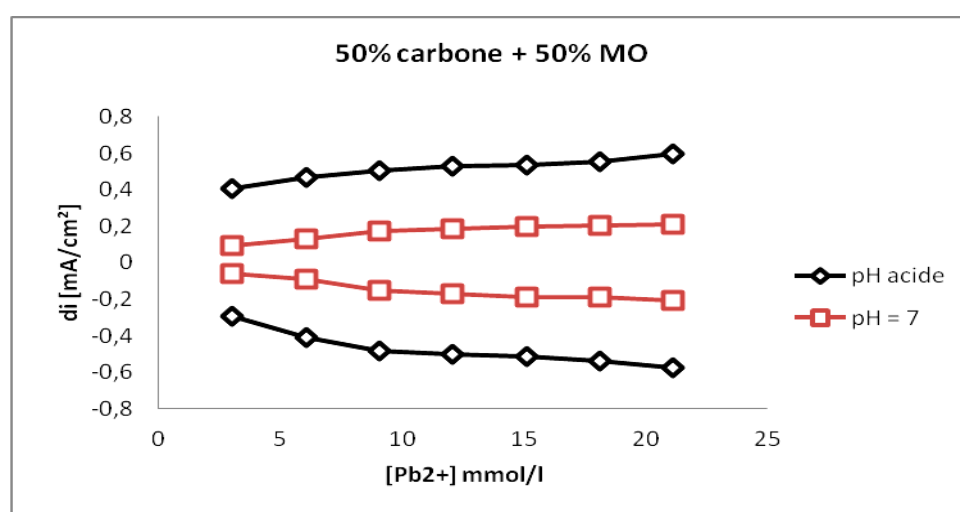


Figure 58. Evolution des densités de courant des pics en fonction de la concentration de Pb (II), à MO-CPE modifiée par mixage.

II. 3. Comparaison entre les deux méthodes de préparation des électrodes (méthode par mixage et auto-assemblage)

La Figure 59 présente les voltammogrammes cycliques enregistrés en milieu tampon, respectivement pour les électrodes modifiées par mixage (courbe a) et par auto-assemblage, à 100 mV/s. Il apparaît clair que le CV obtenu à partir de l'électrode préparée par auto-assemblage présente des pics redox bien définis, et les densités de courant sont plus élevées comparées à celles obtenues à partir de l'électrode modifiée par mixage.

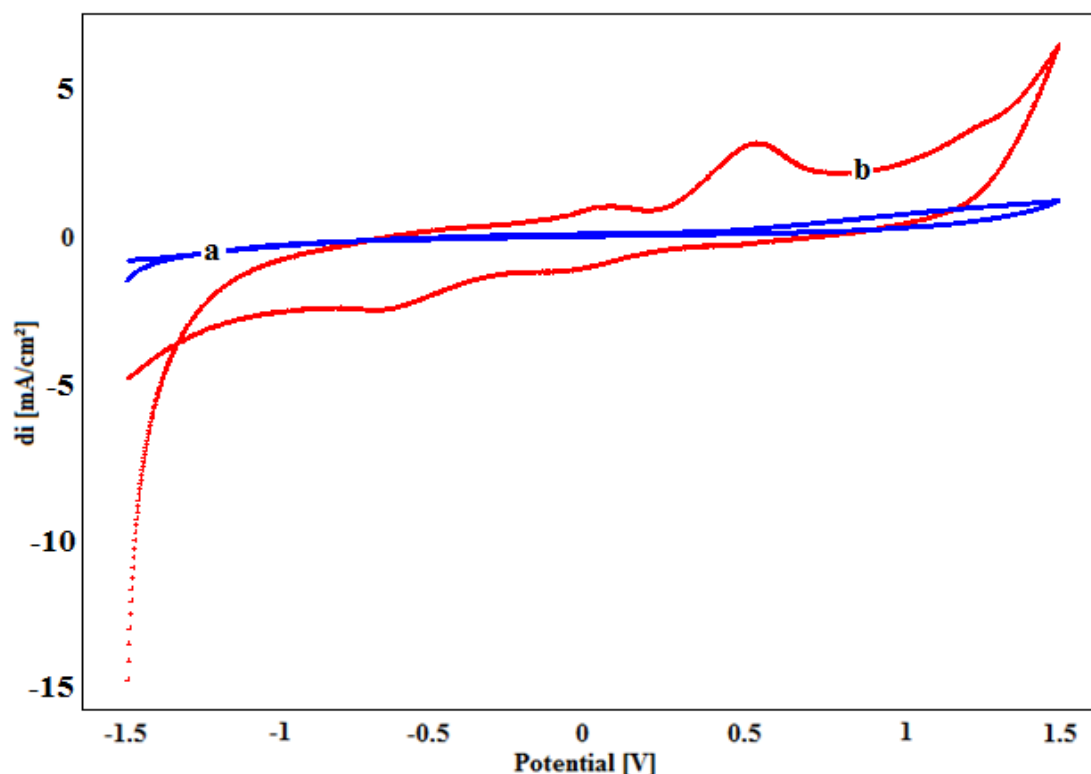


Figure 59. Les voltammogrammes cycliques enregistrés dans une solution 0.1M trisHCl, à MO-CPE (modifiée par mixage (a) et par auto-assemblage (b)), vitesse de balayage 100 mV / s.

Dans le but d'examiner les activités des électrodes préparées par deux méthodes différentes, modification par mixage et par auto-assemblage, nous avons choisi la réaction d'oxydoréduction du plomb. Dans un premier temps, les deux électrodes ont été préconcentrées, dans les conditions optimales, dans une solution contenant les ions Pb^{2+} , puis transférées dans la cellule électrochimique de mesure contenant la solution tampon 0.1M trisHCl, qui joue aussi le rôle de l'électrolyte. Les voltammogrammes cycliques enregistrés à 100 mV/s sont illustrés dans la Figure 60. Nous constatons clairement que les densités de courant les plus élevées sont obtenues pour l'électrode de pâte de carbone modifiée par auto-

assemblage de la molécule organique à la surface. La préparation de l'électrode MO-CPE par auto-assemblage présente une activité considérable en vers le processus de chélation/largage du plomb.

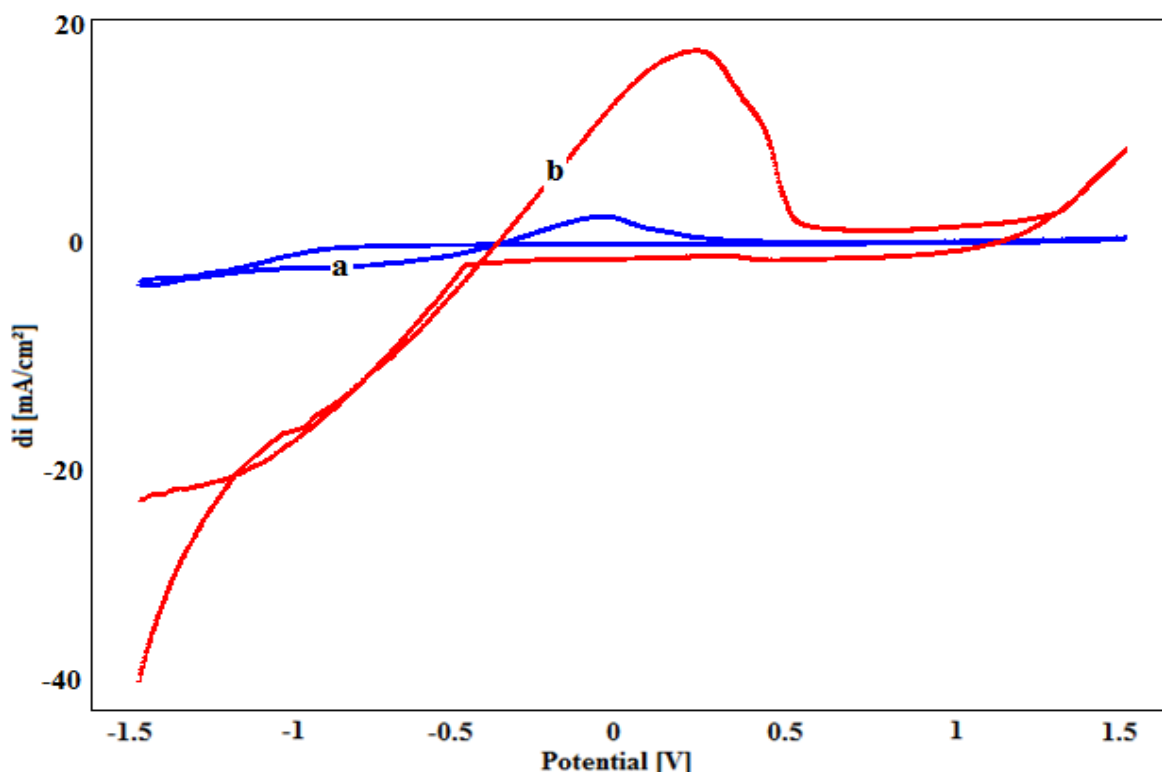


Figure 60. Les voltammogrammes cycliques enregistrés dans une solution 0.1M trisHCl après l'accumulation du Pb^{2+} , à MO-CPE (modifiée par mixage (a) et par auto-assemblage (b)), vitesse de balayage 100 mV / s.

Les résultats obtenus par voltammétrie cyclique sont confirmés par voltammétrie à ondes carrées SWV. Les SWV's enregistrés, respectivement pour les électrodes MO-CPE préparées par mixage et par auto-assemblage de la matière organique, après préconcentration dans les conditions optimales dans une solution contenant les ions Pb^{2+} , sont présentés par la Figure 61. Les voltammogrammes ont la même allure, ce qui montre que le mécanisme de la réaction est le même, le pic large obtenu, est le chevauchement des deux pics redox, correspondant à la réduction du plomb (II) et l'oxydation du plomb. Les densités de courant sont largement supérieures dans le cas de l'électrode MO-CPE où le film organique est développé par auto-assemblage. Dans ce type de réaction, comme il a été démontré auparavant, l'étape de préconcentration du plomb (II) est limitante, la modification par auto-assemblage donne lieu à un film organique, continu sur toute la surface, ce qui favorise la chélation des ions Pb^{2+} .

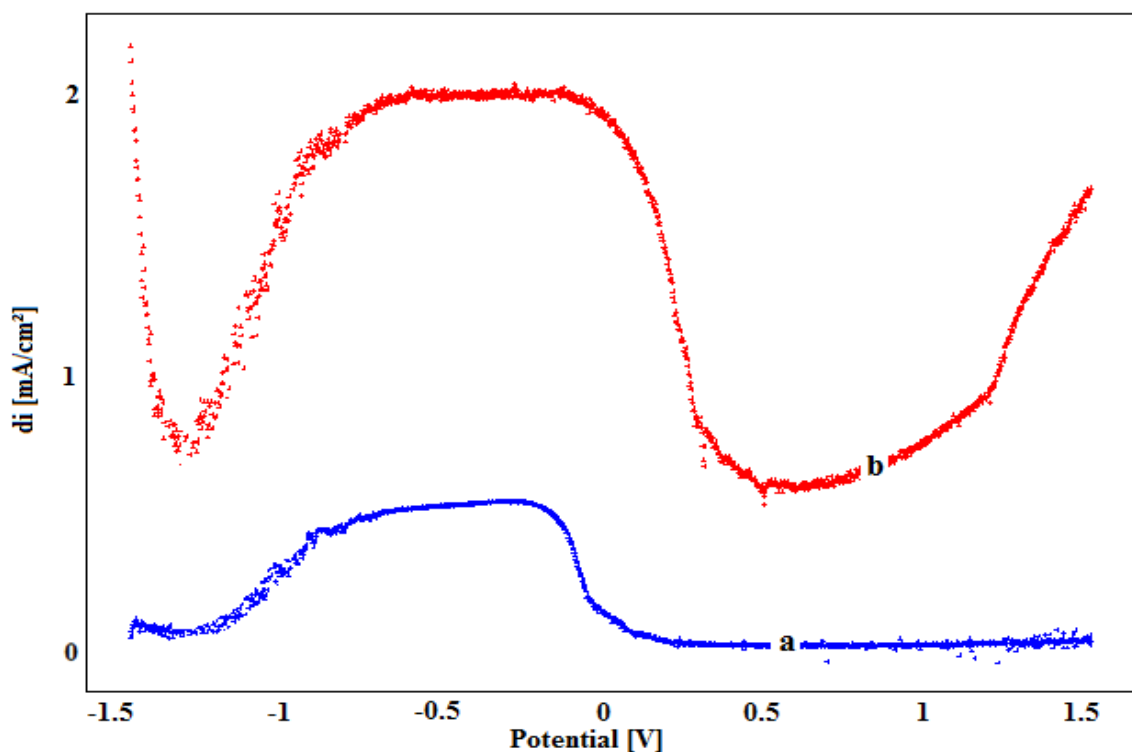


Figure 61. SQW's enregistrés dans une solution 0.1M trisHCl, pour les électrodes MO-CPE préparées respectivement par mixage (a) et par auto-assemblage (b), après préconcentration dans une solution contenant Pb^{2+} , à vitesse de balayage 100 mV / s.

II. 4. Interférence des ions Hg^{2+} , Pb^{2+} et Cu^{2+}

Nous avons testé des éléments qui peuvent présenter une certaine compétition au niveau des sites sur l' MO-CPE (figure 62). Ces tests ont été utilisés sous les conditions optimisées.

Le voltammogramme a été tracé après préconcentration de l'électrode de MO-CPE dans des solutions aqueuses de nitrates du plomb, du mercure et du cuivre. L'oxydation anodique du plomb se produit au potentiel -0.5 V/ECS, inférieur à celui du mercure -0.1 V/ECS. Le pic d'oxydation du cuivre métallique se manifeste à un potentiel de + 0.21 V/ECS supérieur à celui d'oxydation du mercure. La séparation nette des trois pics nous offre la possibilité de doser les trois métaux simultanément.

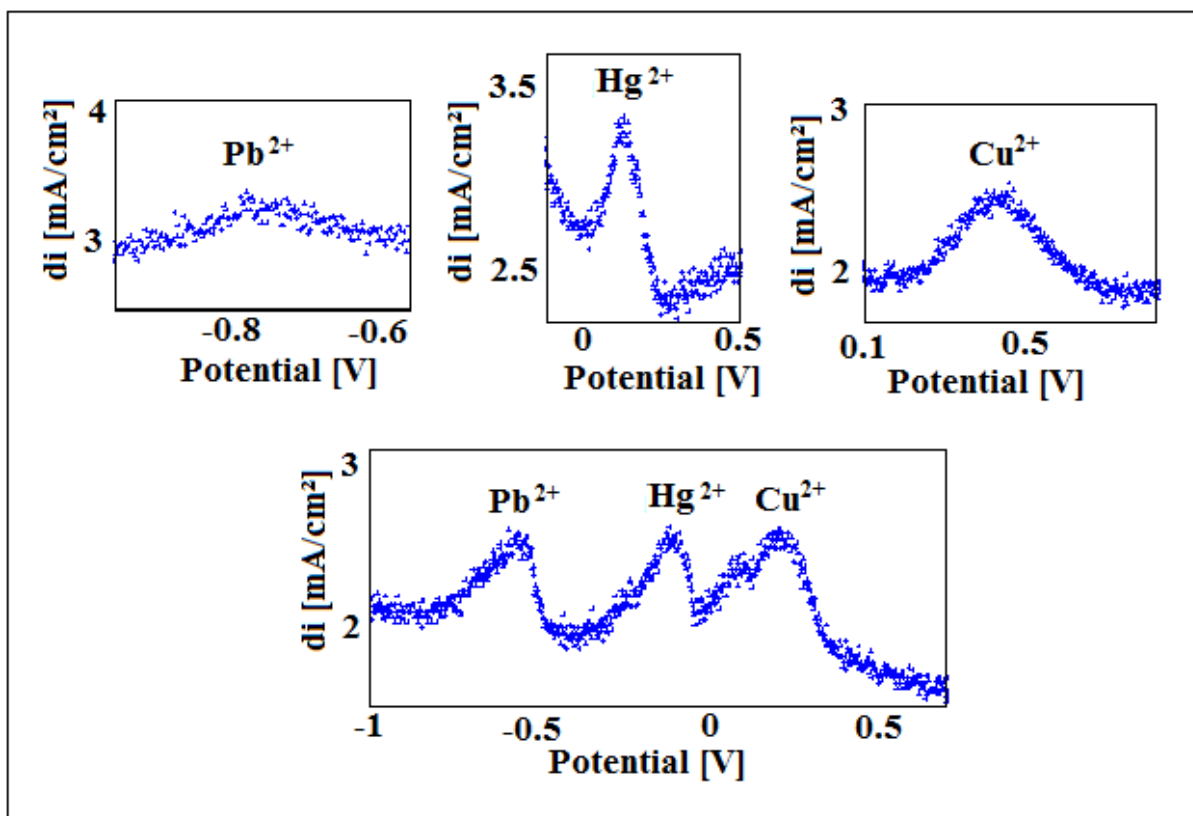


Figure 62. Effet des interférences des trois cations étudiés en solution tampon.

II. 5. Application Analytique : Jus d'orange et eau du robinet

Dans ce paragraphe, nous avons testé l'efficacité et la sensibilité des électrodes préparées, à l'analyse des traces de métaux lourds dans le jus d'orange et l'eau de robinet de la Région de Béni Mellal-Khénifra.

L'analyse des ions métalliques s'avère difficile, en raison de l'affinité des cations à former des complexes organiques. La Figure 63C représente les voltammogrammes cycliques et à ondes carrées, enregistrés par l'électrode MO-CPE (modifiée par l'auto-assemblage) après préconcentration, dans les conditions optimales, dans une solution de jus d'orange contenant 10 mg/l de plomb. Nous constatons que le voltammogramme cyclique de l'électrode préconcentrée dans la solution de jus d'orange contenant les ions Pb^{2+} , se manifeste par l'apparition de deux pics, le premier dans le sens de balayage cathodique, vers environ -1 V et le second de nature anodique à -0.4V. Les deux pics sont bien définis et correspondent respectivement à la réduction du Plomb (II) et l'oxydation du Pb. Ce résultat est confirmé par SWV, qui montre deux pics intenses.

Cette même expérience fut menée avec l'eau de robinet (Fig. 63D). Le VC montre uniquement le pic d'oxydation du plomb, la réduction est mal définie, en raison de la forte interférence du Pb^{2+} avec les cations de l'eau. La SWV ne permet pas de séparer les deux pics (d'oxydation et de réduction) qui restent chevauchés.

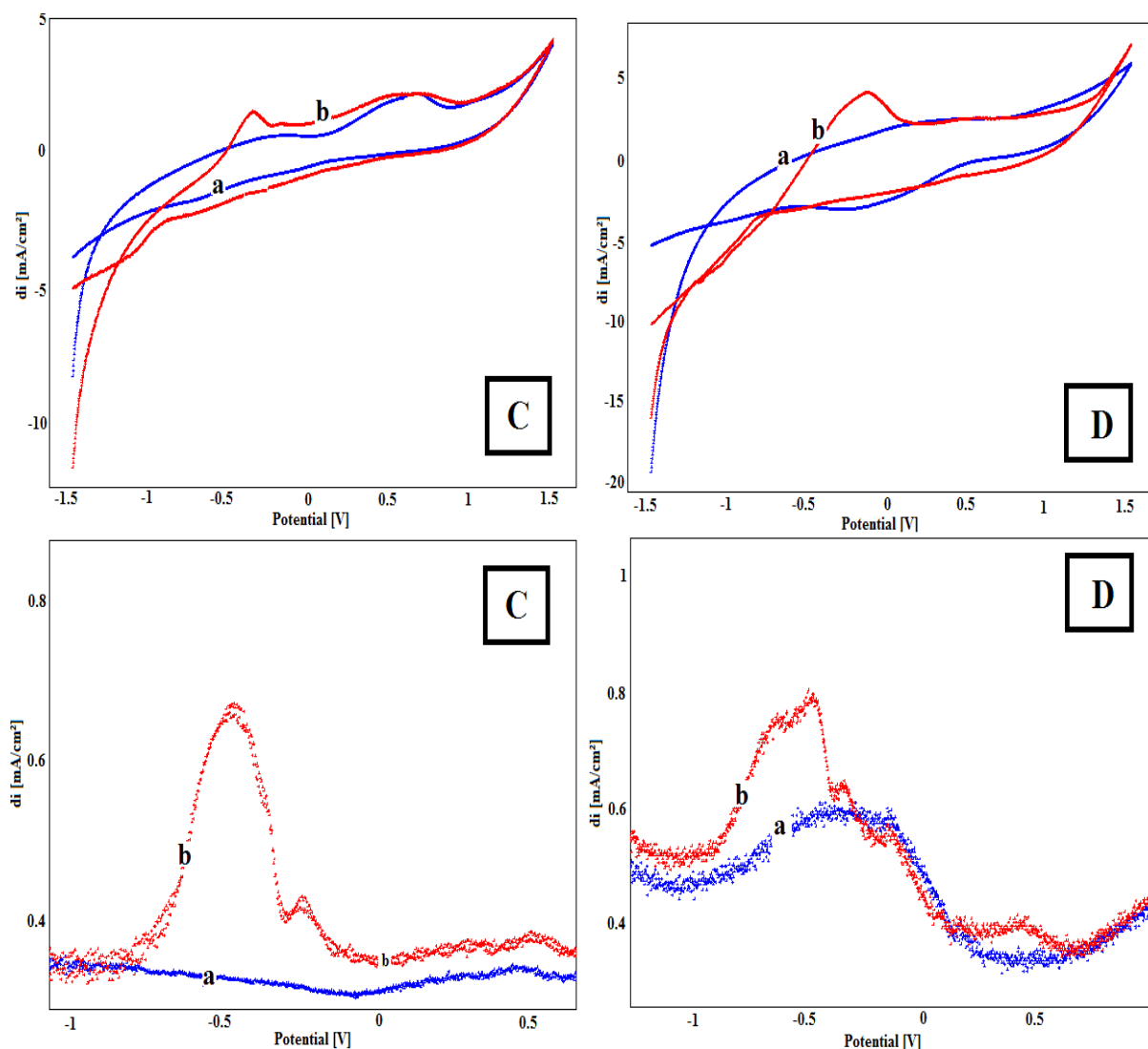


Figure 63. Voltamogrammes enregistrés dans les deux milieux jus d'orange (C) et l'eau de robinet (D) de l'électrode CPE-MO en présence (b) et en absence (a) de plomb (II).

III. Comportement électrochimique de l'électrode modifiée par Polymère-MO-CPE.

III. 1. Procédure

L'électrode MO-CPE préparée par auto-assemblage d'un film de benzimidazolthiole à la surface de l'électrode à pâte de carbone a montré une grande activité, vis-à-vis, de la chélation et l'analyse des ions Pb^{2+} . Cependant ces électrodes sont prédisposées au

phénomène de dissolution en raison de plusieurs facteurs, tel que le pH par exemple, pour remédier à ce problème, nous avons pensé à couvrir ces électrodes par un polymère sélectif, qui permet de protéger la surface de l'électrode tout en préservant son activité.

Le polymère testé est le polyacrylique synthétisé selon le procédé suivant :

Dans un premier temps le Poly (acide acrylique) (PAA), de concentration égale à 5 %, et le polysulfone (PSF) de concentration 20%, sont dissous séparément, dans une solution de diméthylformamide (DMF) dans un réacteur en verre équipé d'un agitateur mécanique et thermostaté à 90 ° C pendant plus de 3 heures. Ensuite, les deux solutions ont été mélangées ensemble dans des proportions connues, agité pendant 30 min. Ensuite le mélange est versé sur une assiette plane en verre équipée d'un couteau Gardner, puis séché dans l'air libre pendant environ 20 secondes. A la fin le matériau obtenu est immergé dans un bain de coagulation contenant un volume suffisant d'eau MilliQ (18,2 MΩcm) à 18 ° C. Les membranes ont été lavées à fond avec de l'eau, et stockés dans une solution diluée d'azide de sodium jusqu'à leur utilisation [16]. Le polymère obtenu est collé minutieusement à la surface de l'électrode MO-CPE.

III. 2. Comportement électrochimique de l'électrode Polymère-MO-CPE

Tout d'abord, nous avons étudié le comportement électrochimique des l'électrode de pâte de carbone (CPE) recouverte par le polymère, dans une solution tampon à pH~7. Les voltammogrammes cycliques enregistrés, respectivement pour les électrodes CPE et polymère-CPE à 100 mV/s sont donnés par la Figure 64. On peut constater que la présence du polymère (PSF/PAA : 95/05) à la surface du CPE entraîne une diminution de la densité de courant en raison de la baisse de la conductivité de l'électrode. Le comportement de l'électrode MO-CPE recouverte par le polymère est différent, le voltammogramme cyclique garde l'allure initiale, celle de l'électrode MO-CPE (Figs. 65 et 66).

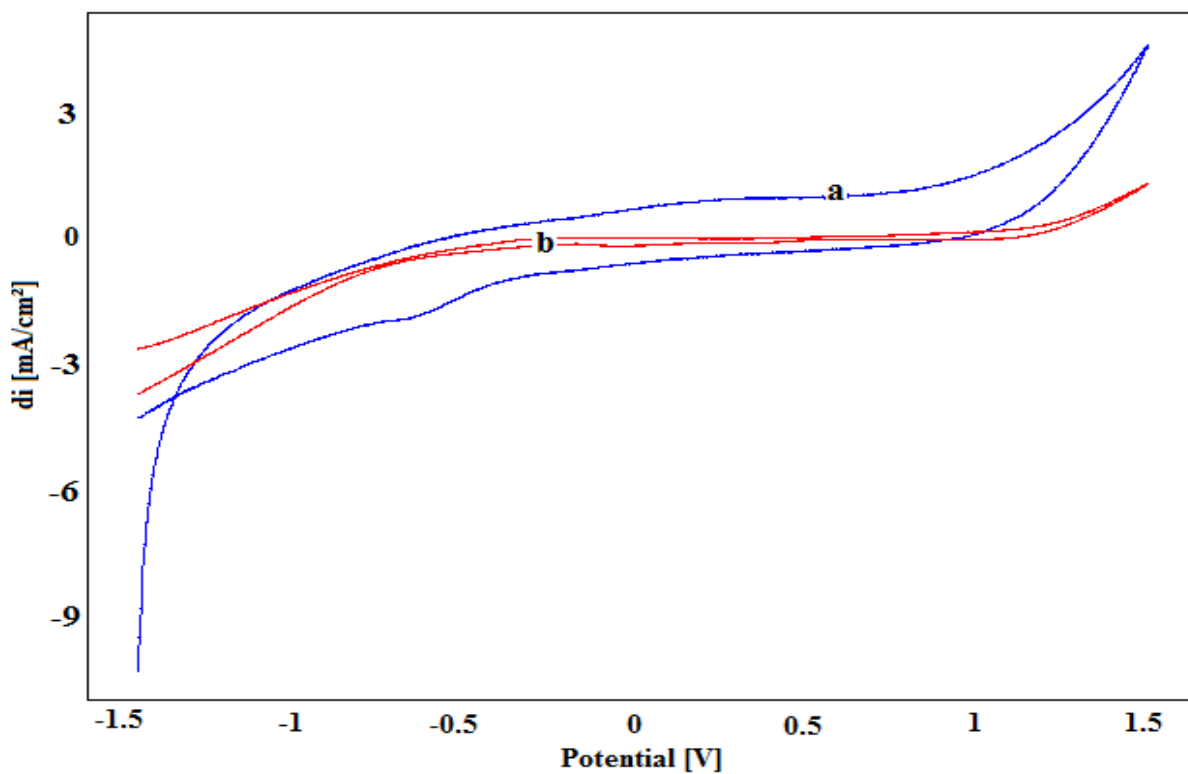


Figure 64. Voltamogrammes cycliques de CPE (courbe a) et Polymer-CPE, enregistrés à une vitesse de balayage de 0,1 V / s dans une solution de 0,1 M trisHCl.

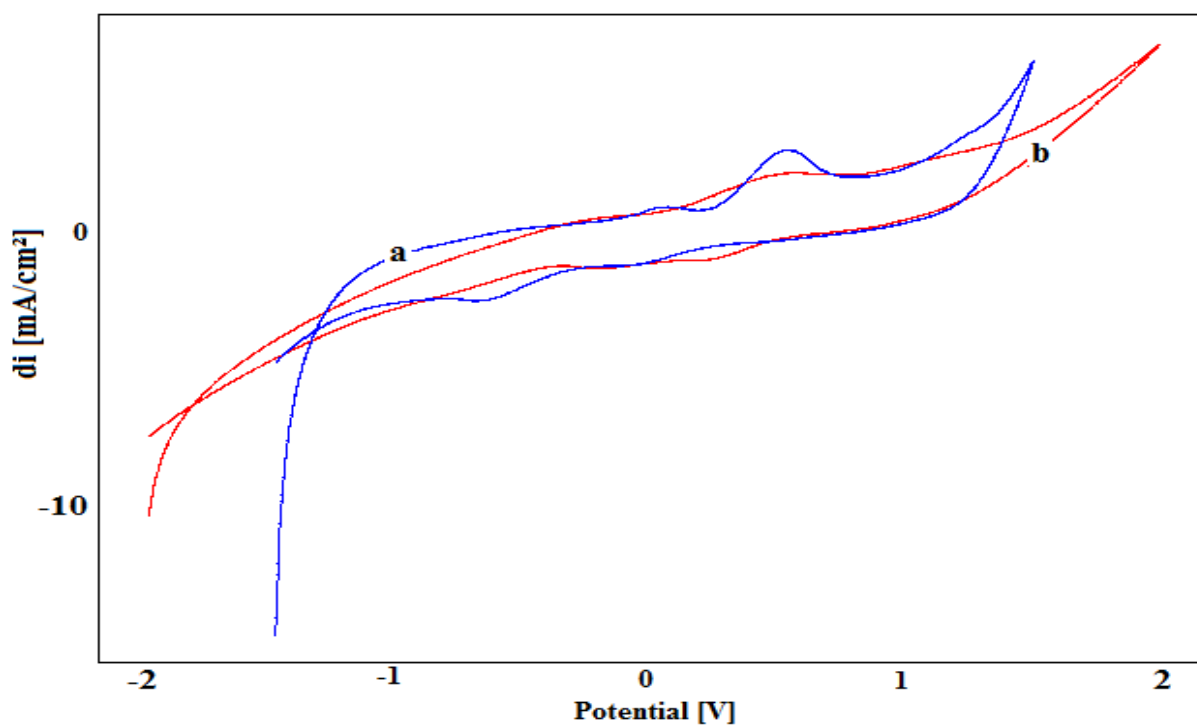


Figure 65. Voltamogrammes cycliques de l'électrode de MO- CPE (courbe a) et Polymer-MO-CPE (courbe b), enregistré à une vitesse de balayage de 0,1 V / s dans une solution de trisHCl 0,1 M.

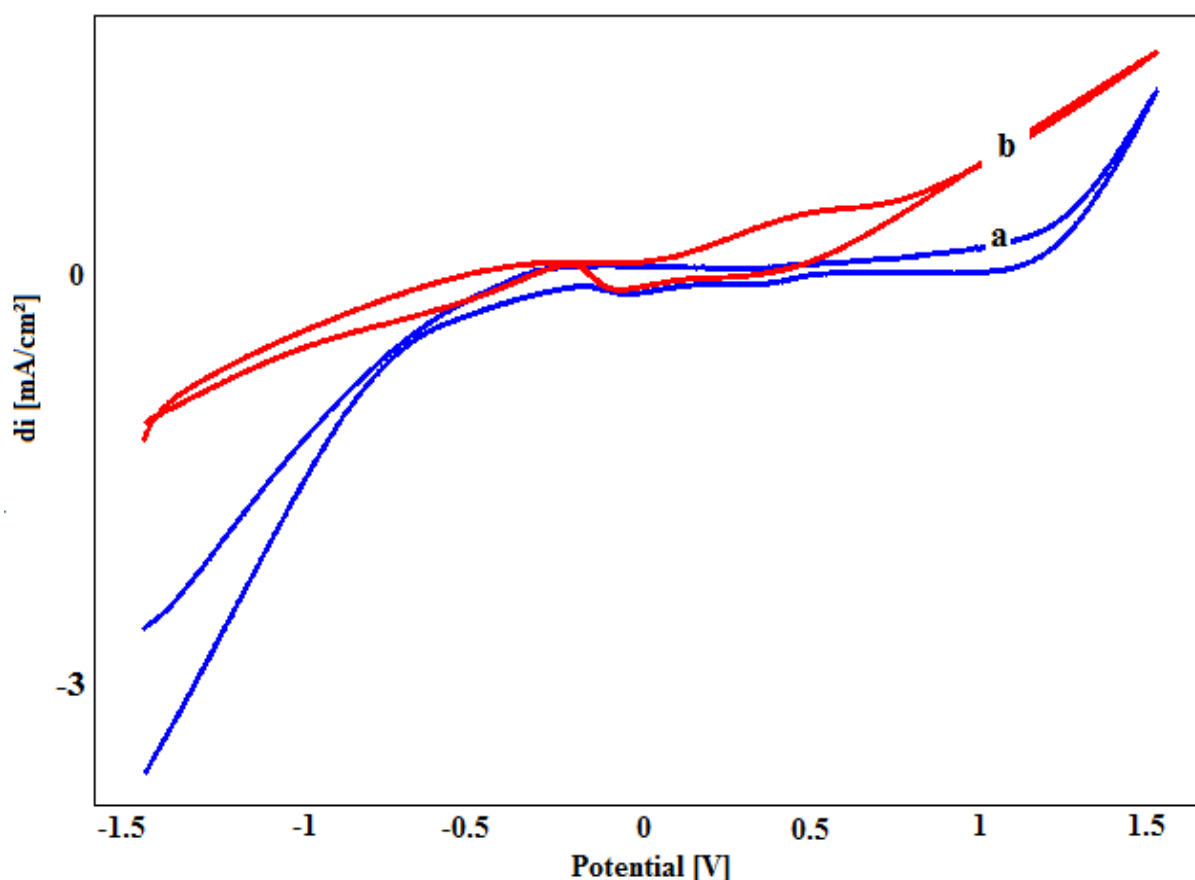


Figure 66. Voltammogrammes cycliques de CPE-Polymer (courbe a) et Polymer-MO –CPE (courbe b), enregistré à une vitesse de balayage de 0,1 V / s dans une solution de trisHCl 0,1 M.

III. 3. Activité de l'électrode Polymère-MO-CPE

L'activité de l'électrode polymère-MO-CPE est évaluée par rapport à la chélation des ions Pb^{2+} . La Figure 67, illustre les voltammogrammes cycliques enregistré en milieu électrolytique, pour les électrodes polymère-CPE et polymère-MO-CPE préconcentrées dans les conditions optimales dans une solution contenant les ions plomb (II). Comme nous pouvons le constater l'électrode polymère-CPE est moins active que l'électrode polymère-MO-CPE, ce qui confirme que la présence du film organique catalyse la réduction des ions Pb^{2+} , en l'accumulant à la surface, sachant que la préconcentration est l'étape limitante de la réaction.

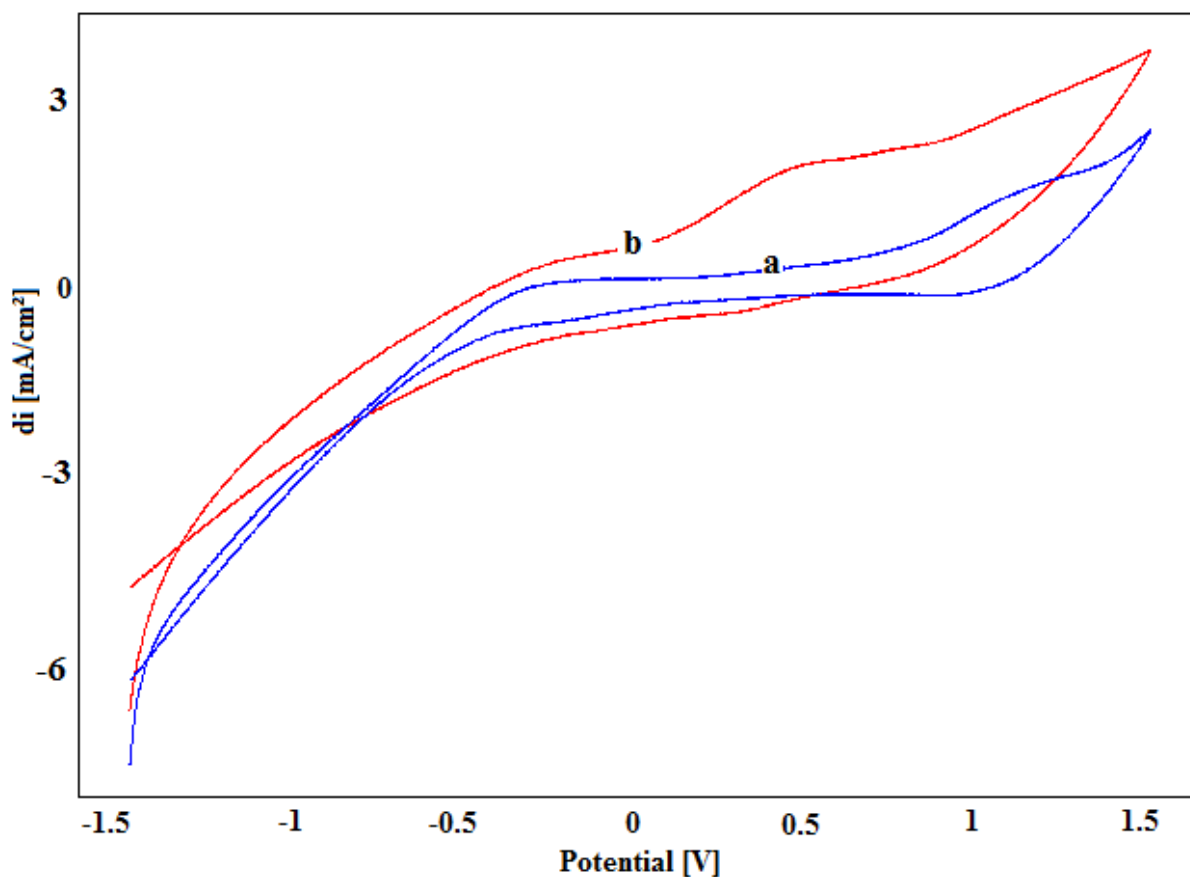


Figure 67. Voltamogrammes cycliques de CPE-Polymer (courbe a) et Polymer-MO –CPE (courbe b), enregistré à une vitesse de balayage de 0,1 V / s dans une solution de trisHCl 0,1 M, après l'accumulation de 0,602 mmol / L de plomb.

III. 4. Chélation des ions plomb (II)

Le comportement électrochimique, du plomb sur la CPE-MO-Polymer a été étudié par la voltamétrie cyclique dans une solution de 0.1 M de trisHCl et avec une vitesse de balayage égale à 100 mV.s⁻¹. Les résultats sont présentés sur la Figure 68. Après préconcentration dans une solution contenant 0,602 mmol/L de plomb (II). Nous constatons une augmentation considérable des densités de courant, mais il est difficile d'opérer des pics redox ce qui limite la voltammétrie cyclique, nous avons donc fait appel à la SWV.

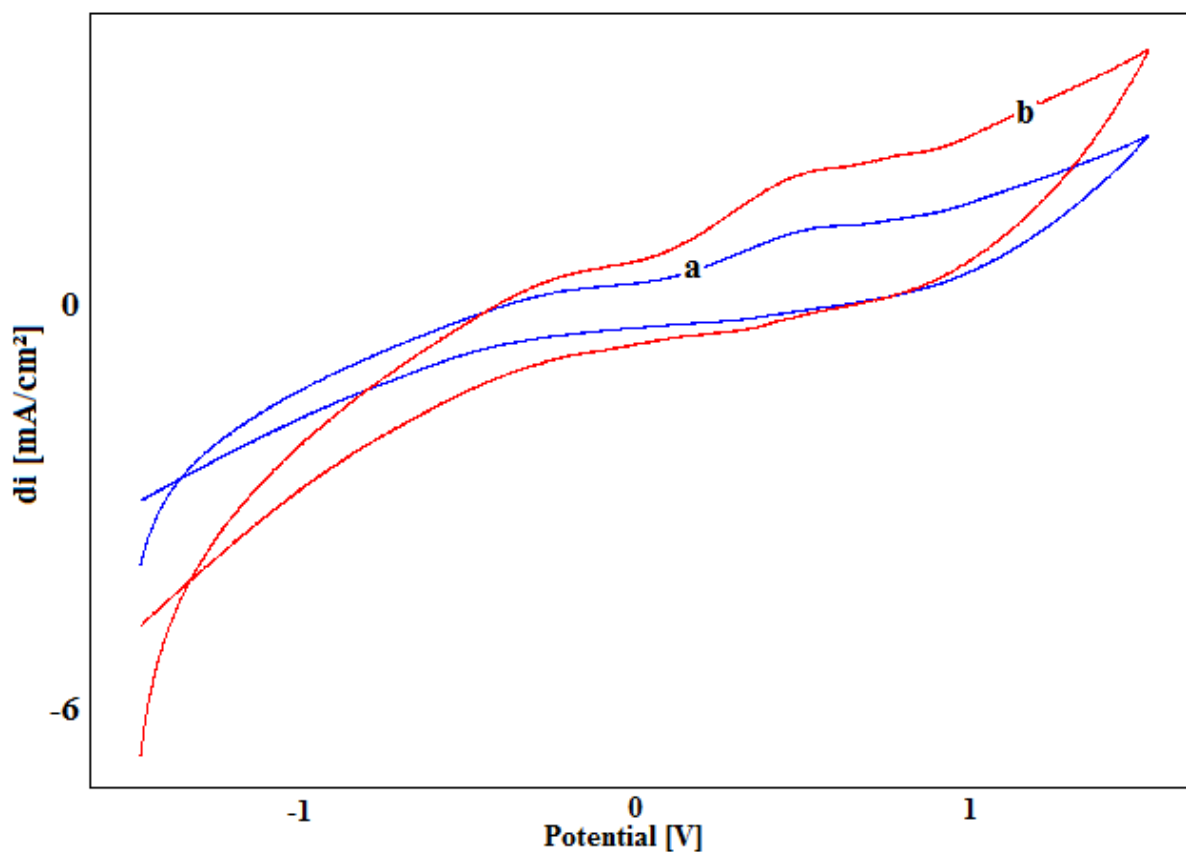


Figure 68. Voltamogrammes cycliques de Polymère-MO-CPE en absence (courbe a) et présence de 0,602 mmol/l de Plomb (courbe b) enregistré à une vitesse de balayage de 0,1 V / s

III. 5. Variation de la vitesse de balayage

La Figure 69 illustre les voltamogrammes cycliques enregistrés pour l'électrode Polymère-MO-CPE, à différentes vitesses de balayages. L'allure générale des voltamogrammes n'est pas atteinte. Par contre l'effet de la vitesse de balayage est remarquable sur les densités des courants, lorsque la vitesse de balayage augmente la densité de courant augmente, en raison de la libération des sites actifs.

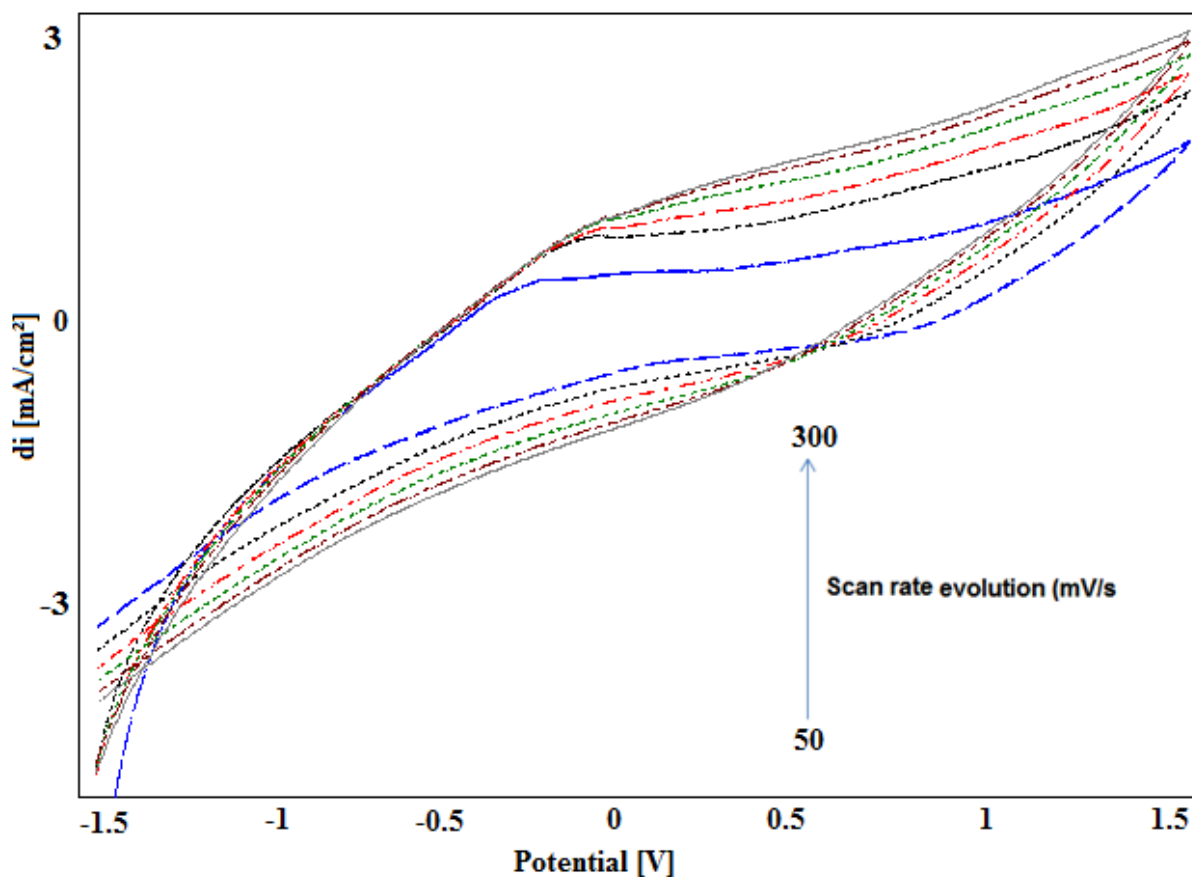


Figure 69. Voltamogrammes cycliques de Polymère-MO-CPE, enregistrés à différents vitesses de balayage dans une solution de trisHCl 0,1 M après l'accumulation de 3,01 mmol / L du plomb.

III. 6. Courbe de calibration

La variation de densité de courant en fonction de la concentration du plomb a été suivie par voltamétrie à onde carré (Fig. 70) dans une solution 0,1M de trisHCl, après préconcentration de l'électrode dans des solutions contenant différentes concentration de Pb^{2+} . Nous avons établi la courbe de calibration, donnée par la Figure 71. Les densités de courant augmentent linéairement avec la concentration du plomb. Cette linéarité est exprimée par la relation suivante:

$$di = 1,0467 [Plomb] + 0,1378 \quad R^2 = 0,9517$$

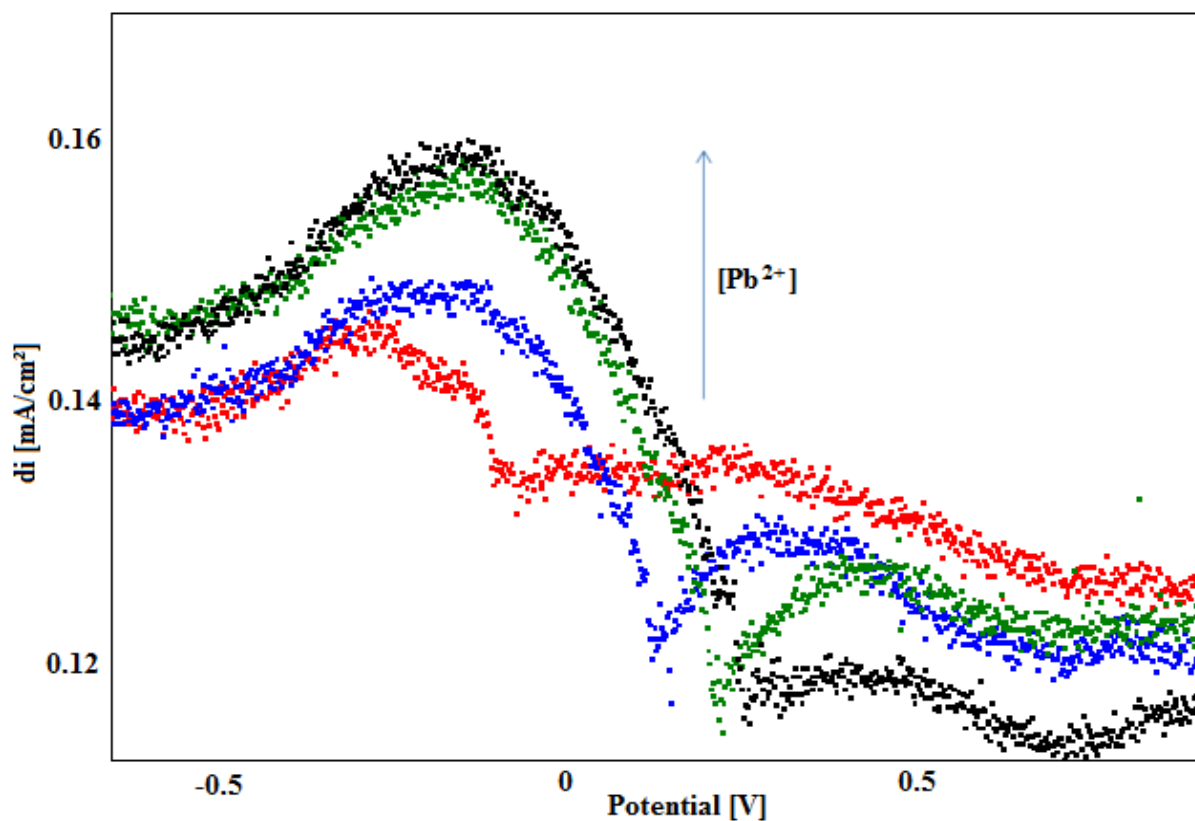


Figure 70. Voltamogrammes à onde carrée de Polymère -CPE, enregistré à des vitesses de balayage de 0,1 mV / s dans une solution 0,1M de trisHCl à différentes concentrations de plomb.

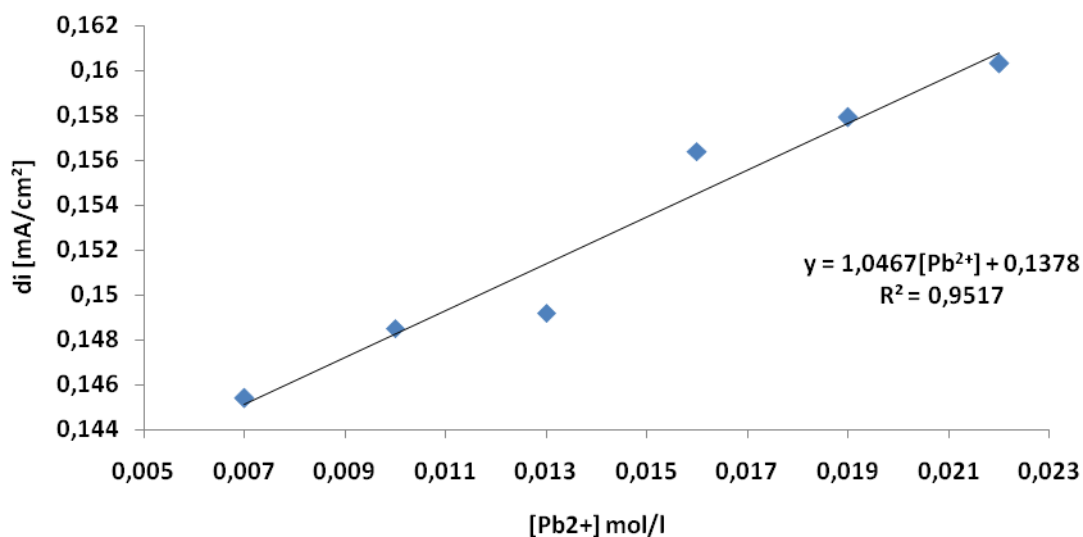


Figure 71. Evolution de la densité électrique avec la concentration du plomb.

- La limite de détection : $1,77 \times 10^{-8} \text{ mol.L}^{-1}$.
- La limite de quantification : $4,4 \times 10^{-8} \text{ mol.L}^{-1}$.

Conclusion

Dans cette étude, nous avons élaboré un capteur ampérométrique pour la détermination des ions de plomb, basé sur une électrode à pâte de carbone modifiée par un film organique. Le composé organique, et son complexe formé avec Pb^{2+} a été étudié par voie électrochimique [17], pour examiner les effets :

- du temps de contact de la molécule organique avec l'électrode à pâte de carbone.
- de la concentration de Pb^{2+} accumulée à la surface de l'électrode.
- du pH du milieu.

Après détermination des conditions optimales, nous avons comparé deux méthodes de préparation des électrodes MO-CPE, en particulier, la méthode par mixage, où la matière organique est introduite carrément dans la pâte et la méthode d'auto-assemblage. Cette dernière a montré une grande activité vis-à-vis de la chélation des ions Pb^{2+} . L'application analytique à des solutions réelles a montré que malgré l'effet des interférences, l'analyse du plomb (II) est possible, par le suivi du pic de relargage (oxydation) des ions Pb^{2+} dans la solution électrolytique.

Les électrodes modifiées par 2-benzimidazolthiole ont révélé une électroactivité remarquable après revêtement du polymère. Avec 2-benzimidazolthiole en tant que couche d'ancrage, le revêtement du polymère a montré une performance améliorée pour cette électrode modifiée.

References

- [1] da Silva JBB, Borges DLC, da Veiga MAMS, Curtuis AJ, Welz B (2003) Determination of cadmium in biological samples solubilized with tetramethylammonium hydroxide by electrochemical atomic spectrometry, using ruthenium as permanent modifier. *Talanta* 60: 977-982.
- [2] Beilsteins Handbuch der organischen Chemie (1971) Bd IX, U5, Springer Verlag. Berlin 4234.
- [3] Nikolski BP, Krylow LI, Zakhvataev BB (1973) *Radiokhimija* 15: 810-813.
- [4] Gao H, Qi X, Chen Y, Sun W (2011) Electrochemical deoxyribonucleic acid biosensor based on the self-assembly film with nanogold decorated on ionic liquid modified carbon paste electrode. *Anal Chim Acta* 704: 133-138.
- [5] Wang J (2003) Nanoparticle-based electrochemical DNA detection. *Anal Chim Acta* 500: 247-257.
- [6] Lauriane NTR, Najih R, Chtaini A (2014) Electrochemical Sensor of Heavy Metals Based on Chelating Compounds. *Pharm Anal Acta* 5: 4.
- [7] Valery H, Ngono TR, Saâdane H, Ennachte M, Khouili M, et al. (2013) Evaluation of carbon paste electrode modified by organic molecular for the analysis of heavy metals by square wave voltammetry. *Pharmaceut Anal Acta* 4: 10.
- [8] Gomdje VH, Ngono TRL, El S, Qouatli, Najih R, et al. (2013) *Acta Tech Corv* 5: 139-142.
- [9] Hernandez OE, Rodriguez IN, Hidalgo JLH, Reguera E (2007) Evaluation of carbon paste electrodes modified with furoylthioureas for the analysis of cadmium by differential pulse anodic stripping voltammetry. *Sensors and Actuators B* 123: 488-494.
- [10] Kalcher K (1990) Chemically modified carbon paste electrodes in voltammetric analysis. *Electroanalysis* 2: 419-433.
- [11] Paneli MG (1993) Applications of adsorptive stripping voltammetry in the determination of trace and ultratrace metals. *Electroanalysis* 5: 355-373.
- [12] Kotkar R, Srivastava K (2006) Voltammetric determination of para-aminobenzoic acid using carbon paste electrode modified with macrocyclic compounds. *Sensors and Actuators* 119: 524-530.
- [13] El Mhammedi MA, Achak M, Chtaini A (2009) $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ -modified carbon-paste electrode for the determination of trace lead (II) by square-wave voltammetry. *J Hazard Mater* 161: 55-61.
- [14] Yassien MT, Mohamed SI, Mohammed K (2011) Square-wave cathodic adsorptive stripping voltammetric determination of 3-hydroxyflavone, Morin and Hesperidin in bulk form and biological fluids in absence and presence of Cu(II). *J Braz Chem Soc* 22.
- [15] J.C. Miller, J.N. Miller, *Analyst*, 113 (1988) 1351–1356.

[16] Chamekh Ould M'Bareck, Quang Trong Nguyen, Stephane Alexandre, Irene Zimmerlin, *Journal of Membrane Science* 278 (2006) 10–18.

[17] Touzara S, Najih R, Chtaini A (2016) Electrochemical Sensor Based on 2-Benzimidazolethiole Modified Carbon Paste Electrode for Lead Chelation Therapy. *J Biomol Res Ther* 5: 137.

**Chapitre V. Etude Electrochimique de la Chélation du Plomb par
l'Electrode de Pâte de Carbone Modifiée par un Film de l'EDTA
Auto Assemblé.**

Introduction :

Dans ce chapitre nous présenterons une nouvelle génération d'électrodes, destinées à la reconnaissance moléculaire. Il s'agit des électrodes à pâte de carbone modifiée par une couche de molécules organiques.

La présence dans les rivières et les cours d'eau de métaux lourds comme le cuivre, le zinc, le cadmium et le plomb causent de nombreux problèmes en raison de leur très grande toxicité [1]. En effet, chez les personnes souffrant d'intoxications métalliques, on trouve les métaux toxiques dans la plupart des tissus mous, surtout le foie, les reins mais aussi dans les os. Une fois absorbés, les métaux lourds sont souvent difficiles à éliminer. La demi-vie de la plupart d'entre eux dans le corps humain est longue (30 ans pour le cadmium). Les effets d'une exposition de longue durée aux métaux (Cd, Cu, Pb, Sn, Zn) sont, entre autres, la gastroentérite, l'irritation pulmonaire, l'insuffisance rénale et hépatique. De plus, elle pourrait également provoquer des cancers [1].

Le plomb et le mercure font partie des métaux lourds nuisibles pour la santé, un excès de ces métaux peut provoquer des maladies très graves [2,3]. La possibilité de développer des électrodes à base des molécules organiques, non toxiques, représente une opportunité clinique capable de réduire la concentration de ces métaux dans le sang et le tissu.

L'un des moyens les plus sûrs et les plus efficaces d'éliminer les métaux lourds toxiques de notre corps est le traitement par chélation avec l'EDTA. L'EDTA (acide éthylènediaminetétraacétique) est un acide aminé synthétique essentiellement composé de quatre molécules de vinaigre et souvent utilisé comme conservateur dans l'alimentation. Il a été synthétisé pour la première fois en Allemagne en 1935 et ensuite breveté aux États-Unis en 1941.

Des preuves scientifiques concordantes et abondantes suggèrent que le traitement chélateur par l'EDTA peut augmenter de façon très importante la santé et les performances. On a montré qu'en plus d'éliminer les métaux lourds de l'organisme (ou peut-être comme résultat de leur élimination), ce traitement aide à prévenir l'athérosclérose [4] et le cancer [5], améliore la circulation sanguine [6], abaisse la pression sanguine [7] et réduit les dangereux mécanismes de coagulation [8].

Le traitement chélateur par l'EDTA a montré qu'il augmente de façon très importante les niveaux d'énergie. De nombreux chercheurs soupçonnent que cela est dû à une stimulation des mitochondries parce que l'on sait que le plomb interfère avec leur fonctionnement [9] et

que la chélation aide à éliminer le plomb de l'organisme. Le traitement est également connu pour avoir des activités antivirales et antioxydante [10]. Peut-être plus important encore, parce qu'il augmente la circulation dans le cerveau, le traitement chélateur par l'EDTA pourrait également aider à améliorer la fonction cognitive et la mémoire [11]. Sauf que la chélation par voie intraveineuse présente des inconvénients, du fait qu'elle est directe et puissante. Cent pour cent de l'EDTA sont absorbés par la circulation sanguine lorsqu'il est administré par voie intraveineuse.

Dans le cadre de bénéficier des avantages et éviter les problèmes produits par l'utilisation de EDTA, nous cherchons à développer une électrode à base de cette molécule capable de chélater les métaux lourds chez l'être humain. Pour protéger le film d'EDTA déposé sur la surface de la pâte de carbone nous avons adhéré du polymère à la surface de l'électrode modifiée.

I. Partie Expérimentale

I. 1. Réactifs et produits chimiques :

Tous les produits chimiques utilisés dans ce travail, sont de haute qualité. La poudre de graphite (qualité spectroscopique RWB, Rings dorff-Werke GmbH, Bonn-Bad Godesberg, Allemagne) est utilisée à l'état brut, elle n'a pas subi de purification ou pré traitements au préalable. Le $PbSO_4$ a été obtenu auprès de Merck chemicals. De l'eau di ionisée a été utilisée pour préparer toute les solutions.

I. 2. Appareillages

Les expériences électrochimiques ont été menées par un potentiostat voltalab (modèle PGSTAT 100, Eco Chemie B. V., Utrecht, Pays-Bas) contrôlé par le logiciel de traitement des données électrochimiques (voltalab master 4). Les électrodes à pâte de carbone modifiée par l'EDTA (EDTA-CPE), ont été utilisées comme électrode de travail (ET) ; l'électrode au calomel saturé (ECS) comme électrode de référence (ER) et une plaque de platine a été utilisée comme contre électrode (EC). Le pH mètre (Copenhagen, PHM210, Tacussel, French) a été utilisé pour ajuster les valeurs du pH.

I. 3. Préparation de l'électrode modifiée

L'électrode à pâte de carbone, modifiée par l'EDTA (EDTA-CPE) a été préparée en immobilisant l'EDTA (figure 72) par trempage de l'électrode à pâte de carbone préformée

dans une solution contenant la solution d'EDTA. L'effet du temps de contact de l'électrode CPE avec la solution d'EDTA a été étudié. Et ensuite, la surface de l'électrode préparée est recouverte par le polymère.

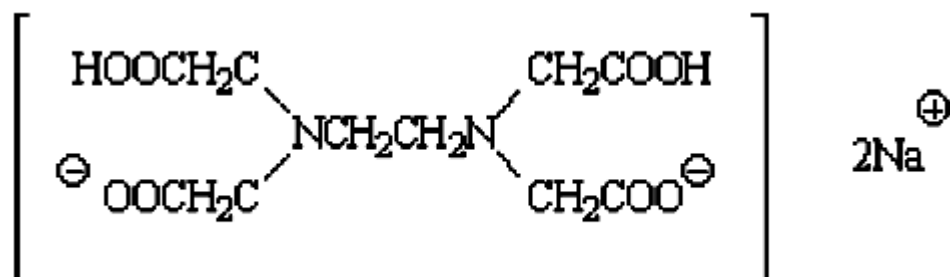


Figure 72. Disodium ethylenediaminetetraacetate dihydrate

I. 4. Procédure

La surface d'électrode obtenue a été lavée avec de l'eau bidistillée, et séchée à la température du laboratoire. En fin l'électrode est transférée dans la cellule électrochimique, de 100 mL de capacité, contenant 0.1 mol.L⁻¹ de trisHCl. L'électrode de travail a été préconcentrée dans la solution contenant l'analyte à circuit ouvert.

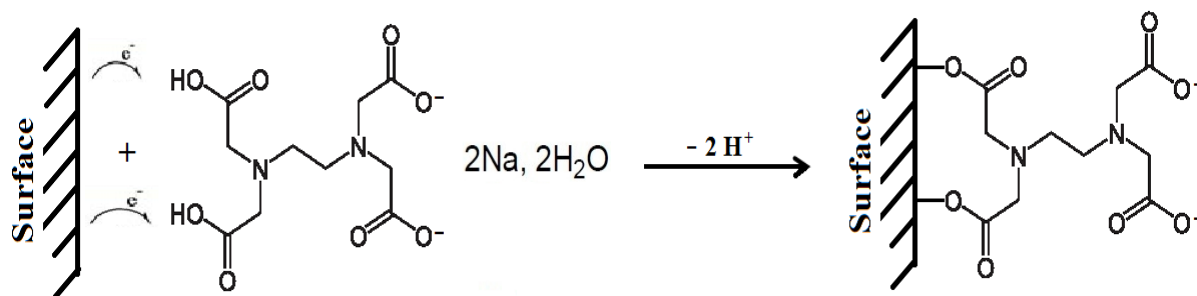
II. Résultats

II. 1. Optimisation des conditions expérimentale

II. 1. 1. Comportement électrochimique de l'électrode modifiée par la molécule proposée

Pour examiner le comportement de la couche d'EDTA déposée sur le carbone graphite, nous avons enregistré les voltamogrammes cycliques relatifs aux deux électrodes étudiées (CPE et CPE-EDTA) (Fig. 73). Nous constatons que l'allure des voltamogrammes est différente, ce qui montre que la surface de l'électrode à pâte de carbone est bien modifiée par la molécule organique.

La réaction proposée pour le griffage de la molécule d'EDTA sur la surface de l'électrode CPE :



On a une diminution de pH (de 4,47 à 4,15) dans la solution de griffage (EDTA (0.1M)) ce qui confirme la libération des ions H^+ au cours de la modification par auto-assemblage.

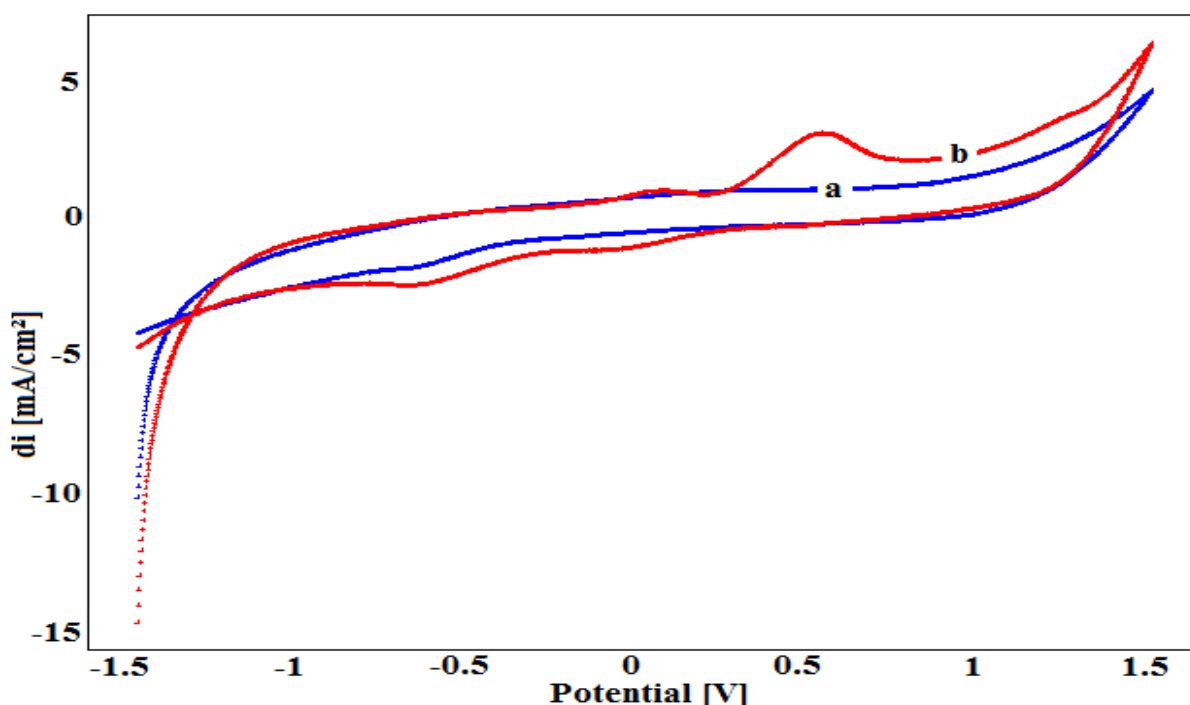


Figure 73. Voltammogrammes cycliques enregistrés dans une solution tampon (pH 5,06), à la surface des électrodes, CPE(a) et EDTA-CPE(b), vitesse de balayage 100 mV / s.

II. 1. 2. Influence du temps de préconcentration des ions Pb^{2+}

Pour être applicable à une mesure sur site réel, une méthode analytique doit être rapide et l'étape d'accumulation doit être la plus courte possible. La variation du temps d'accumulation a été examinée (Fig. 74) pour la solution de 10 mg/L de Pb^{2+} dans l'intervalle de temps compris entre 0 et 45 min. Les densités de courant des pics d'oxydations décroissent graduellement avec le temps d'accumulation située dans l'intervalle 0-7 min. Après 7 min d'accumulation, la quantité de Pb^{2+} accumulée à la surface de l'électrode modifiée décroît

avec l'augmentation du temps d'accumulation, probablement en raison de la saturation de la surface. Le temps de préconcentration, 7 min, sera adopté par la suite dans ce travail.

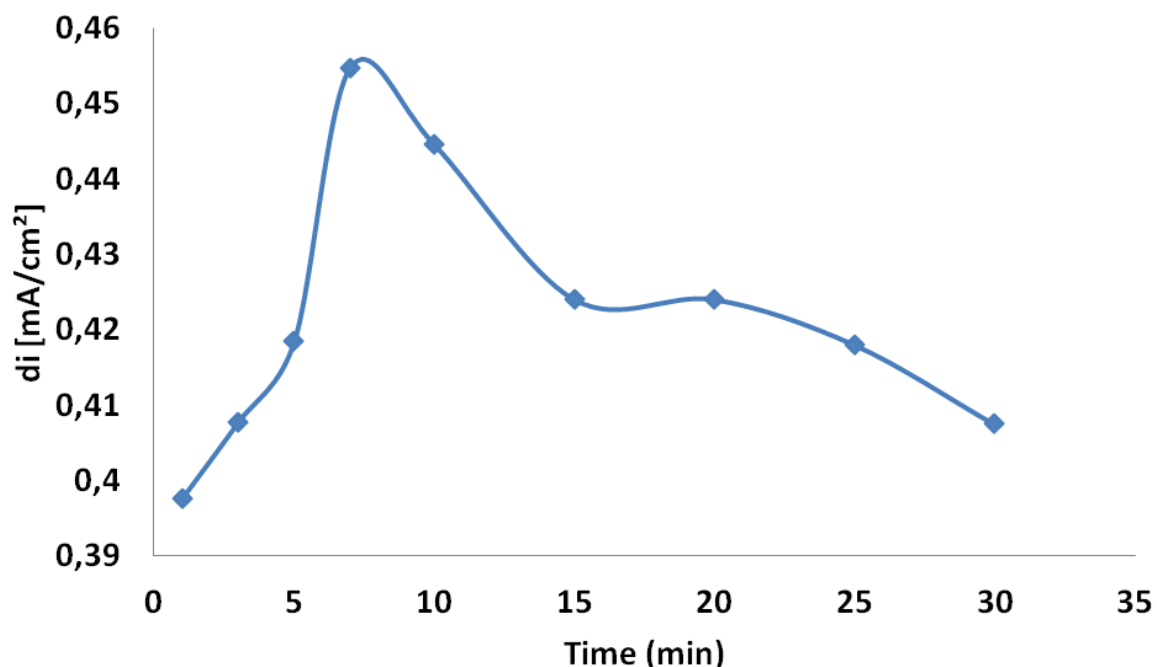


Figure 74. Influence du temps de préconcentration sur l'intensité du pic d'oxydation du Pb^{2+} dans une solution de trisHCl 0.1M, pH=5.06 pour CPE-ADN.

II. 1. 3. Effet de la vitesse de balayage

L'influence de la vitesse de balayage a été étudiée après une étape de préconcentration de 7 min dans une solution contenant 10mg/L de Pb^{2+} , ensuite l'électrode est transférée dans la cellule électrochimique de mesure contenant une solution trisHCl 0.1 M, les voltammogrammes cycliques enregistrés sont présentés par la Figure. 75. L'intensité du pic d'oxydation varie linéairement avec la vitesse de balayage dans la gamme de potentiel située entre 30 et 300 mV/s (Fig. 76). Cette linéarité traduit un phénomène de surface, les ions de plomb ont été, probablement, diffusés vers les sites actifs du film organique.

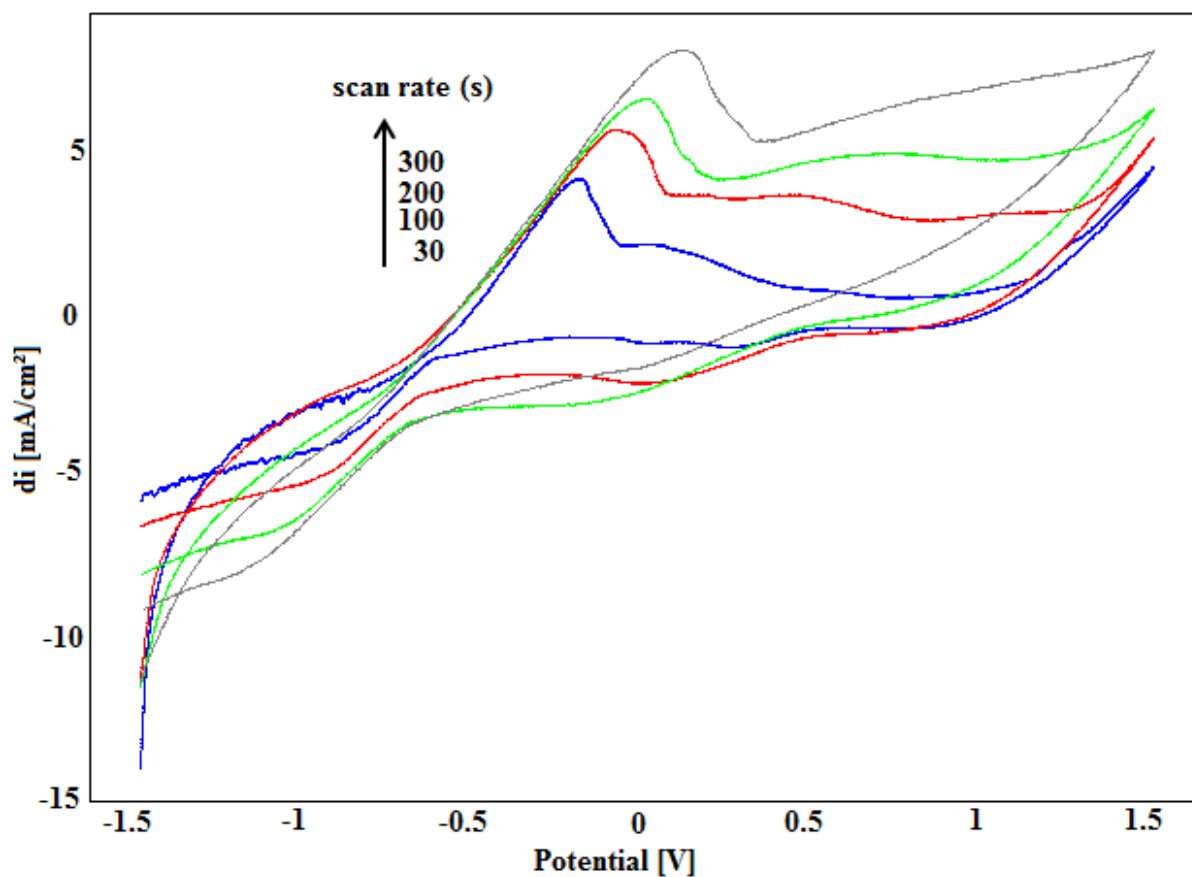


Figure 75. Voltammogramme cyclique, enregistré, dans une solution tris HCl 0.1M après l'accumulation du Pb^{2+} , à différentes vitesses de balayage, pour l'électrode CPE-EDTA.

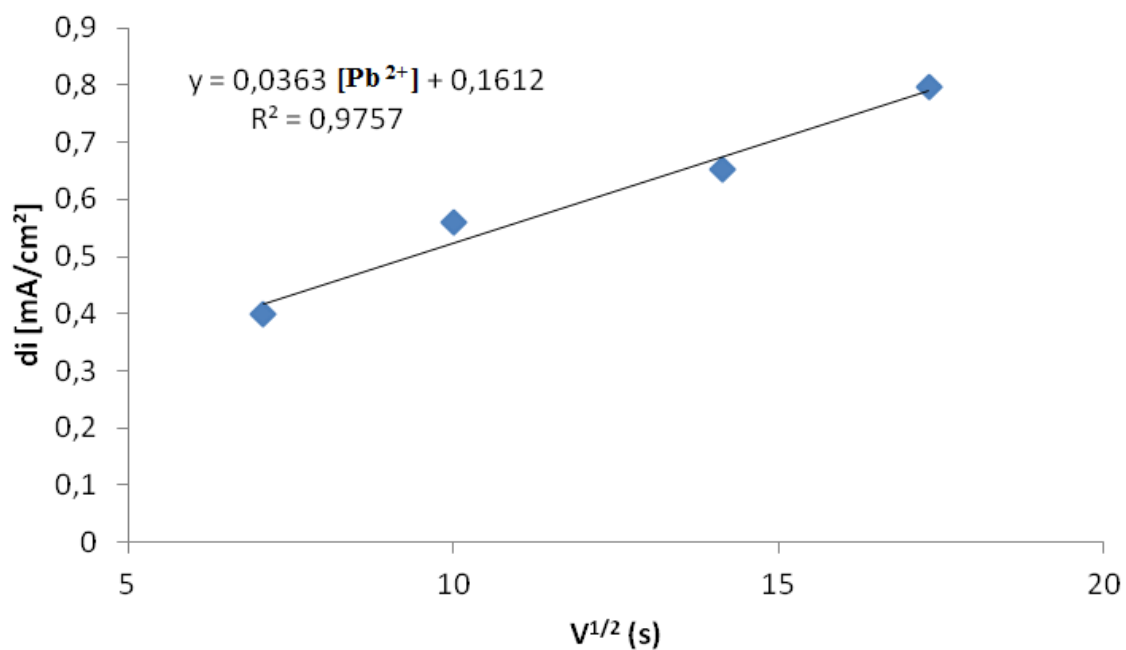


Figure 76. Influence de la vitesse de balayage sur les intensités de pics d'oxydation dans une solution de trisHCl 0.1M après l'accumulation de Pb^{2+} (pH=5.06).

II. 1. 4. Influence du temps de séjours

La Figure 77 montre les CVs enregistrés respectivement, à la surface de l'électrode mère (CPE) et les différentes électrodes modifiées, EDTA-CPE, qui se diffèrent par le temps de contact de l'électrode CPE et la solution d'EDTA. D'après la Figure nous pouvons constater que le dépôt de l'EDTA sur la surface CPE nécessite environ 24 heures, le voltammogramme cyclique correspondant présente les densités de courant les plus élevées.

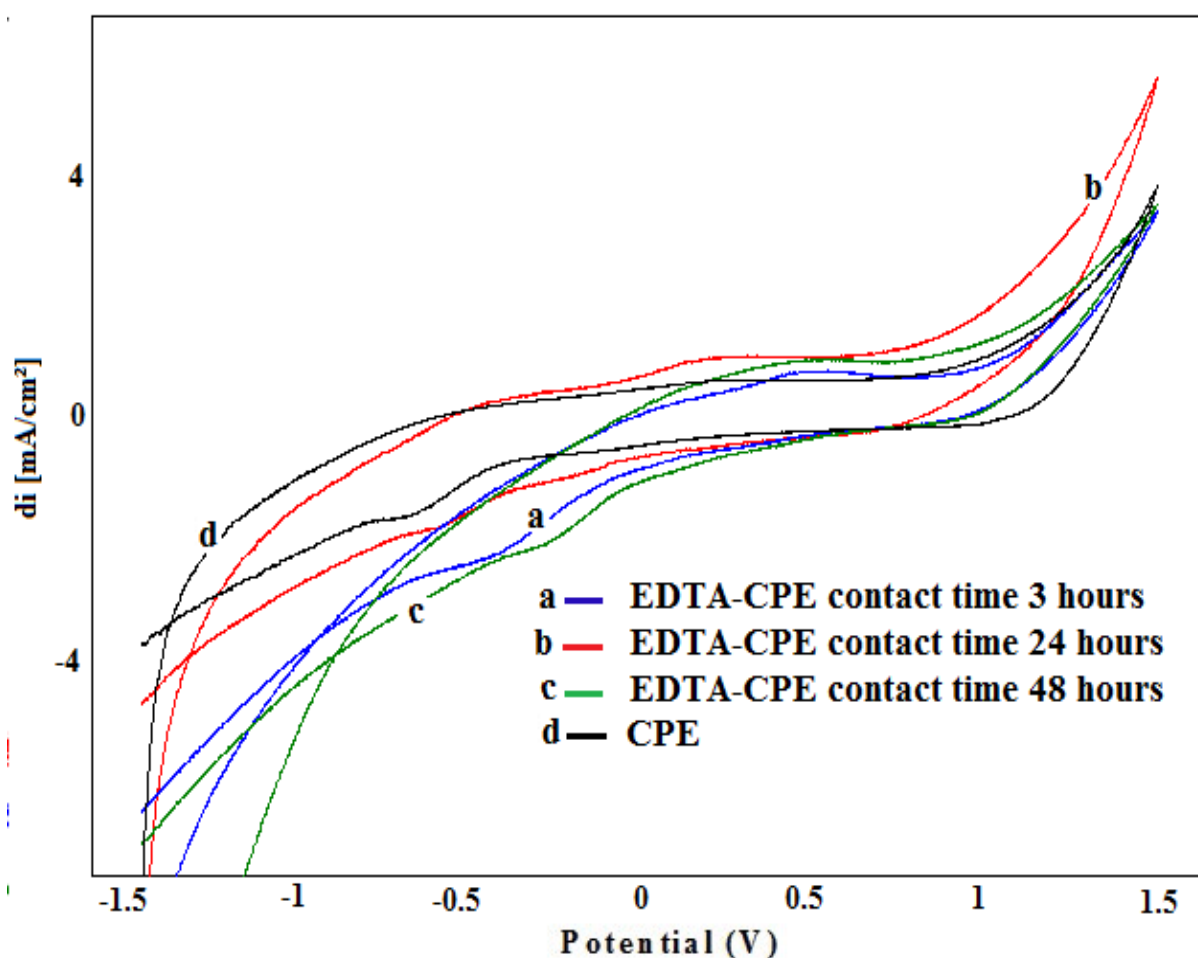


Figure 77. Les voltammogrammes cycliques enregistrés dans une solution tampon (pH 7), à CPE et ADN-CPE, vitesse de balayage 100 mV / s.

Les CV's enregistrés pour l'électrode EDTA-CPE, en milieu électrolytique, après préconcentration dans une solution contenant les ions Pb^{2+} , présente des courts versants de réduction dans l'intervalle de potentiel compris entre -0.5 V et -1.5 V, aucun pic de réduction définit n'est observé, probablement en raison d'une grande quantité de Pb^{2+} préconcentrée à la surface du film d'EDTA. Par contre dans le sens de balayage anodique, apparait un pic d'oxydation large vers environ 0.6 V, ce pic correspond à l'oxydation du plomb piégé dans la matrice organique. Les densités de courant les plus élevées sont obtenues par l'électrode séjournée 24 heures dans la solution d'EDTA.

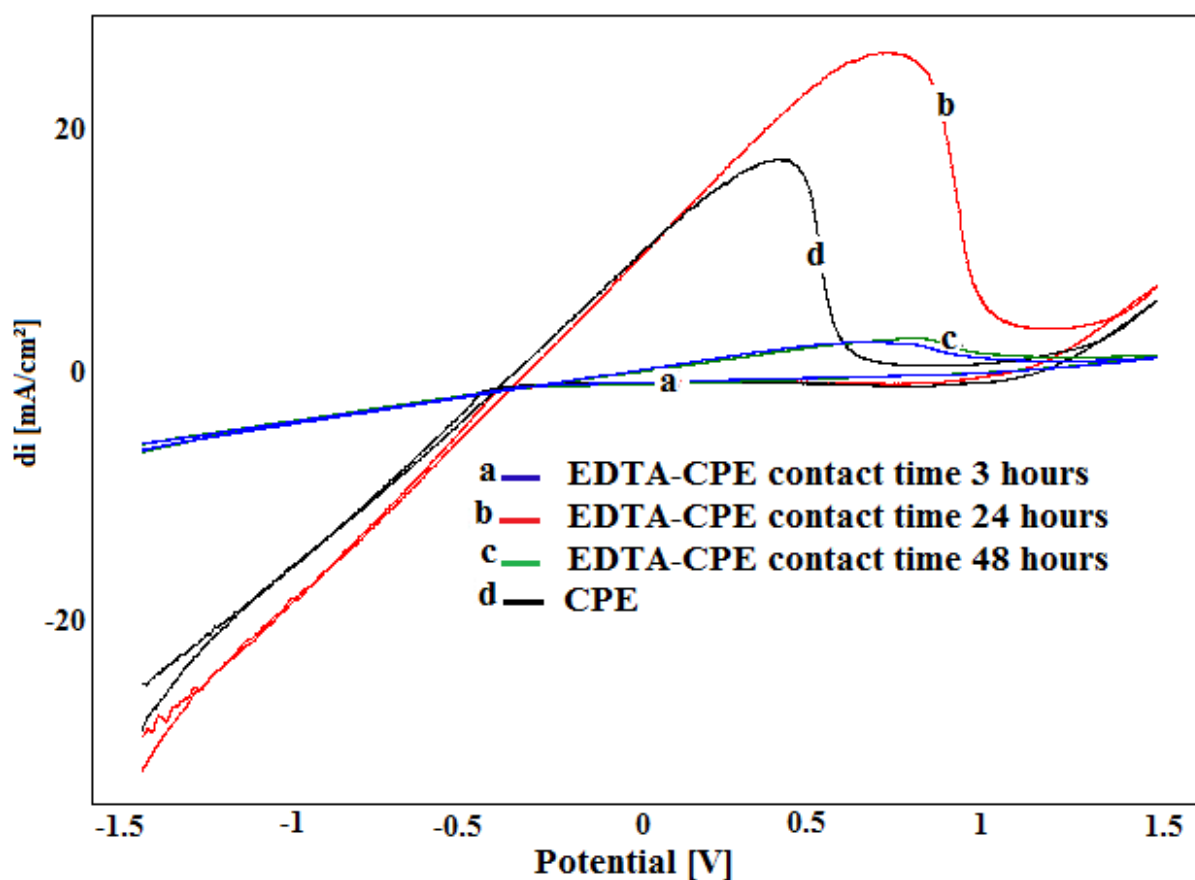


Figure 78. Voltammogrammes cycliques obtenus par les électrodes EDTA-CPE et CPE à 100 mV / s, dans une solution tampon, après l'accumulation de Pb^{2+} .

Les résultats obtenus par la voltammétrie cycliques ont été confirmés par voltammétrie à ondes carrées (SWV), les densités de courant les plus élevées sont obtenues à partir de l'électrode CPE séjournée pendant 24 heures dans la solution d'EDTA. A l'inverse de la voltammétrie cycliques, la SWV permet de distinguer les deux pics de réduction et

d'oxydation du plomb (Fig. 79). Les courbes de calibration (Figure 80) ont été tracées à différentes concentration des ions Pb^{2+} .

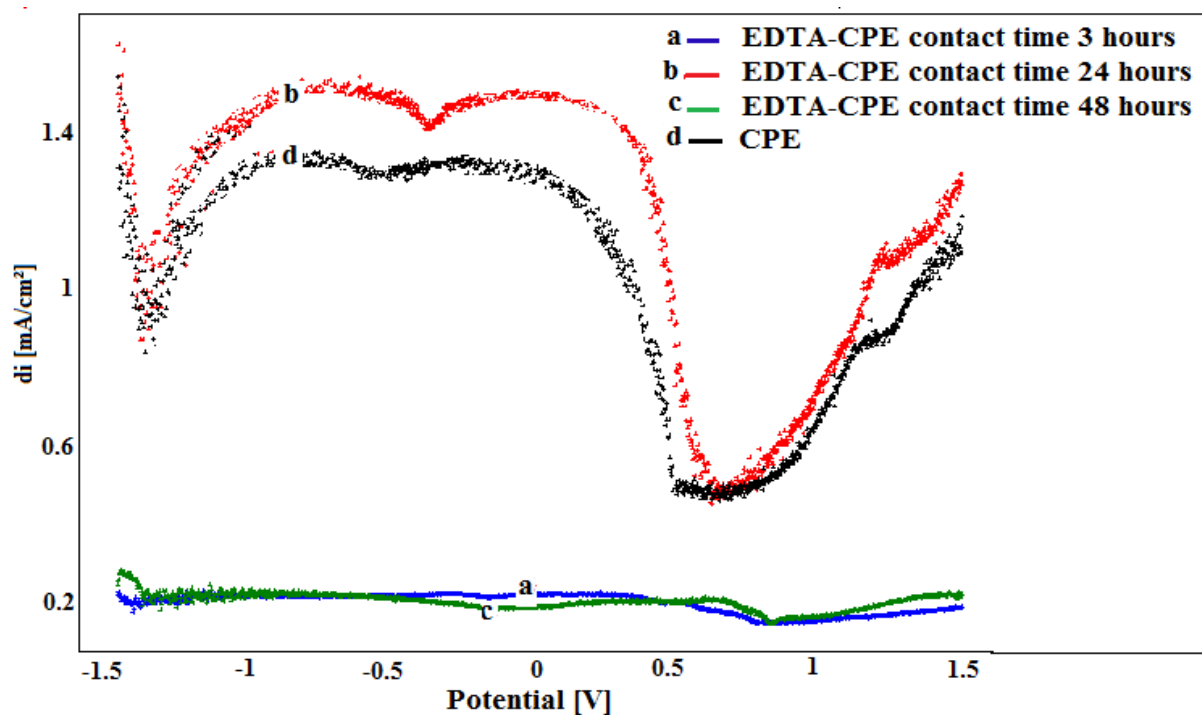


Figure 79. Voltammogrammes SQW de différentes électrodes préparées dans une solution tampon après l'accumulation du plomb.

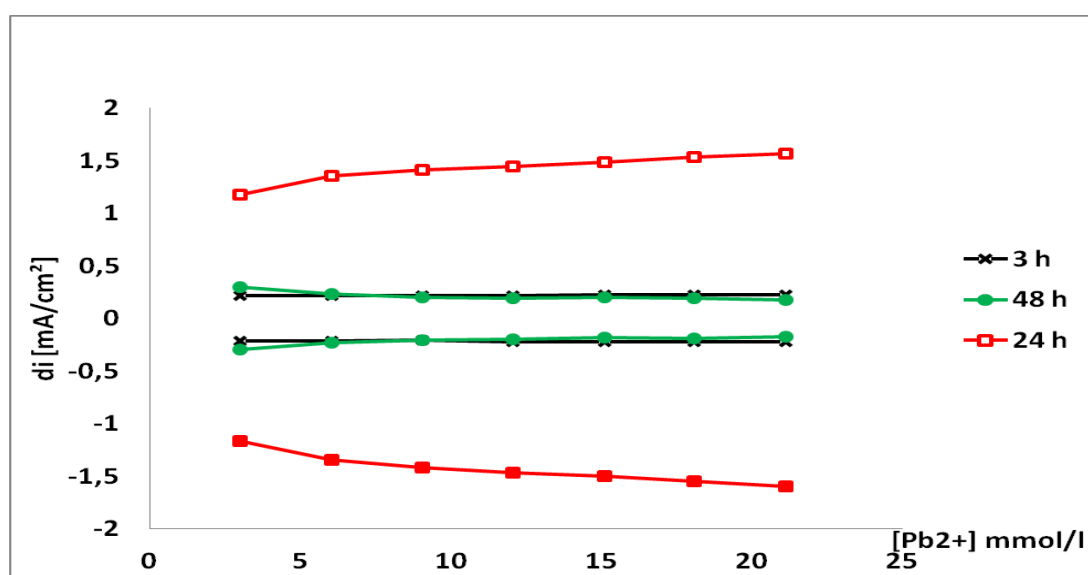


Figure 80. Evolution des densités de courant des pics en fonction de la concentration de Pb (II).

II. 1. 5. Influence de pH

La Figure 81 illustre l'effet du pH de la solution de préconcentration, sur les SWV's enregistrés en milieu électrolytique trisHCl (0.1 mol l^{-1}). Les pics atteignent leurs maximums pour des valeurs de pH acide. Les courbes de calibration montrent que le pic d'oxydoréduction augmente avec la diminution du pH (Figure 82).

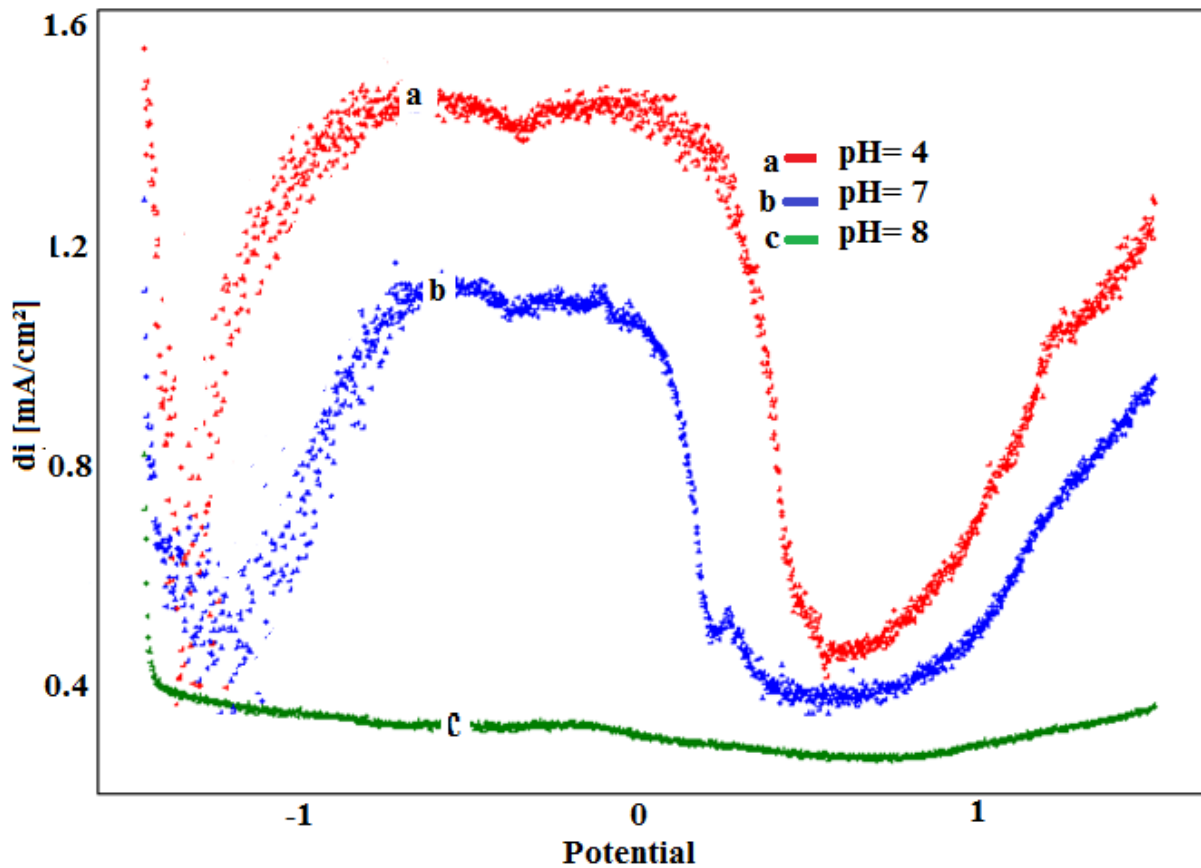


Figure 81. SWV's enregistrés pour l'électrode CPE-EDTA, après la variation de pH de la solution de préconcentration.

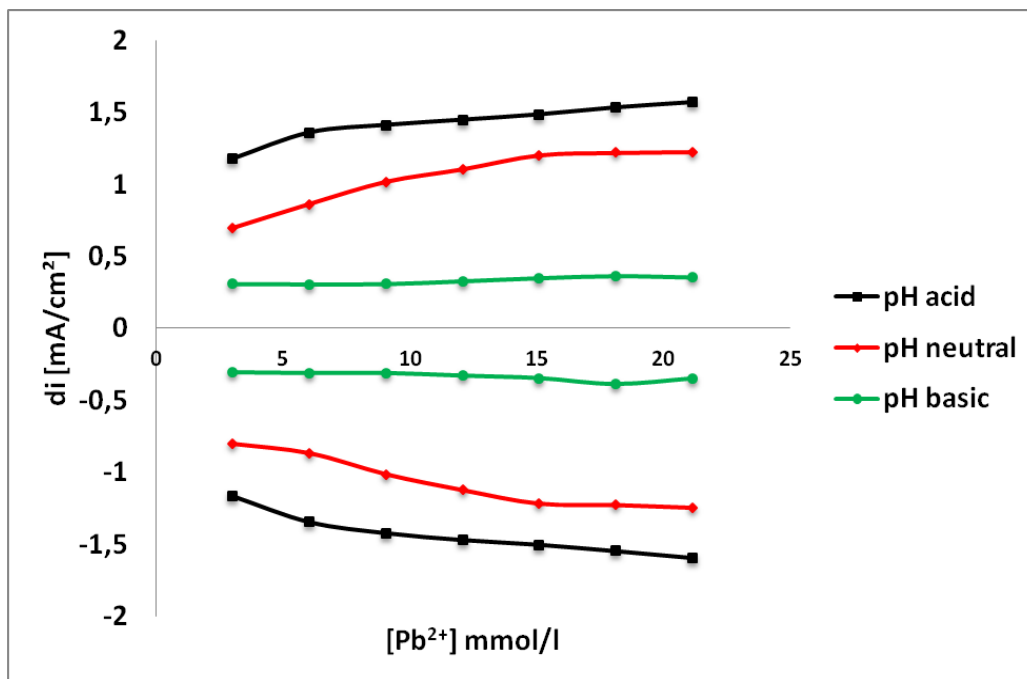


Figure 82. Evolution des densités de courant des pics en fonction de la concentration de Pb (II).

II. 1. 6. La courbe d'étalonnage

La Figure 83 montre l'effet de la variation de la quantité de Pb(II) sur les voltamogrammes à onde carrée enregistrés, pour l'électrode de carbone modifiée par l'EDTA, en milieu électrolytique trisHCl (0.1M) pH=5.06.

Nous constatons que la hauteur des pics augmente avec la concentration du Pb (II).

La Figure 84 représente l'évolution de la densité de courant d'oxydoréduction du Pb (II) en fonction de la concentration.

La limite de détection est de $1,1 \cdot 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ et $2,83 \cdot 10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$ pour le pic d'oxydation et le pic de réduction respectivement. La quantification limite est de $3,37 \cdot 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ et $9,44 \cdot 10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$ respectivement pour le pic anodique et le pic cathodique.

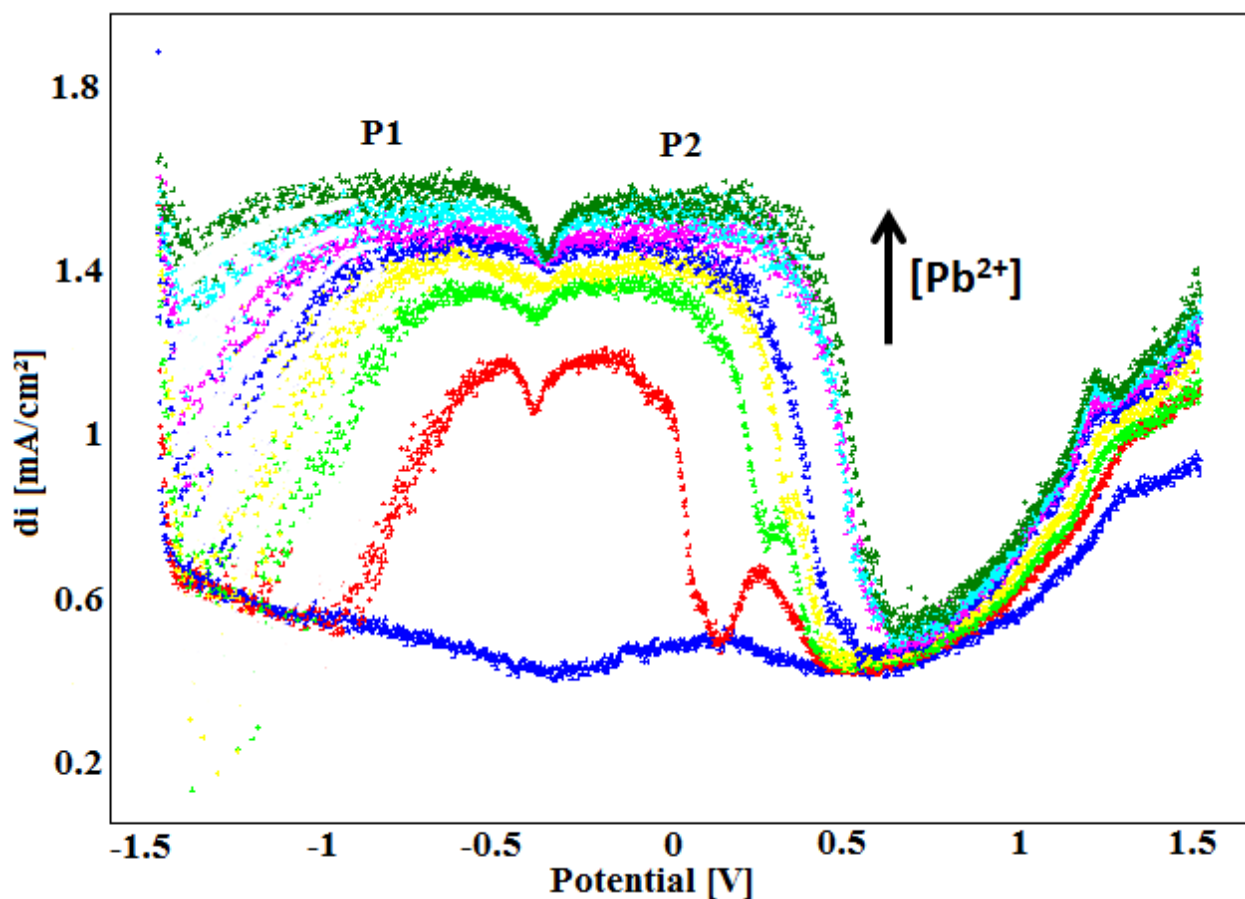


Figure 83. Voltammogrammes SQW enregistrés à l'EDTA-CPE, dans une solution tampon après la préconcentration dans différentes concentrations de plomb.

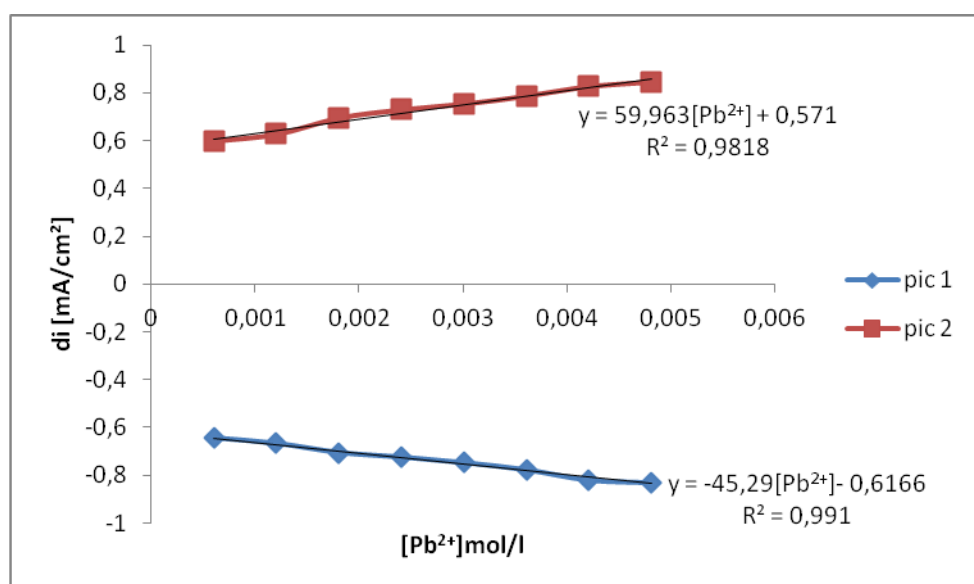
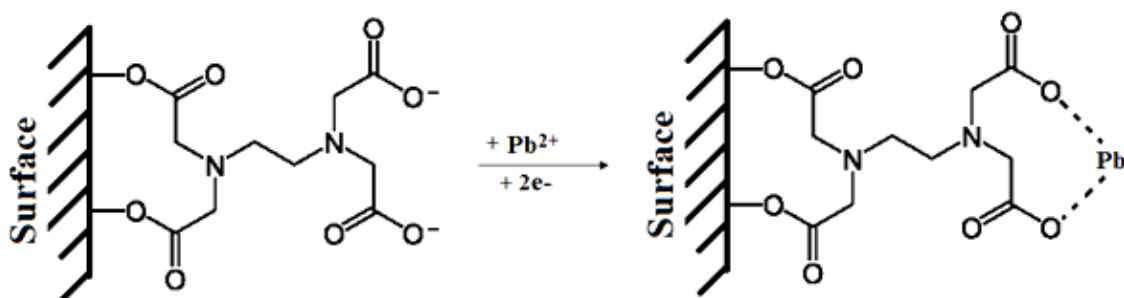


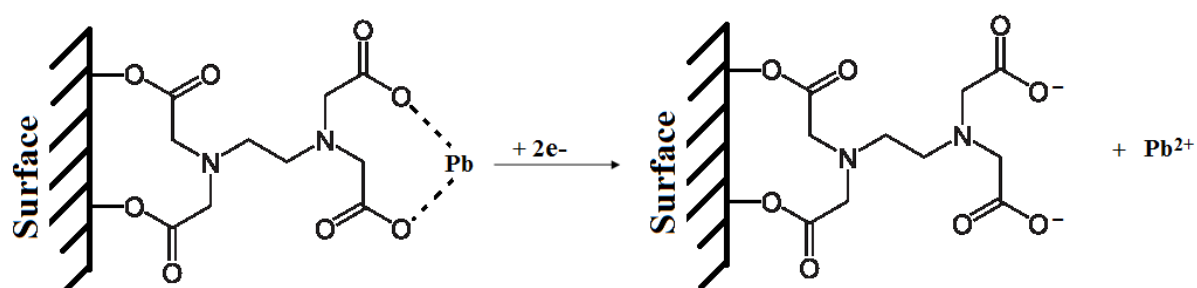
Figure 84. Evolution des densités de courant des pics en fonction de la concentration de Pb (II).

Le mécanisme proposé est le suivant :

- Etape 1 : la chélation par voie douce.



- Etape 2 : la relargage ou l'oxydation opérationnelle.



II. 2. Détection du mercure

Pour l'étude de la chélation et la détection des ions de mercure nous avons fait appel à la voltammétrie à onde carrée (Fig. 85). Après préconcentration de l'électrode dans une solution contenant les ions de mercure, l'électrode est transférée dans la cellule électrochimique de mesure et le SWV est tracé, ce dernier, présente un pic d'oxydation bien défini, qui permet de suivre l'évolution du courant avec la concentration du mercure (II). La densité du pic d'oxydation augmente avec la concentration des ions de mercure.

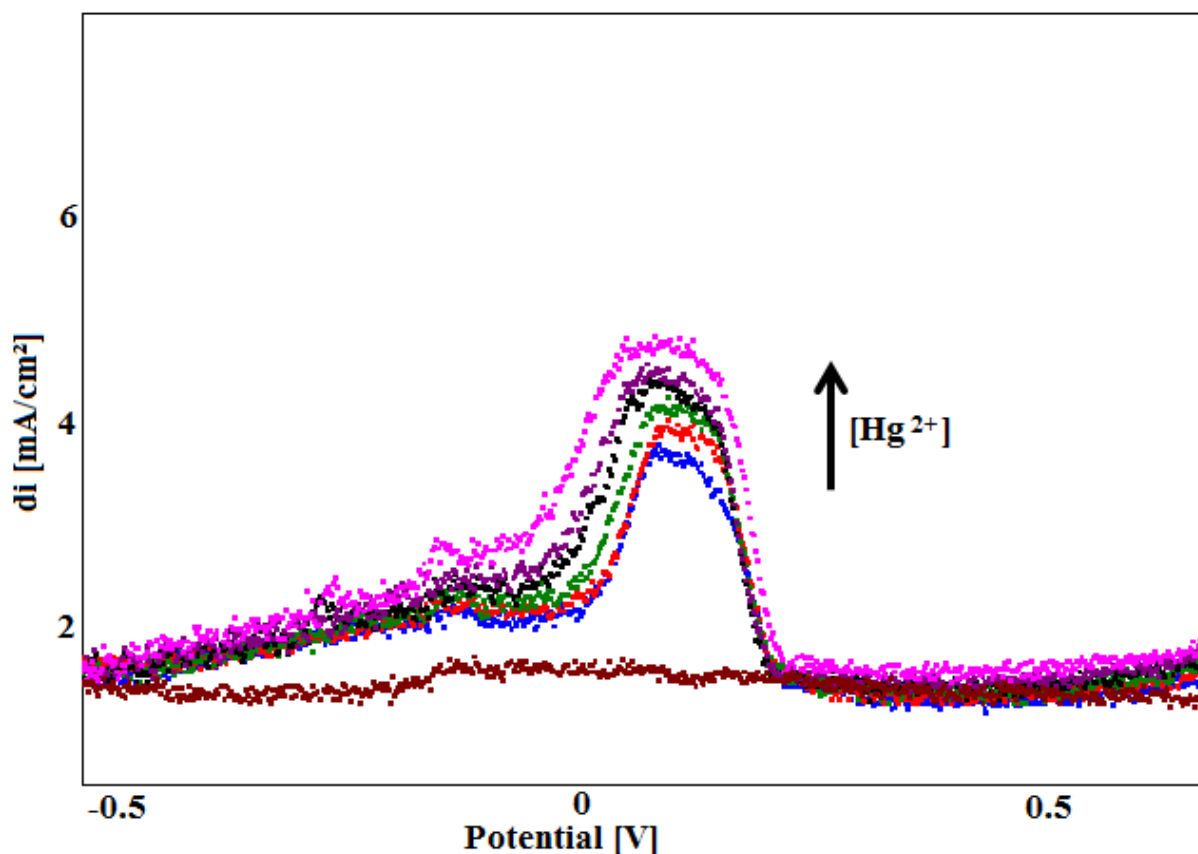


Figure 85. Voltammogrammes SQW enregistrés à l'EDTA-CPE, dans une solution tampon après la préconcentration dans différentes concentrations de mercure.

a. Courbe de calibration du mercure

La Figure 86 présente la variation de la densité de courant du pic d'oxydation du mercure en fonction de la concentration des ions Hg^{2+} . Cette droite d'étalonnage a été tracée pour des concentrations comprises entre 0 et 0.07g/L, le coefficient de régression linéaire est de 0.9997.

L'équation de corrélation est :

$$Y = 682.01 [\text{Hg}^{2+}] + 3.3254$$

La limite de détection (DL) et la quantification limite (QL) sont calculées à partir de l'équation de Miller-Miller [12] :

$$SD = \frac{1}{(n-2)} \sum_{j=0}^n (i_j - I_j)^2$$

où

i_j : est la valeur expérimentale du courant calculé à la manipulation j .

I_j : est la valeur correspondante recalculée à la même concentration en utilisant l'équation de calibration.

$n = 7$: nombre d'expériences.

$$DL = (3 \times S.D) / \text{pente} = 3,7759 \cdot 10^{-7} \text{ mol/L}$$

$$QL = (10 \times S.D) / \text{pente} = 1,2586 \cdot 10^{-6} \text{ mol/L}$$

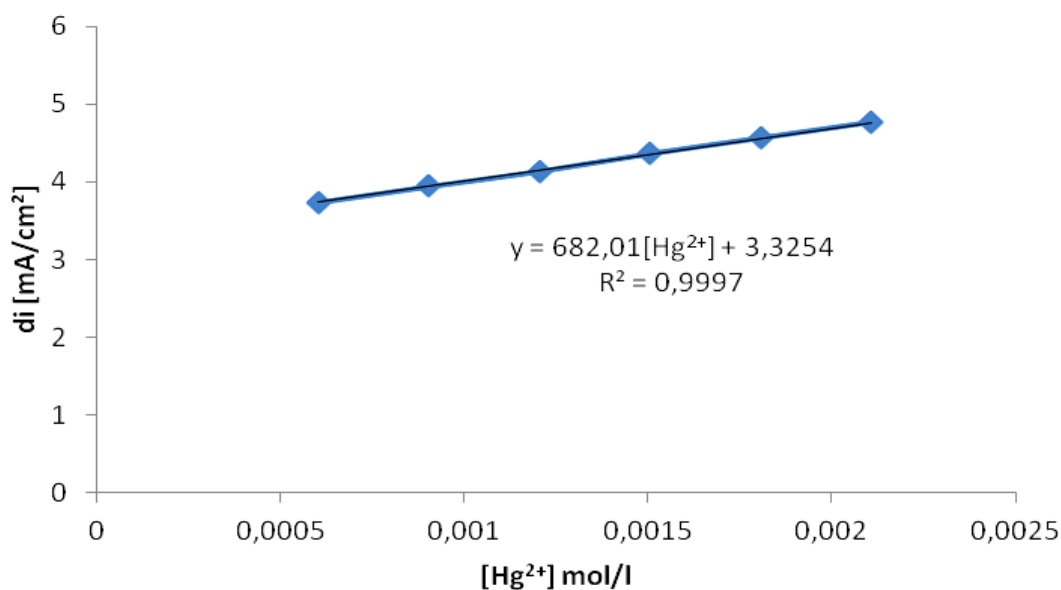


Figure 86. Courbe de calibration du mercure à la surface de l'électrode de CPE-EDTA.

Le mécanisme proposé pour l'électrode de CPE-EDTA est le suivant :



L'oxydation de mercure est une suite d'une réduction de cette substance par voie douce, dans le milieu électrolytique.

II. 3. Etude des interférences des ions Hg^{2+} , Pb^{2+} et Cu^{2+}

Nous avons testé des éléments qui peuvent présenter une certaine compétition au niveau des sites sur EDTA-CPE.

L'oxydation anodique du plomb se produit au potentiel -0.5 V/ECS, inférieur à celle de mercure du -0.1 V/ECS. Le pic d'oxydation du cuivre se manifeste, à environ $+0.2$ V/ECS, supérieur à celui d'oxydation du mercure. La séparation nette des trois pics nous offre la possibilité de doser les trois métaux simultanément (Fig.87).

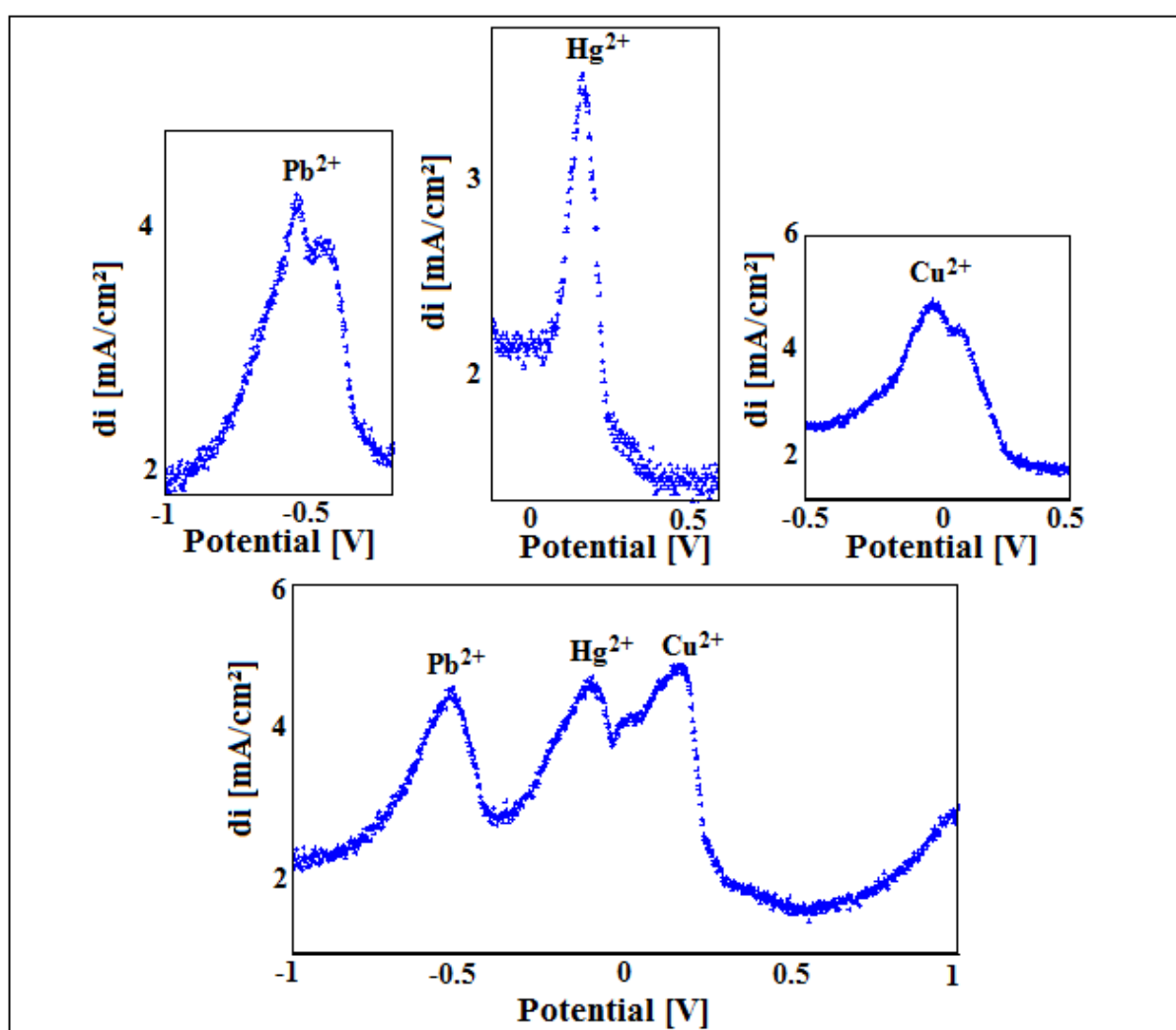


Figure 87. Effet des interférences des trois cations étudiés en solution tampon.

II. 4. Application Analytique : Jus d'orange et eau du robinet

La Figure 88 présente l'efficacité et la sensibilité des électrodes élaborées EDTA-CPE, à l'analyse des traces de métaux lourds dans le jus d'orange et l'eau de robinet de la Région de Béni Mellal-Khénifra.

Nous constatons l'apparition de deux pics chevauchés à environ -0.5 V dans les deux milieux (l'eau de robinet et jus d'orange) contenant 10 mg/L de plomb.

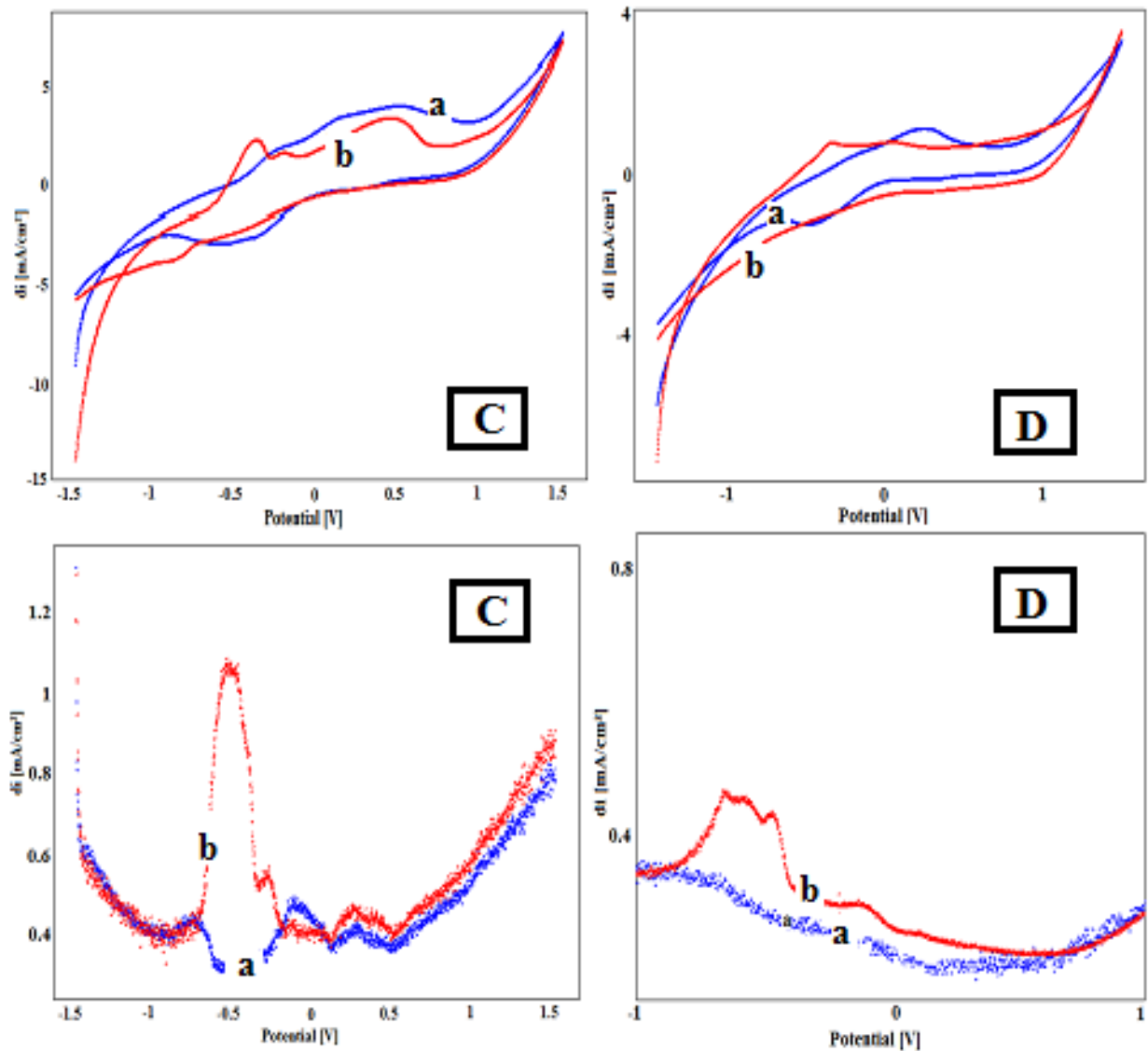


Figure 88. Voltammogrammes enregistrés dans les deux milieux jus d'orange (C) et l'eau de robinet (D) de l'électrode CPE-EDTA en présence (b) et en absence (a) de plomb (II).

II. 5. Comportement électrochimique de l'électrode modifiée CPE-EDTA-Polymère.

La caractérisation électrochimique, par voltammétrie cyclique, de l'électrode à pâte de carbone (CPE) et de CPE recouverte par le polymère (CPE-polymère), dans une solution 0,1 M de trisHCl (pH=5.06) est donnée par la Fig. 89. Nous pouvons constater qu'en présence du polymère (PSF/PAA : 95/05) les densités de courant décroissent, en raison de la faible conductivité du polymère.

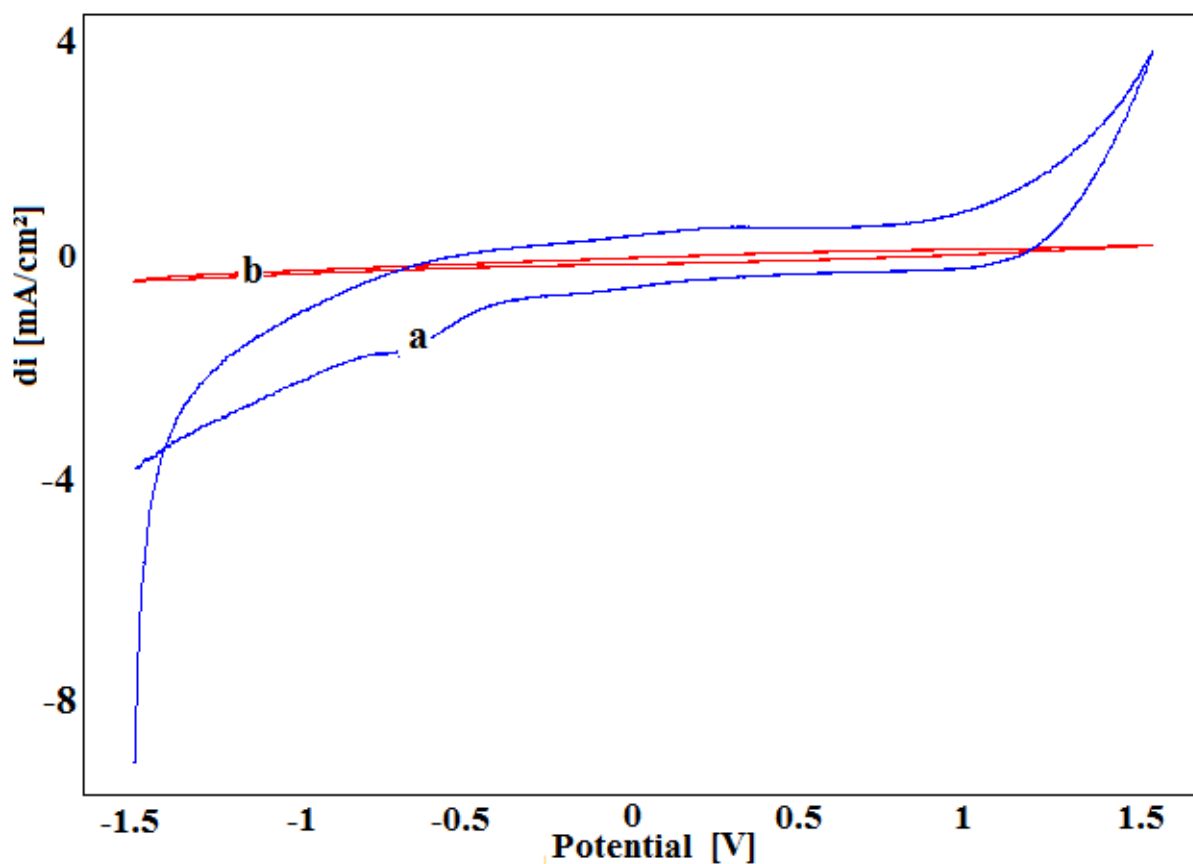


Figure 89. Voltammogrammes cycliques de CPE (courbe a) et CPE-Polymer, enregistrés à une vitesse de balayage de 0,1 V / s dans une solution de 0,1 M trisHCl à pH = 5.06.

La Figure 90 présente les voltammogrammes cycliques enregistrés, respectivement, pour les électrodes Polymère-CPE et Polymère-EDTA-CPE, en milieu trisHCl (0.1M). Nous constatons que les voltammogrammes obtenus présentent des allures différentes ce qui confirme la présence de l'EDTA dans la matrice de l'électrode.

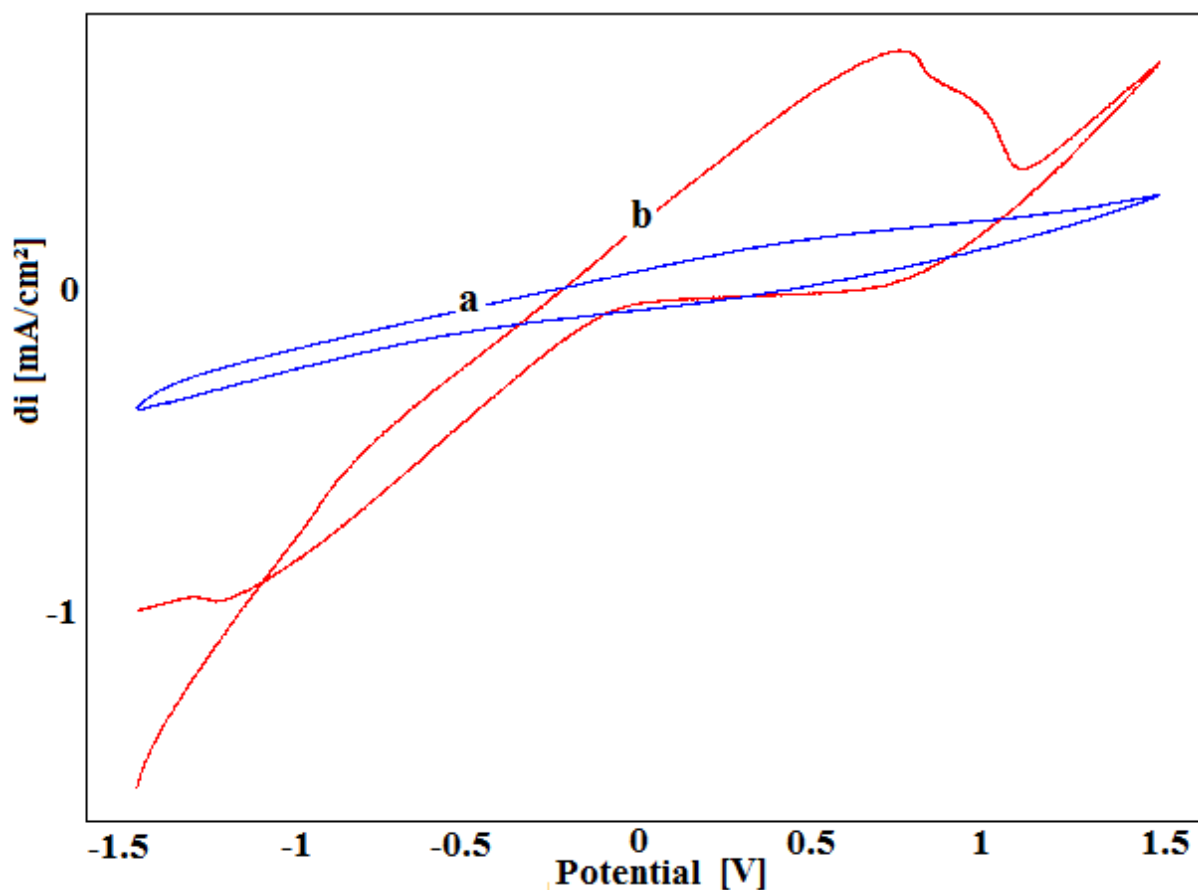


Figure 90. Voltammogrammes cycliques de CPE-Polymère (courbe a) et CPE-EDTA-Polymère (courbe b), enregistré à une vitesse de balayage de 0,1 V / s dans une solution de trisHCl 0,1 M pH= 5.06.

Les voltammogrammes cycliques enregistrés conjointement pour les électrodes EDTA-CPE et Polymère-EDTA-CPE, dans une solution 0,1 M de trisHCl sont donnés par la Figure 91. Les voltammogrammes cycliques gardent la même allure, ce qui signifie que la présence du polymère n'affecte pas les caractéristiques électrochimiques de l'électrode EDTA-CPE. Les densités de courant ont baissé en présence du polymère en raison de la perte de la conductivité,

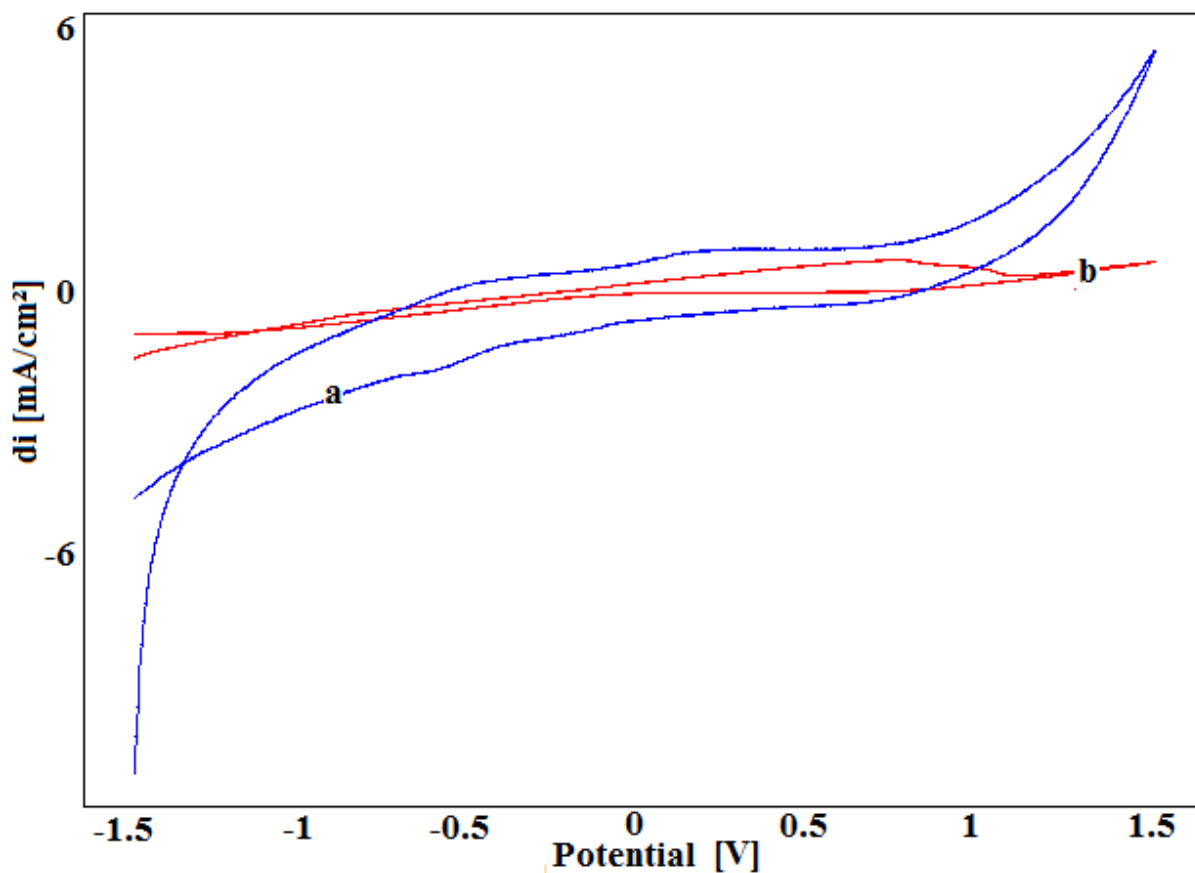


Figure 91. Voltammogrammes cycliques de CPE-EDTA (courbe a) et CPE-EDTA-Polymère (courbe b), enregistré à une vitesse de balayage de 0,1 V / s dans une solution de trisHCl 0,1 M.

II. 5. 1. Pouvoir chélateur du plomb

Pour estimer les performances de l'électrode modifiée polymère-EDTA-CPE à chélater les ions Pb^{2+} , nous avons enregistré les voltammogrammes cycliques correspondant, en milieu trisHCl, après préconcentration dans une solution contenant les ions Pb^{2+} (Fig. 92). L'accumulation du plomb de 0,602 mmol/L à la surface d'électrode provoque une augmentation des densités de courant électrique, ce qui montre que l'électrode préparée répond activement à l'oxydoréduction du plomb, ce qui confirme la sélectivité du polymère aux ions plomb (II).

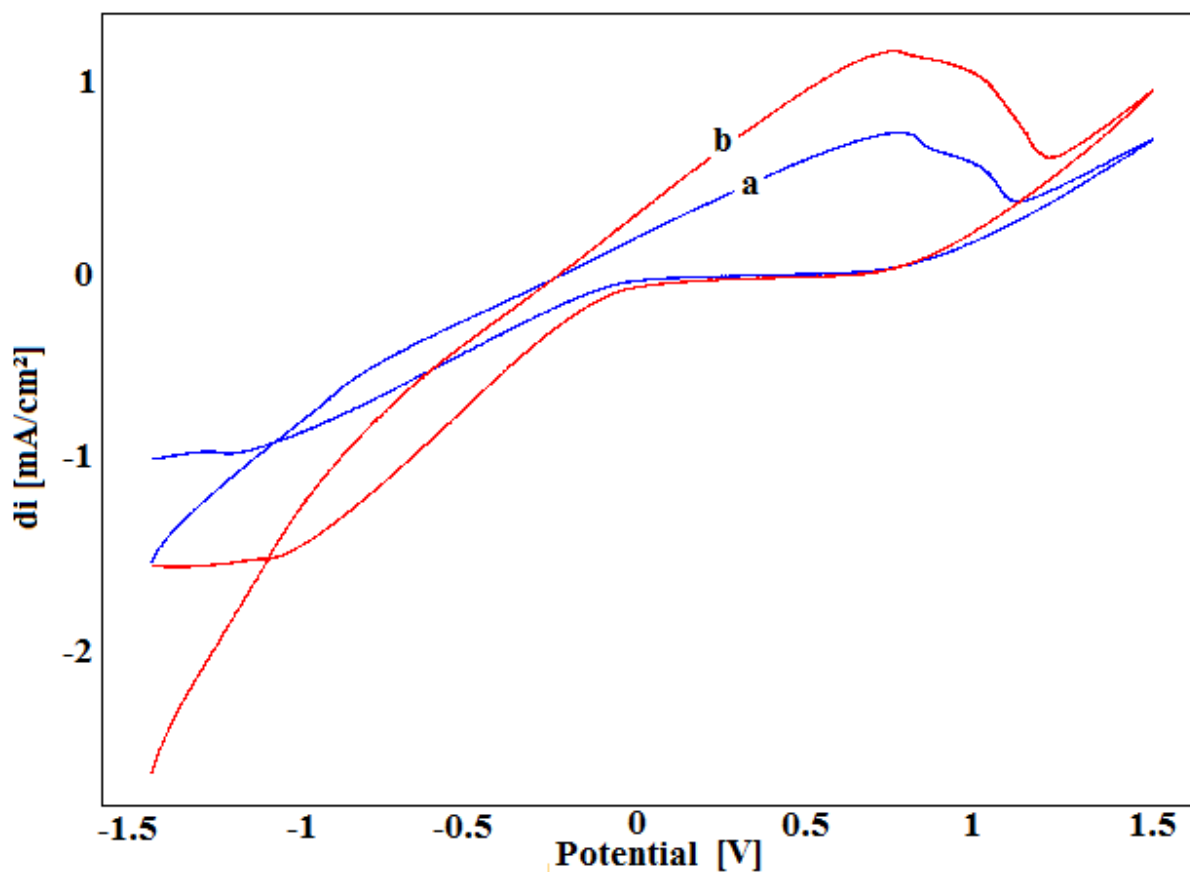


Figure 92. Voltamogrammes cycliques de CPE-EDTA-polymère en absence (courbe a) et présence de 0,602 mmol/L de Plomb préconcentré (courbe b) dans une solution de trisHCl 0,1 M, enregistré à une vitesse de balayage de 0,1 V / s

II. 5. 2. Effet de la vitesse de balayage

Les Voltamogrammes cycliques de l'électrode polymère-EDTA-CPE, préconcentrée dans une solution contenant les ions Pb^{2+} , enregistrés à différentes vitesses de balayage sont donnés par la Figure 93. Les densités de courant d'oxydation du plomb croissent linéairement avec la vitesse de balayage (de 50 mV / s à 250 mV / s). Cette linéarité traduit l'intervention d'un phénomène de diffusion.

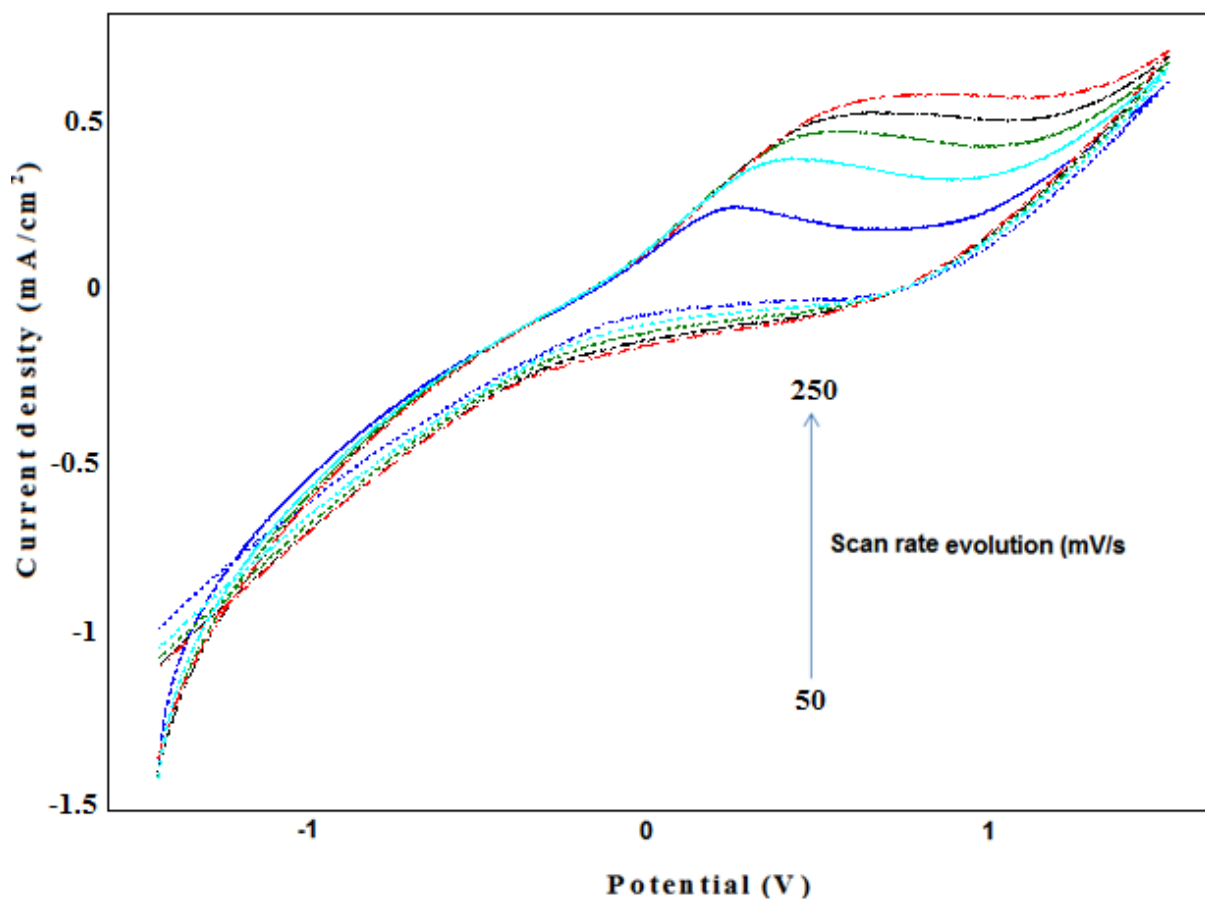


Figure 93. Voltamogrammes cycliques de Polymer-EDTA-CPE, enregistrés à différentes vitesses de balayage dans une solution de trisHCl de 0,1 M (pH= 5.06) après la préconcentration dans une solution de 6,0 2 mmol / L du plomb.

II. 5. 3. Courbe de calibration

Sur la Figure 94 nous représentons l'effet de la concentration des ions plomb(II) sur les densités de courant des pics redox. Nous constatons que les densités de courant augmentent linéairement avec la concentration, ce qui montre que la matrice de l'électrode se dispose d'un nombre considérable de sites actifs. Ces résultats sont confirmés par SWV (Fig. 95). Les pics redox sont enchevauchés en raison de la réversibilité du système.

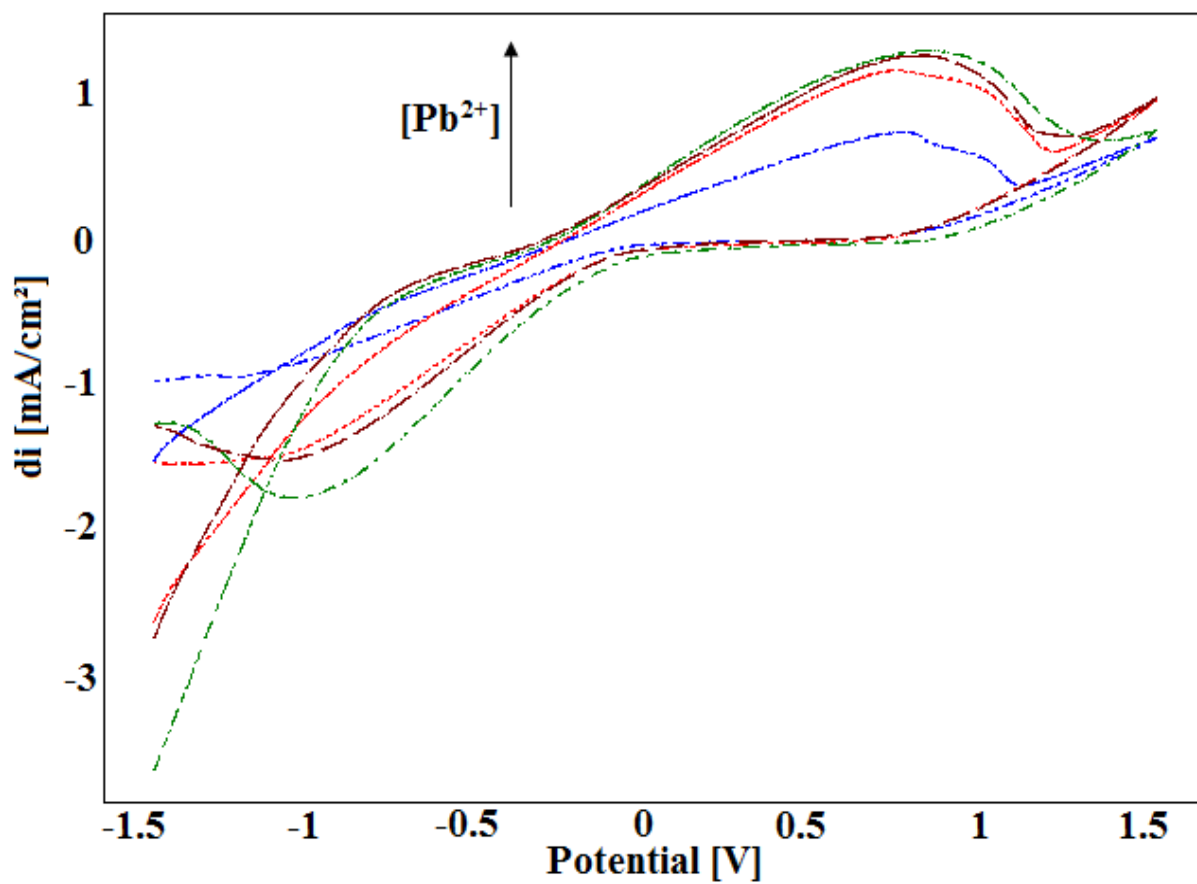


Figure 94. Voltamogrammes cyclique de CPE-EDTA-polymère, enregistré à des vitesses de balayage de 0,1 mV / s dans une solution 0,1M de trisHCl à pH = 5.06 après la préconcentration à différentes concentrations de plomb.

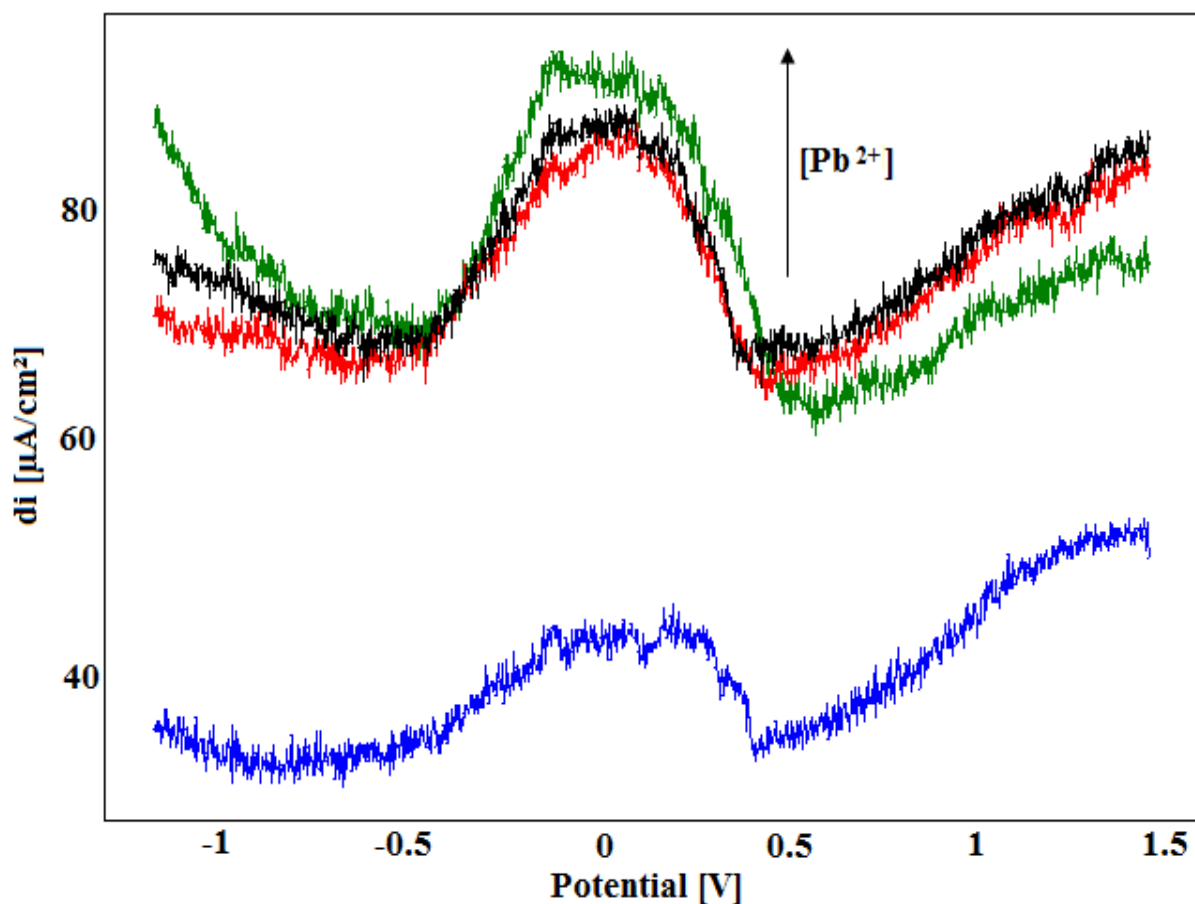


Figure 95. Voltamogrammes à onde carrée de CPE-EDTA-Polymère, enregistré à des vitesses de balayage de 0,1 mV / s dans une solution 0,1M de trisHCl, après la préconcentration dans différentes concentrations de plomb à pH = 5.06.

A partir des voltamogrammes à onde carré, nous avons établi la courbe de calibration en variant la concentration du plomb. Cette courbe est présentée sur la Figure 26.

Les courants des pics augmentent linéairement avec les concentrations de plomb.

L'équation de corrélation est comme suit :

$$I_p = 0.4888 [\text{plomb}] + 0.0841 \quad R^2 = 0.9852 \quad (15)$$

Avec I est exprimé en mA.cm⁻² et [plomb] en mol.L⁻¹.

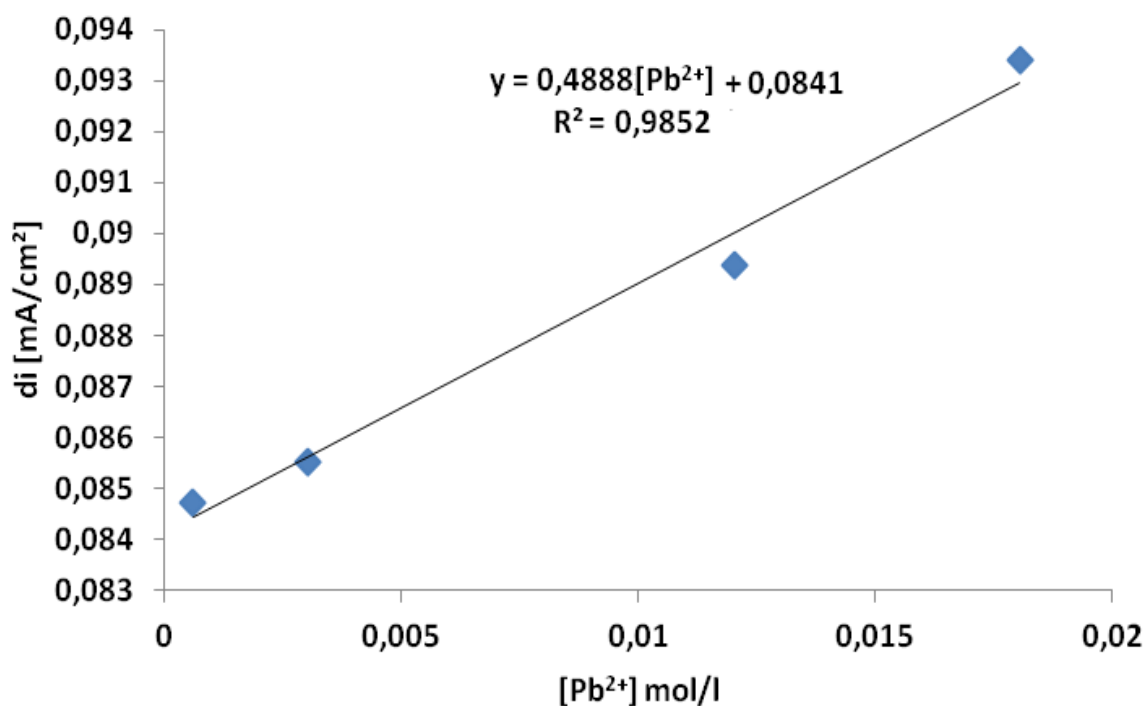


Figure 96. Evolution de la densité électrique avec la concentration du plomb.

D'après la courbe de calibration nous déduisons les valeurs suivantes :

- La limite de détection est égale à $1,08 \times 10^{-9} \text{ mol.L}^{-1}$.
- La limite de quantification est égale à $3,6 \times 10^{-9} \text{ mol.L}^{-1}$.

II. 5. 4. Etude de la morphologie de l'électrode.

La morphologie de l'électrode élaborée a été étudiée par la Microscopie à Force Atomique (Fig. 97). La surface du polymère montre une structure avec des reliefs, la taille des agrégats ne sont pas uniformes sur toute la surface.

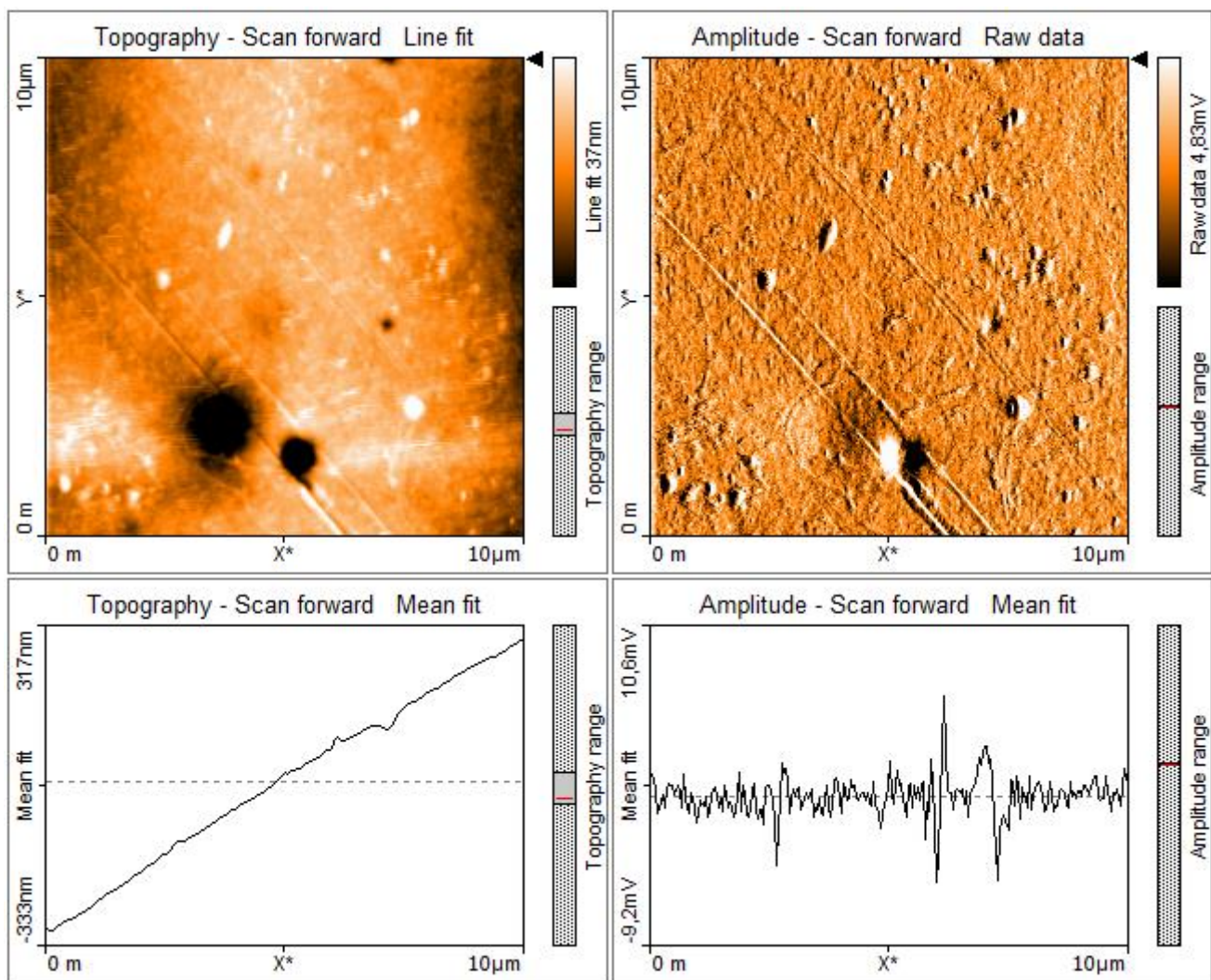


Figure 97. Images AFM du polymère utilisé

Conclusion :

En conclusion, une méthode mise en œuvre et efficace pour la chélation des métaux lourds, a été développée dans ce chapitre, en utilisant principalement la voltamétrie à onde carrée et la voltamétrie cyclique. Les conditions expérimentales optimisées ont été déterminées par la variation du temps de séjour, le temps de préconcentration, le pH de la solution électrolytique...

Les résultats obtenus indiquent que l'électrode préparée EDTA-CPE peut être considérée comme un véritable capteur électrochimique avec une grande sensibilité et reproductibilité pour la détermination et la chélation de différents polluants chimiques en solution aqueuse. Le pouvoir chélateur d'électrode préparée a été mesuré par l'analyse des métaux lourds étudiés, Une analyse dans des solutions réelles fût effectuée sur les jus d'orange et l'eau de robinet.

La méthode utilisée, qui consiste à fixer le polymère à la surface de l'électrode EDTA-CPE, a permis de conserver l'état de surface et empêcher la dissolution des poudres constituant l'électrode. La présence du polymère à la surface n'a pas affectée la sensibilité et l'activité de l'électrode, en raison de la sélectivité du polymère.

Références

- [1] K. Christidis, P. Robertson, K. Gow, P. Pollard. *Measurement* 40 (2007) 960–967.
- [2] P. Nguyen, P. Gomez-Elipe et I. Manners, Organometallic Polymers with Transition Metals in the Main Chain. *Chem. Rev.*, 99(1999) 1515-48.
- [3] S. Barlow et D. O'Hare, Metal-Metal Interactions in Linked Metallocenes. *Chem. Rev.*, 97(1997) 637-69.
- [4] Casdorff H.R., EDTA chelation therapy, efficacy in atherosclerotic heart disease, *J. Holistic Medicine*, 1981, 3(1):53.
- [5] Blumer W. et al., Ninety percent reduction in cancer mortality after chelation therapy with EDTA, *J. Adv. Med.*, 1989, 2:183.
- [6] Hancke C. et al., Benefit of EDTA chelation therapy on arteriosclerosis: a retrospective study on 470 patients, *Journal of Advancement in Medicine*, 1993, 6(3):161.
- [7] Chappell L. et al., The correlation between EDTA chelation therapy and improvement in cardiovascular function. A meta-analysis. A textbook on EDTA chelation therapy, edited by Elmer M Cranton, Hampton Roads Publishing, Virginia, second edition, 2001, 294-316.
- [8] Chappell L. et al., The correlation between EDTA chelation therapy and improvement in cardiovascular function. A meta-analysis. A textbook on EDTA chelation therapy, edited by Elmer M Cranton, Hampton Roads Publishing, Virginia, second edition, 2001, 317-328.
- [9] Gmerek D.E. et al., Effect of inorganic lead on rat brain mitochondrial respiration and energy production, *J. Neurochem.*, 1981 Mar, 36(3):1109-13.
- [10] Deucher G.P., EDTA chelation therapy: an antioxidant strategy, *Journal of Advancement in Medicine*, 1988, 1(4):182-190.
- [11] Casdorff H.R., EDTA chelation therapy II, efficacy in brain disorders, *J. Holistic Medicine*, 1981, 3(2):101.
- [12] J.C. Miller, J.N. Miller, *Analyst* 113 (1988) 1351–1356.

**Chapitre VI : Développement des composés de graphite-ADN-polymère
comme électrode pour les piles à combustible à méthanol.**

Introduction

Les piles à combustible ont une forte densité d'énergie, Dispositifs de conversion d'énergie, qui ont une application pour la puissance portable [1]. Le courant électrique est généré dans la pile à combustible par l'oxydation électrochimique directe de l'hydrogène (pile à combustible à membrane échangeuse de protons, PEM) ou à méthanol (Les piles à combustible à méthanol direct, DMFC). Les processus électrochimiques qui produisent de l'énergie sont essentiellement exempts de pollution. L'eau formée pendant le fonctionnement du dispositif est bénéfique dans les voyages spatiaux et les sous-marins. Les applications des piles à combustible sont variées, allant des appareils fixes (maisons individuelles ou districts) ou mobiles (transport en tant que voitures, autobus, etc.), les téléphones mobiles et les ordinateurs portables [2, 3]. L'hydrogène est actuellement le seul combustible pratique à utiliser dans la génération actuelle des piles à combustible. La principale raison en est que c'est sa haute réactivité électrochimique par rapport à celle des combustibles les plus communs dont elle est dérivée, comme les hydrocarbures, les alcools ou le charbon. En outre, ses mécanismes de réaction sont maintenant bien connus [4, 5] et se caractérisent par la simplicité relative de ses étapes de réaction, ce qui ne conduit à aucun produit secondaire. L'hydrogène pur est attrayant en tant que carburant, en raison de sa forte densité d'énergie théorique, de son produit de combustion inoffensif (eau) et de sa disponibilité illimitée tant qu'une source d'énergie appropriée est disponible pour décomposer l'eau.

L'un des inconvénients de l'hydrogène pur est qu'il s'agit d'un gaz à faible densité dans des conditions normales, de sorte que le stockage est difficile et exige un excès de poids considérable par rapport aux combustibles liquides. Le méthanol offre plusieurs avantages en tant que carburant. Il est peu coûteux mais à une densité d'énergie relativement élevée et peut être facilement transporté et stocké. Il peut être fourni à l'unité de pile à combustible à partir d'un réservoir de liquide qui peut être maintenu rembourré ou dans des cartouches qui peuvent être rapidement changées lorsqu'elles sont dépensées.

Pour obtenir des densités de courant élevées, l'électrode utilisée doit être un corps mince, poreux et de surface élevée activé par la présence d'un catalyseur approprié, qui doit être en contact électronique avec le reste de la structure électriquement conductrice. L'électrode doit fournir un grand nombre de sites de réaction convenablement actifs dans lesquels le réactif et l'électrolyte peuvent entrer en contact. Il doit également maintenir une interface stable entre l'électrolyte et les espèces actives.

Les électrodes à pâte de carbone (CPE) sont moins chères et conviennent pour préparer le matériau d'électrode avec la composition souhaitée et les propriétés prédéterminées [6, 7]. La réponse électrochimique du CPE dépend principalement des propriétés des espèces modifiées. La modification de l'électrode en pâte de carbone peut se faire de différentes façons, comme le broyage dans un mortier d'agar [8, 9], l'électropolymérisation [10, 11] et la méthode d'immobilisation [12].

Dans cette étude, nous avons élaboré des électrodes à pâte de carbone modifiées par l'ADN, de type ADN-CPE, dans lesquelles le film biologique est déposée par auto-assemblage, profitant de la susceptibilité du carbone à échanger un électron. Pour des soucis de protéger la surface de l'électrode, nous avons couvert la surface de l'électrode par un polymère synthétisé selon le procédé cité [13]. La morphologie du film d'ADN a été caractérisée par microscopie à force atomique (AFM) et microscopie optique. L'oxydation catalytique du méthanol a été étudiée à la surface de l'électrode préparée, en utilisant la voltammétrie cyclique (CV) et la voltammétrie à onde carrée (SWV).

I. Expérimental

I. 1. Appareillage

Les expériences électrochimiques ont été effectuées à l'aide d'un potentiostat de voltalab (modèle PGSTAT 100, Eco Chemie B.V., Utrecht, Pays-Bas) piloté par le logiciel de traitement de données des systèmes électrochimiques (logiciel 4 de voltalab master). Un système conventionnel à trois électrodes, dont l'électrode de travail est la pâte de carbone modifié par l'ADN, la contre-électrode est une plaque de platine et de l'électrode au Calomel est utilisée comme électrode de référence (SCE).

I. 2. Réactifs

Toutes les solutions utilisées dans ce travail ont été préparées en dissolvant le produit initial, sans autre étape de purification. La pâte de carbone a été fournie par (Carbone, Lorraine, ref 9900, français). Tous les autres produits utilisés étaient de bonnes qualités analytiques. L'eau désionisée bidistillée (BDW) a été utilisée tout au long du travail. L'ADN utilisé dans ce travail est contracté des feuilles de murier, selon le protocole ci-dessous:

- Une action physique, consistant à détruire les structures cellulaires congelées (paroi cellulaire, en particulier) par broyage mécanique, réalisé souvent en présence de Polyvinylpyrrolidone (PVP) et le sable.

- Ajout de 15 μ l de Mercaptoethanol (0.2%) après avoir été placée dans un Bain-marie sous agitation régulière.

- Ajout du même volume de substrat de Chloroforme-Alcool (24/1), la solution est agitée pendant 5 min et centrifugée à 30000 tours/min à la température ambiante.

- Récupération de la phase aqueuse après la centrifugation.

- Précipitation de l'ADN par isopropanol et NaCl sous température -20°C et centrifugée à 30000 tours/min à la température ambiante.

- Lavage de l'ADN par l'alcool (éthanol 70%)

I. 3. Préparation du CPE

L'électrode à pâte de carbone (CPE) a été préparée par un mélange à la main de la poudre de graphite (CP). La pâte obtenue a été séchée à température ambiante puis une partie de la pâte obtenue a été emballée fermement dans un tube cylindrique en PTFE artisanale (zone géométrique, $0,1225\text{ cm}^2$). Le contact électrique est établi avec une barre de carbone. Les ADN-CPE's ont été préparés en immobilisant le système d'ADN en trempant l'électrode de pâte de carbone préformée dans une solution contenant la solution d'ADN. Et ensuite, la surface de l'électrode préparée est recouverte par le polymère, collée sur les bords avec la colle d'Araldit.

II. Résultats et discussion

II. 1. Etude morphologique

La morphologie de la surface a été caractérisée par AFM (Figure 98). La surface du polymère (PSF/PAA : 91/09) [14] montre une structure avec des reliefs, la taille des agrégats n'est pas uniforme sur toute la surface. Cette structure montre la présence de pores de différentes tailles, le polymère s'adhère sur toute la surface de l'électrode. Aucune dissolution de la pâte n'est observée.

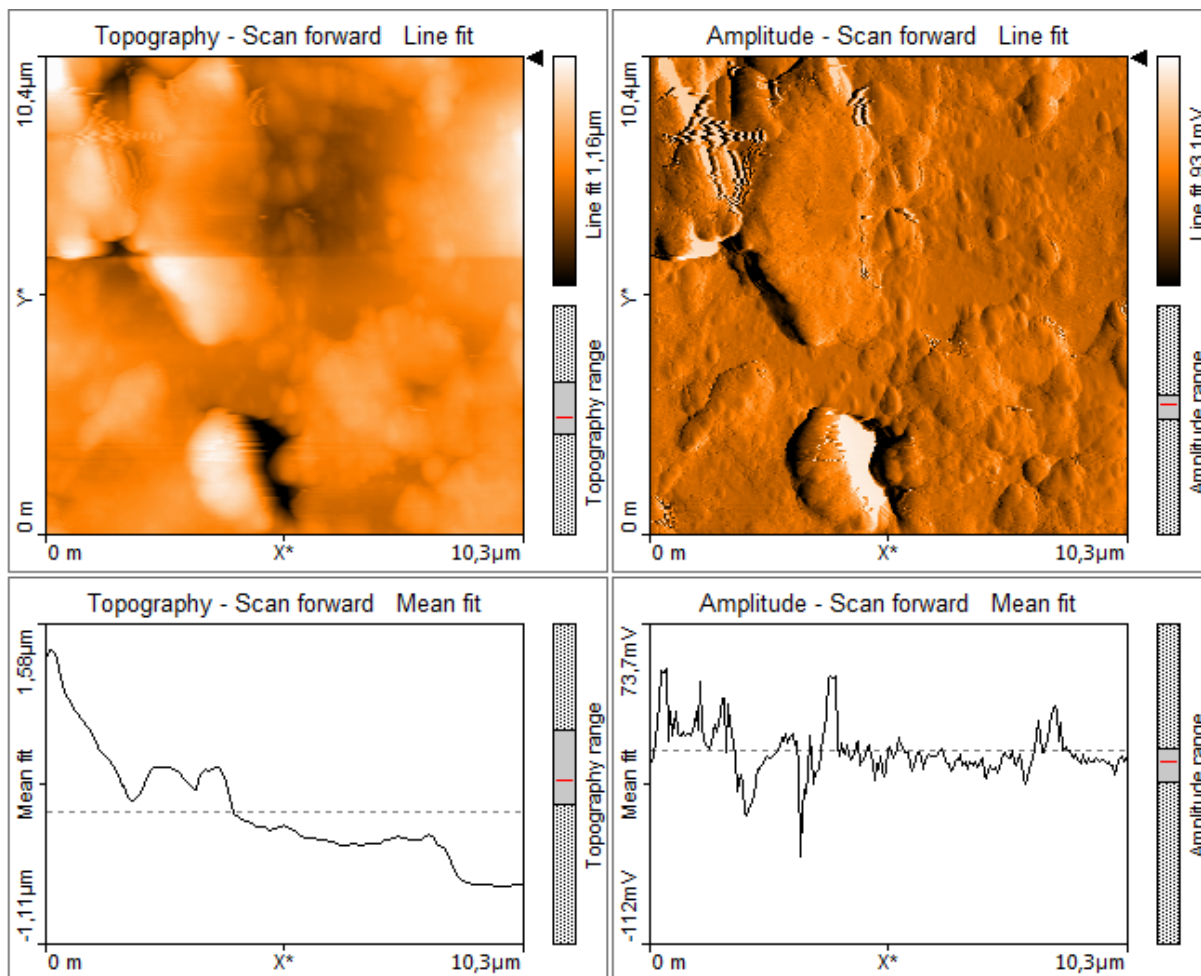


Figure 98. Images AFM de l'électrode polymère-ADN-CPE.

II. 2. Comparaison entre différents types d'électrode modifiée par ADN pour le même type de polymère (polymère enrobage).

Trois nouvelles générations d'électrodes, modifiées par l'ADN ont été élaborée dans ce travail, utilisant différents supports tels que, l'argile, le mélange carbone graphite et phosphate naturel et le carbone graphite pur. Les voltammogrammes cycliques correspondant enregistrés en milieu électrolytique, NaCl 0.1M, sont donnés par la Figure 99. Les densités de courant les plus élevées sont obtenue par l'électrode, polymère-ADN CPE, probablement en raison de l'affinité du carbone à former une liaison covalent avec les brins d'ADN. Le voltammogramme enregistré pour l'électrode, polymère-ADN-CPE, présente des pics d'oxydation et de réduction similaire à ceux observés avec l'électrode ADN-CPE, il s'agit donc de la réponse électrochimique du film biologique en milieu 0.1M NaCl.

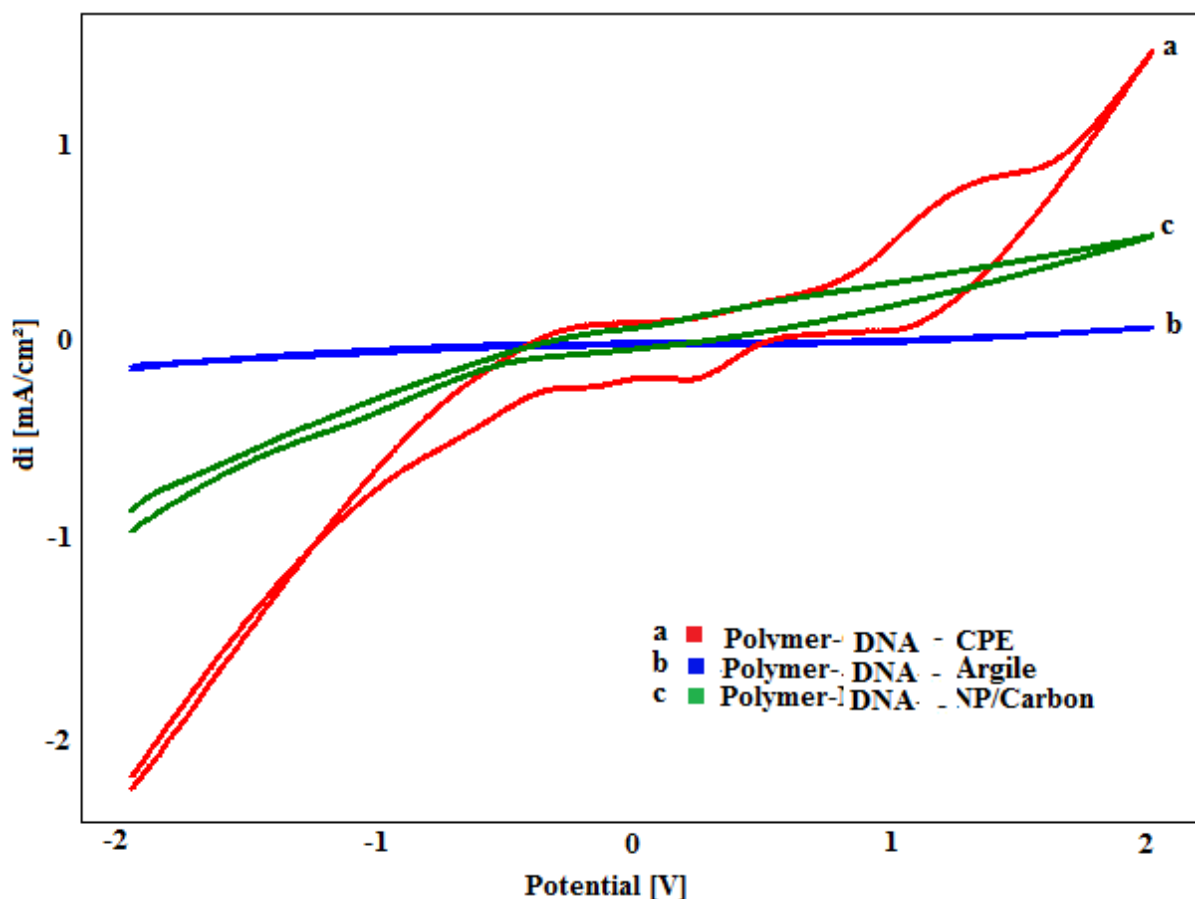


Figure 99. Voltamogrammes cycliques des électrodes modifiées ADN-Polymère-CPE, ADN-Polymère-Argile et ADN-Polymère-NP/carbone enregistrés à une vitesse de balayage de 0,1 V / s dans une solution 0,1 M de NaCl.

L'activité des électrodes préparées, a été investie par VC, sur la Figure 100 nous présentons une comparaison entre les électrodes Polymer-DNA-CPE, Polymer-DNA-Argile et Polymer-DNA-NP/carbone, vis-à-vis, de l'oxydation du méthanol. Nous pouvons constater que l'électrode Polymer-DNA-CPE présente une activité largement élevée pour l'oxydation du combustible comparée aux autres électrodes, les densités de courant varient comme suit:

$$di (\text{Polymer-DNA-CPE}) > di (\text{Polymer-DNA-Argile}) > di (\text{Polymer-DNA-NP/carbone}).$$

L'*onset*, qui correspond à la valeur du potentiel du début de l'oxydation est de l'ordre de -1.1 V pour l'électrode polymère-ADN-CPE,

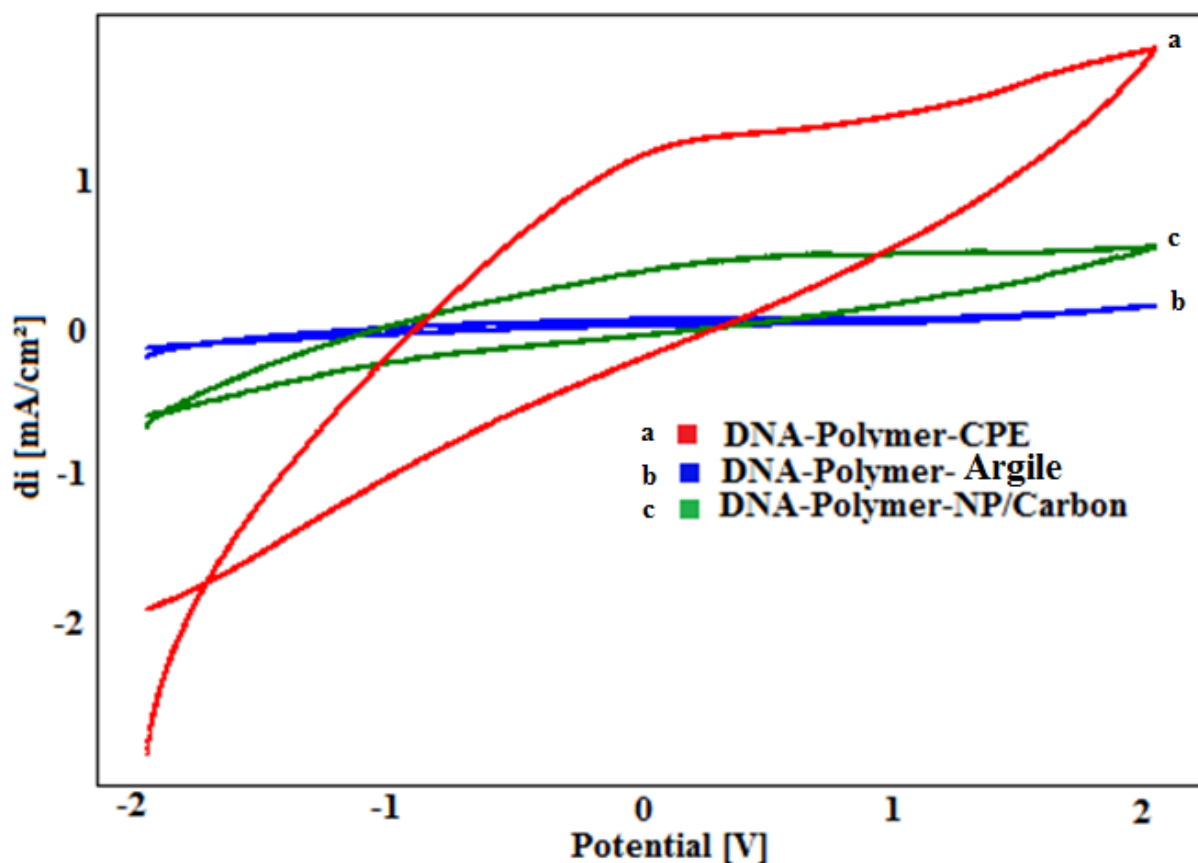


Figure 100. Voltamogrammes cycliques des électrodes modifiées ADN-Polymère-CPE, ADN-Polymère-Argile et ADN-Polymère-NP/carbone enregistrés à la vitesse de balayage de 0,1 V / s dans une solution 0,1 M de NaCl, contenant 13,5 $\mu\text{mol} / \text{L}$ de méthanol.

II. 3. Comportement électrochimique de l'électrode modifiée Polymère-ADN-CPE.

Les propriétés électrochimiques de l'électrode de pâte de carbone revêtues ou non par un polymère dans une solution de NaCl 0,1 M ont été caractérisées par une voltamétrie cyclique. La Figure 101 montre des voltamogrammes cycliques typiques du CPE et du Polymer-CPE. On peut voir que la présence du polymère à la surface du CPE (Figure 101b) entraîne une légère diminution de la densité de courant, mais la forme du CV n'est pas atteinte.

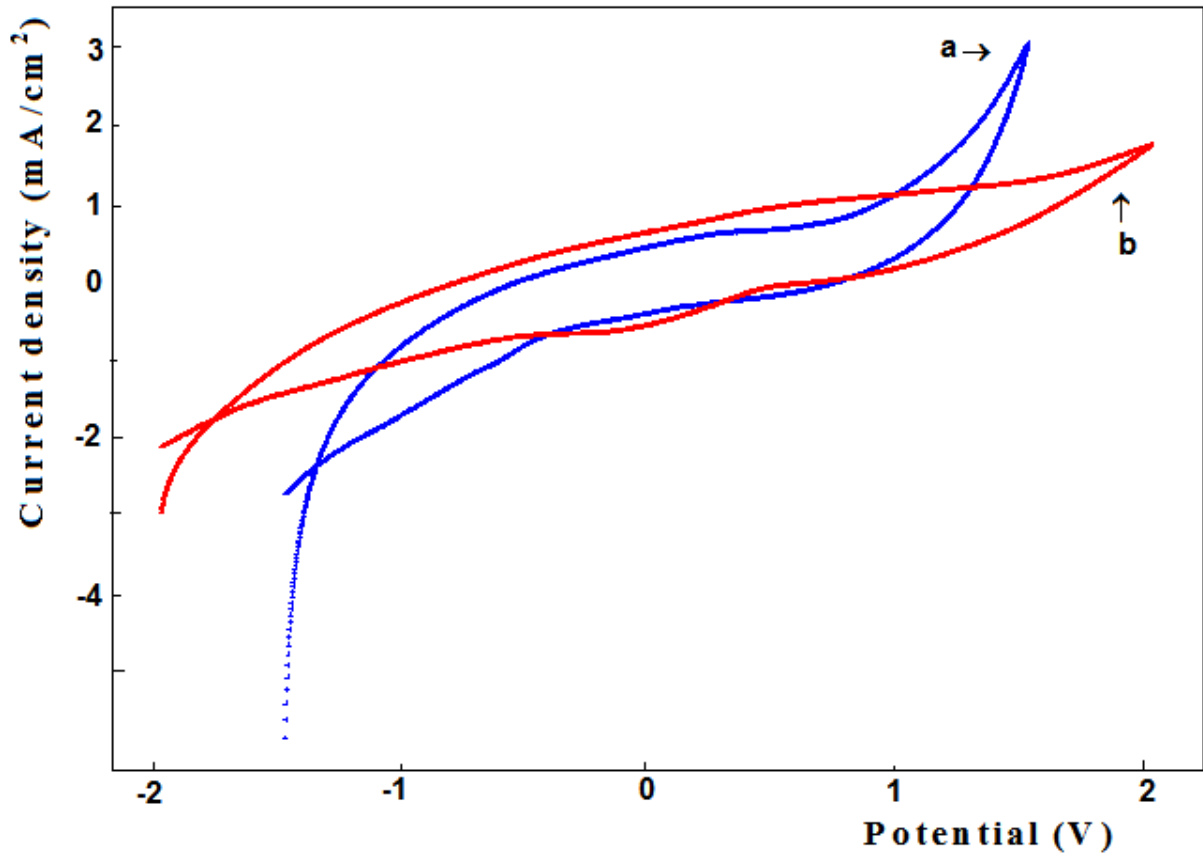


Figure 101. Voltammogrammes cycliques de CPE (courbe a) et Polymer-CPE, enregistrés à une vitesse de balayage de 0,1 V / s dans une solution de NaCl 0,1 M.

La Figure 102 montre les voltammogrammes cycliques représentatifs enregistrés respectivement, à la surface des électrodes CPE (courbe a) et Polymer-CPE (courbe b), dans une solution de NaCl 0,1M contenant le combustible du méthanol. Les densités de courant sont relativement élevées sur l'électrode polymère-CPE par rapport à l'électrode mère CPE. L'oxydation du méthanol commence à basses potentiels et se caractérise par une augmentation soudaine du courant, ce qui correspond au point de l'*onset*.

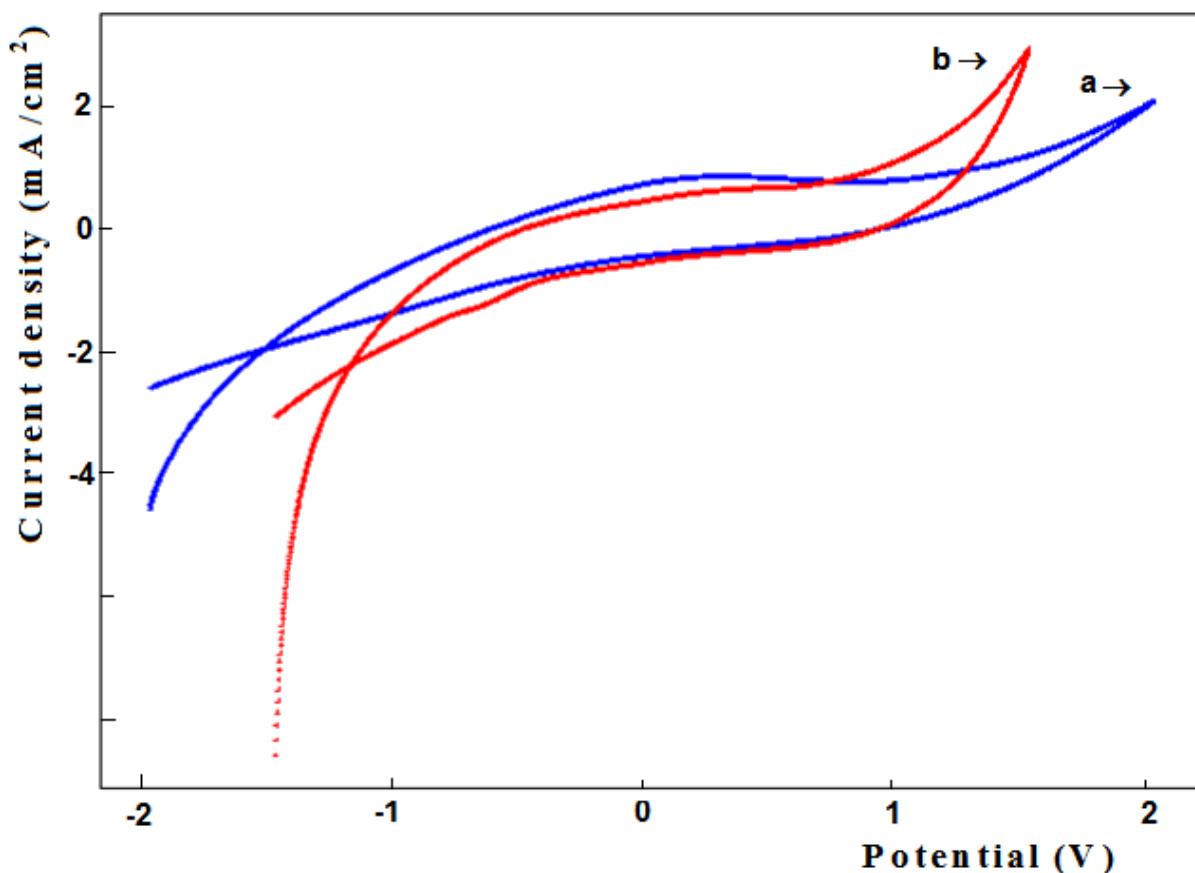


Figure 102. Voltammogrammes cycliques de CPE (courbe a) et Polymer-CPE, enregistrés à une vitesse de balayage de 0,1 V / s dans une solution de NaCl 0,1 M contenant 13,5 $\mu\text{mol} / \text{L}$ de méthanol.

Le comportement électrochimique de l'électrode ADN-CPE et de l'électrode Polymère-ADN-CPE, dans la solution électrolytique 0,1 M de NaCl, a été étudié par voltammétrie cyclique, est donnée par la Fig. 103. Le dépôt chimique d'ADN sur la surface du CPE se manifeste par l'apparition de deux pics rédox sur les voltammogrammes cycliques, le premier dans le sens de balayage anodique à environ 0,7 V et le second sur le balayage cathodique à -1,1 V. Le revêtement de la surface de l'ADN-CPE avec le polymère, ne modifié pas l'allure du voltammogramme, ce qui montre que le polymère ne participe pas à la réaction, qui conserve le même mécanisme, en revanche les densités de courant ont subi une légère baisse en raison de la différence de la conductivité électrique entre le polymère et la matrice de l'électrode (Fig. 103b).

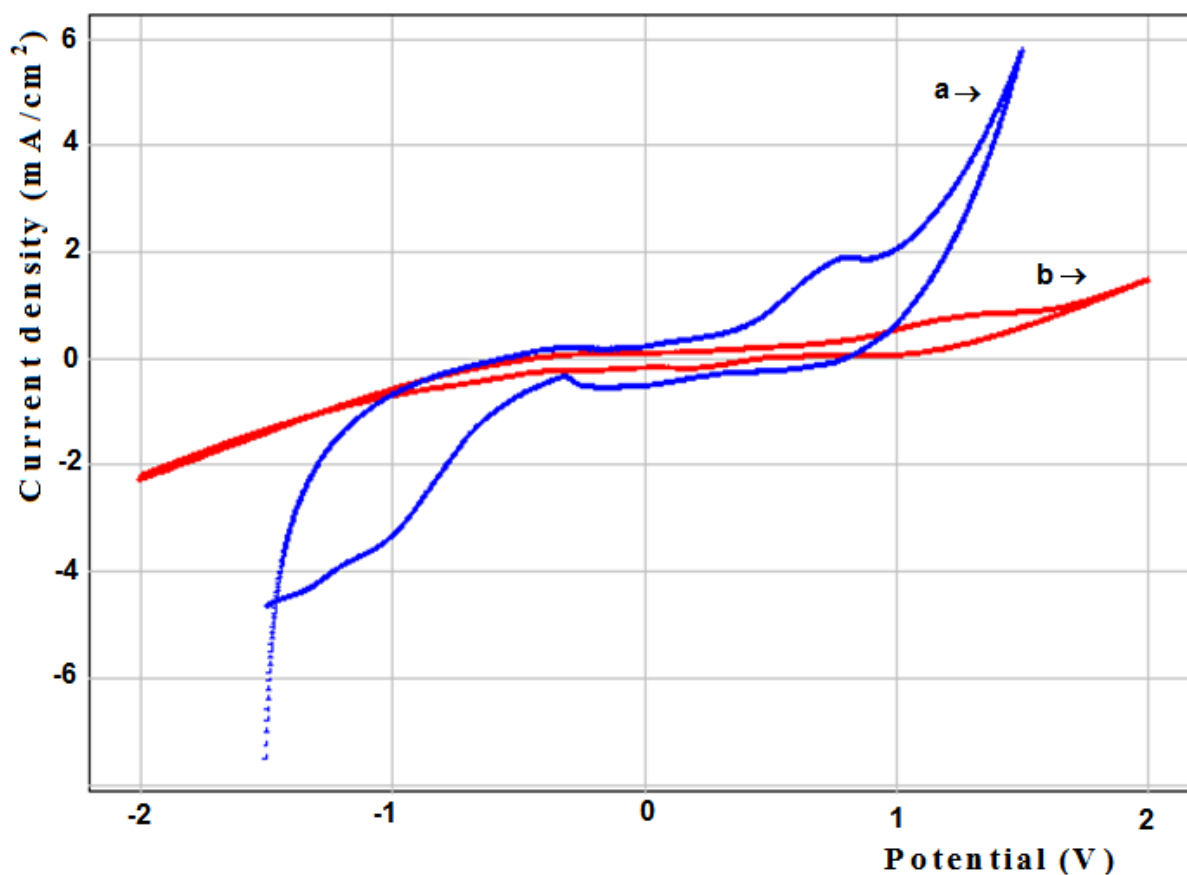


Figure 103. Voltamogrammes cycliques de l'ADN-CPE (courbe a) et Polymer-DNA-CPE, enregistré à une vitesse de balayage de 0,1 V / s dans une solution de NaCl 0,1 M.

II. 4. Oxydation du méthanol

Le comportement électrochimique du méthanol a été étudié à la surface de différentes électrodes, ADN-CPE et Polymère-ADN-CPE, par voltammétrie cyclique, en milieu NaCl 0,1 M. Les résultats sont présentés sur la Figure 104. L'addition de 13,6 $\mu\text{mol} / \text{L}$ de méthanol à la solution électrolytique provoque une augmentation des densités de courant, en particulier en présence du polymère-ADN-CPE. L'oxydation du méthanol commence à -1 V. La présence du polymère à la surface de l'électrode, n'affecte pas l'activité.

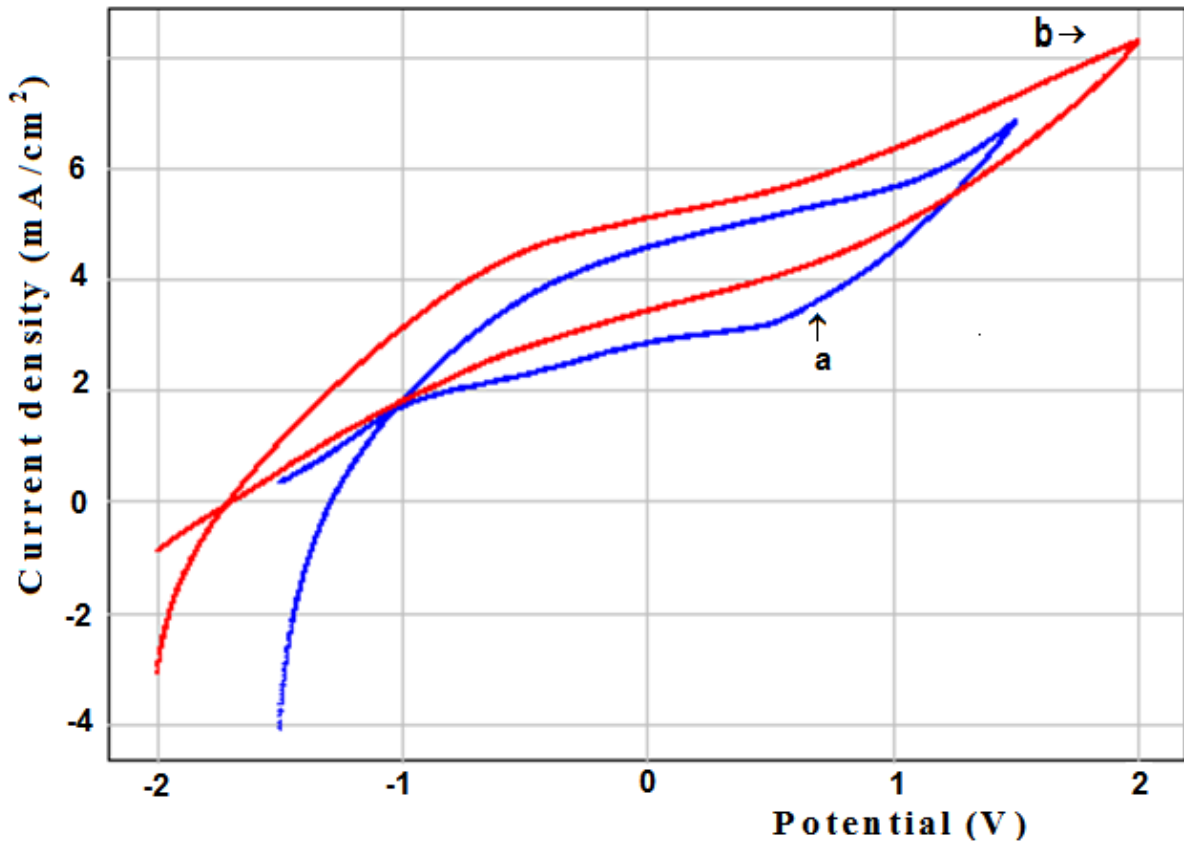


Figure 104. Voltamogrammes cycliques sur l'ADN-CPE (courbe a) et Polymer-DNA-CPE (courbe b), enregistré à une vitesse de balayage de 0,1 V / s dans une solution de NaCl 0,1 M contenant 13,5 $\mu\text{mol} / \text{L}$ de méthanol.

L'oxydation du méthanol se manifeste dans les voltammogrammes à ondes carrées par l'apparition de deux pics, le premier vers environ -1 V et le second à 1V. Les densités de courant sont remarquablement plus élevées dans le cas l'électrode Polymère-ADN-CPE (Figure 105).

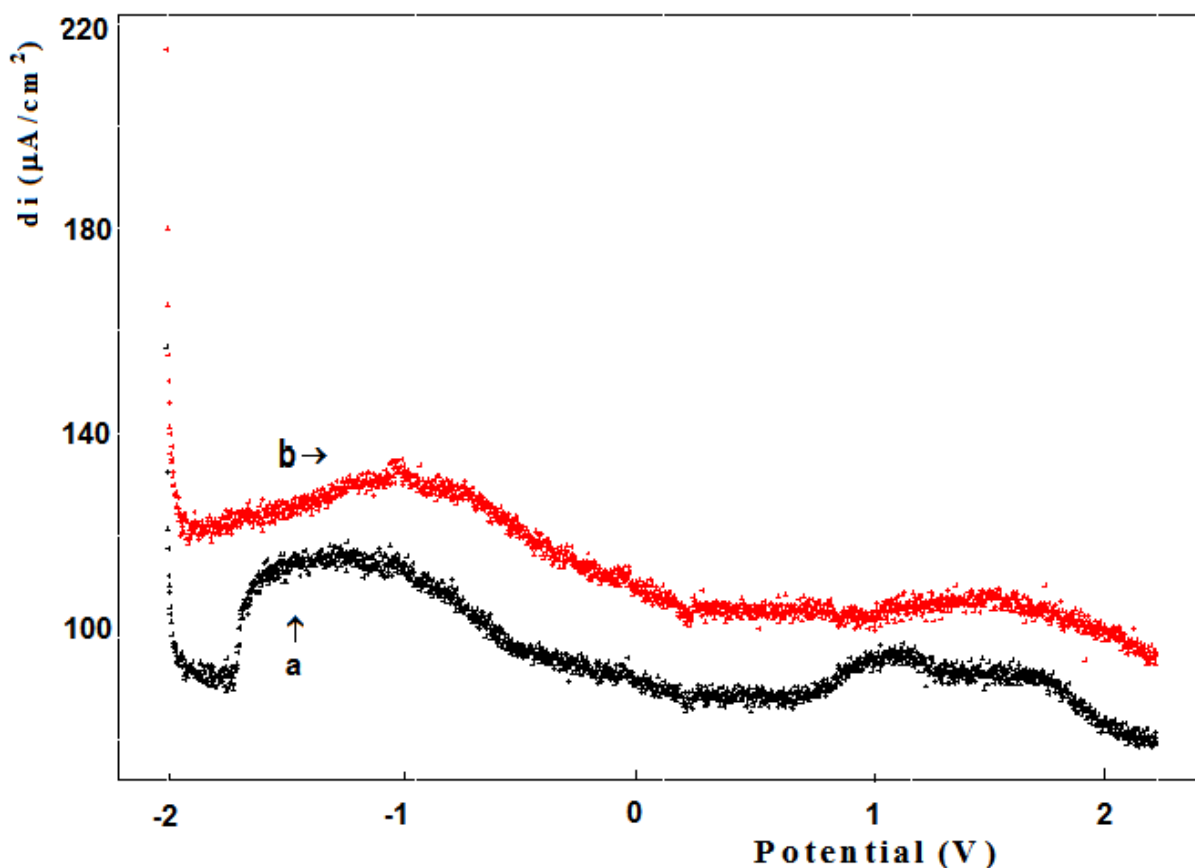


Figure 105. Voltamogrammes à ondes carrées enregistrés respectivement à la surface des électrodes, ADN-CPE (courbe a) et Polymère-ADN-CPE, enregistrés dans une solution de NaCl 0,1 M contenant 13,5 $\mu\text{mol} / \text{L}$ de méthanol.

II. 5. Variation de la vitesse de balayage

Les Voltamogrammes cycliques correspondant à l'électro-oxydation du méthanol sur l'électrode polymère-ADN-CPE, à différents vitesses de balayage sont illustrés par la Figure 106. La densité du courant d'oxydation du méthanol augmente linéairement avec la vitesse de balayage croissant allant de 10 mV / s à 100 mV / s en présence de 13,6 $\mu\text{mol} / \text{L}$ méthanol. Cette linéarité indique que l'oxydation électrocatalytique du méthanol est un processus contrôlé par la diffusion.

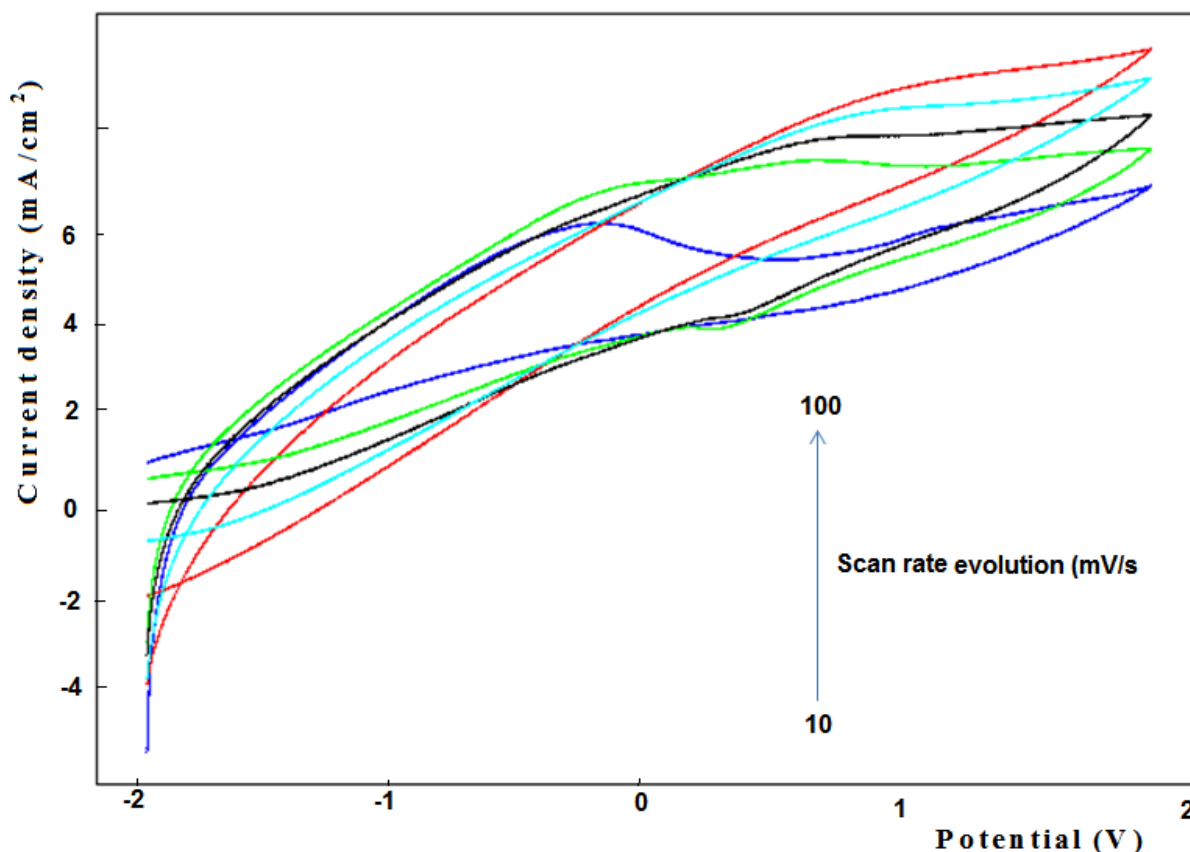


Figure 106. Voltammogrammes cycliques de Polymère-ADN-CPE, enregistrés à différents vitesses de balayage dans une solution de NaCl 0,1 M contenant 13,5 $\mu\text{mol} / \text{L}$ de méthanol.

II. 6. Effet de la concentration du combustible

La Figure 107 montre les voltammogrammes cycliques enregistrés pour l'électrode polymère-ADN-CPE, à différentes concentrations de méthanol, allant de 3,4 $\mu\text{mol} / \text{L}$ à 17 $\mu\text{mol} / \text{L}$, en milieu 0,1 M NaCl, à 100 mV/s à Polymère-ADN-CPE. La densité du courant d'oxydation du méthanol augmente avec l'augmentation de la concentration de méthanol, la surface de l'électrode offre un nombre important de sites actifs, en plus aucun effet d'empoisonnement de l'électrode n'est observé.

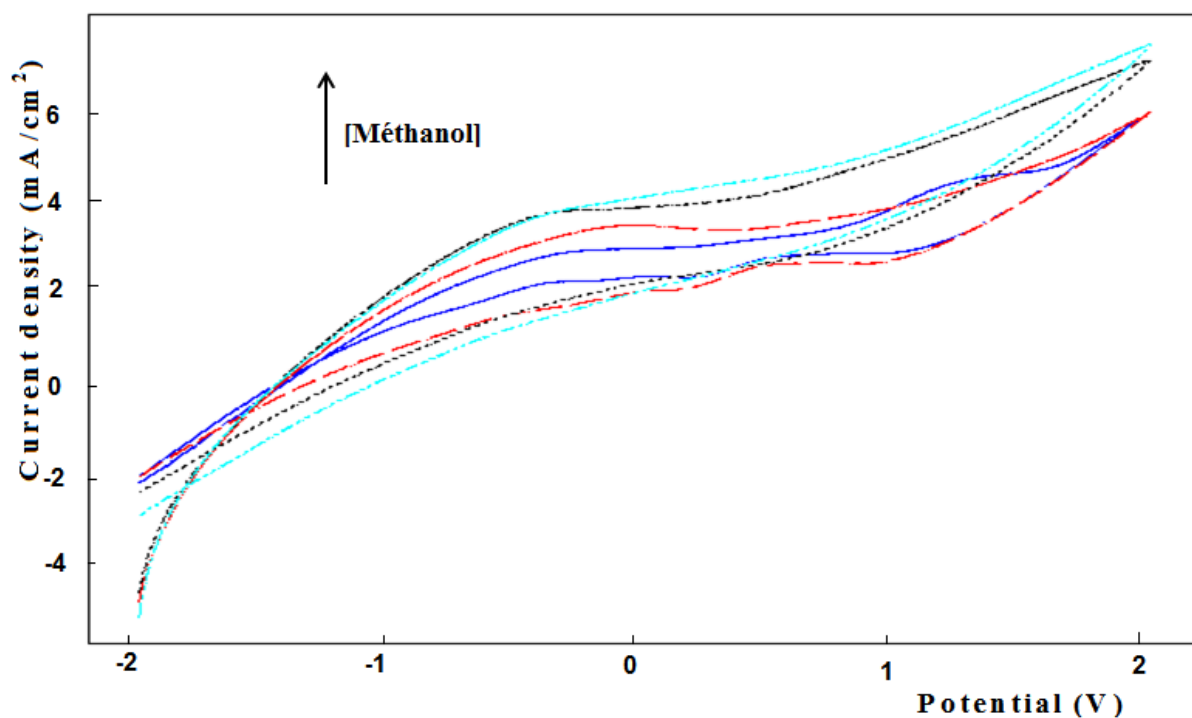


Figure 107. Voltammogrammes cycliques de Polymer-ADN-CPE, enregistré à des vitesses de balayage de 0,1 mV / s dans une solution de NaCl 0,1M contenant différentes concentrations de méthanol.

Ce résultat est confirmé par les courbes de chronoampérométrie enregistrées pour l'électrode polymère-ADN-CPE, en solution 0.1M NaCl (Fig.108). Nous constatons que l'augmentation de la concentration de méthanol a un effet positif sur les densités de courant d'oxydation du méthanol sur l'électrode élaborée. Les densités de courant restent constantes, ce qui éloigne la possibilité d'empoisonnement de la surface.

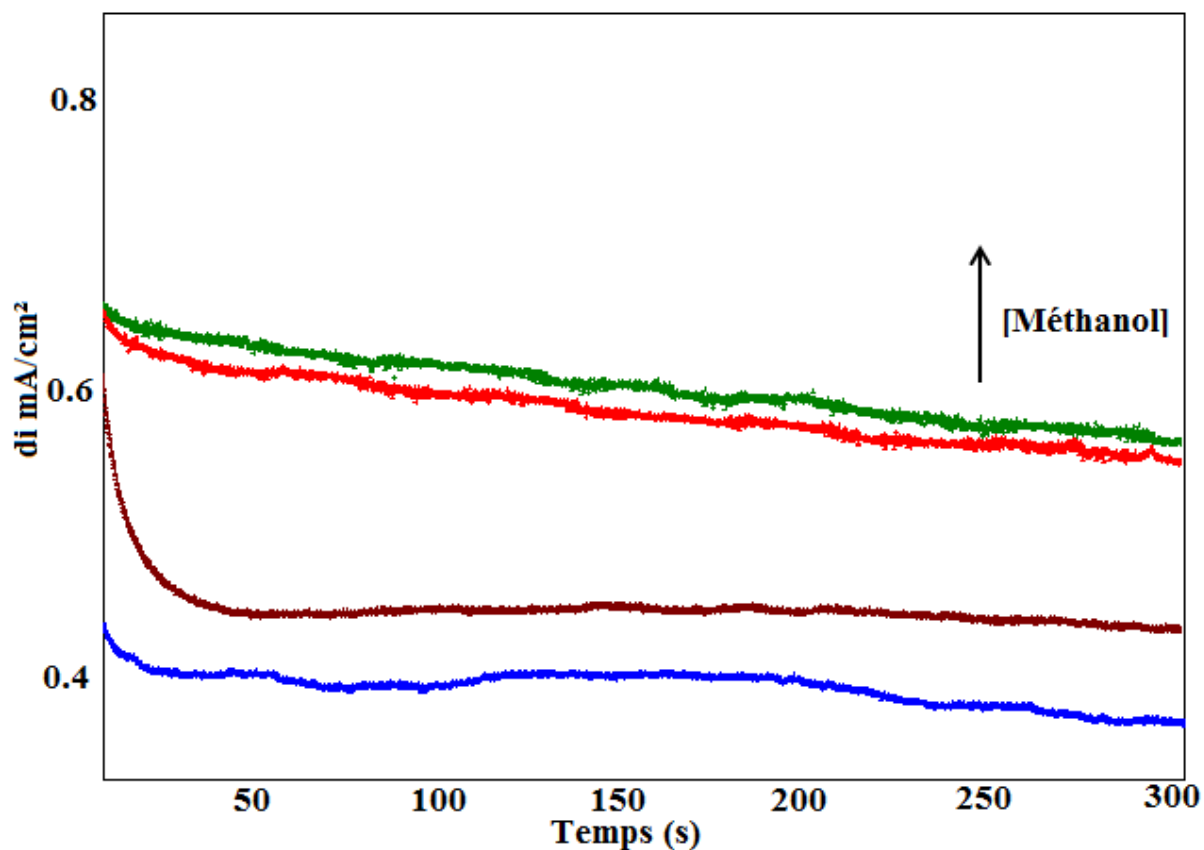


Figure 108. chronoampérometries de Polymère-l'ADN-CPE, enregistré à la vitesse de balayage de 0,1 mV / s dans une solution de NaCl 0,1M contenant différentes concentrations de méthanol.

Afin d'évaluer les performances de l'électrode préparée Polymère-ADN-CPE, nous représentons sur la Figure 109 l'évolution de la puissance électrique en fonction de la concentration du méthanol. Nous constatons que la puissance électrique évolue linéairement jusqu'à 0.10 mol/L du méthanol, pour se décliner légèrement ce qui laisse suggérer que l'électrode est saturée.

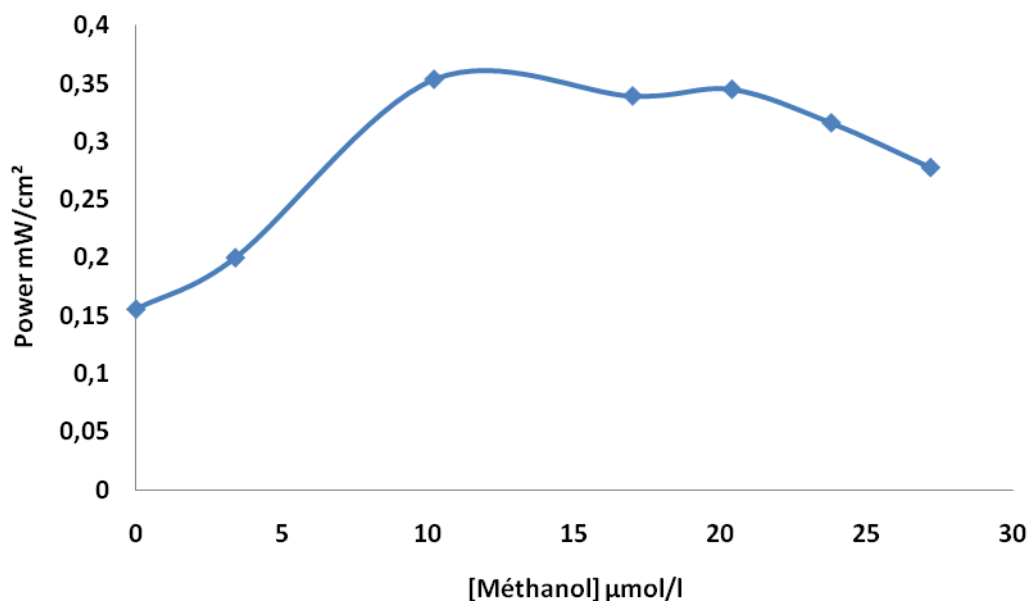
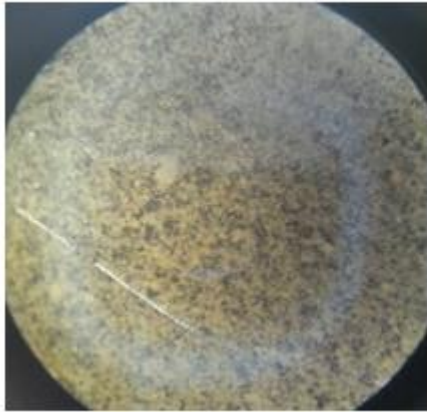


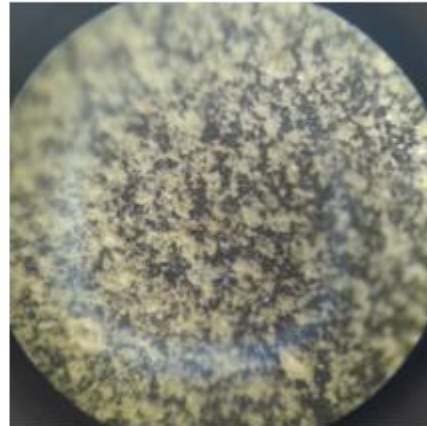
Figure 109. Evolution de la puissance électrique avec la concentration de Méthanol.

Les images de microscopie optique prises, respectivement, pour les électrodes Polymère-ADN-CPE, Polymère-CPE, CPE après l'électro-oxydation du méthanol sont présentées sur la Figure 110. Les images montrent l'adhésion du polymère à la surface de l'électrode qui protège le film d'ADN déposé à La surface de la pâte de carbone.

P o l y m e r - D N A - C P E



P o l y m e r - C P E



C P E

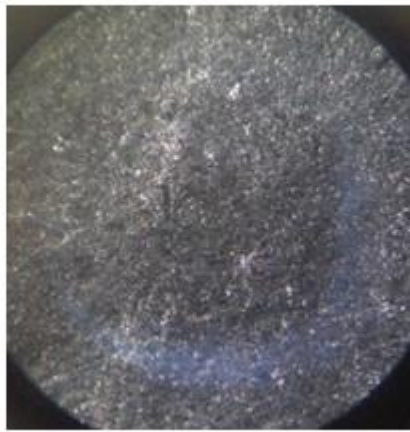


Figure 110. Micrographies optiques pour les électrodes CPE, Polymère-CPE et Polymère - ADN-CPE après oxydation du méthanol.

Conclusion

Dans ce travail, nous avons préparé avec succès une nouvelle génération d'électrodes, il s'agit des électrodes de type polymère-ADN-CPE. Le film d'ADN est déposé par auto-assemblage à la surface de l'électrode de carbone, bénéficiant de l'affinité du carbone à développer une liaison covalente avec les brins d'ADN. Pour protéger l'état de surface du film biologique, contre la dissolution nous avons revêtu l'électrode par un polymère à base d'acide polyacrylique. Nous avons montré que la nouvelle électrode possède une excellente activité en vers l'oxydation du méthanol [15]. Le polymère empêche la détérioration du film d'ADN et améliore donc la durée de vie de l'électrode. L'électrode préparée (Polymère-ADN-CPE) est très simple et facile à préparer, et possède les propriétés nécessaires à l'électrocatalyse du méthanol. Aucun effet d'empoisonnement n'est observé. Les techniques voltammétriques ont montré que l'électrode polymère-ADN-CPE présente une puissance électrique suffisante pour jouer le rôle d'une anode dans une pile à combustible.

References

- [1] T.S. Zhao. London WC1X 8RR, UK (2009).
- [2] Neel PJ (2008) MVC Sastry Hall, NCCR.
- [3] Carabineiro SAC, Thompson DT (2007) Catalytic Applications of Gold Nanotechnology in Nanoscience and Technology. In: Heiz U, Landman U (eds.) Nanocatalysis. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg.
- [4] Appleby AJ, Foulkes FR (1989) Fuel Cell Handbook. Van Nostrand Reinhold, New York.
- [5] Chtaini A (1993) Thesis, Poitiers (French).
- [6] I. Svancara, K. Vytras, J. Barek, Crit. Rev. Anal. Chem., 31(2001)311-345.
- [7] M. Rice, Z. Galus, R.N. Adams, J. Electroanal. Chem., 143(1983)89-102.
- [8] R. Sathish, B.E. Kumara Swamy, U. Sherigara., Int. J. Electrochem Sci. 5(2010)10-17.
- [9] S.B. Tanuja, B.E. Kumara Swamy, K.P. Vasantakumar, J. Anal Bioanl. Tech, 7(2016)1.
- [10] O. Gilbert, B.E. Kumara Swamy, M. C. Panduranga, C. Nagaraj, 3(2008)1186-1195.
- [11] O. Gilbert, B.E. Kumara Swamy, U. Chandra, B.S. Sherigara, Int. J. Electrochem Sci. 4(2009)582-587.
- [12] SS. Sankar, B.E. Kumara Swamy, U. Chandra, Interent. J; Electrochem Sci. 4(2009)592-601.
- [13] Chamekh Mbareck and Quang Trong Nguyen, J Membra Sci Technol 2014, 4:2
- [14] Chamekh Ould M'Bareck, Quang Trong Nguyen, Stephane Alexandre, Irene Zimmerlin, Journal of Membrane Science 278 (2006) 10–18
- [15] Chtaini A, Touzara S, Cheikh Ould S'Id E, Chamekh M, Mabrouki M, et al. (2017) Development of Graphite-DNA Polymer Composites as Electrode for Methanol Fuel Cells. J Material Sci Eng 6: 333.

Conclusion générale

Le travail présenté dans ce mémoire a été réalisé au sein de *l'équipe Electrochimie Moléculaire et Matériaux Inorganiques (EMMI)*, accréditée à l'Université Sultan Moulay Slimane. L'objet de ce projet a été la mise au point de matériaux d'électrode pour la conception de bioélectrodes avec pour objectif des applications dans le domaine des technologies analytiques, énergétiques et thérapeutiques.

Dans ce travail, une méthode rapide simple et efficace a été développée pour produire l'énergie, la chélation thérapeutique et la détection des métaux lourds utilisant des électrodes modifiées. Il s'agit des électrodes à pâte de carbone modifiées. L'activité électrochimique des électrodes, ainsi que l'effet du pourcentage du composite fixé sur la surface ont été évalués par voltamétrie cyclique et voltamétrie à onde carrée. La structure et la morphologie des couches ont été examinées par microscopie optique.

Dans ce travail nous avons mis en œuvre une méthode d'immobilisation du biorécepteur, il s'agit d'une méthode électrochimique douce, appelée dépôt par *electroless*. Dans un premier temps, nous avons préparé avec succès une nouvelle génération d'électrodes, il s'agit des électrodes de type CPE-Substance. Par la suite, nous avons démontré que le polymère assure une bonne protection de la surface catalytique, avec une légère modification de l'activité de celle-ci, le polymère permet une connexion intime entre la surface d'électrode modifiée et la substance à analysée. L'ensemble de ces caractéristiques nous a permis de mettre en œuvre une bioélectrode applicable en tant qu'un biocapteur et une anode d'une biopile. Ces systèmes ont montré des grandes performances vis-à-vis, des substances actives (métaux lourds et méthanol) selon l'assemblage étudié avec une bonne stabilité. De plus, ces bioélectrodes ont été également testées comme bioanodes en vue de leur intégration future dans un système de biopile à combustible et comme biocapteur pour le traitement thérapeutique.

Les conditions expérimentales optimisées ont été décrites par la variation de temps de préconcentration, la constitution de l'électrode, la nature et le pH de la solution de préconcentration. L'augmentation de la concentration de la solution analysée a été suivie d'un accroissement du pic correspondant à l'électroactivité de l'élément analysé. L'électrode à pâte

de carbone modifiée par molécule organique a été appliquée pour la détection du plomb dans des échantillons avec de bons résultats.

En plus, nous avons pu déterminer par une approche statistique les limites de détection et de quantification pour chaque électrode. Cette étude nous a en particulier, permis de mieux comprendre la sensibilité obtenue.

Nous avons aussi, élaboré des matériaux d'électrodes utilisées comme anodes pour des biopiles, à base de substance biologique, tels que l'ADN. La surface de l'électrode couverte par un polymère synthétisé. Ce dernier a l'avantage d'avoir une structure poreuse qui facilite le piégeage de la molécule active (méthanol).