



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



THESE

Présentée par

RAJA MAALLAH

Pour l'obtention du grade de

DOCTEUR

Discipline : Chimie Physique

Spécialité : Electrochimie et Matériaux

**Elaboration des électrodes à pâte de carbone modifiées par le
phosphate naturel ou l'argile et bactéries pour l'oxydation du
phénol**

Soutenue le 13/12/ 2017 devant la commission d'examen :

Dédicace

*A l'âme de mon cher Père Mohammed MAALLAH,
A ma chère Mère Khadija MAALLAH,
Mes frères Mohammed et Ahmed,
Mes sœurs Saliha, Fatiha et Zhour,
Et à tous ceux qui me sont chers.*

Remerciement

Ce travail a été réalisé au Laboratoire d'Electrochimie Moléculaire et Matériaux Inorganiques (LEMMI) à la Faculté des Sciences et Techniques de Beni Mellal à l'Université Sultan Moulay Slimane, sous la responsabilité du Professeur Abdelilah CHTAINI.

Je tiens à remercier, avant tout, Mr Ahmed BARAKAT, Directeur de thèse, qui a assuré l'encadrement de ce travail, pendant trois ans, je lui témoigne toute ma reconnaissance pour m'avoir guidé et prodigué des conseils. Sa disponibilité et ses conseils précieux ont grandement facilité l'aboutissement de ce travail.

Je tiens également à exprimer mes remerciements les plus sincères à Monsieur Abdelilah CHTAINI, Co-Encadrant, qui m'a accueilli au sein de l'Equipe d'Electrochimie Moléculaire et des Matériaux Inorganiques et guidé tout au long de mes recherches. Et pour ses différents conseils et sa disponibilité et pour son intérêt constant pour mes travaux. Je le remercie pour toutes nos discussions, son aide et pour m'avoir fait partager son expérience. Il a su m'aider à évoluer tant pour me préparer à une carrière professionnelle que dans ma vie personnelle. Je le remercie pour la confiance qu'il m'a accordée et pour toutes les opportunités qu'il a su me créer.

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, pour tous ses précieux conseils.

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

Enfin, 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.

Résumé

L'étude menée concerne l'élaboration de nouveaux biocapteurs à base de bactéries (staphylocoques aureus). L'immobilisation des bactéries à la surface des électrodes à pâte de carbone modifiées par le phosphate naturel et/ou l'argile et l'électrode de plaque d'aluminium est réalisée in situ par la méthode d'auto assemblage.

Les électrodes élaborées sont :

- Electrode à pâte de carbone modifiée par le phosphate et les bactéries (CPE-NP/bactérie),
- Electrode à pâte de carbone modifiée par l'argile et les bactéries (CPE-Ar/bactérie),
- Et Electrode massique d'Aluminium (Al/bactérie).

Pour préserver la matrice minérale contre la dissolution, nous utilisons un polymère (poly caprolactone) sur lequel nous avons fixé les bactéries. L'activité bioélectrochimique intrinsèque des capteurs, ainsi que l'effet de la cinétique de l'incorporation de bactéries a été évaluée par voltamétrie cyclique, voltamétrie à onde carrée, spectroscopie d'impédance et courbes de polarisation.

Le test analytique de ces biocapteurs sur des solutions naturelles, tel que, l'eau de robinet, a montré que la sensibilité des électrodes à pâte de carbone graphite modifiées est améliorée par l'introduction des microorganismes dans la matrice.

La morphologie des surfaces des électrodes élaborées a été étudiée par Rayons X, AFM et microscopie optique.

Sommaire

Introduction Générale.....	1
CHAPITRE I: GENERALITES BIBLIOGRAPHIQUES.....	3
Introduction	4
I. Pollution et les principaux types de polluants	4
I.1 Pollution des eaux.....	4
I.2. Pollution naturelle.....	5
I.3. Pollution industrielle.....	5
I.4. Principaux types de polluants	6
I.5. Phénol (polluant organique)	6
I.5.1. Propriétés du phénol	7
I.5.1.1.Structure de la molécule du phénol	7
I.5.1.2. Propriétés physicochimiques	8
I.5.1.3. Propriétés oxydantes	9
I.5.1.4. Propriétés acido-basiques	9
I.5.2. Impacts environnementaux des effluents phénoliques et leur toxicité	9
I.5.2.1. Impact de phénol sur la santé	10
I.5.2.2. Impact sur les eaux	10
I.5.2.3. Impact sur le sol	11
I.5.2.4. Impact sur l'atmosphère	11
I.5.3.Traitement électrochimique des effluents organiques	12
I.5.4. Principales méthodes de traitement	13
II. Principe de la biodétection par un biocapteur.....	14
II.1. Biorécepteur	15
II.1.2. Principaux biorécepteurs	15
II.1.2.1. Les enzymes	15
II.1.2.2. Les anticorps	16
II.1.2.3. L'ADN	16
II.1.2.4. Les micro-organismes	16
II.1.2.5. Souche bactérienne	17
II.1.2.5.1. Les qualités requises du biocapteur bactérien	18
II.1.2.5.2. Techniques d'immobilisation des bactéries	18
II.2. Le transducteur	20
II.2.1.Biocapteurs électrochimiques.....	20
II.2.1.1.Biocapteurs potentiométriques.....	21
II.2.1.2.Biocapteurs conductimétriques.....	21
II.2.1.3.Biocapteurs ampérométriques.....	22
III. Immobilisation des bactéries dans des films de polymères	23
III.1. Généralités	23

III.2. Immobilisation des bactéries dans des films polymères électrogénérés	24
III.2.1. Polymères non conducteurs	25
III.2.2. Polymères conducteurs	26
III.2.2.1. Polycaprolactone	27
III.2.2.1.2. Polymérisation par voie électrochimique	28
IV. Etude de la communication bioélectrochimique entre les bactéries et la surface d'électrode	29
IV.1 Mécanismes de transfert d'électrons indirect	30
IV.1.1. Production de médiateurs	30
IV.1.2. Transfert indirect d'électrons par les médiateurs électrochimiques artificiels	31
IV.2. Mécanisme de transfert direct des 'électrons entre les bactéries et l'électrode	32
IV.2.1. Contact direct avec des protéines membranaires	33
IV.2.2. Contact direct avec Pili conducteurs	33
IV. 3. Electroactivité du biofilm artificiel	35
V. Conversion des substances chimiques par voie électrochimique	35
V.1. Electrodes modifiées	35
V.1.1. Modification de la surface des électrodes solides	37
V.1.1.1. Modification covalente	37
V.1.1.2. Modification par adsorption	38
V.1.1.3. Modification par film polymérique ou modification multicouches	39
V.1.2. Modification directe : les électrodes à pâte de carbone	41
V.1.2.1. Electrodes à pâte de carbone à liant non conducteur	42
V.1.2.2. Electrode à pâte de carbone à liant conducteur	42
V.2. Application des électrodes modifiées	43
V.2.1. Electrodes métalliques	43
V.2.2. Electrodes non métalliques	44
VI. Généralités sur les argiles et les phosphates naturels	44
VI.1 Argiles	44
VI.1.1 Définition de l'argile	44
VI.1.2 Utilisation des argiles	45
VI.2 Phosphates naturels	45
VI.2.1 Introduction	45
VI.2.2 Utilisation des phosphates naturels	46
VIII. Conclusion	46
Références	47
CHAPITRE II: PARTIE EXPERIMENTALE	59
Introduction	60
I. Matériaux	60
I.1. Poudre commerciale de graphite	60
I.2. Poudre de phosphate naturel (PN)	60

I.3.Poudre d'argile	61
II. Préparation des biocapteurs	61
II.1. Elaboration de l'électrode de pâte de carbone -NP	61
II.2.Elaboration de l'électrode de pâte de carbone-Ar	62
II.4. Caractérisation des électrodes modifiées en présence des bactéries (staphylocoque aureus).....	62
II.4.1.Culture des bactéries.....	62
II.5. Procédure de l'immobilisation des bactéries sur la surface d'électrode	64
II.6. Procédure de l'immobilisation des bactéries dans un film de polymère.....	64
II.7. Procédure de détection du phénol par les biocapteurs préparés.....	64
III. Méthodes de caractérisation	64
III.1. Voltamétrie	64
III.1.1. Composants et principes des techniques voltamétriques	65
III.1.2. Voltamétrie cyclique	66
III.1.3. Voltamétrie à onde carrée (SWV : square wave voltammetry)	69
IV. Mesure d'impédance électrochimique.....	70
V. Chronoampérométrie	73
VI. Chronopotentiométrie.....	74
VII. Spectrométrie infrarouge.....	75
VIII. Diffraction des rayons X.....	75
IX. Microscopie électronique à balayage	76
X. Surfaces spécifiques d'échanges (méthode BET)	76
XI. Microscopie à Force Atomique (AFM).....	77
X.II. Microscopie optique.....	78
References	79

CHAPITRE III: ELECTRODES A PATE DE CARBONE MODIFIEE PAR LE PHOSPHATE OU L'ARGILE ET BACTERIES POUR L'OXYDATION DU PHENOL . 81

I. Electrode à pâte de carbone modifiée par le phosphate naturel	82
I.1. Caractérisation de phosphate naturel	82
I.2.Caractérisations électrochimiques de l'immobilisation des bactéries sur la surface de l'électrode	84
I.2.1. Caractérisation par la voltammétrie cyclique	85
I.2.2. Effet du temps de contact de l'électrode avec la suspension des bactéries	86
I.2.2.1Caractérisation par la spectroscopie d'impédance	86
I.3.Analyse électrochimique du phénol	88
I.3.1. Dégradation du phénol.....	88
I.4.Effet de la vitesse de balayage.....	90

I.5. Etude électrochimique de l'effet de la concentration du phénol sur la surface de CPE-NP-bactéries.....	91
I.5.1 Caractérisation par la voltammétrie cyclique	91
I.5.2. Caractérisation par Spectroscopie d'impédance	94
I.6.Evaluation de l'activité de l'électrode modifiée bactérie-NP-CPE pour la biodétection du phénol.....	94
I.6.1.Etude voltamétrique	94
I.6.2. Courbes de calibration	96
I.7. Mécanisme de biodégradation du phénol	98
I.8.Caractérisation par spectroscopie optique	99
II. Electrode à pâte de carbone modifiée par l'argile.	100
II.1. Caractérisation de l'électrode modifiée par l'argile	100
II.2.Etude électrochimique de l'immobilisation des bactéries à la surface de l'électrode... ..	101
II.2.1.Caractérisation par volatamérie cyclique	101
II.2.2. Effet du temps de séjour de l'électrode CPE-Ar dans la solution contenant les bactéries.....	103
II.2.2.1Caractérisation par spectroscopie d'impédance.....	103
II.3. Dégradation du phénol	104
II.4. Effet de la vitesse de balayage	106
II.5. Etude électrochimique de l'effet de la concentration du phénol sur la surface de CPE-Ar-bactéries.....	107
II.5.1 Caractérisation par la voltammétrie cyclique	107
II.6.Evaluation de l'activité de l'électrode modifiée bactérie-Ar-CPE pour la biodétection du phénol.....	110
II.6.2. Courbes de calibration	111
II.7.Mécanisme de biodégradation du phénol.....	113
Conclusion	113
References	114

CHAPITRE IV: ELECTRODES A PATE DE CARBONE MODIFIEES PAR LE PHOSPHATE OU L'ARGILE RECOUVERTES PAR UN POLYMERE SUR LEQUEL SONT INTRODUITES DES BACTERIES 115

I. Electrode à pâte de carbone modifiée par le phosphate naturel	116
I.1.Electro polymérisation de monomère deε-caprolactone	116
I.1.1.Optimisation du nombre de cycles d'électropolymérisation	117
I.2. Activité de l'électrode CPE-NP –Polymère pour la détection du phénol.....	119
I.3. Elaboration et caractérisation des bioélectrodes.....	120
I.3.1. Caractérisation par voltamétrie cyclique	120
I.3.3. Caractérisation par les courbes de polarisation.....	122
I.4. L'activité de bioélectrode élaboré pour la biodégradation du phénol	123
I.5. Effet de la vitesse de balayage.....	125
I.6. Influence de la concentration du phénol.....	127

I.7. Evaluation de l'activité de l'électrode modifiée bactérie-NP-CPE pour la biodétection du phénol.....	130
I.7.1 Etude voltamétrique	130
I.7.2. Courbes de calibration	131
I.9.Caractérisation physique.....	134
II. Electrode à pâte de carbone modifiée par l'argile (CPE-Ar).....	134
II.1Electropolymérisation de monomère deε- caprolactone.....	134
II.2. Activité de l'électrode CPE-Ar- Polymère pour la détection du phénol.....	136
II.3. Influence de la concentration du phénol	137
II.4. Elaboration et caractérisation des bioélectrodes	139
II.4.1. Caractérisation par voltamétrie cyclique	139
II.5. Activité de l'électrode CPE-Ar-polymère-bactérie vis-à-vis de l'oxydation du phénol	141
II.6. Effet de la vitesse de balayage	141
II.7. Influence de la concentration du phénol	143
I.8. Evaluation de l'activité de l'électrode modifiée CPE-Ar-polymère-bactérie pour la détection du phénol.....	145
I.8.1. Courbes de calibration	145
Conclusion.....	147
References	148
CHAPITRE V: ELECTRODE MASSIQUE D'ALUMINIUM MODIFIEE PAR LES BACTERIES ET/OU POLYMERE BACTERIE	149
I. Etude du comportement électrochimique du phénol sur une électrode d'Aluminium modifiée par un biofilm	150
I.1.Caractérisation de l'électrode d'aluminium par spectroscopie d'impédance.....	150
I.2.Effet de la concentration du phénol.....	151
I.3. Caractérisation de l'électrode d'aluminium par un biofilm spectroscopie d'impédance	153
I.4.Oxydation du phénol sur l'électrode d'aluminium modifiée par les bactéries (Al/bactérie)	154
I.5. Etude électrochimique de l'effet de la concentration du phénol sur la surface Al/bactérie	155
II.Electrode d'aluminium modifiée par un polymère	157
II. 1. Electro polymérisation de monomère deε- caprolactone.....	157
II.2. Electro oxydation du phénol à la surface de l'électrode Al/Polymère.....	158
II.3.Effet de la concentration du phénol.....	159
III. Electrode d'Aluminium modifiée par le polymère et les micro-organismes.....	161
III.1. Caractérisation par spectroscopie d'impédance.....	161
III.2.Electro oxydation du phénol sur l'électrode Al/Polymère/Bactéries.....	162
III.3. Influence de la concentration du phénol	163
III.4. Etude morphologique des électrodes Al, Al/Polymère et Al/Polymère/Bactéries	165

Conclusion	168
CHAPITRE V: APPLICATIONS ANALYTIQUES	170
I. Electrode à pâte de carbone modifiée par le phosphate naturel (CPE-NP).....	171
I.1.Caractérisations électrochimiques	171
I.1.1.Caractérisation par voltamétrie cyclique	171
I.1.2.Caractérisation par spectroscopie d'impédance.....	172
I.1.3.Caractérisation par les courbes de polarisation.....	174
I.2.Analyse électrochimique du phénol en milieu de l'eau de robinet.....	175
1.2.1. Etude voltammétrique	175
I.2.2.Caractérisation par spectroscopie d'impédance.....	176
I.3.Effet de la vitesse de balayage.....	177
I.4.Effet de la concentration du phénol	179
I.4.1 Caractérisation par la voltammétrie cyclique	179
I.4.2.Caractérisation par spectroscopie d'impédance.....	181
I.5. Evaluation de l'activité de l'électrode modifiée bactérie-NP-CPE pour la détection du phénol en milieu l'eau de robinet.....	182
I.5.1.Etude voltamétrique	182
I.5.2.Caractérisation par spectroscopie d'impédance.....	184
I. Electrode à pâte de carbone modifiée par l'argile et les bactéries	185
II.1.Caractérisation par volatamérie cyclique	185
II.2.Caractérisation par courbe de polarisation	186
II.3. Dégradation du phénol	187
II.3.1. Caractérisation par spectroscopie d'impédance	188
II.4. Effet de la vitesse de balayage	189
II.5. Effet de la concentration du phénol.....	191
II.6. Evaluation de l'activité l'électrode modifiée bactérie-Ar-CPE pour l'oxydation du phénol.....	194
I.6.1.Etude voltamétrique	194
II.6.2.Caractérisation par spectroscopie d'impédance	195
Conclusion	196
Références	197
Conclusion générale	198

Liste des figures

Figure 1 : Structure moléculaire du phénol	7
Figure 2 : Spectre UV du phénol.....	8
Figure 3 : Effet oxydant de l'air sur le phénol.....	9
Figure 4 : Stabilité de résonance de l'ion phénolate.....	9
Figure 5 : Mécanisme de minéralisation du phénol.....	13
Figure 6 : Représentation schématique du principe de fonctionnement d'un biocapteur	15
Figure 7 : Structure d'une cellule bactérienne.....	18
Figure 8 : Les différents types de détection électrochimique.	21
Figure 9 : Principe de fonctionnement des trois types de biocapteurs ampérométriques : (a) sans médiateur, (b) avec médiateur, (c) avec transfert direct.	23
Figure 10 : Représentation du monomère ϵ -caprolactone.....	24
Figure 11: Mécanisme d'immobilisation de bactérie dans un film de polymère assistée par électrochimie.	24
Figure 12 : Mécanisme de polymérisation du phénol	25
Figure 13 :(a) Structure de films polymères électrogénérés utilisés pour l'immobilisation de biomolécules. (b) Mécanisme d'électropolymérisation du pyrrole.....	26
Figure 14 : Mode d'action et mécanisme d'ouverture de cycle avec des catalyseurs a) basiques et b) nucléophiles	28
Figure 15 : Mécanisme d'électro polymérisation du monomère de ϵ -caprolactone.	28
Figure 16 : Schéma du mécanisme indirect de transfert d'électrons mettant en jeu	30
Figure 17: Représentation schématique du mécanisme de transfert d'électrons entre une bactérie et.....	31
Figure 18 : Formule semi-développée de la molécule de riboflavine	31
Figure 19 : Représentation schématique du mécanisme de transfert d'électrons indirect entre une bactérie et une électrode via des médiateurs exogènes.....	32
Figure 20 : Représentation schématique du mécanisme de transfert d'électrons direct entre une	33
Figure 21 : Représentation des mécanismes de transfert d'électrons direct via les pili.	34
Figure 22 : Poudre d'argile : (a) avant calcination, (b) après calcination	61
Figure 23: (a) Electrode sans la pâte de carbone ; (b) Electrode avec la pâte de carbone-NP	62
Figure 24: Electrode de pâte de carbone modifiée par l'argile.....	62
Figure 25: Etapes de la culture du staphylocoque aureus.....	63
Figure 26 : Représentation schématique du circuit électronique d'un potentiostat.....	65
Figure 27 : Fonction imposée.....	67
Figure 28 : Voltamogramme cyclique enregistré pour une espèce Red seule en solution.	67

Figure 29 : Chronopotentiogramme typique d'un système électrochimique réversible.....	74
Figure 37 : Micrographie électronique de phosphate naturel.....	82
Figure 39 : Spectre d'adsorption infrarouge de phosphate naturel traité à 900°C.....	83
Figure 43 : l'évolution de capacité de double couche en fonction du temps de contact entre CPE-NP et bactérie.....	88
Figure 45 : Voltamogrammes enregistrés par CPE-NP-bactérie avec 8 mM du phénol dans 0,1 M de NaCl (pH=7) à différentes vitesses de balayage de 40 à 140 mV.s-1.....	90
Figure 46 : Influence de la racine de la vitesse de balayage sur l'intensité des pics d'oxydation du phénol obtenus par VC à la surface de CPE-NP-bactérie.....	91
Figure 47 : Voltamogrammes cycliques à différentes concentrations du phénol (de 2 mM à 12 mM) dans 0,1 M de NaCl (pH = 7) sur CPE-NP-bactérie, V= 100 mV.S-1.....	93
Figure 48 : Influence de la concentration du phénol sur l'intensité des pics d'oxydation obtenus par VC à la surface de CPE-NP-bactérie.....	93
Figure 49 : Diagramme d'impédance à différents temps de contact de CPE-NP avec la bactérie.....	94
Figure 55: Electrode CPE-NP avant (a) et après l'immobilisation des bactéries(b), et après la détection du phénol (c).	100
Figure 57 : Composition chimique de l'argile traitée.....	101
Figure 58 : Voltamogrammes cycliques obtenus par CPE-Ar (a) et CPE-Ar- bactéries (b) dans 0,1M de NaCl (pH=7) avec une vitesse de balayage de 100 mV/S.	102
Figure 59 : Voltamogrammes à onde carré obtenus par CPE-Ar et CPE-Ar- bactéries dans 0,1M de NaCl (pH=7).....	102
Figure 60 : Diagramme d'impédance à différents temps de contact de CPE-Ar avec la bactérie.....	103
Figure 67 : Voltamogrammes à onde carrée à différentes concentrations de phénol (de 2 mM à 12 mM) dans 0,1 M de NaCl (pH = 7) sur CPE-Ar-bactérie.....	109
Figure 68 : Influence de la concentration du phénol sur l'intensité des pics d'oxydation obtenus par VC à la surface de CPE-Ar-bactérie.	109
Figure 69 : Voltamogrammes cycliques obtenus par CPE-Ar-bactérie(a)et CPE-Ar(b) en présence de 4 mM de phénol dans 0,1 M de NaCl (pH=7) avec une vitesse de balayage de 100 mV/S. ...	110
Figure 63: Voltamogrammes à onde carrée enregistrés à différentes concentrations de phénol 6 mM à 12 mM) dans 0,1 M de NaCl pH = 7 sur CPE-Ar et CPE-Ar-bactérie.....	111
Figure 71 : Influence de la concentration du phénol sur l'intensité d'un pic d'oxydation enregistré par les électrodes CPE-Ar et CPE-Ar –bactérie.	112
Figure 72 : Influence de la densité de courant des pics d'oxydation en fonction de nombre de cycles enregistrés par l'électrode de CPE-Ar –bactérie.	113
Figure 77 : Voltamogrammes cycliques obtenus par CPE-NP-polymère en absence (a) et en présence (b) de 4 mM de phénol dans 0,1 M de NaCl (pH=7) avec une vitesse de balayage de 100 mV/S.	120

Figure 78 : Voltammogrammes cycliques obtenus par CPE-NP-polymère (a) et CPE-NP- polymère- bactéries (b) dans 0,1M de NaCl (pH=7) avec une vitesse de balayage de 100 mV/S.....	121
Figure 79 : Voltammogrammes à onde carré obtenus par CPE-NP-polymère (a) et CPE-NP- polymère- bactéries(b) dans 0,1M de NaCl (pH=7) avec une vitesse de balayage de 100 mV/S.....	122
Figure 80 : Courbes de polarisation enregistrées pour l'électrode CPE-NP-Polymère et CPE-NP- polymère-bactérie, dans 1% NaCl.	123
Figure 81 : Voltammogrammes cycliques obtenus par CPE-NP-polymère-bactérie en absence (a) et en présence (b) de 4 mM de phénol dans 0,1 M de NaCl (pH=7) avec une vitesse de balayage de 100 mV/S.....	124
Figure 82 : Voltammogrammes à onde carré obtenus par CPE-NP-polymère-bactérie en absence (a) et en présence (b) de 4 mM de phénol dans 0,1 M de NaCl (pH=7) avec une vitesse de balayage de 100 mV/S.	125
Figure 83 : Influence de la vitesse de balayage sur l'intensité des pics d'oxydoréduction du phénol pour CPE-PN-polymère-bactérie.	126
Figure 87 : l'effet de concentration sur l'intensité des pics d'oxydoréduction du phénol pour CPE-PN- polymère-bactérie.	128
Figure 88 : Diagramme d'impédance à différentes concentrations de phénol (de 0 à 10 mM) dans 0,1 M de NaCl (pH = 7) sur CPE-NP-polymère-bactérie, V= 100 mV.S-1.....	129
Figure 89 : l'évolution de la résistance de transfert de charge en fonction de concentration du phénol...	129
Figure 90 : Voltammogrammes cycliques obtenus par CPE-NP-polymère-bactérie(a)et CPEE-NP-polymère (b) en présence de 6 mM de phénol dans 0,1 M de NaCl (pH=7) avec une vitesse de balayage de 100 mV/S	130
Figure 91: Influence de la concentration du phénol sur l'intensité d'un pic d'oxydation obtenus par enregistrés par les électrodes CPE-NP-polymère et CPE-NP-polymère -bactérie.....	131
Figure 93 : Le spectre de DRX enregistrés parla surface de l'électrode CPE-NP	133
Figure 97 : Voltammogrammes cycliques obtenus par CPE-Ar (a) et CPE-Ar-polymère (b) dans 0,1M de NaCl (pH=7) avec une vitesse de balayage de 100 mV/S.	135
Figure 98 : Voltammogrammes cycliques obtenus par CPE-Ar-polymère en absence (a) et en présence (b) de 4 mM de phénol dans 0,1 M de NaCl (pH=7) avec une vitesse de balayage de 100 mV/S	136
Figure 99 : Voltammogrammes de SQW obtenus par CPE-Ar-polymère en absence (a) et en présence (b) de 4 mM de phénol dans 0,1 M de NaCl (pH=7) avec une vitesse de balayage de 100 mV/S.	137
Figure 107 : L'effet de vitesse de balayage sur l'intensité des pics d'oxydation du phénol	142
Figure 108 : Voltammogrammes cycliques à différentes concentrations de phénol (de 2 mM à 10 mM) dans 0,1 M de NaCl (pH = 7) sur CPE-Ar-polymère-bactérie, V= 100 mV.S-1	143
Figure 109 : Voltammogrammes de SQW à différentes concentrations de phénol (de 2 mM à 10 mM) dans 0,1 M de NaCl (pH = 7) sur CPE-Ar-polymère-bactérie, V= 100 mV.S-	144

Figure 110 : L'effet de concentration sur l'intensité des pics d'oxydation du phénol pour CPE-Ar-polymère-bactérie.	144
Figure 111 : Diagramme d'impédance à différentes concentrations de phénol (de 2 mM à 10 mM) dans 0,1 M de NaCl (pH = 7) sur CPE-Ar-polymère-bactérie, $V = 100 \text{ mV.S}^{-1}$	145
Figure 113 : Diagramme d'impédance obtenue par l'électrode d'aluminium en présence (b) et en absence (a) du phénol dans 0,1 M de NaCl (pH~7).	150
Figure 114 : Diagramme d'impédance à différentes concentrations de phénol (de 0.01 M à 0.07 M) dans 0,1 M de NaCl (pH = 7) sur l'électrode Al.	151
Figure 115 : L'évolution de la résistance de transfert de charge en fonction de la concentration du phénol.	152
Figure 116 : Influence de la concentration du phénol sur la capacité de double couche	152
Figure 117 : Diagramme d'impédance obtenue par l'électrode d'aluminium en présence et en absence des bactéries sur la surface d'électrode dans 0,1 M de NaCl (pH=7).	153
Figure 118 : Diagramme d'impédance obtenue par l'électrode d'aluminium-bactérie en présence (b) et en absence (a) de 0.04 M du phénol dans 0,1 M de NaCl (pH=7).	154
Figure 119 : Diagramme d'impédance à différentes concentrations de phénol (de 2 mM à 12 mM) dans 0,1 M de NaCl (pH = 7) sur l'électrode de plaque Al-bactérie.....	156
Figure 120 : L'évolution de la résistance de transfert de charge en fonction de la concentration du phénol.	156
Figure 121 : Influence de la concentration du phénol sur la capacité de double couche	157
Figure 122 : Diagramme d'impédance obtenue par l'électrode Al avant et après la polymérisation du monomère de caprolactame dans 0,1 M de NaCl (pH=7)	158
Figure 123 : Diagramme d'impédance obtenue par l'électrode d'aluminium -polymère en présence (b) et en absence (a) de 0.04M du phénol dans 0,1M de NaCl (pH~7).....	159
Figure 124 : Diagramme d'impédance à différentes concentrations de phénol (de 2 mM à 12 mM) dans 0,1 M de NaCl (pH = 7) sur capteur Al-polymère.....	160
Figure 125 : Influence de la concentration du phénol sur la résistance de transfert de charge	160
Figure 126 : Diagramme d'impédance obtenue par l'électrode d'aluminium-polymère (a) et électrode Al-polymère -bactérie (b) dans 0,1 M de NaCl (pH~7).	161
Figure 127 : Diagramme d'impédance obtenue par l'électrode d'aluminium-polymère (a) et électrode Al-polymère -bactérie (a) en présence du phénol, dans 0,1 M de NaCl.....	163
Figure 128 : Diagramme d'impédance à différentes concentrations de phénol (de 2 mM à 12 mM) dans 0,1 M de NaCl (pH = 7) sur l'électrode de plaque Al-polymère-bactérie.	164
Figure 129 : Influence de la concentration du phénol sur la résistance de transfert de charge obtenue par les diagrammes d'impédance enregistrée par électrode Al-polymère-bactérie.	164
Figure 130 : Influence de la concentration du phénol sur la capacité de double couche obtenue par les diagrammes d'impédance.	165

Figure 131: Imagerie AFM prise pour les électrodes Al et Al/Polymère.....	166
Figure 132 : Résultats d'AFM pour une surface d'électrode Al-polymère-bactérie; images topographiques 3D	167
Figure 133 : Voltamogrammes cycliques obtenus par CPE-NP(a) et CPE-NP-bactéries (b)	172
Figure 134 : Diagramme d'impédance obtenu par CPE-NP(a) et CPE-NP-bactéries (b)	173
Figure 135 : Courbes de polarisation enregistrées pour les deux 'électrodes CPE-NP (a) et CPE-NP bactérie (b).....	174
Figure 136 : Voltamogrammes cycliques obtenus par CPE-NP-bactérie en absence (a) et en présence (b) de 4 mM de phénol dans 0,1 M de NaCl avec une vitesse de balayage de 100 mV/S.	175
Figure 137 : Voltamogrammes à onde carrée obtenus par CPE-NP-bactérie en absence (a) et en présence (b) de 4 mM de phénol dans 0,1 M avec une vitesse de balayage de 100 mV/S.....	176
Figure 138 : Diagramme d'impédance obtenu par CPE-NP-bactérie en absence (a) et en présence(b) de 4 mM de phénol dans 0,1 M de NaCl avec une vitesse de balayage de 100 mV/S	177
Figure 139 : Voltamogrammes enregistrés par CPE-NP-bactérie avec 8 mM de phénol dans 0,1 M de NaCl à différentes vitesses de balayage de 40 à 140 mV/S.....	178
Figure 140 : Influence de la racine de la vitesse de balayage sur l'intensité des pics d'oxydoréduction du phénol obtenus par VC à la surface de CPE-NP-bactérie.....	179
Figure 141: Voltamogrammes cycliques à différentes concentrations de phénol (de 2 mM à12 mM) dans 0,1 M de NaCl sur CPE-NP-bactérie, $V = 100 \text{ mV.S}^{-1}$	180
Figure 142: Voltamogrammes à onde carré à différentes concentrations de phénol (de 2 mM à12 mM) dans 0,1 M de NaCl sur CPE-NP-bactérie, $V = 100 \text{ mV.S}^{-1}$	180
Figure 143: Influence de la concentration du phénol sur l'intensité des pics d'oxydoréduction obtenus par VC à la surface de CPE-NP-bactérie.	181
Figure 144: Diagramme d'impédance à différentes concentrations de phénol (de 2 mM à12 mM) dans 0,1 M de NaCl sur CPE-NP-bactérie.	182
Figure 145: Voltamogrammes cycliques obtenus par CPE-NP (a)et CPE-NP-bactérie (b) en présence de 4 mM de phénol dans 0,9 M de NaCl avec une vitesse de balayage de 100 mV/S.	183
Figure 146: Voltamogrammes à onde carrée obtenus par CPE-NP (a) et CPE-NP-bactérie (b) en présence de 4 mM de phénol dans 0,1 M de NaCl avec une vitesse de balayage de 100 mV/S..	183
Figure 147: Diagramme d'impédance obtenu par CPE-NP (a) et CPE-NP-bactérie (b) en présence de 4 mM de phénol dans 0,1 M de NaCl.....	184
Figure 148: Voltamogrammes cycliques obtenus par CPE-Ar (a) et CPE-Ar- bactéries (b) dans 0,1M de NaCl avec une vitesse de balayage de 100 mV/S	185
Figure 149: Courbes de polarisation enregistrées pour les deux 'électrodes CPE-Ar (a) et CPE-Ar- bactérie (b).....	186
Figure 150: Voltamogrammes cycliques obtenus par CPE-Ar-bactérie en absence (a) et en présence (b) de 4 mM de phénol dans 0,1 M de NaCl avec une vitesse de balayage de 100 mV/S	187

Figure 151: Voltamogrammes à onde carrée obtenus par CPE-Ar-bactérie en absence (a) et en présence (b) de 4 mM de phénol dans 0,1 M de NaCl.....	188
Figure 152: Diagramme d'impédance obtenus par CPE-Ar-bactérie en absence (a) et en présence (b) de 4 mM de phénol dans 0,1 M de NaCl.	189
Figure 153: Voltamogrammes enregistrés par CPE-Ar-bactérie avec 8 mM de phénol dans 0,1 M de NaCl à différentes vitesses de balayage de 40 à 140 mV.s ⁻¹	190
Figure 154: Influence de la racine de la vitesse de balayage sur l'intensité des pics d'oxydoréduction du phénol obtenus par VC à la surface de CPE-Ar-bactérie.....	191
Figure 155 : Voltamogrammes cycliques à différentes concentrations de phénol (de 4 mM à 10 mM) dans 0,1 M de NaCl sur CPE-Ar-bactérie, V= 100 mV/S.....	192
Figure 156 : Voltamogrammes à onde carrée à différentes concentrations de phénol (de 2 mM à 12 mM) dans 0,1 M de NaCl sur CPE-Ar-bactérie.....	192
Figure 157 : Influence de la concentration du phénol sur l'intensité de pic réduction obtenue par VC à la surface de CPE-Ar-bactérie.	193
Figure 158 : Diagramme d'impédance à différentes concentrations de phénol (de 2 mM à 12 mM) dans 0,1 M de NaCl sur CPE-Ar-bactérie.	193
Figure 159 : Influence de la concentration du phénol sur la capacité de double couche	194
Figure 160 : Voltamogrammes cycliques obtenus par CPE-Ar (a) et CPE-Ar-bactérie (b) présence de 4 mM de phénol dans 0,1 M de NaCl avec une vitesse de balayage de 100 mV/S.	194
Figure 161 : Diagramme d'impédance obtenu par CPE-Ar (a) et CPE-Ar-bactérie (b) présence de 4 mM de phénol dans 0,1 M de NaCl.....	195

Liste des tableaux

Tableau 1 : Les constantes physiques du phénol.....	7
Tableau 2 : Propriétés physicochimiques du phénol.	8
Tableau 3 : Avantages et les inconvénients de principales méthodes de traitement des effluents industriels aqueux.....	14
Tableau 4 : Avantages et inconvénients de techniques d'immobilisation des bactéries	20
Tableau 5 : Les équations de corrélation calculée pour chaque pic pour électrode CPE-NP-bactérie.....	92
Tableau 6 : Les limites de détections et quantifications calculées pour l'électrode CPE-NP-bactérie en présence du phénol.....	92
Tableau 7 : Les équations de corrélation et les limites de détections et quantifications calculées pour les deux électrodes CPE-NP et CPE-NP-bactérie.	97
Tableau 8 : Les équations de corrélation et les limites de détections et quantifications calculées pour l'électrode CPE-Ar-bactérie+ phénol.	108
Tableau 9 : Les équations de corrélation et les limites de détections et quantifications calculées pour les deux électrodes CPE-Ar et CPE-Ar-bactérie en présence du phénol.	112
Tableau 10 : Résumé de paramètres électrochimiques pour les électrodes étudiées dans 1% NaCl.....	123
Tableau 11 : Les équations de corrélation et les limites de détections et quantifications obtenus par les électrodes CPE-NP-polymère et CPE-NP-polymère-bactérie.	132
Tableau 12 : Les équations de corrélation et les limites de détections et quantifications calculées pour les deux électrodes CPE-Ar-polymère et CPE-Ar-polymère-bactérie en présence du phénol..	146
Tableau 13 : Paramètres électrochimiques d'impédance (R1 étant la résistance de l'électrolyte la résistance de transfert, et C la capacité du double couche).....	151
Tableau 14 : Paramètres électrochimiques d'impédance (R1 étant la résistance de l'électrolyte, la résistance de transfert, et C la capacité de la double couche).	153
Tableau 15 : Paramètres électrochimiques d'impédance (R1 étant la résistance de l'électrolyte, la résistance de transfert, et C la capacité de la double couche)	155
Tableau 16 : Paramètres électrochimiques d'impédance (R1 étant la résistance de l'électrolyte, la résistance de transfert, et C la capacité du double couche	158
Tableau 17 : Paramètres électrochimiques d'impédance (R1 étant la résistance de l'électrolyte, la résistance de transfert, et C la capacité du double couche	162
Tableau 18 : Paramètres électrochimiques d'impédance (R1 étant la résistance de l'électrolyte, la résistance de transfert, et C la capacité du double couche).....	163
Tableau 19 : Evolution de la rugosité de surfaces modifiées.	167
Tableau 20 : Paramètres électrochimiques d'impédance (R1 étant la résistance de l'électrolyte, la résistance de transfert, et C la capacité du double couche).....	173
Tableau 21 : les paramètres électrochimiques et courbes de polarisation enregistrés pour les deux électrodes CPE-NP et CPE-NP bactérie	174
Tableau 22 : Paramètres électrochimiques d'impédance (R1 étant la résistance de l'électrolyte, la résistance de transfert, et C la capacité de la double couche).	177
Tableau 23: Paramètres électrochimiques d'impédance (R1 étant la résistance de l'électrolyte, la résistance de transfert, et C la capacité du double couche).....	185
Tableau 24: Les paramètres électrochimiques et courbes de polarisation enregistrés pour les deux électrodes CPE-Ar et CPE-Ar- bactérie.	186
Tableau 25: Paramètres électrochimiques d'impédance (R1 étant la résistance de l'électrolyte, la résistance de transfert, et C la capacité du double couche).....	189

Abréviations

Al :	Aluminium
AFM :	Microscope à force atomique
CPE :	Electrode à pâte de carbone graphite
ECS :	Electrode à calomel saturée
CE :	Electrophorèse capillaire
HPLC :	Chromatographie liquide à haute performance
GC-MS :	Chromatographie en phase gazeuse couplé à la spectroscopie de masse
HPLC-MS :	Chromatographie liquide à haute performance couplé à la spectroscopie de masse
SAA :	Spectrométrie d'adsorption atomique
SEA :	Spectrométrie d'émission atomique
ICP-AES :	Spectrométrie d'émission plasma
CVAAS :	Spectrométrie d'adsorption atomique en phase vapeur à froid
SWV :	Voltamétrie à onde carrée
VC :	Voltamétrie cyclique
DPASV :	Voltamétrie par redissolution anodique à onde carrée.
DPP :	Polarographie pulsionnelle différentielle
ASV :	Voltamétrie par redissolution anodique
DPV :	Voltamétrie pulsionnelle différentielle
MEB :	Microscopie électronique à balayage
UV :	Ultraviolet
LD :	Limite de détection
LQ :	Limite de quantification
PN :	Phosphate naturel
Ar :	Argile
ϵ -CL :	ϵ - Caprolactone
EC :	communication électrochimique
EET :	Transfert d'électrons extracellulaires
MFC :	Piles à combustible microbienne
TED :	Transfert d'électrons direct
TEI :	Transfert d'électrons indirect
Rt :	Résistance de transfert de charge

Introduction Générale

La contamination par les polluants représente une menace pour l'environnement ainsi que pour la santé humaine. Les contaminants peuvent pénétrer dans le corps par l'alimentation, la respiration, l'absorption cutanée et l'exposition quotidienne aux innombrables produits chimiques créés et employés par les humains.

Ces polluants tels que les molécules aromatiques, les métaux lourds et les pesticides provoquent des maladies dangereuses et même mortelles (maladies cardiovasculaires, cancer, sclérose en plaques, syndrome de fatigues chroniques, etc.).

Pour éviter cet effet néfaste des toxines et libérer graduellement le corps de leur accumulation toxique, il est essentiel de contrôler constamment l'environnement et évaluer le niveau de contamination.

En effet, il existe des méthodes classiques de détection de ces polluants telles que la spectroscopie de masse, l'absorption atomique, qui fournissent des informations très fines et complètes, mais elles présentent des contraintes importantes de logistique, de coût et surtout du temps.

Les recherches actuelles se sont axées sur le développement d'une technologie simple, économique, rapide et fiable, utilisable pour la détection immédiate des métaux lourds et produits toxiques dans l'environnement.

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/bactérie. En effet, la conversion de l'activité catalytique d'une bactérie 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 bactériens).

La présentation de cette étude est structurée en six parties :

Dans le premier chapitre, nous présenterons une synthèse bibliographique sur : les différents aspects de la pollution et les caractéristiques physico-chimiques de substances

polluantes étudiées, un état de l'art sur le biocapteur et ses différents constituants, biorécepteur et méthode de transduction. Nous rappellerons aussi les différents modes de modifications des électrodes solides et à pâte de carbone.

Dans le deuxième chapitre, nous présenterons les matériaux et les principales techniques utilisés au cours de la réalisation de ce travail.

Le troisième chapitre vise l'élaboration et la caractérisation des biocapteurs en vue de leur application dans le domaine environnement. Nous avons étudié en particulier l'immobilisation des bactéries à la surface des électrodes CPE-NP et CPE-Ar.

Le quatrième chapitre décrit d'une part le concept élaboration et caractérisation des biocapteurs CPE-NP et CPE-Ar à base de polymère-bactérie, et d'autre part d'évaluer leur activité pour la dégradation du phénol.

Le cinquième chapitre est consacré à l'élaboration et la caractérisation des biocapteurs d'Aluminium/ bactérie et Aluminium /polymère-bactérie et à leurs comportements pour l'oxydation du phénol.

Le sixième chapitre est consacré au test de l'efficacité des biocapteurs électrochimiques élaborés, par une application analytique sur le dosage du phénol contenu dans l'eau de robinet.

Chapitre I
Généralités bibliographiques

Introduction

L'industrie chimique représente une part importante de l'économie mondiale. Malgré l'amélioration constante de ses procédés, elle est sans cesse confrontée aux difficultés de gestion des effluents et des produits usagés qu'elle produit. Certains de ces produits sont rejetés dans les eaux naturelles sans qu'ils soient détruits systématiquement par des procédés de traitement, mais les législations régulent de plus en plus sévèrement la gestion de ces rejets [1].

En particulier, de nombreux composés organiques contenus dans les effluents industriels présentent une forte toxicité. En conséquence leur présence dans l'eau, qui est une source essentielle pour la vie humaine parce qu'elle est le solvant naturel d'un grand nombre de substances inorganiques, comme les sels minéraux, et de substances organiques, comme la plupart des vitamines et des glucides. L'eau joue également un rôle important comme transporteur des aliments et des déchets dans l'organisme humain. Elle est aussi une régulatrice de la température du corps. L'être humain est donc dépendant de l'environnement dans lequel il s'approvisionne en eau et il a tout avantage à disposer d'une eau de qualité [2].

Malheureusement, les populations et les industries s'installent très souvent à proximité des cours d'eau pour des raisons utilitaires ou par choix de ce mode de vie. Les réseaux hydrographiques des pays industrialisés reçoivent donc les rejets agricoles, industriels et municipaux, résultats des activités anthropiques liées à la productivité économique ou à la nécessité de combler les besoins des habitants.

Ces activités humaines conduisent ainsi à la pollution de l'eau par une dégradation physique, chimique, biologique ou bactériologique de ses qualités naturelles. Elles perturbent ainsi les conditions de vie de la flore et de la faune aquatiques, et compromettent les utilisations de l'eau et l'équilibre du milieu aquatique [3].

I. Pollution et les principaux types de polluants

La pollution de l'eau est une altération de sa qualité et de sa nature qui rend son utilisation dangereuse et (ou) perturbe l'écosystème aquatique. Elle peut concerner les eaux superficielles (rivières, plans d'eau) et/ou les eaux souterraines.

I.1 Pollution des eaux

La pollution des eaux se manifeste principalement, dans les eaux de surface, par :

❖ Une diminution de la teneur en oxygène dissous : les matières organiques, essentielles à la vie aquatique en tant que nourriture, peuvent devenir un élément perturbateur quand leur quantité est trop importante. Parmi, les substances qui entraînent une importante consommation d'oxygène, notons en particulier les sous-produits rejetés par l'industrie laitière, le sang rejeté par l'industrie de la viande, les déchets contenus dans les eaux usées domestiques ...etc. Cette diminution de l'oxygène dissous peut provoquer dans certains cas des mortalités importantes de poissons.

❖ La présence de produits toxiques : rejetés sous différentes formes, ces substances provoquent des effets qui peuvent être de deux formes : effet immédiat ou à court terme, conduisant à un effet toxique brutal et donc à la mort rapide de différents organismes et effet différé ou à long terme, par accumulation au cours du temps, des substances chez certains organismes. La plupart, des produits toxiques proviennent de l'industrie chimique, de l'industrie des métaux, de l'activité agricole et des décharges de déchets domestiques ou industriels [4].

❖ Une prolifération d'algues : bien que la présence d'algues dans les milieux aquatiques soit bénéfique, pour la production d'oxygène dissous, celle-ci peut proliférer de manière importante et devenir extrêmement gênante, en démarrant le processus d'eutrophisation [5]. Les algues se nourrissent de matières minérales à savoir le phosphore sous forme de phosphate, l'azote (ammonium, nitrates et azote gazeux), carbone (gaz carbonique) et d'autres éléments minéraux.

❖ Une modification physique du milieu récepteur : le milieu peut être perturbé par des apports, aux effets divers : augmentation de la turbidité de l'eau (ex. lavage de matériaux de sablière ou de carrière), modification de la salinité (ex. eaux d'exhaure des mines de sel), augmentation de la température (ex. eaux de refroidissement des centrales nucléaires).

I.2. Pollution naturelle

La teneur de l'eau en substances indésirables n'est pas toujours le fait de l'activité humaine. Certains phénomènes naturels peuvent également y contribuer. Par exemple, le contact de l'eau avec les gisements minéraux peut, par érosion ou dissolution, engendrer des concentrations inhabituelles en métaux lourds, en arsenic, etc. Des éruptions volcaniques, des épanchements sous-marins d'hydrocarbures peuvent aussi être à l'origine de pollutions [6].

I.3. Pollution industrielle

Si la pollution domestique des ressources est relativement constante, les rejets industriels sont, au contraire, caractérisés par leur très grande diversité, suivant l'utilisation, qui est faite de l'eau au cours du processus industriel.

Selon l'activité industrielle, on va donc retrouver des pollutions aussi diverses que :

- ✓ des matières organiques et des graisses (abattoirs, industries agroalimentaires...),
 - ✓ des hydrocarbures (industries pétrolières, transports),
 - ✓ des métaux (traitements de surface, métallurgie),
 - ✓ des acides, bases, produits chimiques divers (industries chimiques, tanneries...),
 - ✓ des eaux chaudes (circuits de refroidissement des centrales thermiques),
- des matières radioactives (centrales nucléaires, traitement des déchets radioactifs).

Parmi, les industries considérées traditionnellement, comme rejetant des matières particulièrement polluantes pour l'eau, on citera, notamment, les industries agroalimentaires et papetières, la chimie, les traitements de surface, l'industrie du cuir, etc. [7].

I.4. Principaux types de polluants

Il existe, deux types de polluants des ressources en eau, **les polluants inorganiques** (ex Les métaux lourds tels que: le cobalt, le cadmium, le cuivre, le plomb, le mercure, le nickel...) et **les polluants organiques** (ex les pesticides, les hydrocarbures...). Notre travail est consacré à l'étude de dégradation du phénol comme polluant organique.

I.5. Phénol (polluant organique)

Le phénol est considéré comme, la molécule modèle des effluents contenant des cycles aromatiques; en effet, il se retrouve dans la pétrochimie, les industries pour les textiles, peintures, pesticides, colorant et pharmacie.

Les phénols sont des dérivés hydroxylés du benzène et des hydrocarbures aromatiques, dans lesquels, le groupe OH est lié à un atome de carbone du cycle benzénique. Les dérivés polyhydroxylés sont appelés polyphénols. Rappelons que dans les alcools, le groupe OH est lié à un atome de carbone saturé (Figure 1). Les phénols dérivés du toluène sont appelés crésols [8].

Le phénol est un produit de synthèse pur, il se présente à la température ordinaire comme un solide blanc cristallisé. C'est un composé toxique qui provoque des brûlures graves, sur la peau. Il doit être manipulé en utilisant des gants et des lunettes de protection.

Ses solutions (acide phénique) ont été parmi les premiers antiseptiques utilisés, en médecine. On l'utilise dans l'industrie comme réactif de base dans la synthèse du cyclohexanol.

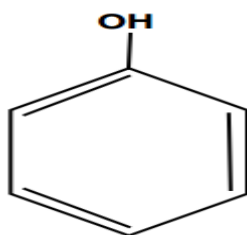


Figure 1 : Structure moléculaire du phénol

I.5.1. Propriétés du phénol

I.5.1.1. Structure de la molécule du phénol

L'énergie de résonance évaluée, grâce à la réaction d'hydrogénation vaut $167 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$. Elle est donc plus élevée que pour le benzène ($150 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$) (Tab. 1). On interprète ce résultat par la participation d'un doublet non liant de l'atome d'oxygène à la résonance. Les mesures aux rayons X montrent que la molécule est plane ce qui autorise une délocalisation maximale.

Cette participation à la délocalisation électronique se traduit aussi par le raccourcissement de la longueur de la liaison C-O et par l'augmentation de l'énergie de cette liaison par rapport à celle d'un alcool comme le cyclohexane. Les températures de changement d'état des phénols sont plus élevées que celle des hydrocarbures de même masse molaire. On l'interprète par le fait, que ces composés sont associés par liaison hydrogène intermoléculaire. Le phénol lui-même est un solide à la température ordinaire.

Tableau 1 : Les constantes physiques du phénol

TF (°C)	TE (°C)	s/H ₂ O (g.L ⁻¹) (20°C)	m (D)
41	181	93	1,59 (Ph vers OH)

✓ Spectroscopie UV Visible

Le phénol absorbe dans l'ultraviolet, il possède une bande d'absorption centrée à 270 nm (Fig. 2). Ses solutions sont incolores. La déprotonation et le passage à l'ion phénolate provoquent un effet bathochrome (déplacement de la bande d'absorption vers les grandes longueurs d'onde).

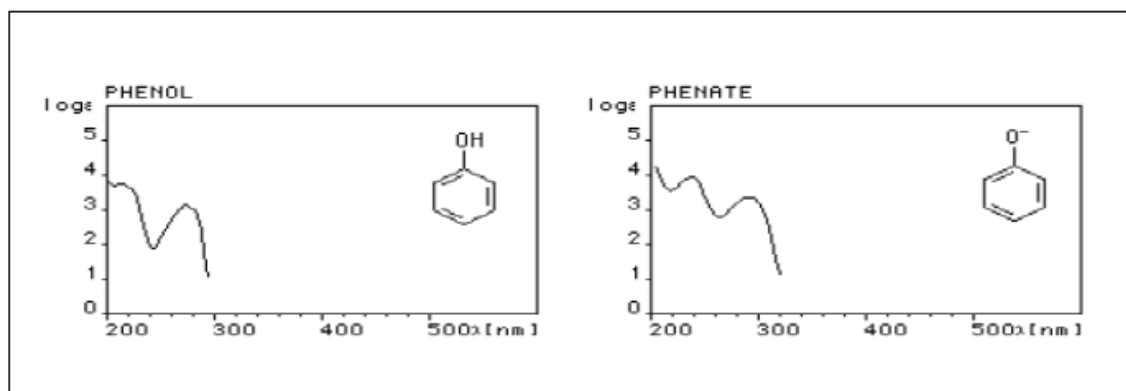


Figure 2 : Spectre UV du phénol

I.5.1.2. Propriétés physicochimiques

Le phénol est un solide incolore cristallisé sous forme d'aiguilles dans les conditions ambiantes habituelles, sa formule chimique est la suivante : C_6H_6O . Le tableau 2 regroupe certaines propriétés du phénol.

Tableau 2 : Propriétés physicochimiques du phénol.

Masse molaire (g/mol)	94.11
Densité liquide	1.049
Densité solide	1.071
PK_a à 25 °C	9,92
Point d'ébullition °C	182
Point diffusion	41
Tension de vapeur à 25 °C (mmHg)	0,350
Inflammabilité	Combustible
Limite d'explosivité	1,3%-8 ,6%

En plus, le phénol est hygroscopique et a une odeur âcre et douceâtre. Au contact de l'air ou sous l'influence de l'humidité, le phénol s'oxyde légèrement pour donner des traces de quinone. Il prend alors une couleur rose, puis rouge. Il est miscible dans l'eau. Sa solubilité est limitée entre 80- 100g/L à 25°C. Il est aussi très soluble dans plusieurs solvants organiques tels que l'acétone, l'éthanol, l'oxyde de diéthyle.

I.5.1.3. Propriétés oxydantes

L'oxydation du phénol peut avoir lieu sous O_2 . Elle conduit à la formation de radicaux phénoxyles qui évoluent pour donner par couplage des produits complexes souvent colorés, dont la structure est mal définie (Figure 3). C'est la raison pour laquelle les récipients contenant du phénol doivent être soigneusement conservés à l'abri de l'air.

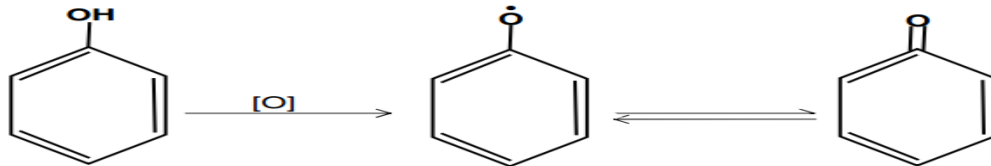


Figure 3 : Effet oxydant de l'air sur le phénol.

Parfois, le phénol attaque certains métaux contenus en solution comme le plomb, le zinc, l'aluminium et aussi certains plastiques comme le polyéthylène.

I.5.1.4. Propriétés acido-basiques

En solution, le phénol forme un acide très faible. Par contre, son acidité est plus forte que celles des alcools (pKa à 25°C du couple phénol/phénolate est de l'ordre de 9,9). Le phénol peut perdre un ion hydrogène et l'ion phénolate (phénoxyde) se stabilise dans la solution. En effet, lors de la prise du proton H^+ du groupement hydroxyle (-OH), la charge négative est ainsi délocalisée autour du cycle en en position ortho ou para selon la stabilité de résonance de l'ion phénolate comme le présente la Figure 4. L'une des paires d'électrons libres sur l'atome d'oxygène s'interfère avec les électrons délocalisés sur le noyau benzénique [9].

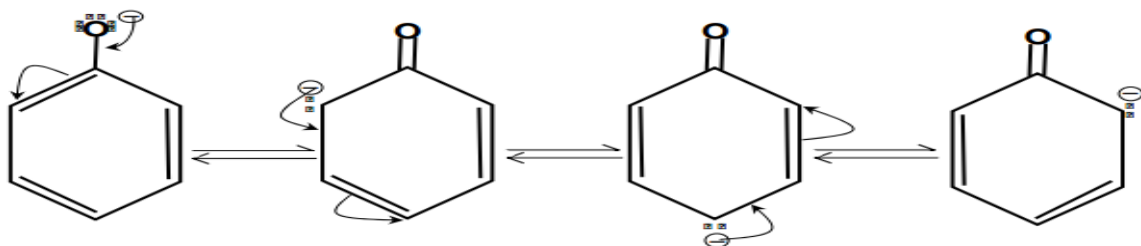


Figure 4 : Stabilité de résonance de l'ion phénolate

I.5.2. Impacts environnementaux des effluents phénoliques et leur toxicité

Généralement, le phénol entre comme intermédiaire dans plusieurs procédés de synthèse et de fabrication et parfois, il est produit au cours de différentes réactions de transformation. Par conséquent, on le trouve dans les rejets des raffineries du pétrole, des industries papetières, des

usines de fabrication de résines, de peintures, de textiles, de pesticides, cosmétiques, des industries pharmaceutiques... Il est trouvé aussi dans les cokeries et toutes les usines de transformation du charbon. Le rejet du phénol dans la nature, sans traitement et sans contrôle peut modifier les écosystèmes aquatiques et causer des dommages aux ressources précieuses. La faune et la flore sont les principales cibles de ces effluents. Le phénol est un produit répandu et nuisible à la vie aquatique. Il est très toxique dans l'eau, polluant du sol et conduit à de nombreux effets indésirables sur l'environnement et sur la santé [10].

I.5.2.1. Impact de phénol sur la santé

Le phénol pénètre rapidement dans l'organisme par toutes les voies. Les intoxications industrielles résultent de contact cutané et d'exposition aux vapeurs, qui pénètrent dans l'organisme non seulement par voie pulmonaire, mais également à travers la peau intacte. Le phénol est rapidement éliminé par les reins (80 à 90% sont excrétés en 24 heures). L'ingestion accidentelle, l'absorption cutanée massive entraînent par fois la mort. Une dose orale de 140 mg/kg est considérée comme la dose létale minimale [11].

Les effets nocifs de la pollution par les phénols entraînent la dégradation de la faune et de la flore. Les poissons, en particulier les espèces à chair grasse (anguilles, saumons, truites ...), accumulent les phénols, et peuvent en contenir jusqu'à 30 mg/kg, ce qui les rend alors impropres à la consommation.

I.5.2.2. Impact sur les eaux

Dans l'eau, le phénol forme des solutions toxiques. En raison de sa forte toxicité et de sa solubilité dans l'eau, le phénol figure dans la catégorie de risque de pollution de l'eau. Ce dernier est susceptible d'atteindre les sources d'eau potable en aval des rejets. Le phénol donne un goût désagréable même à faibles concentrations et des odeurs dans l'eau potable. Il peut avoir aussi des effets négatifs sur les différents processus biologiques, et ce par accumulation. La bioaccumulation du phénol a été étudiée. Des poissons ont été exposés dans un système continu à une concentration en phénol de 2 mg/L, et ont eu des dommages génétiques à cause de sensibilité au phénol. La concentration maximale en phénol admissible est de 35 mg/kg.

Les phénols chlorés sont aussi très toxiques pour les hommes et les animaux. En présence du chlore, le phénol forme des chlorophénols qui sont facilement absorbés par tractus gastro-intestinal provoquant une toxicité aiguë. Ils augmentent aussi la fréquence respiratoire, suivie de vomissements et de nausées. La toxicité augmente avec le degré de chloration qui pourrait générer des composés de chlorophénols mutagènes et cancérigènes [13]. Les

chlorophénols produisent aussi un goût désagréable lorsqu'ils sont mélangés avec de l'eau potable, même avec des concentrations aussi faibles de l'ordre de 0,1 mg/L [12].

I.5.2.3. Impact sur le sol

Dans le sol, le phénol subit une dégradation microbienne aérobie ou anaérobie, de sorte que l'effet d'accumulation reste limité. L'accumulation est fonction de la présence de minéraux argileux (forte affinité avec l'oxyde d'aluminium). Comme le phénol est soluble dans l'eau et modérément volatil, il est très mobile dans les sols. Par conséquent, le phénol peut être lessivé facilement des sols et ainsi contaminer la nappe phréatique. Le phénol a tendance à se biodégrader rapidement dans le sol et dans les sédiments. Les microorganismes aérobie autant qu'anaérobies peuvent utiliser le phénol comme substrat de croissance, bien que la décomposition dans les conditions aérobie soit plus rapide. Dans les plantes, bien que le phénol soit absorbé par les racines, il ne s'achemine pas vers les pousses, mais joue un rôle dans la résistance aux dommages des plantes causés par les insectes. Ce phénomène peut être justifié par la métabolisation *in vivo* du phénol en composés moins mobiles [66]. Une étude d'environnement au Canada (1995) a révélé que l'émergence des semis de radis n'est pas affectée par un sol artificiellement traité avec 79 mg de phénol/kg de sol. A 125, 158, et 170 mg de phénol/kg de sol, l'émergence des semis de radis fut réduite de 25%, 41% et 50%, respectivement. Une expérience semblable portant sur l'émergence des semis de laitue n'a révélé aucun effet à 40 mg de phénol/kg de sol. Toutefois, l'émergence des semis fut réduite de 23%, 25% et 50% respectivement à 79, 83 et 131 mg/kg [12].

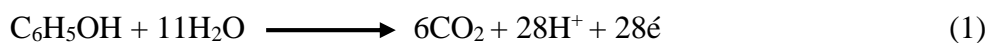
I.5.2.4. Impact sur l'atmosphère

Les phénols synthétiques étant plus toxiques que ceux existant à l'état naturel. Une réduction des émissions s'impose. Les personnes manipulant du phénol doivent notamment éviter le contact cutané et l'inhalation de ces produits. Une exposition excessive au phénol peut causer des effets sur la santé, du cerveau, du système digestif, les yeux, le cœur, les reins, le foie, les poumons, les nerfs périphériques, la peau et l'enfant à naître. Le phénol est classé comme un composé organique volatil (COV) qui peut potentiellement contribuer à la formation d'ozone troposphérique et du smog photochimique. Une étude a consisté à déposer du phénol à des concentrations égales à 2,5-5-10 g/l sur les bras de personnes volontaires. Le phénol est absorbé de façon constante pendant une heure avec un flux égal à 0,08 mg.cm⁻².h⁻¹. L'application du phénol concentré sur la peau peut provoquer des lésions cutanées sévères. Il existe des cas d'intoxications mortelles [13].

I.5.3. Traitement électrochimique des effluents organiques

Nombreux composés organiques contenus dans les effluents industriels sont toxiques pour l'environnement. Le procédé de traitement le plus répandu des rejets organiques est la voie biologique; toutefois, les micro-organismes sont inadaptés dans le cas de produits bioréfractaires ou toxiques. Parmi les techniques physico-chimiques alternatives, l'électrochimie est aujourd'hui à prendre en considération, pour réaliser, dans le cas des produits toxiques, soit le prétraitement précédant le procédé biologique soit la dégradation jusqu'au terme ultime en dioxyde de carbone et eau. Ce procédé ne nécessite aucun ajout d'oxydant chimique et la possibilité qu'il offre d'un recyclage complet des effluents aqueux est particulièrement attractive du point de vue industriel. La dégradation totale de composés organiques en dioxyde de carbone et en eau est un processus énergétique difficile et dont le mécanisme est très complexe. La difficulté est de trouver un matériau d'anode stable permettant de réaliser la dégradation du squelette moléculaire pour aboutir aux termes de dioxyde de carbone et d'eau.

Le phénol est considéré comme la molécule modèle, des effluents organiques contenant des cycles aromatiques, la minéralisation complète du phénol par l'électrochimie (équation 1) nécessite 28 électrons



Mais, à l'opposé, l'échange de deux électrons seulement modifie la structure moléculaire et transforme le phénol en hydroquinone (équation 2).



L'échange d'un seul électron peut même initier son électropolymérisation (Figure 5). L'oxydation électrochimique génère donc, un nombre important d'intermédiaires; la (Figure 5) représente les principaux : l'hydroquinone, la benzoquinone, l'acide maléique, l'acide oxalique et l'acide formique. Le catéchol apparaît en très faible quantité, donnant lieu à de faibles quantités d'o-benzoquinone, laquelle n'est pas une espèce stable. L'acide maléique est obtenu par l'ouverture du cycle aromatique ; sa minéralisation plus poussée est représentée suivant deux voies, qui dépendent de la technique d'électrolyse.

En effet, en présence d'un séparateur, l'acide maléique s'oxyde en acide oxalique, qui se minéralise totalement à son tour en formant du CO₂. Si l'électrolyse est réalisée sans séparateur, l'acide maléique peut d'abord être réduit en acide succinique (saturation de la double liaison), qui

sera oxydé successivement, en d'autres intermédiaires du type acides aliphatiques avant d'atteindre le stade terminal de CO₂.

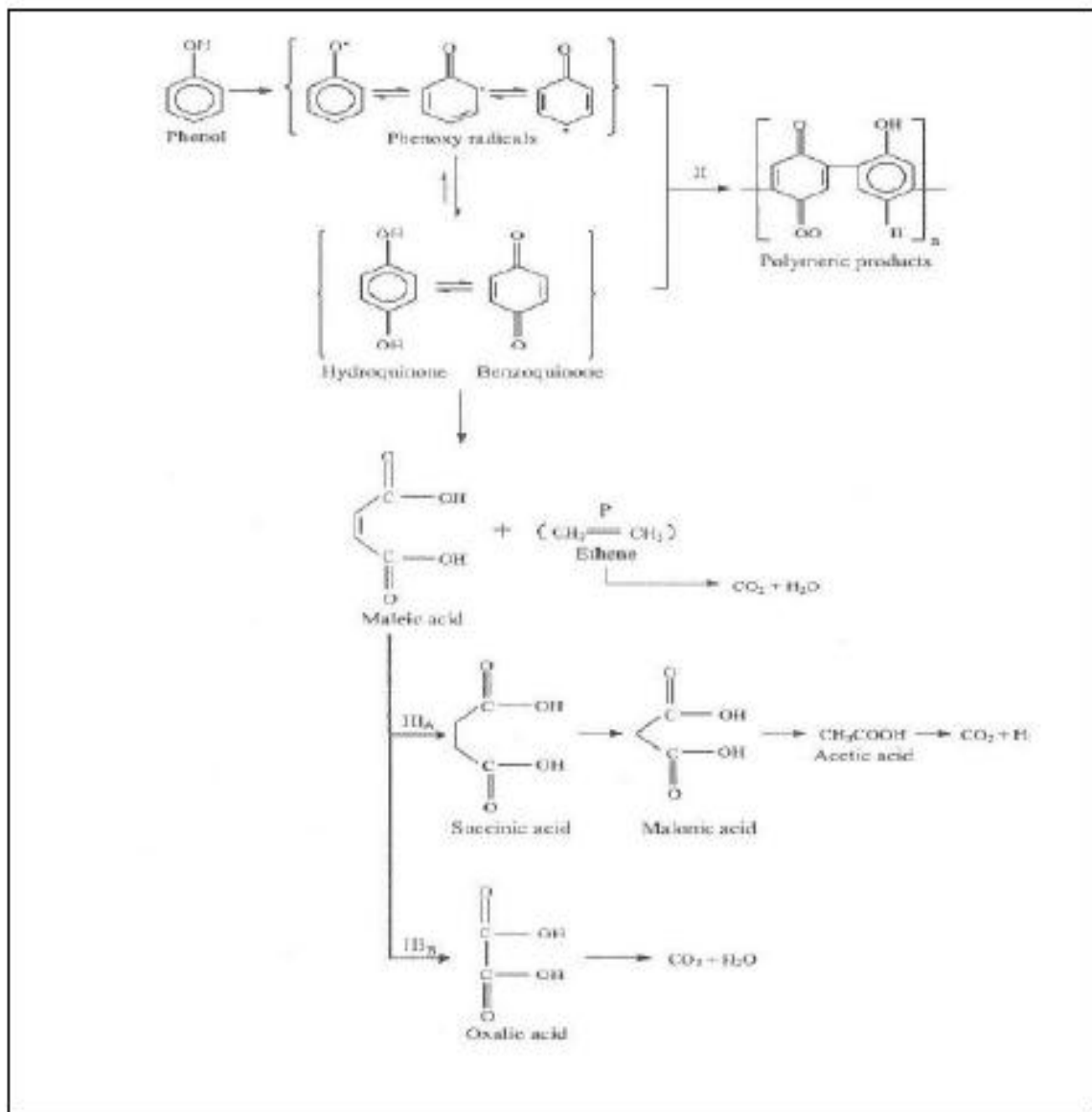


Figure 5 : Mécanisme de minéralisation du phénol

I.5.4. Principales méthodes de traitement

En raison de sa forte toxicité dans l'eau, il est nécessaire de traiter les solutions aqueuses du phénol, avant de les rejeter dans le milieu naturel. Comme le phénol est un produit toxique et qu'il n'est pas fortement biodégradable, il présente un réel problème pour les eaux polluées. Plusieurs sociétés environnementales considèrent les phénols comme des polluants à traiter prioritairement, car ils sont nocifs et toxique même à faible concentration. Plusieurs procédés

destructifs ont été étudiés. Les avantages et les inconvénients de quelques voies du traitement des effluents aqueux sont rapportés dans le tableau 3.

Tableau 3 : Avantages et les inconvénients de principales méthodes de traitement des effluents industriels aqueux

Méthodes		Avantages	Inconvénients
Biologique		- La plus répandue actuellement - Economique	- Recyclage impossible - Composés bio réfractaires
Incinération		- Très efficace	- Très coûteuse énergétiquement - Charge importante >50g L ⁻¹
Physico-chimique	Oxydation humide (O ₂)	- Combustion totale	- Hautes pressions - Hautes températures
	Réactif de Fenton	- Réaction catalysée	- Recyclage impossible - Couteuse (H ₂ O ₂)
	Electrochimie	- Recyclage possible - Pas d'ajout d'agent chimique	- Prix des électrodes

II. Principe de la biodétection par un biocapteur

On peut considérer, en général, que le biocapteur est la combinaison d'un composant biologique appelé **BIORECEPTEUR** et d'un **TRANSDUCTEUR**, qui représente en fait le mode de détection, afin d'assurer la transformation du phénomène biologique en signal électrique [17].

La Figure 6 présente le principe de fonctionnement d'un biocapteur permettant d'obtenir, à partir de l'espèce à détecter dans un milieu échantillon, toute l'information utile à son évaluation. Cette donnée pourra être traitée, enregistrée, stockée pour une utilisation ultérieure.

Le biorécepteur constitue le premier maillon du biocapteur : il sert à identifier l'espèce à détecter grâce à son site particulièrement sélectif. Le biorécepteur assure ainsi la reconnaissance moléculaire, associée ou non à la transformation de l'espèce à mesurer. Cette modification, très localisée, de l'espèce présente dans l'échantillon, se fait généralement par l'intermédiaire d'une biomolécule immobilisée qui transforme ce substrat en un produit détectable par le transducteur. Cependant parfois, pour des raisons de stabilité, la biomolécule doit être utilisée dans son environnement initial, et c'est alors la cellule ou le microorganisme tout entier qui sera immobilisé au niveau du biocapteur.

Le transducteur représente l'autre élément du biocapteur. Il sert à exploiter la modification biochimique du substrat par le biorécepteur pour la transformer en signal électrique. Dans le sens général, on peut dire que le transducteur assure la conversion d'un type d'énergie dans un autre. Suivant le type de modification biochimique, on choisira le type de transducteur approprié pour exploiter au mieux le travail assuré par le biorécepteur et obtenir un signal sensible, facilement exploitable et avec un minimum de bruit de fond. Un faible bruit de fond au niveau du transducteur assurera un seuil de détection plus bas et améliorera les performances du biocapteur [18].

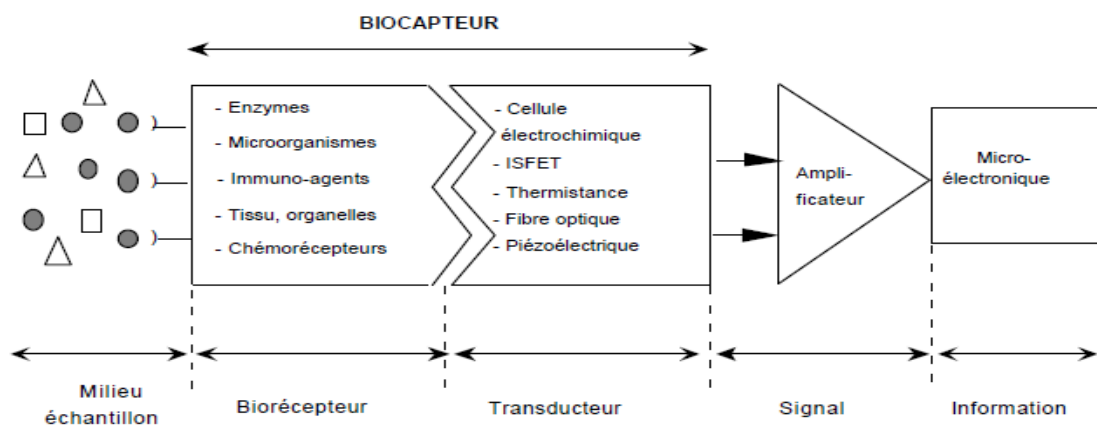


Figure 6 : Représentation schématique du principe de fonctionnement d'un biocapteur

II.1. Biorécepteur

II.1.2. Principaux biorécepteurs

Le choix du matériel biologique utilisé comme biorécepteur dépend de plusieurs critères, comme sa spécificité, sa stabilité et la nature des substances chimiques ou biologiques à analyser. On peut distinguer divers types de biocapteurs, classés en fonction de l'élément sensible mis en œuvre comme biorécepteur : les capteurs enzymatiques, les capteurs immunologiques, les capteurs à ADN et les capteurs cellulaires ou bactériens [19].

II.1.2.1. Les enzymes

Les enzymes sont des protéines qui catalysent des réactions biochimiques chez les êtres vivants. Il en existe différentes sortes dans les cellules. Comme toutes les protéines, les enzymes sont constituées d'acides aminés reliés par des liaisons peptidiques [20]. Chacune catalyse une réaction spécifique avec un substrat spécifique. Cela signifie qu'une enzyme peut se lier avec une molécule reconnue (substrat) parmi des milliers d'autres et la transformer toujours de manière

identique à une vitesse très élevée. Les enzymes peuvent être utilisées en dehors de leur organisme d'origine, dans des préparations *in vitro*.

Ces propriétés fondamentales les rendent aptes à être utilisées dans la fabrication des biocapteurs. Le capteur enzymatique permet de détecter un produit d'une réaction chimique catalysée par l'enzyme, comme dans le cas du premier biocapteur biomédical réalisé par Updike et Hicks [21], qui opère le dosage du glucose en suivant l'activité enzymatique de la glucose-oxydase. Ce principe de détection est aussi utilisé pour des capteurs environnementaux où l'activité enzymatique (comme le cas de l'uréase et la β -galactosidase) est inhibée en présence de métaux lourds qui prennent la place des métaux M^{2+} nécessaires pour leurs activités.

II.1.2.2. Les anticorps

Les anticorps sont des immunoglobulines, protéines circulantes du milieu intérieur constituées d'une partie constante et d'une partie variable. Ils sont des effecteurs de l'immunité acquise et agissent en se liant spécifiquement aux antigènes qui ont déclenché leur expansion.

Les anticorps sont utilisés comme biorécepteurs dans la conception des immunocapteurs. Leurs principaux avantages sont leur très grande sélectivité et spécificité vis-à-vis de l'agent à détecter [22].

II.1.2.3. L'ADN

L'ADN contient l'information génétique responsable de la transmission des caractères héréditaires au cours des générations. Il porte le code génétique nécessaire à la synthèse des protéines.

Cela traduit l'importance de l'usage des séquences d'ADN comme biorécepteur fondé sur le principe de la détection d'événements d'hybridation reflétant la connaissance entre deux séquences complémentaires et permettant notamment la détection des mutations génétiques [21]. Les biocapteurs à ADN sont les premiers à faire l'objet du système miniaturisé, sous l'appellation courante de biopuce. Pour l'analyse d'ADN, le volume nécessaire pour une réaction varie de quelques microlitres à quelques centaines de nanolitres.

II.1.2.4. Les micro-organismes

Les micro-organismes sont utilisés comme biorécepteurs, car ils présentent un grand nombre d'avantages. En effet, ils sont capables de métaboliser une grande variété de composés chimiques, ils peuvent s'adapter à un environnement défavorable et développer une capacité à dégrader de nouvelles molécules [22].

Les micro-organismes paraissent représenter une alternative à l'utilisation d'enzymes purifiées coûteuses qui manquent généralement de stabilité. En effet, la culture de ces organismes vivants est souvent simple et peu onéreuse. De plus, les enzymes produites dans la cellule se trouvent dans un environnement « naturel » favorable à leur stabilité. Ainsi, les biocapteurs à micro-organismes ont en général, des durées de vie plus longues que les biocapteurs enzymatiques.

De plus, les cellules entières sont susceptibles d'être affectées au niveau de leurs activités, et permettent de ce fait d'obtenir une réponse plus physiologique à un toxique en délivrant une information sur l'effet d'un stimulus extérieur sur un système vivant.

Des biocapteurs à microorganismes génétiquement modifiés ont été élaborés : des plasmides recombinants ont été introduits dans ces microorganismes afin de transférer le gène de la luciférase et permettre ainsi des mesures de luminescence. La présence de toxiques va diminuer la luminescence par inhibition du gène lux ou de ses promoteurs. Ces biorécepteurs sont notamment utilisés pour la détection de métaux lourds ou la surveillance de procédés de bioremédiation. Il est généralement admise que les micro-organismes sont plus sensibles aux métaux lourds que les plantes ou les animaux vivants dans les sols pollués [23].

II.1.2.5. Souche bactérienne

Les micro-organismes les plus utilisés pour la détection des toxiques sont les bactéries (Figure 7) qui représentent les plus simples des organismes se trouvant dans la plupart des environnements naturels. Elles sont, unicellulaires, procaryotes, Il à un diamètre d'environ 0,5 à 1,5 μm , est immobile et caractérisées par une absence de noyau et d'organites. Elles peuvent se présenter sous différentes formes : sphériques (coques), allongées ou en bâtonnets (bacilles), ou encore plus ou moins spiralées. Elles possèdent souvent une coque protectrice résistante, appelée paroi cellulaire, sous laquelle une membrane plasmique entoure un compartiment cytoplasmique unique contenant de l'ADN, de l'ARN, des protéines et des ribosomes.

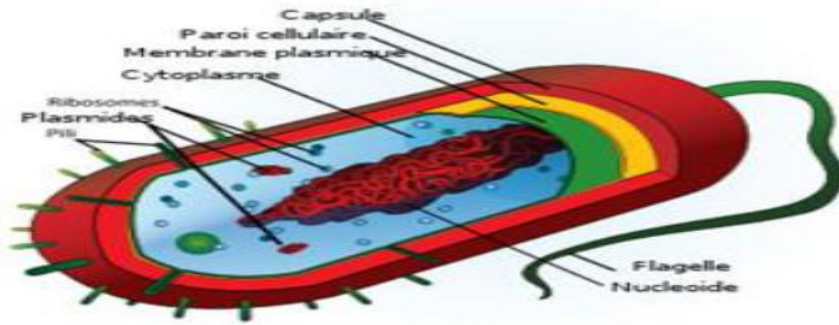


Figure 7 : Structure d'une cellule bactérienne

Dans ce travail nous avons utilisé la bactérie *staphylocoque* comme biorécepteur pour la détection du phénol, en particulier, les composés organiques possèdent des effets sur la structure tridimensionnelle des protéines ou sur l'intégrité de la membrane cellulaire, impliquant des modifications de la croissance, la morphologie et le métabolisme de ces micro-organismes [25].

II.1.2.5.1. Les qualités requises du biocapteur bactérien

Les effets des espèces ciblent sur le biocapteur bactérien retenu, doivent lui permettre de remplir un certain nombre de conditions, afin que le capteur puisse présenter les caractéristiques requises, notamment :

- stabilité : l'activité de la bactérie doit être maintenue pendant les mesures,
- sélectivité : la bactérie doit reconnaître un seul analyte défini,
- sensibilité : les concentrations faibles doivent être détectées.

II.1.2.5.2. Techniques d'immobilisation des bactéries

De plus, la fabrication des biocapteurs nécessite une immobilisation efficace de l'élément biologique, pour assurer la bonne détection du signal biochimique. Les bactéries peuvent être immobilisées par des méthodes physiques ou chimiques. Les procédés classiquement utilisés consistent à fixer les cellules sur un support par adsorption ou par liaison covalente, ou à les confiner dans une matrice par inclusion.

a. La liaison covalente

Cette technique d'immobilisation exige la présence de groupements fonctionnels sur la surface du transducteur tels que la fonction carboxylique (-COOH), la fonction amine (-NH₂), la fonction hydroxyle (-OH) ou la fonction thiol (-SH) [26].

b. Le confinement et l'inclusion dans un gel

La bactérie est confinée à l'intérieur du réseau tridimensionnel d'une matrice. La maille de la matrice assure de manière purement physique la rétention de la bactérie, cette technique est fréquemment utilisée [27,28]. Cette matrice peut être constituée d'un polymère plus ou moins rigide et synthétique (polyacrylamide par exemple) ou naturel (protéine comme la gélatine ou polysaccharide comme la cellulose, l'agar-agar ou les alginates). C'est à ce jour la seule technique qui ait un réel développement industriel.

c. L'adsorption et la technique « layer by layer »




L'adsorption est le procédé le plus anciennement étudié par lequel les cellules adhèrent à un support inerte par le biais d'interactions électrostatiques attractives.


Un exemple typique de ce type d'immobilisation est la méthode couche par couche (ou LbL pour « layer by layer »), qui permet la construction de films multicouches, typiquement par adsorptions successives de polyélectrolytes alternativement chargés positivement ou négativement. Cette technique constitue à elle seule, un secteur de recherche très convoité par sa simplicité et ses applications variées, notamment pour la fonctionnalisation de divers types de surface : or, ITO, verre, nanoparticules, etc. Ces multicouches sont très stables et se fixent sans agitation ni ultrason. Le rendement moyen après chaque cycle d'adsorption est élevé (95-98%), ce qui autorise l'adsorption d'un grand nombre de couches avec un taux d'agrégation réduit au minimum [29].

Le dépôt couche par couche peut être appliqué à de nombreux polyélectrolytes, comme le poly (styrène sulfonate) (PSS) et le poly (hydrochlorure d'allylamine) (PAH) que nous utiliserons, ou pour la fixation rapide et aisée de cellules eucaryotes ou procaryotes, sur le film formé par ces deux polyélectrolytes.

Le tableau 4 regroupe les principales méthodes d'immobilisation, et leurs avantages et inconvénients respectifs.

Tableau 4 : Avantages et inconvénients de techniques d'immobilisation des bactéries

Types d'immobilisation	adsorption	Confinement physique	Liaison covalente
Avantages	<ul style="list-style-type: none"> *Réutilisation possible de la matrice *Traitement peu dénaturant : pas de modification de l'élément biologique 	<ul style="list-style-type: none"> *Pas de modification chimique des cellules 	<ul style="list-style-type: none"> *Faible contrainte diffusionnelle *Liaison fortes entre l'élément biologique et le matrice *Résistance aux changements de pH et la force ionique
Inconvénients	<ul style="list-style-type: none"> *Fixation fragile te sensible à une variation de pH de la force ionique de la température ce qui pourrait provoquer la désorption de l'espace absorbé 	<ul style="list-style-type: none"> *Peu provoquer une déformation des cellules 	<ul style="list-style-type: none"> *Toxicité de molécules utilisées
Schéma représentatif			

 : Espèce chimique (polyélectrolytes, groupement thiol etc) ou biologique

II.2. Le transducteur

Les biocapteurs peuvent être regroupés selon le mode de transduction mis en jeu : optique, électrochimique ou piézoélectrique, notamment. Nous détaillerons plus particulièrement les capteurs électrochimiques, qui seront utilisés au cours de la suite.

II.2.1. Biocapteurs électrochimiques

Les biocapteurs électrochimiques ont pour principe l'immobilisation du biorécepteur sur l'électrode. L'addition d'un substrat provoque une réponse biochimique, transformée en un signal électrique pouvant être amplifié et mesurable. Les biocapteurs électrochimiques ont donc pour principaux avantages leur simplicité, leur coût de revient relativement faible et leur rapidité de réponse. En revanche, ils peuvent manquer de sélectivité. En effet, quand le potentiel appliqué est élevé, si

l'échantillon à analyser contient des substances électroactives contaminants ou des protéines, celles-ci vont avoir tendance à s'agglomérer sur l'électrode. Ces biocapteurs peuvent être ampérométriques, potentiométriques ou conductimétriques (figure 8).

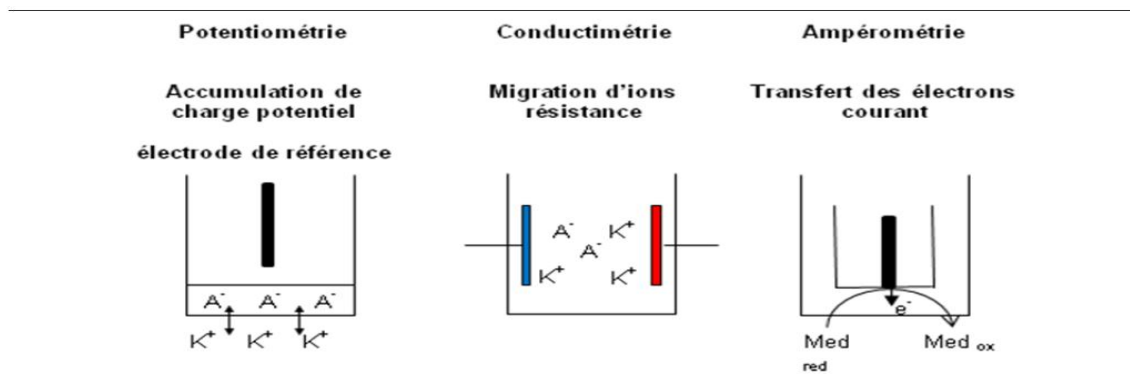


Figure 8 : Les différents types de détection électrochimique.

II.2.1.1. Biocapteurs potentiométriques

Les biocapteurs potentiométriques mesurent la différence de potentiel entre une électrode active et une électrode de référence [30]. Ils sont composés d'une membrane sensible à une espèce donnée. En mettant cette surface en contact avec l'espèce spécifique à celle-ci, un potentiel proportionnel au logarithme de la concentration est engendré. Ces biocapteurs mesurent généralement les variations de pH et de concentrations ioniques. Il existe deux modes d'utilisation de ces biocapteurs, soit on impose un courant dans le circuit, c'est la potentiométrie à courant imposé, soit on impose aucun courant, c'est la potentiométrie à courant nul.

De plus, ce type de biocapteurs présente l'avantage d'avoir un temps de réponse très court. Leur fabrication est abondamment développée dans le domaine industriel ce qui rend leur confection moins coûteuse.

II.2.1.2. Biocapteurs conductimétriques

Les biocapteurs conductimétriques [31] reposent sur le principe de modification de la conductance, G , d'un milieu par métabolisation d'espèces non chargées en espèces intermédiaires ou inversement. La conductance d'un corps est donnée par la relation ci-dessous :

$$G = \gamma \frac{S}{l}$$

S	surface de la section perpendiculaire à la direction du courant
l	longueur du corps
γ	conductance spécifique ou conductivité, caractéristique du corps

L'utilisation de ces biocapteurs se fait en courant alternatif, de préférence à fréquence élevée, afin d'éviter une polarisation des électrodes et toute électrolyse qui entraînera une modification de la résistance. Ils ont l'inconvénient de ne présenter aucune sélectivité intrinsèque, donc une bonne connaissance de la composition du milieu est indispensable.

II.2.1.3. Biocapteurs ampérométriques

Les biocapteurs ampérométriques [32-33] font partie des dispositifs les plus répandus et les plus commercialisés. Ces biocapteurs ont une place particulière dans ce domaine puisque la biotechnologie analytique a débuté par eux suite aux travaux de Clark en 1956. Par la suite, un grand nombre de travaux ont été réalisés par différentes équipes. Ces dispositifs reposent sur la mesure du courant produit lors d'une réaction chimique. De ce fait, ce type de capteur nécessite un biorécepteur qui consomme ou produit une espèce électroactive. La détection d'un substrat en solution est alors réalisée *via* l'oxydation ou la réduction de cette espèce directement à la surface de l'électrode (potentiel constant et enregistrement de l'intensité).

On distingue trois groupes de biocapteurs ampérométriques : les biocapteurs ampérométriques sans médiateur, avec médiateur et à transfert électronique direct (figure 9).

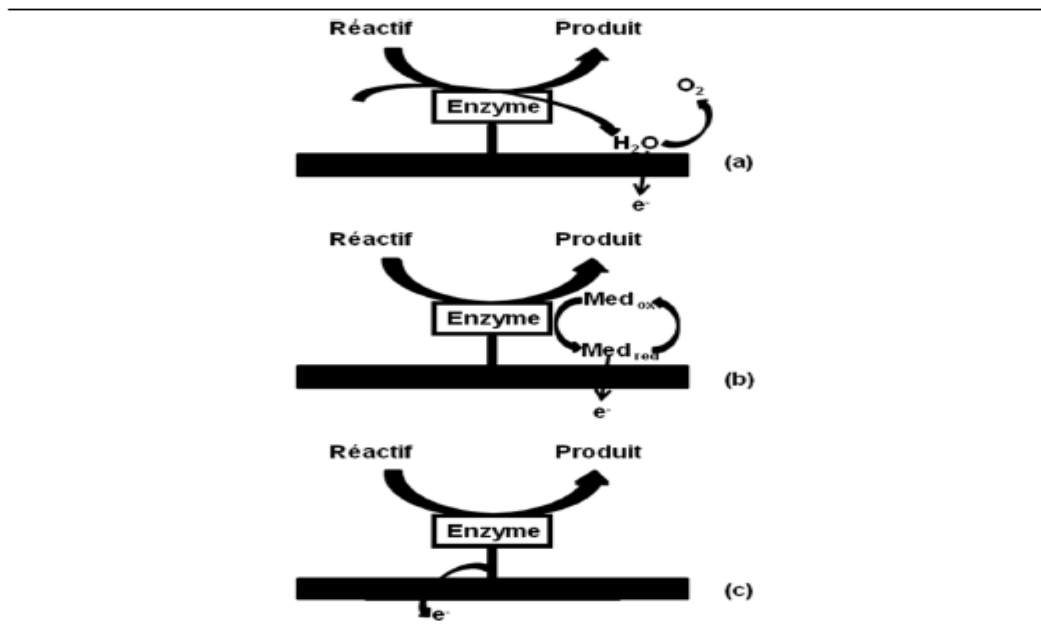


Figure 9 : Principe de fonctionnement des trois types de biocapteurs ampérométriques : (a) sans médiateur, (b) avec médiateur, (c) avec transfert direct.

Le principe du premier groupe de biocapteurs ampérométriques repose sur une détection indirecte de l'espèce cible. En effet, le courant d'oxydation (ou de réduction) enregistré à l'électrode sera dû à l'oxydation (ou la réduction) d'une espèce électroactive résultante de la réaction enzymatique. Dans le cas des biocapteurs ampérométriques du second groupe, une molécule, appelée médiateur, sera utilisée. C'est ce médiateur qui réagira à l'électrode pour donner soit un courant d'oxydation, soit un courant de réduction. De plus, il présente l'avantage d'abaisser le potentiel de détection et de faciliter le transfert des électrons. Enfin, le troisième groupe est basé sur le transfert direct des électrons entre le site actif de l'enzyme et l'électrode.

III. Immobilisation des bactéries dans des films de polymères

III.1. Généralités

L'utilisation des films électropolymérisés appliqués à l'immobilisation biorécepteurs tels qu'une enzyme, par exemple l'uréase [34,35] et des cellules procaryotes comme l'*Escherichia coli* par des polymères cationiques [36]. S'est énormément développée dans les dernières années et a fait l'objet de nombreuses revues [37-38]. La polymérisation électrochimique est un moyen simple et rapide pour l'immobilisation des bactéries sa la surface d'une électrode [36]. L'électropolymérisation est conduite à partir d'une solution contenant les monomères et bactérie

et permet le dépôt d'un biofilm à la surface de l'électrode. La solution est de préférence aqueuse et à pH neutre pour préserver le composant biologique incorporé dans le polymère au cours de son immobilisation.

L'électropolymérisation peut être contrôlée par le potentiel appliqué à l'électrode, ce qui permet de maîtriser l'épaisseur et la quantité des bactéries greffée sur la surface active de l'électrode.

Dans le cadre de ce travail, nous nous sommes particulièrement intéressés aux films de polycaprolactone comme matrice de polymère électrogénéré, le ϵ -caprolactone dont la structure du monomère est donnée sur la figure 10, pour améliorer la nature et la configuration du film déposé (homogénéité, épaisseur, etc.) de manière à obtenir une immobilisation de notre bactérie la plus efficace possible et d'augmenter par la suite la sensibilité du capteur et sa durée de vie.

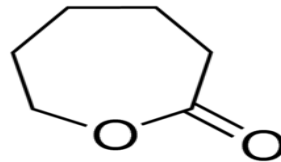
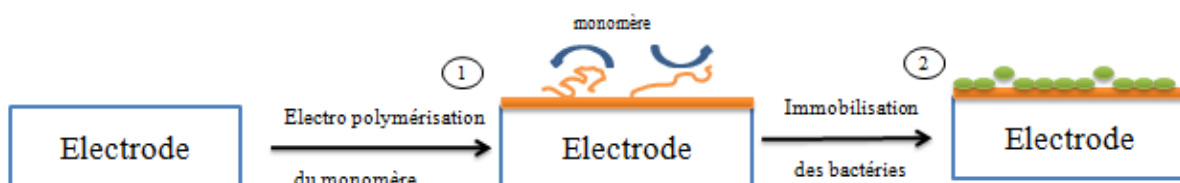


Figure 10 : Représentation du monomère ϵ -caprolactone

III.2. Immobilisation des bactéries dans des films polymères électrogénérés

L'immobilisation des bactéries sa la surface d'une électrode par immobilisation dans un film électrogénéré (figure 11) présente l'avantage d'être simple à mettre en œuvre et rapide. De nombreuses études ont montré que l'épaisseur du film et la quantité des bactéries immobilisée peuvent être contrôlées grâce au potentiel appliqué. Un autre atout de cette technique est qu'elle permet la mise au point de structures multicouches.

En général, l'électropolymérisation consiste en l'application d'un potentiel approprié à une électrode plongée dans une solution qui contient un monomère polymérisable et la bactérie. La polycaprolactone est choisie à cause de la stabilité des films de polycaprolactone à température ambiante et de leur préparation possible à partir de solutions aqueuses [38].



Etape 1 : dépôt de monomère assisté par électrochimie

Etape 2 : Immobilisation des bactéries sur l'électrode

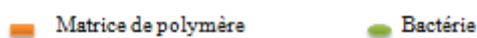


Figure11 : Mécanisme d'immobilisation de bactérie dans un film de polymère assistée par électrochimie.

III.3. Polymères

On peut diviser les polymères utilisés pour l'immobilisation des biomolécules par encapsulation en deux classes : les polymères conducteurs électroniques ou métaux synthétiques et les polymères non conducteurs.

III.2.1. Polymères non conducteurs

Les travaux relatifs à l'utilisation de ces polymères sont moins nombreux que ceux concernant les polymères conducteurs. On peut néanmoins citer plusieurs exemples de films non conducteurs électroniques comme le poly(phénol) [40-41] (figure 12), le poly(pyrrole) suroxydé [42] ou encore le polyphénylènediamine [43-44]. Leur utilisation se justifie principalement par le fait que les produits obtenus peuvent avoir une incidence sur les propriétés des films conducteurs, notamment sur la conductivité. En effet, la conductivité du polypyrrole, par exemple, est affectée par la présence du peroxyde d'hydrogène pouvant être produit lors de la réaction enzymatique comme l'a démontré Bélanger et son équipe [45]. Ces films permettent donc notamment de réduire les interférences électrochimiques [46].

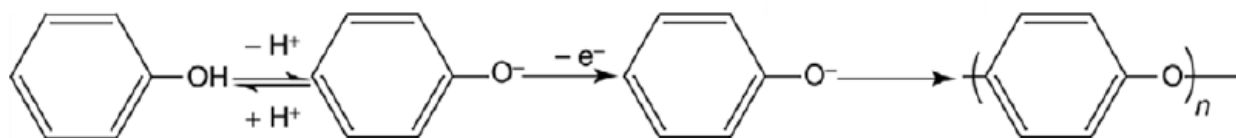


Figure 12 : Mécanisme de polymérisation du phénol

Ces films sont donc utilisés uniquement pour leurs propriétés physiques (rétention de la biomolécule et perméabilité sélective [47]). Du fait de leur propriété isolante, l'épaisseur de ces films

doit être très faible (10 à 100 nm) ce qui permet de limiter en outre les impératifs dus à la diffusion des substrats et des produits liés à la catalyse enzymatique.

III.2.2. Polymères conducteurs

L'utilisation de films polymères conducteurs s'explique par leur capacité d'augmenter la sensibilité et la rapidité des électrodes. Ces polymères sont ceux qui ont fait l'objet du plus grand nombre de travaux, notamment ceux concernant le poly(pyrrole) (figure 12) et ses dérivés [48-49]. On peut néanmoins citer également d'autres types de polymères utilisés ces dernières années comme la poly(aniline) [50-51] et le poly(thiophène) [52-53] (figure 13).

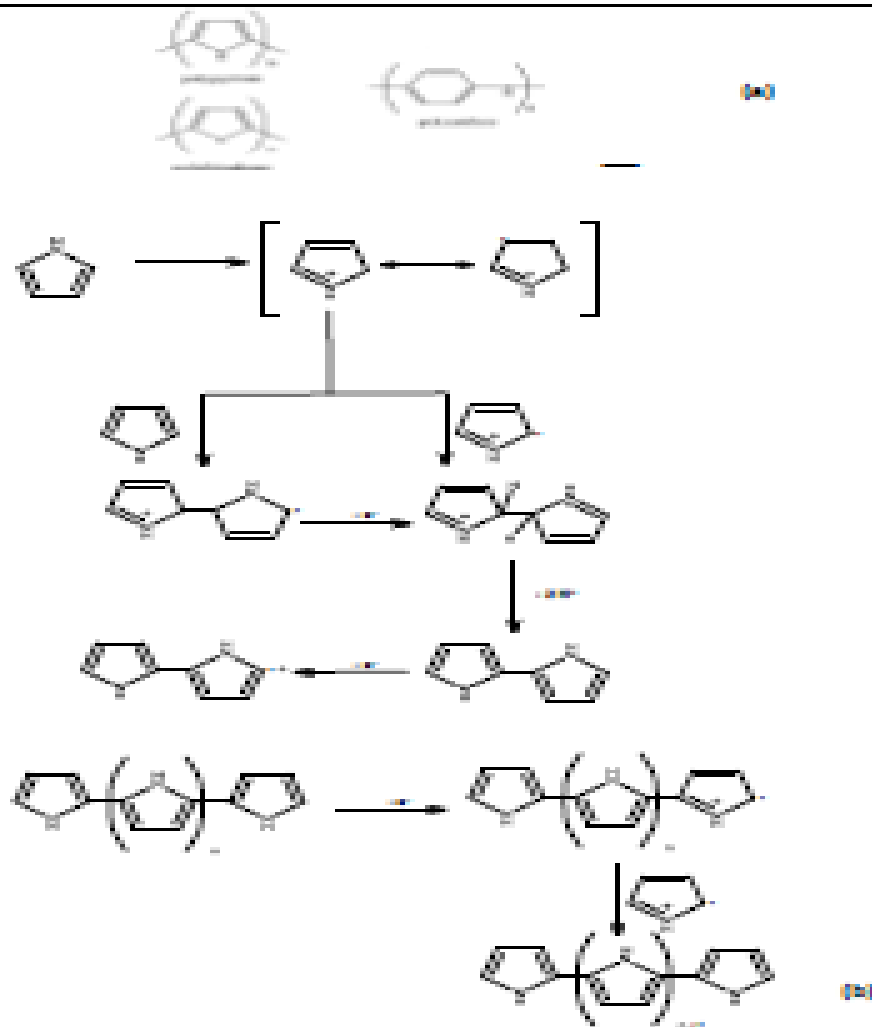


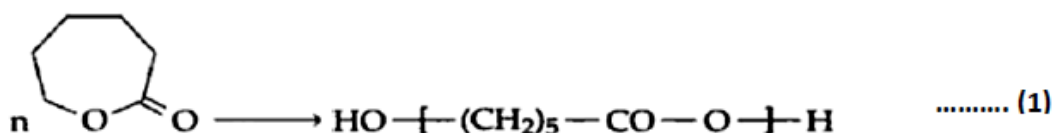
Figure 13 :(a) Structure de films polymères électrogénérés utilisés pour l'immobilisation de biomolécules. (b) Mécanisme d'électropolymérisation du pyrrole.

Ces films, qui servent à la rétention de la biomolécule, présentent la capacité de passer de leur état oxydé à leur état réduit et inversement sous l'application d'un potentiel donné. Cette propriété peut permettre notamment le transfert direct des électrons entre le site actif de la biomolécule et le polymère si son potentiel est adapté. Il est possible de s'affranchir de l'utilisation du médiateur dans certains cas. Ainsi le polyneutral red joue le rôle de médiateur pour le glucose oxydase [53].

III.2.2.1. Polycaprolactone

III.2.2.1.1. Définition

La polycaprolactone est un polyester aliphatique synthétique, hydrophobe et biodégradable. C'est un polymère semi-cristallin, non toxique, obtenu par polymérisation d'ouverture de cycle du monomère ϵ -caprolactone [54, 55].



ϵ - caprolactone

poly (ϵ -caprolactone)

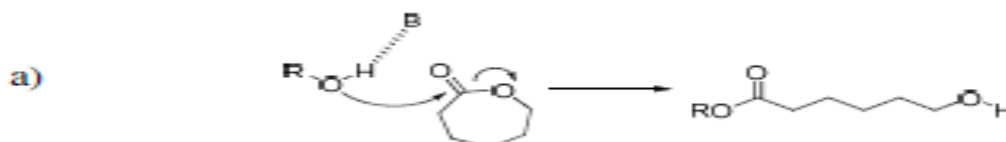
De nombreux catalyseurs et systèmes catalytiques ont été évalués en polymérisation par ouverture de cycle. On peut les classer en quatre grandes catégories se distinguant par leur mode d'action : basique, nucléophile, bifonctionnel et acide.

✓ Voies nucléophile et basique

Les catalyseurs basiques et nucléophiles ont connu un essor remarquable ces dernières années en se montrant très actifs pour la ROP du lactide et sont utilisés en complément d'un amorceur protique, le plus souvent un alcool.

Le mode d'activation mis en jeu diffère entre ces deux classes et peut être :

- basique : activation de l'amorceur protonique (figure. 14)



- nucléophile : activation du monomère

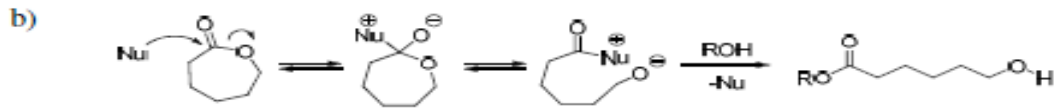


Figure 14 : Mode d'action et mécanisme d'ouverture de cycle avec des catalyseurs a) basiques et b) nucléophiles

III.2.2.1.2. Polymérisation par voie électrochimique

La synthèse électrochimique lorsqu'elle est réalisable, conduit généralement à des films de polymère à la surface de l'électrode. Les réactions ont lieu généralement sur des électrodes d'or, platine et de carbone vitreux. Les films de polymère ainsi obtenus par électropolymérisation sont des films dont les propriétés et la structure sont mieux définies et contrôlées. En effet, cette technique présente les avantages suivants [56] :

- Relative facilité de mise en œuvre ;
- Obtention de films d'épaisseur et de structure contrôlées et reproductibles ;
- Réactions secondaires minimales.

Cependant l'une des propriétés intéressantes de l' ϵ -CL est d'avoir un constant diélectrique élevé. C'est un solvant capable de dissoudre un électrolyte. Il va donc servir de monomère et de milieu de polymérisation [57].

Dans ce cadre, des études réalisées montrent que l' ϵ -CL peut être polymérisé en absence de solvant et en présence de divers matériaux d'anode Al, Hg, Cr, et V et divers anions de sels supports ClO qui ont été testés à température ambiante (20°C) (figure. 15).

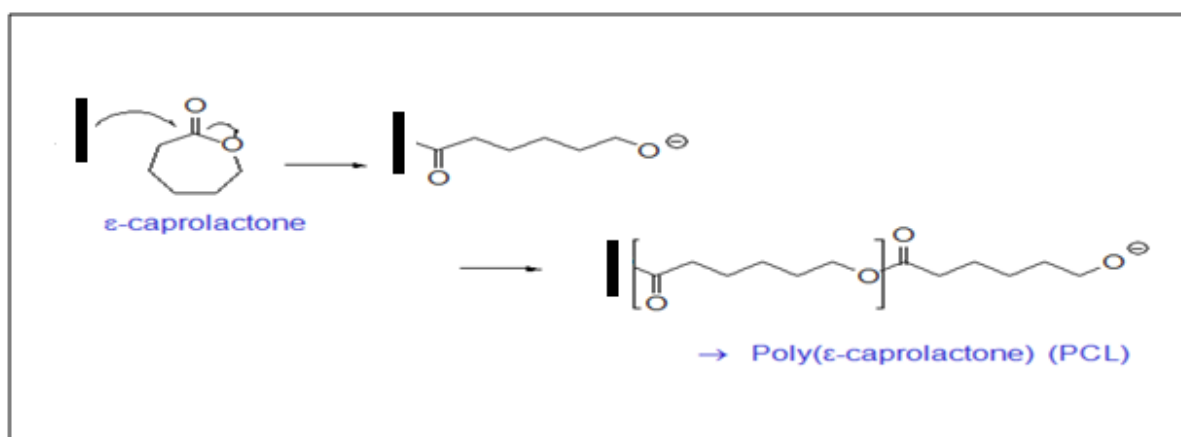


Figure 15 : Mécanisme d'électro polymérisation du monomère de ϵ -caprolactone.

Dans ce travail nous avons utilisé les films de polymère de polycaprolactone comme médiateur, le polycaprolactone est un candidat potentiel pour l'élaboration de bioélectrodes. Les films de polycaprolactone ont par exemple été utilisés en tant que médiateur pour la construction de biocapteurs pour l'immobilisation des bactéries.

IV. Etude de la communication bioélectrochimique entre les bactéries et la surface d'électrode

Les bactéries ou les microorganismes redox ont fourni la force motrice pour le développement des systèmes bio-électrochimiques tels que les bioréacteurs électrochimiques, les biocapteurs et les cellules de biocarburants. Le critère clé dans les dispositifs bio-électrochimiques est la communication électrochimique (EC) entre ces biomolécules / cellules et une surface d'électrode [58, 59].

En cas de bactéries, la CE entre ses enzymes intracellulaires et la surface de l'électrode devrait se produire via le transfert d'électrons extracellulaires (EET) [60, 61]. L'EET est un mécanisme catalytique de substrats organiques avec différentes enzymes intracellulaires (respiration ou fermentation pour les espèces aérobies et anaérobies, respectivement). Les électrons produits à partir de la respiration microbienne à la chaîne microbienne et transportés à travers l'espace périplasmique et la paroi cellulaire vers l'accepteur d'électrons externe (c'est-à-dire l'électrode). Les électrodes peuvent servir soit comme électrons.

Cette stratégie est cependant limitée, car les produits de fermentations interagissent faiblement avec les électrodes. Des études ultérieures montrent qu'il est possible de faire interagir directement les bactéries avec les électrodes : le modèle actuellement utilisé pour les MFC (les piles à combustible microbienne). Ces études montrent que la bactérie peut considérer l'électrode comme un donneur (cathode) ou un accepteur (anode) d'électrons externes et transférer les électrons vers la cathode pour la production d'un courant [62].

Les MFC peuvent être développés dans de nombreux domaines comme la bioremédiation ou l'analyse de polluants par biocapteurs, mais aussi dans la recherche fondamentale afin de mieux cerner le phénomène de transfert extracellulaire d'électrons. L'intensité du signal électrique est proposée comme outils pour déterminer une pollution dans un milieu, car le métabolisme des bactéries en présence du polluant influence la production de courant [63].

Une voie de transfert d'électrons est généralement divisée en 2 catégories :

1) Transfert d'électrons direct (TED).

2) Transfert d'électrons indirect (TEI).

IV.1 Mécanismes de transfert d'électrons indirect

Le transfert indirect d'électrons entre un micro-organisme et la surface d'une électrode peut avoir lieu via des médiateurs électrochimiques (exogènes ou endogènes) (figure. 16) ou par l'intermédiaire d'un produit issu du métabolisme bactérien qui s'oxyde sur la surface de l'électrode.

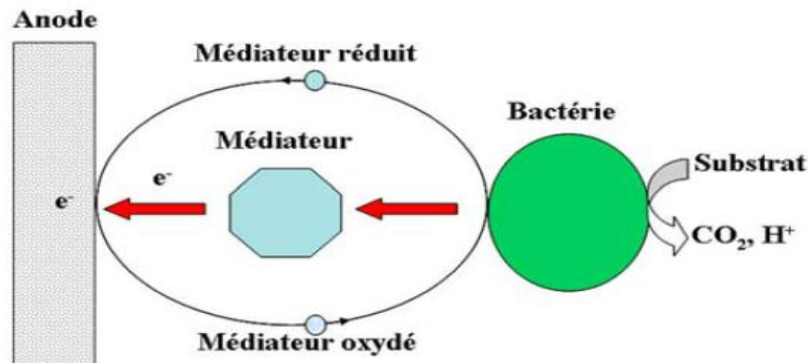


Figure 16 : Schéma du mécanisme indirect de transfert d'électrons mettant en jeu un médiateur électrochimique.

IV.1.1. Production de médiateurs

Certaines bactéries sont capables d'utiliser leurs propres médiateurs pour assurer le transfert d'électrons vers l'électrode. La cellule produit une molécule qu'elle réduit et qui peut ensuite être oxydée au contact de l'électrode. Cette molécule peut de nouveau être réduite par la bactérie, assurant ainsi le transport d'électrons entre la cellule et l'électrode (figure 17).

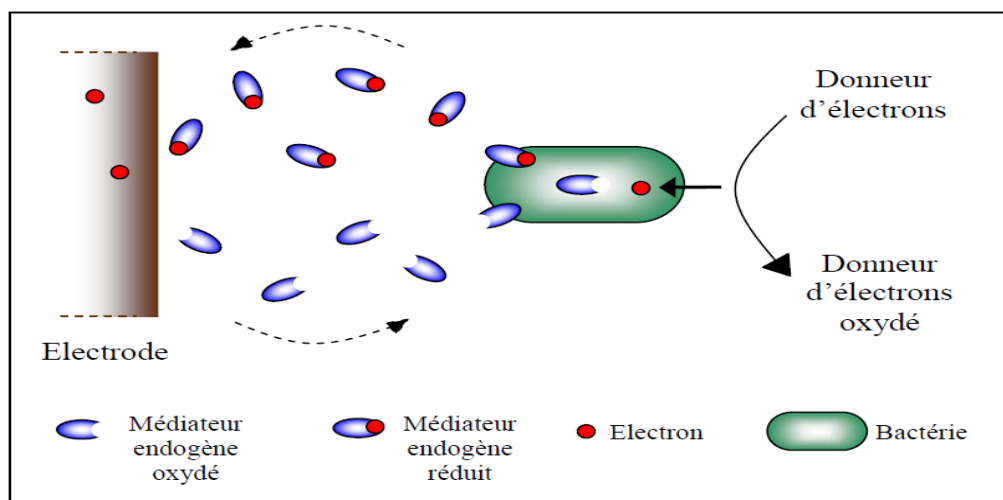


Figure 17: Représentation schématique du mécanisme de transfert d'électrons entre une bactérie et une électrode via des médiateurs endogènes.

Exemple de *Shewanella oneidensis*, des chercheurs ont montré l'implication de molécules électroactives d'origine bactérienne, présentes dans le biofilm, dans le transfert d'électrons entre cette bactérie et une électrode [65]. Il s'agit de riboflavine (figure 18) et de riboflavine-5'-phosphate. Enlever ces molécules du biofilm entraîne une réduction du taux de transfert d'électrons de plus de 70%.

Ils ont également démontré qu'il restait une couche de flavines adsorbées à l'électrode même après avoir enlevé les molécules surnageantes. De plus, parmi les cellules participant à la génération de courant dans une pile à combustible microbienne à *S. oneidensis*, un grand nombre est sous forme planctonique, ce qui confirme l'implication de médiateurs solubles [66].

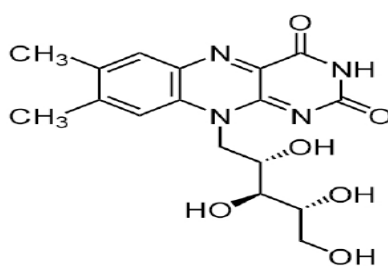


Figure 18 : Formule semi-développée de la molécule de riboflavine

IV.1.2. Transfert indirect d'électrons par les médiateurs électrochimiques artificiels

Depuis plus d'une quinzaine d'années, la production de courant par des microorganismes via des médiateurs exogènes est bien connue. Dans de tels systèmes, le transfert d'électrons entre la bactérie et l'électrode est facilité par l'ajout d'une molécule supplémentaire capable d'assurer le

cycle de redox (c'est-à-dire la navette d'électrons ou le médiateur). Le médiateur artificiel Redox peut améliorer le transfert des électrons entre les sites actifs enzymatiques / les membranes des cellules microbiennes et la surface de l'électrode. De nombreux composés ont été testés avec plusieurs micro-organismes. En voici quelques exemples : le ferricyanure de potassium, l'acide 2,6-disulfonique d'antraquinone, le sepulchrate de cobalt [66], la thionine [67], le rouge neutre.

Les médiateurs polymères ont gagné une attention significative dans le domaine du câblage électrique, en particulier avec le polymère d'osmium flexible qui a été fixé de manière stable sur la surface de l'électrode [68, 69]. Ils peuvent filer efficacement différentes bactéries gram-négatives en raison de leur La charge cationique et la flexibilité [70, 68, 69]. La modification de l'électrode à l'osmium Polymère pour le câblage des bactéries a été décrit soit en utilisant des polymères organiques en présence de glutaraldéhyde comme réticulant [71, 68, 69], soit en réalisant un polymère pour améliorer l'ET avec la surface de l'électrode [72]. Jusqu'à présent, le cytochrome c n'a pas été utilisé pour le câblage des bactéries en tant que médiateur artificiel (figure 19). Un travail limité a été fait pour l'étude de la communication électrochimique des bactéries piégées dans des matériaux sol-gel [73, 74].

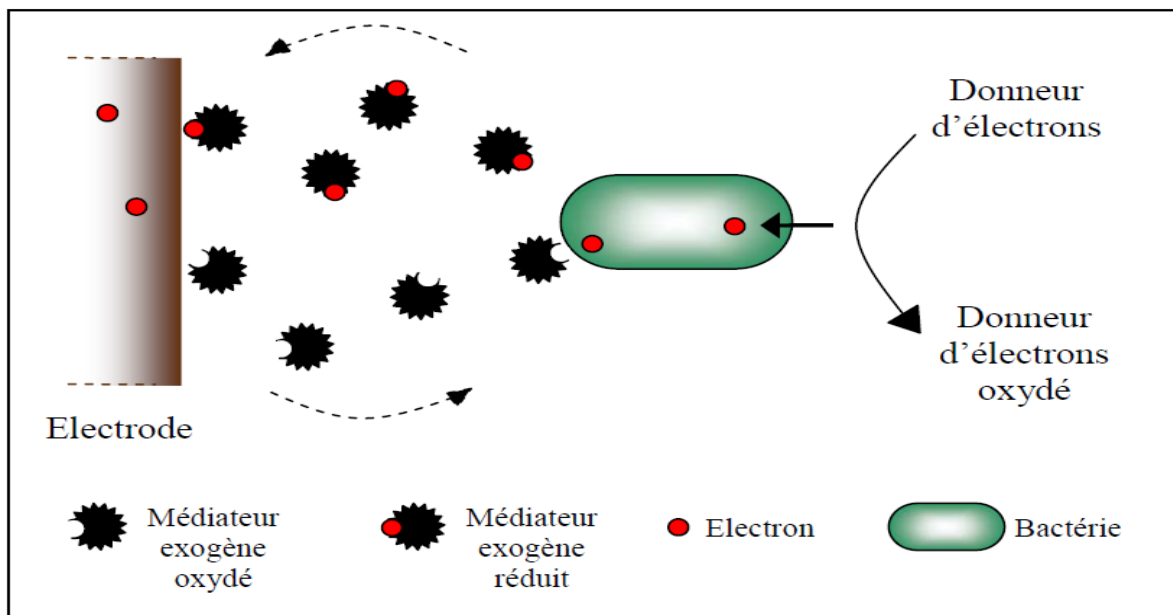


Figure 19 : Représentation schématique du mécanisme de transfert d'électrons indirect entre une bactérie et une électrode via des médiateurs exogènes.

IV.2.Mécanisme de transfert direct des 'électrons entre les bactéries et l'électrode

L'année 2002 fut une année révolutionnaire dans le domaine de PACMs. Cette année-là, l'Université du Massachusetts mettait en évidence que certains microorganismes étaient capables

d'échanger directement des électrons avec une électrode. En fait, Kim *et al.* 1999 avait déjà fait cette démonstration avec des bactéries planctoniques sans que leur article ait eu le même impact [75]. Ce transfert direct d'électrons entre la bactérie et l'électrode se fait par contact direct entre la membrane externe de la bactérie et la surface de l'électrode [76]. L'échange d'électrons est assuré par des protéines membranaires, les cytochromes de type *c*. Un autre mécanisme découvert beaucoup plus récemment est l'utilisation de pili conducteurs.

IV.2.1. Contact direct avec des protéines membranaires

Les protéines membranaires nécessitent un contact direct entre la surface de la bactérie et l'électrode. Ces protéines sont capables d'assurer de manière directe le transfert d'électrons entre la bactérie et l'électrode (figure 20).

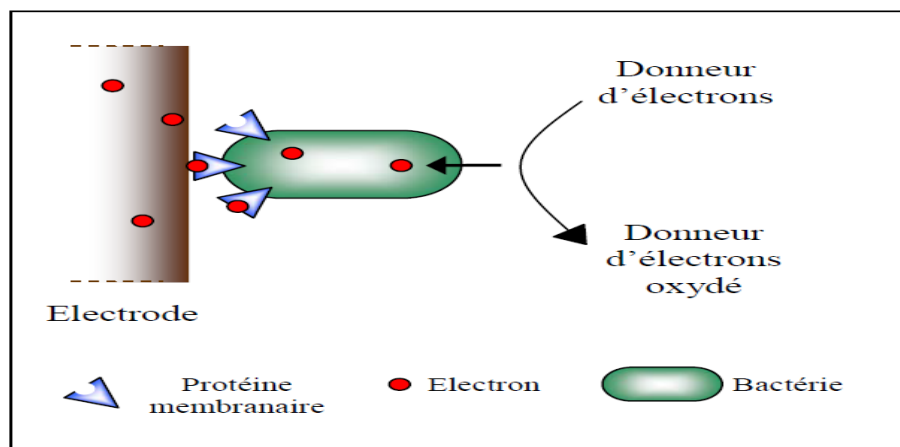


Figure 20 : Représentation schématique du mécanisme de transfert d'électrons direct entre une bactérie et une électrode via des protéines membranaires.

Les protéines les plus souvent mises en cause dans ce transfert par contact sont les cytochromes. Ces protéines contiennent des groupements prosthétiques (non protéiques) constitués d'un noyau porphyrine contenant du fer. Les cytochromes s'oxydent et se réduisent en perdant ou en gagnant un seul électron provenant de l'atome de fer situé dans l'hème. Ces protéines sont situées dans la membrane cytoplasmique des bactéries et font partie de la chaîne de respiration.

IV.2.2. Contact direct avec Pili conducteurs

Plus récemment, en 2005, un nouveau mécanisme de transfert direct a été décrit. Ce nouveau type de transfert aurait lieu via des connexions conductrices extracellulaires appelées

"Pili conducteurs" ou encore en anglais "Nanowires" (figure. 21) [77]. Certaines bactéries ont leur surface recouverte d'appendices appelés pili impliqués dans plusieurs processus : mobilité, formation du biofilm, chimiotactisme, conjugaison... Il a été montré pour certaines bactéries électroactives que ces pili pouvaient conduire le courant électrique et étaient nécessaires au transfert d'électrons entre les cellules et les électrodes. De tels appendices présentent des avantages évidents pour la bactérie [78]. Tout d'abord, celui de faciliter le transfert d'électrons puisqu'il n'y a plus forcément besoin de contact direct avec la surface de la bactérie ; on peut même imaginer que ces « nanofils électriques » permettent d'atteindre des zones inaccessibles à la cellule elle-même. Enfin, leur implication permet d'augmenter considérablement la surface active.

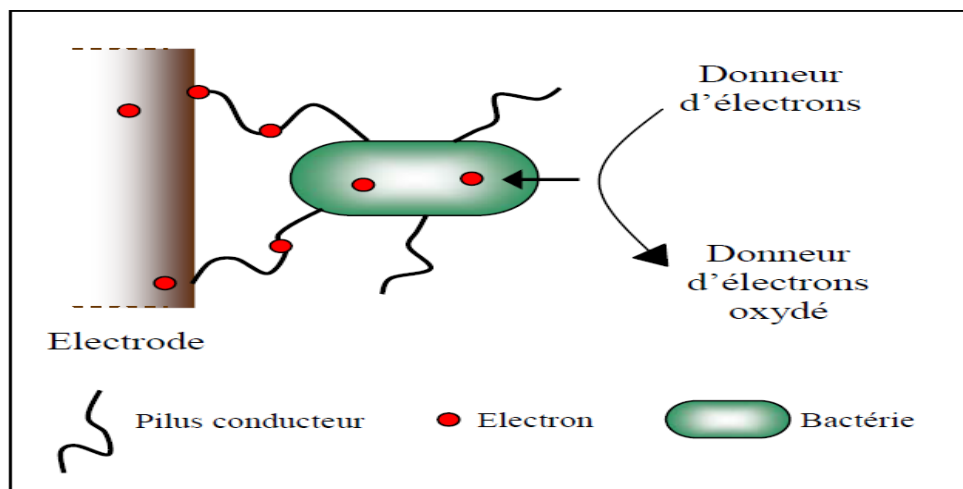


Figure 21 : Représentation des mécanismes de transfert d'électrons direct via les pili.

Parmi les bactéries très connues dans le monde de l'électroactivité microbienne se trouve *S. oneidensis*. Cette bactérie possède des appendices semblables à des pili capables de conduire l'électricité. En allant plus loin dans l'étude du mécanisme, les chercheurs ont pu montrer que les cytochromes MtrC et OmcA, déjà connus pour être impliqués dans le transfert d'électrons entre la bactérie et une électrode, étaient indispensables à la production des nanofils conducteurs. Ces appendices électriquement conducteurs ont été mis en évidence chez d'autres micro-organismes sans lien direct avec la réduction de métaux, par exemple, chez la cyanobactérie *Synechocystis*. Chez *Pelotomaculum thermopropionicum* ils semblent même servir de connexions électriques entre la bactérie et *Methanothermobacter thermoautotrophicus* [79]. De telles découvertes tendent à montrer que les nanofils ne sont pas spécifiques des bactéries métalloréductrices et qu'ils peuvent participer à des transferts d'électrons de diverses natures tels que le transfert entre espèces bactériennes.

IV. 3. Electroactivité du biofilm artificiel

Le biocapteur, pour être efficace, nécessite ensuite une technique de transduction rapide. Les plus connues sont les techniques optiques et les techniques électrochimiques. Les capteurs optiques sont très populaires du fait de leur très bonne sélectivité et sensibilité.

Les techniques électrochimiques sont principalement basées sur l'observation de modifications de courant ou de potentiel dues aux interactions à la surface du support. Les méthodes ampérométriques, qui sont les plus communes, consistent à fixer le potentiel du capteur à une valeur pour laquelle le micro-organisme à immobiliser produit directement ou indirectement (ajout de médiateur) un courant.

La voltampérométrie cyclique est une technique permettant d'obtenir de nombreuses indications en analyse électrochimique. Dans notre cas, elle permet de déterminer le potentiel d'oxydation des espèces redox impliquées dans les transferts électroniques entre les bactéries et l'électrode collectrice. Il est ainsi possible de déterminer le potentiel devant être appliqué dans les expériences d'ampérométrie. D'autres techniques comme la potentiométrie, la conductimétrie et les méthodes par mesure d'impédance [81] sont également des stratégies intéressantes, mais plus complexes à mettre en œuvre.

V. Conversion des substances chimiques par voie électrochimique

V.1. Electrodes 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 [82-83]. Depuis l'électropolymérisation du pyrrole par Diaz et ses collaborateurs [84], les électrodes modifiées ont

été essayées dans des domaines d'applications divers : photosensibilisation, électrochromisme, anticorrosion [85], batterie et accumulateur de faible poids, et également électrocatalyse [86,87]. 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 [88] désigne toute électrode à la surface de laquelle une espèce chimique aux propriétés spécifiques (groupe redox, catalyseur, complexant, adsorbant ...) a été délibérément fixée. Les premiers dans ce domaine ont été Lane et Hubbard [89] 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 électrochimique. 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 [90,91]. 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 [92,93].

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 voltamétrie que 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.

V.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.

V.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.* [94] qui ont étudié la liaison de l'ion cobalt (Co^{2+}) par une fonction amide à la surface d'une électrode de carbone vitreux.

V.1.1.2. Modification par adsorption

Cette stratégie a été adoptée par plusieurs auteurs [95-96]. 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 Wals, 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, cas de la 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

L'adsorption chimique 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.

V.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 1982 [97]. En 1979, Lanouette et ses collaborateurs [98] décrivent une électropolymérisation du pyrrole dans l'acétonitrile. Puis, d'autres polymères ont pu être obtenus par voie électrochimique : polyzulène, polythiophène, polyindole [99], polycarbazole [100], polyfluorènes [101].

Les premières électrodes modifiées par des complexes possédant un groupement électropolymérisable ont été décrites par Meyer et ses collaborateurs [102].

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 [103-104] et porphyrines [105,106].

La modification d'une surface d'or par des polymères a suscité beaucoup d'intérêt depuis la première publication de Nuzzo et *al.* [107]. Elle apparaît comme une bonne approche pour l'accumulation des espèces cibles par complexations. 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.* [108,109] 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, par exemple des sites redox ou chélateurs [110,111].

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...) [112-113]. 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 [114]. 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 [115,116].

Svancara et *al.* [117] 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.

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 [181-186] ou par des électrodes de diamant dopé au bore [118-119].

En fait, la conversion et/ou l'incinération d'une variété large de composés aromatiques peuvent 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'IrO₂ et RuO₂, SnO₂, PbO₂) [120,121-122].

V.1.2. Modification directe : les électrodes à pâte de carbone

Les électrodes à pâte de carbone 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 [123]. 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 ensuite 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 [124,125] 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 [126,198] et la silice [127], dissolution directe de molécules complexantes [128] dans le liant ou fixation de ces molécules sur un solide...

En 1964 Kuwana *et al.* [129,130] ont modifié l'électrode à pâte de carbone par dissolution de composés organiques électroactifs tels que l'antraquinone ou le 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 [131,132]. 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 [135].

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.

V.1.2.1. 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 [136]. Le rapport liant-carbone est déterminé selon la consistance et les propriétés désirées de la pâte. Généralement ces rapports sont de 18ml 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-électrolyte 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 [137].

Yao *et al.* [138] ont appliqué la méthode décrite par Kuwana [139] en dissolvant directement dans le liant, paraffine, un aldéhyde 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.

V.1.2.2. 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.

V.2. Application des électrodes modifiées

V.2.1. Electrodes métalliques

Les électrodes métalliques se répartissent en électrodes métalliques pures faites d'un seul métal et en électrodes à plusieurs constituants. Dans les électrodes métalliques, on rencontre des poudres métalliques, des fils, des feuilles, des films évaporés ou des métaux colloïdaux. Dans les électrodes à plusieurs constituants, 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 [140,141] en raison de leurs excellentes propriétés électriques et mécaniques. Ces électrodes sont très sensibles à des phénomènes d'adsorption. L'electrooxydation des molécules organiques est affectée par la nature et la structure des substrats [142,143].

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 joue un rôle catalytique. Il peut encore être additionné de certaines substances qui améliorent son activité. Enfin, 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 [144].

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. Quelle que 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.

V.2.2. Electrodes 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 [145]. Le film d'oxyde peut être préparé par oxydation ménagée et contrôlée du métal.

VI. Généralités sur les argiles et les phosphates naturels

VI.1 Argiles

VI.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 [146], 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, 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 amenés à entreprendre une étude des matériaux argileux camerounais, en vue de leur éventuelle utilisation scientifique ou technologique.

VI.1.2 Utilisation des argiles

Les argiles sont utilisées par l'homme depuis la nuit des temps [147]. 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 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. Un certain nombre de travaux ont déjà été effectués sur des matériaux argileux camerounais à base de kaolinite, d'illite, de palygorskite, de smectite, ou de talc. Ils ont concerné l'étude des caractéristiques physico-chimiques et des propriétés catalytiques. [148,149].

VI.2 Phosphates naturels

VI.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.

Notre travail 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.

VI.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. [150-151].

VIII. Conclusion

Les biocapteurs, notamment les capteurs électrochimiques, offrent une alternative très intéressante aux méthodes classiques de détection, en particulier grâce au gain de temps qu'ils représentent. Certains biocapteurs sont même directement implantables, par exemple dans des réseaux d'eau, et permettent la détection de contamination organique et inorganique. Cependant, ces derniers sont peu sélectifs puisqu'ils détectent tout encrassement de l'électrode, qu'il soit biologique ou minéral. En plus de ce type d'interactions en solution plus complexe, contenant plusieurs polluants, ou même des effluents réels n'a quasiment pas été abordé. Afin de compléter ces recherches, nous avons préparé et caractérisé des capteurs électrochimiques et biocapteurs à base de bactérie / bactérie – polymère, carbone graphite, de phosphate naturel et de l'argile pour la détection du phénol comme des molécules organiques. Nous nous sommes attardés à suivre l'évolution des performances de ces biocapteurs électrochimiques et à les relier à leurs propriétés physico-chimiques.

Références

- [1] Weiss, E. (2006). Etude cinétique de la dégradation électrochimique de composés organiques sur l'anode de diamant dope au bore: Application à la dépollution d'effluents aqueux (Doctoral dissertation, Université Paul Sabatier-Toulouse III)
- [2] Ayral, C., Lebigue, C. J., Stüber, F., Wilhelm, A. M., & Delmas, H. (2010). Catalytic wet air oxidation of phenolic compounds and mixtures over activated Carbon: Conversion, mineralization, and catalyst stability. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 49(21), 10707-10714.
- [3] El Mhammedi, M. A. (2008). Electrodes modifiées par les apatites phosphocalciques et le kaolin pour l'électroanalyse des herbicides et métaux lourds: Application aux eaux naturelles du bassin Oum Rbia
- [4] Thomazeau, R. (1981). Stations d'épuration: eaux potables-eaux usées: précis théorique and technologique. *Technique and Documentation*.
- [5] Berne, F., & Cordonnier, J. (1995). Refining, petrochemical and gas processing techniques industrial water treatment. Paris: Editions TECHNIP.
- [6] Grosclaude, G. (1999). L'eau: usage et polluants (The Water: Use and Pollutants). Edition INRA, Paris, 210.
- [7] Khadro, B. (2008). Conception et réalisation de biocapteurs pour le suivi de polluants dans les eaux naturelles (Doctoral dissertation, Lyon 1).
- [8] A. William. Johnson . Invitation à la chimie organique' Deboech 1ère édition 200
- [9] Phenol, <http://en.wikipedia.org/wiki/Phenol> mars (2015).
- [10] Ehtash, M. (2011). Purification des eaux polluées par du phénol dans un pertracteur à disques tournants (Doctoral dissertation, Rouen, INSA)
- [11] Belis, W., & Oliosio, G. (2011). Aperçu diachronique de l'avifaune provençale. *Faune-PACA Publication*, (9).
- [12] Ehtash, M. (2011). Purification des eaux polluées par du phénol dans un pertracteur à disques tournants (Doctoral dissertation, Rouen, INSA).
- [13] INERIS, " Phénol Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques. Institut National de l'EnviRonnement Industriel et des riSques INERIS–DRC-01-25590-01DR021. N°2-1 (2005) 1-47.
- [14] INERIS, " Phénol Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques. Institut National de l'EnviRonnement Industriel et des riSques INERIS–DRC-01-25590-01DR021. N°2-1 (2005) 1-47.

- [15] INRS. “Fiche Toxicologique”, Institut National de Recherche et de Sécurité, (2008).
- [16] Weiss, E. (2006). Etude cinétique de la dégradation électrochimique de composés organiques sur l'anode de diamant dope au bore: Application à la dépollution d'effluents aqueux (Doctoral dissertation, Université Paul Sabatier-Toulouse III).
- [17] Canh, T. M. (1991). Les biocapteurs: principes, construction et applications. Masson..
- [18] Comtat, M., & Bergel, A. (1997). Biocapteurs: rêve ou réalité industrielle?. *Biofutur*, 1997(171), 33-36.
- [19] Grieshaber, D., MacKenzie, R., Voeroes, J., & Reimhult, E. (2008). Electrochemical biosensors-sensor principles and architectures. *Sensors*, 8(3), 1400-1458.
- [20] Barhoumi, H., Maaref, A., Rammah, M., Martelet, C., Jaffrezic-Renault, N., Mousty, C., ... & Rico-Lattes, I. (2005). Insulator semiconductor structures coated with biodegradable latexes as encapsulation matrix for urease. *Biosensors and Bioelectronics*, 20(11), 2318-2323
- [21] Updike, S. J., & Hicks, G. P. (1967). The enzyme electrode. *Nature*, 214(5092), 986-988.
- [22] Lee, H. J., Namkoong, K., Cho, E. C., Ko, C., Park, J. C., & Lee, S. S. (2009). Surface acoustic wave immunosensor for real-time detection of hepatitis B surface antibodies in whole blood samples. *Biosensors and Bioelectronics*, 24(10), 3120-3125.
- [23] Wang, B., Bouffier, L., Demeunynck, M., Mailley, P., Roget, A., Livache, T., & Dumy, P. (2004). New acridone derivatives for the electrochemical DNA-hybridisation labelling. *Bioelectrochemistry*, 63(1), 233-237.
- [24] http://fr.wikipedia.org/wiki/Fichier:Average_prokaryote_cell-_fr.svg
- [25] Giller, K. E., Witter, E., & Mcgrath, S. P. (1998). Toxicity of heavy metals to microorganisms and microbial processes in agricultural soils: a review. *Soil Biology and Biochemistry*, 30(10), 1389-1414.
- [26] Gammoudi, I. (2012). Biocapteur à base de bactéries pour le contrôle environnemental (Doctoral dissertation, Université Sciences et Technologies-Bordeaux I).
- [27] Yang, S., Jia, W. Z., Qian, Q. Y., Zhou, Y. G., & Xia, X. H. (2009). Simple approach for efficient encapsulation of enzyme in silica matrix with retained bioactivity. *Analytical chemistry*, 81(9), 3478-3484.
- [28] Premkumar, J. R., Rosen, R., Belkin, S., & Lev, O. (2002). Sol-gel luminescence biosensors: Encapsulation of recombinant E. coli reporters in thick silicate films. *Analytica Chimica Acta*, 462(1), 11-23.

- [29] Wang, G., Liu, Y., & Hu, N. (2007). Comparative electrochemical study of myoglobin loaded in different types of layer-by-layer assembly films. *Electrochimica Acta*, 53(4), 2071-2079.
- [30] Karyakin, A. A., Bobrova, O. A., Lukachova, L. V., & Karyakina, E. E. (1996). Potentiometric biosensors based on polyaniline semiconductor films. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 33(1-3), 34-38.
- [31] Chouteau, C., Dzyadevych, S., Chovelon, J. M., & Durrieu, C. (2004). Development of novel conductometric biosensors based on immobilised whole cell *Chlorella vulgaris* microalgae. *Biosensors and Bioelectronics*, 19(9), 1089-1096..
- [32] Chi, Q., & Dong, S. (1995). Amperometric biosensors based on the immobilization of oxidases in a Prussian blue film by electrochemical codeposition. *Analytica chimica acta*, 310(3), 429-436.
- [33] Zhang, Z. B., Yuan, S. J., Zhu, X. L., Neoh, K. G., & Kang, E. T. (2010). Enzyme-mediated amperometric biosensors prepared via successive surface-initiated atom-transfer radical polymerization. *Biosensors and Bioelectronics*, 25(5), 1102-1108..
- [34] Rodriguez, B. B., Bolbot, J. A., & Tothill, I. E. (2004). Development of urease and glutamic dehydrogenase amperometric assay for heavy metals screening in polluted samples. *Biosensors and Bioelectronics*, 19(10), 1157-1167.
- [35] Prakash, O., Talat, M., Hasan, S. H., & Pandey, R. K. (2008). Enzymatic detection of mercuric ions in ground-water from vegetable wastes by immobilizing pumpkin (*Cucumis melo*) urease in calcium alginate beads. *Bioresource technology*, 99(10), 4524-4528..
- [36] Huang, J., Yamaji, H., & Fukuda, H. (2007). Immobilization of *Escherichia coli* cells using porous support particles coated with cationic polymers. *Journal of bioscience and bioengineering*, 104(2), 98-103.
- [37] Bartlett, P. N., & Whitaker, R. G. (1987). Electrochemical immobilisation of enzymes: Part I. Theory. *Journal of electroanalytical chemistry and interfacial electrochemistry*, 224(1-2), 27-35.
- [38] Cosnier, S. (2000). Biosensors based on immobilization of biomolecules by electrogenerated polymer films. *Applied biochemistry and biotechnology*, 89(2-3), 127-138.
- [39] Mavri, J., Raspor, P., & Franko, M. (2007). Application of chromogenic reagents in surface plasmon resonance (SPR). *Biosensors and Bioelectronics*, 22(6), 1163-1167..
- [40] Wang, J., Chen, S. P., & Lin, M. S. (1989). Use of different electropolymerization conditions for controlling the size-exclusion selectivity at polyaniline, polypyrrole and polyphenol films. *Journal of electroanalytical chemistry and interfacial electrochemistry*, 273(1-2), 231-242.

- [41] Nakabayashi, Y., Wakuda, M., & Imai, H. (1998). Amperometric glucose sensors fabricated by electrochemical polymerization of phenols on carbon paste electrodes containing ferrocene as an electron transfer mediator. *Analytical sciences*, 14(6), 1069-1076.
- [42] Nakabayashi, Y., Wakuda, M., & Imai, H. (1998). Amperometric glucose sensors fabricated by electrochemical polymerization of phenols on carbon paste electrodes containing ferrocene as an electron transfer mediator. *Analytical sciences*, 14(6), 1069-1076..
- [43] De Corcuera, J. R., Cavalieri, R. P., & Powers, J. R. (2005). Improved platinization conditions produce a 60-fold increase in sensitivity of amperometric biosensors using glucose oxidase immobilized in poly-o-phenylenediamine. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 575(2), 229-241.
- [44] Garjonyte, R., & Malinauskas, A. (1999). Amperometric glucose biosensor based on glucose oxidase immobilized in poly (o-phenylenediamine) layer. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 56(1), 85-92.-
- [45] Bélanger, D., Nadreau, J., & Fortier, G. (1989). Electrochemistry of the polypyrrole glucose oxidase electrode. *Journal of electroanalytical chemistry and interfacial electrochemistry*, 274(1-2), 143-155
- [46] Guerrieri, A., De Benedetto, G. E., Palmisano, F., & Zambonin, P. G. (1998). Electrosynthesized non-conducting polymers as permselective membranes in amperometric enzyme electrodes: a glucose biosensor based on a co-crosslinked glucose oxidase/overoxidized polypyrrole bilayer. *Biosensors and Bioelectronics*, 13(1), 103-112.
- [47] Fortier, G., Brassard, E., & Belanger, D. (1990). Optimization of a polypyrrole glucose oxidase biosensor. *Biosensors and Bioelectronics*, 5(6), 473-490..
- [48] Coche-Guerente, L., Cosnier, S., Innocent, C., & Mailley, P. (1995). Development of amperometric biosensors based on the immobilization of enzymes in polymer films electrogenerated from a series of amphiphilic pyrrole derivatives. *Analytica Chimica Acta*, 311(1), 23-30.
- [49] Gao, Z., Bobacka, J., & Ivaska, A. (1994). Electrochemical study of bilayer conducting polymers: polypyrrole/polyaniline system. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 364(1-2), 127-133..
- [50] Sayre, C. N., & Collard, D. M. (1997). Electrooxidative deposition of polypyrrole and polyaniline on self-assembled monolayer modified electrodes. *Langmuir*, 13(4), 714-722.
- [51] Cosnier, S. (2000). Biosensors based on immobilization of biomolecules by electrogenerated polymer films. *Applied biochemistry and biotechnology*, 89(2-3), 127-138.

- [52] Hiller, M., Kranz, C., Huber, J., Bäuerle, P., & Schuhmann, W. (1996). Amperometric biosensors produced by immobilization of redox enzymes at polythiophene-modified electrode surfaces. *Advanced materials*, 8(3), 219-222.
- [53] Ghica, M. E., & Brett, C. (2006). Development of novel glucose and pyruvate biosensors at poly (neutral red) modified carbon film electrodes. Application to natural samples. *Electroanalysis*, 18(8), 748-756.
- [54] Guirous, H. (2011). Synthèse et caractérisation de la polycaprolactone (Doctoral dissertation)..
- [55] Kil'deeva, N. R., Vikhoreva, G. A., Gal'braikh, L. S., Mironov, A. V., Bonartseva, G. A., Perminov, P. A., & Romashova, A. N. (2006). Preparation of biodegradable porous films for use as wound coverings. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 42(6), 631-635..
- [56] Mariame, C., & El Rhazi, M. (2008). les polymères conducteurs, les technologies de laboratoire.
- [57] Pierre, G., Limosin, D., & Djelali, N. E. (1991). Electroinitiated cationic polymerization of ϵ -caprolactone using sacrificial anodes. *Macromolecular Chemistry and Physics*, 192(11), 2767-2775..
- [58] Schröder, U. (2007). Anodic electron transfer mechanisms in microbial fuel cells and their energy efficiency. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 9(21), 2619-2629.
- [59] Uludag, Y., Olcer, Z., & Sagioglu, M. S. (2014). Design and characterisation of a thin-film electrode array with shared reference/counter electrodes for electrochemical detection. *Biosensors and Bioelectronics*, 57, 85-90.
- [60] Hernandez, M. E., & Newman, D. K. (2001). Extracellular electron transfer. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 58(11), 1562-1571.
- [61] Clauwaert, P., Van der Ha, D., Boon, N., Verbeken, K., Verhaege, M., Rabaey, K., & Verstraete, W. (2007). Open air biocathode enables effective electricity generation with microbial fuel cells. *Environmental Science & Technology*, 41(21), 7564-7569
- [62] Rabaey, K., & Verstraete, W. (2005). Microbial fuel cells: novel biotechnology for energy generation. *TRENDS in Biotechnology*, 23(6), 291-298..
- [63] Patil, S., Harnisch, F., & Schröder, U. (2010). Toxicity response of electroactive microbial biofilms—a decisive feature for potential biosensor and power source applications. *ChemPhysChem*, 11(13), 2834-2837. [64] Lovley, D. R. (2008). The microbe electric: conversion of organic matter to electricity. *Current opinion in Biotechnology*, 19(6), 564-571.

- [65] Marsili, E., Baron, D. B., Shikhare, I. D., Coursolle, D., Gralnick, J. A., & Bond, D. R. (2008). *Shewanella* secretes flavins that mediate extracellular electron transfer. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(10), 3968-3973.
- [66] Lanthier, M., Gregory, K. B., & Lovley, D. R. (2007). Growth with high planktonic biomass in *Shewanella oneidensis* fuel cells. *FEMS microbiology letters*, 278(1), 29-35.
- [67] Kim, N., Choi, Y., Jung, S., & Kim, S. (2000). Effect of initial carbon sources on the performance of microbial fuel cells containing *Proteus vulgaris*. *Biotechnology and bioengineering*, 70(1), 109-114.
- [68] Chen, H., Ye, T., Qiu, B., Chen, G., & Chen, X. (2008). A novel approach based on ferricyanide-mediator immobilized in an ion-exchangeable biosensing film for the determination of biochemical oxygen demand. *analytica chimica acta*, 612(1), 75-82.
- [69] Alferov, S., Coman, V., Gustavsson, T., Reshetilov, A., von Wachenfeldt, C., Hägerhäll, C., & Gorton, L. (2009). Electrical communication of cytochrome enriched *Escherichia coli* JM109 cells with graphite electrodes. *Electrochimica Acta*, 54(22), 4979-4984
- [70] Coman, V., Gustavsson, T., Finkelsteinas, A., von Wachenfeldt, C., Hägerhäll, C., & Gorton, L. (2009). Electrical wiring of live, metabolically enhanced *Bacillus subtilis* cells with flexible osmium-redox polymers. *Journal of the American Chemical Society*, 131(44), 16171-16176.
- [71] Timur, S., Anik, U., Odaci, D., & Gorton, L. (2007). Development of a microbial biosensor based on carbon nanotube (CNT) modified electrodes. *Electrochemistry Communications*, 9(7), 1810-1815.
- [72] Lin, X., Nishio, K., Konno, T., & Ishihara, K. (2012). The effect of the encapsulation of bacteria in redox phospholipid polymer hydrogels on electron transfer efficiency in living cell-based devices. *Biomaterials*, 33(33), 8221-8227
- [73] Le Ouay, B., Coradin, T., & Laberty-Robert, C. (2013). Silica-carbon hydrogels as cytocompatible bioelectrodes. *Journal of Materials Chemistry B*, 1(5), 606-609.
- [74] Bond, D. R., Holmes, D. E., Tender, L. M., & Lovley, D. R. (2002). Electrode-reducing microorganisms that harvest energy from marine sediments. *Science*, 295(5554), 483-485.
- [75] Reguera, G., McCarthy, K. D., Mehta, T., Nicoll, J. S., Tuominen, M. T., & Lovley, D. R. 2005 Extracellular electron transfer via microbial nanowires. *Nature*, 561308141.
- [76] Gorby, Y. A., Yanina, S., McLean, J. S., Rosso, K. M., Moyles, D., Dohnalkova, A., ... & Culley, D. E. (2006). Electrically conductive bacterial nanowires produced by *Shewanella oneidensis* strain MR-1 and other microorganisms. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(30), 11358-11363.

- [77] Gorby, Y. A., Yanina, S., McLean, J. S., Rosso, K. M., Moyles, D., Dohnalkova, A., ... & Culley, D. E. (2006). Electrically conductive bacterial nanowires produced by *Shewanella oneidensis* strain MR-1 and other microorganisms. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(30), 11358-11363.
- [78] Gorby, Y. A., Yanina, S., McLean, J. S., Rosso, K. M., Moyles, D., Dohnalkova, A., ... & Culley, D. E. (2006). Electrically conductive bacterial nanowires produced by *Shewanella oneidensis* strain MR-1 and other microorganisms. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(30), 11358-11363.
- [79] El-Naggar, M. Y., Wanger, G., Leung, K. M., Yuzvinsky, T. D., Southam, G., Yang, J., ... & Gorby, Y. A. (2010). Electrical transport along bacterial nanowires from *Shewanella oneidensis* MR-1. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(42), 18127-18131..
- [80] Abdel-Hamid, I., Ivnitski, D., Atanasov, P., & Wilkins, E. (1999). Flow-through immunofiltration assay system for rapid detection of *E. coli* O157: H7. *Biosensors and Bioelectronics*, 14(3), 309-316..
- [81] Ong, K. G., Grimes, C. A., Robbins, C. L., & Singh, R. S. (2001). Design and application of a wireless, passive, resonant-circuit environmental monitoring sensor. *Sensors and Actuators A: Physical*, 93(1), 33-43..
- [82] Waltman, R. J., & Bargon, J. (1986). Electrically conducting polymers: a review of the electropolymerization reaction, of the effects of chemical structure on polymer film properties, and of applications towards technology. *Canadian Journal of Chemistry*, 64(1), 76-95
- [83] Abruña, H. D. (1988). Coordination chemistry in two dimensions: chemically modified electrodes. *Coordination Chemistry Reviews*, 86, 135-189.
- [84] Diaz, A. F., Castillo, J. I., Logan, J. A., & Lee, W. Y. (1981). Electrochemistry of conducting polypyrrole films. *Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry*, 129(1), 115-132
- [85] El Mhammedi, A., Chtaini, A., & El Bouadili, A. (2004). Formation of anti-corrosion films on copper and iron in pyrrole solutions. *Bulletin of Electrochemistry*, 20(12), 533-537.
- [86] El Mhammedi, M. A., Bakasse, M., & Chtaini, A. (2007). Voltammetric detection of diquat at the carbon paste electrode containing a $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. *Leonardo Electronic Journal of Practices and Technologies*, 10, 1-12.
- [87] El Mhammedi, M. A., Bakasse, M., & Chtaini, A. (2007). Electrochemical studies and square wave voltammetry of paraquat at natural phosphate modified carbon paste electrode. *Journal of hazardous materials*, 145(1), 1-7.

- [88] Anderson, J. L., Coury, L. A., & Leddy, J. (1998). Dynamic electrochemistry: methodology and application. *Analytical chemistry*, 70(12), 519-590.
- [89] Lane, R. F., & Hubbard, A. T. (1973). Electrochemistry of chemisorbed molecules. I. Reactants connected to electrodes through olefinic substituents. *The Journal of Physical Chemistry*, 77(11), 1401-1410
- [90] Finklea, H. O. (1996). Electrochemistry of organized monolayers of thiols and related molecules on electrodes. *ELECTROANALYTICAL CHEMISTRY: A SERIES OF ADVANCES*, VOL 19, 19, 109-335..
- [91] Downard, A. J. (2000). Electrochemically assisted covalent modification of carbon electrodes. *Electroanalysis*, 12(14), 1085-1096..
- [92] Murray, R. W. (1984). Chemically modified electrodes. *Electroanalytical chemistry*, 13, 191-368..
- [93] Kaneko, M. (2001). Charge transport in solid polymer matrixes with redox centers. *Progress in polymer science*, 26(7), 1101-1137.
- [94] Daalder, J. E., & Schreurs, E. F. (1983). Arcing phenomena in high voltage fuses. University of Technology.
- [95] Lane, R. F., & Hubbard, A. T. (1973). Electrochemistry of chemisorbed molecules. I. Reactants connected to electrodes through olefinic substituents. *The Journal of Physical Chemistry*, 77(11), 1401-1410.
- [96] Pinilla, J. M., Hernandez, L., & Conesa, A. J. (1996). Determination of mercury by open circuit adsorption stripping voltammetry on a platinum disk electrode. *Analytica chimica acta*, 319(1), 25-30..
- [97] Yull. D'yachenko, V.V. Kondrat'ev, Z.H. *Anal. Khim.*, 53 (1998) 401.
- [98] Bonfil, Y., Brand, M., & Kirowa-Eisner, E. (1999). Determination of sub- $\mu\text{g l}^{-1}$ concentrations of copper by anodic stripping voltammetry at the gold electrode. *Analytica chimica acta*, 387(1), 85-95..
- [99] Kopanica, M., & Novotný, L. (1998). Determination of traces of arsenic (III) by anodic stripping voltammetry in solutions, natural waters and biological material. *Analytica chimica acta*, 368(3), 211-218
- [100] Dall'Olio, A., Dascola, G., Vacara, V., & Bocchi, V. (1968). Resonance paramagnetique electronique et conductivité d'un noir d'oxypyrrrol electrolytique. *CR Acad. Sci. Paris*, 267, 433-435
- [101] Quiroz, M. A., Reyna, S., Martinez-Huitle, C. A., Ferro, S., & De Battisti, A. (2005). Electrocatalytic oxidation of p-nitrophenol from aqueous solutions at Pb/PbO₂ anodes. *Applied Catalysis B: Environmental*, 59(3), 259-266.
- [102] Tourillon, G., & Garnier, F. (1982). New electrochemically generated organic conducting polymers. *Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry*, 135(1), 173-178.

- [103] Desbene-Monvernay, A., Dubois, J. E., & Lacaze, P. C. (1985). Oxidative electropolymerization of N-vinylcarbazole: Growth and electrochemical behavior of poly-N-vinylcarbazole films on Pt. *Journal of electroanalytical chemistry and interfacial electrochemistry*, 189(1), 51-63.
- [104] Mosbah, S. Synthèse et étude électrochimique de nouveaux polymères conducteurs.
- [105] Abruña, H. D., Denisevich, P., Umana, M., Meyer, T. J., & Murray, R. W. (1981). Rectifying interfaces using two-layer films of electrochemically polymerized vinylpyridine and vinylbipyridine complexes of ruthenium and iron on electrodes. *Journal of the American Chemical Society*, 103(1), 1-5.
- [106] Calvert, J. M., Schmehl, R. H., Sullivan, B. P., Facci, J. S., Meyer, T. J., & Murray, R. W. (1983). Synthetic and mechanistic investigations of the reductive electrochemical polymerization of vinyl-containing complexes of iron (II), ruthenium (II), and osmium (II). *Inorganic Chemistry*, 22(15), 2151-2162.
- [107] Eaves, J. G., Munro, H. S., & Parker, D. (1987). Anodic electrodeposition of thin films of polypyrrole functionalized with metal bipyridyl redox centers. *Inorganic Chemistry*, 26(5), 644-650.
- [108] Cosnier, S., Deronzier, A., & Moutet, J. C. (1988). A poly [tris (N-(bipyridyl)butyl) pyrrole] ruthenium (II)-RuO₂ catalytic modified electrode for organic oxidations. *Inorganic Chemistry*, 27(14), 2389-2390.
- [109] Macor, K. A., & Spiro, T. G. (1983). Porphyrin electrode films prepared by electrooxidation of metalloprotoporphyrins. *Journal of the American Chemical Society*, 105(17), 5601-5607.
- [110] Bettelheim, A., White, B. A., Raybuck, S. A., & Murray, R. W. (1987). Electrochemical polymerization of amino-, pyrrole-, and hydroxy-substituted tetraphenylporphyrins. *Inorganic Chemistry*, 26(7), 1009-1017.
- [111] Nuzzo, R. G., & Allara, D. L. (1983). Adsorption of bifunctional organic disulfides on gold surfaces. *Journal of the American Chemical Society*, 105(13), 4481-4483
- [112] O'riordan, D. M. T., & Wallace, G. G. (1986). Poly (pyrrole-N-carbodithioate) electrode for electroanalysis. *Analytical Chemistry*, 58(1), 128-131.
- [113] Rahman, M. A., Won, M. S., & Shim, Y. B. (2003). Characterization of an EDTA bonded conducting polymer modified electrode: its application for the simultaneous determination of heavy metal ions. *Analytical chemistry*, 75(5), 1123-1129.
- [114] Rahman, M., Park, D. S., Won, M. S., Park, S. M., & Shim, Y. B. (2004). Selective electrochemical analysis of various metal ions at an EDTA bonded conducting polymer modified electrode. *Electroanalysis*, 16(16), 1366-1370..
- [115] Theodoridou, E., Jannakoudakis, A. D., & Jannakoudakis, D. (1984). Electrodeposition of metals after cation-exchange on modified carbon fibre electrodes. *Synthetic metals*, 9(1), 19-30.

- [173] Theodoridou, E., Jannakoudakis, A. D., Besenhard, J. O., & Sauter, R. F. (1986). Carbon fibre-supported noble metal catalysts: Optimization of fibre pretreatment. *Synthetic metals*, 14(1-2), 125-135..
- [116] Theodoridou, E., Jannakoudakis, A. D., Besenhard, J. O., & Sauter, R. F. (1986). Carbon fibre-supported noble metal catalysts: Optimization of fibre pretreatment. *Synthetic metals*, 14(1-2), 125-135.
- [117] Viltchinskaia, E. A., Zeigman, L. L., & Morton, S. G. (1995). Application of stripping voltammetry for the determination of mercury. *Electroanalysis*, 7(3), 264-269.
- [118] Vasil'ev, A. M., Temerdashev, Z. A., & Tsyupko, T. G. (1999). Voltammetric determination of arsenic (III) using a gold-glassy-carbon electrode. *Journal of analytical chemistry*, 54(7), 642-645.
- [119] Huang, H., & Dasgupta, P. K. (1999). A field-deployable instrument for the measurement and speciation of arsenic in potable water. *Analytica Chimica Acta*, 380(1), 27-37.
- [120] Švancara, I., Pravda, M., Hvizdalová, M., Vytřas, K., & Kalcher, K. (1994). Voltammetric investigations on carbon paste electrodes as supports for mercury films. *Electroanalysis*, 6(8), 663-671..
- [121] Comninellis, C., & Vercesi, G. P. (1991). Characterization of DSA®-type oxygen evolving electrodes: choice of a coating. *Journal of Applied Electrochemistry*, 21(4), 335-345.
- [122] R. Kotz, S. Stucki, B.J. Carcer, *J. Appl. Electrochem.*, 21 (1991) 14-99.
- [123] Bunce, N. J., Merica, S. G., & Lipkowski, J. (1997). Prospects for the use of electrochemical methods for the destruction of aromatic organochlorine wastes. *Chemosphere*, 35(11), 2719-2726
- [124] Feng, Y. J., & Li, X. Y. (2003). Electro-catalytic oxidation of phenol on several metal-oxide electrodes in aqueous solution. *Water Research*, 37(10), 2399-2407.
- [125] Panizza, M., Michaud, P. A., Cerisola, G., & Comninellis, C. (2001). Anodic oxidation of 2-naphthol at boron-doped diamond electrodes. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 507(1), 206-214.
- [126] Panizza, M., Michaud, P. A., Cerisola, G., & Comninellis, C. (2001). Electrochemical treatment of wastewaters containing organic pollutants on boron-doped diamond electrodes: prediction of specific energy consumption and required electrode area. *Electrochemistry communications*, 3(7), 336-339.
- [127] Canizares, P., Garcia-Gomez, J., Saez, C., & Rodrigo, M. A. (2003). Electrochemical oxidation of several chlorophenols on diamond electrodes Part I. Reaction mechanism. *Journal of Applied Electrochemistry*, 33(10), 917-927.
- [128] Codognoto, L., Machado, S. A. S., & Avaca, L. A. (2003). Selective oxidation of pentachlorophenol on diamond electrodes. *Journal of applied electrochemistry*, 33(10), 951-957.

- [129] Comninellis, C., & Pulgarin, C. (1993). Electrochemical oxidation of phenol for wastewater treatment using SnO₂ anodes. *Journal of Applied Electrochemistry*, 23(2), 108-112.
- [130] Stucki, S., Kötzt, R., Carcer, B., & Suter, W. (1991). Electrochemical waste water treatment using high overvoltage anodes Part II: Anode performance and applications. *Journal of Applied Electrochemistry*, 21(2), 99-104.
- [131] Polcaro, A. M., Palmas, S., & Dernini, S. (1997). Electrochemical removal of organic pollutants from waste waters. *Curr. Top. Electrochem*, 4, 138-146.
- [132] Iniesta, J., González-García, J., Expósito, E., Montiel, V., & Aldaz, A. (2001). Influence of chloride ion on electrochemical degradation of phenol in alkaline medium using bismuth doped and pure PbO₂ anodes. *Water Research*, 35(14), 3291-3300..
- [133] Idbelkas, B., & Takky, D. (2001, March). Traitement électrochimique d'eaux usées chargées de phénol: étude comparative sur des électrodes de dioxyde de plomb et de platine. In *Annales de Chimie Science des Matériaux* (Vol. 26, No. 2, pp. 33-44). No longer published by Elsevier.
- [134] Olson, C., & Adams, R. N. (1960). Carbon paste electrodes application to anodic voltammetry. *Analytica Chimica Acta*, 22, 582-589
- [135] Ravichandran, K., & Baldwin, R. P. (1983). Phenylenediamine-containing chemically modified carbon paste electrodes as catalytic voltammetric sensors. *Analytical Chemistry*, 55(9), 1586-1591..
- [136] Kuwana, T., & French, W. G. (1964). Electrooxidation or Reduction of Organic Compounds into Aqueous Solutions Using Carbon Paste Electrode. *Analytical Chemistry*, 36(1), 241-242..
- [137] Bowers, R. C., & Murray, R. W. (1966). Voltammetric Membrane Electrode Study of the Ion-Exchange Properties of Cellophane Membranes. *Analytical Chemistry*, 38(3), 461-465.
- [138] Lundquist, G. L., Washinger, G., & Cox, J. A. (1975). Voltammetric determination of trace quantities of nitrate in an anion exchange membrane isolated cell. *Analytical Chemistry*, 47(2), 319-322.
- [139] Barrio, M. R., & Carrazon, J. P. (1992). Voltammetric determination of pentachlorophenol with a silica gel-modified carbon paste electrode. *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*, 344(1-2), 34-38.
- [140] Paniagua, A. R., Vazquez, M. D., Tascon, M. L., & Batanero, P. S. (1993). Determination of chromium (VI) and chromium (III) by using a diphenylcarbazide-modified carbon paste electrode. *Electroanalysis*, 5(2), 155-163. [141] Kuwana, T., & French, W. G. (1964). Electrooxidation or Reduction of Organic Compounds into Aqueous Solutions Using Carbon Paste Electrode. *Analytical Chemistry*, 36(1), 241-242.
- [142] Kalcher, K., Kauffmann, J. M., Wang, J., Švancara, I., Vytřas, K., Neuhold, C., & Yang, Z. (1995). Sensors based on carbon paste in electrochemical analysis: a review with particular emphasis on the period 1990–1993. *Electroanalysis*, 7(1), 5-22.

- [142] Baldwin, R. P., Christensen, J. K., & Kryger, L. (1986). Voltammetric determination of traces of nickel (II) at a chemically modified electrode based on dimethylglyoxime-containing carbon paste. *Analytical Chemistry*, 58(8), 1790-1798.
- [143] Kalcher, K., Kauffmann, J. M., Wang, J., Švancara, I., Vytras, K., Neuhold, C., & Yang, Z. (1995). Sensors based on carbon paste in electrochemical analysis: a review with particular emphasis on the period 1990–1993. *Electroanalysis*, 7(1), 5-22.
- [144] Lindquist, J. (1973). Carbon paste electrode with a wide anodic potential range. *Analytical Chemistry*, 45(6), 1006-1008.
- [145] Kalcher, K. (1990). Chemically modified carbon paste electrodes in voltammetric analysis. *Electroanalysis*, 2(6), 419-433.
- [146] Watkins, B. F., Behling, J. R., Kariv, E., & Miller, L. L. (1975). Chiral electrode. *Journal of the American Chemical Society*, 97(12), 3549-3550.
- [147] Yao, T., & Musha, S. (1979). Electrochemical enzymatic determinations of ethanol and l-lactic acid with a carbon paste electrode modified chemically with nicotinamide adenine dinucleotide. *Analytica Chimica Acta*, 110(2), 203-209.
- [148] Lamy, C., & Leger, J. M. (1991). Electrocatalytic oxidation of small organic molecules at platinum single crystals. *Journal de chimie physique*, 88, 1649-1671.
- [149] E. Morallon, F. Cases, J.L. Vasanez, A. Aldaz, ISE 42nd Meeting, Montreux-Switzerland, p. 70-81.
- [150] Liu, Z., Hong, L., Tham, M. P., Lim, T. H., & Jiang, H. (2006). Nanostructured Pt/C and Pd/C catalysts for direct formic acid fuel cells. *Journal of Power Sources*, 161(2), 831-835..
- [151] Li, X., & Hsing, I. M. (2006). Electrooxidation of formic acid on carbon supported Pt x Pd 1-x (x= 0–1) nanocatalysts. *Electrochimica Acta*, 51(17), 3477-3483.

Chapitre II
Partie expérimentale

Introduction

Dans ce chapitre consacré à l'étude expérimentale, nous identifierons dans un premier temps les matériaux, les produits et le dispositif expérimental ayant servis dans ce travail et dans un deuxième temps, nous présentons les méthodes de caractérisation physico-chimique et différentes méthodes électrochimique utilisées au cours de ce travail. Cette présentation non exhaustive se focalise sur les outils et les équations nécessaires à la compréhension et l'interprétation des résultats expérimentaux.

I. Matériaux

I.1. Poudre commerciale de graphite

La poudre commerciale de graphite a été fournie à partir de la France (Carbone, Lorraine, référence 9900). Cette poudre a été utilisée sans subir un traitement préalable (figure. 22).



Figure 22 : Poudre commerciale de graphite

I.2. Poudre de phosphate naturel (PN)

Le phosphate naturel utilisé dans ce travail a été pris dans la province de Khouribga au Maroc [1]. Avant son utilisation, cette poudre a été traitée par les techniques suivantes : tamisage, calcinations (900°C) pendant une heure afin de la débarrasser de tous composés organiques susceptibles d'interférer dans nos résultats.

Une fois traitée, la poudre de phosphate naturel a été caractérisée par la microscopie à balayage électronique, la spectroscopie infrarouge et la diffraction des rayons X. (appareil PERKIN-ELMER FTIR à transformée de Fourier (4000-400 cm^{-1}), diffractogrammètre Philips PW 1710, utilisant la radiation de cuivre (XRD: Cu K radiation, XPERT)) (figure. 23).



(a)



(b)

Figure 23 : Poudre de phosphate naturel : (a) avant calcination, (b) après calcination

I.3. Poudre d'argile

L'échantillon d'argile utilisé dans la recherche a été pris dans les ressources naturelles du Cameroun, plus précisément dans la ville de Garoua, dans la région du Cameroun du nord [2]. L'échantillon a été lavé avec de l'eau désionisée plusieurs fois avec une agitation constante. Il a été ensuite séché et calciné à 900°C pendant une heure. Comme le phosphate l'argile a subi les mêmes caractérisations physiques (figure. 24).



(a)



(b)

Figure 24 : Poudre d'argile : (a) avant calcination, (b) après calcination

II. Préparation des biocapteurs

II.1. Elaboration de l'électrode de pâte de carbone -NP

L'électrode à pâte de carbone modifiée a été préparée en mélangeant entièrement le phosphate naturel avec la poudre de graphite, le liant d'huile de paraffine et avec le solvant, l'éthanol absolu.

La pâte obtenue a été utilisée pour remplir la cavité de l'électrode (support creux qui porte la tige de carbone ; surface = 0,1256 cm²) (figure 25). Cette tige assure le contact électrique avec la pâte. Une fois l'électrode fabriquée, elle est séchée à température ambiante avec soin pendant

24 heures. Une fois sèche, un polissage mécanique de la surface de cette électrode est réalisé sur papier lisse avant son utilisation pour éliminer toutes les irrégularités et obtenir une surface régulière et plus reproductible.

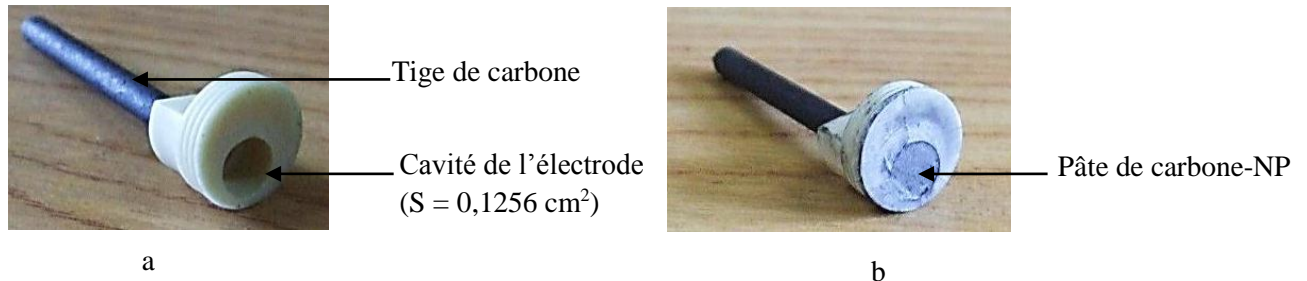


Figure 25: (a) Electrode sans la pâte de carbone ; (b) Electrode avec la pâte de carbone-NP

II.2.Elaboration de l'électrode de pâte de carbone-Ar

La pâte de pâte de carbone graphite modifié par l'argile est préparée comme le CPE-NP : poudre de carbone graphite + poudre de l'argile + huile de paraffine + éthanol absolu (figure. 26).

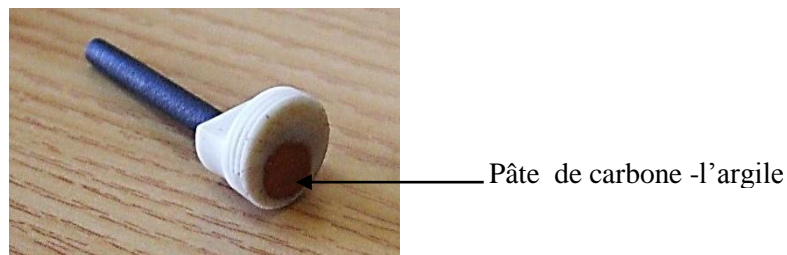


Figure 26 : Electrode de pâte de carbone modifiée par l'argile

II.4. Caractérisation des électrodes modifiées en présence des bactéries (staphylocoque aureus)

II.4.1.Culture des bactéries

La culture des bactéries (staphylocoque aureus) a été faite au laboratoire de bio interfaces et bioprocédés de la faculté des sciences et technique de Beni Mellal (Maroc). Nous présenterons le protocole de la culture dans un organigramme élucidé par des photographies (figure. 27).

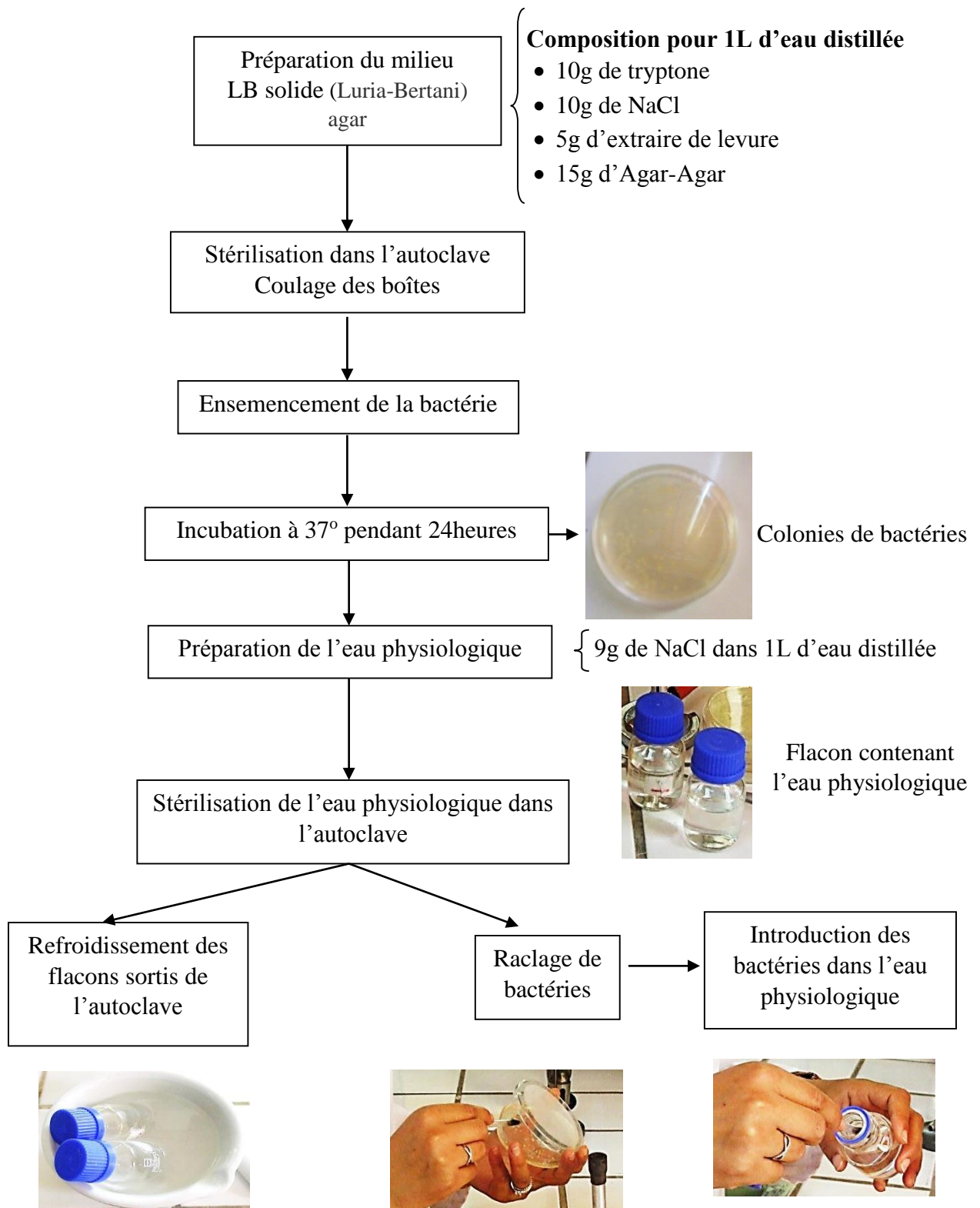


Figure 27 : Etapes de la culture du staphylocoque aureus

II.5. Procédure de l'immobilisation des bactéries sur la surface d'électrode

Les électrodes modifiées ont été immergées dans une cellule 20 ml de l'eau distillée, 0.1 M de NaCl et les suspensions de bactéries et ensuite caractérisée en fonction du temps par la voltammétrie cyclique et par la spectroscopie d'impédance électrochimique.

II.6. Procédure de l'immobilisation des bactéries dans un film de polymère

Les électrodes modifiées ont été immergées dans une cellule 100 ml de l'électrolyte 0.1 M de NaCl contient 1 ml de monomère de ϵ -caprolactone, l'électropolymérisation s'effectue par la voltamétrie cyclique. Ensuite Les électrodes modifiées ont été immergées dans une cellule 20 ml de l'eau distillée, 0.1M de NaCl et les suspensions de bactéries et ensuite caractérisée en fonction du temps par la voltammétrie cyclique, linéaire et par la spectroscopie d'impédance électrochimique.

II.7. Procédure de détection du phénol par les biocapteurs préparés

L'électrode est transférée dans une cellule électrochimique, de 100 ml de capacité, contenant 0.1 M de NaCl et la substance à analyser. Dans un premier temps, la procédure consiste à mesurer la réponse électrochimique de modificateur de la pâte du carbone dans l'électrolyte NaCl (0.3 mol l⁻¹) contenant une concentration fixe de la substance analysée.

Le comportement électrochimique de la substance adsorbée a été étudié par voltamétrie cyclique et voltamétrie à onde carrée et la spectroscopie d'impédance à la surface d'électrode.

III. Méthodes de caractérisation

III.1. 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.

III.1.1. Composants et principes des techniques voltamétriques

Les unités de base d'un analyseur voltamétrique sont illustrées par la figure 28. 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.

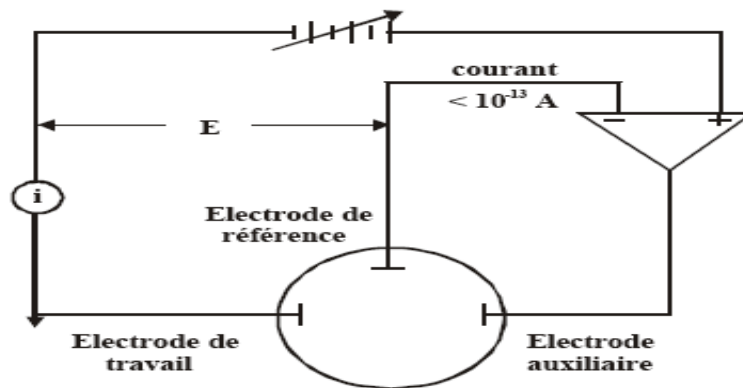


Figure 28 : Représentation schématique du circuit électronique d'un potentiostat.

III.1.2. Analyses voltamétriques

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 $i(\text{Faradique}) / i(\text{capacitif})_{\text{maximal}}$, 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.

III.1.3. 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 valeurs de potentiel anodiques et réalisé une oxydation, on inverse le sens de variation du potentiel effectué pour une exploration vers les potentiels cathodiques. On enregistre donc sur le voltamogramme les courbes de polarisations anodiques et cathodiques du système. 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 tridimensionnelle $[I, E, t(E,t)]$ (figure 30).

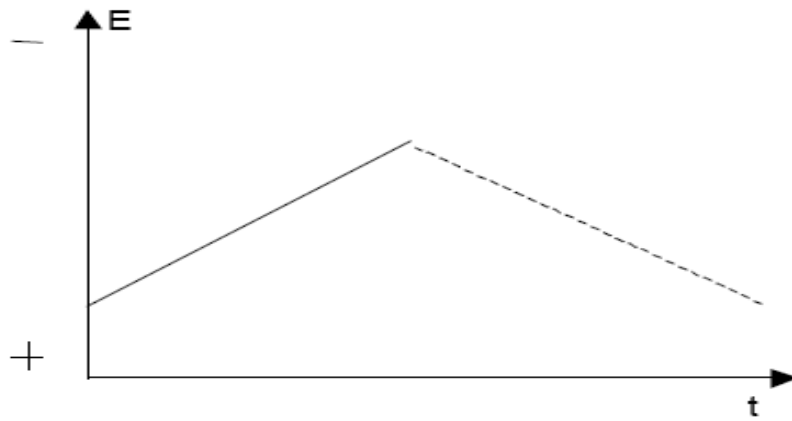


Figure 29 : Fonction imposée.

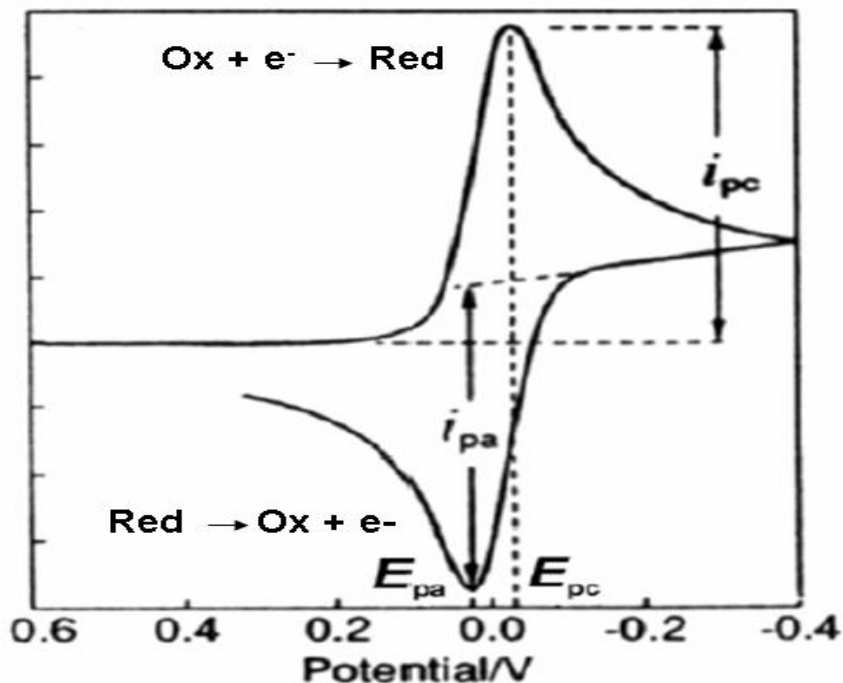


Figure 30: Voltammogramme cyclique enregistré pour une espèce Red seule en solution.

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 attiré l'attention de plusieurs auteurs [3-7].

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, en raison de la faible sensibilité de la méthode.

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 voltamogramme, 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 voltamogramme 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 [8]:

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

avec K : coefficient numérique,

A : surface de l'électrode (cm^2),

D : coefficient de diffusion de l'espèce étudiée ($\text{cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$),

v : 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 $i_p/Cv^{1/2}$ 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 nombre d'électrons 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.

III.1.4. 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 31). 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 32). 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 suite 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 carrée, 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 32).

IV. Mesure d'impédance électrochimique

L'application des mesures d'impédance électrique aux systèmes électrochimiques a introduit une méthodologie d'analyse différente pour étudier le comportement d'un système électrochimique à une électrode indicatrice donnée, faisant appel à une excitation de type alternatif (sinusoïdale) et de faible amplitude [$E(t) = E_0 + \Delta E(t) = \Delta E_0 \sin(\omega t)$], cette différence de potentiel étant imposée entre l'électrode de travail et une électrode de référence (potentiel supposé fixe), la contrainte revient à surimposer une variation sinusoïdale $\Delta E(t)$ du potentiel de l'électrode de travail à une valeur fixe E^0 (généralement E^0 est choisie de façon à avoir un courant nul dans la cellule électrochimique, (le potentiel d'abandon)).

L'obtention des caractéristiques des systèmes étant basée sur l'analyse de la réponse (courant alternatif de faible amplitude) [$I = I^0 + \Delta I(t) = \Delta I^0 \sin(\omega t + \phi)$], non plus en fonction du potentiel d'électrode, mais en fonction de la fréquence du signal alternatif d'excitation ce qui a conduit à désigner la méthode par le terme de spectroscopie d'impédance.

La réponse du système est un courant d'intensité $I(t)$, composante continue I^0 (le courant correspondant au potentiel E^0 , courant évidemment nul dans le cas où E^0 est le potentiel d'abandon) et une composante alternative $\Delta I(t)$. Si I^0 n'est pas nul, on opère dans les conditions où ce courant est stationnaire ($I^0 = \text{constante}$).

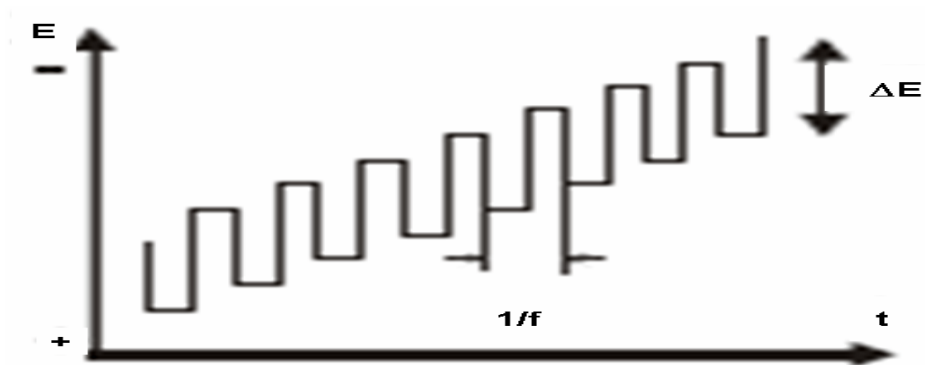


Figure 31 : Allure de la tension imposée en escalier en fonction de temps.

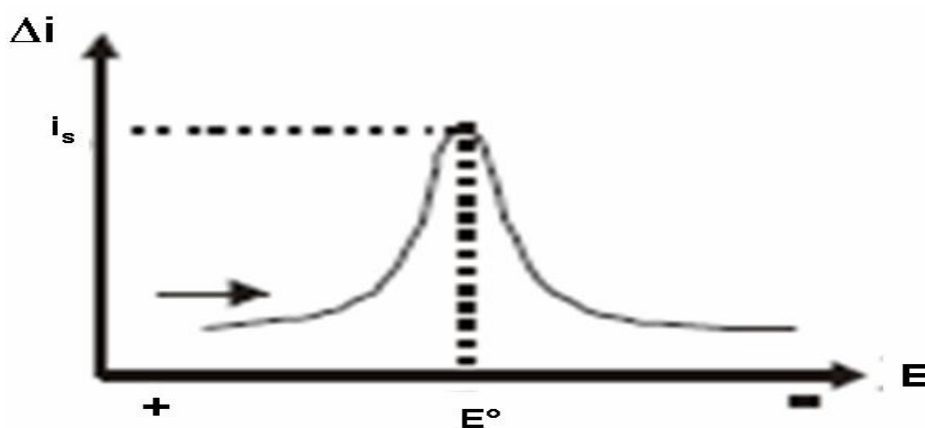


Figure 32 : Voltamogramme résultant de la voltamétrie à onde carrée.

L'impédance électrochimique autorise souvent l'accès aux mécanismes mis en jeu. En effet, par un balayage en fréquences du signal sinusoïdal perturbateur, les mécanismes sont découplés et apparaissent séparément en fonction de leur constante de temps.

Lors de l'étude des systèmes électrochimiques par impédance, les diagrammes sont souvent plus complexes. Ils font apparaître de la sortie, d'une manière générale, deux types de boucles de variations d'impédance (figure 33) :

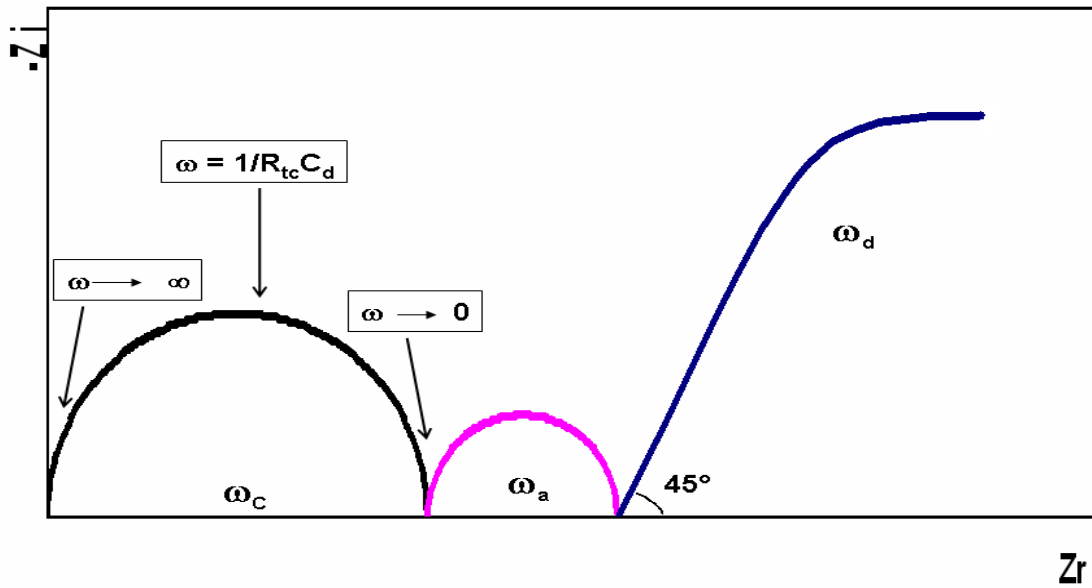


Figure 33 : Représentation de la variation de l'impédance d'un système électrochimique en fonction de la pulsation ω . Cas idéal où les pulsations ω_c , ω_a , ω_d sont suffisamment différentes les unes des autres.

Une boucle (circulaire) à haute fréquence, correspondant au couplage capacité interfaciale-résistance de transfert de charge (au potentiel E° imposé), caractérisée par la fréquence f_c (fréquence du sommet de la boucle) : cette boucle est désignée par le terme de « boucle capacitive » ; elle permet (en principe) d'atteindre les valeurs de la résistance de transfert de charge (R_{tc}) (détermination du rayon de l'arc de cercle), de la capacité de la double couche (C_d) (à partir des valeurs de f_c et de R_{tc}) et de la résistance de cellule R_c (par extrapolation de l'arc de cercle jusqu'à l'axe des réels, à fréquence infinie),

Des boucles à basse fréquence, attribuées aux phénomènes de surface, adsorption d'intermédiaires réactionnels ou processus de diffusion de surface. Cette dernière correspondant à l'intervention prédominante du processus faradique (transfert de charge à l'interface d'électrode et processus diffusionnels), le passage de courant alternatif par le processus capacitif interfacial se trouvant alors bloqué. Cette boucle que l'on désigne par le terme de « boucle de diffusion », peut être caractérisée par la fréquence de diffusion (f_d). Son amplitude mesurée sur l'axe des réels est fonction à la fois de R_{tc} et des caractéristiques du processus diffusionnel mis en jeu, notamment de l'épaisseur de la couche de diffusion.

V. 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 34 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.

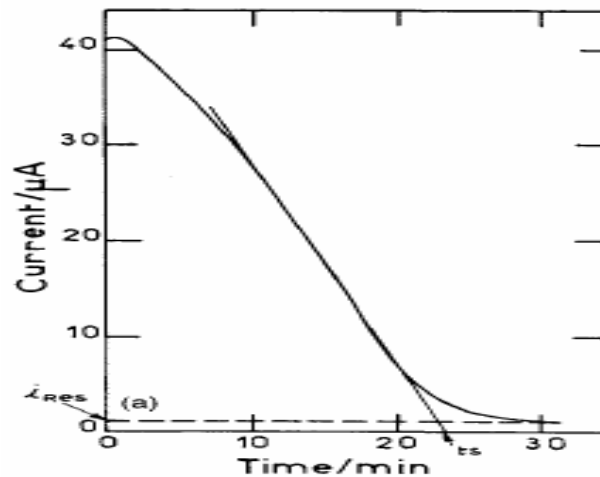


Figure 34 : Chronoampérogramme typique ; i_{res} le courant résiduel

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 [10,11]. La mise sous tension d'électrode de travail crée un courant capacitif qui s'annule rapidement.

VI. Chronopotentiométrie

Les techniques électroanalytiques font intervenir essentiellement trois grandeurs (ou une fonction qui en dérive, par exemple l'impédance électrochimique) qui sont le courant i , le potentiel E et le temps t . Etymologiquement, la chronopotentiométrie est une mesure du potentiel E en fonction du temps t . En pratique, on impose à l'aide d'un ampérostatis (générateur à courant contrôlé) l'intensité de courant qui circule entre l'électrode de travail et l'électrode auxiliaire, et on mesure la différence de potentiel existant entre l'électrode indicatrice et une électrode de référence. L'électrochimie à courant imposé peut revêtir diverses formes selon le signal d'excitation imposé i , constant ou variable avec le temps. Généralement on se limite au signal non nul (ce qui implique au moins une réaction électrochimique) et constant (Figure 35).

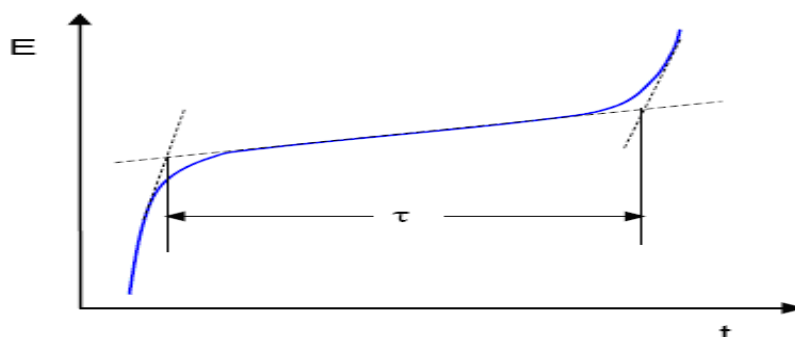


Figure 35 : Chronopotentiogramme typique d'un système électrochimique réversible

Dans le cas considéré, c'est-à-dire dans celui de l'existence d'une réaction électrochimique en régime de diffusion pure, la modification transitoire des espèces électro-actives qui en résultent entraîne une variation temporelle de la réponse à toute excitation électrique appliquée à l'électrode indicatrice. Le potentiel de l'électrode change alors rapidement de telle sorte que la réaction électrochimique d'une seconde espèce électroactive puisse produire. Le temps qui s'écoule entre l'instant où l'on impose le courant i et celui où le potentiel varie brusquement est noté τ , on l'appelle temps de transition. Le temps τ est relié à la concentration et au coefficient de diffusion de l'espèce électroactive considérée par l'équation de Sand [12] :

$$i \tau^{1/2} = 85500 n D^{1/2} A C \quad (7)$$

avec A : surface de l'électrode (cm^2),

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 forme de la courbe $E=f(t)$ dépend de la réversibilité de la réaction électrochimique.

VII. Spectrométrie infrarouge

La spectroscopie infrarouge constitue une méthode puissante d'étude des apatites. Elle fournit souvent des données structurales qui ne peuvent pas être atteintes par d'autres techniques.

Le rayonnement électromagnétique interagit avec la matière en donnant des effets différents selon l'énergie ou la fréquence qui lui est caractéristique. Les radiations infrarouges ont des nombres d'ondes comprises entre 15400 cm^{-1} et 10 cm^{-1} . Les absorptions dans le domaine de l'infrarouge sont utilisées pour l'analyse d'échantillons divers.

Le domaine infrarouge peut être divisé en trois régions :

- l'infrarouge lointain de 10 à 400 cm^{-1}
- l'infrarouge moyen de 400 à 5000 cm^{-1}
- le proche infrarouge de 5000 à 12500 cm^{-1}

L'infrarouge moyen est le plus utilisé, car la plupart des fréquences caractéristiques des groupements fonctionnels y sont situées. L'énergie de vibration des liaisons interatomiques correspond à l'énergie de rayonnements infrarouge.

Dans le cadre de ce travail, nous avons utilisé un appareil PERKIN-ELMER FTIR à transformée de Fourier (4000 - 400 cm^{-1}).

Des pastilles sont préparées par ajout du bromure de potassium à la poudre du produit (environ 2mg de poudre pour 300mg de KBr) et le mélange est homogénéisé par broyage puis comprimé.

VIII. Diffraction des rayons X

Les phases que nous avons obtenues sont identifiées par leurs diffractogrammes de poudre de diffraction des rayons X. Les enregistrements sont effectués à température ambiante, sur un diffractomètre Philips PW 1710, utilisant la radiation K_{α} du cuivre ($\lambda_{\text{Cu}} = 1.5418\text{ \AA}$).

Les enregistrements des diffractogrammes de poudre sont effectués de manière systématique, pour chaque produit synthétisé, sur l'intervalle de valeurs d'angle 2θ variant de 10 à 70 degrés, par pas de 0.02 degré, avec un temps de comptage de 1 seconde par pas.

L'identification des raies obtenues se fait par comparaison avec celles des fichiers de référence établis par Joint Committee for Powder Diffraction File (J.C.P.D.F).

En diffraction, seule la diffusion cohérente est exploitée. Un échantillon cristallin réfléchit les rayons X, mais seulement pour les angles qui vérifient la relation de Bragg :

$$2d \cdot \sin\theta = k\lambda \quad (8)$$

Connaissant la longueur d'onde du rayonnement X incident, la mesure de l'angle de réflexion permet de déterminer les distances interréticulaires caractéristiques du ou des composés cristallins.

IX. Microscopie électronique à balayage

Les poudres ont été examinées par microscopie électronique à balayage. Les poudres dispersées et collées sur le porte échantillon sont métallisées sous vide afin de les rendre conductrices.

L'examen des micrographies renseigne sur la forme des cristallites, la distribution des formes et des tailles, l'état d'agglomération, et sur la porosité.

X. Surfaces spécifiques d'échanges (méthode BET)

La méthode de la mesure de surfaces spécifiques présente l'avantage de fournir deux paramètres concernant la connaissance de la structure du solide : l'étendue de l'interface solide gaz et une estimation de l'énergie d'adsorption. Nous pouvons obtenir également une estimation de la microporosité et de la mésoporosité. La surface spécifique se détermine à partir de la mesure de la pression relative qui permet de calculer le nombre de molécules de gaz adsorbées. L'étude du graphique permet de déterminer le nombre de molécules de gaz adsorbées lorsque celles-ci forment une couche mono moléculaire, en connaissant l'aire d'encombrement d'une molécule de ce gaz, il est possible de déterminer la surface spécifique de la poudre du solide. Une calibration est toutefois nécessaire pour mesurer le volume de gaz adsorbé, car la surface spécifique dépend de la masse du solide considéré.

La surface totale de l'échantillon est donnée par l'équation :

$$St = 3.98 [1-P/P_0] [Ades/Acal] Vcal \quad (9)$$

$P/P_0 = 0,3$ pression partielle d'azote

Ades : aire du pic de désorption

Acal : aire du pic de calibration

Vcal : volume de la cellule de calibration

La surface spécifique est donnée par la formule :

$$S = St/M \quad (10)$$

M : masse de l'échantillon

Pour quelques échantillons obtenus par de nouvelles synthèses, nous avons fait une mesure BET sur un appareil Micromeritics ASAP 2010 (Micromeritics, France).

XI. Microscopie à Force Atomique (AFM)

Le microscope à force atomique appartient à la famille de microscopes à champ proche SPM2 (ou à sonde locale) dont le principe repose sur les interactions entre la sonde (une nanopointe) et la surface d'un échantillon. La taille « nanométrique » de la sonde confère le caractère local à ces microscopies. Ces techniques ont pris de plus en plus d'importance dans la caractérisation de matériaux grâce à leur capacité d'imager depuis l'échelle micrométrique jusqu'à l'échelle moléculaire ou atomique.

Les champs d'applications de ces techniques sont très vastes puisque n'importe quelle grandeur physique mesurable peut donner lieu à un microscope à sonde locale. Par exemple, le microscope à effet Tunnel (STM3) détecte un courant tunnel du système métal-isolant-métal constitué par la pointe, ce qui permet d'accéder à l'information de type taille, forme et périodicité, rugosité de surface, structure électronique et résolution atomique. Ce type de microscope ne permet d'imager, en général, que des surfaces métalliques ou semi-conductrices, contrairement à l'AFM qui peut s'appliquer à n'importe quel type de surface quelles que soient ses propriétés électriques, comme les polymères et les matériaux biologiques [14, 15, 16,17].

L'élément de base de ce microscope est une pointe nanométrique solidaire d'un microlevier. Comme son nom l'indique, le principe de ce nouveau microscope consiste à mesurer les forces d'interactions atomiques entre les atomes du bout de la pointe et ceux de la surface de l'échantillon à étudier, ces forces sont appelées forces de Van der Waals et dépendent fortement de la distance pointe-surface. La mesure de ces forces permet de remonter à la topographie de la

surface balayée par la pointe AFM. En effet, une image est obtenue en mesurant et en enregistrant l'évolution de ces forces quand la pointe balaye l'échantillon dans les directions x et y de l'espace. Par ailleurs, l'échantillon est monté sur un support piézoélectrique, ce qui permet son positionnement dans les trois dimensions de l'espace.

X.II. Microscopie optique

Le microscope en réflexion est un microscope optique permettant d'observer des objets opaques ou épais. Il permet d'illuminer et d'observer l'échantillon du même côté (figure 36). La [lumière](#) observée provenant de l'échantillon n'est donc pas transmise (elle ne le traverse pas), mais réfléchie. La lumière arrive par l'objectif pour atteindre l'objet, puis est réfléchie et réacheminée vers l'objectif par un système de [miroirs](#).

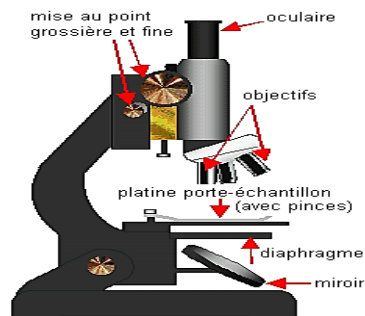


Figure 36: Schéma d'un microscope optique en réflexion

References

- [1] Natural phosphate comes from CERPHOS, Casablanca, Morocco
- [2] Kaolin comes Northeast of Douala country. Cameroun.
- [3] Girault, H. H. (2001). *Electrochimie physique et analytique*, Presses polytechniques et universitaire romandes.
- [4] Kemula, W., & Kublik, Z. (1958). Observation of Transient Intermediates in Redox Processes by Variable Voltage Oscillo-polarography and Cyclic Voltammetry. *Nature*, 182(4638), 793-794..
- [5] Nicholson, R. S. (1965). Some examples of the numerical solution of nonlinear integral equations. *Analytical Chemistry*, 37(6), 667-671.
- [6] Bard, A. J., Faulkner, L. R., & Brisset, J. L. (1983). *Electrochimie: principes, méthodes et applications*. Masson..
- [7] Adams, R. N., & Adams, R. N. (1969). *Electrochemistry at solid electrodes* (No. 541.37). M. Dekker.
- [8] Nicholson, R. S., & Shain, I. (1964). Theory of stationary electrode polarography. Single scan and cyclic methods applied to reversible, irreversible, and kinetic systems. *Analytical Chemistry*, 36(4), 706-723.
- [9] Skládal, P. (1997). Advances in electrochemical immunosensors. *Electroanalysis*, 9(10), 737-745
- [10] Gabrielli, C., Keddou, M., Perrot, H., Khalil, A., Rosset, R., & Zidoune, M. (1996). Characterization of the efficiency of antiscaling treatments of water Part I: Chemical processes. *Journal of applied electrochemistry*, 26(11), 1125-1132..
- [11] Epstein, B. D., Dalle-Molle, E., & Mattson, J. S. (1971). Electrochemical investigations of surface functional groups on isotropic pyrolytic carbon. *Carbon*, 9(5), 609-615.
- [12] Snoeyink, V. L., & Weber Jr, W. J. (1972). Surface functional groups on carbon and silica. *Progress in surface and membrane science*, 5, 63-119.
- [13] Sand, H. J. (1901). III. On the concentration at the electrodes in a solution, with special reference to the liberation of hydrogen by electrolysis of a mixture of copper sulphate and sulphuric acid. *The London, Edinburgh, and Dublin Philosophical Magazine and Journal of Science*, 1(1), 45-79
- [14] Albrecht, T. R., & Quate, C. F. (1987). Atomic resolution imaging of a nonconductor by atomic force microscopy. *Journal of Applied Physics*, 62(7), 2599-2602.
- [15] Alves, C. A., Smith, E. L., & Porter, M. D. (1992). Atomic scale imaging of alkanethiolate monolayers at gold surfaces with atomic force microscopy. *Journal of the American Chemical Society*, 114(4), 1222-1227.

- [16] Hillner, P. E., Gratz, A. J., Manne, S., & Hansma, P. K. (1992). Atomic-scale imaging of calcite growth and dissolution in real time. *Geology*, 20(4), 359-362.
- [17] Manne, S., Hansma, P. K., Massie, J., Elings, V. B., & Gewirth, A. A. (1991). Atomic-resolution electrochemistry with the atomic force microscope: copper deposition on gold. *Science*, 183-186.

Chapitre III

Electrodes à pâte de carbone modifiée par le phosphate et/ ou l'argile et bactéries pour l'oxydation du phénol

I. Electrode à pâte de carbone modifiée par le phosphate naturel

I.1. Caractérisation de phosphate naturel

La morphologie de la surface de phosphate naturel a été observée par microscopie électronique à balayage (figure 37), calcination à 900 °C pendant une heure et lavage à l'eau distillée, cette opération a pour but l'élimination des impuretés organiques, nous obtenons des particules compactes de fractions comprises entre 100 et 400 μm riches en phosphate[1]. Le phosphate naturel traité a la composition chimique suivante : CaO (54.12%), P₂O₅ (34.24%), F⁻ (3.37%), SiO₂ (2.42%), SO₃ (2.21%), CO₂ (1.13%), Na₂O (0.92%), MgO (0.68%), Al₂O₃ (0.46%), Fe₂O₃ (0.36%), K₂O (0.04%) et plusieurs métaux d'ordre de ppm.

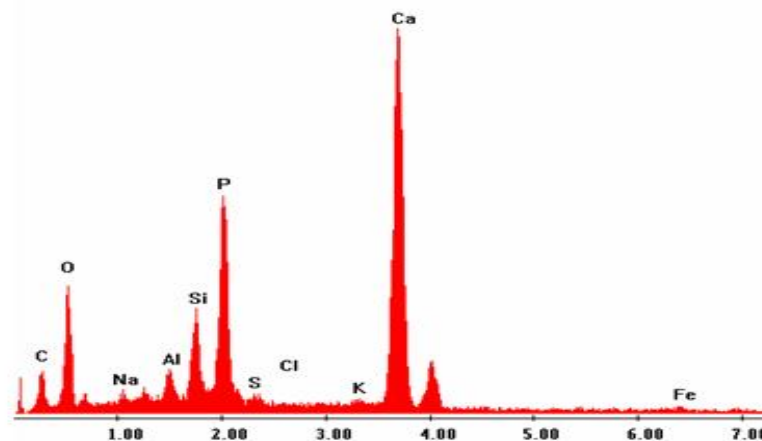
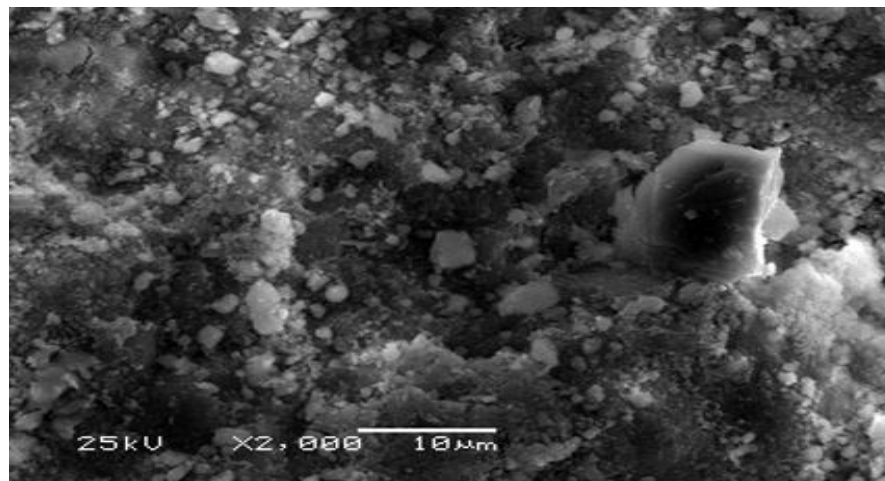


Figure 37 : Micrographie électronique de phosphate naturel

La structure cristallographique de la matière est semblable à celle de la fluoroapatite ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$), comme il est montré par la diffraction des rayons X (figure 38) et la spectroscopie d'émission infrarouge (figure 39). Le réseau de la fluoroapatite est très tolérant de substitutions

est des sites vacants ; par exemple le Ca peut être remplacé par Sr, Pb, Co et Na, PO_4 par AsO_4 , VO_4 et SO_4 et F^- peut être remplacé par OH^- et Cl^- . Le phosphate naturel présente une faible surface spécifique de l'ordre de $1\text{m}^2\text{g}^{-1}$.

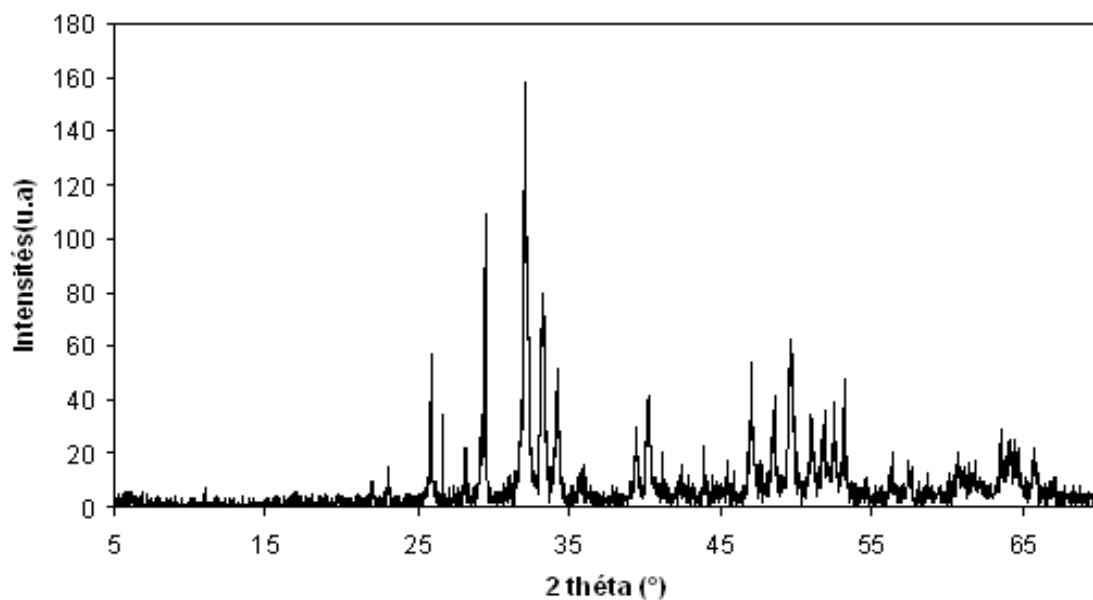


Figure 38: Spectre de diffraction X de phosphate naturel après traitement

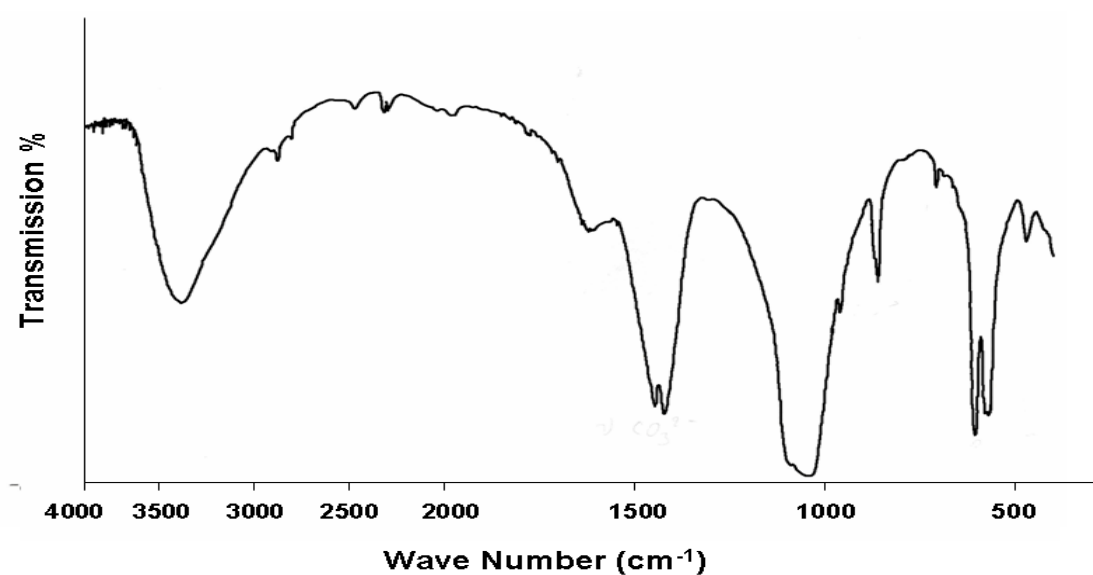


Figure 39 : Spectre d'adsorption infrarouge de phosphate naturel traité à 900°C

I.2.Caractérisations électrochimiques de l'immobilisation des bactéries sur la surface de l'électrode

a- Formation d'un biofilm à la surface de l'électrode

La formation des biofilms à la surface d'un support métallique est un phénomène très complexe, qui a fait l'objet de plusieurs recherches. Le développement de biofilms est principalement étudié dans la recherche médicale et agroalimentaire, où la formation des biofilms est non désirée et menace souvent la vie publique. En revanche d'autres domaines de recherche, tels que le traitement microbien des eaux usées ou encore les biopiles, font intervenir des microorganismes immobilisés à la surface d'un support métallique, et par conséquent dans ces domaines on cherche plutôt à améliorer l'adhésion des biofilms à la surface.

La formation d'un biofilm à la surface d'un support a lieu suivant plusieurs étapes [2] (figure 40).

Dans une première étape, les microorganismes en suspension s'adhèrent sur la surface à coloniser, puis d'autres bactéries s'accumulent en couches multiples autour et sur les premières bactéries immobilisées, c'est la maturation du biofilm. Une matrice extracellulaire est alors sécrétée, elle a pour rôle le revêtement des bactéries du biofilm. Selon la nature de l'espèce bactérienne, cette matrice comprend des molécules très variées, des exopolysaccharides, des protéines, l'ADN extracellulaire, Le rôle de ce film est la formation d'un gel qui permet la cohésion du biofilm et lui assure une résistance à diverses agressions extérieures. La dernière étape correspond au détachement de quelques bactéries du biofilm, qui sont prêtes à coloniser de nouveau.

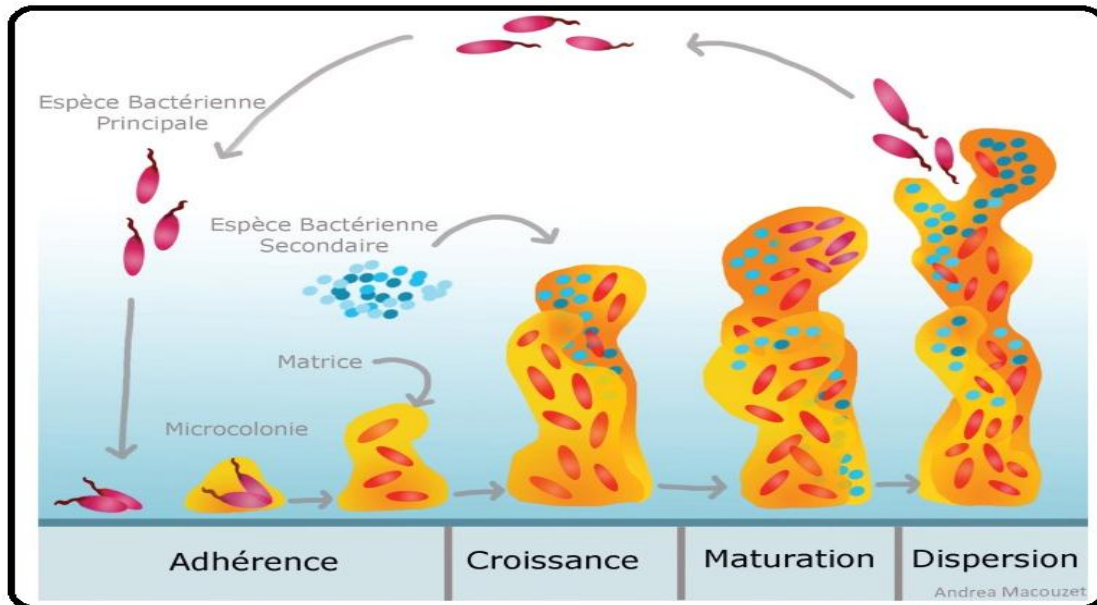


Figure 40 : Schéma du développement d'un biofilm à la surface d'un support métallique

b- Modification de l'électrode de pâte de carbone par le phosphate naturel (NP)

Le NP est utilisé pour jouer le rôle d'espaceur entre la surface du carbone et le biofilm, afin d'assurer une bonne conductivité électrique à travers l'électrode. Plusieurs études ont montré l'utilité d'un film espaceur, qui est déposé par différentes méthodes, telle que la pulvérisation cathodique de l'or ou du palladium sur une surface de carbone [4], qui a permis après déposition d'un biofilm de *Shewanella oneidensis*, la génération d'un courant électrique plus important, que celui obtenu en absence de l'espaceur. Ce résultat pourrait être expliqué par le fait que la modification entraîne une grande surface disponible pour l'adhésion des bactéries. Des auteurs [5-6] ont liés l'augmentation des performances des bio électrodes avec espaceur aux transferts électroniques générés par les médiateurs redox sécrétés qui nécessitent une grande surface disponible, exemple, les bactéries *S. oneidensis* connues pour sécréter des médiateurs de type flavine qui assurent le transfert électronique vers l'électrode [7-8].

I.2.1. Caractérisation par la voltammétrie cyclique

La Figure 41 illustre les voltammogrammes cycliques enregistrés respectivement pour les électrodes CPE-NP et CPE-NP-bactéries, à la même vitesse de balayage de potentiel 100 mV/S, en milieu électrolytique NaCl (0.1M), nous pouvons remarquer que la présence des bactéries à la surface de l'électrode entraîne une légère augmentation des densités de courant électrique. Le voltammogramme cyclique a gardé la même allure ce qui montre que la présence des bactéries à

la surface ne modifie pas les caractéristiques électrochimiques de l'électrode, mais augmente son activité.

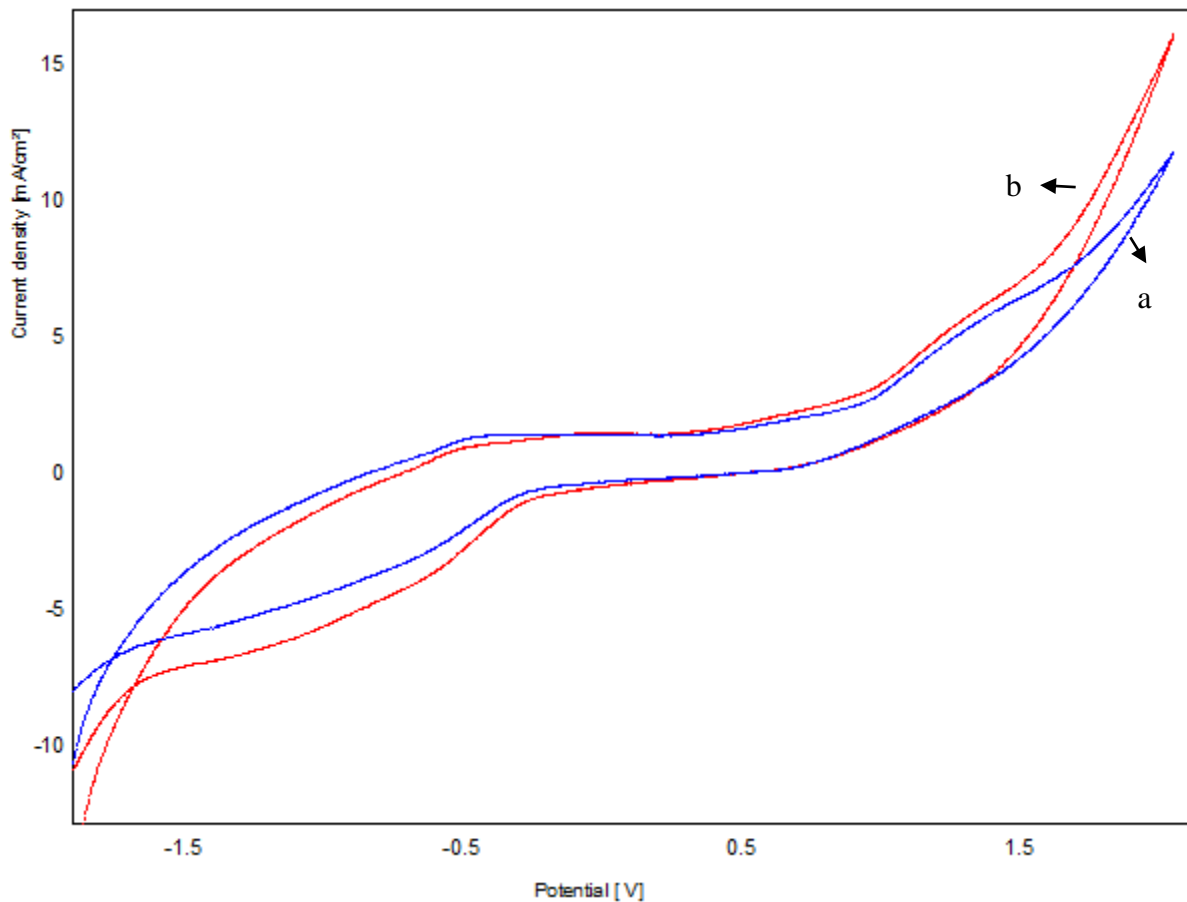


Figure 41 : Voltammogrammes cycliques obtenus pour, a- CPE-NP et b- CPE-NP- bactéries
En solution 0,1M de NaCl (pH=7) avec une vitesse de balayage de 100 mV/S.

I.2.2. Effet du temps de contact de l'électrode avec la suspension des bactéries

I.2.2.1 Caractérisation par la spectroscopie d'impédance

De nombreux travaux [9-10] ont montré que les mesures d'impédance électrochimique sont susceptibles de révéler les étapes élémentaires impliquées dans le processus globaux à l'interface métal/solution. Ces travaux semblent prouver que cette technique est particulièrement adaptée à la détermination du mode d'interaction à la surface, et permet de suivre l'évolution des modifications à la surface en fonction de plusieurs paramètres. Elle permet aussi d'explicitier les processus chimiques ou électrochimiques se développant à travers des couches formées à la surface. Dans notre cas, à partir des diagrammes d'impédance réalisés au potentiel de corrosion E_{corr} , nous accédons à R_t et à C_{dl} .

Les résistances de transfert de charge R_t , sont calculées à partir de la différence d'impédance aux hautes et basses fréquences sur l'axe des réels [11].

La capacité de la double couche C_{dl} , est déterminée à la fréquence pour laquelle la partie imaginaire de l'impédance est maximale, les valeurs de la capacité de la double couche sont calculées en utilisant l'équation :

$$f(-Z_{\max}) = 1/2\pi C_{dl}R_t$$

Une électrode à base de CPE-NP exposée avec une surface circulaire (0.1256 cm²) à une solution aqueuse contenant les bactéries est utilisée comme électrode de travail. Les mesures d'impédance sont effectuées, à un potentiel imposé, à différents temps d'immersion en solution aérée à 25°C.

La Figure 42 représente les diagrammes d'impédance (EIS) enregistrés en milieu électrolytique pour des électrodes CPE-NP-bactéries, préparées selon le même protocole, à différents temps de contact de l'électrode avec la suspension des bactéries.

Dans tous les cas, l'EIS a la forme d'une demi-boucle qui apparaît à hautes fréquences, et pourra être attribuée au processus de transfert des électrons. Le diamètre de la demi-boucle correspond à la résistance de transfert des électrons, la valeur de cette résistance baisse avec l'augmentation du temps de contact, ce qui montre que l'immobilisation des bactéries à la surface de l'électrode dépend fortement du temps de contact.

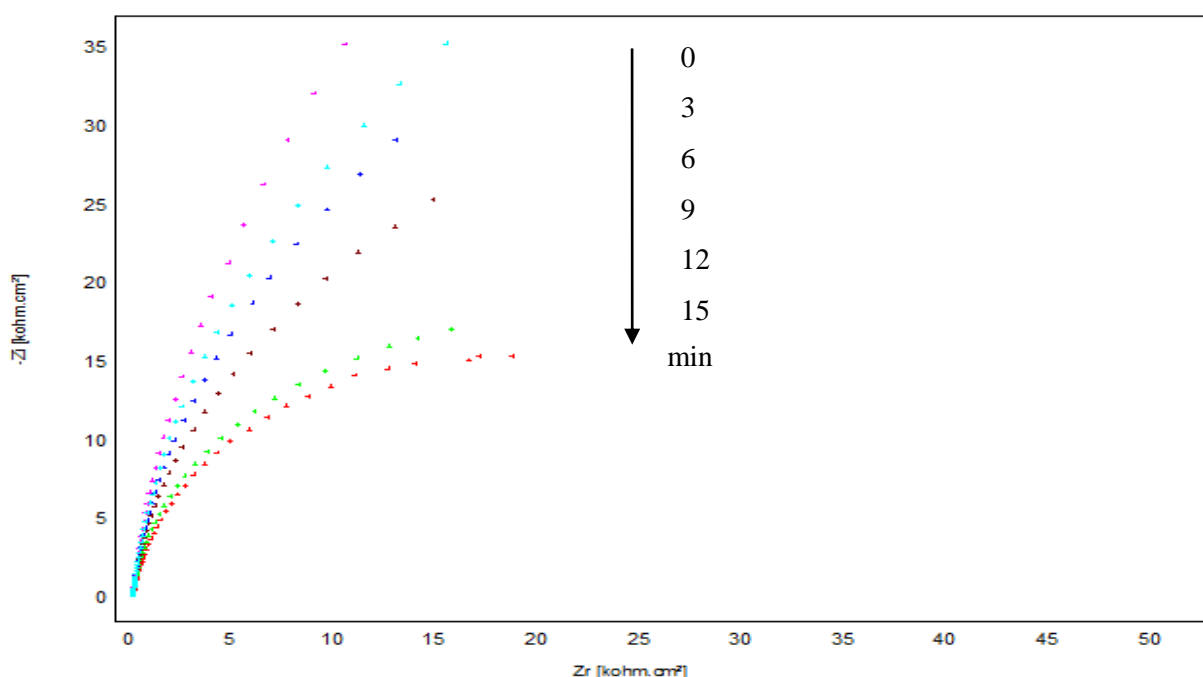


Figure 42 : Diagramme d'impédance à différents temps de contact de CPE-NP avec les bactéries.

Le bio film déposé à la surface de l'électrode constitue une double couche qui possède une capacité exprimée en $\mu\text{F}/\text{cm}^2$, dont la valeur augmente linéairement avec le temps de contact (figure. 43). Ce qui laisse suggérer que les bactéries forment des couches juxtaposées les une sur les autres.

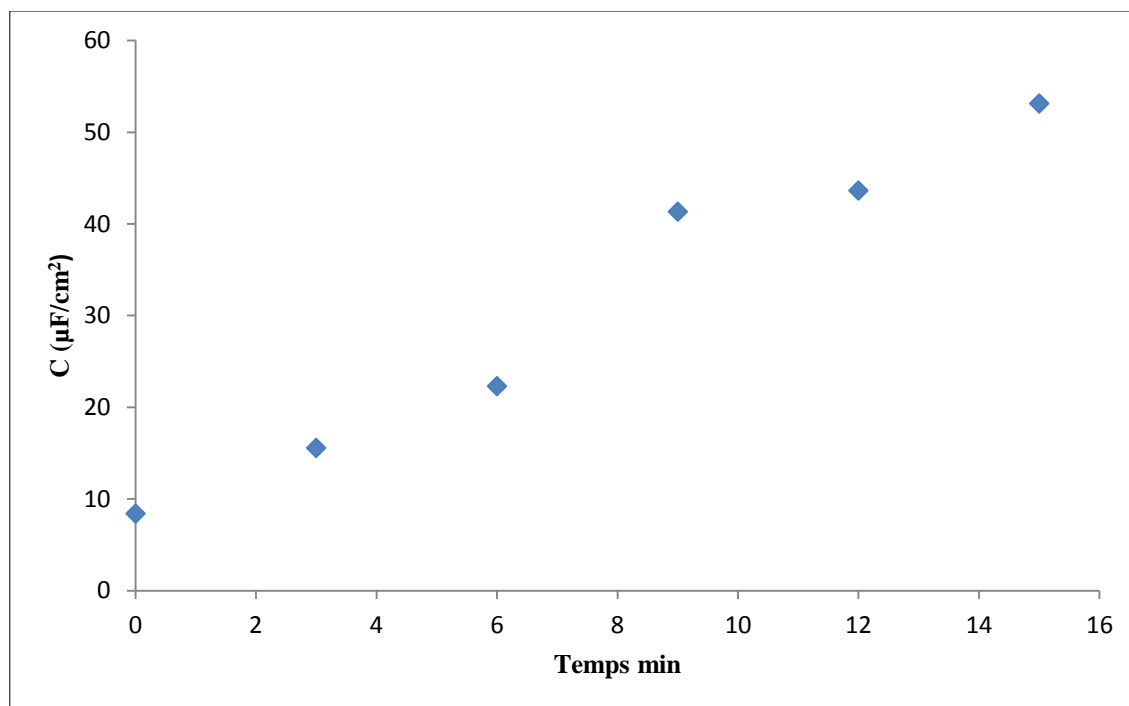


Figure 43 : Evolution de capacité de double couche en fonction du temps de contact entre CPE-NP et bactérie.

I.3. Analyse électrochimique du phénol

I.3.1. Dégradation du phénol

La catalyse de l'oxydation du phénol par la bio électrode élaborée, CPE-NP-bactérie, a été investie par voltamétrie cyclique (VC), à 100 mV/s en solution électrolytique 0.1M NaCl. La figure 44 montre les VC's enregistrés sur CPE-NP-bactérie, dans une solution électrolytique 0.1M NaCl, en présence et en absence du phénol (4 mmol/L), dans un intervalle de potentiel compris entre -2 V et 2 V. On constate la présence de 3 pics anodiques, respectivement à 0,019 V, 0,6 V et à 1,06 V attribuées à l'oxydation du phénol et ses dérivés, nous proposons le mécanisme ci-dessous :

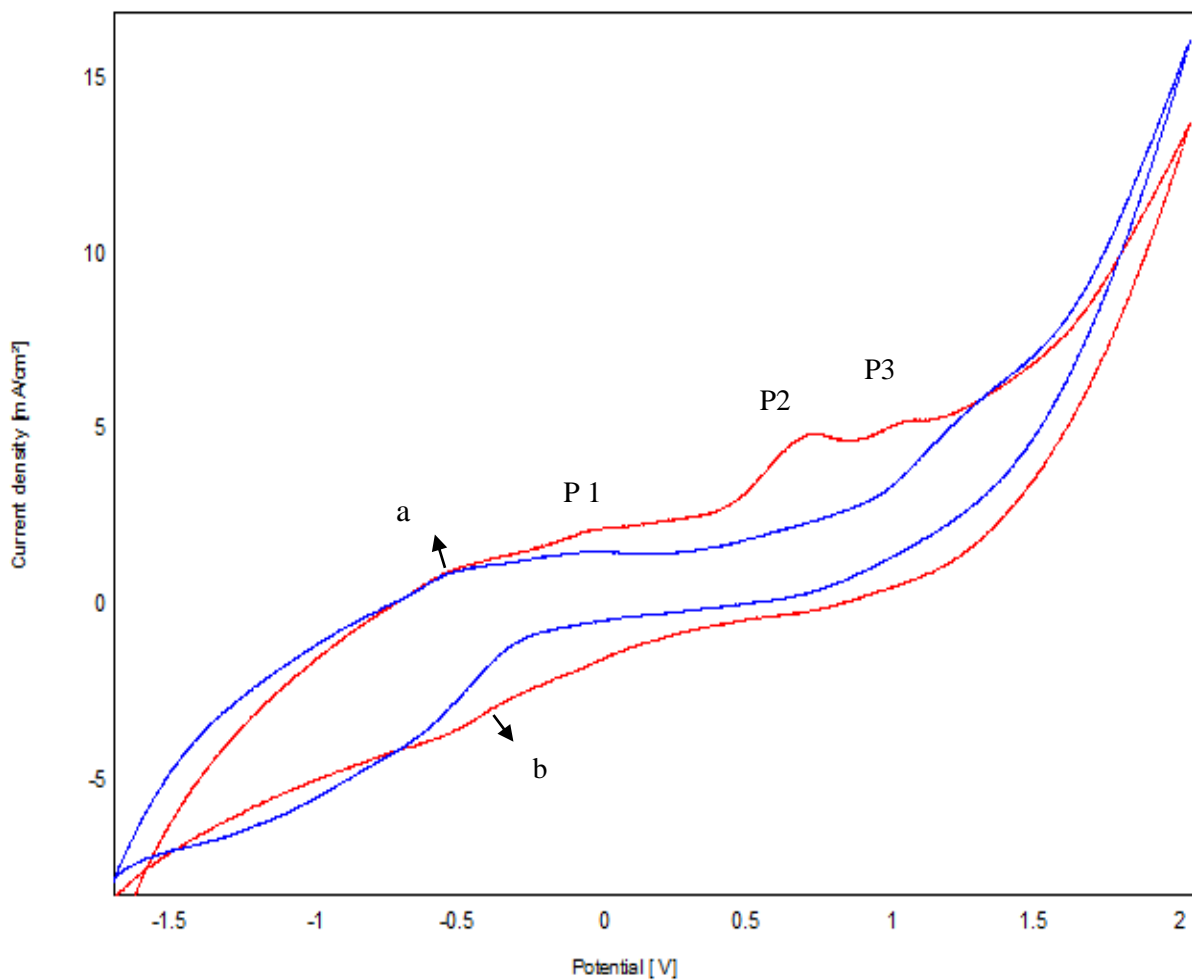
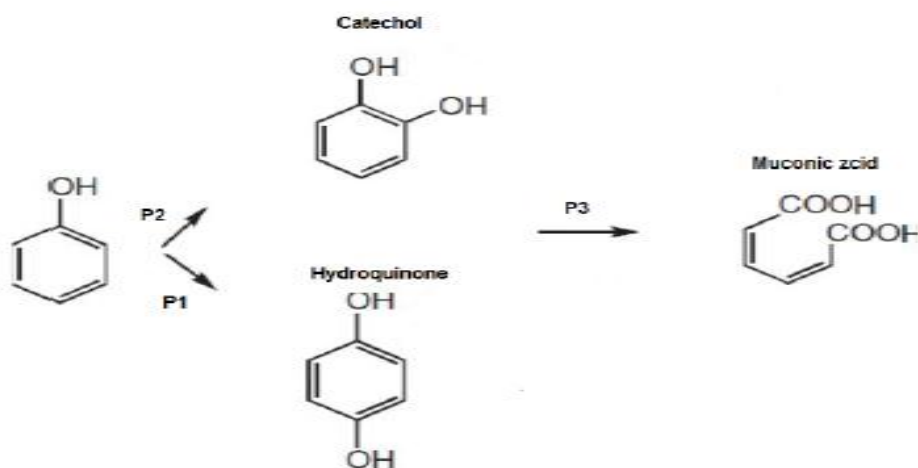


Figure 44 : Voltamogrammes cycliques obtenus par CPE-NP-bactérie en absence (a) et en présence (b) de 4 mM de phénol dans 0,9 M de NaCl (pH=7) avec une vitesse de balayage de 100 mV/S.

L'oxydation du phénol dans ce cas, se passe par catéchol et hydroquinone et s'arrête au niveau de l'acide muconique.



I.4.Effet de la vitesse de balayage

Pour étudier les dépendances du processus d'électro oxydation du phénol avec la vitesse de balayage, les voltamogrammes cycliques sont enregistrés pour une gamme de vitesses comprise entre 40 et 140 mV/S. Les VC's correspondant à l'électro oxydation du phénol sont présentés à la figure 45. On remarque que les pics d'oxydation se déplacent vers des valeurs plus anodiques et le pic de réduction prend des valeurs de plus en plus cathodiques, et leurs densités de courant augmentent avec la vitesse de balayage. D'après ces courbes, on peut tracer $I_p = f(\sqrt{v})$, ou I_p est la densité de courant du pic considéré. La nature de cette dépendance nous permet de déterminer la nature de notre régime. Les courbes tracées pour tous les pics, sont presque linéaires (figure 46), ce qui montre que le système est diffusionnel [7], et les réactions correspondantes sont purement électrochimiques.

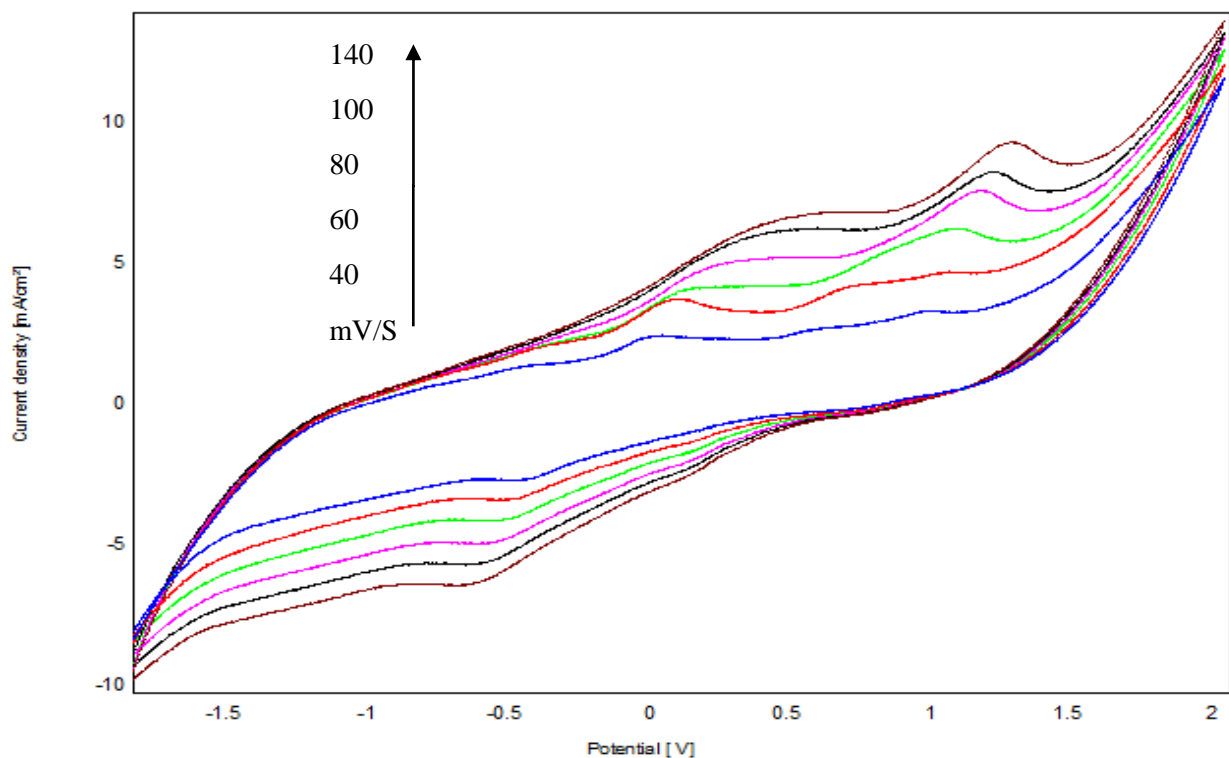


Figure 45 : Voltamogrammes enregistrés par CPE-NP-bactérie avec 8 mM du phénol dans 0,1 M de NaCl (pH=7) à différentes vitesses de balayage de 40 à 140 mV.s-1.

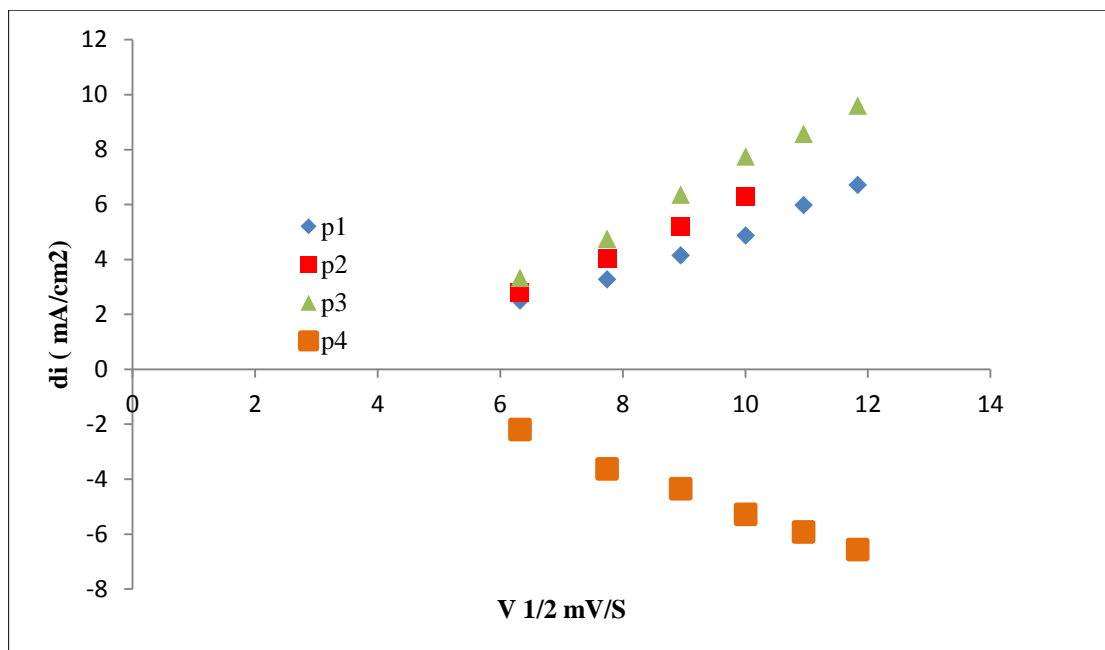


Figure 46 : Influence de la racine de la vitesse de balayage sur l'intensité des pics d'oxydation du phénol obtenus par VC à la surface de CPE-NP-bactérie.

I.5. Etude électrochimique de l'effet de la concentration du phénol sur la surface de CPE-NP-bactéries.

I.5.1 Caractérisation par la voltammétrie cyclique

La Figure 47 montre l'effet de la variation de la quantité de phénol sur les voltammogrammes cycliques enregistrés, pour l'électrode de carbone modifiée par phosphate naturel et les bactéries (CPE-NP-bactérie), en milieu électrolytique NaCl (0.1M), la vitesse de balayage est fixée à 100 mV/s.

Nous constatons que la hauteur des pics augmente avec la concentration du phénol.

Les pics anodiques se déplacent vers les potentiels positifs avec l'augmentation de concentration les pics cathodiques se déplacent vers les potentiels négatifs, au fur et à mesure que les concentrations. Il paraît que la bio électrode élaborée se dispose d'une surface active très importante, sachant que le processus d'adsorption à la surface de l'électrode est déterminant dans la catalyse du phénol.

Nous avons établi la courbe de calibration à partir des voltamétrie à onde carré par addition progressive du phénol dans la solution électrolytique. Cette courbe est présentée sur la figure 48.

Les densités de courant des pics anodiques augmentent linéairement avec la concentration du phénol. Cette linéarité est exprimée, respectivement pour chaque pic par les suivantes :

Tableau 5 : Les équations de corrélation calculée pour chaque pic pour électrode CPE-NP-bactérie.

Ipa ₁	di = 0,032x [phenol] + 0,612	R ² = 0,982
Ipa ₂	di = 0,011x [phenol]+ 0,552	R ² = 0,989
Ipa ₃	di = 0,023x [phenol] + 0,561	R ² = 0,983
Ipc ₁	di = -0,029x [phenol]- 0,637	R ² = 0,963

D'après Miller et Miller [34], la déviation standard du courant moyen (SD) mesuré au potentiel d'oxydation du phénol pour sept voltammogrammes de la solution vierge en milieu électrolytiques pur, peut être modélisée par l'équation :

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

Où i_j est la valeur expérimentale du courant calculé à la manipulation j 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×S.D./pente) et la quantification limite (QL, 10×S.D./pente).

De cette équation nous déduisons les valeurs suivantes :

Tableau 6 : Les limites de détections et quantifications calculées pour l'électrode CPE-NP-bactérie en présence du phénol.

Pics	La limite de détection	La limite de quantification
Pa ₁	1.569.10 ⁻⁷	8.631.10 ⁻⁷
Pa ₂	2.882.10 ⁻⁸	4.236 ⁻⁷
Pa ₃	5.012.10 ⁻⁸	2.007.10 ⁻⁷
Pc	4.557.10 ⁻⁸	1.965.10 ⁻⁷

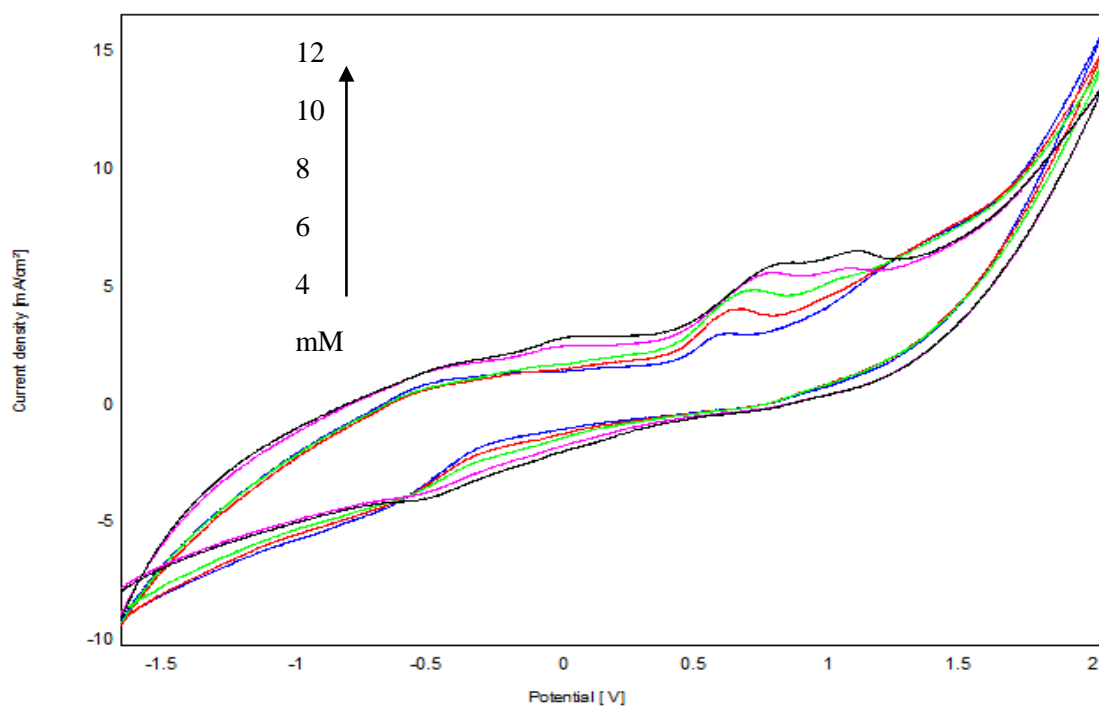


Figure 47 : Voltamogrammes cycliques à différentes concentrations du phénol (de 2 mM à 12 mM) dans 0,1 M de NaCl (pH = 7) sur CPE-NP-bactérie, $V = 100 \text{ mV.S}^{-1}$.

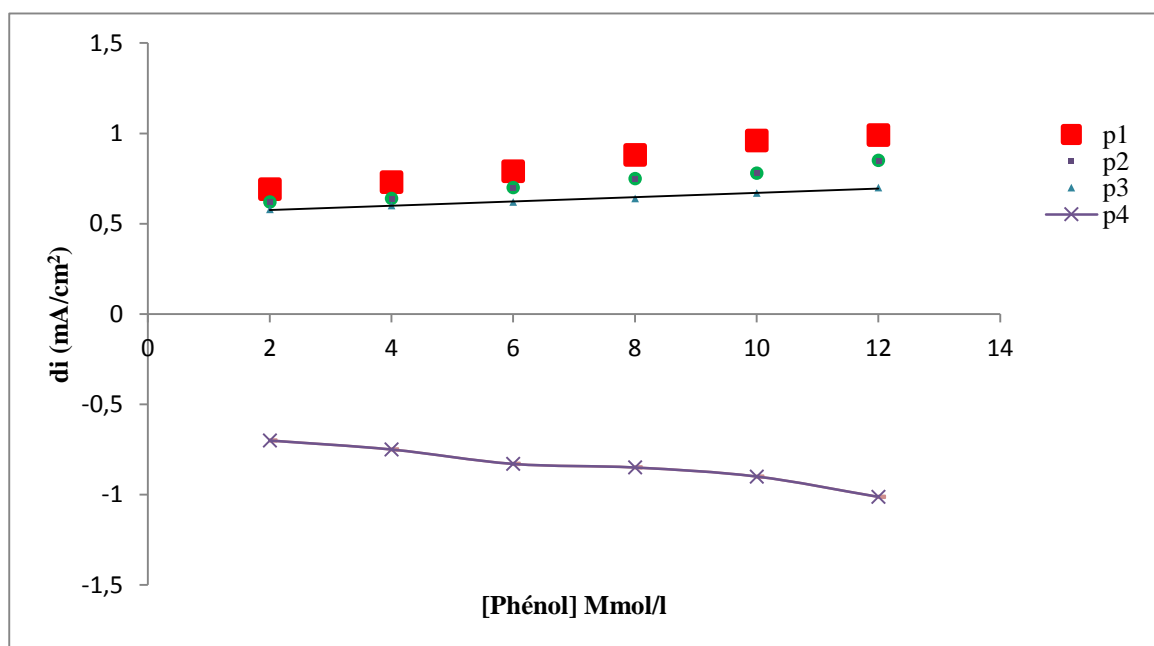


Figure 48 : Influence de la concentration du phénol sur l'intensité des pics d'oxydation obtenus par VC à la surface de CPE-NP-bactérie.

I.5.2. Caractérisation par Spectroscopie d'impédance

L'effet de concentration du phénol sur l'électrode CPE-NP-bactérie a été étudié également par spectroscopie d'impédance. La figure 49 montre que les courbes de spectroscopie d'impédance ont la forme d'un demi-cercle pour toutes les concentrations du phénol dans la zone de hautes fréquences, qui pourraient être attribuées au processus de transfert d'électrons. Il apparaît clairement que la résistance de transfert baisse avec l'augmentation de la concentration du phénol, ce qui signifie que l'électrode dispose d'un nombre important de sites actifs.

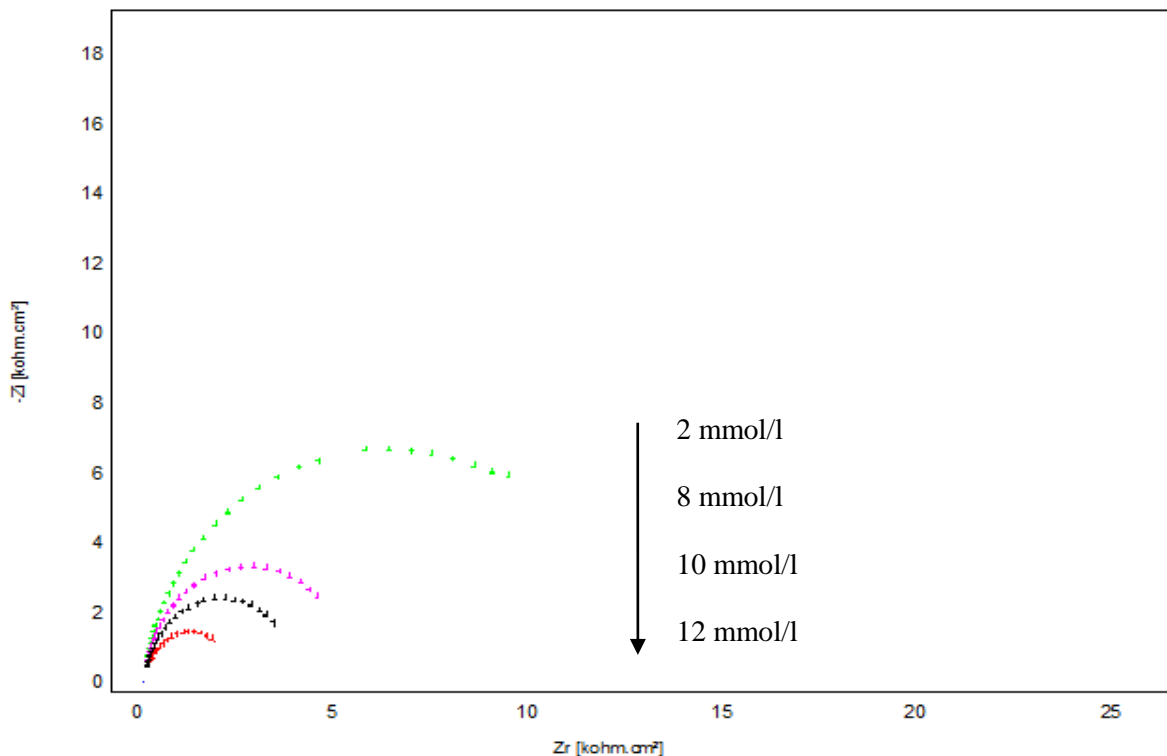


Figure 49 : Diagramme d'impédance à différents temps de contact de CPE-NP avec la bactérie.

I.6. Evaluation de l'activité de l'électrode modifiée bactérie-NP-CPE pour la biodétection du phénol

I.6.1. Etude voltamétrique

La figure 50 représente les voltamogrammes cycliques obtenus en présence de 6 mM du phénol, respectivement sur CPE-NP et CPE-NP-bactérie, avec une vitesse de balayage égale 100mVs^{-1} dans la plage potentiel comprise entre -2V à 2V en milieu électrolytique de NaCl (0.1) M.

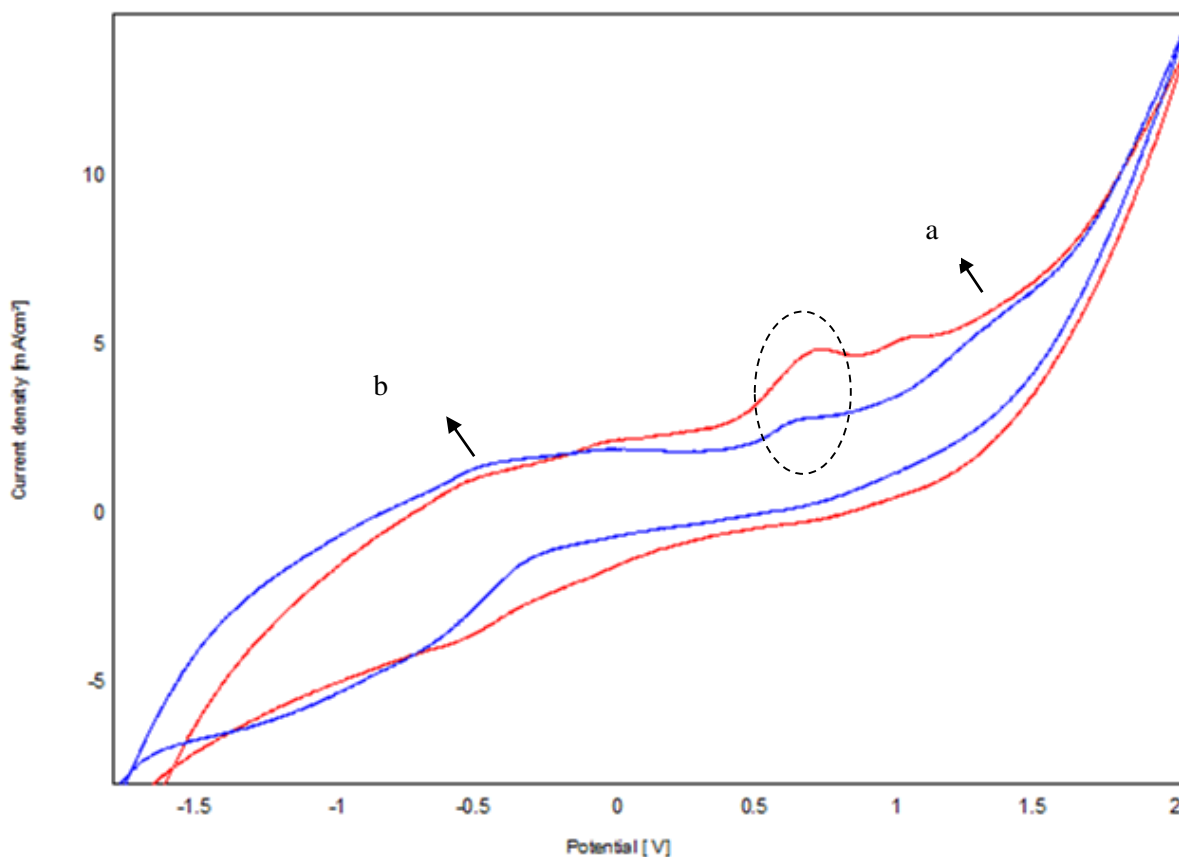


Figure 50 : Voltammogrammes cycliques obtenus par CPE-NP-bactérie (a) et CPEE-NP (b) en présence de 6 mM de phénol dans 0,1 M de NaCl (pH=7) avec une vitesse de balayage de 100 mV/S.

Sur cette figure nous illustrons une étude comparative de l'effet de la présence de bactérie sur la surface d'électrode sur le pic d'oxydation du phénol. Nous constatons que la présence de bactérie a un effet remarquablement plus que son absence.

Au terme de ce travail nous proposons une équation mathématique qui permet le calcul de l'activité générée par les bactéries immobilisée sa surface de l'électrode, vis-à-vis de l'oxydation du phénol :

$$\alpha = \left(1 - \frac{I_{bact}}{I}\right) \times 100$$

I_{bact} : est la valeur du courant de pic d'oxydation du phénol,

I : est la valeur du courant de pic d'oxydation du phénol en absence des bactéries.

$$\alpha_{\text{pic3}} = (1 - (5.669/4.134)) \times 100$$

$$= 37.13 \%$$

I.6.2. Courbes de calibration

Les courbes de calibration ont été tracées pour la détection du phénol par voltamétrie à onde carrée (figure 51), en utilisant les deux électrodes CPE-PN et CPE-NP-bactérie (figure 52). Ces expériences sont réalisées sous les conditions optimisées décrites auparavant (tableau 7) dans la gamme de concentration comprise entre 2 et 10 mmol l⁻¹.

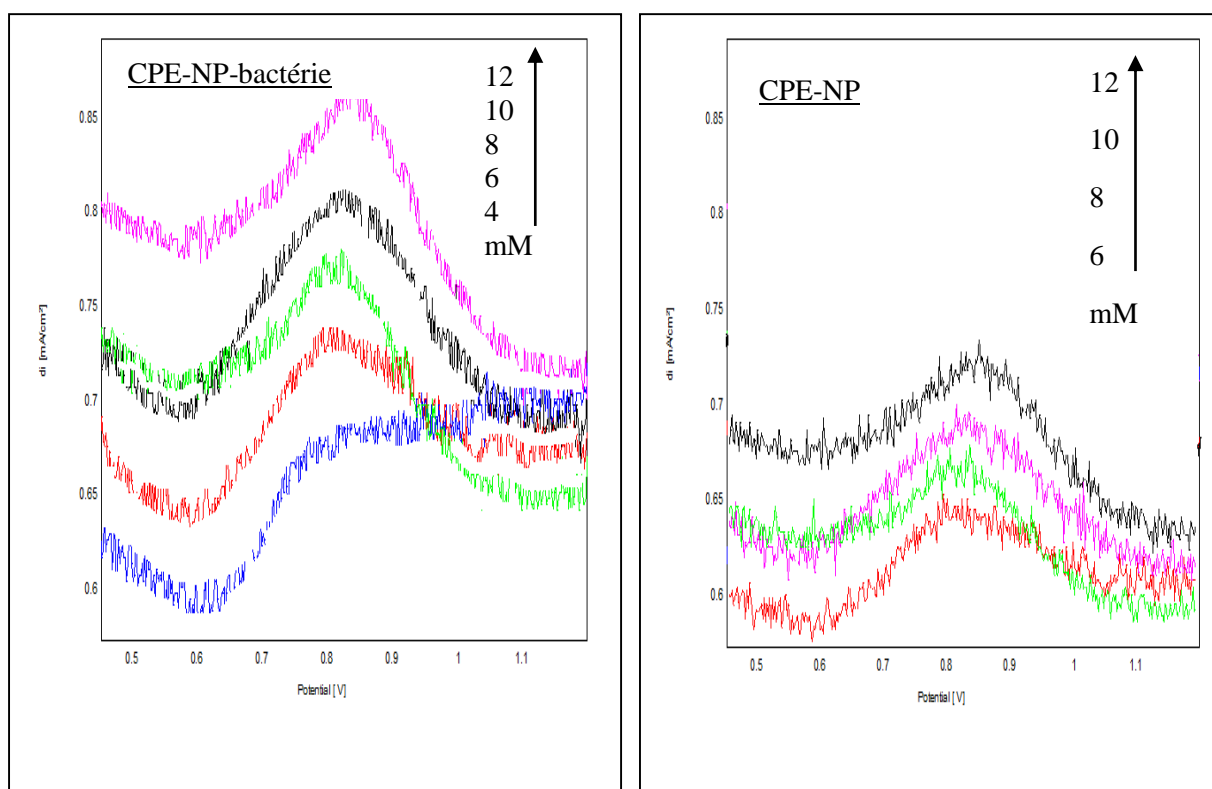


Figure 51 : Voltammogrammes à onde carrée enregistrés à différentes concentrations de phénol (4 mM à 12 mM) dans 0,1 M de NaCl sur CPE-NP et CPE-NP-bactérie

Le Tableau 7 regroupe Les équations de corrélation et les limites de détections et quantifications calculées pour les deux électrodes CPE-NP et CPE-NP-bactérie :

Tableau 7 : Les équations de corrélation et les limites de détections et quantifications calculées pour les deux électrodes CPE-NP et CPE-NP-bactérie.

Electrode	Equation	R ²	D.L (mol.L ⁻¹)	Q.L (mol.L ⁻¹)
CPE-NP +Phénol	di = 0,017x + 0,647	R ² = 0,964	3.041.10 ⁻⁶	1.14.10 ⁻⁵
CPE-NP- Bactérie+phénol	di= 0,017x + 0,427	R ² = 0,993	5.012.10 ⁻⁸	2.007.10 ⁻⁷

La présence du bio film à la surface de l'électrode CPE-NP, entraine une augmentation des densités de courant d'oxydation du phénol (figure 52). Les bactéries catalysent la dégradation du phénol.

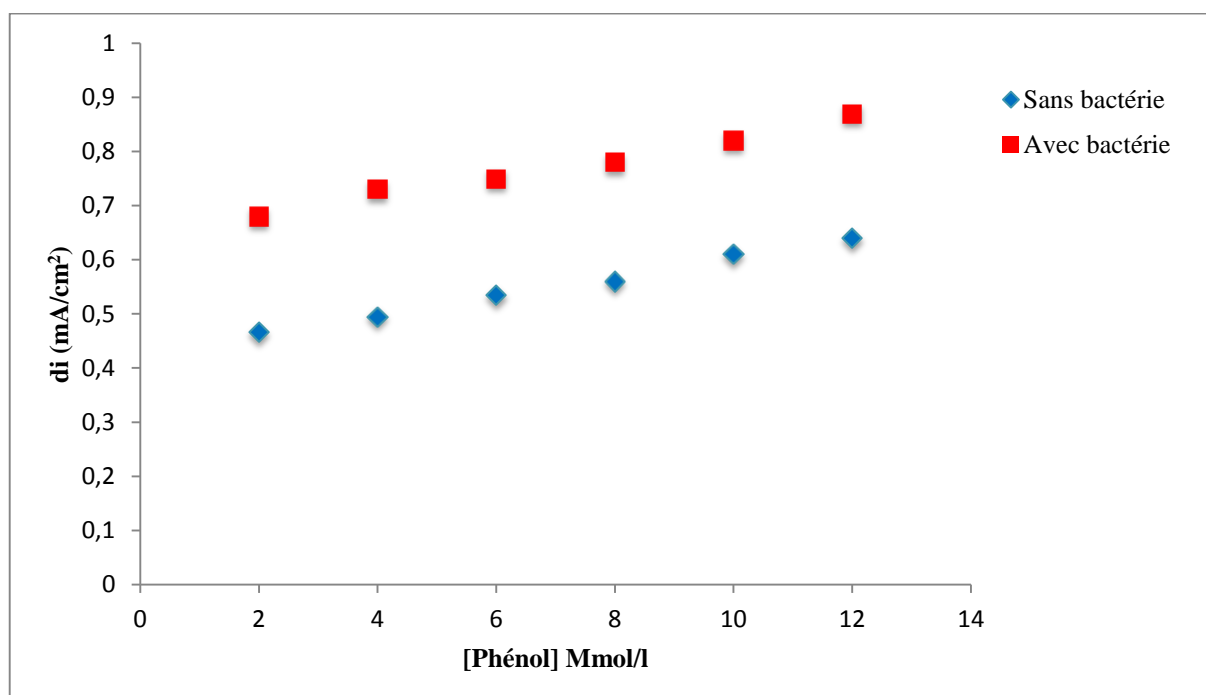


Figure 52 : Influence de la concentration du phénol sur l'intensité d'un pic d'oxydation obtenus par enregistrés par les électrodes CPE-NP et CPE-NP –bactérie.

D'après le Tableau7, les limites de détections et quantifications calculées pour l'électrode CPE-NP sont de l'ordre 3,041.10⁻⁶ et 1,14.10⁻⁵, et pour l'électrode CPE-NP-bactérie sont respectivement, de l'ordre de 5,012.10⁻⁸ et 2,007.10⁻⁷. Les limites de détection et quantification

calculées pour l'électrode bactérie –NP-CPE sont largement inférieure sa celles obtenues pour l'électrode CPE-NP, ce confirme que la présence d'un biofilm à la surface de l'électrode améliore sa sensibilité et augmente son activité pour la détection du phénol.

I.7. Mécanisme de biodégradation du phénol

La Figure 53 présente l'évolution de l'intensité des pics d'oxydation du phénol avec le nombre de cycles enregistrés, pour l'électrode CPE-NP-bactérie pré concentrée dans les conditions optimales dans une solution de phénol, avec une vitesse de balayage 100 mV/S, dans la solution électrolytique de NaCl (0.1 mol l⁻¹), dans une gamme de potentiel comprise entre -2 V et 2 V.

Nous observons la présence de 3 pics anodiques correspond à l'oxydation du phénol, P₁, P₂ et P₃ respectivement, à 0,019V, 0,6V et 1,06V.

Ces pics disparaissent progressivement avec le nombre de cycle, et donner naissance à quatre pics qui sont ultérieurement disparus à leur tour, et ne reste qu'un seul pic après 100 cycles. Ceci peut être expliqué par l'oxydation du phénol à des produits intermédiaires qui pourraient correspondre à ;(Hydroquinone, Benz quinone, acide maléique, acide oxalique, acide formique).

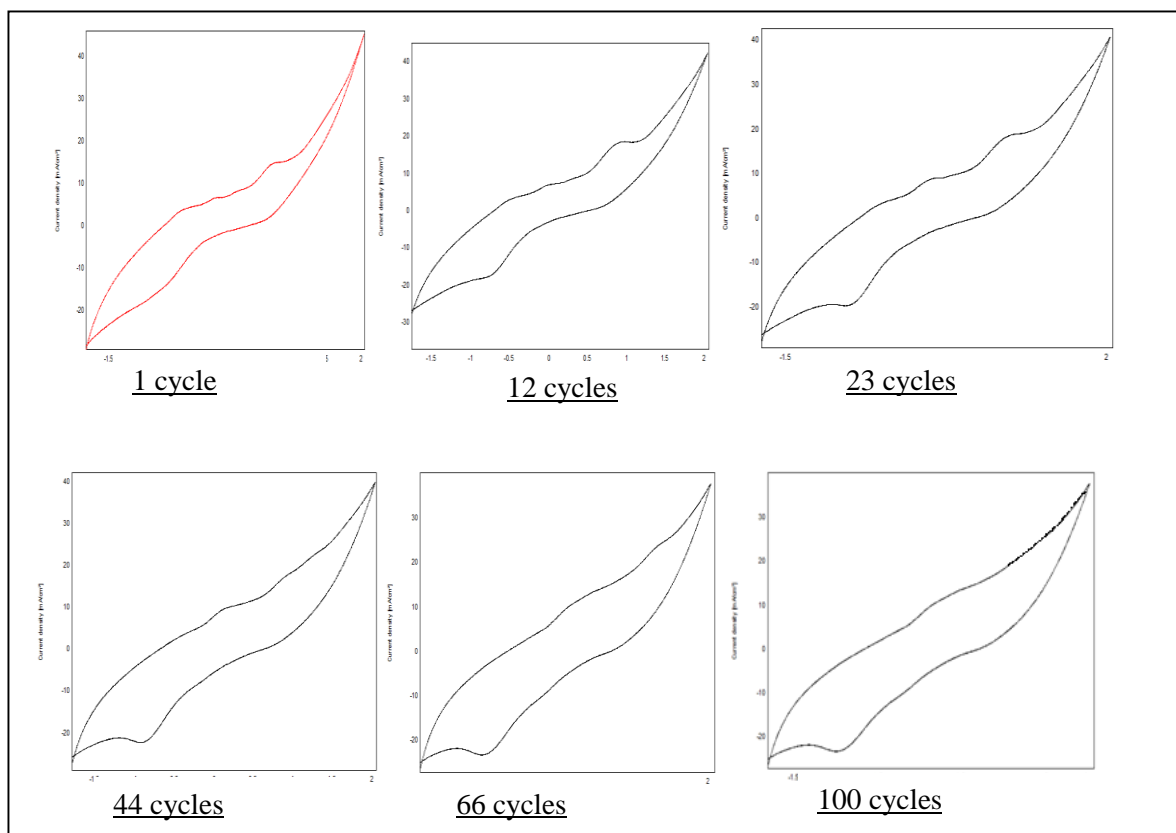


Figure 53 : Influence de la concentration du phénol sur l'intensité de pic d'oxydation obtenue par les électrodes CPE-NP et CPE-NP –bactérie

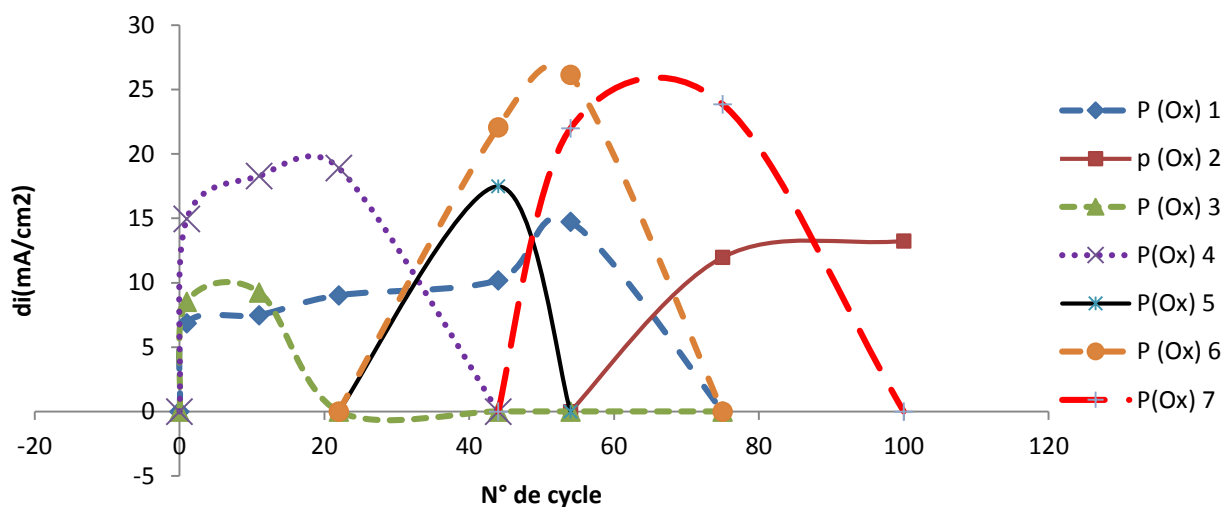
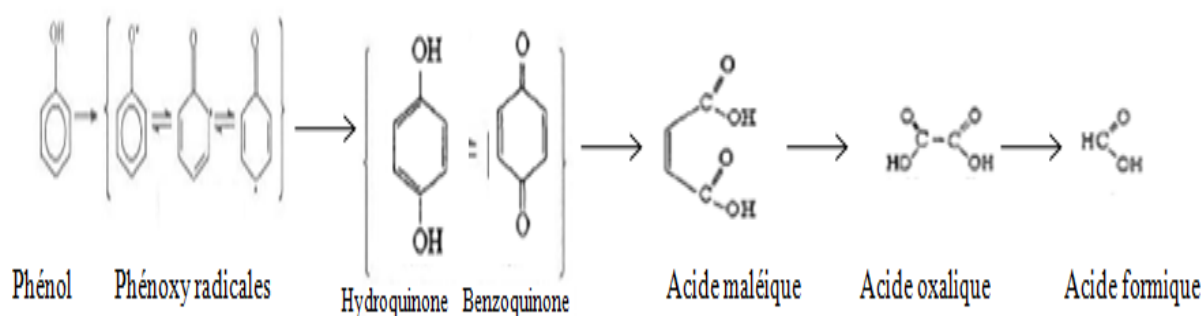


Figure 54 : Influence de la densité de courant des pics d'oxydation en fonction de nombre de cycles enregistrés par l'électrode CPE-NP –bactérie.

Ces transformations peuvent être associées aux réactions électrochimiques suivantes :

L'oxydation électrochimique du phénol génère, un nombre important d'intermédiaires, les principaux : l'hydroquinone, la benzoquinone, l'acide maléique, l'acide oxalique et l'acide formique.

L'acide maléique est obtenu par l'ouverture du cycle aromatique, l'acide maléique s'oxyde en acide oxalique, qui se minéralise totalement à son tour en formant du CO₂, ou bien l'acide maléique peut être oxydé en acide formique avant d'atteindre le stade terminal de CO₂ (figure 54).



I.8. Caractérisation par spectroscopie optique

Les surfaces des électrodes, CPE-NP, CPE-NP-bactérie avant et après traitement du phénol, ont été observées par microscopie optique. Ces images montrent des amas de

microorganismes à la surface de la matrice du phosphate, qui forment un film homogène sur toute la surface.

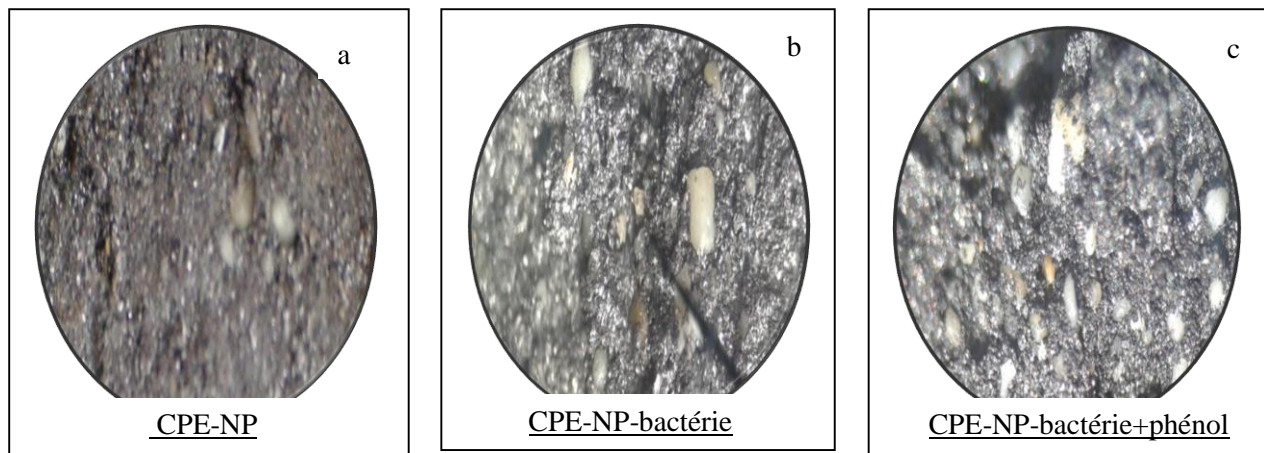


Figure 55 : Electrode CPE-NP avant (a) et après l'immobilisation des bactéries(b), et après la détection du phénol (c).

II. Electrode à pâte de carbone modifiée par l'argile.

II.1. Caractérisation de l'électrode modifiée par l'argile

L'état de surface de l'électrode à pâte de carbone modifiée par l'argile, a été étudié par microscopie électronique à balayage (figure 56). L'argile forme un film rugueux constitué par des particules de différentes dimensions séparées par des pores de 15 μm de diamètre. Après traitement au four (calcination à 1000°C pendant une heure) [13]. L'argile à la composition chimique suivante, donnée par la microscopie à transmission (MET) :

O (22%), Mg (5.4%), Al (22.4%), K (2.7%), Ca (1%), Ti (1.8%), Fe (17.1%), Si (27.8%) et plusieurs métaux d'ordre de ppm (figure 57).

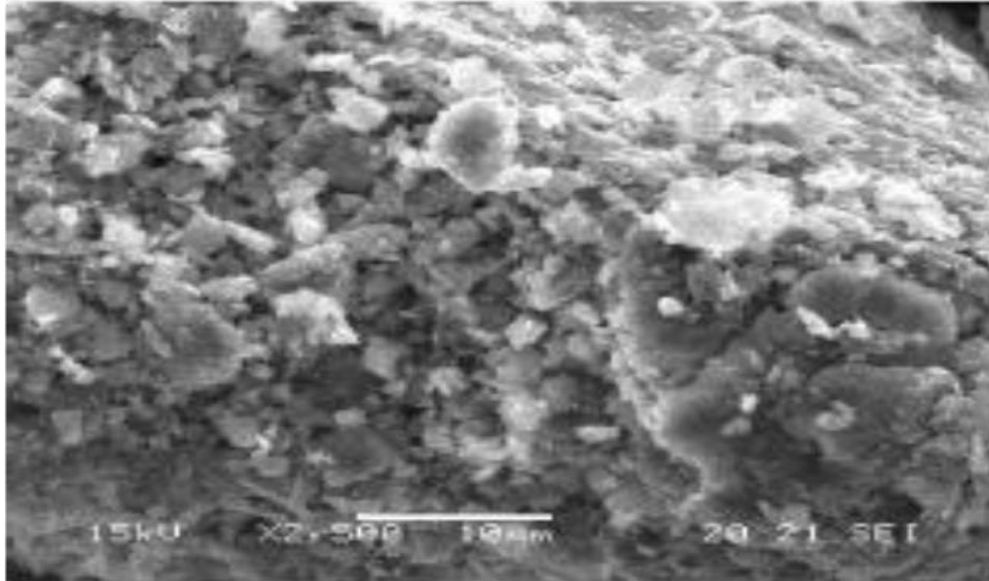


Figure 56 : Micrographie électronique de CPE modifiée par l'argile

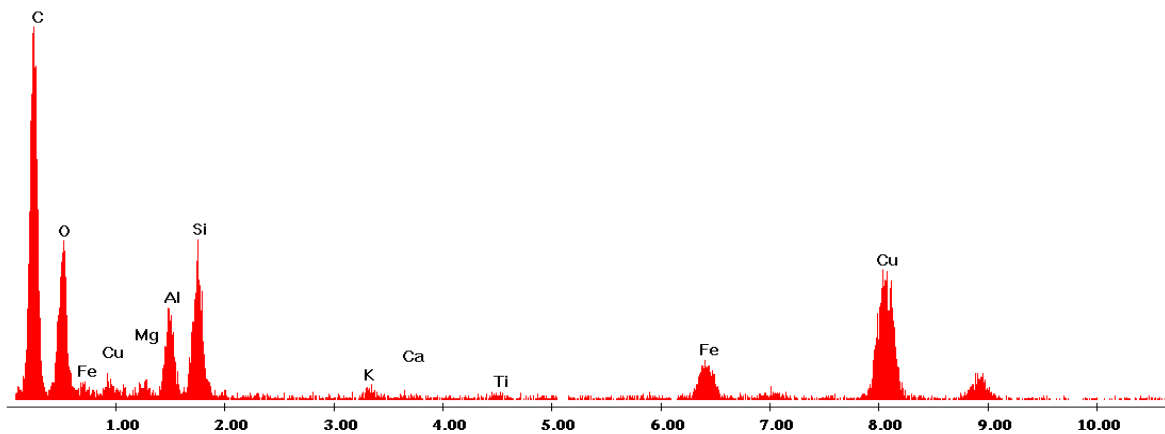


Figure 57 : Composition chimique de l'argile traitée.

II.2. Etude électrochimique de l'immobilisation des bactéries à la surface de l'électrode

II.2.1. Caractérisation par voltamétrie cyclique

L'immobilisation des bactéries sur l'électrode à pâte de carbone modifiée par l'argile (CPE-Ar) a été étudiée par voltamétrie cyclique (VC) (figure 58) et par la voltamétrie à ondes carrées (SWV) (figure 59).

Le film bactérien est développé à la surface de l'électrode par immersion de CPE-Ar dans une suspension des bactéries, l'effet du temps de séjour a été étudié.

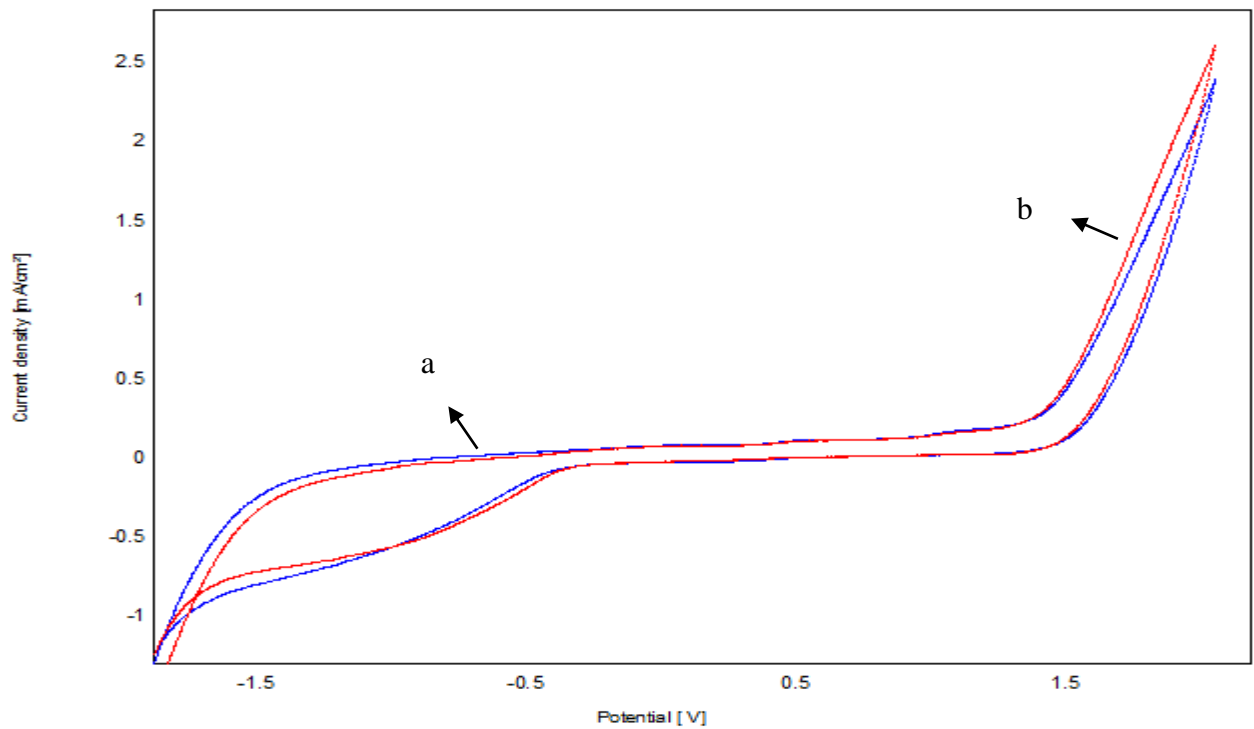


Figure 58 : Voltamogrammes cycliques obtenus par CPE-Ar (a) et CPE-Ar- bactéries (b) dans 0,1M de NaCl (pH=7) avec une vitesse de balayage de 100 mV/S.

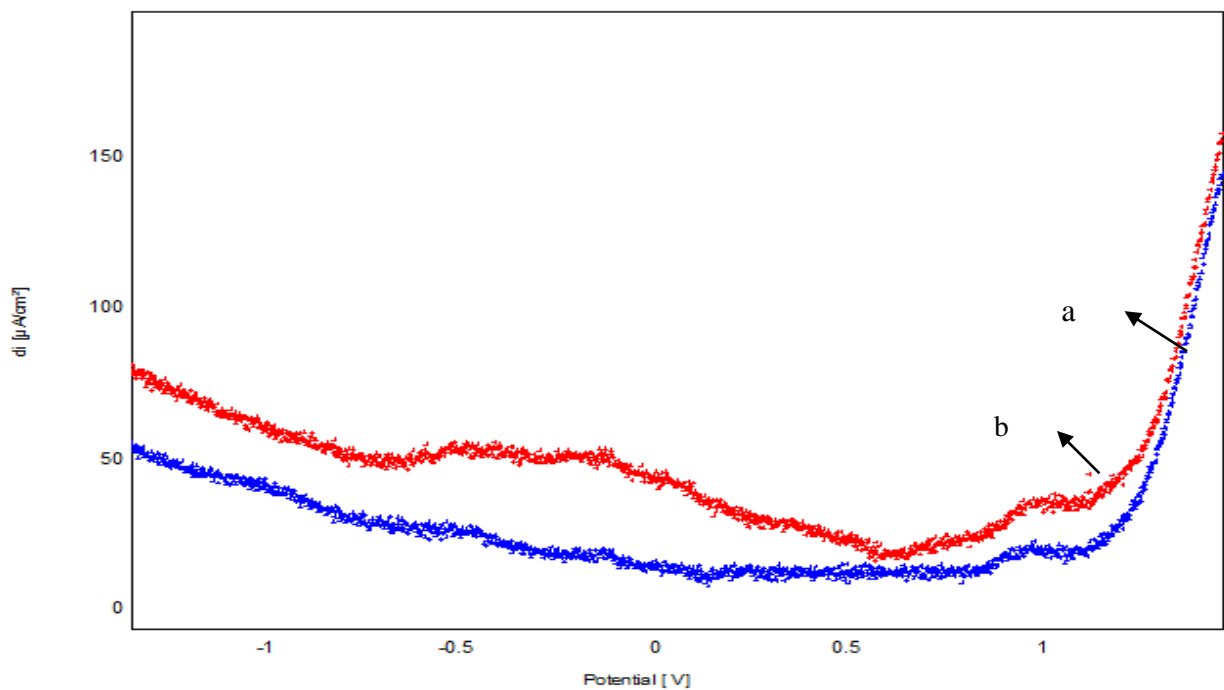


Figure 59 : Voltamogrammes à onde carré obtenus par CPE-Ar et CPE-Ar- bactéries dans 0,1M de NaCl (pH=7).

Comme nous pouvons le constater sur les figures (58,59), le VC enregistré en milieu électrolytique 0.1M NaCl et à 100 mV/s pour l'électrode CPE-Ar-bactérie, présente une légère augmentation des densités de courant comparé à celui obtenu pour l'électrode CPE-Ar. Le film bactérien augmente la conductivité de la surface de l'électrode.

II.2.2. Effet du temps de séjour de l'électrode CPE-Ar dans la solution contenant les bactéries

II.2.2.1 Caractérisation par spectroscopie d'impédance

La figure 60 présente les courbes d'impédance enregistrées, à différents temps de séjour de l'électrode CPE-NP dans la solution contenant les bactéries (~ pH neutre). Les EIS enregistrés ont la forme de demi-boucle dont le diamètre correspond à la résistance de transfert des électrons (R_t). On note que la résistance de transfert des électrons baisse avec l'augmentation du temps de séjour. Le film bactérien développé à la surface présente une conductivité électrique qui évolue avec en fonction du temps de séjour.

La Figure 61 illustre l'évolution de la capacité de la double couche, formée à l'interface métal/solution (C_{dl} en $\mu\text{F}/\text{cm}^2$) avec le temps de séjour. Les valeurs C_{dl} augmentent linéairement avec le temps de séjour, ce qui montre que la densité du film microbien dépend du temps de contact.

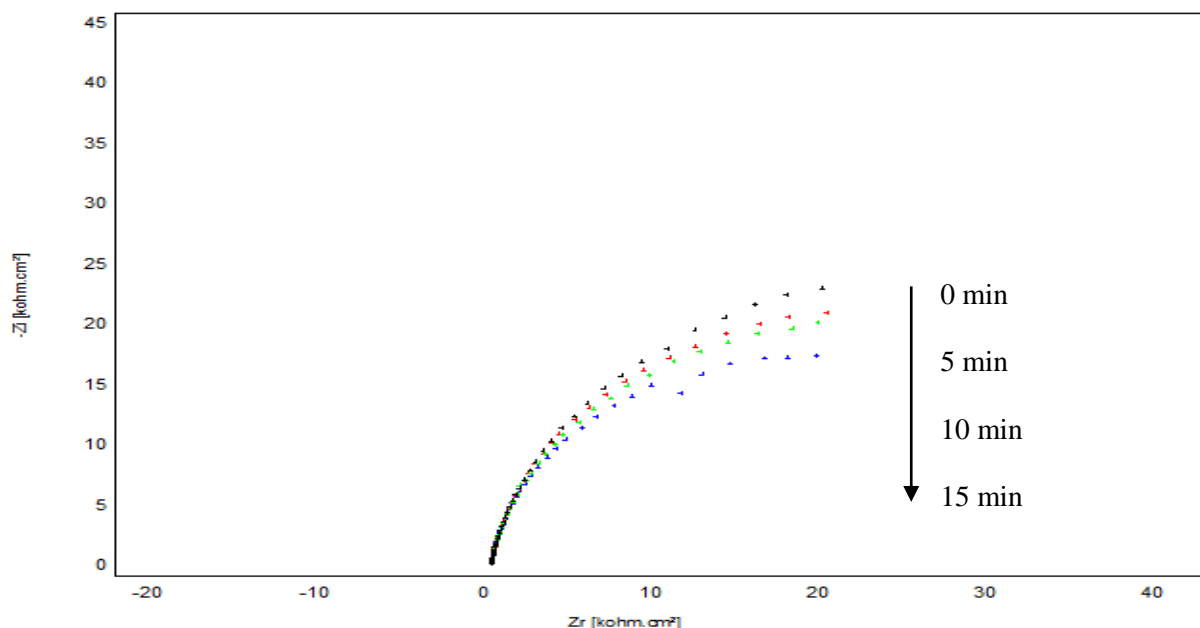


Figure 60 : Diagramme d'impédance à différents temps de contact de CPE-Ar avec la bactérie

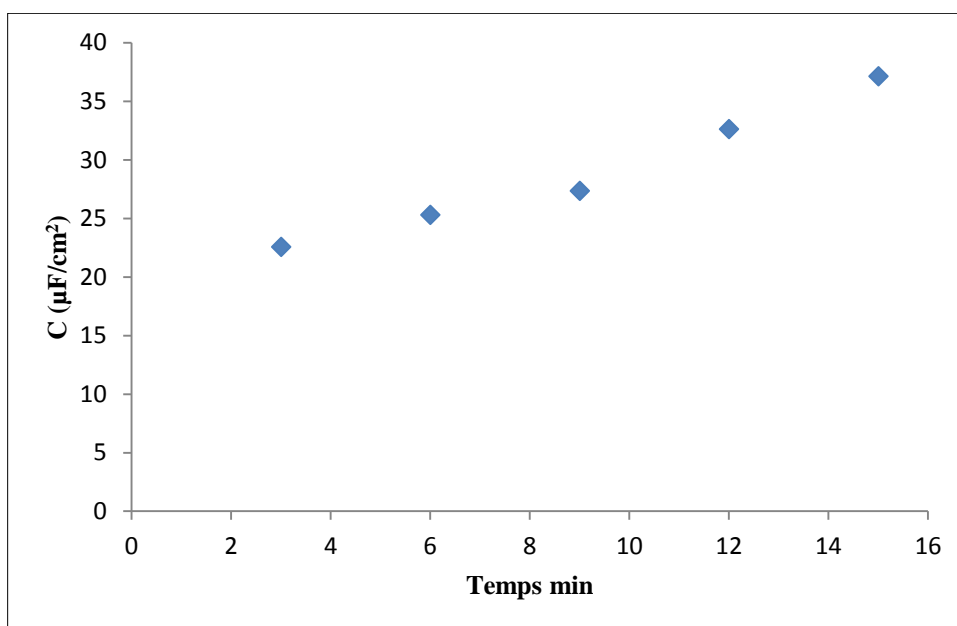


Figure 61 : La capacité de double couche en fonction du temps de contact de CPE-Ar avec la bactérie.

II.3. Dégradation du phénol

La dégradation électrochimique du phénol à la surface de l'électrode CPE-Ar-bactérie a été étudiée respectivement, par voltamétries cyclique et à ondes carrée. Le VC enregistré en présence du phénol (4 mmol/L) dans le milieu électrolytique présente de 4 pics dans le sens de balayage anodique (figures 62,63), respectivement à -0,2 V, 0,05 V, 0,3Vet 0,8Vet un pic cathodique vers -0,48 V. les pics anodiques correspond à l'oxydation du phénol à des produits intermédiaires.

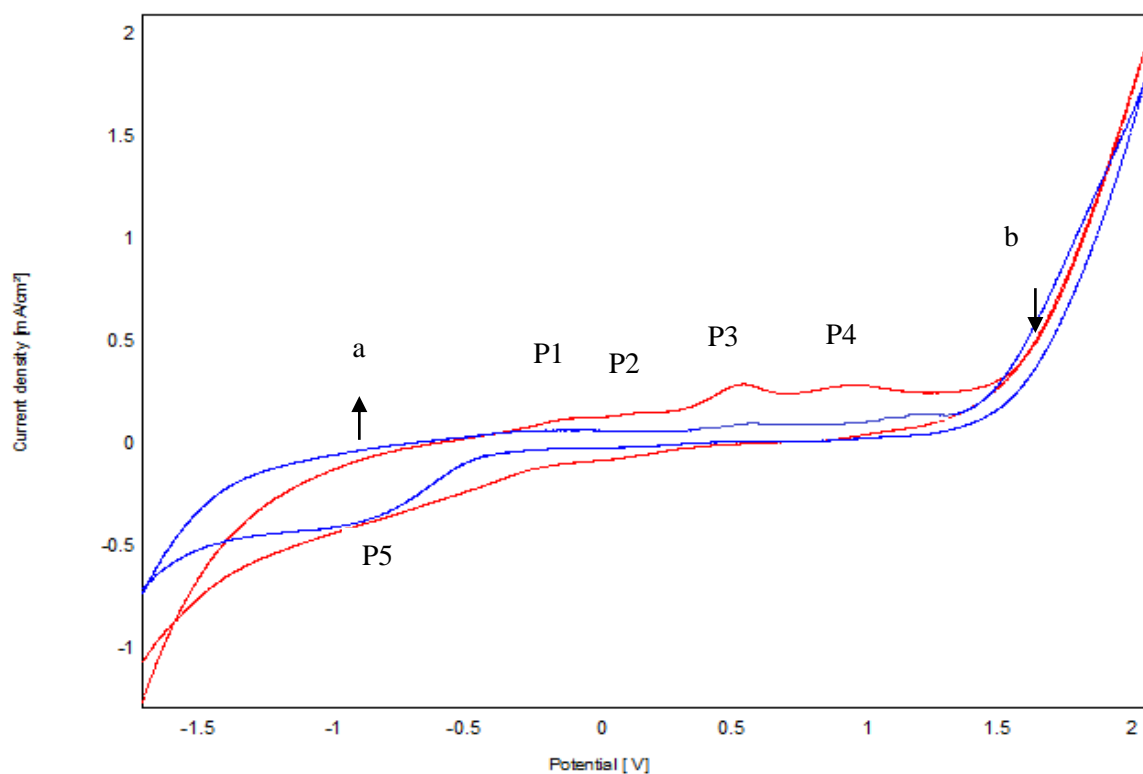


Figure 62 : Voltamogrammes cycliques obtenus par CPE-Ar-bactérie en absence (a) et en présence (b) de 4 mM de phénol dans 0,1 M de NaCl (pH=7) avec une vitesse de balayage de 100 mV/S.

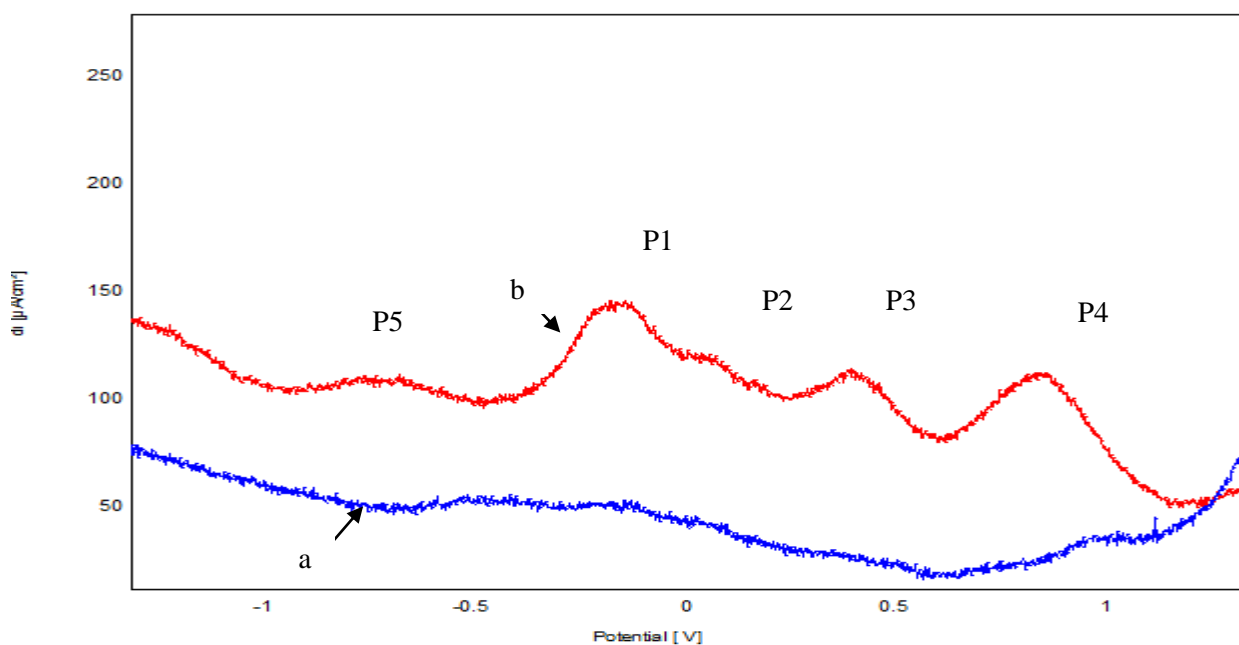
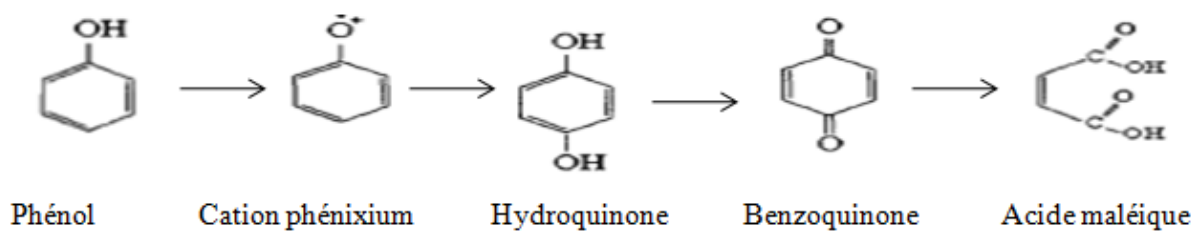


Figure 63 : Voltamogrammes à onde carrée obtenus par CPE-Ar-bactérie en absence (a) et en présence (b) de 4 mM de phénol dans 0,1 M de NaCl (pH=7).

Nous envisageons le mécanisme d'oxydation suivant :



II.4. Effet de la vitesse de balayage

Sur la Figure 64, nous présentons les voltammogrammes cycliques, enregistrés pour l'électrode de carbone graphite modifiée par l'argile et bactérie, à différentes vitesses de balayage, en milieu électrolytique contenant le phénol. Les densités de courant des différents pics augmentent linéairement avec la vitesse de balayage (figure 65).

Les pics anodiques se déplacent vers les potentiels positifs, au fur et à mesure que la vitesse de balayage augmente, alors que, les pics cathodiques se déplacent vers les potentiels négatifs à hautes vitesses de balayage.

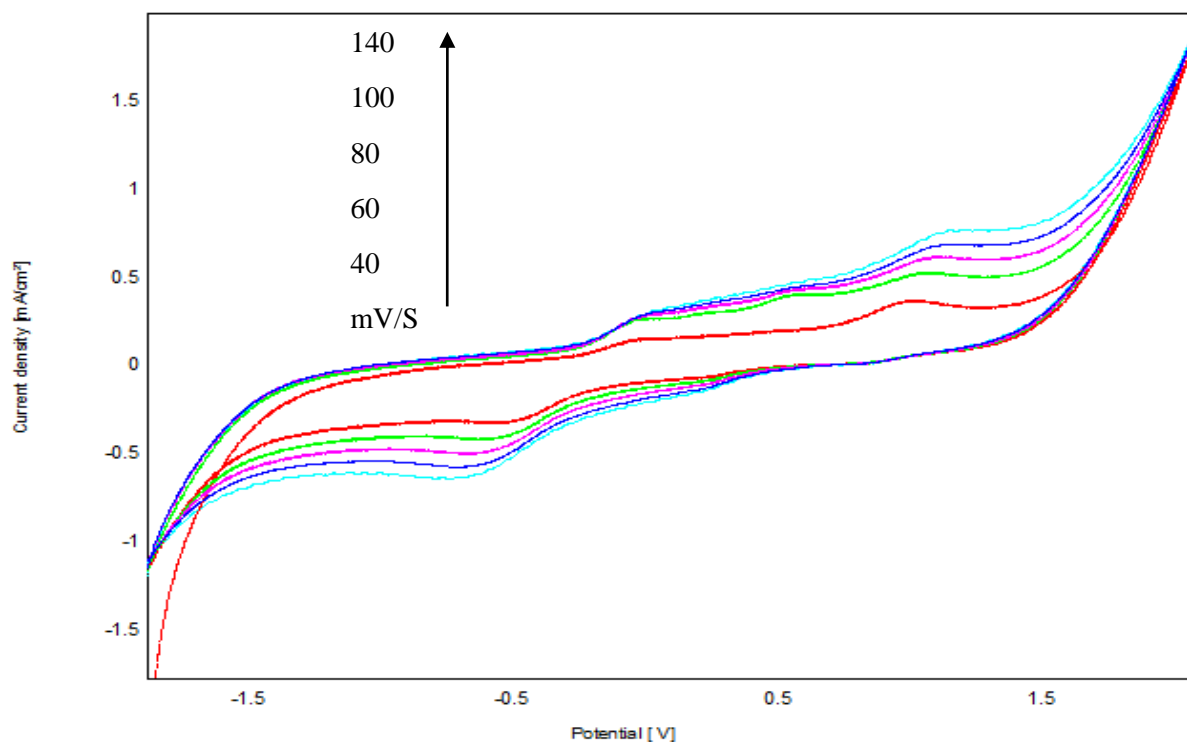


Figure 64 : Voltammogrammes enregistrés par CPE-Ar-bactérie avec 8 mM de phénol dans 0,1 M de NaCl (pH=7) à différentes vitesses de balayage de 40 à 140 mV.s⁻¹.

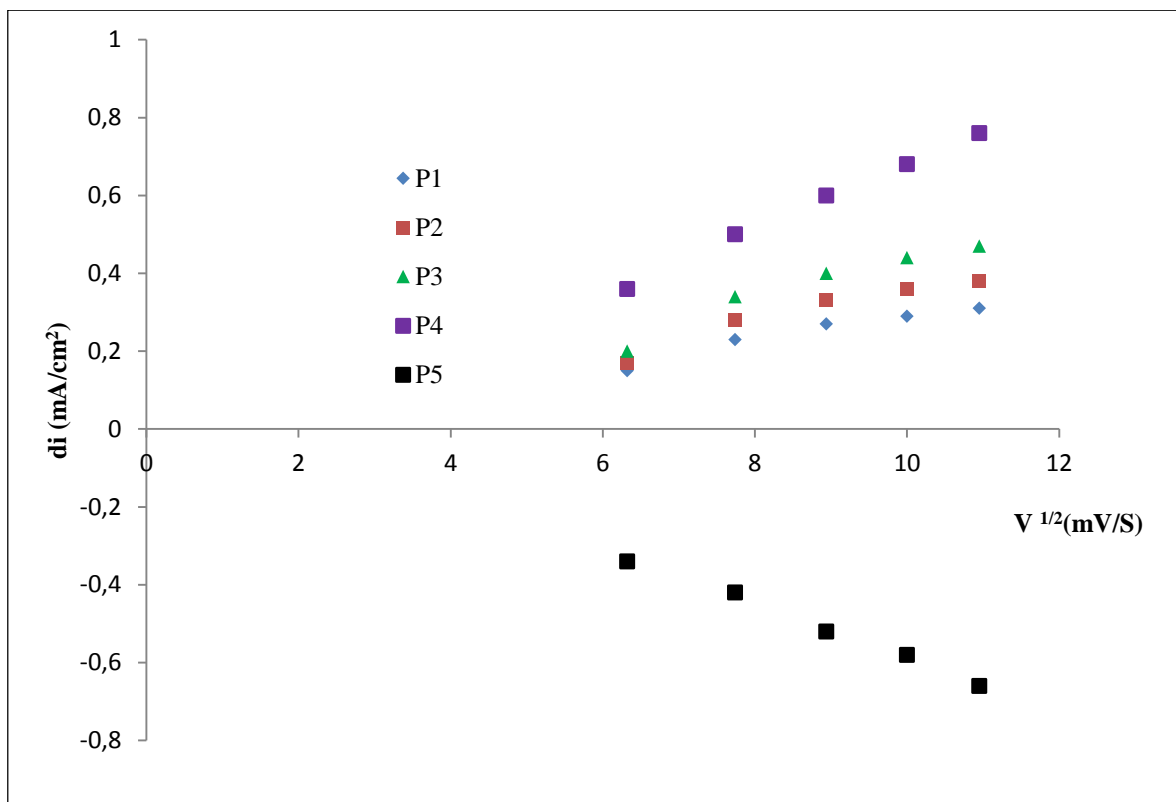


Figure 65 : Influence de la racine de la vitesse de balayage sur l'intensité des pics d'oxydation du phénol obtenus par VC à la surface de CPE-Ar-bactérie.

II.5. Etude électrochimique de l'effet de la concentration du phénol sur la surface de CPE-Ar-bactéries.

II.5.1 Caractérisation par la voltammétrie cyclique

La variation des densités des pics anodiques en fonction de la concentration du phénol a été suivie par voltamétrie cyclique (figure 66) et par voltamétrie à ondes carrées (figure 67), dans les conditions optimales décrites ci-dessus. Nous avons établi la courbe de calibration par addition progressive du phénol dans la solution électrolytique. Cette courbe est présentée sur la figure 68. Les courants des pics d'oxydation augmentent linéairement avec la concentration du phénol. Cette linéarité est exprimée par les relations suivantes :

Tableau 8 : Les équations de corrélation et les limites de détections et quantifications calculées pour l'électrode CPE-Ar-bactérie+ phénol.

CPE-Ar –Bactérie+ phénol					
	P1 (OX)	P2 (OX)	P3 (OX)	P4 (OX)	P5(RED)
Equation	$di=4,74x+111,7$	$di=2,87x+102,8$	$di=3,574x+ 93,38$	$di=4,49x+82,09$	$di = -1,41x - 104,6$
R²	$R^2 = 0,979$	$R^2 = 0,986$	$R^2 = 0,987$	$R^2 = 0,988$	$R^2 = 0,991$
D.L (mol.L⁻¹)	$2,094.10^{-8}$	$6.252.10^{-9}$	$1.11.10^{-8}$	$1,0652.10^{-8}$	$2,874.10^{-9}$
Q.L(mol.L⁻¹)	$6,968.10^{-7}$	$2,084^{-8}$	3.728^{-8}	$3.550.10^{-8}$	$9,582.10^{-9}$

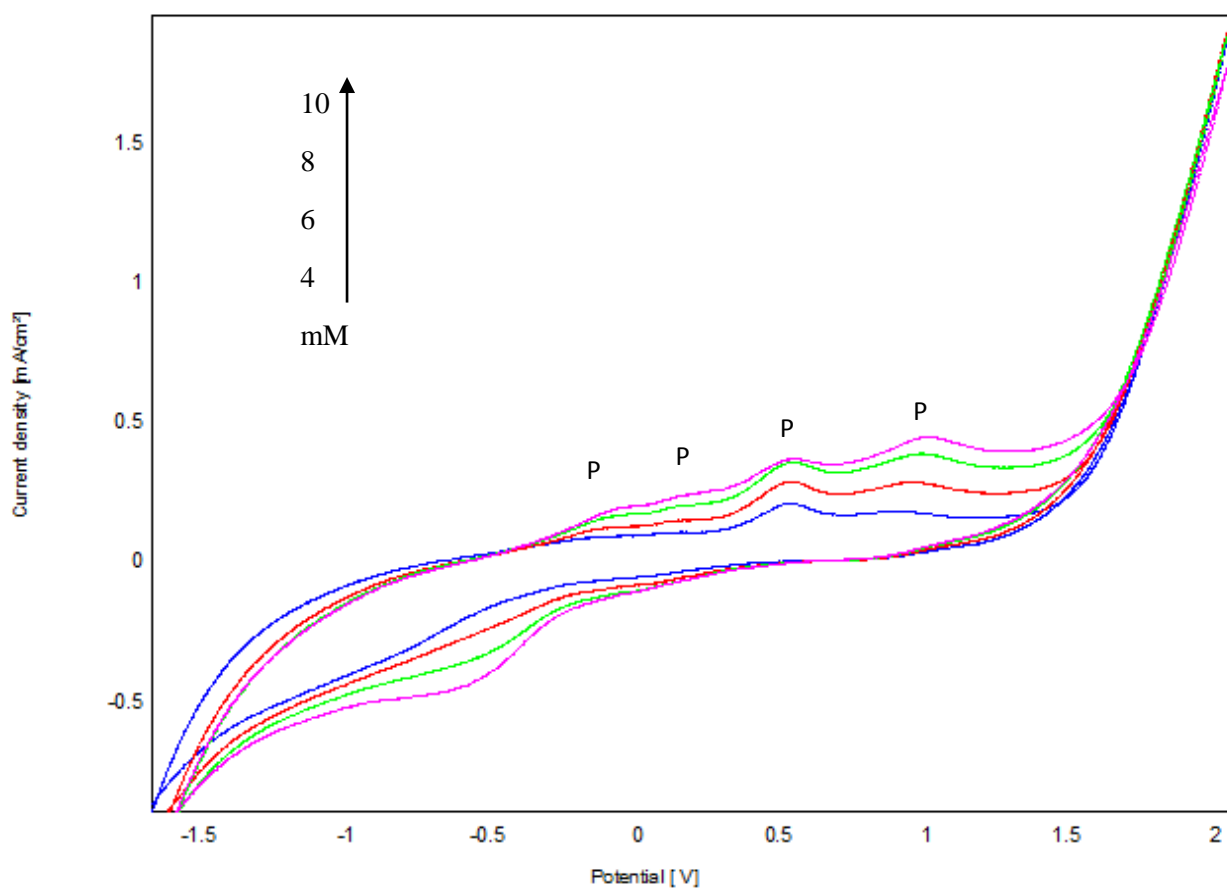


Figure 66 : Voltamogrammes cycliques à différentes concentrations de phénol (de 4 mM à 10 mM) dans 0,1 M de NaCl (pH = 7) sur CPE-Ar-bactérie, $V= 100 \text{ mV.S}^{-1}$

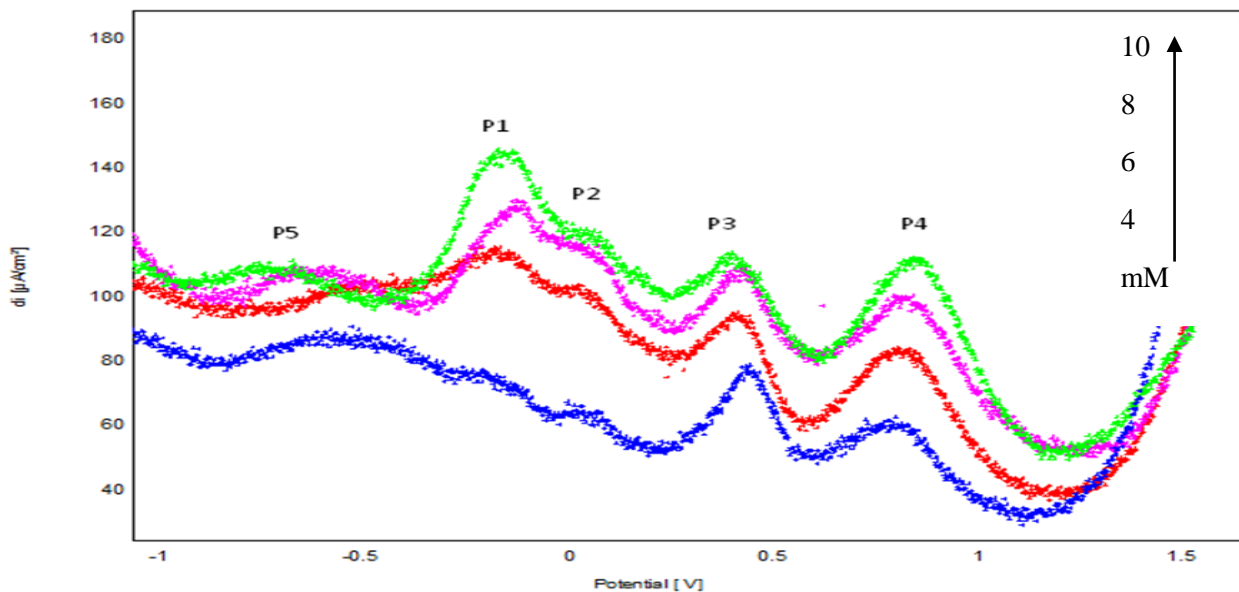


Figure 67 : Voltamogrammes à onde carrée à différentes concentrations de phénol (de 2 mM à 12 mM) dans 0,1 M de NaCl (pH = 7) sur CPE-Ar-bactérie.

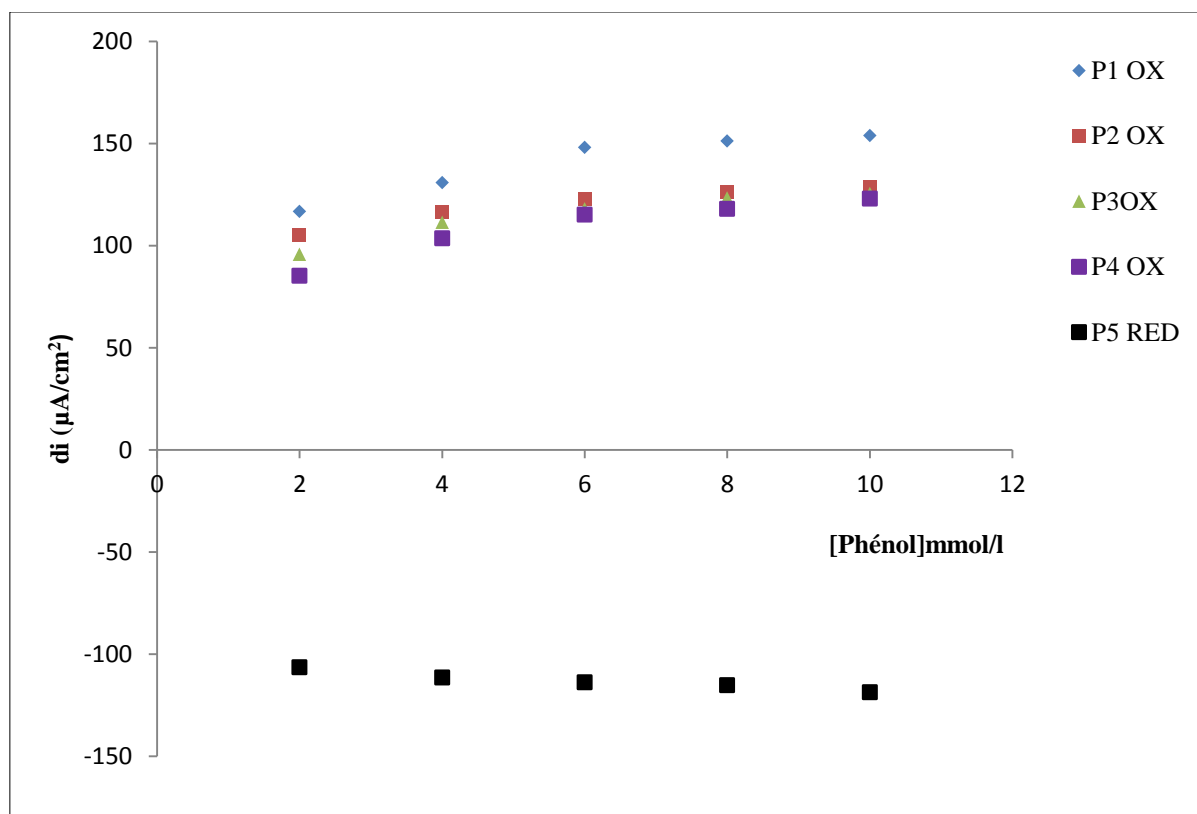


Figure 68: Influence de la concentration du phénol sur l'intensité des pics d'oxydation obtenus par VC à la surface de CPE-Ar-bactérie.

II.6. Evaluation de l'activité de l'électrode modifiée bactérie-Ar-CPE pour la biodétection du phénol

II.6.1. Etude volamétrique

La figure 69 représente les voltamogrammes cycliques obtenus en présence de 4 mM du phénol, respectivement sur CPE-Ar et CPE-Ar -bactérie, avec une vitesse de balayage égale 100 mVs^{-1} dans la plage potentiel comprise entre -2V à 2V et milieu électrolytique NaCl 0.1M.

Sur cette figure, nous illustrons une étude comparative de l'effet d'immobilisation de bactérie sur la surface d'électrode pour l'oxydation du phénol. Nous constatons que la présence de bactérie a un effet remarquablement plus que son absence.

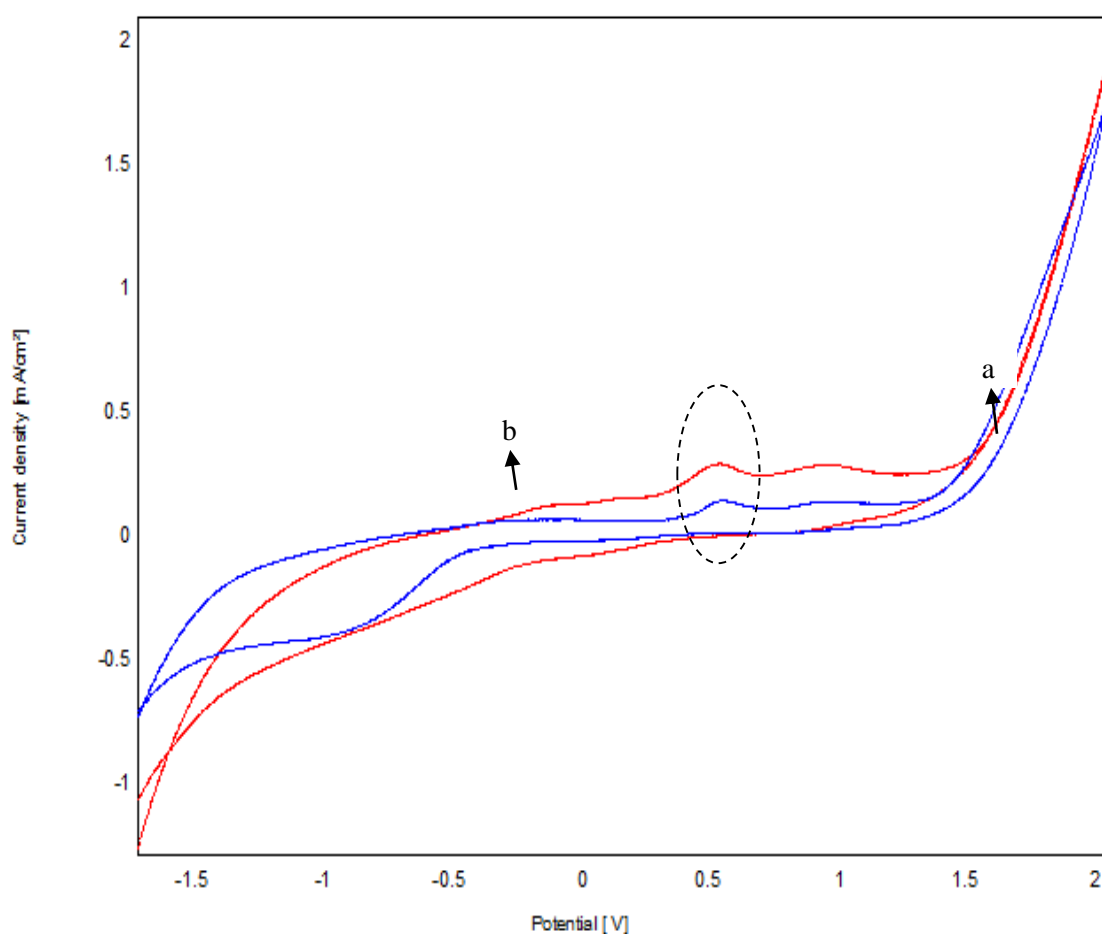


Figure 69 : Voltamogrammes cycliques obtenus par CPE-Ar-bactérie (a) et CPE-Ar (b) en présence de 4 mM de phénol dans 0,1 M de NaCl (pH=7) avec une vitesse de balayage de 100 mV/S .

L'activité de la bactérie adhérente sur la surface d'électrode Ar-CPE, en présence de 4 mMol/l du phénol est :

$$\alpha_{\text{pic3}} = (1 - (0.30/0.194)) \times 100$$

$$= 54,63 \%$$

II.6.2. Courbes de calibration

Les courbes de calibration ont été réalisées pour la détection du phénol par voltamétrie à onde carrée, en utilisant les deux électrodes Ar-CPE et bactérie-Ar-CPE (figure 70). Ces expériences sont réalisées dans la gamme de concentration qui varie entre 6 et 12 mmol l⁻¹. Le tableau 9 regroupe Les équations de corrélation et les limites de détections et quantifications calculées pour les deux électrodes CPE-Ar et CPE-Ar-bactérie.

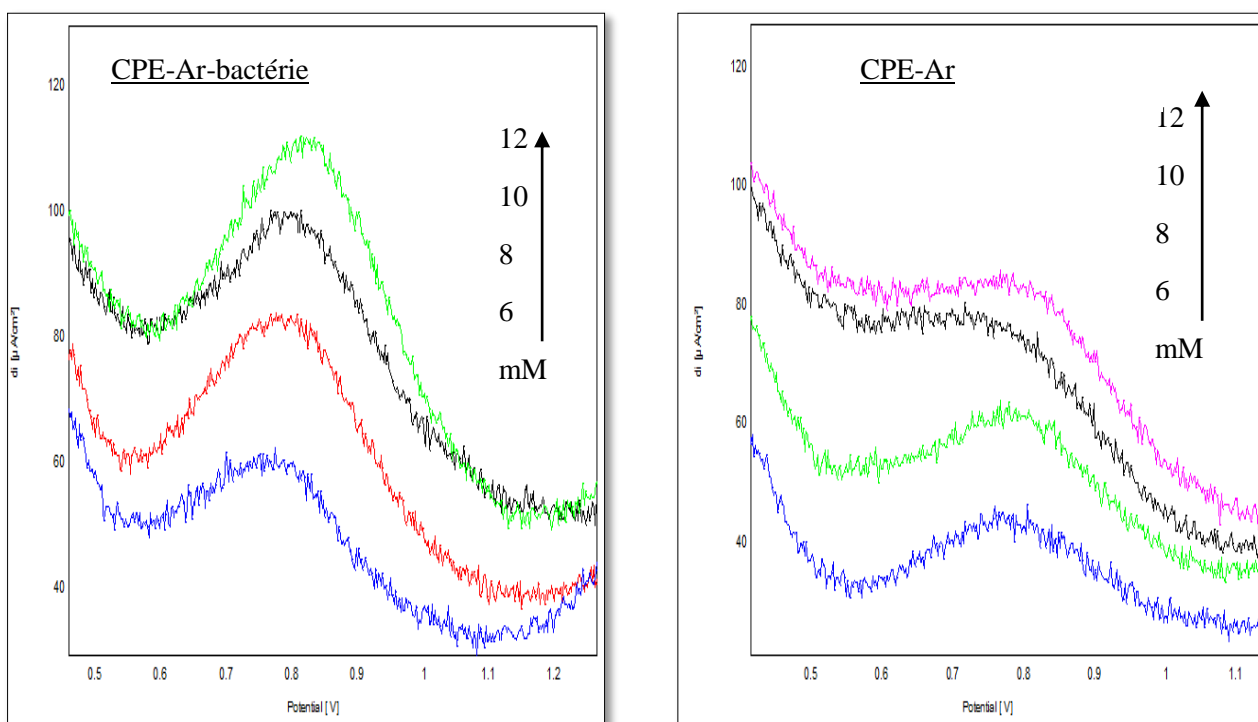


Figure 70 : Voltammogrammes à onde carrée enregistrés à différentes concentrations de phénol (6 mM à 12 mM) dans 0,1 M de NaCl (pH = 7) sur CPE-Ar et CPE-Ar-bactérie

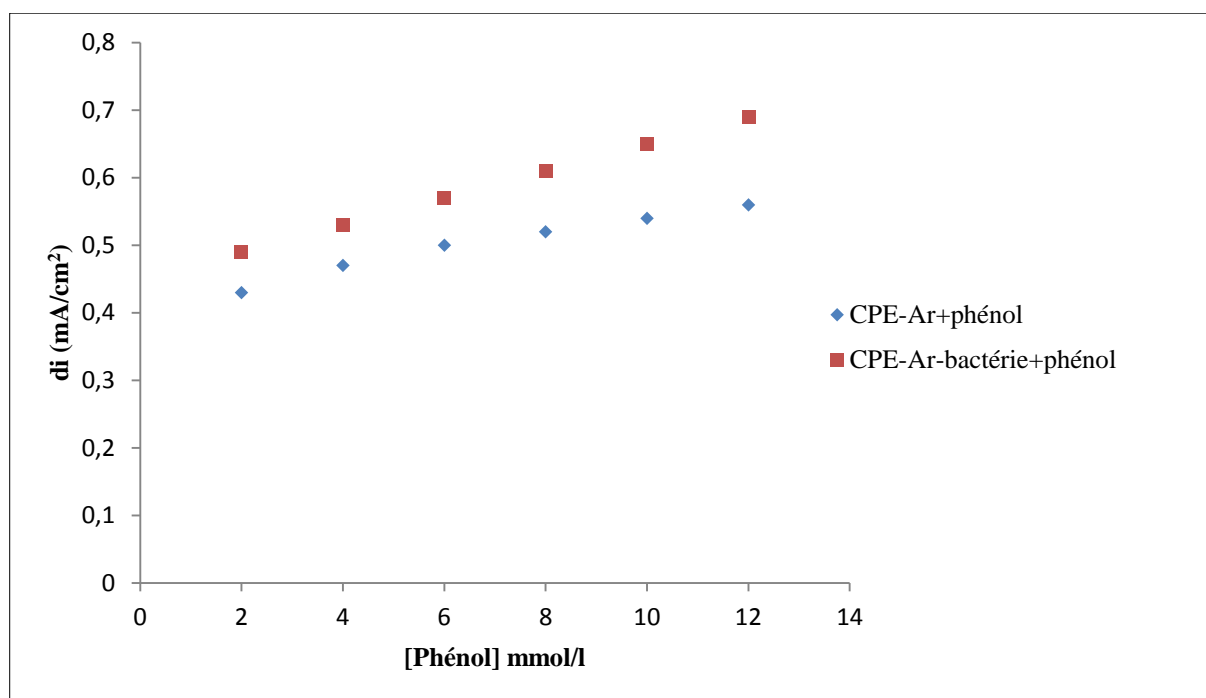


Figure 71 : Influence de la concentration du phénol sur l'intensité d'un pic d'oxydation enregistré par les électrodes CPE-Ar et CPE-Ar –bactérie.

Tableau 9 : Les équations de corrélation et les limites de détections et quantifications calculées pour les deux électrodes CPE-Ar et CPE-Ar-bactérie en présence du phénol.

Electrode	Equation	R ²	D.L (mol.L ⁻¹)	Q.L (mol.L ⁻¹)
CPE-Ar +Phénol	di = 0,012x + 0,415	R ² = 0.973	2.91.10 ⁻⁶	3.24.10 ⁻⁵
CPE-Ar-Bactérie+phénol	di = 0,02x + 0,45	R ² = 1	1,0652.10 ⁻⁸	3.550.10 ⁻⁸

Une étude comparative entre les pentes des courbes de calibration tracées pour les électrodes Ar-CPE et bactérie-Ar-CPE ont permis de conclure que l'augmentation de la pente déduite pour l'électrode bactérie -Ar-CPE est due à électro-activité des bactéries immobilisées sur la surface d'électrode (figure 71).

D'après le Tableau 9, les limites de détections et quantifications calculées pour l'électrode bactérie –Ar-CPE sont inférieures à celles de CPE-Ar, ce qui confirme la haute sensibilité de notre bactérie pour la dégradation du phénol.

II.7.Mécanisme de biodégradation du phénol

La dégradation du phénol est rapide, et donne lieu à différents produits qui pourraient présenter une toxicité plus importante que le phénol, en particulier ceux qui présentent dans leurs structures des cycles. L'électrode élaborée dans ce travail CPE-Ar-bactérie, a permis la dégradation du phénol jusqu'au stade de l'acide maléique.

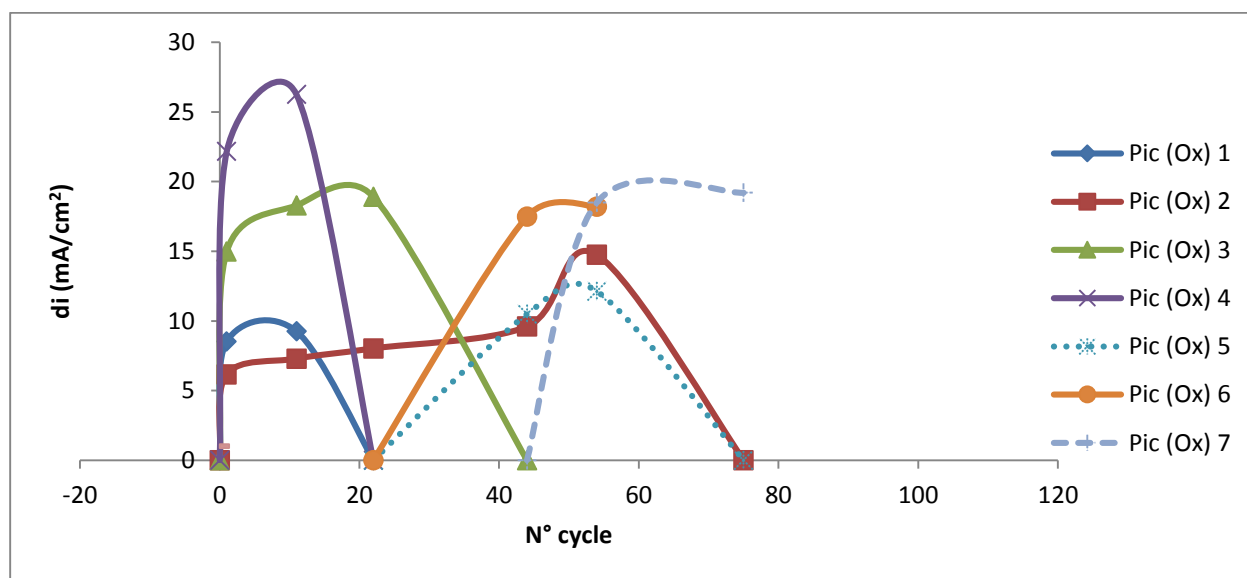


Figure 72 : Influence de la densité de courant des pics d'oxydation en fonction du nombre de cycles enregistrés par l'électrode de CPE-Ar-bactérie.

Conclusion

L'étude de l'interaction entre l'électrode de pâte de carbone modifiée par le phosphate naturel ou l'argile, et les staphylocoques aureus dans le but d'élaborer un biocapteur électrochimique a donné des résultats satisfaisants.

Le phénol, a été reconnu par le biocapteur préparé, avec des sensibilités relativement importantes. Les méthodes voltamétriques utilisées dans ce travail ont montré une grande efficacité, pour les études cinétiques et analytique.

L'intensité du pic correspondant à l'électroactivité de l'élément analysé augmente avec la durée d'accumulation, dans la plus part des cas, jusqu'à atteindre une limite à partir de laquelle le profil du pic change. Il devient plus large et l'intensité de son maximum diminue ou reste constante

References

- [1] El Mhammedi, M. A., Achak, M., Bakasse, M., & Chtaini, A. (2007). Physico-chemical characterization of electrochemical deposit of $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ on copper surfaces. *Applied surface science*, 253(14), 5925-5930.
- [2] Costerton, J. W., & Lappin-Scott, H. M. (1995). Introduction to microbial biofilms. *Microbial biofilms*, 1-11.
- [3] Costerton, J. W., Montanaro, L., & Arciola, C. R. (2005). Biofilm in implant infections: its production and regulation. *The International journal of artificial organs*, 28(11), 1062-1068.
- [4] Fan, Y., Xu, S., Schaller, R., Jiao, J., Chaplen, F., & Liu, H. (2011). Nanoparticle decorated anodes for enhanced current generation in microbial electrochemical cells. *Biosensors and Bioelectronics*, 26(5), 1908-1912.
- [5] Cheng S. A., Logan B. E *Electrochemistry Communications* 9(2007) 492-497.
- [6] Conrad, J. C., Gibiansky, M. L., Jin, F., Gordon, V. D., Motto, D. A., Mathewson, M. A., ... & Wong, G. C. (2011). Flagella and pili-mediated near-surface single-cell motility mechanisms in *P. aeruginosa*. *Biophysical journal*, 100(7), 1608-1616..
- [7] Costerton, J. W., Montanaro, L., & Arciola, C. R. (2005). Biofilm in implant infections: its production and regulation. *The International journal of artificial organs*, 28(11), 1062-1068.
- [8] Lapinsonniere, L. (2013). Contribution à l'évaluation et à l'optimisation des application des systèmes microbio-électrochimiques: traitement des eaux, production d'électricité, bioélectrosynthèse (Doctoral dissertation, Rennes 1).
- [9] Pons, S., & Ashley, K. (1986). Recent Advances in UV-Visible Reflectance Spectroelectrochemistry (No. TR-77). UTAH UNIV SALT LAKE CITY DEPT OF CHEMISTRY.
- [10] Armstrong, R. D., Firman, R. E., & Thirsk, H. R. (1973). The AC impedance of complex electrochemical reactions. *Faraday Discussions of the Chemical Society*, 56, 244-263.
- [11] El Mhammedi, M. A., Achak, M., Bakasse, M., & Chtaini, A. (2007). Physico-chemical characterization of electrochemical deposit of $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ on copper surfaces. *Applied surface science*, 253(14), 5925-5930.
- [12] Partie, C. (2011). Etudes physicochimiques de l'inhibition de la corrosion de l'acier en milieu acide. HABILITATION A DIRIGER DES RECHERCHES.
- [13] Stoch, A., Brożek, A., Kmita, G., Stoch, J., Jastrzebski, W., & Rakowska, A. (2001). Electrophoretic coating of hydroxyapatite on titanium implants. *Journal of Molecular Structure*, 596(1), 191-200.

Chapitre IV

**Electrodes à pâte de carbone modifiées par le phosphate ou l'argile
recouvertes par un polymère sur lequel sont introduites des
bactéries**

I. Electrode à pâte de carbone modifiée par le phosphate naturel

I.1. Electro polymérisation de monomère de ϵ -caprolactone

La polymérisation de ϵ -caprolactone a été effectuée par voie électrochimique, dans un milieu électrolytique neutre (NaCl 0.1 M), la technique de polymérisation sur balayage successif permet d'obtenir des films stables, le dépôt peut être contrôlé en suivant l'augmentation des pics d'oxydation.

La figure 73 représente une série de voltampérogrammes obtenus lors de l'électropolymérisation de ϵ -caprolactone sur une électrode de carbone graphite modifiée par le phosphate naturel (CPE-NP), enregistrés avec une vitesse de balayage égale à 80 mV/S, dans la solution de NaCl (0.1 mol/l) contenant 2 ml ϵ -caprolactame, dans un intervalle de potentiel comprise entre -2 V et 2 V.

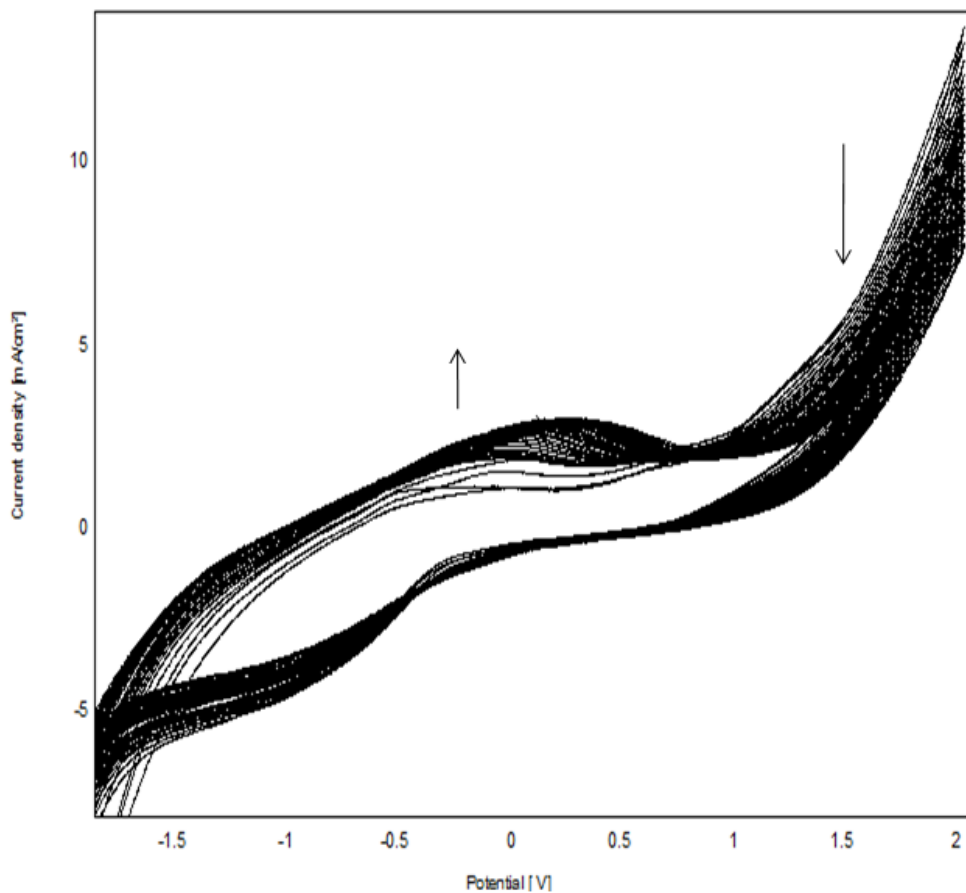


Figure 73 : Voltampérogramme d'électropolymérisation du ϵ -caprolactone dans électrolyte de 0.1 mol de NaCl à pH=7, sur CPE-NP avec une vitesse de balayage 80 mV/.

On peut constater que la présence d'un pic anodique à environ 0.34 V (2.34 mA/cm^2). Ce pic est attribué à l'oxydation du monomère (ϵ -caprolactone). La diminution de l'intensité des courants au cours des balayages rend compte de la croissance du film déposé sur la surface l'électrode avec le nombre des cycles, les densités du courant des voltamogrammes tendent vers 0 indiquant que le polymère développé a un caractère isolant [1].

I.1.1. Optimisation du nombre de cycles d'électropolymérisation

L'évaluation de la réponse de l'électrode au cours de la polymérisation a été étudiée en fonction du nombre de cycles de balayage. L'oxydation du polycaprolactone augmente avec le nombre de cycles pour un nombre de balayage compris de 1 à 40. Cependant pour un nombre de cycles supérieur à 40, on note une diminution de l'amplitude du pic du courant d'oxydation du polycaprolactone [2] (figure 74).

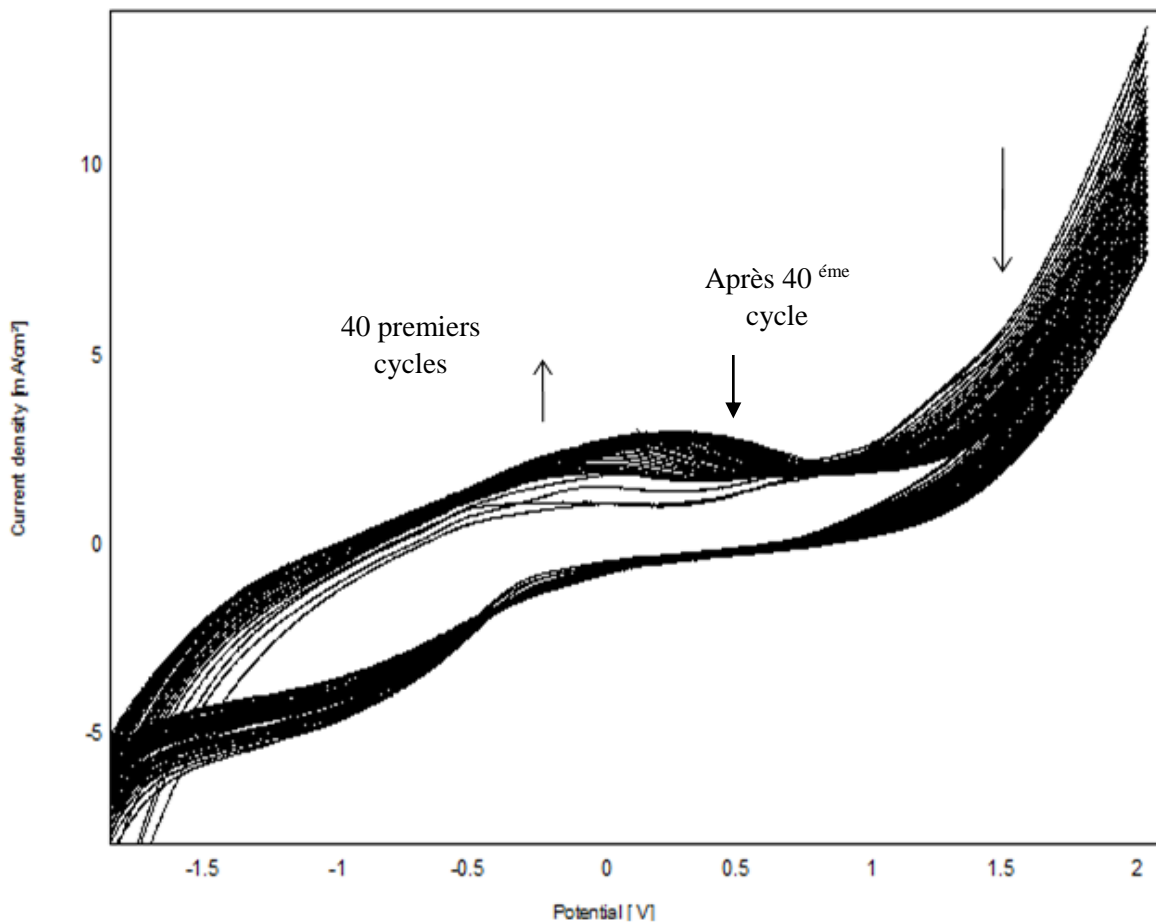


Figure 74 : Voltampérogramme d'électropolymérisation du ϵ -caprolactone dans électrolyte de 0.1 mol de NaCl à pH=7, sur CPE-NP avec une vitesse de balayage 80 mV/S

Un nombre important de cycles de polymérisation entraîne une diminution de la surface électrochimiquement active de l'électrode. Cet effet aura pour effet la diminution du rendement de la polymérisation, et par la suite le ralentissement de la croissance du film [3-4].

Les Figures 75 et 76 représentent respectivement, les voltammogrammes cycliques et à ondes carrée enregistrés, en milieu électrolytique (NaCl, 0,1 M) dans la gamme de potentiel comprise entre -2 V et 2 V, respectivement par l'électrode CPE-NP et CPE-NP-polymère, à 100 mV.s^{-1}

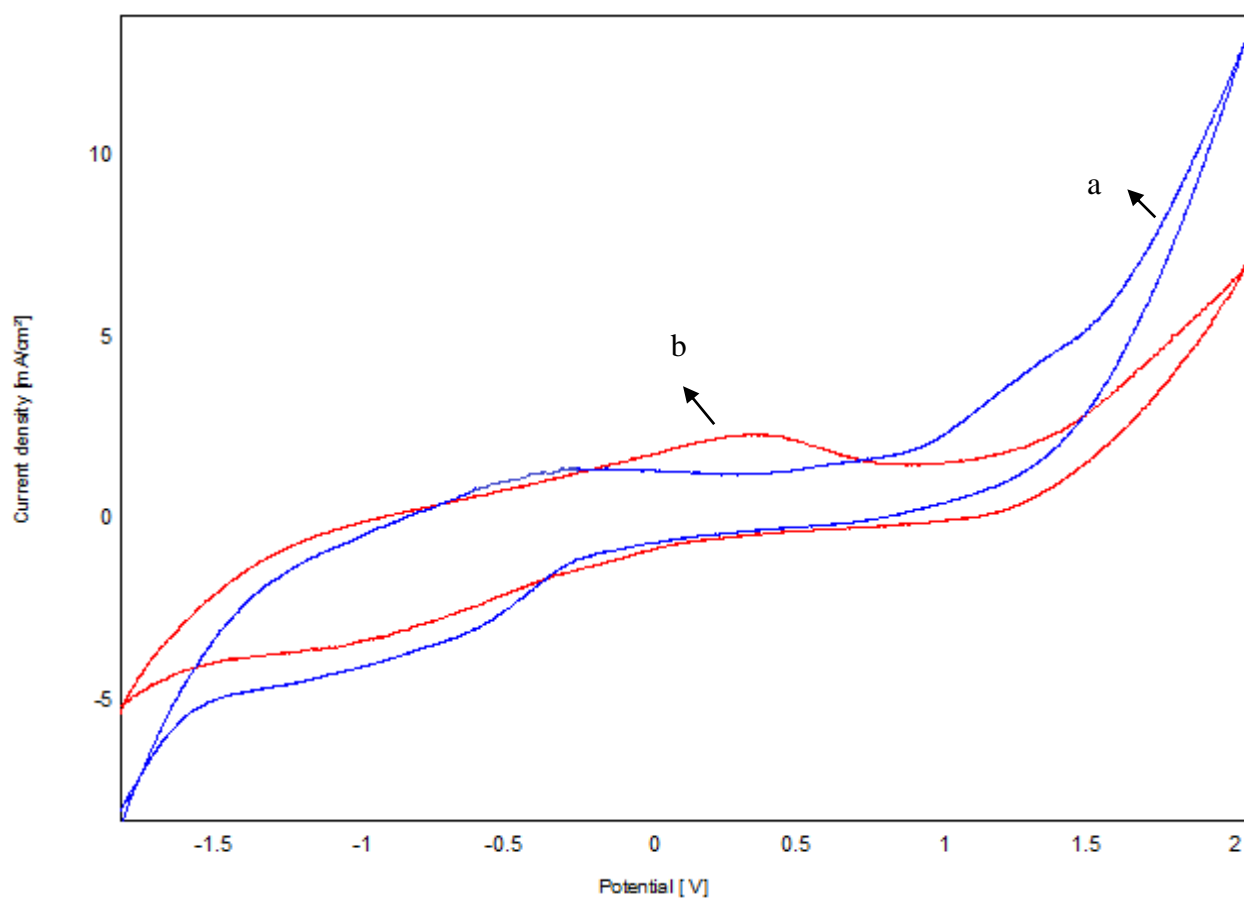


Figure 75 : Voltammogrammes cycliques obtenus par CPE-NP (a) et CPE-NP-polymère (b) dans 0,1M de NaCl (pH=7) avec une vitesse de balayage de 100 mV/S.

Les voltammogrammes enregistrés pour les deux électrodes, en milieu électrolytique, présentent des allures différentes, ce qui suggère que l'électrode CPE-NP est bien modifiée par le film de polycaprolactone.

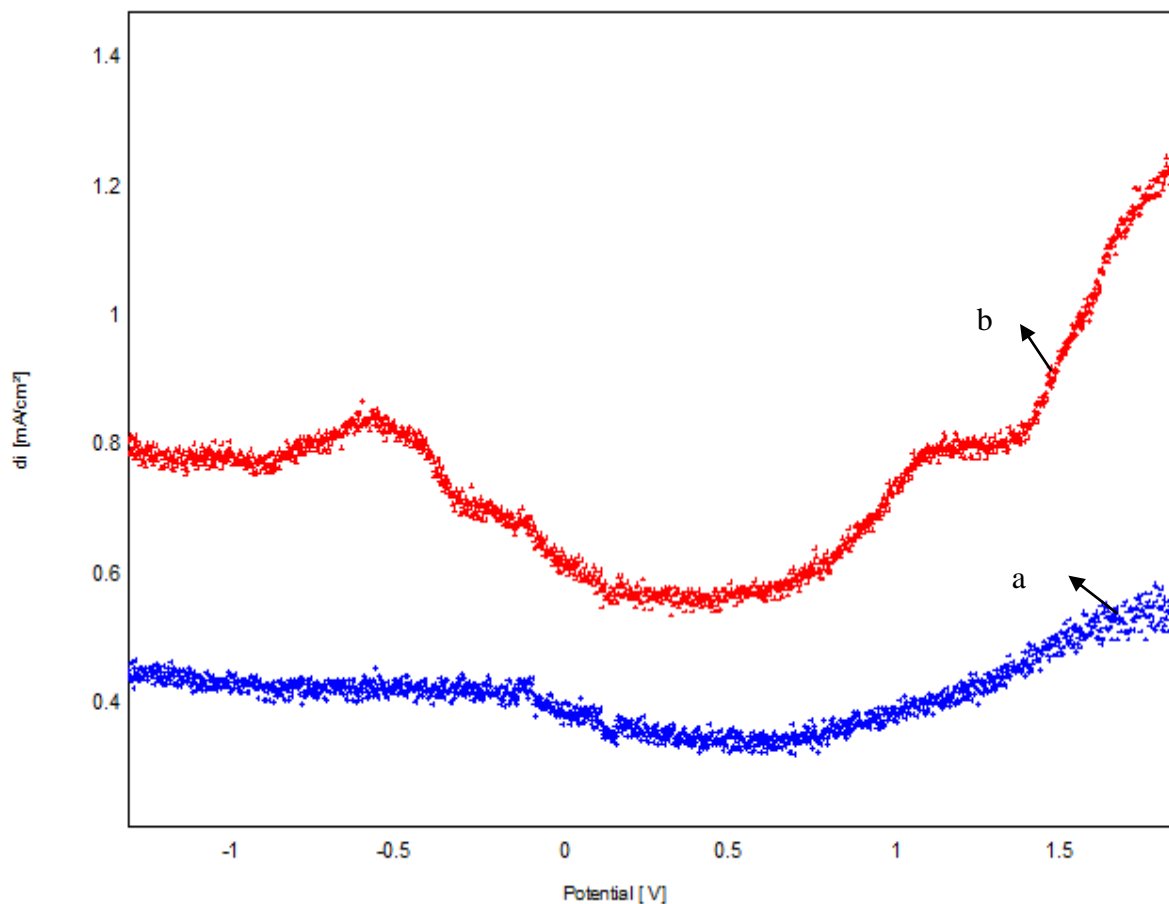


Figure 76 : Voltamogrammes à onde carré obtenus par CPE-NP (b) et CPE-NP-polymère (a) dans 0,1M de NaCl (pH~7) avec une vitesse de balayage de 100 mV/S.

I.2. Activité de l'électrode CPE-NP –Polymère pour la détection du phénol

Le comportement électrochimique du phénol sur l'électrode CPE-NP –polymère, a été étudié par voltamétrie cyclique et voltamétrie à onde carré dans une solution contenant 2 mmol/l du phénol et avec une vitesse de balayage égale à 100 mV.S⁻¹

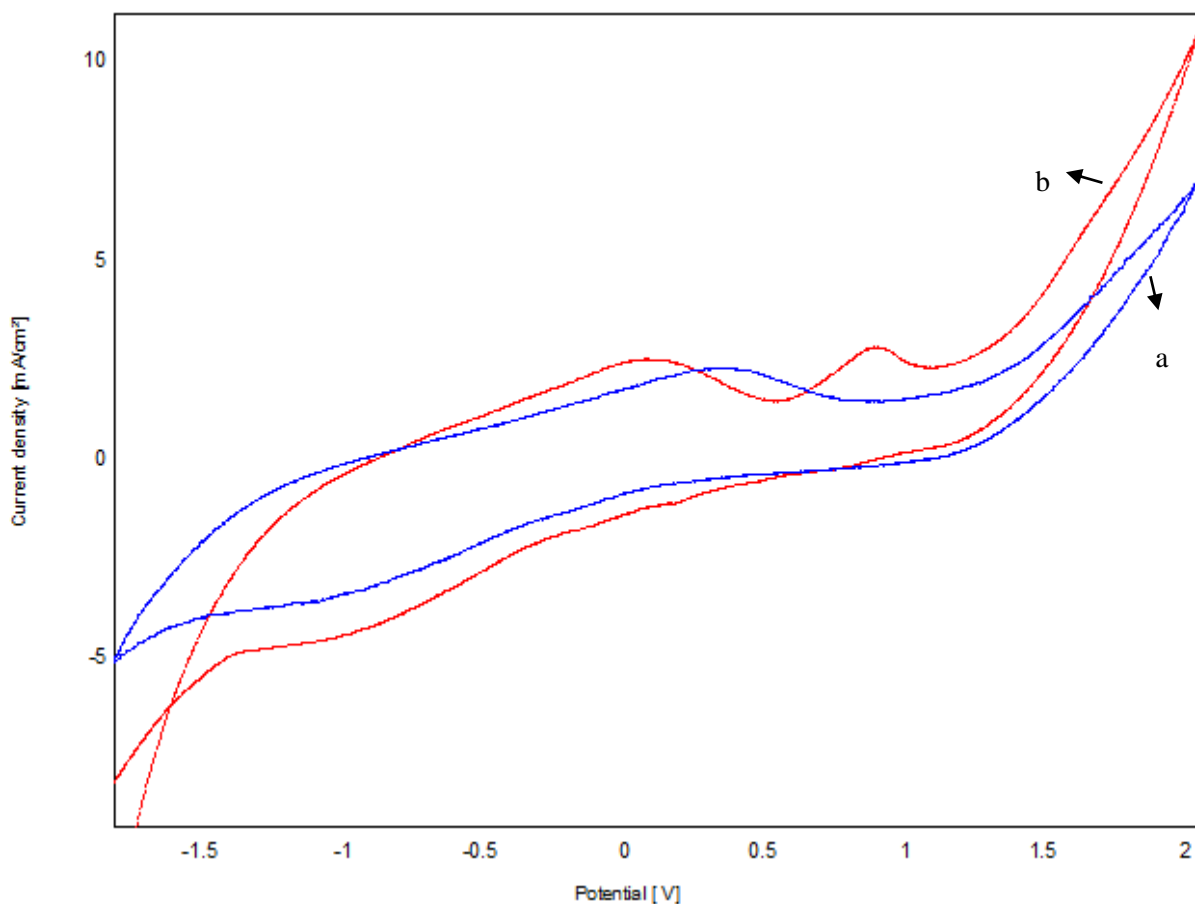


Figure 77: Voltammogrammes cycliques obtenus par CPE-NP-polymère en absence (a) et en présence (b) de 4 mM de phénol dans 0,1 M de NaCl (pH=7) avec une vitesse de balayage de 100 mV/S.

Nous constatons que la présence de film de polycaprolactone sur la surface de l'électrode, entraîne l'apparition d'un pic d'oxydation sur le voltammogramme enregistré à 100 mV/s, à environ 0.86 v (di = 2.77 mA/cm²). Ce pic est attribué à l'oxydation de phénol, ce qui nous laisse avancer que le polycaprolactone est active pour l'oxydation de phénol.

I.3. Elaboration et caractérisation des bioélectrodes

I.3.1. Caractérisation par voltamétrie cyclique

L'électrode de carbone graphite modifiée par le phosphate naturel (CPE-NP) est polymérisée selon les procédures antérieures. L'électrode obtenue (CPE-NP-Polymère) est plongée dans une solution contenant une suspension de bactérie, la durée de contact est 15 min.

Les Figures (78,79) représentent les voltammogrammes cycliques enregistrés respectivement pour les électrodes, CPE-NP-polymère et CPE-NP-Polymère-bactérie, en milieu électrolytique NaCl (0.1 m) à une vitesse de balayage égale à 100 mV.

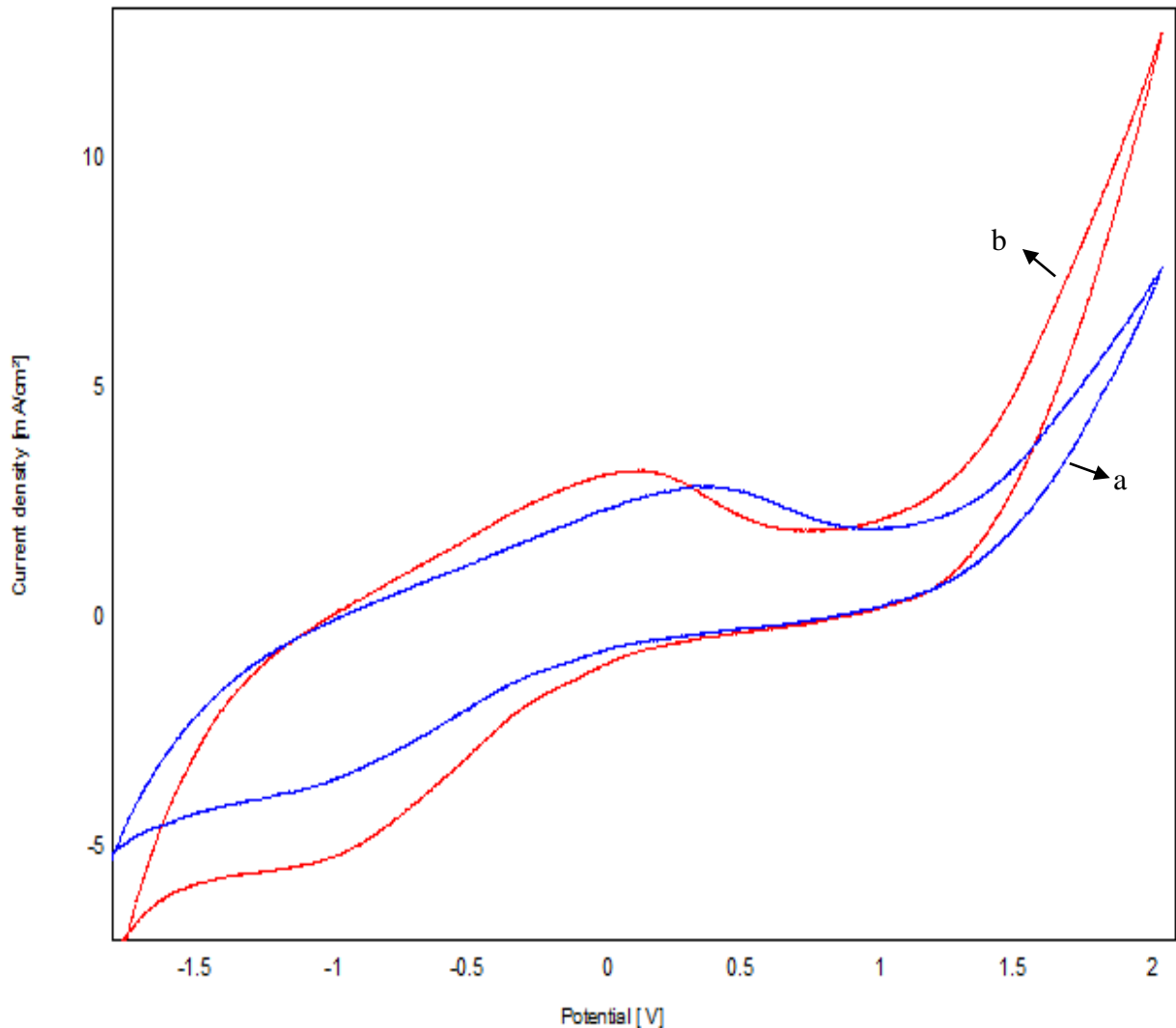


Figure 78 : Voltammogrammes cycliques obtenus par CPE-NP-polymère (a) et CPE-NP- polymère-bactéries (b) dans 0,1M de NaCl (pH=7) avec une vitesse de balayage de 100 mV/S

Nous pouvons constater que la présence des microorganismes à la surface de l'électrode CPE-NP-polymère entraine l'augmentation des densités de courant, en particulier celles de croissance du pic correspond à l'oxydation du polymère [4].

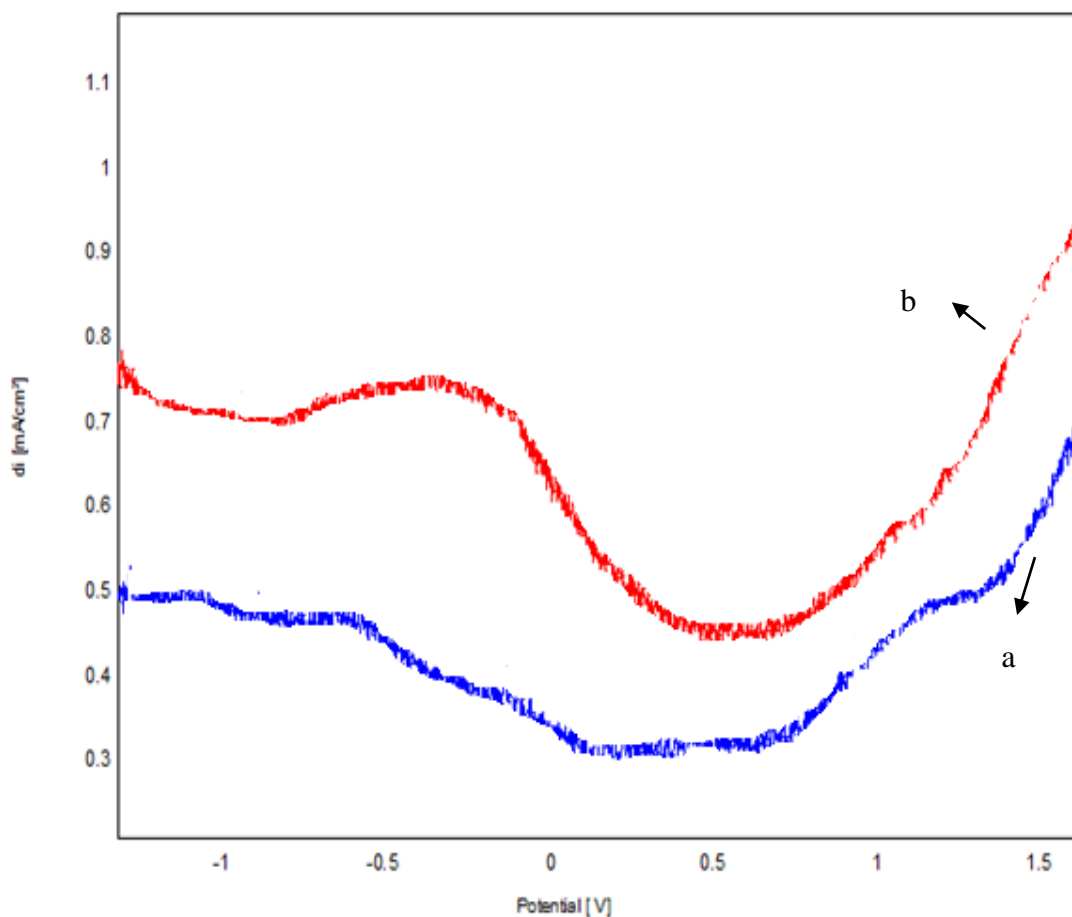


Figure 79 : Voltamogrammes à onde carré obtenus par CPE-NP-polymère (a) et CPE-NP- polymère-bactéries(b) dans 0,1M de NaCl (pH=7) avec une vitesse de balayage de 100 mV/S.

I.3.3. Caractérisation par les courbes de polarisation

La Figure 80 montre les courbes de polarisation enregistrées respectivement, pour l'électrode CPE-NP-polymère et l'électrode CPE-NP-polymère-bactérie. Les paramètres de corrosion notamment le potentiel de la corrosion (E_{corr}), la densité de courant de corrosion (J_{corr}) et les constantes de Tafel (B_a et B_c) obtenus à partir des courbes de Tafel sont regroupés dans le tableau10.

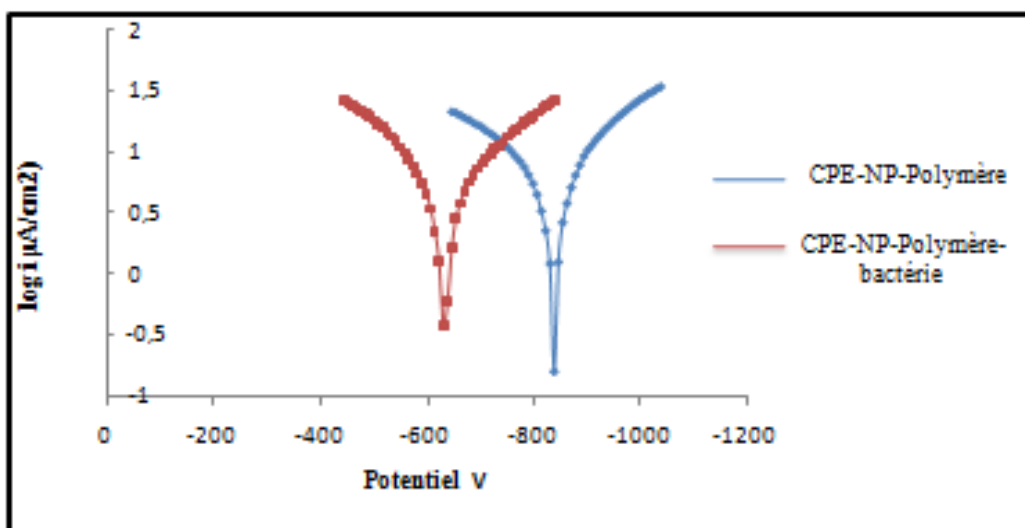


Figure 80 : Courbes de polarisation enregistrées pour l'électrode CPE-NP-Polymère et CPE-NP-polymère-bactérie, dans 1% NaCl.

Tableau 10 : Résumé de paramètres électrochimiques pour les électrodes étudiées dans 1% NaCl.

	E (i = 0) (mV)	Rp (Kohm.cm ²)	icorr (mA/cm ²)	Ba (mV)	Bc (mV)
CPE-Polymère	-175,1	17,34	14,507	301,9	-169,4
CPE-Polymère-bactérie	-122.36	25,68	9.632	555,8	-217,3

La présence des bactéries à la surface de l'électrode augmente la résistance de l'électrode CPE-NP-polymère, en raison de l'adhésion et la croissance du biofilm à la surface.

I.4. L'activité de bioélectrode élaboré pour la biodégradation du phénol

L'oxydation du phénol sur le bioélectrode CPE-NP-polymère-bactérie a été étudiée par la voltamétrie cyclique (Figure 81) et par la voltamétrie à onde carrée (figure 82).

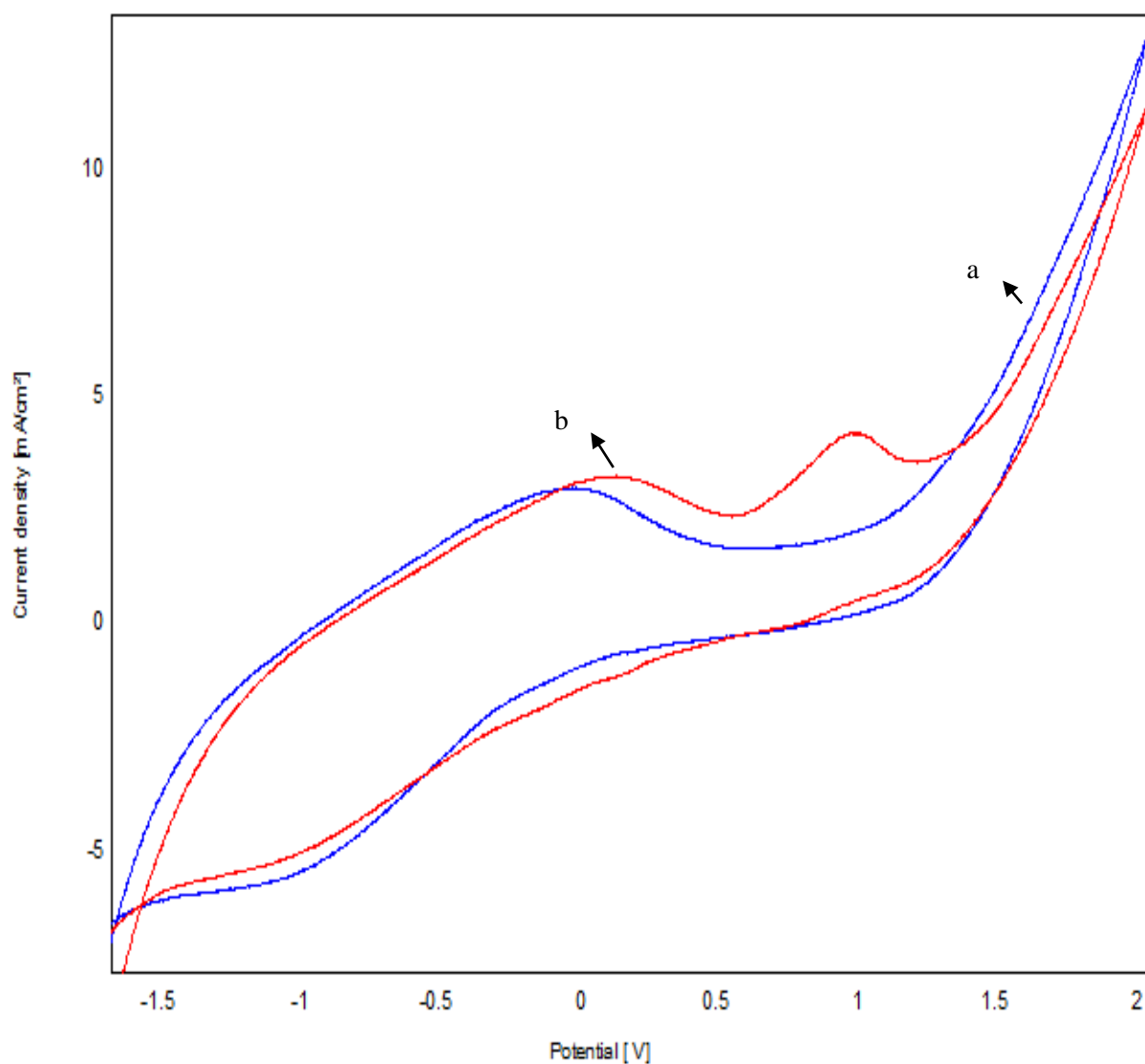


Figure 81 : Voltamogrammes cycliques obtenus par CPE-NP-polymère-bactérie en absence (a) et en présence (b) de 4 mM de phénol dans 0,1 M de NaCl (pH=7) avec une vitesse de balayage de 100 mV/S.

Comme nous pouvons le constater sur la figure (81) en milieu électrolytique neutre NaCl 0.1 M. En absence du phénol, aucun pic n'est observé sur le voltamogramme (a). Par contre, en présence de phénol, on constate l'apparition de deux pics anodiques correspondant à l'oxydation du phénol, le premier à environ 0.15 V et le second vers 0.96V.

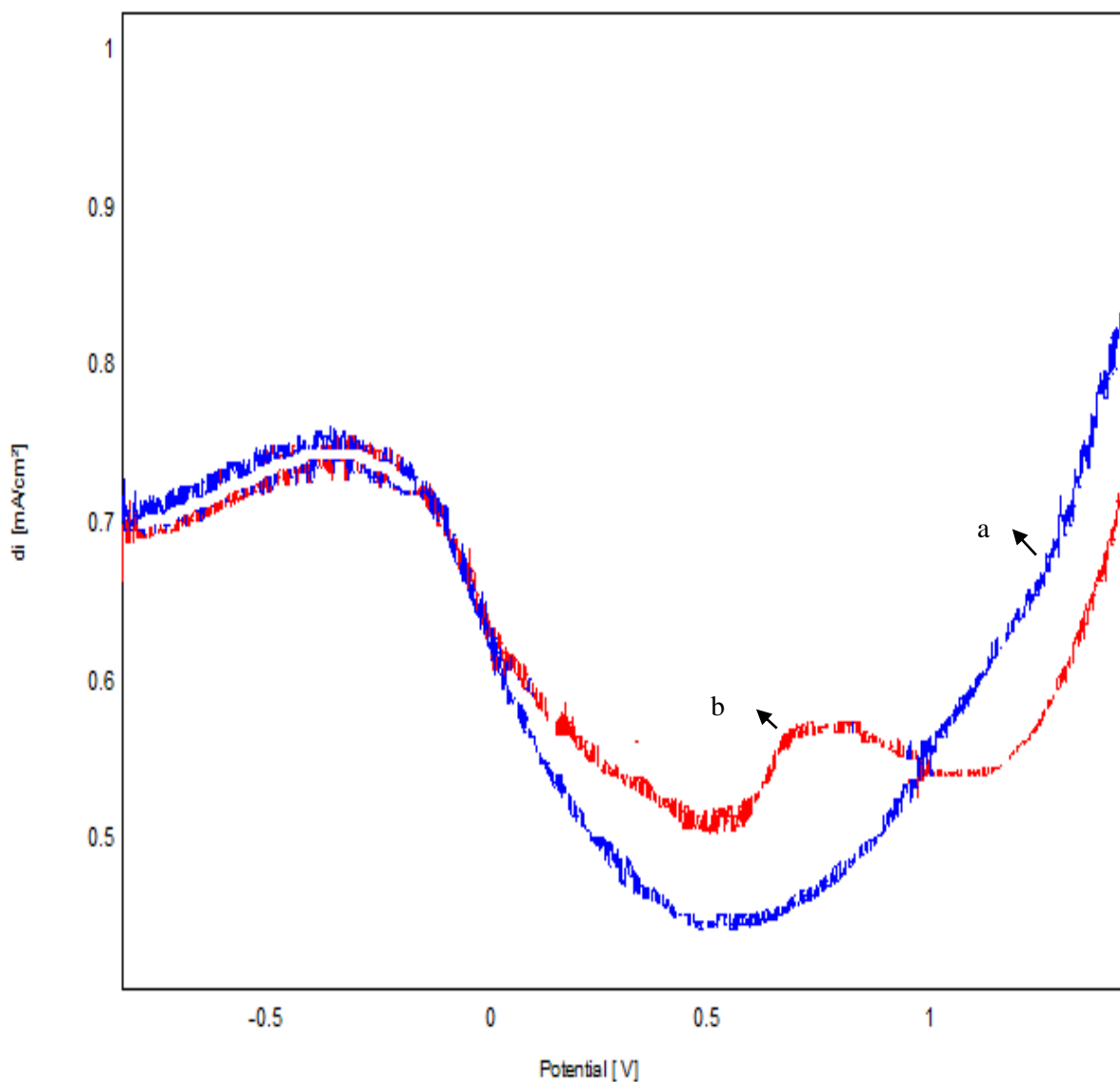


Figure 82 : Voltamogrammes à onde carré obtenus par CPE-NP-polymère-bactérie en absence (a) et en présence (b) de 4 mM de phénol dans 0,1 M de NaCl (pH=7) avec une vitesse de balayage de 100 mV/S.

I.5. Effet de la vitesse de balayage

L'effet de la vitesse de balayage sur les intensités de pic d'oxydation du phénol a été étudié par voltamétrie cyclique, dans une solution de 0,1M de NaCl (pH~7), contenant 8 mM du phénol, pour des vitesses de balayage comprises entre 40 et 140 $\text{mV}\cdot\text{s}^{-1}$ (figure 83). Les densités de courant varient linéairement avec la vitesse de balayage (figure 84).

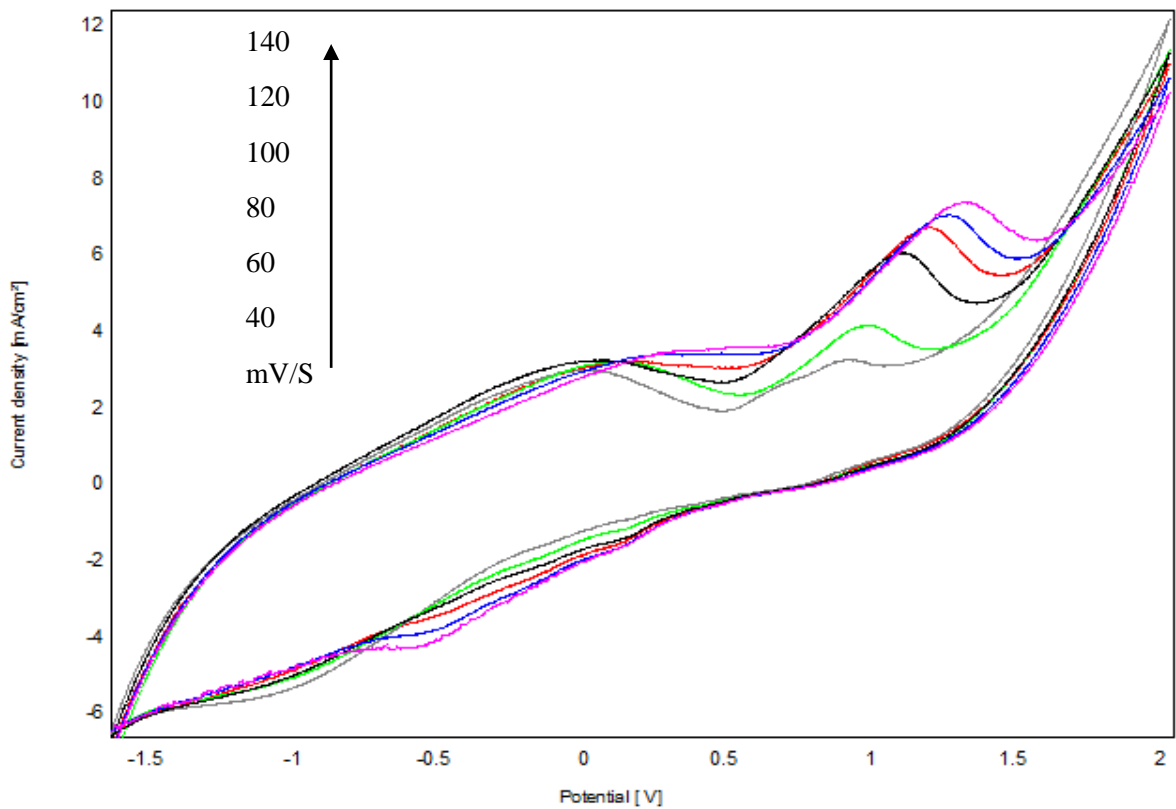


Figure 83 : Influence de la vitesse de balayage sur l'intensité des pics d'oxydoreduction du phénol pour CPE-PN-polymère-bactérie.

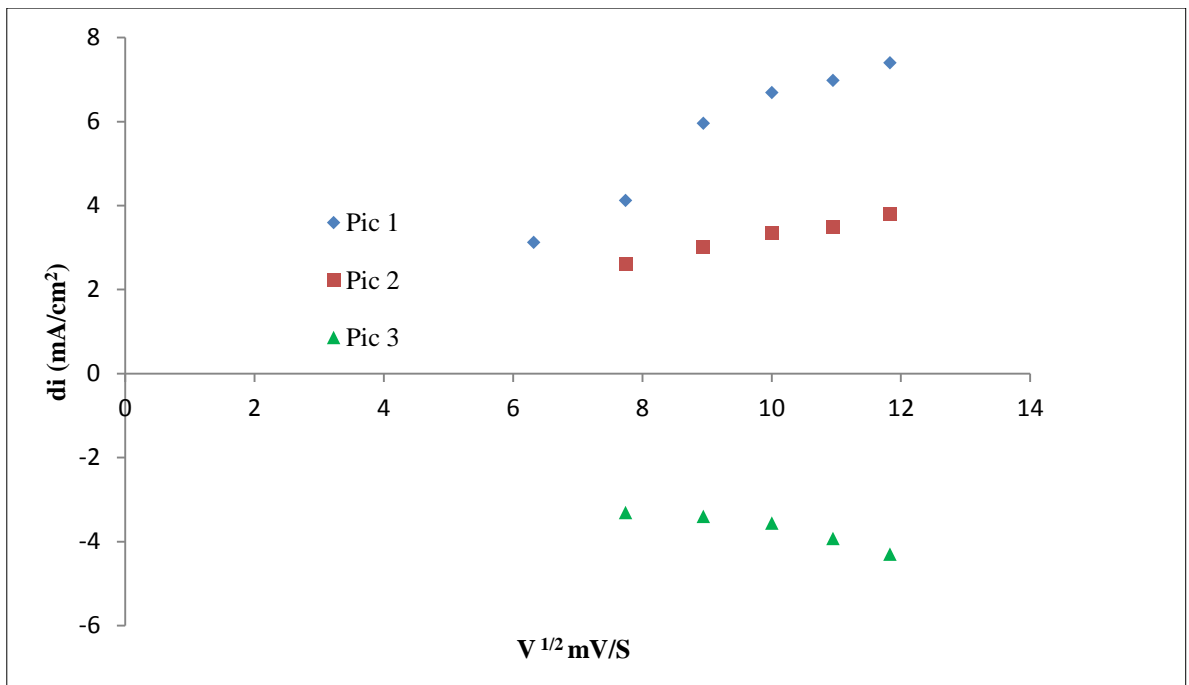


Figure 84 : Influence de la vitesse de balayage sur l'intensité des pics d'oxydoreduction du phénol pour CPE-PN-polymère-bactérie.

I.6. Influence de la concentration du phénol

La variation de l'intensité des pics anodiques en fonction de la concentration du phénol a été suivie par voltamétrie cyclique (figure 85), par voltamétrie à onde carrée (figure 86) et par spectroscopie d'impédance (EIS). Nous constatons que les densités de pic augmentent avec la concentration du phénol, ce qui montre que la nouvelle surface de l'électrode dispose d'un nombre important de sites actifs. Ce résultat est confirmé par les diagrammes d'impédances, qui montrent des courbes sous forme de demi-cercle à hautes fréquences attribués au transfert des électrons (R_t), le diamètre de ces demi-cercles correspond à la résistance de transfert d'électron. L'augmentation de la concentration du phénol baisse la valeur de R_t .

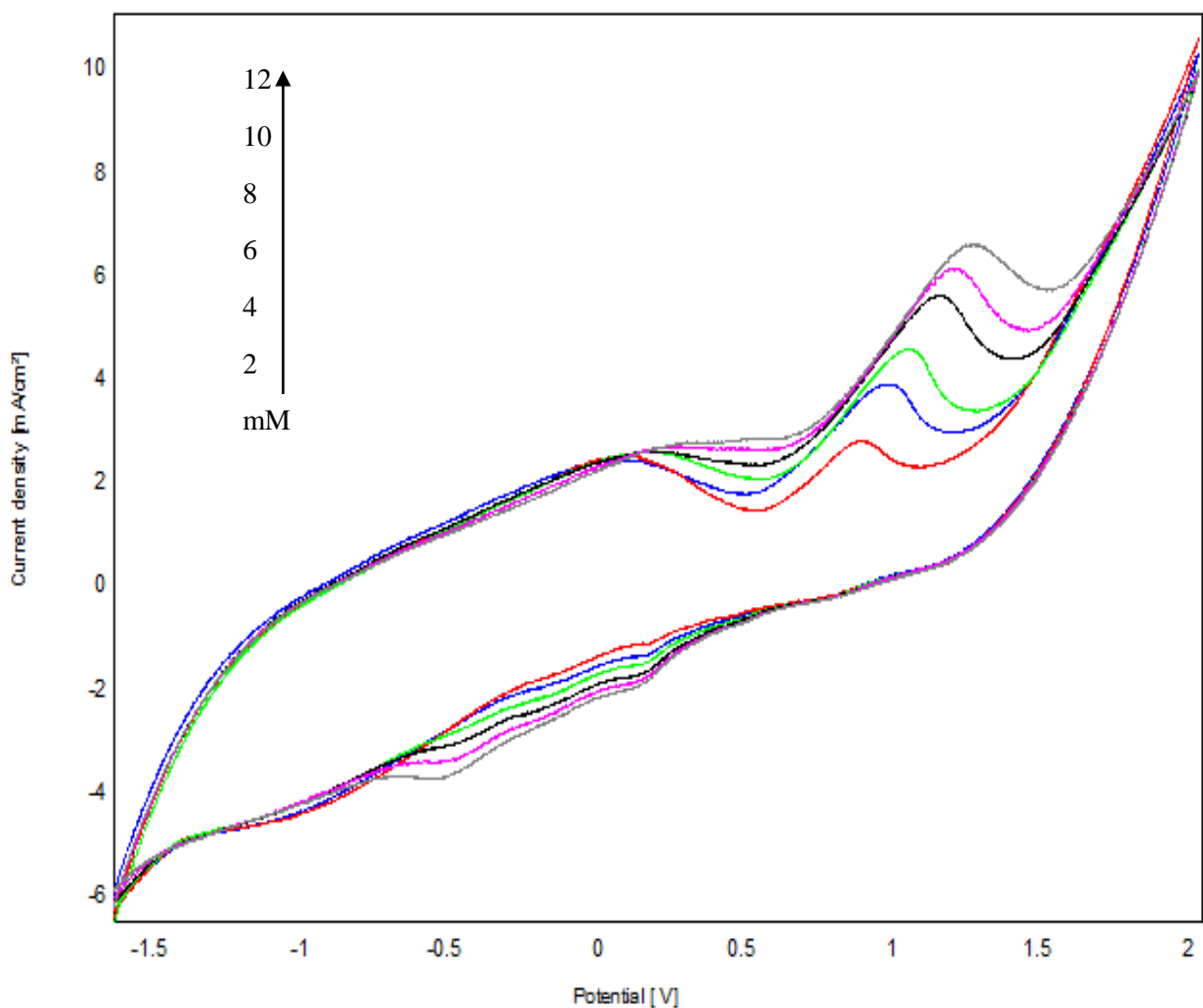


Figure 85 : Voltammogramme cyclique à différentes concentrations de phénol (de 2 mM à 12 mM) dans 0,1 M de NaCl (pH = 7) sur CPE-NP-polymère -bactérie, $V = 100 \text{ mV.S}^{-1}$

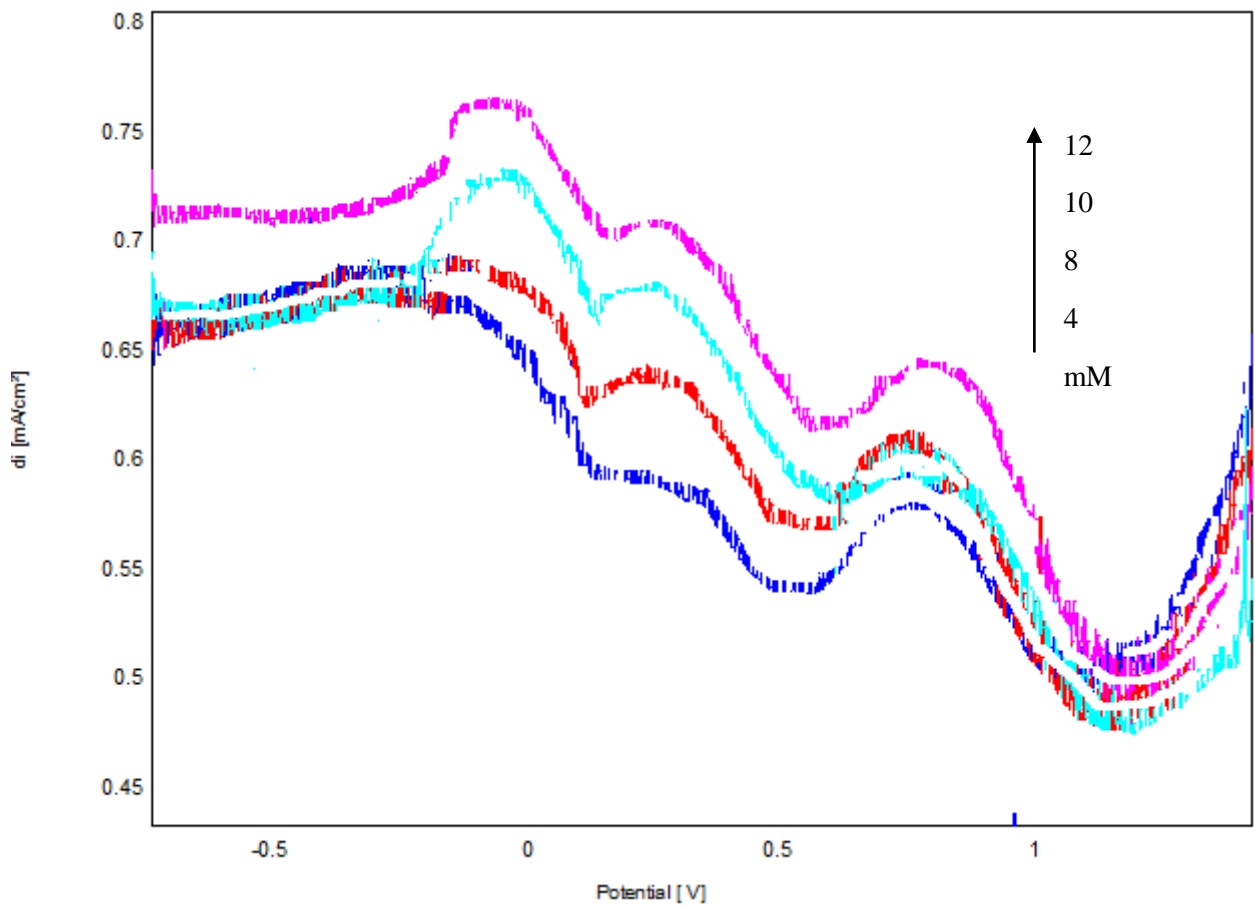


Figure 86 : Voltamogrammes de SQW à différentes concentrations de phénol (de 4 mM à 12 mM) dans 0,1 M de NaCl (pH = 7) sur CPE-NP-polymère -bactérie, $V = 100 \text{ mV.S}^{-1}$

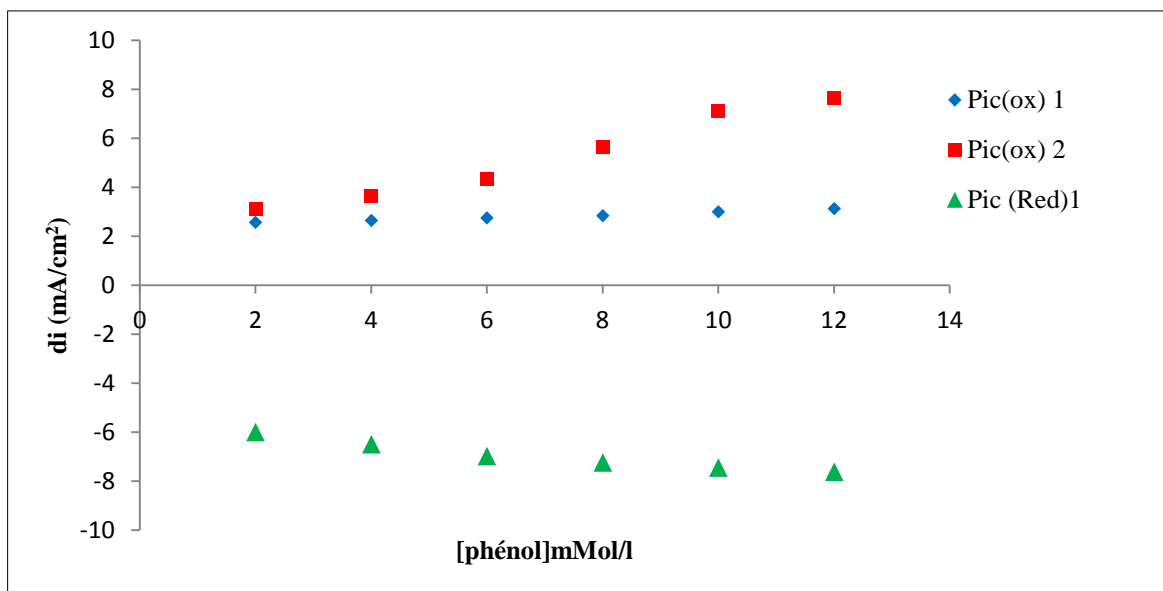


Figure 87 : Effet de concentration sur l'intensité des pics d'oxydoréduction du phénol pour CPE-PN-polymère-bactérie.

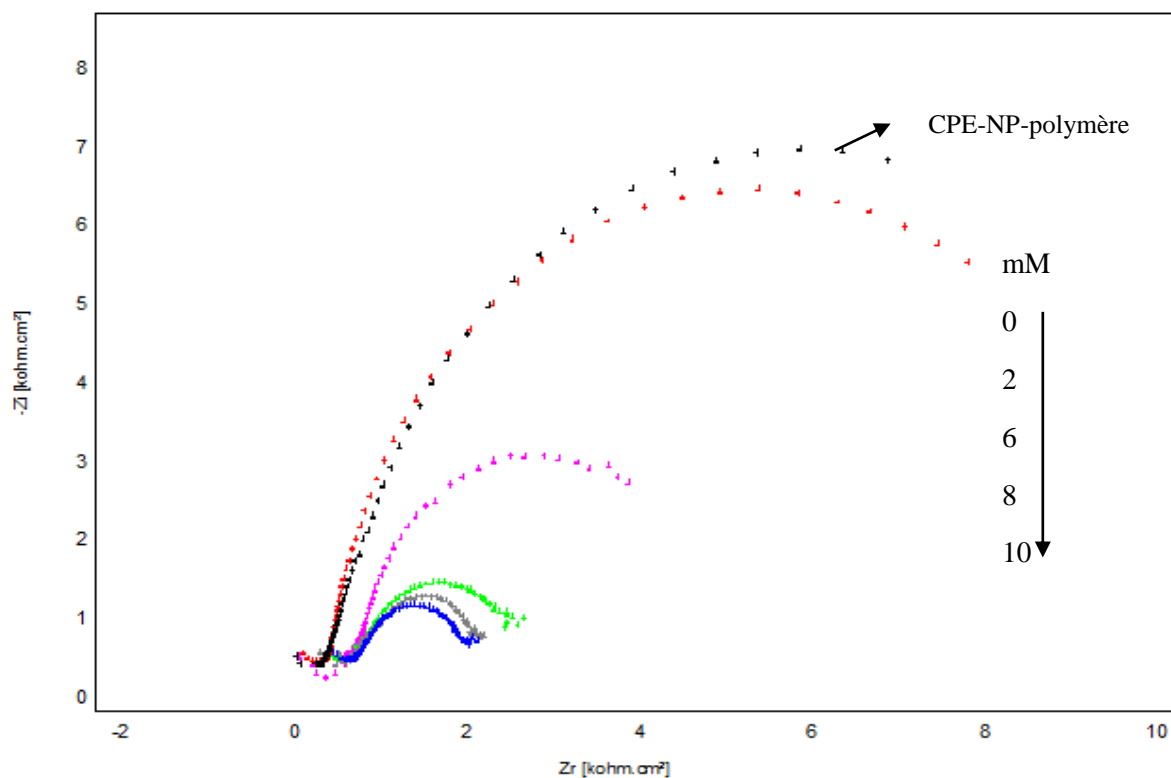


Figure 88 : Diagramme d'impédance à différentes concentrations de phénol (de 0 à 10 mM) dans 0,1 M de NaCl (pH = 7) sur CPE-NP-polymère-bactérie, $V = 100 \text{ mV.S}^{-1}$.

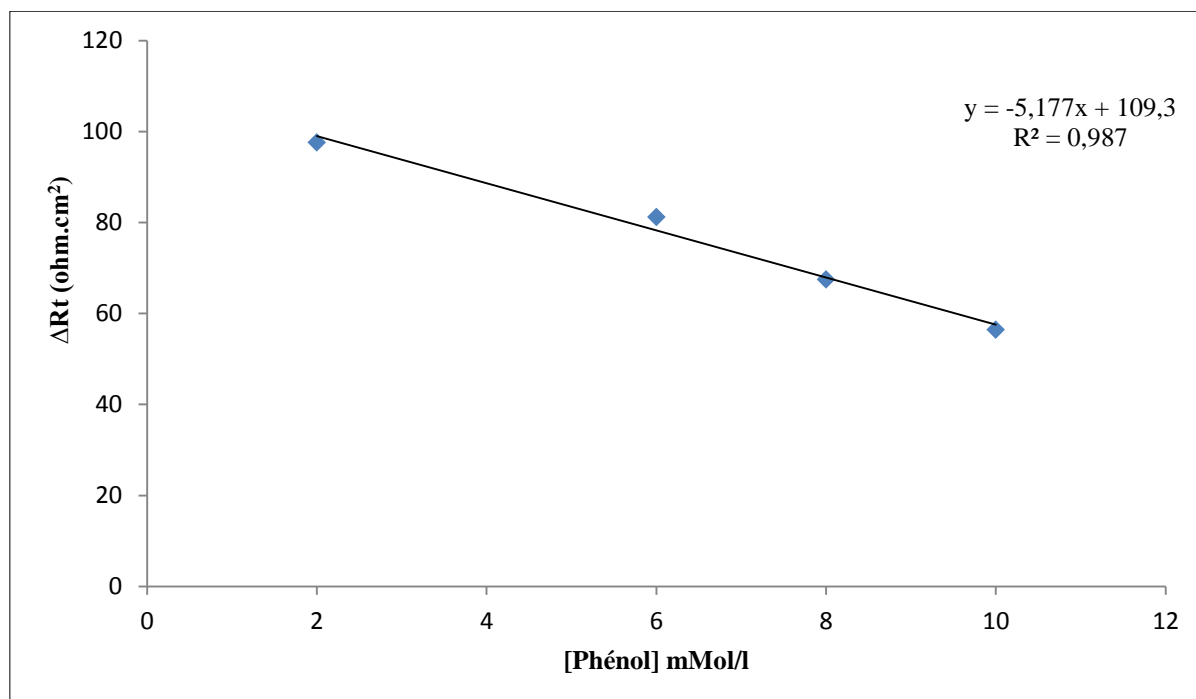


Figure 89 : Evolution de la résistance de transfert de charge en fonction de concentration du phénol

I.7. Evaluation de l'activité de l'électrode modifiée bactérie-NP-CPE pour la biodétection du phénol

I.7.1 Etude voltamétrique

La Figure 90 représente les voltamogrammes cyclique obtenus en présence de 4 mM du phénol, respectivement sur CPE-NP-polymère et CPE-NP-polymère-bactérie, avec une vitesse de balayage égale 100mVs^{-1} dans la plage potentiel comprise entre -2V à 2V et milieu électrolytique NaCl 0.1M.

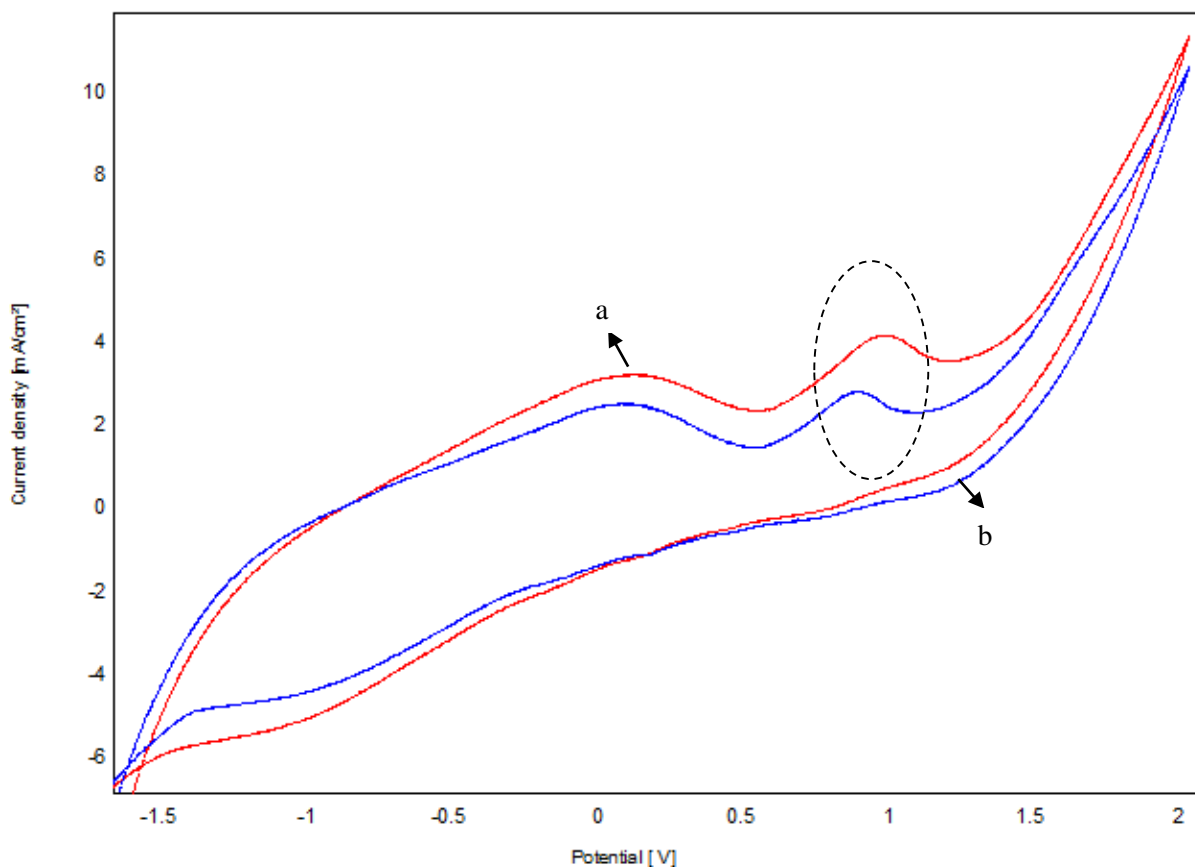


Figure 90 : Voltamogrammes cycliques obtenus par CPE-NP-polymère-bactérie(a)et CPEE-NP-polymère (b) en présence de 6 mM de phénol dans 0,1 M de NaCl (pH=7) avec une vitesse de balayage de 100 mV/S

Sur cette figure, nous présentons une étude comparative de l'effet de l'immobilisation de bactérie sur la surface d'électrode polymère-NP –CPE pour d'oxydation du phénol. Nous constatons que la présence de bactérie a un effet important que son absence.

L'activité de bactérie immobilisée sur la surface d'électrode polymère-NP-CPE calculée pour l'oxydation du phénol est : **59.18%**.

I.7.2. Courbes de calibration

Les courbes de calibration ont été tracées respectivement pour les électrodes CPE-NP-polymère et CPE-NP-polymère-bactérie, à partir des voltammogrammes à ondes carrée (figure 91). Ces expériences sont réalisées dans la gamme de concentration, qui varie entre 4 et 12 mmol l⁻¹. Le tableau 11 regroupe les équations de corrélation et les limites de détections et quantifications calculées pour les deux électrodes CPE-Ar-polymère et CPE-Ar-polymère-bactérie.

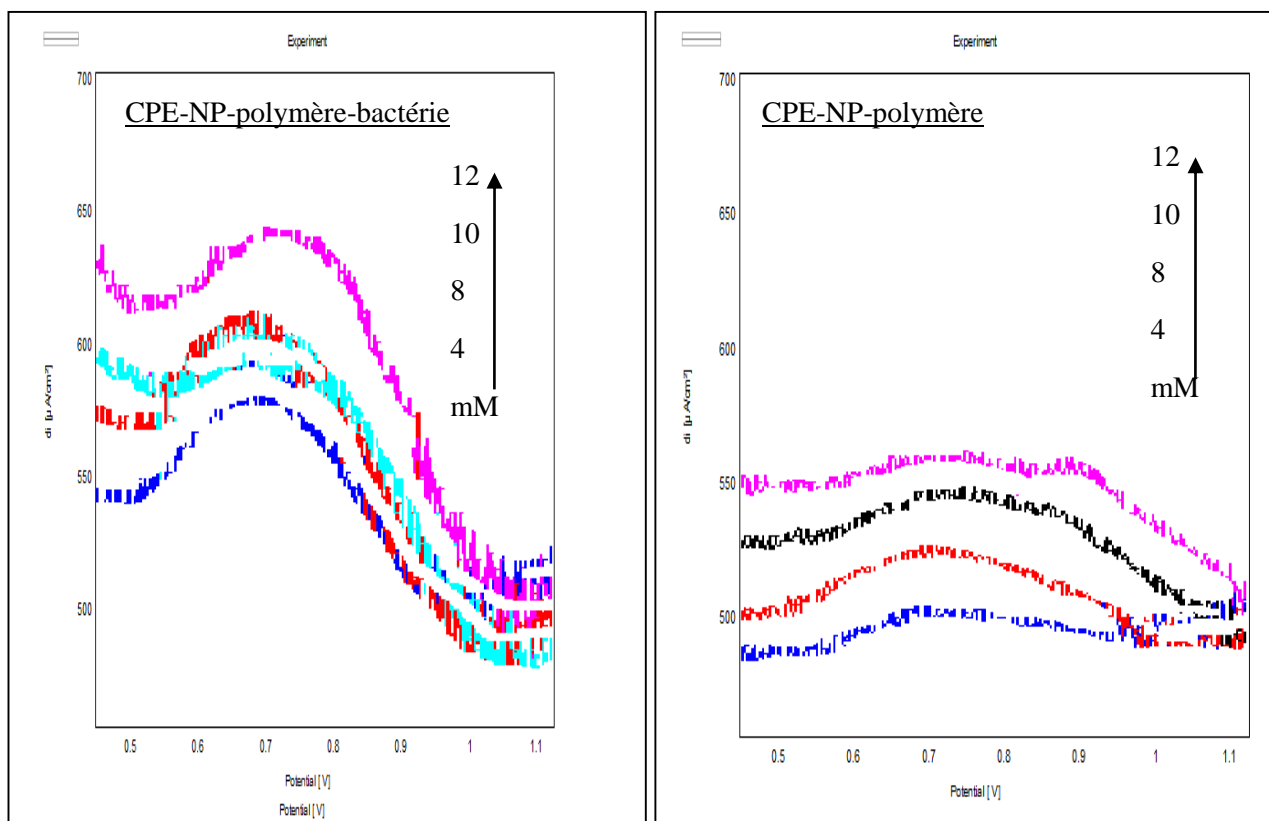


Figure 91: Influence de la concentration du phénol sur l'intensité d'un pic d'oxydation obtenus par enregistrés par les électrodes CPE-NP-polymère et CPE-NP-polymère -bactérie.

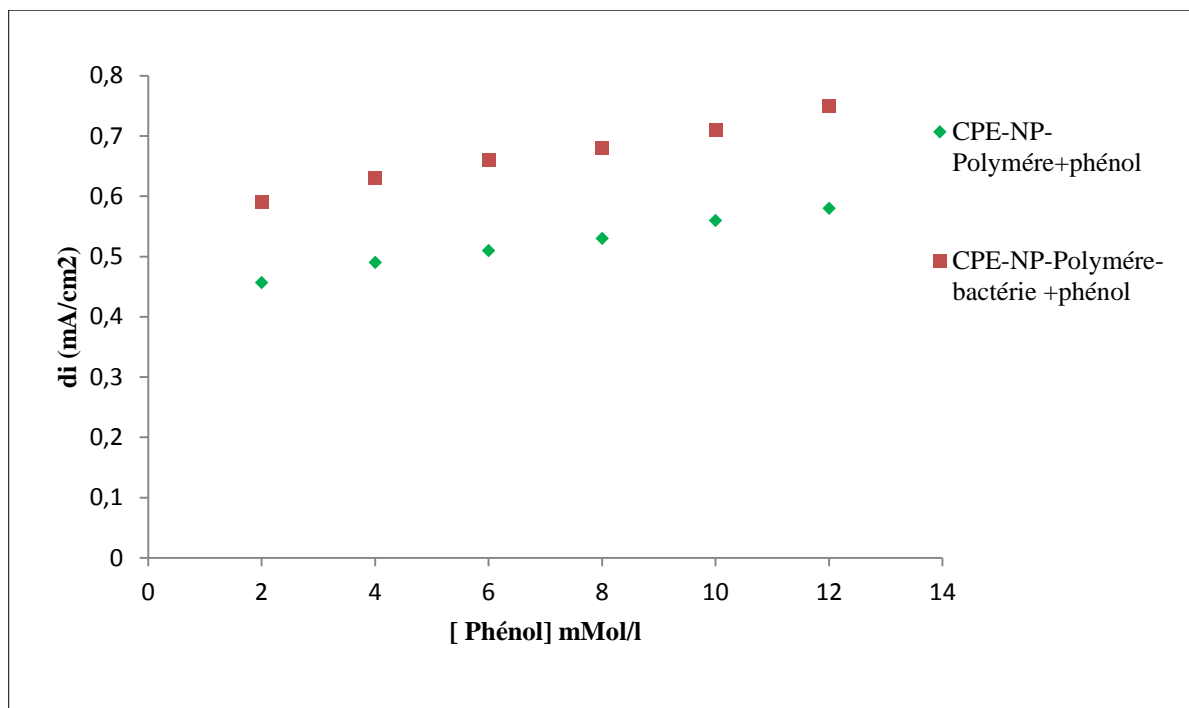


Figure 92 : Activité de les deux bio électrodes élaborés CPE-NP-polymère-bactérie et CPE-NP-polymère-bactérie pour la biodégradation du phénol

Tableau 11 : Les équations de corrélation et les limites de détections et quantifications obtenus par les électrodes CPE-NP-polymère et CPE-NP-polymère-bactérie.

Electrode	Equation	R ²	D.L (mol.L ⁻¹)	Q.L (mol.L ⁻¹)
CPE-NP-Polymère +Phénol	di = 0,015x + 0,564	R ² =0,990	2.762.10 ⁻⁶	4.561.10 ⁻⁵
CPE-NP-Polymère bactérie+phénol	di = 0,012x + 0,436	R ² = 0,993	5.009.10 ⁻⁸	3.962.10 ⁻⁷

I.8.Caractérisation par les rayons X

La surface de l'électrode de pâte de carbone modifiée par le phosphate naturel après modification par le polymère et après détection du phénol, a été analysée par diffraction des rayons X.

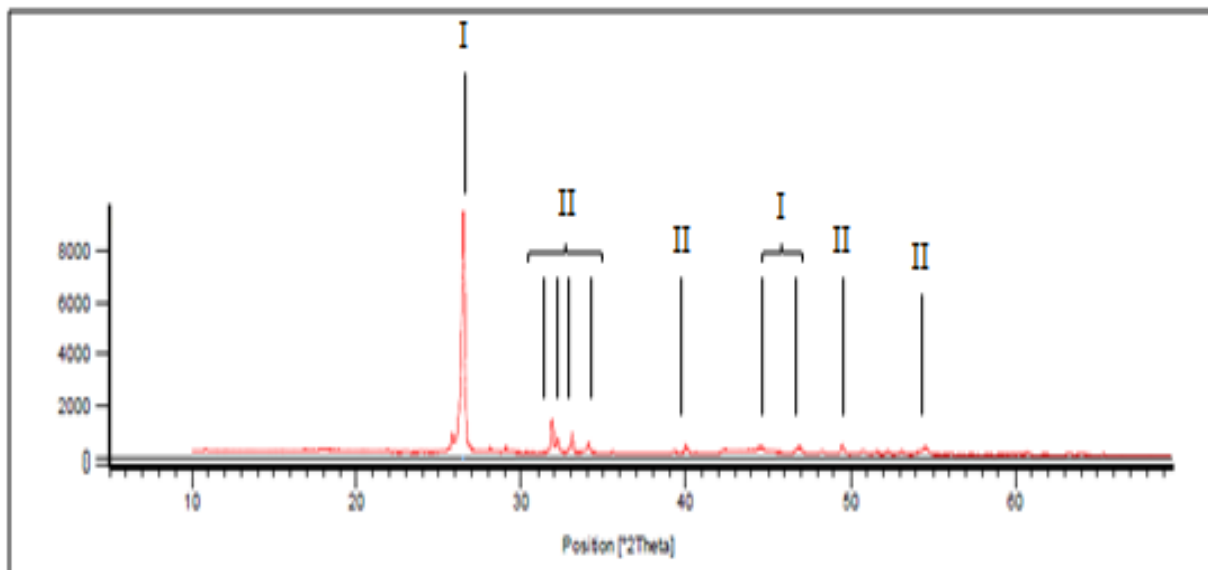


Figure 93 : Le spectre de DRX enregistrés par la surface de l'électrode CPE-NP

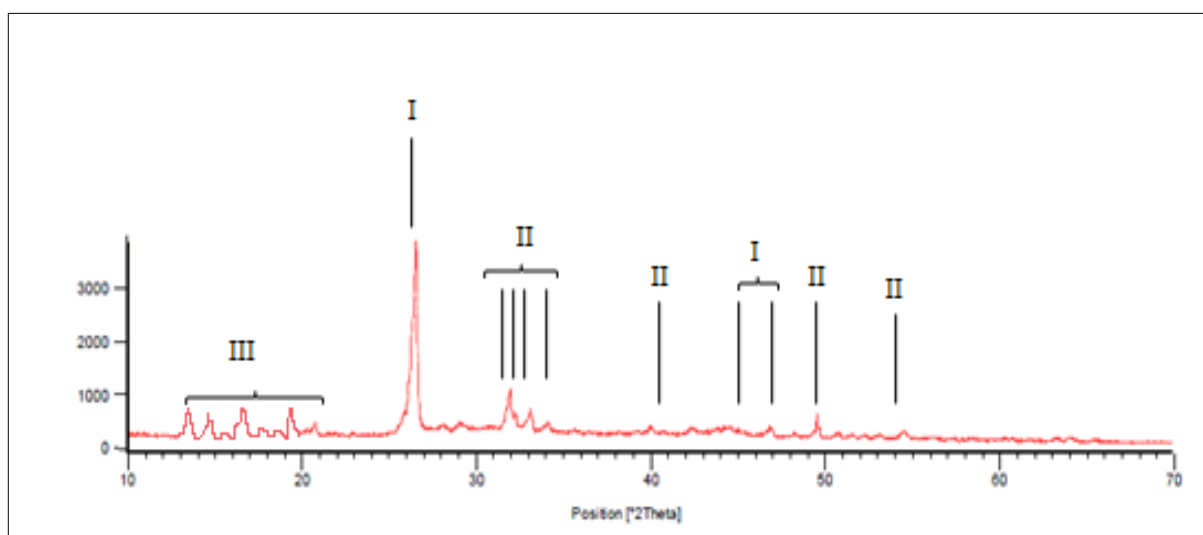


Figure 94: Le spectre de DRX enregistrés par la surface de l'électrode CPE-NP-Polymère-phénol

Pics I: correspondent le carbone graphite

Pics II : correspondent la structure de fluoroapatite de phosphate naturel

Pics III : correspondent le chevauchement des pics du phénol et polycaprolactone

A partir de ces spectre nous pouvons constater la présence de la matrice phosphate-polymère dans laquelle est incorporé le phénol.

I.9. Caractérisation physique

La surface de l'électrode CPE-NP-polymère après détection du phénol, a été observée par microscopie optique. La présence du polymère à la surface de l'électrode augmente sa porosité et par conséquent facilite l'adsorption du phénol dans la matrice phosphate-polymère.

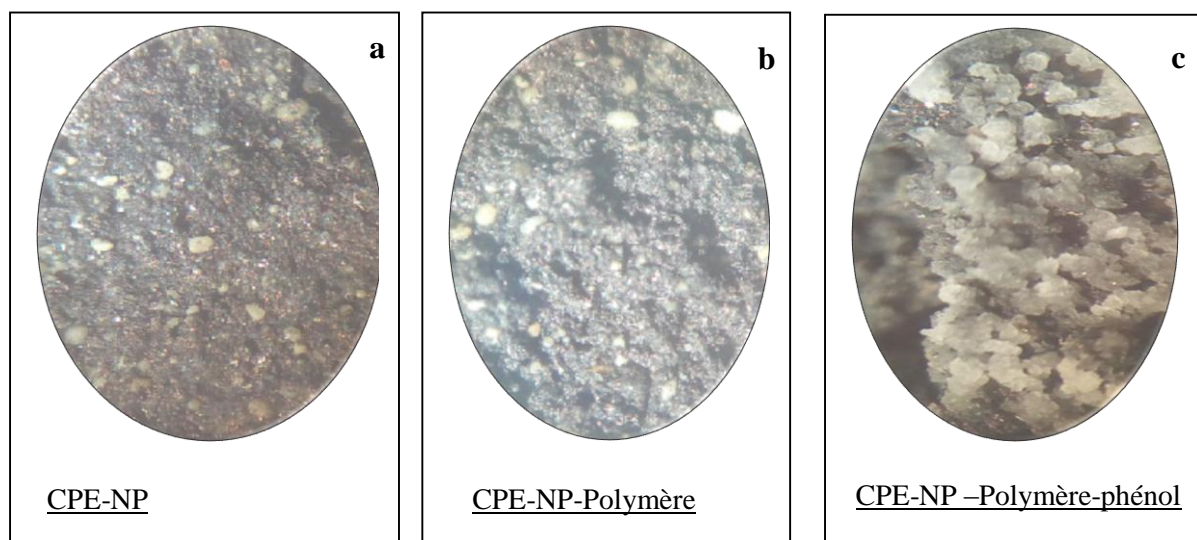


Figure 95 : Electrode de pâte de carbone-phosphate naturel(a) après modification par polymère (b) et après la détection du phénol (c).

II. Electrode à pâte de carbone modifiée par l'argile (CPE-Ar)

II.1 Electropolymérisation de monomère de ϵ - caprolactone

La figure 96 représente les voltampérogrammes cyclique correspondant à la polymérisation du ϵ -caprolactone sur l'électrode CPE-Ar, enregistrés avec une vitesse de balayage égale à 80 mV/S dans la solution de NaCl (0.1 mol/l) contenant 2 ml ϵ - caprolactone dans un intervalle de potentiel compris entre -2 V et 2 V.

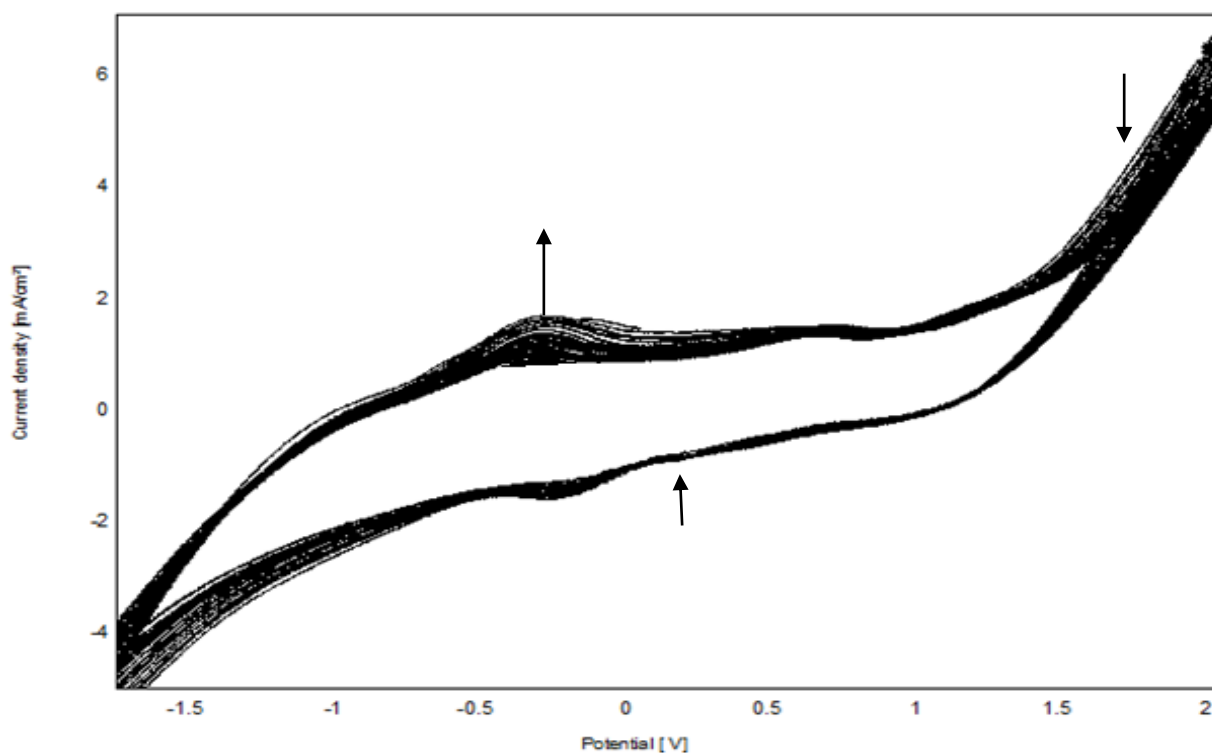


Figure 96 : Voltampérogramme d'électropolymérisation du ϵ -carolactone dans électrolyte de 0.1 M de NaCl à pH=7, sur CPE-Ar avec une vitesse de balayage 80 mV/S

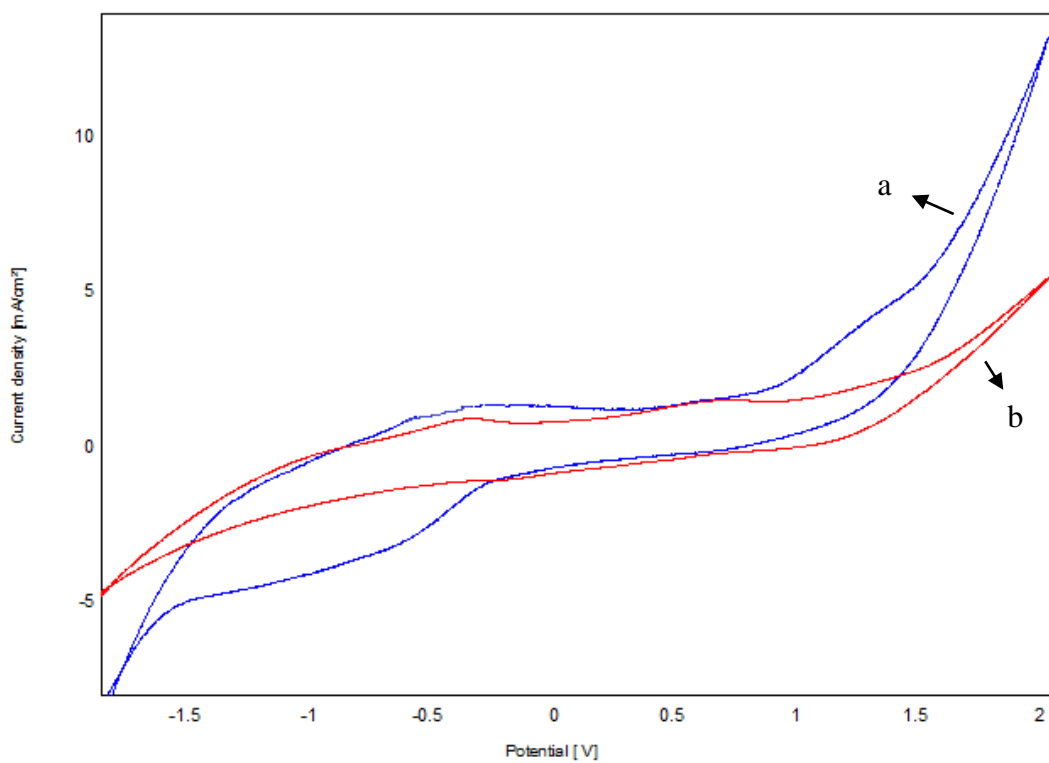


Figure 97 : Voltamogrammes cycliques obtenus par CPE-Ar (a) et CPE-Ar-polymère (b) dans 0,1M de NaCl (pH=7) avec une vitesse de balayage de 100 mV/S.

II.2. Activité de l'électrode CPE-Ar- Polymère pour la détection du phénol

La figure 98 montre les voltamogrammes cycliques enregistrés, en milieu électrolytique (NaCl 0,1M) dans la gamme de potentiel comprise entre -2 V et 2 V, en présence et en absence de 4 mM du phénol, sur l'électrode CPE-Ar –polymère à 100 mV.s^{-1} .

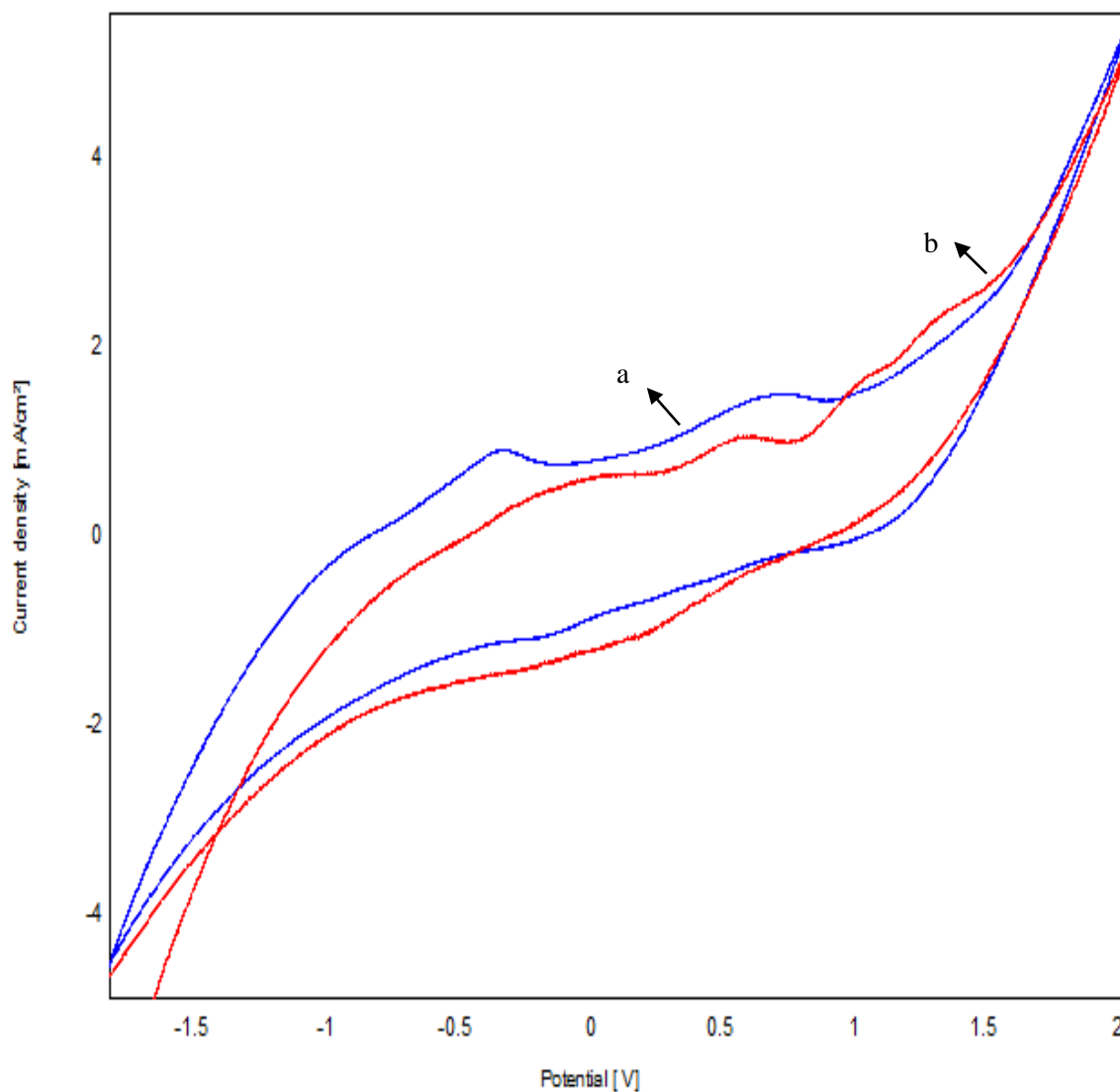


Figure 98 : Voltamogrammes cycliques obtenus par CPE-Ar-polymère en absence (a) et en présence (b) de 4 mM de phénol dans 0,1 M de NaCl (pH=7) avec une vitesse de balayage de 100 mV/S

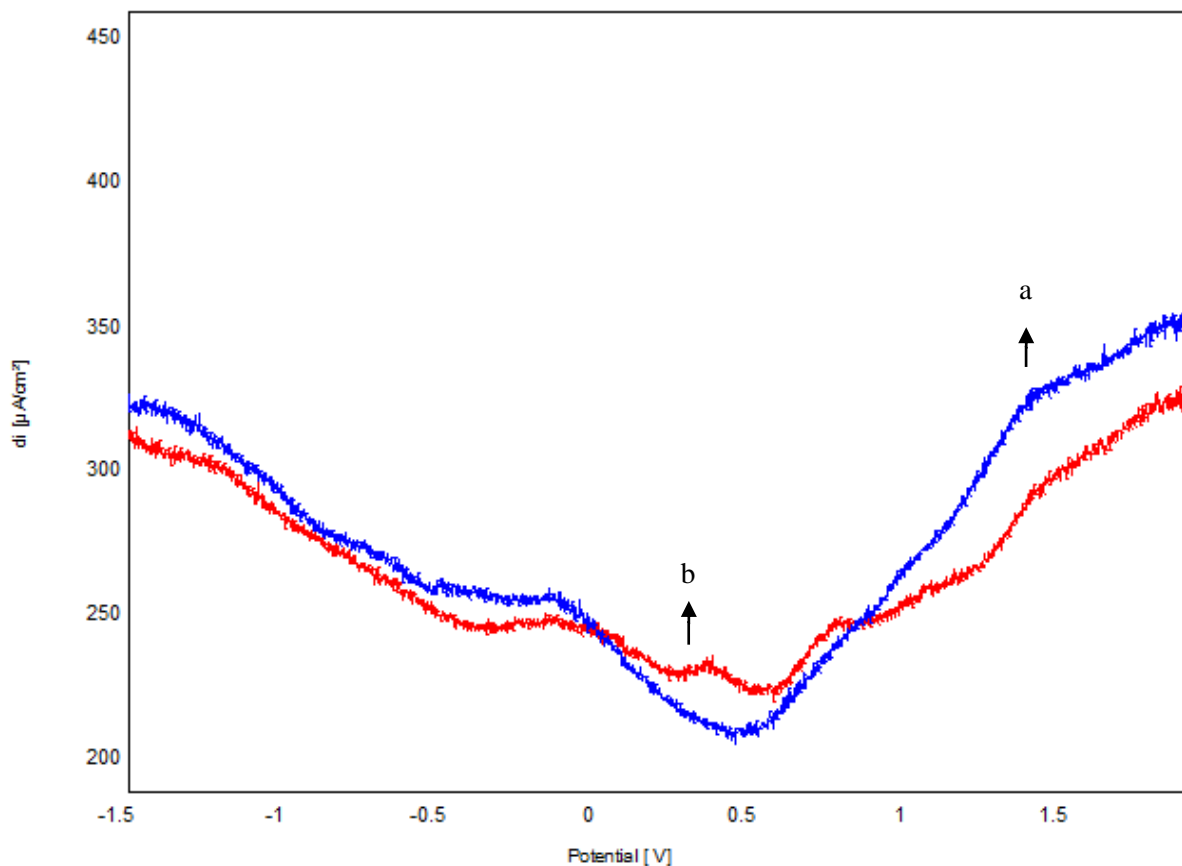


Figure 99 : Voltamogrammes de SQW obtenus par CPE-Ar-polymère en absence (a) et en présence (b) de 4 mM de phénol dans 0,1 M de NaCl (pH=7) avec une vitesse de balayage de 100 mV/S.

II.3. Influence de la concentration du phénol

La variation de l'intensité des pics anodiques en fonction de la concentration du phénol a été suivie par voltamétrie cyclique (figure 100) et par voltamétrie à onde carrée (figure 101). Nous constatons que les densités de courant du pic anodique augmentent avec la concentration, ce qui montre que la surface de l'électrode ne présente aucun état d'empoisonnement.

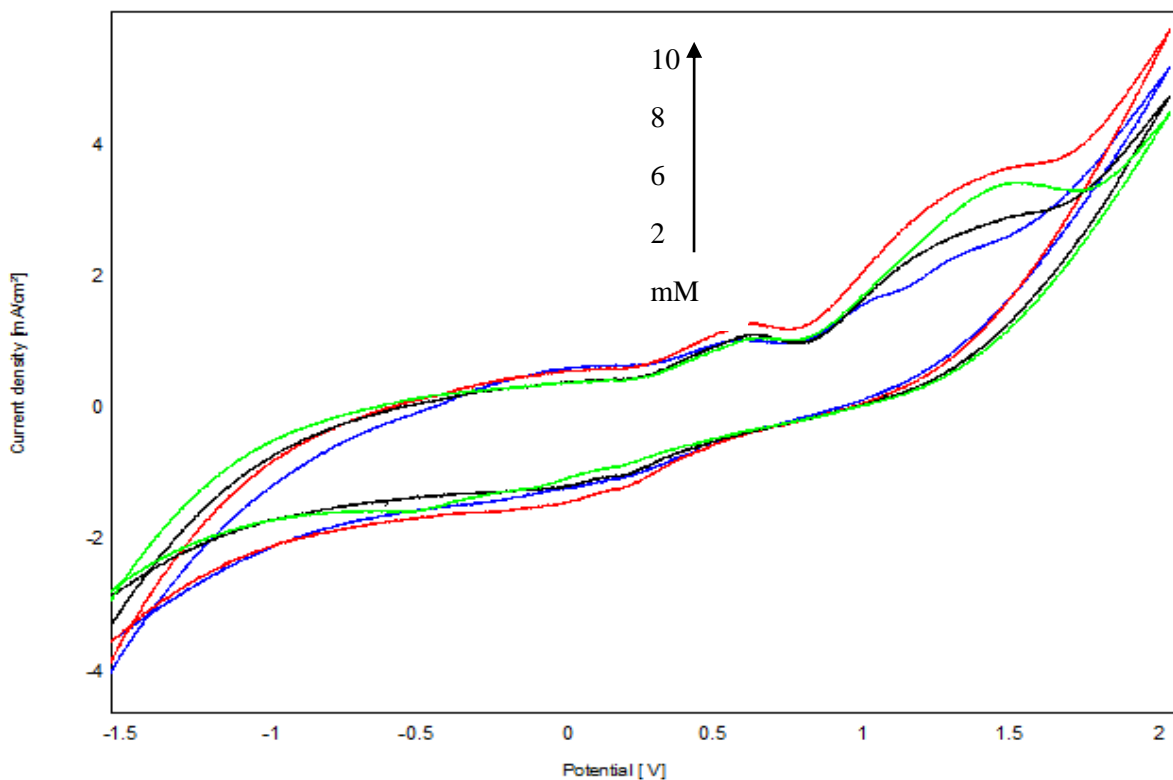


Figure 100 : Voltamogrammes cycliques à différentes concentrations de phénol (de 2 mM à 10 mM) dans 0,1 M de NaCl (pH = 7) sur CPE-Ar-polymère, $V = 100 \text{ mV.S}^{-1}$

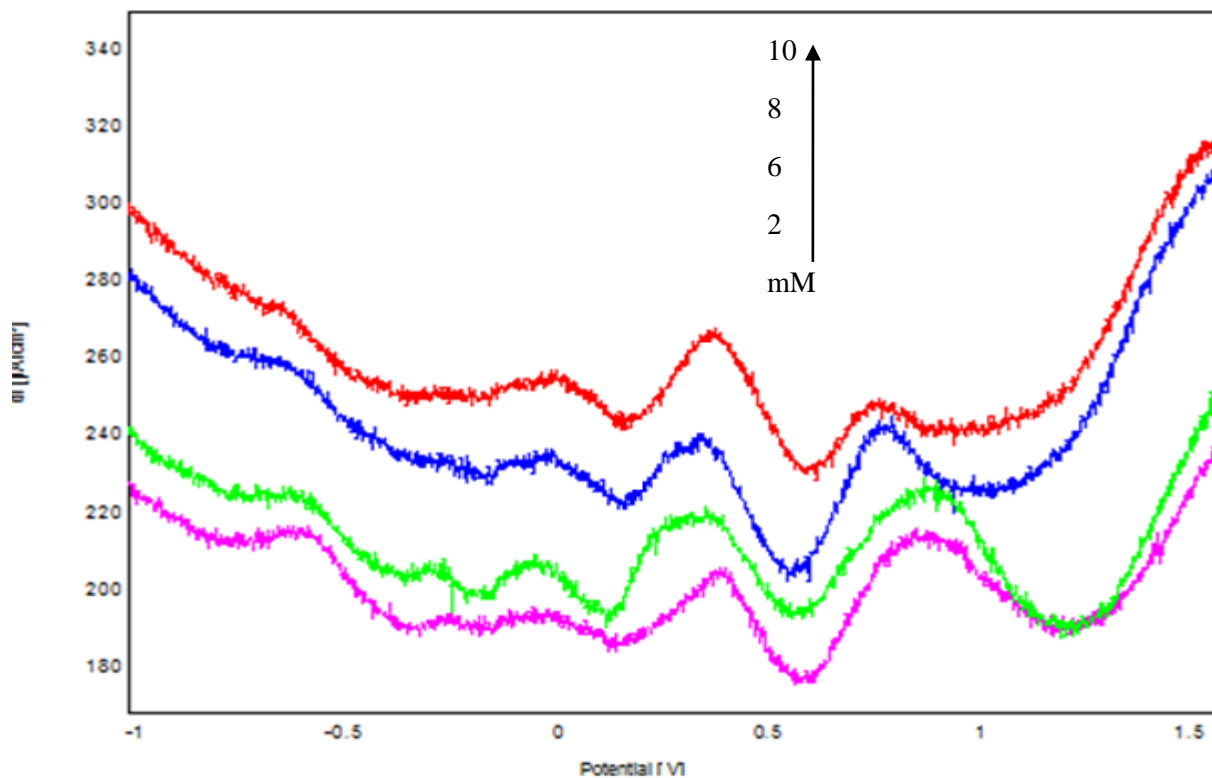


Figure 101 : Voltamogrammes de SQW à différentes concentrations de phénol (de 2 mM à 10 mM) dans 0,1 M de NaCl (pH = 7) sur CPE-Ar-polymère-bactérie, $V = 100 \text{ mV.S}^{-1}$

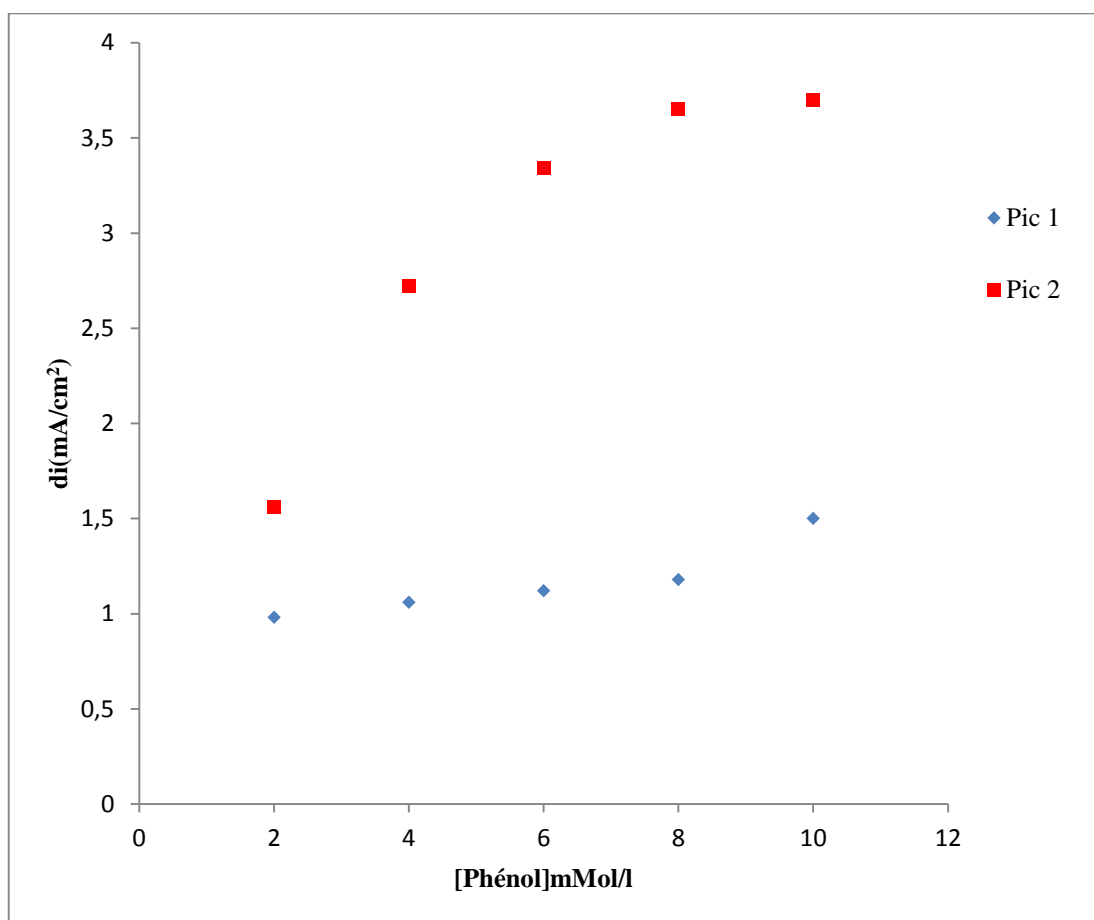


Figure 102 : Effet de concentration sur l'intensité des pics d'oxydation du phénol sur CPE-Ar-polymère.

II.4. Elaboration et caractérisation des bioélectrodes

II.4.1. Caractérisation par voltamétrie cyclique

L'électrode CPE-Ar-polymère modifiée par un bio film a été conçue selon les mêmes procédures que précédemment. Les figures (103,104) représentent les voltammogrammes cycliques enregistrés respectivement pour les électrodes CPE-Ar-polymère et CPE-Ar-polymère-bactérie, en milieu NaCl 0.1M à 100 mV/s. Nous constatons que la présence des bactéries dans la matrice minérale entraîne une augmentation relative des densités de courant du voltammogramme dans les 2 sens de balayage anodique et cathodique [6]. Cet effet apparaît clairement en voltammétrie à onde carrée.

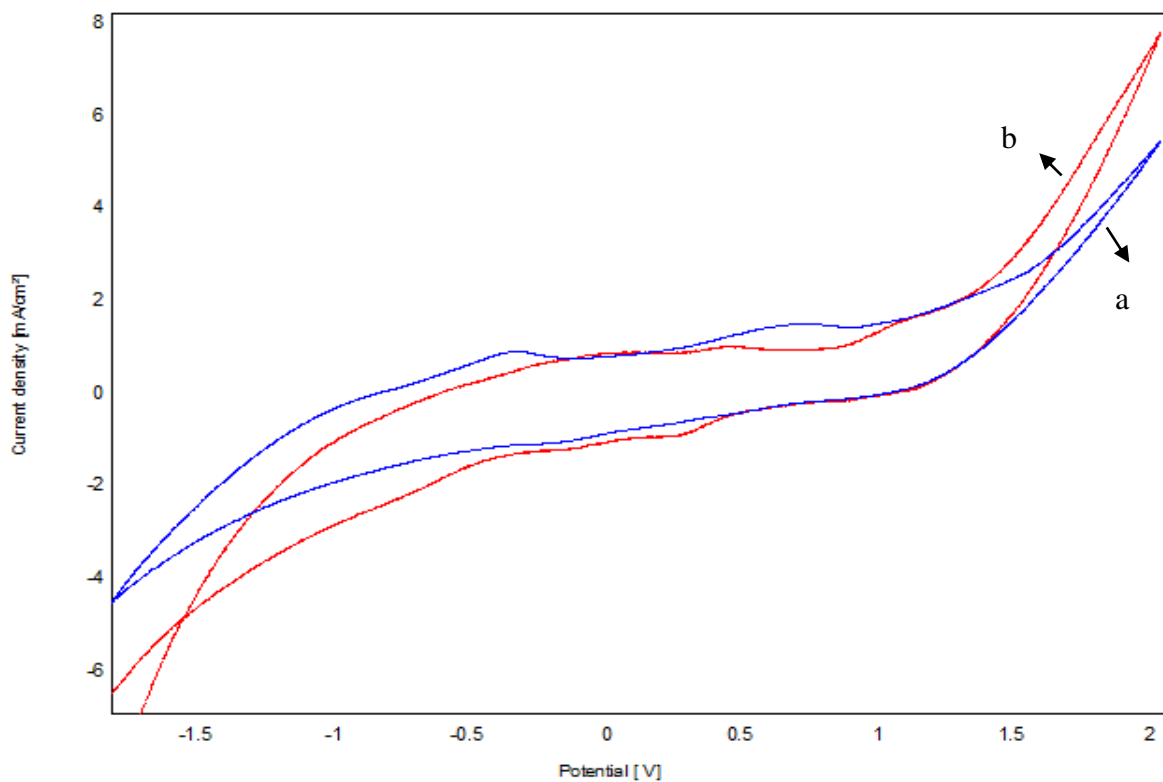


Figure 103 : Voltammogrammes cycliques obtenus par CPE-Ar-polymère (a) et CPE-Ar-polymère-bactéries (b) dans 0,1M de NaCl (pH=7) avec une vitesse de balayage de 100 mV/S

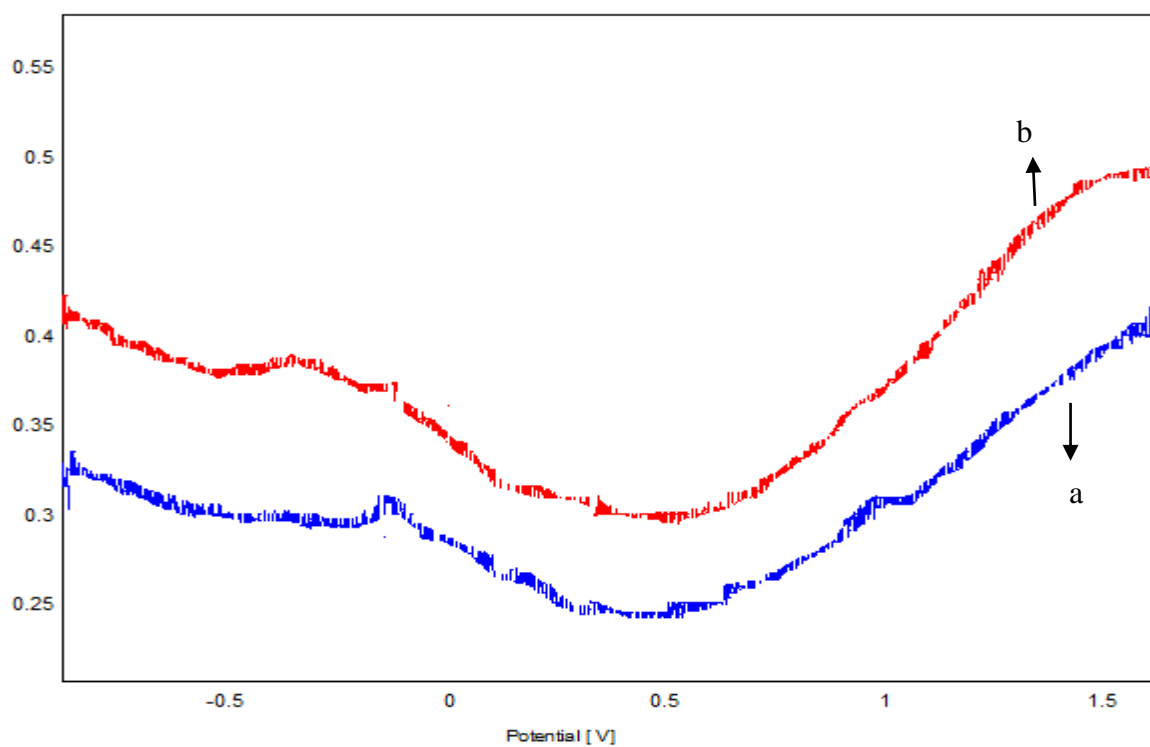


Figure 104 : Voltammogrammes de SQW obtenus par CPE-Ar-polymère (a) et CPE-Ar-polymère-bactéries (b) dans 0,1M de NaCl (pH=7) avec une vitesse de balayage de 100 mV/s

II.5. Activité de l'électrode CPE-Ar-polymère-bactérie vis-à-vis de l'oxydation du phénol

L'oxydation du phénol sur l'électrode CPE-Ar-polymère-bactérie a été étudiée par voltamétrie cyclique (figure 105). Comme nous pouvons le constater le voltammogramme enregistré, en milieu électrolytique en présence et en absence du phénol. Aucun pic n'est observé sur le voltammogramme en absence du phénol, en revanche, en présence de phénol, on constate l'apparition de deux pics anodiques correspondant à l'oxydation du phénol, respectivement à 0.5 V et 1.5 V.

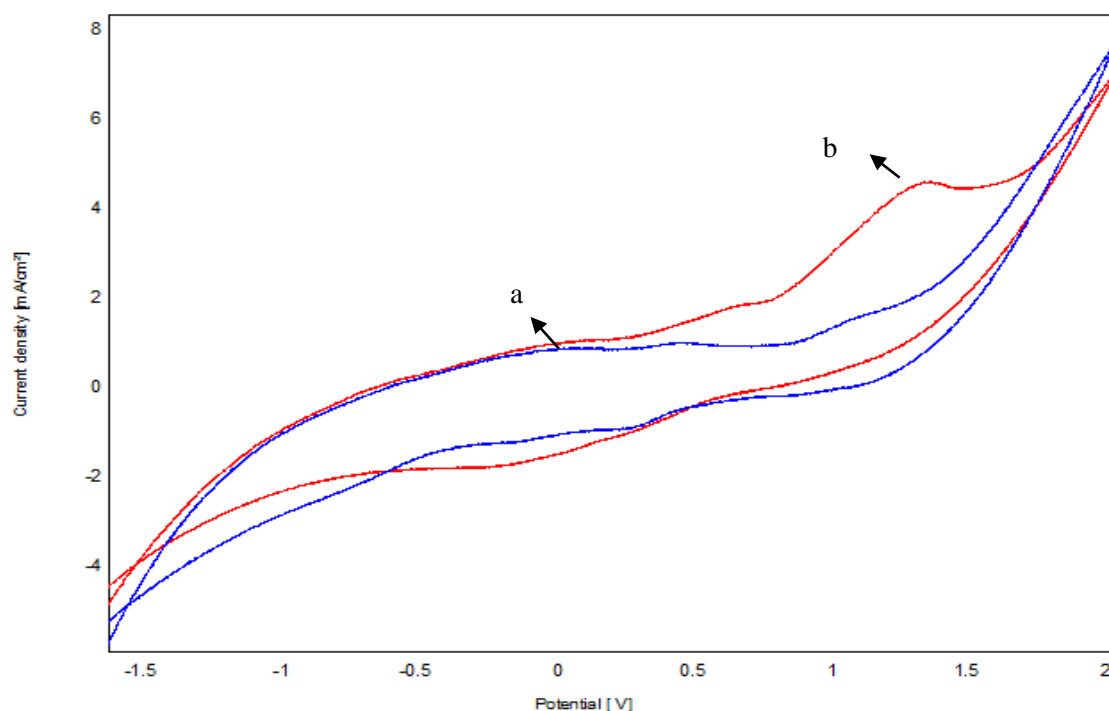


Figure 105 : Voltammogrammes cycliques obtenus par CPE-Ar-polymère-bactérie en absence (a) et en présence (b) de 4 mM de phénol dans 0,1 M de NaCl (pH=7) avec une vitesse de balayage de 100 mV/S

II.6. Effet de la vitesse de balayage

L'effet de la vitesse de balayage sur les intensités des pics d'oxydation du phénol a été étudié par voltamétrie cyclique, en milieu 0,1M de NaCl (pH~7), contenant 8 mM du phénol, pour des vitesses de balayage comprises entre 40 et 120 mV.s⁻¹ (figure106). Les densités de courant varient linéairement avec la vitesse de balayage (figure 107), ce qui montre que le système est en régime diffusionnel.

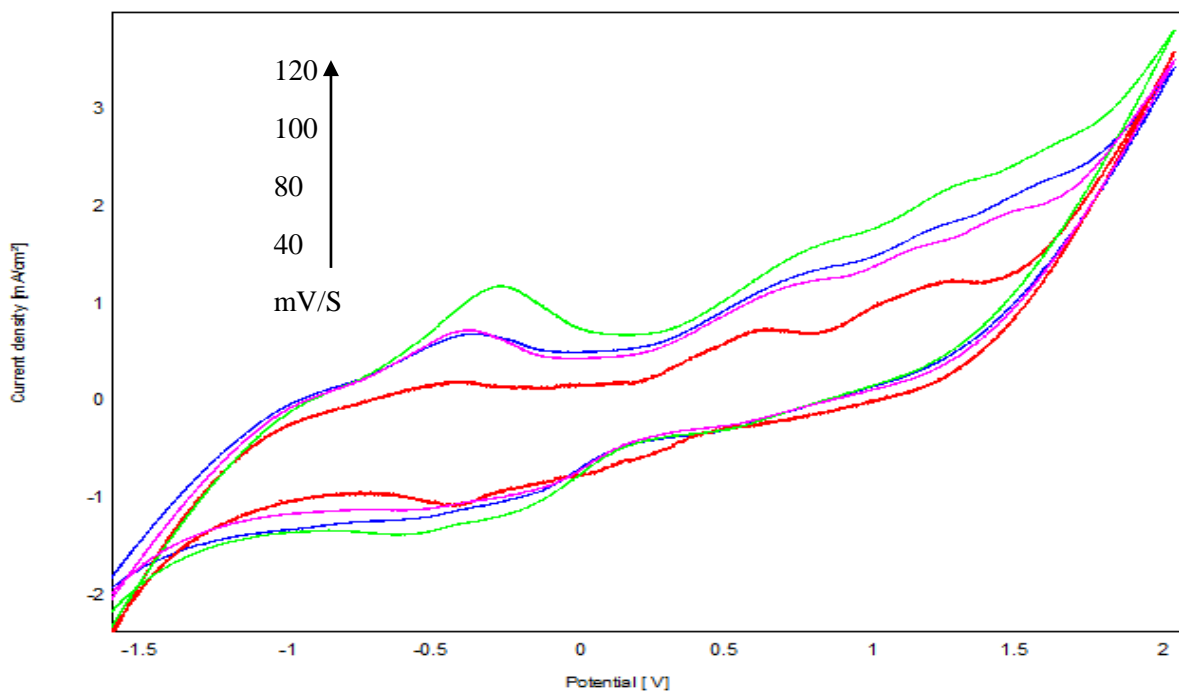


Figure 106 : Voltamogrammes enregistrés par CPE-Ar-polymère-bactérie avec 8 mM de phénol dans 0,1 M de NaCl(pH~7) à différentes vitesses de balayage de 40 à 120 mV.s-1

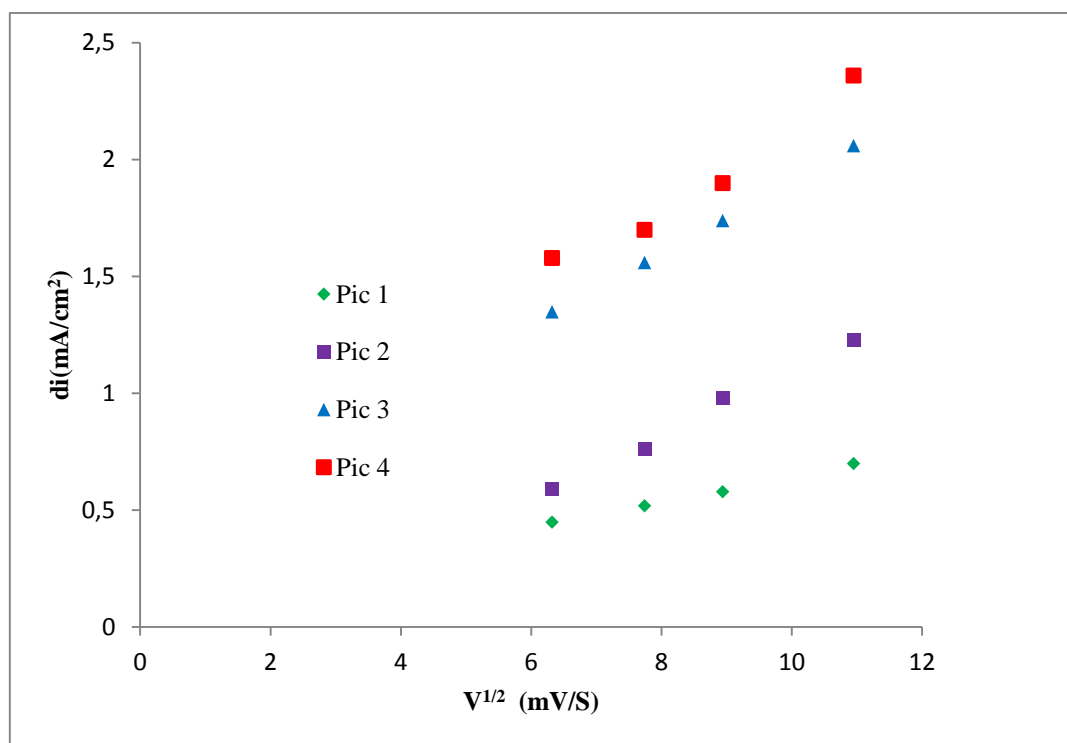


Figure 107 : Effet de vitesse de balayage sur l'intensité des pics d'oxydation du phénol

II.7. Influence de la concentration du phénol

La variation de l'intensité des pics anodiques en fonction de la concentration du phénol a été suivie par voltamétrie cyclique (figure 108), par voltamétrie à onde carrée (figure 109) et par spectroscopie d'impédance. Nous constatons que les densités de courant des pics augmentent avec la concentration, ce qui laisse penser que la matrice modifiée dispose d'un nombre important de sites actifs. Ce résultat est confirmé par la mesure d'impédance, qui montre une diminution de la résistance de transfert d'électron [7].

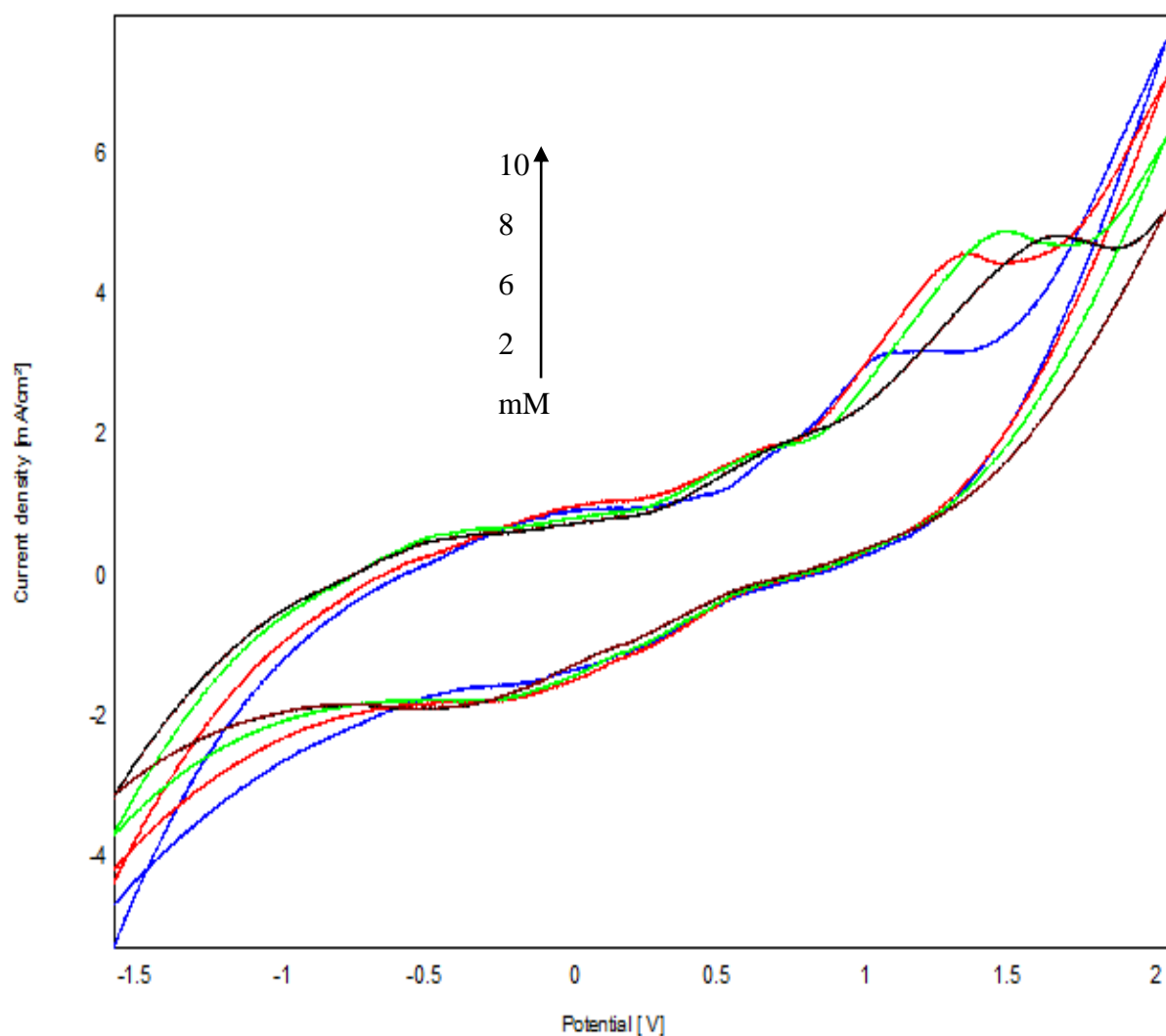


Figure 108 : Voltammogrammes cycliques à différentes concentrations de phénol (de 2 mM à 10 mM) dans 0,1 M de NaCl (pH = 7) sur CPE-Ar-polymère-bactérie, $V = 100 \text{ mV.S}^{-1}$

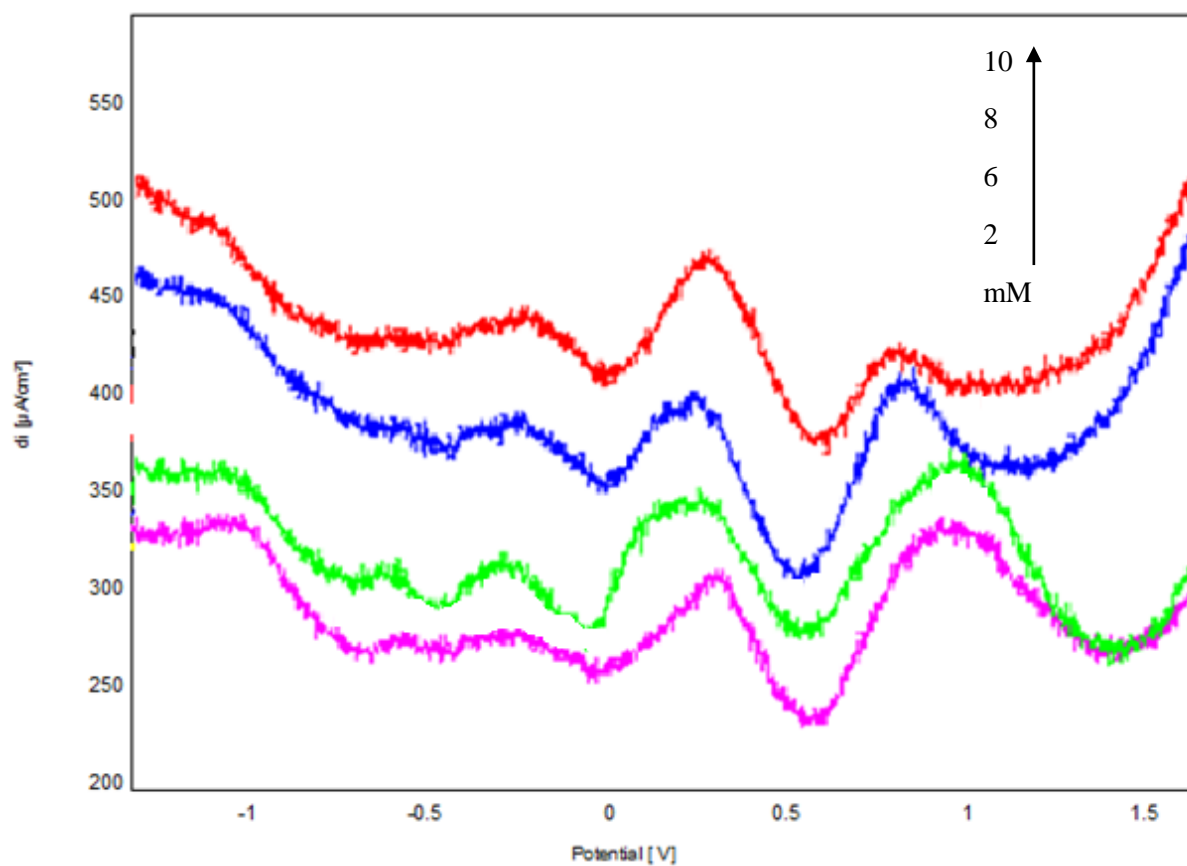


Figure 109 : Voltamogrammes de SQW à différentes concentrations de phénol (de 2 mM à 10 mM) dans 0,1 M de NaCl (pH = 7) sur CPE-Ar-polymère-bactérie, $V = 100 \text{ mV.S}^{-1}$

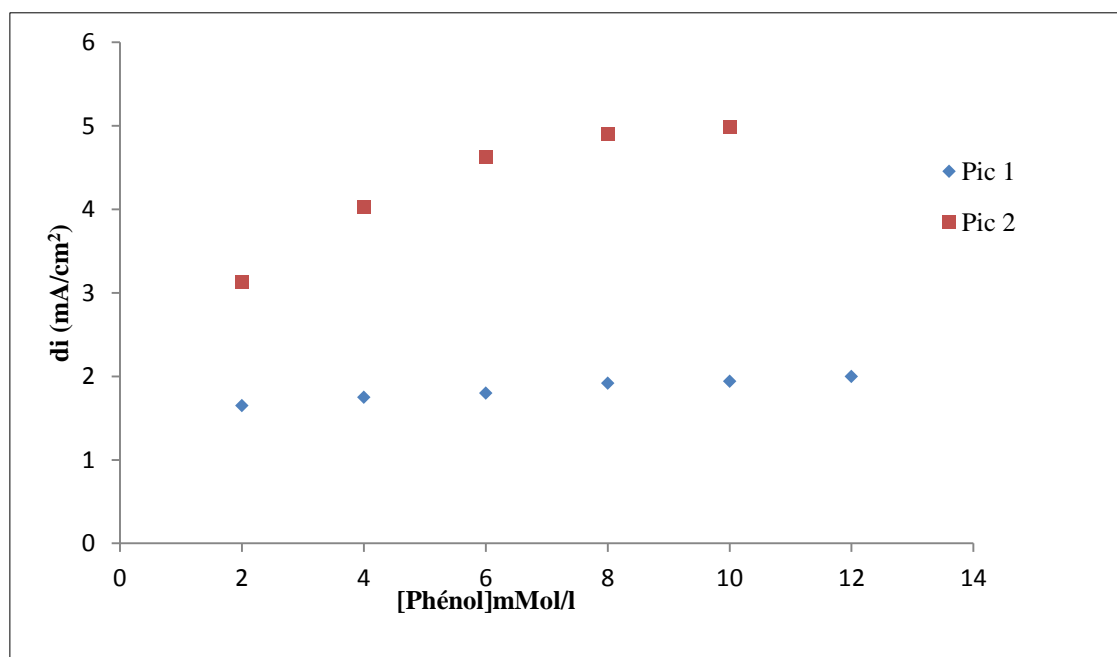


Figure 110 : Effet de concentration sur l'intensité des pics d'oxydation du phénol pour CPE-Ar-polymère-bactérie.

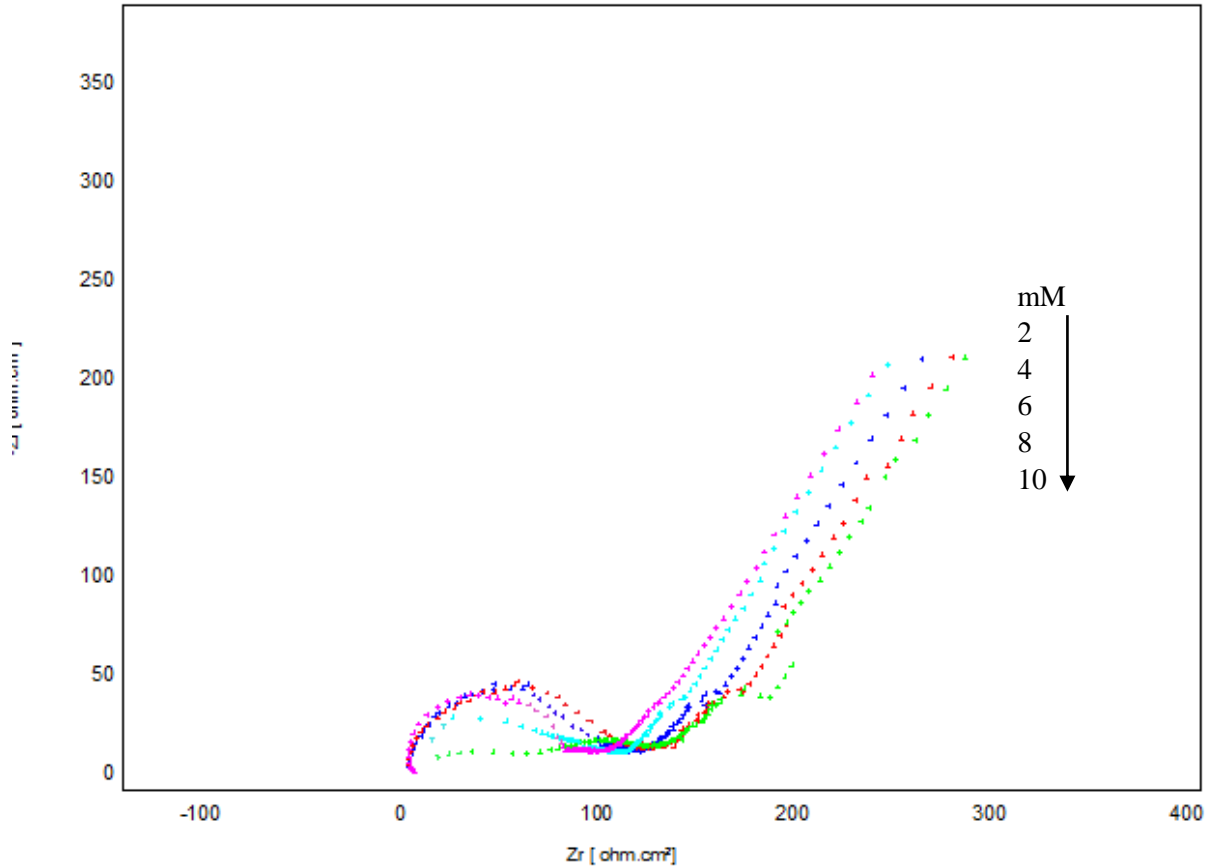


Figure 111 : Diagramme d'impédance à différentes concentrations de phénol (de 2 mM à 10 mM) dans 0,1 M de NaCl (pH = 7) sur CPE-Ar-polymère-bactérie.

I.8. Evaluation de l'activité de l'électrode modifiée CPE-Ar-polymère-bactérie pour la détection du phénol

I.8.1. Courbes de calibration

Les courbes de calibration ont été tracées à partir de la voltamétrie à onde carrée, à la surface des électrodes CPE-Ar-polymère et CPE-Ar-polymère-bactérie (Figure 112). Ces expériences sont réalisées dans la gamme de concentration qui varie entre 4 et 12 mmol l⁻¹. Le tableau 12 regroupe Les équations de corrélation et les limites de détections et quantifications calculées pour les deux électrodes CPE-Ar-polymère et CPE-Ar-polymère-bactérie. Nous constatons que la présence des bactéries améliore la sensibilité des électrodes.

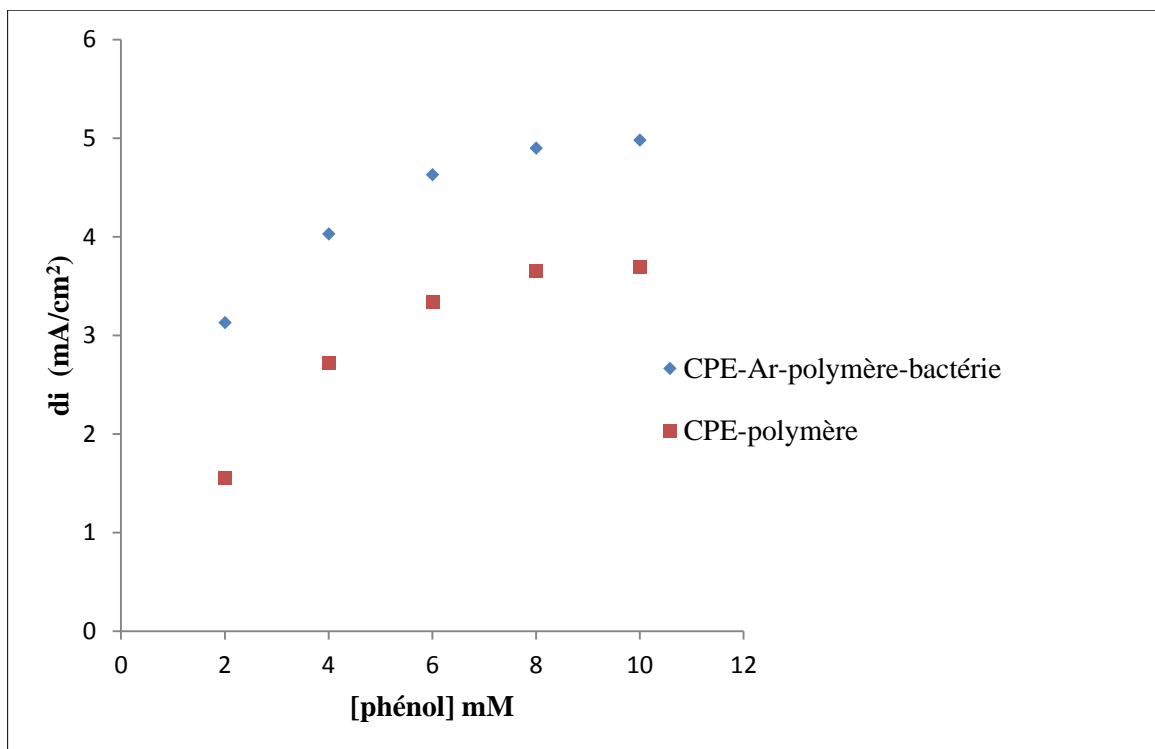


Figure 112 : Activité des deux bioélectrodes élaborées CPE-Ar –polymère et CPE-Ar-polymère-bactérie pour la biodégradation du phénol.

Tableau 12 : Les équations de corrélation et les limites de détections et quantifications calculées pour les deux électrodes CPE-Ar-polymère et CPE-Ar-polymère-bactérie en présence du phénol.

Electrode	Equation	R ²	D.L (mol.L ⁻¹)	Q.L (mol.L ⁻¹)
CPE-Ar - polymère+Phénol	di = 0,260x + 1,431	R ² =0,853	2.041.10 ⁻⁵	3.205.10 ⁻⁴
CPE-Ar-polymère-Bactérie+phénol	di = 0,228x + 2,963	R ² =0,882	0.952.10 ⁻⁶	1.863.10 ⁻⁵

L'activité de bactérie immobilisée sur la surface d'électrode polymère-Ar-CPE calculée, pour l'oxydation de phénol est :

$$\alpha = (1 - (4.25/2.62)) \times 100$$

$$= 62.21\%$$

Conclusion

Dans ce travail, nous avons élaboré différentes électrodes telles que, CPE-NP-polymère et CPE-Ar-polymère. Ces électrodes ont montré une activité acceptable pour l'oxydation électrochimique du phénol. La présence du polymère à la surface des matrices organiques entraîne une augmentation de la porosité des surfaces des électrodes, ce qui facilite l'adsorption de la molécule électro active. Le polymère développé à la surface des électrodes facilite l'adhésion et le développement d'un biofilm à la surface.

Les activités des électrodes CPE-NP-polymère-bactérie et CPE-Ar-polymère-bactérie ont été testées pour l'oxydation du phénol. La présence d'un biofilm incorporé dans la matrice organique facilite la dégradation du phénol. Les méthodes utilisées, en l'occurrence les voltammétries cyclique et à ondes carrée, les diagrammes d'impédance, la microscopie optique et la diffraction X, ont permis une caractérisation globale et efficace des électrodes élaborées.

References

- [1] Pauliukaite, R., & Brett, C. (2008). Poly (neutral red): Electrosynthesis, characterization, and application as a redox mediator. *Electroanalysis*, 20(12), 1275-1285..
- [2] Pauliukaite, R., Ghica, M. E., Barsan, M., & Brett, C. M. (2007). Characterisation of poly (neutral red) modified carbon film electrodes; application as a redox mediator for biosensors. *Journal of Solid State Electrochemistry*, 11(7), 899-908.
- [3] Liang, J. F., Li, Y. T., & Yang, V. C. (2000). Biomedical application of immobilized enzymes. *Journal of pharmaceutical sciences*, 89(8), 979-990
- [4] Jarrar, H. (2011). Bioelectrodes enzymatiques pour des applications en biocapteurs et en biopiles” (Doctoral dissertation, Thèse de doctorat–ecole Supérieure de chimie de Montpellier).
- [5] El Mhammedi, M. A., Achak, M., Bakasse, M., & Chtaini, A. (2007). Physico-chemical characterization of electrochemical deposit of $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ on copper surfaces. *Applied surface science*, 253(14), 5925-5930.
- [6] El Mhammedi, M. A., Bakasse, M., & Chtaini, A. (2007). Electrochemical studies and square wave voltammetry of paraquat at natural phosphate modified carbon paste electrode. *Journal of hazardous materials*, 145(1), 1-7..
- [7] Pons, S., & Ashley, K. (1986). Recent Advances in UV-Visible Reflectance Spectroelectrochemistry (No. TR-77). UTAH UNIV SALT LAKE CITY DEPT OF CHEMISTRY.

Chapitre V

Electrode massive d'Aluminium modifiée par les bactéries et/ou polymère bactérie

I. Etude du comportement électrochimique du phénol sur une électrode d'Aluminium modifiée par un biofilm

I.1. Caractérisation de l'électrode d'aluminium par spectroscopie d'impédance

Le comportement électrochimique préliminaire du phénol sur une électrode d'aluminium a été étudié par la spectroscopie d'impédance (EIS), en milieu électrolytique NaCl 0.1M.

La Figure 113 montre les diagrammes d'impédance enregistrés pour l'électrode d'aluminium, respectivement, en absence et en présence du phénol. Dans les deux échantillons, les courbes d'impédance réalisées ont la forme de demi-cercles, qui peuvent être attribuées à l'étape de transfert d'électrons. Le diamètre du cercle augmente considérablement en présence du phénol [1]. L'oxydation du phénol sur l'électrode d'aluminium est probablement freinée par la formation d'un film organique à la surface de l'électrode, ce phénomène pourra être expliqué par l'apparition de deux constantes de temps enchevâchées à basses fréquences et par la baisse de la valeur de la capacité (Tableau 20).

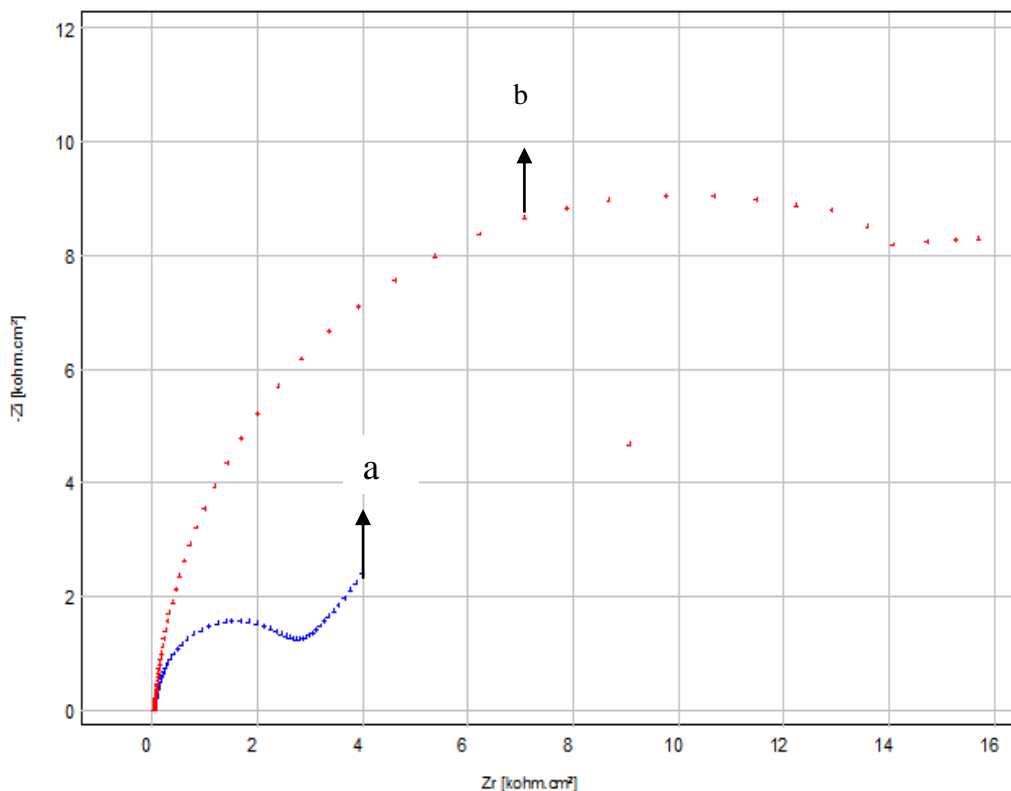


Figure 113 : Diagramme d'impédance obtenue par l'électrode d'aluminium en présence(b) et en absence (a) du phénol dans 0,1 M de NaCl (pH~7).

Tableau 13 : Paramètres électrochimiques d'impédance (R_1 étant la résistance de l'électrolyte la résistance de transfert, et C la capacité du double couche).

Electrode	R_1 (ohm, cm^2)	R_2 (kohm, cm^2)	C ($\mu F/cm^2$)
Al	63.83	31.182	28,15
AL+ phénol	54.63	19.73	25.48

I.2.Effet de la concentration du phénol

La Figure 114 illustre les diagrammes d'impédance enregistrés par l'électrode d'Aluminium, à différentes concentrations du phénol. L'augmentation de la concentration entraîne une augmentation linéaire de la résistance de transfert d'électron (figure. 115), justifiée par la formation d'un film organique à la surface de d'après la figure 117.Nous constatons que la résistance de transfert de charge augmente avec la concentration du phénol.

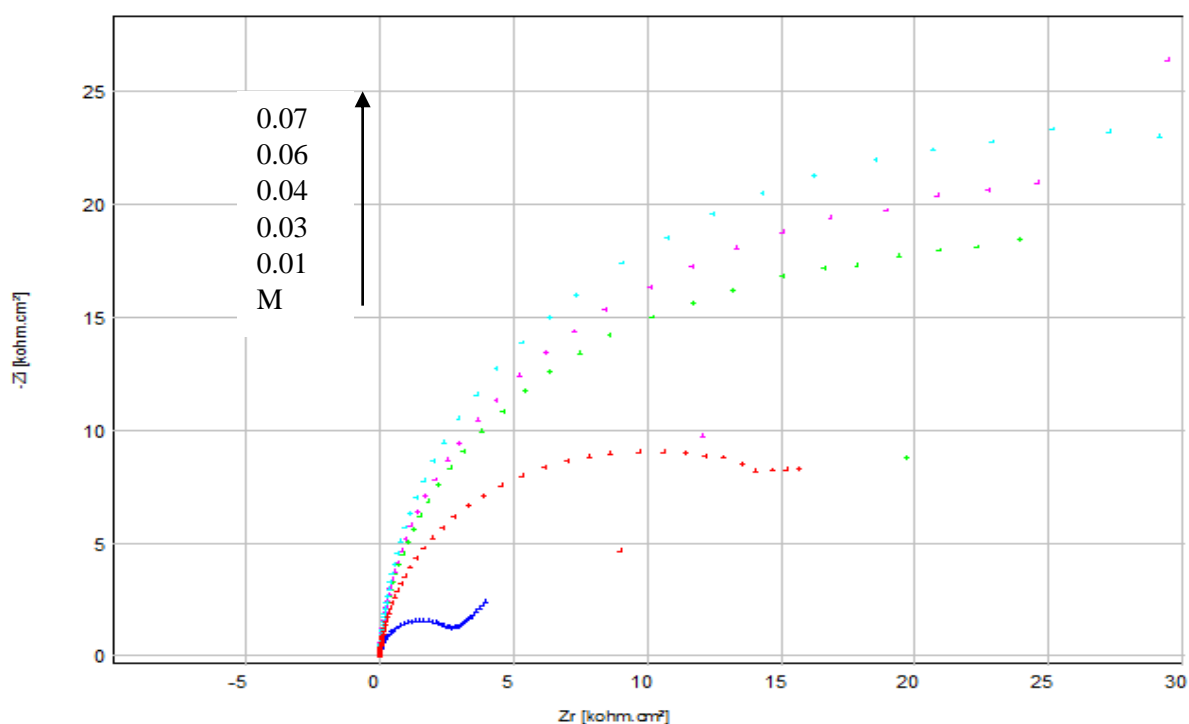


Figure 114 : Diagramme d'impédance à différentes concentrations de phénol (de 0.01 M à 0.07 M) dans 0,1 M de NaCl (pH = 7) sur l'électrode Al.

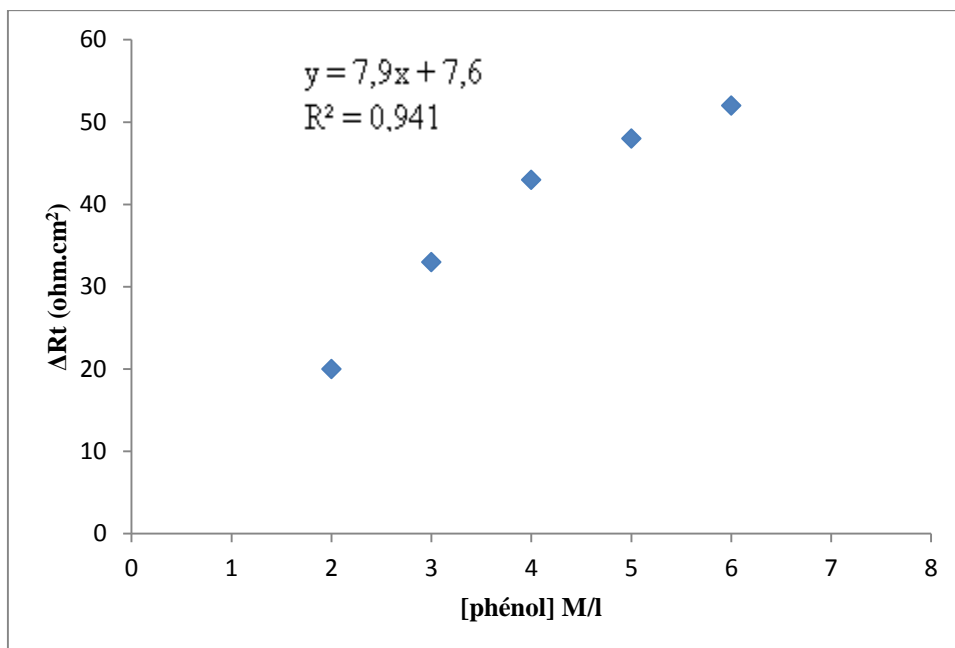


Figure 115 : Evolution de la résistance de transfert de charge en fonction de la concentration du phénol.

La diminution de la valeur de la capacité de la double couche avec la concentration confirme le développement d'un film organique à la surface de l'électrode (figure. 116).

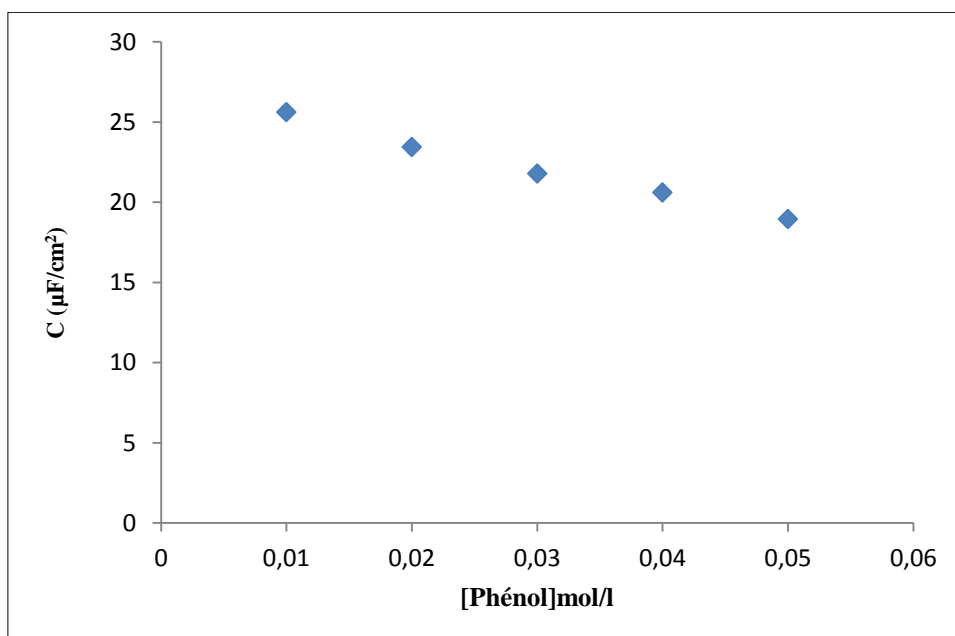


Figure 116 : Influence de la concentration du phénol sur la capacité de double couche Obtenue par les diagrammes d'impédance enregistrée par électrode Al.

I.3. Caractérisation de l'électrode d'aluminium par un biofilm spectroscopie d'impédance

La Figure 117 représente les diagrammes d'impédance enregistrée, respectivement pour les électrodes aluminium et aluminium-bactéries après de 20 min de contact entre l'électrode et les suspensions de bactérie, en milieu électrolytique NaCl (0.1M), nous pouvons remarquer que la présence des bactéries à la surface de l'électrode entraîne une diminution du diamètre du demi-cercle, ce qui correspond à la diminution de la résistance de transfère de charge. L'accumulation des bactéries à l'interface métal/solution entraîne l'augmentation de la capacité de la double couche (tableau 14).

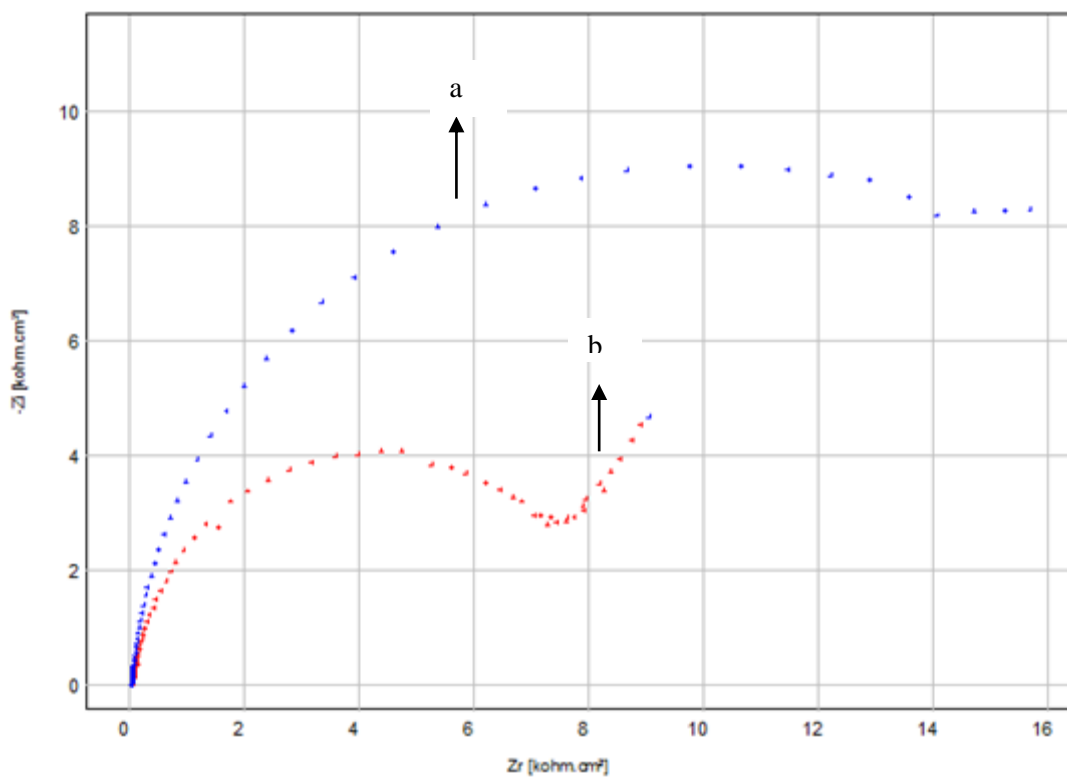


Figure 117 : Diagramme d'impédance obtenue par l'électrode d'aluminium en présence et en absence des bactéries sur la surface d'électrode dans 0,1 M de NaCl (pH=7).

Tableau 14 : Paramètres électrochimiques d'impédance (R1 étant la résistance de l'électrolyte, la résistance de transfert, et C la capacité de la double couche).

Electrode	R ₁ (ohm,cm ²)	R ₂ (kohm, cm ²)	C (µF/cm ²)
Al	63.83	31.182	28.15
AL+ bactérie	39.858	6.205	57,45

I.4.Oxydation du phénol sur l'électrode d'aluminium modifiée par les bactéries (Al/bactérie)

Le comportement électrochimique du phénol sur l'électrode Al/bactérie a été étudié par spectroscopie d'impédance dans une solution de 0.1 M de NaCl à pH~7.

La Figure 118 montre que le diagramme d'impédance en absence et en présence de 0.04 mol/l du phénol, a la forme de demi-cercle, dont le diamètre baisse en présence des bactéries à la surface de l'aluminium. Ce qui correspond à une augmentation de l'activité de l'électrode. Le Tableau 15 regroupe les paramètres électrochimiques déduits des diagrammes d'impédance.

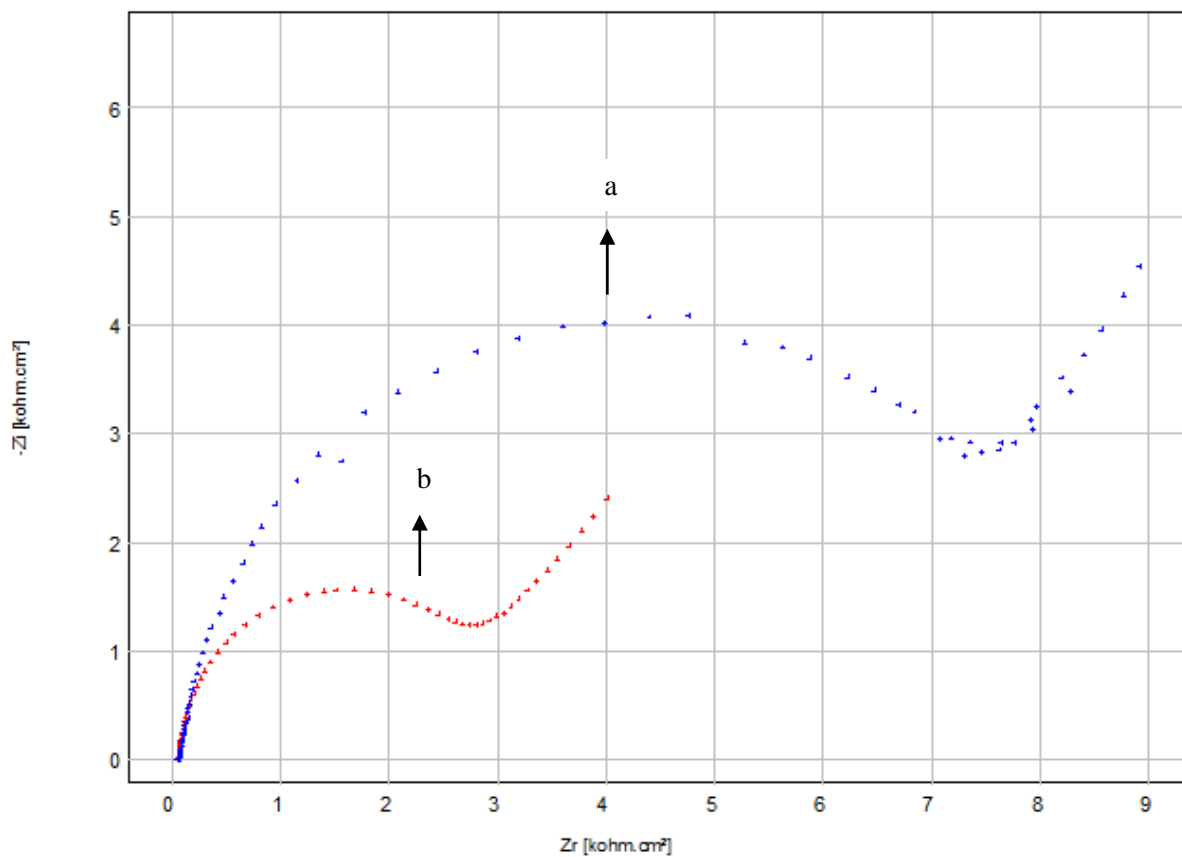


Figure 118 : Diagramme d'impédance obtenue par l'électrode d'aluminium-bactérie en présence (b) et en absence (a) de 0.04 M du phénol dans 0,1 M de NaCl (pH=7).

Tableau 15 : Paramètres électrochimiques d'impédance (R1 étant la résistance de l'électrolyte, la résistance de transfert, et C la capacité du double couche)

Electrode	R ₁ (ohm,cm ²)	R ₂ (ohm,cm ²)	C (µF/cm ²)
AL-bactérie	39,63	62,05	57,45
AL-bactérie+ phénol	37,66	16,05	55.4

I.5. Etude électrochimique de l'effet de la concentration du phénol sur la surface Al/bactérie

L'effet de la concentration du phénol sur les diagrammes d'impédance est illustré par la Figure 119. Les courbes ont la même forme pour toutes les concentrations du phénol, ce qui montre que le mécanisme de la réaction d'électro oxydation du phénol n'est pas affecté par la concentration. Par contre la valeur de la résistance de transfert d'électron baisse à de fortes concentrations de phénol, probablement en raison de la formation d'un film organique à la surface de l'électrode. L'évolution de la résistance de transfert des électrons (R_t) avec la concentration du phénol est linéaire, ce qui montre que le mécanisme d'oxydation fait intervenir une étape de transfert de la matière (figure. 120). La capacité de la double couche baisse avec la concentration du phénol, probablement en raison de la formation d'un film organique à la surface de l'électrode (figure. 121).

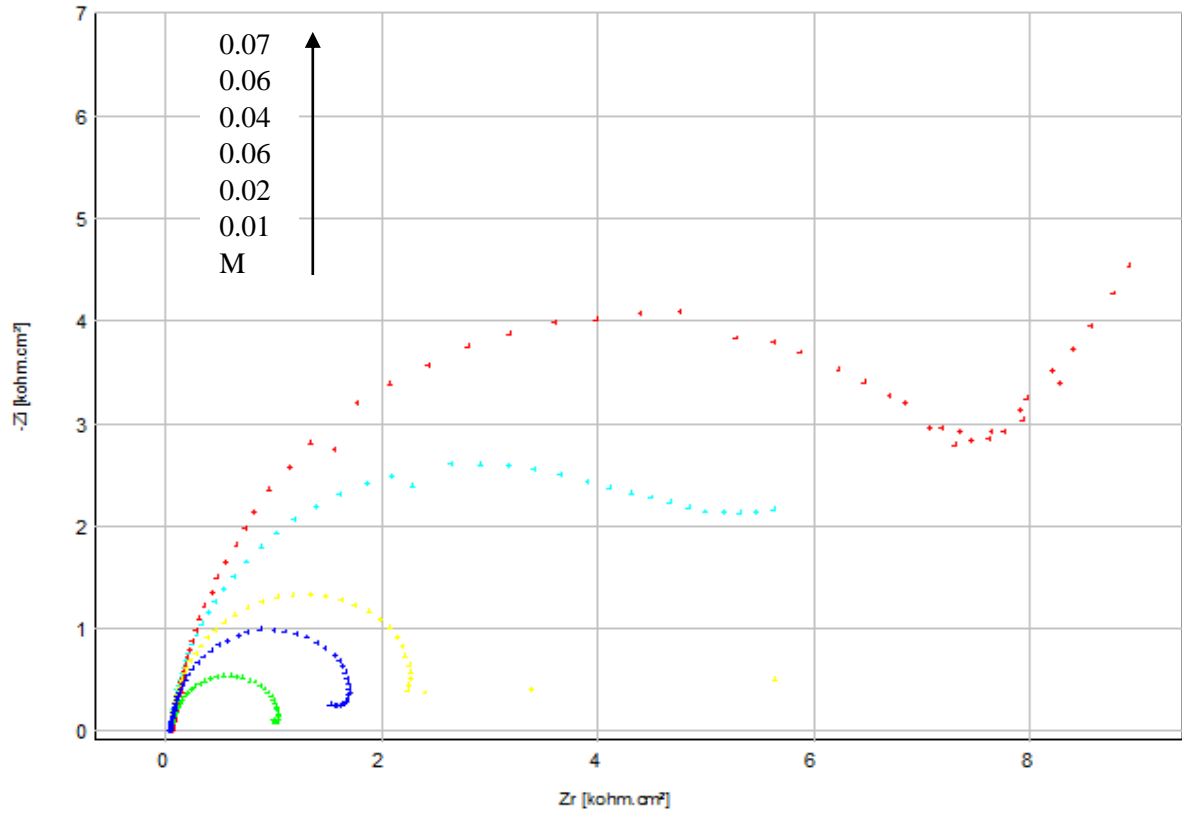


Figure 119 : Diagramme d'impédance à différentes concentrations de phénol (de 2 mM à 12 mM) dans 0,1 M de NaCl (pH = 7) sur l'électrode de plaque Al-bactérie.

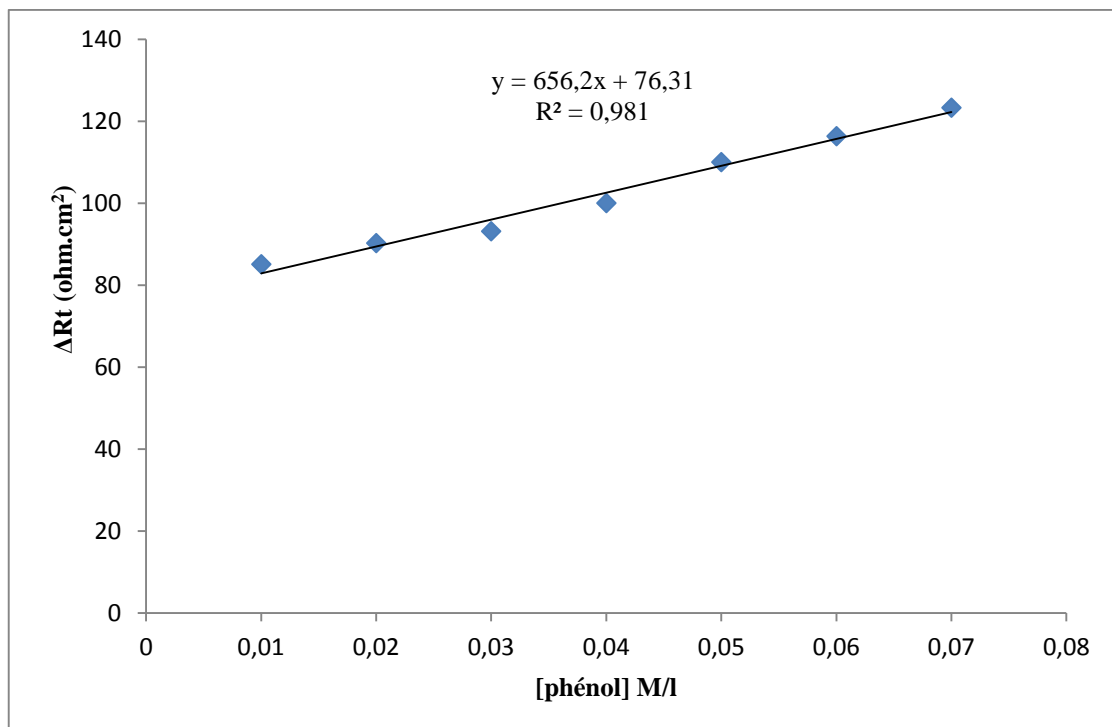


Figure 120 : Evolution de la résistance de transfert de charge en fonction de la concentration du phénol.

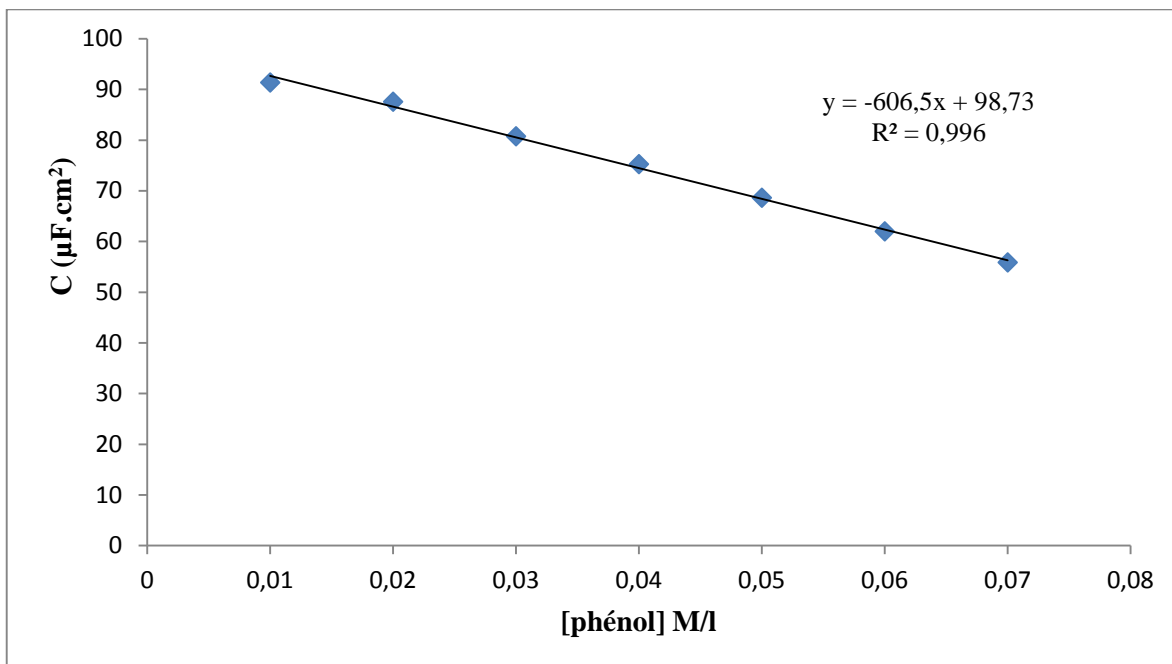


Figure 121 : Influence de la concentration du phénol sur la capacité de double couche obtenue par les diagrammes d'impédance enregistrée par électrode Al-bactérie.

II. Electrode d'aluminium modifiée par un polymère

II. 1. Electro polymérisation de monomère de ϵ - caprolactone

La Figure122 montre les diagrammes d'impédance (EIS) enregistrés, respectivement pour les électrodes d'aluminium et aluminium modifiées par le polymère développé in situ à la surface de l'électrode d'aluminium. L'EIS enregistré pour l'électrode d'aluminium nue présente deux constantes de temps, la première à haute fréquence et correspond au transfert d'électron à l'interface métal/solution, la deuxième à basse fréquence est une droite de Warburg qui achève le diagramme. La présence d'un film à la surface de l'électrode est illustrée par l'apparition de deux demi-boucles enchevâchées. La formation du film à la surface de l'électrode provoque la diminution de la capacité de la double couche (tableau 16) [2].

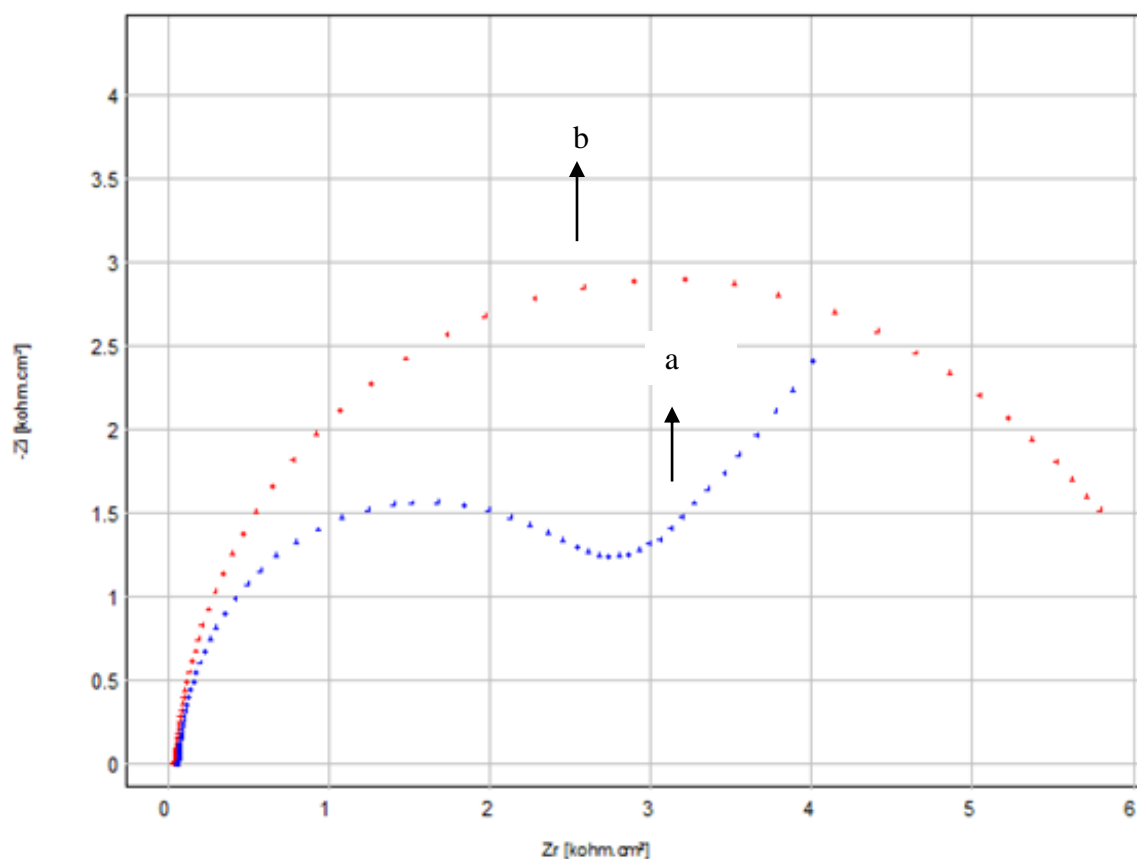


Figure 122 : Diagramme d'impédance obtenue par l'électrode Al avant et après la polymérisation du monomère de caprolactame dans 0,1 M de NaCl (pH=7)

Tableau 16 : Paramètres électrochimiques d'impédance (R_1 étant la résistance de l'électrolyte, la résistance de transfert, et C la capacité du double couche

Electrode	R_1 (ohm,cm ²)	R_2 (kohm,cm ²)	C (μF/cm ²)
AL	63,83	31,182	28,15
AL -polymère	74,77	85,84	10,45

II.2. Electro oxydation du phénol à la surface de l'électrode Al/Polymère

La Figure 123 montre que les diagrammes d'impédance enregistrés à la surface de l'électrode Al/polymère en absence et en présence du phénol. Dans les cas les diagrammes d'impédance ont la forme de demi-boucles, dont le diamètre correspond à la résistance de transfert d'électron, cette résistance augmente en présence du phénol ce qui suggère que l'oxydation du phénol est bloquée par la formation d'un polymère à la surface de l'électrode.

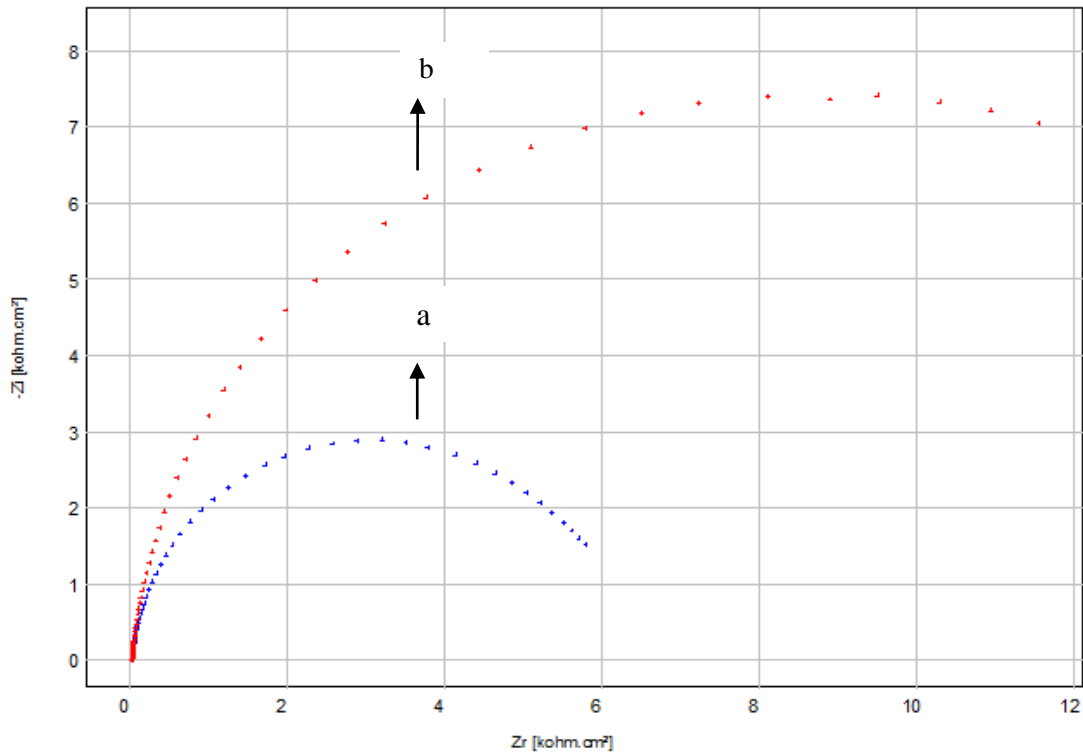


Figure 123 : Diagramme d'impédance obtenue par l'électrode d'aluminium -polymère en présence (b) et en absence (a) de 0,04M du phénol dans 0,1M de NaCl (pH~7).

II.3.Effet de la concentration du phénol

L'effet de concentration du phénol, sur l'activité de l'électrode Al-polymère envers l'oxydation du phénol, a été étudié par spectroscopie d'impédance. La Figure 124 montre que les courbes de spectroscopie d'impédance ont la forme d'un demi-cercle pour toutes les concentrations du phénol dans la zone de hautes fréquences, qui pourraient être attribuées au processus de transfert d'électrons. L'augmentation de la concentration du phénol entraîne l'augmentation de la résistance de transfert d'électrons (figure 125).

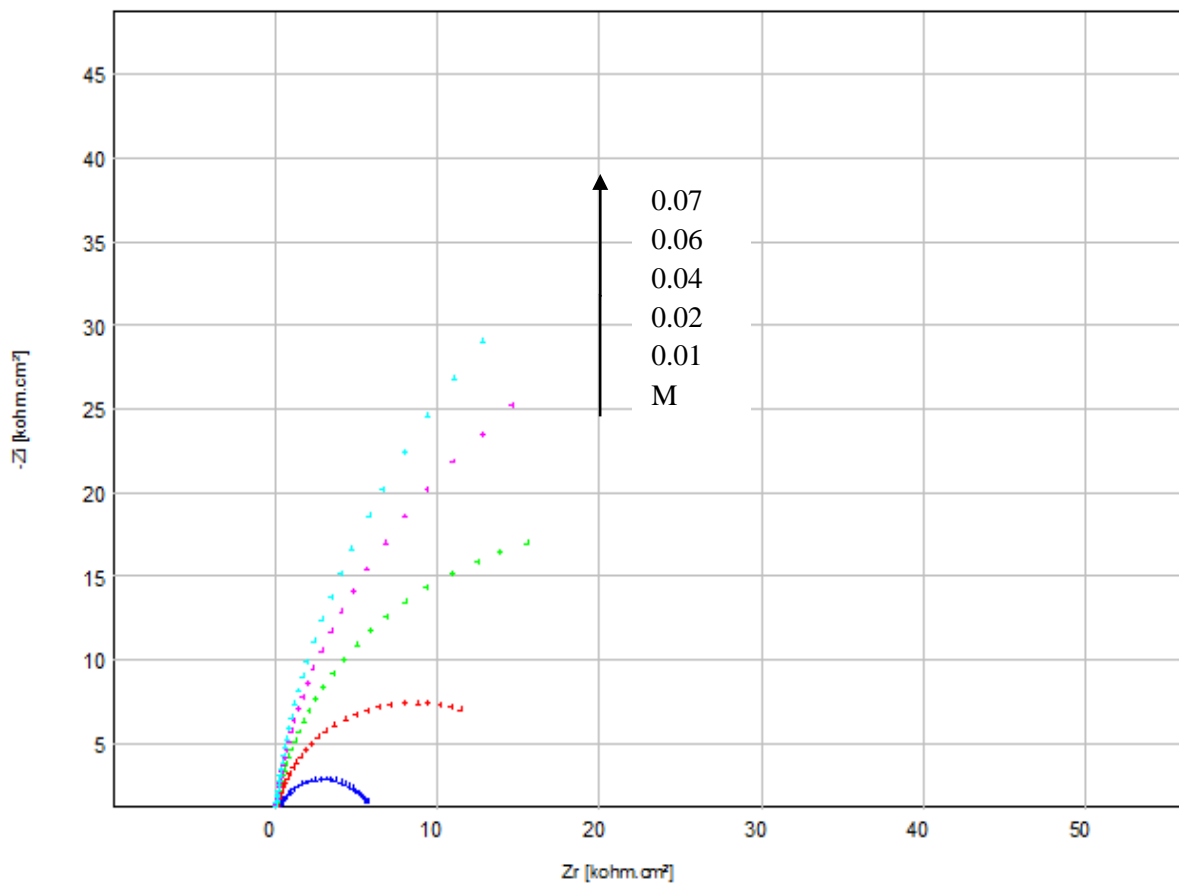


Figure 124 : Diagramme d'impédance à différentes concentrations de phénol (de 2 mM à 12 mM) dans 0,1 M de NaCl (pH = 7) sur capteur Al-polymère.

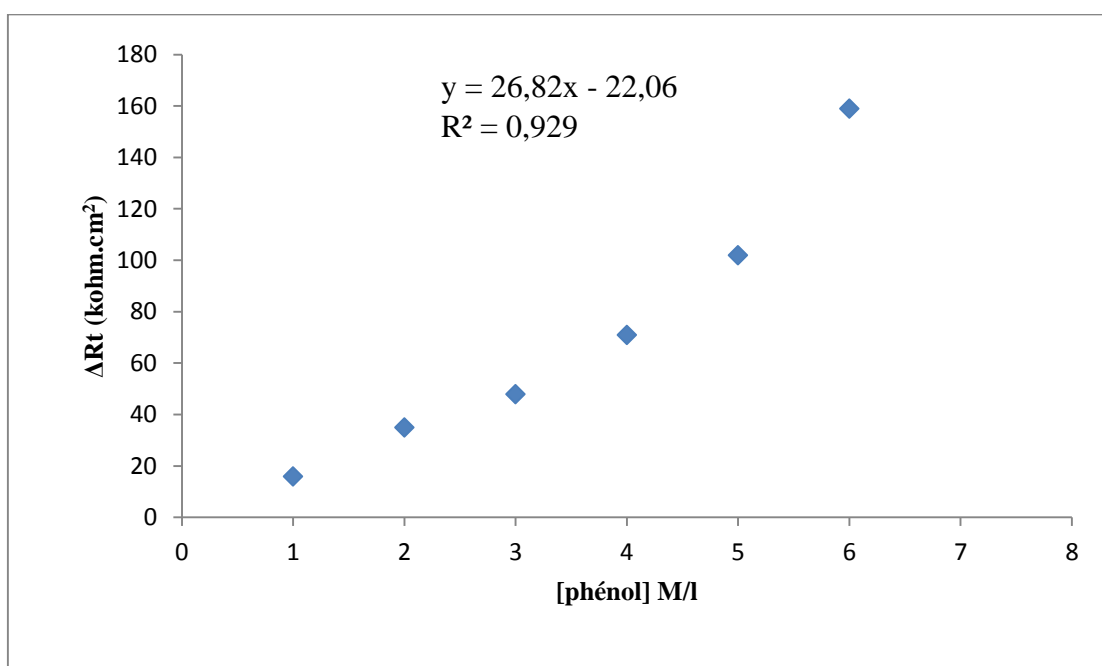


Figure 125 : Influence de la concentration du phénol sur la résistance de transfert de charge obtenu par les diagrammes d'impédance

III. Electrode d'Aluminium modifiée par le polymère et les micro-organismes

III.1. Caractérisation par spectroscopie d'impédance

La Figure 126 représente les diagrammes d'impédance enregistrés, respectivement pour les électrodes Al/polymère et Al/Polymère/Bactéries, en solution aqueuse électrolytique NaCl (0.1 M)

Dans les deux cas, les diagrammes ont la forme d'une demi-boucle qui apparaît à haute fréquence, et pourra être attribuée au processus de transfert des électrons. Le diamètre de la demi-boucle correspond à la résistance de transfert des électrons, la valeur de cette résistance baisse dans le cas de présence des bactéries à la surface d'électrode. Ce qui confirme l'adhésion des micro-organismes à la surface de l'électrode qui créent une charge importante à l'interface métal/solution (tableau 17).

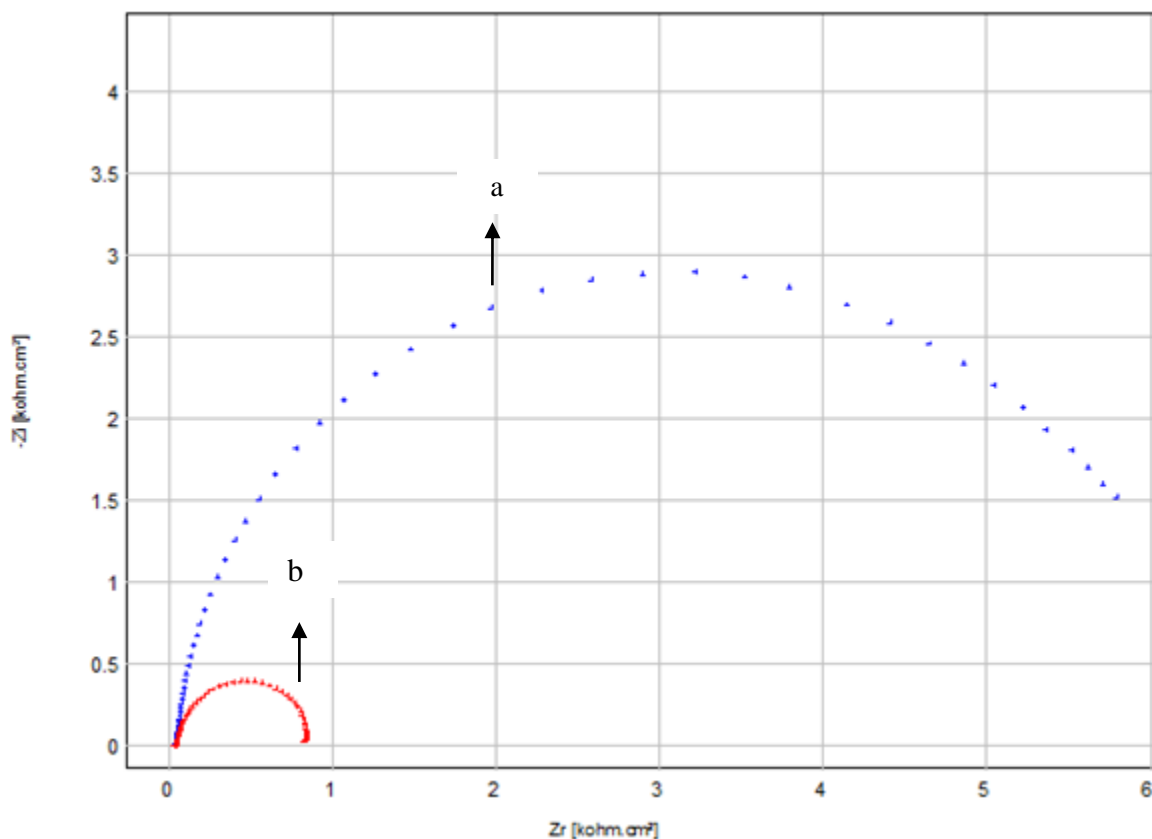


Figure 126 : Diagramme d'impédance obtenue par l'électrode d'aluminium-polymère (a) et électrode Al-polymère –bactérie (b) dans 0,1 M de NaCl (pH~7).

Tableau 17 : Paramètres électrochimiques d'impédance (R_1 étant la résistance de l'électrolyte, la résistance de transfert, et C la capacité du double couche

Electrode	R_1 (ohm,cm²)	R_2 (ohm,cm²)	C (μF/cm²)
AL- polymère + phénol	73,38	85,84	10,38
AL-polymère - bactérie +phénol	44.04	84,411 om	94.97

III.2.Electro oxydation du phénol sur l'électrode Al/Polymère/Bactéries

Sur la Figure 127, nous illustrons les diagrammes d'impédance enregistrés, respectivement à la surface des électrodes Al/Polymère et Al/Polymère/Bactéries en présence du phénol. Nous constatons clairement que la présence d'un biofilm à la surface de l'électrode entraîne une baisse remarquable de la résistance de transfert d'électron déduit du diamètre de la demi-boucle apparaît à haute fréquence. Ce qui montre que la présence des bactéries active considérablement l'oxydation du phénol. Les paramètres électrochimiques déduits des diagrammes d'impédance sont regroupés dans le tableau 18.

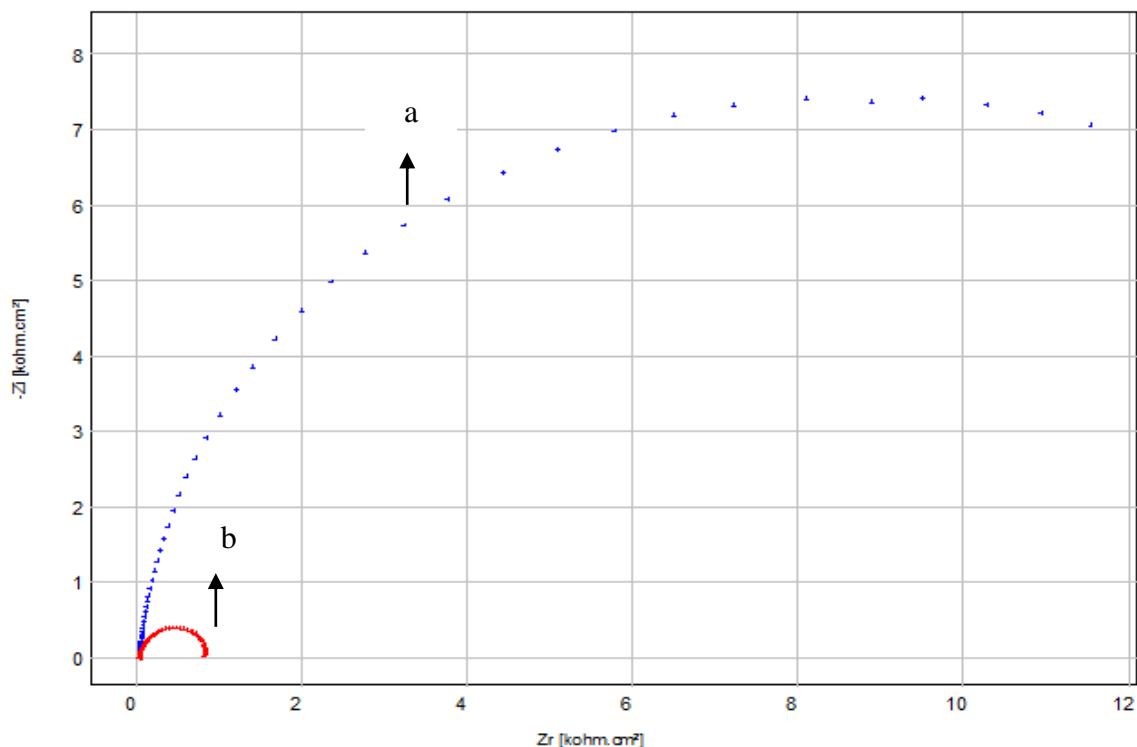


Figure 127 : Diagramme d'impédance obtenue par l'électrode d'aluminium-polymère (a) et électrode Al-polymère –bactérie (a) en présence du phénol, dans 0,1 M de NaCl.

Tableau 18 : Paramètres électrochimiques d'impédance (R_1 étant la résistance de l'électrolyte, la résistance de transfert, et C la capacité du double couche).

Electrode	R_1 (ohm, cm^2)	R_2 (Kohm, cm^2)	C ($\mu F/cm^2$)
AL-polymère+ phénol	32,66	166,30	53,58
AL-polymère - bactérie +phénol	43,86	85,1	91,97

III.3. Influence de la concentration du phénol

L'effet de concentration du phénol sur l'électrode Al-polymère-bactérie a été étudié également par spectroscopie d'impédance. La figure 128 montre que les courbes de spectroscopie d'impédance ont la forme d'un demi-cercle pour toutes les concentrations du phénol dans la zone de hautes fréquences, qui pourraient être attribuées au processus de transfert d'électrons. L'augmentation de la concentration du phénol a un effet négatif sur la réaction d'oxydation, en raison de la formation d'un polymère à la surface de l'électrode Al/polymère/Bactéries, confirmé par la baisse de la capacité de la double couche (figure 129), qui gêne la biodégradation du phénol. L'augmentation de la résistance de transfert d'électron est linéaire (figure 130).

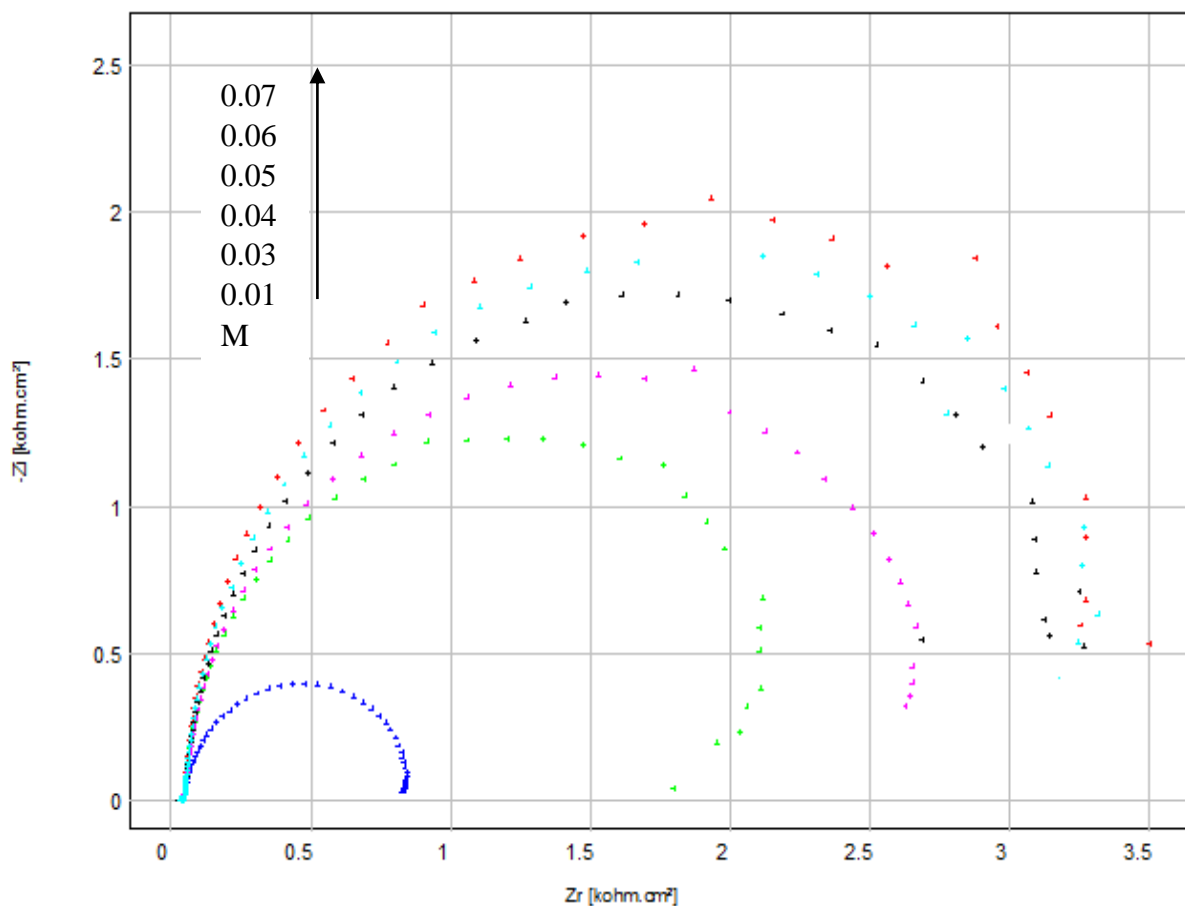


Figure 128 : Diagramme d'impédance à différentes concentrations de phénol (de 2 mM à 12 mM) dans 0,1 M de NaCl (pH = 7) sur l'électrode de plaque Al-polymère-bactérie.

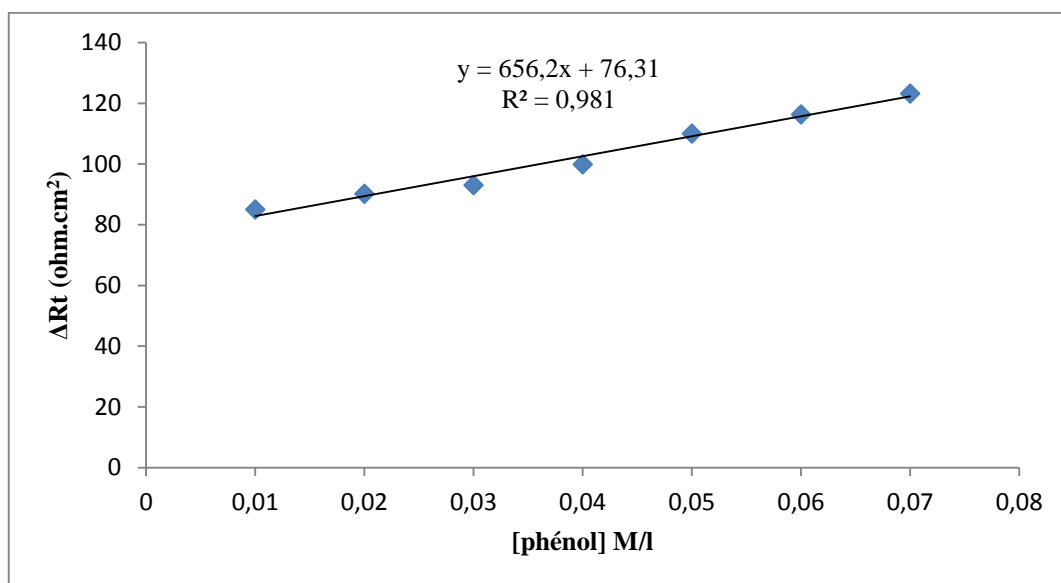


Figure 129 : Influence de la concentration du phénol sur la résistance de transfert de charge obtenue par les diagrammes d'impédance enregistrée par électrode Al-polymère-bactérie.

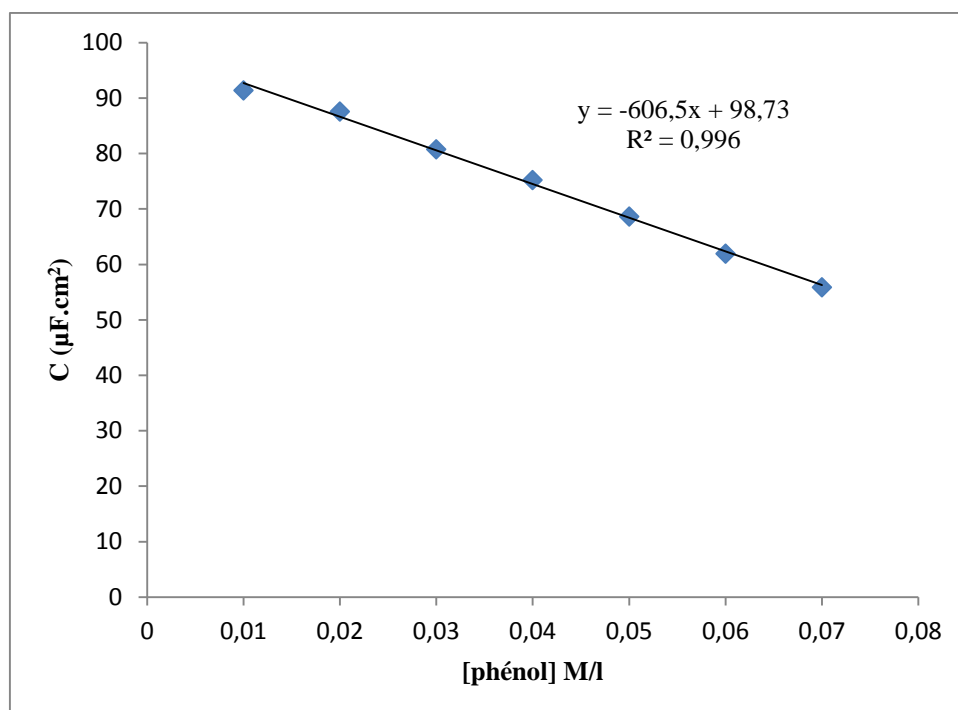


Figure 130 : Influence de la concentration du phénol sur la capacité de double couche obtenue par les diagrammes d'impédance.

III.4. Etude morphologique des électrodes Al, Al/Polymère et Al/Polymère/Bactéries

Dans cette partie, nous présentons les résultats d'étude morphologique de la surface effectuée par Microscopie à Force Atomique (AFM). Cette étude permet d'approfondir l'analyse de la formation du biofilm et d'optimiser certains paramètres des protocoles de dépôts [4]. La possibilité de s'assurer de l'homogénéité de surface, de l'efficacité des dépôts, de l'adsorption du film, et finalement la validation de l'immobilisation des bactéries [5].

Enfin, l'AFM comme outil de caractérisation complémentaire a été utilisée dans le but d'avoir des informations sur le bio film, en particulier son immobilisation à la surface, ainsi que sa morphologie [6-7]. L'imagerie AFM prise respectivement pour les électrodes Al nues et Al/Polymère est donnée par la figure 131. La surface d'aluminium est relativement lisse, elle présente quelques défauts, tels que des rayures qui pourraient être dues à des interventions antérieures. La surface de l'électrode Al/Polymère présente une allure différente, nous constatons la disparition des défauts, la surface est homogène, le film organique s'adhère sur toute la surface de l'électrode.

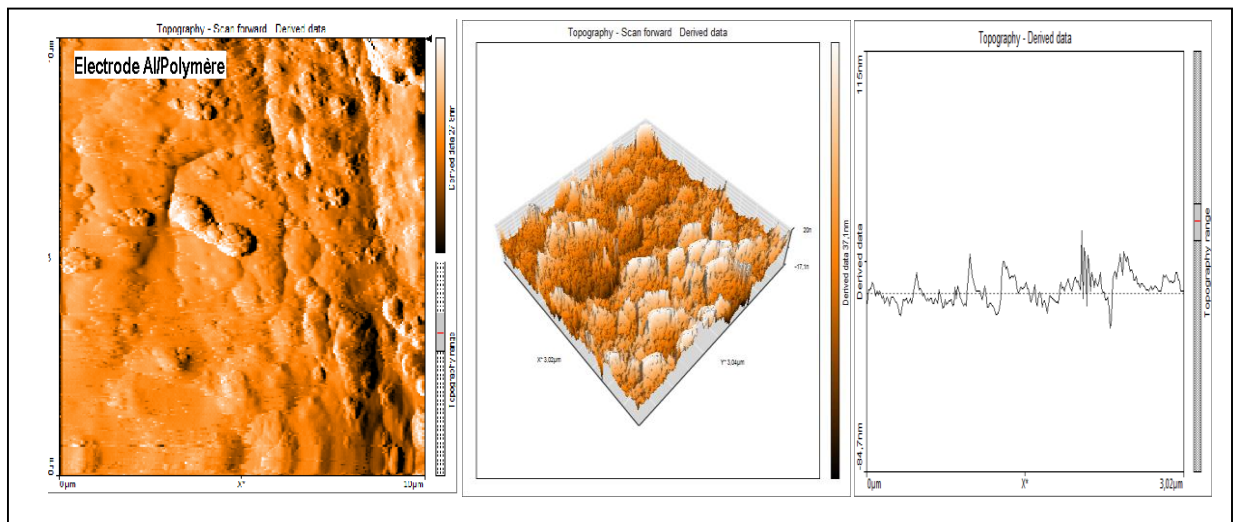
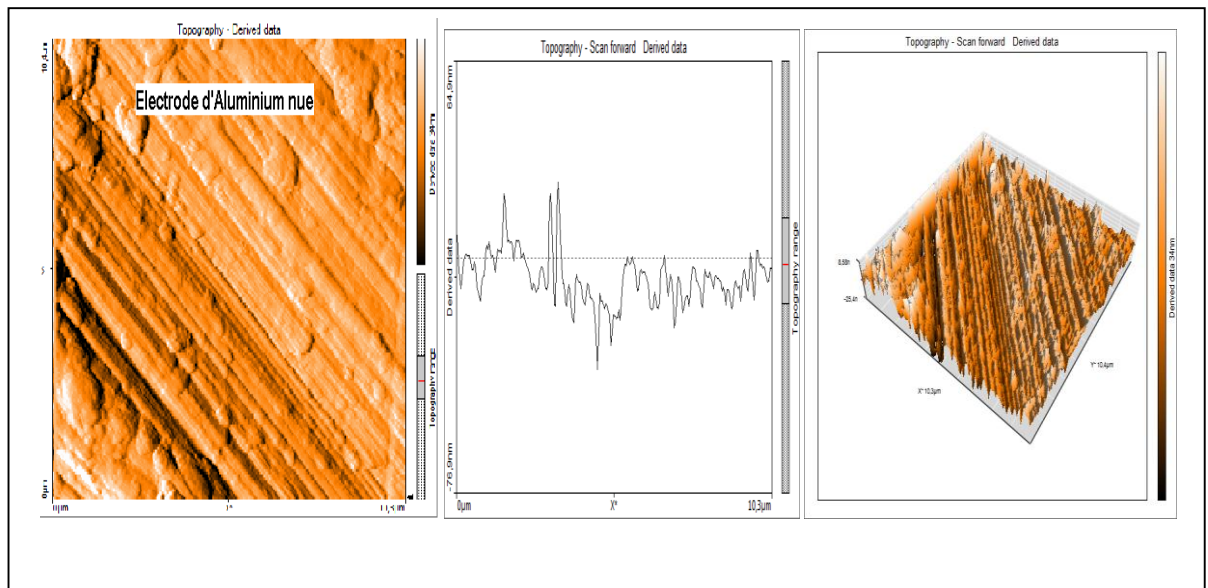


Figure 131 : Imagerie AFM prise pour les électrodes Al et Al/Polymère

l'apparition d'une population bactérienne très dense dans le cas d'une surface optimisée, avec une forme majoritairement ovale de taille de particules avec un taux de recouvrement de la surface occupée par les bactéries très important [8].

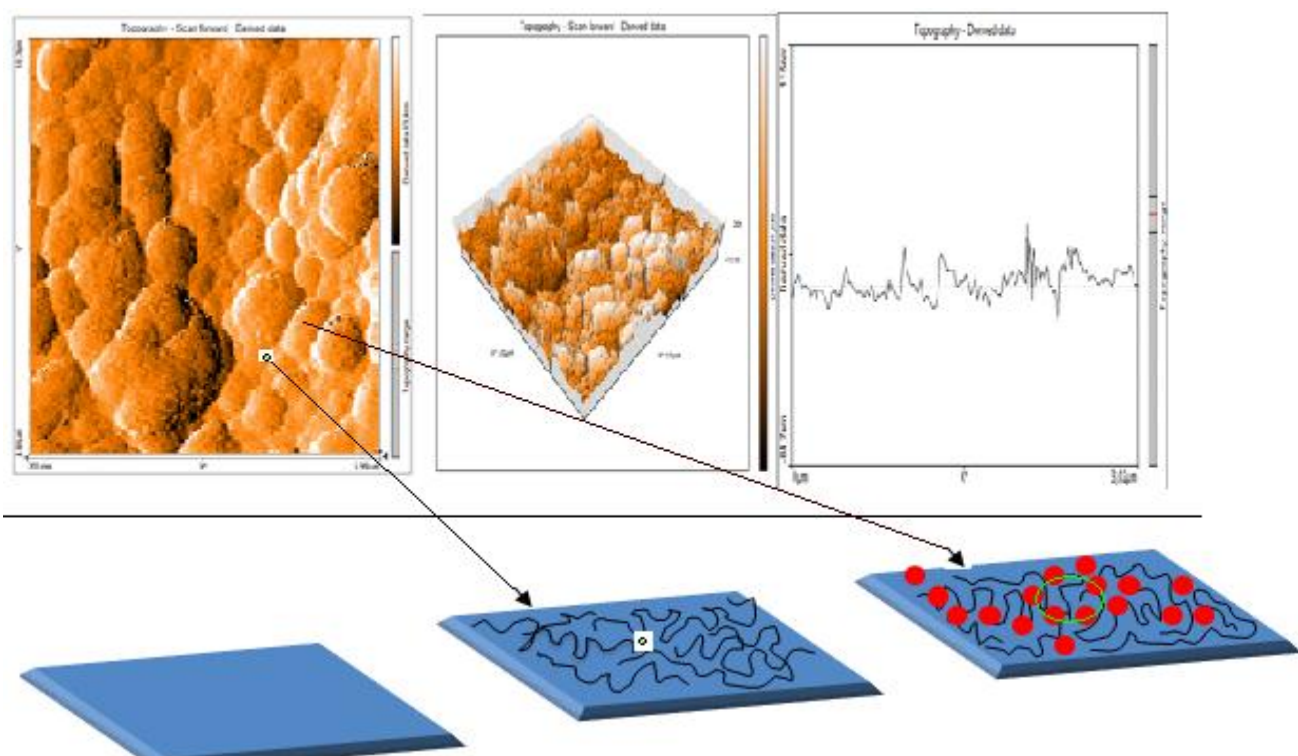


Figure 132 : Résultats d'AFM pour une surface d'électrode Al-polymère-bactérie; images topographiques 3D

Ces résultats montrent les électrodes étudiées Al, Al/Polymère et Al/Polymère/Bactéries, présentent des surfaces très différentes, dont la rugosité moyenne, reportée sur le tableau 19, et mesurée à des endroits de l'échantillon où le film était homogène sans agrégats trop importants, varie de manière importante[9] (Tableau 19).

Tableau 19 : Evolution de la rugosité de surfaces modifiées.

Surface	Capteur Al	Capteur Al-polymère	Capteur Al-polymère-bactérie
Rugosité Ra (nm)	4.63	5.23	7.32

Conclusion

Dans ce chapitre nous avons mis en évidence la préparation de différentes électrodes à base d'aluminium. L'aluminium pur ne présente aucune activité, vis-à-vis, de l'oxydation du phénol, cependant sa surface est favorable à la modification par des polymères par exemple. L'objectif de ce travail était de regrouper deux méthodes de destruction des produits organiques toxiques, dont le phénol est la molécule la plus simple, la méthode électrochimique qui souvent bloquée par l'empoisonnement de la surface de l'électrode par la formation des intermédiaires de la réaction et la méthode biologique basée sur la biodégradation du phénol par des bactéries. Cette biodégradation est limitée par la nature des produits toxiques qui pourraient étouffer les microorganismes d'où la nécessité de présenter un procédé de destruction préliminaire des produits toxiques non biodégradables. L'électrode Al/Polymère/Bactérie a prouvé une grande activité vis-à-vis de l'oxydation du phénol. L'électropolymérisation a eu lieu, in situ, à la surface de l'électrode d'aluminium en subissant à l'électrode d'Al une série de voltammogrammes cycliques. Le dépôt des bactéries a eu lieu par contact de l'électrode Al/Polymère avec une solution contenant les bactéries. Les imageries AFM ont montré que le polymère s'adhère parfaitement à la totalité de la surface d'aluminium et le biofilm est constitué par des populations de bactéries dispersées sur toute la surface.

References

- [1] Left, M. Leonardo Electronic Journal of Practices and Technologies.
- [2] El Mhammedi, M. A., Achak, M., Bakasse, M., & Chtaini, A. (2007). Physico-chemical characterization of electrochemical deposit of $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ on copper surfaces. *Applied surface science*, 253(14), 5925-5930.
- [3] EL MHAMMEDI, M. A., KINANI, L., & CHTAINI, A. (2007). Synthesis and Polymerization of Pyrole Characterization of Polypyrole. *Leonardo Electronic Journal of Practices and Technologies*, (11), 1-6.
- [4] Chouteau, C., Dzyadevych, S., Durrieu, C., & Chovelon, J. M. (2005). A bi-enzymatic whole cell conductometric biosensor for heavy metal ions and pesticides detection in water samples. *Biosensors and Bioelectronics*, 21(2), 273-281.
- [5] Yi, Y., Yang, Z., & Zhang, S. (2011). Ecological risk assessment of heavy metals in sediment and human health risk assessment of heavy metals in fishes in the middle and lower reaches of the Yangtze River basin. *Environmental Pollution*, 159(10), 2575-2585..
- [6] Lim, S. R., & Schoenung, J. M. (2010). Human health and ecological toxicity potentials due to heavy metal content in waste electronic devices with flat panel displays. *Journal of Hazardous Materials*, 177(1), 251-259..
- [7] Lee, H. J., Namkoong, K., Cho, E. C., Ko, C., Park, J. C., & Lee, S. S. (2009). Surface acoustic wave immunosensor for real-time detection of hepatitis B surface antibodies in whole blood samples. *Biosensors and Bioelectronics*, 24(10), 3120-3125..
- [8] Wang, B., Bouffier, L., Demeunynck, M., Mailley, P., Roget, A., Livache, T., & Dumy, P. (2004). New acridone derivatives for the electrochemical DNA-hybridisation labelling. *Bioelectrochemistry*, 63(1), 233-237..
- [9] Giller, K. E., Witter, E., & Mcgrath, S. P. (1998). Toxicity of heavy metals to microorganisms and microbial processes in agricultural soils: a review. *Soil Biology and Biochemistry*, 30(10), 1389-1414.

Chapitre VI

Applications analytiques

I. Electrode à pâte de carbone modifiée par le phosphate naturel (CPE-NP)

Les électrodes à pâte de carbone modifiées ont été préparées en mélangeant entièrement le modificateur 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. La surface d'électrode obtenue a été lissée par un papier propre et lisse, lavée avec l'eau bidistillée, et séchée à la température du laboratoire. En fin l'électrode est transférée dans une cellule électrochimique, de 20 ml de capacité, contenant 0.1 mol l^{-1} de NaCl. Les micro-organismes sont immobilisés par contact direct de l'électrode avec une solution de bactéries.

I.1.Caractérisations électrochimiques

I.1.1.Caractérisation par voltamétrie cyclique

La Figure 133 représente les voltammogrammes(CV) enregistrés, respectivement pour les électrodes CPE-NP et CPE-NP-bactéries, après 15 min de contact de l'électrode avec la suspension de bactéries, à la même vitesse de balayage de potentiel 100 mV/S , en milieu électrolytique NaCl (0.1M), nous pouvons remarquer que la présence des bactéries à la surface de l'électrode entraîne une légère augmentation des densités de courant électrique. Le voltammogramme cyclique a gardé la même allure ce qui montre que la présence des bactéries à la surface ne modifie pas les caractéristiques électrochimiques de l'électrode, mais augmente son activité.

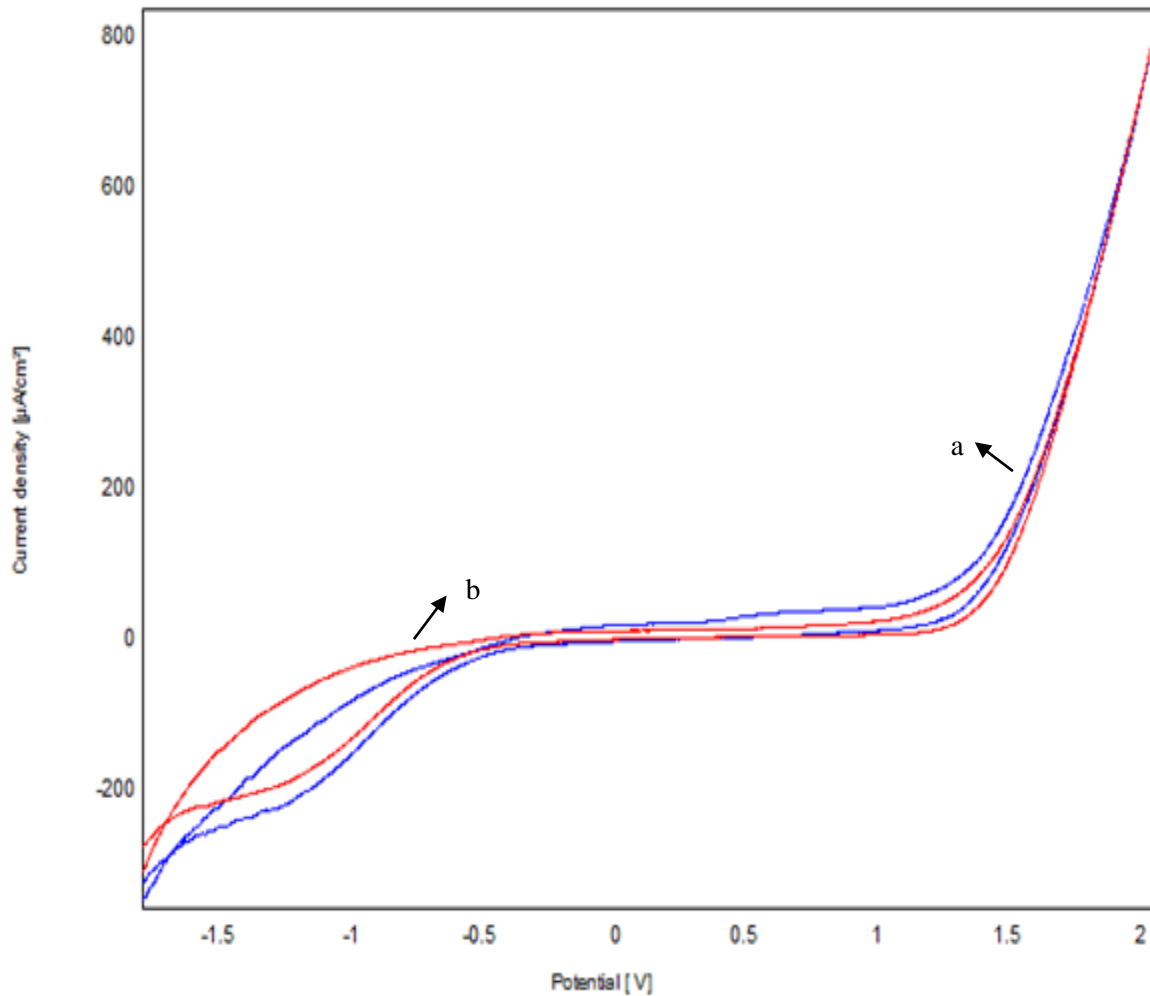


Figure 133 : Voltamogrammes cycliques obtenus par CPE-NP(a) et CPE-NP-bactéries (b) dans 0,1M de NaCl avec une vitesse de balayage de 100 mV/S.

I.1.2.Caractérisation par spectroscopie d'impédance

Les deux électrodes ont conduit à des diagrammes EIS, qui ont la forme d'une demi-boucle qui apparaît aux hautes fréquences, et pourra être attribuée au processus de transfert des électrons. Le diamètre de la demi-boucle correspond à la résistance de transfert des électrons, la valeur de cette résistance baisse dans le cas de l'électrode CPE-NP-bactéries, ce qui confirme l'immobilisation des bactéries à la surface de l'électrode CPE-NP.

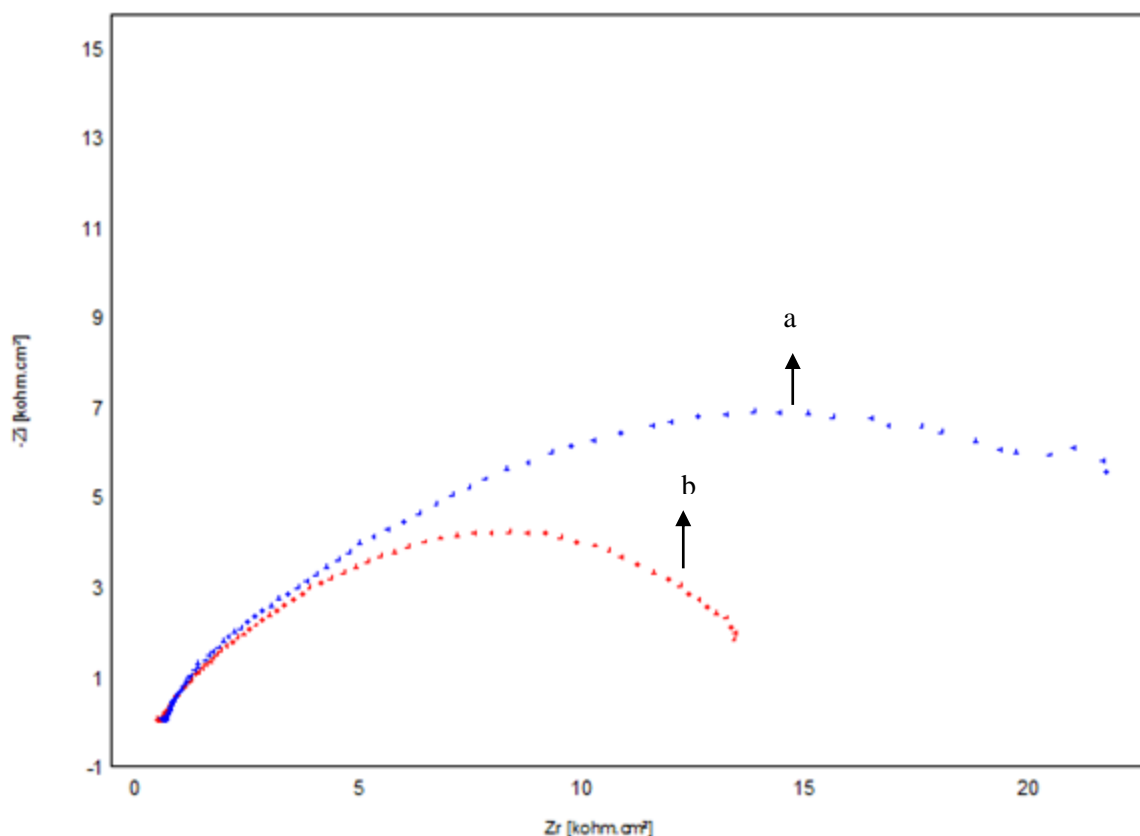


Figure 134 : Diagramme d'impédance obtenu par CPE-NP(a) et CPE-NP-bactéries (b) dans 0,1M de NaCl.

Les paramètres correspondants à ces mesures sont résumés dans le tableau 20. Le diamètre de la boucle capacitive diminue en présence des bactéries à la surface d'électrode, ce qui s'explique par la diminution de la résistance de transfert de charge. La présence des bactéries à la surface augmente la conductivité de l'interface métal/solution. La capacité du double couche qui modélise l'effet de la chute du potentiel à proximité de l'électrode, augmente en présence des bactéries ceci est dû à la fixation des bactéries à la surface de l'électrode CPE-NP.

Tableau 20 : Paramètres électrochimiques d'impédance (R_1 étant la résistance de l'électrolyte, la résistance de transfert, et C la capacité du double couche).

Electrode	$R_1(\text{ohm},\text{cm}^2)$	$R_2(\text{Kohm},\text{cm}^2)$	$C(\mu\text{F}/\text{cm}^2)$
CPE-NP	487,1	27,9	12,77
CPE-NP-bactérie	461,1	15,35	18,6

I.1.3.Caractérisation par les courbes de polarisation

La Figure 135 permet de visualiser le comportement de la présence des bactéries à la surface de l'électrode et le tableau 21 regroupe les valeurs des densités de courant de corrosion (i_{corr}), le potentiel de corrosion (E_{corr}), les pentes de tafel en présence et en absence de la bactérie à la surface d'électrode.

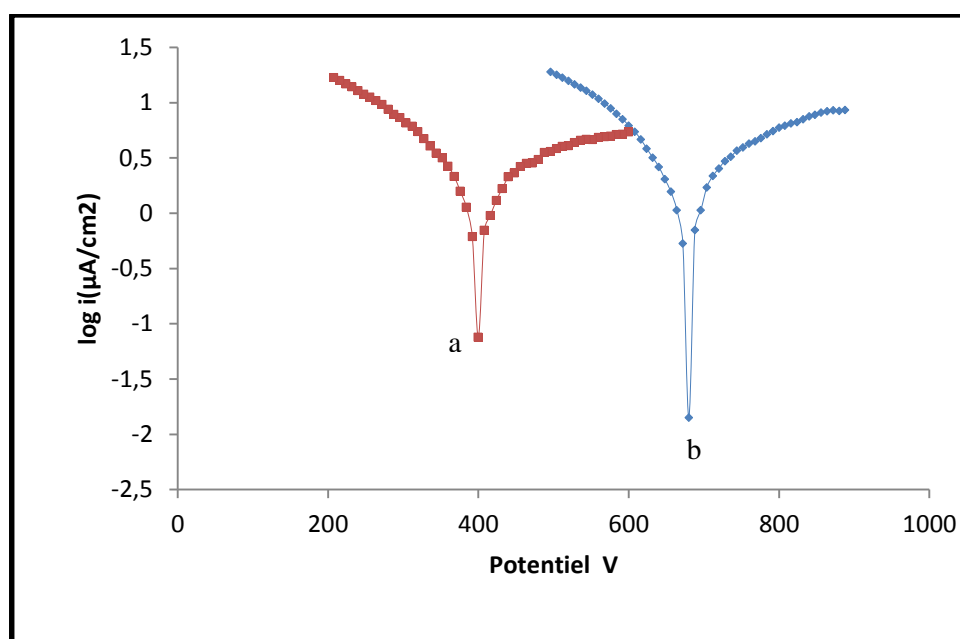


Figure 135 : Courbes de polarisation enregistrées pour les deux 'électrodes CPE-NP (a) et CPE-NP bactérie (b).

Tableau 21 : Les paramètres électrochimiques et courbes de polarisation enregistrés pour les deux électrodes CPE-NP et CPE-NP bactérie

Electrode	E (i = 0) (mV)	Rp (Kohm.cm ²)	icorr (mA/cm ²)	Ba (mV)	Bc (mV)
CPE-NP	675,1	17,34	3,2191	301,9	-169,4
CPE-NP- bactérie	396,1	25,68	2,5076	555,8	-217,3

Les courbes de polarisation se présentent sous la forme de droite de Tafel, la présence des bactéries à la surface de l'électrode conduit à une augmentation des densités de courants anodique et cathodique. Le potentiel de corrosion se déplace vers les valeurs négatives avec la présence des

bactéries. Ces résultats confirment ceux trouvés par spectroscopie d'impédance. La présence de bactérie a une influence sur la densité de charge au voisinage d'électrode. Ceci se traduit par l'augmentation de la capacité de double couche.

I.2. Analyse électrochimique du phénol en milieu de l'eau de robinet

1.2.1. Etude voltammétrique

La catalyse de l'oxydation du phénol par la bio électrode élaborée, CPE-NP-bactérie, a été investie par voltamétrie cyclique (VC), à 100 mV/s en solution électrolytique 0.1M NaCl (figure 136), en présence et en absence du phénol (4 mmol/L), dans un intervalle de potentiel compris entre -2 V et 2 V. On constate la présence de 2 pics anodiques, respectivement à 0,59 V et à 1,04 V, attribués à l'oxydation du phénol et ses dérivés.

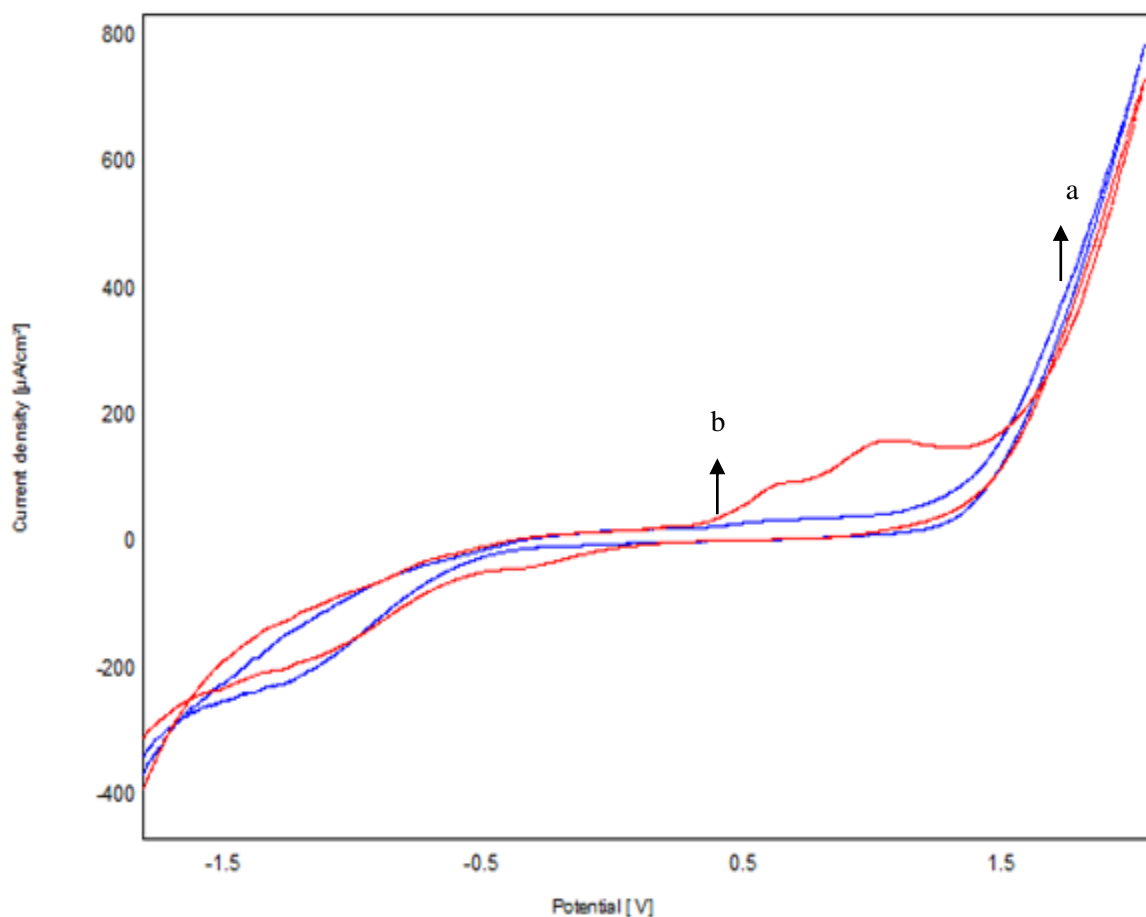


Figure 136 : Voltammogrammes cycliques obtenus par CPE-NP-bactérie en absence (a) et en présence (b) de 4 mM de phénol dans 0,1 M de NaCl avec une vitesse de balayage de 100 mV/S.

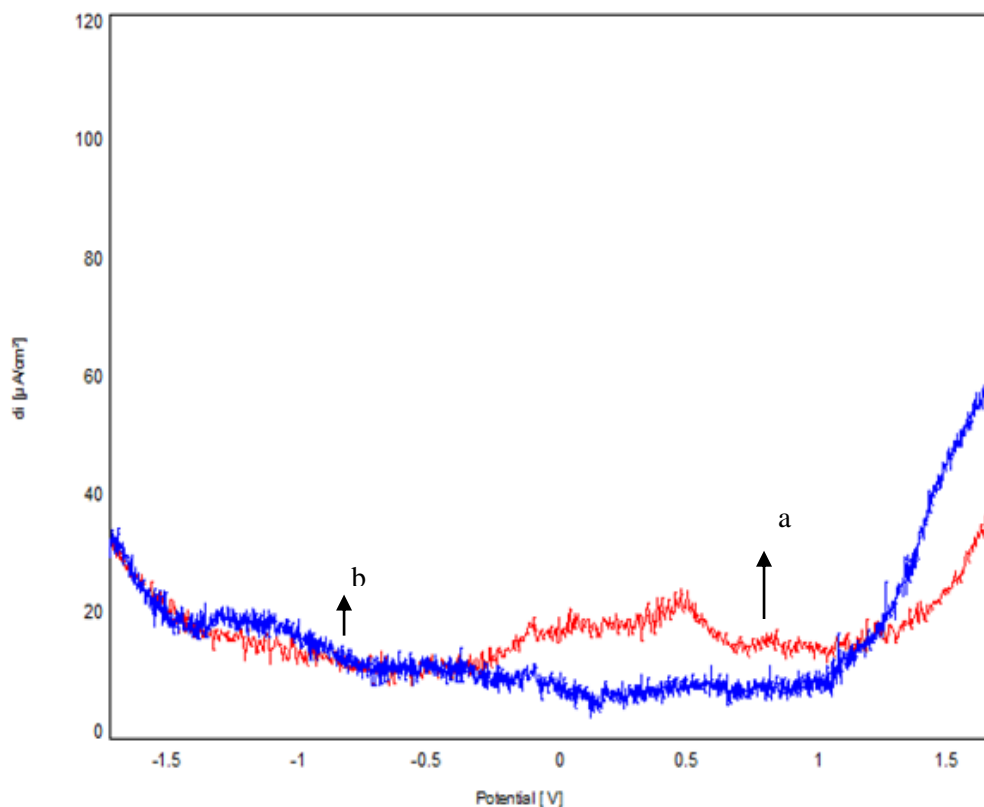


Figure 137 : Voltamogrammes à onde carrée obtenus par CPE-NP-bactérie en absence (a) et en présence (b) de 4 mM de phénol dans 0,1 M avec une vitesse de balayage de 100 mV/S.

I.2.2. Caractérisation par spectroscopie d'impédance

La Figure 138 illustre les digrammes d'impédance enregistrés par une électrode CPE-NP-bactérie, en présence et en absence d'une concentration de 4mM du phénol dans l'eau de robinet. La résistance de transfert de charge diminue remarquablement en présence du phénol (tableau. 22) ceci montre que les bactéries favorisent l'oxydation du phénol.

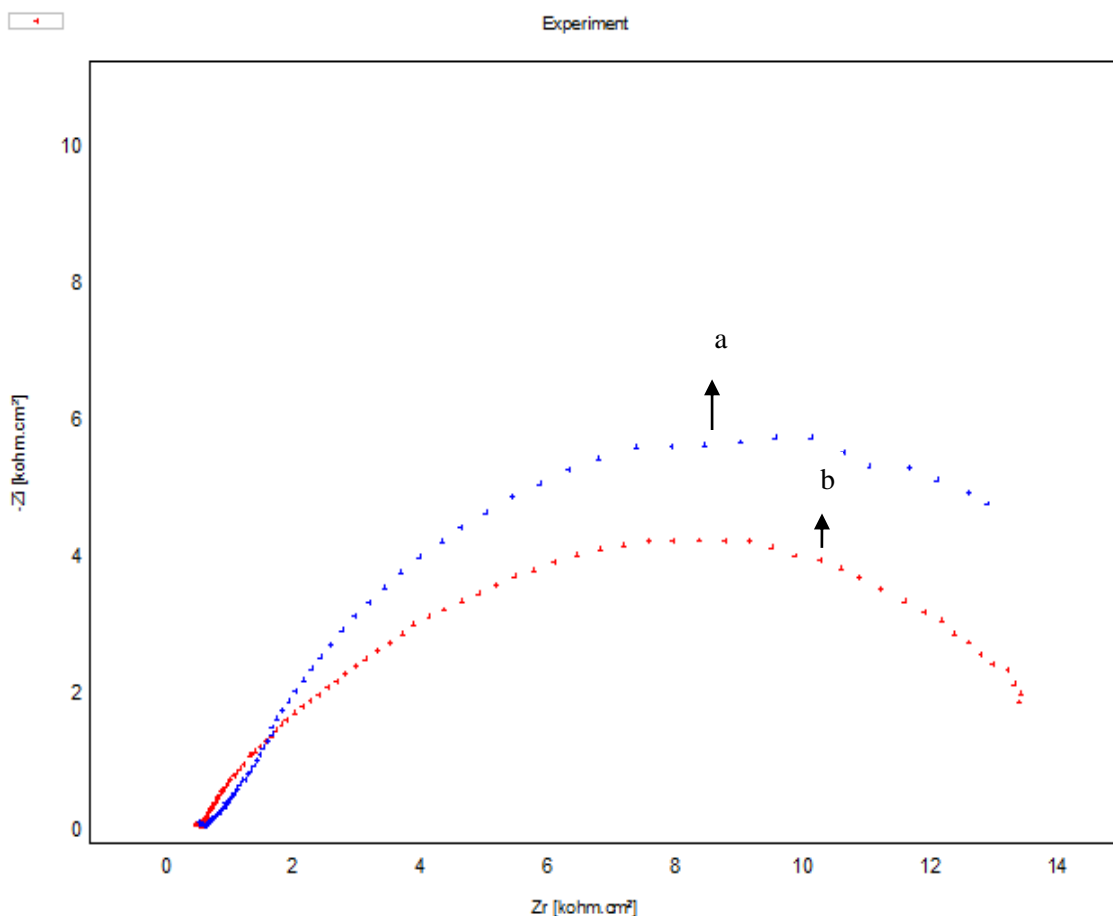


Figure 138 : Diagramme d'impédance obtenu par CPE-NP-bactérie en absence (a) et en présence(b) de 4 mM de phénol dans 0,1 M de NaCl avec une vitesse de balayage de 100 mV/S

Tableau 22 : Paramètres électrochimiques d'impédance (R_1 étant la résistance de l'électrolyte, la résistance de transfert, et C la capacité du double couche).

Electrode	R_1 (ohm,cm ²)	R_2 (Kohm,cm ²)	C(μF/cm ²)
CPE-NP-bactérie	461,1	15,35	18,6
CPE-NP-bactérie+phénol	492,9	13,38	51,88

I.3.Effet de la vitesse de balayage

La Figure 139 présente les voltammogrammes cycliques enregistrés par l'électrode CPE-NP-bactérie, à différentes vitesses de balayage, dans l'eau de robinet contenant le phénol.

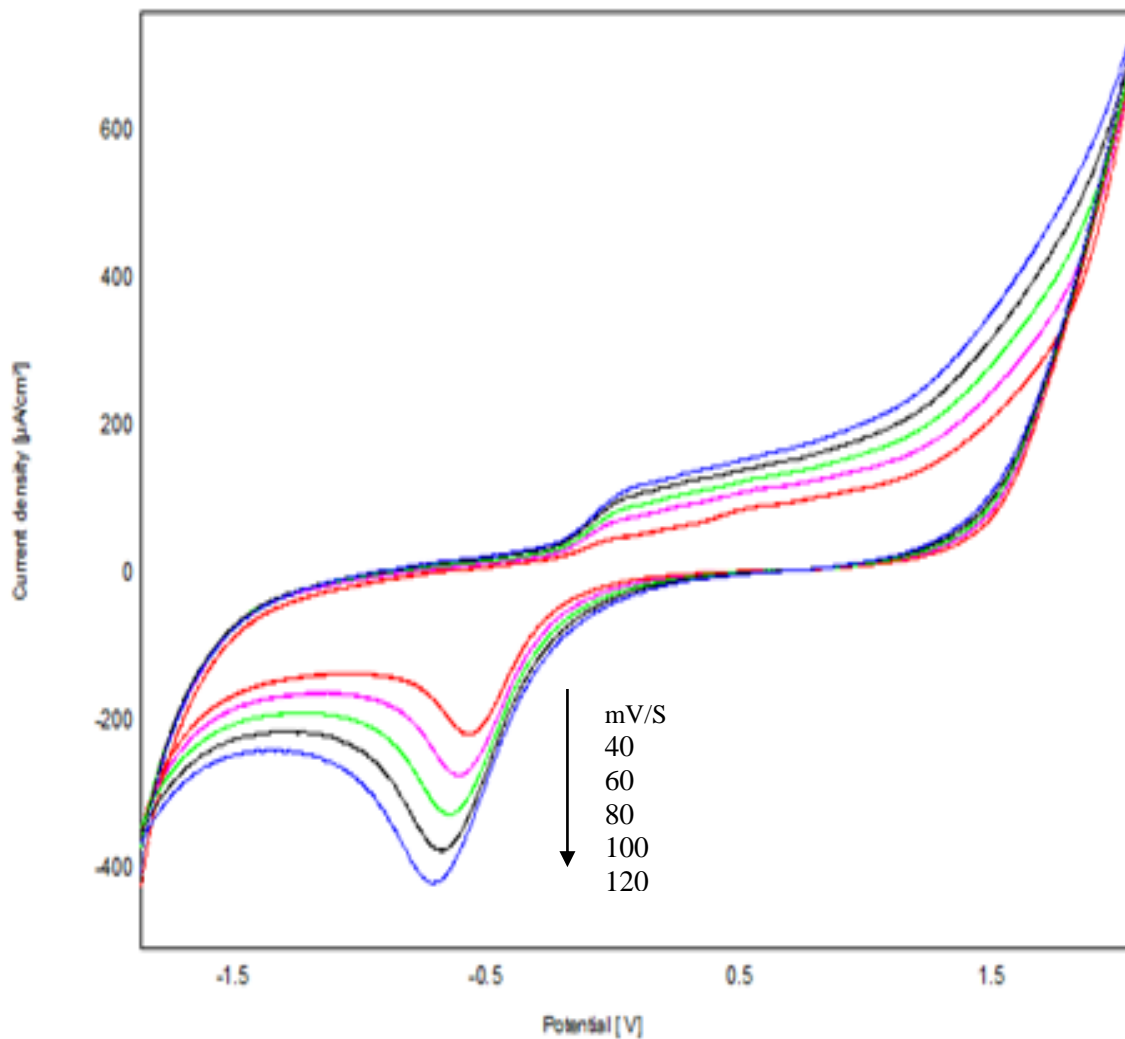


Figure 139 : Voltammogrammes enregistrés par CPE-NP-bactérie avec 8 mM de phénol dans 0,1 M de NaCl à différentes vitesses de balayage de 40 à 140 mV/S.

Les intensités des pics anodique et cathodique varient linéairement avec la vitesse de balayage, dans la gamme comprise entre 40 et 140 mV/S, ce qui indique que la cinétique de la réaction est limitée par la diffusion.

Les équations de régression linéaire sont comme suit :

- $I_{pa} = 14,28x - 36,60$ $R=0.997$
- $I_{pc} = -44,35x + 52,42$ $R=0.999$

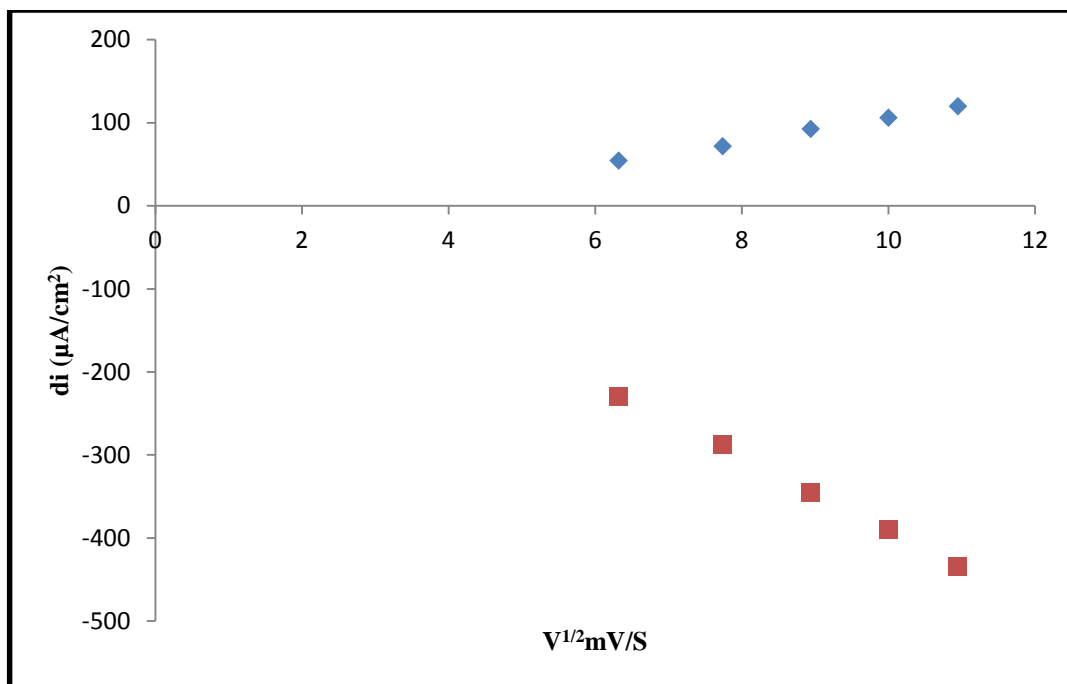


Figure 140 : Influence de la racine de la vitesse de balayage sur l'intensité des pics d'oxydoréduction du phénol obtenus par VC à la surface de CPE-NP-bactérie

I.4.Effet de la concentration du phénol

I.4.1 Caractérisation par la voltammétrie cyclique

Les Figures 141 et 142 montrent l'effet de la variation de la quantité de phénol sur les voltammogrammes cycliques enregistrés pour l'électrode de carbone modifiée par phosphate naturel et les bactéries (CPE-NP-bactérie), la vitesse de balayage est fixée à 100 mV/s. Nous constatons que l'augmentation de la concentration du phénol entraîne l'augmentation des densités de courant des pics anodiques et cathodiques, aucun empoisonnement n'a été observé. L'électrode CPE-NP-bactéries ne favorise pas la formation des dérivés poisons à sa surface. La même situation a été enregistrée par voltammétrie à ondes carrées (figure 143). Les équations des régressions linéaires correspondant respectivement au pic d'oxydation et de réduction sont comme suit :

$$I_{pa} = 2,464 [\text{phénol}] + 76,47 \quad R^2 = 0,993$$

$$I_{pc} = -17,50 [\text{phénol}] - 0,558 \quad R^2 = 0,989$$

La limite de détection est de $8,24 \times 10^{-8} \text{ mol l}^{-1}$ et $8,11 \times 10^{-9} \text{ mol l}^{-1}$ pour le pic d'oxydation et le pic de réduction respectivement. La quantification limite est de $2,74 \times 10^{-7} \text{ mol l}^{-1}$ et $2,70 \times 10^{-8} \text{ mol l}^{-1}$ respectivement pour le pic d'oxydation et le pic de réduction.

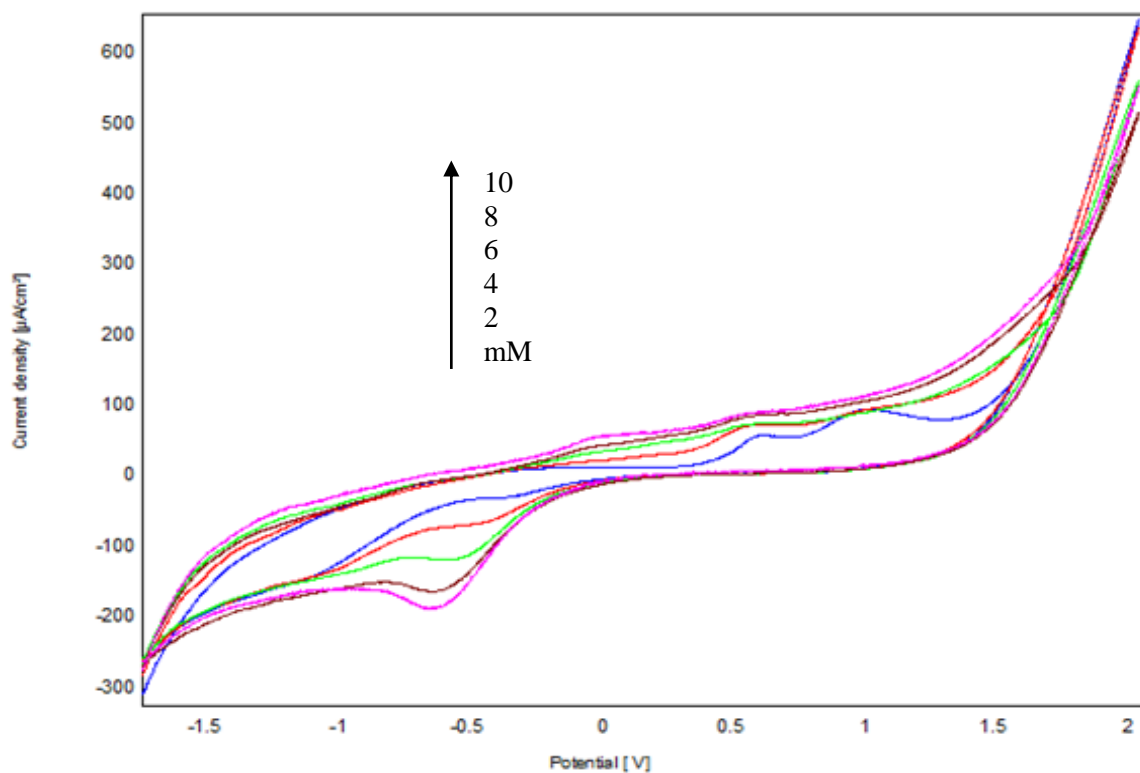


Figure 141: Voltamogrammes cycliques à différentes concentrations de phénol (de 2 mM à 12 mM) dans 0,1 M de NaCl sur CPE-NP-bactérie, $V = 100 \text{ mV}\cdot\text{S}^{-1}$

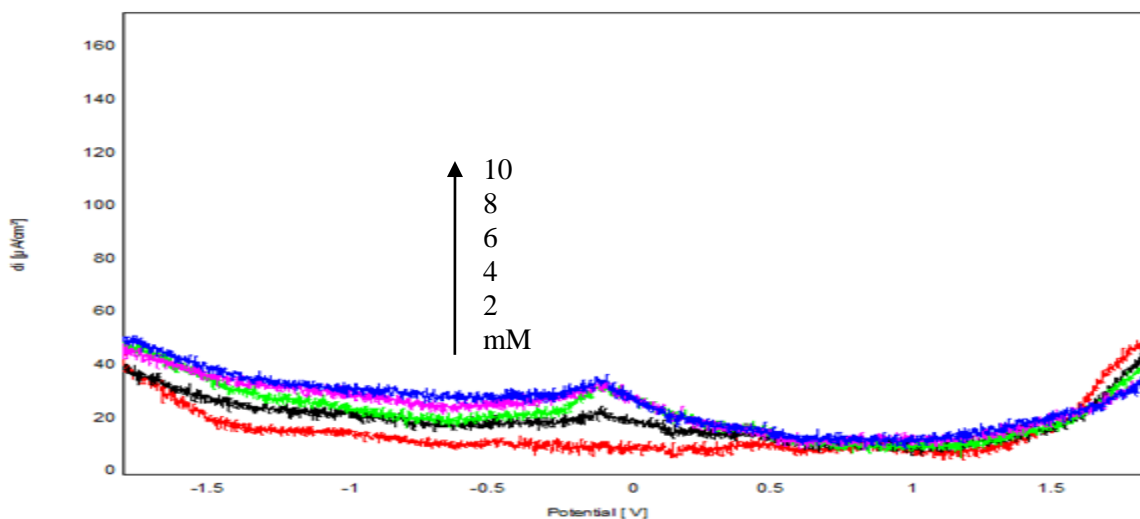


Figure 142: Voltamogrammes à onde carré à différentes concentrations de phénol (de 2 mM à 12 mM) dans 0,1 M de NaCl sur CPE-NP-bactérie, $V = 100 \text{ mV}\cdot\text{S}^{-1}$

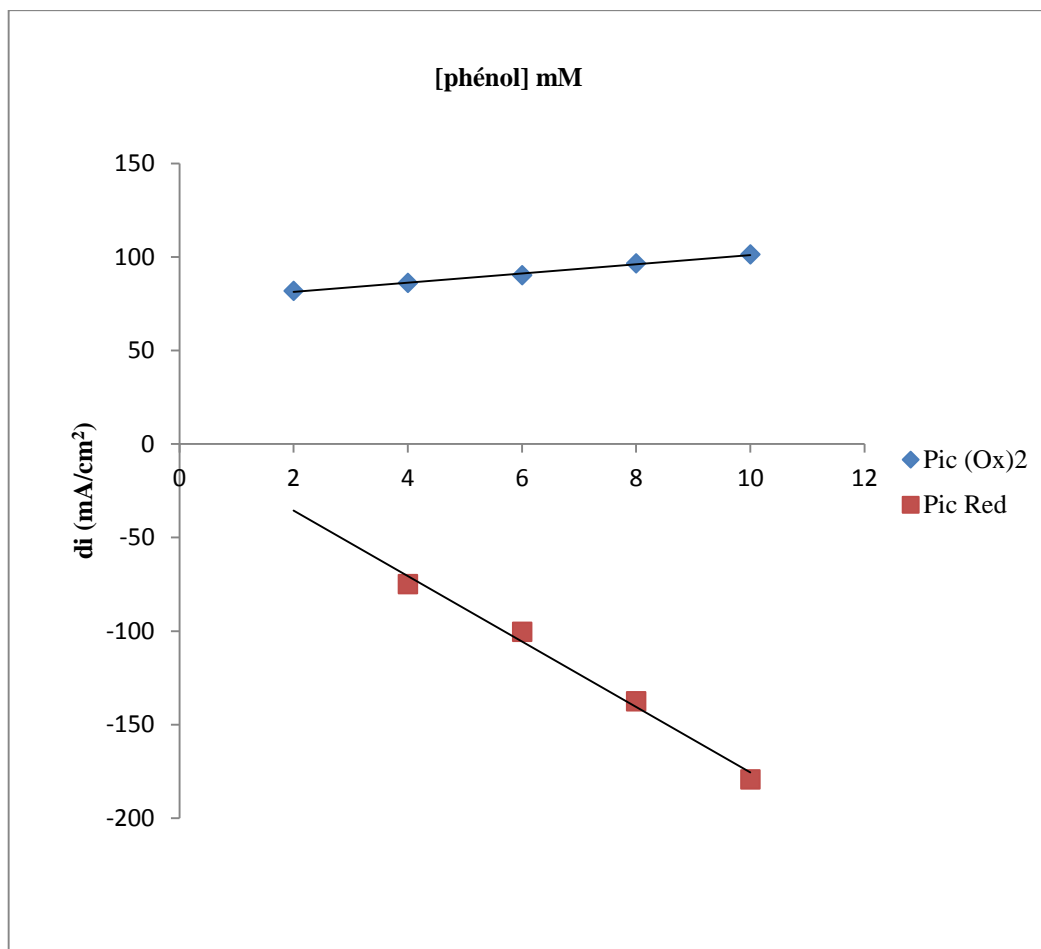


Figure 143: Influence de la concentration du phénol sur l'intensité des pics d'oxydoréduction obtenus par VC à la surface de CPE-NP-bactérie.

I.4.2. Caractérisation par spectroscopie d'impédance

L'effet de la concentration du phénol a été étudié également par spectroscopie d'impédance. La figure 144 montre que les courbes de spectroscopie d'impédance ont la forme de demi-cercles pour toutes les concentrations du phénol dans la zone de hautes fréquences, qui pourraient être attribuées au processus de transfert d'électrons. La résistance de transfert d'électrons diminue avec la concentration du phénol, qui montre que la surface d'électrode dispose d'un nombre important de sites actifs.

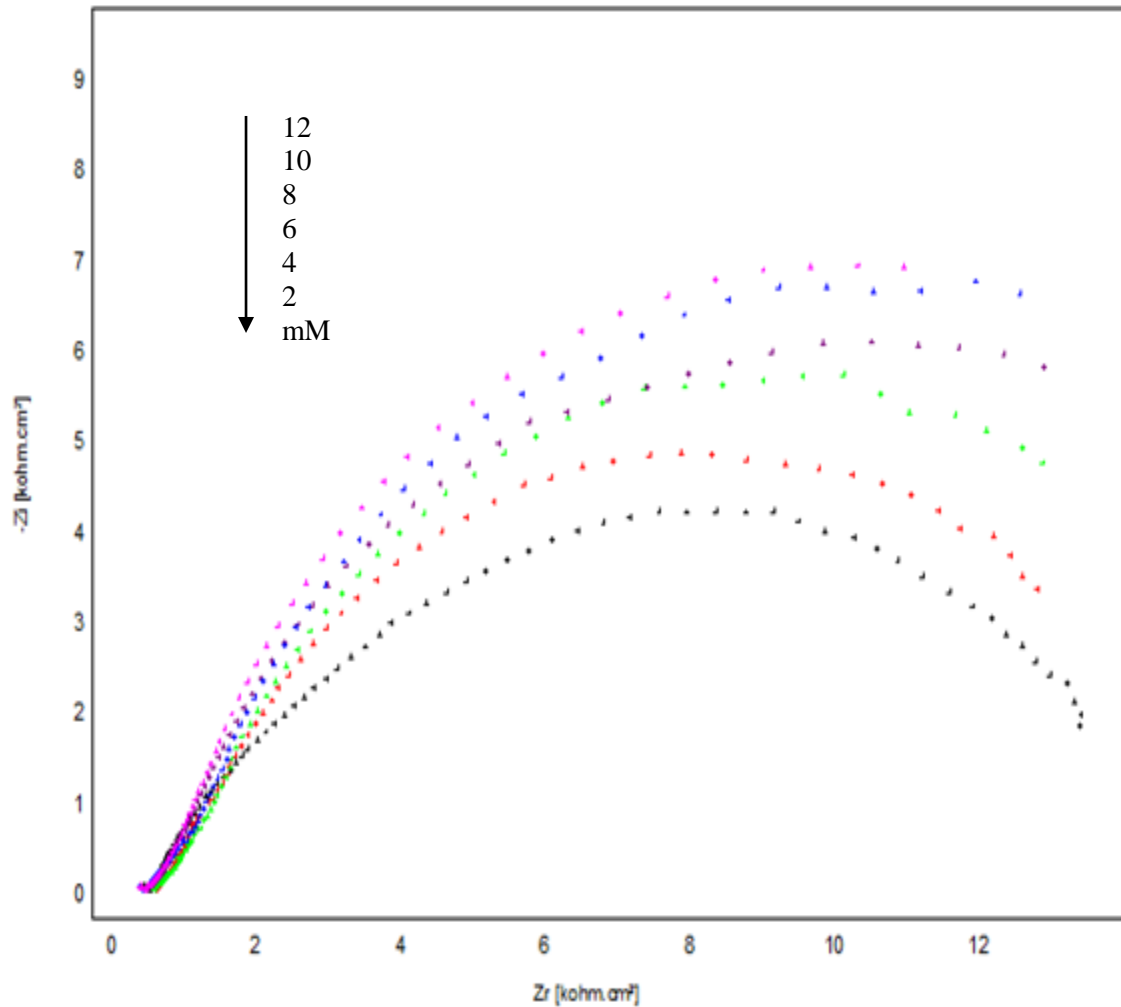


Figure 144: Diagramme d'impédance à différentes concentrations de phénol (de 2 mM à 12 mM) dans 0,1 M de NaCl sur CPE-NP-bactérie.

I.5. Evaluation de l'activité de l'électrode modifiée bactérie-NP-CPE pour la détection du phénol en milieu l'eau de robinet.

I.5.1. Etude voltamétrique

Dans cette partie nous comparons le comportement des électrodes CPE-NP et CPE-NP-bactérie pour l'oxydation du phénol dans l'eau de robinet pour examiner l'activité de bactérie.

Les Figures 145 et 146 montrent que les densités de courant des pics d'oxydation sont plus intenses en présence des bactéries à la surface de l'électrode CPE-NP-bactérie. Ce qui montre que la présence des bactéries à la surface améliore l'activité catalytique de l'oxydation du phénol.

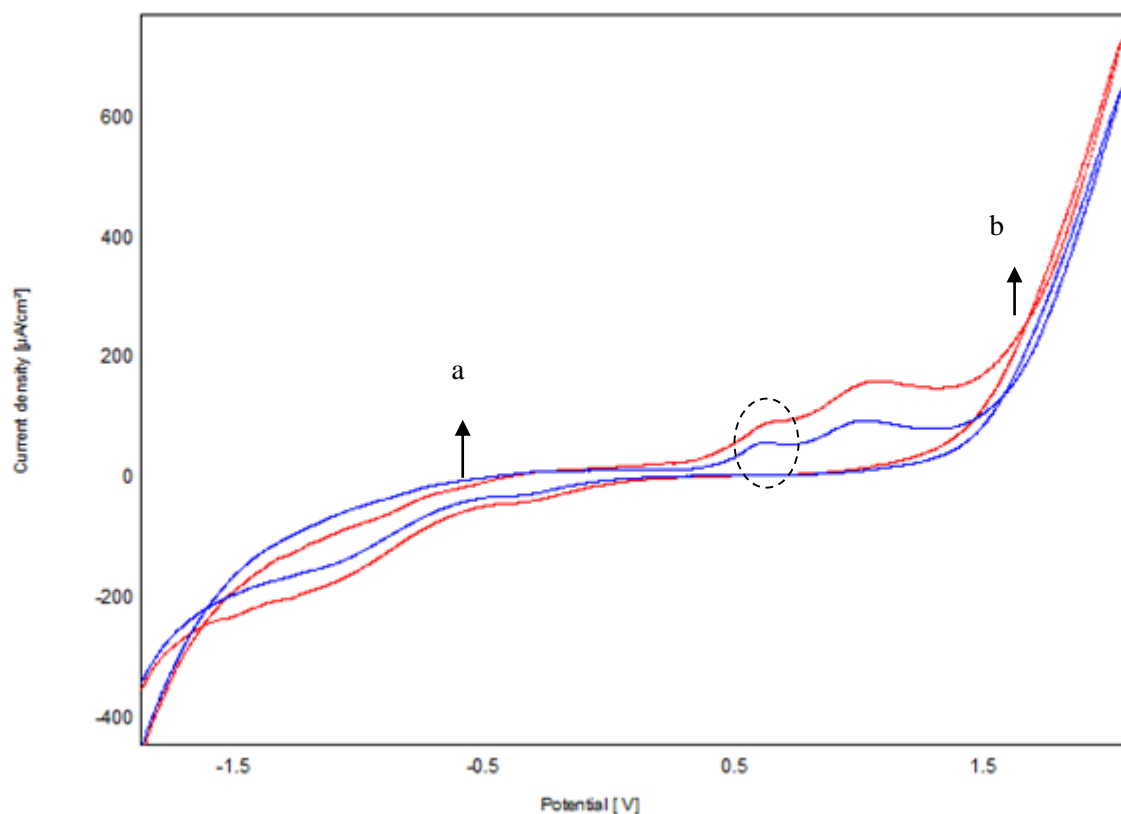


Figure 145: Voltammogrammes cycliques obtenus par CPE-NP (a) et CPE-NP-bactérie (b) en présence de 4 mM de phénol dans 0,9 M de NaCl avec une vitesse de balayage de 100 mV/S.

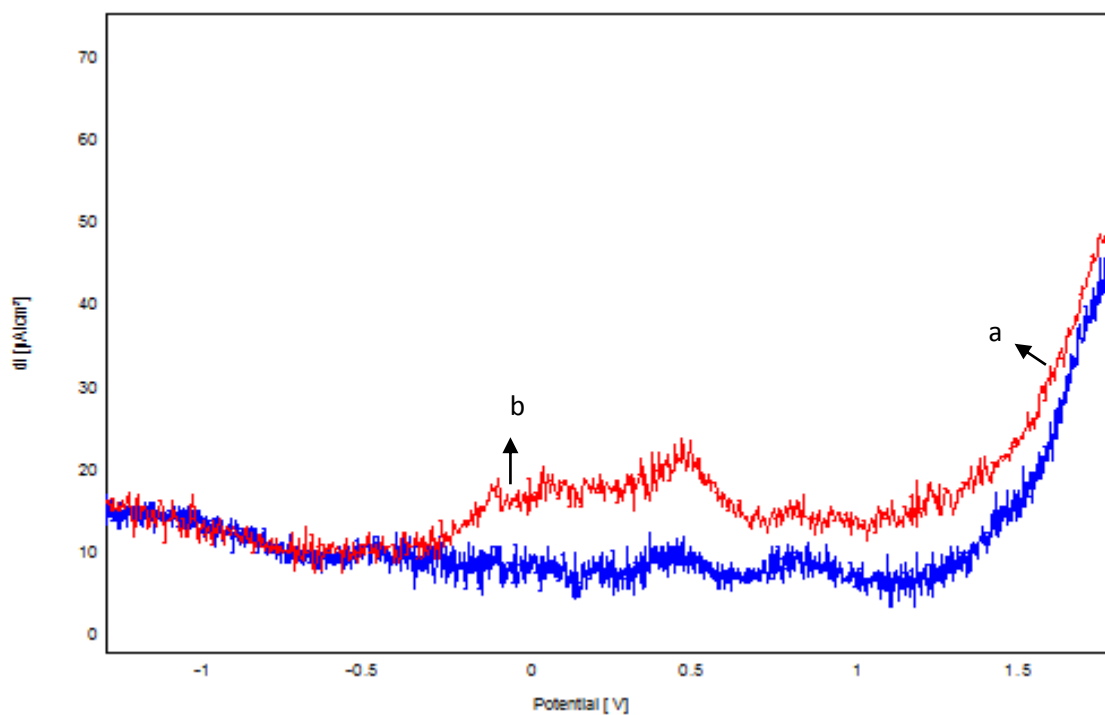


Figure 146 : Voltammogrammes à onde carrée obtenus par CPE-NP (a) et CPE-NP-bactérie (b) en présence de 4 mM de phénol dans 0,1 M de NaCl avec une vitesse de balayage de 100 mV/S..

De ce fait l'activité de la bactérie immobilisée sur la surface d'électrode NP-CPE, pour l'oxydation du phénol dans une solution de l'eau de robinet est :

$$\alpha = (1 - (89.29/55.4)) \times 100$$
$$= 61,11\%$$

I.5.2. Caractérisation par spectroscopie d'impédance

La Figure 147 représente les diagrammes d'impédance enregistrés pour les deux électrodes CPE-NP et CPE-NP-bactérie dans l'eau de robinet contenant du phénol. Nous avons toujours la présence de la demi-boucle dans les deux cas, ce qui montre que la présence des bactéries à la surface de l'électrode n'a pas beaucoup d'influence sur le mécanisme de l'oxydation du phénol.

Le Tableau 23 montre que la résistance de transfert de charge correspond à l'électrode CPN-NP –bactérie est largement inférieure à celle obtenue pour l'électrode CPE-NP. Ce qui confirme les résultats de la voltamétrie cyclique.

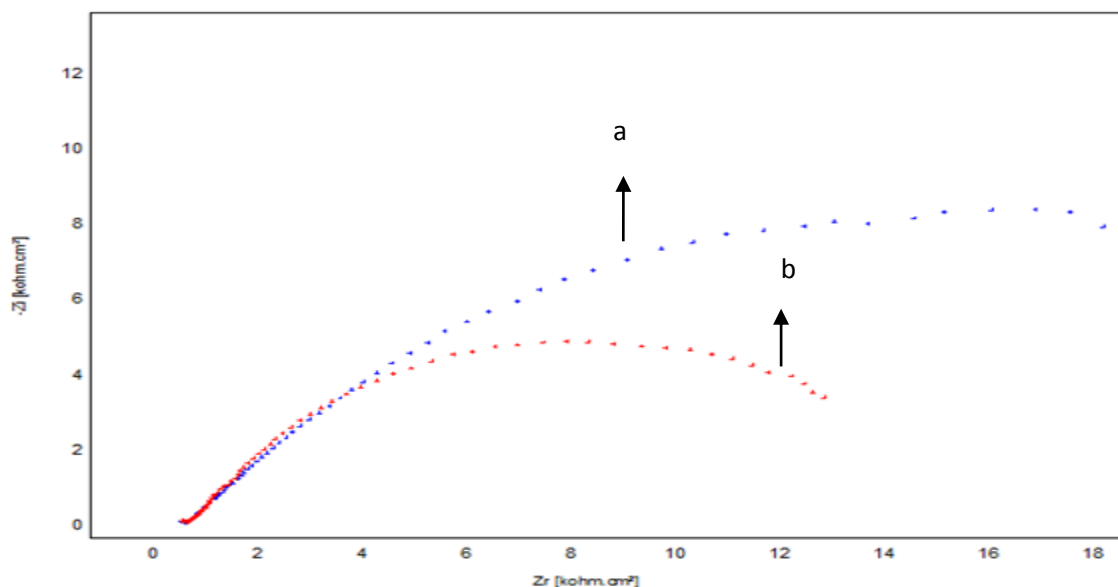


Figure 147: Diagramme d'impédance obtenu par CPE-NP (a) et CPE-NP-bactérie (b) en présence de 4 mM de phénol dans 0,1 M de NaCl.

Tableau 23: Paramètres électrochimiques d'impédance (R_1 étant la résistance de l'électrolyte, la résistance de transfert, et C la capacité du double couche).

Electrode	$R_1(\text{ohm},\text{cm}^2)$	$R_2(\text{Kohm},\text{cm}^2)$	$C(\mu\text{F}/\text{cm}^2)$
cPE-NP-bactérie+phénol	492,9	13,38	51,88
CPE-NP+phénol	612,7	33,27	47,83

I. Electrode à pâte de carbone modifiée par l'argile et les bactéries

II.1. Caractérisation par voltamétrie cyclique

L'électrode à pâte de carbone modifiée par l'argile et les bactéries (CPE-Ar-Bactéries) a été conçue selon la procédure citée antérieurement. La caractérisation électrochimique a été étudiée par voltamétrie cyclique (VC) (figure 148) et par les courbes de polarisation (figure 149). Le film bactérien est développé à la surface de l'électrode par immersion de CPE-Ar dans une solution contenant les suspensions de bactérie. La présence des micro-organismes à la surface de l'électrode se manifeste par une légère augmentation des densités de courant.

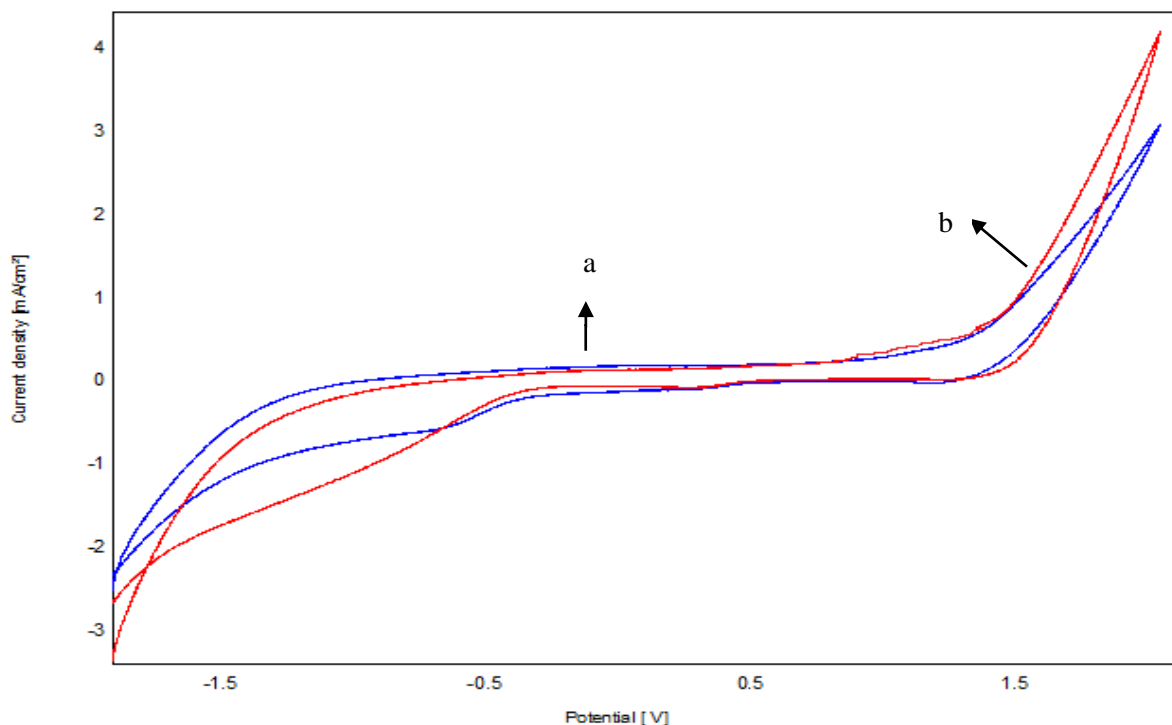


Figure 148: Voltamogrammes cycliques obtenus par CPE-Ar (a) et CPE-Ar- bactéries (b) dans 0,1M de NaCl avec une vitesse de balayage de 100 mV/S

II.2.Caractérisation par courbe de polarisation

Le développement du film microbien à la surface de l'électrode a entraîné une légère baisse de la résistance de polarisation, en raison de la forte susceptibilité de l'argile aux bactéries [1]. La liaison bactérie-argile est tellement forte qu'elle fragilise la liaison argile-carbone, ce qui entraîne le détachement de la complexe argile bactérie (figure 149 et tableau. 24).

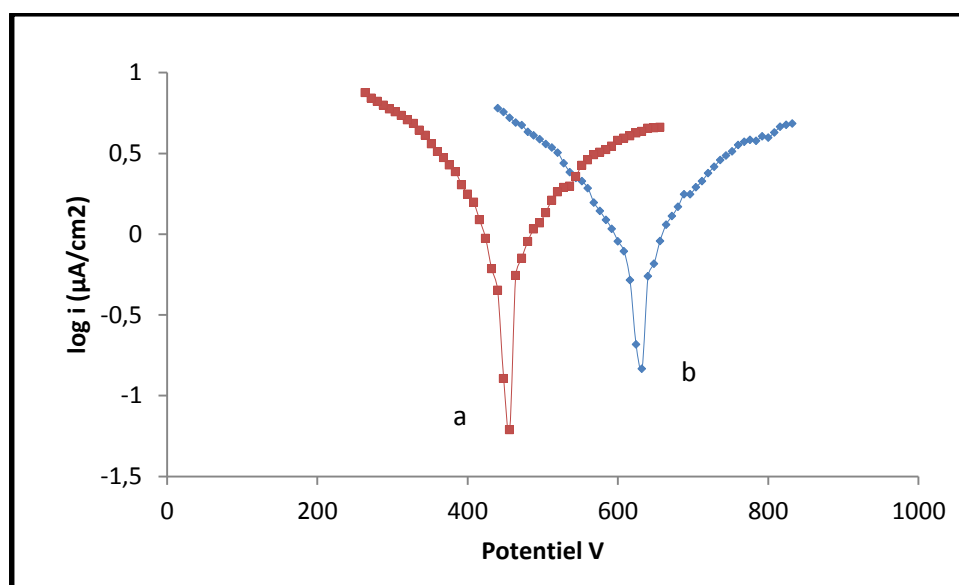


Figure 149: Courbes de polarisation enregistrées pour les deux électrodes CPE-Ar (a) et CPE-Ar-bactérie (b).

Tableau 24: Les paramètres électrochimiques et courbes de polarisation enregistrés pour les deux électrodes CPE-Ar et CPE-Ar- bactérie.

Electrode	E (i = 0) (mV)	Rp (Kohm.cm ²)	icorr (mA/cm ²)	Ba (mV)	Bc (mV)
CPE-Ar	623,3	41.67	0.8686	217.1	-203.7
CPE-Ar-bactérie	449.11	38.87	0.9387	273.7	-167.9

II.3. Dégradation du phénol

La dégradation électrochimique du phénol à la surface de l'électrode CPE-Ar-bactérie a été étudiée respectivement, par voltamétries cyclique et à onde carrée. Le VC enregistré en présence du phénol (0.45mmol/L) dans l'eau de robinet, présente 2 pics dans le sens de balayage anodique (figure 150), respectivement à 0.6 V, et 1.2 V et un pic cathodique vers -0,46 V. les pics anodiques correspondent à l'oxydation du phénol à des produits intermédiaires. Les voltammogrammes à ondes carrées présentent les 3 pics observés dans le VC.

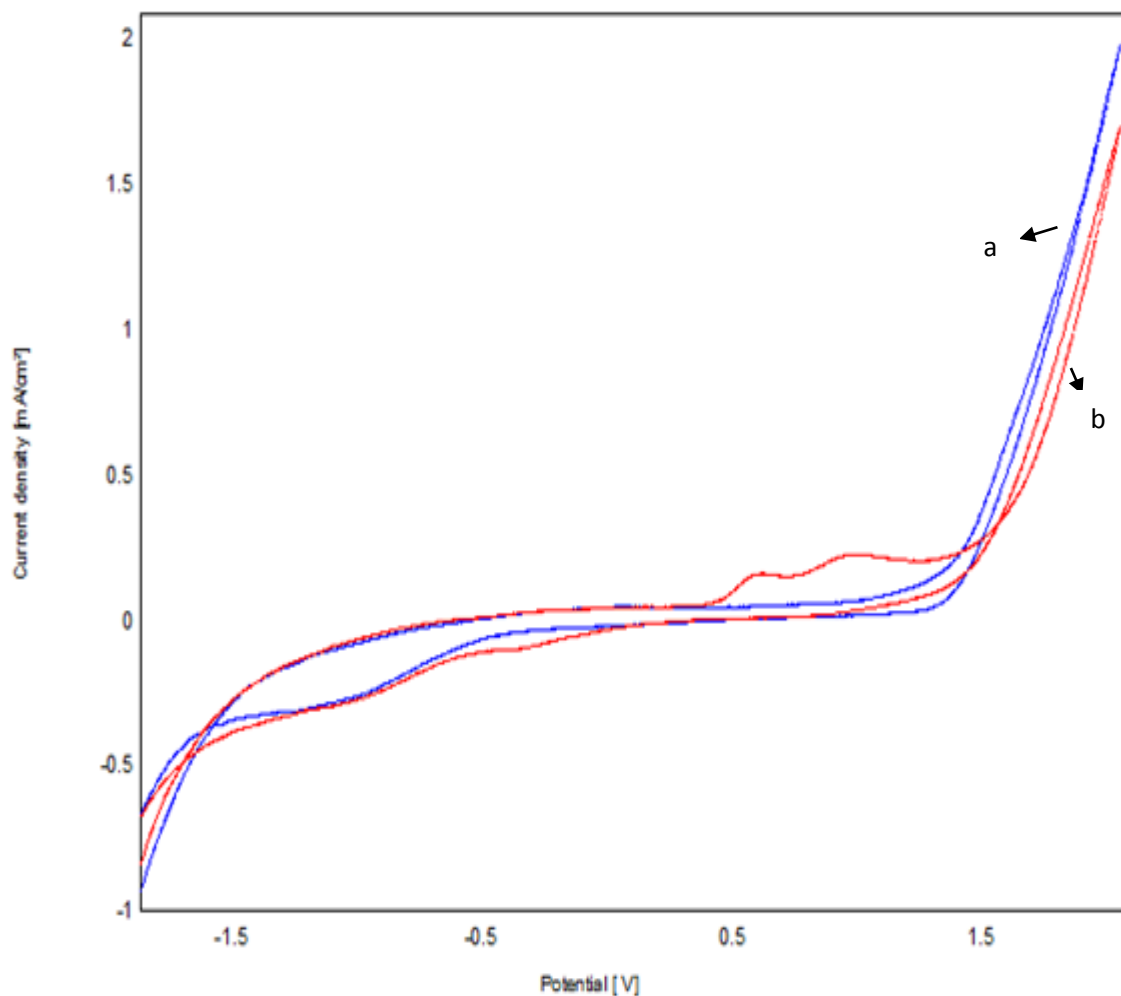


Figure 150: Voltammogrammes cycliques obtenus par CPE-Ar-bactérie en absence (a) et en présence (b) de 4 mM de phénol dans 0,1 M de NaCl avec une vitesse de balayage de 100 mV/S

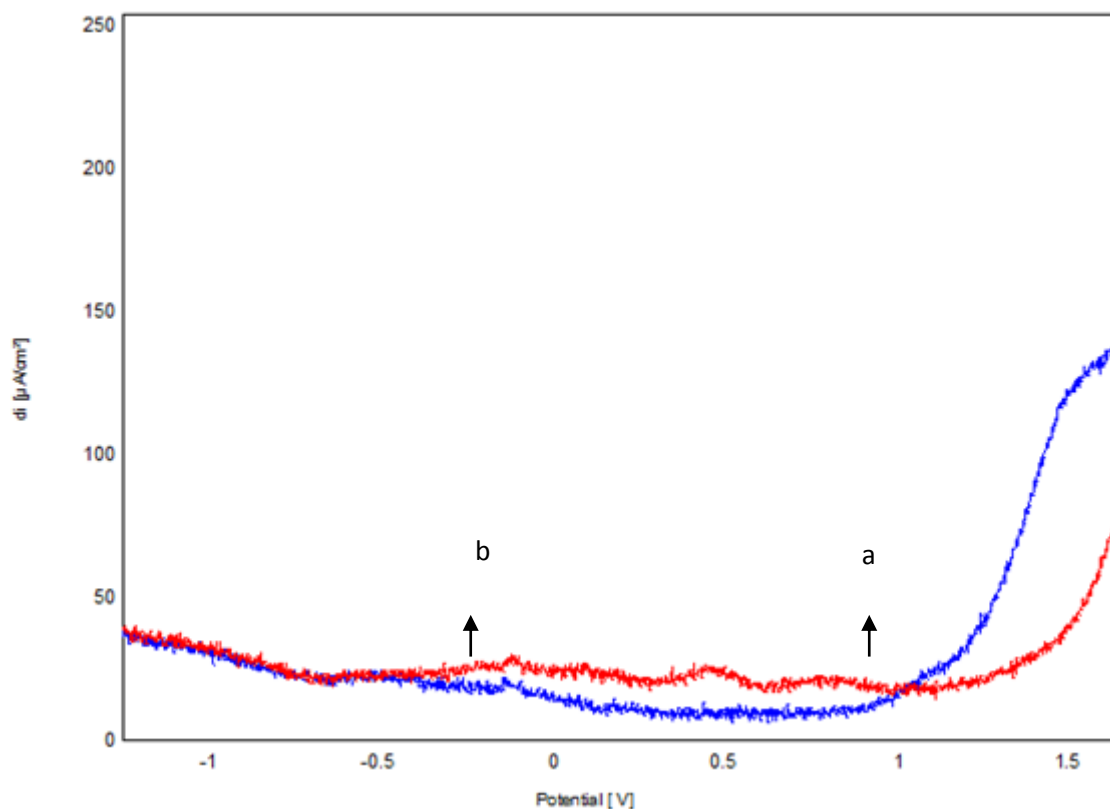


Figure 151: Voltamogrammes à onde carrée obtenus par CPE-Ar-bactérie en absence (a) et en présence (b) de 4 mM de phénol dans 0,1 M de NaCl.

II.3.1. Caractérisation par spectroscopie d'impédance

Les diagrammes d'impédance enregistrés pour l'électrode CPE-Ar-bactéries sont donnés par la figure 152. La partie de la courbe à haute fréquence est éclip­sée par le phénomène de diffusion. L'argile en raison de sa structure poreuse favorise le phénomène de diffusion. Les paramètres électrochimiques déduits des diagrammes d'impédance sont regroupés dans le tableau 25, la valeur élevée de la capacité de la double couche enregistrée en présence du phénol, est probablement due à la biodégradation du phénol et de ses dérivés.

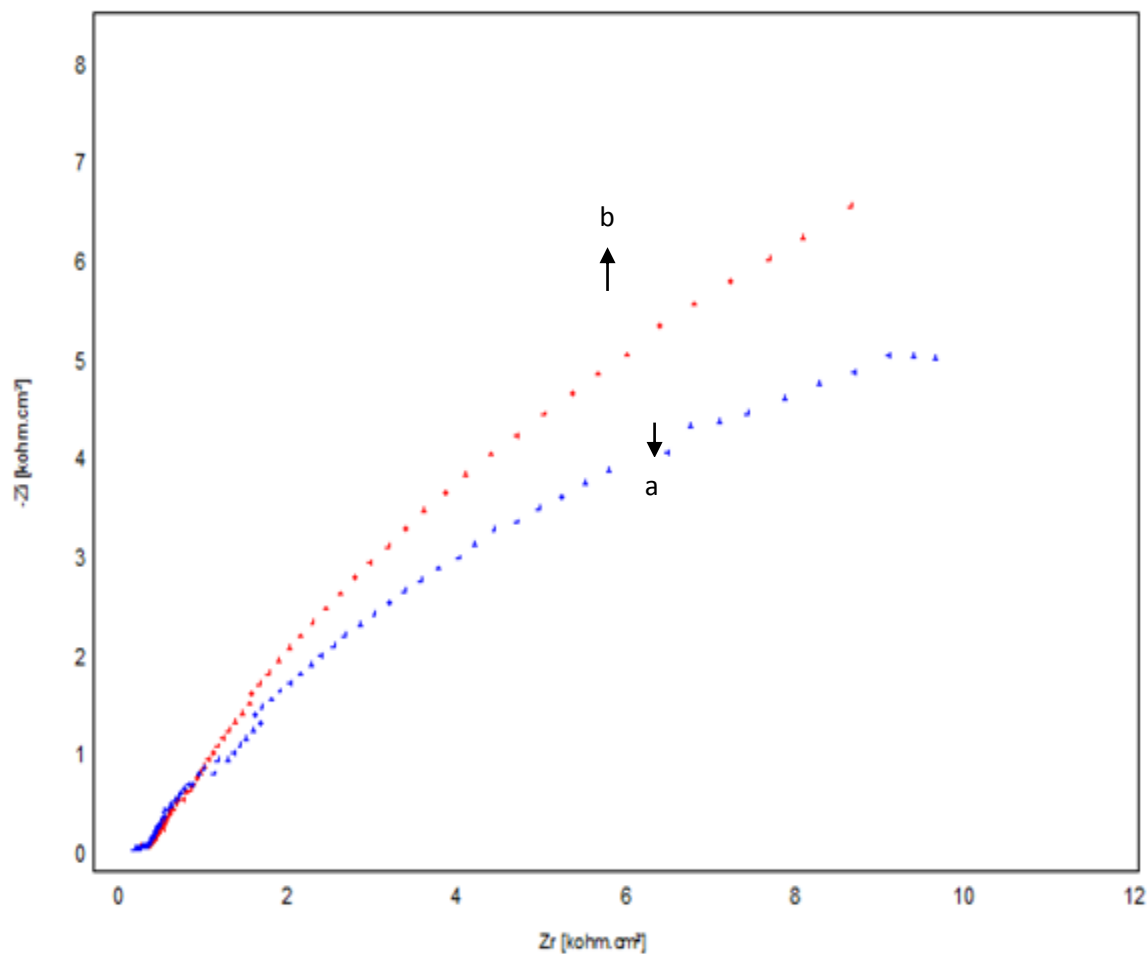


Figure 152: Diagramme d'impédance obtenus par CPE-Ar-bactérie en absence (a) et en présence (b) de 4 mM de phénol dans 0,1 M de NaCl.

Tableau 25: Paramètres électrochimiques d'impédance (R_1 étant la résistance de l'électrolyte, la résistance de transfert, et C la capacité du double couche).

Electrode	$R_1(\text{ohm},\text{cm}^2)$	$R_2(\text{Kohm},\text{cm}^2)$	$C(\mu\text{F}/\text{cm}^2)$
CPE-NP-bactérie	175,7	23,7	67,12
CPE-NP-bactérie+phénol	225,7	31,39	50,68

II.4. Effet de la vitesse de balayage

Sur la figure 153, nous présentons les voltammogrammes cycliques, enregistrés pour l'électrode de carbone graphite modifiée par l'argile et bactérie, à différentes vitesses de balayage,

dans l'eau de robinet contenant le phénol. Les densités de courant des différents pics augmentent linéairement avec la vitesse de balayage (figure 154).

Les pics anodiques se déplacent vers les potentiels positifs, au fur et à mesure que la vitesse de balayage augmente, alors que, les pics cathodiques se déplacent vers les potentiels négatifs à hautes vitesses de balayage.

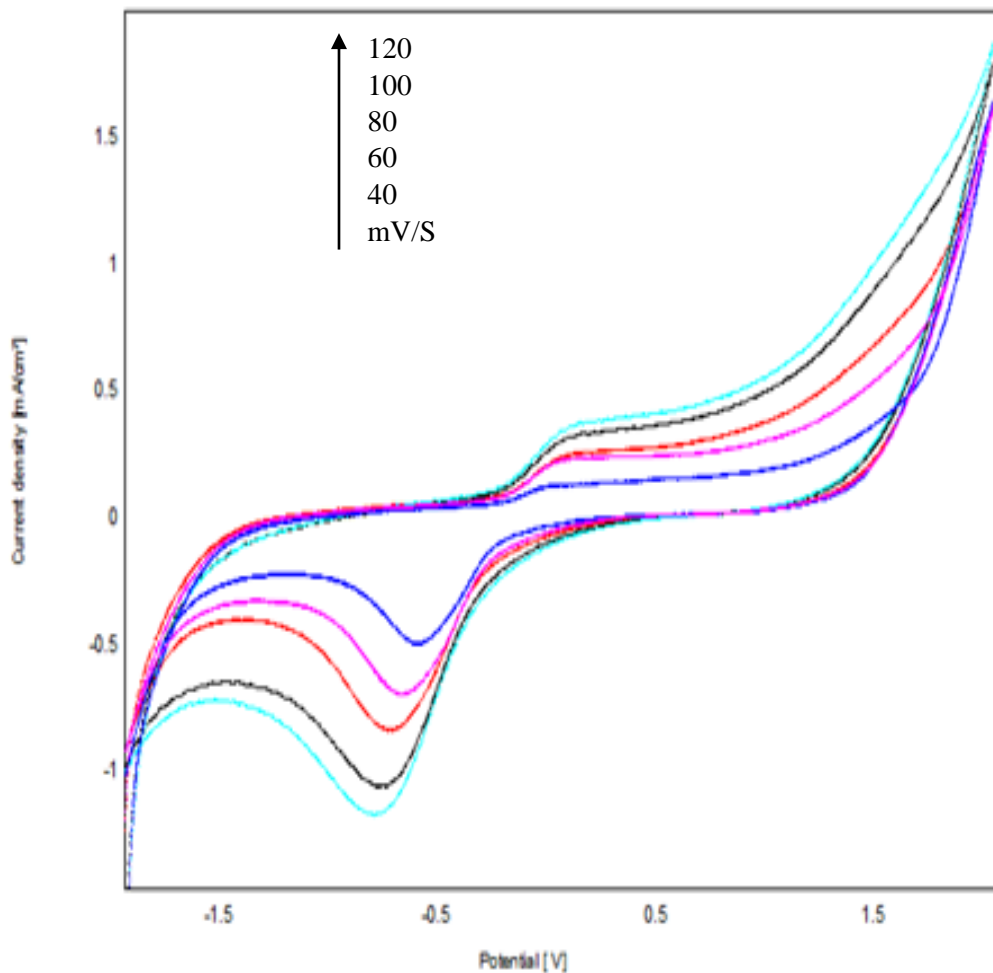


Figure 153: Voltammogrammes enregistrés par CPE-Ar-bactérie avec 8 mM de phénol dans 0,1 M de NaCl à différentes vitesses de balayage de 40 à 140 mV.s-1.

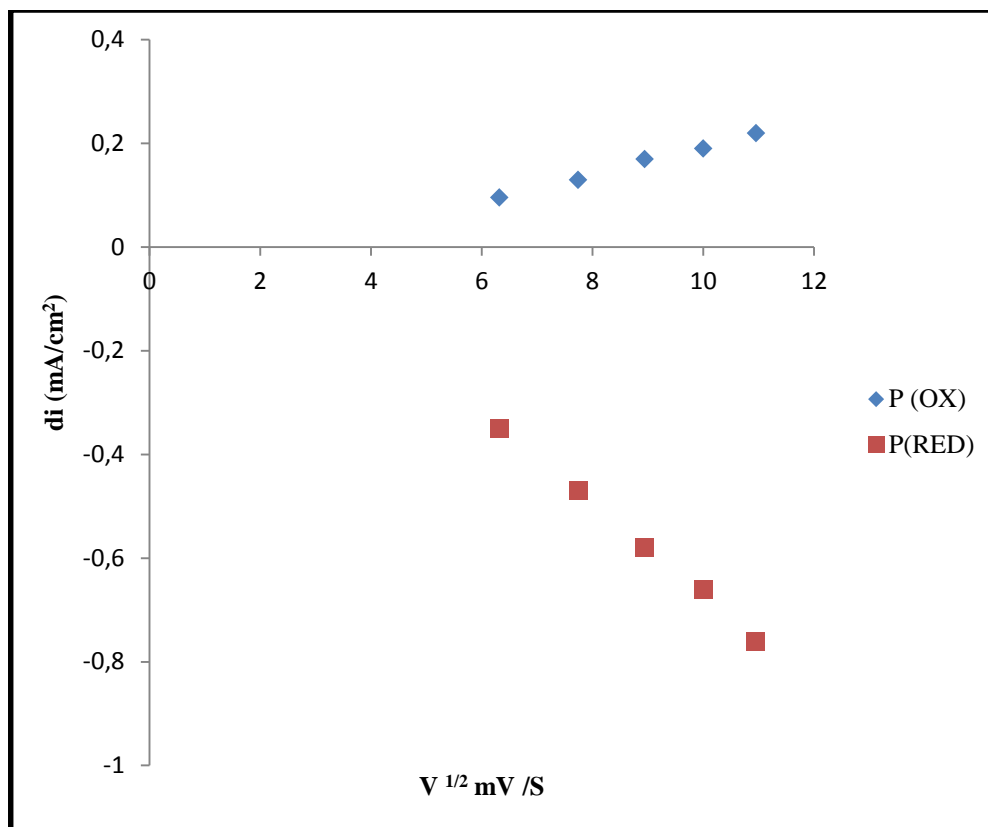


Figure 154: Influence de la racine de la vitesse de balayage sur l'intensité des pics d'oxydoréduction du phénol obtenus par VC à la surface de CPE-Ar-bactérie.

II.5. Effet de la concentration du phénol

La variation de l'intensité du pic anodique en fonction de la concentration du phénol a été suivie par voltamétrie cyclique (figure 155), par voltamétrie à onde carrée (figure 156) et par spectroscopie d'impédance (figure 157). Nous avons établi la courbe de calibration par addition progressive du phénol dans la solution électrolytique. Cette courbe est présentée sur la figure 158. L'équation de régression linéaire correspondant à la réduction est exprimée comme suit :

$$I_{pc} = -0,032[\text{phénol}] - 0,056 \quad R^2 = 0,955$$

La limite de détection est de $6,23 \times 10^{-9} \text{ mol l}^{-1}$ et la quantification limite est de $2,37 \times 10^{-8} \text{ mol l}^{-1}$ pour le pic de réduction.

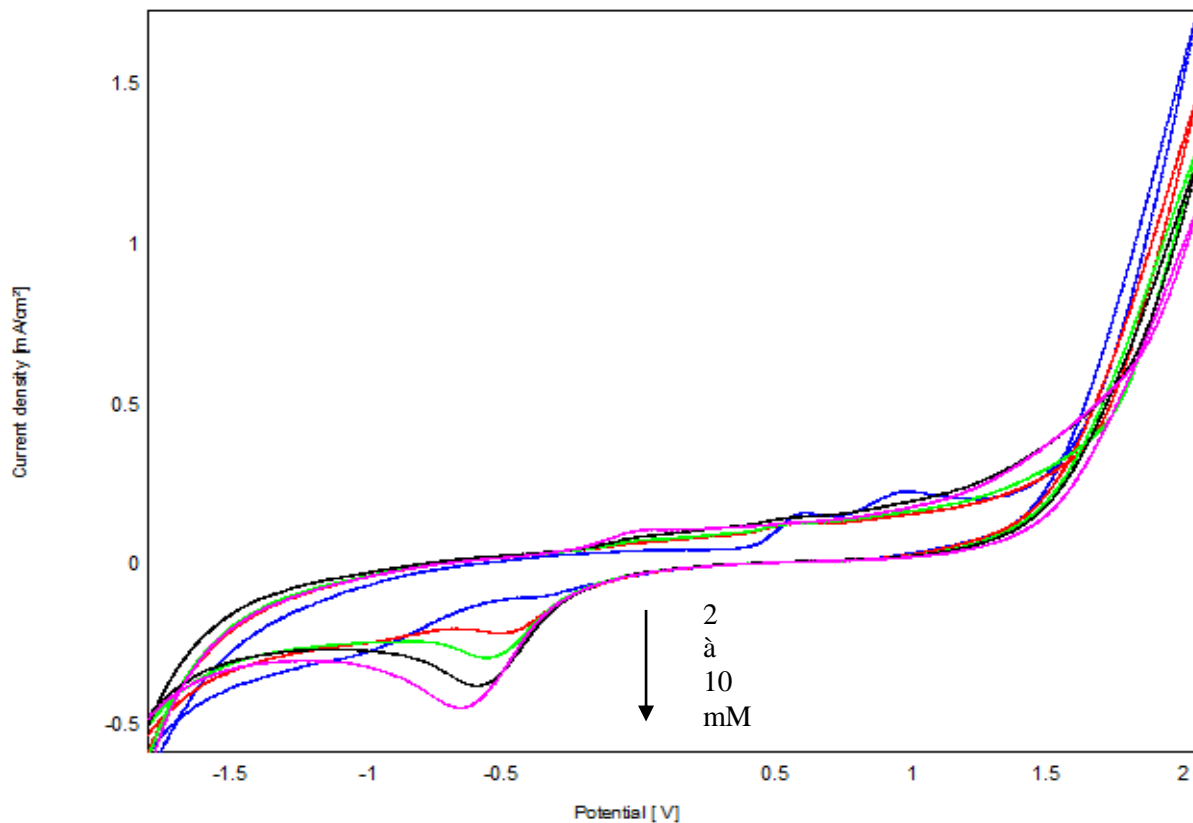


Figure 155 : Voltamogrammes cycliques à différentes concentrations de phénol (de 4 mM à 10 mM) dans 0,1 M de NaCl sur CPE-Ar-bactérie, $V = 100 \text{ mV/S}$.

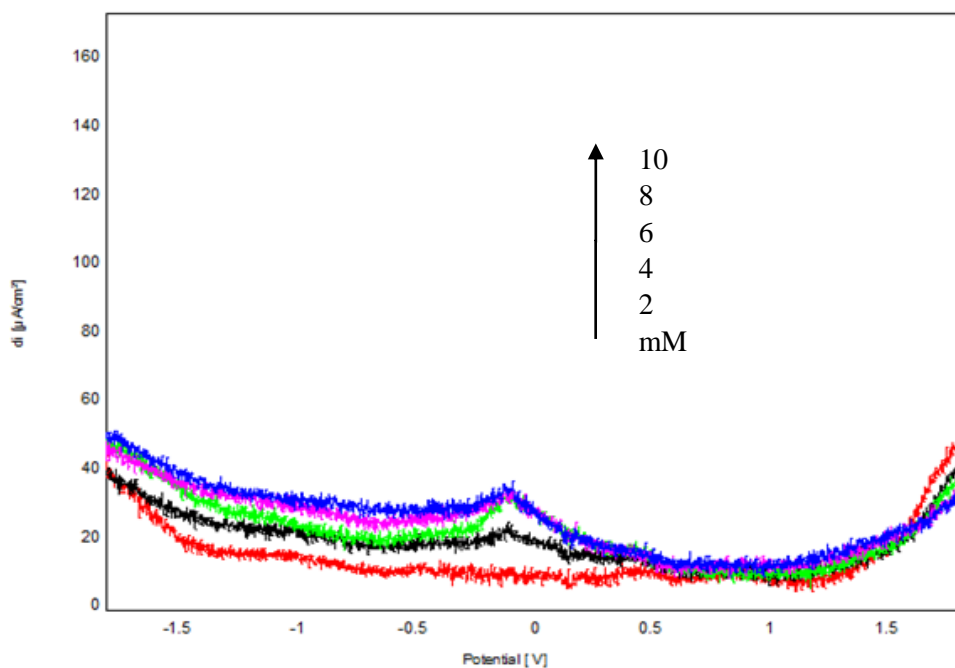


Figure 156 : Voltamogrammes à onde carrée à différentes concentrations de phénol (de 2 mM à 12 mM) dans 0,1 M de NaCl sur CPE-Ar-bactérie.

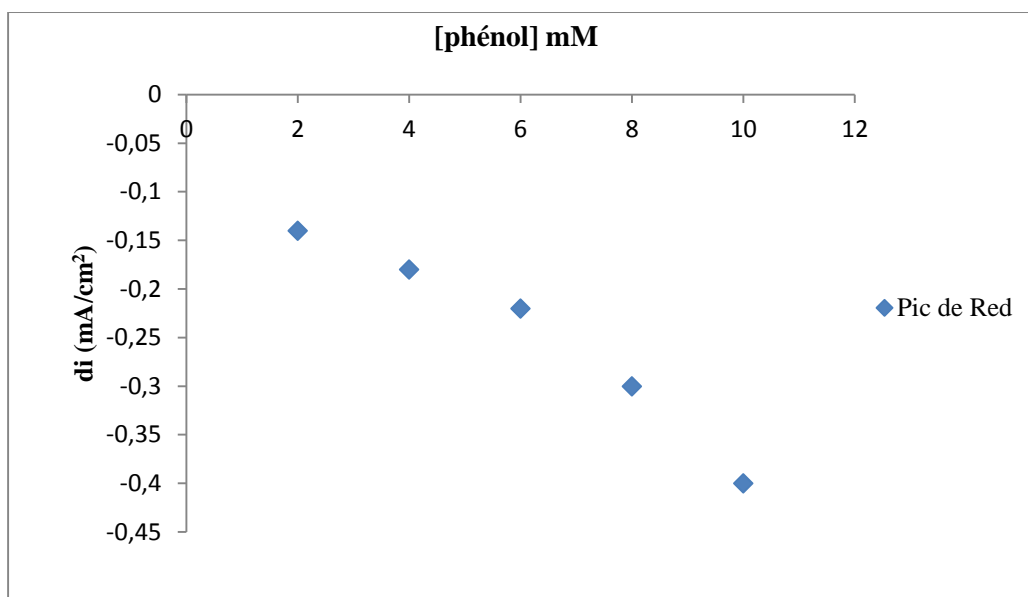


Figure 157: Influence de la concentration du phénol sur l'intensité de pic réduction obtenue par VC à la surface de CPE-Ar-bactérie.

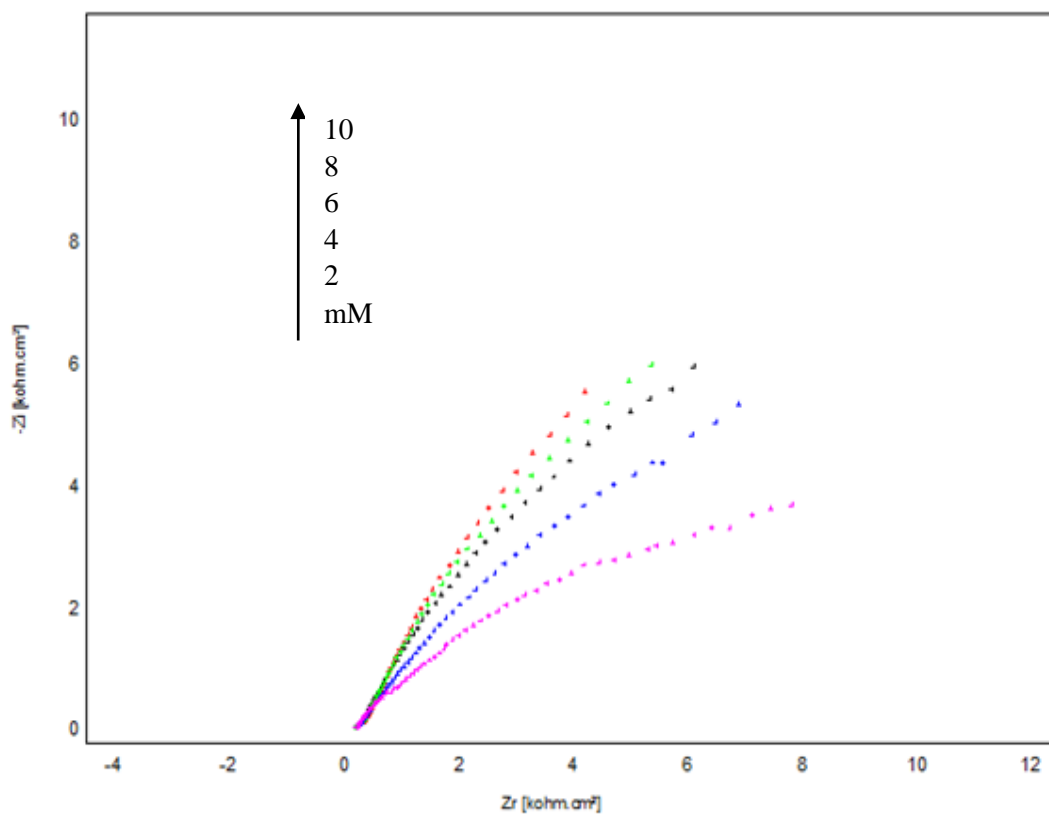


Figure 158 : Diagramme d'impédance à différentes concentrations de phénol (de 2 mM à 12 mM) dans 0,1 M de NaCl sur CPE-Ar-bactérie.

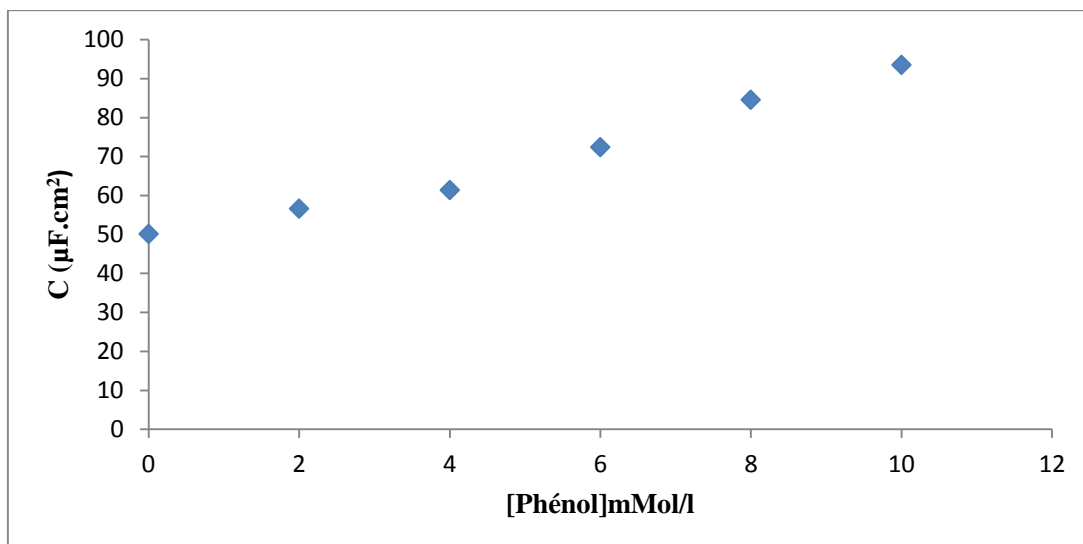


Figure 159 : Influence de la concentration du phénol sur la capacité de double couche obtenue par les diagrammes d'impédance

II.6. Evaluation de l'activité l'électrode modifiée bactérie-Ar-CPE pour l'oxydation du phénol

I.6.1. Etude voltamétrique

Les Figures 160 et 161 montrent que les pics d'oxydation correspondant à l'oxydation du phénol sont plus intenses en présence des bactéries. Les bactéries catalysent l'oxydation du phénol.

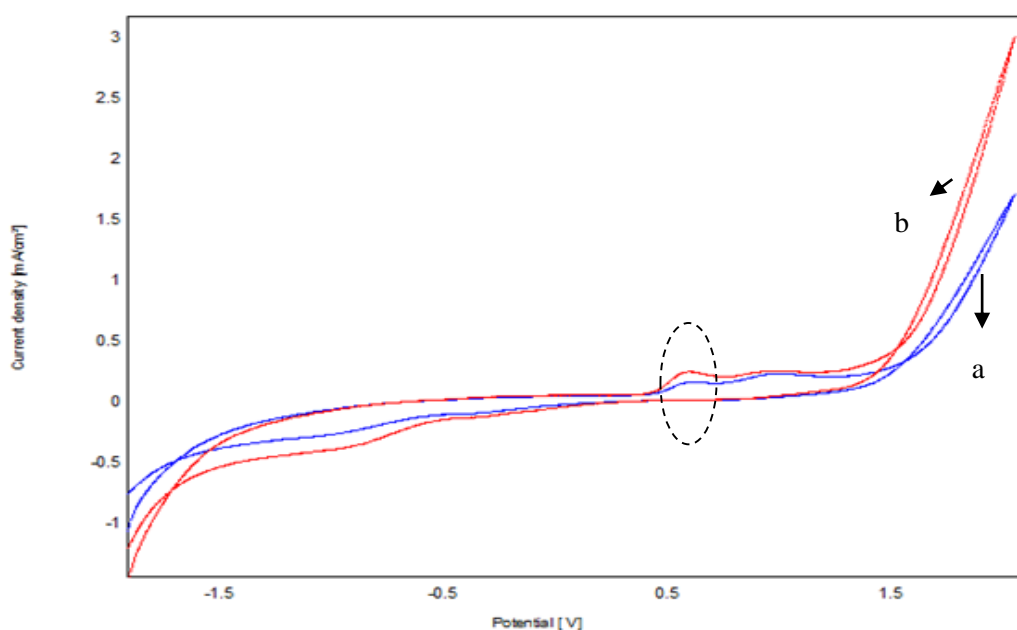


Figure 160 : Voltammogrammes cycliques obtenus par CPE-Ar (a) et CPE-Ar-bactérie (b) présence de 4 mM de phénol dans 0,1 M de NaCl avec une vitesse de balayage de 100 mV/S.

L'activité de la bactérie adhéree sur la surface d'électrode Ar-CPE calculée, pour l'oxydation du phénol dans une solution de l'eau de robinet est :

$$\alpha = (1 - (0.23/0.135)) \times 100$$
$$= 70.37\%$$

II.6.2. Caractérisation par spectroscopie d'impédance

Les diagrammes d'impédance enregistrés montrent qu'en présence du film bactérien la résistance de transfert d'électron prend une valeur légèrement inférieure. Ce résultat confirme le fait que, la biodégradation du phénol associé au traitement électrochimique permet l'augmentation de l'activité d'oxydation.

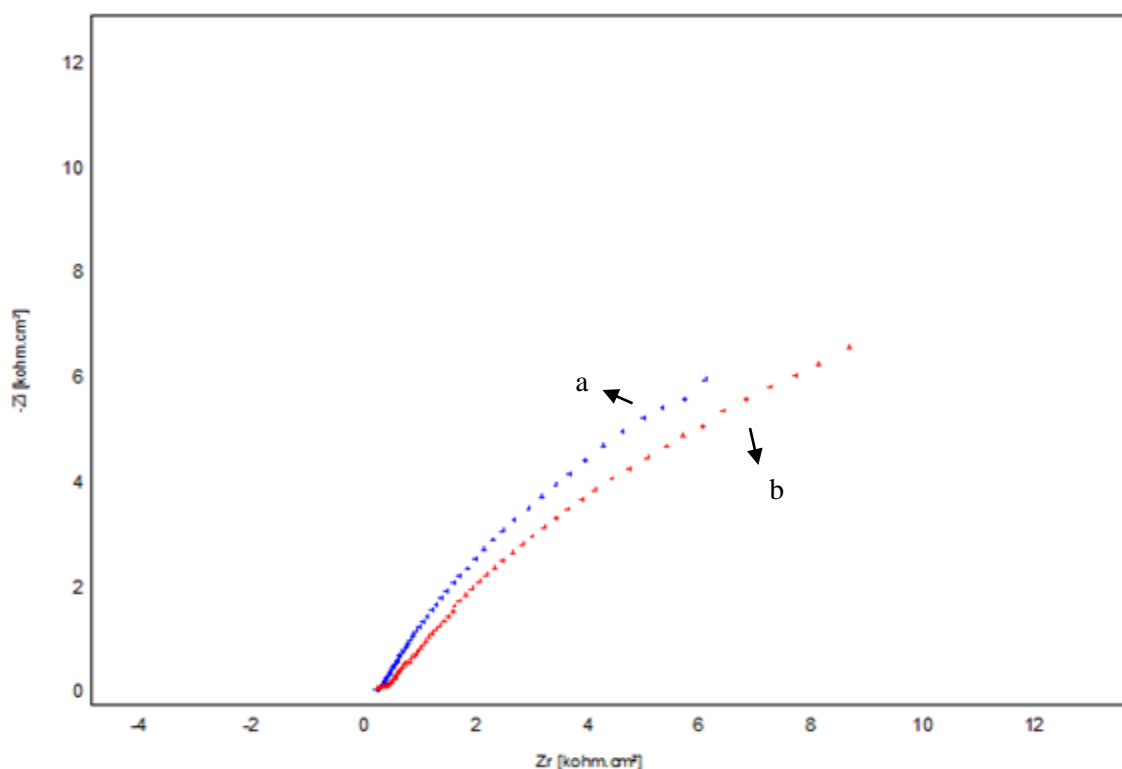


Figure 161 : Diagramme d'impédance obtenu par CPE-Ar (a) et CPE-Ar-bactérie (b) présence de 4 mM de phénol dans 0,1 M de NaCl.

Conclusion

Les électrodes élaborées, CPE-NP et CPE-Ar, modifiées par les bactéries (*staphylocoques aureus*) ont montré une grande sensibilité à la détection du phénol dans l'eau de robinet.

Le biocapteur CPE-Ar a présenté la meilleure efficacité pour la détection du phénol dans l'eau de robinet, de l'ordre de 70.37%, alors que l'électrode CPE-NP n'a pas dépassé 61.11%. L'optimisation des conditions expérimentales a donné les valeurs suivantes des limites de détection (LD) et de quantification (QL) suivantes :

- $DL = 8.11.10^{-9}$ mol/L pour CPE-NP/bactéries et $DL = 6.23.10^{-9}$ mol l⁻¹ pour l'électrode CPE-Ar/bactérie,
- $QL = 2.7.10^{-8}$ mol/L pour CPE-NP/bactéries et $QL = 2.37.10^{-8}$ mol l⁻¹ pour CPE-Ar/bactérie.

Nous avons noté que la présence d'autres espèces dans la solution à analyser est un facteur qui peut influencer les résultats analytiques. Cette méthode est très simple et facile à mettre en œuvre. Elle est peu coûteuse comparée à d'autres méthodes et applicable sur le terrain.

Références

[1] Koffi, O. F. A. B., Bile, B. E. A., Najih, R., & Chtaini, A. (2016). Electrochemical Biosensor based on Clay for the Immediate Detection of the Bacteria.

Conclusion générale

De nombreux domaines liés aux activités humaines et à l'environnement nécessitent de développer de nouvelles technologies de détection ultra-sensible et rapide des polluants. Le biocapteur est devenu aujourd'hui très intéressant du fait de ses nombreuses applications dans divers domaines.

Le travail présenté dans ce manuscrit est une contribution à la recherche sur la mise au point de bioélectrodes. Parmi les différents types de bioélectrodes existantes, notre choix s'est porté sur les bioélectrodes bactériennes. Une bioélectrode nécessite très souvent la mise en œuvre d'un médiateur redox pour faciliter le transfert électronique entre le site actif du catalyseur (*bactérie*) et l'électrode. De plus, l'immobilisation de bactéries sur des électrodes permet d'augmenter sa sensibilité.

A l'examen de ces données, nous avons élaboré et étudié de nouvelles électrodes modifiées il s'agit :

- Electrode de pâte de carbone modifié par phosphate naturel et par les bactéries ;
- Electrode de pâte de carbone modifié par l'argile modifiée par les bactéries ;
- Electrode de pâte de carbone modifié par phosphate naturel et polymère –bactéries ;
- Electrode de pâte de carbone modifié par argile et polymère –bactéries ;
- Electrode massique d'aluminium modifié par les bactéries et/ou polymère –bactérie.

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 analyser.

L'activité électrochimique de ces électrodes a été évaluée par voltamétrie cyclique, voltamétrie à onde carrée, spectroscopie d'impédance, et courbes de polarisation. La structure et la morphologie des surfaces d'électrodes élaborées ont été examinées par Rayon X et microscope à force atomique et microscopie optique.

Dans ce travail, nous nous sommes intéressés à l'étude de l'oxydation des composés phénoliques, telle que le phénol. Cette étude a été réalisée par le dosage bioélectrochimique à la surface d'électrode à pâte de carbone. La bactérie utilisée dans ce travail a prouvé une grande efficacité comme catalyseur pour étudier le comportement électrochimique des composés organiques étudiés à la surface d'électrode à pâte du carbone.

Les conditions expérimentales optimisées ont été décrites par la variation de temps de préconcentration, la constitution de la pâte de carbone, la nature de la solution de préconcentration. L'intensité du pic correspondant à l'électroactivité de l'élément analysé augmente avec la durée d'accumulation jusqu'à atteindre une limite à partir de laquelle le profil du pic change. Il devient plus large et l'intensité de son maximum reste constante. De même, pour un temps de préconcentration, inférieur à celui nécessaire pour atteindre l'équilibre, 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.

Le test de biocapteurs CPE-NP /bactérie et CPE-Ar / bactérie sur des aliments, tels que, l'eau de robinet a montré que la sensibilité de ces électrodes modifiées. Les résultats obtenus nous informent sur la cinétique d'adsorption du phénol, et démontrent que ces biocapteurs d'électrode sont particulièrement capables de détecter des traces du phénol sur la surface de l'électrode dans une solution complexe.

Au terme de ce travail, nous proposons une équation mathématique qui permet le calcul de l'activité de bactérie immobilisé sur la surface d'électrode pour la biodégradation du phénol. De ce fait, la bactérie adhéree sur la surface d'électrode CPE-Ar plus active pour la détection du phénol que l'électrode de CPE-NP.

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