



UNIVERSITE SULTAN MOULAY SLIMANE  
FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES



DEPARTEMENT DE CHIMIE ET  
ENVIRONNEMENT

---

# THESE

*En vue de l'obtention du : DOCTORAT NATIONAL*

*Structure de Recherche : Equipe d'Electrochimie Moléculaire et des  
Matériaux Inorganiques (EMMI)*

*Discipline : Chimie-Physique*

*Spécialité : Electrochimie analytique*

Par

**Charaf LAGHLIMI**

*sous la direction du Pr. Abdelilah CHTAINI*

*Titre : Nouveaux capteurs électrochimiques pour la détection de l'ammonium  
et les métaux lourds dans le milieu physiologique.*

---

*Soutenue le Mardi 10 décembre 2019*

## **JURY**

- **Monsieur Abderrafia HAFID**, Professeur à la Faculté des Sciences et Techniques, Béni Mellal, **Président**
- **Madame Amina IBNLFASSI**, Professeur à la Faculté des Sciences et Techniques, Settati, **Rapporteur**
- **Monsieur Abdessamad TOUNSI**, Professeur à la Faculté polydisciplinaire, Béni Mellal, **Rapporteur**
- **Monsieur El Madani SAAD**, Professeur à l'Institut Supérieur des Sciences de la santé, Settati, **Rapporteur**
- **Monsieur Salah Eddine EL QOUATLI**, Professeur à la Faculté des Sciences et Techniques, Errachidia, **Invité**
- **Monsieur Abdelilah CHTAINI**, Professeur à la Faculté des Sciences et Techniques, Béni Mellal, **Encadrant**

*Année Universitaire : 2019/ 2020*

## *Dédicace*

*Je dédie ce travail à :*

*A mon feu père Taher et à ma feu grand-mère Milouda*

*A ma mère Fatna, qui est le père, la sœur et la fortune, que*

*Dieu m'a donné*

*Pour sa patience, soutien et encouragement.*

*Puisse Dieu lui accorder une bonne santé et une longue vie*

*A mes frères et mes sœurs :*

*Mohamed, Fatima, Rachid, Sanae, Nawal, Dounia, Anass,*

*Samir, Ghizlane et Toria.*

*A mon neveu Amir qui a illuminé nos vies*

*A mes oncles et tantes*

*A ma famille*

*A tous mes amis*

# Remerciement

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

Avant toute chose, je remercie Dieu, le tout puissant, pour m'avoir donnée la force et la patience.

Je tiens à remercier **le Professeur Abdelilah Chtaini**, d'avoir m'accorder la faveur de passer ce stage au sein de Laboratoire d'Electrochimie Moléculaire et des Matériaux Inorganiques et qui s'est toujours montré très disponible et à l'écoute tout au long de la réalisation de ce mémoire, ainsi que pour l'inspiration et l'aide et le temps qu'il a bien voulu me consacrer et sans qui ce mémoire n'aurait jamais vu le jour.

Je tiens à remercier aussi **le Professeur Mr A. HAFID**, sur les informations, la théorie de Pearson m'a beaucoup aidé.

Mes remerciements s'adressent également à mes amis pour le temps et l'effort énorme qui m'ont donnés pour élaborer ce rapport.

Ce travail n'a pas pu être réalisé sans l'aide précieux de **l'équipe jeune** des étudiants chercheurs de doctorats je leurs dois un remerciement spécial, car ils m'ont traité, pas comme un stagiaire mais, comme un membre de l'équipe. Je remercie les enseignants chercheurs membres de jury pour leur disponibilité ainsi que pour le temps offert pour examiner ce travail.

Je remercie également tous ceux qui ont contribué d'une façon ou d'une autre dans l'élaboration de ce rapport.

## Résumé

La toxicité des métaux lourds exige une méthode d'analyse précise et peu coûteuse pour contrôler la qualité de l'eau potable et les produits alimentaires. À cet effet, nous avons confectionné deux électrodes modifiées respectivement à l'aide de l'éthylène diamine tétra-acétique di-sodium (EDTA) et la benzimidazole-2-thiol (BIT) destinées pour la quantification des métaux lourds dans l'eau potable et l'urine humaine.

Les mécanismes de complexation des métaux lourds à la surface des électrodes préparées sont proposés en utilisant de la microscopie électronique à balayage (MEB), la spectroscopie à rayons X à dispersion d'énergie (EDX), la voltamétrie à onde carrée (SWV), la voltamétrie cyclique (VC) et la spectroscopie d'impédance électrochimique (EIS).

$Pb^{2+}$  peut réaliser un ligand hexadentate avec les six sites basiques de l'EDTA. Une liaison de coordination entre l'ion métallique  $Pb^{2+}$  et la fonction thiol (SH) de BIT est possible. Aussi, le  $Pb^{2+}$  peut faire une liaison avec l'azote numéro trois de BIT.

La détermination électrochimique des métaux lourds et l'ammonium a été examinée en variant différents paramètres tels que le pH, le temps de préconcentration, le pourcentage de la molécule utilisée pour la modification de l'électrode et la vitesse de balayage. L'oxydation de  $Pb^{2+}$  est observée à -0.6 V. La limite de détection et la limite de quantification de  $Pb^{2+}$  dans l'eau de robinet de notre laboratoire (à la Faculté des Sciences et Techniques de Béni Mellal) par l'électrode à pâte de carbone modifiée par 10% EDTA (CPE-10 % EDTA) sont respectivement  $3.45 \cdot 10^{-7}$  mol / L et  $1.15 \times 10^{-6}$  mol / L avec un taux de récupération entre 76 % et 114 %. La limite de détection de  $NH_4^+$  dans l'urine par la CPE-10 % EDTA est de  $1.02 \cdot 10^{-9}$  mol / L. La voltamétrie cyclique est validée pour l'analyse de  $Pb^{2+}$  par la CPE-1 % EDTA avec un taux de recouvrement égale à presque 100 %.

La CPE-10 % BIT est utilisée pour déterminer la capacité de l'extrait aqueux des feuilles de Capparis spinosa (EAFCS). L'étude a montré que l'EAFCS est très efficace pour complexer et éliminer le  $Pb^{2+}$  de l'eau contaminée. Nous avons constaté que seulement 0.97 g de l'extrait sec est capable d'éliminer 0.837 mM / L de  $Pb^{2+}$ .

**Mots clés :** Métaux lourds, Ammonium, Ethylène diamine tétra-acétique di-sodium, Benzimidazole-2-thiol, Voltamétrie cyclique, Validation, Microscopie électronique à balayage, Spectroscopie à rayons X à dispersion d'énergie, Capparis spinosa.

## Abstract

The toxicity of heavy metals requires a precise and inexpensive method of analysis to control the quality of drinking water and food products. For this purpose, we have made two electrodes modified by Di-sodium ethylenediamine tetra-acetic acid (EDTA) and benzimidazole-2-thiol (BIT) respectively for the quantification of heavy metals in drinking water and human urine.

The complexing mechanisms of heavy metals on the surface of the prepared electrodes are proposed using scanning electron microscopy (MEB), energy dispersive X-ray spectroscopy (EDX), square wave voltammetry (SWV), cyclic voltammetry (CV) and electrochemical impedance spectroscopy (EIS).

$Pb^{2+}$  can make a hexadentate ligand with the six basic sites of EDTA. A coordination bond between the  $Pb^{2+}$  metal ion and the thiol (SH) function of BIT is possible. Also,  $Pb^{2+}$  can make a binding with BIT nitrogen number three.

The electrochemical determination of heavy metals and ammonium was examined by varying different parameters such as the pH, the preconcentration time, the percentage of the molecule used for the modification of the electrode and the scan rate. The oxidation of  $Pb^{2+}$  is observed at -0.6 V. The limit of detection and the limit of quantification of  $Pb^{2+}$  in drinking water of our laboratory (at the Faculty of Sciences and Techniques of Beni Mellal) by the carbon paste electrode modified by 10% EDTA by the carbon paste electrode modified by 10% EDTA (CPE-10 % EDTA) are respectively  $3.45 \cdot 10^{-7}$  mol / L and  $1.15 \cdot 10^{-6}$  mol / L with a recovery rate between 76 % and 114 %. The limit of detection of  $NH_4^+$  in urine by CPE-10 % EDTA is  $1.02 \cdot 10^{-9}$  mol / L. The cyclic voltammetry is validated for the analysis of  $Pb^{2+}$  by CPE-1 % EDTA with a recovery rate equal to almost 100 %.

CPE-10% BIT is used to determine the capacity of the aqueous extract of Capparis spinosa leaves (EALCS). The study showed that EALCS is very effective at complexing and removing  $Pb^{2+}$  from contaminated water. We found that only 0.97 g of the dry extract is able to eliminate 0.837 mM / L of  $Pb^{2+}$ .

**Key words:** Heavy metals, Ammonium, Ethylene diamine tetra-acetic di-sodium, Benzimidazole-2-thiol, Cyclic voltammetry, Validation, Scanning electron microscopy, Energy dispersive X-ray spectroscopy, Capparis spinosa.

## Sommaire

<b>Introduction générale</b> .....	<b>1</b>
<b>Partie I : étude bibliographique</b> .....	<b>3</b>
I. Métaux lourds .....	<b>4</b>
1. Introduction .....	4
2. Propriétés chimiques des métaux lourds .....	6
3. Méthodes utilisées pour la détection des métaux lourds .....	14
4. Avantages et les inconvénients des méthodes physiques .....	17
5. Biocapteurs enzymatiques et non enzymatiques .....	17
6. Biocapteurs entiers à base de Cellule .....	22
7. Biocapteurs à base d'ADN .....	24
8. Biocapteur d'aptamère .....	25
II. Complexation des métaux .....	<b>27</b>
1. Postulats d'Alfred Werner .....	27
2. Définition du complexe .....	28
3. Types de complexes .....	29
4. Ligands .....	30
5. Concept de dureté/mollesse (La théorie HSAB) .....	30
6. Hyperammoniémie .....	32
6.1. Introduction .....	32
6.2. Métabolisme et effets métaboliques d'ammoniac .....	33
6.3. Cycle de l'urée .....	33
6.4. Relation entre l'ammoniac ( $\text{NH}_3$ ) et l'ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ) .....	34
6.5. Méthodes de détection de l'ammoniac et l'ammonium .....	35
7. Polyphénols .....	38
7.1. Introduction .....	38
7.2. Classification des polyphénols .....	38
7.3. Dégradation des polyphénols .....	40
<b>Références</b> .....	<b>41</b>
<b>Partie II : Partie expérimentale</b> .....	<b>49</b>
<b>Chapitre I : Matériels et Méthodes</b> .....	<b>50</b>
I. Généralités sur les électrodes modifiées .....	<b>50</b>
1. Introduction .....	50
2. Modification directe : les électrodes à pâte de carbone .....	51
2.1. Electrodes à pâte de carbone à liant non conducteur .....	51
2.2. Electrode à pâte de carbone à liant conducteur .....	52
3. Modification de la surface des électrodes solides .....	52
3.1. Modification covalente .....	52
3.2. Modification par adsorption .....	54
II. Méthodes d'analyse .....	<b>55</b>
1. Voltamétrie .....	55
1.1. Unités de base d'un analyseur voltamétrique .....	55
1.2. Principe de fonctionnement .....	57
1.3. Techniques voltamétriques .....	59
2. Microscopie électronique à balayage (MEB) .....	66
3. Microanalyse par Energie Dispersive de rayons X (EDX) .....	67
III. Molécules organiques utilisées pour la complexation .....	<b>67</b>

1. Ethylène diamine tétra-acétique di-sodium .....	67
2. Benzimidazole-2-thiol .....	68
IV. Réactifs et produits chimiques .....	68
V. Appareillage .....	68
VI. Préparation de l'électrode à pâte de carbone non modifiée (CPE) .....	69
VII. Préparation de l'électrode à pâte de carbone modifiée (CPE) .....	70
VIII. Caractérisation électrochimique des électrodes modifiées .....	70
IX. Extraction des polyphénols de Capparis spinosa .....	71
1. Préparation de l'extrait aqueux .....	71
2. Préparation de l'extrait sec .....	71
<b>Références</b> .....	72

**Chapitre II : Analyse d'échantillons d'eau de robinet de notre laboratoire contenant le plomb, le cuivre et le cobalt par l'électrode à pâte de carbone modifiée par l'éthylène diamine tétra-acétique di-sodium .....**

<b>I. Introduction</b> .....	<b>74</b>
<b>II. Procédure</b> .....	<b>75</b>
<b>III. Résultats et discussion</b> .....	<b>75</b>
1. Caractérisation électrochimique de l'électrode modifiée par l'EDTA .....	75
2. Comportement voltamétrique de Pb <sup>2+</sup> dans CPE-10% EDTA .....	76
3. Etude de la microstructure de l'électrode modifiée par l'EDTA .....	78
4. Standardisation des paramètres .....	81
5. Analyse de plomb dans l'eau potable .....	88
<b>IV. Conclusion</b> .....	<b>91</b>
<b>Références</b> .....	<b>92</b>

**Chapitre III : Etude électrochimique de la chélation des métaux lourds par l'électrode à pâte de carbone modifiée par le benzimidazole-2-thiol .....**

<b>I. Introduction</b> .....	<b>94</b>
<b>II. Procédure</b> .....	<b>94</b>
<b>III. Résultats et discussion</b> .....	<b>95</b>
1. Détection de plomb .....	96
2. Optimisation des conditions expérimentales .....	97
<b>IV. Conclusion</b> .....	<b>104</b>
<b>Références</b> .....	<b>105</b>

**Chapitre IV : Investigation voltamétrique de l'effet complexant de Capparis spinosa sur les métaux lourds : Application dans le traitement de l'eau .....**

<b>I. Introduction</b> .....	<b>106</b>
<b>II. Résultats et discussion</b> .....	<b>107</b>
1. Procédure de mesure voltamétrique .....	107
2. Identification électrochimique du plomb .....	109
3. Etude morphologique de la surface de l'électrode .....	110
4. Conditions environnementales et de répartition géographique de Capparis spinosa .....	113
5. Composition chimique de capparispinosa .....	114
<b>III. Conclusion</b> .....	<b>121</b>
<b>Références</b> .....	<b>122</b>

**Chapitre V: Détermination de l'ammonium dans l'urine par l'électrode à pâte de carbone modifiée par l'EDTA .....**

**125**

I. Introduction .....	<b>125</b>
II. Résultats et discussion .....	<b>125</b>
1. Optimisation des conditions expérimentales .....	127
2. Identification électrochimique de $\text{NH}_4^+$ et l'EDTA par la CPE non modifiée .....	130
3. Temps de contact entre $\text{NH}_4^+$ et l'EDTA .....	131
4. Application : détermination de l'ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ) dans l'urine par CPE-10%EDTA .....	133
5. Comparaison de la performance de l'électrode élaborée avec d'autres méthodes d'analyse de l'ammonium .....	136
III. Conclusion .....	<b>137</b>
<b>Références</b> .....	<b>138</b>

**Chapitre VI: Validation d'une méthode électrochimique destinée pour l'analyse et la quantification de plomb, cadmium, cobalt et le mercure .....** **139**

I. Introduction .....	<b>139</b>
II. Procédure .....	<b>139</b>
III. Résultats et discussion.....	<b>140</b>
1. Optimisation des paramètres de détection .....	140
2. Validation de la méthode analytique .....	141
2.1. Calcul de limite de détection et limite de quantification .....	141
2.2. Fidélité .....	144
2.3. Calcul de l'exactitude et des erreurs .....	147
2.4. Test de $\chi^2$ .....	148
3. Interférence .....	149
4. Application: l'eau de robinet .....	153
IV. Conclusion.....	<b>154</b>
<b>Références</b> .....	<b>155</b>
<b>Conclusion générale et perspectives</b> .....	<b>156</b>



## Liste des figures

<b>Fig. 1.</b> Exemples de biocapteur à base d'apoenzymes: (A) l'apotyrosianse est activé par les ions cuivre; (B) L'anhydrase apocarbonique est activée par les ions zinc.....	<b>20</b>
<b>Fig. 2.</b> Principe de biocapteur basé sur l'inhibition de l'holoenzyme montrant l'inhibition de l'uréase par les ions $Hg^{2+}$ .....	<b>21</b>
<b>Fig. 3.</b> Représentation schématique de la construction de biosenseurs à base d'anticorps monoclonaux (immunosenseurs) .....	<b>24</b>
<b>Fig. 4.</b> Biocapteur à base de cellules entières. (A) en absence de $Cd^{2+}$ , l'uréase augmente la production de l'ammoniac. (B) en présence de $Cd^{2+}$ , l'uréase se désactive ce qui diminue la production de produit moins l'ammoniac ( $Cd^{2+}$ se fixe à l'uréase à l'intérieur de la cellule	<b>24</b>
<b>Fig. 5.</b> Biocapteur à base des cellules entières génétiquement modifié .....	<b>25</b>
<b>Fig. 6.</b> Structure des nucléotides d'ADN .....	<b>25</b>
<b>Fig. 7.</b> Biocapteur à base d'ADNzyme pour la détection de $Pb^{2+}$ . (A) brin substrat attaché à un fluorophore, brin enzymatique attaché à un extincteur; (B) clivage du brin substrat au site de clivage du ribonucléotide par le brin enzymatique en présence de $Pb^{2+}$ entraînant une amélioration de la fluorescence grâce à l'absence du fluorophore ; (C) diminution de la fluorescence due à l'absence de clivage en absence de $Pb^{2+}$ .....	<b>26</b>
<b>Fig. 8.</b> Représentation schématique de la construction d'un aptamère. (A) Séquences oligonucléotidiques d'ADN de la banque d'ADN. (B) Incubation avec une séquence cible. (C) séquences non liées (D) séquences liées avec une cible particulière. (E) Amplification des séquences liées sélectionnées en utilisant la PCR .....	<b>26</b>
<b>Fig. 9.</b> Structure du complexe Hexammincobalt(III) chloride .....	<b>28</b>
<b>Fig. 10.</b> Exemples d'arrangements octaédriques : ion-dipôle et ion-ion.....	<b>29</b>
<b>Fig. 11.</b> Quelques types de complexe .....	<b>29</b>
<b>Fig. 12.</b> Structure des agrégats .....	<b>30</b>
<b>Fig. 13.</b> Différents types de ligands adoptés par le nitrate .....	<b>31</b>
<b>Fig. 14.</b> Cycle de l'urée .....	<b>34</b>
<b>Fig. 15.</b> Mécanisme de formation d'indophénol .....	<b>36</b>
<b>Fig. 16.</b> Structure de l'acide 5-caféoylquinique (acide chlorogénique) .....	<b>40</b>
<b>Fig. 17.</b> Structure de base des flavonoïdes .....	<b>40</b>
<b>Fig. 18.</b> Structure des lignanes .....	<b>40</b>
<b>Fig. 1.</b> Principe de greffage par oxydation électrochimique d'une amine aliphatique .....	<b>53</b>
<b>Fig. 2.</b> Processus de modification de la surface du carbone par réduction électrochimique d'un sel de phényle diazonium substitué .....	<b>54</b>
<b>Fig. 3.</b> Représentation schématique du circuit électronique d'un potentiostat .....	<b>57</b>

<b>Fig. 4.</b> Allure générale d'une courbe voltammogramme cyclique et ces grandeurs caractéristiques .....	<b>60</b>
<b>Fig. 5.</b> Evolution du potentiel en fonction du temps en voltamétrie cyclique .....	<b>60</b>
<b>Fig. 6.</b> Voltammogramme cyclique enregistré pour un couple redox en solution .....	<b>62</b>
<b>Fig. 7.</b> Séquence de balayage de potentiel utilisée en SWV (a) et exemple de courbe courant-potentiel obtenue (b) .....	<b>63</b>
<b>Fig. 8.</b> Principe de la mesure d'impédance d'un système électrochimique : une tension et un courant dépendant du temps. Ces deux fonctions peuvent être exprimées en fonction d'une pulsation $\omega$ . $\phi$ représente le déphasage entre la tension et le courant .....	<b>64</b>
<b>Fig. 9.</b> Exemples de diagrammes de (A) Nyquist et (B) Bode .....	<b>65</b>
<b>Fig. 10.</b> Représentation de la variation de l'impédance d'un système électrochimique en fonction de la pulsation $\omega$ . Cas idéal où les pulsations $\omega_c$ , $\omega_a$ , $\omega_d$ sont Suffisamment différentes les unes des autres .....	<b>66</b>
<b>Fig. 11.</b> Structure de l'EDTA .....	<b>68</b>
<b>Fig. 12.</b> Structure du benzimidazole-2-thiol .....	<b>68</b>
<b>Fig. 13.</b> Unités de base d'un analyseur voltamétrique .....	<b>69</b>
<b>Fig. 14.</b> Etapes de préparation de l'électrode de carbone graphite non modifiée .....	<b>69</b>
<b>Fig. 15.</b> Procédure de préparation de l'électrode modifiée (CPE-MO). MO= Molécule organique.....	<b>70</b>
<b>Fig. 1.</b> Voltammogrammes cycliques en solution contenant 0.1 M NaCl à 100 mV / s et pH = 7 pour l'électrode à pâte de carbone nue (CPE) –a– et l'électrode à pâte de carbone modifiée par l'EDTA (EDTA = 10 %) –b– .....	<b>76</b>
<b>Fig. 2.</b> Voltammogrammes à ondes carrées en solution contenant 0.1 M NaCl à 20 mV / s et pH = 7 pour l'électrode à pâte de carbone nue (CPE) –a – et l'électrode à pâte de carbone modifiée par l'EDTA (EDTA = 10 %) –b – .....	<b>76</b>
<b>Fig. 3.</b> Voltammogrammes à ondes carrées de CPE-EDTA dans 0.1 M NaCl à 20 mV / s, pH = 7 et 10 % (w/w) de rapport EDTA /CP (a) avant et (b) après 10 min de préconcentration dans $9.10^{-4}$ mol/l de $Pb^{2+}$ .....	<b>77</b>
<b>Fig. 4.</b> Voltammogrammes cycliques de CPE-EDTA dans 0.1 M NaCl à 100 mV / s, pH = 7 et 10 % (w/w) de rapport EDTA /CP (a) avant et (b) après 10 min de préconcentration dans $9.10^{-4}$ mol / L de $Pb^{2+}$ .....	<b>78</b>
<b>Fig. 5.</b> Structure proposée pour le complexe $Pb^{2+}$ - EDTA en solution aqueuse .....	<b>78</b>
<b>Fig.6.</b> Mécanisme réactionnel proposé à la surface de l'électrode modifiée .....	<b>79</b>
<b>Fig. 7.</b> Images en microscopie électronique à balayage de CPE (A <sub>1</sub> ) (x1100) et CPE-10 % EDTA (B <sub>2</sub> ) (x1100) .....	<b>80</b>

<b>Fig. 8.</b> Spectres EDX d'analyse élémentaire à la surface de CPE (A <sub>2</sub> ) et CPE-10 % EDTA (B <sub>2</sub> ) .....	<b>80</b>
<b>Fig. 9.</b> Images en microscopie électronique à balayage après 10 min de préconcentration dans 9.10 <sup>-4</sup> mol/l de Pb <sup>2+</sup> de CPE (A <sub>3</sub> ) (x 2000) et CPE-10 % EDTA (B <sub>3</sub> ) (x 2200) .....	<b>81</b>
<b>Fig. 10.</b> Voltammogrammes à ondes carrées de CPE-EDTA dans 0.1 M NaCl à 20 mV / s, 0.9 mM de Pb <sup>2+</sup> , pH = 7 et 50 % (w/w) de rapport EDTA / CP à différents temps de préconcentration .....	<b>82</b>
<b>Fig. 11.</b> Effet de temps d'accumulation sur les courants de pic d'oxydation (P <sub>2</sub> ) de 0.9 mM Pb <sup>2+</sup> à CPE-EDTA, 0.1 M NaCl, scan rate 20 mV / s, pH= 7 .....	<b>82</b>
<b>Fig. 12.</b> Voltammogrammes cycliques enregistrés pour CPE-10 % EDTA avec 2.4 mM de Pb <sup>2+</sup> , dans 0.1 M de NaCl à différentes vitesses de balayage de 30 à 100 mV / s, pH = 7, temps de préconcentration = 10 min .....	<b>83</b>
<b>Fig. 13.</b> Effet de la vitesse de balayage sur les pics redox de CPE-10 % EDTA à 2.4 mM Pb <sup>2+</sup> , dans 0.1 M NaCl à différentes vitesses de balayage de 30 à 100 mV / s, pH = 7, temps de préconcentration = 10 min .....	<b>83</b>
<b>Fig. 14.</b> Effet de pH sur l'oxydation de Pb <sup>2+</sup> à CPE-EDTA, dans 0.1 M NaCl, 0.6 mM Pb <sup>2+</sup> , Vitesse de balayage 20 mV / s -+1500 mV. (a) SWV, (b) graphe de l'intensité de pic d'oxydation en fonction de pH du milieu .....	<b>84</b>
<b>Fig. 15.</b> Voltammogrammes à ondes carrées de CPE-EDTA à différentes teneurs en EDTA dans la pâte de carbone, 0.1 M NaCl, pH = 2, vitesse de balayage 20 mV / s, 1.2 mM Pb <sup>2+</sup> .	<b>84</b>
<b>Fig. 16.</b> Effet de quantité de l'EDTA dans le carbone graphite (%) en absence (a) et en présence de 1.2 mM Pb <sup>2+</sup> (b) .....	<b>85</b>
<b>Fig. 17.</b> Voltammogrammes à ondes carrées de CPE-10 % EDTA dans 0.1 M NaCl, T <sub>p</sub> = 10 min à différentes concentrations de Pb <sup>2+</sup> , vitesse de balayage 20 mV / s .....	<b>85</b>
<b>Fig. 18.</b> Effet de la concentration sur les pics redox de CPE-10 % EDTA dans 0.1 M NaCl, pH=7, T <sub>p</sub> =10mn, vitesse de balayage 20 mV / s .....	<b>86</b>
<b>Fig. 19.</b> Voltammogrammes à onde carrée enregistrés de CPE -10% EDTA en présence de: (a) 2.1 mM / L de Co <sup>2+</sup> , et (b) 1.51 Mm / L de Pb <sup>2+</sup> et (c) 2.14 mM / L de Cu <sup>2+</sup> en solution électrolytique contenant 0.1 M NaCl, pH = 7 et vitesse de balayage 20 mV / s .....	<b>87</b>
<b>Fig. 20.</b> Voltammogrammes à onde carrée enregistrés de CPE – 10 % EDTA: (a) en absence et (b) en présence de 2.14 mM / L Cu <sup>2+</sup> , 2.1 mM / L Co <sup>2+</sup> et 1.51 mM / L Pb <sup>2+</sup> en solution électrolytique contenant 0.1 M NaCl, pH = 7 et vitesse de balayage 20 mV / s .....	<b>88</b>
<b>Fig. 21.</b> (a) Voltammogrammes cycliques de CPE-EDTA 10 % dans 0.1 M NaCl, T <sub>p</sub> = 10 min pour différentes concentrations de Pb <sup>2+</sup> dans l'eau potable, vitesse de balayage 100 mV / s, pH =2; (b) graphe de l'intensité des pics d'oxydation en fonction de la concentration de Pb <sup>2+</sup> dans l'eau potable obtenu à partir de trois mesures pour chaque concentration .....	<b>89</b>

<b>Fig. 22.</b> (a) Voltammogrammes à onde carrée de CPE-EDTA 10 % dans 0.1 M NaCl, $T_p = 10$ min pour différentes concentrations de $Pb^{2+}$ dans l'eau potable, vitesse de balayage 100 mV/s, pH =2; (b) graphe de l'intensité des pics d'oxydation en fonction de la concentration de $Pb^{2+}$ dans l'eau de robinet obtenu à partir de trois mesures pour chaque concentration .....	<b>90</b>
<b>Fig. 23.</b> Corrélation entre les concentrations ajoutées et celles trouvées par la méthode : (a) SWV et (b) VC .....	<b>90</b>
<b>Fig. 1.</b> Voltammogrammes cycliques enregistrés pour : (a) électrode à pâte de carbone nue (CPE) (b) électrode à pâte de carbone modifiée par le benzimidazole-2-thiol (CPE-BIT), dans 0.1 M NaCl, vitesse de balayage 100 mV / s, 10 % du rapport CPE-BIT et pH=7 .....	<b>95</b>
<b>Fig. 2.</b> Spectroscopie d'impédance électrochimique (EIS) enregistrée pour : (a) électrode à pâte de carbone nue (CPE) (b) électrode à pâte de carbone modifiée par le benzimidazole-2-thiol (CPE-BIT), dans 0.1 M NaCl, vitesse de balayage 100 mV / s, 10 % du rapport CPE-BIT et pH=7 .....	<b>96</b>
<b>Fig. 3.</b> Voltammogrammes cycliques enregistrés pour la CPE-BIT : (a) en absence et (b) en présence de 0.6 mM de $Pb^{2+}$ dans 0.1 M NaCl à 100 mV / s, pH=7, $T_p = 1$ min avec 10 % du rapport CPE-BIT .....	<b>96</b>
<b>Fig. 4.</b> Voltammogrammes à ondes carrées enregistrés pour la CPE-BIT : (a) en absence et (b) en présence de 0.6 mM de $Pb^{2+}$ dans 0.1 M NaCl à 100 mV / s, pH=7, temps de préconcentration = 1min avec 10 % du CPE-BIT ratio .....	<b>97</b>
<b>Fig. 5.</b> Voltammogrammes à ondes carrées enregistrés pour le CPE-BIT avec 0.9 mM de $Pb^{2+}$ , dans 0.1 M NaCl à différents temps de préconcentration, vitesse de balayage 20 mV/s, pH = 7 et CPE-50 % BIT .....	<b>98</b>
<b>Fig. 6.</b> Diagrammes de Bode enregistrés pour le CPE-BIT avec 0.9 mM de $Pb^{2+}$ , dans NaCl 0.1 M à différents temps de préconcentration, pH = 7 et 50 % de BIT (CPE-50 % BIT) .....	<b>98</b>
<b>Fig. 7.</b> Voltammogrammes cycliques enregistrés pour le CPE-50 % BIT avec 2.1 mM de $Pb^{2+}$ , dans 0.1 M NaCl à différentes vitesses de balayage de 30 à 120 mV / s, pH= 7 et $t_p=1$ min .....	<b>99</b>
<b>Fig. 8.</b> Représentation graphique de la relation entre la vitesse de balayage et courants de pics redox .....	<b>99</b>
<b>Fig. 9.</b> Voltammogrammes cycliques enregistrés pour la CPE-BIT avec 0.6 mM de $Pb^{2+}$ , dans 0.1 M NaCl à différents pH, vitesse de balayage 100 mV / s, $t_p = 1$ min et 50 % de BIT (CPE-50 % BIT) .....	<b>100</b>
<b>Fig. 10.</b> Représentation graphique de la relation entre la vitesse de balayage et les courants de pics redox .....	<b>100</b>
<b>Fig. 11.</b> Voltammogrammes à ondes carrées enregistrés pour CPE-BIT avec 0.6 mM de $Pb^{2+}$ , dans 0.1 M NaCl à différents pH, vitesse de balayage 20 mV / s, $t_p= 1$ min et 50 % de BIT (CPE-50 % BIT) .....	<b>100</b>

<b>Fig. 12.</b> Représentation graphique de la relation entre la teneur en BIT dans la pâte de carbone graphite et le courant de pic d'oxydation en présence de 0.6 mM $Pb^{2+}$ dans 0.1 M NaCl, pH= 2, vitesse de balayage 100 mV / s et $t_p = 1$ min .....	<b>101</b>
<b>Fig. 13.</b> Voltammogrammes à ondes carrées enregistrés pour CPE à différents pourcentages de BIT dans la pâte de carbone : en absence (a) et en présence de 0.6 mM de $Pb^{2+}$ (b), dans 0.1 M NaCl, pH = 2, vitesse de balayage 20 mV / s, $t_p = 1$ min .....	<b>101</b>
<b>Fig. 14.</b> Voltammogrammes cycliques enregistrés pour CPE-BIT à différentes concentrations de $Pb^{2+}$ dans 0.1 M NaCl, pH= 7, vitesse de balayage 100mV/s, $t_p = 1$ min et 10 % de BIT (10 % BIT) .....	<b>102</b>
<b>Fig. 15.</b> Représentation graphique des pics redox à différentes concentrations de $Pb^{2+}$ .....	<b>102</b>
<b>Fig. 16.</b> Voltammogrammes à ondes carrées enregistrés pour CPE-BIT : en présence de 1.6 mM / L $Cd^{2+}$ (a) 1.5 mM / L $Pb^{2+}$ (b) et 1.8 mM / L $Hg^{2+}$ (c) et après addition de tous ces éléments dans une solution électrolytique (d) de 0.1 M NaCl, pH= 7, vitesse de balayage 20 mV / s et 10 % BIT (CPE-10 % BIT) .....	<b>103</b>
<b>Fig. 17.</b> Voltammogrammes cycliques enregistrés pour CPE- BIT en présence de 1.5mM/L $Pb^{2+}$ (a), 1.6 mM / L $Cd^{2+}$ (b) et 1.8m M / L $Hg^{2+}$ (c) et après addition de tous ces éléments dans une solution électrolytique (d) de 0.1 M NaCl, dans 0.1 M NaCl, pH= 7, vitesse de balayage 100 mV / s et 10 % du ratio CPE-BIT .....	<b>103</b>
<b>Fig. 1.</b> Voltammogrammes cycliques enregistrés pour : (a) l'électrode à pâte de carbone nue (CPE) et (b) l'électrode à pâte de carbone modifiée par le benzimidazole-2-thiol (CPE-BIT), dans 0.1 M NaCl, vitesse de balayage 100 mV / s, 10 % de BIT (CPE-10 % BIT) et pH=7 .....	<b>106</b>
<b>Fig. 2.</b> Voltammogrammes à ondes carrées enregistrés pour : (a) l'électrode à pâte de carbone nue (CPE) et (b) l'électrode à pâte de carbone modifiée par le benzimidazole-2-thiol (CPE-BIT), dans 0.1 M NaCl, vitesse de balayage 100 mV / s, 10 % de BIT (CPE-10 % BIT) et pH=7 .....	<b>108</b>
<b>Fig. 3.</b> EIS enregistrés pour : (a) l'électrode à pâte de carbone nue (CPE) et (b) l'électrode à pâte de carbone modifiée par le benzimidazole-2-thiol (CPE-BIT), dans 0.1 M NaCl, vitesse de balayage 100 mV / s, 10 % de BIT (CPE-10 % BIT) et pH=7 .....	<b>108</b>
<b>Fig. 4.</b> Voltammogrammes cycliques enregistrés pour le CPE-BIT : (a) en absence et (b) en présence de 0.6 mM de $Pb^{2+}$ dans 0.1 M NaCl à 100 mV/ s, pH=7, $t_p = 1$ min avec 10 % de BIT (CPE-10 % BIT) .....	<b>109</b>
<b>Fig. 5.</b> Voltammogrammes à ondes carrées enregistrés pour le CPE-BIT : (a) en absence et (b) en présence de 0.6 mM de $Pb^{2+}$ dans 0.1 M NaCl à 100 mV / s, pH=7, temps de préconcentration = 1 min avec 10 % de BIT (CPE-10 % BIT) .....	<b>110</b>
<b>Fig. 6.</b> Images par microscope électronique à balayage de CPE (A) (x1000) et CPE-10% BIT (B) (x1200) .....	<b>111</b>
<b>Fig. 7.</b> Structure chimique du BIT .....	<b>111</b>
<b>Fig. 8.</b> Structure et propriétés chimiques de l'imidazole .....	<b>111</b>
<b>Fig. 9.</b> Analyse élémentaire de la surface de la CPE et de la CPE-10 % BIT par l'EDX ....	<b>112</b>

<b>Fig. 10.</b> Images prises par la microscopie électronique à balayage après 1 min de préconcentration dans 0.9 mM Pb <sup>2+</sup> de CPE (A) (x 2000) et CPE-10% BIT (B) (x 2200) .	<b>112</b>
<b>Fig. 11.</b> Spectres EDX après une minute de préconcentration dans 0.9 mM Pb <sup>2+</sup> de CPE (A), CPE-10 % EDTA(C) et de CPE-10 % BIT (B) avant la préconcentration .....	<b>112</b>
<b>Fig. 12.</b> Représentation du mécanisme réactionnel à la surface de l'électrode modifiée en fonction des résultats obtenus par l'EDX, MEB et SWV .....	<b>113</b>
<b>Fig. 13.</b> Répartition naturelle des câpres d'après Inocenio et al .....	<b>114</b>
<b>Fig. 14.</b> Composés phénoliques identifiés dans l'infusion de Capparis spinosa avant la digestion in vitro (visualisés à 330 nm). Les pics : (1) Acide 5-caféoylquinique ; (2) 4-acide caféoylquinique ; (3) acide 5-p-coumaroylquinique ; (4) acide 4-feruloylquinique ; (5) rutine (pic principal) ; (6) quercétine-3-O-glucoside ; (7) kaempferol-3-O-rutinoside ; (8) isorhamnetine-3-O-rutinoside ; (9) kaempferol-3-O-glucoside .....	<b>115</b>
<b>Fig. 15.</b> Structures chimiques des flavonoïdes de Capparis spinosa .....	<b>116</b>
<b>Fig. 16.</b> Structures chimiques des alcaloïdes de Capparis spinosa .....	<b>116</b>
<b>Fig. 17.</b> Structures et HMBC (Heteronuclear Multiple Bond Correlation) de capparisine A (3), capparisine B (4), capparisine C (5) .....	<b>117</b>
<b>Fig. 18.</b> Voltammogrammes cycliques enregistrés pour CPE- BIT en présence de 1mM/ L Pb <sup>2+</sup> avant (a) et après l'addition de 50 mL/ L de l'extrait aqueux de feuilles de Capparis spinosa dans 0.1 M NaCl, pH= 7, vitesse de balayage 100 mV / s, tp= 1 min et 10 % de BIT (CPE-10% BIT) .....	<b>118</b>
<b>Fig. 19.</b> Voltammogrammes à ondes carrées enregistrés pour CPE- BIT en présence de 1mM/ L Pb <sup>2+</sup> avant (a) et après l'addition de 50 ml / L de l'extrait aqueux de feuilles de Capparis spinosa dans 0.1 M NaCl, pH= 7, vitesse de balayage 20 mV / s, tp= 1 min et 10% de BIT (CPE-10 % BIT) .....	<b>119</b>
<b>Fig. 20.</b> Voltammogrammes à ondes carrées enregistrés pour CPE- BIT en présence de 1 mM / L Pb <sup>2+</sup> à différentes concentrations de l'extrait aqueux de feuille de Capparis spinosa dans 0.1 M NaCl, pH= 7, vitesse de balayage 20 mV/ s, tp= 1min et 10 % de BIT (CPE-10 % BIT) .....	<b>119</b>
<b>Fig. 21.</b> Voltammogrammes cycliques enregistrés pour CPE- BIT en présence de 1 mM / L Pb <sup>2+</sup> et après l'addition de 50 ml/ L de l'extrait aqueux de feuilles de Capparis spinosa dans 0.1 M NaCl, pH= 7, vitesse de balayage 100 mV / s, tp= 1 min et 10 % de BIT (CPE-10 % BIT) .....	<b>119</b>
<b>Fig. 22.</b> Structures chimiques des flavonoïdes de C. spinosa (1) et mécanisme de complexation de Pb <sup>2+</sup> / Cd <sup>2+</sup> avec les groupes hydroxyle (2), hydroxy et carbonyle (3) présents dans les flavonoïdes de Capparis spinosa .....	<b>120</b>
<b>Fig. 23.</b> Représentation graphique de pic réduction (Pic 3) à différents volumes ajoutés de l'extrait aqueux de feuille de Capparis spinosa .....	<b>120</b>
<b>Fig. 24.</b> Efficacité de l'extrait aqueux de feuille de capparispinosa à chélater le Pb <sup>2+</sup> .....	<b>121</b>

<b>Fig. 1.</b> Voltammogrammes cycliques de : (a) l'électrode à pâte de carbone non modifiée (CPE) et (b) l'électrode à pâte de carbone modifiée par l'EDTA (CPE-EDTA), dans 0.1 M NaCl, 100 mV / s, 50 % EDTA (CPE-50 % EDTA), pH=7 .....	<b>126</b>
<b>Fig. 2.</b> Voltammogrammes à ondes carrés de : (a) l'électrode à pâte de carbone non modifiée (CPE) et (b) l'électrode à pâte de carbone modifiée par l'EDTA (CPE-EDTA), dans 0.1 M NaCl, 20 mV / s, 50 % EDTA (CPE-50 % EDTA), pH=7 .....	<b>126</b>
<b>Fig. 3.</b> Voltammogrammes cycliques enregistrés pour CPE-EDTA avec 7.57 mM de NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> , dans 0.1 M de NaCl à différentes vitesses de balayage de 10 à 500 mV / s, pH = 4, temps de préconcentration = 5 min .....	<b>127</b>
<b>Fig. 4.</b> Voltammogrammes cycliques de CPE-EDTA à 7.5 mM / L NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> dans 0.1 M NaCl, pH= 4, vitesse de balayage 100 mV / s à différents teneurs en EDTA dans la pâte de carbone (w / w) .....	<b>128</b>
<b>Fig. 5.</b> Influence de la teneur en EDTA dans le mélange de pâte de carbone (%) sur l'intensité du pic de 7.5 Mm NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> dans 0.1 M NaCl, pH= 4, SWV .....	<b>128</b>
<b>Fig. 6.</b> Voltammogrammes à ondes carrés de CPE-EDTA à différents temps de préconcentration, 7.5 mM / L NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> dans 0.1 M NaCl avec un rapport de 50 % de l'EDTA (CPE-50 % EDTA), pH= 7, vitesse de balayage 20 mV / s .....	<b>129</b>
<b>Fig. 7.</b> Effet de temps d'accumulation sur le courant de pic de réduction de 7.57 mM NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> à CPE-EDTA, dans 0.1 M NaCl avec un rapport de 50 % de CPE-EDTA, vitesse de balayage 20 mV / s, pH= 7 .....	<b>129</b>
<b>Fig. 8.</b> Effet de pH sur le pic de réduction de NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> à CPE-EDTA, dans 0.1 M NaCl, vitesse de balayage 20 mV / s, avec un rapport de 50 % de CPE-EDTA .....	<b>130</b>
<b>Fig. 9.</b> Relation entre le pH de la solution et le courant de pic de réduction de NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> dans 0.1 M NaCl .....	<b>130</b>
<b>Fig. 10.</b> Voltammogrammes cycliques de CPE non modifiée à différentes concentrations de l'EDTA, dans 0.1 M NaCl, vitesse de balayage 100 mV / s, pH=7 .....	<b>131</b>
<b>Fig. 11.</b> Voltammogrammes cycliques de CPE à différentes concentrations de NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> , dans 0.1 M NaCl, 100 mv/s, pH=7 .....	<b>132</b>
<b>Fig. 12.</b> Courbe de calibration de NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> à CPE non modifiée .....	<b>132</b>
<b>Fig. 13.</b> Influence de temps de contact sur l'intensité du pic de réduction à CPE non modifiée en présence de 30.28 mmol / L NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> et 1.88 mmol / L EDTA, dans 0.1 M NaCl .....	<b>134</b>
<b>Fig. 14.</b> Voltammogrammes à ondes carrées de CPE-10 % EDTA à différentes concentrations de NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> dans l'urine, pH= 4, 20 mV / s, tp= 5 min .....	<b>134</b>
<b>Fig. 15.</b> Courbe de calibration de NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> à CPE-10% EDTA établi à partir de pic observé à 0.19 V par SWV .....	<b>135</b>
<b>Fig. 16.</b> Voltammogrammes à ondes carrées de CPE- 10 % EDTA : en absence (a) et en présence de 1.664 mM / L NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> , 0.604 mM / L Pb <sup>2+</sup> (b), 0.736 mM / L Hg <sup>2+</sup> (c) et après l'ajout de tous ces éléments dans l'urine (d), pH= 4, vitesse de balayage 20 mV / s .....	<b>135</b>

<b>Fig. 1.</b> Voltammogrammes cycliques de CPE-EDTA à 0.3 mM Pb <sup>2+</sup> dans 0.1 M NaCl, pH= 2, vitesse de balayage 100 mV / s, tp= 10 min à (a) 1 %, (b) 5 % et (c) 10 % de l'EDTA dans la pâte de carbone (W/W) .....	<b>140</b>
<b>Fig. 2.</b> Voltammogrammes Cycliques de CPE-1 % EDTA à différentes concentrations de Pb <sup>2+</sup> dans 0.1 M NaCl, pH = 2, vitesse de balayage 100 mV / s, tp = 10 min. la manipulation est répétée 10 fois de la même manière avec le même opérateur. Quatre manipulations sont représentées (n <sub>1</sub> , n <sub>2</sub> , n <sub>3</sub> et n <sub>4</sub> ) .....	<b>142</b>
<b>Fig. 3.</b> Voltammogrammes à ondes carrés de CPE-1 % EDTA à différentes concentrations de Pb <sup>2+</sup> dans 0.1 M NaCl, pH = 2, vitesse de balayage 100 mV / s, tp = 10 min. la manipulation est répétée 10 fois de la même manière avec le même opérateur. Quatre manipulations sont représentées (n <sub>1</sub> , n <sub>2</sub> , n <sub>3</sub> et n <sub>4</sub> ) .....	<b>142</b>
<b>Fig. 4.</b> Effet de la concentration sur le pic d'oxydation de CPE-1 % EDTA obtenu par SWV dans 0.1 M NaCl, pH = 2, tp =10 mn, vitesse de balayage 20 mV / s .....	<b>143</b>
<b>Fig. 5.</b> Effet de la concentration sur les pics redox de CPE-1 % EDTA obtenu par VC dans 0.1 M NaCl, pH = 2, tp =10 min, vitesse de balayage 100 mV / s .....	<b>143</b>
<b>Fig. 6.</b> Voltammogrammes cycliques de CPE-EDTA dans NaCl 0,1 M à 100 mV / s, pH = 2 et 1% (w / w) d'EDTA / CP après 10 min de préconcentration à différentes concentrations de Pb <sup>2+</sup> , Hg <sup>2+</sup> , Cd <sup>2+</sup> et Co <sup>2+</sup> .....	<b>150</b>
<b>Fig. 7.</b> Voltammogrammes cycliques de CPE- 1 % EDTA à différentes concentrations de cadmium dans les conditions citées dans le Tableau 1 .....	<b>150</b>
<b>Fig. 8.</b> Voltammogrammes cycliques de CPE- 1 % EDTA à différentes concentrations de mercure dans les conditions citées dans le Tableau 1 .....	<b>150</b>
<b>Fig. 9.</b> Voltammogrammes cycliques de CPE- 1 % EDTA à différentes concentrations de cobalt dans les conditions citées dans le Tableau 1 .....	<b>150</b>
<b>Fig. 10.</b> Voltammogrammes cycliques de CPE- 1 % EDTA à différentes concentrations de plomb dans les conditions citées dans le Tableau 1 .....	<b>150</b>
<b>Fig. 11.</b> Courbes de calibration de chaque élément étudié en absence (S) et en présence (P) de plomb, cadmium, mercure et de cobalt. Les pics correspondent au plomb, cadmium et le mercure sont établis à partir des VCs, pour le cobalt les pics sont établis à partir des SWVs. Les conditions citées dans le <b>Tableau 1</b> sont respectées .....	<b>152</b>



## Liste des tableaux

<b>Tableau 1.</b> Tableau périodique des éléments. ....	<b>4</b>
<b>Tableau 2.</b> Valeurs indicatives des métaux lourds (selon l'Organisation mondiale de la santé) .....	<b>6</b>
<b>Tableau 3.</b> Classification des bases et des acides de Lewis .....	<b>7</b>
<b>Tableau 4.</b> Caractéristiques du plomb .....	<b>8</b>
<b>Tableau 5.</b> Caractéristiques du cadmium .....	<b>10</b>
<b>Tableau 6.</b> Caractéristiques du mercure .....	<b>12</b>
<b>Tableau 7.</b> Caractéristiques de l'arsenic.....	<b>12</b>
<b>Tableau 8.</b> Caractéristiques du cobalt .....	<b>13</b>
<b>Tableau 9.</b> Quelques méthodes physiques pour la détection des métaux lourds .....	<b>15</b>
<b>Tableau 10.</b> Quelques méthodes électrochimiques pour la détection des métaux lourds .....	<b>16</b>
<b>Tableau 11.</b> Quelques biocapteurs enzymatiques et non enzymatiques destinés pour la détection des métaux lourds .....	<b>17</b>
<b>Tableau 12.</b> Quelques biocapteurs à base de cellules entières destinés pour la détection des métaux lourds .....	<b>18</b>
<b>Tableau 13.</b> Quelques biocapteurs à base d'ADN et à base d'oligonucléotides synthétiques (Aptamer) destinés pour la détection des métaux lourds .....	<b>18</b>
<b>Tableau 14.</b> Caractéristiques des quelques méthodes physiques utilisées pour la détection des métaux lourds .....	<b>19</b>
<b>Tableau 15.</b> Interactions d'anticorps monoclonaux avec des complexes Ligand-métal.....	<b>23</b>
<b>Tableau 16.</b> Types de ligands .....	<b>31</b>
<b>Tableau 17.</b> Structures des acides phénoliques naturels proéminents .....	<b>39</b>
<b>Tableau 1.</b> Paramètres de fonctionnement de VC, SWV et EIS .....	<b>70</b>
<b>Tableau 1.</b> Détermination des paramètres optimaux pour l'analyse de $Pb^{2+}$ .....	<b>86</b>
<b>Tableau 2.</b> Identification électrochimique par SWV de $Co^{2+}$ , $Cu^{2+}$ et $Pb^{2+}$ à CPE-10 % EDTA dans 0.1 M NaCl, pH=7, Vitesse de balayage 20 mV / s .....	<b>88</b>
<b>Tableau 3.</b> Détermination de l'équation générale, coefficient de détermination ( $R^2$ ), limite de détection et limite de quantification de CPE-EDTA 10 % dans l'eau potable par VC et SWV, les conditions optimales sont respectées. $I_t^*$ est l'intensité du pic d'oxydation correspond à la concentration de $Pb^{2+}$ dans l'échantillon .....	<b>90</b>
<b>Tableau 4.</b> Résultats de la détermination de la concentration de $Pb^{2+}$ dans l'eau potable par CPE-10 % EDTA dans les conditions optimales .....	<b>91</b>

<b>Tableau 1.</b> Détermination des paramètres optimaux pour l'analyse $Pb^{2+}$ .....	<b>109</b>
<b>Tableau 1.</b> Paramètres optimums pour l'analyse de $NH_4^+$ par la CPE modifiée par 10 % de l'EDTA.....	<b>132</b>
<b>Tableau 2.</b> Composition de l'urine humaine.....	<b>134</b>
<b>Tableau 3.</b> Détermination de l'ammonium dans des échantillons urinaires .....	<b>136</b>
<b>Tableau 4.</b> Comparaison de la performance de l'électrode élaborée avec d'autres méthodes d'analyse de l'ammonium .....	<b>136</b>
<b>Tableau 1.</b> Paramètres optimaux pour l'analyse de $Pb^{2+}$ .....	<b>141</b>
<b>Tableau 2.</b> Représentation de l'équation de la droite de régression, le coefficient de détermination, SD (écart type), LD et LQ de la SWV et de la VC. Les concentrations sont exprimées en mmol / L .....	<b>144</b>
<b>Tableau 3.</b> Calcul de la moyenne d'intensité de courant observé ( $I_{moy-Ob}$ ), l'écart type ( $S_2$ ), $t_s$ (test student, la valeur est trouvée à l'aide de tableau. 4), incertitude de répétabilité (IR), intervalle de confiance (IC), estimation inférieure (EI), estimation supérieure et coefficient de variation (CV) ou relative standard deviation (RSD), NM = nombre de mesures effectuées, MR = le pourcentage des mesures rejetées (en dehors de l' intervalle de confiance). .....	<b>146</b>
<b>Tableau 4.</b> Valeur du t de student pour un intervalle bilatéral à un seuil de confiance à 95 % .....	<b>147</b>
<b>Tableau 5.</b> Calcul de la moyenne d'intensité de courant observé ( $I_{moy-Ob}$ ), intensité de pic cible ( $I_{cible}$ ), erreur systématique (ES), erreur relative (ER), taux de recouvrement (TR) et l'exactitude .....	<b>148</b>
<b>Tableau 6.</b> Calcul de $\chi^2$ .....	<b>149</b>
<b>Tableau. 7.</b> Etude statistique de la détection simultanée des métaux lourds par CPE-1%EDTA .....	<b>153</b>
<b>Tableau. 8.</b> Résultats de détermination de plomb dans l'eau de robinet par les différentes méthodes électrochimiques .....	<b>154</b>

## Liste des abréviations

<b>ASV</b>	Anodique Stripping Voltamétrie
<b>BIT</b>	Benzimidazole-2-thiol
<b>CE</b>	Electrophorèse Capillaire
<b>CPE</b>	Electrode à Pâte de Carbone Graphite
<b>CV</b>	Coefficient de Variation
<b>E</b>	Exactitude
<b>EA</b>	Electrode Auxiliaire
<b>EAFCS</b>	Extrait Aqueux de Feuilles de Capparis Spinosa
<b>ECS</b>	Electrode à Calomel Saturée
<b>EDTA</b>	Ethylène Diamine Tétra-Acétique di-sodium
<b>EDX</b>	Microanalyse par Energie Dispersive de rayons X
<b>EI</b>	Estimation Inférieure
<b>EIS</b>	Spectroscopie d'Impédance Electrochimique
<b>ER</b>	Electrode de Référence
<b>ER</b>	Erreur Relative
<b>ES</b>	Erreur Systématique
<b>ES</b>	Estimation Supérieure
<b>ET</b>	Electrode de Travail
<b>GC-MS</b>	Chromatographie en Phase Gazeuse Couplé à la Spectroscopie de Masse
<b>GF-AAS</b>	Spectroscopie d'Adsorption Atomique à Four en Graphite
<b>HA</b>	Hyperammoniémie
<b>HPLC</b>	Chromatographie Liquide à Haute Performance
<b>HPLC-MS</b>	Chromatographie Liquide à Haute Performance Couplé à la Spectroscopie de Masse
<b>IC</b>	Intervalle de Confiance
<b>ICP-AES</b>	Spectrométrie d'Emission Plasma
<b>ICP-AES</b>	Spectroscopie d'Emission Atomique à Plasma
<b>ICP-MS</b>	Spectrométrie de Masse à Couplage Inductif
<b>ICP-MS</b>	Spectrométrie de Masse à Couplage Inductif
<b>IR</b>	Incertitude de Répétabilité
<b>LD</b>	Limite de Détection
<b>LQ</b>	Limite de Quantification

<b>MEB</b>	Microscopie Electronique à Balayage
<b>RSD</b>	Relative Standard Deviation
<b>S<sub>2</sub></b>	Ecart type
<b>SAA</b>	Spectrométrie d'Adsorption Atomique
<b>SEA</b>	Spectrométrie d'Emission Atomique
<b>SWV</b>	Voltamétrie à Onde Carrée
<b>TR</b>	Taux de Recouvrement
<b>VC</b>	Voltamétrie Cyclique
<b><math>\chi^2</math></b>	khi deux

## Introduction générale

La contamination des eaux par les métaux lourds présente un problème majeur pour la santé publique. Une faible concentration des métaux lourds peut provoquer une intoxication grave. L'exposition à long terme aux métaux lourds entraîne la lésion des tissus cellulaires. On peut assister à une lésion des cellules nerveuses, le foie, les reins et l'appareil reproducteur. Pour cette raison, l'OMS a exigé une concentration limite des métaux lourds qu'il ne faut pas dépasser.

Il y a plusieurs méthodes analytiques utilisées pour détecter et quantifier les métaux lourds. On peut citer la spectroscopie d'adsorption atomique (AAS), la spectroscopie d'adsorption atomique à four en graphite (GF-AAS), spectrométrie de masse à couplage inductif (ICP-MS), la spectroscopie d'émission atomique à plasma (ICP-AES), les biocapteurs enzymatiques et non enzymatiques et les biocapteurs à base d'ADN. Ces méthodes connues par leur très grande sensibilité et fiabilité. Malgré ceci, elles sont très onéreuses, demandent beaucoup de temps pour effectuer l'analyse, exigent des personnels qualifiés...

L'augmentation de l'ammoniac plasmatique et l'ammonium (hyperammoniémie (HA)) entraîne un dysfonctionnement neurologique grave. Plusieurs techniques sont utilisées pour quantifier l'ammoniac et l'ammonium dans le plasma comme la méthode enzymatique de Berthelot, la méthode colorimétrique et les méthodes optiques et chromatographiques. Ces méthodes présentent des inconvénients importants.

Pour cette raison, nous avons élaboré des nouvelles électrodes modifiées par des molécules organiques destinées pour détecter et quantifier les métaux lourds et l'ammonium dans l'eau de robinet et dans l'urine humaine. La diminution du temps d'analyse, la diminution de la consommation d'analyse, l'augmentation de la sensibilité et la fiabilité des capteurs élaborés et la facilité d'analyse sont les objectifs visés dans notre travail.

La présente thèse est subdivisée en deux parties :

+ La première partie présente une étude bibliographique sur les métaux lourds, les concepts de complexation, les propriétés de l'ammoniac et l'ammonium et les méthodes d'analyses couramment utilisées

+ La deuxième partie contient six chapitres. Le premier chapitre est consacré à l'étude des méthodes électrochimiques et physiques utilisées au cours de la réalisation de ce travail, il présente aussi les étapes de la modification des capteurs. La préparation de l'extrait de *Capparis spinosa*, utilisé pour complexer les métaux lourds, est aussi décrite dans ce chapitre.

Le deuxième chapitre est consacré pour l'analyse de certains métaux lourds dans l'eau potable par l'électrode à pâte de carbone modifiée par l'éthylène diamine tétra-acétique disodium (EDTA). Le troisième chapitre est dédié à l'étude électrochimique de la chélation des métaux lourds par le benzimidazole-2-thiol. Le quatrième chapitre présente une investigation voltamétrique de l'effet complexant de Capparis spinosa sur les métaux lourds : Application dans le traitement de l'eau. Le cinquième chapitre est consacré à la détermination de l'ammonium dans l'urine humaine par l'électrode à pâte de carbone modifiée par l'EDTA. Le sixième chapitre présente le processus de validation d'une méthode électrochimique destinée pour l'analyse de plomb, cadmium, cobalt et le mercure dans l'eau de robinet de notre laboratoire à la Faculté des Sciences et Techniques de Béni Mellal.

Les conclusions et les perspectives tirées au terme de ce travail sont regroupées dans la conclusion générale.

## *Partie I : étude bibliographique*

---

# I. Métaux lourds

## 1. Introduction

Les métaux lourds sont des éléments dont le poids atomique est compris entre 63.5 et 200.6 et une densité supérieure à 5 g/cm<sup>3</sup> [1]. Parmi les éléments recensés dans la classification périodique de Mendeleïev, 53 sont considérés comme des métaux lourds (Tableau 1) et se présentent le plus souvent dans l'environnement mais en général sous forme de traces.

Les métaux lourds comprennent le cadmium, le chrome, le mercure, le plomb et l'arsenic. Certains métaux lourds comme le cobalt, le cuivre, le fer, le manganèse, le molybdène, le vanadium, le strontium et le zinc sont utilisés comme éléments essentiels dans les systèmes vivants lorsqu'ils se produisent à l'état de traces [2].

**Tableau 1.** Tableau périodique des éléments.

■ Métaux                      **Li** : Solide à 25°C, sous 1 bar  
■ Semi-conducteurs            **He** : Gaz à 25°C, sous 1 bar  
■ Non-métaux                      **Br** : Liquide à 25°C, sous 1 bar  
■ Gaz nobles                        **Tc** : Obtenu par synthèse  
■ Lanthanides et actinides

I																III										IV					V					VI					VII					VIII
1	<b>H</b>															<b>B</b>	<b>C</b>	<b>N</b>	<b>O</b>	<b>F</b>	<b>Ne</b>																									
2	<b>Li</b>	<b>Be</b>															<b>Al</b>	<b>Si</b>	<b>P</b>	<b>S</b>	<b>Cl</b>	<b>Ar</b>																								
3	<b>Na</b>	<b>Mg</b>															<b>Ga</b>	<b>Ge</b>	<b>As</b>	<b>Se</b>	<b>Br</b>	<b>Kr</b>																								
4	<b>K</b>	<b>Ca</b>	<b>Sc</b>	<b>Ti</b>	<b>V</b>	<b>Cr</b>	<b>Mn</b>	<b>Fe</b>	<b>Co</b>	<b>Ni</b>	<b>Cu</b>	<b>Zn</b>	<b>Ga</b>	<b>Ge</b>	<b>As</b>	<b>Se</b>	<b>Br</b>	<b>Kr</b>																												
5	<b>Rb</b>	<b>Sr</b>	<b>Y</b>	<b>Zr</b>	<b>Nb</b>	<b>Mo</b>	<b>Tc</b>	<b>Ru</b>	<b>Rh</b>	<b>Pd</b>	<b>Ag</b>	<b>Cd</b>	<b>In</b>	<b>Sn</b>	<b>Sb</b>	<b>Te</b>	<b>I</b>	<b>Xe</b>																												
6	<b>Cs</b>	<b>Ba</b>	<b>La</b>	<b>Hf</b>	<b>Ta</b>	<b>W</b>	<b>Re</b>	<b>Os</b>	<b>Ir</b>	<b>Pt</b>	<b>Au</b>	<b>Hg</b>	<b>Tl</b>	<b>Pb</b>	<b>Bi</b>	<b>Po</b>	<b>At</b>	<b>Rn</b>																												
7	<b>Fr</b>	<b>Ra</b>	<b>Lw</b>	<b>Rf</b>	<b>Db</b>	<b>Sg</b>	<b>Bh</b>	<b>Hs</b>	<b>Mt</b>	<b>Uuu</b>	<b>Uuu</b>	<b>Uub</b>																																		
Série des Lanthanides			<b>La</b>	<b>Ce</b>	<b>Pr</b>	<b>Nd</b>	<b>Pm</b>	<b>Sm</b>	<b>Eu</b>	<b>Gd</b>	<b>Tb</b>	<b>Dy</b>	<b>Ho</b>	<b>Er</b>	<b>Tm</b>	<b>Yb</b>																														
Série des Actinides			<b>Ac</b>	<b>Th</b>	<b>Pa</b>	<b>U</b>	<b>Np</b>	<b>Pu</b>	<b>Am</b>	<b>Cm</b>	<b>Bk</b>	<b>Cf</b>	<b>Es</b>	<b>Fm</b>	<b>Md</b>	<b>No</b>																														

Avec le développement rapide des industries comme les installations de métallisation, opérations minières, industries des engrais, tanneries, batteries, industries papetières et pesticides, etc., les eaux usées contaminées par les métaux lourds sont directement ou indirectement rejetées dans l'environnement, en particulier dans les pays en développement.



En raison de leur grande réactivité chimique, les métaux lourds peuvent être toxiques même à très basse concentration [3]. Cependant, si la concentration des métaux lourds dépasse le seuil optimal, cela conduit à diverses altérations mentales, anomalies génétiques et morphologiques chez l'homme, les plantes et les animaux [4,5]. En outre, ils sont persistants dans l'environnement, non biodégradables et bioaccumulateurs causant des risques graves pour la santé [6]. Les métaux lourds sont présents dans la croûte terrestre et peuvent entrer dans la chaîne alimentaire [7] via des cycles biogéochimiques, deviennent hautement toxiques, voire cancérigènes [2] ce qui affecte la santé des consommateurs. Pour cette raison, la sécurité alimentaire est la principale exigence pour préserver l'équilibre de l'environnement et la bonne santé des êtres humains [8,9].

Les métaux lourds sont essentiels au maintien de diverses fonctions biochimiques et physiologiques chez les organismes vivants à de très faibles concentrations, mais ils deviennent nocifs quand ils dépassent certains seuils de concentrations. Ils sont des composants importants de plusieurs enzymes clés et jouent un rôle important dans diverses réactions d'oxydoréduction [10].

Le zinc est un oligo-élément essentiel à la santé humaine. Il est important pour les fonctions physiologiques des tissus vivants et régule de nombreux processus biochimiques. Cependant, trop de zinc peut causer de graves problèmes de santé humaine, tels que des crampes d'estomac, irritations de la peau, vomissements, nausées et anémie [11].

Le cuivre c'est un élément essentiel pour le métabolisme des animaux. Mais l'ingestion excessive de cuivre entraîne de graves problèmes toxicologiques comme le vomissement, crampes, convulsions ou même la mort [12].

Un niveau de nickel supérieur à son niveau critique peut entraîner de graves problèmes pulmonaires et rénaux, la détresse gastro-intestinale, de la fibrose pulmonaire et de la dermatite cutanée [13]. Le mercure est une neurotoxine, il peut causer des dommages au système nerveux central. Une forte concentration de mercure entraîne une altération de la fonction rénale, douleur thoracique et dyspnée [14]. Le cadmium est classé comme un agent cancérigène [15,16]. L'exposition chronique au cadmium entraîne un dysfonctionnement rénal [17]. Il provoque des lésions tissulaires en induisant la mort cellulaire. À des concentrations faibles et modérées dans des cultures cellulaires (par exemple 0,1 à 10  $\mu\text{M}$ ), le cadmium provoque principalement l'apoptose, et à des concentrations plus élevées ( $> 50 \mu\text{M}$ ), une nécrose devient évidente [18].

Le plomb peut causer des dommages au système nerveux central. Le plomb peut aussi endommager les reins, le foie et le système reproducteur. Les symptômes de toxicité par le plomb sont l'anémie, insomnie, maux de tête, vertiges, irritabilité, faiblesse des muscles, hallucination et lésions rénales [19]. L'exposition à une grande quantité de plomb provoque des avortements spontanés chez les femmes et une oligospermie (diminution du nombre de spermatozoïdes chez les hommes) [20]. Une exposition aiguë au plomb provoque des lésions rénales, cérébrales et gastro-intestinales, tandis qu'une exposition chronique peut avoir des effets néfastes sur le sang, le système nerveux central, la pression artérielle, les reins et le métabolisme de la vitamine D [21]. Des études récentes ont montré que l'intoxication par le plomb entraîne une diminution de l'intelligence, un quotient intellectuel inférieur, un retard du développement neurocomportemental, une perte auditive, des troubles de la parole et du langage, un retard de croissance, un manque d'attention et un comportement antisocial et diligent [21].

Le chrome est présent dans le milieu aquatique principalement dans deux états: Cr (III) et Cr (VI). En général, le Cr (VI) est plus toxique que le Cr (III). Le Cr (VI) affecte la physiologie humaine, s'accumule dans la chaîne alimentaire et provoque de graves problèmes de santé allant de la simple irritation de la peau au cancer du poumon [22].

Le **Tableau 2** présente des valeurs indicatives pour le contrôle de la qualité de l'eau potable [23].

**Tableau 2.** Valeurs indicatives des métaux lourds (selon l'Organisation mondiale de la santé)

Métal lourd	Valeurs indicatives (mg.L <sup>-1</sup> )
Antimoine (Sb)	0.02
Arsenic (As)	0.01
Baryum (Ba)	0.7
Cadmium (Cd)	0.003
Cuivre (Cu)	2
Chrome (Cr)	0.05
Plomb (Pb)	0.01
Manganèse (Mn)	0.4
Mercuré (Hg)	0.006
Molybdène (Mo)	0.07
Nickel (Ni)	0.07
Sélénium (Se)	0.01
Uranium (U)	0.015

## 2. Propriétés chimiques des métaux lourds

La plupart des métaux lourds sont des éléments de transition. Ceux-ci possèdent par définition des orbitales *d* incomplètes qui constituent leur couche de valence. Ils peuvent donner des cations métalliques formant des complexes afin de compléter leurs orbitales. Ces



**Tableau 4.** Caractéristiques du plomb

Propriété	Valeur
Numéro atomique	82
Masse atomique	207.2
Configuration électronique	[Xe] 6s <sup>2</sup> 4f <sup>14</sup> 5d <sup>10</sup> 6p <sup>2</sup>
Rayon atomique (calculée)	180 pm (154 pm)
État(s) d'oxydation	4, 2
Oxyde	Amphotère
Masse volumique	11.35 g·cm <sup>-3</sup> (20 °C)

Le plomb trouve de nombreuses applications technologiques. Il a été largement utilisé dans les produits en métaux, les tuyaux mais aussi dans les peintures et les pesticides. Le plomb est également employé dans la fabrication des accumulateurs au plomb acide, de la soudure, des munitions et pour le gainage des câbles. Il s'agit d'un bon adsorbant des rayons gamma, et aussi utilisé pour la protection contre les substances radioactives [25].

Les degrés d'oxydation usuels du plomb sont +2 et +4, cela est dû à sa structure électronique [Xe]4f<sup>14</sup>4d<sup>10</sup>6s<sup>2</sup>6p<sup>2</sup>. Les composés divalents sont les plus stables. L'hydroxyde de plomb (Pb(OH)<sub>2</sub>) s'obtient par action d'une solution alcaline sur les sels de plomb (II) solubles. Il présente des propriétés amphotères et se dissout dans les acides avec la formation de sels de plomb (II). Le chlorure de plomb (II) (PbCl<sub>2</sub>) préparé en faisant agir un acide chlorhydrique ou des chlorures solubles sur les solutions de sels de plomb (II) apparaît sous forme de précipité blanc. Le chlorure de plomb (II) est peu soluble dans l'eau, sa concentration limite de solubilisation est de 10<sup>-2</sup> M. En contrepartie, le nitrate de plomb (II) (Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>) obtenu par l'action de l'acide nitrique sur du plomb métallique ou sur l'oxyde de plomb, est un composé très soluble dans l'eau à température ambiante.

Dans le squelette, le plomb est incorporé au minéral au lieu du calcium. Le plomb se lie aux molécules biologiques et interfère ainsi avec leur fonction par le biais de plusieurs mécanismes. Le plomb se lie aux groupes d'enzymes sulfhydryle et amide, en modifiant leur configuration et en diminuant leur activité. Le plomb peut également entrer en compétition avec les cations métalliques essentiels pour les sites de liaison, inhiber l'activité enzymatique ou modifier le transport des cations essentiels tels que le calcium [26]. Dans certains cas, le plomb inhibe les événements dépendant du calcium, y compris la libération dépendante du calcium de plusieurs neurotransmetteurs couplés aux récepteurs et d'ionophores dans les neurones glutamatergiques [27]. Il a une forte affinité pour les groupes thiol (-SH), ce qui perturbe le fonctionnement de certaines enzymes qui contiennent cette fonction [28].

Les sources de contamination de l'environnement par le plomb sont très diverses telles que les sources géogènes, industrielles, agricoles, pharmaceutiques, domestiques et atmosphériques [29]. La contamination de l'eau potable par le plomb est due à la libération de  $Pb^{2+}$  au cours du processus de corrosion des tuyaux de distribution contenant des matériaux de plomberie [30].

### **b. Propriétés de cadmium**

Le cadmium est un métal lourd largement répandu dans la croûte terrestre. L'étymologie du mot cadmium vient du grec kadmia, ville de Grèce où l'on extrayait un minerai que l'on appelait cadmie. Le cadmium se trouve en général à une concentration inférieure à  $0,001 \text{ mg.l}^{-1}$  dans les eaux de consommation. Il provient des résidus de placage électrolytique. Le cadmium est un métal d'un blanc argenté, brillant; il est malléable et ductile, se manifeste presque toujours à l'état divalent et il ressemble beaucoup au zinc et le remplace isomorphiquement dans presque tous ses minerais [31]. Les caractéristiques du cadmium sont présentées dans le **Tableau 5**.

La solubilité du cadmium dans l'eau dépend dans une large mesure de l'acidité de ce milieu. La dissolution du cadmium en suspension ou adsorbé par les sédiments peut se produire lorsque le pH de l'eau diminue [32].

Contrairement au plomb, le cadmium n'est pas amphotère. Il est généralement sous la forme divalente telle que le nitrate de cadmium ( $Cd(NO_3)_2$ ) obtenu par dissolution du cadmium métallique, oxyde ou carbonate dans l'acide nitrique, puis évaporation jusqu'à cristallisation. Le cristal blanc ainsi obtenu se dissout dans l'eau, l'alcool et l'ammoniac liquide.

Le cadmium endommage les cellules principalement par la génération des espèces réactives de l'oxygène [33], ce qui provoque des lésions de l'ADN simple brin et perturbe la synthèse d'acides nucléiques et de protéines [34]. Des études ont montré que plusieurs systèmes de réponse au stress sont exprimés en réponse à l'exposition au cadmium, y compris les chocs thermiques et le stress oxydatif [35]. Des études in vitro indiquent que le cadmium induit des effets cytotoxiques aux concentrations de 0,1 à 10 mM et des dommages de l'ADN à cause des radicaux libres [36].

A des concentrations inférieures (1 à 100 nM), le cadmium se lie aux protéines, diminue la réparation de l'ADN [37], active la dégradation des protéines, régule la hausse des cytokines et des proto-oncogènes [38].

Il a été montré que le cadmium est capable de stimuler la prolifération de cellules cancéreuses du sein [39,40], cancers de l'utérus et de prostate [41].

**Tableau 5.** Caractéristiques du cadmium

Propriété	Valeur
Numéro atomique	48
Masse atomique	112.414
Configuration électronique	[Kr] 5s <sup>2</sup> 4d <sup>10</sup>
Rayon atomique (calculée)	155 pm (161 pm)
État(s) d'oxydation	2
Oxyde	base faible
Masse volumique	8.69 g·cm <sup>-3</sup> (20 °C)

### c. Propriétés du mercure

Le mercure, considéré comme le métal lourd le plus toxique, est le seul métal liquide à température ambiante. Soumis à une agitation forte il se divise en fines gouttelettes. A l'air sec, le mercure ne s'oxyde pas. On peut distinguer les composés à base de mercure en deux familles : le mercure métallique ou inorganique (sous forme liquide, gazeuse, ionique) et le mercure organique. En milieu oxydant, le mercure s'oxyde très facilement passant de l'état métallique (Hg<sup>0</sup>) à l'état ionisé (Hg<sup>2+</sup>). Il s'associe facilement avec certains anions pour donner des complexes stables (Hg(CN)<sub>2</sub>, Hg(CN)<sub>4</sub><sup>2-</sup>, Hg(SCN)<sub>4</sub><sup>2-</sup>, HgCl<sub>2</sub>, HgCl<sup>+</sup>, HgCl<sub>3</sub>, HgCl<sub>4</sub><sup>2-</sup> ... ). En présence de composés organiques, il y a formation de composés organo-mercuriques (CH<sub>3</sub>Hg<sup>+</sup>, C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>Hg<sup>+</sup>). Le mercure inorganique ayant une plus grande solubilité dans l'eau, existe sous forme mercurique (Hg<sup>2+</sup>) ou mercureux (Hg<sub>2</sub><sup>2+</sup>).

L'exposition à une forte concentration de mercure métallique entraîne des éruptions cutanées, des lésions pulmonaires (toxicité pulmonaire), une insuffisance rénale (néphrotoxicité) et des anomalies neurologiques graves, une augmentation du rythme cardiaque, des modifications de la membrane muqueuse, des vomissements, des diarrhées, des nausées et de la pression artérielle (hypertension) [42]. À l'intérieur du corps, la demi-vie moyenne du mercure inhalé est d'environ 60 jours [43]. Les troubles neurologiques courants entraînant des modifications du comportement, de l'anxiété, de la dépression et des tremblements (**Tableau 6**).

Les bactéries transforment le mercure inorganique en méthylmercure, ce qui entraîne leur bioaccumulation dans les poissons et autres tissus animaux [45]. L'éthylmercure peut être introduit dans l'organisme en tant que conservateur de vaccin et certains antiseptiques [46]. Par rapport au méthylmercure, l'éthylmercure est rapidement métabolisé en sels inorganiques,

passant ainsi par la néphrotoxicité [47]. Le mercure provoque un trouble appelé acrodynie ou maladie rose [44] caractérisé par des éruptions cutanées, des démangeaisons, des rougeurs et une desquamation de la peau des mains, du nez et de la plante des pieds, de l'insomnie et / ou de la faiblesse.

#### d. Propriétés d'arsenic

L'arsenic, un métalloïde naturel, est le 20<sup>ème</sup> élément le plus abondant de la croûte terrestre. Il existe sous plus de 200 formes minérales différentes, il est disponible sous forme d'arséniate ( $\text{As}^{5+}$ ) pour environ 60%, sous forme de sulfure ou de sulfonate 20%, et le restant est sous forme d'arsénites, d'arséniures, d'oxydes, de silicates et d'arsenic élémentaire [48]. Dans la nature, l'arsenic soluble existe dans deux états d'oxydation courants, l'arséniate ( $\text{As}^{5+}$ ) et l'arsénite ( $\text{As}^{3+}$ ) présents sous forme d'oxyanions, l'arséniate ( $\text{AsO}_4^{3-}$ ) et l'arsénite ( $\text{As}(\text{OH})_3$ ), respectivement. Le **Tableau 7** présente certaines caractéristiques de l'arsenic.

Certains phénomènes naturels présentent une source d'arsenic à savoir l'activité volcanique, l'altération des roches, les eaux géothermales et les incendies de forêt. En plus, il y a une autre source d'origine industrielle (le verre et la céramique, les herbicides, les pesticides, les produits de préservation du bois et les opérations métallurgiques).

En tant que cancérigène du groupe I, sa contamination de l'eau de boisson présente un grave problème de santé humaine [49]. La toxicité d'arsenic dépend de son état de valence. Les arsenicaux pentavalents ( $\text{As}^{5+}$ ), absorbés moins efficacement, présentent un taux d'accumulation inférieur aux composés trivalents ( $\text{As}^{3+}$ ) [50].  $\text{As}^{3+}$  est considéré comme plus toxique, il a une très grande affinité pour les protéines et les enzymes qui ont un groupement sulfhydryle ( $-\text{SH}$ ), que son homologue  $\text{As}^{5+}$  [51,52].  $\text{As}^{5+}$  remplace le phosphate dans différentes réactions chimiques, à raison de sa similarité structurale avec le phosphate.

$\text{As}^{5+}$  remplace la liaison phosphodiester stable dans l'ATP, ce qui entraîne le découplage des événements de phosphorylation oxydative et l'épuisement subséquent des réserves d'ATP. Concernant l' $\text{As}^{3+}$ , il agit sur le cycle de Krebs ce qui provoque l'arrêt de la chaîne respiratoire [53]. L'exposition à court terme et à de faibles concentrations d'arsenic entraîne des dommages aux vaisseaux sanguins, des nausées et des vomissements, une réduction de la production d'érythrocytes et de leucocytes, des battements de cœur anormaux et des sensations de piqûre dans les mains et les jambes.

**Tableau 6.** Caractéristiques du mercure [44].

Métal	Forme(s)	Effets sur la santé	Voie d'entrée	Symptômes		Sources
				Aigu	Chronique	
Mercure, Numéro Atomique : 80, Masse Atomique: 2006	Hg, Hg <sup>2+</sup> , Hg <sup>+</sup> , Hg- organique - état d'oxydation : +1, +2	Perturbation du système nerveux, altération des fonctions cérébrales, altération de l'ADN et des chromosomes, réactions allergiques, fatigue et maux de tête, effets négatifs sur la reproduction, tels que lésions du sperme, anomalies congénitales et fausses couches	Inhalation ingestion et absorption par la peau	Douleur gastro-intestinale, vomissements, diurèse, anémie, choc hypovolémique, toxicité rénale, irritabilité, insomnie, fatigue	Gingivitis, tachycardia, goiter, high urine Hg	Combustion de combustibles fossiles, extraction minière, fusion, élimination des déchets solides, engrais, eaux usées industrielles, utilisation dans les commutateurs électriques, ampoules fluorescentes, lampes à arc au mercure, incinération des déchets municipaux, émissions provenant du mercure: piles, thermomètres, amalgames au mercure

**Tableau 7.** Caractéristiques de l'arsenic

Propriété	Valeur
Numéro atomique	33
Masse atomique	74.921595
Configuration électronique	[Ar] 4s <sup>2</sup> 3d <sup>10</sup> 4p <sup>3</sup>
Rayon atomique (calculée)	115 pm (114 pm)
État(s) d'oxydation	3, 5
Oxyde	Acide faible
Masse volumique	5.72 g·cm <sup>-3</sup> (gris) 1.97 g·cm <sup>-3</sup> (jaune) 4.7–5.1 g·cm <sup>-3</sup> (noir)



L'exposition pendant une longue période conduit souvent à des lésions cutanées, maladies vasculaires périphériques, maladies pulmonaires et maladies cardiovasculaires, problèmes neurologiques, diabète sucré et certains types de cancers [54].

#### e. Propriétés du cobalt

Le cobalt est un métal de transition qui fait partie du groupe du fer. Le corps simple cobalt a des propriétés physiques assez voisines de celles du fer et du nickel. D'un point de vue chimique, il est moins réactif que le fer. Certaines propriétés de cobalt sont présentées dans le **Tableau 8**.

Le cobalt métallique du groupe de transition est présent à l'état de traces dans l'alimentation humaine, principalement dans les légumes et le poisson. Le cobalt est un micronutriment essentiel qui se trouve sous forme de vitamine B12 (hydroxocobalamine) [55].

Le cobalt est extrêmement toxique à fortes doses et à faible concentration après une exposition à long terme [56]. Il a des effets néfastes sur la glande thyroïde (inhibition par le cobalt tyrosine iodinase, goitre et myxœdème), les poumons (asthme au cobalt) [57], de la peau (dermatite de contact allergique) et du système immunitaire.

Grace à sa forte affinité pour les groupes sulfhydryles, il peut provoquer une inhibition d'enzymes comme ceux impliqués dans la respiration cellulaire [56], une inhibition putative de l'entrée de  $Ca^{2+}$  et du signal de  $Ca^{2+}$  [58], une génération d'espèces réactives de l'oxygène dans des cellules (réactions de type Fenton) provoquant un stress oxydatif entraînant des dommages cellulaires (l'ADN, les protéines et les lipides) [59]. Le cobalt ionique et le cobalt métallique (nanoparticules) sont des éléments cytotoxiques, ils induisent l'apoptose et la nécrose à des concentrations plus élevées [58,60].

**Tableau 8.** Caractéristiques du cobalt

Propriété	Valeur
Numéro atomique	33
Masse atomique	58.933194
Configuration électronique	[Ar] 4s <sup>2</sup> 3d <sup>7</sup>
Rayon atomique (calculée)	135 pm (152 pm)
État(s) d'oxydation	+1, +2, +3, +4
Oxyde	Amphotère
Masse volumique	8.9 g·cm <sup>-3</sup> (20 °C)

### 3. Méthodes utilisées pour la détection des métaux lourds

Les problèmes liés à la haute toxicité des métaux lourds nécessitent des méthodes de surveillance rapides et sensibles pour les détecter et les quantifier et dans divers éléments comme le sol, l'eau et les aliments. Il y a des méthodes conventionnelles de faible sensibilité comme les analyses volumétriques, les analyses gravimétriques, les analyses calorimétriques. D'autres techniques sont très sensibles et fiables telles que la spectroscopie d'adsorption atomique (AAS) [61], la spectroscopie d'adsorption atomique à four en graphite (GF-AAS) [62,63], la polarographie différentielle par impulsions, spectrométrie de masse à couplage inductif (ICP-MS) [64], la spectroscopie d'émission atomique à plasma (ICP-AES) [65], stripping anodique voltamétrie (ASV), les biocapteurs enzymatiques et non enzymatiques, les biocapteurs à base de cellules entières, les biocapteurs à base d'ADN, les biocapteur à aptamère et les capteurs chimique avec des polymères conducteurs et semi-conducteurs [66]. Ces techniques présentent un certain nombre d'inconvénients par exemple :

- + L'ICP-MS est affecté par des interférences spectrales et non spectrales [67].
- + Les AAS, ICP-MS et ASV sont assez coûteux, demandent beaucoup de temps et nécessitent du personnel de laboratoire bien formé et qualifié [67].
- + Les biocapteurs enzymatiques sont moins stables et impliquent des coûts supplémentaires pour la purification et l'isolement de l'enzyme [67].
- + Les biocapteurs à cellules entières ne sont pas spécifiques. Il existe une barrière cellulaire supplémentaire pour la diffusion adéquate du substrat à l'intérieur de la cellule, cette barrière a une réponse lente [67].
- + Les biocapteurs à base de recombinants sont très spécifiques mais impliquent des coûts et du temps supplémentaires pour la conception d'un gène rapporteur particulier [67].
- + Les biocapteurs à base d'ADNzyme et d'aptamères sont hautement spécifiques pour un ion métallique particulier, mais ils affectent la valeur économique du système en raison des étapes de préparation supplémentaires et de la sélection d'un ADN spécifique [67].

Bien que les techniques d'analyses mentionnées ci-dessus soient sensibles et fiables, les méthodes électrochimiques telles que la voltamétrie à onde carrée [68] et la voltamétrie à impulsion différentielle [69] la voltamétrie cyclique et la spectroscopie d'impédance électronique sont considérées comme des outils très prometteurs pour la détection des métaux lourds. Il a été démontré que les électrodes à pâte de carbone modifiée par un ligand ont reçu une attention considérable en raison de leurs nombreux avantages: la facilité de fabrication, l'absence de toxicité, le prix bas [70-72] et très bonne sélectivité [73,74].

Les **Tableaux 9, 10, 11, 12 et 13** présentent les publications récentes traitant les différentes méthodes destinées à la détection des métaux lourds.

**Tableau 9.** Quelques méthodes physiques pour la détection des métaux lourds

Méthode	Elément détecté	Limite de détection	Référence
<b>Spectroscopie d'adsorption atomique (AAS)</b>	Cd <sup>2+</sup>	0.6 µg/l	[75]
	Cu <sup>2+</sup>	3 µg/l	
	Mn <sup>2+</sup>	3 µg/l	
	Zn <sup>2+</sup>	2 µg/l	
	Pb <sup>2+</sup>	20 µg/l	
<b>Spectrométrie d'absorption atomique en four à graphite (GFAAS)</b>	Cd <sup>2+</sup>	0.025 µg/l LQ = 0.083 µg/l	[62]
	Co <sup>2+</sup>	0.16 µg/l LQ = 0.53 µg/l	
	Cu <sup>2+</sup>	0.025 µg/l LQ = 0.083 µg/l	
	Pb <sup>2+</sup>	0.035 µg/l LQ = 0.12 µg/l	
<b>spectrométrie de masse à couplage inductif (ICP-MS)</b>	Cu <sup>2+</sup>	0.07 ng/ml	[64]
	Cd <sup>2+</sup>	0.01 ng/ml	
	Pb <sup>2+</sup>	0.07 ng/ml	
<b>Spectroscopie d'émission atomique à plasma (ICP-AES)</b>	Co <sup>2+</sup> , Ni <sup>2+</sup> , Cu <sup>2+</sup> , Cd <sup>2+</sup>	2 µg/g	[65]
	Mn <sup>2+</sup>	1 µg/g	
	Pb <sup>2+</sup> , Zn <sup>2+</sup>	2.5 µg/g	
<b>spectrométrie d'absorption atomique électrothermique (ETAAS)</b>	Cd <sup>2+</sup>	0.38 pg/l	[76]
	Pb <sup>2+</sup>	9.3 pg/l	

**Tableau 10.** Quelques méthodes électrochimiques pour la détection des métaux lourds

Méthode	Composition de l'électrode*	Élément détecté	Limite de détection	Référence
Voltamétrie à décapage anodique à onde carrée (SWASV)	Overoxidized PmPD-MSA/ Bi modified GCE	Cd <sup>2+</sup>	0.02 µg/l	[77]
		Pb <sup>2+</sup>	0.04 µg/l	
	Électrode bi-film revêtue de Nafion	Cd <sup>2+</sup>	0.1 µg/l	[78]
		Pb <sup>2+</sup>	0.4 µg/l	
	Bi/GCE	Cd <sup>2+</sup>	0.2 µg/l	[79]
		Pb <sup>2+</sup>	0.2 µg/l	
	Électrode à film bi / poly (acide p-amino benzènesulfonique)	Cd <sup>2+</sup>	0.63 µg/l	[80]
		Pb <sup>2+</sup>	0.8 µg/l	
		Zn <sup>2+</sup>	0.62 µg/l	
	Électrodes bi / PANI / graphène	Pb <sup>2+</sup>	0.33Nm	[81]
CPE/PANI-PDTDA CPE/PANI CPE/MBT		Hg <sup>2+</sup>	1.3 10 <sup>-7</sup> M	[82]
			1.5 10 <sup>-5</sup> M	
	3.8 10 <sup>-5</sup> M			
CPE/PANI-PDTDA CPE/PANI CPE/MBT	Pb <sup>2+</sup>	1.7 10 <sup>-7</sup> M	[82]	
		1.3 10 <sup>-6</sup> M		
		6.3 10 <sup>-5</sup> M		
CPE/PANI-PDTDA CPE/PANI CPE/MBT	Cd <sup>2+</sup>	2.9 10 <sup>-7</sup> M	[82]	
		8.6 10 <sup>-7</sup> M		
		1.4 10 <sup>-5</sup> M		
Extraction en phase solide (SPE)	MWCNTs/P2AT-NC	Cd <sup>2+</sup>	0.3ng/ml	[83]
		Pb <sup>2+</sup>	1ng/ml	

**Abréviations:** Bi, Bismuth; MBT, mercaptobenzothiazole; rGO, oxyde de graphène réduit; PAAQ, polyaminoanthraquinone; P2AT-NC, nanocomposite de poly (2-aminothiophénol); PDATT, poly (3,4-diamino-2,2; 5,2-terthiophène); PDTDA : poly (2,2- dithiodianiline); PmPD: poly (m-phénylènediamine); PPZTP, phosphate de titane et de polypyrrole zirconium.\* la composition des électrodes est écrite en anglais.

**Tableau 11.** Quelques biocapteurs enzymatiques et non enzymatiques destinés pour la détection des métaux lourds

Méthode	Composition de l'électrode (Technique)	Elément à détecter	Limite de détection	Référence	
Biocapteurs à base d'enzymes	Glucose oxydase (Ampérométrie)	Hg <sup>2+</sup>	2.5 10 <sup>-6</sup> M	[84]	
		Ag <sup>+</sup>	0.05 10 <sup>-6</sup> M		
		Cu <sup>2+</sup>	5 10 <sup>-6</sup> M		
		Cd <sup>2+</sup>	5 10 <sup>-6</sup> M		
		Fe <sup>3+</sup>	12 10 <sup>-6</sup> M		
		Co <sup>2+</sup>	8 10 <sup>-6</sup> M		
		Ni <sup>2+</sup>	4.8 10 <sup>-6</sup> M		
Biocapteurs à base d'anticorps et de protéines non enzymatiques	L'uréase (Conductométrie)	Cu <sup>2+</sup>	0.02 10 <sup>-3</sup> M	[85]	
		Cd <sup>2+</sup>	0.1 10 <sup>-3</sup> M		
		Pb <sup>2+</sup>	0.9 10 <sup>-3</sup> M		
		Hg <sup>2+</sup>	0.005 10 <sup>-3</sup> M		
Biocapteurs à base d'anticorps et de protéines non enzymatiques	AngiotensinogèneI humain (Voltampérométrie à onde carrée)	Pb <sup>2+</sup>	1.0 10 <sup>-9</sup> M	[86]	
		Anticorps (2A81G5) (Optique –absorption-)	Cd <sup>2+</sup>	0.1 10 <sup>-3</sup> M	[87]
			Phytochélatine Optique	Cd <sup>2+</sup> Zn <sup>2+</sup>	1.42 10 <sup>-9</sup> M

#### 4. Avantages et inconvénients des méthodes physiques

La plupart des méthodes ci-dessus nécessitent l'utilisation d'au moins un réactif, demandent une pré-concentration, produisent des déchets d'analyse, demandent du temps et sont très onéreuses. Le **Tableau 14** montre les avantages et les inconvénients de ces méthodes.

#### 5. Biocapteurs enzymatiques et non enzymatiques

##### A. Biocapteurs enzymatiques

Les enzymes sont des biocatalyseurs impliqués dans diverses réactions biochimiques cellulaires. Le principe des biocapteurs enzymatiques se base sur le fait que les métaux lourds

sont des éléments essentiels pour le fonctionnement de diverses enzymes, ils peuvent même les désactivés en changeant leurs structure. En fonction de l'ion métallique à détecter, les biocapteurs enzymatiques sont classés en : biocapteurs à base d'apoenzyme et d'holoenzyme.

**Tableau 12.** Quelques biocapteurs à base de cellules entières destinés pour la détection des métaux lourds

Composition de l'électrode (Technique)	Élément détecté	Limite de détection	Référence
<b>Vibrio fischeri</b> (Optique-uminescence-)	Hg <sup>2+</sup> , Cu <sup>2+</sup> , Cd <sup>2+</sup> , Pb <sup>2+</sup> , Zn <sup>2+</sup> , Fe <sup>2+</sup>	0.001 mg/L	[89]
<b>Bacillus sphericus</b> (Cyclique Voltamétrie)	Pb <sup>2+</sup>	2.5. 10 <sup>-12</sup> M	[90]
<b>E. coli</b> (Électrochimique impédance spectroscopie)	Hg <sup>2+</sup>	10 <sup>-12</sup> M	[91]
<b>Cellules cardiaques</b> (Potentiomètre)	Hg <sup>2+</sup> , Cu <sup>2+</sup> , Cd <sup>2+</sup> , Pb <sup>2+</sup> , Zn <sup>2+</sup> , Fe <sup>2+</sup>	10. 10 <sup>-6</sup> M	[92]

**Tableau 13.** Quelques biocapteurs à base d'ADN et à base d'oligonucléotides synthétiques (Aptamer) destinés pour la détection des métaux lourds.

Méthode	Composition de l'électrode (Technique)	Élément détecté	Limite de détection	Référence
<b>Biocapteurs à base d'ADN</b>	ADNsb (simple brin)	Pb <sup>2+</sup>	10 <sup>-10</sup> M	[93]
	(Ampéromètre)	Cd <sup>2+</sup>	10 <sup>-9</sup> M	
		Fe <sup>3+</sup>	10 <sup>-7</sup> M	
	ADNzyme comme catalyseur et balise moléculaire (Optique-fluorescence-)	Pb <sup>2+</sup>	6.0. 10 <sup>-10</sup> M	[94]
<b>Biocapteurs Aptamer (à base d'oligonucléotides synthétiques)</b>	ADN aptamère (Électrochimique)	Pb <sup>2+</sup> , Cd <sup>2+</sup>	10 <sup>-18</sup> M	[95]
	Oligonucléotides (ADN aptamère) (Optique-fluorescence-)	Hg <sup>2+</sup>	20. 10 <sup>-3</sup> M	[96]

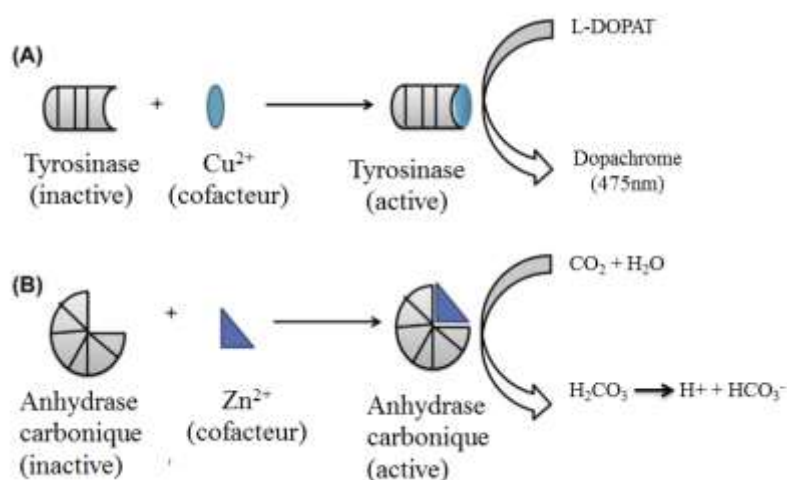
**Tableau 14.** Caractéristiques des quelques méthodes physiques utilisées pour la détection des métaux lourds

Méthode	Élément à détecter	Avantages	Inconvénients	Références
<b>GF-AAS</b>	Quantification du plomb dans l'eau	Sélective, sensible, précise	Demande une pré-concentration, consomme les réactifs, produit des déchets, prend du temps et onéreuse	[97]
<b>Spectrophotométrie</b>		simple, rapide, peu coûteuse	Consomme les réactifs, produit des déchets, une sensibilité et une sélectivité médiocres	[98]
<b>Échantillonnage solide GF-ASS</b>	Détermination du mercure dans le sol	Détermination directe, des résultats rentables, rapides et fiables aux fins du dépistage	Perte possible d'analyte due à la volatilisation	[99]
<b>F-AAS</b>		Simple, économique, précise, sélective, et sensible	produit des déchets toxiques et corrosifs, demande une pré-concentration, consomme les réactifs, prend du temps	[100]
<b>LA-ICP-MS</b>	Détermination des traces de métaux dans les alliages	Non destructive, demande une petite quantité d'échantillon, pas besoin de traitement de l'échantillon	Onéreuse, nécessitent du personnel de laboratoire bien formé et qualifié, possibilité d'interférences	[101]
<b>ET-AAS</b>	Détermination du mercure dans le vin	Précise, et simple	Le Traitement d'échantillons prend beaucoup de temps, consomme des réactifs, produit des déchets	[102]

**Abréviations :** AAS, spectrométrie d'absorption atomique (GF, four à graphite, F, flamme, ET, électrothermique), GC-FID, Chromatographie en phase gazeuse avec détecteur à ionisation de flamme; LA-ICP-MS, ablation laser plasma à couplage inductif spectrométrie de masse.

### a. Biocapteurs à base d'apoenzymes

Dans le cas des biocapteurs à base d'apoenzymes, les métaux lourds activent des enzymes en se liant au site actif des apoenzymes. La **Fig. 1** présente deux exemples de biocapteurs à base d'apoenzyme [103], en présence de  $\text{Cu}^{2+}$ , la tyrosinase est convertie en forme active et qui va assurer par la suite la conversion de L-DOPA (dihydroxyphénylalanine) en dopachrome (un produit de couleur orange et peut être détecté par spectrophotométrie). L'anhydrase carbonique et la phosphatase alcaline sont activés par les ions  $\text{Zn}^{2+}$ . On peut réutiliser les biocapteurs d'apoenzymes en utilisant l'EDTA qui va servir à complexer ces ions métalliques.

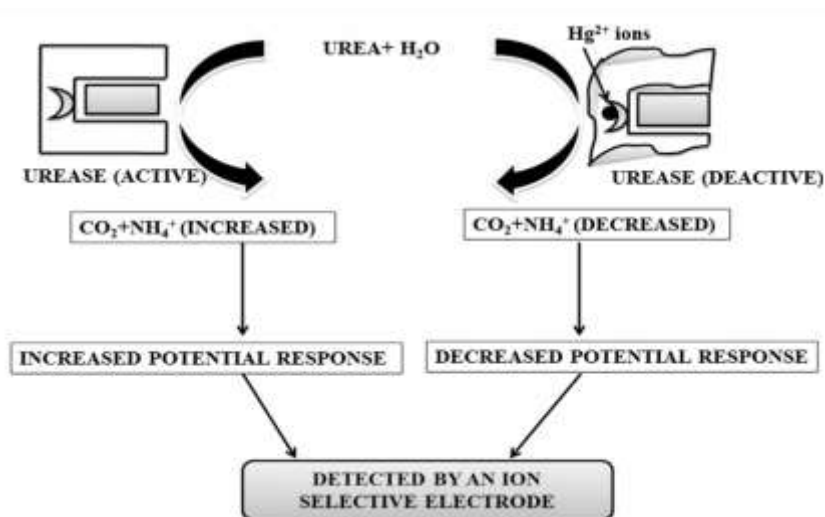


**Fig. 1.** Exemples de biocapteur à base d'apoenzymes: (A) l'apotyrosinase est activé par les ions cuivre; (B) L'anhydrase apocarbonique est activée par les ions zinc.

### b. Biocapteurs à base d'holoenzyme

Dans les biocapteurs à base d'holoenzyme, les métaux lourds inhibent principalement l'activité d'holoenzyme de manière réversible ou irréversible. À titre d'exemple, l'enzyme uréase est utilisée pour la conversion de l'urée en ammoniac et en dioxyde de carbone, entraînant une augmentation du pH de la solution. En présence de  $\text{Hg}^{2+}$ , l'activité de l'uréase est modifiée ce qui entraîne une diminution de la production de l'ammoniac et par conséquent une diminution du potentiel, qui sera détecté par un potentiomètre [104]. Un autre exemple, le biocapteur enzymatique à base d'inhibition réversible au glucose oxydase est utilisé pour détecter  $\text{Hg}^{2+}$  (**Fig. 2**). L'enzyme est immobilisée sur une membrane d'aniline électropolymérisée avec du glutaraldéhyde par réticulation sur une électrode de platine. La présence d'ions  $\text{Hg}^{2+}$  dans l'échantillon inhibe l'activité du glucose oxydase entraînant une réduction du courant sur l'électrode GOx, qui est détecté par le système électrochimique.





**Fig. 2.** Principe de biocapteur basé sur l'inhibition de l'holoenzyme montrant l'inhibition de l'uréase par les ions Hg<sup>2+</sup>.

## B. Biocapteurs non enzymatiques

Les biocapteurs non enzymatique se composent de différentes protéines naturelles, tels que des métalloprotéines ou des anticorps, en tant que biocomposants. Nous allons traiter seulement les biocapteurs à base des anticorps.

Les biocapteurs à base d'anticorps-antigènes peuvent être développés en exploitant la sélectivité et la sensibilité élevées des réactions immunologiques [105]. Ces immunodétecteurs associés à différents transducteurs (électrochimiques, piézoélectriques ou optiques, par exemple) peuvent être utilisés pour quantifier les métaux lourds. Le complexe de ligand-métal génère un signal détectable après la formation d'un complexe anticorps-ligand-métal, ce qui permet de quantifier les métaux lourds. Les anticorps sont préférés aux enzymes en raison de leur grande spécificité vis-à-vis d'un ion métallique particulier [106]. Un certain nombre d'anticorps monoclonaux ont été fabriqués pour les complexes de EDTA-Cd<sup>2+</sup> (acide éthylènediamine tétraacétique), DTPA-Co<sup>2+</sup> (acide diéthylène triamine pentaacétique) et CHXDTPA-Pb<sup>2+</sup> (acide cyclohexyl diéthylène triamine pentaacétique) avec une sensibilité élevée (**Tableau 15**) [107]. En plus, il y a des anticorps monoclonaux qui sont très spécifiques aux complexes EDTA-métal, DTPA-métal ou métal-CHXDTPA (Métal = mercure, plomb, cadmium, nickel ou cuivre). La **Fig. 3** présente un schéma de base des étapes impliquant le mécanisme d'anticorps monoclonal en réponse à un complexe ligand-métal particulier, qui génère un signal fluorescent direct après la liaison avec l'anticorps spécifique.

## 6. Biocapteurs entiers à base de Cellule

Les biocapteurs entiers à base de Cellule se composent principalement de cellules vivantes en contact avec un transducteur, ces cellules peuvent être des bactéries, des algues, des champignons, des plantes ou des cellules mammifères. En présence des métaux lourds, le comportement de la cellule change ce qui donne une réponse à partir de laquelle on peut quantifier ces éléments toxiques [111]. Les cellules entières présentent de nombreux avantages par rapport aux enzymes et les anticorps, car elles se développent facilement dans un milieu optimal peu coûteux et s'adaptent facilement aux modifications des conditions de réaction [112]. Malgré ceci, cette méthode a une faible sélectivité, faible sensibilité et demande beaucoup de temps afin que la cellule donne une réponse.

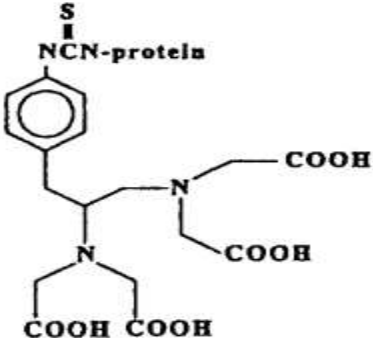
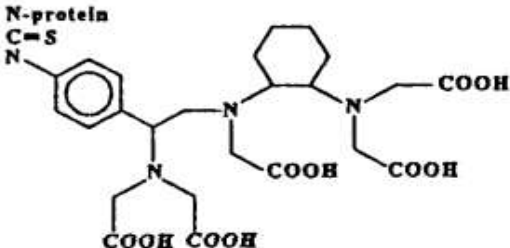
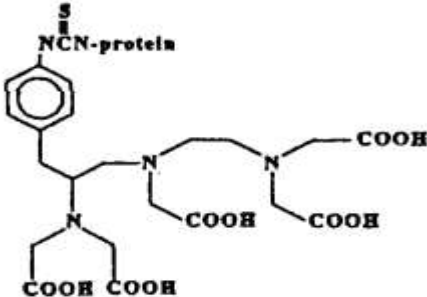
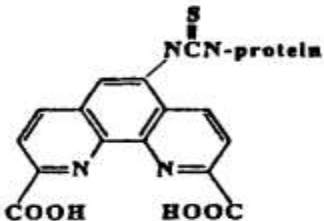
La **Fig. 4** donne un exemple d'application des biosenseurs à base de cellule entière pour la détection des métaux lourds. La cellule bactérienne *Bacillusadius* a été utilisée pour la détection de  $\text{Cd}^{2+}$  dans le lait. Les cellules ont été immobilisées sur des disques en plastique. La présence d'ions  $\text{Cd}^{2+}$  inhibe l'activité de l'uréase présente à l'intérieur de la cellule bactérienne en se fixant au site de l'enzyme autre que le site catalytique. Cela se traduit par une diminution de la production d'ions ammonium et par conséquent une diminution de l'absorbance, détectée à l'aide de transducteurs optiques [113].

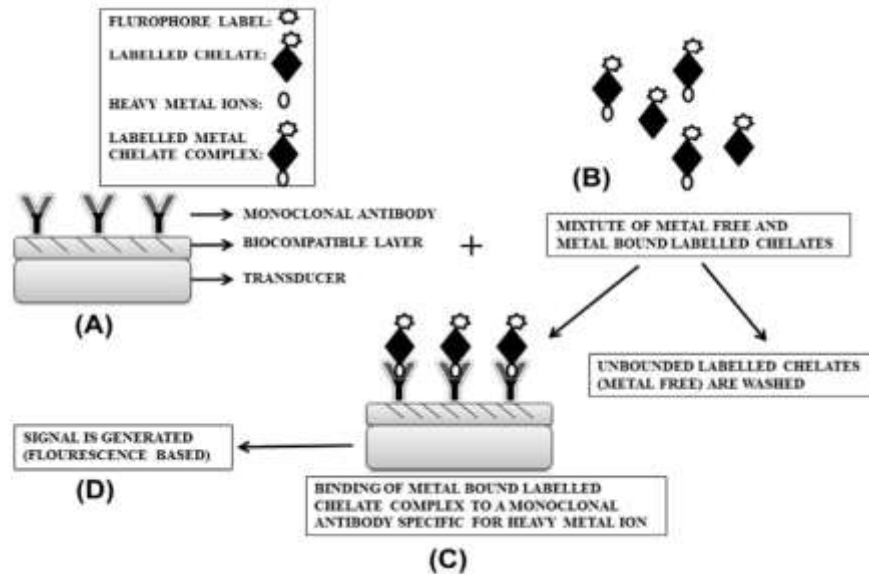
De nombreux métaux lourds tels que le mercure, le nickel, le cadmium et le plomb peuvent inhiber l'activité enzymatique de l'uréase. De la même manière, la *Bacillus sphaericus* a été utilisée pour détecter les ions de  $\text{Ni}^{2+}$  dans la farine de blé. Des espèces de chlorelles immobilisées sur une électrode en carbone vitreux ont été utilisées pour détecter le mercure, avec une limite de détection de  $10^{-14}$  M [114].

Le biocapteur entier recombinant une version améliorée des biosenseurs à base de cellule entière, consiste à construire un gène promoteur spécifique d'un métal lourd particulier, puis le gène est ajouté en amont du gène rapporteur présent dans la cellule hôte [115]. La **Fig. 5** montre un biocapteur bactérien (*E. Coli* DH5a) capable de quantifier le  $\text{Pb}^{2+}$  par l'utilisation de protéines fluorescentes vertes (GFP). Un gène de protéine régulatrice (PbrR) joue le rôle d'élément de bio-reconnaissance conjointement avec  $\text{PbO} / \text{P}$  opérateur / promoteur de l'opéron pour la résistance au plomb du plasmide (pMOL30) régulant l'expression du gène rapporteur *gfp*. Le gène construit peut détecter la présence d'ions  $\text{Pb}^{2+}$ .

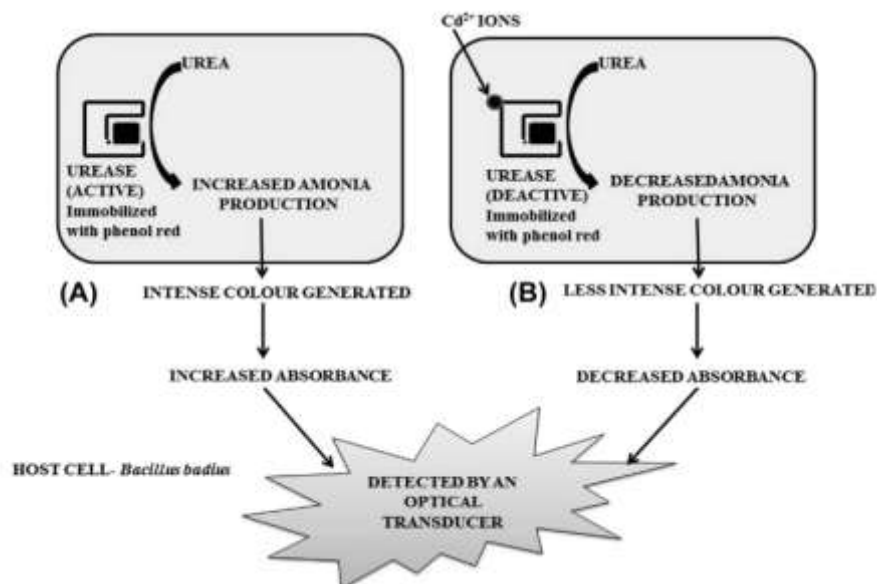
L'expression accrue des gènes de la *gfp* entraînent une augmentation du signal fluorescent.

**Tableau 15.** Interactions d'anticorps monoclonaux avec des complexes Ligand-métal

Désignation d'anticorps	Chélate utilisé comme immunogène	Complexe Ligand-Métal Soluble	Constante d'équilibre de dissociation
2A81G5		+ EDTA-Cd <sup>2+</sup> + p-nitrobenzyl-EDTA-Cd <sup>2+</sup> + BSA-thiouréido-L-benzyl-EDTA-Cd <sup>2+</sup>	[108,109] + 2.1. 10 <sup>-8</sup> + 5.6. 10 <sup>-10</sup> + 7.2. 10 <sup>-11</sup>
2C12		+ DTPA-Pb <sup>2+</sup> + BSA-thiouréido-L-benzyl-DTPA-Pb <sup>2+</sup> + CHXDTPA-Pb <sup>2+</sup> + BSA-thiouréido-L-benzyl-CHXDTPA-Pb <sup>2+</sup>	[108,109] + 1.0. 10 <sup>-5</sup> + 1.8. 10 <sup>-9</sup> + 8.4. 10 <sup>-9</sup> + 1.7. 10 <sup>-9</sup>
15B4		+ DCP-Co <sup>2+</sup> + BSA-thiouréido-L-benzyl-DTPA	[110] + 5.2. 10 <sup>-8</sup> + Non déterminé
8A11		+ DCP-U <sup>6+</sup> + BSA-thiouréido-L-benzyl-DCP	[110] + 5.5. 10 <sup>-9</sup> + 1.2. 10 <sup>-9</sup>



**Fig. 3.** Représentation schématique de la construction de biosenseurs à base d'anticorps monoclonaux (immunosenseurs).



**Fig. 4.** Biocapteur à base de cellules entières. (A) en absence de  $Cd^{2+}$ , l'uréase augmente la production de l'ammoniac. (B) en présence de  $Cd^{2+}$ , l'uréase se désactive ce qui diminue la production de produit moins l'ammoniac ( $Cd^{2+}$  se fixe à l'uréase à l'intérieur de la cellule).

## 7. Biocapteurs à base d'ADN

Dans les biocapteurs à base d'ADN, la détection des métaux lourds est basée sur leur capacité à se lier à certaines bases azotées des nucléotides d'ADN (**Fig. 6**), ce qui donne un duplex d'ADN stable (dépendant du métal) [116]. Le plomb est capable de se lier à la guanine et l'adénine ce qui entraîne des dommages oxydatifs de l'ADN. Le cadmium et le nickel exercent une force sur la molécule d'ADN ce qui affecte sa conformation et sa stabilité, cette déstabilisation est détectée par transduction électrochimique (**Fig. 7**) [117,118]. L'ADNzymes

ou balises moléculaires est un ADN à double brin (ADNdb) utilisé comme biocomposant grâce à sa propriété catalytique. Les biocapteurs à ADNzyme sont très utilisés pour quantifier le plomb dans divers milieux. La limite de détection de  $Pb^{2+}$  par ce biocapteur est à l'ordre de  $1.0 \cdot 10^{-8} M$  [119].

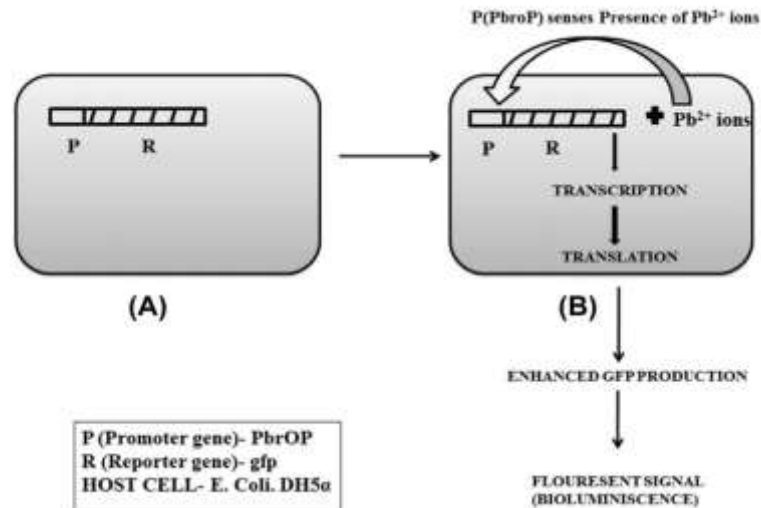


Fig. 5. Biocapteur à base des cellules entières génétiquement modifiées.

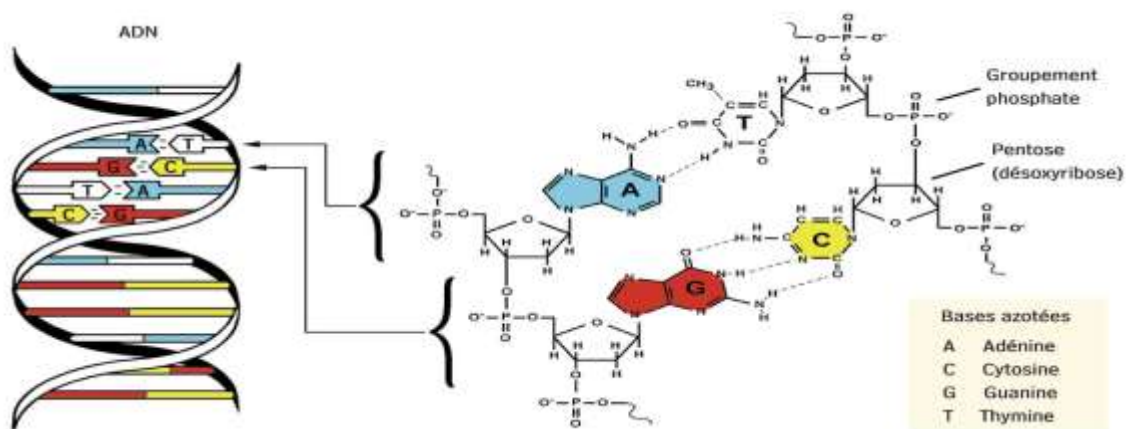
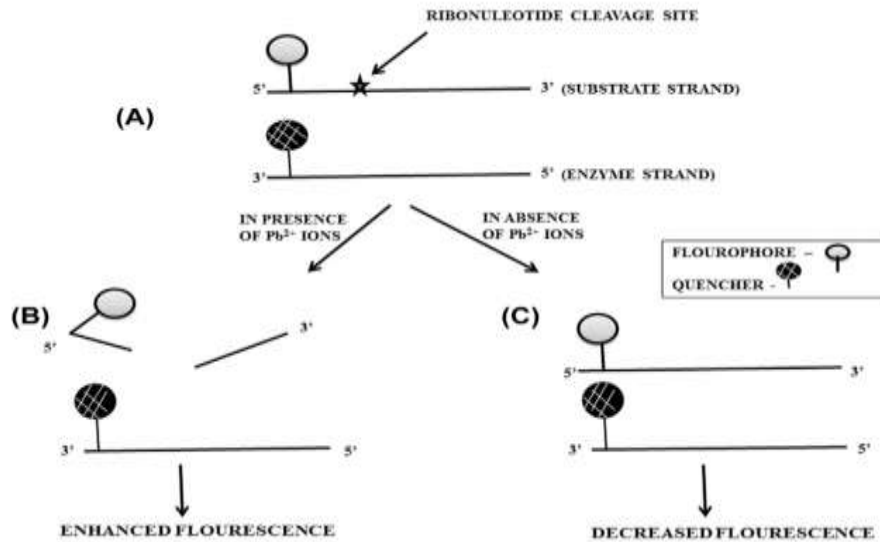


Fig. 6. Structure des nucléotides d'ADN

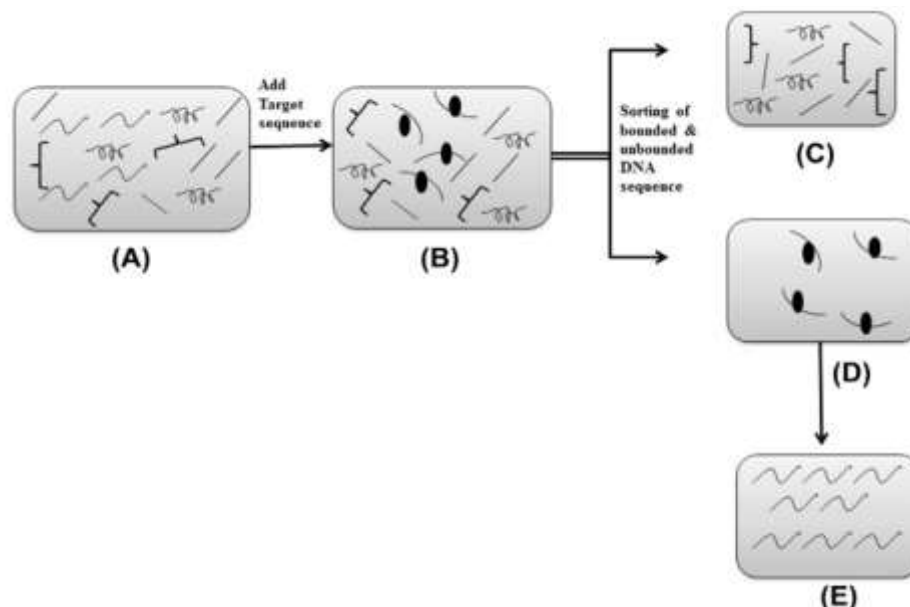
## 8. Biocapteur d'aptamère

La SELEX (Systematic Evolution of Ligands by Exponential enrichment) est une méthode *in vitro* de sélection et d'amplification des acides nucléiques spécifiques capables de se lier à une molécule cible avec une grande affinité et spécificité [119], et les oligonucléotides résultants ont été appelés aptamères, du latin « aptus = adapté à ». Les aptamères sont typiquement composés d'ARN, d'ADN simple brin ou d'une combinaison de l'un d'eux avec des nucléotides de synthèse. Ils ont une taille pouvant aller de 6 à 40kDa. La Fig. 8 illustre les principales étapes de la construction d'aptamères en utilisant l'approche

SELEX. Les aptamères sont plus stable par rapport aux enzymes, aux cellules entières, aux cellules recombinantes et à l'ADN, ayant une longue durée de vie, une spécificité et une affinité élevées pour un large éventail de cibles [107].



**Fig. 7.** Biocapteur à base d'ADNzyme pour la détection de  $Pb^{2+}$ . (A) brin substrat attaché à un fluorophore, brin enzymatique attaché à un extincteur, (B) clivage du brin substrat au site de clivage du ribonucléotide par le brin enzymatique en présence de  $Pb^{2+}$  entraînant une amélioration de la fluorescent grâce à l'absence du fluorophore, (C) diminution de la fluorescence due à l'absence de clivage en absence de  $Pb^{2+}$ .



**Fig. 8.** Représentation schématique de la construction d'un aptamère. (A) Séquences oligonucléotidiques d'ADN de la banque d'ADN. (B) Incubation avec une séquence cible. (C) séquences non liées. (D) séquences liées avec une cible particulière. (E) Amplification des séquences liées sélectionnées en utilisant la PCR.

La détection colorimétrique des ions  $\text{Hg}^{2+}$  a été réalisée en utilisant des aptamères anti- $\text{Hg}^{2+}$  et des nanoparticules d'or nu comme sonde colorimétrique. L'aptamère généré (ADNss) est riche en bases thymine (T) et donne lieu à la formation du complexe T- $\text{Hg}^{2+}$ -T (ADNdb) en réponse à la présence d'ions  $\text{Hg}^{2+}$  dans l'échantillon. Le changement de conformation d'aptamère provoqué par  $\text{Hg}^{2+}$  est mesuré par la méthode spectrométrique. Le capteur a une limite de détection de l'ordre de 0,6 nM pour les ions  $\text{Hg}^{2+}$  [121].

## II. Complexation des métaux

### 1. Postulats d'Alfred Werner

Alfred Werner (1866-1919, prix Nobel en 1913), un chimiste alsacien, est considéré comme le fondateur de la chimie de coordination. A la fin du 19e siècle, on se posait beaucoup de questions sur les composés des métaux de transitions, que l'on savait analyser. Par exemple, les solutions de chlorure de cobalt dans l'ammoniaque, desquelles on isolait des produits correspondant à une analyse élémentaire  $\text{CoCl}_3 \cdot 6\text{NH}_3$ .

C'est en 1893 que Werner eut l'inspiration que le nombre de groupement fixés sur l'ion métallique n'est pas forcément égal à son nombre d'oxydation. D'où les trois postulats qu'il proposa :

1) Les métaux possèdent deux types de valence, la valence primaire qui correspond à la formation de l'ion et une valence secondaire, qui correspond au nombre de groupements fixés sur l'ion métallique.

2) La valence primaire correspond au nombre d'oxydation

3) La valence secondaire correspond au nombre de coordination.

+ La valence primaire est satisfaite par des ions. Dans l'exemple ci-dessus, trois ions chlorures  $\text{Cl}^-$ .

+ La valence secondaire est satisfaite par des ions (positifs ou, le plus souvent, négatifs) ou par des molécules.

+ Dans l'exemple ci-dessus : on écrira donc la formule du complexe :  $[\text{Co}(\text{NH}_3)_6]\text{Cl}_3$ . Le cation  $[\text{Co}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$  est l'entité complexe, raison pour laquelle on l'écrit entre parenthèses carrées.

+ Les valences secondaires sont dirigées vers des positions fixes de l'espace autour de l'atome central (**Fig. 9**)

Le polyèdre dont les sommets sont constitués par les atomes directement liés à l'ion métallique s'appelle le polyèdre de coordination.

## 2. Définition du complexe

Un complexe est constitué d'un ion métallique central sur lequel viennent se fixer un certain nombre de molécules neutres ou d'ions, appelés ligands. Les propriétés chimiques de l'assemblage qui en résulte dépendent de la nature de la liaison entre l'ion métallique et les ligands (ion-dipôle, ionique) et de l'arrangement géométrique de ceux-ci autour de l'ion central, lui-même contrôlé par les propriétés électroniques de l'ion et des ligands. Deux exemples d'arrangements octaédriques sont présentés dans la **Fig. 10**, dans lesquels l'assemblage se fait soit par liaisons ion-dipôle (ici entre le cation et le dipôle de l'eau) ou ion-ion (entre le cation et le chlorure). L'arrangement choisi est octaédrique, une géométrie que l'on retrouve souvent dans les complexes des cations métalliques 3d, (c'est-à-dire de la première série de transition).

Lorsqu'un ion s'entoure de ligands pour former un complexe, on parle de réaction de complexation. Ces réactions provoquent souvent des changements de couleur, démontrant que les propriétés électroniques des complexes sont différentes de celles des réactifs de départ.

La spécialité qui étudie les liaisons entre les ligands et les cations est nommée chimie de coordination.

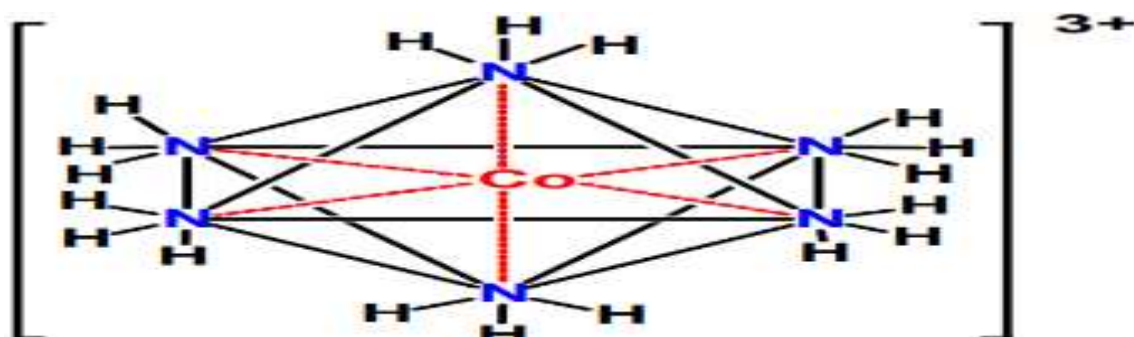


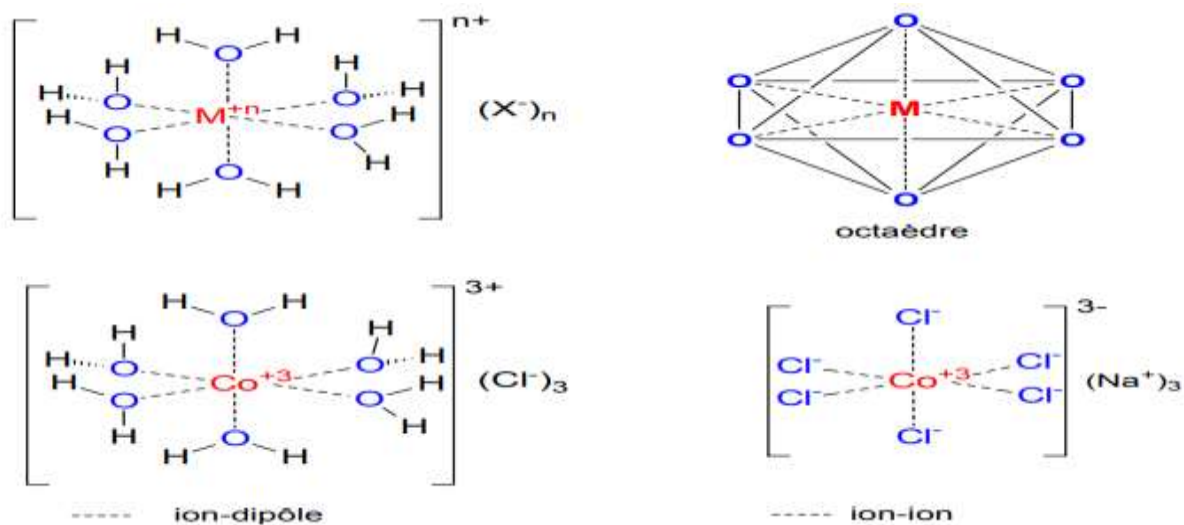
Fig. 9. Structure du complexe Hexaminecobalt(III) chlorure

## 3. Types de complexes

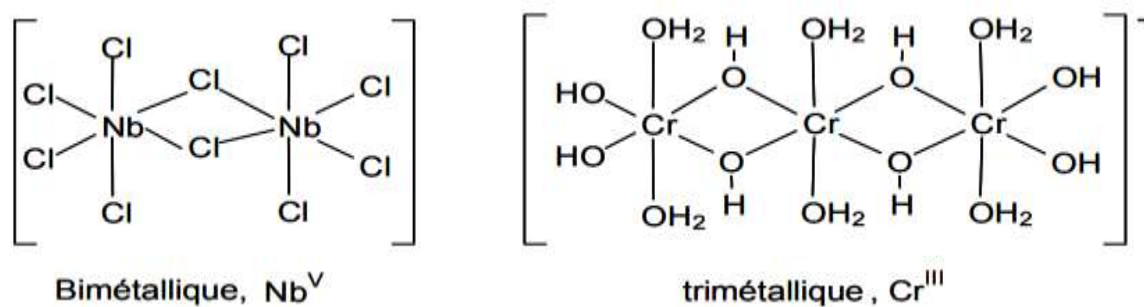
La classification des complexes se base sur le nombre d'ions (ou d'atomes) centraux qu'ils comportent. Les complexes dont les formules sont données dans la **Fig. 10** sont organisés autour d'un seul ion central. Ce sont des complexes monométalliques (on dit aussi mononucléaires). Si l'entité complexe comporte deux ou plusieurs ions métalliques on la désigne par les termes bimétalliques (binucléaire), trimétallique (trinucléaire) ou polymétallique (polynucléaire) (**Fig. 11**). Dans ces exemples, les ions métalliques sont



éloignés les uns des autres. Lorsque la distance diminue, il peut se former des liaisons métal-métal, le complexe résultant est appelé agrégat (cluster en anglais) (**Fig. 12**).



**Fig. 10.** Exemples d'arrangements octaédriques : ion-dipôle et ion-ion



**Fig. 11.** Quelques types de complexe

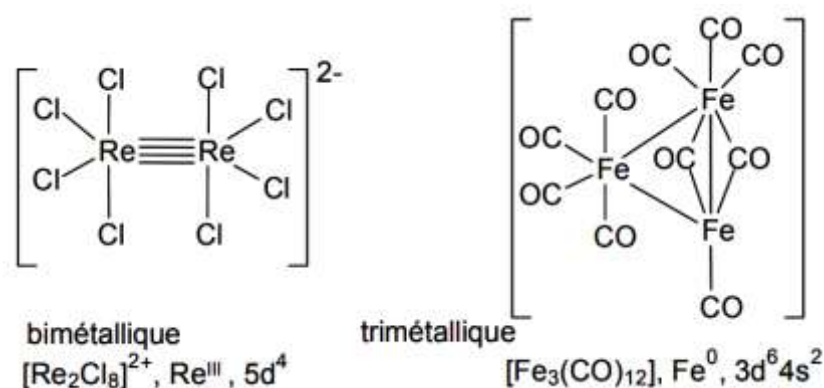


Fig. 12. Structure des agrégats

#### 4. Ligands

Les molécules ou les atomes qui entourent l'atome central sont les ligands (coordinats), connectés au centre métallique par une liaison chimique. Les ligands sont classés selon leur structure et le nombre d'atomes donneurs (**Tableau 16**). Certains ligands se comportent différemment suivant les situations. Par exemple le nitrate (**Fig. 13**).

#### 5. Concept de dureté/mollesse (La théorie HSAB)

La capacité des ions à interagir ou à former des liaisons de coordination avec d'autres ions ou avec des ligands dépend de la disponibilité de leurs électrons de valence et des orbitales moléculaires vides [122]. Cette caractéristique, plus importante que tout effet électrostatique et due à des interactions ion-ion, ion-dipôle et ion-multipôle (principalement gouvernées par la charge et la taille des ions), peut être décrite grâce aux paramètres de dureté/mollesse et aux paramètres d'acidité/basicité de Lewis des espèces.

Le concept de dureté chimique a été défini par Pearson [24] en 1963 en relation avec une étude de la réaction générale acide-base de Lewis :



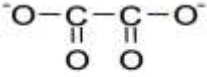
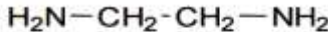
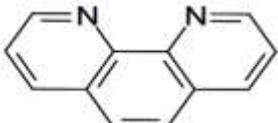
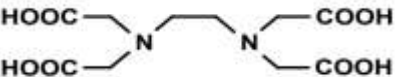
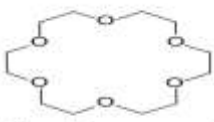
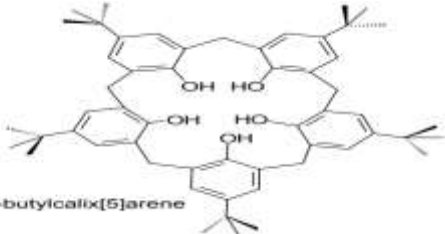
Où A est un acide de Lewis, ou accepteur d'électrons, et B est une base, ou donneur d'électrons.

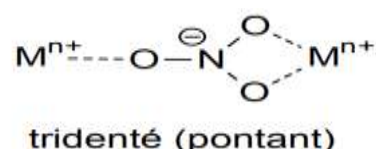
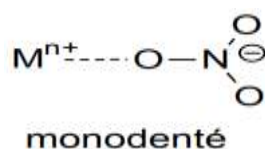
Ahrland, Chatt et Davies ont proposé une classification empirique des ions métalliques selon trois groupes : classes A, B et « frontière ». Cette classification est basée sur l'affinité de ces ions pour des ligands possédant des atomes donneurs des groupes V A (N, P), VI A (O, S) et VII A (halogènes). Les classes A et B correspondent à la notion d'acides respectivement durs (A) et mous (B) de Pearson (**voir Tableau 3 page 7**).

**Les acides durs** : sont caractérisés par une faible électronégativité ( $\chi$ ) de l'atome donneur, une valeur entre 0.7 et 1.6 est caractéristique des acides durs, ils sont relativement petits, relativement chargé ( $\geq 3+$ ). Les ions les plus chargés du côté gauche du bloc d,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ , et  $\text{Al}^{3+}$  sont des exemples d'acides durs. Difficiles à oxyder (acides), densité de charge élevées des sites accepteurs (acides).

**Les bases dures** : sont caractérisées par un atome donneur petit, ayant une électronégativité ( $\chi$ ) très élevée (entre 3.4 et 4) ces deux facteurs impliquent un nuage électronique non polarisable de l'atome donneur. Les deux seuls atomes donneurs avec des électronégativités dans l'éventail spécifié sont l'oxygène et le fluor. Donc les bases dures sont ceux dont l'atome donneur est soit O ou F. Des exemples de bases dures sont  $\text{O}_2^-$ ,  $\text{F}^-$ ,  $\text{OH}^-$ ,  $\text{CO}_2^{3-}$  et  $\text{PO}_4^{3-}$ . Difficiles à réduire (bases), densité de charges élevées des sites donneurs (bases).

**Tableau 16.** Types de ligands

Type de ligand	Exemples	
<b>Monodentés</b>	$\text{H}_2\text{O}$ , $\text{NH}_3$ , $\text{CH}_3\text{OH}$ , $\text{OH}^-$ , $\text{Cl}^-$ , $\text{NCS}^-$	
	 oxalate	 1,2-diaminoéthane (éthylènediamine, en)
<b>Bidentés</b>	 ortho-phénanthroline o-phen	
<b>Polydentés</b>	 acide éthylènediamine tétraacétique edta	
<b>Macrocycliques</b>	 éther 18-couronne-6  <i>p</i> -tert-butylcalix[5]arene	
<b>Pontants (Les ligands liés à deux ions métalliques)</b>	$\text{Cl}^-$ dans $\text{Nb}_2\text{Cl}_{10}$ , $\text{OH}^-$ dans $[\text{Cr}_3(\text{OH})_8(\text{H}_2\text{O})_6]$	



**Fig. 13.** Différents types de ligands adoptés par le nitrate

**Les acides mous** : sont caractérisés par un atome donneur: Gros, ayant une électronégativité ( $\chi$ ) intermédiaire à élevée (entre 1.9 et 2.5) et faiblement chargé (+1, +2). Faciles à oxyder, densité de charge des sites accepteurs. Des exemples d'acides doux incluent  $\text{Cu}^+$ ,  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Au}^+$ ,  $\text{Ag}^+$ , et  $\text{Pb}^{2+}$ , ces métaux sont tous rassemblés dans la même région du tableau périodique.

**Les bases molles** : sont caractérisées par un atome donneur dont l'électronégativité est intermédiaire à élevée (2.1-3.0), le volume est grand menant à la polarisabilité. Facile à réduire, faible densité de charge des sites donneurs. Les exemples de bases molles sont  $\text{S}^{2-}$ ,  $\text{PEt}_3$ ,  $\text{RSe}^-$ ,  $\text{I}^-$ , et  $\text{Br}^-$ , ceux-ci se trouve dans les groupes 15-17 dans les périodes avec  $n \geq 3$ .

**Les acides limites** : qui sont intermédiaires entre acides durs et doux. Donc ils ont tendance à avoir une charge moins faible et un volume un peu plus grand que les acides durs, et plus chargé et un volume un peu plus petit que les acides doux. Les ions  $2+$  du bloc d, tel que  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$  et  $\text{Zn}^{2+}$  sont des acides limites.

**Les bases limites** : qui sont intermédiaires entre les bases dures et molles. Elles ont tendance à être plus grosses et moins électronégatives que les bases dures, plus petites, et plus électronégatives que les bases molles. Les bases dont l'atome donneur est N ou Cl tel que  $\text{NH}_3$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{R-Cl}$ , et la pyridine sont des bases limites.

## 6. Hyperammoniémie

### 6.1. Introduction

L'hyperammoniémie est un trouble métabolique caractérisé par un excès d'ammoniaque dans le sang. L'hyperammoniémie (HA) est une complication bien connue des maladies hépatiques aiguës et chroniques et joue un rôle central dans la pathogenèse de l'encéphalopathie hépatique (HE) [123]. Ce dysfonctionnement neurologique résulte, au moins en partie, d'une augmentation de l'ammoniac plasmatique. Le niveau et la sévérité des symptômes sont en corrélation avec le niveau d'ammoniac dans le sang [124].

L'ammoniac est produit par de nombreux tissus, mais sa principale source externe résulte des activités de la désaminase et de l'uréase de la flore intestinale. Les traitements classiques, sauf par la transplantation du foie et les thérapies de remplacement du foie, consistent à réduire la production d'ammoniac des bactéries à l'uréase positive par les antibiotiques ou à diminuer l'absorption d'ammoniac dans l'intestin en acidifiant le contenu du côlon avec des sucres non absorbables tels que le lactulose [125]. Cependant, ces traitements sont insuffisants en raison de leurs effets secondaires, de leur toxicité, de leur faible observance thérapeutique et de leur manque d'effet évident sur la survie [126].

## 6.2. Métabolisme et effets métaboliques d'ammoniac

Pour comprendre les conséquences des traitements et du diagnostic de l'hyperammoniémie aiguë, il est important de passer en revue les voies de production, de métabolisme et d'excrétion de l'ammoniac. Le métabolisme de l'ammoniac implique principalement cinq organes: l'intestin, les reins, les muscles, le foie et le cerveau. L'ammoniac est produit principalement dans l'intestin, mais aussi dans les reins et les muscles. Dans le tractus gastro-intestinal, l'ammoniac est un sous-produit de la digestion des protéines et du métabolisme bactérien [127]. Dans les reins, l'ammoniac est essentiel pour le traitement rénal de l'acide. L'ammonium est synthétisé à partir de glutamine dans le tube proximal et se concentre en fin de compte dans l'interstitium médullaire [128], où il est soit libéré dans la circulation systémique, soit utilisé pour faciliter l'excrétion des protons. La production rénale d'ammoniac est dynamique et augmente avec l'altération de l'état acide-base du rein et avec l'hémorragie gastro-intestinale [129]. Enfin, le muscle squelettique peut également produire de l'ammoniac, généralement lors de crises convulsives ou lors d'exercices intenses [130]. Le foie est l'organe principal responsable de la dégradation de l'ammoniac.

## 6.3. Cycle de l'urée

L'ammoniac dans le système veineux (qui est produit par la digestion des protéines dans la circulation splanchnique et par le muscle en périphérie) est métabolisé en urée au cours du cycle de l'urée (**Fig. 14**). À la première étape du cycle de l'urée, dans les mitochondries, la carbamyl phosphate synthase produit du carbamyl phosphate à partir d'ammonium et de  $\text{HCO}_3^-$  avec consommation de l'ATP. Par la suite, le phosphate de carbamyle réagit avec l'ornithine pour produire de la citrulline catalysée par l'ornithine transcarbamylase (OTC). La citrulline sort des mitochondries et passe dans le cytosol et réagit avec l'acide aspartique de sorte que l'arginosuccinate synthase produit de l'arginosuccinate. L'arginosuccinate est dégradé en arginine et en acide fumarique par l'arginosuccinate lyase. L'arginine est dégradée en urée et en ornithine par l'arginase. Lorsqu'il y a un changement aigu des charges en azote à court terme dans les aliments ingérés, l'activation de la carbamyl phosphate synthase via l'acide nacétylglutamique stimule le cycle de l'urée [131]. L'ornithine transcarbamylase est une enzyme contenant du zinc, et une carence en zinc a été indiquée pour réduire l'activité enzymatique [132].

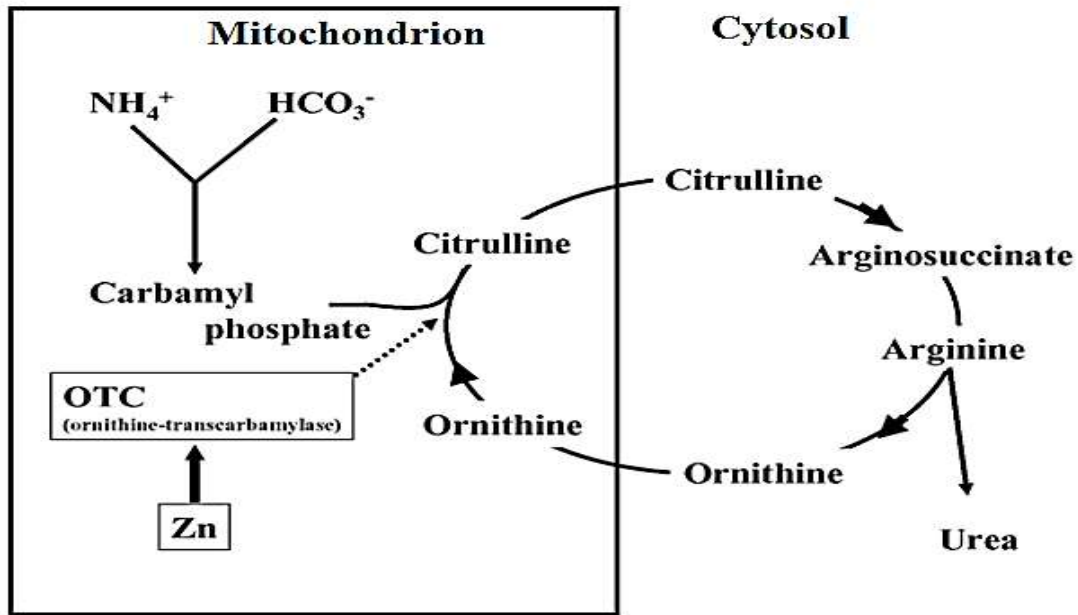
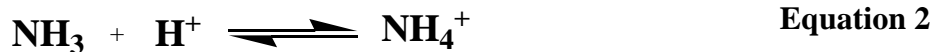


Fig. 14. Cycle de l'urée [133].

Lorsque la capacité du foie à métaboliser l'ammoniac est dépassée (la production d'ammoniac est supérieure à la capacité métabolique du foie ou bien le foie est incapable de métaboliser l'ammoniac) son élimination dépend des reins, des muscles et du cerveau. En cas d'hyperammoniémie, les reins diminuent la production d'ammoniac et augmentent l'excrétion urinaire d'ammoniac [129]. Le muscle [134] et le cerveau métabolisent l'excès d'ammoniac en glutamine [135]. Lorsque les niveaux d'ammoniac augmentent fortement dans le cerveau, la fonction des astrocytes et des neurones est affectée.

#### 6.4. Relation entre l'ammoniac (NH<sub>3</sub>) et l'ammonium (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>)

Le plus souvent, l'ammoniac fait référence à la concentration en ammoniac total, c'est-à-dire NH<sub>3</sub> et NH<sub>4</sub><sup>+</sup>. L'ion ammonium est formé à partir d'ammoniac et vice versa lors d'une réaction d'équilibre (Equation 2) :



Avec un pKa d'environ 9.2 à 37 ° C et à un pH physiologique de 7.3, la majeure partie de l'ammoniac (99%) est sous forme de NH<sub>4</sub><sup>+</sup>. Cet ion ammonium est non diffusible et ne peut être transporté que par des procédés véhiculés par un porteur [136], La molécule d'ammoniac NH<sub>3</sub> est lipophile et peut facilement diffuser à travers les membranes cellulaires.

Le contenu intestinal, l'urine, les cellules et les organites cellulaires ont un pH différent de celui du plasma, cela affectera l'équilibre entre NH<sub>4</sub><sup>+</sup> et NH<sub>3</sub> [137]. Un environnement alcalin favorise le NH<sub>3</sub> non dissocié qui est transporté plus efficacement que le NH<sub>4</sub><sup>+</sup> dans les

tissus. Des compartiments plus acides que le plasma agiront comme des pièges à  $\text{NH}_4^+$  (urine tubulaire acide, lysosomes, synaptosomes) [137].

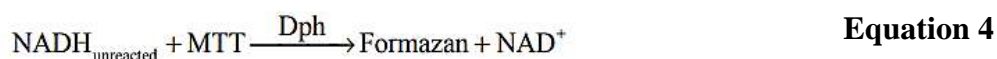
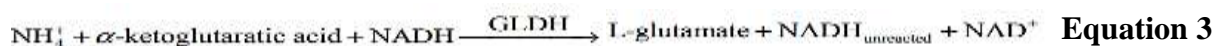
## 6.5. Méthodes de détection de l'ammoniac et l'ammonium

### a. Etude comparative

La détermination de l'ammoniac ( $\text{NH}_3$ ) dans les échantillons environnementaux est devenue de plus en plus importante. En général, l'ammoniac existe sous forme gazeuse ( $\text{NH}_3$ ) ou sous forme d'ions ammonium dans l'eau ( $\text{NH}_4^+$ ) [138]. L'ammoniac fait partie du cycle naturel de l'azote et est rejeté dans l'environnement par des processus naturels tels que la décomposition de la matière organique, les excréments humains et animaux ou les éruptions volcaniques [139]. Diverses approches ont été développées pour détecter l'ammoniac dissous dans un environnement aqueux en utilisant des méthodes électrochimiques ou optiques [140,141].

Plusieurs documents ont été publiés sur la détermination de l'ammoniac dissous en utilisant un système enzymatique. La réaction a impliqué l'utilisation de l'enzyme glutamate déshydrogénase (GLDH), qui nécessite le cofacteur  $\beta$ nicotinamide adénine dinucléotide (NADH) et l'ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ) pour la conversion enzymatique du 2-oxoglutarate en L-glutamate ( $\text{LD} = 0.29 \cdot 10^{-6} \text{ M}$ ) [142,143]. Au cours de la réaction, le NADH s'oxyde en  $\text{NAD}^+$ , permettant ainsi la surveillance indirecte de l'ammonium en mesurant la consommation de NADH soit ampérométriquement à un potentiel de +0.76 V, soit optiquement à une longueur d'onde de 340 nm. La détection ampérométrique du NADH présente une certaine complexité, comme l'implication de hauts surpotentiels et la formation de sous-produits qui ont provoqué l'adsorption de dimères  $(\text{NAD})_2$  qui encrassent la surface de l'électrode [144,145].

Un biocapteur optique destiné pour la détermination de l'ammonium a été développé par immobilisation de glutamate déshydrogénase (GLDH) et de diaphorase (Dph) dans un film de chitosane déposé sur une lame de verre en utilisant le bromure de thiazolyl bleu tétrazolium (MTT) comme indicateur de couleur ( $\text{LD} = 11 \cdot 10^{-6} \text{ M}$ ). Le biocapteur développé affiche une formation de formazan de couleur violette attribuée au NADH n'ayant pas réagi dans le système réactionnel en présence d'ammonium. L'intensité de la couleur diminuait proportionnellement avec l'augmentation de la concentration d'ammonium [146]. La réaction enzymatique impliquée est montrée dans les équations suivantes:



Des électrodes composites à base de nanotubes de carbone (CNT) / cuivre sont utilisées pour déterminer l'ammonium. Il est possible de détecter l'ammoniac à faible potentiel (-0.120 V par rapport à Ag / AgCl) et à des valeurs de courant plus élevées. La limite de détection est de l'ordre de  $3.47 \cdot 10^{-6} \text{ M}$  [147].

Un capteur d'ammoniac à l'état solide non réversible basé sur la formation de bleu d'indophénol a été mis au point. Ce capteur colorimétrique à l'état solide atteint l'intensité de couleur maximale en environ 3 minutes à la température ambiante (environ  $20^\circ \text{ C}$ ). Un système d'imagerie semi-automatique constitué d'une caméra numérique noir et blanc éclairée par des voyants rouges, verts et bleus a été développé pour mesurer les réponses du capteur [148]. Le schéma réactionnel de formation d'indophénol est montré dans la Fig. 15.

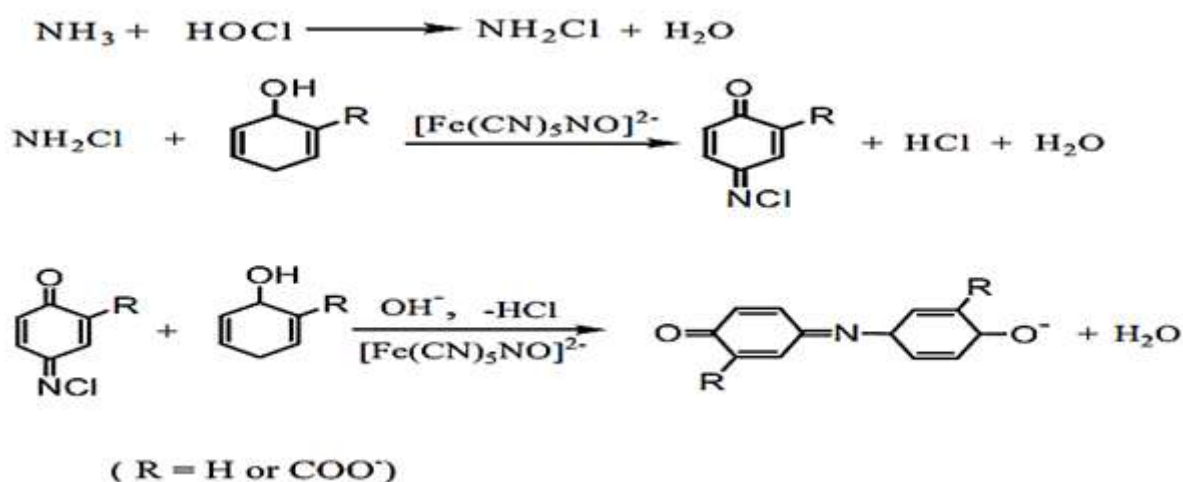
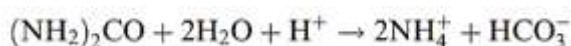


Fig. 15. Mécanisme de la formation d'indophénol [148].

K. Fukushi et al ont développé une électrophorèse par zone capillaire (CZE) avec détection directe par UV pour la détermination de l'ammonium. La limite de détection de l'ammonium était de 0.24 mg / l [149].

L'ion ammonium et le bicarbonate sont des produits métaboliques de l'urée avec une réaction enzymatique de l'uréase (Equation. 5). Par conséquent, l'urée peut être détectée en détectant son produit métabolique, à savoir l'ion ammonium [150,151]. En particulier, les méthodes basées sur la réaction de Berthelot [152] ont été largement utilisées. La réaction est très sélective pour l'ammoniac et la méthode est rapide et sensible. Les électrodes sélectives à l'ion ammonium sont également utilisées le plus souvent en tant que biocapteurs potentiométriques dans lesquels des enzymes ou des cellules microbiennes sont immobilisées à la surface du capteur [150,153,154].



Equation 5



Le capteur d'ammonium à base de poly (chlorure de vinyle) carboxylé plastifié (PVC-COOH), dont la membrane contient de la nonactine sous forme d'ionophore, présente les meilleures performances ( $10^{-6}$  M) [155,156] et permet la détermination directe de l'ion ammonium sans aucun prétraitement préalable. Les méthodes spectrophotométriques [150-153], potentiométriques [153] et ampérométriques [157] sont aussi utilisées pour détecter  $\text{NH}_4^+$ .

Des nanoparticules d'argent [158] et le réactif de Nessler ont été mis au point pour détecter l'ammoniac. Une chromatographie en phase liquide à haute performance couplée à un détecteur de fluorescence a été utilisée pour la détection d'ammonium.

### **b. Inconvénients des méthodes d'analyse de l'ammoniac et de l'ammonium**

Les méthodes basées sur la réaction de Berthelot ont des inconvénients importants liés à la température requise élevée (60 °C), la rendant impropre à une application in situ, et l'instabilité des réactifs utilisés [159]. Dans la méthode colorimétrique, le réactif phénolique et son sous-produit de la réaction sont hautement toxiques. La méthode spectrophotométrique sera perturbée par d'autres composés photo-actifs. Les méthodes optiques et chromatographiques nécessitent une grande instrumentation pour la détection du signal. Un capteur potentiométrique d'ammoniac basé sur un échangeur d'ions phosphate de zirconium et de titane [160] nécessite une grande instrumentation même s'il a une longue durée de vie. Une électrode d'ammonium basée sur la membrane de polychlorure de vinyle (PVC) contenant de l'acide palmitique et de la nonactine en tant qu'ionophore d'ammonium pour la détermination de l'ammoniac a été construite [156]. Cependant, ce capteur n'est pas spécifique à l'ammoniac. Le capteur d'ammonium à base de poly (chlorure de vinyle) plastifié (PVC) n'est pas adapté à la construction de biocapteurs [153]. Pour la construction de biocapteurs, les enzymes sont immobilisées avec adsorption à la surface de la membrane de poly (chlorure de vinyle). Par conséquent, la réponse du biocapteur est bonne, mais la durée de vie du biocapteur est très courte.

L'électrode à pâte composite carbonnanotube / cuivre à parois multiples a été développée pour la détection de l'ammoniac [147] mais la reproductibilité était très mauvaise avec cette électrode. Le problème majeur des capteurs décrits ci-dessus est qu'ils ne sont pas très spécifiques à l'ammonium et que, dans ce contexte, les biocapteurs deviennent importants car ils dépendent de biorécepteurs très spécifiques. Le biocapteur à base de la bactérie nitrifiante immobilisée (*Nitrosomonas europea*) a été utilisé pour la détection d'ammoniac dans les eaux usées. Cependant, la durée de vie de ce capteur est seulement deux semaines depuis l'organisme vivant lui-même a été utilisé comme biorécepteur. Un capteur à base de deux enzymes a été construit pour la détection d'ammonium par immobilisant du glutamate déshydrogénase et glutamate oxydase sur un type de Clark électrode à oxygène [144]. Ce capteur a perdu environ 60 % de sa réponse après 18 jours. Un autre capteur à base glutamate

déshydrogénase et diaphorase a été développé [161]. Il a montré une réponse linéaire seulement à faible concentrations d'ammonium ( $2.5-500 \cdot 10^{-6}$  M).

Dans la présente étude, nous avons proposé une nouvelle électrode modifiée par l'éthylène diamine tétra-acétique di- destinée à l'analyse de l'ammonium dans l'urine qui est caractérisée par une haute sensibilité, une grande rapidité et coût plus bas.

## 7. Polyphénols

### 7.1. Introduction

Les plantes vasculaires sont capables de synthétiser une multitude de molécules organiques/phytochimiques, appelées "métabolites secondaires" [162]. Ces molécules jouent divers rôles dans la durée de vie des plantes, allant de la structure à la protection. Les composés phénoliques sont considérés comme un de ces groupes qui sont synthétisés par les plantes au cours du développement [162] et en réponse à des conditions telles que les infections, les blessures, les rayons UV, etc. [163,164]. Environ 8000 composés naturels appartiennent à la catégorie des "composés phénoliques", qui ont tous une caractéristique structurelle commune : un noyau aromatique portant au moins un substituant hydroxyle, c'est-à-dire un phénol [165].

### 7.2. Classification des polyphénols

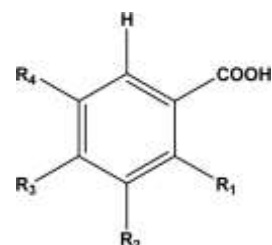
Une classification simple tente de diviser la grande catégorie des phénols en phénols simples et polyphénols, en se basant exclusivement sur le nombre de sous-unités phénoliques présentes [166]. Ainsi, le terme "phénoliques végétaux" englobe les phénols simples, les acides phénoliques, les coumarines, les flavonoïdes, les stilbènes, jusqu'aux tannins hydrolysables et condensés, les lignanes et les lignines.

+ **Acides phénoliques** : sont des acides phénoliques aromatiques secondaires métaboliques des plantes, largement répartis dans le règne végétal [167]. Le terme "acides phénoliques" désigne en général les phénols qui possèdent une fonctionnalité acide carboxylique. Cependant, lorsqu'on parle de métabolites végétaux, cela fait référence à un groupe distinct d'acides organiques. Ces acides phénoliques naturels - les acides phénoliques cycliques contiennent deux structures en carbone distinctes : les structures hydroxycinnamiques et hydroxybenzoïques (**Tableau 17**). Bien que le squelette de base reste le même, le nombre et la position des groupes hydroxyles sur le cycle aromatique font la différence et établissent la variété. Les acides caféique, p-coumarique, vanillique, férulique et pro-tocatéchoïque sont présents dans presque toutes les plantes [168,169]. D'autres acides se trouvent dans certaines

sources naturelles (p. ex., gentifiques, seringues). Parmi les acides cinnamiques, l'acide chlorogénique (acide 5-O-caféoylquinique), qui est l'ester d'acide caféique lié à l'acide quinique (**Fig. 16**), est prédominant en ce qui concerne sa présence naturelle.

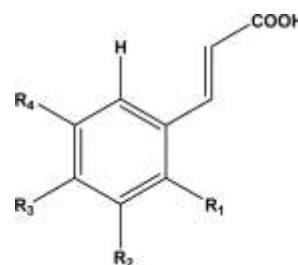
**Tableau 17.** Structures des acides phénoliques naturels proéminents. [170]

Name	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>
Benzoic acid	H	H	H	H
<i>p</i> -Hydroxybenzoic acid	H	H	OH	H
Vanillic acid	H	OCH <sub>3</sub>	OH	H
Gallic acid	H	OH	OH	OH
Protocatechuic acid	H	OH	OH	H
Syringic acid	H	OCH <sub>3</sub>	OH	OCH <sub>3</sub>
Gentisic acid	OH	H	H	OH
Veratric acid	H	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H
Salicylic acid	OH	H	H	H



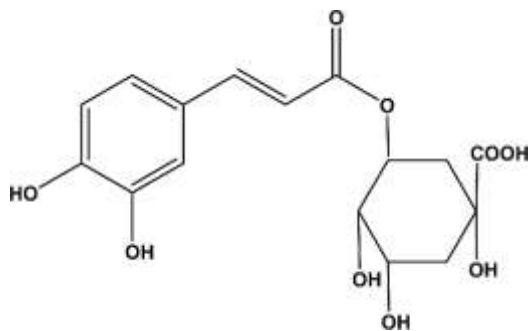
**a. Acides hydroxybenzoïques**

Name	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>
Cinnamic acid	H	H	H	H
<i>o</i> -Coumaric acid	OH	H	H	H
<i>m</i> -Coumaric acid	H	OH	H	H
<i>p</i> -Coumaric acid	H	H	OH	H
Ferulic acid	H	OCH <sub>3</sub>	OH	H
Sinapic acid	H	OCH <sub>3</sub>	OH	OCH <sub>3</sub>
Caffeic acid	H	OH	OH	H

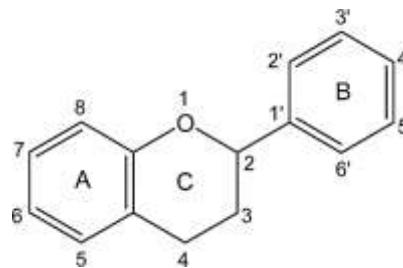


**b. Acides hydroxycinnamiques**

+ **Flavonoïdes** : possèdent au moins deux sous-unités phénoliques. Les composés possédant trois sous-unités phénoliques ou plus sont appelées tanins (hydrolysables et non hydrolysables). Les flavonoïdes sont des molécules planaires omniprésentes dans les plantes, formées à partir des acides aminés aromatiques phénylalanines, tyrosine et malonate [171]. La structure flavonoïde de base est le noyau flavan, qui se compose de 15 atomes de carbone disposés en trois cycles (C<sub>6</sub> - C<sub>3</sub> - C<sub>6</sub>), qui sont marqués A, B, et C (**Fig. 17**). Parmi les nombreuses classes de flavonoïdes sont les flavones, les flavanones, les isoflavones, les flavonols, les flavanonols, les flavan-3-ols, les anthocyanidines et les anthocyanines (acylglycosides et glycosides des anthocyanidines)

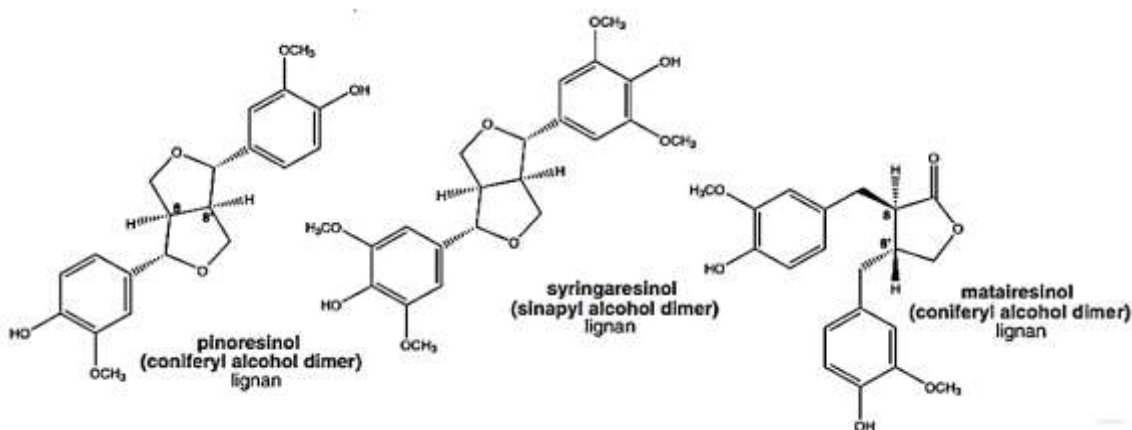


**Fig. 16.** Structure de l'acide 5-caféoylquinique (acide chlorogénique) [169]



**Fig. 17.** Structure de base des flavonoïdes [169]

+ **Lignanes** : Les lignanes sont formées par deux unités de phénylpropane (**Fig. 18**), et sont essentiellement présentes dans la nature à l'état libre, tandis que leurs dérivés glycosidiques sont peu répandus. Le lin représente la principale source alimentaire de lignanes. D'autres sources céréales, graines, fruits et certains végétaux, contiennent également ce lignane.



**Fig. 18.** Structure des lignanes. [172]

### 7.3. Dégradation des polyphénols

La structure chimique des composés phénoliques leur confère une grande capacité d'oxydation. Ils peuvent s'auto-oxyder à l'air ou en présence de métaux et ils peuvent également être très oxydés par réactions enzymatiques dès que l'intégrité des végétaux est perturbée. La dégradation des polyphénols donne un grand nombre de produits, et particulièrement des dimères d'antioxydants. Des études ont montré qu'une exposition prolongée à certaines températures, à l'oxygène, à des facteurs alcalins, à la lumière ou à des hydroperoxydes induit une dégradation des polyphénols [173].

## Références

- [1] N. K. Srivastava, C. B. Majumder, *Journal of hazardous materials*, 151 (2008)1-8. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.09.101>
- [2] A. Khan, S. Khan, M. Khan, Z. Qamar, M. Waqas, *Environmental Science and Pollution Research*. 22 (2015) 13772-13799. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-4881-0>
- [3] I. Saxena, G. Shekhawat, *Nitric Oxide* 32 (2013)13-20. <https://doi.org/10.1016/j.niox.2013.03.004>
- [4] Q. Li, S. Cai, C. Mo, B. Chu, L. Peng, F. Yang, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 73 (2010) 84-88. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2009.09.002>
- [5] C. Luo, C. Liu, Y. Wang, X. Liu, F. Li, G. Zhang, X. Li, *Journal of hazardous materials*, 186 (2011) 481-490. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2010.11.024>
- [6] G. Nabulo, C. Black, S. Young, *Environmental pollution*, 159 (2011) 368-376. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2010.11.007>
- [7] J. Abuduwaili, Z. Zhang, F. Jiang, *PLoS One* 10 (2015) 3. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0120001>
- [8] J.P.F. D'Mello, *Food Safety: Contaminants and Toxins*, Wallingford, 2003.
- [9] A.K. Singh, N. Verma , *Current Biotechnology*, 3 (2014) 127-132. <https://doi.org/10.2174/2211550102666131125155622>
- [10] World Health Organization, *Trace elements in human nutrition and health*, (1996).
- [11] N. Oyaro, O. Juddy, E.N.M. Murago, E. Gitonga, *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 5(2007)119-121.
- [12] A.T. Paulino, F.A.S. Minasse, M.R. Guilherme, A.V. Reis, E.C. Muniz, J. Nozaki, *Journal of colloid and interface science*, 301(2006)479-487. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2006.05.032>
- [13] C.E. Borba, R. Guirardello, E.A. Silva, M.T. Veit, C.R.G. Tavares, *Biochemical Engineering Journal*, 30(2006)184-191. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2006.04.001>
- [14] C. Namasivayam, K. Kadirvelu, *Carbon*, 37(1999)79-84. [https://doi.org/10.1016/S0008-6223\(98\)00189-4](https://doi.org/10.1016/S0008-6223(98)00189-4)
- [15] GV. Maele-Fabry, N. Lombaert, D. Lison, *Environment International*, 86 (2016) 1–13. [https://doi.org/10.1016/S0162-0134\(00\)00009-X](https://doi.org/10.1016/S0162-0134(00)00009-X)
- [16] P. Joseph, *Toxicology and Applied Pharmacology*, 238(2009)272-279. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2009.01.011>
- [17] P. Soderland, S. Lovekar, D.E. Weiner, D.R. Brooks, J.S. Kaufman, *Advances in Chronic Kidney Disease*, 17(2010)254-264. <https://doi.org/10.1053/j.ackd.2010.03.011>
- [18] D. M. Templeton, Y. Liu, *Chemico-biological interactions*, 188(2010)267-275. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2010.03.040>
- [19] R. Naseem, S. S. Tahir, *Water Research*, 35(2001)3982-3986. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(01\)00130-0](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(01)00130-0)
- [20] H.I. Picciotto, *American journal of industrial medicine*, 38(2000)300-309. [https://doi.org/10.1002/1097-0274\(200009\)38:3<300::AID-AJIM9>3.0.CO;2-C](https://doi.org/10.1002/1097-0274(200009)38:3<300::AID-AJIM9>3.0.CO;2-C)
- [21] M. Jakubowski, *International journal of occupational medicine and environmental health*, 24(2011)1-7. <https://doi.org/10.2478/s13382-011-0009-z>
- [22] L. Khezami, R. Capart, *Journal of hazardous materials*, 123(2005)223-231. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2005.04.012>

- [23] F. Edition, Guidelines for drinking-water quality, WHO chronicle, 38 (2011)104–108.
- [24] R. G. Pearson, Journal of the American Society, 85(1963)3533-3539. DOI: 10.1021/ja00905a001
- [25] E. A. Amirabadi, M. Salimi, N. Ghal-Eh, G. R. Etaati, H. Asadi, International Journal of Innovation and Applied Studies, 3(2013)1079-1085. <http://www.issr-journals.org/ijias/>
- [26] S.J.S. Flora, G. Saxena, P. Gautam, P. Kaur, K.D. Gill, Chemico-biological interactions. 170(2007)209–220. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2007.08.003>
- [27] H.P. Vijverberg, M. Oortgiesen, T. Leinders, R.G. van Kleef, Environmental health perspectives, 102(1994)153–158. <https://doi.org/10.1289/ehp.94102s3153>
- [28] M. Ahamed, M. K. J. Siddiqui, Clinica chimica acta, 383(2007)57-64. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2007.04.024>
- [29] Z.L. He, X.E. Yang, P.J. Stoffella, Journal of trace elements in medicine and biology, 19(2005)125–140. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2005.02.010>
- [30] E.J. Kim, J.E. Herrera, D. Huggins, J. Braam, S. Koshowski, Water Research, 45(2011)2763-2774. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2011.02.023>
- [31] F. A. Cotton, G. Wilkinson, Interscience Publishers, (1972)503.
- [32] M. Fleischer, A. F. Sarofim, D. W. Fassett, P. Hammond, H. T. Shacklette, L. C. T. Nisbet, S. Epstein, 7(1974)253.
- [33] S.J. Stohs, D. Bagchi, Free radical biology and medicine, 18(1995)321-336. [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(94\)00159-H](https://doi.org/10.1016/0891-5849(94)00159-H)
- [34] R. S. Mitra, Applied and Environmental Microbiology, 47(1984)1012-1016.
- [35] A. Blom, W. Harder, A. Matin, Applied and Environmental Microbiology, 58(1992)331-334.
- [36] S. Mukherjee, S. K. Das, (2002)76-76.
- [37] M.K. Abshire and al (1996)1349-1356.
- [38] D. M. Durnam, R. D. Palmiter, Journal of Biological Chemistry, 256(1981)5712-5716.
- [39] M. Brama, , L. Gnessi, , S. Basciani, , N. Cerulli, , L. Politi, , G. Spera, , S. Migliaccio, Molecular and cellular endocrinology, 264(2007)102-108.
- [40] Y.A. Cho, J. Kim, H.D. Wood, M. Kang, PLoS One 8(2013)75087. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0075087>
- [41] A. Akesson, B. Julin, A. Wolk, Cancer research, 68(2008)6435–6441. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-08-0329
- [42] N. Bates, Emergency Nurse, 11(2003)25.
- [43] L.W. Chang, Louis W, Environmental research, 14(1977)329-373.
- [44] A. Jan, International journal of molecular sciences, 16(2015)29592-29630.
- [45] H. Hintelmann, Royal Society of Chemistry Cambridge, (2010)365-401.
- [46] D. A. Geier, P. G. King, B. S. Hooker, J. G. Dórea, J. K. Kern, L. K. Sykes, M. R. Geier, Clinica Chimica Acta, 444(2015)212-220. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2015.02.030>
- [47] M. F. H. Carneiro, J. M. O. Souza, D. Grotto, B. L. Batista, V. C. Oliveira Souza, F. Jr. Barbosa, Environmental research, 134(2014)218-227. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2014.07.009>
- [48] B. K. Mandal, K. T. Suzuki, Talanta, 58(2002)201-235. [https://doi.org/10.1016/S0039-9140\(02\)00268-0](https://doi.org/10.1016/S0039-9140(02)00268-0)

- [49] A. Kulshrestha, U. Jarouliya, G. B. K. S. Prasad, S. J. S. Flora, P. S. Bisen, *World*, 3(2014)96-111.
- [50] S.J.S. Flora, *Free Radical Biology & Medicine*, 51 (2011) 257–281.  
[doi:10.1016/j.freeradbiomed.2011.04.008](https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2011.04.008)
- [51] M. F. Hughes, B. D. Beck, Y. Chen, A. S. Lewis, D. J. Thomas, *Toxicological Sciences*, 123(2011), 305-332. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfr184>
- [52] M. Styblo, L. M. Del Razo, L. Vega, D. R. Germolec, , E. L. LeCluyse, G. A. Hamilton, D. J. Thomas, *Archives of toxicology*, 74(2000)289-299. <https://doi.org/10.1007/s002040000134>
- [53] B. Sharma, S. Singh, N. J. Siddiqi, *BioMed research international*, (2014).  
<http://dx.doi.org/10.1155/2014/640754>
- [54] T. Yoshida, H. Yamauchi, G. F. Sun, *Toxicology and applied pharmacology*, 198(2004), 243-252.  
<https://doi.org/10.1016/j.taap.2003.10.022>
- [55] D. C. Hodgkin, J. Kamper, M. Mackay, J. Pickworth, K. N. Trueblood, J. G. White, *Nature*, 178(1956)64-66.
- [56] D. G. Barceloux , *Clin Toxicol*, 37(1999)201–16. <https://doi.org/10.1081/CLT-100102420>
- [57] R. Sauni, A. Linna, P. Oksa, H. Nordman, M. Tuppurainen, J. Uitti, *Occupational medicine*, 60(2010)301-306. <https://doi.org/10.1093/occmed/kqq023>
- [58] M. Akbar, J. M. Brewer, M. H. Grant, *Journal of immunotoxicology*, 8(2011), 140-149.  
<https://doi.org/10.3109/1547691X.2011.553845>
- [59] A. Petit, F. Mwale, C. Tkaczyk, J. Antoniou, D. J. Zukor, O. L. Huk, *Biomaterials*, 26(2005)4416-4422.  
<https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2004.11.019>
- [60] Y. M. Kwon, Z. Xia, S. Glyn-Jones, D. Beard, H. S. Gill, D. W. Murray, *Biomedical materials*, 4(2009)025018. <https://doi.org/10.1088/1748-6041/4/2/025018>
- [61] D. Mendil, O.D. Uluozlü, *Food Chemistry*, 101(2007)739-745.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.01.050>
- [62] V. L. Atz, D. Pozebon, *Atomic Spectroscopy*, 30(2009), 82-91.
- [63] P. Falomir, A. Alegria, R. Barberá, , R. Farré, M.J. Lagarda, *Food Chemistry*, 64 (1999) 111-113.  
[https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(98\)00116-2](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00116-2)
- [64] T.J. Hwang, S.J. Jiang, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 11(1996)353-357. DOI:  
[10.1039/JA9961100353](https://doi.org/10.1039/JA9961100353)
- [65] K.S. Rao, T. Balaji, T.P. Rao, Y. Babu, G.R.K. Naidu, *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 57(2002)1333-1338. [https://doi.org/10.1016/S0584-8547\(02\)00045-9](https://doi.org/10.1016/S0584-8547(02)00045-9)
- [66] V. Singh, C. S. Chandel, *Journal of environmental science & engineering*, 48(2006)103-108.
- [67] V. Scognamiglio, G. Rea, F. Arduini, G. Palleschi, *Biosensors for Sustainable Food-New Opportunities and Technical Challenges*, 74(2016). <http://dx.doi.org/10.1016/bs.coac.2016.04.001>
- [68] M.A. El Mhammedi, M. Achak, A. Chtaini, 161 (2009)55-61. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2008.03.057>
- [69] R. Inam, G. Somer, *Food Chemistry*, 69 (2000)345-350. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(00\)00045-5](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(00)00045-5)

- [70] K. Kalcher, J. M. Kauffmann, J. Wang, I. Svacara, K. Vytras, C. Nruhold, Z. Yang, *Electroanalysis*, 7(1995)5. <https://doi.org/10.1002/elan.1140070103>
- [71] C. Laghlimi, MA. Smaini, R. Maallah, S. Touzara, S. El Qouatli, A. Chtaini, *J Biosens Bioelectron*, 8(2017)239. DOI: 10.4172/2168-9806.1000188
- [72] C. Laghlimi, M. Ennachte, H. Saâdane, A. Smaini, J. Elmastour, A. Chtaini, *J Powder Metall Min* 7 (2018)188. DOI: 10.4172/2168-9806.1000188
- [73] J. Wang, M. Bonakdar, *Talanta* 35 (1988) 277. [https://doi.org/10.1016/0039-9140\(88\)80085-7](https://doi.org/10.1016/0039-9140(88)80085-7)
- [74] S.V. Prabhu, R.P. Baldwin, L. Kryger, *Electroanalysis*, 1 (1989) 13. <https://doi.org/10.1002/elan.1140010104>.
- [75] H. Karadede, E. Ünü, *Chemosphere*, 41(2000)1371-1376.
- [76] P. R. M. Correia, E. D. Oliveira, P. V. Oliveira, *Analytica chimica acta*, 405(2000)205-211. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(99\)00761-8](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(99)00761-8)
- [77] Y. Tao, X. Gu, Y. Pan, L. Deng, Y. Wei, , Y. Kong, W. Li, *Journal of The Electrochemical Society*, 162(2015)194-199. doi: 10.1149/2.0131504jes
- [78] G. Kefala, A. Economou, A. Voulgaropoulos, *Analyst*, 129(2004)1082. [10.1039/B404978K](https://doi.org/10.1039/B404978K)
- [79] G. Kefala, A. Economou, A. Voulgaropoulos, M. Sofoniou, *Talanta*, 61(2003)603. [https://doi.org/10.1016/S0039-9140\(03\)00350-3](https://doi.org/10.1016/S0039-9140(03)00350-3)
- [80] Y. Wu, N. B. Li, H. Q. Luo, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 133(2008)677. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2008.04.001>
- [81] Z.L. Wang, E. Liu, *Thin Solid Films*, 544(2013)362–367. <https://doi.org/10.1016/j.tsf.2013.02.098>
- [82] V. S. Somerset, L. H. Hernandez, E. I. Iwuoha, *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, 46(2011)17-32. DOI: 10.1080/10934529.2011.526075
- [83] M. R. Nabid, R. Sedghi, A. Bagheri, M. Behbahani, M. Taghizadeh, H. A. Oskooie, M. M. Heravi, *Journal of Hazardous Materials*, 203(2012)93-100. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2011.11.096>
- [84] M. R. Guascito, C. Malitesta, E. Mazzotta, A. Turco, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 131(2008)394-402. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2007.11.049>
- [85] S. M. Lee, W. Y. Lee, *Bulletin-Korean Chemical Society*, 23(2002)1169-1172.
- [86] E. Chow, D. B. Hibbert, J. J. Gooding, *Analytica chimica acta*, 543(2005)167-176. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2005.04.023>
- [87] M. Khosraviani, A. R. Pavlov, G. C. Flowers, D. A. Blake, *Environmental Science & Technology*, 32(1998)137-142. DOI: 10.1021/es9703943
- [88] T. J. Lin, M. F. Chung, *Biosensors and Bioelectronics*, 24(2009)1213-1218. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2008.07.013>
- [89] I. E. Tsybulskii, M. A. Sazykina, *Applied biochemistry and microbiology*, 46(2010)505-510. <https://doi.org/10.1134/S0003683810050078>
- [90] N. Verma, H. Kaur, S. Kumar, *Biotechnology*, 10(2011)259-266.
- [91] M. Souiri, I. Gammoudi, H. B. Ouada, L. Mora, T. Jouenne, , N. Jaffrezic-Renault, A. C. Duncan, *Procedia Chemistry*, 1(2009)1027-1030. <https://doi.org/10.1016/j.proche.2009.07.256>
- [92] Q. Liu, H. Cai, Y. Xu, L. Xiao, M. Yang, P. Wang, *Biosensors and Bioelectronics*, 22(2007)3224-3229. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2007.03.005>



- [93] S. S. Babkina, N. A. Ulakhovich, *Bioelectrochemistry*, 63(2004)261-265.  
<https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2003.11.006>
- [94] X. B. Zhang, Z. Wang, H. Xing, Y. Xiang, Y. Lu, *Analytical chemistry*, 82(2010), 5005-5011.  
**DOI:** [10.1021/ac1009047](https://doi.org/10.1021/ac1009047)
- [95] J. A. Hansen, J. Wang, A. N. Kawde, Y. Xiang, K. V. Gothelf, G. Collins, *Journal of the American Chemical Society*, 128(2006)2228-2229. **DOI:** [10.1021/ja060005h](https://doi.org/10.1021/ja060005h)
- [96] J. P. Xu, Z. G. Song, Y. Fang, J. Mei, L. Jia, A. J. Qin, B. Z. Tang, *Analyst*, 135(2010)3002-3007. **DOI :** [10.1039/C0AN00554A](https://doi.org/10.1039/C0AN00554A)
- [97] J. Chen, S. Xiao, X. Wu, K. Fang, W. Liu, *Talanta*, 67 (2005) 992–996.  
<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2005.04.029>
- [98] M. Kamburova, *Talanta*, 40 (1993) 719–723. [https://doi.org/10.1016/0039-9140\(93\)80285-Y](https://doi.org/10.1016/0039-9140(93)80285-Y)
- [99] M. Resano, E. García-Ruiz, M. Aramendía, M.A. Belarra, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 20 (2005)1374–1380. **DOI :** [10.1039/B509645F](https://doi.org/10.1039/B509645F)
- [100] N. Aydemir, N. Tokman, A.T. Akarsubasi, A. Baysal, S. Akman, *Acta*, 175 (2011)185–191.  
<https://doi.org/10.1007/s00604-011-0668-2>
- [101] A. Raith, R.C. Hutton, I.D. Abell, J. Crighton, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 10(1995)591–594. **DOI :** [10.1039/JA9951000591](https://doi.org/10.1039/JA9951000591)
- [102] I. Karadjova, S. Arpadjan, J. Cvetkovic´, T. Stafilov, *Microchimica Acta*, 147 (2004) 39–43.  
<https://doi.org/10.1007/s00604-004-0216-4>
- [103] D. Wang, T. Hurst, R. Thompson, C. Fierke, *Journal of biomedical optics*,16 (087011) (2011).  
<https://doi.org/10.1117/1.3613926>
- [104] Y. Yang, Z. Wang, M. Yang, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 114 (2006) 1-8.  
<https://doi.org/10.1016/j.snb.2005.04.005>
- [105] M. Farre, L. Kantiani, S. Perez, D. Barcelo, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*,28 (2009)170-185.  
<https://doi.org/10.1016/j.trac.2008.09.018>
- [106] N. Verma, A. Bhardwaj, *Applied biochemistry and biotechnology*, 175(2015), 3093-3119.  
<http://dx.doi.org/10.1007/s12010-015-1489-2>
- [107] D.A. Blake, R. Jones, R.M. Blake, A.R. Pavlov, I.A. Darwish, H. Yu, *Biosensors and Bioelectronics* , 16 (2001) 799-809. [https://doi.org/10.1016/S0956-5663\(01\)00223-8](https://doi.org/10.1016/S0956-5663(01)00223-8)
- [108] D.A. Blake, P. Chakrabarti, M. Khosraviani, F.M. Hatcher, C.M. Westhoff, , P. Goebel, D.E. Wylie, , R.C. Blake, *Journal of Biological Chemistry*, 271(1996)27677-27685. [doi: 10.1074/jbc.271.44.27677](https://doi.org/10.1074/jbc.271.44.27677)
- [109] M. Khosraviani, R.C. Blake, A.R. Pavlov, S.C. Lorbach, H. Yu, J.B. Delehanty, M.W. Brechbiel, D.A. Blake, *Bioconjugate Chemistry*, 11(2000)267-277. <https://doi.org/10.1021/bc9901548>
- [110] R.C. Blake, A.R. Pavlov, D.A. Blake, *Analytical biochemistry*, 292(1999)123-134.  
<https://doi.org/10.1006/abio.1999.4176>
- [111] S. Rodriguez, M. Marco, M. Lopez, D. Barcelo, *Pure and applied chemistry*, 76(2004)723-752.  
<https://doi.org/10.1351/pac200476040723>
- [112] K. Yagi, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 73 (2007)1251-1258. <https://doi.org/10.1007/s00253-006-0718-6>
- [113] N. Verma, S. Kumar, H. Kaur, J. Biosens. Bioelectron, 1(2010)102.

- [114] J. Singh, S. Mittal, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 165(2012)48-52.  
<https://doi.org/10.1016/j.snb.2012.02.009>
- [115] G.L. Turdean, *International Journal of Electrochemistry*, 2011(2011)1-15.  
<http://dx.doi.org/10.4061/2011/343125>
- [116] M. Tencaliec, S. Laschi, V. Magearu, M. Mascini, *Talanta*, 69 (2006) 365-369.  
<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2005.09.042>
- [117] E. Wong, E. Chow, J. Gooding, *Electrochemistry communications*, 9 (2007) 845-849.  
<https://doi.org/10.1016/j.elecom.2006.11.018>
- [118] S. Oliveira, O. Corduneanu, A. Oliveira-Brett, *Bioelectrochemistry*, 72 (2008)53-58.  
<https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2007.11.004>
- [119] J. Liu, Y. Lu, *Journal of the American Chemical Society*, 122 (2000)10466-10467.  
<https://doi.org/10.1021/ja0021316>
- [120] D. L. Robertson, G. F. Joyce, *Nature*, 344(1990)467.
- [121] L. Li, B. Li, Y. Qi, Y. Jin, *Analytical and bioanalytical chemistry*, 393(2009)2051-2057.  
<https://doi.org/10.1007/s00216-009-2640-0>
- [122] Y. Marcus, *Ion properties*, CRC Press, 1(1997)
- [123] R. F. Butterworth, *Alcohol Research and Health*, 27(2003)240-246.
- [124] V. Bhatia, R. Singh, S. K. Acharya, *Gut*, 55(2006)98-104. <http://dx.doi.org/10.1136/gut.2004.061754>
- [125] K. Katayama, *Hepatology research*, 30(2004)73-80. <https://doi.org/10.1016/j.hepres.2004.08.013>
- [126] D. L. Shawcross, R. Jalan, *Bmj*, 329(2004)112. <https://doi.org/10.1136/bmj.329.7457.112>
- [127] A. Vince, A. M. Dawson, N. Park, F. O'Grady, *Gut*, 14(1973)171-177.  
<http://dx.doi.org/10.1136/gut.14.3.171>
- [128] Z. Karim, M. Szutkowska, C. Vernimmen, M. Bichara, *Nephron Physiology*, 101(2005)77-81.  
<https://doi.org/10.1159/000087575>
- [129] S. W. Olde Damink, C. H. Dejong, N. E. Deutz, D. N. Redhead, P. C. Hayes, P. B. Soeters, R. Jalan, *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 291(2006)189-194.  
<https://doi.org/10.1152/ajpgi.00165.2005>
- [130] C. Bachmann, *Clinical chemistry and laboratory medicine*, 40(2002)653-662.  
<https://doi.org/10.1515/CCLM.2002.112>
- [131] K. Shigesada, K. Aoyagi, M. Tatibana, *European journal of biochemistry*, 85(1978)385-391.
- [132] O. Riggio, M. Merli, L. Capocaccia, M. Caschera, A. Zullo, G. Pinto, S. Seri, *Hepatology*, 16(1992)785-789. <https://doi.org/10.1002/hep.1840160326>
- [133] K. Katayama, *Hepatology Research*, 30(2004)71-78. [doi:10.1016/j.hepres.2004.08.013](https://doi.org/10.1016/j.hepres.2004.08.013)
- [134] J. Vaquero, C. Chung, M. E. Cahill, A. T. Blei, *In Seminars in liver disease*, 23(2003)259-270. DOI: [10.1055/s-2003-42644](https://doi.org/10.1055/s-2003-42644)
- [135] D. Shawcross, R. Jalan, *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*, 62(2005)2295-2304.  
<https://doi.org/10.1007/s00018-005-5089-0>
- [136] H. Amlal, M. Paillard, M. Bichara, *Journal of Biological Chemistry*, 269(1994)21962-21971.

- [137] Z. Karim, M. Szutkowska, C. Vernimmen, M. Bichara, *Nephron Physiology*, 101(2005)77-81. DOI: [10.1159/000087575](https://doi.org/10.1159/000087575)
- [138] F. Valentini, V. Biagiotti, C. Lete, G. Palleschi, J. Wang, 128(2007)326-333. doi: [10.1016/j.snb.2007.06.010](https://doi.org/10.1016/j.snb.2007.06.010)
- [139] R. C. H. Kwan, P. Y. T. Hon, R. Renneberg, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 107(2005)616-622. doi: [10.1016/j.snb.2004.11.028](https://doi.org/10.1016/j.snb.2004.11.028)
- [140] K. Fukushi, H. Ito, K. Kimura, K. Yokota, K. Saito, K. Chayama, S. Takeda, S. Wakida, *Journal of Chromatography A*, Vol. 1106(2006)61-66. doi: [10.1016/j.chroma.2005.10.054](https://doi.org/10.1016/j.chroma.2005.10.054)
- [141] K. T. Lau, S. Edwards, D. Diamond, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 98(2004)12-17. doi: [10.1016/j.snb.2003.08.004](https://doi.org/10.1016/j.snb.2003.08.004)
- [142] P. Bertocchi, D. Compagnone, *Biosensors and Bioelectronics*, 11(1996)1-10. doi: [10.1016/0956-5663\(96\)83708-0](https://doi.org/10.1016/0956-5663(96)83708-0)
- [143] S. Hashimoto, H. Y. Sun, A. Otsuki, S. Kawakama, M. Yokomizo, *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 48(1992)155-161. doi: [10.1080/03067319208027396](https://doi.org/10.1080/03067319208027396)
- [144] H. Jaegfelt, A. B. C. Torstensson, L. Gorton, G. Johansson, *Analytical Chemistry*, 53(1981)1979-1982. doi: [10.1021/ac00236a007](https://doi.org/10.1021/ac00236a007)
- [145] J. Moiroux, P. J. Elving, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 102(1979)93-108. doi: [10.1016/S0022-0728\(79\)80033-9](https://doi.org/10.1016/S0022-0728(79)80033-9)
- [146] N. E. Azmi, J. Abdullah, M. Ahmad, H. Sidek, L. Y. Heng, S. A. Rahman, *American Journal of Analytical Chemistry*, 3(2012)364. <http://dx.doi.org/10.4236/ajac.2012.35048>
- [147] F. Valentini, V. Biagiotti, C. Lete, G. Palleschi, J. Wang, *Sensors and Actuators B*, 128(2007)326-333. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2007.06.010>
- [148] K. T. Lau, S. Edwards, D. Diamond, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 98(2004)12-17. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2003.08.004>
- [149] K. Fukushi, H. Ito, K. Kimura, K. Yokota, K. Saito, K. Chayama, S. I. Wakida, *Journal of Chromatography A*, 1106(2006)61-66. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2005.10.054>
- [150] E. Karakuş, Ş. Pekyardımcı, E. Kılıç, *Artificial cells, blood substitutes, and biotechnology*, 33(2005)329-341. <https://doi.org/10.1081/BIO-200066632>
- [151] W. J. Cho, H. J. Huang, *Analytical Chemistry*, 70(1998)3946-3951. <https://doi.org/10.1021/ac980004a>
- [152] P. L. Searle, *A review Analyst*, 109(1984)549-568. DOI: [10.1039/AN9840900549](https://doi.org/10.1039/AN9840900549)
- [153] M. Ikeda, H. Hachiya, S. Ito, Y. Asano, T. Imato, *Biosensors and Bioelectronics*, 13(1998)531-537. [https://doi.org/10.1016/S0956-5663\(97\)00120-6](https://doi.org/10.1016/S0956-5663(97)00120-6)
- [154] T. Okada, I. Karube, S. Suzuki, *Analytica Chimica Acta*, 135(1982)159-163. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(01\)85276-4](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(01)85276-4)
- [155] R. Koncki, I. Wałcerz, F. Ruckruh, S. Głab, *Analytica Chimica Acta*, 333(1996)215-222. [https://doi.org/10.1016/0003-2670\(96\)00266-8](https://doi.org/10.1016/0003-2670(96)00266-8)
- [156] E. Karakuş, Ş. Pekyardımcı, E. Kılıç, *Artificial cells, blood substitutes, and biotechnology*, 34(2006)523-534. <https://doi.org/10.1080/10731190600862910>
- [157] Y. C. Luo, J. S. Do, *Biosensors and Bioelectronics*, 20(2004)15-23. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2003.11.028>

- [158] S. T. Dubas, V. Pimpan, *Talanta*, 76(2008)29-33. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2008.01.062>
- [159] A. Walcarius, V. Vromman, J. Bessiere, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 56(1999)136-143. [https://doi.org/10.1016/S0925-4005\(99\)00181-1](https://doi.org/10.1016/S0925-4005(99)00181-1)
- [160] S. S. Hassan, S. A. Marei, I. H. Badr, H. A. Arida, *Analytica chimica acta*, 427(2001)21-28. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(00\)01189-2](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(00)01189-2)
- [161] S. A. Rahman, J. Abdullah, H. Sidek, N. E. Azmi, *Anal. Bioanal. Chem.*, 4(2012)262-276.
- [162] J. B. Harborne, *Introduction to ecological biochemistry*, Academic press, (2014).
- [163] F. Shahidi, *Antioxidant properties of food phenolics. Phenolics in food and nutraceuticals*, (2004).
- [164] C. H. Beckman, *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 57(2000)101-110. <https://doi.org/10.1006/pmpp.2000.0287>
- [165] R. Croteau, T. M. Kutchan, N. G. Lewis, B. Buchanan, *American Society of Plant Physiologists*, (2000)1250-1318.
- [166] M. Clifford, *Critical reviews in food science and nutrition*, 41(2001)393.
- [167] K. Herrmann, C. W. Nagel, *Critical reviews in food science & nutrition*, 28(1989)315-347. <https://doi.org/10.1080/10408398909527504>
- [168] F. Shahidi, P. K. Janitha, P. D. Wanasundara, *Critical reviews in food science & nutrition*, 32(1992)67-103. <https://doi.org/10.1080/10408399209527581>
- [169] R. J. Robbins, *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(2003)2866-2887. <https://doi.org/10.1021/jf026182t>
- [170] C. D. Stalikas, *Journal of separation science*, 30(2007)3268-3295. [DOI 10.1002/jssc.200700261](https://doi.org/10.1002/jssc.200700261)
- [171] V. Cody, E. Middleton, J. B. Harborne, *Progress in clinical and biological research*, (1986).
- [172] J. Peterson, J. Dwyer, H. Adlercreutz, A. Scalbert, P. Jacques, M. L. McCullough, *Nutrition reviews*, 68(2010)571-603. [doi:10.1111/j.1753-4887.2010.00319.x](https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.2010.00319.x)
- [173] C. M. Sabliov, C. Fronczek, C. E. Astete, M. Khachatryan, L. Khachatryan, C. Leonardi, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 86(2009)895. <https://doi.org/10.1007/s11746-009-1411-6>

## *Partie II : Partie expérimentale*

---

# Chapitre I : Matériels et Méthodes

## I. Généralités sur les électrodes modifiées

### 1. Introduction

Au cours de ces dernières années, la recherche sur la modification de surface de carbone dans le domaine de la science des matériaux et l'électrochimie a connu une croissance importante. Les raisons pour cet intérêt considérable pour la modification de carbone sont liées aux propriétés des matériaux carbonés, comme étant inerte, ayant une bonne conductivité et une bonne résistance aux attaques de l'environnement chimique [1,2].

Les électrodes modifiées ont été essayées dans des domaines d'applications divers : photosensibilisation, électrochromisme, anti-corrosion [3], batteries d'accumulateurs de faible poids, et également électrocatalyse [4,5].

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.

Le terme général d'électrode chimiquement modifiée [6] désigne toute électrode à la surface de laquelle une espèce chimique aux propriétés spécifiques (groupe redox, catalyseur, complexant, adsorbant,...) a été délibérément fixée. 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 [7,8]. Cependant, la technique de modification d'électrodes qui a été la plus développée est celle basée sur le dépôt de multicouches de réactifs [9].

On peut distinguer deux méthodes de modification de carbone graphite qu'on va traiter par la suite : modification directe (les électrodes à pâte de carbone) et la modification de la surface des électrodes solides.

## **2. Modification directe : les électrodes à pâte de carbone**

Les électrodes à pâte de carbone (**CPE**) 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. Cette méthode a été décrite pour la première fois par Adams en 1958 [10].

Une électrode à pâte de carbone chimiquement modifiée (**CPECM**) est obtenue par ajout d'un réactif chimique à la mixture [11, 12].

En 1964 Kuwana et al. [12] ont modifié l'électrode à pâte de carbone par dissolution de composés organiques électro-actifs tels que l'antraquinone ou les 5-aminobenzophénone dans le liant. Ces auteurs ont montré que l'électrode à pâte de carbone contenant un constituant autre que le liant, peut avoir un comportement distinct, lui permettant d'améliorer ses performances.

En fonction de l'électrolyte support, l'électrode à pâte de carbone peut être utilisée dans un large domaine de potentiels de -1.4 V / ECS à +1.3 V / ECS et même atteindre un potentiel de +1.7 V / ECS selon Lindquist [13].

La réponse de l'électrode dépend de la quantité et la nature de modificateur, de l'électrolyte et éventuellement du 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 : conducteur ou non conducteur.

### **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 [14].

Le rapport liant-carbone est déterminé selon la consistance et les propriétés désirées de la pâte. Généralement ces rapports sont de 18 ml de paraffine pour 5 g de carbone ou 2 ml de nujol pour 1 g de carbone. Dans le cas de ces électrodes, seule la fraction de composé électro-

actif se trouvant à l'interface pâte de carbone-électrolyte externe participe aux transferts de charges.

Yao et al. [15] ont appliqué la méthode décrite par Kuwana [12] en dissolvant directement dans le liant, paraffine, un aldéhyde afin de fixer l'espèce électro-active 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 réactions non désirées.

## **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, différents auteurs s'accordent pour reconnaître que la transformation électrochimique des solides incorporés dans ce type d'électrodes 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 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 courants d'oxydation ou de réduction plus importants.

## **3. Modification de la surface des électrodes solides**

Cette procédure a été adoptée par plusieurs auteurs pour la catalyse de l'oxydation des alcools (éthanol et méthanol) pour piles à combustible et aussi pour la détection des micropolluants organiques et inorganiques.

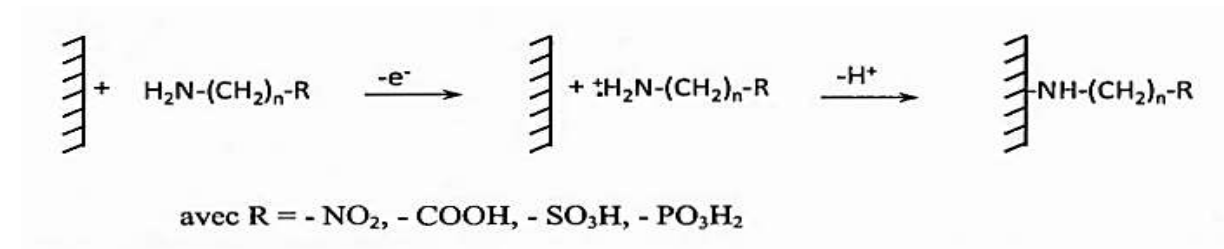
### **3.1. Modification covalente**

Elle implique des liaisons covalentes entre la surface de l'électrode et le modificateur pour former une monocouche. Les deux principales méthodes de modification covalente de surface du carbone par greffage à partir de radicaux sont basées sur l'oxydation d'amine et la réduction des cations diazonium.



### a. Oxydation d'amine

L'oxydation électrochimique d'une amine aliphatique en milieu aprotique conduit à des cations radicaux aminyles, qui réagissent pour former une liaison covalente de type C-N à la surface du carbone [16] (**Fig. 1**). Le film obtenu par la modification est une monocouche compacte mais des films multicouches sont généralement obtenus pour des temps d'électrodéposition plus longs [17,18].



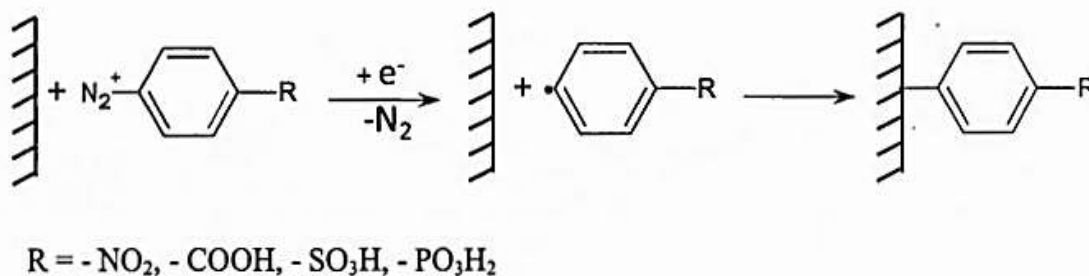
**Fig. 1.** Principe de greffage par oxydation électrochimique d'une amine aliphatique.

### b. Réduction des cations diazonium

Un sel de diazonium est un composé organique comportant un groupement N<sub>2</sub><sup>+</sup>. Les ions diazonium sont le plus souvent formés par nitrosation d'une amine primaire aromatique en milieu acide [19]. A noter que, seuls les sels de diazonium aromatiques sont stables.

La modification des surfaces de carbone implique en premier lieu la formation électrochimique d'un radical par réduction d'un cation diazonium. Ensuite, il y a la formation d'une liaison covalente par réaction du radical avec un atome de carbone de l'électrode [20] (**Fig. 2**). La réduction des cations aryle diazonium s'effectue généralement en milieu aprotique [21], tel que l'acétonitrile mais peut également être réalisée en milieu aqueux acide [21]. La réduction en milieu aprotique permet d'éviter les réactions intermédiaires avec le radical du phényle substitué dues à la réduction de la fonction +N=N en hydrazine et d'éviter la formation de la liaison Ar-H, ce qui empêcherait le greffage sur la surface du carbone [22,23].

Pour la réduction des cations diazonium, il est possible de réaliser le greffage à potentiel constant ou par voltamétrie cyclique. Un apport continu en électrons permet de faire croître la couche greffée en imposant par exemple, un potentiel plus négatif que celui de la réduction du diazonium ou en augmentant la durée de la réduction. Dans ce cas, les radicaux générés réagissent avec la couche déjà greffée pour aussi former des multicouches [48].



**Fig. 2.** Processus de modification de la surface du carbone par réduction électrochimique d'un sel de phényle diazonium substitué.

### 3.2. Modification par adsorption

Cette stratégie a été adoptée par plusieurs auteurs [24,25]. 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.

On distingue deux grands types d'adsorption : l'adsorption physique (la physisorption) et l'adsorption chimique (chimisorption).

#### a. Adsorption physique

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

#### b. Adsorption Chimique

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

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

## II. Méthodes d'analyse

### 1. Voltamétrie

La voltamétrie est une technique d'électro-analyse basée sur l'enregistrement du flux de courant  $i$  résultant de **la réduction** ou de **l'oxydation** de l'élément à analyser, présents dans la solution, sous l'effet d'une variation contrôlée de la différence de potentiel appliquée entre deux électrodes spécifiques une électrode de travail (WE) et une électrode auxiliaire (AE). Elle permet d'une part d'identifier un grand nombre de composés (cations, certains anions, composés organiques) et d'autre part de déterminer leurs concentrations, sans oublier son rôle dans l'étude cinétique des réactions mises en jeu.

Nous donnons un bref aperçu sur toutes les méthodes voltamétriques tout en focalisant notre intérêt sur trois méthodes utilisées dans le présent travail à savoir :

- Voltamétrie cyclique (CV).
- Voltamétrie à onde carrée (SWV).
- Spectroscopie d'impédance électrochimique (EIS).

#### 1.1. Unités de base d'un analyseur voltamétrique

Les unités de base d'un analyseur voltamétrique sont illustrées dans la **Fig. 1**. Elles sont composées de :

##### a. Cellule électrochimique de mesure

Elle contient trois électrodes immergées dans la solution à analyser. Les trois électrodes sont:

##### ➤ **Electrode de travail**

L'électrode de travail est encore nommée électrode indicatrice, c'est à son contact que va se produire la réaction d'oxydation ou de réduction de l'analyte suite à la variation de potentiel. En règle générale, l'électrode de travail doit être stable pendant une très grande période, doit posséder un bon rapport signal/bruit du fond et doit être également simple à manipuler et à conditionner. De plus, les solutés à analyser doivent y développer une cinétique de réaction électrochimique rapide dans un large domaine de potentiel accessible [26]. Elle peut être de différentes natures, c'est-à-dire réalisée dans des matériaux conducteurs différents, tel que :

- **Les métaux** (mercure, platine, or, argent, cuivre ou nickel par exemple, ou des alliages)
- **Les matériaux non métalliques** (graphite ou carbone vitreux par exemple)

- **Les matériaux organiques** tels que les polymères conducteurs par exemple.

L'électrode de travail utilisée pour l'analyse peut alors être choisie notamment en fonction du potentiel d'oxydation ou de réduction d'une espèce particulière que l'on souhaite analyser.

➤ **Electrode de référence**

C'est une électrode dont le potentiel est remarquablement stable même lorsqu'elle débite de faibles courants. Comme son nom l'indique, elle sert de référence au potentiostat afin d'appliquer une différence de potentiel exacte entre cette électrode et l'électrode de travail, et ainsi de faire varier de façon exacte et connue le potentiel appliqué à l'électrode de travail. Les électrodes de référence utilisées sont des électrodes d'argent / chlorure d'argent Ag/AgCl (KCl 3M) ou l'électrode au calomel saturée (reliée à un capillaire de Luggin). Les valeurs de potentiel de référence  $E_{ref}$  par rapport à l'électrode normale à hydrogène (ENH) sont respectivement égales à 0.244 V pour l'électrode au calomel (KCl saturée) et à 0.197 V pour celle au chlorure d'argent (KCl saturée) à 25 °C.

Les potentiels étant exprimés en volt.

➤ **Contre électrode ou électrode auxiliaire**

L'électrode auxiliaire est choisie pour que ses propriétés électrochimiques n'affectent pas le comportement de l'électrode de travail : lors de l'électrolyse, il ne doit pas y avoir de production d'espèces qui puissent atteindre l'électrode de travail et y engendrer des réactions parasites. En analyse, ce montage à trois électrodes est proposé pour minimiser les effets de la chute ohmique, ce qui a pour conséquence de diminuer la déformation des voltampérogrammes. Généralement l'électrode auxiliaire est de grande taille par rapport à l'électrode de travail de façon à ne pas limiter le courant traversant le circuit d'électrolyse. Cette électrode assure le passage du courant engendré par les réactions étudiées à l'électrode de travail. Les électrodes auxiliaires peuvent être en inox, en platine ou bien en carbone qui assure le passage du courant.

## b. Circuit électronique

Le circuit électronique est appelé potentiostat, permettant de modifier le potentiel et d'enregistrer le courant.

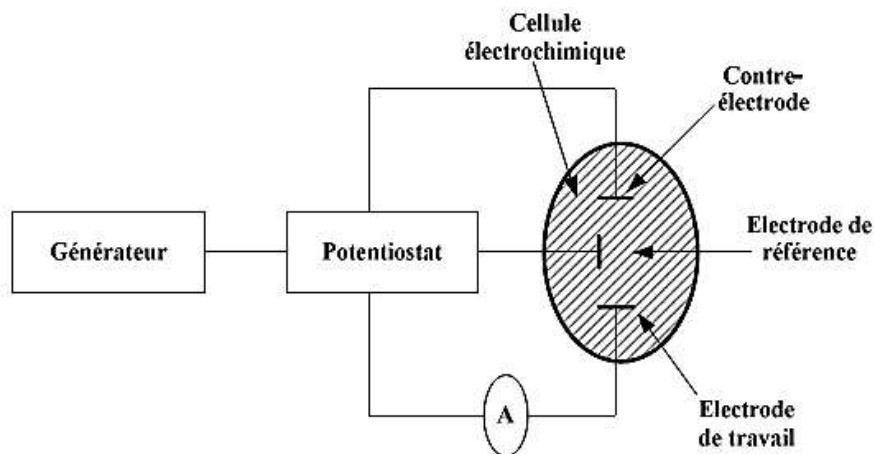


Fig. 3. Représentation schématique du circuit électronique d'un potentiostat.

### 1.2. Principes de la voltamétrie

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

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 ( $i_c$ )** [27] :

$$i_r = i_f + i_c \quad \text{Equation 1}$$

Le courant résiduel dépend de la nature de l'électrode et des traitements chimiques ou électrochimiques qui lui ont été imposés [28].

#### a. Courant faradique

Le courant faradique résulte des réactions d'oxydoréduction des éléments à analyser à l'interface électrode-solution et constitue donc la composante la plus importante pour l'analyse quantitative des composés tests [29]. Le courant faradique peut être influencé par les vitesses de différents processus :

- La vitesse de transport de masse de l'espèce oxydée électro-active du sein de la solution vers l'électrode (et vice-versa pour une espèce réduite) ;
- La vitesse de transfert d'électrons à l'interface électrode/solution ;
- La vitesse des réactions chimiques qui précèdent ou qui suivent le transfert d'électrons.

Ces réactions obéissent à la loi de Faraday : la quantité d'espèces chimiques transformées est directement proportionnelle à la quantité d'électricité qui traverse la cellule [30].

$$Q = n F N = t_i \quad \text{Equation 2}$$

$Q$  est la quantité de charge électrique (en C) et  $N$  est le nombre de moles de réactif consommé ou de produit formé (en mol).

La composante faradique est majoritairement due à l'électrolyse de l'eau et à la réduction de l'oxygène [31].

#### b. Courant capacitif

Le courant capacitif est dû à la charge du condensateur représenté par l'interface entre la couche de surface de l'électrode et la couche de la solution adjacente [30]. Lorsqu'on applique un échelon de potentiel, la variation du courant capacitif décroît exponentiellement en fonction du temps  $t$  [30]:

$$i_c = \frac{E}{R_s} \exp\left(-\frac{t}{R_s C_d}\right) \quad \text{Equation 3}$$

Où  $R_s$  est la résistance de la solution entre l'électrode indicatrice et l'électrode de référence et  $C_d$  la capacitance du condensateur équivalent à la double couche. Le courant capacitif est souvent négligeable devant le courant faradique. Lorsque la concentration en espèce électro-active est faible ou lorsque le temps d'analyse est court, le courant capacitif peut devenir supérieur au courant faradique ce qui entraîne des erreurs d'interprétation. Il faut donc trouver un moyen d'optimiser le rapport  $i_t/i_c$ . Le développement des techniques électro-analytiques et l'accroissement de leur précision passent donc nécessairement par une minimisation de cette composante capacitive du courant d'électrolyse mesuré à l'électrode de travail.

### 1.3. Techniques voltamétriques

#### a. Voltamétrie linéaire

Pour étudier le comportement électrochimique d'un couple **Red/Ox**, on peut enregistrer les courbes **intensité/temps** pour différents potentiels appliqués. Dans la pratique, afin d'obtenir plus d'informations à partir d'une seule expérience, il est commode d'utiliser la voltampérométrie à balayage linéaire de potentiel. On fait varier le potentiel  $E$  entre deux valeurs  $E_i$  (potentiel initial) et  $E_f$  (potentiel final), avec une vitesse de balayage constante. Le courant  $i$  est mesuré en fonction du potentiel  $E$ .

#### b. Voltamétrie cyclique

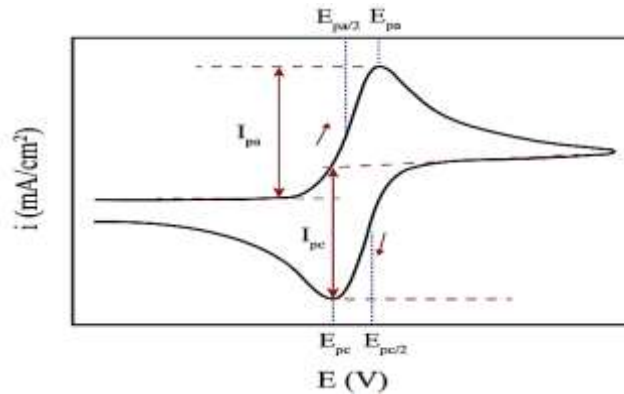
Kissinger et Heineman définissent la voltamétrie cyclique comme la mesure du courant résultant d'un balayage de potentiel à une électrode de travail immergée dans un milieu électrolytique [32].

En voltamétrie cyclique, le potentiel  $E$  appliqué à l'électrode de travail varie en fonction du temps selon l'équation suivante:

$$E = E_i \pm vt \quad \text{Equation 4}$$

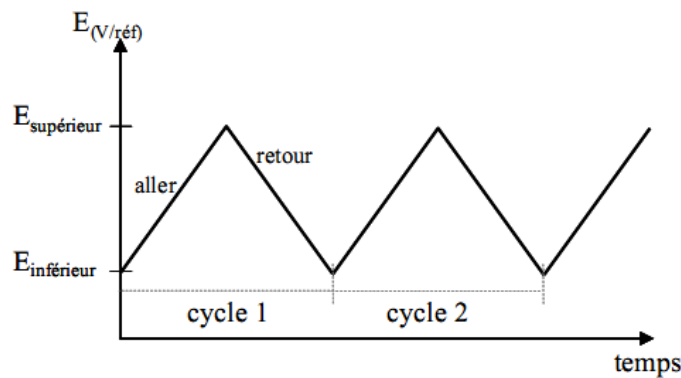
Où  $v$  est la vitesse de variation de potentiel,  $v = dE/dt$ ,  $t$  est le temps et  $E_i$  le potentiel de départ. Le courant  $i$  est mesuré en fonction du potentiel  $E$ . Les courbes  $i=f(E)$  obtenues sont appelées des **voltammogrammes**.

Le principe de la voltamétrie cyclique est comparable à la voltamétrie linéaire, mais le balayage des potentiels s'effectue de façon cyclique. Par exemple, après avoir balayé vers les potentiels anodiques ( $E_{\text{supérieur}}$ ) et réalisé des oxydations, on inverse le sens de variation du potentiel effectue pour une exploration vers les potentiels cathodiques ( $E_{\text{inférieur}}$ ). On enregistre donc sur le voltammogramme les courbes de polarisations anodiques et cathodiques du système (**Fig. 4**).



**Fig. 4.** Allure générale d'une courbe voltammogramme cyclique et ces grandeurs caractéristiques.

Cette méthode consiste à analyser le comportement électrochimique d'un système en appliquant à une électrode un balayage de potentiel variant avec le temps et enregistré  $I(E)$ , ceci revient à construire une surface tridimensionnel  $[I, E, t(E(t))]$  (**Fig. 5**).



**Fig. 5.** Evolution du potentiel en fonction du temps en voltamétrie cyclique

Trois cas à envisager :

➤ **Systeme réversible**

Si le transfert électronique est très rapide à la surface de l'électrode, le rapport des concentrations interfaciales en oxydant et en réducteur est donné par la loi de Nernst et est fonction du temps.

➤ **Systeme irréversible**

Lorsque la vitesse de transfert de charge devient plus faible comparée à la vitesse de transfert de matière, le système est dit irréversible. Le transfert électronique hétérogène est lent et donc l'équation de Nernst n'est plus applicable. La réaction inverse peut être alors totalement négligée.



### ➤ Système quasi-réversible

Le système quasi-réversible correspond aux réactions qui ont un transfert de charge lent et pour lequel cependant la réaction inverse doit être prise en considération. Pour une telle réaction, l'intensité du courant n'est plus strictement linéaire vis-à-vis de la racine carrée de la vitesse de balayage. Dans la pratique, selon la vitesse de balayage du potentiel, un système donné peut apparaître réversible, quasi-réversible ou totalement irréversible.

La voltamétrie cyclique, s'est surtout développée en tant que moyen d'étude des mécanismes des réactions d'oxydoréduction. Ses applications en analyse quantitative étant limitées. 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 [33] :

$$E = E^\circ + \frac{RT}{nF} \ln \frac{[Ox]}{[Red]} \quad \text{Equation 5}$$

Avec  $E^\circ$  : le potentiel standard du couple Ox/Red ;  $R$  : la constante des gaz parfaits.  
 $T$  : la température en absolue ;  $n$  : 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 [34]:

$$I_p = KAn^{3/2}D^{1/2}v^{1/2}C \quad \text{Equation 6}$$

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

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 :

$$\Delta E_p = E_{pa} - E_{pc} = 0.06/n \quad \text{Equation 7}$$

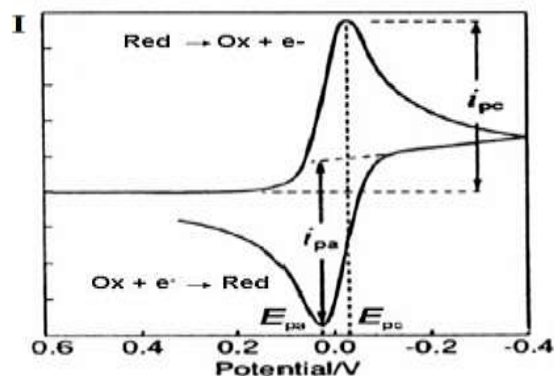
Avec  $n$  nombre d'électrons mis en jeu.

Le potentiel standard pour un système réversible est donné par :

$$E^0 = (E_{pa} + E_{pc})/2 \quad \text{Equation 8}$$

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

Lors de l'application du potentiel, les espèces électro-actives présentes à la surface de l'électrode s'oxydent (ou se réduisent) et l'intensité anodique (ou cathodique) augmente jusqu'à atteindre un maximum. Les courbes I-E ont donc la forme de pics (**Fig. 6**). En effet, la concentration des espèces consommées à l'interface électrode / solution électrolytique diminue et, dans les conditions de diffusion linéaire semi-infinie, le courant après le pic diminue alors comme  $\frac{1}{(\pi t)^{1/2}}$  (loi de Cottrell). L'intensité du pic obtenu est proportionnelle à la concentration de l'espèce correspondante.

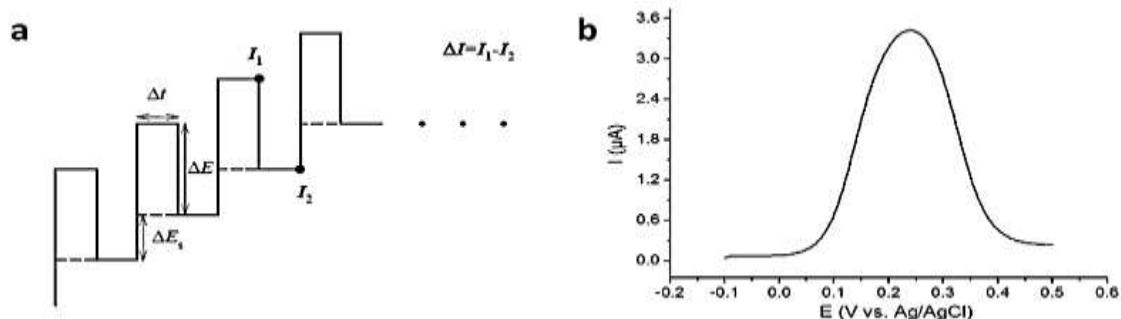


**Fig. 6.** Voltammogramme cyclique enregistré pour un couple redox en solution

### c. Voltamétrie à onde carrée (Square wave voltametry : SWV)

La voltamétrie à onde carrée est basée sur la combinaison d'une modulation d'onde carrée d'amplitude  $\Delta E = 50$  mV et de période  $1/f$  (typiquement la fréquence  $f = 50$  à  $200$  Hz) avec une rampe en escalier (**Fig. 7-a**). Le signal mesuré est la différence  $\Delta i$  entre les courants mesurés, à la fin de chaque pulse montant et descendant de l'onde carrée, (**Fig. 7-b**). Le pas de potentiel  $\Delta E_p$ , 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 la variation du potentiel à des vitesses beaucoup plus élevées, typiquement  $v = 400$  à  $1600 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$ , et ainsi permet 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  $1 \text{ V} \cdot \text{s}^{-1}$ .



**Fig. 7.** Séquence de balayage de potentiel utilisée en SWV (a) et exemple de courbe courant-potential obtenue (b).

#### d. Spectroscopie d'impédance électrochimique (EIS)

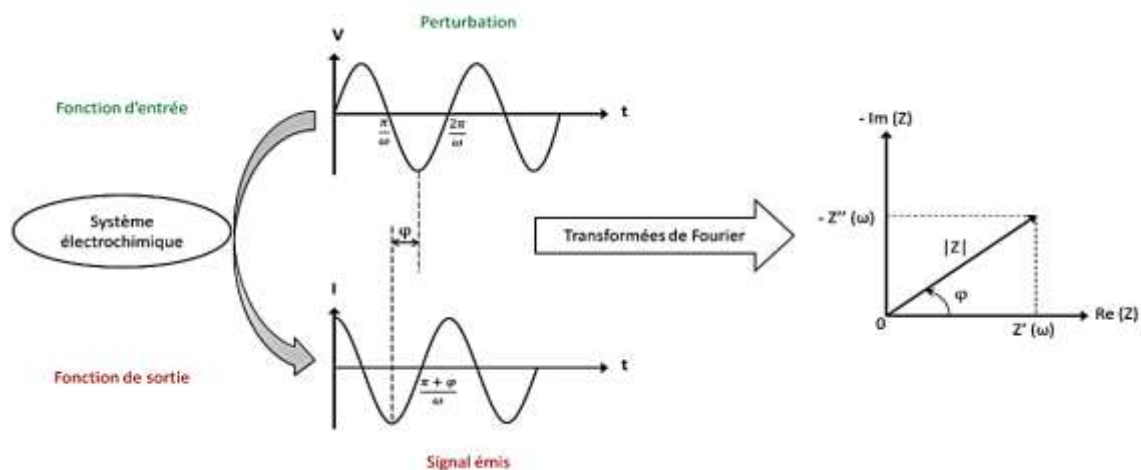
La spectroscopie d'impédance électrochimique (SIE) est une technique de caractérisation des propriétés électriques et diélectriques des matériaux et des interfaces. Pour réaliser la mesure d'impédance, une perturbation sinusoïdale (courant ou tension) est appliquée à l'interface électrode / électrolyte (**Fig. 8**). Cette perturbation du système peut être définie par les grandeurs  $E(t)$  et  $I(t)$  exprimées en fonction du temps  $t$  et de  $\omega$ , une pulsation caractérisée par  $2\pi f$  avec  $f$  la fréquence, dont les formules sont données par l'Équation 9 et l'Équation 10 :

$$E_t = E_c + \Delta E_t = E \sin(\omega t) \quad \text{Equation 9}$$

$$I_t = I_c + \Delta I_t = E \sin(\omega t + \varphi) \quad \text{Equation 10}$$

Où  $E_c$  : la valeur du potentiel de consigne ;  $\Delta E$  : l'amplitude du potentiel alternatif surimposé à  $E_c$  ;  $I_c$  : la valeur du courant continu résultant de la consigne ;  $\Delta I$  : l'amplitude du courant alternatif ;  $\varphi$  : le déphasage entre la tension et le courant alternatifs.

La relation entre les propriétés du système et la réponse due à la perturbation est très complexe à résoudre dans le domaine temporel. Afin de simplifier la réponse du système, suite à l'application de cette tension ou de ce courant sinusoïdale de pulsation  $\omega$ , les transformées de Fourier sont utilisées comme traitement mathématique. Il en résulte un nombre complexe  $Z$  dépendant de cette pulsation  $\omega$  noté  $Z(\omega)$ , traduisant l'impédance du système lorsque celui-ci est traversé par un flux d'électron à une fréquence  $f$ . Donc l'impédance  $Z(\omega)$  est définie comme le rapport entre la tension sinusoïdale appliquée au système et le courant résultant (**Équation 11**).



**Fig. 8.** Principe de la mesure d'impédance d'un système électrochimique : une tension et un courant dépendant du temps. Ces deux fonctions peuvent être exprimées en fonction d'une pulsation  $\omega$ .  $\varphi$  représente le déphasage entre la tension et le courant.

$$Z \omega = \Delta E \omega / \Delta I \omega \quad \text{Equation 11}$$

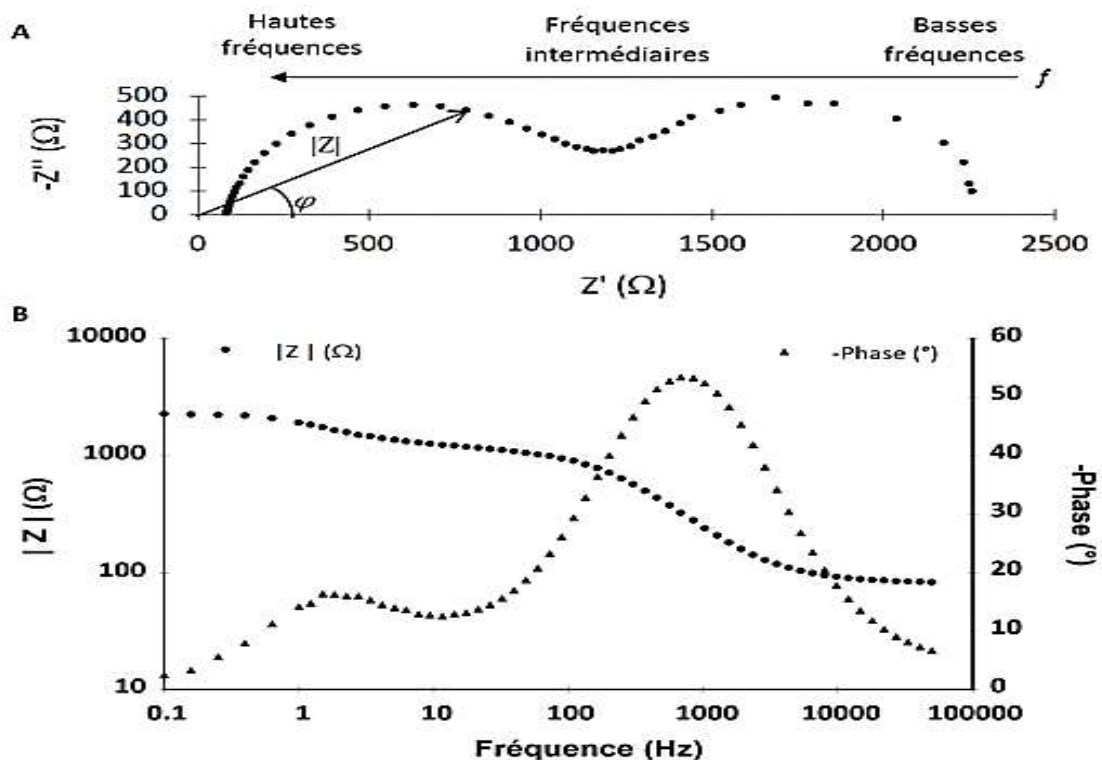
Le terme spectroscopie fait référence au fait que l'impédance est déterminée à différentes fréquences. L'impédance  $Z(\omega)$ , étant un nombre complexe, il peut également s'écrire sous les formes suivantes qui sont équivalentes (**Équation 12**).

$$Z \omega = Z e^{j\varphi} \quad Z(\omega) = |Z'(\omega)| + j |Z''(\omega)| \quad \text{avec } j = \sqrt{-1} \quad \text{Equation 12}$$

$|Z|$  étant le module de l'impédance,  $\varphi$  le déphasage,  $Z'$  ou  $\text{Re}(Z)$  la partie réelle,  $Z''$  ou  $\text{Im}(Z)$  la partie imaginaire et  $j$  un nombre imaginaire indiquant une rotation de  $\pi/2$  dans le sens antihoraire par rapport à l'axe des abscisses.

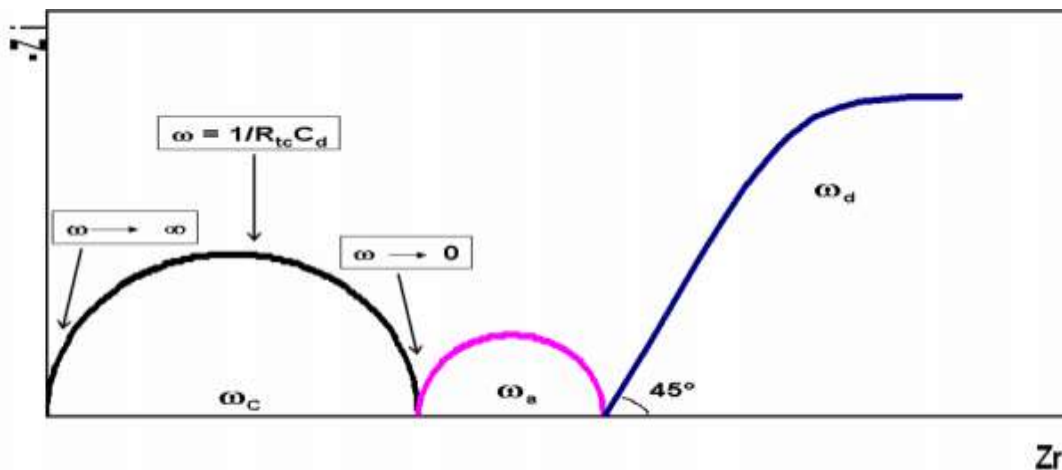
Les données expérimentales obtenues peuvent être tracées selon deux représentations : la représentation de Nyquist des électrochimistes (**Fig. 9-A**) ou de Bode (**Fig. 9-B**). Dans la représentation de Bode, le logarithme du module d'impédance  $|Z|$  et le déphasage  $\varphi$  sont tracés en fonction du logarithme de la fréquence  $f$ . Le diagramme de Nyquist des électrochimistes, également appelé spectre d'impédance, doit être absolument tracé dans un repère orthonormé afin d'obtenir des diagrammes interprétables et non-déformés. Ce spectre d'impédance représente l'opposé de la partie imaginaire  $-Z''$  en fonction de la partie réelle  $Z'$ . Chaque point du diagramme correspond aux valeurs des composantes réelle et imaginaire de l'impédance  $Z$  (extrémité du vecteur de l'impédance  $Z$ , à une fréquence donnée).

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 (**Fig. 10**) :



**Fig. 9.** Exemples de diagrammes de (A). Nyquist et (B). Bode.

Une boucle (circulaire) à haute fréquence 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 diffusionnel), 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.



**Fig. 10.** Représentation de la variation de l'impédance d'un système électrochimique en fonction de la pulsation  $\omega$ . Cas idéal où les pulsations  $\omega_c$ ,  $\omega_a$ ,  $\omega_d$  sont suffisamment différentes les unes des autres.

## 2. Microscopie électronique à balayage (MEB)

La microscopie électronique à balayage (MEB ou SEM pour Scanning Electron Microscopy en anglais) est une technique basée sur les interactions électrons-matière. Ces électrons qui irradient la surface d'un échantillon pénètrent dans le matériau et affectent un volume appelé "poire de diffusion". Les photons réémis sont remplacés par tout un spectre de particules ou rayonnements : électrons secondaires, électrons rétrodiffusés, électrons Auger ou rayons X. Ces différentes particules ou rayonnements apportent différents types d'informations sur la matière dont est constitué l'échantillon.

La microscopie électronique à balayage est une technique permettant d'obtenir des images en relief de la surface des échantillons avec une grande résolution, allant de 0,4 nm à 10 nm et dépassant largement celle de la microscopie optique. Un microscope électronique à balayage est essentiellement composé d'un canon à électrons, d'une colonne électronique dont la fonction est de produire une sonde électronique fine sur l'échantillon, d'un platine porte-objet permettant de déplacer l'échantillon dans les trois directions et de détecteurs permettant d'analyser les rayonnements émis par l'échantillon. En outre, l'appareil doit nécessairement être équipé d'un système de pompes à vide.

### **3. Microanalyse par Energie Dispersive de rayons X (EDX)**

La spectroscopie à rayons X à dispersion d'énergie (ou EDS, abréviation de l'anglais « *Energy Dispersive X-ray Spectroscopy* ») est une faculté analytique qui peut être couplée avec plusieurs applications, dont la microscopie électronique par balayage (SEM), la microscopie électronique en transmission (TEM) et la microscopie électronique en transmission par balayage (STEM). Combinée à ces outils d'imagerie, l'EDS peut donner l'analyse élémentaire sur des surfaces aussi petites que la taille du nanomètre en diamètre. L'impact du faisceau d'électrons sur l'échantillon produit des rayons X qui sont caractéristiques des éléments présents sur l'échantillon. L'analyse peut servir à déterminer la composition élémentaire de points individuels ou à faire ressortir par cartographie la distribution latérale d'éléments issus de la zone numérisée sous forme d'image.

### **III. Molécules organiques utilisées pour la complexation**

Pour notre étude, nous avons choisi de modifier les électrodes par les molécules organiques suivantes :

#### **1. Ethylène diamine tétra-acétique di-sodium**

L'éthylène diamine tétra-acétique di-sodium (EDTA- $\text{Na}_2$ ) est un acide de formule  $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{Na}_2\text{O}_8 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ . L'EDTA comporte six sites basiques, quatre correspondant aux bases conjuguées (carboxylates) des fonctions carboxyliques et deux correspondant aux fonctions amines. Ces sites basiques sont également des centres ligands, faisant de l'EDTA un ligand hexadentate (ou parfois tétradentate, lorsque seuls les sites carboxyliques sont utilisés). C'est d'ailleurs sa principale caractéristique, son fort pouvoir chélatant (ou complexant) par lequel il forme des complexes métalliques très stables (**Fig. 11**).

## 2. Benzimidazole-2-thiol

Le benzimidazole-2-thiol est une molécule organique de formule brute  $C_7H_6N_2S$  et de masse moléculaire de 150 g / mol. Les groupements fonctionnels pouvant intervenir dans la complexation des métaux sont : le groupement thiol (-SH) et le groupement imidazole (c'est un cycle à cinq atomes contenant trois atomes de carbone et deux atomes d'azote en position 1 et 3). (Fig. 12)

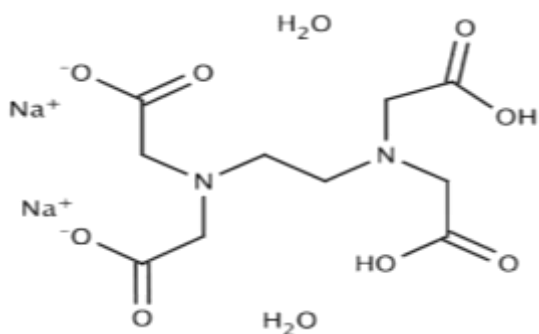


Fig. 11. Structure de l'EDTA

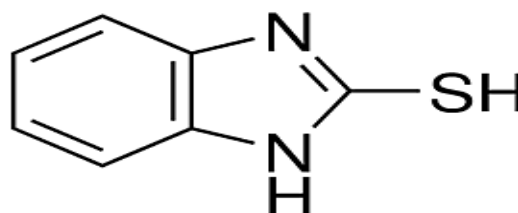


Fig. 12. Structure du Benzimidazole-2-thiol

## IV. Réactifs et produits chimiques

- + Poudre de graphite (catégorie spectroscopique RWB, Godesberg de Ringsdorf Werke, Allemagne GmbH et Bonn-mauvais) a été obtenue à partir d'Aldrich
- +  $PbSO_4$ ,  $CdSO_4$ ,  $HgCl_2$ ,  $CoCl_2$ .... ont été obtenus à partir des produits chimiques de Merck.
- + Benzimidazole-2-thiol est synthétisée dans le centre de recherche de la Faculté des sciences et Techniques de Béni Mellal.
- + L'eau désionisée ou distillée a été employée pour préparer toute la solution.
- + NaCl : utilisé pour préparer le milieu électrolytique

## V. Appareillage

Les techniques électrochimiques : la voltamétrie cyclique (VC) et la voltamétrie à onde carrée (SWV) ont été réalisées à l'aide d'un potentiostat voltalab (model PGSTAT 100, Eco Chemie B.V., Utrecht, The Netherlands) contrôlé par un logiciel voltalab Master 4.

Un système conventionnel de trois électrodes a été utilisé, les électrodes préparées sont utilisées comme électrode de travail. La contre électrode est une plaque de platine (1cm x cm) et l'électrode Ag-AgCl comme électrode de référence. (Fig. 13)



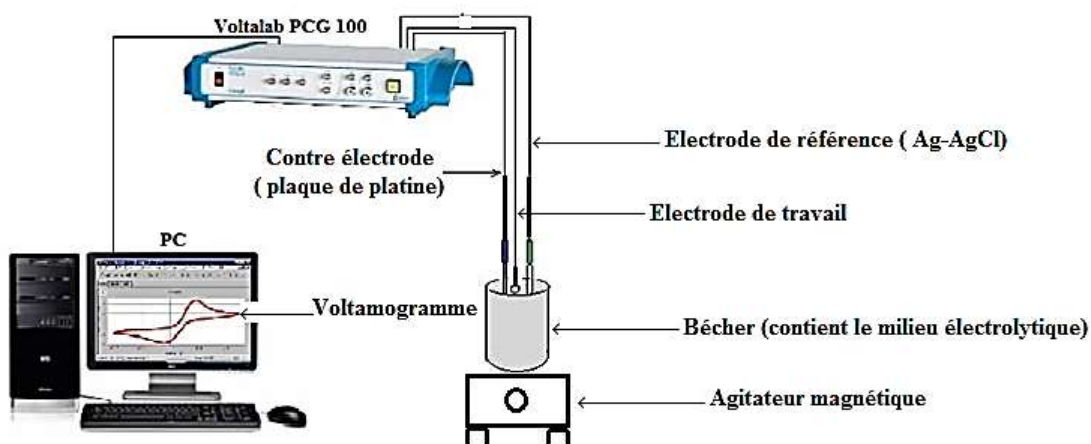


Fig. 13. Unités de base d'un analyseur voltamétrique

## VI. Préparation de l'électrode à pâte de carbone non modifiée (CPE)

La pâte de carbone non modifiée est préparée en ajoutant l'huile de pétrole et l'éthanol à la poudre de carbone dans un mortier, le tout est mélangé jusqu'à l'homogénéisation de la pâte. La pâte résultante est introduite dans la cavité cylindrique du corps de l'électrode de surface d'environ 0.1 cm. L'électrode se met en contact avec l'électricité à l'aide d'une tige de carbone (Fig. 14). Le nettoyage de la surface de l'électrode est nécessaire afin d'éliminer les agents polluants, cela est réalisé à l'aide de l'eau distillée.

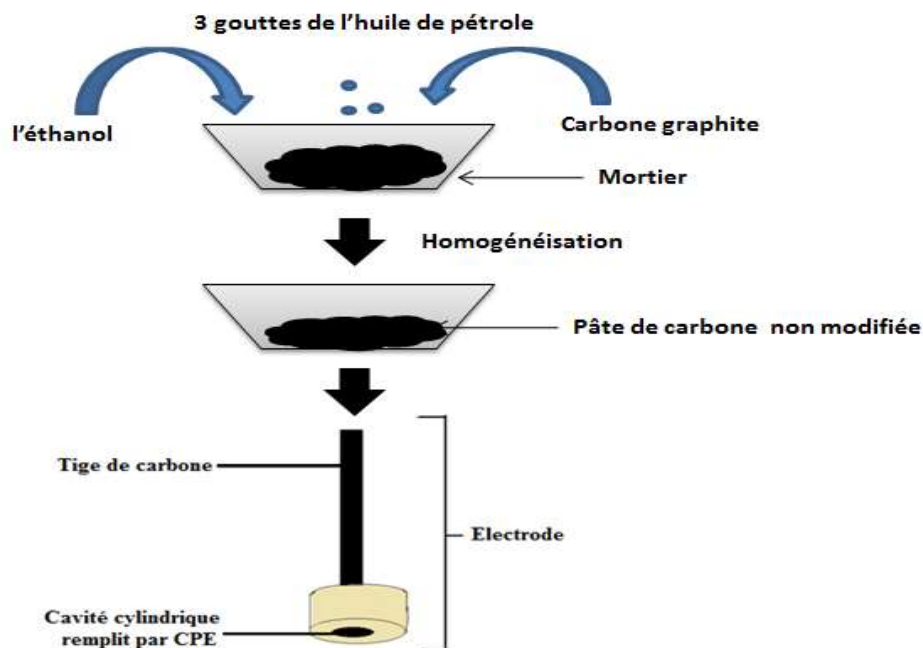


Fig. 14. Etapes de préparation de l'électrode de carbone graphite non modifiée

## VII. Préparation de l'électrode à pâte de carbone modifiée (CPE)

Afin de modifier chimiquement le carbone graphite, on lui ajoute, dans un mortier, la molécule organique choisie. Ces éléments sont mélangés soigneusement à l'aide d'une spatule propre, puis on y ajoute l'éthanol et trois gouttes de l'huile de pétrole afin de les liasonner. Le tout est mélangé jusqu' à l'homogénéisation de la pâte. Pour chaque molécule utilisée, on prépare cinq électrodes chacune contient le même pourcentage de carbone graphite avec une différence de pourcentage de la molécule organique. La **Fig. 15** illustre la procédure adaptée (exemple de préparation de CPE-50 % MO).



**Fig. 15.** Procédure de préparation de l'électrode modifiée (CPE-MO). MO= Molécule organique

## VIII. Caractérisation électrochimique des électrodes modifiées

Les analyses ont été réalisées dans les conditions voltamétriques présentées dans le **Tableau 1** :

**Tableau 1.** Paramètres de fonctionnement de VC, SWV et EIS

VC	SWV	EIS
+ La plage de potentiel utilisée se situe entre -1500 mV et +1500 mV.	+ La plage de potentiel utilisée se situe entre -1500 mV et +1500 mV.	+ Fréquence initiale : 100 KHz
+ La vitesse de balayage a été variée de 10 à 500 mV/s pour montrer son effet sur l'allure des courbes obtenues	+ La vitesse de balayage a été fixée à 20 mV/s	+ Fréquence finale : 100 KHz
	+ L'amplitude de potentiel $\Delta E = 2$ mV	+ Amplitude de l'onde sinusoïdale CA : 10 mV
	+ La durée : 0.1s	+ Fréquence par décennie : 20
	+ La pulsation : 50 mV	+ Délai avant l'intégration : 1s
		+ Tracé en temps réel : Nyquist/Bod

## **IX. Extraction des polyphénols de Capparis spinosa**

### **1. Préparation de l'extrait aqueux**

Les différentes parties de Capparis spinosa ont été collectées dans le village d'Ighrem Laalam situé dans la région de Béni Mellal, Maroc (à 33km de la Faculté des Sciences et Techniques de Béni Mellal). Les feuilles sèches des plantes sont broyées à l'aide d'un mortier ou de tout autre instrument capable de les rendre en poudre. On prélève 1 g de la poudre qu'on met dans un bécher contenant 10 ml d'eau distillée. On laisse macérer le mélange pendant 4 heures à température ambiante. Ensuite, le mélange est filtré à l'aide d'un papier filtre pour éliminer les particules. Le filtrat obtenu est appelé l'extrait aqueux.

### **2. Préparation de l'extrait sec**

Pour extraire le maximum des polyphénols existants dans la plante étudiée, nous avons suivi le protocole décrit par R.K. Salar et al [35]. Un gramme de poudre (pour chaque saison) est macéré pendant 45 min avec 20 ml de solvants d'extraction (méthanol 50 %, eau distillée 50 %) dans un bain marie de 44.5 °C. Après la filtration, les filtrats obtenus sont séchés dans une étuve (40 °C) pendant 24 heures.

L'activité antioxydante et le pouvoir de complexation des extraits obtenus sont ensuite évalués. Le rendement de différents extraits est calculé selon la relation suivante :

$$\mathbf{X = (Poids\ de\ l'extrait(g) / poids\ initial) \times 100}$$

## Références

- [1] Y. Oztekin, M. Tok, H. Nalvuran, S. Kiyak, T. Gover, Z. Yazicigil, A. Ramanavicius, *Electrochimica Acta*, 56(2010)387-395. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2010.08.064>
- [2] Y. Oztekin, Z. Yazicigil, A. Ramanaviciene, A. Ramanavicius, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 152(2011)37-48. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2010.09.057>
- [3] M.A. El Mhammedi, A. Chtaini, A. El Bouadili, *Bulletin of Electrochemistry*, 20(2004) 533-537.
- [4] M.A. El Mhammedi, M. Bakasse, A. Chtaini, *Leonardo Electronic Journal of Practices and Technologies*, 10 (2007)1-12
- [5] M.A. El Mhammedi, M. Bakasse, A. Chtaini, *Journal of hazardous materials*, 145 (2007) 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.02.054>
- [6] J.L. Anderson, L.A. Coury, J. Leddy, *Analytical chemistry*, 70 (1998) 519-89. <https://doi.org/10.1021/a19800186>
- [7] H.O. Finklea, *Electroanalytical Chemistry: A Series of Advances*, 19(1996)109-335.
- [8] A.J. Downard, *Electroanalysis: An International Journal Devoted to Fundamental and Practical Aspects of Electroanalysis*, 12(2000)1085-96. [https://doi.org/10.1002/1521-4109\(200010\)12:14<1085::AID-ELAN1085>3.0.CO;2-A](https://doi.org/10.1002/1521-4109(200010)12:14<1085::AID-ELAN1085>3.0.CO;2-A)
- [9] R.W. Murray, *Electroanalytical chemistry*, 13(1984)191-386.
- [10] R.N. Adams, *Analytical chemistry*, 30(1958)1576-1576. <https://doi.org/10.1021/ac60141a600>
- [11] K. Ravichandran, R.P. Baldwin, *Analytical Chemistry*, 55 (1983) 1586-1591. <https://doi.org/10.1021/ac00260a032>
- [12] T. Kuwana, W.G. French, *Analytical Chemistry*, 36 (1964) 241-2. <https://doi.org/10.1021/ac60207a006>
- [13] J. Linquist, *Analytical Chemistry*, 45(1973)1006. <https://doi.org/10.1021/ac60328a019>
- [14] K. Kalcher, *Electroanalysis*, 2 (1990) 419-433. <https://doi.org/10.1002/elan.1140020603>
- [15] T. Yao, S. Musha, *Analytica Chimica Acta*, 110(1979)203-209. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(01\)93110-1](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(01)93110-1)
- [16] A. B. Bourlinos, D. Gournis, D. Petridis, T. Szabó, A. Szeri, I. Dékány, *Langmuir*, 19(2003)6050-6055. <https://doi.org/10.1021/la026525h>
- [17] B. Barbier, J. Pinson, G. Desarmot, M. Sanchez, *Journal of the Electrochemical Society*, 137(1990)1757-1764. doi: 10.1149/1.2086794
- [18] J. Liu, S. Dong, *Electrochemistry communications*, 2(2000)707-712. [https://doi.org/10.1016/S1388-2481\(00\)00105-3](https://doi.org/10.1016/S1388-2481(00)00105-3)
- [19] M. Boufatah, Contribution à la recherche de l'effet des extraits bruts et flavonoïdes de *Traganum nudatum* sur des coupes fines de tissu hépatique isolées des rats Wistar in vitro (Doctoral dissertation). <http://dspace.univ-lemcen.dz/handle/112/12453>
- [20] C. Saby, B. Ortiz, G. Y. Champagne, D. Bélanger, *Langmuir*, 13(1997)6805-6813. <https://doi.org/10.1021/la961033o>
- [21] P. Allongue, M. Delamar, B. Desbat, O. Fagebaume, R. Hitmi, , J. Pinson, J. M. Savéant, *Journal of the American Chemical Society*, 119(1997)201-207. <https://doi.org/10.1021/ja963354s>
- [22] B. Ortiz, C. Saby, G. Y. Champagne, D. Bélanger, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 455(1998)75-81. [https://doi.org/10.1016/S0022-0728\(98\)00252-6](https://doi.org/10.1016/S0022-0728(98)00252-6)

- [23] J. K. Kariuki, M. T. McDermott, *Langmuir*, 17(2001)5947-5951. <https://doi.org/10.1021/la010415d>
- [24] R.F. Lane, A.T. Hubbard, *The Journal of Physical Chemistry*, 77(1973)1401-1410. <https://doi.org/10.1021/j100630a018>
- [25] M. Kopanica, L. Novotny, *Analytica chimica acta*, 368(1998)211. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(98\)00220-7](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(98)00220-7)
- [26] P. Kissinger, W. R. Heineman, *Laboratory Techniques in Electroanalytical Chemistry*, revised and expanded, (1996).
- [27] H. B. Mark Jr, C. N. Reilley, 3(1962)54-63. [https://doi.org/10.1016/0022-0728\(62\)85006-2](https://doi.org/10.1016/0022-0728(62)85006-2)
- [28] B. D. Epstein, E. Dalle-Molle, J. S. Mattson, *Carbon*, 9(1971)609-615. [https://doi.org/10.1016/0008-6223\(71\)90082-0](https://doi.org/10.1016/0008-6223(71)90082-0)
- [29] G. C. Barker, *Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry*, 40(1972)45-62. [https://doi.org/10.1016/S0022-0728\(72\)80124-4](https://doi.org/10.1016/S0022-0728(72)80124-4)
- [30] K. Zutshi, *Introduction to polarography and allied techniques*, New Age International. (2006).
- [31] T. Yano, D. A. Tryk, K. Hashimoto, A. Fujishima, *Journal of the Electrochemical Society*, 145(1998)1870-1876. doi: 10.1149/1.1838569
- [32] P. T. Kissinger, W. R. Heineman, *Cyclic voltammetry*, *Journal of Chemical Education*, 60(1983)702-706. <https://doi.org/10.1021/ed060p702>
- [33] H. H. Girault, *Electrochimie physique et analytique*, Presses polytechniques et universitaire romandes, (2001).
- [34] P. Skládal, *Electroanalysis*, 9(1997)737-745. <https://doi.org/10.1002/elan.1140091002>
- [35] R. K. Salar, S. S. Purewal, M. S. Bhatti, *Resource-Efficient Technologies*, 2(2016)148-157. <http://dx.doi.org/10.1016/j.reffit.2016.08.002>

# **Chapitre II : Analyse d'échantillons d'eau de robinet de notre laboratoire contenant le plomb, le cuivre et le cobalt par l'électrode à pâte de carbone modifiée par l'éthylène diamine tétra-acétique di-sodium**

## **I. Introduction**

Le plomb (Pb) est un métal toxique à multiples facettes, en termes d'environnement, d'écosystème, d'anatomie humaine, d'ADN, de génotoxicité, de biosynthèse, de photosynthèse ....etc [1-6]. Le plomb est facilement accumulé et absorbé par les différentes parties d'une plante [1]. Il induit des interruptions du métabolisme naturel de la plante [2].

De plus, les effets du plomb sur l'être humain sont destructeurs [3], puisque le Pb cause des dommages au cerveau [4]. De plus, c'est un facteur important de l'endommagement de l'ADN et affecte la division cellulaire et de la génotoxicité.  $Pb^{2+}$  est aussi l'un des inhibiteurs de la photosynthèse et provoque un stress oxydatif [5]. L'autre risque présenté par le plomb est le stress oxydatif au niveau du sang [6].

La contamination de l'eau potable par le plomb est due à la libération de  $Pb^{2+}$  pendant le processus de corrosion des tuyaux de distribution contenant des matériaux de plomberie [7]. Pour éviter les problèmes de contamination par le plomb, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) exige une concentration acceptable de plomb dans l'eau potable qui est à l'ordre de  $10 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ . La spectroscopie d'adsorption atomique [8], la spectroscopie d'adsorption atomique dans un four au graphite (GF-AAS) [9], la spectrométrie de masse à couplage inductif (ICP-MS) [10] et la spectroscopie d'émission atomique par plasma (ICP-AES) [11] sont toutes des méthodes utilisées pour quantifier le plomb. Elles sont très sensibles et très sélectives mais nécessitent une grande quantité d'échantillon pour l'analyse, fonctionnement complexe, entretien coûteux et appareils coûteux [12]. La voltamétrie à ondes carrées [13] et la voltamétrie à impulsions différentielles [14] sont des méthodes électrochimiques connues pour leur capacité à analyser les traces de plomb. Récemment, il a été démontré que les électrodes à pâte de carbone modifiées par des ligands ont reçu une attention considérable en raison de leurs nombreux avantages, tels que la facilité de fabrication, l'absence de toxicité, le faible prix [15-17] et une très bonne sélectivité [18,19].

Dans le cadre de ce chapitre, nous avons développé une nouvelle électrode à pâte de carbone modifiée par l'éthylène diamine tétra-acétique di-sodium (EDTA) destinée à la détection et la quantification de  $Pb^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$  et le  $Co^{2+}$  dans l'eau potable.

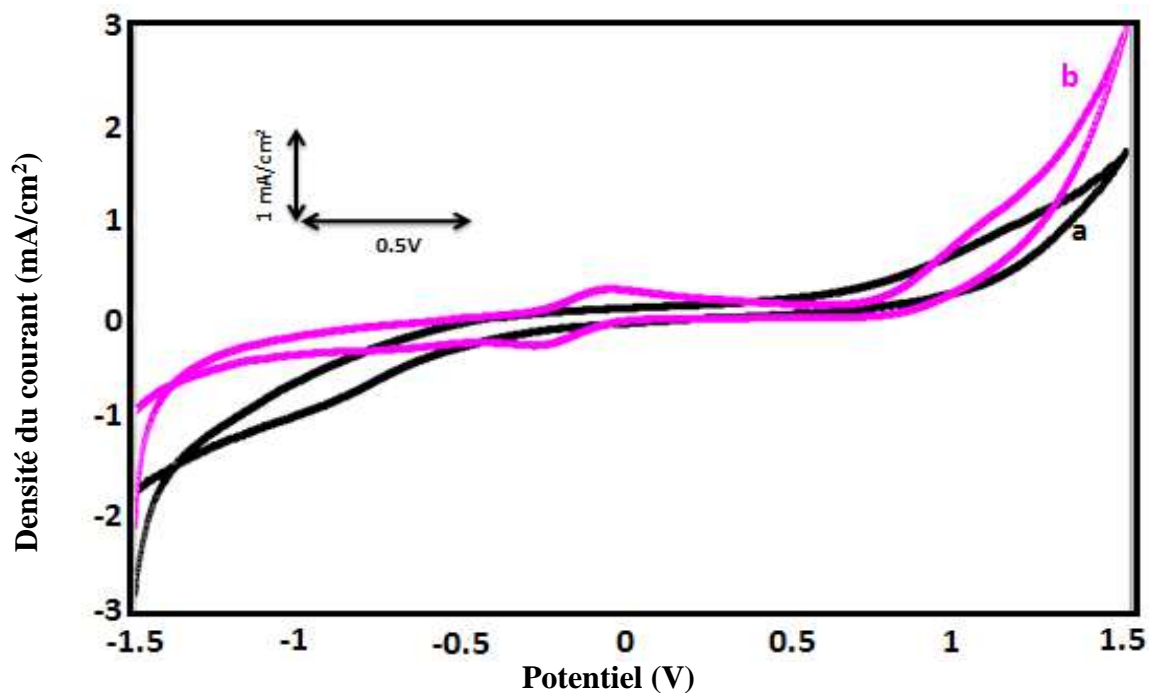
## II. Procédure

Après avoir été lavée à l'eau bidistillée et séchée à température ambiante, l'électrode est transférée dans la cellule électrochimique (100 ml) (purgé par l'azote pur pendant 10 minutes). Une étape de préconcentration est nécessaire. La procédure de travail initiale consiste à mesurer la réponse électrochimique d'une électrode à pâte de carbone modifiée par l'EDTA dans une solution électrolytique à 0.1 M NaCl avec une concentration fixe de  $\text{Pb}^{2+}$ . Le comportement électrochimique de l'électrode à pâte de carbone modifiée proposée a été enregistré dans la plage de potentiel comprise entre -1.5 V et 1.5 V.

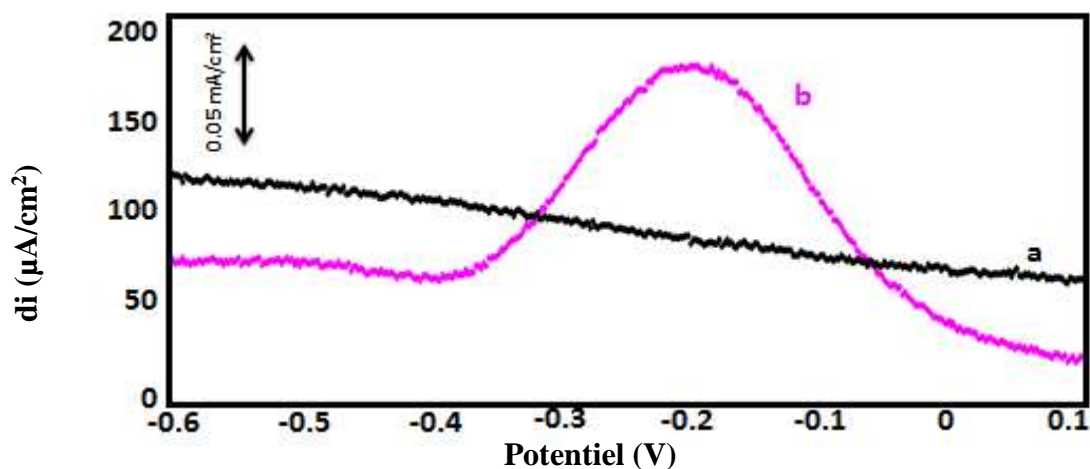
## III. Résultats et discussion

### 1. Caractérisation électrochimique de l'électrode modifiée par l'EDTA

La **Fig. 1** montre des voltammogrammes cycliques (VC) de l'électrode à pâte de carbone (courbe a) et de l'électrode à pâte de carbone modifiée par 10% de l'EDTA (courbe b) 0.1mol / L NaCl, réalisés à des potentiels compris entre -1.5 V et + 1.5 V, pH = 7 et une vitesse de balayage de 100 mV.s<sup>-1</sup>. Les deux voltammogrammes ne sont pas superposables, ce qui montre que l'électrode a été bien modifiée par l'EDTA. Il est également clair que la modification de l'électrode a entraîné une augmentation considérable de la densité de courant de 1.722 mA / cm<sup>2</sup> à 2.979 mA / cm<sup>2</sup> à +1.5 V, ce qui est probablement dû à la conductivité élevée de l'EDTA. Deux pics sont observés dans le voltammogramme cyclique du CPE-10% EDTA, le premier correspond à l'oxydation de l'EDTA, il se situe dans le sens de balayage anodique à -0.07 V, le deuxième se situe dans le sens de balayage cathodique à -0.26 V relative à la réduction de la même molécule. Les deux pics redox sont légèrement proches et presque de même intensité (DC (a) = 0.29 mA / cm<sup>2</sup>, DC (c) = 0.27 mA / cm<sup>2</sup>), ce qui montre qu'il s'agit bien d'une réaction réversible. La réversibilité du système étudié est argumentée par les voltammogrammes à ondes carrées (**Fig. 2**) où il y a apparition d'un pic unique à -0.26V correspondant à la réduction de l'EDTA (courbe b).



**Fig. 1.** Voltammogrammes cycliques en solution contenant 0.1 M NaCl à 100 mV / s et pH = 7 pour l'électrode à pâte de carbone nue (CPE) –a– et l'électrode à pâte de carbone modifiée par l'EDTA (EDTA = 10 %) –b–.



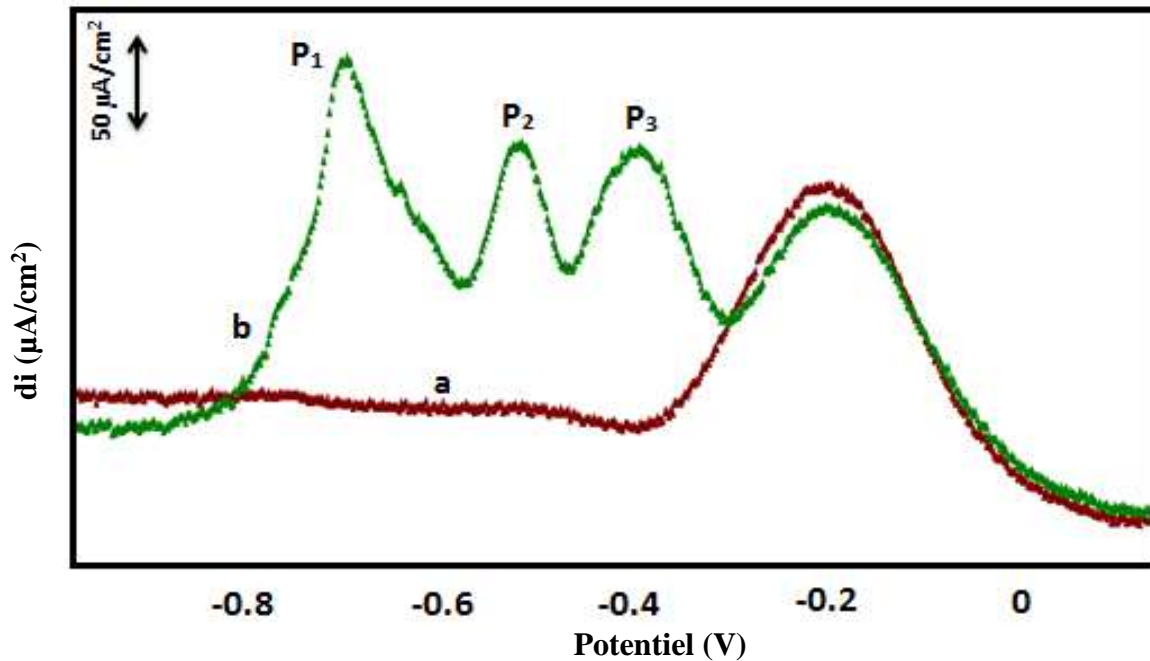
**Fig. 2.** Voltammogrammes à ondes carrées en solution contenant 0.1 M NaCl à 20 mV / s et pH = 7 pour l'électrode à pâte de carbone nue (CPE) –a– et l'électrode à pâte de carbone modifiée par l'EDTA (EDTA = 10%) –b–.

## 2. Comportement voltamétrique vis-à-vis du $Pb^{2+}$ de la CPE-10 % EDTA

La **Fig. 3** -courbe b- montre le voltammogramme à ondes carrées (SWV) obtenu après un séjour de 10 min de l'introduction du CPE-10% EDTA dans une solution électrolytique de 0.1 mol / l NaCl contenant  $9.10^{-4}$  mol / l  $Pb^{2+}$  et à  $20 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$ . Il y a trois pics clairement apparus ( $P_1$ ,  $P_2$  et  $P_3$ ). En utilisant le voltammogramme cyclique de la **Fig. 4** -

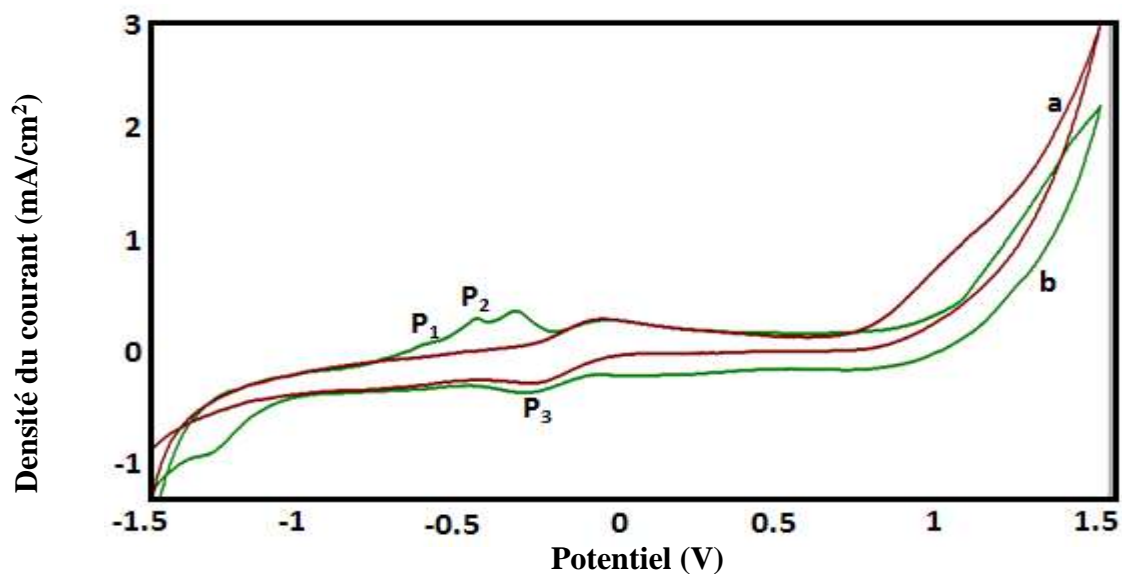


**courbe b-**, on peut confirmer que les deux pics  $P_1$  et  $P_2$ , apparus respectivement dans le sens de balayage anodique à  $E_{p1} = -0.7$  V et  $E_{pa2} = -0.53$  V, sont dus à l'oxydation du plomb métallique. Le pic  $P_3$  est apparu dans l'autre sens de balayage à  $E_{pa3} = -0.398$  V correspond à la réduction du plomb ionique. On note qu'il y a également une légère diminution de la densité de pic d'oxydation d'EDTA au moment de l'apparition de ces trois pics.

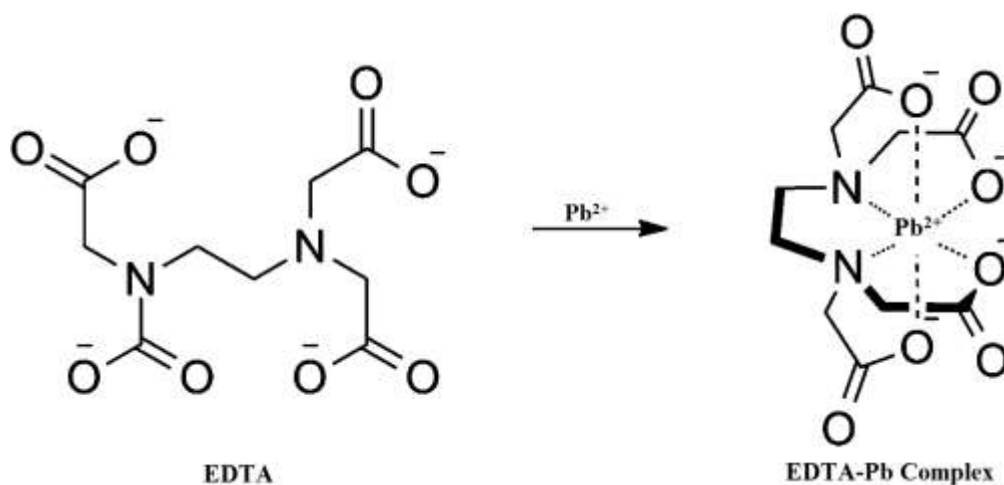


**Fig. 3.** Voltammogrammes à ondes carrées de CPE-EDTA dans 0.1 M NaCl à 20 mV / s, pH = 7 et 10 % (w/w) de rapport EDTA /CP (a) avant et (b) après 10 min de préconcentration dans  $9.10^{-4}$  mol/l de  $Pb^{2+}$

A partir de ces observations électrochimiques, il est maintenant clair que les ions  $Pb^{2+}$  en solution électrolytique sont complexés à la surface de l'électrode modifiée pendant l'étape de préconcentration.  $Pb^{2+}$  peut réaliser un ligand hexadentate avec les six sites basiques de l'EDTA (quatre correspondant aux carboxylates et deux correspondant aux fonctions amine) de la matrice de l'électrode (**Fig. 5**) [20-22]. L'ion complexé est réduit in situ ou dans la solution après application d'un potentiel de -0.398V ( $P_3$ ). Dans le sens du balayage anodique, le plomb formé est oxydé dans la solution ou dans la matrice organique, ce qui explique l'apparition de deux pics  $P_1$  et  $P_2$  respectivement à -0.7V et -0.53V. Le mécanisme qu'on peut proposer est envisagé à la **Fig. 6**.



**Fig. 4.** Voltammogrammes cycliques de CPE-EDTA dans 0.1 M NaCl à 100 mV / s, pH = 7 et 10 % (w/w) de rapport EDTA /CP (a) avant et (b) après 10 min de préconcentration dans  $9.10^{-4}$  mol / L de  $Pb^{2+}$



**Fig. 5.** Structure proposée pour le complexe  $Pb^{2+}$ - EDTA en solution aqueuse [18]

### 3. Etude de la microstructure de l'électrode modifiée par l'EDTA

La spectrométrie à dispersion d'énergie (EDX) couplée au MEB permet de déterminer la composition et la structure chimique de la surface de l'électrode examinée.

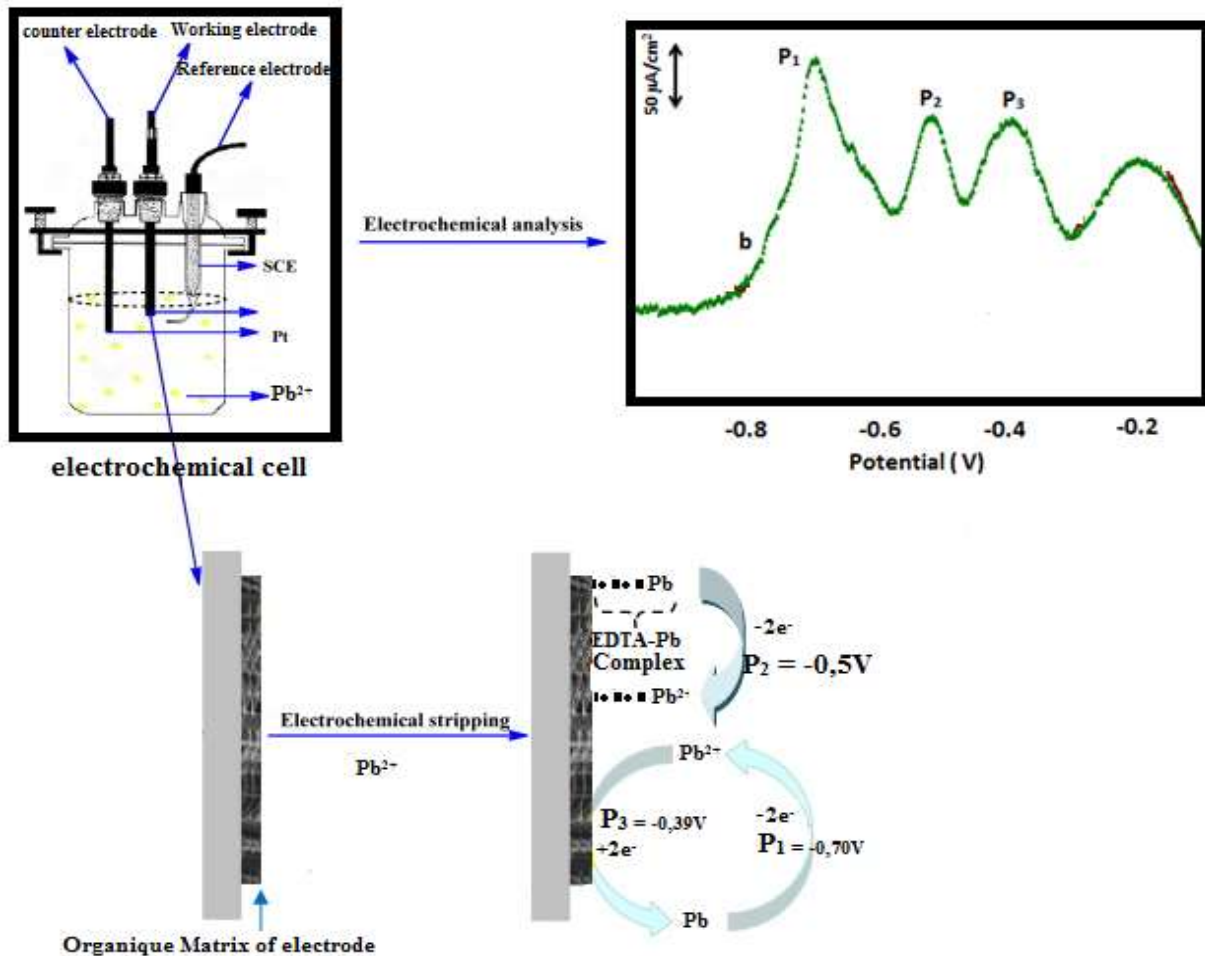
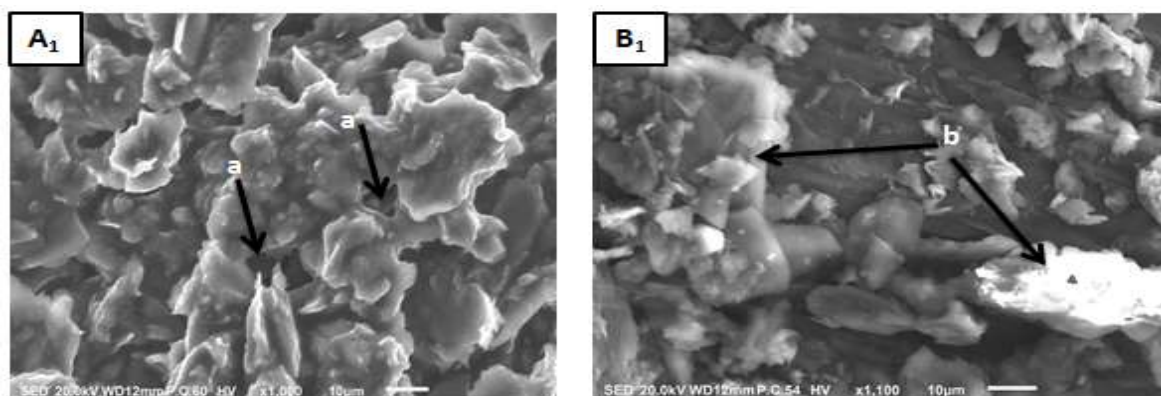
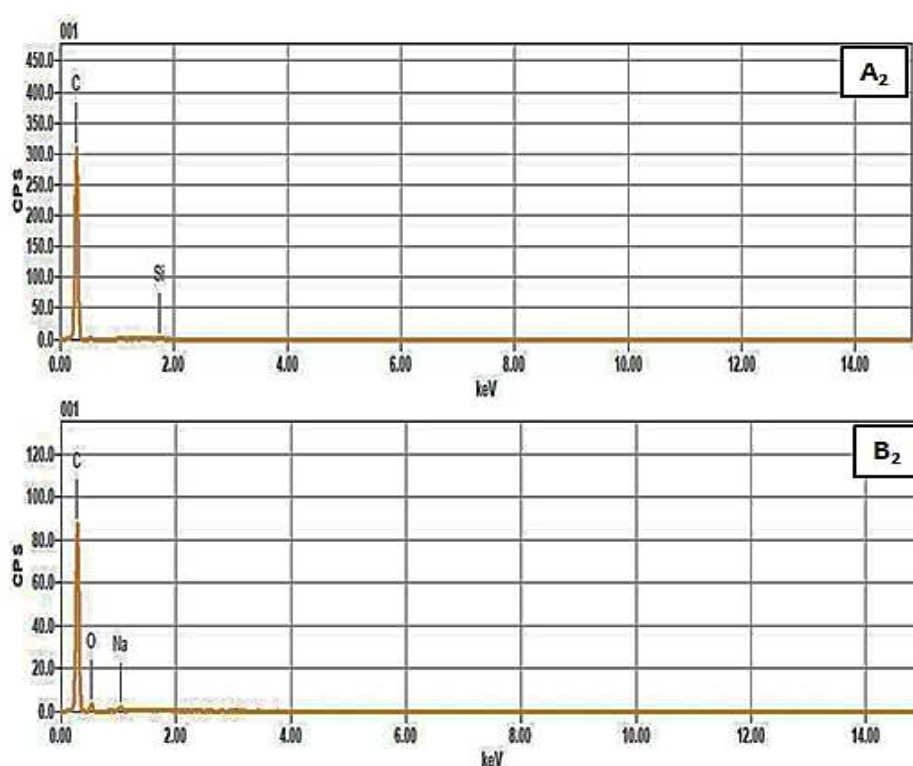


Fig.6. Mécanisme réactionnel proposé à la surface de l'électrode modifiée

Les analyses élémentaires par MEB couplée à la spectrométrie à dispersion d'énergie EDX (MEB-EDX) nous ont permis de voir que la surface de l'électrode non modifiée (CPE) présente des micropores de taille moyenne de  $8,8 \mu\text{m}$  qui sont susceptibles d'abriter des éléments actifs (**Fig. 7-A<sub>1</sub>**), aussi la même électrode est composée majoritairement de carbone et quelques traces de silice (**Fig. 8-A<sub>2</sub>**). A partir du spectre EDX de l'électrode modifiée (**Fig. 8-B<sub>2</sub>**) on remarque qu'il y a présence de l'oxygène (le pic de l'oxygène est observé à  $0.5 \text{ KeV}$ ) qui fait partie de la molécule d'EDTA de formule brute  $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{Na}_2\text{O}_8$ . L'observation par le MEB de la surface de l'électrode modifiée montre la présence des particules de taille moyenne de  $20 \mu\text{m}$  qui obstruent les micropores observés à la **Fig. 7-A<sub>1</sub>**. Ces particules correspondent bien à la molécule de l'EDTA.

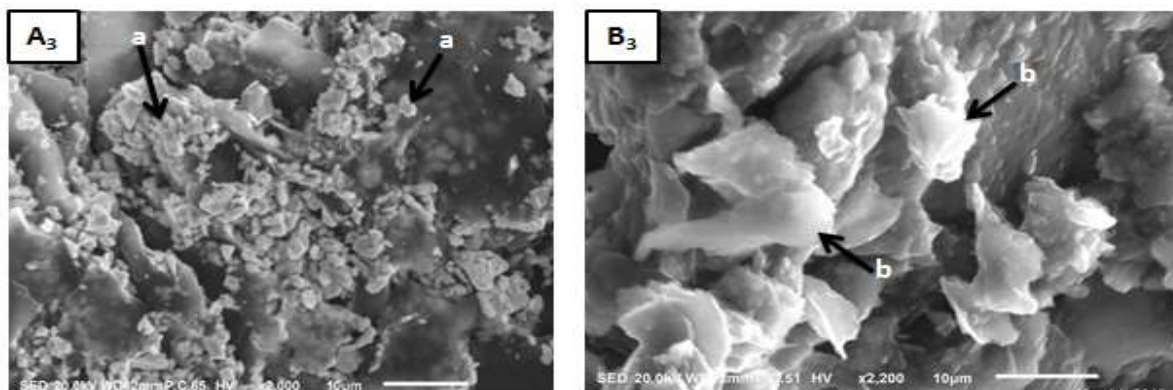


**Fig. 7.** Images en microscopie électronique à balayage de CPE (A<sub>1</sub>) (x1100) et CPE-10% EDTA (B<sub>2</sub>) (x1100)



**Fig. 8.** Spectres EDX d'analyse élémentaire à la surface de CPE (A<sub>2</sub>) et CPE-10% EDTA (B<sub>2</sub>)

L'analyse de la surface de CPE par le MEB après 10 min de préconcentration dans une solution contenant  $9.10^{-4}$  mol / L de  $Pb^{2+}$  (**Fig. 9-A<sub>3</sub>**), montre la présence des petites particules de taille moyenne de  $2.85 \mu m$  (plus petites que les micropores observés à la **Fig. 7-A<sub>1</sub>**) qui correspondent bien aux ions  $Pb^{2+}$ . La surface de l'électrode modifiée se caractérise par la formation des petits amas de taille moyenne de  $11.9 \mu m$  qui sont des complexes formés par l'association de l'EDTA avec les ions de  $Pb^{2+}$ .



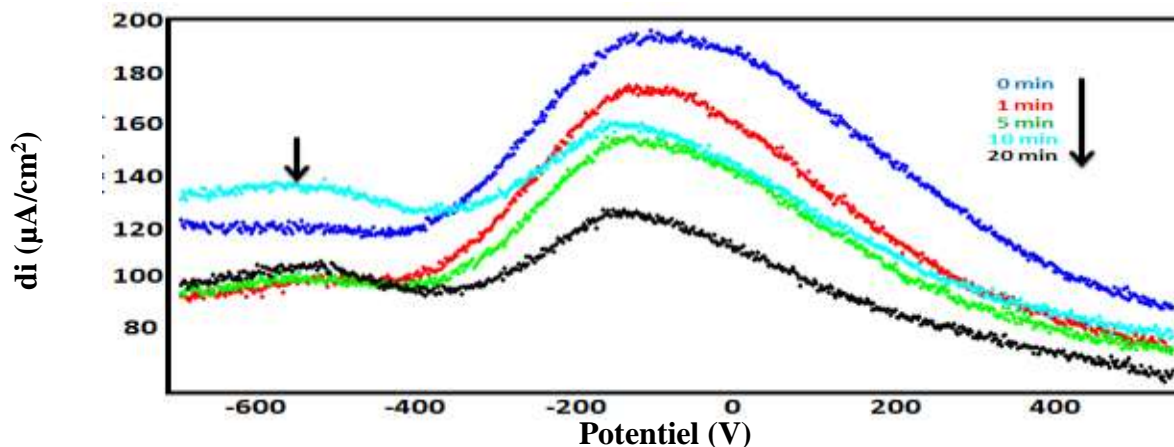
**Fig. 9.** Images en microscopie électronique à balayage après 10 min de préconcentration dans  $9.10^{-4}$  mol / L de  $Pb^{2+}$  de CPE (A<sub>3</sub>) (x 2000) et CPE-10 % EDTA (B<sub>3</sub>) (x 2200)

#### 4. Standardisation des paramètres

La performance de l'électrode est influencée par plusieurs paramètres comme le temps d'accumulation, pH, vitesse de balayage.....

##### a. Etude de l'effet de temps de préconcentration

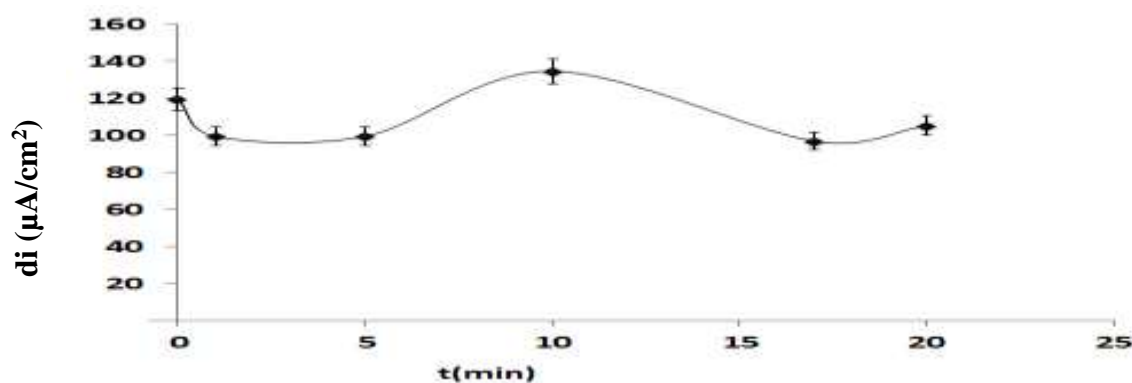
L'effet de temps de préconcentration sur l'intensité du pic d'oxydation de  $Pb^{2+}$  est suivi par SWV dans une solution contenant 0.9 mM de plomb. La **Fig. 11** est une représentation graphique de l'intensité de pic d'oxydation de  $Pb^{2+}$  observé à -0.5 V (P<sub>2</sub>) par SWV (**Fig. 10**) en fonction du temps de préconcentration. L'intensité du pic d'oxydation reste constante pendant les premières 5 minutes de préconcentration puis elle atteint son maximum après 10 min. L'intensité du pic commence à diminuer graduellement quand le temps de préconcentration dépasse 10 min, ceci est dû probablement au phénomène de relargage. Le pic d'oxydation de l'EDTA est aussi affecté par le temps de préconcentration ce qui indique qu'il y a une interaction entre le  $Pb^{2+}$  et la surface modifiée de l'électrode (échange des électrons). Donc pour toutes les séquences de mesures, le temps de préconcentration est fixé à 10 minutes.



**Fig. 10.** Voltammogrammes à ondes carrées de CPE-EDTA dans 0.1 M NaCl à 20 mV / s, 0.9 mM de  $Pb^{2+}$ , pH = 7 et 50 % (w/w) de rapport EDTA /CP à différents temps de préconcentration.

### b. Etude de l'effet de la vitesse de balayage

Les pics redox de plomb sont étudiés en fonction de la vitesse de balayage de 30 à 100mv/s dans une solution de 2.4 mM  $Pb^{2+}$ , pH=7 et pendant 10 min de préconcentration. L'intensité du courant de pic anodique et cathodique diminuent linéairement avec l'augmentation de vitesse de balayage ce qui montre que le transfert des électrons de plomb à la surface de l'électrode est contrôlé par une réaction d'adsorption (**Fig. 12 et Fig. 13**). On note également que les deux pics d'oxydation ( $P_1$  et  $P_2$ ) et le pic de réduction ( $P_3$ ) sont observés visiblement lors de l'application d'un potentiel de 100mv/s. Donc la vitesse de balayage 100mv/s est choisie pour effectuer les mesures voltamétrique dans les prochaines expériences. Pour la voltamétrie à onde carrée (SWV), la vitesse de balayage 20 mV / s a donné une grande intensité de pic d'oxydation, pour cette raison elle sera utilisée pour toutes les mesures [22].



**Fig. 11.** Effet de temps d'accumulation sur les courants de pic d'oxydation ( $P_2$ ) de 0.9 mM  $Pb^{2+}$  à CPE-EDTA, 0.1 M NaCl, vitesse de balayage 20 mV / s, pH= 7

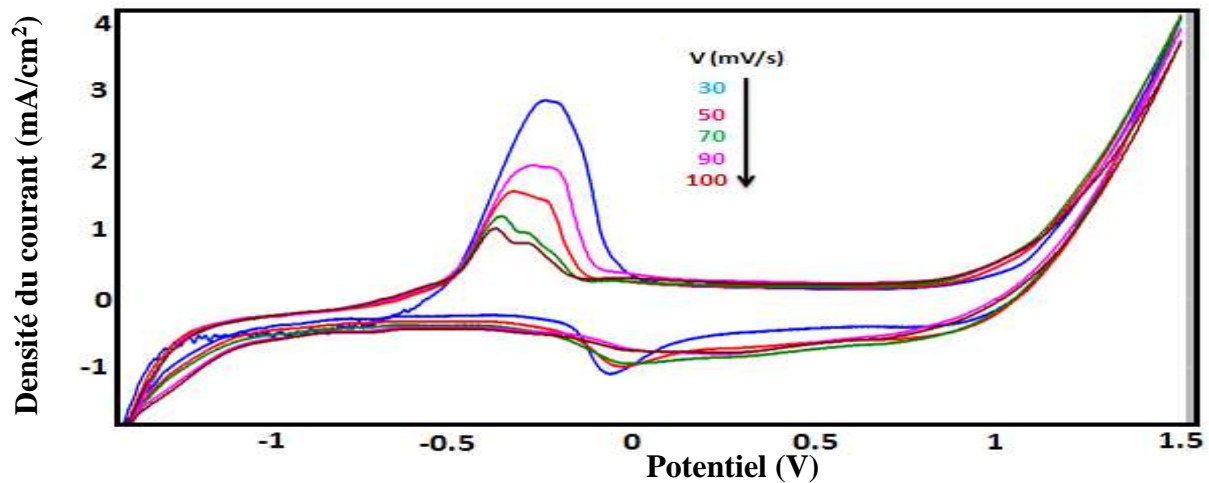


Fig. 12. Voltammogrammes cycliques enregistrés pour CPE-10 % EDTA avec 2.4 mM de Pb<sup>2+</sup>, dans 0.1 M de NaCl à différentes vitesses de balayage de 30 à 100 mV / s, pH = 7, temps de préconcentration = 10 min.

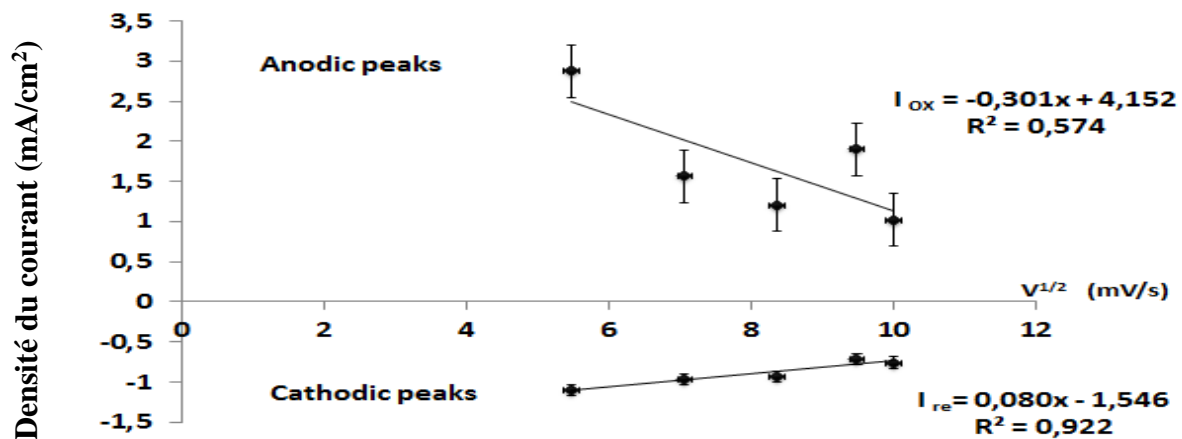


Fig. 13. Effet de la vitesse de balayage sur les pics redox de CPE-10 % EDTA à 2.4 mM Pb<sup>2+</sup>, dans 0.1 M NaCl à différentes vitesses de balayage de 30 à 100 mV / s, pH = 7, temps de préconcentration = 10 min

### c. Effet de pH

L'effet de pH sur le comportement électrochimique de l'électrode modifiée par 50 % de l'EDTA est étudié à différentes valeurs de pH (de 4 à 10) dans une solution de 0.6 mM Pb<sup>2+</sup>, 0.1M NaCl et pendant 10 min de préconcentration. Le courant de pic anodique augmente quand le pH diminue de 7 à 2 (Fig. 14). Le milieu basique favorise la formation de l'hydroxyde de plomb (Pb(OH)<sub>2</sub>) ce qui diminue la disponibilité des ions Pb<sup>2+</sup> à la surface de l'électrode modifiée [23].

#### d. Effet de la composition de l'électrode

L'effet de la quantité de l'EDTA sur le comportement électrochimique de l'électrode modifiée est étudié par SWV dans une solution de 1.2 mM  $Pb^{2+}$ , pH=2, 0.1 M NaCl et pendant 10 min de preconcentration. L'intensité de pic d'oxydation augmente significativement en fonction de la diminution de quantité de l'EDTA dans le carbone graphite (Fig. 15 et 16). On peut expliquer ceci par la diminution de la conductivité à la surface de l'électrode à mesure que la quantité de la molécule organique augmente, puisque les molécules organiques sont connues par leur faible conductivité. A l'issue de cette étude, 10% de l'EDTA sera utilisé pour la préparation de l'électrode.

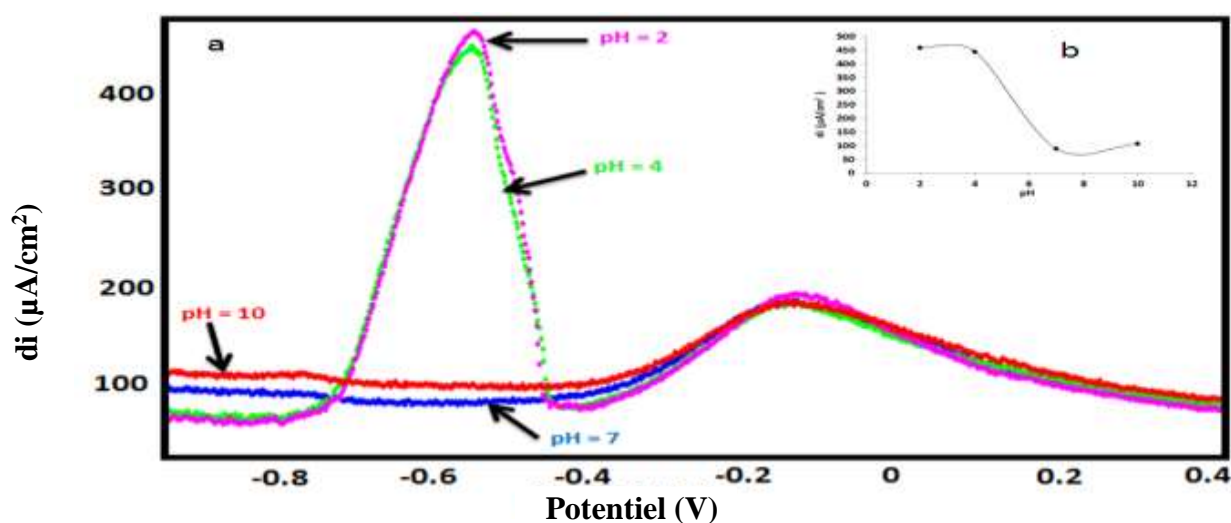


Fig. 14. Effet de pH sur l'oxydation de  $Pb^{2+}$  à CPE-EDTA, dans 0.1 M NaCl, 0.6 mM  $Pb^{2+}$ , vitesse de balayage 20 mV / s, +1500 mV. (a) SWV, (b) graphe de l'intensité de pic d'oxydation en fonction de pH du milieu

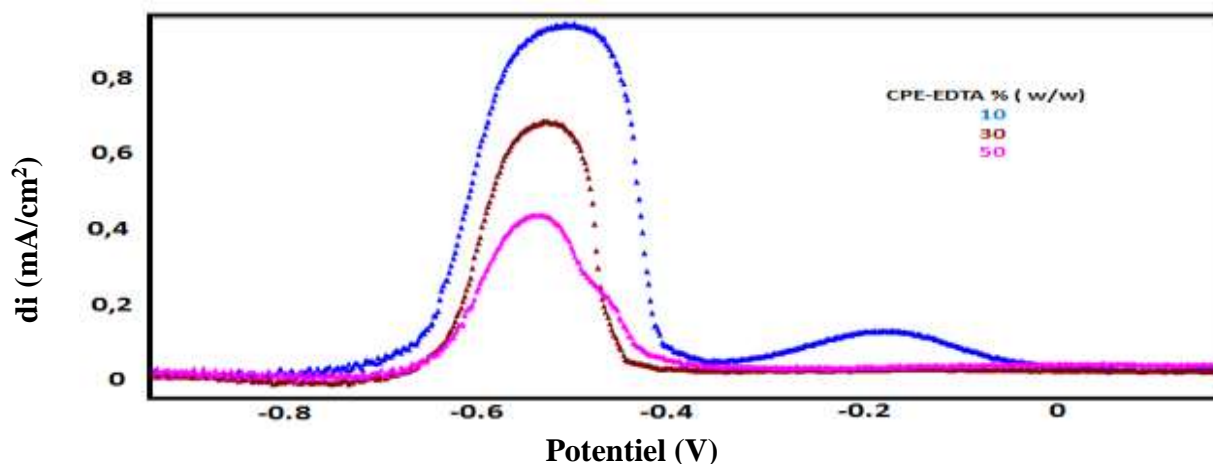


Fig. 15. Voltammogrammes à ondes carrées de CPE-EDTA à différentes teneurs en EDTA dans la pâte de carbone, 0.1 M NaCl, pH = 2, vitesse de balayage 20 mV / s, 1.2 mM  $Pb^{2+}$



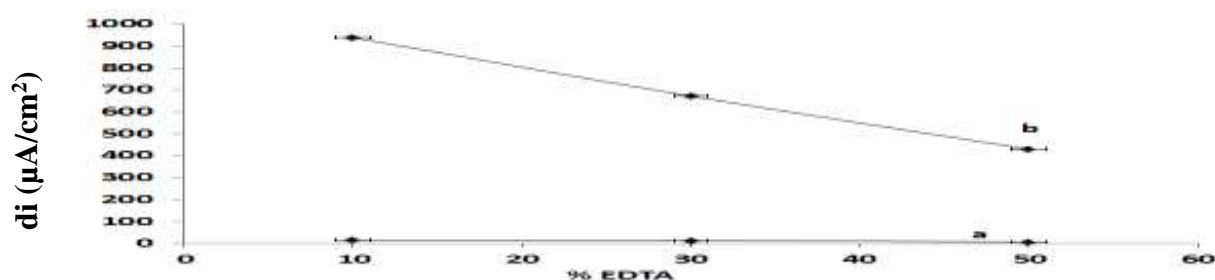
### e. Effet de concentration de plomb, limite de détection et limite de quantification

D'après les études précédentes, on trouve que l'électrode modifiée est influencée par plusieurs paramètres. Le **Tableau 1** rassemble ces paramètres. La **Fig. 17** montre l'effet de la concentration sur l'intensité des pics dans l'intervalle de concentration de 0.3 mM à 2.1 mM  $\text{Pb}^{2+}$  et dans les conditions optimales citée dans le **Tableau 1**. La courbe analytique de régression (**Fig. 18**) est linéaire dans l'intervalle de concentration de 0.3 mM à 2.1 mM  $\text{Pb}^{2+}$ . L'équation de la droite de régression linéaire est :

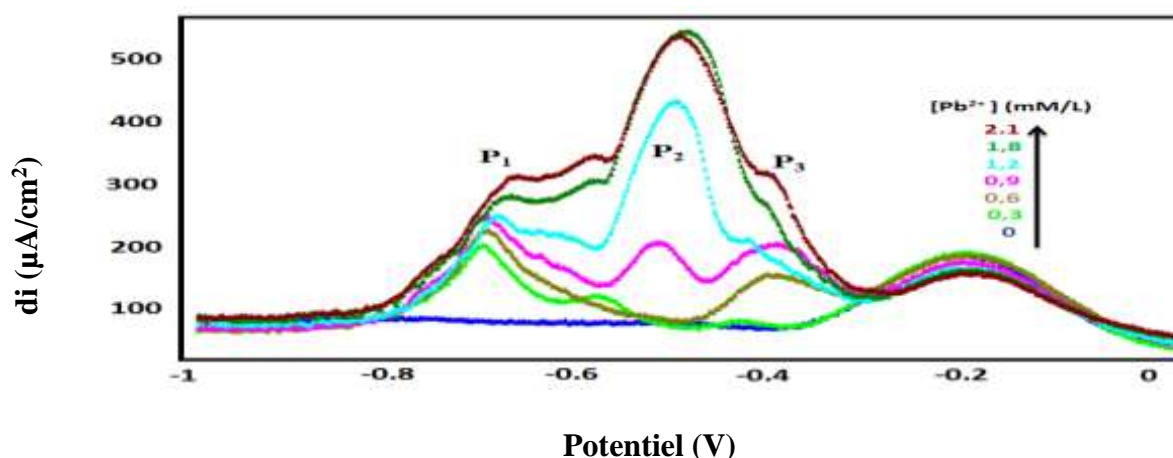
+ Pour le pic d'oxydation  $P_1$  (-0.7V):  $I_{\text{oxydation 1}} = 56.968[\text{Pb}^{2+}] + 185.99 \quad R^2 = 0.978$

+ Pour le pic d'oxydation  $P_2$  (-0.58V):  $I_{\text{oxydation 2}} = 133.91 [\text{Pb}^{2+}] + 57.043 \quad R^2 = 0.99$

$I$  est exprimé en mA et la concentration en mmol/L. La limite de détection (**LQ**, 3s) est  $2.33 \cdot 10^{-9} \text{ mol/L}$  et la limite de quantification (**LQ**, 10s) est  $7.77 \cdot 10^{-9} \text{ mol/L}$ . LD et LQ sont calculées à partir du pic d'oxydation  $P_1$ .



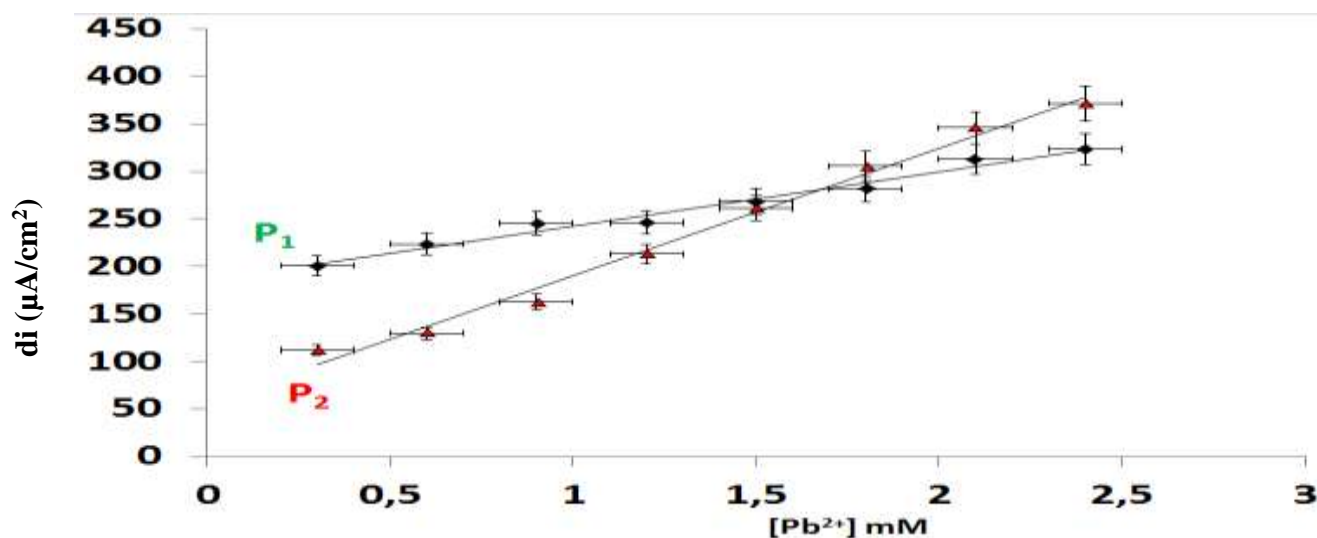
**Fig. 16.** Effet de quantité de l'EDTA dans le carbone graphite (%) en absence (a) et en présence de 1.2 mM  $\text{Pb}^{2+}$  (b).



**Fig. 17.** Voltammogrammes à ondes carrées de CPE-10 % EDTA dans 0.1 M NaCl,  $t_p = 10$  min à différentes concentrations de  $\text{Pb}^{2+}$ , vitesse de balayage 20 mV/s.

**Tableau 1.** Détermination des paramètres optimaux pour l'analyse de  $Pb^{2+}$ 

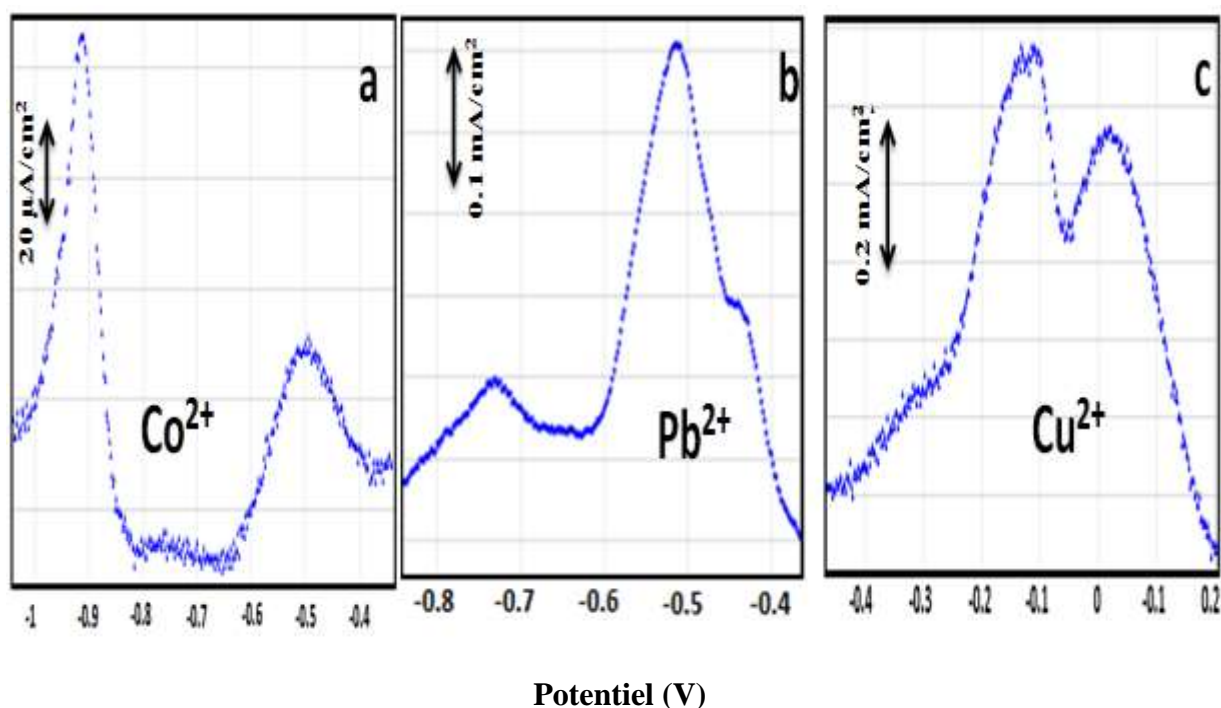
Paramètres	Valeur optimale
Composition de l'électrode	10% de l'EDTA, trois gouttes de l'huile de paraffine, Carbone graphite calciné
Temps de préconcentration	10 min
pH	2
Vitesse de balayage	100 mV/s ( VC); 20mv/s (SWV)
Intervalle de potentiel	[-1500 mV, +1500 mV]
Durée (SWV)	0.1 s
Amplitude (SWV)	2 mV
Impulsion (SWV)	50 mV
Milieu électrolytique	0.1 mol de NaCl

**Fig. 18.** Effet de la concentration sur les pics d'oxydation de CPE-10 % EDTA dans 0.1 M NaCl, pH=7,  $t_p = 10$  min, vitesse de balayage 20 mV/ s.

### F. Etude de l'interférence

Dans les milieux naturels comme l'eau potable, l'eau de rivière et les solutions physiologiques comme l'urine, le plasma, la salive, ... on trouve beaucoup des éléments chimiques qui peuvent affecter la détection de plomb par CPE-10 % EDTA. Dans ce volet, nous avons étudié l'influence de  $Cu^{2+}$  et  $Co^{2+}$  sur la réponse électrochimique de  $Pb^{2+}$ . Avant d'étudier l'effet d'interférences, il faut tout d'abord déterminer l'identité électrochimique de chaque élément. Pour cette raison nous avons réalisé le SWV de  $Cu^{2+}$ ,  $Pb^{2+}$  et  $Co^{2+}$  à CPE-10 % EDTA dans 0.1 M NaCl et vitesse de balayage 20 mV / s, la **Fig. 19** montre les résultats obtenus. L'ajout de 2.1 mM de  $Co^{2+}$  dans la solution électrolytique entraîne l'apparition de deux pics, le premier observé à -0.5 V correspond à l'oxydation de cobalt et l'autre observé à -0.9V correspond à la réduction du même élément (**Fig. 19-courbe a-**, **Tableau 2**).  $E_a = -0.11$  V et  $E_c = 0.022$  V sont respectivement les potentiels d'oxydation et de réduction observés lors de l'ajout de 2.14 mM de  $Cu^{2+}$  (**Fig. 19-courbe b-**, **Tableau 2**).

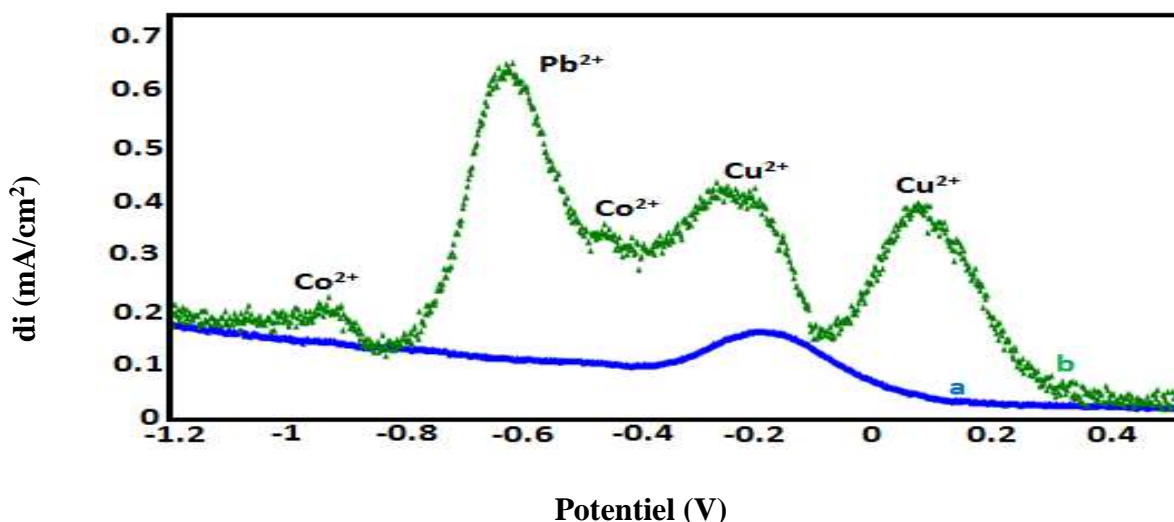
Les réponses électrochimiques obtenues par SWV à CPE-10 % EDTA après l'ajout de 2.1 mM  $\text{Co}^{2+}$ , 2.4mM  $\text{Cu}^{2+}$  et 1.5 mM  $\text{Pb}^{2+}$  dans une solution de 0.1 M NaCl sont représentées dans la **Fig. 20**. On note que chaque élément garde son identité électrochimique même si en présence des autres constituants. Le seul changement observé est la modification de l'intensité des pics redox de chaque métal. On trouve que les pics redox de  $\text{Pb}^{2+}$  sont augmentés significativement, le signal de  $\text{Co}^{2+}$  se baisse légèrement (de 0.217 mA /  $\text{cm}^2$  à 0.184 mA /  $\text{cm}^2$  pour le pic d'oxydation mais le pic de réduction a été augmenté) par contre le signal de  $\text{Cu}^{2+}$  a diminué d'une manière significative (de 0.76mA/ $\text{cm}^2$  à 0.31 mA/ $\text{cm}^2$  pour le pic d'oxydation). Les changements observés sont probablement dus à la compétition des ions métalliques à la surface de l'électrode modifiée. Tous ces éléments sont des acides mous selon la terminologie de Lewis [24] mais d'autres paramètres se diffèrent comme l'électronégativité, le potentiel standard et le volume atomique. Ainsi, le potentiel standard du couple  $\text{Pb}^{2+}/\text{Pb}$  (-0.13 V) [25] est supérieur au potentiel standard de cobalt ( $E^\circ_{\text{Co}^{2+}/\text{Co}} = -0.28\text{V}$ ) [26-29]. En plus, l'atome de plomb est volumineux, son électronégativité est élevée et facile à s'oxyder par rapport au cuivre et au cobalt.



**Fig. 19.** Voltamogrammes à onde carrée enregistrés de CPE -10 % EDTA en présence de : (a) 2.1 mM / L de  $\text{Co}^{2+}$ , et (b) 1.51 mM / L de  $\text{Pb}^{2+}$  et (c) 2.14 mM / L de  $\text{Cu}^{2+}$  en solution électrolytique contenant 0.1 M NaCl, pH = 7 et vitesse de balayage 20 mV / S.

**Tableau 2.** Identification électrochimique par SWV de  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$  et  $\text{Pb}^{2+}$  à CPE-10 % EDTA dans 0.1M NaCl, pH=7, Vitesse de balayage 20 mv/s

Métal	Co	Cu	Pb
Potentiel de pic d'oxydation	-0.5 V	-0.11 V	-0.7 V
Potentiel de pic de réduction	-0.9 V	0.022 V	-0.398 V



**Fig. 20.** Voltammogrammes à onde carrée enregistrés de CPE - 10 % EDTA: (a) en absence et (b) en présence de 2.14 mM / L  $\text{Cu}^{2+}$ , 2.1 mM / L  $\text{Co}^{2+}$  et 1.51 mM / L  $\text{Pb}^{2+}$  en solution électrolytique contenant 0.1 M NaCl, pH = 7 et vitesse de balayage 20 mV / s

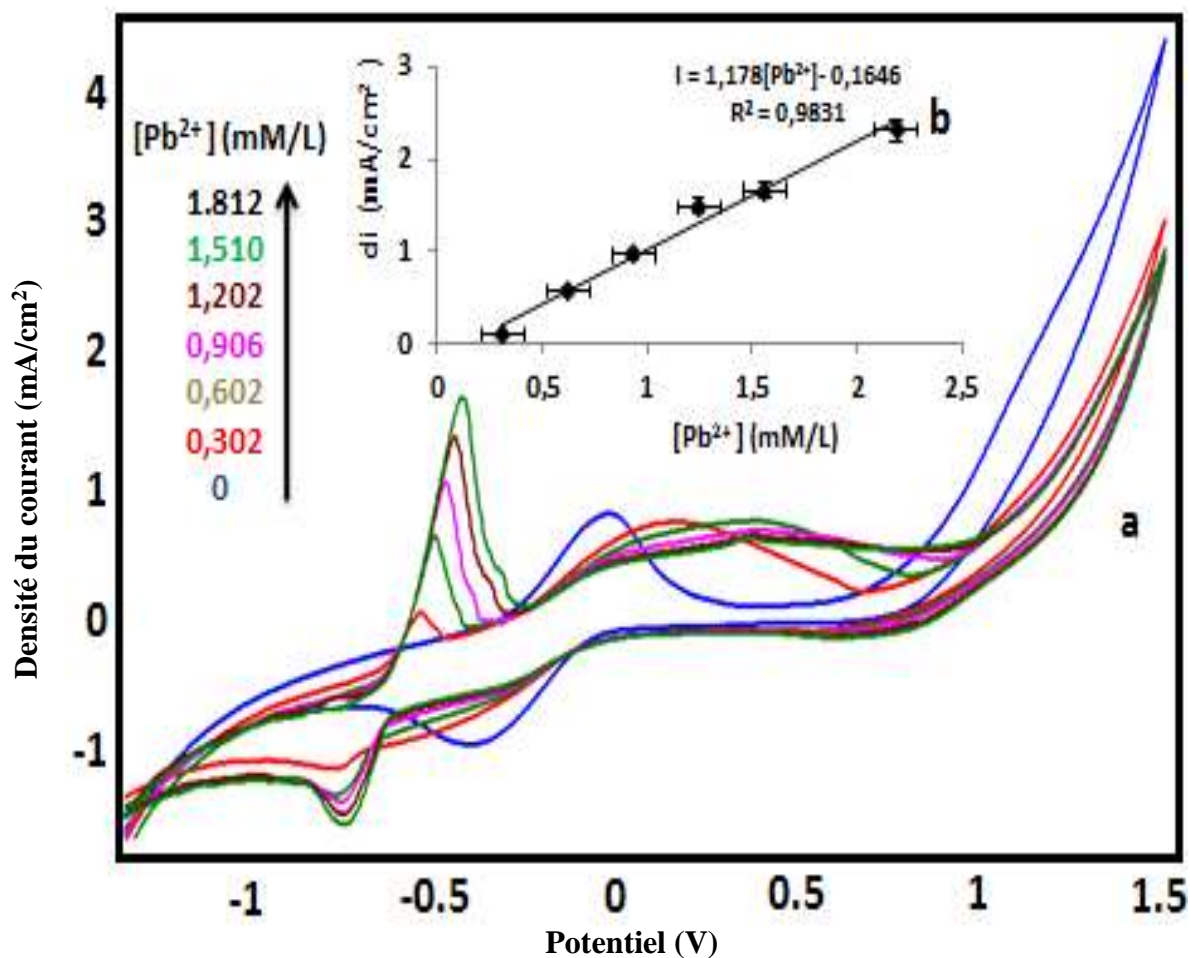
### 5. Analyse de plomb dans l'eau de robinet de notre laboratoire

L'électrode de CPE-10 % EDTA a été utilisée pour déterminer la concentration de plomb et d'autres métaux toxiques dans l'eau potable afin d'assurer la sécurité sanitaire. Les analyses sont effectuées dans les conditions optimales déterminées ultérieurement (**Tableau 1**). Les voltammogrammes cycliques (VC) et les voltammogrammes à onde carrée (SWV) de CPE-10 % EDTA à différentes concentrations de  $\text{Pb}^{2+}$  dans l'eau de robinet de notre laboratoire sont représentés successivement dans la **Fig. 21-a** et la **Fig. 22-a**. La courbe de régression obtenue par VC (à partir de trois mesures pour chaque concentration ( $n=3$ )) (la **Fig. 21-b**) est linéaire dans l'intervalle de concentration de 0.302 mM à 1.812 mM  $\text{Pb}^{2+}$ . La courbe de régression propre à SWV est aussi linéaire (la **Fig. 22-b**) avec un coefficient de détermination ( $R^2$ ) moins élevé ce qui indique que le pouvoir prédictif de VC est plus fort que celui de SWV (**Tableau 3**).

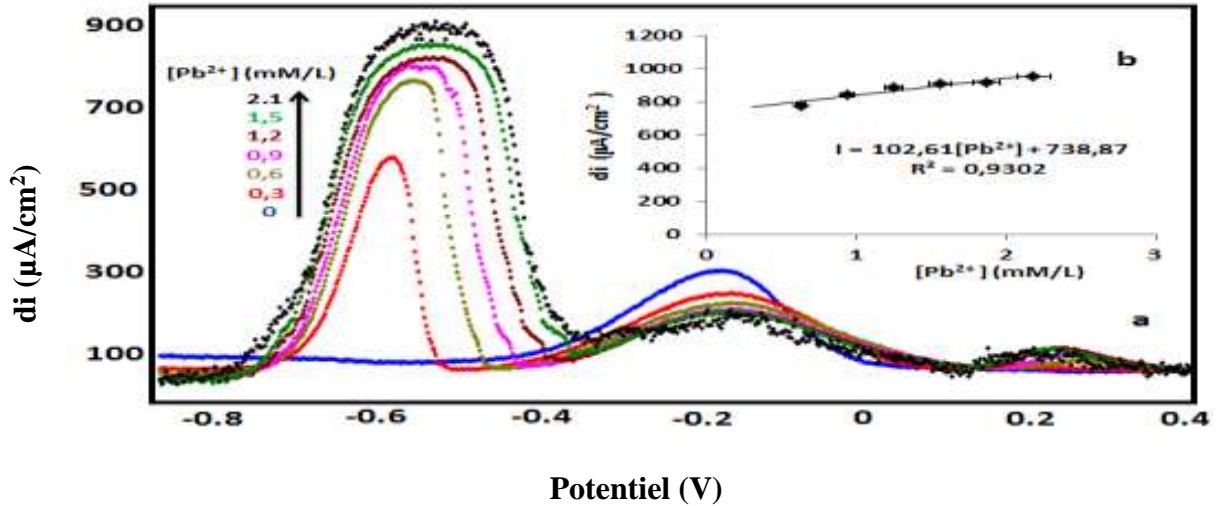
Le **Tableau 4** présente les résultats d'analyse des échantillons qui contiennent des concentrations connues de  $\text{Pb}^{2+}$ . Les concentrations sont calculées à partir de l'équation générale de la courbe de régression en se basant sur l'intensité du pic d'oxydation observé à -

0.58 V (**Tableau 3**). Pour la plupart des échantillons étudiés on note que la concentration calculée et celle ajoutée sont très proches. Donc, on peut utiliser l'électrode CPE-10 % EDTA pour quantifier le  $Pb^{2+}$  dans l'eau potable.

La **Fig. 23** montre que les concentrations ajoutées et celles trouvées sont très proches dans le cas d'utilisation de la méthode de VC. Donc la méthode de VC est fiable pour la quantification de  $Pb^{2+}$  dans l'eau potable par CPE-10 % EDTA.



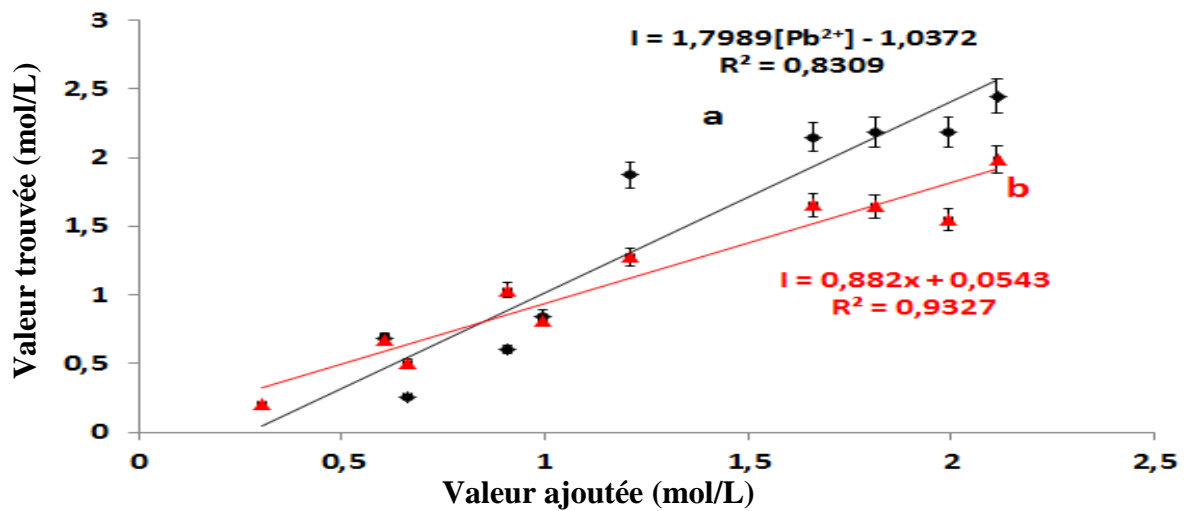
**Fig. 21.** (a) Voltammogrammes cycliques de CPE-EDTA 10% dans 0.1 M NaCl,  $t_p = 10$  min pour différentes concentrations de  $Pb^{2+}$  dans l'eau de robinet, vitesse de balayage 100 mV / s, pH =2; (b) graphe de l'intensité des pics d'oxydation en fonction de la concentration de  $Pb^{2+}$  dans l'eau de robinet obtenu à partir de trois mesures pour chaque concentration.



**Potentiel (V)**  
**Fig. 22.** (a) Voltammogrammes à onde carrée de CPE-EDTA 10 % dans 0.1 M NaCl,  $t_p = 10$  min pour différentes concentrations de  $Pb^{2+}$  dans l'eau de robinet, vitesse de balayage 100 mV / s, pH = 2, (b) graphe de l'intensité des pics d'oxydation en fonction de la concentration de  $Pb^{2+}$  dans l'eau de robinet obtenu à partir de trois mesures pour chaque concentration.

**Tableau 3.** Détermination de l'équation générale, coefficient de détermination ( $R^2$ ), la limite de détection et la limite de quantification de CPE-EDTA 10 % dans l'eau de robinet par VC et SWV, les conditions optimales sont respectées.  $I_t^*$  est l'intensité du pic d'oxydation correspond à la concentration de  $Pb^{2+}$  dans l'échantillon

	SWV	VC
Equation générale	$[Pb^{2+}] = (I_t^* - 738.87) / 102.61$	$[Pb^{2+}] = (I_t^* + 0.1646) / 1.178$
$R^2$	0.9302	0.9831
LD	$8.87 \times 10^{-9}$ mol / L	$3.45 \times 10^{-8}$ mol / L
LQ	$2.95 \times 10^{-8}$ mol / L	$1.15 \times 10^{-7}$ mol / L



**Fig. 23.** Corrélation entre les valeurs ajoutées et celles trouvées par la méthode : (a) SWV et (b) VC.

**Tableau 4.** Résultats de la détermination de la concentration de  $Pb^{2+}$  dans l'eau de robinet par CPE-10 % EDTA dans les conditions optimales (**Tableau 1**).

Echantillon	Ajoutée (mmol / L)	VC		SWV	
		Trouvée (mmol / L)	Recouvrement (%)	Trouvée (mmol / L)	Recouvrement (%)
1	0.604	0.67877	112.38	0.68833	113.96
2	0.664	0.50831	76.55	0.26050	39.23
3	0.906	1.03531	114.27	0.60647	66.93
4	0.996	0.81553	81.88	0.84523	84.86
5	1.208	1.27809	105.80	1.87340	155.08
6	1.66	1.65415	99.64	2.15115	129.58
7	1.812	1.64651	90.86	2.18916	120.81
8	1.992	1.54719	77.67	2.18234	109.55
9	2.114	1.98607	93.94	2.44839	115.81

#### IV. Conclusion

L'étude voltamétrique a montré que l'électrode à pâte de carbone modifiée par 10% de l'EDTA est susceptible de quantifier le  $Pb^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$  et le  $Co^{2+}$  dans l'eau potable. Les réponses électrochimiques obtenues par VC ont permis de déterminer une équation générale pour la détermination du  $Pb^{2+}$  dans l'eau de robinet de notre laboratoire, le pouvoir prédictif de cette méthode est plus important que celui de SWV avec un taux de recouvrement entre 76% et 114%. L'électrode élaborée ne coûte pas chère et très facile à préparer.

## Références

- [1] F. Hadi, T. Aziz, *Journal of Biology and Life Science*, 6 (2015) 91-101
- [2] U. Ashraf, A. S. Kanu, Q. Deng, Z. Mo, S. Pan, H. Tian, X. Tang; *Frontiers in plant science*; 8 (2017) 259
- [3] A. L. Wani, A. Latif, A. Ara; J. A. Usmani; *Interdisciplinary toxicology*; 8 (2015) 55-64.
- [4] X. Liu et al; *Cerebral Cortex* (2018) bhy199
- [5] H. Küpper, *Metal ions in life sciences*, 17 (2017). DOI: [10.1515/9783110434330-015](https://doi.org/10.1515/9783110434330-015)
- [6] Matović, Vesna, et al, *Food and Chemical Toxicology*, 78 (2015) 130-140.  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0278691515000575>
- [7] E.J. Kim, J.E. Herrera, D. Huggins, J. Braam, S. Koshowski, *Water Research*, 45(2011) 2763-2774.  
<https://doi.org/10.1016/j.watres.2011.02.023>
- [8] D.Mendil, O.D. Uluozlü, *Food Chemistry*, 101(2007)739-745.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.01.050>
- [9] P. Falomir, A. Alegria, R. Barberá, , R. Farré, M.J. Lagarda, *Food Chemistry*, 64 (1999) 111-113.  
[https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(98\)00116-2](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00116-2)
- [10] T.J. Hwang, S.J. Jiang, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 11(1996)353-357. DOI: [10.1039/JA9961100353](https://doi.org/10.1039/JA9961100353)
- [11] K.S. Rao, T. Balaji, T.P. Rao, Y. Babu, G.R.K. Naidu, *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*,57(2002)1333-1338. [https://doi.org/10.1016/S0584-8547\(02\)00045-9](https://doi.org/10.1016/S0584-8547(02)00045-9)
- [12] M. El Mhammedi, M. Bakasse, A. Chtaini, *Electroanalysis*, 19(2007), 1727-1733.  
<https://doi.org/10.1002/elan.200703927>
- [13] M.A. El Mhammedi, M. Achak, A. Chtaini, *Journal of Hazardous Materials*, 161 (2009)55-61.  
<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2008.03.057>
- [14] R. Inam, G. Somer, *Food Chemistry*, 69 (2000)345-350. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(00\)00045-5](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(00)00045-5)
- [15] K. Kalcher, J. M. Kauffmann, J. Wang, I. Svancara, K. Vytras, C. Nruhold, Z. Yang, *Electroanalysis*, 7(1995)5. <https://doi.org/10.1002/elan.1140070103>
- [16] C. Laghlimi, M.A. Smaini, R. Maallah, S. Touzara, S. El Qouatli, A. Chtaini, *J Biosens Bioelectron*, 8(2017)239. DOI: [10.4172/2168-9806.1000188](https://doi.org/10.4172/2168-9806.1000188)
- [17] C. Laghlimi, M. Ennachet, H. Saâdane, M.A. Smaini, J. Elmastour, A. Chtaini, *J Powder Metall Min*, 7 (2018)188. DOI: [10.4172/2168-9806.1000188](https://doi.org/10.4172/2168-9806.1000188)
- [18] J. Wang, M. Bonakdar, *Talanta* 35 (1988) 277. [https://doi.org/10.1016/0039-9140\(88\)80085-7](https://doi.org/10.1016/0039-9140(88)80085-7)
- [19] S.V. Prabhu, R.P. Baldwin, L. Kryger, *Electroanalysis*, 1 (1989) 13.  
<https://doi.org/10.1002/elan.1140010104>
- [20] S. Bradberry , A. Vale, *Clin Toxicol (Phila)*, 47 (2009)841-58. <https://doi.org/10.3109/15563650903321064>
- [21] K. Takeshita, M. Ishida, M. Kondo, Y. Nakano, Y. Seida, *The Society of Chemical Engineers, Japan*, (2004) 238-238. <https://doi.org/10.11491/apcche.2004.0.238.0>
- [22] D. M. Taylor, D.R. Williams, *The Royal Society of Chemistry*, (1995).



- [23] I. Cesarino, G. Marino, J.R. Matos, E.T.G. Cavalheiron, *Talanta*, 75 (2008) 15–21. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2007.06.032>
- [24] M.A. Chamjangali, H. Kouhestani, F. Masdarolomoor, H. Daneshinejad, *Sensors and Actuators*, 216(2015)384-393. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2015.04.058>
- [25] R. G. Pearson, *Journal of the American Society*, 85(1963)3533-3539. **DOI:** [10.1021/ja00905a001](https://doi.org/10.1021/ja00905a001)
- [26] G.Milazzo, S. Caroli, R. D. Braun, Tables of standard electrode potentials. *Journal of The Electrochemical Society*, 125 (1978)261C-261C.

# Chapitre III : Etude électrochimique de la chélation des métaux lourds par l'électrode à pâte de carbone modifiée par le benzimidazole-2-thiol

## I. Introduction

La pollution de l'environnement par les métaux lourds est principalement due aux activités humaines mais aussi à des phénomènes naturels tels que les conditions météorologiques et les éruptions volcaniques [1-5]. Les sources industrielles comprennent la transformation des métaux dans les raffineries, le charbon dans les centrales électriques, la combustion du pétrole, les centrales nucléaires et les lignes électriques, les plastiques, les textiles, la microélectronique, la préservation du bois et la transformation du papier. Le plomb est un métal toxique rémanent qui peut s'accumuler chez les humains, les animaux et les plantes. Donc le défi est de trouver une méthode analytique sensible, rapide et simple pour la détermination précise du  $Pb^{2+}$ .

Bien que les techniques spectrométriques telles que la spectrométrie d'absorption atomique (SAA) [6,7], la spectrométrie d'émission atomique (SEA) [8] et la spectrométrie de masse (SM) ont prouvé une très grande efficacité. Elles ont aussi des inconvénients tels que leur fonctionnement compliqué, leur maintenance coûteuse, le coût élevé des appareils électroménagers [9]. Il a été démontré que les électrodes à pâte de carbone chimiquement modifiées ont reçu une attention considérable en raison de leurs nombreux avantages, tels que la facilité de fabrication, l'absence de poison et le faible prix [10-12].

Dans le présent chapitre, nous avons proposé une nouvelle électrode modifiée à base de pâte de carbone modifiée par le benzimidazole-2-thiol (BIT) et nous avons également testé sa capacité à analyser le plomb, le cadmium et le mercure.

## II. Procédure

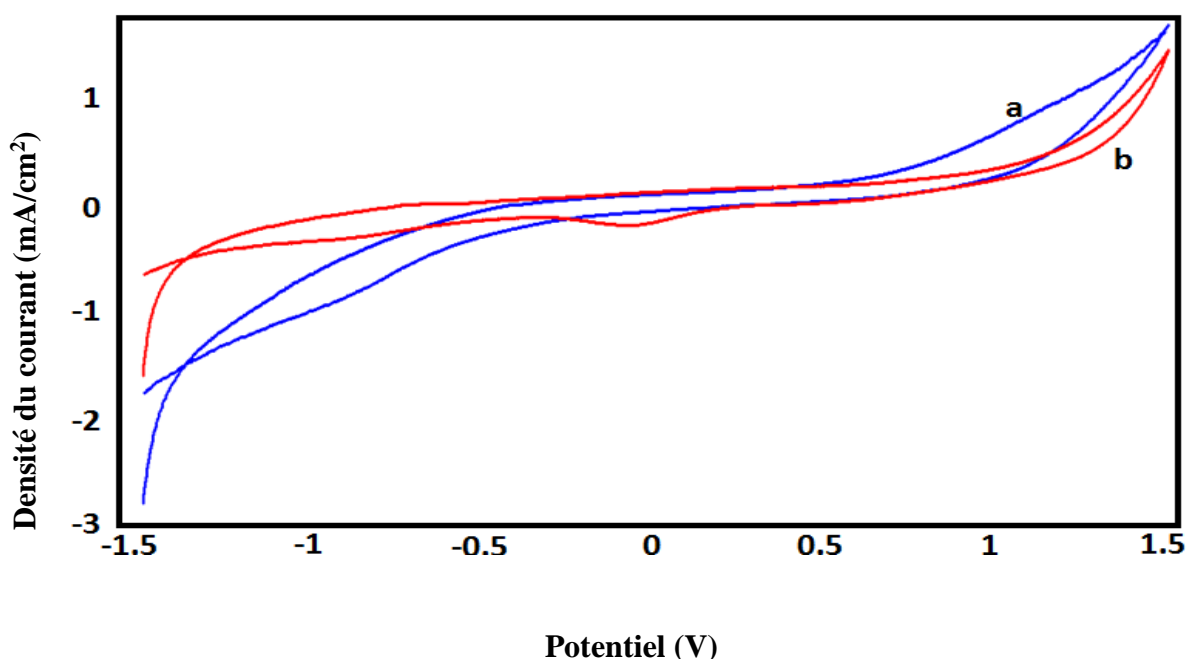
Après avoir été lavée à l'eau bidistillée et séchée à température ambiante, l'électrode est transférée dans la cellule électrochimique (100 ml) (purgé par l'azote pur pendant 10 minutes). Une étape de préconcentration est nécessaire. La procédure de travail initiale consiste à mesurer la réponse électrochimique d'une électrode à pâte de carbone modifiée par le BIT dans une solution électrolytique à 0.1 M NaCl avec une concentration fixe de  $Pb^{2+}$ . Le

comportement électrochimique de l'électrode à pâte de carbone modifiée proposée a été enregistré dans la plage de potentiel comprise entre -1.5 V et +1.5 V.

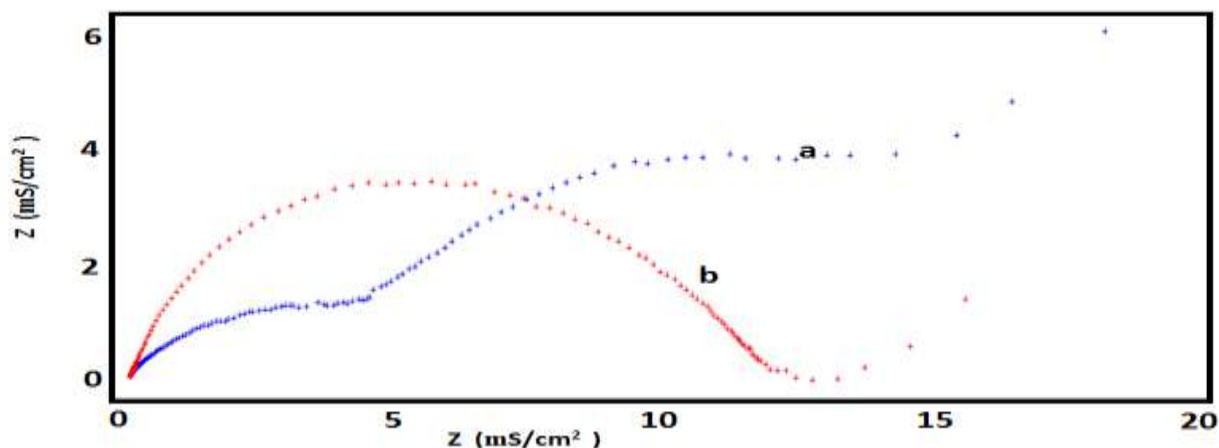
### III. Résultats et discussion

La **Fig. 1** montre les voltammogramme cycliques (VC) enregistrés respectivement pour BIT-CPE et CPE, dans la solution l'électrolytique de 0.1 M NaCl. Les deux courbes (a et b) ne sont pas superposables ce qui confirme que la modification de l'électrode à pâte de carbone est réalisée. Nous pouvons voir que le VC enregistré pour le BIT-CPE montrent deux pics, le premier dans le sens du balayage anodique à environ -0.69 V correspond à l'oxydation du 2-Benzimidazole Thiol et le second est situé à -0.07 V correspond à la réduction de la même molécule.

La spectroscopie d'impédance électrochimique (EIS) correspond au CPE et au BIT-CPE est illustrée à la **Fig. 2**. Dans le cas de l'électrode à pâte de carbone, le diagramme d'impédance montre trois constantes de temps distinctes, tandis que celui enregistré pour l'électrode BIT-CPE montre un demi-cercle asymétrique. On observe une baisse de l'impédance à basse fréquence dans le cas du CPE-BIT, ceci est probablement dû à l'apparition d'une capacitance supplémentaire relative à la formation du complexe BIT.



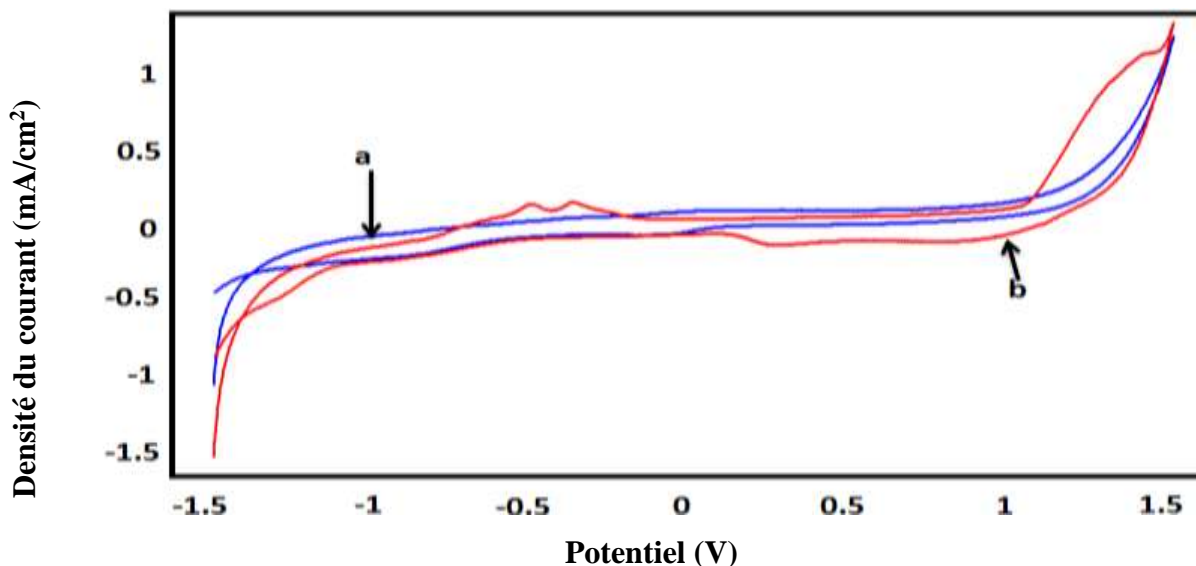
**Fig. 1.** Voltammogrammes cycliques enregistrés pour : (a) électrode à pâte de carbone nue (CPE) (b) électrode à pâte de carbone modifiée par le benzimidazole-2-thiol (CPE-BIT), dans 0.1 M NaCl, vitesse de balayage 100 mV / s, 10 % du rapport CPE/BIT et pH=7.



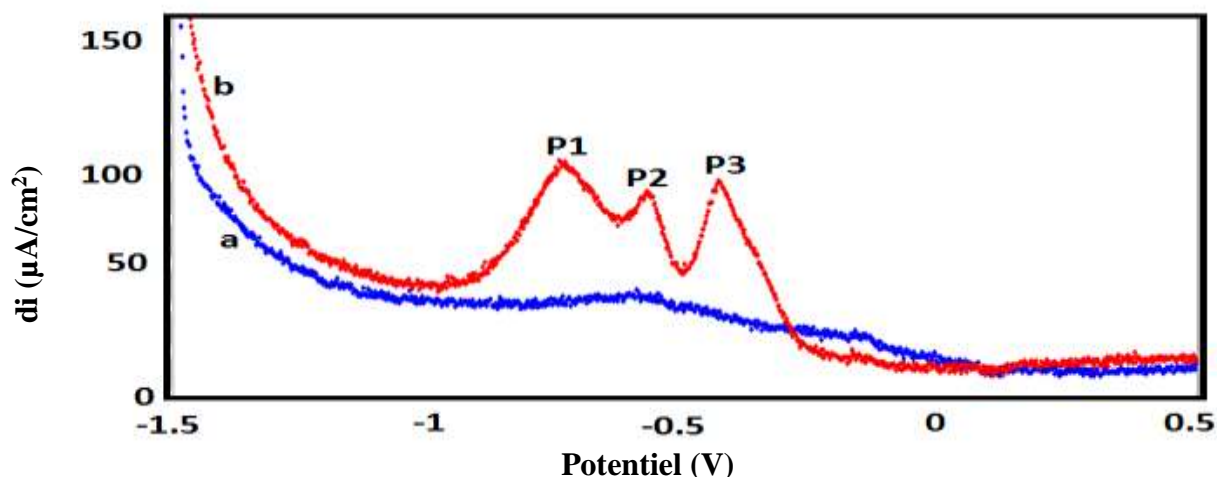
**Fig. 2.** Spectroscopie d'impédance électrochimique (EIS) enregistrée pour : (a) électrode à pâte de carbone nue (CPE) (b) électrode à pâte de carbone modifiée par le benzimidazole-2-thiol (CPE-BIT), dans 0.1 M NaCl, vitesse de balayage 100 mV / s, 10 % du rapport CPE/BIT et pH=7.

### 1. Détection de plomb

La détermination du plomb est étudiée par la voltamétrie cyclique (VC) (**Fig. 3**) et la voltamétrie à ondes carrées (SWV) (**Fig. 4**) enregistrées pour BIT-CPE avant (courbe a) et après 1min d'accumulation dans une solution contenant 0.6 mM de  $Pb^{2+}$  (courbe b). Dans le sens de balayage anodique, deux pics d'oxydation apparaissent à  $E_{pa1} = -0.7$  V et  $E_{pa2} = -0.5$ V, alors que dans le sens inverse du balayage, on observe un pic à  $E_{p3} = -0.42$  V.

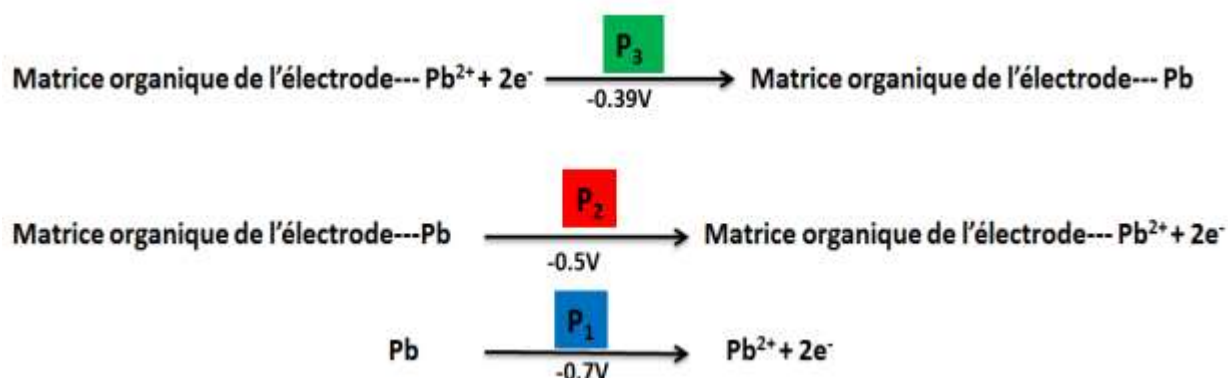


**Fig. 3.** Voltammogrammes cycliques enregistrés pour le CPE-BIT : (a) en absence et (b) en présence de 0.6 mM de  $Pb^{2+}$  dans 0.1 M NaCl à 100 mV /s, pH=7,  $T_p = 1$  min avec 10 % du rapport CPE/BIT.



**Fig. 4.** Voltammogrammes à ondes carrées enregistrés pour le CPE-BIT : (a) en absence et (b) en présence de 0.6 mM de  $Pb^{2+}$  dans 0.1 M NaCl à 100mv/s, pH=7, temps de préconcentration = 1min avec 10 % du CPE/BIT ratio.

La voltamétrie carrée montre clairement ces pics qui pourraient être attribués selon le mécanisme suivant :



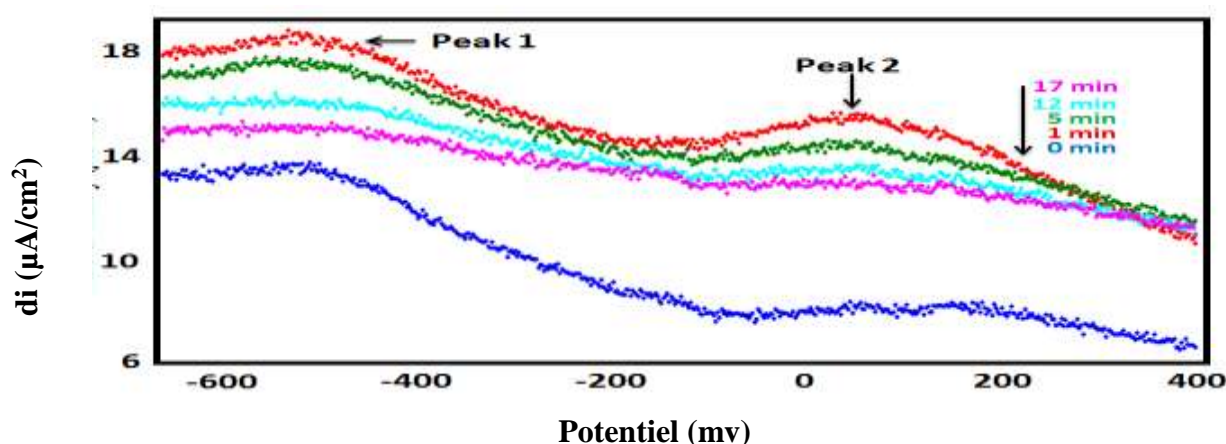
Dans un premier temps, les ions  $Pb^{2+}$  s'accumulent sur le film organique de l'électrode, puis il se réduit in situ. Dans le sens de balayage anodique, le plomb formé est oxydé soit dans la solution, soit dans la matrice organique, ce qui provoque l'apparition de deux pics d'oxydation.

## 2. Optimisation des conditions expérimentales

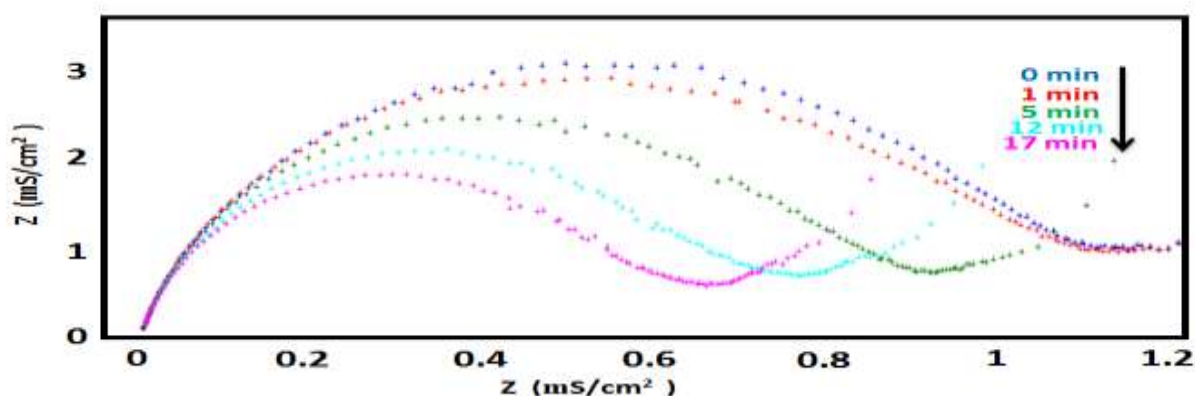
Afin de révéler la performance de BIT-CPE à détecter le plomb, nous avons effectué une série de manipulations visant à déterminer les paramètres influençant les réponses électrochimiques comme le rapport BIT/CPE, le pH, et le temps d'accumulation.

### a. Influence du temps d'accumulation

L'influence du temps d'accumulation a été examinée dans une solution de plomb à 0.9 mM par SWV et EIS. A partir des SWV obtenus (**Fig. 5**), on peut observer qu'après seulement une minute de préconcentration, le pic atteint une valeur maximale puis commence à diminuer progressivement jusqu'à 17 min de préconcentration où il devient stable. L'EIS (**Fig. 7**) a la forme d'un demi-cercle qui apparaît à haute fréquence et correspond à des phénomènes d'échange d'électrons. A partir de ces résultats, le temps de préconcentration est fixé à 1 min pour toutes les autres expériences.



**Fig. 5.** SWVs enregistrés pour l'CPE-BIT avec 0.9 mM de  $Pb^{2+}$ , dans 0.1 M NaCl à différents temps de préconcentration, vitesse de balayage 20 mV / s, pH = 7 et CPE-50 % BIT

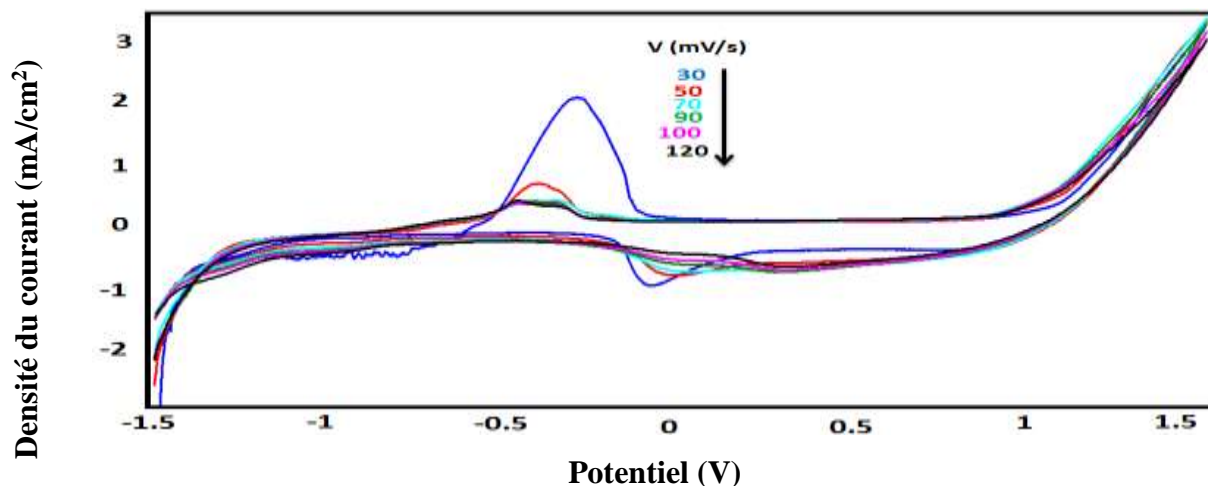


**Fig. 6.** Diagrammes de Bode enregistrés pour le CPE-BIT avec 0.9 mM de  $Pb^{2+}$ , dans NaCl 0.1 M à différents temps de préconcentration, pH = 7 et 50 % de BIT (CPE-50 % BIT)

### b. Influence de la vitesse de balayage

L'influence de la vitesse de balayage sur les pics redox de  $Pb^{2+}$  a été étudiée pour le CPE- BIT, la **Fig. 7** montre les voltammogrammes cycliques obtenus. La **Fig. 8** montre la

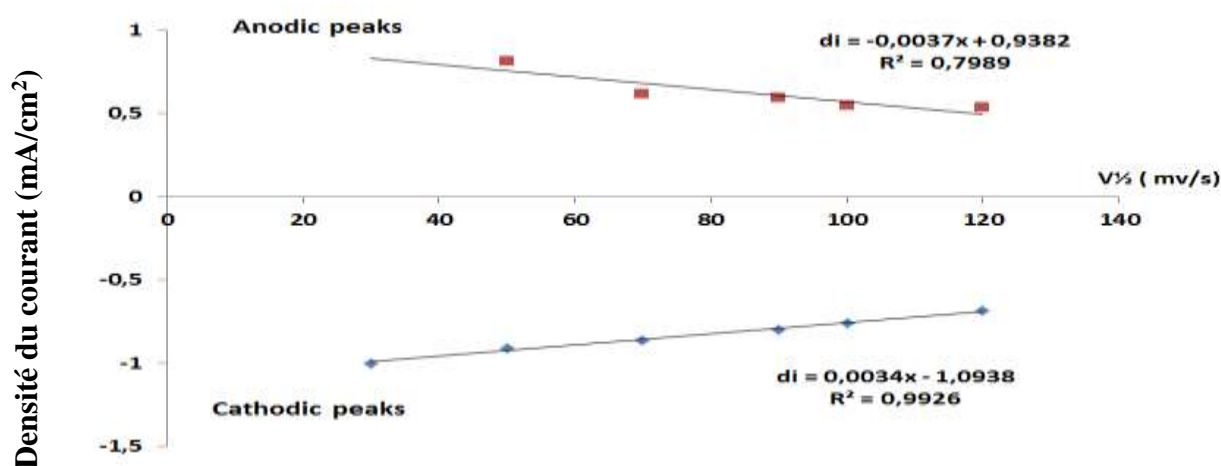
relation entre la vitesse de balayage et les courants de pic anodique et cathodiques de  $Pb^{2+}$  à CPE-BIT. On remarque que les courants de pic anodique et cathodique varient linéairement avec la vitesse de balayage dans l'intervalle de 30 à 120 mV/s, ce qui indique que le transfert des électrons de  $Pb^{2+}$  à CPE-BIT est une réaction contrôlée par l'adsorption.



**Fig. 7.** Voltammogrammes cycliques enregistrés pour le CPE-50 % BIT avec 2.1 mM de  $Pb^{2+}$ , dans 0.1 M NaCl à différentes vitesses de balayage de 30 à 120 mV / s, pH= 7 et  $t_p = 1$  min.

### c. Influence du pH

L'effet du pH sur BIT-CPE été étudié dans l'intervalle de pH allant de 4 à 11. Les résultats obtenus (**Fig. 9** et **11**) montrent que le courant de pic d'oxydation augmente lorsque le pH diminue (**Fig. 10**). La diminution de courant de pic d'oxydation est due à la formation de l'hydroxyde de plomb dans un milieu basique (pH élevé), ce qui entraîne une diminution des ions  $Pb^{2+}$  dans le milieu électrolytique [13].



**Fig. 8.** Représentation graphique de la relation entre la vitesse de balayage et les courants de pics redox

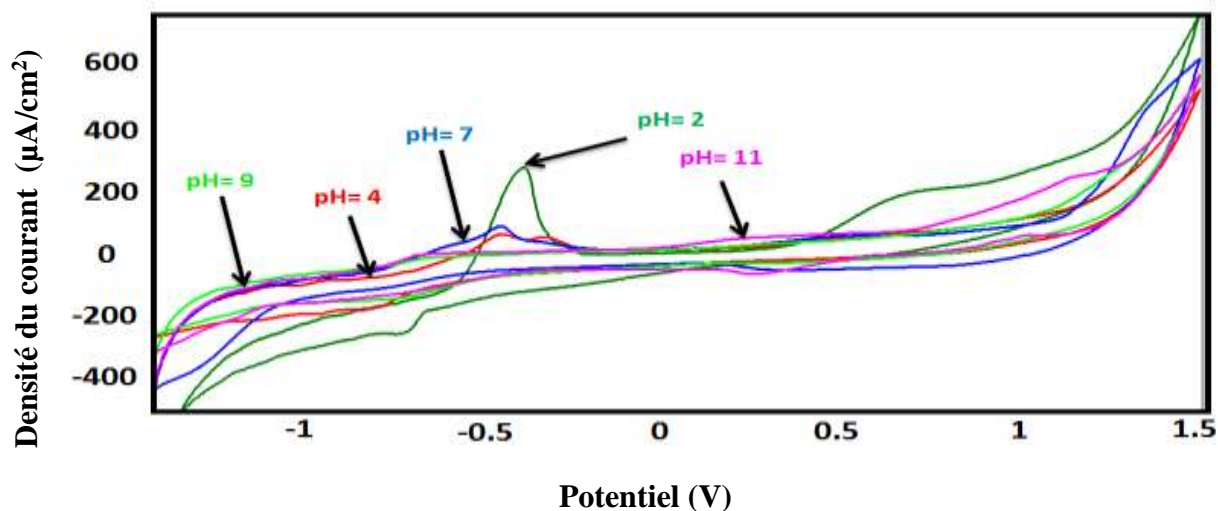


Fig. 9. Voltammogrammes cycliques enregistrés pour le CPE-BIT avec 0.6 mM de  $\text{Pb}^{2+}$ , dans 0.1 M NaCl à différents pH, vitesse de balayage 100 mV / s,  $t_p = 1$  min et 50 % de BIT (CPE-50 % BIT)

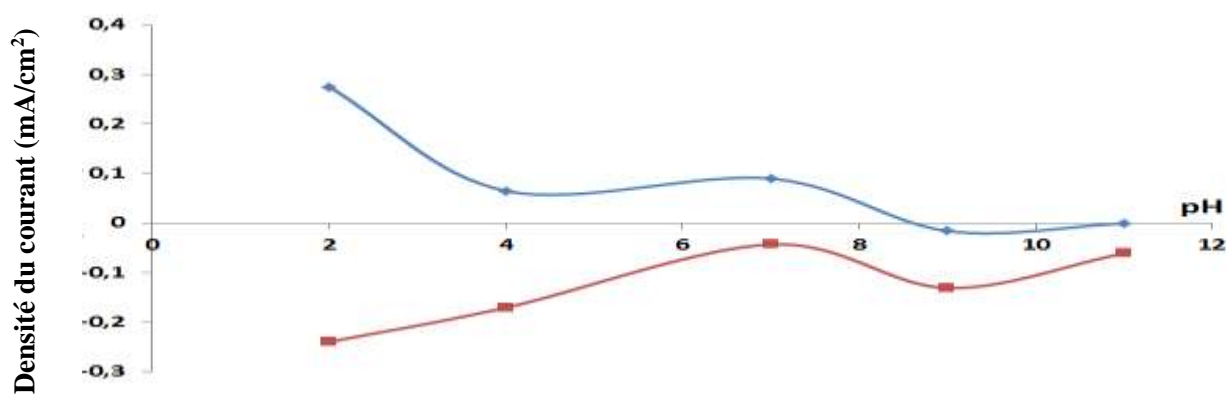


Fig. 10. Représentation graphique de la relation entre la vitesse de balayage et les courants de pics redox

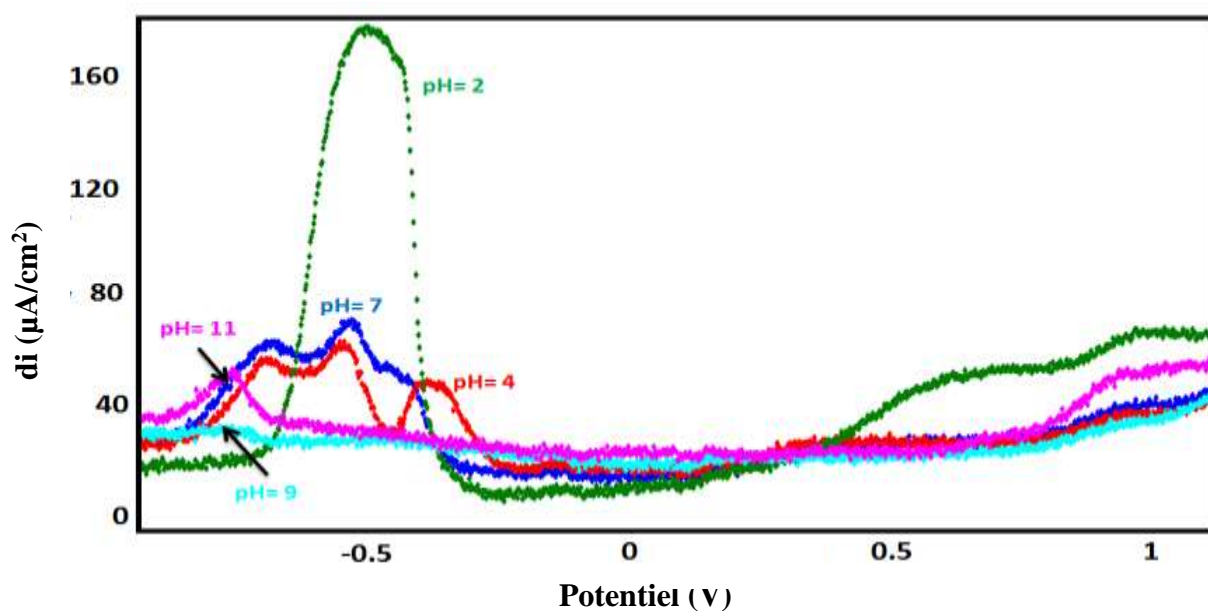
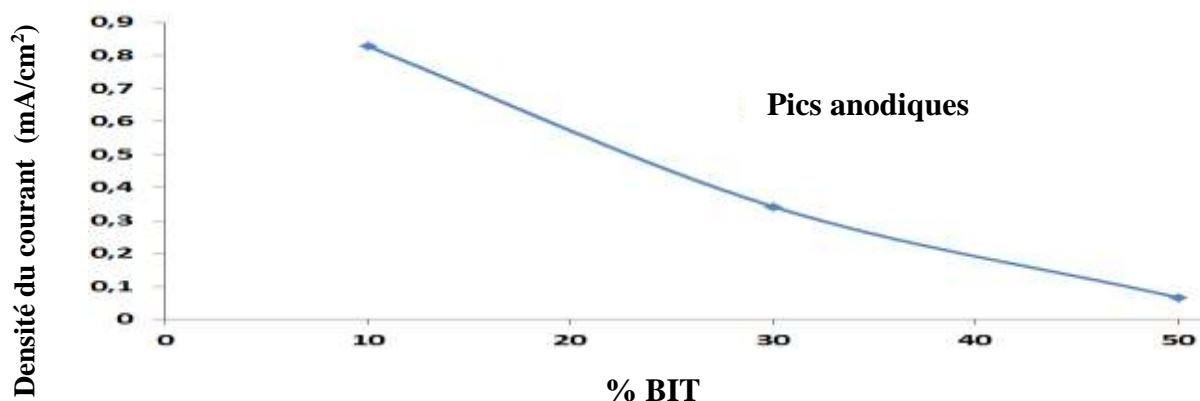


Fig. 11. Voltammogrammes à ondes carrées enregistrés pour CPE-BIT avec 0.6 mM de  $\text{Pb}^{2+}$ , dans 0.1 M NaCl à différents pH, vitesse de balayage 20 mV / s,  $t_p = 1$  min et 50 % de BIT (CPE-50 % BIT)

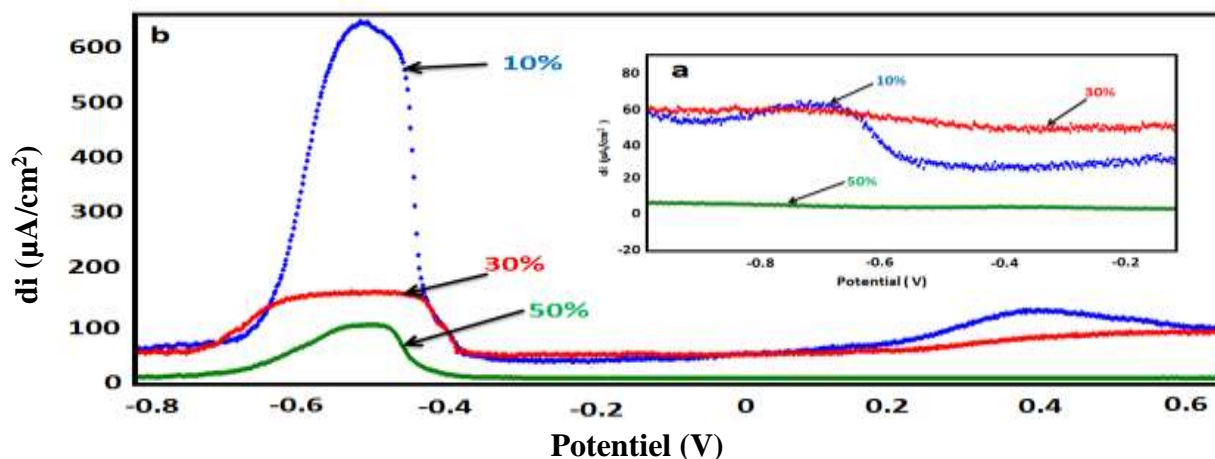


#### d. Influence de la quantité de BIT

L'influence de la quantité du benzimidazole-2-thiol sur la sensibilité de l'électrode est étudiée. Les résultats obtenus (**Fig. 12** et **Fig. 13**) montrent que le courant de pic diminue avec l'augmentation du pourcentage de BIT. Cette diminution est probablement due à la baisse de la conductivité de la surface de l'électrode.



**Fig. 12.** Représentation graphique de la relation entre la teneur en BIT dans la pâte de carbone graphite et le courant de pic d'oxydation en présence de 0.6 Mm Pb<sup>2+</sup> dans 0.1 M NaCl, pH= 2, vitesse de balayage 100 mV / s et tp= 1 min



**Fig. 13.** Voltammogrammes à ondes carrées enregistrés pour CPE à différents pourcentage de BIT dans la pâte de carbone : en absence (a) et en présence de 0.6 mM de Pb<sup>2+</sup> (b), dans 0.1 M NaCl, pH = 2, vitesse de balayage 20 mV / s, tp= 1 min.

#### e. Influence de la concentration de plomb

La **Fig. 14** montre les VC enregistrés pour BIT-CPE à différentes concentrations de Pb<sup>2+</sup> de 0.3 mM à 2.7 mM. Dans des conditions optimisées, l'électrode élaborée a montré une réponse linéaire typique (**Fig. 15**).

La limite de détection (DL, 3s) et la limite de quantification (QL, 10s) sont respectivement  $2.77 \cdot 10^{-9}$  mol /L et  $9.24 \cdot 10^{-9}$  mol/L. Les deux lignes de régression correspondent aux pics redox sont représentés par les deux équations suivantes (I est exprimé en mA et la concentration en mmol / L) :

$$I_{\text{oxydation}} = 0.1823[\text{Pb}^{2+}] + 0.0278 \quad R^2 = 0.9957$$

$$I_{\text{réduction}} = -0.2332[\text{Pb}^{2+}] + 0.0151 \quad R^2 = 0.9947$$

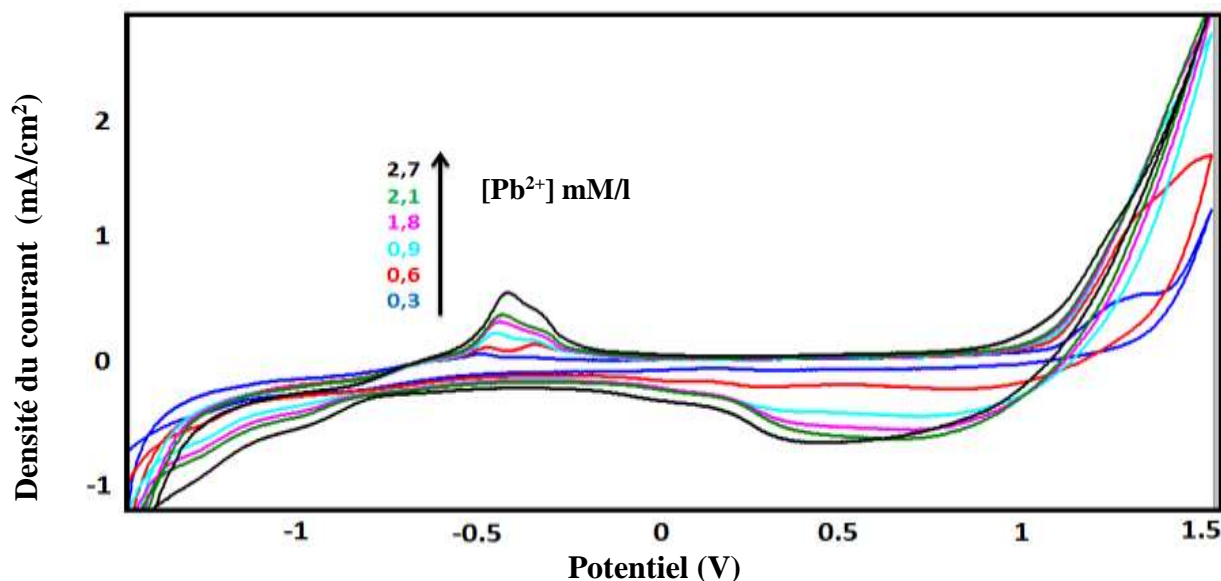


Fig. 14. Voltammogrammes cycliques enregistrés pour CPE-BIT à différentes concentrations de  $\text{Pb}^{2+}$  dans 0.1 M NaCl, pH= 2, vitesse de balayage 100 mV / s,  $t_p$ = 1 min et 10 % de BIT (10 % BIT)

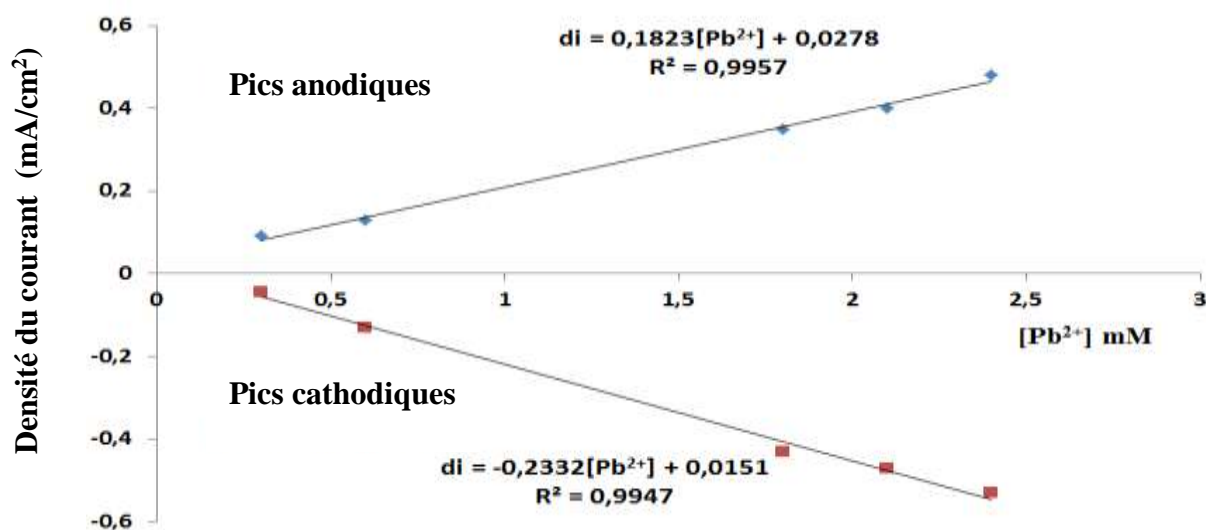


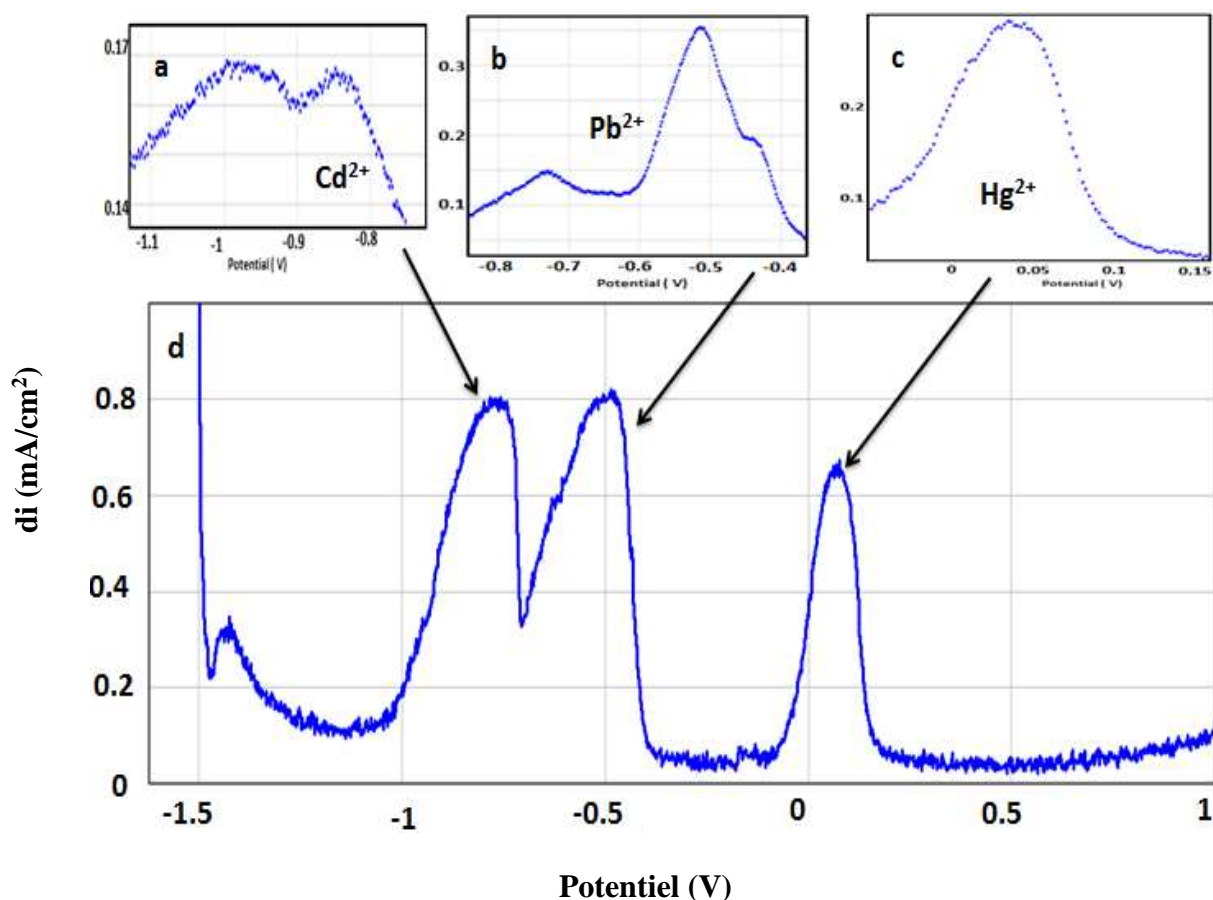
Fig. 15. Représentation graphique des pics redox à différentes concentrations de  $\text{Pb}^{2+}$

### f. Étude de l'interférence

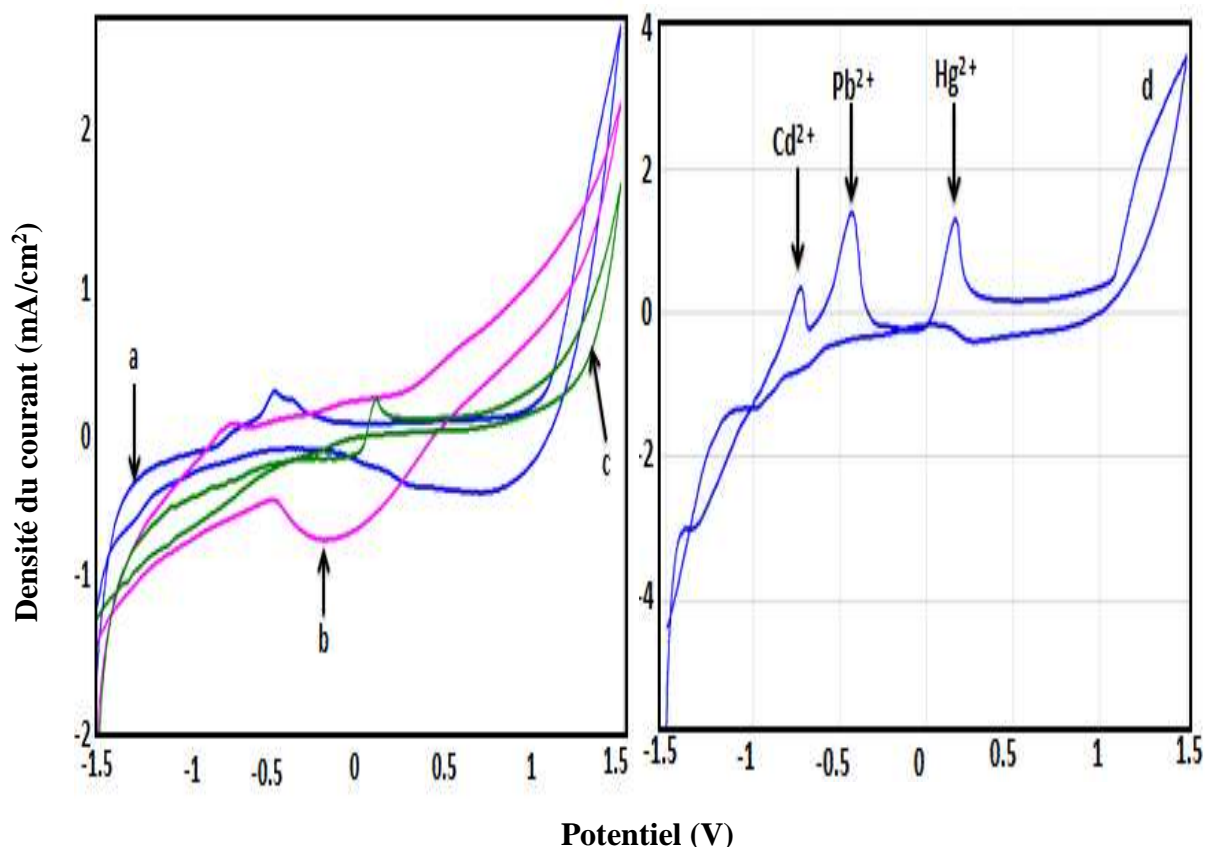
Les échantillons naturels tels que l'eau du robinet, le plasma, l'eau de rivière, etc... contiennent plusieurs éléments chimiques qui affectent la santé des êtres vivants, ce qui représente un grand défi pour les laboratoires d'analyses chimiques. Pour cette raison, nous avons testé la capacité du BIT-CPE à identifier avec précision trois éléments à la fois tels que  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$  et  $\text{Hg}^{2+}$ .

La **Fig. 16** montre les voltammogrammes à ondes carrées enregistrés pour BIT-CPE dans une solution contenant respectivement 1.6 mmol/ L  $\text{Cd}^{2+}$  (courbe a), 1.5 mmol/ L  $\text{Pb}^{2+}$  (courbe b), 1.8 mmol / L  $\text{Hg}^{2+}$  (courbe c) et après addition de tous ces éléments dans la même solution (courbe d) à 0.1 M NaCl en respectant les conditions optimales. Il y a apparition du pic d'oxydation de  $\text{Cd}^{2+}$  à -0.84 V suivi immédiatement par le pic d'oxydation de  $\text{Pb}^{2+}$  à -0.7 V et dès qu'on dépasse légèrement le potentiel négatif, on trouve le pic d'oxydation du  $\text{Hg}^{2+}$  exactement à +0.03 V.

Les pics d'oxydation observés par SWV sont également parfaitement visibles en VC (**Fig. 17**).



**Fig. 16.** Voltammogrammes à ondes carrées enregistrés pour CPE-BIT : en présence de 1.6 mM  $\text{Cd}^{2+}$  (a) 1.5 mM  $\text{Pb}^{2+}$  (b) et 1.8 mM  $\text{Hg}^{2+}$  (c) et après addition de tous ces éléments dans une solution électrolytique (d) de 0.1 M NaCl, pH= 7, vitesse de balayage 20 mV / s et 10 % BIT (CPE-10 % BIT).



**Fig. 17.** Voltammogrammes cycliques enregistrés pour CPE- BIT en présence de 1.5 mM  $Pb^{2+}$  (a), 1.6 mM  $Cd^{2+}$  (b) et 1.8 mM  $Hg^{2+}$  (c) et après addition de tous ces éléments dans une solution électrolytique (d) de 0.1 M NaCl, dans 0.1 M NaCl, pH= 7, vitesse de balayage 100 mV / s et 10 % du ratio CPE/BIT.

#### IV. Conclusion

Dans cette étude, nous avons proposé une nouvelle électrode modifiée BIT-CPE pour la détermination simultanée de  $Pb^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$  et  $Hg^{2+}$ . Nous avons montré à travers ce chapitre que l'électrode réalisée est très sensible et très sélective à l'égard des éléments chimiques étudiés ce qui a permis de déterminer leurs concentrations sans perturbation ni chevauchement. L'électrode préparée n'est pas soluble dans l'eau, non toxique et non polluante.

## Références

- [1] J.E. Fergusson, Pergamon Press, (1990).
- [2] Z. L. He, X. E. Yang, P. J. Stoffella, *Journal of Trace elements in Medicine and Biology*, 19(2005)125-140. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2005.02.010>
- [3] H. Bradl, Elsevier, 6(2005).
- [4] S. Shallari, C. Schwartz, A. Hasko, J. L. Morel, *Science of the Total Environment*, 209(1998)133-142. [https://doi.org/10.1016/S0048-9697\(98\)80104-6](https://doi.org/10.1016/S0048-9697(98)80104-6)
- [5] J. O. Nriagu, *Nature*, 338(1989)47. <https://doi.org/10.1038/338047a0>
- [6] S. Šmirjáčková, O. Ondrašovičová, A. Kašková, K. Lacticova, *Folia Vet*, 49(2005)31-32.
- [7] E.A. McGaw, G.M. Swain, *Anal Chim Acta* 575(2006)180-9. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2006.05.094>
- [8] R.P. Baldwin, J.K. Christensen, L. Kryger, *Anal. Chem.*, 58(1986)1790-1798. <https://doi.org/10.1021/ac00121a042>
- [9] M. El Mhammedi, M. Bakasse, A. chtaini, *Electroanalysis*, 19(2007), 1727-1733. <https://doi.org/10.1002/elan.200703927>
- [10] K. Kalcher, J. M. Kauffmann, J. Wang, I. Svancara, K. Vytras, C. Nruhold, Z. Yang, *Electroanalysis*, 7(1995)5. <https://doi.org/10.1002/elan.1140070103>
- [11] I. Svancara, K. Vytlas, J. Barek, J. Zima, J. Barek, *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 31(2001)311. <https://doi.org/10.1080/20014091076785>
- [12] C. Laghlimi, M.A. Smaini, R. Maallah, S. Touzara, S. El Qouatli, A. Chtaini, *Organic Sensor for the Detection of Ammonium. J Biosens Bioelectron*, 8(2017)239. DOI: 10.4172/2155-6210.1000239
- [13] M. A. Chamjangali, H. Kouhestani, F. Masdarolomoor, H. Daneshinejad, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 216(2015)384-393. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2015.04.058>

# Chapitre IV : Investigation voltamétrique de l'effet complexant de *Capparis spinosa* sur les métaux lourds : Application dans le traitement de l'eau

## I. Introduction

*Capparis spinosa* L. (Capparaceae, Capparaceae) est une plante xérophyte spontanée, largement ré pondue dans la région méditerranéenne et en Asie centrale [1]. Il est couramment utilisé comme condiment [2,3] et/ou comme plante médicinale [4,5]. Il est utilisé en médecine traditionnelle pour traiter des maladies telles que les problèmes gastro-intestinaux, l'hypertension, l'anémie [6], les rhumatismes [7,8], antidiabétiques [9,10] et antihyperlipidémiques [10]. Elle est également analgique, anti-arthritique [11], antihémorroïdienne, anticancérigène [12-14], anti-inflammatoire [15-17], dépurative, diurétique [18,19], emménagogue, antioxydante [20-25] et antifongique [26]. L'extrait aqueux de *Capparis spinosa* entraîne une perte de poids significative [10].

L'extrait méthanolique des bourgeons de *Capparis spinosa* peut contribuer à améliorer la surveillance immunitaire des cellules mononucléaires du sang périphérique humain contre l'infection virale en régulant l'expression de cytokines pro-inflammatoires particulières, il supprime la réplication du virus herpès simplex type 2 et augmente l'expression des cytokines pro-inflammatoires, notamment l'interleukine-12, l'interféron- $\gamma$  et le facteur de nécrose tumorale -  $\alpha$  [27]. De plus, un inhibiteur de la réplication cellulaire tumorale in vitro a été isolé à partir des racines de *Capparis sikkimensis* [28]. Plus récemment, une protéine ayant une puissante activité antiproliférative sur les cellules tumorales et une activité inhibitrice sur la transcriptase inverse du VIH-1 et une certaine activité antifongique a été isolée à partir des semences de *Capparis spinosa* [29].

Les différentes parties de *Capparis spinosa* L. sont des sources fantastiques de lipides insaturés, d'acide ascorbique (AA), de tocophérols, de stérols, de caroténoïdes, de composés phénoliques (rutine et quercétine notamment) [30] et de glucosinolates [31]. La répartition des minéraux dans les bourgeons et les fruits de cette espèce présente une teneur élevée en potassium, phosphore, magnésium et calcium avec la présence de sodium, manganèse et fer [32, 33].

*Capparis spinosa* L. (Capparidaceae) est l'un des aromatiques les plus répandus dans la cuisine méditerranéenne, et il est également important dans la préparation commerciale des aliments congelés [34].

Ces dernières années, les capteurs électrochimiques ont été largement utilisés en raison de leurs avantages tels que la haute sensibilité, la rapidité de réponse, la simplicité, le faible coût, les dispositifs miniaturisés et automatisés [35,36]. Les activités de recherche dans la préparation de capteurs électrochimiques pour la détection des métaux lourds ont considérablement augmenté au cours des dernières décennies avec le développement de nouveaux matériaux et de nouveaux procédés de fabrication [37,38]. Récemment, il a été démontré que les électrodes à pâte de carbone chimiquement modifiées ont reçu une attention considérable en raison de leurs nombreux avantages, tels que la facilité de fabrication, l'absence de poison et le faible prix [39-41].

La présente étude a été menée afin d'évaluer l'effet de l'extrait aqueux de feuilles de *Capparis spinosa* sur la chélation de  $Pb^{2+}$  dans l'eau à l'aide d'une électrode à pâte de carbone modifiée par le benzimidazole-2-thiol (BIT).

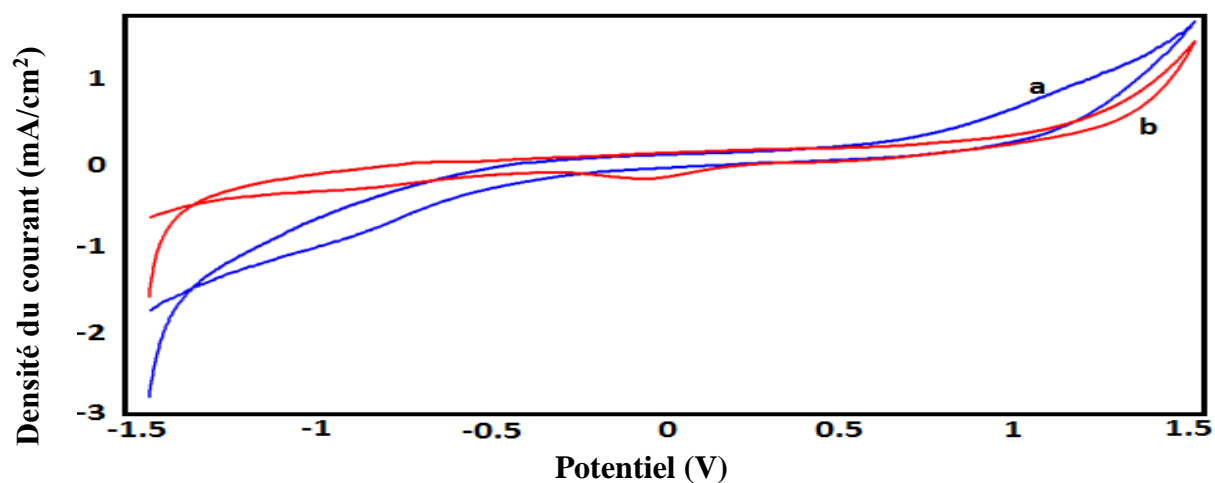
## II. Résultats et discussion

### 1. Procédure de mesure voltamétrique

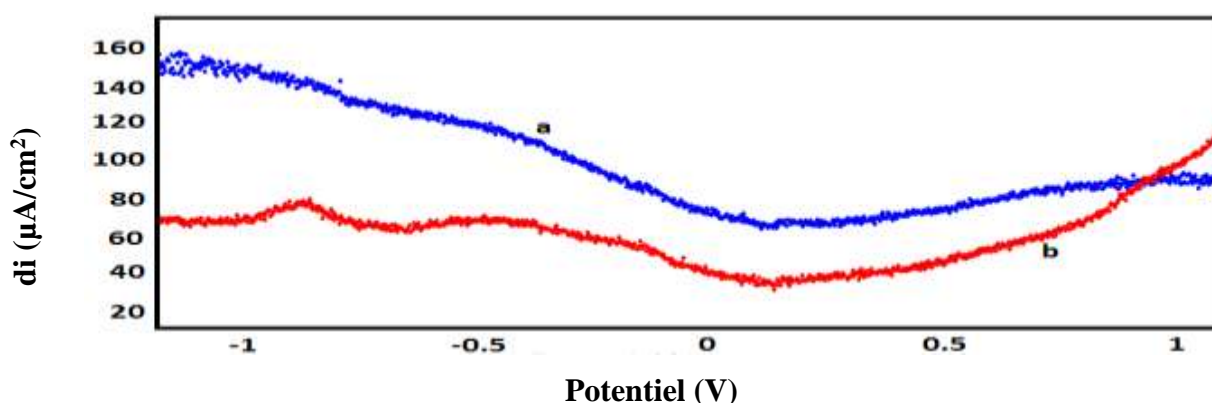
La **Fig. 1** montre des voltammogrammes cycliques (VC) enregistrés pour l'électrode à pâte de carbone nue (CPE) (a) et modifiée par le benzimidazole-2-thiol (BIT) (b) dans une solution électrolytique contenant 0.1 M NaCl. Les deux courbes (a et b) ne sont pas superposables, ce qui montre que l'électrode à pâte de carbone a été modifiée par le benzimidazole-2-thiol. On peut voir que le VC enregistré du CPE-BIT montre deux pics bien visibles, le premier est dans le sens de balayage anodique à -0.69 V correspondant à l'oxydation du benzimidazole-2-thiol et le second est situé à -0.07 V propre à la réduction de la même molécule. Ces observations peuvent facilement être confirmées par les voltammogrammes à ondes carrées (SWV) (**Fig. 2**). Il est également noté que la modification de l'électrode à pâte de carbone par le benzimidazole-2-thiol entraîne une diminution du courant, ce qui peut être justifié par la formation d'un complexe BIT à la surface de l'électrode.

La spectroscopie d'impédance électrochimique (EIS) correspond à la CPE et à la CPE-BIT est illustrée à la **Fig. 3**. On observe une baisse de l'impédance à basse fréquence dans le

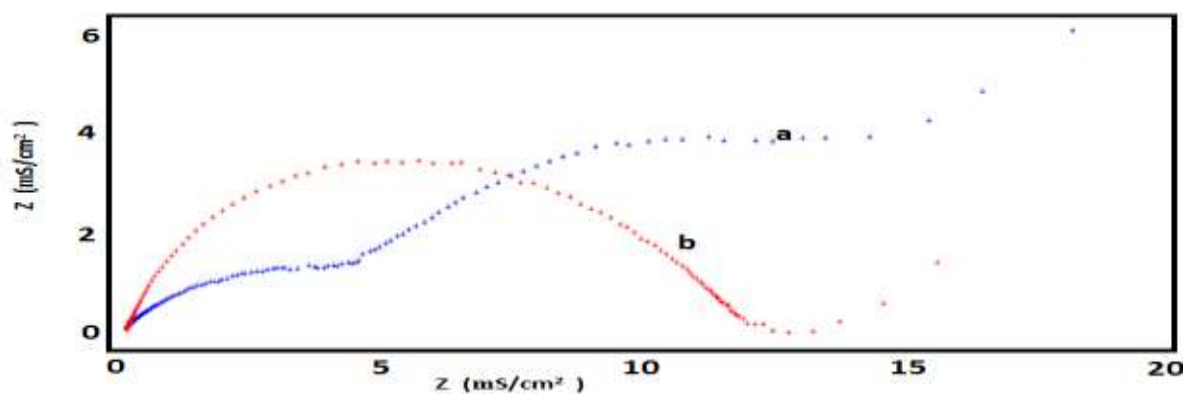
cas du CPE-BIT, ceci est probablement dû à l'apparition d'une capacitance supplémentaire relative à la formation du complexe BIT.



**Fig. 1.** Voltammogrammes cycliques enregistrés pour : (a) l'électrode à pâte de carbone nue (CPE) et (b) l'électrode à pâte de carbone modifiée par le benzimidazole-2-thiol (CPE-BIT), dans 0.1 M NaCl, vitesse de balayage 100 mV / s, 10 % de BIT (CPE-10 % BIT) et pH=7 [40].



**Fig. 2.** Voltammogrammes à ondes carrées enregistrés pour : (a) l'électrode à pâte de carbone nue (CPE) et (b) l'électrode à pâte de carbone modifiée par le benzimidazole-2-thiol (CPE-BIT), dans 0.1 M NaCl, vitesse de balayage 100 mV / s, 10 % de BIT (CPE-10 % BIT) et pH=7 [40].



**Fig. 3.** EIS enregistrés pour : (a) l'électrode à pâte de carbone nue (CPE) et (b) l'électrode à pâte de carbone modifiée par le benzimidazole-2-thiol (CPE-BIT), dans 0.1 M NaCl, vitesse de balayage 100 mV / s, 10 % de BIT (CPE-10 % BIT) et pH=7 [40].

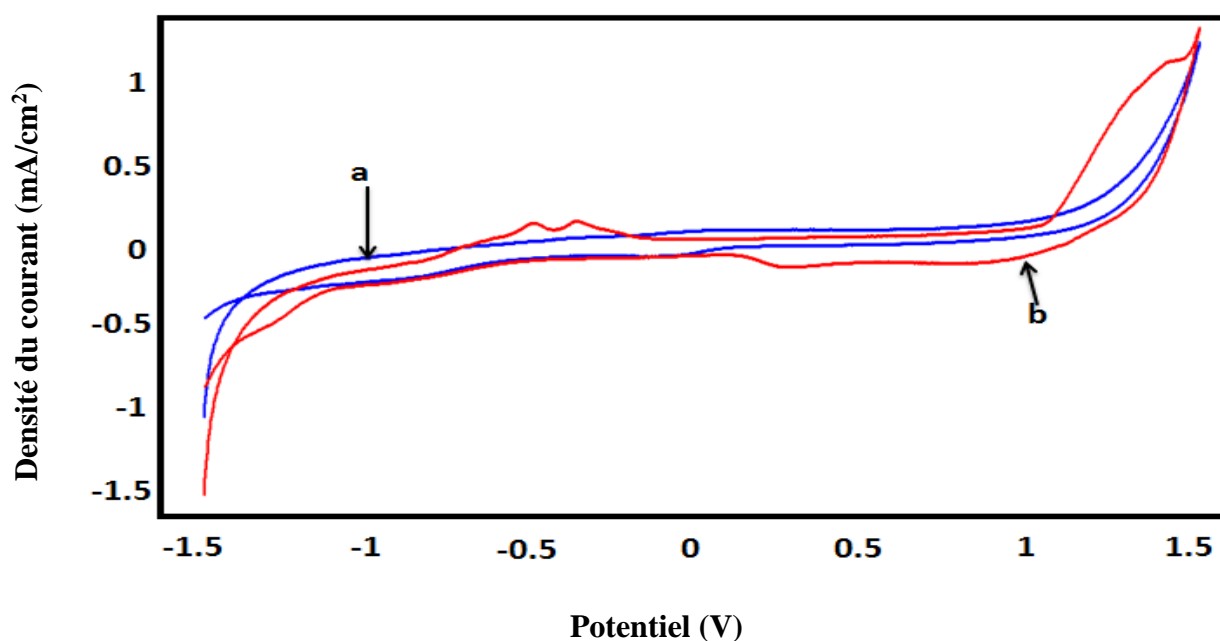


## 2. Identification électrochimique du plomb

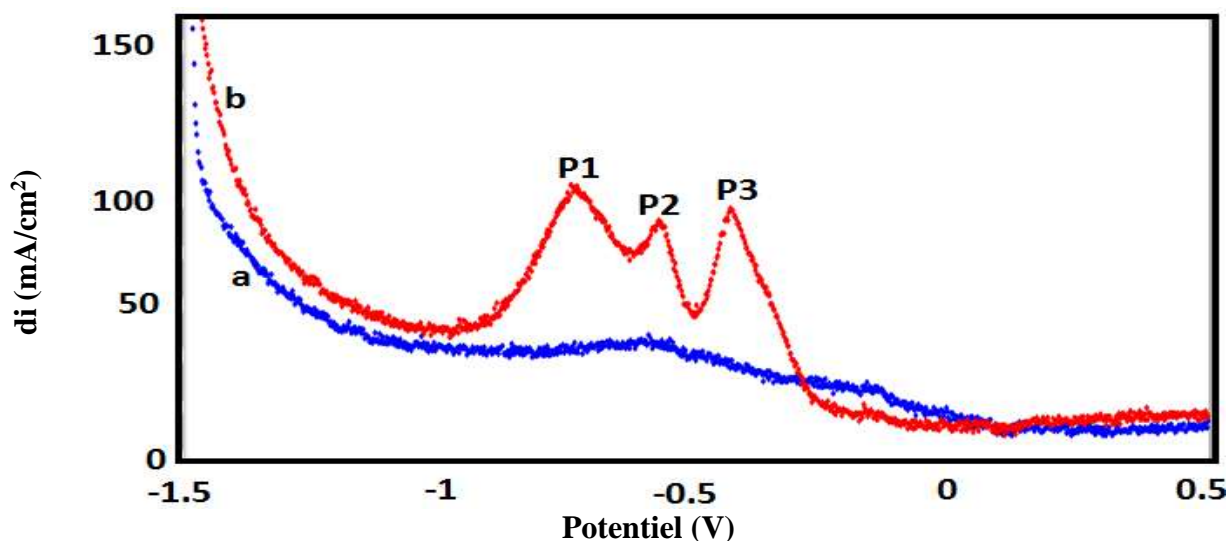
Dans un travail réalisé précédemment [40], nous avons établi les conditions expérimentales pour l'étude du plomb. Les conditions expérimentales sont résumées dans le tableau suivant :

Paramètre	Temps de préconcentration	pH	Vitesse de balayage	Vitesse d'agitation	CPE-BIT
	1 min	2	100 mV / s	60 rpm	10 %

La détermination du plomb est investie par la Voltamétrie Cyclique (VC) (**Fig. 4**) et la Voltamétrie à Onde Carrée (SWV) (**Fig. 5**) enregistrées pour CPE-BIT avant (courbe a) et après 1min d'accumulation dans une solution contenant 0.6 mM de  $Pb^{2+}$  (courbe b). Trois pics sont observés pour CPE-BIT, les deux premiers pics sont des pics d'oxydation avec  $E_{pa1} = -0.7$  V,  $E_{pa2} = -0.5$  V (**Fig. 4-b**) et le troisième pic est associé à la réduction de  $Pb^{2+}$  avec  $E_{pc} = -0.42$  V. Ces pics apparaissent clairement au SWV (**Fig. 5-b**).



**Fig. 4.** Voltammogrammes cycliques enregistrés pour le CPE-BIT : (a) en absence et (b) en présence de 0.6 mM de  $Pb^{2+}$  dans 0.1 M NaCl à 100 mV / s, pH=7, temps de préconcentration = 1 min avec 10 % de BIT (CPE-10 % BIT)



**Fig. 5.** Voltammogrammes à ondes carrées enregistrés pour le CPE-BIT : (a) en absence et (b) en présence de 0.6 mM de  $Pb^{2+}$  dans 0.1 M NaCl à 100 mV / s, pH=7, temps de préconcentration = 1 min avec 10 % de BIT (CPE-10 % BIT)

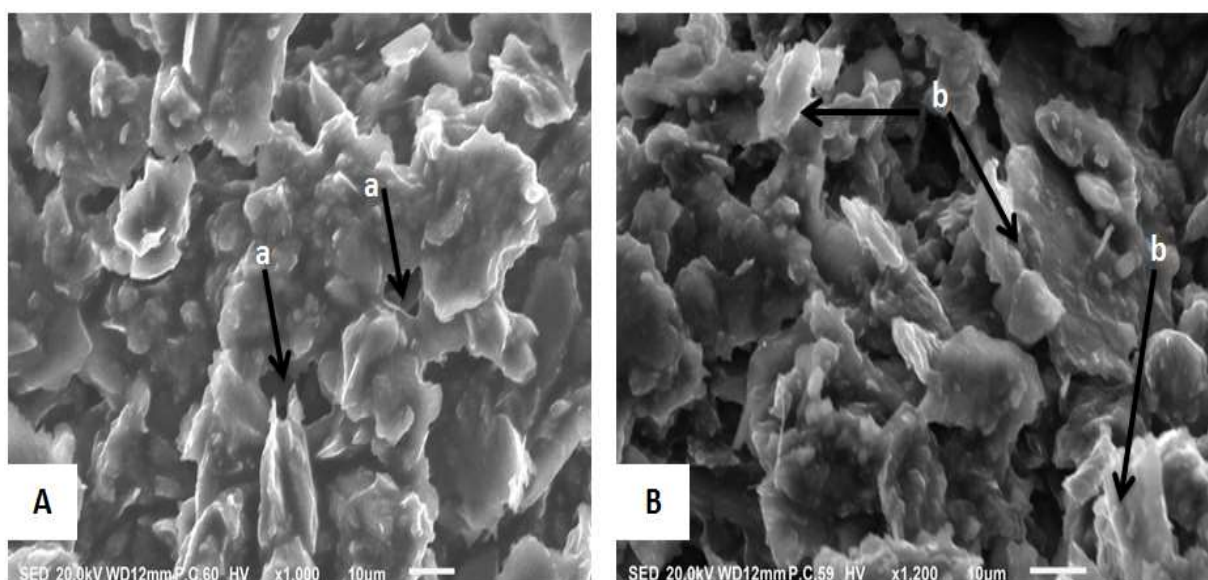
### 3. Etude morphologique de la surface de l'électrode

L'image prise par MEB a révélé que la surface de l'électrode non modifiée (CPE) présente des micropores d'une taille moyenne de 8.8  $\mu m$  (**Fig. 6. A**). La même électrode est composée principalement de carbone et de traces de silice (**Fig. 9. CPE**). Le spectre EDX de l'électrode modifiée (**Fig. 9. CPE-10% BIT**) montre la présence des éléments caractéristiques de la molécule de benzimidazole-2-thiol (**Fig. 7**). Le signal du carbone est observé à 0.28 KeV. L'azote présente une raie à 0.4 KeV. Quant à le soufre, il est caractérisé par trois raies de taux de comptage différent (proportionnel au nombre de photons), la première raie est observé à 2.28 KeV avec un taux de comptage élevé (5 CPS), la seconde est localisée à 2.45 KeV et la troisième se trouve à 2.57 KeV. L'observation par MEB de la surface de l'électrode modifiée (**Fig. 6. B**) montre la présence de nombreux agrégats de microparticules d'une taille moyenne de 21.17  $\mu m$ . Ces particules correspondent bien à la molécule benzimidazole-2-thiol, donc l'électrode est bien modifiée par cette molécule.

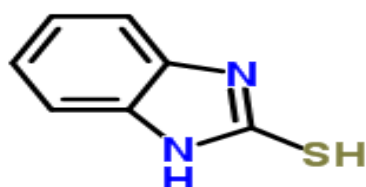
Le CPE est immergé dans une solution contenant 0.9 mM  $Pb^{2+}$  pendant 1 min de préconcentration, l'observation de la surface de cette électrode a montré la présence de nombreuses microparticules d'une taille moyenne approximative de 2.85  $\mu m$  (**Fig. 10. A**), le spectre EDX montre que ces particules sont des particules de plomb (**Fig. 11. A**).

De même, nous avons immergé le CPE-10 % BIT dans une solution contenant 0.9 mM  $Pb^{2+}$  pendant 1 min de préconcentration. De nombreux agrégats sont apparus (**Fig. 10. B**) de taille moyenne de 11.9  $\mu m$  qui correspondent bien au complexe BIT-Pb formé à la surface de

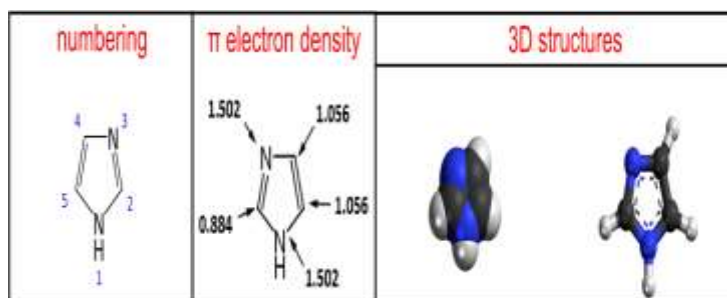
l'électrode. Pour déterminer l'élément impliqué dans la complexation de  $Pb^{2+}$ , il est nécessaire de comparer les deux spectres EDX de CPE /  $Pb^{2+}$  et CPE-10 % BIT /  $Pb^{2+}$ . Le spectre EDX de CPE /  $Pb^{2+}$  (**Fig. 11. A**) comporte plusieurs raies correspondant au plomb, l'une d'elles (observée à 2.33 KeV) a un taux de comptage élevé (6 CPS). Dans le cas du CPE-10 % BIT /  $Pb^{2+}$  (**Fig. 11. C**) on remarque que la même raie coïncide avec celle du Soufre (fonction thiol du BIT) et son taux de comptage est de 1.5 CPS, ceci s'explique par la formation de liaison de coordination entre la fonction thiol (SH) et l'ion métallique  $Pb^{2+}$  [42] (**Fig. 12**), ce complexe possède la même énergie que le soufre et le plomb (2.33 KeV) et se comporte comme une entité unique ce qui explique la baisse du taux de comptage (nombre de photons). De plus, les ions  $Pb^{2+}$  peuvent établir des liaisons de coordination avec l'azote numéro trois (**Fig. 7 et 8**) qui a une densité électronique de 1.502 [42]. Ces conclusions sont compatibles avec le mécanisme proposé dans la page 97.



**Fig. 6.** Images par microscope électronique à balayage de CPE (A) (x1000) et CPE-10% BIT (B) (x1200)



**Fig. 7.** Structure chimique du BIT



**Fig. 8.** Structure et propriétés chimiques de l'imidazole

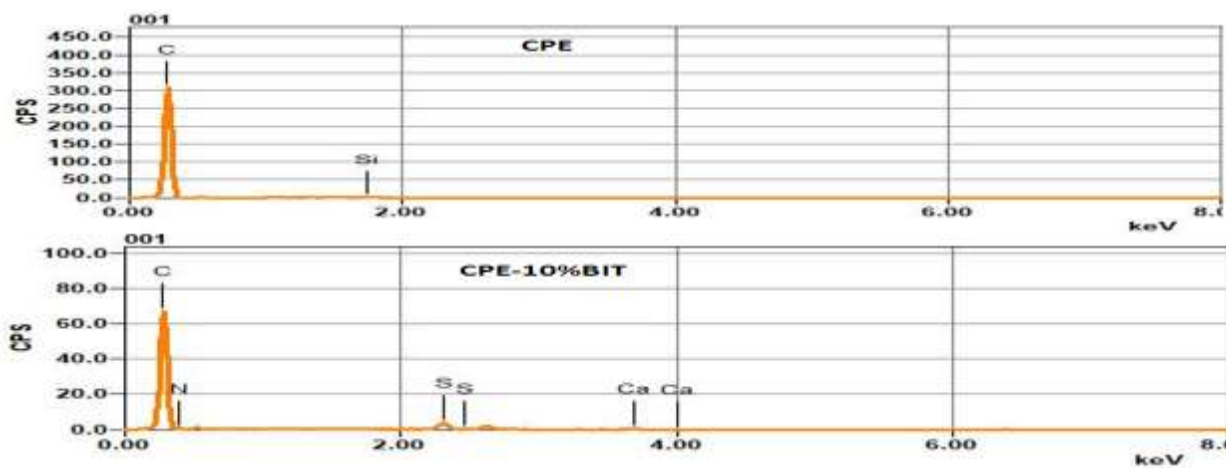


Fig. 9. Analyse élémentaire de la surface de la CPE et de la CPE-10 % BIT par l'EDX

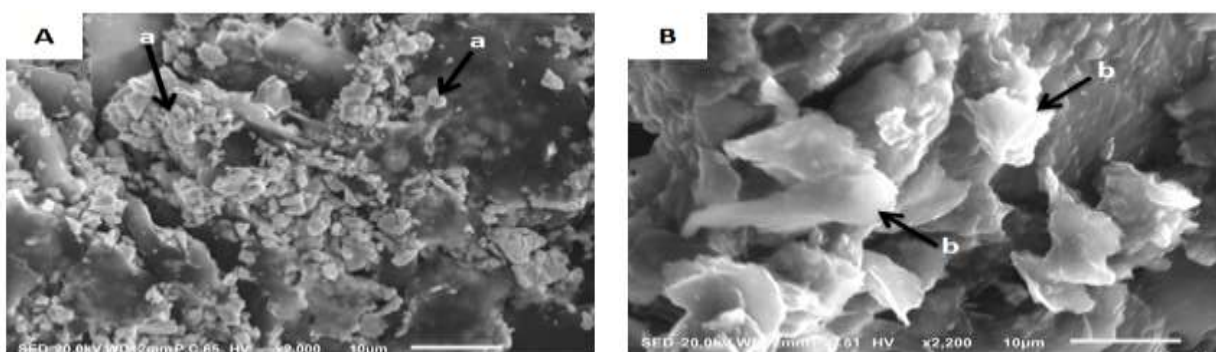


Fig. 10. Images prises par la microscopie électronique à balayage après une minute de préconcentration dans 0.9 mM Pb<sup>2+</sup> de CPE (A) (x 2000) et CPE-10% BIT (B) (x 2200)

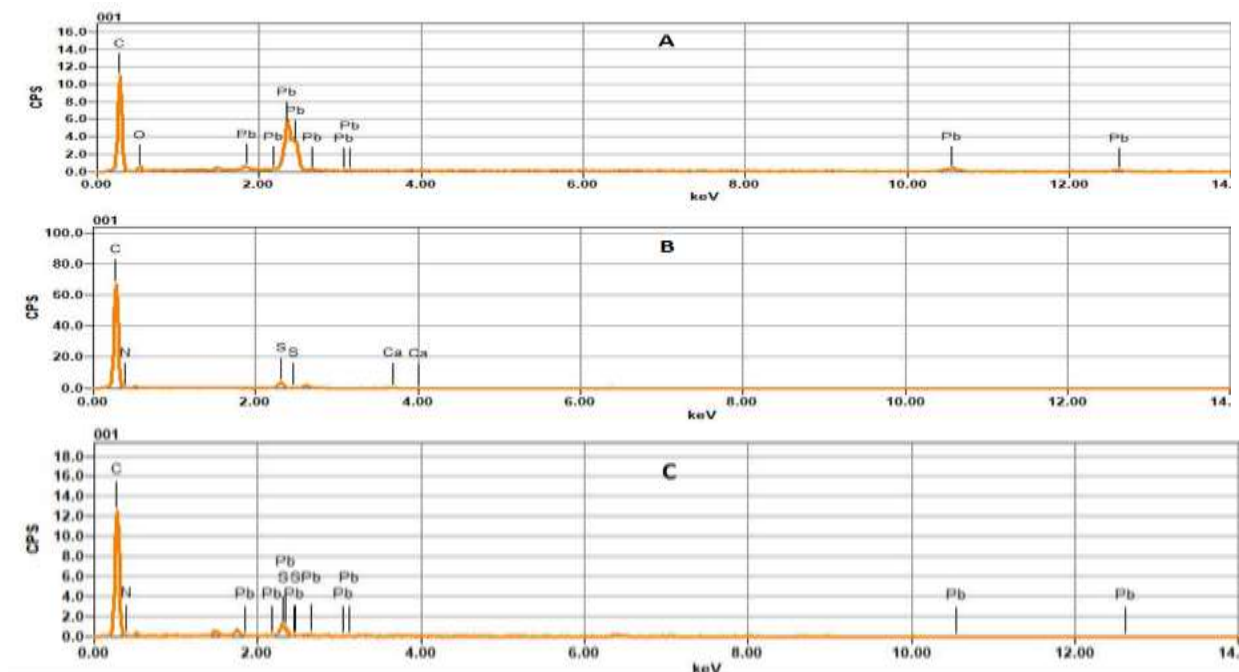
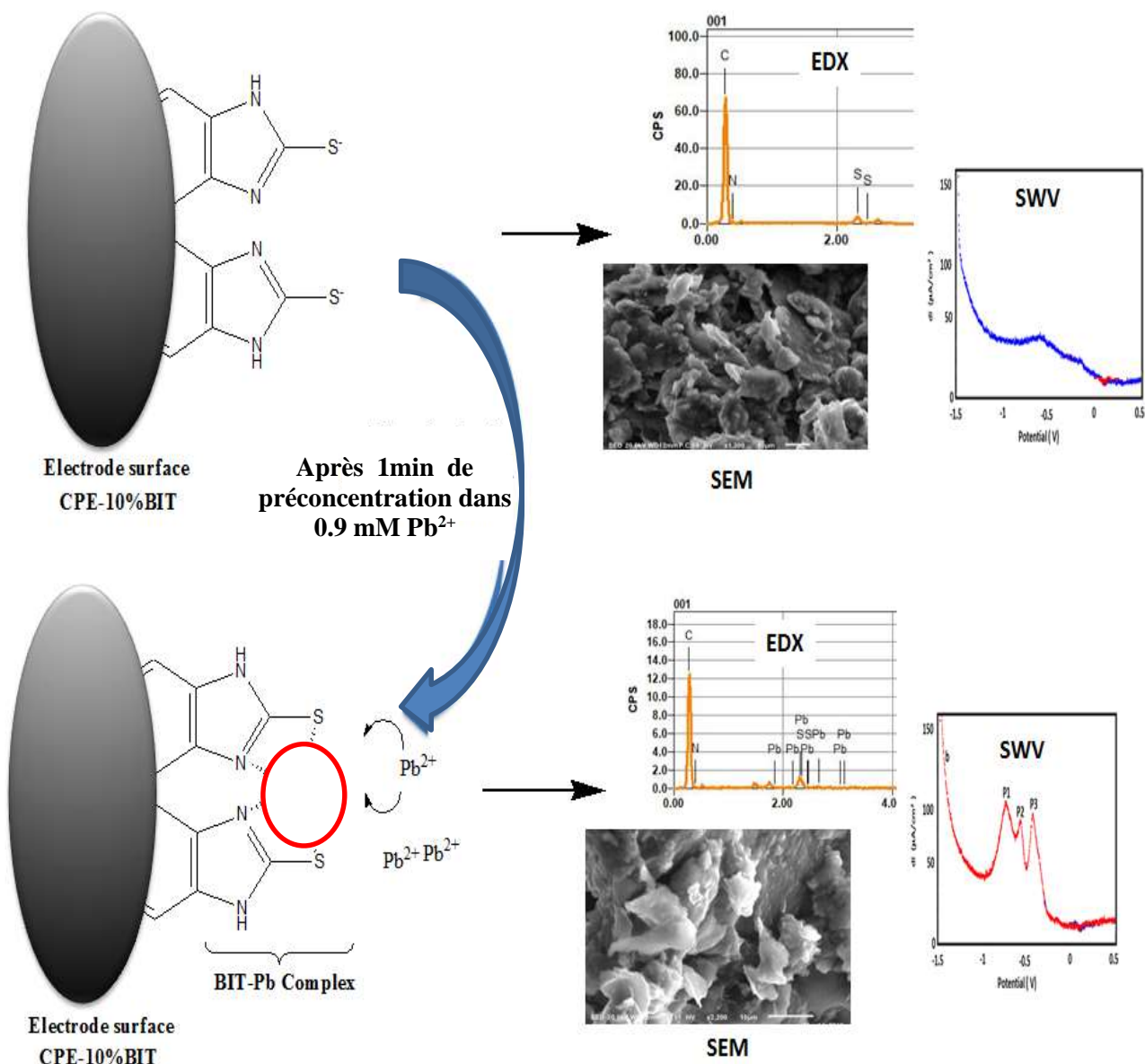


Fig. 11. Spectres EDX après 1 min de préconcentration dans 0.9 mM Pb<sup>2+</sup> de CPE (A), CPE-10 % EDTA(C) et de CPE-10 % BIT (B) avant la préconcentration



**Fig. 12.** Représentation du mécanisme réactionnel à la surface de l'électrode modifiée en fonction des résultats obtenus par l'EDX, MEB et la SWV.

#### 4. Conditions environnementales et de répartition géographique de *Capparis spinosa*

La câpre commune ou câpre épineuse (*Capparis spinosa* L.), est une espèce vivace méditerranéenne de la famille des Capparaceae. Ses grandes fleurs, très parfumées, ont une vie très courte (de l'ordre du jour). Il y a plus de 250 espèces représentant cette plante [43].

Le nom commun de cette plante diffère d'un pays à l'autre, elle est appelée au Maroc par Kabbar, Caper (anglais), Alcaparro (espagnol) et Gollaro (Pakistan) [44,45].

Le câprier pousse facilement dans les sols pauvres et caillouteux (y compris les alfisols, les régosols et les lithosols [43]), il répond bien aux sols volcaniques ou alcalins. Un pH du

sol compris entre 6.1 et 8.5 est toléré [46]. Les câpres poussent beaucoup immédiatement après la pluie (Avril - Mai) et commencent à disparaître au début du froid (Septembre - Octobre). Il a mis au point des mécanismes qui réduisent l'impact des radiations et des températures élevées et ne semble pas présenter de stress hydrique ou de symptômes de photo-inhibition [47-49].

Il est largement répandu dans le monde (Fig. 13). Elle pousse dans les côtes atlantiques des îles Canaries et du Maroc jusqu'à la mer Noire, la Crimée et l'Arménie, et à l'est jusqu'à la mer Caspienne et l'Iran [50-52].

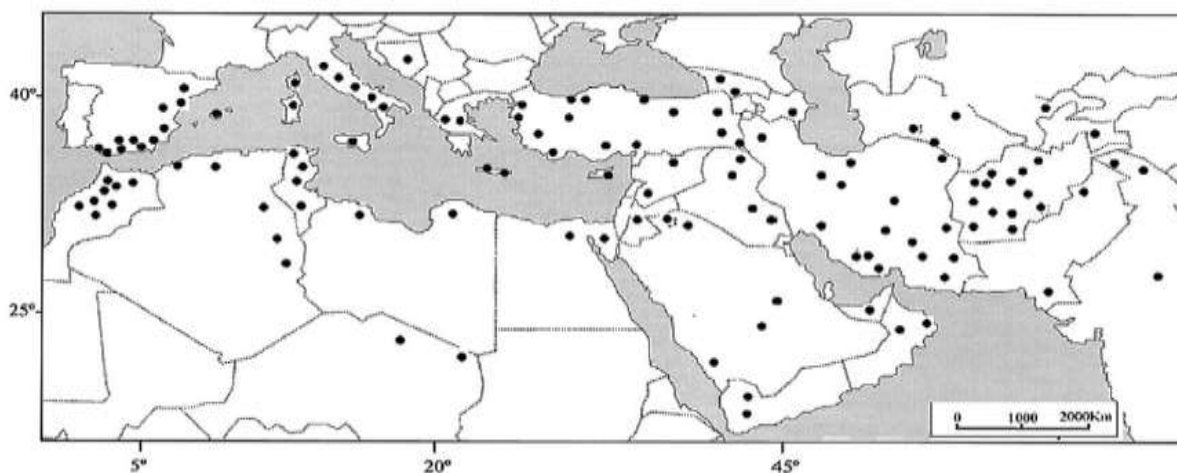
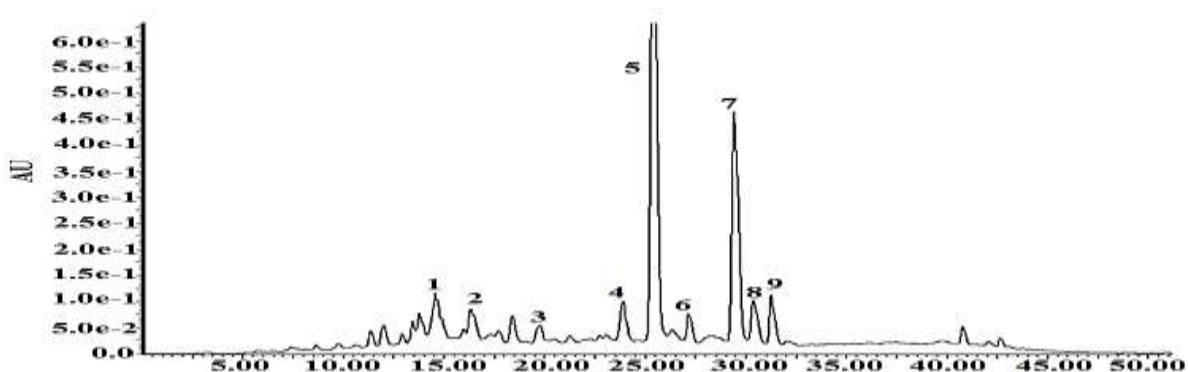


Fig. 13. Répartition naturelle des câpres d'après Inocenio et al [50].

## 5. Composition chimique de *capparis spinosa*

### a. Compositions phénoliques

L'œuvre de Syracuse. L et al [53] a montré que les composés phénoliques présents dans l'infusion aqueuse de *Capparis spinosa* appartiennent à deux classes différentes de métabolites secondaires : les acides cinnamoylquiniques (signaux chromatographiques entre 14 et 25 min) et les flavonoïdes, avec un temps de rétention supérieure (25 à 32 min), représentant la majorité des composés phénoliques dans l'extrait (Fig. 14). On trouve également des flavonols hautement hydroxylés comme le kaempférol, la quercétine et l'isorhamnetine, respectivement. En effet, la rutine (quercétine 3-O-rutinoside) est le flavonol le plus abondant (couvrant près de 50 % de la quantité totale des composés phénoliques) suivi par le kaempférol 3-O-rutinoside (Fig. 14). Dans le groupe des acides cinnamoylquiniques quatre pics ont été identifiés tels que l'acide 5-cofféoylquinique (acide chlorogénique) l'acide 4-caféoylquinique, l'acide 5-p-coumaroylquinique et l'acide 4-feruloylquinique.



**Fig. 14.** Composés phénoliques identifiés dans l'infusion de *Capparis spinosa* avant la digestion in vitro (visualisés à 330 nm). Les pics : (1) Acide 5-caféoylquinique, (2) 4-acide caféoylquinique, (3) acide 5-p-coumaroylquinique, (4) acide 4-feruloylquinique, (5) rutine (pic principal), (6) quercétine-3-O-glucoside, (7) kaempferol-3-O-rutinoside, (8) isorhamnetine-3-O-rutinoside, (9) kaempferol-3-O-glucoside [53].

### b. Composés alcaloïdes de *Capparis spinosa*

Les alcaloïdes sont des molécules à base d'azote, le plus souvent hétérocycliques, le plus souvent d'origine végétale. Ils peuvent se présenter sous la forme de molécules organiques hétérocycliques azotées basiques. Les tiges et les fruits de *Capparis spinosa* contiennent plusieurs alcaloïdes tels que la tétrahydroquinoléine (1) [55] (ce composé contient un squelette carboné portant à la fois des groupes acides aminés et des acides carboxyliques, c'est pourquoi il est considéré comme un nouvel acide aminé). Fu et al [56] ont isolé un acide aminé modifié ou alcaloïde (2) à partir de fruit cappariss.

Yang et al. [57] ont isolés à partir de fruits *Capparis spinosa* d'alcaloïdes hautement polaires et solubles dans l'eau, capparissine A (3), capparissine B (4), capparissine C (5), lactone (6) acide 2-(5-hydroxyméthyl-2-formylpyrrol-1-yl) propionique et N-(3'-maleimidyl) -5-hydroxyméthyl-2-pyrrole formaldéhyde (7). Fu et al ont isolé à partir de la racine de la plante [58] trois nouveaux alcaloïdes de spermidine appelés capparisspine (8), capparisspine 26-O-β-D-glucoside (9) et chlorhydrate de cadabicine 26-O-β-D-glucoside (10) (**Fig. 16**).

La structure plane de la capparissine A (3), de la capparissine B (4) et de la capparissine C (5) est représentée dans la **Fig. 17**.

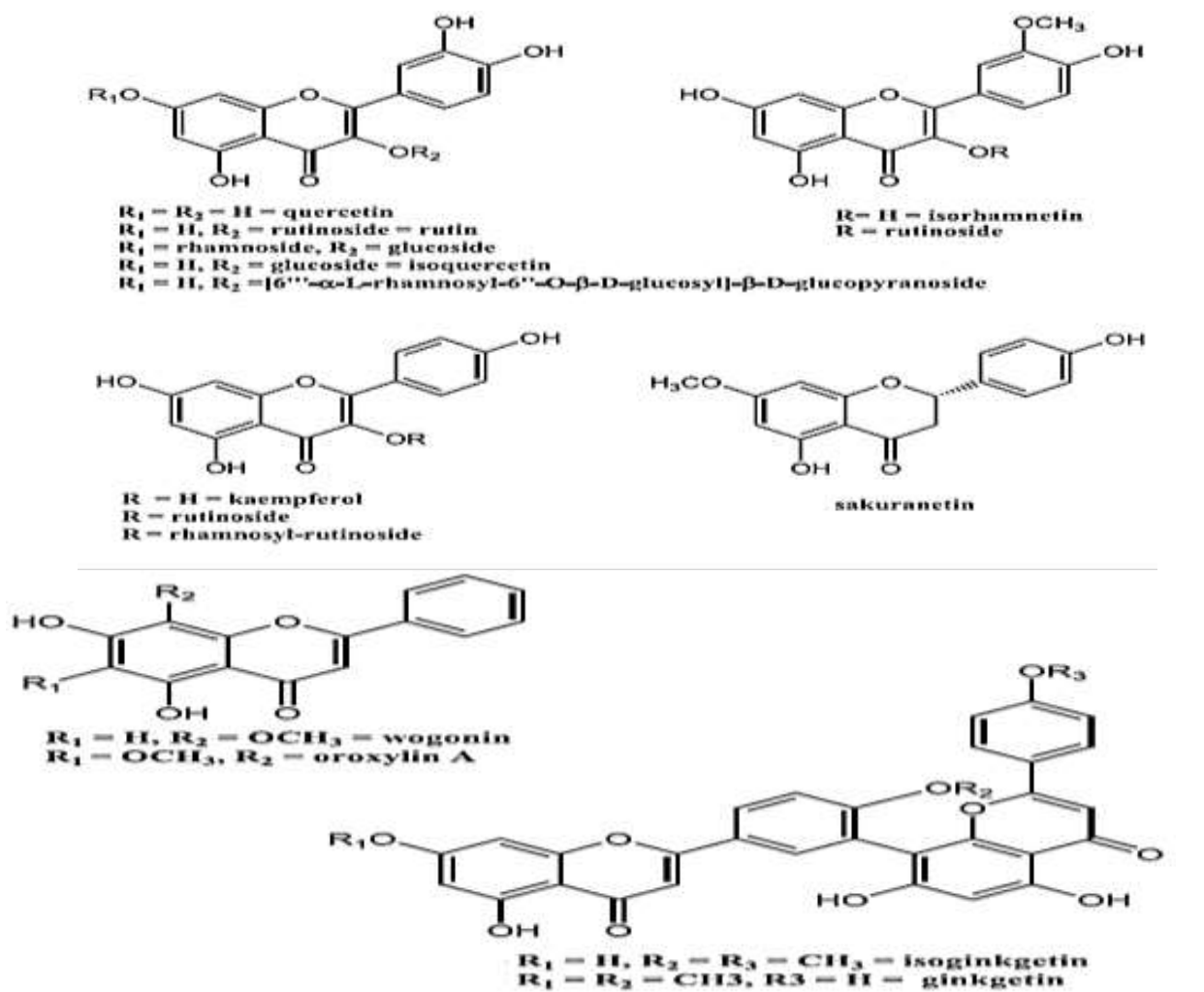


Fig. 15. Structures chimiques des flavonoïdes de *Capparis spinosa* [54].

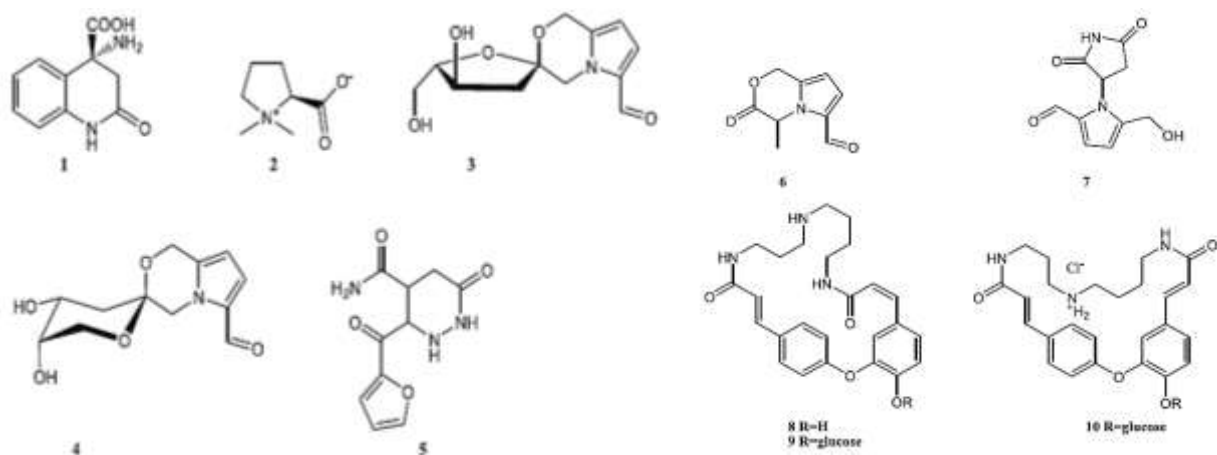
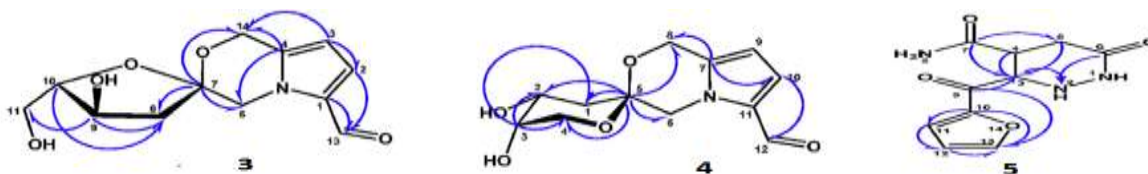


Fig. 16. Structures chimiques des alcaloïdes de *Capparis spinosa* [54].





**Fig. 17.** Structures et HMBC (Heteronuclear Multiple Bond Correlation) de capparisine A (3), capparisine B (4), capparisine C (5) [59].

### c. Effet de l'extrait de feuille de cappariss sur le plomb

La cappariss spinosa contient de nombreuses vertus thérapeutiques que nous avons présentées dans l'introduction de ce chapitre, mais bien sûr il y a d'autres vertus qui n'ont pas encore été découvertes. Dans cette partie nous allons montrer une autre vertu de cette plante concernant sa capacité à complexifier le plomb.

La **Fig. 18** présente les voltammogrammes cycliques enregistrés pour le CPE- BIT en présence de 1 mM/L de  $Pb^{2+}$  avant (a) et après l'addition de 50 mL/L de feuille de Cappariss dans 0.1 M NaCl. Une diminution remarquable des pics de  $Pb^{2+}$  est observée après l'addition de l'extrait aqueux de cappariss ce qui montre que la plante a une forte puissance complexante.

Le SWV présenté dans la **Fig. 19** montre clairement que le pic de réduction de  $Pb^{2+}$  est complètement disparu après l'addition de l'extrait.

### d. Effet de la concentration de l'extrait aqueux de la feuille de Cappariss Spinosa

Les **Fig. 20** et **21** représentent respectivement le SWV et le VC correspondent au CPE- BIT en présence de 1 mM  $Pb^{2+}$  dans différentes concentrations de l'extrait aqueux de la feuille de Cappariss Spinosa de 16.66 ml / l à 66.66 ml / l. Lorsque la concentration de l'extrait aqueux de la feuille de Cappariss Spinosa augmente, les pics d'oxydation et de réduction de  $Pb^{2+}$  diminuent progressivement. On peut également observer que le pic de réduction de  $Pb^{2+}$  a complètement disparu. Ceci est probablement à cause des polyphénols présents dans l'extrait de feuille de Cappariss Spinosa [53]. Les polyphénols sont des bons ligands pour les cations métalliques [60] et sont utilisés pour éliminer les métaux lourds [61,62]. Le phénol déprotoné a une densité de charge élevée (ligand dur) qui donne aux polyphénols la capacité de chélater les métaux lourds [60]. Les ions hydroxyle (-OH) et pyrone oxygène des flavonoïdes, présents dans l'extrait aqueux de Cappariss spinosa, se lient aux ions  $Pb^{2+}$  (**Fig. 22**) présents dans la solution électrolytique ce qui forme un complexe caractérisé par la présence de plusieurs

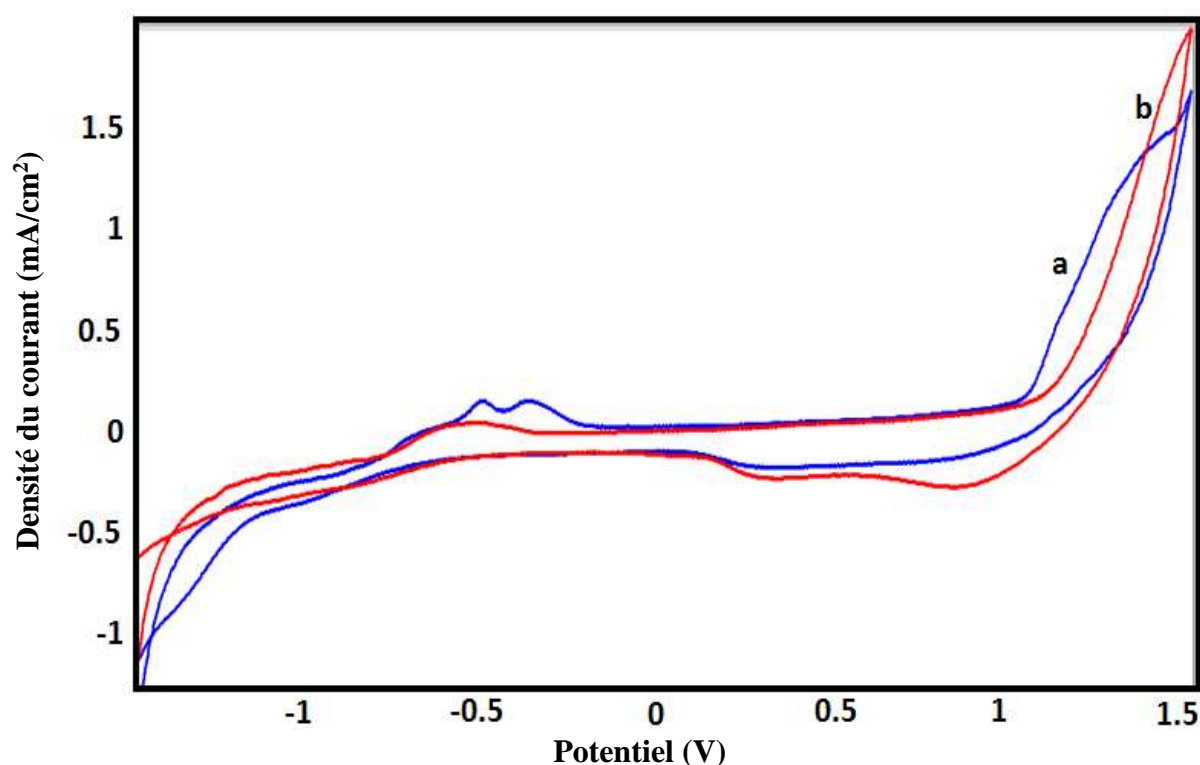
liaisons de coordination [60]. Le mécanisme proposé est basé sur les études réalisées par R. C. Hider et al [63], Gülçin [64] et M. Gurung et al [65].

L'effet de concentration de l'EAFCS (extrait aqueux de feuilles de Capparis spinosa) sur le pic P<sub>3</sub> observé à la SWV est représenté sur la Fig. 23. La densité de courant de P<sub>3</sub> diminue linéairement et rapidement à l'augmentation de la concentration de l'extrait mais se stabilise à une valeur égale presque 20µA / cm<sup>2</sup> à 66.66ml / l de l'EAFCS.

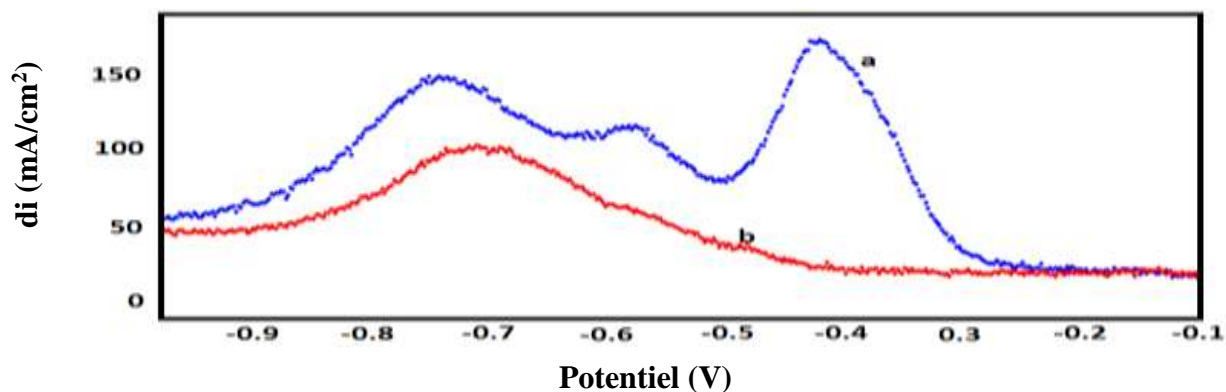
L'efficacité de l'extrait augmente linéairement avec le volume de l'EAFCS (Fig. 24). L'efficacité de l'extrait est calculée selon l'équation suivante :

$$E(\%) = \frac{I_a - I_b}{I_a} \times 100$$

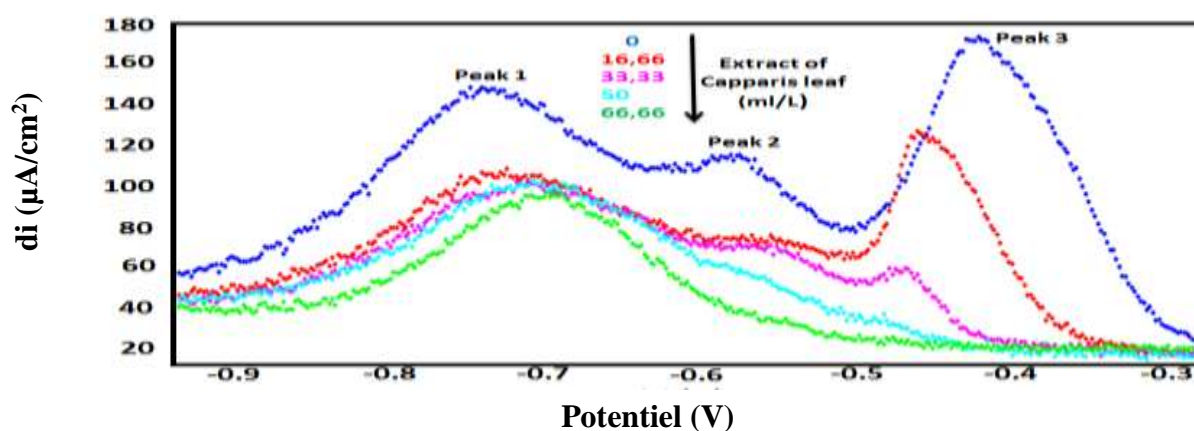
I<sub>a</sub> représente la densité de courant de pic de réduction de Pb<sup>2+</sup> avant l'addition de l'extrait, I<sub>b</sub> est la densité de courant du même pic après l'addition de l'extrait. Notez que 66.66 ml l'EAFCS (équivalent à 0.97 g de l'extrait sec) est suffisant pour éliminer 0.837mM Pb<sup>2+</sup> dans un litre de solution (complexation de 83.7 % Pb<sup>2+</sup>).



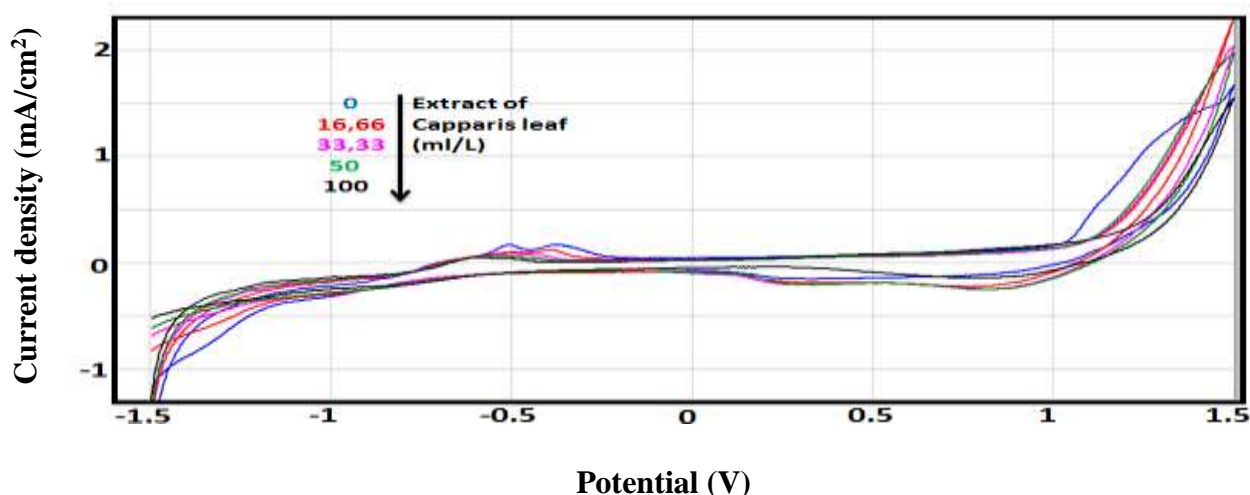
**Fig. 18.** Voltammogrammes cycliques enregistrés pour CPE- BIT en présence de 1 mM/ L Pb<sup>2+</sup> avant (a) et après (b) l'addition de 50 mL / L de l'extrait aqueux de feuilles de Capparis spinosa dans 0.1 M NaCl, pH= 7, vitesse de balayage 100 mV / s, tp= 1 min et 10 % de BIT (CPE-10 % BIT)



**Fig. 19.** Voltammogrammes à ondes carrées enregistrés pour CPE- BIT en présence de 1 mM / L  $Pb^{2+}$  avant (a) et (b) après l'addition de 50 mL / L de l'extrait aqueux de feuilles de *Capparis spinosa* dans 0.1 M NaCl, pH= 7, vitesse de balayage 20 mV / s,  $t_p$ = 1 min et 10 % de BIT (CPE-10 % BIT).



**Fig. 20.** Voltammogrammes à ondes carrées enregistrés sur CPE- BIT en présence de 1 mM / L  $Pb^{2+}$  à différentes concentrations de l'extrait aqueux de feuille de *Capparis spinosa* dans 0.1 M NaCl, pH = 7, vitesse de balayage 20 mV / s,  $t_p$ = 1 min et 10 % de BIT (CPE-10 % BIT).



**Fig. 21.** Voltammogrammes cycliques enregistrés pour CPE- BIT en présence de 1 mM / L  $Pb^{2+}$  et après l'addition de 50 mL / L de l'extrait aqueux de feuilles de *Capparis spinosa* dans 0.1 M NaCl, pH = 7, vitesse de balayage 100 mV / s,  $t_p$ = 1min et 10 % de BIT (CPE-10 % BIT)

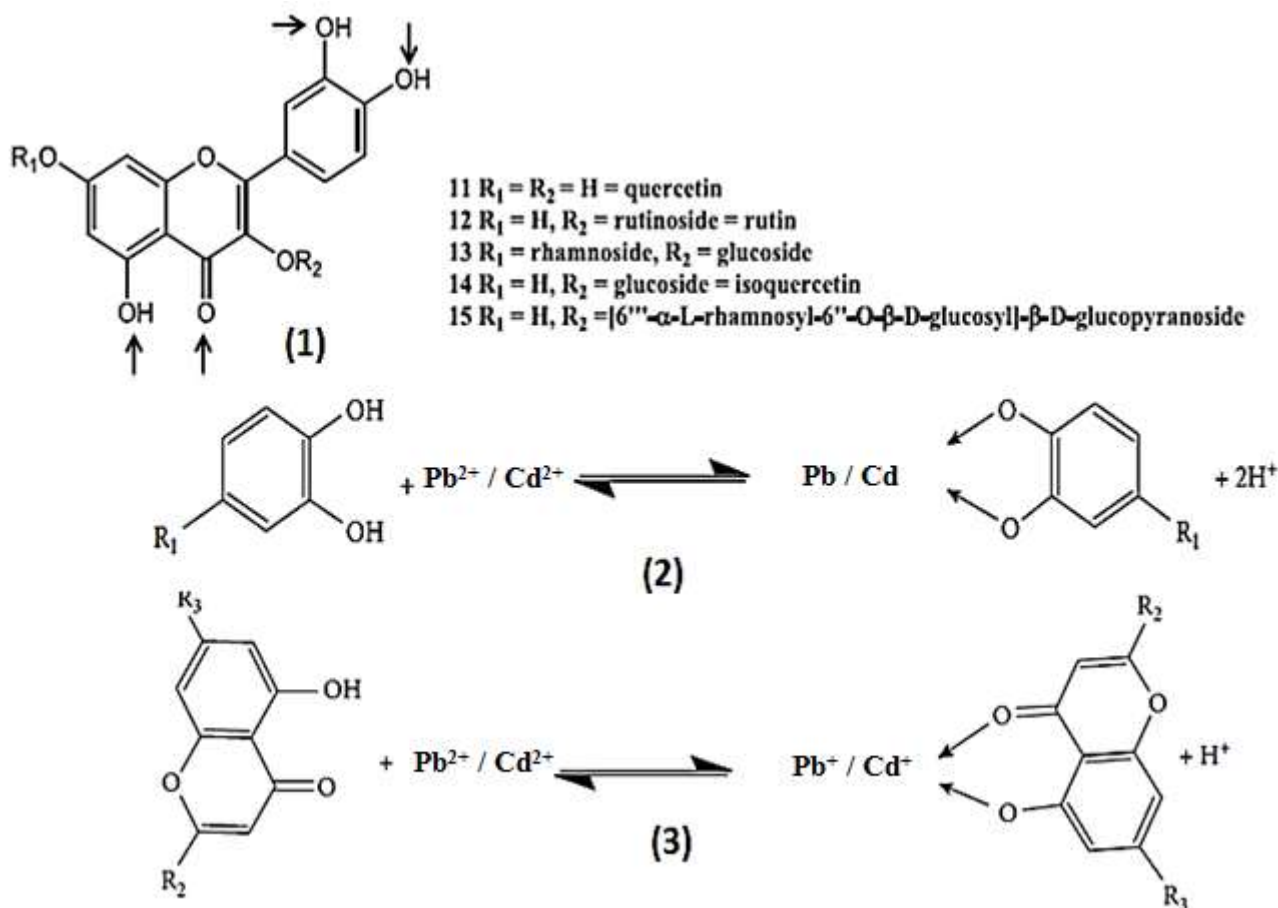


Fig. 22. Structures chimiques des flavonoïdes de *C. spinosa* (1) et mécanisme de complexation de  $Pb^{2+} / Cd^{2+}$  avec les groupes hydroxyle (2), hydroxy et carbonyle (3) présents dans les flavonoïdes de *Capparis spinosa*.

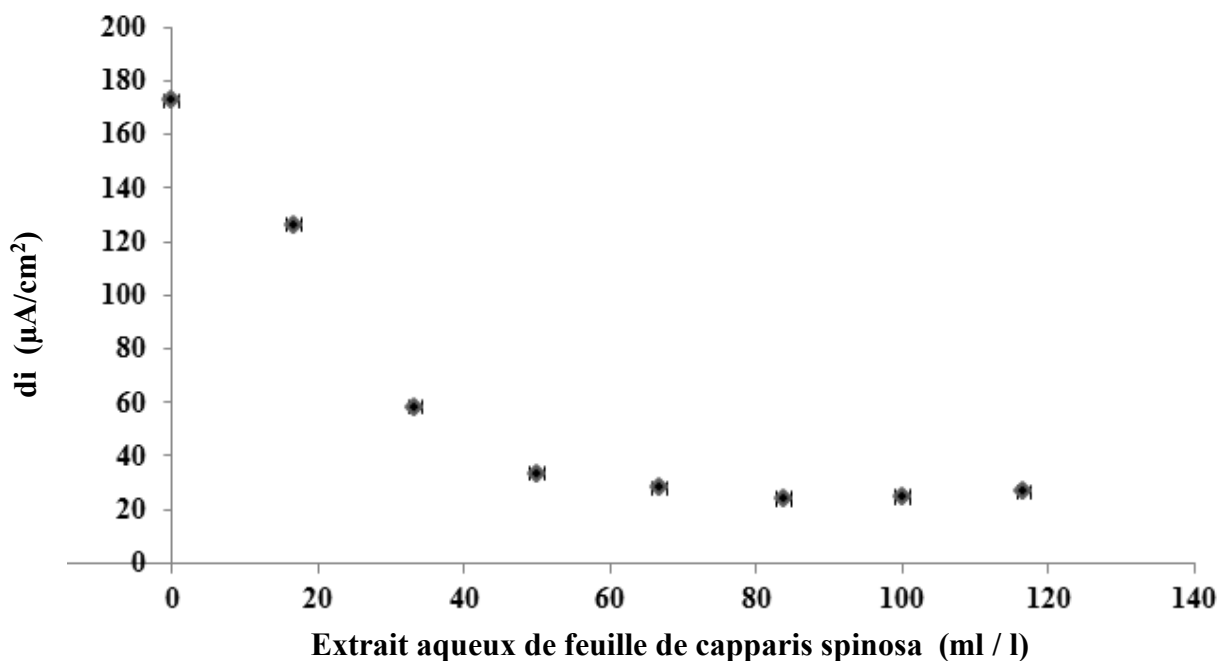


Fig. 23. Représentation graphique de pic de réduction (Pic 3) à différents volumes ajoutés de l'extrait aqueux de feuille de *Capparis spinosa*

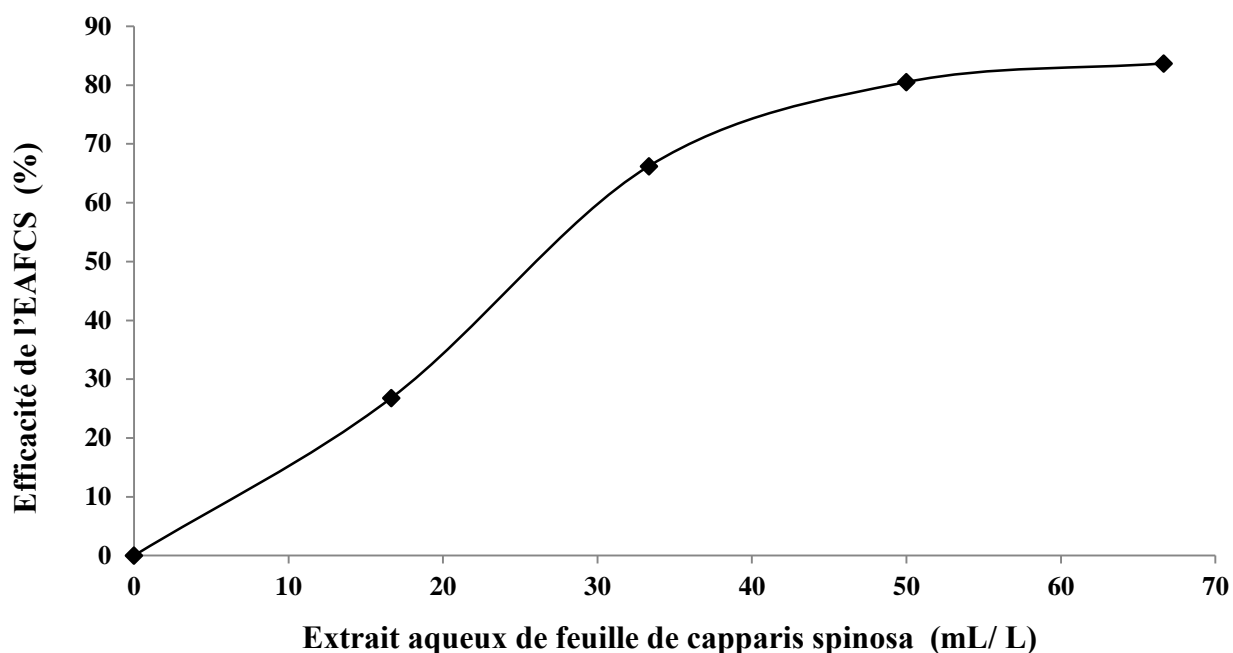


Fig. 24. Efficacité de l'extrait aqueux de feuille de capparispinosa à chélater le  $Pb^{2+}$

### III. Conclusion

L'électrode à pâte de carbone modifiée par BIT (CPE-10 % BIT) a été utilisée pour détecter et quantifier le  $Pb^{2+}$  dans l'eau potable. L'étude du CPE-10 % BIT par SWV (Square Wave Voltammetry), EDX (spectrométrie aux rayons X à dispersion d'énergie) et MEB a permis de proposer un mécanisme plausible pour la complexation de  $Pb^{2+}$  par le benzimidazole-2-thiol. La fonction thiol (SH) a la capacité de faire une liaison de coordination avec le  $Pb^{2+}$ . De plus, les ions  $Pb^{2+}$  peuvent établir des liaisons avec l'azote numéro trois de l'imidazole. La même électrode est utilisée pour déterminer la capacité de l'extrait aqueux des feuilles de capparispinosa. L'étude a montré que l'EAFCS est très efficace pour complexer et éliminer le  $Pb^{2+}$  de l'eau contaminée. Nous avons constaté que seulement 0.97 g de l'extrait sec est capable d'éliminer 0.837 mM / l de  $Pb^{2+}$ . La résonance magnétique nucléaire (RMN) et la chromatographie en phase gazeuse (CG) ont identifié les différents constituants chimiques du Capparis spinosa. La Capparis spinosa est très riche en polyphénols et alcaloïdes. Les composés phénoliques contenus dans l'EAFCS sont responsables de l'élimination et la complexation de  $Pb^{2+}$ .

## Références

- [1] A.A.A. Allaith, Journal of the Association of Arab Universities for Basic and Applied Sciences, 19 (2016)1–7. <https://doi.org/10.1016/j.jaubas.2014.07.001>
- [2] C. Inocencio, F. Alcaraz, F. Calderon, C. Obon, D. Rivera, European Food Research and Technology, 214(2002)335–339. DOI 10.1007/s00217-001-0465-y
- [3] D. Rivera, C. Inocencio, C. Obon, F. Alcaraz, Economic Botany, 57 (2003) 515.
- [4] L. A. Benseghir-Boukhari, R. Seridi, Journal of Mediterranean geography, 109(2007)101-105.
- [5] H. E. Jiang, X. Li, D. K. Ferguson, Y. F. Wang, C. J. Liu, C. S. Li, Journal of Ethnopharmacology 113(2007) 409-420. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2007.06.020>
- [6] M. Eddouks, M. Maghrani, A. Lemhadri, M. L. Ouahidi, H. Jouad, Journal of ethnopharmacology, 82(2002) 97-103. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(02\)00164-2](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(02)00164-2)
- [7] B. Alkire, Capers. New Crop Fact Sheet. Center for New Crops and Plant Products, Purdue University, West Lafayette, (1998), 47907-1165.
- [8] J. El-Hilaly, M. Hmammouchi, B. Lyoussi, J. Ethnopharmacol, 86(2003)149–158. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(03\)00012-6](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(03)00012-6)
- [9] A. Lemhadri, M. Eddouks, T. Sulpice, R. Burcelin, J. Pharmacol. Toxicol, 2 (2007) 106–110.
- [10] M. Eddouks, A. Lemhadri, J.-B. Michel, Journal of ethnopharmacology, 98(2005) 345-350. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.01.053>
- [11] X. Feng, J. Lu, H. Xin, L. Zhang, Y. Wang, K. Tang, Yakugaku Zasshi, 131(2011)423–429. <https://doi.org/10.1248/yakushi.131.423>
- [12] D. Bown, Encyclopaedia of Herbs and their Uses. Eds Dorling Kindersley, London, (1995).
- [13] K. Matsuyama, M.O. Villareal, A. El Omri, J. Han, M.E. Kchouk, H. Isoda, Journal of natural medicines, 63(2009)468–472.
- [14] T. Kulisic-Bilusic, I. Schmaaller, K. Schnabele, L. Siracusa, G. Ruberto, Food Chemistry 132(2012) 261-267. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.10.074>
- [15] T. Satyanarayana, A.A. Mathews, P. Vijetha, Pharmacol. Rev, 2(2008)36–45.
- [16] P. Rajesh, P. Selvamani, S. Latha, A. Saraswathy, V. Rajesh Kannan, Pharmacognosy Reviews, 3 (2009)378–387. <http://www.phcogrev.com/text.asp?2009/3/6/378/59538>
- [17] M. Al-Said, E. Abdelsattar, S. Khalifa, F. El-Ferally, Die Pharmazie, 43(1988) 640-641.
- [18] D. Trombetta, F. Occhiuto, D. Perri, C. Puglia, N.A. Santagati, A. De Pasquale, A. Saija, F. Bonina, Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives, 19(2005)29–33. <https://doi.org/10.1002/ptr.1591>
- [19] H. Sher, M.N. Al-Yemeni, H. Sher, Journal of Medicinal Plants Research, 4 (2010)1197–1208. DOI: [10.5897/JMPR10.206](https://doi.org/10.5897/JMPR10.206)
- [20] F. Bonina, C. Puglia, D. Ventura, R. Aquino, S. Tortora, A. Sacchi, A. Saija, A. Tomaino, M.L. Pellegrino, Journal of cosmetic science, 53(2002)321–335.
- [21] M. P. Germano, R. De Pasquale, V. D'angelo, S. Catania, V. Silvari, C. Costa, Journal of agricultural and food chemistry, 50(2002)1168-1171. DOI: [10.1021/jf010678d](https://doi.org/10.1021/jf010678d)
- [22] L. Tesoriere, D. Butera, C. Gentile, M.A. Livrea, Journal of agricultural and food chemistry, 55(2007)8465–8471. DOI: [10.1021/jf0714113](https://doi.org/10.1021/jf0714113)

- [23] A. Meddour, M. Yahia, N. Benkiki, A. Ayachi, *Lebanon Scientific Journal*, 14(2013)49-60.
- [24] A. Baghiani, D. Ameni, S. Boumerfeg, M. Adjadj, M. Djarmouni, N. Charef, L. Arrar, *American Journal of Medicine and Medical Sciences*, 2(2012)25-32. DOI: [10.5923/j.ajmms.20120201.06](https://doi.org/10.5923/j.ajmms.20120201.06)
- [25] L. Arrar, N. Benzidane, I. Krache, N. Charef, S. Khennouf, A. Baghiani, *Pharmacognosy Communications*, 3 (2013)70–74. DOI: [10.5530/pc.2013.2.14](https://doi.org/10.5530/pc.2013.2.14)
- [26] M.S. Ali-Shtayeh, S. I. Abu Ghdeib, *mycoses*, 42(1999)665-672. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0507.1999.00499.x>
- [27] A. Arena, G. Bisignano, B. Pavone, A. Tomaino, F. P. Bonina, A. Saija, *International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 22(2008)313-317. <https://doi.org/10.1002/ptr.2313>
- [28] J.H.Wu, F.R. Chang, K. Hayashi, H. Shiraki, C.C. Liaw, Y. Nakanishi, *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 13 (2003)2223–5. [https://doi.org/10.1016/S0960-894X\(03\)00379-2](https://doi.org/10.1016/S0960-894X(03)00379-2)
- [29] S.K. Lam, T.B. Ng, *Phytomedicine*, 16(2009)444–5. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2008.09.006>
- [30] A.A.A. Allaith, *Journal of the Association of Arab Universities for Basic and Applied Sciences*, 19(2016)1-7. <https://doi.org/10.1016/j.jaubas.2014.07.001>
- [31] H. Brevard, M. Brambilla, A. Chaintreau, J. P Marion, *Flavour and fragrance journal*, 7(1992)313-321. <https://doi.org/10.1002/ffj.2730070605>
- [32] J. C. Brand, V. Chirikoff, *In Plants for arid lands*, (1985)53-68.
- [33] M. Rodrigo, M.J. Lazaro, A. Alvarruiz, V. Giner, *Journal of food Science*, 57(1992)1152-1154. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1992.tb11286.x>
- [34] M. P. Germano, R. De Pasquale, V. D'angelo, S. Catania, V. Silvari, C. Costa, *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(2002)1168-1171. DOI: [10.1021/jf010678d](https://doi.org/10.1021/jf010678d)
- [35] H. Gao, X. Qi, Y. Chen, W. Sun, *Analytica chimica acta*, 704(2011)133-138. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2011.07.044>
- [36] J. Wang, *Analytica chimica acta* , 500(2003)247-257. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(03\)00725-6](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(03)00725-6)
- [37] V. H. Gomdje, T. R. L. Ngono, *Acta Technica Corviniensis*, 6(2013)139-142.
- [38] O. Estévez-Hernández, I. Naranjo-Rodríguez, J. H. H. de Cisneros, E. Reguera, , *Sensors and Actuators B: Chemical*, 123(2007)488-494. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2006.09.030>
- [39] C. Laghlimi, M.A. Smaini, R. Maallah, S. Touzara, S. El Qouatli, A. Chtaini, *J Biosens Bioelectron*, 8(2017)239. DOI: [10.4172/2155-6210.1000239](https://doi.org/10.4172/2155-6210.1000239)
- [40] Charaf L, Madiha E, Hind S, Amine SM, Jihane E, *J Powder Metall Min*, 7(2018)188. doi:[10.4172/2168-9806.1000188](https://doi.org/10.4172/2168-9806.1000188)
- [41] C. Laghlimi, M.A. Smaini, M. Ennachte, H. Saadane, R. Maallah, A. Chtaini, *Proceedings BIOSUNE'1*, (2018)36-42.
- [42] T. Sun, Q. Niu, Z. Guo, T. Li, *Tetrahedron letters*, 58(2017)252-256. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2016.12.022>
- [43] N. Tlili, W. Elfalleh, E. Saadaoui, A. Khaldi, S. Triki, N. Nasri, *Fitoterapia*, 82(2011)93-101. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2010.09.006>
- [44] M. Zohary, *Bulletin of the Research Council of Israel*, (2)(1960) 49-64.
- [45] S. Ezzeddine, K. Abdelahamid, K. M. Larbi, (2007)523-527.

- [46] F. I. Pugnaire, E. Esteban, *Journal of Plant Nutrition*, 14(1991)151-161. <https://doi.org/10.1080/01904169109364191>
- [47] E. Levizou, P. Drilias, A. Kyparissis, *Photosynthetica*, 42(2004)229-235.
- [48] N. Tlili, N. Nasri, E. Saadaoui, A. Khaldi, S. Triki, *Journal of agricultural and food chemistry*, 57(2009) 5381-5385.
- [49] S. Rhizopoulou, *Physiology*, 136(1990)341-348. [https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(11\)80060-X](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(11)80060-X)
- [50] C. Inocencio, D. Rivera, M. C. Obón, F. Alcaraz, J. A. Barreña, *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 93(2006)122-150. [https://doi.org/10.3417/0026-6493\(2006\)93\[122:ASROCS\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.3417/0026-6493(2006)93[122:ASROCS]2.0.CO;2)
- [51] M. Jacobs, *Evolution and Biogeography of Plants*, 12(1964)385-541. <http://www.repository.naturalis.nl/document/565512>
- [52] V. Romeo, M. Ziino, D. Giuffrida, *Food chemistry*, 101(2007)1272-8. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.12.029>
- [53] L. Siracusa, T. Kulisic-Bilusic, O. Politeo, I. Krause, B. Dejanovic, G. Ruberto, *Journal of agricultural and food chemistry*, 59(2011)12453-12459. **DOI:** [10.1021/jf203096q](https://doi.org/10.1021/jf203096q)
- [54] S. F. Nabavi, F. Maggi, M. Daglia, S. Habtemariam, L. Rastrelli, S. M. Nabavi, *Phytotherapy Research*, 30(2016)1733-1744. <https://doi.org/10.1002/ptr.5684>
- [55] S. Zhang, D. B. Hu, J. B. He, K. Y. Guan, H. J. Zhu, *Tetrahedron*, 70(2014) 869-873. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2013.12.024>
- [56] X. P. Fu, H. A. Aisa, M. Abdurahim, A. Yili, S. F. Aripova, B. Tashkhodzhaev, *Chemistry of Natural compounds*, 43(2007) 181-183. <https://doi.org/10.1007/s10600-007-0074-5>
- [57] T. Yang, C. H. Wang, G. X. Chou, T. Wu, X. M. Cheng, Z. T. Wang, *Food chemistry*, 123(2010)705-710. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.05.039>
- [58] X. P. Fu, T. Wu, M. Abdurahim, Z. Su, X. L. Hou, H. A. Aisa, H. Wu, *Phytochemistry Letters*, 1(2008)59-62. <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2008.01.001>
- [59] T. Yang, C. Wang, G. Chou, T. Wu, X. Cheng, Z. Wang, *Food Chemistry*, 123 (2010) 705–710. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.05.039>
- [60] C. A. Cimá-Mukul, Y. Abdellaoui, M. Abatal, J. Vargas, A. A. Santiago, J. A. Barrón-Zambrano, *Bioinorganic chemistry and applications*, 2019(2019). <https://doi.org/10.1155/2019/2814047>
- [61] F. Fucassi, A. Heikal, L. I. Mikhalovska, G. Standen, I. U. Allan, S. V. Mikhalovsky, P. J Cragg, *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 80(2014)345-351. <https://doi.org/10.1007/s10847-014-0411-9>
- [62] K. J. Korshavn, M. Jang, Y. J. Kwak et al, *Scientific Reports*, 5(2015)1–15.
- [63] R. C. Hider, Z. D. Liu, and H. H. Khodr, *Methods in Enzymology*, 335(2001)190–203. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(01\)35243-6](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(01)35243-6)
- [64] I. Gülçin, *Archives of Toxicology*, 86(2012)345–391. <https://doi.org/10.1007/s00204-011-0774-2>.
- [65] M. Gurung, B. B. Adhikari, S. Alam et al, *Chemical Engineering Journal*, 231(2013)113–120. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2013.06.028>



# Chapitre V: Détermination de l'ammonium dans l'urine par l'électrode à pâte de carbone modifiée par l'EDTA

## I. Introduction

L'ammonium est le produit final du métabolisme endogène des acides aminés, il est produit par plusieurs organes. Son absorption se fait au niveau de l'épithélium intestinal et porté par la suite au foie où il sera éliminé sous forme d'urée [1].

L'hyperammoniémie est un trouble métabolique caractérisé par une augmentation de l'ammonium dans le sang, cette augmentation peut être due à une insuffisance hépatique [2], insuffisance hépatique chronique [3] ou dysfonctionnement du cycle de l'urée [4]. Cela peut provoquer des troubles dangereux comme l'encéphalopathie [5,6] la somnolence, hyperventilation et convulsions, suivi par léthargie et coma [7].

La détermination du taux de l'ammonium dans le sang ou l'urine est un examen d'urgence qui doit se faire rapidement et avec une grande sensibilité. Mais les méthodes utilisées à cet effet sont très onéreuses, demandent beaucoup de temps et sont très compliquées.

Plusieurs méthodes d'analyse de l'ammonium ont été développées, tels que les réactions enzymatiques [8,9], Chromatographie liquide haute performance couplé avec détecteur de fluorescence [10], capteurs électrochimiques basés sur échangeur d'ions phosphate de titane-zirconium [11], ou ammonium électrode préparée par membrane de polychlorure de vinyle contenant acide palmitique et nonactine [12] et autres électrodes modifiées [13].

Est-ce que les méthodes électrochimiques sont bonnes pour mettre fin à ces problèmes posés ?

Dans la présente étude, nous avons proposé une nouvelle électrode modifiée par l'éthylène diamine tétra-acétique di-sodium destinée à l'analyse de l'ammonium dans l'urine dans le but d'augmenter la rapidité et la sensibilité d'analyse.

## II. Résultats et discussion

La **Fig. 1** montre les voltammogrammes cycliques de l'électrode à pâte de carbone non modifiée (CPE) (courbe a) et CPE modifiée par la molécule de l'EDTA (CPE-50% EDTA) (courbe b) dans un milieu électrolytique contenant 0.1 M de NaCl. Les deux courbes ne sont pas superposables ce qui confirme que la molécule de l'EDTA a bien modifiée notre

électrode. Cette modification se traduit par une augmentation considérable de la densité du courant électrique (courbe b) et de la résistance à la surface de l'électrode (Fig. 2-courbe b).

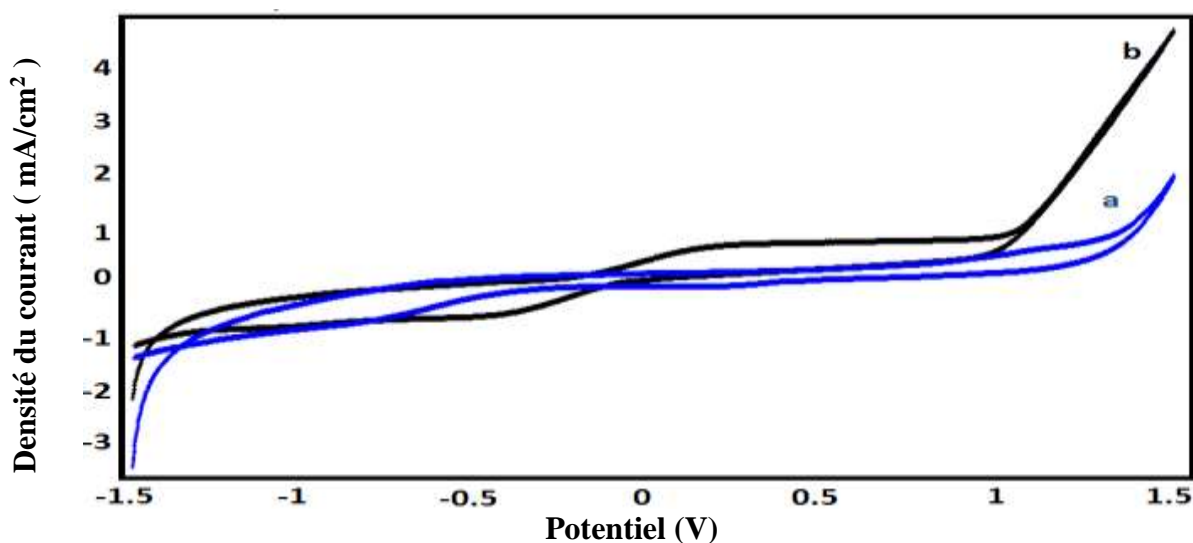


Fig. 1. Voltammogrammes cycliques de : (a) l'électrode à pâte de carbone non modifiée (CPE) et (b) l'électrode à pâte de carbone modifiée par l'EDTA (CPE-EDTA), dans 0.1 M NaCl, 100 mV / s, 50 % EDTA (CPE-50 % EDTA), pH=7.

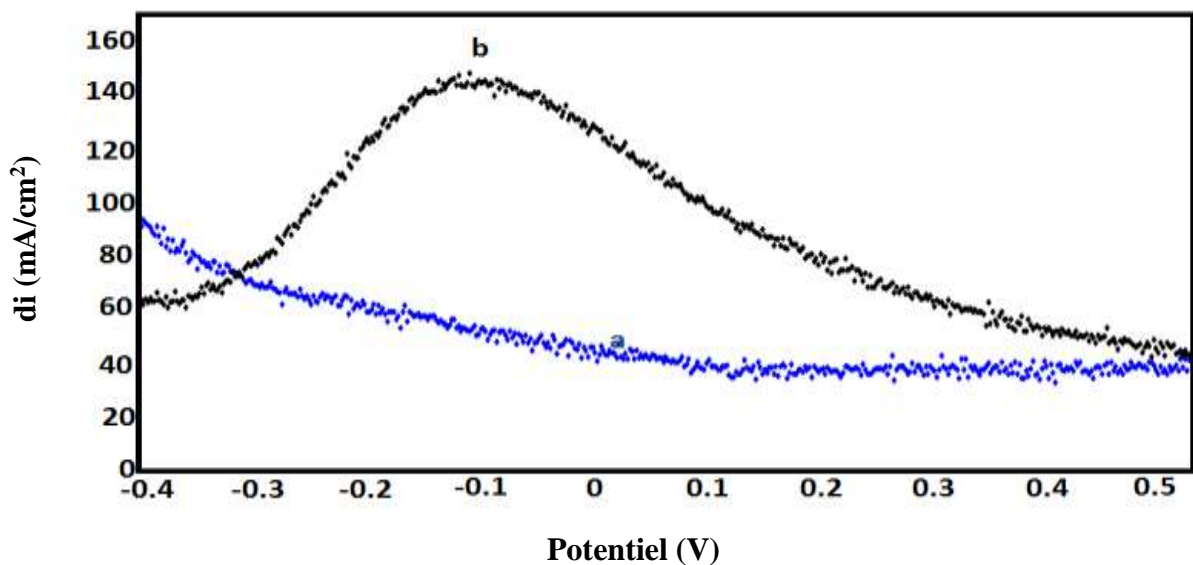
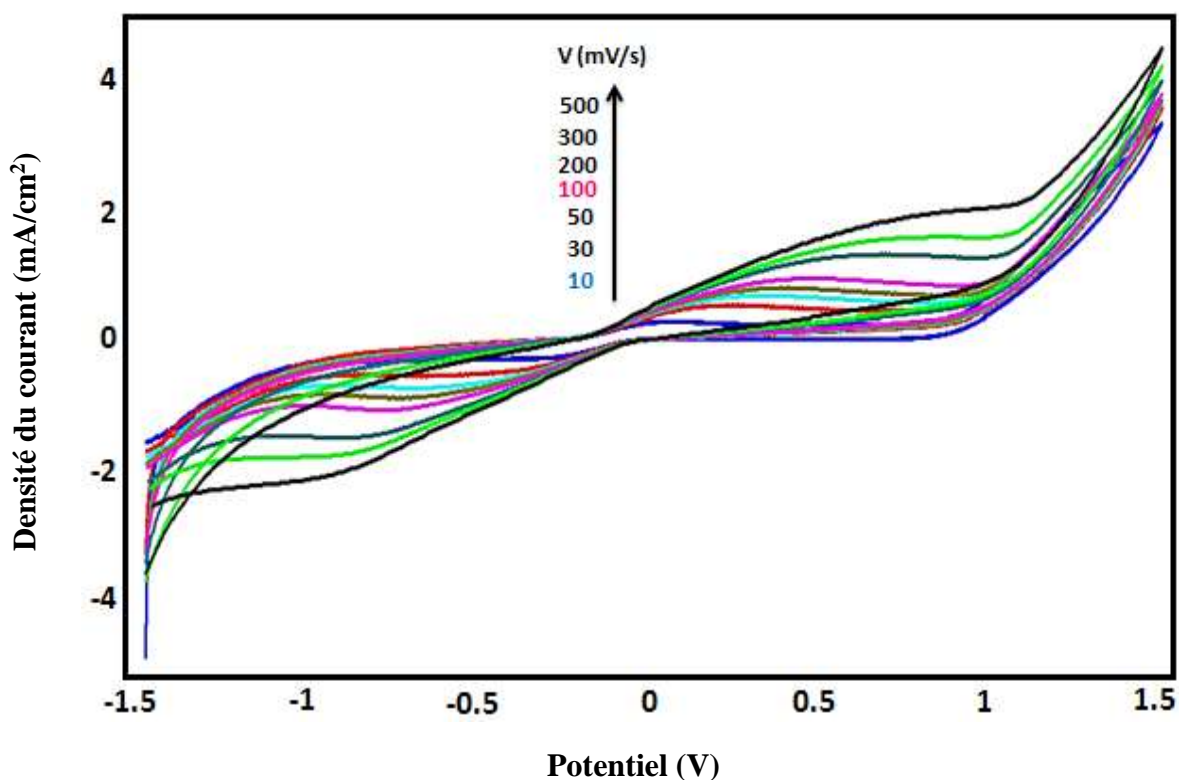


Fig. 2. SWV de : (a) l'électrode à pâte de carbone non modifiée (CPE) et (b) l'électrode à pâte de carbone modifiée par l'EDTA (CPE-EDTA), dans 0.1 M NaCl, 20 mV / s, 50 % EDTA (CPE-50 % EDTA), pH=7.

La Fig. 3 montre la relation entre le courant de pic anodique et la vitesse de balayage. Le courant de pic est linéaire avec la vitesse de balayage dans la plage de potentiel de 10 à 500 mV.s<sup>-1</sup> indiquant que la réaction mise en jeu est contrôlée par un processus d'adsorption (Fig. 3).



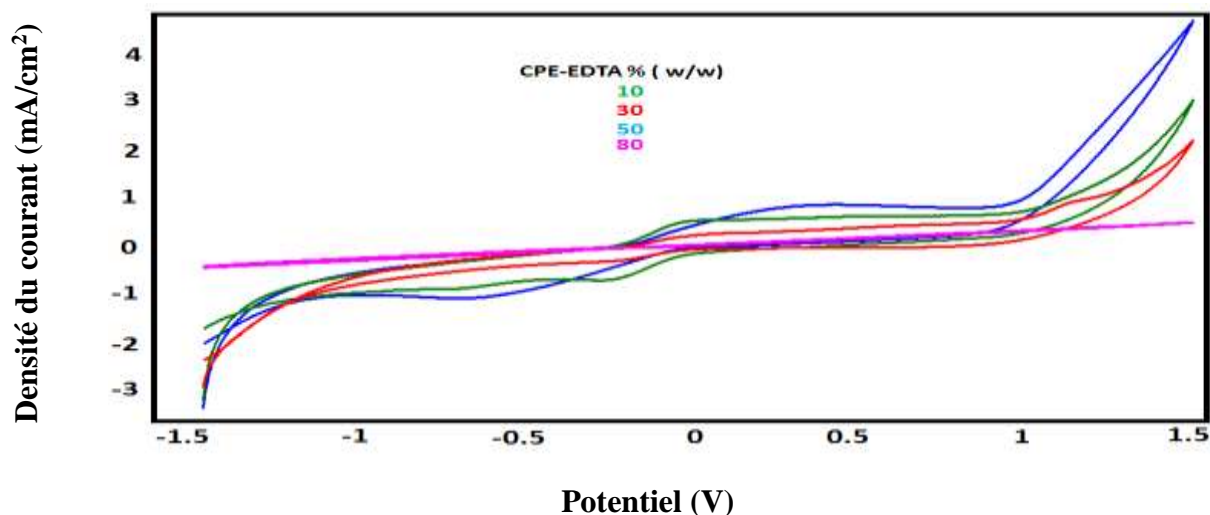
**Fig. 3.** Voltammogrammes cycliques enregistrés pour CPE-EDTA avec 7.57 mM de  $\text{NH}_4^+$ , dans 0.1 M de NaCl à différentes vitesses de balayage de 10 à 500 mV / s, pH = 4, temps de préconcentration = 5 min [14].

### 1. Optimisation des conditions expérimentales

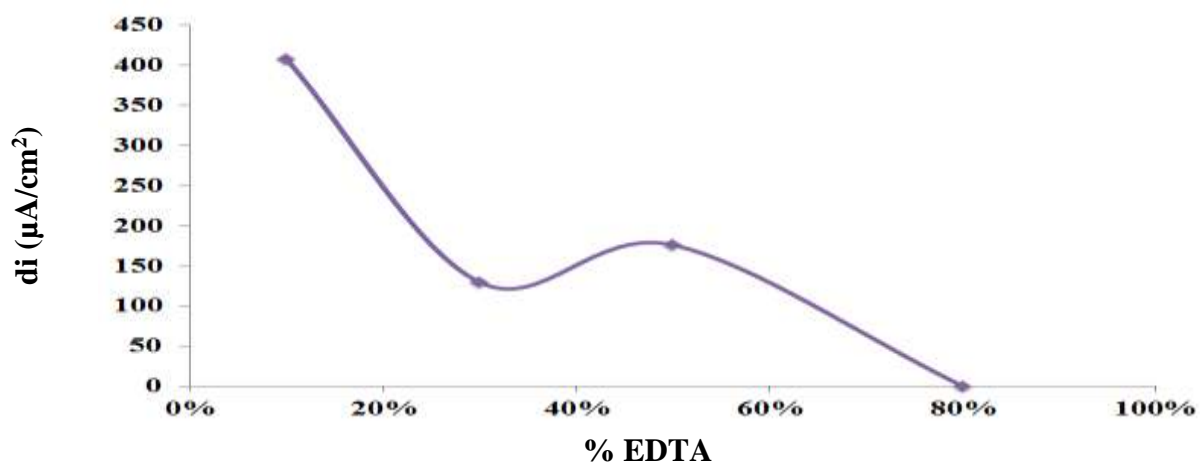
Pour déterminer les conditions optimales pour le bon fonctionnement de l'électrode modifiée, nous avons pensé à modifier certains paramètres comme la teneur en EDTA dans la pâte de carbone, le pH et le temps d'accumulation de  $\text{NH}_4^+$ .

#### a. Influence de la teneur en EDTA dans la pâte de carbone (w / w)

La **Fig. 4** représente les voltammogrammes cycliques de CPE-EDTA dans un milieu contenant 7.5 mmol / L de  $\text{NH}_4^+$  à différents pourcentage de l'EDTA. On voit clairement (**Fig. 5**) que la densité du courant des pics d'oxydation augmente graduellement avec la diminution de la teneur de l'EDTA dans l'électrode, cela est dû à la faible conductivité des molécules organiques. Donc 10 % de l'EDTA est suffisant pour rendre l'électrode plus sensible à l'égard des ions  $\text{NH}_4^+$ .



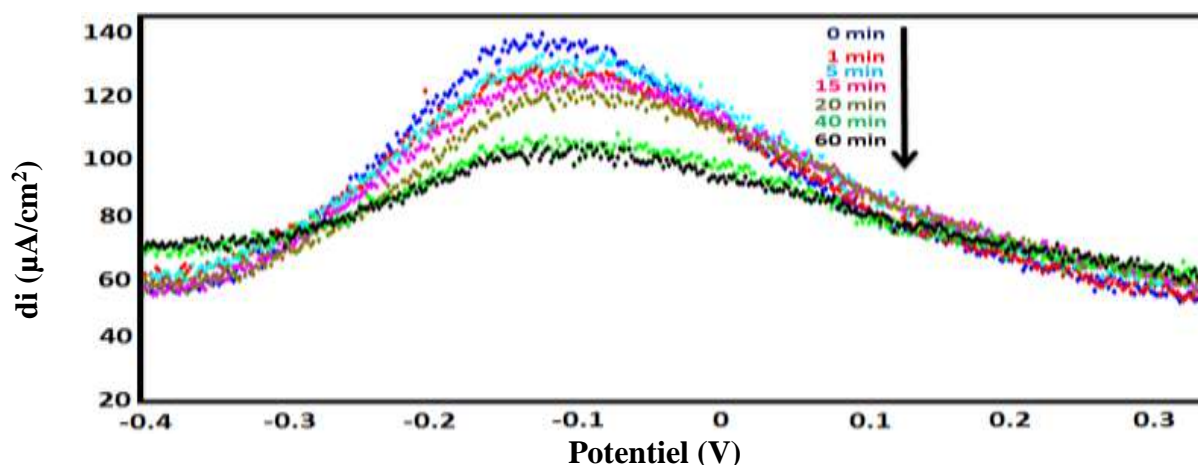
**Fig. 4.** Voltammogrammes cycliques de CPE-EDTA à 7.5 mM / 1  $\text{NH}_4^+$  dans 0.1 M NaCl, pH= 4, vitesse de balayage 100 mV / s à différentes teneurs en EDTA dans la pâte de carbone (w / w).



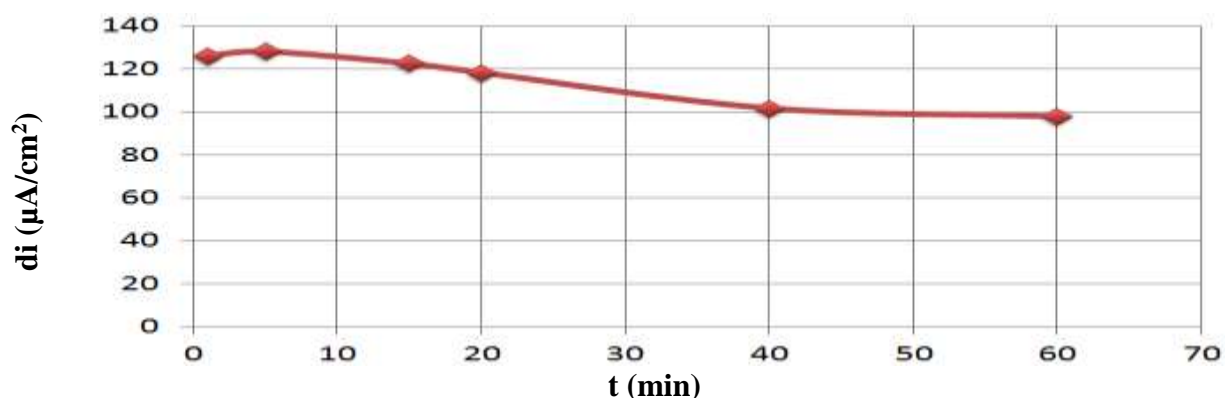
**Fig. 5.** Influence de teneur en EDTA dans le mélange de pâte de carbone (%) sur l'intensité du pic d'oxydation de 7.5 Mm  $\text{NH}_4^+$  dans 0.1 M NaCl, pH= 4, SWV

### **b. Influence de temps d'accumulation de $\text{NH}_4^+$**

La **Fig. 6** montre la variation de l'intensité de pic de réduction en fonction de temps d'accumulation de  $\text{NH}_4^+$  obtenus à partir des voltamogrammes à onde carré. D'après la **Fig. 7** on constate que pendant cinq min de préconcentration le pic de réduction atteint sa valeur maximale ( $130 \mu\text{A} / \text{cm}^2$ ). Par-là, cinq minutes de préconcentration sont suffisante pour complexer le maximum de  $\text{NH}_4^+$  à la surface de l'électrode.



**Fig. 6.** Voltammogrammes à ondes carrés de CPE-EDTA à différents temps de préconcentration, 7.5 mM  $\text{NH}_4^+$  dans 0.1 M NaCl avec un rapport de 50 % de l'EDTA (CPE-50 % EDTA), pH= 7, vitesse de balayage 20 mV/s [14].



**Fig. 7.** Effet de temps d'accumulation sur le courant de pic de réduction de 7.57 mM  $\text{NH}_4^+$  à CPE-EDTA, dans 0.1 M NaCl avec un rapport de 50 % de CPE-EDTA, vitesse de balayage 20 mV / s, pH= 7 [14].

### c. Influence de pH

Pour montrer l'influence du pH sur le pic de réduction de  $\text{NH}_4^+$ , nous avons fait varier le pH du milieu électrolytique qui contient 7.57 mmol / L de  $\text{NH}_4^+$  et 0.1 M de NaCl. Les résultats obtenus d'après les voltammogrammes à ondes carrés (SWV) (**Fig. 8**) sont représentés sous forme de graphe dans la **Fig. 9**. Une valeur maximale de l'intensité du pic de réduction est obtenue à pH=4 ( $175 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ ) ce qui indique que le milieu acide augmente la disponibilité des ions  $\text{NH}_4^+$  à la surface de l'électrode (**Réaction 1**) à l'inverse du milieu basique qui rend la quantité de ces ions plus restreinte par la formation de l'ammoniac ( $\text{NH}_3$ ). On note que le milieu très acide (pH=2) entraîne la dégradation de la surface de l'électrode ce qui provoque la diminution de l'intensité du pic.



Réaction 1

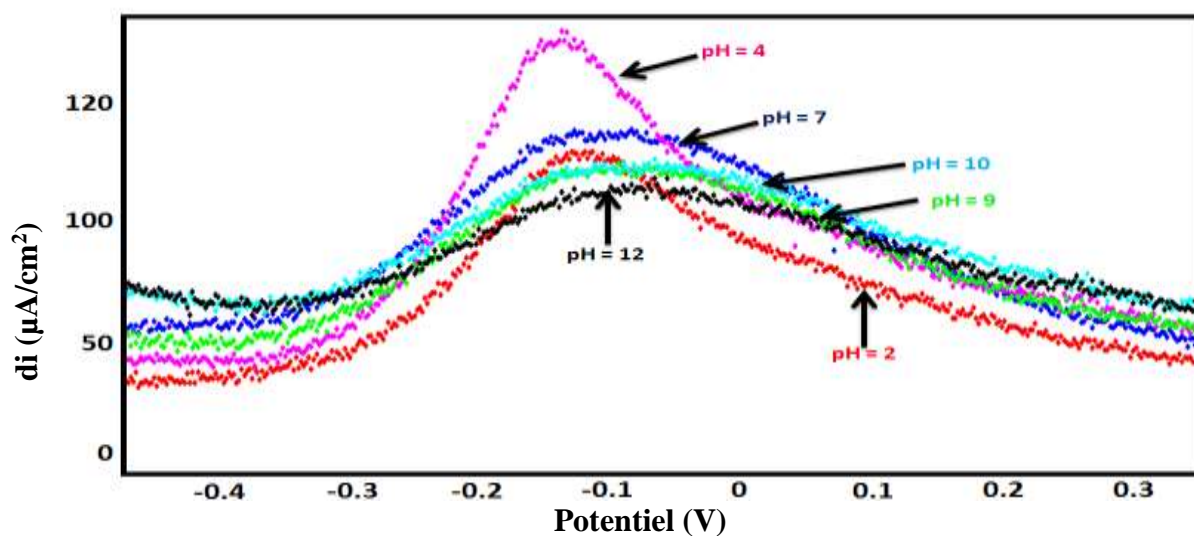


Fig. 8. Effet de pH sur le pic de réduction de  $\text{NH}_4^+$  à CPE-EDTA, dans 0.1 M NaCl, vitesse de balayage 20 mV / s, avec un rapport de 50 % de CPE-EDTA [14].

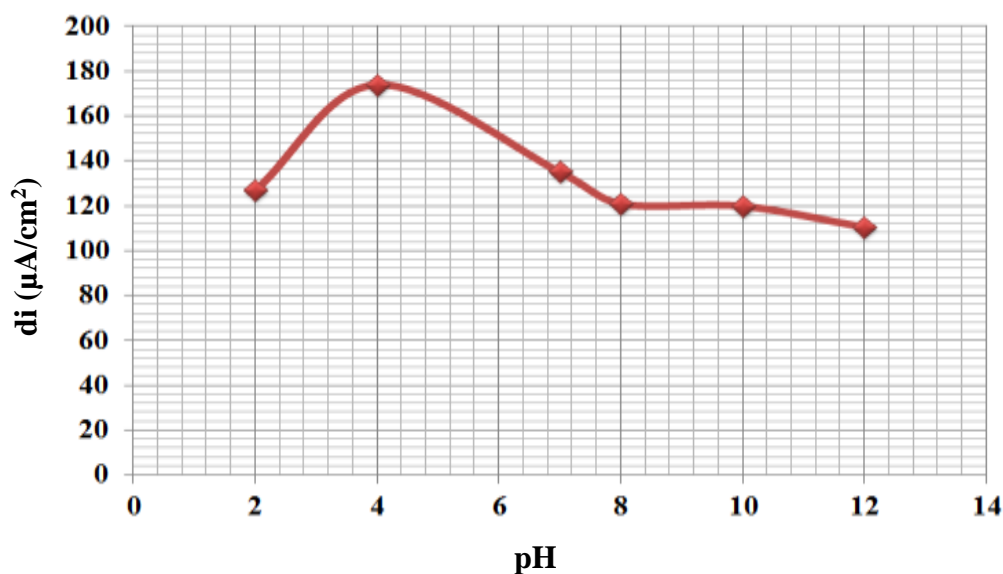


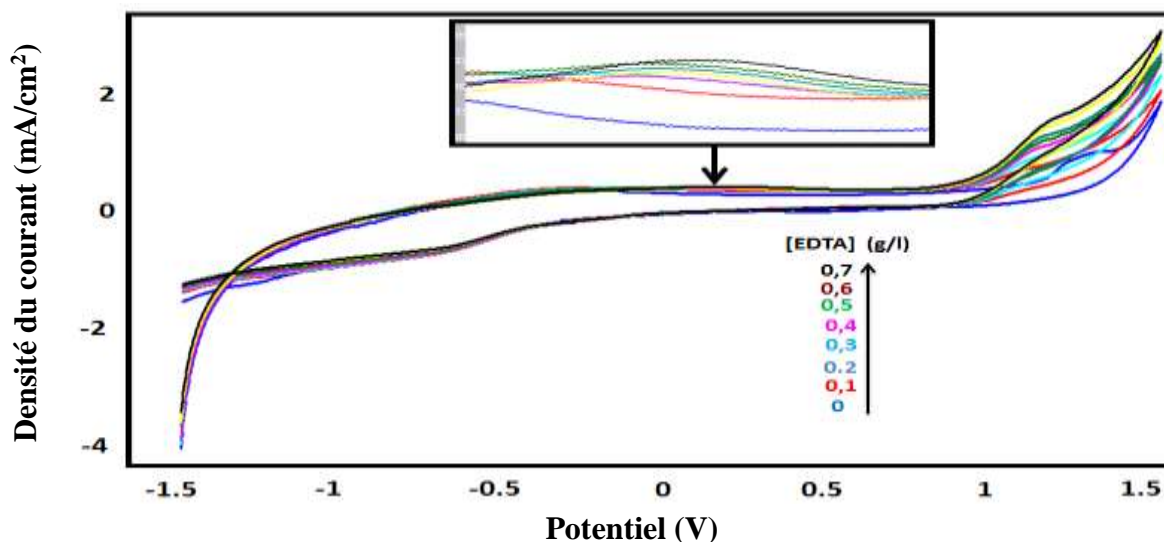
Fig. 9. Relation entre le pH de la solution et le courant de pic de réduction de  $\text{NH}_4^+$  dans 0.1 M NaCl

## 2. Identification électrochimique de $\text{NH}_4^+$ et l'EDTA par la CPE non modifiée

Dans le but de déterminer l'identité électrochimique de l'EDTA, nous avons varié la concentration de l'EDTA dans un milieu électrolytique contenant 0.1 M de NaCl. La Fig. 10 montre les voltammogrammes cycliques des résultats obtenus par CPE non modifiée. L'ajout de l'EDTA dans le milieu entraîne une apparition d'un pic dans le sens de balayage anodique

à 0.2 V qui correspond à l'oxydation de l'EDTA, ce pic augmente graduellement avec l'augmentation de la concentration de l'EDTA ce qui indique qu'il y a des sites actifs à la surface de l'électrode non modifiée qui ont permis la fixation de cette molécule.

Nous avons varié la concentration de  $\text{NH}_4^+$  de 1.5 mmol / l à 10.6 mmol / l dans un milieu électrolytique contenant 0.1 M de NaCl. La **Fig. 11** montre les voltammogrammes cycliques obtenus par CPE non modifiée. Deux pics redox sont apparus, l'un dans le sens de balayage anodique à -0.5 V correspond à l'oxydation de  $\text{NH}_4^+$  et l'autre dans le sens de balayage cathodique à 0.5 V correspond à la réduction de  $\text{NO}_2^-$ . Les mêmes pics sont observés pour le CPE modifiée par l'EDTA [14]. La **Fig. 12** montre la courbe d'étalonnage établie à partir des densités de courant de pic de réduction observés aux voltammogrammes à ondes carrés. La densité de courant de pic de réduction augmente linéairement avec l'augmentation de la concentration de  $\text{NH}_4^+$  dans le milieu avec un coefficient de corrélation de 0.924, donc la CPE non modifiée a une limite de détection égale à  $1.762 \cdot 10^{-5}$  mol / L et une limite de quantification égale à  $5.874 \cdot 10^{-5}$  mol / L. À partir des résultats représentés dans le **Tableau 1**, on remarque que la modification de CPE par l'EDTA a bien augmenté la sensibilité de l'électrode avec une limite de détection égale à  $2.03 \cdot 10^{-6}$  mol / L et une limite de quantification égale à  $6.78 \cdot 10^{-6}$  mol / L.



**Fig. 10.** Voltammogrammes cycliques de CPE non modifiée à différentes concentrations de l'EDTA, dans 0.1 M NaCl, vitesse de balayage 100 mV/s, pH=7.

### 3. Temps de contact entre $\text{NH}_4^+$ et l'EDTA

La **Fig. 13** montre le suivi de la réaction de complexation de  $\text{NH}_4^+$  (30.28 mmol/L) et l'EDTA (1.88 mmol/L) dans l'intervalle de temps de 1min à 3 H 08 min. La courbe est

établie à partir de la variation de l'intensité de pic de réduction des SWV dans un milieu contenant 0.1 M de NaCl.

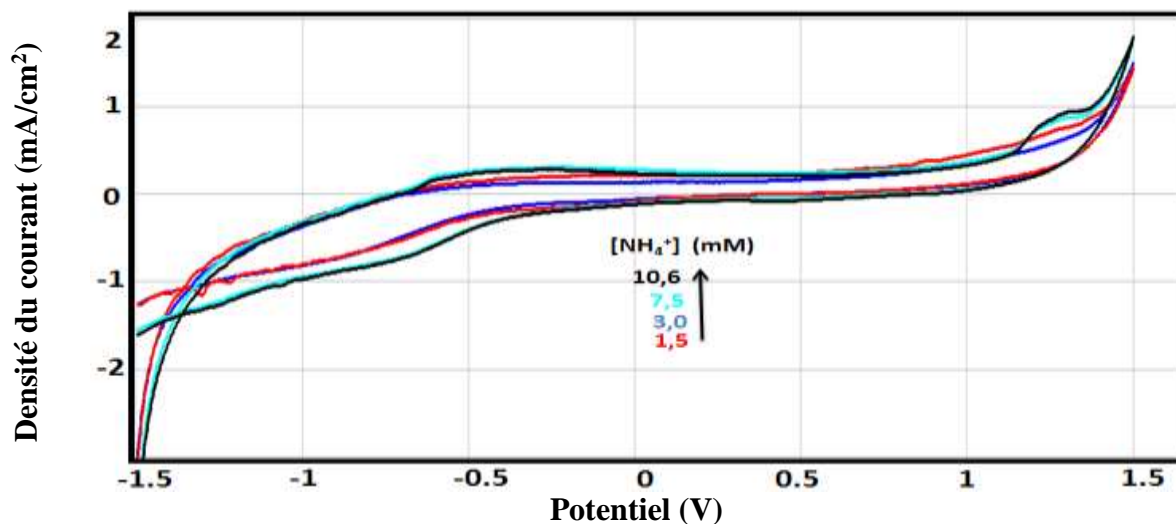


Fig. 11. Voltammogrammes cycliques de CPE à différentes concentrations de  $\text{NH}_4^+$ , dans 0.1 M NaCl, 100 mV / s, pH=7.

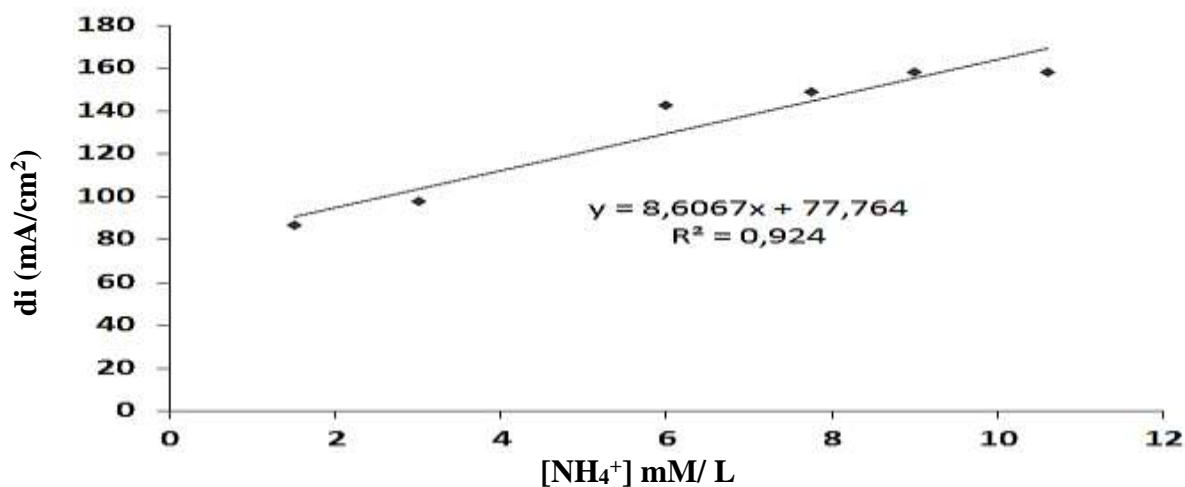


Fig. 12. Courbe de calibration de  $\text{NH}_4^+$  de la CPE non modifiée

Tableau 1. Paramètres optimums pour l'analyse de  $\text{NH}_4^+$  par la CPE modifiée par 10 % de l'EDTA

Temps de préconcentration	60 s
pH	4
Pic d'oxydation (VC)	-0.5 V
Pic de réduction (VC)	0.5 V
Equation de courbe régression	$I_{\text{red}} = 4564.2 [\text{NH}_4^+] + 373.08$
$R^2$	0.9944
SD	$3.09 \mu\text{A} / \text{cm}^2$
Limite de Détection	$2.03 \cdot 10^{-6} \text{ mol} / \text{L}$
Limite de Quantification	$6.78 \cdot 10^{-6} \text{ mol} / \text{L}$



L'intensité du pic augmente rapidement de  $366 \mu\text{A} / \text{cm}^2$  à  $378 \mu\text{A} / \text{cm}^2$  dans les premières 15min à cause de la fixation de l'EDTA à la surface de l'électrode. Puis les sites actifs de cette molécule commencent à complexer les ions  $\text{NH}_4^+$  progressivement entre 15 et 155 min (l'intensité du pic augmente graduellement de  $378 \mu\text{A} / \text{cm}^2$  à  $402.5 \mu\text{A} / \text{cm}^2$ ) après on assiste à une diminution rapide de l'intensité de ce pic, cela est probablement due au phénomène de relargage.

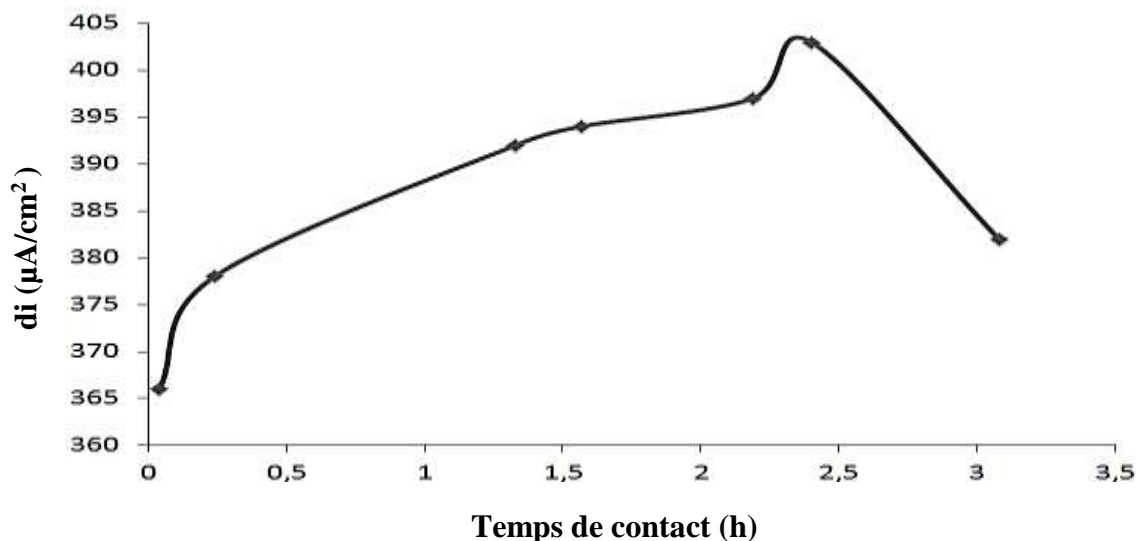
#### 4. Application : détermination de l'ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ) dans l'urine par CPE-10 % EDTA

Le taux de l'ammonium dans le sang ou dans l'urine donne une idée sur l'état de santé d'une personne. Dans le cas d'une insuffisance hépatique ou rénale, ce taux augmente considérablement ce qui peut entraîner des problèmes très graves comme l'œdème pulmonaire, le dysfonctionnement du système nerveux, l'acidose et parfois le coma. Donc, la détermination de  $\text{NH}_4^+$  présente un examen en urgence qui doit se faire rapidement. En revanche, les méthodes utilisées en laboratoire bien qu'ils sont sophistiqués, fiables et sélectives, ils posent un problème de temps de l'analyse et la cotisation. Donc nous allons essayer de montrer la capacité de notre électrode modifiée par l'EDTA (CPE-10 % EDTA) à analyser  $\text{NH}_4^+$  dans l'urine rapidement et avec une grande sensibilité.

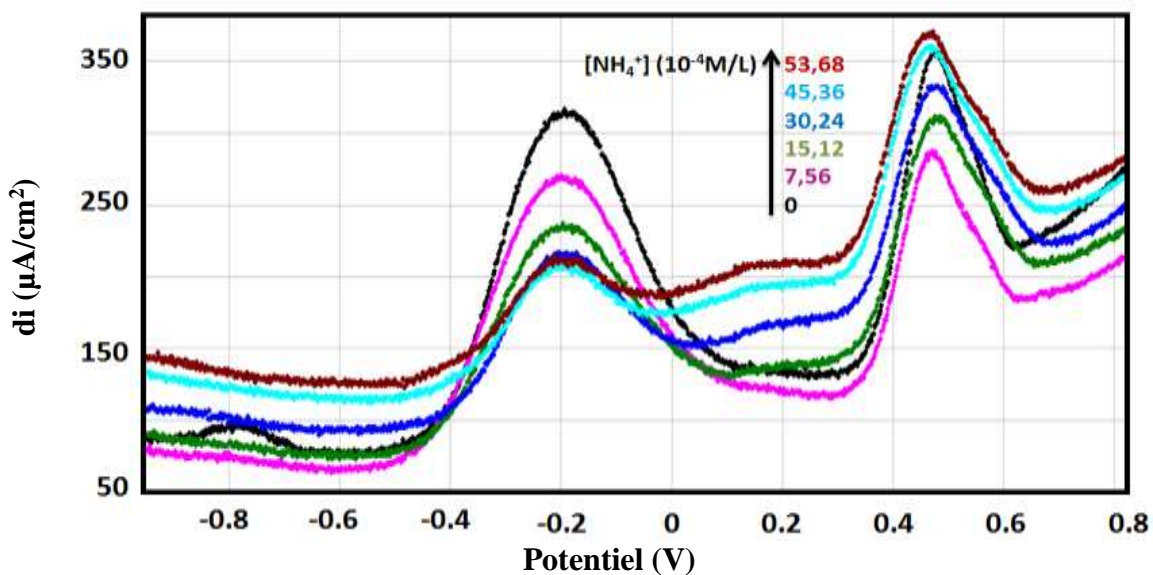
La **Fig. 14** présentes les voltammogrammes à ondes carrées de CPE-10 % EDTA dans l'urine matinale à différentes concentrations de  $\text{NH}_4^+$  de  $7.56 \cdot 10^{-4} \text{ mol} / \text{l}$  à  $53.68 \text{ mol} / \text{l}$  à  $20^\circ\text{C}$  et pendant cinq minutes de préconcentration. On remarque qu'il y a apparition de plusieurs pics dans l'intervalle  $[-1 \text{ V}, 0.8 \text{ V}]$ . Ces pics indiquent que l'urine contient plusieurs éléments chimiques. Selon des études publiées, l'urine peut contenir plus de 3 000 composants chimiques (**Tableau. 2**). Les pics augmentent graduellement avec l'augmentation de la concentration de  $\text{NH}_4^+$ . L'électrode élaborée présente une réponse linéaire typique, avec un coefficient de corrélation de 0.9936 (**Fig. 15**), qui peut être exprimée selon l'équation suivante (**I** est exprimé en **mA** et la concentration en **mmol / L**):

$$I = 18.957[\text{NH}_4^+] + 109.12 \quad \text{Equation 1}$$

La limite de détection (**DL**, **3s**) et la limite de quantification (**QL**, **10s**) sont respectivement de  $1.201 \cdot 10^{-6} \text{ mol} / \text{L}$  et de  $4.004 \cdot 10^{-6} \text{ mol} / \text{L}$ .



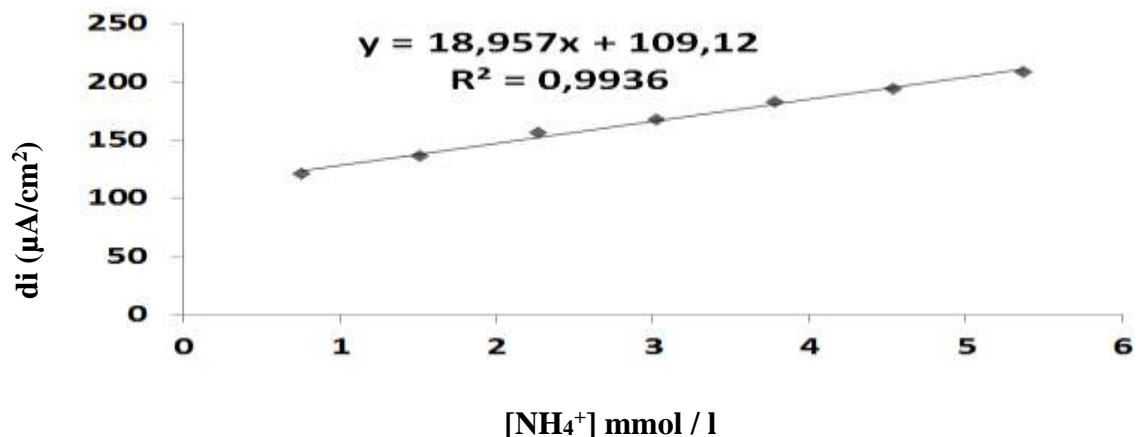
**Fig. 13.** Influence de temps de contact sur l'intensité du pic de réduction à CPE non modifiée en présence de 30.28 mmol / L  $\text{NH}_4^+$  et 1.88 mmol / L EDTA, dans 0.1 M NaCl.



**Fig. 14.** Voltamogrammes à ondes carrées de CPE-10 % EDTA à différentes concentrations de  $\text{NH}_4^+$  dans l'urine, pH = 4, 20 mV / s,  $t_p$  = 5 min.

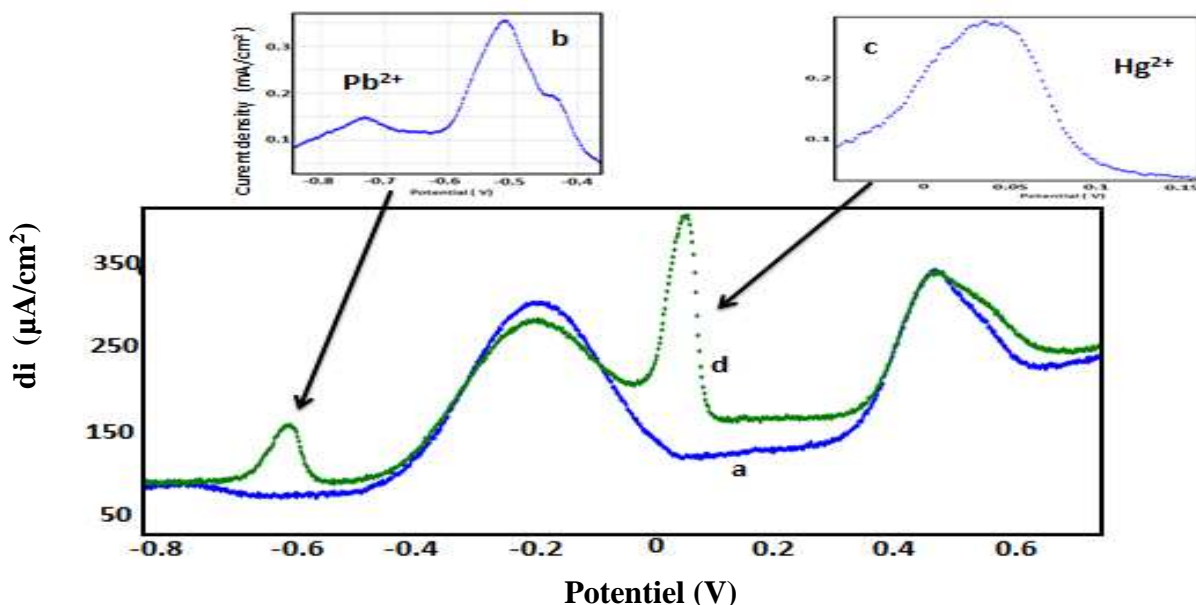
**Tableau 2.** Composition de l'urine humaine

Principaux constituants (g/l)	Plasma	Urine normale
Eau	910	950
Protides	69	0
Lipides	4 à 6	0
Glucose	1	0
Chlorure de sodium	7	8 à 10
Urée	0,3	20
Acide urique	0,03	0,6
Ammoniaque	0	0,5
Pigments et acides organiques	0	0



**Fig. 15.** Courbe de calibration de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> à CPE-10 % EDTA établi à partir de pic observé à 0.19 V dans le SWV

La **Fig. 16** montre les voltammogrammes à ondes carrées de CPE-10 % EDTA en absence (courbe a) et en présence de 1.664 mM / L NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, 0.604 mM / L Pb<sup>2+</sup> (courbe b) et 0.736 mM / L Hg<sup>2+</sup> (courbe c) et après l'ajout de tous ces éléments dans l'urine matinale (courbe d). Il est clair que chaque élément chimique garde sa propre identité électrochimique même si en présence avec les autres ions. Le Pb<sup>2+</sup> est caractérisé par deux pics, le premier se trouve à -0.75 V et l'autre se localise à -0.5 V (courbe b). En mélange, le Pb<sup>2+</sup> présente seulement un pic à -0.68 V (courbe d). Dans le cas de Hg<sup>2+</sup>, seulement un pic est apparu à -0.025 V (courbe c). Le même pic est observé en mélange dans l'urine (courbe d). Toutes ces observations indiquent que l'électrode élaborée est caractérisée par sa capacité d'identifier plusieurs éléments à la fois.



**Fig. 16.** Voltammogrammes à ondes carrées de CPE- 10 % EDTA : en absence (a) et en présence de 1.664 mM / L NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, 0.604 mM / L Pb<sup>2+</sup> (b), 0.736 mM / L Hg<sup>2+</sup> (c) et après l'ajout de tous ces éléments dans l'urine matinale humaine (d), pH = 4, vitesse de balayage 20 mV / s.

Dans l'ordre d'évaluer l'applicabilité de l'électrode élaborée à analyser des échantillons réels, trois échantillons de l'urine matinale humaine d'une personne saine sont analysés. Le test de recouvrement est calculé par l'addition d'une concentration connue de l'ammonium à chaque échantillon. Les résultats obtenus à partir de ce test sont regroupés dans le **Tableau 3**. On remarque qu'il y a presque une superposition entre la valeur de la concentration ajoutée et celle trouvée par l'électrode de CPE-10 % EDTA avec un taux de recouvrement acceptable.

	[NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> ] ajoutée	[NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> ] trouvée	Recouvrement
<b>1</b>	0.832 mM / L	0.54 mM / L	65 %
<b>2</b>	1.664 mM / L	1.78 mM / L	106.97 %
<b>3</b>	5.64 mM / L	5.242 mM / L	92.94 %

### 5. Comparaison de la performance de l'électrode élaborée avec d'autres méthodes d'analyse de l'ammonium

La performance analytique de l'électrode élaborée a été comparée avec d'autres techniques d'analyse de l'ammonium. La limite de détection de l'électrode élaborée est comparée avec d'autres techniques plus performantes. Le **Tableau 4** montre les résultats obtenus. La CPE-10 % EDTA est très sensible et demande seulement un très court temps d'analyse (Huit minutes) comparablement à d'autres techniques comme la technique de Berthelot qui demande un temps suffisamment large (entre un et deux heures).

Technique	Limite de détection	Références
Ampérométrie	5 .10 <sup>-6</sup> mol/ L	[15]
Ampérométrie	10. 10 <sup>-6</sup> mol/ L	[16]
Ampérométrie	>10. 10 <sup>-6</sup> mol/ L	[17]
Test d'écoulement fluorimétrique	-	[18]
Spectrophotométrie optique	11. 10 <sup>-6</sup> mol/ L	[19]
CPE-10%EDTA	1.201.10 <sup>-6</sup> mol/ L	
CPE non modifiée	1.762. .10 <sup>-5</sup> mol/ L	<b>Présent travail</b>

### III. Conclusion

Dans cette partie de recherche sur les électrodes à pâte de carbone modifiées, nous avons élaboré une nouvelle électrode de CPE-10 % EDTA capable d'effectuer des analyses rapides de l'ammonium dans l'urine matinale humaine d'une personne saine avec une limite de détection et une limite de quantification qui dépassent de loin celles des autres techniques. Sa limite de détection et de quantification sont respectivement de  $1.201.10^{-6}$  mol / L et  $4.004.10^{-6}$  mol / L ce qui permet de recouvrir l'analyse de l'ammonium dans des échantillons réels de l'urine (sachant que la concentration normale de l'ammonium dans l'urine est comprise entre  $3-6.10^{-5}$  mol / L). L'EDTA utilisée pour la modification de l'électrode n'est pas soluble dans la solution, non-toxique et non polluante.

## Références

- [1] K. Katayama, Hepatology research, 30(2004)73-80. <https://doi.org/10.1016/j.hepres.2004.08.013>
- [2] Y. Itzhak, A. Roig-Cantisano, R.S. Dombro, M.D. Norenberg, Brain research, 705(1995)345-348.
- [3] N. Kobayashi, M. Ito, J. Nakamura, J. Cai, C. Gao, J.M. Hammel et al, Hepatology, 31(2000)851-857. [doi:10.1053/he.2000.5636](https://doi.org/10.1053/he.2000.5636)
- [4] R. D'Hooge, B. Marescau, I.A. Qureshi, P. P. De Deyn, Brain research, 876(2000)1-9. [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(00\)02589-0](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(00)02589-0)
- [5] A.T. Blei, J. Córdoba, The American journal of gastroenterology, 96(2001)1968.
- [6] R. F. Butterworth, Alcohol Research and Health, 27(2003)240-246.
- [7] M. Summar, The Journal of pediatrics, 138(2001)30-39. <https://doi.org/10.1067/mpd.2001.111834>
- [8] A. K. Abass, J. P. Hart, D. C. Cowell, A. Chappell, Analytica chimica acta, 373(1998)1-8.
- [9] S. Hashimoto, H. Y. Sun, A. Otsuki, S. Kawakami, F. Murata, M. Yokomizo, International journal of environmental analytical chemistry, 48(1992)155-161. [doi:10.1080/03067319208027396](https://doi.org/10.1080/03067319208027396).
- [10] S.S. Hassan, S.A. Marei, I.H. Badr, H.A. Arida, Analytica chimica acta, 427(2001)21-28. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(00\)01189-2](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(00)01189-2)
- [11] E. Karakuş, Ş. Pekyardımcı, E. Kılıç, Artificial cells, blood substitutes, and biotechnology, 34(2006)523-534. <https://doi.org/10.1080/10731190600862910>
- [12] F. Valentini, V. Biagiotti, C. Lete, G. Palleschi, J. Wang, Sensors and Actuators B: Chemical, 128(2007)326-333. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2007.06.010>
- [13] R. C. Kwan, P.Y. Hon, R. Renneberg, Sensors and Actuators B: Chemical, 107(2005)616-622. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2004.11.028>
- [14] C. Laghlimi, M.A. Smaini, R. Maallah, S. Touzara, S. El Qouatli et al, J Biosens Bioelectron 8(2017)239.
- [15] B. Strehlitz, B. Grundig and H. Kopinke, Analytica Chimica Acta, 403(2000)11-23. [doi:10.1016/S0003-2670\(99\)00594-2](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(99)00594-2)
- [16] P. Bertocchi, D. Compagnone, Biosensors and Bioelectronics, Vol. 11(1996)1-10.
- [17] A. Bollmann, N. P. Revsbech, Sensor and Actuators B, Vol. 105(2005)412-418. [doi:10.1016/j.snb.2004.06.030](https://doi.org/10.1016/j.snb.2004.06.030)
- [18] R. Quiles, J. M. F. Romero, E. Fernandez, M. D. L. Castro, Analytica Chimica Acta, 294(1996)43-47. [doi:10.1016/0003-2670\(94\)85044-5](https://doi.org/10.1016/0003-2670(94)85044-5)
- [19] N. E. Azmi, J. Abdullah, M. Ahmad, H. Sidek, L.Y. Heng, S. A. Rahman, American Journal of Analytical Chemistry, 3(2012)364. [DOI: 10.4236/ajac.2012.35048](https://doi.org/10.4236/ajac.2012.35048)

# **Chapitre VI: Validation d'une méthode électrochimique destinée pour l'analyse et la quantification de plomb, cadmium, cobalt et le mercure dans l'eau de robinet**

## **I. Introduction**

La consommation des produits contaminés par les métaux lourds tels que le plomb, cadmium et le mercure présente un grand danger pour la santé humaine. La surveillance de la qualité des produits alimentaires et de l'eau potable est devenue une priorité majeure pour l'état. Les laboratoires d'analyse ont recours à des méthodes sophistiquées, sensibles et sélectives telles que la spectroscopie d'adsorption atomique [1], la spectroscopie d'adsorption atomique dans un four au graphite (GF-AAS) [2], la spectrométrie de masse à couplage inductif (ICP-MS) [3] et la spectroscopie d'émission atomique par plasma (ICP-AES) [4]. L'analyse des échantillons via ces méthodes demandent beaucoup de temps, un prétraitement, coût élevé, des personnels qualifiés, des laboratoires accrédités,....

Les méthodes analytiques cherchent à déterminer exactement la quantité d'un élément dans un échantillon de concentration inconnue. Par contre, la validation d'une méthode d'analyse est une procédure qui permet d'établir, par des études expérimentales, que les critères de performance de la méthode permettent de répondre aux exigences de l'usage auquel elle est destinée [5].

Dans notre étude, nous avons élaboré un capteur modifié par l'EDTA destiné pour la détection et la quantification des métaux lourds. Le capteur réalisé est caractérisé par sa simplicité, sensibilité et son faible coût. La performance de l'électrode est évaluée par des méthodes électrochimiques telles que la SWV et la VC. On va répondre dans ce chapitre à la question est suivante :

*« Parmi les deux méthodes électrochimiques utilisées (SWV et VC), laquelle donne des résultats à la fois précises et justes concernant la détection et la quantification du plomb dans l'eau de robinet de notre laboratoire via le capteur élaboré (CPE-EDTA) ».*

## **II. Procédure**

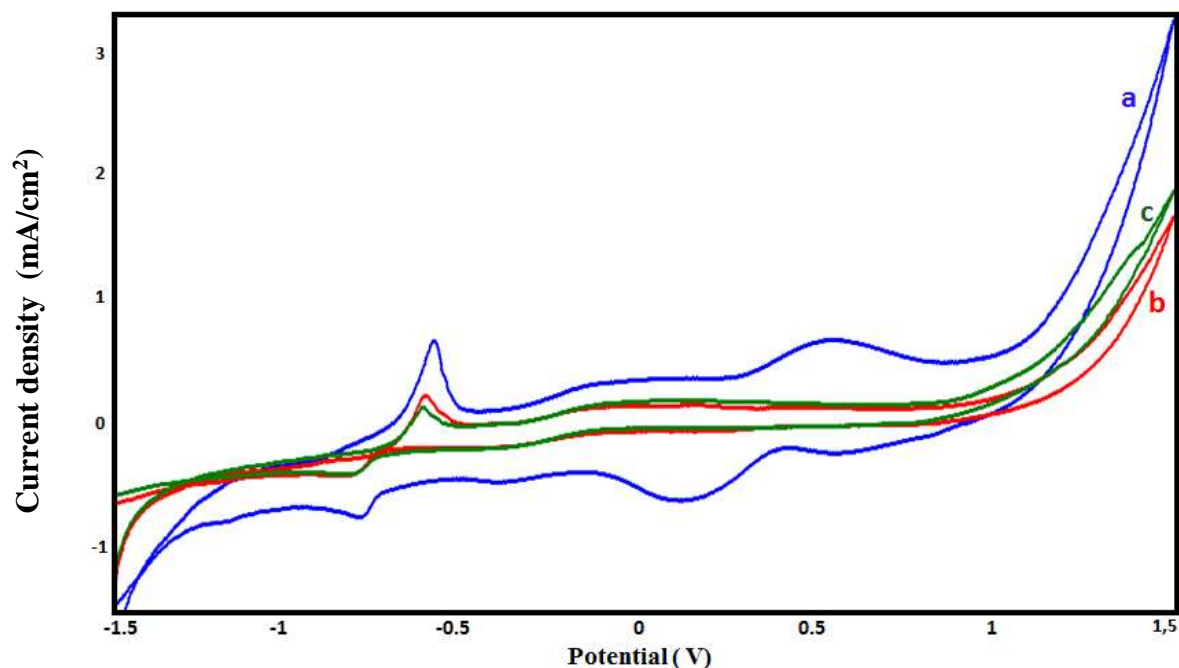
Trois électrodes modifiées par l'EDTA sont préparées (CPE-1 % EDTA, CPE-5 % EDTA et CPE-10 % EDTA). Ces électrodes sont lavées avec l'eau bidistillée puis immergées dans une solution électrolytique contenant 0.1 M NaCl. L'électrode performante parmi les trois est utilisée pour valider la méthode électrochimique proposée. L'intervalle de

concentration choisi est de 0.3 mM  $Pb^{2+}$  à 2.1 mM  $Pb^{2+}$ . On répète chaque concentration 10 fois et les réponses électrochimiques sont prises dans l'intervalle de potentiel entre -1.5 V et +1.5 V. On a suivi la même procédure pour l'étude de mercure, cobalt et cadmium dans l'eau de robinet.

### III. Résultats et discussion

#### 1. Optimisation des paramètres de détection

La **Fig. 1** présente les voltammogrammes cycliques de CPE-EDTA à différentes teneur de l'EDTA. L'intensité de pic d'oxydation observé à -0.58 V pour 1 % EDTA est plus grande six fois que celle observé pour 10 % EDTA. Même chose observé pour les pic de réduction à -0.79 V, l'intensité de pic est de -0.755 mA / cm<sup>2</sup> pour CPE-1 % EDTA et -0.4067 mA / cm<sup>2</sup> pour l'électrode CPE-10 %. 1 % EDTA sera utilisée pour modifier l'électrode.



**Fig. 1.** Voltammogrammes cycliques de CPE-EDTA à 0.3 mM  $Pb^{2+}$  dans 0.1 M NaCl, pH = 2, vitesse de balayage 100 mV / s,  $t_p$ = 10 min à (a) 1 %, (b) 5 % et (c) 10 % de l'EDTA dans la pâte de carbone (w / w).

Les paramètres cités dans le **Tableau 1** seront pris en considération dans toutes les manipulations.



**Tableau 1.** Paramètres optimaux pour l'analyse de Pb<sup>2+</sup>

Paramètres	Teneur en EDTA	pH	Temps de préconcentration	Vitesse de balayage	Intervalle de potentiel	Milieu électrolytique
	1 %	2	10 min	100 mV / s (VC) 20 mV / s (SWV)	[-1.5V ; +1.5V]	0.1 M NaCl

## 2. Validation de la méthode analytique

### 2.1. Calcul de limite de détection et limite de quantification

Les **Fig. 2** et **3** représentent respectivement les VC et SWV de CPE-1 % EDTA à différentes concentrations de Pb<sup>2+</sup> dans 0.1 M NaCl. Pour trouver l'équation générale qui permet de calculer la limite de détection et la limite de quantification de Pb<sup>2+</sup>, nous avons répété la manipulation 10 fois de la même manière et avec deux opérateurs différents pendant deux mois. Nous avons calculé la moyenne de 10 intensités trouvées pour chaque concentration de 0.3 mM à 2.1 mM Pb<sup>2+</sup>. A partir de ces moyennes nous avons pu construire la courbe analytique de régression générale pour la méthode SWV (**Fig. 4**) et la méthode VC (**Fig. 5**). Les courbes analytiques de régression sont linéaires dans l'intervalle de concentration de 0.3 mM à 2.1 mM Pb<sup>2+</sup>. Les équations de la droite de régression linéaire pour chaque méthode sont représentées dans le **Tableau 2**. La limite de détection et de quantification sont calculées à la base des équations suivantes :

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

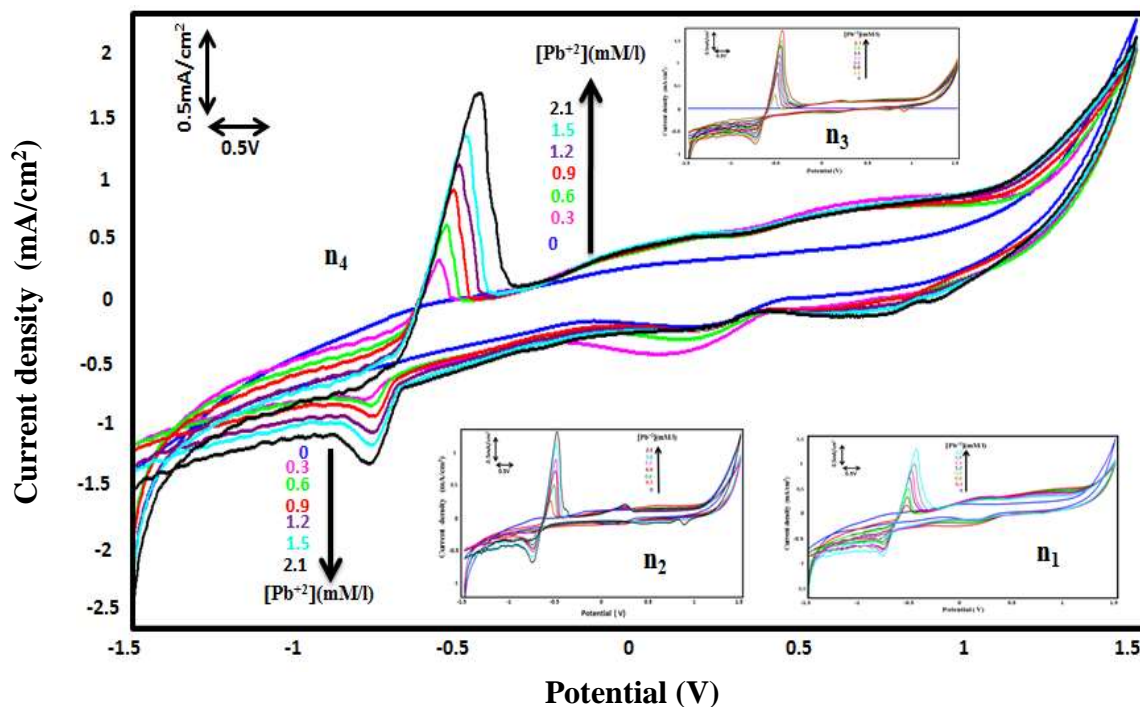
$$LD = (3*SD)/\text{pente} \quad \text{Equation. 2}$$

$$LQ = (10*SD)/\text{pente} \quad \text{Equation. 3}$$

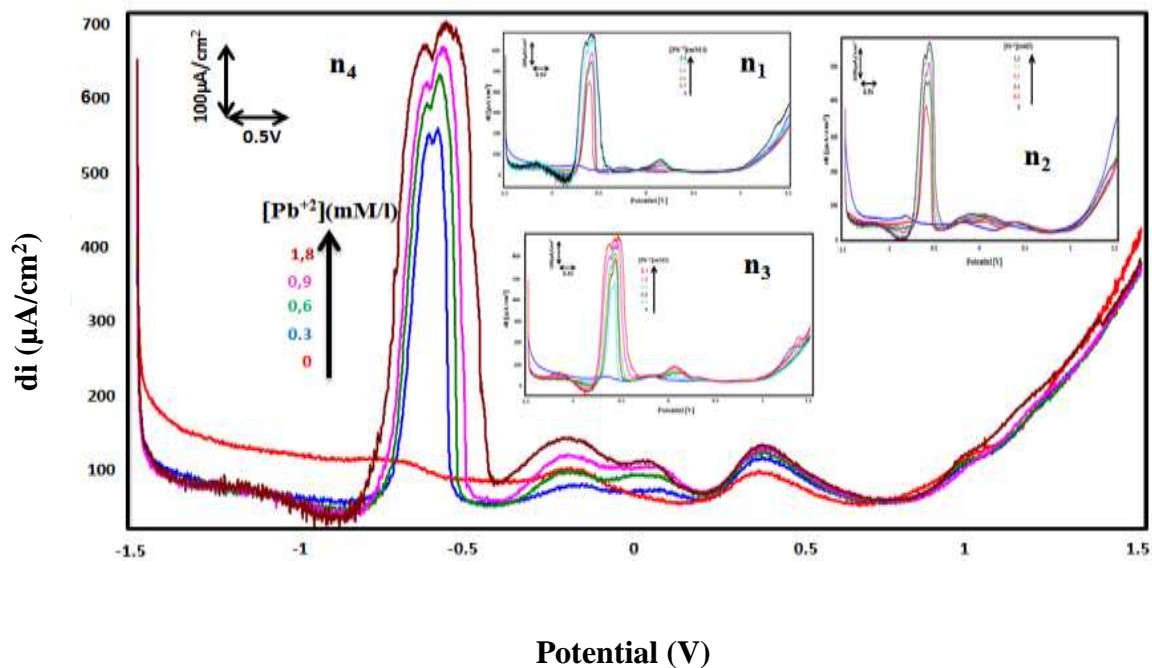
$i_j$  : est la valeur expérimentale du courant calculé à la manipulation  $j$ .

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

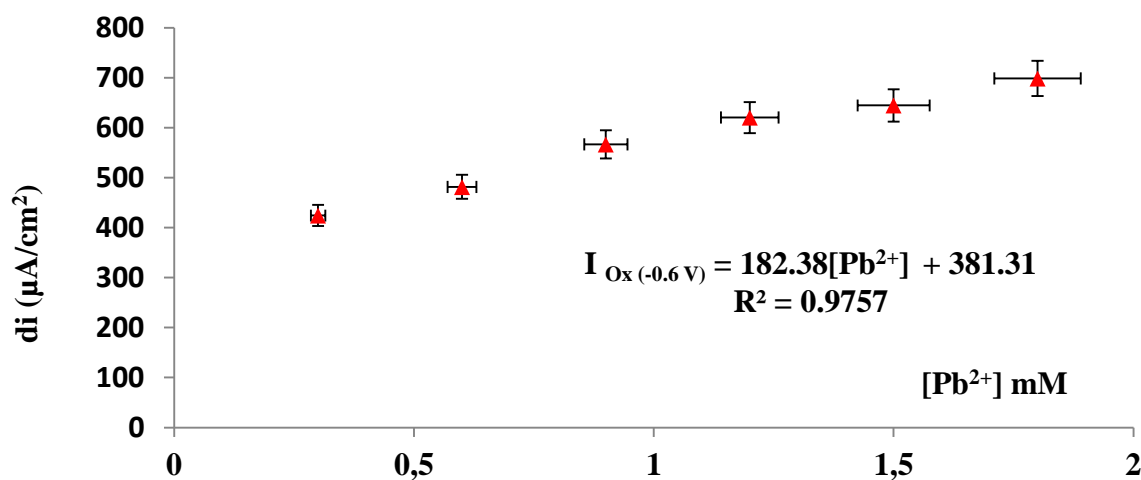
$n = 7$  : nombre d'expériences



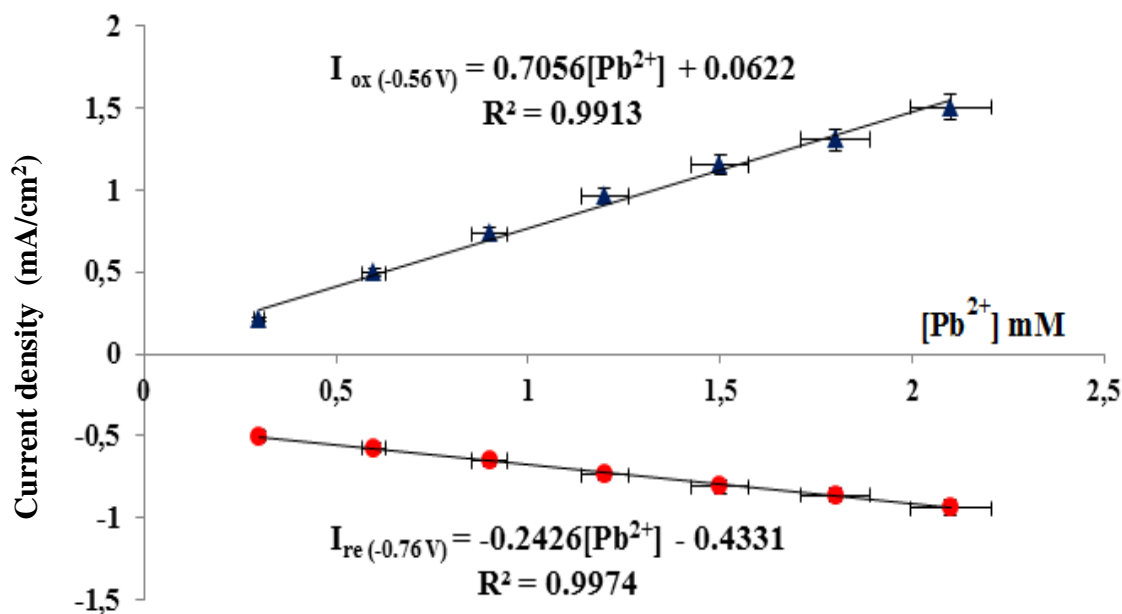
**Fig. 2.** Voltammogrammes cycliques de CPE-1 % EDTA à différentes concentrations de  $Pb^{2+}$  dans 0.1 M NaCl, pH = 2, vitesse de balayage 100 mV / s,  $t_p = 10$  min. La manipulation est répétée 10 fois de la même manière avec le même opérateur. Quatre manipulations sont représentées (n<sub>1</sub>, n<sub>2</sub>, n<sub>3</sub> et n<sub>4</sub>)



**Fig. 3.** Voltammogrammes à ondes carrés de CPE-1 % EDTA à différentes concentrations de  $Pb^{2+}$  dans 0.1 M NaCl, pH = 2, vitesse de balayage 100 mV / s,  $t_p = 10$  min. La manipulation est répétée 10 fois de la même manière avec le même opérateur. Quatre manipulations sont représentées (n<sub>1</sub>, n<sub>2</sub>, n<sub>3</sub> et n<sub>4</sub>).



**Fig. 4.** Effet de la concentration sur le pic d'oxydation de CPE-1 % EDTA obtenu par SWV dans 0.1 M NaCl, pH = 2, T<sub>p</sub> = 10 min, vitesse de balayage 20 mV / s.



**Fig. 5.** Effet de la concentration sur les pics redox de CPE-1%EDTA obtenu par VC dans 0.1 M NaCl, pH = 2, t<sub>p</sub> = 10 min, vitesse de balayage 100 mV / s.

On remarque à partir du **Tableau 2** que le pouvoir prédictif de l'équation de la droite de régression pour le pic de réduction obtenu par la méthode de VC est plus fort que la méthode de SWV. Cette équation est capable de déterminer 99.74 % de la distribution des points contre 97.57 % pour l'équation obtenue par la SWV. La limite de détection et la limite de quantification de CPE-1 % EDTA pour le pic de réduction sont les plus basses, elles sont respectivement  $9.31 \cdot 10^{-10}$  mM et  $3.102 \cdot 10^{-9}$  mM.

**Tableau 2.** Représentation de l'équation de la droite de régression, le coefficient de détermination, SD, LD et LQ de la SWV et de la VC. Les concentrations sont exprimées en mmol/L.

La méthode	Equation de la droite de régression	Le coefficient de détermination	SD	LD 10 <sup>-9</sup> M	LQ 10 <sup>-9</sup> M
SWV	$I_{Ox(-0,6V)} = 182.38[Pb^{2+}] + 381.31$ I en $\mu A/cm^2$	$R^2 = 0.9757$	260.6046 ( $\mu A/cm^2$ ) <sup>2</sup>	4.2867	14.289
	$I_{Ox(-0,56V)} = 0.7056[Pb^{2+}] + 0.0622$ I en mA/cm <sup>2</sup>	$R^2 = 0.9913$	0.001875 (mA/cm <sup>2</sup> ) <sup>2</sup>	7.973	26.578
VC	$I_{red(-0,79V)} = -0.2426[Pb^{2+}] - 0.4331$ I en mA/cm <sup>2</sup>	$R^2 = 0.9974$	$7.53 \cdot 10^{-5}$ (mA/cm <sup>2</sup> ) <sup>2</sup>	0.931	3.102

## 2.1. Fidélité

La fidélité à un niveau donné traduit l'étroitesse de l'accord entre les valeurs trouvées par l'application d'une procédure d'analyse plusieurs fois (n = 10 réplicats) dans des conditions déterminées. Selon les conditions d'exécution de l'essai, cette caractéristique s'exprime sous forme de réplicabilité, de répétabilité ou de reproductibilité pour une méthode.

### a. Répétabilité

La répétabilité à un niveau donné correspond à l'étroitesse de l'accord entre les résultats individuels obtenus pour le même échantillon soumis à l'essai dans le même laboratoire et dont l'analyste est différent. Dans la littérature, l'expression « précision inter-technicien » est souvent employée.

Ce paramètre de validation a été déterminé à partir de l'équation suivante :

$$\frac{t_{(0,975; n-1)} \times s_2}{\sqrt{n}} \quad \text{Equation 4}$$

Où  $s_2$  : écart type d'une série de mesures se référant à la répétabilité ;  $t_{(0,975; n-1)}$ : Test student à un niveau de confiance de 95 %, correspondant à la probabilité au dépassement bilatéral  
n= nombre de réplicats

### b. Réplicabilité

La réplicabilité à un niveau donné correspond à l'étroitesse de l'accord entre les résultats individuels successifs obtenus pour le même échantillon soumis à l'essai dans le même laboratoire et dans les mêmes conditions.

Ce paramètre de validation a été déterminé à partir de l'équation suivante :

$$\frac{t_{(0,975; n-1)} \times s_2}{\sqrt{n}} \quad \text{Equation 5}$$

Où  $s_2$  : écart type d'une série de mesures se référant à la réplicabilité ;  $t_{(0,975; n-1)}$ : Test student à un niveau de confiance de 95 %, correspondant à la probabilité au dépassement bilatéral  
 $n$ = nombre de répliqués

### c. Reproductibilité

La reproductibilité à un niveau donné correspond à l'étroitesse de l'accord entre les résultats individuels obtenus pour le même échantillon soumis à l'essai dans des laboratoires différents et dans les conditions suivantes : analyste différent, appareil différent, même jour.

### d. Méthode de calcul de la répétabilité, la réplicabilité et la reproductibilité

Les trois termes précédents se rapportant à la fidélité s'expriment à l'aide d'un intervalle de confiance à une concentration donnée, en fonction de l'écart type ( $s(n)$ ), à un niveau de confiance spécifié, habituellement 95 %, et pour un nombre donné de déterminations ( $n = 10$  répliqués).

L'intervalle de confiance bilatéral de la moyenne arithmétique d'une série de mesures à un niveau de confiance de 95 % est défini par la double inégalité suivante :

$$\bar{x} \pm \frac{t_{(0,975; n-1)} \times s}{\sqrt{n}} \quad \text{Equation 6}$$

Le coefficient de variation (CV) est le rapport de l'écart-type à la moyenne. Plus la valeur du coefficient de variation est élevée, plus la dispersion autour de la moyenne est grande. Il est généralement exprimé en pourcentage. Plus la valeur du coefficient de variation est faible, plus l'estimation est précise.

$$CV = \frac{s}{I_{\text{moy- ob}}} \times 100 \quad \text{Equation 7}$$

$I_{\text{moy- ob}}$  est la moyenne d'intensité de courant observé.

Les valeurs calculées sont représentées dans le **Tableau 3**.

**Tableau 3.** Calcul de la moyenne d'intensité de courant observé ( $I_{\text{moy-Ob}}$ ), écart type ( $S_2$ ), ts (Test student, la valeur est trouvée à l'aide de tableau. 4), incertitude de répétabilité (IR), intervalle de confiance (IC) = [Estimation Inférieure (EI), Estimation Supérieure] et coefficient de variation (CV) ou relative standard deviation (RSD), NM = nombre de mesures effectuées, MR = le pourcentage des mesures rejetées (en dehors de l' intervalle de confiance).

Concentration (mM)		0.3	0.6	0.9	1.2	1.5	1.8	2.1	
SWV	$I_{\text{moy-Ob}}$ ( $\mu\text{A}/\text{cm}^2$ )	424.3714	481.7286	566.7375	620.5	644.7	698.8286	-	
	$S_2$	132.6716	83.40351	89.78901	55.71514	55.45106	67.9409	-	
	ts*	2.447	2.447	2.365	2.447	2.447	2.447	-	
	IR ( $\mu\text{A}/\text{cm}^2$ )	122.7052	77.13816	75.07742	51.52977	51.28552	62.83711	-	
	IC	EI	301.6662	404.5904	491.6601	568.9702	593.4145	635.9915	-
		ES	547.0767	558.8667	641.8149	672.0298	695.9855	761.6657	-
	NM	7	7	8	7	7	7	-	
	MR (%)	57.14	28.57	37.5	42.85	28.57	28.57	-	
	RSD (%) (CV)	31.2631	17.31338	15.84314	8.979071	8.601064	9.722112	-	
VC P <sub>ox</sub>	$I_{\text{moy-Ob}}$ (mA/cm <sup>2</sup> )	0.213222	0.491556	0.729667	0.962667	1.15375	1.307333	1.503556	
	$S_2$	0.093615	0.186247	0.198836	0.206118	0.230077	0.27866	0.245669	
	ts*	2.306	2.306	2.306	2.306	2.365	2.306	2.306	
	IR (mA/cm <sup>2</sup> )	0.071958	0.143162	0.152839	0.158436	0.19238	0.214196	0.188838	
	IC	EI	0.141264	0.348394	0.576828	0.804231	0.96137	1.093137	1.314718
		ES	0.285181	0.634717	0.882505	1.121102	1.34613	1.52153	1.692393
	NM	9	9	9	9	8	9	9	
	MR (%)	55.55	55.55	44.44	55.55	37.5	55.55	44.44	
	RSD (%) (CV)	43.90471	37.88922	27.25025	21.41112	19.94166	21.31513	16.33921	
VC P <sub>Réd</sub>	$I_{\text{moy-Ob}}$ (mA/cm <sup>2</sup> )	-0.50172	-0.57489	-0.651	-0.73522	-0.80811	-0.85978	-0.93874	
	$S_2$	0.15749	0.148662	0.166389	0.192334	0.200486	0.214848	0.221195	
	ts*	2.306	2.306	2.306	2.306	2.306	2.306	2.306	
	IR (mA/cm <sup>2</sup> )	0.121058	0.114271	0.127898	0.147841	0.154107	0.165147	0.170025	
	IC	EI	-0.62278	-0.68916	-0.7789	-0.88306	-0.96222	-1.02492	-1.10877
		ES	-0.38066	-0.46062	-0.5231	-0.58738	-0.654	-0.69463	-0.76872
	NM	9	9	9	9	9	9	9	
	MR (%)	55.55	44.44	44.44	55.55	55.55	33.33	33.33	
	RSD (%) (CV)	31.3899	25.8592	25.559	26.16	24.8092	24.9888	23.5628	

Généralement le Coefficient de Variation (CV) diminue en fonction de l'augmentation de la concentration pour les deux méthodes utilisées, mais on remarque qu'il est plus bas pour les mesures réalisées par la SWV ce qui indique que les mesures sont précises. Cette dernière méthode a une incertitude de répétabilité (IR) plus basse que la VC. Aussi, on remarque que l'incertitude de répétabilité (IR) reste constante pour toutes les mesures réalisées par la VC

( $P_{\text{réd}}$ ). Le pourcentage des mesures en dehors de l'intervalle de confiance est de 37.2% pour la SWV, il est le plus bas en comparaison avec la VC ( $P_{\text{réd}}$ ) (46.03%) et la VC ( $P_{\text{ox}}$ ) (50%). Ceci signifie que la SWV donne des résultats plus fidèles que la VC.

**Tableau 4.** Valeur du t de Student pour un intervalle bilatéral à un seuil de confiance à 95 % [6].

Degré de liberté ( $n - 1$ )	$t_{(0,975)}$
1	12,706
2	4,303
3	3,182
4	2,776
5	2,571
6	2,447
7	2,365
8	2,306

### 2.3. Calcul de l'exactitude et des erreurs

Le calcul de l'exactitude ou la justesse, traduit l'étroitesse de l'accord entre la valeur standard et une valeur moyenne trouvée par l'application d'une procédure d'analyse plusieurs fois [7]. L'exactitude est calculée par l'équation suivante [8]:

$$\text{Exactitude (\%)} = 100 - |\text{Erreur relative (\%)}| \quad \text{Equation 8}$$

$$\text{Erreur relative (\%)} = \frac{V_o - V_s}{V_s} \times 100$$

Avec  $V_s$  : valeur certifiée;  $V_o$  : moyenne des valeurs observées.

L'erreur systématique ou le biais est la différence entre la valeur cible ( $I_{\text{cible}}$ ) et la valeur moyenne observée ( $I_{\text{moy-Ob}}$ ).

L'erreur aléatoire est calculée par l'équation suivante :

$$EA = \frac{s}{\sqrt{n}} \quad \text{Equation 9}$$

**Tableau 5.** Calcul de la moyenne d'intensité de courant observé ( $I_{\text{moy-Ob}}$ ), intensité de pic cible ( $I_{\text{cible}}$ ), erreur systématique (ES), erreur Relative (ER), taux de recouvrement (TR), exactitude (E) et l'erreur aléatoire (EA).

Concentration (mM)		0.3	0.6	0.9	1.2	1.5	1.8	2.1
SWV	$I_{\text{moy-Ob}}$ ( $\mu\text{A}/\text{cm}^2$ )	424.3714	481.7286	566.7375	620.5	644.7	698.8286	-
	$I_{\text{cible}}$ ( $\mu\text{A}/\text{cm}^2$ )	436.024	490.738	545.452	600.166	654.88	709.594	-
	ES ( $\mu\text{A}/\text{cm}^2$ )	-11.6526	-9.00943	21.2855	20.334	-10.18	-10.7654	-
	ER (%)	-2.67246	-1.83589	3.90236	3.388063	-1.55448	-1.51713	-
	TR (%)	78.70276	91.7668	112.9677	109.291	96.27883	96.7207	-
	E (%)	97.32754	98.16411	96.09764	96.61194	98.44552	98.48287	-
	EA ( $\mu\text{A}/\text{cm}^2$ )	50,14517	31,52356	31,74521	21,05834	20,95853	25,67925	-
VC $P_{\text{ox}}$	$I_{\text{moy-Ob}}$ (mA/cm <sup>2</sup> )	0.213222	0.491556	0.729667	0.962667	1.15375	1.307333	1.503556
	$I_{\text{cible}}$ (mA/cm <sup>2</sup> )	0.27388	0.48556	0.69724	0.90892	1.1206	1.33228	1.54396
	ES (mA/cm <sup>2</sup> )	-0.06066	0.005996	0.032427	0.053747	0.03315	-0.02495	-0.0404
	ER (%)	-22.1476	1.234771	4.650718	5.913245	2.958237	-1.87248	-2.61694
	TR (%)	71.34459	101.4162	105.1062	106.3476	103.1321	98.03582	97.27321
	E (%)	77.85243	98.76523	95.34928	94.08675	97.04176	98.12752	97.38306
EA(mA/cm <sup>2</sup> )	0.031205	0.062082	0.066279	0.068706	0.081344	0.092887	0.08189	
VC $P_{\text{réd}}$	$I_{\text{moy-Ob}}$ (mA/cm <sup>2</sup> )	-0.50172	-0.57489	-0.651	-0.73522	-0.80811	-0.85978	-0.93874
	$I_{\text{cible}}$ (mA/cm <sup>2</sup> )	-0.50588	-0.57866	-0.65144	-0.72422	-0.797	-0.86978	-0.94256
	ES (mA/cm <sup>2</sup> )	0.004158	0.003771	0.00044	-0.011	-0.01111	0.010002	0.003816
	ER (%)	-0.82189	-0.6517	-0.06754	1.519182	1.394117	-1.14997	-0.40481
	TR (%)	94.2872	97.40924	99.79848	103.7793	103.0533	97.70948	99.25106
	E (%)	99.17	99.34	99.93	98.48	98.60	98.85	99.59
EA(mA/cm <sup>2</sup> )	0.05249	0.04955	0.05546	0.06411	0.06682	0.07161	0.07373	

L'erreur systématique (ES) et l'erreur relative (ER) sont les plus basses dans le cas de VC / $p_{\text{réd}}$ . L'exactitude propre à la VC /  $p_{\text{réd}}$  est plus proche de 100 % par rapport aux autres méthodes. La SWV possède une erreur aléatoire (EA) la plus basse.

#### 2.4. Test de $\chi^2$

Le test du  $\chi^2$  (khi deux ou khi carré) fournit une méthode pour déterminer la nature d'une répartition. Notre objectif consiste à déterminer la méthode uniforme.



On calcule  $\chi^2$  par l'équation suivante :

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^n \frac{(I_{moy} - I_{cible})^2}{I_{cible}} \quad \text{Equation 10}$$

On compare ensuite cette valeur  $\chi^2$  avec une valeur  $\chi^2$  (théorique). Si  $\chi^2 > \chi^2$  (théorique), et si n est suffisamment grand, alors l'hypothèse d'avoir effectivement affaire à la répartition théorique voulue est à rejeter avec une probabilité d'erreur d'au plus 5 %.

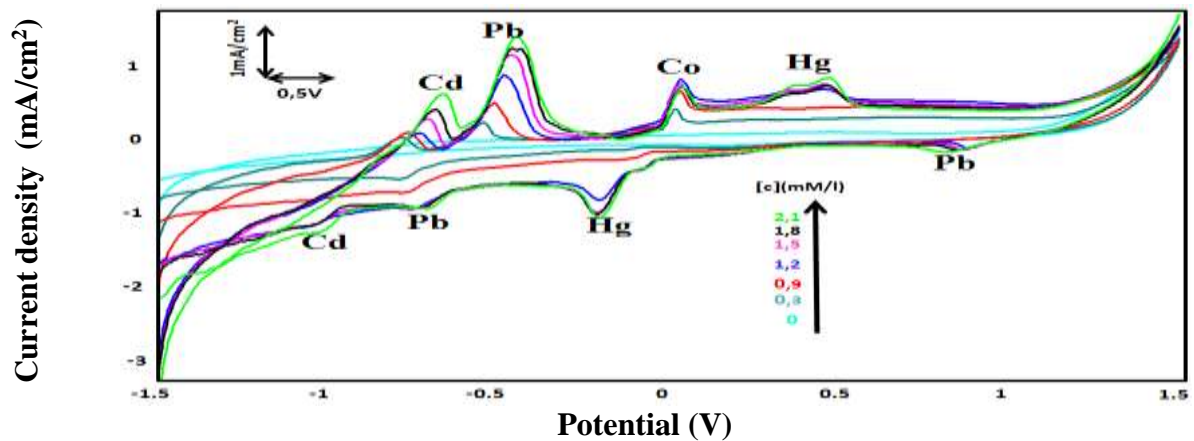
Le **Tableau 6** présente les résultats obtenus

<b>Tableau 6.</b> Calcul de $\chi^2$			
	SWV	VC (pic d'ox)	VC (pic de réd)
$\chi^2$	2.317951	0.019642	-0.0005
$\chi^2$ (théorique)	12.592	15.507	15.507
L'hypothèse	Acceptée	Acceptée	Acceptée

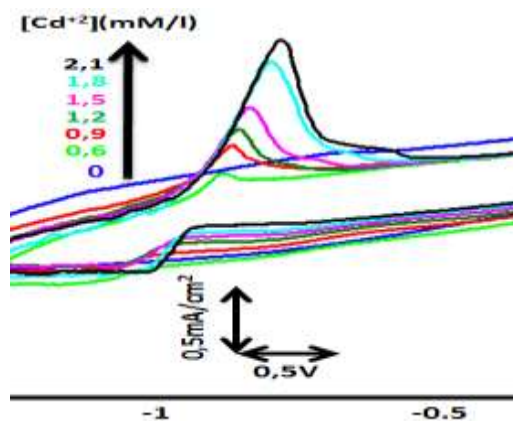
A partir des résultats obtenus on peut conclure que les méthodes utilisées sont uniformes.

### 3. Interférence

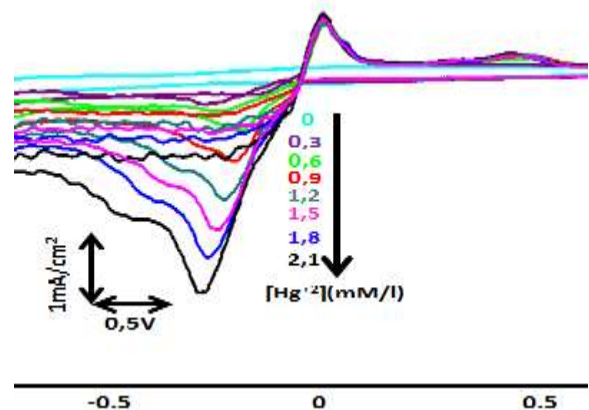
CPE-1 % EDTA est utilisée pour analyser simultanément le plomb, mercure, cadmium et le cobalt dans une solution électrolytique de 0.1M NaCl, pH = 2 et à 100 mV / s. Pour révéler l'interférence de  $Hg^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$  et de  $Co^{2+}$  dans la quantification de  $Pb^{2+}$ , nous avons augmenté constamment la concentration de ces quatre éléments simultanément dans la solution. Les sept concentrations testées sont comprises entre 0.3mM et 2.1mM. Chaque concentration est répétée 10 fois (n=10). La **Fig. 6** représente les Voltamogrammes Cycliques pour n=1. A partir des Voltamogrammes obtenus, on voit que les quatre éléments étudiés sont parfaitement identifiables. Chaque élément garde sa propre identité électrochimique en absence et en présence des autres éléments étudiés. Par exemple, le mercure en présence des autres éléments est caractérisé par deux pics d'oxydations dans l'intervalle de potentiel entre 0.1 V et 0.5 V et deux pics de réductions entre 0 V et -0.5 V, les mêmes pics sont observés en absence des autres métaux lourds (**Fig. 8**). Le cobalt présente un seul pic d'oxydation observé à -0.3 V en absence (**Fig. 9**) et en présence des autres métaux (**Fig. 6**). Donc l'électrode préparée est sélective et capable de déterminer simultanément le  $Pb^{2+}$ ,  $Hg^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$  et le  $Co^{2+}$ . Les potentiels des pics redox du cadmium, mercure, cobalt et du plomb sont déterminés respectivement à partir de la **Fig. 7**, **Fig. 8**, **Fig. 9** et la **Fig. 10**.



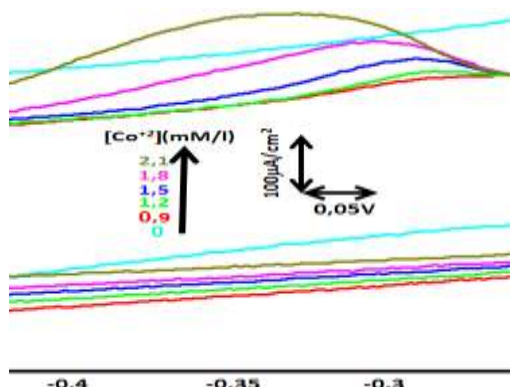
**Fig. 6.** Voltammogrammes cycliques de CPE-EDTA dans NaCl 0.1 M à 100 mV / s, pH = 2 et 1% (w / w) d'EDTA / carbone graphite après 10 min de préconcentration à différentes concentrations de  $Pb^{2+}$ ,  $Hg^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$  et le  $Co^{2+}$ .



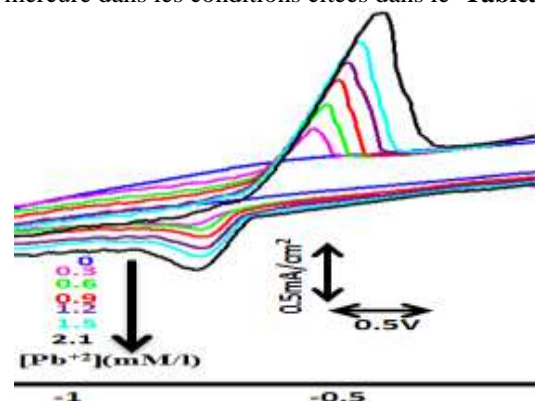
**Fig. 7.** Voltammogrammes cycliques de CPE-1 % EDTA à différentes concentrations de cadmium dans les conditions citées dans le **Tableau 1**.



**Fig. 8.** Voltammogrammes cycliques de CPE-1 % EDTA à différentes concentrations de mercure dans les conditions citées dans le **Tableau 1**.



**Fig. 9.** Voltammogrammes cycliques de CPE-1 % EDTA à différentes concentrations de cobalt dans les conditions citées dans le **Tableau 1**.

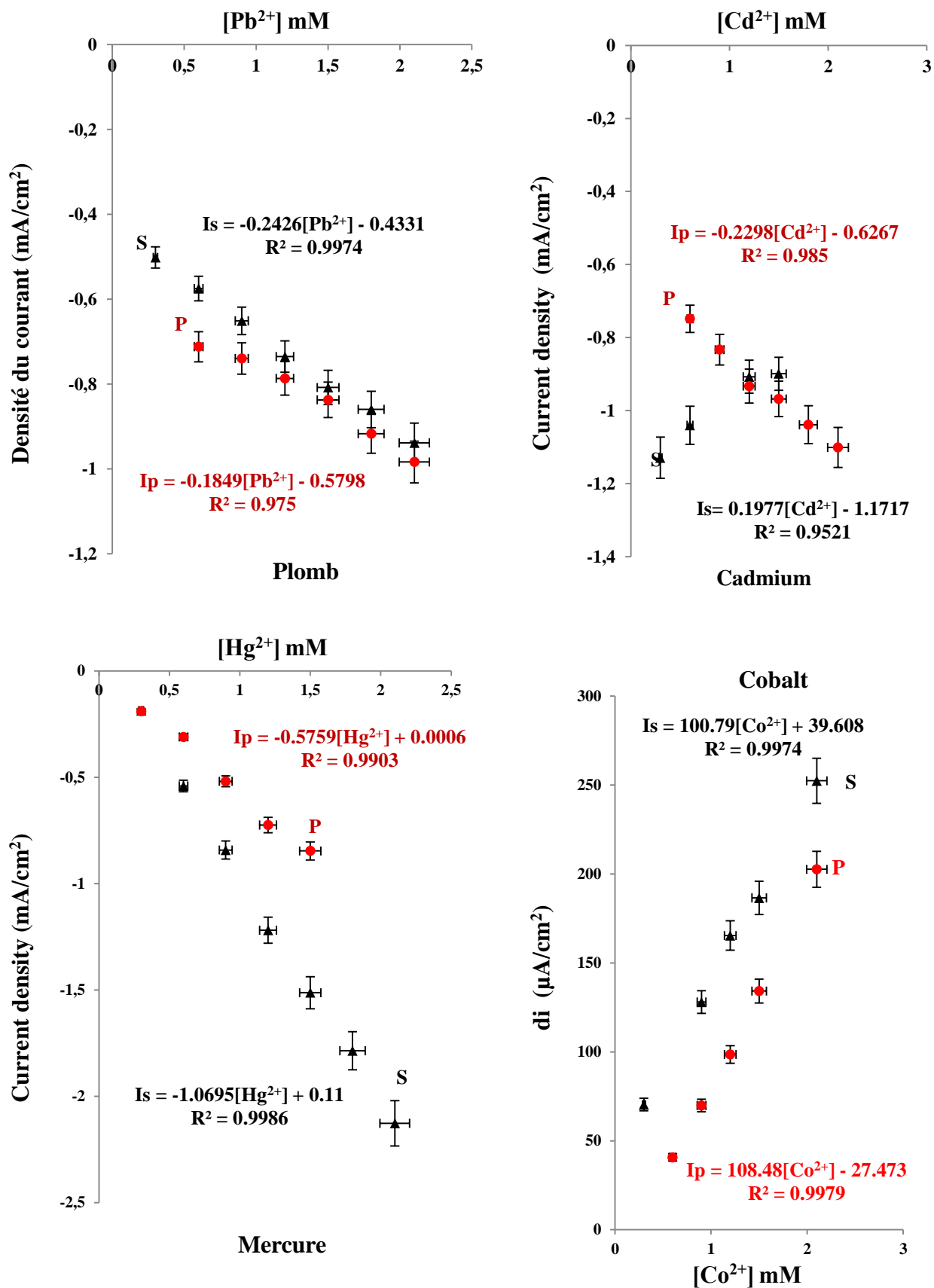


**Fig. 10.** Voltammogrammes cycliques de CPE-1 % EDTA à différentes concentrations de plomb dans les conditions citées dans le **Tableau 1**.

Les courbes d'étalonnages issues de l'analyse simultanée de  $Pb^{2+}$ ,  $Hg^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$  et de  $Co^{2+}$  par CPE-1%EDTA en absence (S) et en présence (P) des métaux lourds sont représentées dans la **Fig. 11**. Les résultats de l'étude statistique de la détermination simultanée de ces métaux lourds sont regroupés dans le **Tableau 7**. En présence des métaux lourds dans la solution, on note une légère diminution de la pente de la courbe d'étalonnage pour la détermination de plomb, une légère augmentation des pics de réduction, une diminution de la valeur de  $R^2$  (de 0.997 à 0.975). La valeur de limite de détection, est augmentée de  $0.931 \cdot 10^{-9} \text{ mol/l}$  à  $5.59 \cdot 10^{-9} \text{ mol/l}$ . La présence des métaux lourds a entraîné une diminution significative du Coefficient de Variation (CV), il est passé de 25.55 % à 12 % pour la concentration de 0.9 mM et de 24.98 % à 6.73 % pour la concentration de 1.8 mM. L'erreur relative a augmenté de -0.067 % à -0.86 % pour la concentration de 0.9 mM et de 1.51 % à 1.86 % pour la concentration de 1.2 mM.

La méthode est linéaire dans l'intervalle de concentration entre 0.6 et 2.1 mM. L'exactitude de la détermination de plomb est plus proche de 100 % par rapport à l'exactitude de détermination des autres éléments, la moyenne de l'exactitude de toutes les mesures est de 98.23% contre 98.82% enregistrée pour le cadmium, 94.54 % pour le mercure et 97.13 % pour le cobalt. Tous ces résultats montrent que les métaux lourds n'affectent que légèrement la détermination de plomb dans la solution.

La limite de détection la plus basse est celle de cobalt ( $1.2 \cdot 10^{-9} \text{ mol / l}$ ) suivi par le cadmium, le mercure et finalement le plomb. Pour tous les métaux étudiés, la méthode est linéaire dans l'intervalle de concentration [0.6-2.1] mM sauf pour le mercure elle est linéaire dans l'intervalle [0.3-2.1] mM. Le cadmium a une basse erreur systématique ( $0.009 \text{ mA / cm}^2$ ) suivi par le plomb ( $0.013 \text{ mA/cm}^2$ ) puis le mercure. Concernant l'erreur relative, le cadmium présente aussi une valeur plus basse de 1.70 % suivi par le plomb avec 1.7 %, le cobalt et le mercure. Ces observations sont dues aux interactions des ions métalliques avec l'EDTA. Le changement de comportement électrochimique de plomb en présence de différentes concentrations de mercure, cadmium et de cobalt est expliqué par la compétition entre ces éléments aux sites actifs de l'électrode modifiée.



**Fig. 11.** Courbes de calibration de chaque élément étudié en absence (S) et en présence (P) de plomb, cadmium, mercure et de cobalt. Les pics correspond au plomb, cadmium et le mercure sont établit à partir des VC. Pour le cobalt les pics sont établit à partir des SWV. Les conditions citées dans le **Tableau 1** sont respectées

**Tableau. 7.** Etude statistique de la détection simultanée des métaux lourds par CPE-1 % EDTA

		Concentration (mM)						
		0.3	0.6	0.9	1.2	1.5	1.8	2.1
Plomb	Erreur Systématique (ES) en mA/cm <sup>2</sup>	-	-0.021	0.006	0.014	0.019	-0.004	-0.015
	Erreur Relative (ER) en %	-	3.07	-0.86	-1.86	-2.32	0.50	1.61
	Exactitude en %	-	96.9	99.1	98.1	97.6	99.4	98.3
	Coefficient de Variation (CV) en %	-	2.12	10.8	12.0	8.20	6.73	11.95
	LD / LQ	5.59.10 <sup>-9</sup> mol / L			1.8.10 <sup>-8</sup> mol / L			
	Intervalle de linéarité	[0.6-2.1] mmol / L						
Cadmium	Erreur Systématique (ES) en mA/cm <sup>2</sup>	-	0.016	0.0005	-0.03	0.003	0.001	0.008
	Erreur Relative (ER) en %	-	-2.10	-0.06	3.35	-0.37	-0.17	-0.76
	Exactitude en %	-	97.8	99.9	96.6	99.6	99.82	99.2
	Coefficient de Variation (CV) en %	-	35.87	34.89	38.63	38.98	36.96	40.18
	LD / LQ	4.13.10 <sup>-9</sup> mol / L			1.37.10 <sup>-8</sup> mol / L			
	L'intervalle de linéarité	[0.6-2.1] mmol / L						
Mercure	l'Erreur Systématique (ES) en mA/cm <sup>2</sup>	-0.017	0.034	-0.001	-0.033	0.017	-	-
	Erreur Relative (ER) en %	9.98	-10.05	0.20	4.89	-1.96	-	-
	Exactitude en %	90.0	89.9	99.7	95.1	98.0	-	-
	Coefficient de Variation (CV) en %	116.02	44.04	73.52	72.51	75.63	-	-
	LD / LQ	5.08.10 <sup>-9</sup> mol / L			1.69.10 <sup>-8</sup> mol / L			
	Intervalle de linéarité	[0,3-1,5] mmol / L						
Cobalt	Erreur Systématique (ES) en µA/cm <sup>2</sup>	-	2.490	0.219	-2.425	1.871	-9.730	7.610
	Erreur Relative (ER) en %	-	6.50	0.31	-2.40	1.41	-5.94	3.90
	Exactitude en %	-	93.4	99.6	97.5	98.5	94.05	96.0
	Coefficient de Variation (CV) en %	-	63.18	63.92	66.74	67.00	63.70	71.09
	LD / LQ	1.20.10 <sup>-9</sup> mol / L			4.02.10 <sup>-9</sup> mol / L			
	Intervalle de linéarité	[0.6-2.1] mmol / L						

#### 4. Application: l'eau de robinet

L'électrode élaborée est testée dans l'eau de robinet de notre laboratoire à la Faculté des Sciences et Techniques de Béni Mellal. Le plomb est ajouté à l'échantillon, et le pic observé pour chaque concentration est utilisé pour trouver la concentration ajoutée en se basant sur l'équation générale citée dans le **Tableau 2**. Le **Tableau 8** représente les résultats d'analyse de plomb dans l'eau potable.

On remarque que dans le cas de VC/ p<sub>réd</sub>, les concentrations trouvées par l'équation est presque plus proche des concentrations ajoutées avec un taux de recouvrement égale presque à 100%. Les concentrations trouvées sont très loin de celles ajoutées pour VC/p<sub>ox</sub> et la SWV. On note que toutes les méthodes utilisées sont capables de confirmer la non présence de plomb, on trouve toujours une valeur négative dans le cas de concentration de 0 mM Pb<sup>2+</sup>.

**Tableau 8.** Résultats de détermination de plomb dans l'eau de robinet par les différentes méthodes électrochimiques

Concentration de plomb ajoutée	Méthode utilisée pour quantifier le plomb					
	VC/ $p_{ox}$		SWV		VC/ $p_{red}$	
	Trouvée	TR%	trouvée	TR%	Trouvée	TR%
0 Mm	-0.06901	-	-1.9642	-	-1.7848	-
0.6 Mm	0.205	34.20	0.826	137.67	0.55234955	92.05
0.92 Mm	0.290	31.54	0.7273	79.05	0.94394064	102.60
1.22 Mm	0.485	39.82	0.6657	54.56	1.26957955	104.06

#### IV. Conclusion

L'électrode à pâte de carbone modifiée par 1 % de l'EDTA est susceptible de déterminer le  $Pb^{2+}$ ,  $Hg^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$  et le  $Co^{2+}$  dans l'eau de robinet de notre laboratoire. Les réponses électrochimiques obtenues par VC/  $p_{red}$  ont permis de déterminer une équation générale pour l'analyse de  $Pb^{2+}$  dans l'eau de robinet, le pouvoir prédictif de cette méthode est plus important que celui de SWV avec un taux de recouvrement égale presque 100 %. Le Coefficient de Variation (CV) et l'incertitude de répétabilité (IR) pour les mesures réalisées par la SWV sont plus basses par rapport à la VC ce qui signifie que cette méthode est fidèle. L'ES, ER propres à la VC/  $p_{red}$  sont les plus basses de toutes les méthodes utilisées ce qui indique que cette méthode est plus juste. La détermination de plomb est légèrement affectée par la présence des métaux lourds. L'analyse simultanée des métaux lourds a montré que le cadmium et le plomb sont caractérisés par la plus basse limite de détection, ER et ES. L'utilisation de l'équation générale pour l'analyse de plomb n'est pas valable pour l'analyser dans un échantillon contenant le  $Hg^{2+}$ ,  $Co^{2+}$  et  $Cd^{2+}$ . Donc il faut trouver une autre équation qui tient compte de l'interférence avec les autres éléments.

## Références

- [1] D.Mendil, O.D. Uluozlü, Food Chemistry, 101(2007)739-745. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.01.050>
- [2] P. Falomir, A. Alegria, R. Barberá, , R. Farré, M.J. Lagarda, Food Chemistry, 64 (1999) 111-113. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(98\)00116-2](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00116-2)
- [3] T.J. Hwang, S.J. Jiang, Journal of Analytical Atomic Spectrometry, 11(1996)353-357. DOI: [10.1039/JA9961100353](https://doi.org/10.1039/JA9961100353)
- [4] K.S. Rao, T. Balaji, T.P. Rao, Y. Babu, G.R.K. Naidu, Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy,57(2002)1333-1338. [https://doi.org/10.1016/S0584-8547\(02\)00045-9](https://doi.org/10.1016/S0584-8547(02)00045-9)
- [5] E. Mullins, Statistics for the quality control chemistry laboratory, Royal Society of Chemistry, (2007).
- [6] J. Taylor, Quality assurance of chemical measurements. Routledge, (2018). <https://doi.org/10.1201/9780203741610>
- [7] D. Barceló, Sample Handling and Trace Analysis of Pollutants: techniques, applications and quality assurance, 21(2000). Elsevier.
- [8] U.Bhaumik, A. Ghosh, B. Chatterjee, P. Sengupta, S. Darbar, B. Roy, T. K. Pal, Journal of pharmaceutical and biomedical analysis, 49(2009)1009-1013. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2009.01.032>

## Conclusion générale et perspectives

Cette thèse avait pour objectif de développer des nouveaux capteurs destinés pour la détection et la quantification des métaux lourds et l'ammonium dans l'eau potable et l'urine.

Deux électrodes sont confectionnées, La première est modifiée par l'EDTA et la deuxième est modifiée par la BIT. Les molécules organiques utilisées pour la modification des électrodes ne sont pas solubles dans la solution, non-toxique et non polluante. La modification par 10% de la molécule organique utilisée a permis d'augmenter la sensibilité des électrodes à l'égard des éléments à analyser. Le milieu acide (pH=2) semble plus favorable pour la détection et la quantification des métaux lourds et de l'ammonium. Les meilleurs temps de préconcentration pour l'analyse de  $Pb^{2+}$  par CPE-EDTA et CPE-BIT sont respectivement 10 min et 1 min. Le meilleur temps de préconcentration de  $NH_4^+$  par CPE-EDTA est cinq min.

Les mécanismes proposés pour la complexation des métaux lourds et l'ammonium à la surface des électrodes sont déterminés à l'aide de la VC, la SWV, le MEB et l'EDX. A la base de la théorie de HSAB, nous avons pu déterminer les sites probables pour fixer les métaux lourds dans les molécules organiques utilisées.

La CPE-BIT a été utilisée pour déterminer la capacité de l'extrait aqueux des feuilles de *Capparis spinosa* à complexer le  $Pb^{2+}$ . L'étude a montré que l'EAFCS est très efficace pour complexer et éliminer le  $Pb^{2+}$  de l'eau contaminée. Les polyphénols et les alcaloïdes présents dans l'EAFCS sont probablement les responsables de l'élimination et de la complexation de  $Pb^{2+}$ .

A l'aide des réponses électrochimiques, nous avons déterminé l'équation générale pour l'analyse de  $Pb^{2+}$  dans l'eau de distribution. L'équation générale de la quantification de  $NH_4^+$  dans l'urine a été aussi déterminée.

La CPE-1%EDTA a été utilisée pour valider la méthode électrochimique pour l'analyse simultanée de  $Pb^{2+}$ ,  $Hg^{2+}$ ,  $Co^{2+}$  et  $Cd^{2+}$  dans l'eau de robinet de notre laboratoire. La validation est basée sur la comparaison de ES, ER, IC, RSD, Exactitude, LD et LQ entre VC/  $pic_{red}$ , VC/  $pic_{ox}$  et SWV. Le pouvoir prédictif de VC/  $pic_{red}$  est plus important que les autres méthodes avec un taux de recouvrement égale presque 100%. L'ES, ER propres à la VC/  $pic_{red}$  sont les plus basses de toutes les méthodes utilisées.



Les électrodes élaborées ne coûtent pas très chère, faciles à préparer, sélectives, sensibles et présentent une reproductibilité intéressante.

Les études réalisées au cours de ce travail ne sont pas achevées. Au bout de chaque travail il y a une idée qui fleurit. La validation de la méthode électrochimique pour la détermination de l'activité antioxydante de *Capparis spinosa* est parmi les idées pertinentes qu'on espère réaliser dans les travaux à venir. En plus, il nous reste à terminer la validation de la méthode électrochimique pour l'analyse des métaux lourds dans divers milieux biologiques par CPE-EDTA et CPE-BIT.