



UNIVERSITE SULTAN MOULAY SLIMANE  
Faculté des Sciences et Techniques de Beni Mellal



N° d'ordre : 94/2016

Centre d'Etudes Doctorales « Sciences et Techniques »  
Formation Doctorale « Mathématiques et Physique Appliquées »

## **THESE**

Présentée par

**Jamaa BENGOURRAM**

Pour obtenir le diplôme de

**DOCTORAT**

**Spécialité** : Génie Industriel

**Option** : Biotechnologie

### **Développement de biocapteurs électrochimiques pour la détection de bactéries**

Soutenue publiquement le 11/07/2016 devant le jury :

<b>Pr. M. MABROUKI</b>	Faculté des Sciences et Techniques de Béni-Mellal	<b>Président, Rapporteur</b>
<b>Pr. A. IBNLFASSI</b>	Faculté des Sciences et Techniques de Settat	<b>Rapporteur</b>
<b>Pr. A. TABYAOUI</b>	Ecole Nationale des Sciences Appliquées de Khouribga (Directeur Adjoint)	<b>Rapporteur</b>
<b>Pr. A. HAFID</b>	Faculté des Sciences et Techniques de Béni-Mellal	<b>Rapporteur</b>
<b>Pr. A. CHTAINI</b>	Faculté des Sciences et Techniques de Béni-Mellal	<b>Co-Directeur de thèse</b>
<b>Pr. N. KOUIDER</b>	Faculté des Sciences et Techniques de Béni-Mellal	<b>Directeur de thèse</b>

# Remerciements

Je tiens tout d'abord à exprimer ma plus grande reconnaissance au Professeur Nourreddine Kouider, mon directeur de thèse pour son suivi au quotidien, son aide et ses conseils plus particulièrement lors de la rédaction du manuscrit. Merci pour tout ce que vous m'avez apporté, j'ai beaucoup appris et repars enrichi scientifiquement et humainement.

Je tiens à remercier particulièrement le Professeur Abdelilah Chtaini, Directeur de l'équipe de recherche : Electrochimie Moléculaire et Matériaux Inorganiques (EMMI), lieu de ce travail de thèse, pour son aide quotidienne et pour son investissement. Il m'a marqué par sa disponibilité, sa simplicité et sa joie de vivre.

Je remercie également le Professeur Mustapha Mabrouki, Directeur du laboratoire de Génie Industriel (GI), pour les échanges scientifiques que l'on a eus. Tu m'as appris à être appliqué et organisé dans mon travail, je t'en remercie.

Je remercie sincèrement le Professeur Hassan Latrache, Directeur du laboratoire de BioProcédés et BioInterFaces (BPBIF), pour sa contribution dans ce travail et pour son soutien durant toute ma vie professionnelle.

Mes vifs remerciements et sincères gratitudes vont aussi au Professeur Abderrafia Hafid pour son aide et ses différents conseils. Il n'a ménagé aucun effort pour m'apporter tout le soutien dont j'avais besoin au moment opportun.

Je voudrais exprimer toute ma reconnaissance aux membres du jury qui ont accepté de juger ce travail, qui se sont déplacés pour cette soutenance et qui ont passé beaucoup de temps à lire le manuscrit et à évaluer ce travail.

Je ne peux manquer de remercier les doctorants et personnes des trois unités de recherche : EMMI, GI et BPBIF et surtout une pensée particulière à Olivier BERTRAND.

Je pense aussi à mes amis et proches qui m'ont soutenu dans les moments difficiles et avec qui je partage d'excellents moments.

Je témoigne, aussi, mon affection à tous les membres de ma famille et les remercier pour leur soutien inconditionnel.

# Tables des matières

<b>REMERCIEMENTS</b> .....	<b>II</b>
<b>TABLES DES MATIÈRES</b> .....	<b>III</b>
<b>LISTE DES FIGURES</b> .....	<b>VII</b>
<b>LISTE DES TABLEAUX</b> .....	<b>XIII</b>
<b>LISTE DES ABRÉVIATIONS</b> .....	<b>XV</b>
<b>RÉSUMÉ</b> .....	<b>1</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>2</b>
<b>INTRODUCTION GÉNÉRALE</b> .....	<b>3</b>
<b>CHAPITRE I : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE</b> .....	<b>6</b>
<b>I. PRINCIPE DE L'ÉLECTROCHIMIE</b> .....	<b>7</b>
<b>II. GÉNÉRALITÉS SUR LES ÉLECTRODES MODIFIÉES</b> .....	<b>8</b>
1. INTRODUCTION .....	8
2. VOLTAMMÉTRIE SUR ÉLECTRODES MODIFIÉES .....	10
3. ÉLECTRODE MODIFIÉE PAR DÉPÔT D'UNE MONOCOUCHE D'ESPÈCE ÉLECTROACTIVE .....	10
4. ÉLECTRODE MODIFIÉE PAR UN FILM POLYMÈRE .....	11
5. ÉLECTRODE À PÂTE DE CARBONE MODIFIÉE .....	11
6. ÉLECTRODE MODIFIÉE PAR LE PHOSPHATE NATUREL .....	15
7. ÉLECTRODE MODIFIÉE PAR L' ARGILE .....	17
<b>III. CAPTEURS ELECTROCHIMIQUES</b> .....	<b>19</b>
1. GÉNÉRALITÉS SUR LES CAPTEURS .....	22
2. CAPTEURS ÉLECTROCHIMIQUES .....	26
3. LES CAPTEURS ÉLECTROCHIMIQUES POUR LA DÉTECTION DES BACTÉRIES .....	33
<b>IV. STAPHYLOCOQUE AUREUS (BACTERIE)</b> .....	<b>34</b>
1. AGENT INFECTIEUX .....	34
2. DÉTERMINATION DU RISQUE .....	35
3. VIABILITÉ ET STABILITÉ .....	36
<b>V. AMOXICILLINE</b> .....	<b>36</b>
1. DÉCOUVERTE DES B-LACTAMINES ET DÉVELOPPEMENT DE L' AMOXICILLINE .....	36
2. STRUCTURE ET PROPRIÉTÉS PHYSICO-CHIMIQUES .....	38
3. PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES DE L' AMOXICILLINE .....	40
<b>VI. CONCLUSION</b> .....	<b>44</b>
<b>CHAPITRE II : TECHNIQUES EXPÉRIMENTALES</b> .....	<b>46</b>
<b>INTRODUCTION</b> .....	<b>47</b>
<b>I. CARACTÉRISATIONS PHYSICO-CHIMIQUES</b> .....	<b>47</b>
1. MICROSCOPIE .....	47
2. SPECTROMÉTRIE IR À TRANSFORMÉE DE FOURIER (FTIR) .....	49
3. DIFFRACTOMÉTRIE DE RAYONS X .....	49
<b>II. CARACTÉRISATIONS ÉLECTROCHIMIQUES</b> .....	<b>51</b>
1. VOLTAMMÉTRIE OU VOLTAMPÉROMÉTRIE .....	51
2. MESURE DE SPECTROSCOPIE D'IMPÉDANCE ÉLECTROCHIMIQUE .....	61
<b>CONCLUSION</b> .....	<b>71</b>
<b>CHAPITRE III : ETUDE ET EXPÉRIMENTATION</b> .....	<b>72</b>

<b>INTRODUCTION.....</b>	<b>73</b>
<b>I. MATÉRIAUX.....</b>	<b>73</b>
1. POUDRE COMMERCIALE DE GRAPHITE .....	73
2. POUDRE DE PHOSPHATE NATUREL (PN).....	73
3. POUDRE D'ARGILE .....	74
<b>II. PRÉPARATION DES ÉLECTRODES.....</b>	<b>75</b>
1. ELABORATION DE L'ÉLECTRODE DE PÂTE DE CARBONE (EPC) .....	75
2. ELABORATION DE L'ÉLECTRODE DE PHOSPHATE NATUREL (EPN).....	75
3. ELABORATION DE L'ÉLECTRODE DE PÂTE D'ARGILE (EPARG).....	76
<b>III. CARACTÉRISATION DES ÉLECTRODES ÉLABORÉES .....</b>	<b>76</b>
1. CARACTÉRISATION PHYSIQUE (MICROSCOPIE EN RÉFLEXION) .....	76
2. CARACTÉRISATION ÉLECTROCHIMIQUE .....	77
<b>IV. MODIFICATION DES ÉLECTRODES MÈRES PAR L'AMOXICILLINE .....</b>	<b>80</b>
1. AMOXIL .....	80
2. MODIFICATION DES ÉLECTRODES PAR ADSORPTION.....	80
3. MODIFICATION DES ÉLECTRODES PAR MÉLANGE AVEC L'AMOXICILLINE.....	81
4. ETUDE ÉLECTROCHIMIQUE DES ÉLECTRODES MODIFIÉES PAR L'AMOXICILLINE AUX DIFFÉRENTS TEMPS DE PRÉCONCENTRATION ET PAR MÉLANGE .....	81
<b>V. CARACTÉRISATION DES ÉLECTRODES MODIFIÉES EN PRÉSENCE DES BACTÉRIES (STAPHYLOCOQUE AUREUS).....</b>	<b>81</b>
1. CULTURE DES BACTÉRIES .....	81
2. ETUDES ÉLECTROCHIMIQUES DES ÉLECTRODES MODIFIÉES (ADSORPTION ET MÉLANGE) EN PRÉSENCE DES BACTÉRIES.....	83
<b>CONCLUSION.....</b>	<b>84</b>
<b>CHAPITRE IV : ELECTRODE DE PATE DE CARBONE, L'AMOXICILLINE ET LES BACTÉRIES: RÉSULTATS ET DISCUSSIONS .....</b>	<b>85</b>
<b>INTRODUCTION.....</b>	<b>86</b>
<b>I. ELECTRODE DE PÂTE DE CARBONE MODIFIÉE PAR ADSORPTION .....</b>	<b>86</b>
1. CARACTÉRISATION PHYSIQUE ET ÉLECTROCHIMIQUE DE L'ÉLECTRODE DE PÂTE DE CARBONE AVANT ET APRÈS MODIFICATION PAR L'AMOXICILLINE .....	86
2. CARACTÉRISATIONS ÉLECTROCHIMIQUES DE EPC/AMX (ADSORPTION) EN PRÉSENCE DES STAPHYLOCOQUES AUREUS .....	88
3. ETUDE ÉLECTROCHIMIQUE EPC/AMX ADS. EN FONCTION DU TEMPS DE CONTACT AVEC LA BACTÉRIE ...	90
4. ETUDE ÉLECTROCHIMIQUE DE L'EFFET DE LA CONCENTRATION DE L'AMOXICILLINE À LA SURFACE DE EPC/AMX ADS. SUR LES BACTÉRIES.....	97
5. ETUDE DE L'EFFET DE LA DENSITÉ OPTIQUE (DO) DE LA BACTÉRIE SUR EPC/AMX ADS. ....	98
6. DÉTERMINATION DE LA DURÉE DE LA DÉTECTION DES BACTÉRIES PAR EPC/AMX ADS. ....	101
7. ETUDE DE L'EFFET DU PH .....	102
8. REPRODUCTIBILITÉ DES RÉSULTATS DE EPC/AMX ADS.....	103
<b>II. ELECTRODE DE PÂTE DE CARBONE MODIFIÉE PAR MÉLANGE .....</b>	<b>103</b>
1. CARACTÉRISATION PHYSIQUE ET ÉLECTROCHIMIQUE DE L'ÉLECTRODE DE PÂTE DE CARBONE AVANT ET APRÈS MODIFICATION PAR L'AMOXICILLINE .....	103
2. ETUDE DE EPC/AMX MÉL. EN FONCTION DU TEMPS DE CONTACT AVEC LA BACTÉRIE.....	104
3. COMPARAISON DES DONNÉES DE LA DENSITÉ OPTIQUE DE EPC/AMX ADS. ET EPC/AMX MÉL.....	108
4. EFFET DU PH SUR EPC/AMX MÉL. EN PRÉSENCE DES BACTÉRIES .....	108
<b>CONCLUSION.....</b>	<b>109</b>
<b>CHAPITRE V : ELECTRODE DE PHOSPHATE NATUREL, L'AMOXICILLINE ET LES BACTÉRIES: RÉSULTATS ET DISCUSSIONS.....</b>	<b>110</b>
<b>INTRODUCTION.....</b>	<b>111</b>

<b>I. ELECTRODE DE PHOSPHATE NATUREL MODIFIÉE AVEC L'AMOXICILLINE PAR ADSORPTION .....</b>	<b>111</b>
1. CARACTÉRISATION PHYSICO-CHIMIQUE DE LA POUDRE DE PHOSPHATE NATUREL .....	111
2. CARACTÉRISATION PHYSIQUE ET ÉLECTROCHIMIQUE DE L'ÉLECTRODE DE PHOSPHATE NATUREL AVANT ET APRÈS MODIFICATION PAR L'AMOXICILLINE .....	113
3. ÉTUDE ÉLECTROCHIMIQUE EPN/AMX ADS. EN FONCTION DU TEMPS DE CONTACT AVEC LA BACTÉRIE. ....	115
4. ÉTUDE ÉLECTROCHIMIQUE DE L'EFFET DE LA CONCENTRATION DE L'AMOXICILLINE SUR LES BACTÉRIES 118	
5. ÉTUDE DE L'EFFET DE LA DENSITÉ OPTIQUE DE LA BACTÉRIE SUR EPN/AMX ADS. ....	121
6. DÉTERMINATION DE LA LIMITE DE DÉTECTION DE EPN/AMX ADS. ....	123
7. DÉTERMINATION DE LA DURÉE DE LA DÉTECTION DES BACTÉRIES PAR EPN/AMX ADS. ....	123
8. ÉTUDE DE L'EFFET DU PH .....	125
9. REPRODUCTIBILITÉ DES RÉSULTATS DE EPN/AMX ADS. ....	125
<b>II. ELECTRODE DE PHOSPHATE NATUREL MODIFIÉE AVEC L'AMOXICILLINE PAR MÉLANGE.....</b>	<b>126</b>
1. CARACTÉRISATION PHYSIQUE ET ÉLECTROCHIMIQUE DE L'ÉLECTRODE DE PHOSPHATE NATUREL AVANT ET APRÈS MODIFICATION PAR L'AMOXICILLINE .....	126
2. CARACTÉRISATION ÉLECTROCHIMIQUE DE EPN/AMX MÉL. EN FONCTION DU TEMPS DE CONTACT AVEC LA BACTÉRIE.....	127
3. ÉTUDE DE L'EFFET DE LA DENSITÉ OPTIQUE SUR EPN/AMX MÉL. ....	130
4. DÉTERMINATION DE LA LIMITE DE DÉTECTION DE EPN/AMX MÉL. ....	132
5. DÉTERMINATION DE LA DURÉE DE LA DÉTECTION DES BACTÉRIES PAR EPN/AMX MÉL. ....	132
6. ÉTUDE DE L'EFFET DU PH SUR EPN/AMX MÉL. ....	133
7. LA REPRODUCTIVITÉ DES RÉSULTATS DE EPN/AMX MÉL. ....	133
<b>III. ETUDE COMPARATIVE DE EPN/AMX ADS. ET EPN/AMX MÉL.....</b>	<b>134</b>
1. COMPARAISON DE L'ÉLECTROACTIVITÉ DES ÉLECTRODES EN FONCTION DU PH .....	134
2. COMPARAISON DES LIMITES DE DÉTECTION ET DE QUANTIFICATION DES ÉLECTRODES.....	135
3. COMPARAISON DE LA DURÉE DE DÉTECTION DES ÉLECTRODES.....	135
4. COMPARAISON DES DONNÉES DE LA DENSITÉ OPTIQUE DE L'EPN/AMX PAR ADSORPTION ET L'EPN/AMX PAR MÉLANGE.....	135
<b>CONCLUSION.....</b>	<b>136</b>
<b>CHAPITRE VI : ELECTRODE DE DE PATE D'ARGILE, L'AMOXICILLINE ET LES BACTÉRIES: RÉSULTATS ET DISCUSSIONS .....</b>	<b>138</b>
<b>INTRODUCTION.....</b>	<b>139</b>
<b>I. ELECTRODE DE PÂTE D'ARGILE MODIFIÉE AVEC L'AMOXICILLINE PAR ADS .....</b>	<b>139</b>
1. CARACTÉRISATION PHYSICO-CHIMIQUE DE LA POUDRE D'ARGILE.....	139
2. CARACTÉRISATION PHYSIQUE ET ÉLECTROCHIMIQUE DE L'ÉLECTRODE DE PÂTE D'ARGILE AVANT ET APRÈS MODIFICATION PAR L'AMOXICILLINE .....	141
3. ÉTUDE ÉLECTROCHIMIQUE DE EPARG/AMX ADS. EN FONCTION DU TEMPS DE CONTACT AVEC LA BACTÉRIE.....	143
4. ÉTUDE ÉLECTROCHIMIQUE DE L'EFFET DE LA CONCENTRATION DE L'AMOXICILLINE À LA SURFACE DE EPARG/AMX ADS. SUR LES BACTÉRIES .....	147
5. DENSITÉ OPTIQUE EN FONCTION DE LA CONCENTRATION DE L'AMOXICILLINE À LA SURFACE DE EPARG/AMX ADS.....	147
6. ÉTUDE DE L'EFFET DE LA DENSITÉ OPTIQUE SUR EPARG/AMX ADS. ....	148
7. DÉTERMINATION DE LA DURÉE DE DÉTECTION DE LA BACTÉRIE PAR EPARG/AMX ADS. ....	150
8. ÉTUDE DE L'EFFET DU PH SUR EPARG/AMX ADS. ....	151
9. REPRODUCTIBILITÉ DES RÉSULTATS DE EPARG/AMX ADS. ....	151
<b>II. INTERACTION ENTRE L'ÉLECTRODE DE PÂTE D'ARGILE « MÈRE » (EPARG MÈRE) ET LA BACTÉRIE .....</b>	<b>151</b>
1. ÉTUDE DE L'EFFET DE LA DENSITÉ OPTIQUE SUR EPARG MÈRE .....	152
2. DÉTERMINATION DE LA LIMITE DE DÉTECTION DE EPARG MÈRE.....	153
3. DÉTERMINATION DE LA DURÉE DE DÉTECTION DE LA BACTÉRIE PAR EPARG MÈRE.....	153
4. ÉTUDE DE L'EFFET DU PH SUR EPARG MÈRE.....	154

5.	REPRODUCTIBILITÉ DES RÉSULTATS DE EPARG MÈRE .....	154
<b>III.</b>	<b>ELECTRODE DE PÂTE D'ARGILE MODIFIÉE AVEC L'AMOXICILLINE PAR MÉLANGE</b>	<b>155</b>
1.	CARACTÉRISATION PHYSIQUE ET ÉLECTROCHIMIQUE DE L'ÉLECTRODE DE PÂTE D'ARGILE AVANT ET APRÈS MODIFICATION PAR L'AMOXICILLINE .....	155
2.	ÉTUDE DE EPARG/AMX MÉL. EN FONCTION DU TEMPS DE CONTACT AVEC LA BACTÉRIE .....	156
3.	DENSITÉ OPTIQUE EN FONCTION DU TEMPS DE CONTACT DE EPARG/AMX MÉL. AVEC LA BACTÉRIE.....	159
4.	COMPARAISON DES DONNÉES DE LA DENSITÉ OPTIQUE DE EPARG/AMX ADS. ET EPARG/AMX MÉL. ..	160
5.	ÉTUDE DE L'EFFET DE LA DENSITÉ OPTIQUE SUR EPARG/AMX MÉL. ....	161
6.	DÉTERMINATION DE LA LIMITE DE DÉTECTION DE EPARG/AMX MÉL.....	162
7.	DÉTERMINATION DE LA DURÉE DE DÉTECTION DE LA BACTÉRIE PAR EPARG/AMX MÉL.....	162
8.	ÉTUDE DE L'EFFET DU PH SUR EPARG/AMX MÉL.....	163
9.	REPRODUCTIBILITÉ DES RÉSULTATS DE EPARG/AMX MÉL.....	163
<b>IV.</b>	<b>ETUDE COMPARATIVE DE EPARG MÈRE, EPARG/AMX ADS. ET EPARG/AMX MÉL..</b>	<b>164</b>
1.	COMPARAISON DE L'ÉLECTROACTIVITÉ DES ÉLECTRODES EN FONCTION DES PH.....	164
2.	COMPARAISON DES LIMITES DE DÉTECTION ET DE QUANTIFICATION DES ÉLECTRODES.....	165
3.	COMPARAISON DE LA DURÉE DE DÉTECTION DES ÉLECTRODES .....	165
	<b>CONCLUSION.....</b>	<b>166</b>
	<b>CHAPITRE VII : ETUDE COMPARATIVE DES BIOCAPTEURS ÉLECTROCHIMIQUES ÉTUDIÉS</b>	<b>167</b>
	<b>INTRODUCTION.....</b>	<b>168</b>
<b>I.</b>	<b>ETUDE COMPARATIVE DES BIOCAPTEURS ÉLECTROCHIMIQUES .....</b>	<b>168</b>
1.	ETUDE COMPARATIVE DES BIOCAPTEURS ÉLECTROCHIMIQUES OBTENUS PAR ADSORPTION EN PRÉSENCE DES BACTÉRIES .....	168
2.	ETUDE COMPARATIVE DES BIOCAPTEURS ÉLECTROCHIMIQUES OBTENUS PAR MÉLANGE EN PRÉSENCE DES BACTÉRIES .....	171
	<b>CONCLUSION GÉNÉRALE .....</b>	<b>176</b>

## Liste des figures

Figure 1 : Séquence de développement du noir de carbone .....	12
Figure 2 : Observations MEB du noir de carbone (Vulcain XC72R) mettant en évidence les dimensions des particules de noir de carbone ainsi que la formation d'agrégats <sup>24</sup> .....	13
Figure 3 : Diagramme de l'analyse modale approximative de l'échantillon de phosphorite numéro 138 .....	16
Figure 4 : Schéma de principe d'un biocapteur .....	20
Figure 5 : Les éléments et les composants d'un biocapteur typique <sup>47</sup> .....	21
Figure 6 : Définition d'un capteur .....	22
Figure 7 : Constitution d'une chaîne de mesure dans un capteur .....	23
Figure 8 : Schéma idéal de la réponse d'un capteur .....	24
Figure 9 : Schéma d'une électrode ionique et de la chaîne de mesure .....	28
Figure 10 : Présentation schématique de la diffusion du substrat S et du produit P dans une couche enzymatique fixée sur une électrode. ....	31
Figure 11 : Staphylocoque aureus en grappe.....	34
Figure 12 : Structure semi-développée de l'amoxicilline identifiant ses groupements ionisables et les cycles du noyau $\beta$ -lactamine .....	38
Figure 13 : Structure des pénicillines .....	38
Figure 14 : Structure du peptidoglycane .....	40
Figure 15 : Réaction de polymérisation du peptidoglycane <sup>107</sup> .....	41
Figure 16 : Structure des pénicillines et du D-Alanyl-D-Alanine .....	41
Figure 17 : Réaction de transpeptidation.....	43
Figure 18 : Inhibition de la transpeptidation par la bêta-lactame .....	43
Figure 19 : Interaction entre le faisceau d'électrons du MEB et l'échantillon à analyser .....	48
Figure 20 : Fonctionnement d'un microscope à balayage électronique .....	48
Figure 21 : Schéma d'un microscope optique en réflexion .....	49
Figure 22 : Schéma de principe d'un spectromètre FT-IR .....	49
Figure 23 : Diffraction des rayons X par une famille de plans réticulaires espacés d'une distance d... ..	50
Figure 24 : Principe de fonctionnement d'un diffractomètre de rayon X.....	50
Figure 25 : Courbe courant-potential théorique pour une réaction rapide $Ox + ne^- \leftrightarrow Red$ en régime de diffusion pure .....	52
Figure 26 : Rampe de potentiel en voltammétrie cyclique .....	55
Figure 27 : Voltammogramme cyclique d'un système réversible, $E_{p,a}$ et $E_{p,c}$ sont les potentiels de pics anodique et cathodique respectivement et $E_{p/2}$ le potentiel de demi-vague. ....	56
Figure 28 : Voltammogramme cyclique d'une réaction d'oxydation irréversible <sup>118</sup> .....	57
Figure 29 : Voltammogramme cyclique d'un système quasi-réversible, $E_{p,a/2}$ et $E_{p,c/2}$ sont les potentiels de demi-vague respectivement anodique et cathodique <sup>118</sup> .....	59
Figure 30 : Variation du potentiel au cours du temps lors d'une voltammétrie à vague carrée.....	60
Figure 31 : Réponse en courant en fonction du potentiel lors d'une voltammétrie à vague carrée ...	60
Figure 32 : Exemple de courbe courant-tension.....	63
Figure 33 : Circuit résistance-condensateur en série.....	67
Figure 34 : Diagramme de Nyquist de l'impédance.....	67
Figure 35 : Diagramme de Bode .....	67
Figure 36 : Circuit résistance-condensateur en parallèle.....	68
Figure 37 : Diagramme de Nyquist de l'impédance pour résistante-condensateur en parallèle.....	69
Figure 38 : Diagramme de Bode d'un circuit résistance-condensateur en parallèle .....	69
Figure 39 : Modèle électrique de l'interface électrode/solution.....	69
Figure 40 : Diagramme de Nyquist de l'impédance pour un circuit de Randels.....	71
Figure 41 : Poudre commerciale de graphite.....	73
Figure 42 : Poudre de phosphate naturel .....	74
Figure 43. Topographie électronique de l'argile Camerounaise .....	74
Figure 44 : Poudre d'argile.....	75
Figure 45 : (a) Electrode sans la pâte de carbone ; (b) Electrode avec la pâte de carbone.....	75

Figure 46 : Electrode de pâte de phosphate naturel.....	76
Figure 48 : Microscope optique monoculaire MOTIC série F .....	77
Figure 50 : Schéma du montage expérimental .....	78
Figure 51 : Protocole de la culture des staphylocoques dorées .....	82
Figure 52 : Superposition des voltammogrammes cycliques de l'EPC mère à différentes vitesses de balayage 10, 20, 30, 50 et 100 mV/s dans NaCl à 0,1 M ; de -2V à 2V.....	86
Figure 53 : Superposition des voltammogrammes cycliques de l'EPC non modifiée et EPC modifiée par l'amoxicilline aux différents temps de dépôt, dans NaCl à 0,1 M ; v = 100mV/s, de -2V à 2V, pH = 7,42.....	87
Figure 54 : Electrode de pâte de carbone avant modification (a) et après modification par l'amoxicilline, 20 mn de temps de dépôt (b).....	88
Figure 55 : Superposition des voltammogrammes cycliques de EPC/AMX ads. sans bactéries (a) et EPC/AMX ads. avec bactéries (b) , dans NaCl à 0,1 M ; v = 100mV/s, de -2V à 2V ; pH = 7,42.....	89
Figure 56 : Voltammogramme cyclique de l'électrode d'amoxicilline pur dans NaCl à 0,1 M ; v = 100mV/s, de -2V à 2V ; pH = 7,42 .....	90
Figure 57 : Voltammogrammes à ondes carrées de EPC/AMX ads. sans bactéries (a) et EPC/AMX ads. avec bactéries (b), dans NaCl à 0,1 M ; v = 20mV/s, de -2V à 2V ; pH = 7,42.....	90
Figure 58 : Superposition des voltammogrammes cycliques de EPC/AMX ads. sans bactéries (a) et EPC/AMX ads. en fonction du temps de contact avec la bactérie (b), dans NaCl à 0,1 M ; v = 100mV/s, de -2V à 2V ; pH = 7,42 .....	91
Figure 59 : Superposition des voltammogrammes à ondes carrées de l'électrode de EPC/AMX ads. sans bactéries et EPC/AMX ads. en fonction du temps de contact avec la bactérie, dans NaCl à 0,1 M ; v = 20mV/s, de -2V à 2V ; pH = 7,42 .....	91
Figure 60 : Densité du courant en fonction du temps de contact de EPC/AMX ads. avec la bactérie..	92
Figure 61 : Structure des pénicillines et du D-Alanyl-D-Alanine .....	93
Figure 62 : Mécanisme de l'ouverture du noyau $\beta$ -lactame .....	93
Figure 63 : Densité optique en fonction du temps de contact de EPC/AMX ads. avec la bactérie.....	94
Figure 64 : Superposition des voltammogrammes cycliques de EPC mère, EPC/AMX ads. sans bactéries et EPC/AMX ads. après 2h20mn de contact avec la bactérie, dans NaCl à 0,1 M ; v = 100mV/s, de -2V à 2V ; pH = 7,42 .....	96
Figure 65 : Electrode de pâte de carbone mère (a), après modification par l'amoxicilline (b) et après 2h20min de temps de contact avec la bactérie (c).....	96
Figure 66 : Superposition des voltammogrammes à ondes carrées de EPC/AMX ads. modifiées à différentes concentrations de l'antibiotique en présence des bactéries dans NaCl à 0,1 M ; v = 20mV/s, de -2V à 2V ; pH = 7,42 .....	97
Figure 67 : Densité optique en fonction de la concentration de l'amoxicilline à la surface de EPC/AMX ads.....	98
Figure 68 : Superposition des voltammogrammes cycliques de EPC/AMX ads. à blanc et EPC/AMX ads. (10g/L) en présence des bactéries à différentes densités optiques dans NaCl à 0,1 M ; v = 100mV/s, de -2V à 2V ; pH = 7,42 .....	99
Figure 69 : Superposition des voltammogrammes à ondes carrées de EPC/AMX ads. à blanc et EPC/AMX ads. (10g/L) en présence des bactéries à différentes densités optiques dans NaCl à 0,1 M ; v = 100mV/s, de -2V à 2V ; pH = 7,42 .....	99
Figure 70 : Densité de courant (EPC/AMX ads.) en fonction de la densité optique .....	100
Figure 71 : voltammogrammes cycliques de EPC/AMX ads. en présence des bactéries pendant 50 cycles dans NaCl à 0,1 M ; v = 100mV/s, de -2V à 2V ; pH = 7,42 .....	101
Figure 72 : Comparaison des voltammogrammes cycliques de EPC/AMX ads. à blanc et en présence des bactéries après 50 cycles dans NaCl à 0,1 M ; v = 100mV/s, de -2V à 2V ; pH = 7,42 .....	102
Figure 73 : Superposition des voltammogrammes cycliques de EPC/AMX ads à différents pH en présence des bactéries dans NaCl à 0,1 M ; v = 100mV/s, de -2V à 2V .....	103
Figure 74 : Electrode de pâte de carbone avant modification (a) et après modification par l'amoxicilline : 50 % poudre de carbone + 50% poudre d'amoxicilline (b) .....	104
Figure 75 : Superposition des voltammogrammes cycliques de EPC mère et EPC/AMX mél. à blanc dans NaCl à 0,1 M ; v = 100mV/s, de -2V à 2V ; pH = 7,42 .....	104



Figure 76 : Superposition des voltammogrammes cycliques de EPC/AMX mél. à blanc et EPC/AMX mél. à différents temps de contact avec les staphylocoques dans NaCl à 0,1 M ; $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ; pH = 7,42.....	105
Figure 77 : Densité de courant en fonction du temps de contact de EPC/AMX mél. avec la bactérie	105
Figure 78 : Densité optique en fonction du temps de contact de EPC/AMX mél. avec la bactérie ....	106
Figure 79 : EPC mère (a), EPC/AMX mél. avant le contact avec les bactéries (b) et après 2h20 mn de contact avec les bactéries (c) .....	107
Figure 80 : Superposition des voltammogrammes cycliques de l'EPC mère (a), EPC/AMX mél. avant le contact avec les bactéries (b) et après 2h20 mn de contact avec les bactéries (c) dans NaCl à 0,1 M ; $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ; pH = 7,42 .....	107
Figure 81 : Comparaison des données de la densité optique de EPC/AMX ads. et EPC/AMX mél..	108
Figure 82 : Micrographie électronique de phosphate naturel .....	111
Figure 83 : Spectre de diffraction X de phosphate naturel après traitement .....	112
Figure 84 : Spectre d'adsorption infrarouge de phosphate naturel calciné à 900°C .....	112
Figure 85 : Superposition des voltammogrammes cycliques de EPN à différentes vitesses de balayage, dans NaCl à 0,1 M ; $v = 10, 20, 30, 50$ et $100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V, pH = 7,42 .....	113
Figure 86 : Superposition des voltammogrammes cycliques de l'EPN non modifiée et EPN modifiée par l'amoxicilline aux différents temps de dépôt, dans NaCl à 0,1 M ; $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V, pH = 7,42.....	114
Figure 87 : Electrode de phosphate naturel avant modification (a) et après modification par l'amoxicilline, 10 min de temps de dépôt (b).....	115
Figure 88 : Superposition des voltammogrammes cycliques de EPN/AMX ads. sans bactéries (a) et EPN/AMX ads. en fonction du temps de contact avec la bactérie (b), dans NaCl à 0,1 M ; $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ; pH = 7,42 .....	115
Figure 89 : Superposition des spectres d'impédance électrochimique de EPN/AMX ads. sans bactéries et EPN/AMX ads. en fonction du temps de contact avec la bactérie, dans NaCl à 0,1 de 100 mHz à 100 kHz, pH = 7,42 .....	116
Figure 90 : Densité optique en fonction du temps de contact de EPN/AMX ads. avec la bactérie.....	117
Figure 91 : Superposition des voltammogrammes cycliques de EPN mère, EPN/AMX ads. sans bactéries et EPN/AMX ads.après 2h20mn de contact avec la bactérie, dans NaCl à 0,1 M ; $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ; pH = 7,42 .....	117
Figure 92 : Electrode de phosphate naturel mère (a), après modification par l'amoxicilline (b) et après 2h20 min de temps de contact avec la bactérie (c).....	118
Figure 93 : Superposition des voltammogrammes cycliques de EPN mère, EPN/AMX ads. modifiées à différentes concentrations de l'antibiotique en présence des bactéries dans NaCl à 0,1 M ; $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ; pH = 7,42 .....	118
Figure 94 : Densité du courant en fonction du temps de contact de EPN/AMX ads. avec la bactérie	119
Figure 95 : Superposition des spectres d'impédance électrochimique EPN mère, EPN/AMX ads. modifiées à différentes concentrations de l'antibiotique en présence des bactéries, dans NaCl à 0,1 de 100 mHz à 100 kHz, pH = 7,42.....	119
Figure 96 : Superposition des voltammogrammes à ondes carrées de EPN/AMX à blanc et EPN/AMX ads. (30g/L) en présence des bactéries dans NaCl à 0,1 M ; $v = 200\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ; pH = 7,42	120
Figure 97 : Densité optique en fonction de la concentration de l'amoxicilline (EPN/AMX ads.).....	121
Figure 98 : Superposition des voltammogrammes cycliques de EPN/AMX à blanc et EPN/AMX ads. (30g/L) en présence des bactéries à différentes densités optiques dans NaCl à 0,1 M ; $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ; pH = 7,42.....	122
Figure 99 : Superposition des voltammogrammes à ondes carrées de EPN/AMX ads. à blanc et EPN/AMX ads. (30g/L) en présence des bactéries à différentes densités optiques dans NaCl à 0,1 M ; $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ; pH = 7,42 .....	123
Figure 100 : Densité de courant en fonction de la densité optique (EPN/AMX ads.).....	123
Figure 101 : Voltammogrammes cycliques de EPN/AMX ads. en présence des bactéries pendant 50 cycles dans NaCl à 0,1 M ; $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ; pH = 7,42 .....	124
Figure 102 : Comparaison des voltammogrammes cycliques de EPN/AMX ads. à blanc et en présence des bactéries après 50 cycles dans NaCl à 0,1 M ; $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ; pH = 7,42 .....	124

Figure 103 : Superposition des voltammogrammes cycliques de EPN/AMX ads. à différents pH en présence des bactéries dans NaCl à 0,1 M ; $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V .....	125
Figure 105 : Superposition des voltammogrammes cycliques de EPN mère et EPN/AMX mél. à blanc dans NaCl à 0,1 M ; $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ; pH = 7,42 .....	127
Figure 106: Superposition des voltammogrammes cycliques de EPN/AMX mél. à blanc et EPN/AMX mél. à différents temps de contact avec les staphylocoques dans NaCl à 0,1 M ; $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ; pH = 7,42 .....	127
Figure 107 : Densité de courant en fonction du temps de contact avec la bactérie (EPN/AMX mél.)	128
Figure 108 : Résistance de polarisation en fonction du temps de contact de EPN/AMX mél. avec la bactérie .....	129
Figure 109 : Densité optique en fonction du temps de contact avec la bactérie (EPN/AMX mél.) .....	130
Figure 110 : Superposition des voltammogrammes cycliques de EPN/AMX mél. à blanc et EPN/AMX mél. en présence des bactéries à différentes densités optiques dans NaCl à 0,1 M ; $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ; pH = 7,42 .....	131
Figure 111 : Superposition des voltammogrammes à ondes carrées de EPN/AMX mél. à blanc et EPN/AMX mél. (30g/L) en présence des bactéries à différentes densités optiques dans NaCl à 0,1 M ; $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ; pH = 7,42 .....	131
Figure 112 : Densité de courant en fonction de la densité optique (EPN/AMX mél.) .....	132
Figure 113 : voltammogrammes cycliques de EPN/AMX mél. en présence des bactéries pendant 50 cycles dans NaCl à 0,1 M ; $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ; pH = 7,42 .....	132
Figure 114 : Comparaison des voltammogrammes cycliques de EPN/AMX mél. à blanc et en présence des bactéries après 50 cycles dans NaCl à 0,1 M ; $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ; pH = 7,42 .....	133
Figure 115: Superposition des voltammogrammes cycliques de EPN/AMX mél. à différents pH en présence des bactéries dans NaCl à 0,1 M ; $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V .....	133
Figure 116 : Superposition des voltammogrammes à ondes carrées de EPN/AMX ads. et EPN/AMX mél. à un pH de 7,42 en présence des bactéries dans NaCl à 0,1 M ; $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V .....	134
Figure 117 : Superposition des voltammogrammes cycliques de EPN/AMX ads. et EPN/AMX mél. à un pH de 4,22 en présence des bactéries dans NaCl à 0,1 M ; $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V .....	134
Figure 118 : Superposition des voltammogrammes cycliques de EPN/AMX ads. et EPN/AMX mél. à un pH de 8,68 en présence des bactéries dans NaCl à 0,1 M ; $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V .....	134
Figure 119 : Comparaison des données de la densité optique de EPN/AMX ads. et EPN/AMX mél.	136
Figure 120 : Micrographie électronique de l'argile .....	139
Figure 121 : Spectre de diffraction des rayons X de l'argile .....	140
Figure 122: Spectre infrarouge de l'argile .....	140
Figure 123 : Superposition des voltammogrammes cycliques de l'EPArg à différentes vitesses de balayage, dans NaCl à 0,1 M ; $v = 20, 30, 50$ et $100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V, pH = 7,42 .....	141
Figure 124 : Superposition des voltammogrammes cycliques de l'EPArg non modifiée et EPArg modifiée par l'amoxicilline aux différents temps de dépôt, dans NaCl à 0,1 M ; $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V, pH = 7,42 .....	142
Figure 125 : Superposition des voltammogrammes à ondes carrées de l'EPArg non modifiée et EPArg modifiée par l'amoxicilline aux différents temps de dépôt, dans NaCl à 0,1 de -2V à 2V $v = 20\text{mV/s}$ , pH = 7,42 .....	142
Figure 126 : Electrode de pâte d'argile avant modification (a) et après modification par l'amoxicilline, 10 mn de temps de dépôt (b) .....	143
Figure 127 : Superposition des voltammogrammes cycliques de EPArg/AMX ads. sans bactéries (a) et EPArg/AMX ads. en fonction du temps de contact avec la bactérie (b), dans NaCl à 0,1 M ; $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ; pH = 7,42 .....	143
Figure 128 : Densité du courant en fonction du temps de contact de EPArg/AMX ads. avec la bactérie .....	144
Figure 129 : Superposition des spectres d'impédance électrochimique de EPArg/AMX ads. sans bactéries et EPArg/AMX ads. en fonction du temps de contact avec la bactérie, dans NaCl à 0,1 de 100 mHz à 100 kHz, pH = 7,42 .....	144
Figure 130 : Densité optique en fonction du temps de contact avec la bactérie (EPArg/AMX ads.) .	145

Figure 131 : Superposition des voltammogrammes cycliques de EPArg mère, EPArg/AMX ads. sans bactéries et EPArg/AMX ads. après 2h20mn de contact avec la bactérie, dans NaCl à 0,1 M ; $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ; $\text{pH} = 7,42$ .....	146
Figure 132 : Electrode de pâte d'argile mère (a), après modification par l'amoxicilline (b) et après 2h20min de temps de contact avec la bactérie (c) .....	146
Figure 133 : Superposition des voltammogrammes à ondes carrées de EPArg mère sans bactéries et EPArg mère en présence des bactéries dans NaCl à 0,1 M ; $v = 20\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ; $\text{pH} = 7,42$ ..	147
Figure 134 : Superposition des voltammogrammes à ondes carrées de EPArg/AMX ads. à blanc et EPArg/AMX ads. (10g/L) en présence des bactéries dans NaCl à 0,1 M ; $v = 20\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ; $\text{pH} = 7,42$ .....	147
Figure 135 : Densité optique en fonction de la concentration de l'amoxicilline à la surface de EPArg/AMX ads. ....	148
Figure 136 : Superposition des voltammogrammes cycliques de EPArg/AMX ads. à blanc et EPArg/AMX ads. (10g/L) en présence des bactéries à différentes densités optiques dans NaCl à 0,1 M ; $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ; $\text{pH} = 7,42$ .....	148
Figure 137 : Superposition des voltammogrammes à ondes carrées de EPArg/AMX ads. à blanc et EPArg/AMX ads. (10g/L) en présence des bactéries à différentes densités optiques dans NaCl à 0,1 M ; $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ; $\text{pH} = 7,42$ .....	149
Figure 138: Densité de courant en fonction de la densité optique (EPArg/AMX ads.) .....	149
Figure 139: Voltammogrammes cycliques de EPArg/AMX ads. en présence des bactéries pendant 50 cycles dans NaCl à 0,1 M ; $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ; $\text{pH} = 7,42$ .....	150
Figure 140: Comparaison des voltammogrammes cycliques de EPArg/AMX ads à blanc et en présence des bactéries après 50 cycles dans NaCl à 0,1 M ; $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ; $\text{pH} = 7,42$ .....	150
Figure 141: Superposition des voltammogrammes cycliques de EPArg/AMX ads. à différents pH en présence des bactéries dans NaCl à 0,1 M ; $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V .....	151
Figure 142: Superposition des voltammogrammes cycliques de EPArg mère à blanc et avec bactéries en fonction de la densité optique dans NaCl à 0,1 M ; $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ; $\text{pH} = 7,42$ .....	152
Figure 143: Densité de courant en fonction de la variation de la densité optique (EPArg mère) .....	152
Figure 144: Voltammogrammes cycliques de EPArg mère en présence des bactéries pendant 50 cycles dans NaCl à 0,1 M ; $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ; $\text{pH} = 7,42$ .....	153
Figure 145: Comparaison des voltammogrammes cycliques de EPArg mère à blanc et en présence des bactéries après 50 cycles dans NaCl à 0,1 M ; $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ; $\text{pH} = 7,42$ .....	154
Figure 146 : Superposition des voltammogrammes à ondes carrées de EPArg mère à différents pH en présence des bactéries dans NaCl à 0,1 M ; $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V .....	154
Figure 147 : Electrode de pâte d'argile avant modification (a) et après modification par l'amoxicilline : 50 % poudre de carbone + 50% poudre d'amoxicilline (b).....	155
Figure 148 : Superposition des voltammogrammes cycliques de EPArg mère et EPArg/AMX mél. à blanc dans NaCl à 0,1 M ; $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ; $\text{pH} = 7,42$ .....	156
Figure 149 : Superposition des voltammogrammes cycliques de EPArg/AMX mél. à blanc et EPArg/AMX mél. à différents temps de contact avec les staphylocoques dans NaCl à 0,1 M ; $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ; $\text{pH} = 7,42$ .....	157
Figure 150 : Superposition des voltammogrammes à ondes carrées de EPArg/AMX mél. à différents temps de contact avec les staphylocoques dans NaCl à 0,1 M ; $v = 20\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ; $\text{pH} = 7,42$ .....	157
Figure 151 : Densité de courant en fonction du temps de contact de EPArg/AMX mél. avec la bactérie .....	158
Figure 152 : EPArg mère (a), EPArg/AMX mélange avant le contact avec les bactéries (b) et après 2h20 mn de contact avec les bactéries (c) .....	158
Figure 153 : Superposition des voltammogrammes cycliques de l'EPC mère (a), EPC/AMX mél. avant le contact avec les bactéries (b) et après 2h20 mn de contact avec les bactéries (c) dans NaCl à 0,1 M ; $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ; $\text{pH} = 7,42$ .....	159
Figure 154 : Densité optique en fonction du temps de contact de EPArg/AMX mél. avec la bactérie	160
Figure 155 : Comparaison des données de la densité optique de l'EPArg/AMX ads. et l'EPArg/AMX mél. ....	160

Figure 156 : Superposition des voltammogrammes cycliques de EPArg/AMX mél. à blanc et EPArg/AMX mél. en présence des bactéries à différentes densités optiques dans NaCl à 0,1 M ; $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ; $\text{pH} = 7,42$ .....	161
Figure 157 : Superposition des voltammogrammes à ondes carrées de EPArg/AMX mél. à blanc et EPArg/AMX mél. (10g/L) en présence des bactéries à différentes densités optiques dans NaCl à 0,1 M ; $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ; $\text{pH} = 7,42$ .....	162
Figure 158 : Densité de courant en fonction de la densité optique (EPArg/AMX mél).....	162
Figure 160 : Superposition des voltammogrammes à ondes carrées de EPArg/AMX mél. à différents pH en présence des bactéries dans NaCl à 0,1 M ; $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V .....	163
Figure 161 : Superposition des voltammogrammes cycliques de EPArg mère, EPArg/AMX ads. et EPArg/AMX mél. à un pH de 7,42 en présence des bactéries dans NaCl à 0,1 M ; $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V .....	164
Figure 162 : Superposition des voltammogrammes à ondes carrées de EPArg mère, EPArg/AMX ads. et EPArg/AMX mél. à un pH de 7,42 en présence des bactéries dans NaCl à 0,1 M ; $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V .....	164
Figure 163 : Superposition des voltammogrammes cycliques de EPArg mère, EPArg/AMX ads. et EPArg/AMX mél. à un pH de 4,22 en présence des bactéries dans NaCl à 0,1 M ; $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V .....	164
Figure 164 : Superposition des voltammogrammes à ondes carrées de EPArg mère, EPArg/AMX ads. et EPArg/AMX mél. à un pH de 4,22 en présence des bactéries dans NaCl à 0,1 M ; $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V .....	164
Figure 165 : Superposition des voltammogrammes cycliques de EPArg mère, EPArg/AMX ads. et EPArg/AMX mél. à un pH de 8,68 en présence des bactéries dans NaCl à 0,1 M ; $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V .....	165
Figure 166 : Superposition des voltammogrammes à ondes carrées de EPArg mère, EPArg/AMX ads. et EPArg/AMX mél. à un pH de 8,68 en présence des bactéries dans NaCl à 0,1 M ; $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V .....	165
Figure 167 : Superposition des voltammogrammes cycliques de EPArg mère, EPArg/AMX ads. et EPArg/AMX mél. après 50 cycles en présence des bactéries dans NaCl à 0,1 M ; $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ; $\text{pH} = 7,42$ .....	166
Figure 168 : Superposition des voltammogrammes cyclique de EPC/AMX ads., EPN/AMX ads. et EPArg/AMX ads. optimisés en présence des bactéries dans NaCl à 0,1 M ; $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ; $\text{pH} = 7,42$ .....	168
Figure 169: Superposition des voltammogrammes cyclique de EPC/AMX ads., EPN/AMX ads. et EPArg/AMX ads. optimisés en présence des bactéries dans NaCl à 0,1 M ; $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ; $\text{pH} = 4,22$ .....	169
Figure 170 : Superposition des voltammogrammes cyclique de EPC/AMX ads., EPN/AMX ads. et EPArg/AMX ads. optimisés en présence des bactéries dans NaCl à 0,1 M ; $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ; $\text{pH} = 8,68$ .....	170
Figure 171: Superposition des voltammogrammes cycliques de EPN/AMX mél. et EPArg/AMX mél. en présence des bactéries dans NaCl à 0,1 M ; $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ; $\text{pH} = 7,42$ .....	172
Figure 172 : Superposition des voltammogrammes cycliques de EPN/AMX mél. et EPArg/AMX mél. en présence des bactéries dans NaCl à 0,1 M ; $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ; $\text{pH} = 4,22$ .....	173
Figure 173: Superposition des voltammogrammes cycliques de EPN/AMX mél. et EPArg/AMX mél. en présence des bactéries dans NaCl à 0,1 M ; $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ; $\text{pH} = 8,68$ .....	174

## Liste des tableaux

Tableau 1. Les principaux matériaux utilisés dans l'élaboration d'électrodes industrielles .....	9
Tableau 2 : comparaison des différents procédés d'obtention des noirs de carbone.....	11
Tableau 3 : Applications des biosenseurs .....	22
Tableau 4 : Caractéristique électrique de la grandeur de sortie (capteur passif) .....	25
Tableau 5 : Caractéristiques électriques de la grandeur de sortie (capteur actif) .....	25
Tableau 6 : Typologie des capteurs électrochimiques.....	26
Tableau 7 : Exemples des biocapteurs potentiométriques appliqués dans le contrôle environnemental. .....	29
Tableau 8 : Exemples des biocapteurs ampérométriques enzymatiques pour la détection des polluants. .....	31
Tableau 9 : Densité du courant en fonction du temps de contact de EPC/AMX ads. avec la bactérie .	92
Tableau 10 : Densité optique en fonction du temps de contact de EPC/AMX ads. Avec la bactérie ...	94
Tableau 11 : Paramètres électrochimiques relatifs à l'effet du temps de contact de EPC/AMX ads. avec la bactérie .....	95
Tableau 12 : Densité de courant en fonction de la concentration de l'amoxicilline à la surface de EPC/AMX ads.....	97
Tableau 13 : Densité optique en fonction de la concentration de l'amoxicilline à la surface de EPC/AMX ads.....	98
Tableau 14 : Densité de courant (EPC/AMX ads.) en fonction de la densité optique .....	100
Tableau 15 : Densité de courant de l'EPC/AMX mél. en fonction du temps de contact avec la bactérie .....	105
Tableau 16 : Densité optique en fonction du temps de contact de EPC/AMX mél. avec la bactérie..	106
Tableau 17 : Comparaison des données de la densité optique EPC/AMX ads. et EPC/AMX mél. ....	108
Tableau 18 : Paramètres des spectres d'impédance électrochimiques de EPN/AMX ads. ....	116
Tableau 19 : Densité optique en fonction du temps de contact de EPN/AMX ads. avec la bactérie ..	117
Tableau 20 : Densité de courant en fonction de la concentration de l'amoxicilline à la surface de EPN/AMX ads.....	119
Tableau 21 : Paramètres des spectres d'impédance électrochimique de EPN/AMX ads. en fonction de [AMX].....	120
Tableau 22 : Densité optique fonction de la concentration d'amoxicilline à la surface de EPN/AMX ads.....	121
Tableau 23 : Densité de courant en fonction de la densité optique (EPN/AMX ads.) .....	123
Tableau 24 : Densité de courant de l'EPN/AMX mél. en fonction du temps de contact avec la bactérie .....	128
Tableau 25 : Paramètres électrochimiques des courbes de polarisation des électrodes EPN/AMX mél. à blanc et EPN/AMX mél. en présence des bactéries.....	129
Tableau 26 : Densité optique en fonction du temps de contact de EPN/AMX mél.avec la bactérie...	130
Tableau 27 : Densité de courant en fonction de la densité optique (EPN/AMX mél.).....	131
Tableau 28 : Comparaison des limites de détection et de quantification de EPN/AMX ads. et EPN/AMX mél. ....	135
Tableau 29 : Comparaison des données de la densité optique de l'EPN/AMX ads. et l'EPN/AMX mél. .....	135
Tableau 30 : Densité du courant en fonction du temps de contact de EPArg/AMX ads avec la bactérie .....	144
Tableau 31 : Paramètres des spectres d'impédance électrochimiques de EPArg/AMX ads. ....	145
Tableau 32 : Densité optique en fonction du temps de contact de EPArg/AMX ads. avec la bactérie	145
Tableau 33 : Densité optique fonction de la concentration d'amoxicilline à la surface de EPArg/AMX ads.....	147
Tableau 34 : Densité de courant en fonction de la densité optique (EPArg/AMX ads.).....	149
Tableau 35 : Densité de courant en fonction de la variation de la densité optique (EPArg mère).....	152
Tableau 36 : Densité de courant de EPArg/AMX mél. en fonction du temps de contact avec la bactérie .....	157

Tableau 37 : Densité optique en fonction du temps de contact de EPArg/AMX mél. avec la bactérie .....	159
Tableau 38 : Comparaison des données de la densité optique de l'EPArg/AMX ads. et l'EPArg/AMX mél. ....	160
Tableau 39 : Densité de courant en fonction de la densité optique (EPArg/AMX mél.) .....	162
Tableau 40 : Comparaison des limites de détection et de quantification des électrodes issues de l'argile .....	165
Tableau 41 : Paramètres optimaux des électrodes sélectionnées en milieu neutre.....	168
Tableau 42 : Paramètres électrochimiques de EPC/AMX ads., EPN/AMX ads. et EPArg/AMX ads. optimisées en présence de bactéries dans un milieu neutre.....	169
Tableau 43 : Paramètres optimaux des électrodes sélectionnées en milieu acide .....	169
Tableau 44 : Paramètres électrochimiques de EPC/AMX ads., EPN/AMX ads. et EPArg/AMX ads. optimisées en présence de bactéries dans un milieu acide. ....	170
Tableau 45 : Paramètres optimaux des électrodes sélectionnées en milieu basique .....	170
Tableau 46 : Paramètres électrochimiques de EPC/AMX ads., EPN/AMX ads. et EPArg/AMX ads. optimisées en présence de bactéries dans un milieu basique.....	171
Tableau 47 : Comparaison des limites de détection et de quantification de EPC/AMX, EPN/AMX et EPArg/AMX obtenus par adsorption .....	171
Tableau 48 : Paramètres déduits des courbes de polarisation de EPN/AMX mél. et EPArg/AMX mél. modifiées par l'amoxicilline en présence des bactéries en milieu neutre.....	172
Tableau 49 : Paramètres déduits des courbes de polarisation de EPN/AMX mél. et EPArg/AMX mél. modifiées par l'amoxicilline en présence des bactéries en milieu acide. ....	173
Tableau 50 : Paramètres déduits des courbes de polarisation de EPN/AMX mél. et EPArg/AMX mél. modifiées par l'amoxicilline en présence des bactéries en milieu basique.....	174
Tableau 51 : Comparaison des limites de détection et de quantification de EPN/AMX et EPArg/AMX obtenus par mélange .....	174
Tableau 52 : Récapitulatif des caractéristiques des biocapteurs selon leurs performances.....	175

## Liste des abréviations

- $A$  : Aire de l'électrode  
 $AMX$  = Amoxicilline  
 $a_{ox}$  : Activité de la forme oxydée de l'analyte  
 $a_{red}$  : Activité de la forme réduite de l'analyte  
 $B_a$  : Borne anodique  
 $B_c$  : Borne cathodique  
 $BPL$  : Bone Phosphate Lime  
 $C$  : Capacité  
 $C$  : Concentration de l'espèce en solution  
 $C_{dl}$  : Capacité double couche  
 $ChemFET$  : Chemical field effect transistor  
 $C_{ox}^{sol}$  : Concentrations des espèces Ox en solution  
 $C_{red}^{sol}$  : Concentrations des espèces réduites en solution  
 $C_{ox}^*$  : Concentrations de Ox à la surface de l'électrode  
 $C_{red}^*$  : Concentrations de Red à la surface de l'électrode  
 $CEE$  : Circuit électrique équivalent  
 $CME$  : Concentration minimale efficace  
 $CPE$  : Éléments à phase constante  
 $D$  : Coefficient de diffusion  
 $DO$  = Densité Optique  
 $DRX$  : Diffraction des rayons X  
 $DS$  : Déviation standard (SD)  
 $E_o$  : Potentiel standard  
 $ECS$  : Électrode de référence au calomel  
 $EDX$  : Energy dispersive X-ray analysis: analyse par spectrométrie à dispersion d'énergie  
 $ENH$  : Électrode Normale à Hydrogène  
 $E_{eq}$  : Potentiel d'équilibre  
 $E_{1/2}$  : Potentiel de demi vague  
 $E_p$  : Potentiel de pic  
 $EIS$  : Spectroscopie d'Impédance Electrochimique  
 $EPA_{rg}$  = Electrode de pâte d'argile  
 $EPC$  = Electrode de pâte de carbone

*EPN* = Electrode de phosphate naturel

*f* : Fréquence

*F* : Constante de Faraday

*I* : Intensité du courant

*I<sub>c</sub>* : Courant capacitif

*I<sub>f</sub>* : Courant faradique

*I<sub>p</sub>* : Courant de polarisation

*IFDC* : Centre international pour la fertilité du sol et le développement agricole, auparavant Centre international pour le développement des engrais (International Fertilizer Development Center)

*ISE* : Ion sensitive électrode

*j* : Nombre complexe

*j* : Densité du Courant

*j<sup>o</sup>* : Densité de courant d'échange à l'équilibre

*K<sub>sp</sub>* : Appelée produit de solubilité

*k<sub>a</sub>* : Constance de vitesse caractéristique du processus d'oxydation

*k<sub>c</sub>* : Constance de vitesse caractéristique du processus de réduction

*LD* : Limite de détection

*LQ* : Limite de quantification

*MEB* : Microscopie électronique à balayage

*MS* : Spectroscopie de masse

*n* : Nombre d'électron

*N<sub>ox</sub>* : Nombre de moles produites

*N<sub>red</sub>* : Nombre de moles consommées

*O<sub>x</sub>* : Forme oxydante

*PEH* : Plan externe de Helmholtz

*pH* : Potentiel d'Hydrogène

*PIH* : Plan interne de Helmholtz

*PLP* = Protéines Liant les Pénicillines

*PN* : Phosphate naturel

*Pt* : Platine

*PVC* : Chlorure de polyvinyle

*Q* : Charge électrique totale

*Q<sub>c</sub>* : Charges capacitives

*Q<sub>dl</sub>* : Charge surfacique



$Q_f$  : Charge faradique  
 $R$  : Constante des gaz parfaits  
 $R_p$  : Résistance de polarisation  
 $R_s$  : Résistance d'électrolyte  
 $R_{tc}$  : Résistance de transfert de charge  
 $SEA$  : Surface électroactive  
 $SAA$  : Spectroscopie d'absorption atomique  
 $SWV$  : Square wave  
 $T$  : Température absolue  
 $v$  : Vitesse de balayage  
 $VC$  : Voltammétrie cyclique  
 $VL$  : Voltammétrie linéaire  
 $Z$  : Impédance  
 $|Z|$  : Module de l'impédance  
 $C_{PEZ}$  : Élément à phase constante  
 $Z_{img}$  : Impédance imaginaire  
 $Z_{re}$  : Impédance réelle  
 $\alpha$  : Déphasage  
 $\eta$  : Surtension  
 $\phi$  : Déphasage  
 $\varepsilon$  : Efficacité inhibitrice  
 $n$  : Nombres d'électrons échangés  
 $\theta$  : Taux de recouvrement  
 $t$  : Temps  
 $\tau$  : Taux d'inhibition  
 $u$  : Mesure de la corrosion  
 $v$  : Vitesse de balayage  
 $\omega$  : Pulsation  
 $\chi(\sigma t.)$  : Fonction de E  
 $\psi$  : Fonction tabul

# RÉSUMÉ

Depuis 1962 et la première mesure électrochimique de concentration en glucose par Clark et Lyons, l'intérêt porté aux capteurs ne cesse de croître, stimulé par leurs nombreuses applications. Les méthodes de détection électrochimiques disposent aujourd'hui d'atouts considérables permettant de lever plusieurs verrous techniques dans ce domaine. Les possibilités offertes par ces méthodes de modification d'électrode sont l'essence de plusieurs recherches et études des biocapteurs dès le début des années 80. L'objectif de ce travail est double, dans un premier temps nous avons procédé à la fonctionnalisation des électrodes de pâte de carbone, de pâte de phosphate naturel et de pâte d'argile par l'amoxicilline incorporant à chaque fois le matériau constituant l'électrode soit par adsorption, soit par mélange. Les électrodes modifiées ont été ensuite caractérisées en présence des bactéries par la voltammétrie cyclique, à ondes carrées, linéaire et par la spectroscopie d'impédance électrochimique qui vient confirmer les phénomènes interfaciaux liés au courant capacitif produit par la double couche électrique.

Dans un second lieu, nous avons réalisé une comparaison entre les courbes simulées et les réponses électrochimiques obtenues expérimentalement. Ceci nous a permis d'évaluer certains paramètres spécifiques tels que la sensibilité, la limite de détection, la limite de quantification, la reproductibilité ...

**Mots clés** : Electrodes modifiées, capteur électrochimique, amoxicilline, bactéries (*staphylocoque aureus*), Voltammétrie cyclique, Voltammétrie à ondes carrées, Voltammétrie linéaire, Spectroscopie d'Impédance Electrochimique.

# ABSTRACT

Since 1962 where the first electrochemical measurement of glucose concentration took place by Clark and Lyons, the interest in sensors continues to grow, driven by their various applications. Today's electrochemical detection methods have considerable assets to eliminate many technical hindrances in this field. The possibilities offered by these methods of electrode modification have been the essence of several researches and studies of biosensors in the early 80s.

The objective of this work is twofold. On one hand we made the functionalization of carbon paste electrodes, of rock(or natural) phosphate paste, and of clay paste with amoxicillin incorporating each time the electrode material either by adsorption, or by mixing. The modified electrodes were then characterized (or featured or studied) in the presence of bacteria by cyclic linear square-wave voltammetry, and by electrochemical impedance spectroscopy that confirms the interfacial phenomena linked to the capacitive current generated by the electrical double layer.

On the other hand we carried out a comparison between the simulated curves and the experimentally obtained electrochemical responses. This allowed us to assess some specific parameters such as sensitivity, detection limit, quantification limit, reproducibility...

**Key Words :** Modified electrodes, electrochemical sensor, amoxicillin, bacteria (Staphylococcus aureus), Cyclic linear square-wave Voltammetry, electrochemical impedance spectroscopy.

# INTRODUCTION GÉNÉRALE

La contamination bactérienne des aliments et de l'eau est l'un des principaux problèmes de santé publique dans le monde. Les méthodes classiques de détection microbienne reposent sur l'observation de la croissance physique des cellules bactériennes ou la surveillance de la libération de leurs métabolites. De nombreuses techniques ont été mises au point pour isoler et identifier les micro-organismes cibles des écosystèmes alimentaires complexes. Les instruments classiques d'analyse pour la détection d'une espèce (bio)chimique sont généralement complexes, coûteux, volumineux et souvent difficiles à mettre en œuvre. De plus, les phases de préparation des échantillons, d'incubation, et d'exploitation des résultats augmentent souvent très fortement la durée totale d'analyse<sup>1</sup>. Les tests biochimiques sont effectués pour déterminer finalement la nature et par suite le danger encouru des micro-organismes. Différents tests biochimiques sont disponibles pour mesurer les activités métaboliques microbiennes spécifiques, telles que la réaction catalase, hémolyse  $\beta$ -, et la libération de H<sub>2</sub>S à partir de gélose TSI (Triple Sugar Iron)<sup>2</sup>. Ces méthodes présentent quelques inconvénients:

- La sensibilité est insuffisante : possibilité de passer à côté de certains pathogènes;
- Le coût de l'analyse moléculaire important ;
- L'échantillonnage ;
- Le processus prend plusieurs heures.

Les méthodes rapides et sensibles de la détection et l'identification des micro-organismes sont d'une grande importance. Récemment, les biocapteurs analytiques offrent une alternative prometteuse pour la détermination de micro-organisme pathogène directe dans des domaines tels que le diagnostic clinique, l'analyse des aliments, les bioprocédés et la surveillance environnementale<sup>3,4,5,6,7</sup>. Un biocapteur est un dispositif d'analyse qui intègre un élément

---

<sup>1</sup> Mossel DAA (1977) *Microbiology of Foods*. CRC Press, Cleveland.

<sup>2</sup> Yousef AE, Carlstrom C (2003) *Food Microbiology: a laboratory manual*. Wiley & Sons, New Jersey

<sup>2</sup> Yousef AE, Carlstrom C (2003) *Food Microbiology: a laboratory manual*. Wiley & Sons, New Jersey

<sup>3</sup> Iqbal SS, Mayo MW, Bruno JG, Bronk BV (2000) A review of molecular recognition technologies for detection of biological threat agents. *Biosensors and Bioelectronics* 15: 549-578.

<sup>4</sup> Andreotti PE, Ludwig GV, Peruski AH, Tuite JJ, Morse SS, et al. (2003) Immunoassay of infectious agents. *Biotechniques* 35: 850-859

<sup>5</sup> Peruski AH, Peruski LF (2003) Immunological methods for detection and identification of infectious disease and biological warfare agents. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology* 10: 506-513

<sup>6</sup> Nayak M, Kotian A, Marathe S, Chakravorty D (2009) Detection of microorganisms using biosensors-A smarter way towards detection techniques. *Biosensors and Bioelectronics* 25: 661-667

biologique sur une surface à l'état solide qui permet une interaction spécifique bio réversible avec les analytes, et un transducteur de signal<sup>8</sup>.

Les méthodes électrochimiques offrent une spécificité et une sensibilité due à la détection sélective d'espèces électro actives parmi les échantillons complexes. Ces méthodes ont été propulsées par les résultats satisfaisants des recherches menées sur les électrodes modifiées chimiquement. Ces recherches démontrent un certain avantage comme le renouvellement facile de surface, le faible coût, le faible courant résiduel et la facilité de fabrication.

Bien que les réalisations industrielles de tels outils analytiques restent limitées (seul le biocapteur à glucose a connu un succès commercial indéniable), les travaux de recherche actuels visent toujours à améliorer leurs performances, notamment en termes de spécificité et de sensibilité, en tirant profit des avantages liés au concept et procédé de modification de surfaces des électrodes<sup>9</sup>.

Le carbone est le matériel d'électrode qui est largement utilisé en raison de beaucoup d'avantages, y compris l'inertie chimique, large domaine de potentiel, le courant résiduel bas, coût bas, facilité de modification et grande polyvalence. Plusieurs études ont abordé la modification des surfaces de ces électrodes pour augmenter leurs performances.

Notre objectif dans ce travail de thèse est de développer des électrodes électrochimiques à base de poudre de carbone, de phosphate naturel et d'argile. Ces électrodes seront modifiées par l'ajout d'un antibiotique (Amoxicilline). Notre intérêt s'est porté plus particulièrement sur l'optimisation des différents paramètres qui gouvernent l'utilisation de ces électrodes comme biocapteurs.

Ce travail s'inscrit dans la continuité des efforts de recherche déjà entreprises par l'Equipe de Recherche (Electrochimie Moléculaire et Matériaux Inorganiques (EMMI)), et le laboratoire de Génie industriel. Il s'agit donc de l'élaboration des électrodes à phosphate naturel modifiées par l'amoxicilline. L'activité électrochimique intrinsèque, ainsi que l'effet

---

<sup>7</sup> Skládal P, Ková D (2013) Electrochemical immunosensors for detection of microorganisms. International Journal of Electrochemical Science 8: 1635-1649

<sup>8</sup> Ouafy A, Chtaini H (2015) Electrochemical Detection of p-Chloroaniline at Clay Modified Carbon Paste Electrode: Application in Tap Water. J Drug Metab Toxicol 5: 6

<sup>9</sup> Hambate G. V. Préparation et caractérisation des capteurs électrochimiques à base des phosphates naturels, d'argile Camerounaise et du Cuivre. Thèse en Chimie Physique. FST Beni Mellal.

de la concentration de l'antibiotique ont été évalués principalement par les méthodes voltamétriques et par Spectroscopie d'Impédance Electrochimique (EIS).

Au début, nous présenterons une étude bibliographique sur les électrodes modifiées et les biocapteurs. Nous présenterons ensuite, la partie expérimentale et la caractérisation des électrodes étudiées. Les résultats obtenus sont discutés à la lumière du fondement théorique présenté dans le premier chapitre. Enfin, une comparaison sera entreprise entre ces différents électrodes au regard des performances enregistrées.

# Chapitre I : Revue bibliographique

## I. PRINCIPE DE L'ÉLECTROCHIMIE

Bien qu'elle se situe à l'interface des trois disciplines chimie, physique et biologie, la recherche sur le développement des électrodes modifiées a connu ces dernières années un effort considérable en raison de leurs nombreuses applications potentielles, que ce soit dans le domaine médical, agro-alimentaire, ou du contrôle environnemental. Cette recherche a pour but de former, structurer et de fonctionnaliser la surface d'une électrode afin de lui conférer des propriétés nouvelles. Ceci a permis de créer de véritables architectures supramoléculaires à la surface d'une électrode, avec une grande variété de constituants, allant de simples molécules ou particules jusqu'à des molécules complexes.

L'électrochimie a pour objectif principal le contrôle de la réactivité de l'interface électrode-solution. L'application d'un potentiel permet de faire varier le niveau énergétique de l'interface mais généralement sans contrôle de sélectivité. De façon à imposer et à contrôler les propriétés de l'interface, de nombreux chercheurs de plusieurs disciplines ont modifié la surface d'électrodes par toutes sortes de composés organiques ou organométalliques<sup>10,11,12</sup>. En 1975, Diaz et ses collaborateurs ont procédé à l'électropolymérisation du pyrrole<sup>13</sup>. Depuis, plusieurs travaux de recherche sur les électrodes modifiées ont été menés dans des domaines d'applications divers : photosensibilisation, électrochromisme, anticorrosion<sup>14</sup>, batterie et accumulateur de faible poids, et également électrocatalyse<sup>15</sup>. Ces recherches ont permis l'étude des réactions de transfert de matière aux interfaces solide/solution et le développement de méthodologies électroanalytiques offrant la possibilité de caractériser et d'exploiter les propriétés des matériaux inorganiques tels que les zéolithes, apatites, les silices, et d'autres solides apparentés.

Ces recherches ont contribué, d'une part, à une meilleure compréhension des réactions de transfert de matière dans l'environnement et, d'autre part, de proposer de nouveaux moyens d'investigation, de contrôle, de mesure, et de remédiation des milieux liquides et des interfaces solide/liquide faisant intervenir des solutés toxiques (notamment des espèces métalliques) et ceux ayant des vertus thérapeutiques (Paracétamol et antioxydants).

---

<sup>10</sup> P.K. Gupta, *Toxicol.*, 198 (2004) 83-90

<sup>11</sup> F. Konradsen, W. Van der Hoek, D.C.Cole, G. Hutchinson, H.Daisley, S. Singh, M. Eddleston, *Toxicol.*, 192 (2003) 249-261

<sup>12</sup> R.J. Waltman, J. Bargon, *Can. J. Chem.*, 64 (1986) 76

<sup>13</sup> A.F. Diaz, K.K. Knazawa, G.P. Gardini, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 635 (1975).

<sup>14</sup> A. El Mhammedi, A. Chtaini, A. El Bouadili, *Bull. Electrochem.*, 20 (12) (2004) 533- 537

<sup>15</sup> M.A. El Mhammedi, M. Bakasse, A. Chtaini, *Leonardo Electronic Journal of Practices and Technologies*, 10 (2007) 1-12



## II. GÉNÉRALITÉS SUR LES ÉLECTRODES MODIFIÉES

### 1. Introduction

Une électrode chimiquement modifiée désigne toute électrode à la surface de laquelle une espèce chimique aux propriétés spécifiques (groupe redox, catalyseur, complexant, adsorbant,...) a été délibérément fixée<sup>16</sup>.

Lane et Hubbard<sup>16</sup> ont été les premiers dans ce domaine qui, en 1973, ont démontré l'influence importante de la modification d'électrodes de platine, par adsorption de dérivés éthyléniques, sur la cinétique de réactions électrochimiques. Les méthodes qui ont été 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<sup>17</sup>. A ce temps, la technique de modification d'électrodes basée sur le dépôt de multicouches de réactif a été la plus développée. Cette opération est généralement réalisée par l'adsorption de film de polymères à la surface de l'électrode. Ceci permet d'obtenir des électrodes à base de matériaux de structure tridimensionnelle<sup>18</sup>.

L'utilisation d'une quantité minimum de réactifs, souvent coûteux, était l'un des avantages de ces systèmes. Un autre avantage est la sélectivité des électrodes chimiquement modifiées. En effet, par un choix judicieux du réactif immobilisé, il est possible de contrôler la sélectivité de l'analyse. De plus ces électrodes permettent d'augmenter la sensibilité grâce à l'étape de préconcentration. Pendant cette étape d'accumulation, l'espèce cible est préconcentrée dans un petit volume à la surface de l'électrode, ce qui permet de mesurer de très faibles concentrations. L'étape de préconcentration est aussi une étape de séparation, extrayant l'espèce cible du milieu. Elle présente l'avantage d'être réalisée en circuit ouvert<sup>9</sup>.

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

---

<sup>16</sup> R.F. Lane, A.T. Hubbard, J. Phys. Chem., 77(1973) 1401-10

<sup>17</sup> R.W. Murray, Electroanal. Chem., 13 (1984) 191-386

<sup>18</sup> M. Kaneko, D. Woehrle, Adv. Polym. Sci., 84 (1998) 141-228

En raison de la complexité du comportement d'une électrode, il n'est pas possible de sélectionner un matériau d'électrode, pour un procédé donné, uniquement sur des considérations théoriques générales de cinétique électrochimique (courant d'échange, surtension d'électrode, courbe intensité- potentiel)<sup>19</sup>. En effet on ne peut prédire le succès d'un matériau d'électrode et en particulier sa durée de vie sans avoir étudié son comportement dans des conditions réelles de fonctionnement. Les principaux matériaux utilisés dans l'élaboration d'électrodes industrielles sont présentés dans le tableau 1.

Tableau 1. Les principaux matériaux utilisés dans l'élaboration d'électrodes industrielles

<i>Famille</i>	<i>Matériaux</i>	<i>Avantages</i>	<i>Principaux Inconvénients</i>
<b>Métaux précieux</b>	- Métaux nobles : Au, Ag. - Platinoides : Ru, Rh, Pd, Os, Ir, Pt.	- Inertie chimique exceptionnelle. - Excellents catalyseurs. - Ductiles et facile à mettre en forme.	- Coût élevés - Masse volumique élevée (10 à 22 kg/dm <sup>3</sup> )
<b>Métaux réfractaire</b>	- Groupe IVB : Ti, Zr, Hf. - Groupe VB : Nb, Ta. - Groupe VIB : Mo, W.	- Bonne résistance à la corrosion voire excellente pour Ta. - Métaux valves. - Métaux réfractaires. - Rigidité mécanique.	- Coût élevés (0.6 à 8.2 kF/kg). - Fragilisation par l'hydrogène (sauf Zr) en cathode. - Masse volumique élevée pour Hf, Ta, W (12 à 19 kg/dm <sup>3</sup> ). - toxicité des traces dans les effluents (e.g. Pb, Cd, Hg, Ag), - surtension de dégagement de H <sub>2</sub> élevée sur Sn, Pb, Zn, Cd, Hg. - faible conductivité électrique.
<b>Métaux</b>	- Pb et alliages (e.g. Chemical ideal Pb95-Ag <sub>5</sub> )	- Economique - Pb excellente résistance anodique dans les sulfates, chromate, phosphate et carbonates. - Hg cathode liquide.	- résistance à la corrosion faible pour Fe, - fragilité pour le ferrosilicium.
<b>Métaux usuels</b>	- Fer et ferrosilicium, (e.g. Duriron®, Durichlor®) - Aciers, - Nickel, cobalt et alliages.	- économiques, - Ni, Co excellente résistance à la corrosion anodique en milieu basique. - Ni, Co haute activité catalytique.	- consommation de l'anode, - porosité (0.1 à 20 %), impuretés, - fragilité mécanique
<b>Matériaux carbonés conducteurs</b>	- Graphite, - Carbone pyrolytique	- économique, - faible masse volumique.	- coût élevé pour RuO <sub>2</sub> , et IrO <sub>2</sub> .
<b>Oxydes semi-conducteurs</b>	- structure type Rutile [AO <sub>2</sub> ] (e.g. PbO <sub>2</sub> , SnO <sub>2</sub> , RuO <sub>2</sub> , IrO <sub>2</sub> ) - structure Perovskite [A <sup>II</sup> B <sup>III</sup> O <sub>3</sub> ] <sub>7</sub> (e.g. SrFeO <sub>3</sub> ) - structure Ilménite [A <sup>II</sup> B <sup>III</sup> O <sub>3</sub> ] (e.g. FeTiO <sub>3</sub> ) - structure Spinelle [A <sup>II</sup> B <sup>III</sup> O <sub>4</sub> ] (e.g. Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> , Co <sub>3</sub> O <sub>4</sub> , NiCo <sub>2</sub> O <sub>4</sub> ) - Structure Pyrochlore [A <sup>II</sup> B <sup>IV</sup> 2O <sub>6</sub> ] (e.g. B <sup>12</sup> Ru <sub>2</sub> O <sub>7</sub> , Pb <sub>2</sub> RuO <sub>7-y</sub> , Pb <sub>2</sub> IrO <sub>7-y</sub> ) - structure Delafossite [A <sup>II</sup> B <sup>II</sup> O <sub>2</sub> ] (e.g. PtCoO <sub>2</sub> , PdCoO <sub>2</sub> , PdRhO <sub>2</sub> , PdCrO <sub>2</sub> )	- inertie chimique excellente, - haute activité catalytique, - bonne conductivité électrique, - préparation facile par calcination ou électrolyse. - bon catalyseur pour le dégagement de O <sub>2</sub> , surface spécifique élevée. - inertie chimique. - bonne résistance à la corrosion anodique. - bons conducteurs électroniques en couches minces, - anodes pour O <sub>2</sub> dans NaOH <sub>8</sub> .	- fragile, - mauvais conducteurs électriques, - synthèse difficile. - fragilité mécanique, - préparation laborieuse, - mauvaise conductivité électrique. - fragilité mécanique, nécessité d'être fixé sur un support, - mauvaise conductivité électrique. - mauvaise conductivité électrique.

<sup>19</sup> A.M. Couper, Pletcher, D., and Walsh, F. C., Electrode materials for electrosynthesis, Chem. Rev., 90 (1990) 837—865

Cependant, plusieurs critères scientifiques et technologiques peuvent aider dans le choix d'un matériau d'électrode de longévité importante<sup>20</sup> :

- a. Une densité de courant d'échange très élevée et un coefficient de transfert de la réaction électrochimique considérée voisin de l'unité ;
- b. Une bonne conductivité thermique du matériau ;
- c. Une bonne résistance à la corrosion ;
- d. Propriétés mécaniques compatibles avec les applications industrielles ;

## **2. Voltammétrie sur électrodes modifiées**

L'émergence du développement des recherches dans le domaine des électrodes modifiées a trouvé, dans certains cas, une solution aux problèmes liés à la détermination des caractéristiques électrochimiques des films<sup>21</sup>. En effet, dans le cas des électrodes modifiées, la substance électroactive est généralement confinée au sein d'un film polymère fin déposé à la surface de l'électrode. La transformation électrochimique a lieu au sein de ce film mince.

De nouvelles méthodes ont été développées au cours des années récentes pour fixer des composés électroactifs à la surface d'une électrode. Ainsi, les plus étudiées sont :

- le greffage chimique à la surface de l'électrode solide, par liaison covalente, de l'espèce électroactive souhaitée ;
- la formation d'un film, généralement polymère du composé électroactif lui-même, ou d'un polymère dans lequel ce composé est fixé ;
- le dépôt à la surface de l'électrode de couches de mélange du graphite et du composé électroactif (avec ou sans liant) dont le modèle est inspiré de l'électrode à pâte de graphite

## **3. Electrode modifiée par dépôt d'une monocouche d'espèce électroactive**

L'adsorption ou le greffage chimique d'un composé électroactif à la surface de l'électrode solide conduit généralement à la formation de monocouche dont la détermination des caractéristiques électrochimiques s'effectue principalement par voltampérométrie cyclique selon le modèle théorique renseigné par Bedioui<sup>21</sup>.

---

<sup>20</sup> N. KOUIDER, Elaboration et caractérisation d'électrodes modifiées pour piles à combustible, thèse en Génie Industriel, 2016, FST Beni Mellal

<sup>21</sup> Fethi BEDILOU, Sophie GRIVEAU « Voltampérométrie sur électrode solide - Diverses géométries d'électrode - Voltampérométrie sur électrodes dites modifiées » Technique de l'ingénieur, réf P2129 (2009)

#### 4. Electrode modifiée par un film polymère

La modification de la surface d'une électrode par le dépôt d'un polymère contenant une espèce électroactive peut être réalisée selon deux procédures :

- à partir d'un polymère préformé portant sur son squelette l'espèce électroactive. Le dépôt est obtenu par immersion de l'électrode dans un solvant solubilisant le polymère électroactif ou par évaporation, sur l'électrode, d'une goutte de cette solution. Les polymères utilisés dans cette procédure sont pour la plupart non conducteurs électroniques (tels que le polystyrène, par exemple) ;
- à partir de la polymérisation, directement sur l'électrode, d'un monomère polymérisable substitué par des groupes électroactifs<sup>21</sup>. La procédure couramment utilisée maintenant est la polymérisation électrochimique (appelée aussi électropolymérisation).

#### 5. Electrode à pâte de carbone modifiée

##### a. Noir de carbone

Le noir de carbone appartient à une forme amorphe du carbone alors que le diamant et le graphite appartiennent à sa forme cristalline. Le noir de carbone est une forme de carbone élémentaire obtenu industriellement. Il se présente sous forme de très petites particules. À cause de sa grande utilisation il est la forme de carbone élémentaire la plus fortement répandue. Le noir de carbone est produit dans des conditions minutieusement contrôlées. Le tableau suivant compare les divers procédés chimiques industriels produisant les différents types de noir de carbone dont le noir de fourneau (Furnace Black), qui est celui le plus utilisé.

Tableau 2 : comparaison des différents procédés d'obtention des noirs de carbone<sup>22</sup>

Procédé chimique	Type de noir de carbone	Diamètre (nm)	Produit de départ
Combustion incomplète	Noir de fumée (Lamp black)	50-100	Hydrocarbures de goudron
	Noir tunnel (Channel Black)	10-30	Gaz naturel
	Noir de fourneau (Furnace Black)	10-80	Gaz naturel Liquide aromatique
Décomposition thermique	Noir thermique (Thermal Black)	150-500	Gaz naturel
	Noir d'acétylène (Acetylene Black)	35-70	Acétylène

<sup>22</sup> Carbon Black User's Guide, Safety, Health, & Environmental Information. International Carbon Black Association. (2004)

Lorsqu'il s'agit de définir la grosseur des particules de noir de carbone, on constate que dans la documentation, qu'elles sont incorrectement identifiées comme étant des particules exceptionnellement petites, souvent définies comme étant ultrafines (plus petites que 0,1  $\mu\text{m}$  ou 100 nm en diamètre aérodynamique). Lors du procédé de fabrication, les premières particules à se former dans le réacteur sont très petites et identifiées comme étant des nodules (nanoparticules d'environ 15 à 300 nm ou 0,015 à 0,300  $\mu\text{m}$ ). S'ensuit une séquence rapide d'élaboration d'une structure complexe à l'intérieur même du réacteur. Les nodules, presque sphériques, s'agglomèrent en agrégats (environ 85 à 500 nm) qui deviennent des structures de base indivisibles de noir de carbone. De plus, des forces électriques maintiennent des liens entre les agrégats eux-mêmes pour former des agglomérats (de 1  $\mu\text{m}$  à plus de 100  $\mu\text{m}$ ) eux-mêmes formés de centaines à des milliers d'agrégats fortement adhérents entre-eux. Le noir de carbone commercial est sous forme d'agglomérats, lesquels ne se fragmenteront pas en agrégats. D'autre part, le noir de carbone est défini par l'IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) comme étant des particules, nodules ou agrégats ayant une dimension inférieure à 1 000 nm. Le noir de carbone est de plus transformé en granules pour en faciliter la manipulation et réduire la formation de poussières. La grosseur de ces granules est généralement de l'ordre de 0,1 à 1 mm.

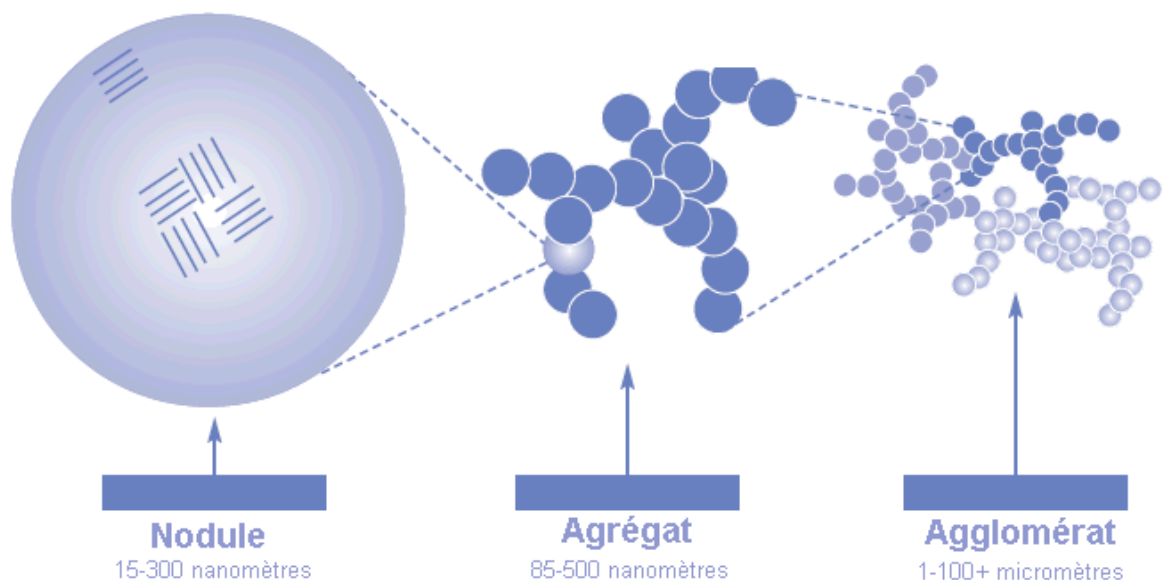


Figure 1 : Séquence de développement du noir de carbone

Le noir de carbone est composé de particules nanométriques formées d'un ensemble

de couches de graphène (plan graphitique) désordonnées<sup>23</sup>. Ceci confère aux particules une conductivité électrique particulièrement élevée en dépit de la présence de discontinuités (dus à des atomes de carbone  $sp^3$ ). Les particules s'assemblant très rapidement en grappes pendant la synthèse, certaines couches de graphène sont étendues sur plusieurs particules adjacentes et assurent ainsi une conductivité élevée entre les particules d'un même ensemble. On parle alors d'agrégats mesurant typiquement de 100 à 500 nm<sup>24</sup>. Le noir de carbone utilisé ici est le Vulcain® XC-72R produit par Cabot Corporation. Il est largement utilisé pour le dopage de matériaux polymères<sup>24</sup>. L'examen (Figure 2) du Vulcain® XC-72R au microscope électronique à balayage (MEB) révèle une composition en particules de taille comprise entre 20 nm et 60 nm et d'agrégats supérieurs à 100 nm<sup>25</sup>.

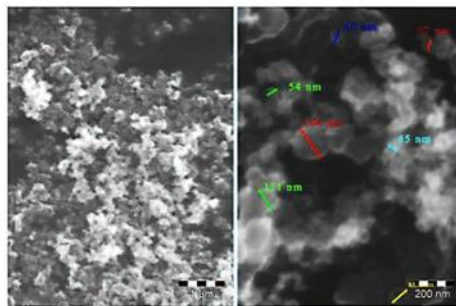


Figure 2 : Observations MEB du noir de carbone (Vulcain XC72R) mettant en évidence les dimensions des particules de noir de carbone ainsi que la formation d'agrégats<sup>24</sup>.

#### **b. Electrode à pâte de carbone à composé électroactif incorporé**

L'utilisation des méthodes électrochimiques est difficile lorsque le composé électroactif est insoluble. On dépose sur un conducteur métallique (électrode) la substance à oxyder (ou à réduire), ce qui suppose que celle-ci soit elle-même conductrice, ou bien encore, on disperse le composé dans une solution électrolytique soumise à une agitation intense (lit fluidisé) et, dans ce cas, les échanges d'électrons se font lors des collisions sur l'électrode métallique<sup>25</sup>.

P. Gaillochet et al ont proposé d'utiliser une électrode à pâte de carbone chargée avec les produits insolubles à étudier<sup>26</sup>, soit pour réaliser des électrodes indicatrices soit pour la fabrication de piles de haute capacité<sup>27</sup>. Dans la première de ces applications, le liant servant à préparer la pâte de carbone est un liquide organique visqueux comme l'huile de paraffine

<sup>23</sup> H. Pierson, Handbook of Carbon, Graphite, Diamonds and Fullerenes. 1994

<sup>24</sup> J. Liang and Q. Yang, "Aggregate structure and percolation behavior in polymer/carbon black conductive composites," Journal of Applied Physics, vol. 102, no. 8, p. 083508, Oct. 2007.

<sup>25</sup> P. le Goff, F. Vergnes, F. Coeuret et J. Bordet, Ind. Engng Chem. 61. 8 (1969)

<sup>26</sup> P. Gaillochet et D. Bauer, C.r. hebd. Séanc, Acad. Sci., Paris 277. 199 (1973)

<sup>27</sup> H. Alt, H. Binder, A. Kohling et G. Sandstede, Electro-chim. Acta 17, 873 (1972)

(nujol) ou l' $\alpha$ -bromonaphtalène (liquide non conducteur) selon Kuwana<sup>28</sup> et Ruby<sup>29</sup>, l'échange d'électrons a lieu à l'interface électrode-solution. Dans la deuxième application, le liant est un électrolyte (acide sulfurique dilué ou solution aqueuse de chlorure d'ammonium).

### c. Exemples d'électrodes à pâte de carbone modifiées

Selon le besoin et les moyens disponibles, l'électrode à pâte de carbone a été transformée. Cette modification est permise par :

- l'ADN<sup>30</sup> chez Chtaini et al pour la détection électrochimique de métaux lourds. La surface modifiée de l'électrode a montré une affinité aux ions du métal en solution, formant des complexes;
- le manganèse (Mn/EPC)<sup>31</sup> dans un autre travail de Chtaini et al a montré une excellente réponse quant à la détection du paracétamol avec une limite de détection de  $6,8.10^{-10}M$ ;
- des molécules organiques pour l'analyse des différents métaux ( $Pb^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$  et  $Cu^{2+}$ )<sup>32</sup>. Dans ce cas, l'électrode à pâte de carbone (EPC) a été modifiée par des molécules organiques. Celles-ci ont permis la détection de faibles concentrations des métaux lourds avec une très bonne reproductibilité. Une augmentation de ces métaux a été enregistrée à la surface de cette électrode modifiée. Ceci est due à la formation de complexe entre le métal et le film formé par la molécule organique;
- un polymère (eugénol) pour la détection de l'acide ascorbique (vitamine C) qui est un composé organique hydrosoluble participant à de nombreux processus biologiques. L'influence des variables telles la concentration de l'acide ascorbique adsorbé sur le polymère, et le pH de la solution ont été examinés. Il a été montré que l'électrode modifiée a une activité électro catalytique plus élevée lors de l'oxydation de l'acide ascorbique<sup>33</sup>.

---

<sup>28</sup> F. A. Schultz et T. Kuwana, J. electroanal. Chem. 10, 95 (1968)

<sup>29</sup> W. R. Ruby et C. G. Tremmel, J. electroanal. Chem 18, 231 (1968)

<sup>30</sup> S. Touzara, R. Najih and A. Chtaini. Electrochemical Chelation of Lead by NDA Modified Carbon Paste Electrode. J Biosens Bioelectron 2015, 6:3

<sup>31</sup> E. Qouatli, R. Najih , V Hambate, and A Chtaini; Electrochemical Studies and Square Wave Voltammetry of Paracetamol at Manganese Modified Carbon Paste Electrode ; Pharmaceut Anal Acta 2013, 4:2

<sup>32</sup> V Hambate, N Thérèse Rosie , H. Saâdane , M. Ennachte, M. Khouili , A. Hafid , L. Benoît and A. Chtaini, Evaluation of Carbon Paste Electrodes Modified with Organic Molecules for the analysis of Heavy Metals by Square Wave Voltammetry, Anal Acta, 4, 271 (2013)

<sup>33</sup> A. LamarI, A. El FATTOUH, S E El QOUATLI, R. NAJIH, A. CHTAINI, Acta Technica Corviniensis, electrochemical detection of ascorbic acid using a polymer modified carbon paste electrode, Tome VI, fascicule 2 (2013)

## 6. Electrode modifiée par le phosphate naturel

### a. Généralités sur le phosphate naturel

Les phosphates naturels sédimentaires tiennent leur source des dépôts des excréments d'espèces marines sur fond océanique. Ils sont généralement formés en zone côtière peu profonde. Les gisements exploités dans plusieurs parties du monde, se présentent avec des propriétés chimiques et physiques très contrastées. Les phosphates marocains sont de loin les plus importants aussi bien en quantité qu'en qualité<sup>34</sup>.

### b. Minéralogie des phosphates naturels

#### ▪ Apatite sédimentaire

La plupart des gisements sédimentaires contiennent des variétés de fluoroapatite carbonatée qui sont regroupées sous le nom collectif de francolite. En établissant une série de relations systématiques entre les francolites, divers auteurs ont employé la diffraction des rayons X (DRX), l'analyse chimique et les méthodes statistiques pour montrer que les teneurs en calcium (Ca), sodium (Na), magnésium (Mg), phosphore (P), anhydride carbonique (CO<sub>2</sub>) et fluor (F) peuvent décrire de manière adéquate la plupart des francolites<sup>35,36</sup>.

#### ▪ Apatites magmatiques

L'apatite cristalline primaire de sources ignées peut être une variété de fluoroapatite, d'hydroxyapatite ou de chlorapatite, et les apatites pures de ces variétés contiendront légèrement plus de 42% de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. Une succession continue existe entre les limites de la fluoroapatite et de l'hydroxyapatite.

#### ▪ Autres minéraux dans le PN

Les analyses chimiques de la plupart des PN incluent habituellement CaO, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, F<sup>-</sup>, Cl<sup>-</sup>, SiO<sub>2</sub>, Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, Na<sub>2</sub>O, K<sub>2</sub>O, MnO, MgO, CO<sub>2</sub>, S, C organique, l'eau libre, et la perte au feu.

Les identifications minérales, déterminées par DRX (diffraction des rayons X), les techniques de MEB (microscopie électronique à balayage) et de EDX (Energy dispersive X-ray analysis) et des méthodes de microscopie optique, et les analyses chimiques sont mises en équation en utilisant plusieurs logiciels. Ces techniques emploient une méthode de calcul de bilan de masse chimique/minérale résultant en une analyse modale approximative<sup>37</sup>.

<sup>34</sup> M. Slansky, Géologie des phosphates, Mémoire du BRGM (1980) p.114.

<sup>35</sup> McClellan, G.H. & Van Kauwenbergh, S.J. 1990. Mineralogy of sedimentary apatites. In A.J.G. Notholt & I. Jarvis, eds. Phosphorite research and development. Geological Society Special Publication 52: 23-31.

<sup>36</sup> McClellan, G.H. 1980. Mineralogy of carbonate fluorapatites. J. Geol. Soc., 6: 675-681.

<sup>37</sup> IAEA. 2002. Assessment of soil phosphorus status and management of phosphatic fertilizers to optimize crop production. IAEA-TECDOC-1272. Vienna.



Composants principales	Total	Calcite	Dolomie	Francolite	Pyrite	Quartz	Indéterminé
CaO	48,30	0,94	0,25	47,10			
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	30,42			30,42			0,00
F	3,78			3,78			0,00
Cl	0,00						0,00
SiO <sub>2</sub>	1,79					1,79	0,00
Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	0,38						0,38
Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	0,53				0,53		0,00
Na <sub>2</sub> O	0,90			0,82			0,08
K <sub>2</sub> O	0,10						0,10
MnO	0,00						0,00
MgO	0,47		0,06	0,41			
CO <sub>2</sub>	5,83	0,74	0,26	4,28			0,55
S	1,10				0,43		0,67
<b>Total</b>	<b>93,61</b>	<b>1,69</b>	<b>0,57</b>	<b>86,71</b>	<b>0,96</b>	<b>1,79</b>	<b>1,79</b>
-O=F	1,59			1,71			
-O=Cl	0,00						
<b>Total</b>	<b>92,01</b>	<b>1,69</b>	<b>0,57</b>	<b>85,00</b>	<b>0,96</b>	<b>1,79</b>	
<b>Volatiles</b>							
LOI	11,38						
H <sub>2</sub> O	1,31						
Carbone organique	1,38						

Francolite: A = 9,326999  
 Indice de réfraction théorique (N25) = 1,604  
 Solubilité absolue théorique dans le citrate = 17,7%  
 Prévion du P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> soluble dans le citrate AOAC = 6,3 %  
 CaO/P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, Francolite = 1,55  
 CaO/P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, PN total = 1,59  
 Rapport CaO/ P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, (Calcite enlevée) = 1,56  
 Rapport R<sub>2</sub>O<sub>3</sub> / P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> = 0,03  
 Rapport (R<sub>2</sub>O<sub>3</sub>+ MgO) / P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> = 0,05

Figure 3 : Diagramme de l'analyse modale approximative de l'échantillon de phosphorite numéro 138

### c. Quelques exemples d'électrodes modifiées par le phosphate naturel

- L'électrode de platine modifiée par une membrane polymérique<sup>38</sup>, en choisissant le phosphate naturel de Djebel Onk (Algérie) comme ionophore sensible aux ions Cd<sup>2+</sup>. Cette étude a montré que cette électrode modifiée est un bon capteur électrochimique pour la détection de Cd<sup>2+</sup>.

<sup>38</sup> A. Hamel , K. Morakchi , K. Guerfi , A. Louhi and R. Kherrat. Characterisation of platinum electrode modified with phosphate rock for Cd<sup>2+</sup> ions detection. Revue des Energies Renouvelables Vol. 12 N°1 (2009) 69 – 75

- L'électrode à pâte de carbone modifiée par le phosphate naturel (EPC/PN) pour la détection électrochimique du mercure (Hg (II))<sup>39</sup>. Ces électrodes ont été utilisées pour détecter de faibles concentrations de Hg(II) en utilisant la voltammétrie cyclique.
- L'électrode de pâte de carbone modifiée par le phosphate naturel pour la détection d'herbicides (le paraquat)<sup>40</sup>. Cette électrode a montré une sensibilité à la formation d'un complexe du moringa oleifera et l'herbicide, permettant ainsi une amélioration de la dépollution de la solution souillée.
- une électrode à pâte de carbone modifiée avec du phosphate naturel (NP) a été évaluée comme capteur électrochimique pour la détection du 4-Chloroaniline (4-CA) dans un milieu aqueux<sup>41</sup>. Elle a été appliquée dans des échantillons naturels d'eau et les résultats indiquent que cette électrode est sensible à la détermination du 4-CA.

## 7. Electrode modifiée par l'argile

### a. Structure de l'argile

Les argiles sont des matières naturelles, très abondantes, constituées d'aluminosilicates, dont la structure en feuillet est bien connue. Les mailles aluminosilitiques des argiles renferment d'autres éléments minéraux identifiables tels que des carbonates de calcium, de magnésium (dolomite) et de fer (sidérite) et des matières organiques, dont des acides humiques, des mucopolysaccharides et des composés basiques. Il existe une grande variété d'argiles qui diffèrent par leur structure moléculaire, cristalline et leur composition chimique.

La différenciation se fait essentiellement par diffractométrie aux rayons X. Chaque type d'argile est défini par la présence de pics sur les enregistrements, à des positions bien déterminées, par exemple 10,5 A° pour l'attapulgit, 7 A° pour la kaolinite, 10 A° pour l'illite, 12 A° pour la sépiolite. Les différentes variétés ne se trouvent pas pures dans la nature, mais en mélange entre elles, contaminées par du sable, du calcaire (carbonate de calcium), de la dolomie (carbonate de calcium et de magnésium), des éléments trace, des matières organiques, etc. Un échantillon recueilli dans son gisement peut contenir 23% de sable, 13%

<sup>39</sup> T. Ouafy, A. Chtaini, H. Oulfajrite, R. Najih, H. Ouafy, Electroanalytical method for determination of mercury (II) by natural phosphate modified carbon paste electrode: analytical application in juice apple, ICAIJ, 10, 123-129 (2015)

<sup>40</sup> A. Zaroual S. El Qouatli A. Bellouchou H.G. Hambate R. Najih A. Chtaini. Electrochemical study of the capacity of Moringa oleifera to chelate paraquat and diquat ; Research and Reviews In Electrochemistry, 6(2), 2015 [042-048]

<sup>41</sup> A. Chtaini, T. Ouafy H. Oulfajrite R. Najih, Cyclic voltammetric determination of 4-chloroaniline using natural phosphate modified carbon paste electrode, Analytical Chemistry 2015; 15(5).

de calcaire, 9% d'hydroxyde de fer et 55% d'une fraction argileuse vraie, cette dernière étant composée de 1/3 de kaolinite, 1/3 d'illite et 1/3 d'interstratifiés divers<sup>42</sup>.

#### **b. Propriétés physico-chimiques de l'argile**

##### **▪ Propriétés colloïdales**

L'argile est un colloïde minéral, provenant de l'altération de la roche-mère. Dans une suspension colloïdale, les granules du colloïde ou micelles sont constituées de très grosses molécules ou d'amas de petites qui diffractent la lumière. Elles sont animées de mouvements browniens. Les micelles d'argile sont entourées d'une couche dense de charges électriques négatives. Cette couche est elle-même entourée d'un nuage de plus en plus lâche de charges de signe contraire, constitué d'ions positifs adsorbés, le plus souvent H<sup>+</sup> et cations métalliques Ca<sup>++</sup>, Mg<sup>++</sup>, K<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>. Dans l'état de dispersion (ou peptisation), le nuage d'ions entourant les micelles est très lâche, les ions sont très peu nombreux. Les charges électriques de même signe (négatif) entourant les micelles les contraignent à se repousser et se disperser dans tout le liquide.

##### **▪ Ionisation**

Les charges négatives des micelles d'argile ont une double origine :

- les valences non satisfaites à la périphérie des micelles, soit aux extrémités des feuillets (atomes d'oxygène), soit sur les surfaces extérieures plates (groupements OH des feuillets de kaolinite)
- les "substitutions". Les atomes de silicium et d'aluminium des feuillets peuvent être remplacés par des atomes de valence plus faible.

##### **▪ Capacité de fixation**

Les argiles présentent un pouvoir d'étalement et un pouvoir de division définis in vitro par les mesures de surface spécifique réalisé par adsorption gazeuse. Les valeurs observées sont en faveur de l'attapulgite (surface spécifique de l'attapulgite 140 m<sup>2</sup> par gramme, de la bedellitique 80 m<sup>2</sup> par gramme) ce qui s'explique par la structure en tunnels de cette argile. La capacité de fixation de ce dernier est liée à l'existence des charges, et à la surface spécifique ou surface d'échange. Pour les smectites, cette capacité est très importante, grâce aux charges (négatives des feuillets, positives entre les feuillets) et à la surface spécifique considérable de 100 m<sup>2</sup> pour un gramme. Ces interactions peuvent se faire en trois sites différents :

---

<sup>42</sup> <http://lhomme.et.largile.free.fr/argiles/structures.htm> site visité le 20/02/2016

- dans les feuillets pour les ions simples, entre les feuillets pour les molécules plates ou petites,
- à la périphérie pour les macromolécules.

### c. Exemples d'électrodes modifiées par l'argile

- L'électrode de pâte à carbone modifiée par l'argile pour la détection de traces de paracétamol. Les résultats ont montré une activité électro catalytique excellente de cette électrode (EPC/Arg) au paracétamol. Ce capteur électrochimique a été utilisé avec succès pour la détection du paracétamol dans de vrais comprimés témoin<sup>43</sup>.
- Une méthode électroanalytique simple et sensible a été développée pour déterminer un perturbateur d'endocrine, le 4-tert-octylphenol, par l'électrode à pâte de carbone modifiée par l'argile (EPC/Arg). Il a été constaté que l'oxydation du 4-tert-octylphenol à la surface de l'électrode (EPC/Arg) montre une crête bien définie d'oxydation<sup>44</sup>.
- L'analyse du p-anisidine (PA) par une électrode à pâte de carbone (EPC) modifiée par l'argile (Arg) a été faite. le PA a été fortement adsorbé à la surface de EPC/Arg qui a montré une bonne sensibilité à cette molécule<sup>45</sup>.

## III. CAPTEURS ELECTROCHIMIQUES

La recherche liée au Biocapteur a connu une croissance explosive au cours des deux dernières décennies. Un biocapteur est généralement défini comme un dispositif d'analyse qui convertit une réponse biologique en un signal quantifiable et traitable<sup>46</sup>. Les biocapteurs électrochimiques fournissent un moyen intéressant d'analyser le contenu d'un échantillon biologique en raison de la conversion directe d'un événement biologique à un signal électronique. Au cours des dernières décennies, plusieurs concepts de détection et des dispositifs connexes ont été développés. La figure 4 représente le schéma de principe d'un biocapteur.

<sup>43</sup> T. El OUFY, A. CHTAINI, H. OULFAJRITE, R. NAJIH ; electrochemical studies and cyclic voltammetry of paracetamol at clay modified carbon paste electrode, ACTA TECHNICA CORVINIENSIS, Bulletin of Engineering, VIII, 99-104 (2015)

<sup>44</sup> N. Belkhamza, L. Ouattara, A. Kawachi, M. Tsujimura, H. Isoda, A. Chtaini, and M. Ksibi ; Electrochemical Analysis of Endocrine Disrupting Chemicals over Carbon Electrode Modified with Cameroon's Clay, Journal of The Electrochemical Society 162 (1) B1-B8 (2015)

<sup>45</sup> A. Chtaini, T. El Oufy, H. Oulfajrite, R. Najih ; Electrochemical analysis of p-anisidine at clay modified carbon paste electrode ; biotechnology reserch 01/2015; 2(1):10-15.

<sup>46</sup> C. R Lowe, Biosensors. Trends in Biotechnology 1984, 2(3), 59–65

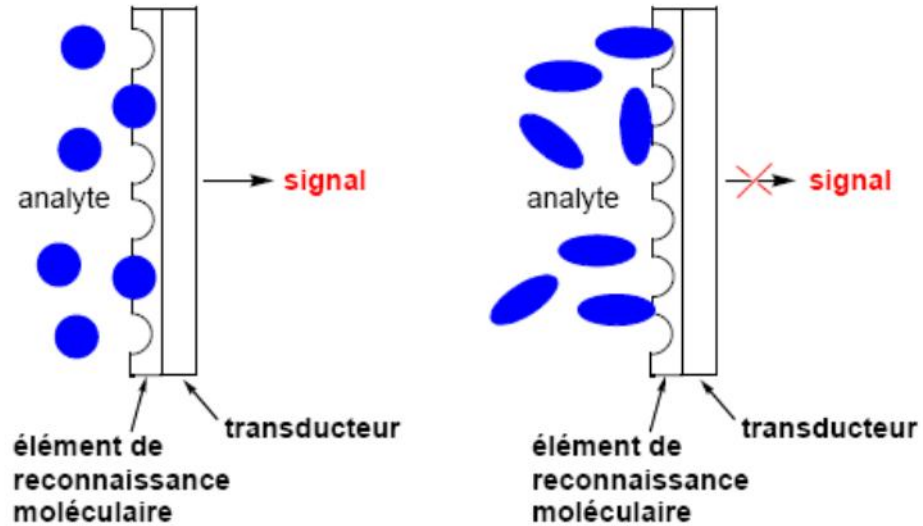


Figure 4 : Schéma de principe d'un biocapteur

La figure 5 mis en évidence les parties comprenant un biocapteur typique:

- a) biorécepteurs qui se lient spécifiquement à l'analyte;
- b) une architecture d'interface où un événement biologique spécifique se produit et donne lieu à un signal ;
- c) l'élément transducteur; le signal du transducteur (qui peut aller de l'angle de couplage d'un faisceau laser au courant produit à une électrode) est convertie en un signal électronique et amplifié par un circuit de détection en utilisant la référence appropriée et envoyé pour le traitement ;
- d) un logiciel informatique pour être converti en un signal physique significatif.

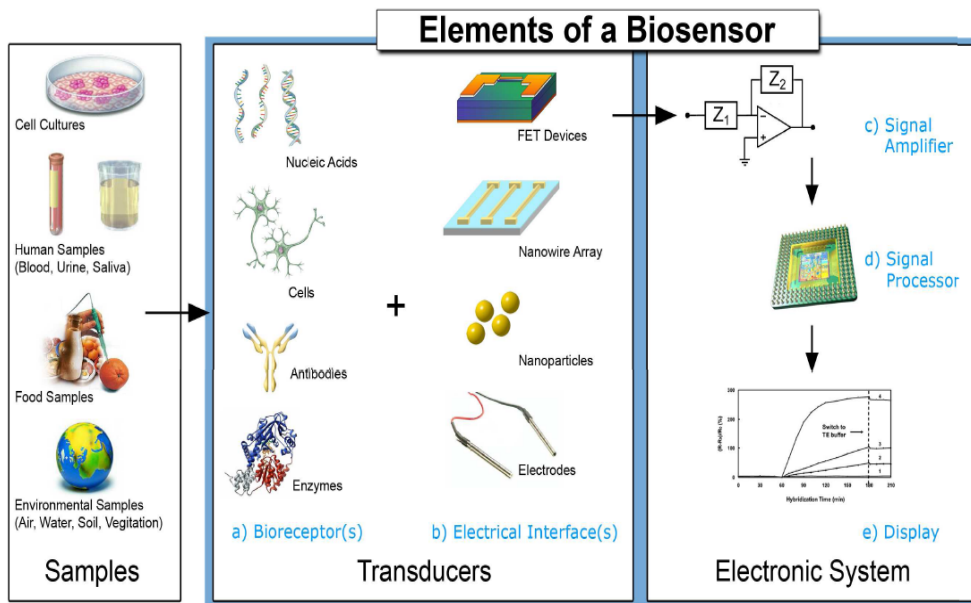


Figure 5 : Les éléments et les composants d'un biocapteur<sup>47</sup>

Le tableau 3 donne un aperçu sur les applications des biocapteurs dans des champs disciplinaires d'intérêt.

Tableau 3 : Applications des biosensors<sup>47</sup>

Champ d'intérêt	Applications
Santé	<ul style="list-style-type: none"> <li>– des marqueurs de maladies telles que l'infarctus du myocarde ou de surveillance des médicaments administrés dans un cancer.</li> <li>– diagnostic des maladies infectieuses</li> <li>– l'analyse des niveaux de glucose et d'hormones</li> </ul>
Environnement	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Analyse de l'eau et du sol</li> <li>– Contrôle des pesticides et les autres substances toxiques</li> <li>– Contrôle des effluents industriels.</li> </ul>
Agriculture	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Pesticides</li> <li>– Maladie des cultures</li> </ul>
Contrôle des aliments	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Dosage du glucose</li> <li>– Dosage en cholestérol</li> <li>– Organismes pathogènes</li> </ul>
Contrôle des procédés industriels	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Surveillance de la fermentation</li> </ul>
Microbiologie	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Analyse des bactéries et virus</li> </ul>

## 1. Généralités sur les capteurs

### a. Définition

Un capteur est un organe de prélèvement d'informations (ou un dispositif électronique) qui élabore à partir d'une grandeur physique, chimique, biologique (information entrante) une autre grandeur physique de nature différente (la plus part du temps, électrique). Cette grandeur (signal exploitable), représentative de la grandeur prélevée, est utilisable à des fins de mesure ou de commande<sup>48</sup>.

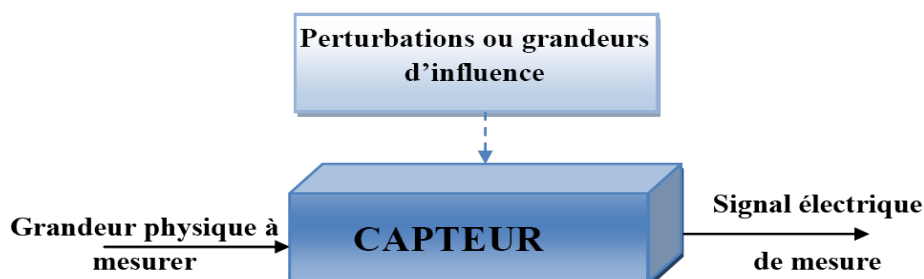


Figure 6 : Définition d'un capteur

<sup>47</sup> Manz, Pamme et Iossifidis, Bioanalytical Chemistry, 2004

<sup>48</sup> S. Poujouly, Capteurs et instruments de mesure, IUT CACHAN

### b. Constitution d'un capteur

Certains capteurs sont des capteurs dits « composites », c'est-à-dire composés de 2 parties ayant un rôle bien défini :

- **Corps d'épreuve** : C'est un élément qui réagit sélectivement aux variations de la grandeur à mesurer. Il a pour rôle de transformer cette grandeur en une autre grandeur physique dite mesurable.
- **Élément de transduction** : C'est un élément sensible lié au corps d'épreuve. Il traduit les réactions du corps d'épreuve en une grandeur physique exploitable (le plus souvent électrique constituant le signal de sortie)<sup>49</sup>.

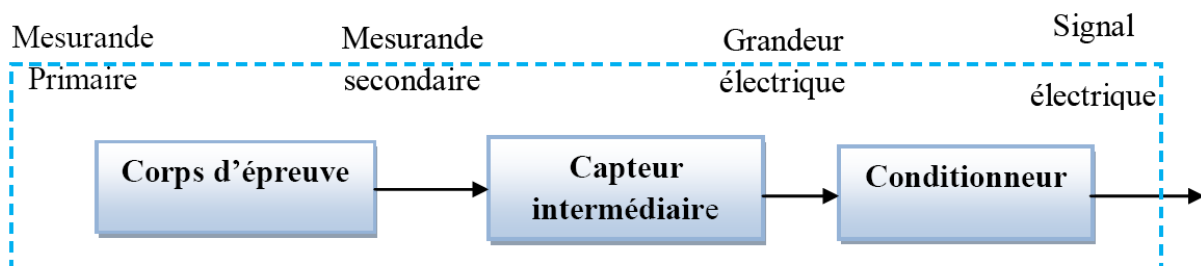


Figure 7 : Constitution d'une chaîne de mesure dans un capteur<sup>49</sup>

### c. Qualité d'un capteur

Les qualités d'un capteur par rapport à la nature à mesurer et aux conditions de mesure sont appréciées en déterminant leur résolution, leur fidélité, leur sensibilité et leur sélectivité :

- **Résolution** : Plus petit incrément de la valeur mesurée qui puisse être significativement mesurée par le capteur.
- **Reproductibilité** : Ce paramètre est probablement le plus important, tant pour les capteurs physiques que chimiques. C'est l'aptitude d'un capteur à donner, dans des conditions définies, des réponses très voisines lors de l'application répétée d'un même signal d'entrée.
- **Sensibilité** : Ce paramètre caractérise l'aptitude du capteur à détecter la plus petite variation de la grandeur à mesurer. Il est calculé par le quotient de l'accroissement de la réponse d'un instrument de mesure par l'accroissement correspondant du signal d'entrée.
- **Sélectivité** : C'est la capacité du capteur à ne mesurer qu'une seule grandeur dans le milieu où il est utilisé ou en d'autres termes, d'être le plus insensible aux grandeurs

<sup>49</sup> Mlle Saloua Helali, Conception et réalisation de matériaux biofonctionnels pour des dispositifs capteurs impédancemétriques, thèse de doctorat de L'école Centrale de Lyon, N° d'ordre : 2005-49.



d'influence, grandeurs qui ne font pas l'objet de la mesure, mais influent sur la sortie du capteur.

- **Limite de détection** : C'est la plus petite valeur de la grandeur à mesurer pouvant être détectée, avec une incertitude acceptable, et qui sort significativement du bruit de fond.
- **Réponse du capteur ou dynamique** : C'est la zone qui représente le domaine de réponse du capteur avant saturation.<sup>50</sup>

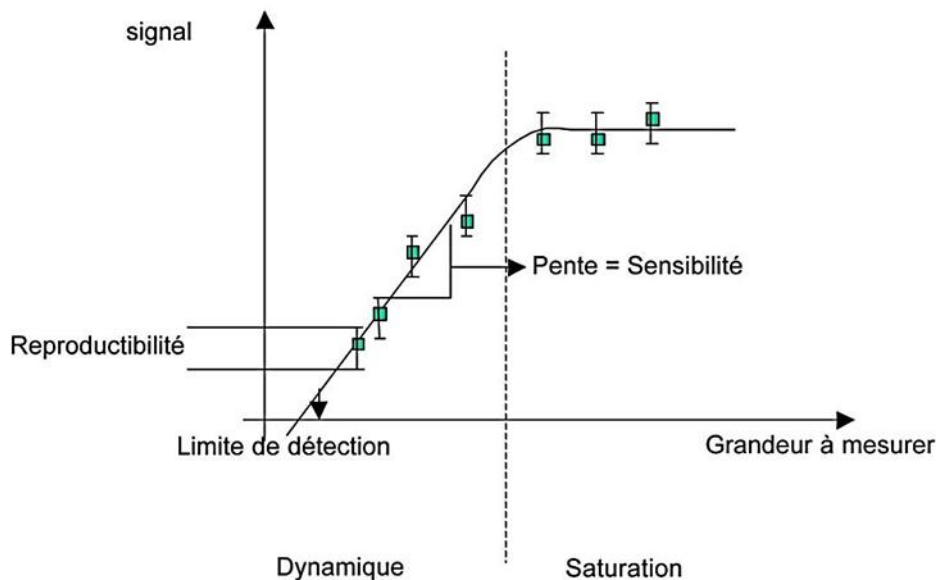


Figure 8 : Schéma idéal de la réponse d'un capteur

#### d. Grandeurs d'influence

Les grandeurs d'influence sont des grandeurs étrangères qui, selon leur nature et leur importance, peuvent provoquer des perturbations sur le capteur. C'est donc une cause d'erreurs agissant sur le signal de sortie. Les principales grandeurs d'influence sont : la température, la pression, l'humidité, les champs magnétiques variables ou statiques et la tension d'alimentation<sup>51</sup>.

#### e. Classification des capteurs

La classification se fait en fonction de :

- La mesurande qu'ils traduisent (capteur de température, de pression, ...)
- Signal qu'ils fournissent (capteur analogique, capteur logique, capteurs

<sup>50</sup> Pierre Fabry, Jacques Fouletier ; Microcapteur chimiques et biologiques, application en milieu liquide ; Lavoisier. 2003

numériques) ;

- Leur principe de traduction du mesurande (capteur résistif, à effet Hall,...) ;
- Leur principe de fonctionnement : Les capteurs sont soit actifs ou passifs selon la caractéristique électrique de la grandeur de sortie :
  - **Capteur passif** : Le capteur se comporte en sortie comme un dipôle passif qui peut être résistif, capacitif ou inductif. Le tableau ci-dessous résume, en fonction de la mesurande, les effets utilisés pour réaliser la mesure<sup>52</sup>.

Tableau 4 : Caractéristique électrique de la grandeur de sortie (capteur passif)

Mesurande	Effet utilisé	Grandeur de sortie
Température	Thermoélectrique (thermocouple)	Tension
Flux optique	Photoémission pyroélectricité	Courant
Force, pression, accélération	Piézoélectricité	Charge
Position	Effet Hall	Tension
Vitesse	Induction	Tension

- **Capteur actif** : Dans ce cas, la sortie du capteur est équivalente à un générateur. C'est un dipôle actif qui peut être du type courant, tension ou charge. Les principes physiques mis en jeu sont présentés ci-dessous<sup>51</sup>:

Tableau 5 : Caractéristiques électriques de la grandeur de sortie (capteur actif)

Mesurande	Grandeur de sortie	Matériaux
Température	Résistivité	Platine, nickel, cuivre,..
Très basse température	Constante diélectrique	Verre
Flux optique	Résistivité	Semi-conducteur
Déformation	Résistivité Perméabilité magnétique	Alliage nickel Alliage ferromagnétiques
Position	Résistivité	Magnétorésistances
Humidité	Résistivité	Chlorure de lithium

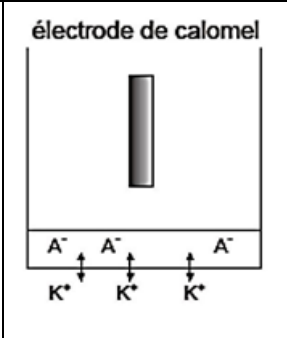
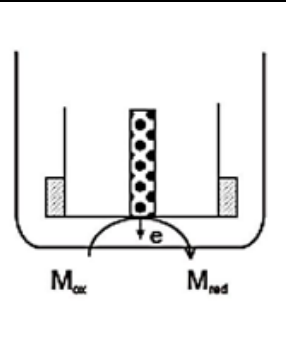
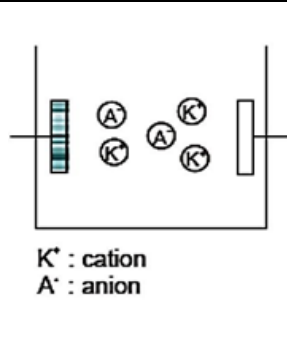
<sup>51</sup> Gwenaëlle Toulminet, Généralités sur la chaîne d'acquisition des données et sur les capteurs, support cours , INSA ROUEN, 2002-2003

## 2. Capteurs électrochimiques

Dans les biocapteurs la mesure des propriétés électriques pour extraire des informations à partir de systèmes biologiques est normalement de nature électrochimique. Dans certains cas la biorecognition est assurée par des anticorps.

Typiquement, dans la bioélectrochimie, la réaction en question serait soit de générer un courant mesurable (Capteur ampérométrique), soit de créer une accumulation potentielle ou une charge mesurable (potentiométrique) ou elle conduit à modifier les propriétés conductrices d'un milieu (conductométrique) entre les électrodes<sup>52</sup>.

Tableau 6 : Typologie des capteurs électrochimiques

Type de capteur	Potentiométrie	Ampérométrie	Conductométrie
Nature de la détection électrochimique	Accumulation de charge	Transfert des électrons	Migration d'ions
Grandeur sortie	Résistance	potentiel	Courant
	 <p>électrode de calomel</p>		 <p>K<sup>+</sup> : cation A<sup>-</sup> : anion</p>

Etant donné que les réactions sont généralement détectés uniquement à proximité immédiate de la surface d'électrode, les électrodes elles-mêmes jouent un rôle crucial dans l'efficacité des biocapteurs électrochimiques. Le matériau d'électrode, la modification de surface ou de ses dimensions ont une grande influence sur son rendement. La détection électrochimique nécessite généralement une électrode de référence, un compteur ou une électrode auxiliaire et une électrode de travail, également connu sous le nom de l'électrode redox. L'électrode de référence, généralement fabriqué à partir de Ag / AgCl, est maintenue à une certaine distance du site réactionnel afin de maintenir un potentiel connu et stable. L'électrode de travail sert d'élément de transduction dans la réaction biochimique. La contre-

<sup>52</sup> Chaubey, A.; Malhotra, B. D. Mediated biosensors. *Biosensors & Bioelectronics* 2002, 17(6-7), 441–456.

électrode établit une connexion à la solution électrolytique de sorte qu'un courant peut être appliqué à l'électrode de travail. Ces électrodes doivent être à la fois conducteur et chimiquement stable. Par conséquent, les composés du platine, l'or, le carbone (par exemple, graphite) et de silicium sont couramment utilisées, en fonction de l'analyte<sup>53</sup>.

#### a. Capteurs potentiométriques

##### ❖ Principe :

Les dispositifs potentiométriques mesurent l'accumulation d'un potentiel de charge à l'électrode de travail par rapport à l'électrode de référence dans une cellule électrochimique. En d'autres termes, la potentiométrie fournit des informations sur l'activité ionique dans une réaction électrochimique<sup>54</sup>. Pour des mesures potentiométriques, la relation entre la concentration et le potentiel est régie par l'équation de Nernst :

$$E_p = E_{Ox/Red}^o + \frac{RT}{nF} \ln \frac{a_{Ox}}{a_{Red}}$$

où  $E_p$  représente le potentiel du couple redox

$E_{Ox/Red}^o$ , le potentiel normal standard du couple redox

R, la constante des gaz parfaits (8,314 J.K<sup>-1</sup>.mol<sup>-1</sup>)

$\frac{a_{Ox}}{a_{Red}}$  le rapport de l'activité de l'espèce déterminant le potentiel à l'état oxydé et à l'état réduit

T, la température absolue en Kelvin

F, la constante de Faraday = 96500 C.mol<sup>-1</sup>

La détermination directe de la concentration de l'analyte à doser avec l'équation de Nernst est appelée potentiométrie directe. Les limites de détection les plus bas pour les dispositifs potentiométriques sont actuellement souvent obtenus avec des électrodes sélectives d'ions (ISE). Des informations détaillées sur les capteurs potentiométriques et leurs limites de détection (LOD) sont fournies dans la revue de Bakker et al<sup>55</sup>.

---

<sup>53</sup> Ben, A. M.; Korpan, Y.; Gonchar, M.; El'skaya, A.; Maaref, M. A.; Jaffrezic-Renault, N.; Martelet, C. Formaldehyde assay by capacitance versus voltage and impedance measurements using bi-layer bio-recognition membrane. *Biosensors & Bioelectronics* 2006, 22(5), 575–581.

<sup>54</sup> E Bakker,.; E Pretsch,. Potentiometric sensors for trace-level analysis. *Trac-Trends in Analytical Chemistry* 2005, 24(3), 199–207.

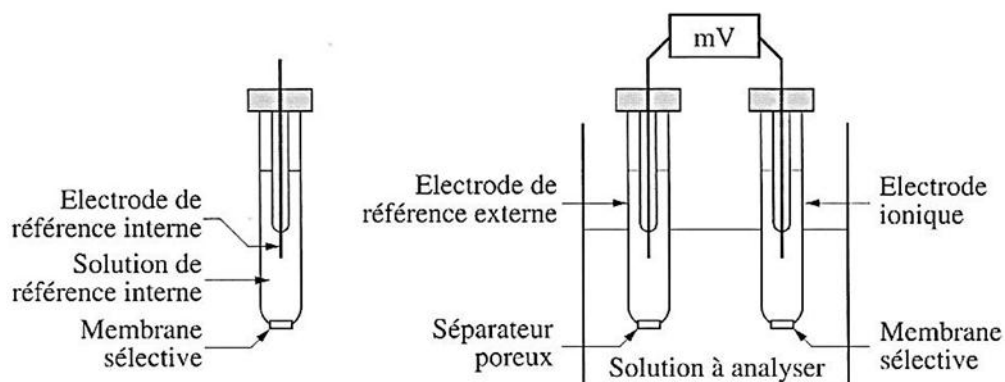


Figure 9 : Schéma d'une électrode ionique et de la chaîne de mesure<sup>55</sup>

### ❖ Application

L'utilisation des capteurs potentiométriques repose, dans un premier, cas sur l'utilisation d'une électrode de travail ISE (Ion Selective Electrode). Un biorecepteur est fixé sur cette électrode. Le potentiel de l'électrode de mesure varie lorsque l'analyte réagit avec le biorecepteur. L'électrode conventionnelle pour la mesure du pH<sup>56</sup>, l'électrode à membrane sensible aux ions<sup>57</sup> et l'électrode sélective aux gaz CO<sub>2</sub>, NH<sub>3</sub><sup>58</sup> sont des exemples des transducteurs de cette technologie.

Cette utilisation repose aussi, dans un deuxième cas, sur l'emploi de transistors à effet de champ (FET-Field-Effect Transistor). Ces transistors sont sensibles aux charges sur la surface d'une électrode, appelée grille. En modifiant cette grille en une ISE on obtient un ISFET (ion sensitive field effect transistor) sensible aux ions. Ce principe a été extrapolé aux capteurs biologiques avec l'intégration d'enzyme; ils sont alors appelés ENFETs (Enzyme FET).

Le temps d'analyse en utilisant les capteurs de type FET est plus intéressant que celui en utilisant les ISEs conventionnelles<sup>59</sup>. De plus, la fabrication en masse des capteurs de type FET a réduit remarquablement leur coût. Par ailleurs, les ISFETs sont robustes, avec une faible impédance de sortie et on peut les utiliser à des échelles très petites<sup>60</sup>. Quelques

<sup>55</sup> P. Fabry, J. Fouletier ; Microcapteur chimiques et biologiques, application en milieu liquide ; Lavoisier. 2003

<sup>56</sup> A. J. Killard, R M. Smyth, Creatinine biosensors : principe and designs, review, 2000

<sup>57</sup> Rajesh, V. Bisht, W. Takashima and K. Kaneto, Development of a potentiometric urea biosensor based on copolymer poly(N-3-aminopropyl pyrrole-co-pyrrole) film, Reactive and functional polymers, 2005, 62, 51-59.

<sup>58</sup> E Bakker, Electrochemical sensors, Anal. Chem., 2004, 76, 3285-3298

<sup>59</sup> L Campanella, C Colapicchioni, G Favero, M.P Sammartino, M Tomassetti., Organophosphorus pesticide (Paraoxon) analysis using solid state sensors. Sens. Actuators B33 (1996) 25-33

<sup>60</sup> J M CHOVELON-Préparation de couches minces d'oxy-nitride de silicium par PECVD en vue de greffage chimique. Application à un ISFET pH, spécialité électronique. 1991, Thèse de l'Ecole Centrale de Lyon: Lyon, France

applications récentes des biocapteurs potentiométriques sont présentées dans le tableau suivant.

Tableau 7 : Exemples des biocapteurs potentiométriques appliquées dans le contrôle environnemental.

<b>Transducteur</b>	<b>Enzyme inhibée</b>	<b>Produits détectés limites de détection</b>
Capteur pH à FET Electrode de pH modifiée	Organophosphoré hydrolase (OPH)	Organophosphorés <sup>61</sup> Paraoxon: 1µM, Dichlorvos <sup>62</sup> : 1 µM Paraoxon: 1µM
LAPS (Light Addressable Potentiometric)	Murine hybridome clone (P6A7)	Terbutylazine <sup>63</sup> (TBA) 1,5 µg/l
LAPS	E. coli WP2	tryptophan <sup>64</sup> : 0-12pM
Electrode de pH	Acétylcholinestérase (AcChE)	Dianizon: 0,2 nM <sup>65</sup>
Electrode de pH modifiée	butyrylcholinestérase, choline oxydase et peroxydase	trichlorfon <sup>66</sup> : 2.10 <sup>-4</sup> nM

## b. Capteurs ampérométriques

### ❖ Principe

Le principe des biocapteurs ampérométriques repose sur la mesure de courants limites de diffusion d'espèces électroactives<sup>67</sup>. Les capteurs ampérométriques prennent la forme d'une cellule électrochimique à trois électrodes<sup>68</sup>. Celle-ci est constituée d'une électrode de

<sup>61</sup> M.J.Schöning, R Krause, K Block, M.Musahmehc, A Mulchandani., J. Wang, A dual amperometric/potentiometric FIA-based biosensor for the distinctive detection of organophosphorus pesticides. *Sens. Actuators B* 95 (2003) 291-296

<sup>62</sup> P Mulchandani, A Mulchandani, I Kaneva, W Chen, Biosensor for direct determination of organophosphate Werve agents. 1. Potentiometric enzyme electrode. *Biosens. Bioelectron.* 14 (1999) 77-85

<sup>63</sup> L Mosiello, C Laconi, M Del Gallo, C Ercole, A Lepidi, Development of a monoclonal antibody based potentiometric biosensor for terbutylazine detection. *Sens. Actuators B* 95 (2003) 315-320

<sup>64</sup> Atsushi Seki, Kazunari Kawakubo, Mitsuhiro Iga, Satoshi Nomura, Microbial assai for tptophan using silicon-based transducer. *Sens. Actuators B* 94 (2003) 253-256

<sup>65</sup> Hye Sung-Lee, Young A Kim, Young Ae Cho, Yong Tae Lee, Oxydation of organophosphorus pesticides for the sensitive detection by a cholinesterase-based bioisensor. *Chemosphere*, 46 (2002) 571-576.

<sup>66</sup> Andrey L. Ghindilis, Tatyana G. Morzunova, Anatoly V. Barmen and Ilya N. Kurochkin, Potentiometric biosensors for cholinesterase inhibitor analsis based on mediator kss bioelectrocatalysis. *Biosens. Bioelectron.* vol. 11, No. 9(1996) 873-880

<sup>67</sup> Marc, Debliquy. *Capteurs chimiques. Techniques de l'ingénieur*, 2010, R420.

<sup>68</sup> Burgot, Jean-Louis. *Méthodes électrochimiques d'analyse*. Paris : Lavoisier, 2012.

référence dont le potentiel doit être fixe, et d'une électrode de travail dont le potentiel varie en fonction des conditions expérimentales. Enfin la troisième, appelée électrode auxiliaire, a pour rôle de limiter le courant circulant dans l'électrode de référence. En effet, lorsque l'électrode de référence est parcourue par un courant, son potentiel varie et entraîne une dérive des mesures. Les électrodes d'oxygène Clark représentent peut-être la base pour les formes les plus simples de biocapteurs ampérométriques, où un courant est produit en proportion de la concentration en oxygène. Elle est mesurée par la réduction de l'oxygène à une électrode de travail en platine, en référence à une électrode de Ag / AgCl à un potentiel donné<sup>69</sup>. Typiquement, le courant est mesuré à un potentiel constant, ce qui est désigné sous ampérométrie. Si le courant est mesuré au cours des variations contrôlées du potentiel, cela est considéré comme la voltammétrie. Un exemple d'un dispositif ampérométrique est le biocapteur de glucose, qui est basée sur la détection ampérométrique de peroxyde d'hydrogène. Les enzymes sont parmi les éléments de reconnaissance typiques les plus courants utilisés dans des biocapteurs<sup>70</sup>. Pour exploiter pleinement l'interaction spécifique par biorecognition, l'architecture de la surface du capteur doit également supprimer toute interaction non spécifique. Un effort de recherche considérable a été investi pour trouver des modifications de surface avec des capacités d'interaction spécifiques sur des périodes de temps prolongées dans les fluides biologiques<sup>71</sup>.

### ❖ Applications

L'ampérométrie est la méthode de transduction la plus répandue, ce qui s'explique par le fait que les biocapteurs ampérométriques sont plus rapides, plus sensibles et plus précis que les capteurs potentiométriques. Cependant, ils sont particulièrement sujets aux problèmes d'interférences. Ces dernières années ont été marquées par le développement de nouveaux types de capteurs intégrés à l'image de l'ENFET dont le fonctionnement se rapproche de la potentiométrie<sup>72</sup>. Ils sont destinés plus particulièrement à une utilisation dans l'agroalimentaire. L'ampérométrie est le mode le plus utilisé pour les biocapteurs enzymatiques<sup>73</sup>. Ces biocapteurs ampérométriques sont en général élaborés par immobilisation d'une enzyme à la surface d'une électrode métallique (platine, or, argent, graphite). Les espèces électroactives consommées ou produites lors de la réaction

---

<sup>69</sup> Chaubey, A.; Malhotra, B. D. Mediated biosensors. *Biosensors & Bioelectronics* 2002, 17(6-7), 441–456.

<sup>70</sup> Eggins, B. Chemical sensors and biosensors. *Analytical Techniques in the Sciences*. John Wiley & Sons, West Sussex, 2002.

<sup>71</sup> Kasemo, B. Biological surface science. *Surface Science* 2002, 500(1-3), 656–677.

<sup>72</sup> Nicole Jaffrezic-Renault, Claude Martelet, Paul Clechet. Capteurs chimiques et biochimiques. *Techniques de l'ingénieur*, 10 Octobre 1994, p. p360.

<sup>73</sup> Matsushita Ltd (1984b), Biosensor japanese Patent Application JP 59151052.

enzymatique vont être détectées à potentiel constant via leur oxydation ou leur réduction à la surface de l'électrode. L'intensité du courant induite est directement proportionnelle à la concentration en solution du substrat. Il est donc possible après étalonnage de déterminer la concentration de certains corps présents par la mesure de l'intensité.

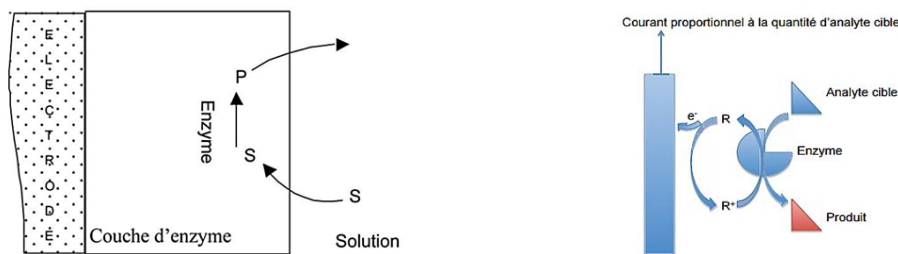


Figure 10 : Présentation schématique de la diffusion du substrat S et du produit P dans une couche enzymatique fixée sur une électrode.

De nombreux brevets ont été déposés sur ce type de biocapteurs et les applications sont très variables. Des exemples de biocapteurs ampérométriques à base d'enzymes servant à la détection des polluants dans l'eau sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau 8 : Exemples des biocapteurs ampérométriques enzymatiques pour la détection des polluants.

Transducteur	Enzyme inhibée	Produits détectés [limites de détection]
SPE (Screen-Printed Electrode)	AcChE BuChE	Organophosphorés [paraoxon 0,1 nM] <sup>74</sup> Carbamates [carbofuran: 0,01 nM] <sup>75</sup>
Micro-électrode de verre/ SCE/Electrode de Platine (Pt)		CP [3,4-dichlorophénol: 0,4 µM], carbamates [chloroisopropylphenylcarbamate] <sup>76</sup> 2µM, 3-chloroaniline: 2µM
Micro-électrode de verre/SCE/Pt	Tyrosinase	Organophosphorés [diazinon:5µM; dichlovos: 75 nM] <sup>77</sup>
SPE (Screen-Printed Electrode)		Diéthylthiocarbamate [2µN]; 4,6-dinitrocrésol [9µM, acide benzoïque [5µM], 2,4 D [5µM] <sup>78</sup>
SPE		Atrazine [5 µn] <sup>79</sup>

<sup>74</sup> M Albareda, A Merkoçi, S.Aleret, Pesticides determination in tap water and juice sample. using disposable amperometric biosensors made using thick-film technology. Anal. Chim. Acta, 442(2001) 35-44

<sup>75</sup> T.Montesinos, S.Pérez-Munguia, F.Valdez, J-L. Marty, Disposable cholinesterase biosensor for the detection of pesticides in water-miscible organic solvents. Anal. Chim. Acta. 431(2001) 231-237

<sup>76</sup> J.L.Besombes, S.Cosner, P.Labbé, G.Reverdy, A biosensor as warning device for the detection of the cyaniden chlorophenols, atrazine and carbamate pesticides. Anal. Chim. Acta. 311 (1995)255-263

<sup>77</sup> W.R.Everett, G.A.Rechnitz, Mediated bioelectrocatalytic determination of organophosphorous pesticides with a tyrosinase-based oxygen biosensor. Anal. Chem. 70(1998)807-810

<sup>78</sup> J.Wang, V.B.Nascimento, S.A.Kane, K.Roger, M.R.Smith, L.Angnes, Screen-printed tyrosinase containing electrodes for the biosensing of the enzyme inhibitors. Talanta 43(1996)1903-1907

<sup>79</sup> F.A.McArdle, and K.C.Persaud, Development of an enzyme-based biosensor for atrazine detection. Analyst. 118(1993)419-423



Electrode d'oxygène de type de Clark	PPD	Organophosphorés [Malathion: 5nM; parathion- méthyl: 2nM; paraoxon: 5nM] <sup>80</sup>
--	-----	--

### c. Capteurs conductimétriques

#### ❖ Principe

La conductance électrique  $G$  d'un corps, inverse de sa résistance, est proportionnelle à la surface  $S$  de la section perpendiculaire à la direction du courant et inversement proportionnelle à sa longueur  $l$  :

$$G = \gamma S / l$$

Avec :

- $G$  conductance (Siemens),
- $\gamma$  conductance spécifique ou conductivité, caractéristique du corps ; elle est exprimée en siemens par centimètre lorsque la surface est donnée en  $\text{cm}^2$  et la longueur en cm.

La mesure de la conductance d'une solution électrolytique s'effectue en immergeant dans la solution une cellule de mesure comportant deux électrodes dont la surface  $S$  et la distance sont déterminées par étalonnage dans une solution de conductivité connue. En première approximation, pour des solutions de concentration faible, la conductivité est proportionnelle à la concentration de l'électrolyte. Ces capteurs conductimétriques détectent toutes les espèces ioniques présentes dans la solution, leur utilisation demande de bien connaître la composition ionique des solutions puisqu'ils n'ont aucune sélectivité intrinsèque<sup>81</sup>.

#### ❖ Applications

Plusieurs brevets récents montrent de nouvelles approches dans le développement des biocapteurs conductimétriques notamment dans le domaine biomédical pour la détermination du glucose dans le sang et l'urine. Par exemple un biocapteur proposé par Toshiba Corp. dans lequel on a mis une membrane semiconductrice de polyacétylène dopé de sels d'iode entre deux électrodes. Dans ce biocapteur, un mélange de deux enzymes de glucose oxydase et de peroxydase ont été immobilisée sur cette membrane polymérique. En présence du glucose, la

<sup>80</sup> F.Mazzei, F.Botrè, G.Lorenti, G.Simonetti, F.Porceli, G.Scibona, C.Botrè, Plant tissue electrode for the determination of atrazine. Anal. Chim. Acta 316(1995)79-82

<sup>81</sup> K.C. Persaud and P. Pelosi, sensor arrays using conducting polymers, Sensors and Sensory systems for an Electronic Nose, The Netherlands : Kluwer, 1992.

réaction catalysée par les enzymes conduit à un changement de conductance de la membrane<sup>82</sup>.

L'application des biocapteurs conductimétriques n'est pas limitée au domaine biomédical. P.C.J. Roach et al, par exemple, ont réalisé un système comportant une électrode en diméthyl silicone poreux comme électrode de travail et deux électrodes de platine. Ce système permet une large gamme de détection très linéaire de l'acrylonitrile: 106 - 2650 ppm<sup>83</sup>.

### **3. Les capteurs électrochimiques pour la détection des bactéries**

La détection et l'identification microbiennes représente une priorité pour l'environnement ainsi que pour la santé humaine. Il existe des méthodes classiques de détection de la présence et de la nature des bactéries au sein d'un système telles que la spectroscopie de masse, l'absorption atomique, qui fournissent des informations très fine et complète, mais elles présentent des contraintes importantes de logistique, de coût et surtout du temps. Par exemple, dans le domaine des soins des plaies, il y a un besoin impérieux de développer des alternatives rapides pour l'identification bactérienne dans le milieu clinique, où il prend généralement plus de 24 heures pour recevoir une identification positive<sup>84</sup>. Même les nouveaux procédés d'identification moléculaires et biochimiques nécessitent une période d'incubation initiale de plusieurs heures pour obtenir un nombre suffisant de cellules avant d'effectuer l'analyse. Les travaux de recherches actuels visent à élaborer et améliorer un outil capable d'entrer en concurrence avec ces techniques en sens de rapidité, stabilité et économie. Le biocapteur qui présente la fusion de plus importantes technologies de ce siècle : l'électronique et les biotechnologies, pourrait être par cette association la base de la naissance d'un système efficace de détection précoce. Pour certains scénarios cliniques, tels que le diagnostic de l'infection d'appareil urinaire, par exemple, les biocapteurs qui détectent directement des cibles d'acide nucléique auraient des avantages distincts.

Plusieurs recherches ont été entamées dans ce domaine. Le choix du matériel biologique utilisé comme biorécepteur dépend de plusieurs critères, comme sa spécificité, sa stabilité et la nature des substances chimiques ou biologiques à analyser. Dans ces recherches,

---

<sup>82</sup> Hu, K. W. J. & Vogelhut, P. P. (1985), Polymer catalyst transducers and their use in text kits for analytical methods (Miles). European Patent Application EP 140322

<sup>83</sup> P.C.J.Roach, D.K Ramsden, J.Hughes, P.Williams, Development of a conductimetric biosensor using immobilized *Rhodococcus rober* whole cens for the detection and quantification of ,acrylonitrile. Biosens. Bioelectron. 19 (2003) 73-78

<sup>84</sup> HJ Sismaet, A Banerjee, S McNish, Y Choi, M Torralba, S Lucas, A Chan, VK Shanmugam, ED Goluch Electrochemical detection of *Pseudomonas* in wound exudate samples from patients with chronic wounds. Wound Repair Regen. 2016 Jan 27. doi: 10.1111/wrr.12414.

on peut distinguer divers types de biocapteurs, classés en fonction de l'élément sensible mis en œuvre comme biorécepteur : les capteurs enzymatiques, les capteurs immunologiques, les capteurs à ADN et les capteurs cellulaires ou bactériens. A titre d'exemple, Halford et al. a décrit une méthode de dosage de capteur électrochimique pour la détection et l'identification rapide de bactéries<sup>85</sup>. Leur essai comporte une matrice de capteurs fonctionnalisés avec de l'ADN d'oligonucléotides, sondes de capture pour des séquences spécifiques d'espèces d'ARN ribosomique (ARNr). Mayank Patel et al. ont élaboré, aussi, des biocapteurs électrochimiques d'ADN pour la détection des acides nucléiques<sup>86</sup>.

#### IV. *STAPHYLOCOQUE AUREUS* (BACTERIE)

##### 1. Agent infectieux

Le *staphylococcus aureus* est une coccobactérie Gram positif, catalase positive appartenant à la famille des *Staphylococcaceae*<sup>87</sup>. Il a un diamètre d'environ 0,5 à 1,5 µm, est immobile, asporulé et facultativement anaérobique (saufs. *aureus anaerobius*); il est habituellement disposé en grappes. De nombreuses souches produisent des entérotoxines staphylococciques, la toxine superantigénique du syndrome de choc toxique (TSST-1) et des toxines exfoliatives. *Staphylococcus aureus* fait partie de la flore humaine et est surtout présent dans le nez et sur la peau<sup>88</sup>.

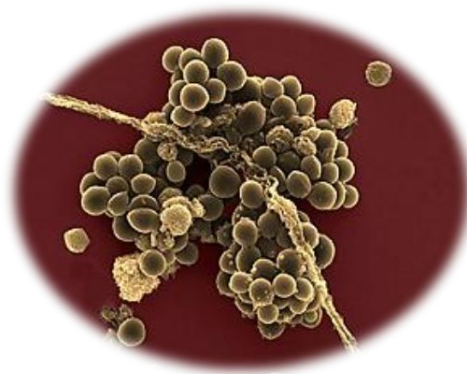


Figure 11 : Staphylocoque aureus en grappe

<sup>85</sup> C.Halford, V. Gau, B. M.Churchill, , D. A. Haake, Bacterial Detection & Identification Using Electrochemical Sensors. J. Vis. Exp. (74), e4282, doi:10.3791/4282 (2013).

<sup>86</sup> M. Patel, R. Gonzalez, C. Halford, M. A. Lewinski, E. M. Landaw, B. M. Churchill, and D. A. Haake Target-Specific Capture Enhances Sensitivity of Electrochemical Detection of Bacterial Pathogens. J Clin Microbiol. 2011 Dec; 49(12): 4293–4296.

<sup>87</sup> P. R.Murray, E. J Baron, J. H. Jorgensen, M. L. Landry, M. A.Pfaller, & R. H. Tenover, (Eds.). (2003). Manual of Clinical Microbiology (8th ed.). Herdon, VA, United States of America : American Society for Microbiology.

<sup>88</sup> J.Kluytmans, A.van Belkum, & H. Verbrugh, (1997). Nasal carriage of Staphylococcus aureus: epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks. Clinical Microbiology Reviews, 10(3), 505-520.

## 2. Détermination du risque

### a. Pathogénicité et toxicité

Le *Staphylococcus aureus* est un pathogène opportuniste qui peut causer diverses maladies chez les humains, allant des affections qui évoluent spontanément vers la guérison à des pathologies mortelles<sup>88</sup>. *Staphylococcus aureus* est une bactérie extrêmement pathogène pour l'homme. Elle est la cause de multiples infections, qui vont de la lésion cutanée (furoncles, panaris, impétigo, ...), à l'endocardite, la pneumonie aiguë, l'ostéomyélite ou la septicémie. Cette bactérie est une des principales causes de toxi-infections alimentaires, résultant de la consommation d'aliments contaminés par des entérotoxines. L'intoxication alimentaire par les staphylocoques se caractérise par une apparition brutale de nausées, de vomissements, de douleurs abdominales, de crampes et de diarrhée. Les symptômes disparaissent habituellement après 24 heures. Les morsures d'animaux peuvent entraîner des infections locales, une cellulite, un érythème, une sensibilité, une fièvre légère, une adénopathie et une lymphangite (rare)<sup>89</sup>. D'autres affections cutanées peuvent être causées par ces toxines exfoliatives : phlyctènes, perte cutanée, papules, furoncles, impétigo, folliculite, abcès, piètre contrôle thermique, perte de liquide et infection secondaire<sup>90</sup>.

### b. Epidémiologie

Le *Staphylococcus aureus* est l'une des causes les plus fréquentes d'infection de la peau, des tissus mous et d'infections nosocomiales. Les taux d'infection en milieux communautaires ne cessent de croître<sup>91</sup>. Les résidents de maisons de soins courent également un plus grand risque de contracter cette souche<sup>92</sup>. Environ 20 % des personnes sont des porteurs persistants de *Staphylococcus aureus*, environ 60 % sont des porteurs intermittents et environ 20 % sont rarement des porteurs. Les enfants sont plus nombreux à être des porteurs persistants de la bactérie<sup>89</sup>.

---

<sup>89</sup> E. J Goldstein, D. M Citron, B.Wield, U.Blachman, V. L.Sutter, T. A.Miller & S. M. Finegold, (1978). Bacteriology of human and animal bite wounds. *Journal of Clinical Microbiology*, 8(6), 667.

<sup>90</sup> Le Loir, Y., Baron, F., & Gautier, M. (2003). *Staphylococcus aureus* and food poisoning. *Genetics and Molecular Research : GMR*, 2(1), 63-76

<sup>91</sup> S. K Fridkin, J. C.Hageman, M.Morrison, L. T.Sanza, K Como-Sabetti, J. A Jernigan, K Harriman, L. H.Harrison, R.Lynfield, & M. M.Farley, (2005). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* disease in three communities. *The New England Journal of Medicine*, 352(14), 1436.

<sup>92</sup> C. M.Hughes, M. B.Smith & M. M. Tunney, (2008). Infection control strategies for preventing the transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in nursing homes for older people. *Cochrane Database of Systematic Reviews*

### 3. Viabilité et stabilité

#### a. Sensibilité aux médicaments

Des antibiotiques comme la cloxacilline et la céphalexine sont couramment utilisés pour traiter les infections à *staphylocoque*. Pour traiter l'infection à SARM (Staphylococcus aureus Résistant à la Méthicilline), on administre de la vancomycine par voie intraveineuse<sup>93</sup>.

#### b. Résistance aux médicaments

De nombreuses souches de *Staphylococcus aureus* deviennent de plus en plus résistantes à de nombreuses classes d'antibiotiques. Les souches résistantes à la méthicilline sont de fréquentes causes d'infection nosocomiale. Une augmentation de la résistance à la vancomycine est signalée dans de nombreux hôpitaux<sup>94</sup>.

#### c. Sensibilité aux désinfectants

Le Staphylococcus doré a une sensibilité à l'éthanol à 70 %, à la chlorhexidine, à l'hypochlorite de sodium à 1 %, au glutaraldéhyde à 2 %, au chlorure de benzalkonium à 0,25 % et au formaldéhyde<sup>95</sup>.

#### d. Inactivation physique

Le *Staphylococcus aureus* peut croître à un pH entre 4,2 et 9,3 et dans des concentrations de sel pouvant atteindre 15 %. Les entérotoxines sont résistantes à des températures qui détruiraient le bacille. *S. aureus* est sensible au traitement par la chaleur sèche (160-170 °C pendant au moins une heure), mais non au traitement par la chaleur humide<sup>91</sup>.

## V. AMOXICILLINE

### 1. Découverte des $\beta$ -lactamines et développement de l'amoxicilline

C'est à Alexander Flemming que l'on attribue la découverte des antibiotiques de la famille des  $\beta$ -lactamines en 1928. Ce dernier fut le premier à rapporter l'activité antibactérienne de la moisissure *Penicillium* sur des colonies de *staphylocoque*. Il nomma la

---

<sup>93</sup> N. K.Hansra & K.Shinkai, (2011). Cutaneous community-acquired and hospital-acquired methicillin-resistant Staphylococcus aureus. *Dermatologic Therapy*, 24(2), 263-272

<sup>94</sup> B. I. Eisenstein, (2008). Treatment challenges in the management of complicated skin and soft-tissue infections. *Clinical Microbiology and Infection : The Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 14 Suppl 2, 17-25

<sup>95</sup> H.Egusa, T.Watamoto, T.Matsumoto, K Abe, M.Kobayashi, Y.Akashi & H.Yatani, (2008). Clinical evaluation of the efficacy of removing microorganisms to disinfect patient-derived dental impressions. *The International Journal of Prosthodontics*, 21(6), 531-538

substance responsable de cette activité, pénicilline<sup>96</sup>. Devant l'impossibilité de purifier cette molécule, l'intérêt de la pénicilline comme agent antibactérien fut mitigé jusqu'en 1940, année où un groupe de recherche anglais dirigé par Florey et Chain observèrent l'efficacité de la pénicilline contre les infections à streptocoque chez les souris suite à une injection sous-cutanée de l'antibiotique<sup>97</sup>. À cette époque, il était difficile de produire, à partir de la souche de *Penicillium notatum* initialement utilisée, des quantités suffisantes de pénicilline pour effectuer des essais cliniques. Les conditions de recherche étant difficiles à cause de la seconde guerre, Florey et Chain se rendirent aux États-Unis où le développement accéléré de l'antibiotique fut considéré comme une priorité stratégique. Grâce à une meilleure sélection de la souche de moisissure et à des améliorations du milieu de culture, le rendement fut augmenté de 100 fois en seulement 2 ans. Durant cette période, il devint évident que différentes molécules pouvaient être obtenues selon la composition du milieu de culture, la souche et les conditions de fermentation<sup>98</sup>. Vers la fin des années cinquante, Bachelor et son équipe démontrèrent que la structure fournissant à la pénicilline son activité antibactérienne était l'acide 6-aminopénicillamique (6-APA) et que ce dernier pouvait être obtenu par fermentation en l'absence de précurseurs de la chaîne latérale spécifique à la pénicilline G<sup>99</sup>. Cette découverte a ainsi ouvert la voie à la création de nouvelles  $\beta$ -lactamines de semi-synthèse, dont la chaîne latérale rattachée au 6-APA est modifiée. Cette découverte a permis d'élargir le spectre d'activité des pénicillines : d'une part, on développa des molécules résistantes aux  $\beta$ -lactamases comme la méthicilline et d'autre part on développa des  $\beta$ -lactamines à spectre élargi comme l'ampicilline, qui est active à la fois sur les bactéries à Gram négatif et à Gram positif. Ces premières molécules étaient toutefois peu propices à l'administration orale et c'est en 1970 que fut la découverte de l'amoxicilline. Ceci a remédié à ce problème. Outre un spectre d'activité très similaire à celui de l'ampicilline, l'amoxicilline a une biodisponibilité orale élevée ce qui permet d'obtenir des concentrations sanguines deux fois plus élevées suite à une administration par voie buccale<sup>100</sup>.

---

<sup>96</sup> R. Bud, (2007) *Penicillin: Triumph and tragedy*. Norfolk, Angleterre, Oxford University Press. 340 p.

<sup>97</sup> E Chain, H.W.Florey, A.D. Gardner, (1940). *Penicillin as a chemotherapeutic agent*. *Lancet*, 236: 226-228.

<sup>98</sup> A.L.Demain, R.P.Elander, (1999) *The beta-lactam antibiotics: past, present and future*. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 75: 5-19.

<sup>99</sup> F.R.Batchelor, F.P.Doyle, J.H.Nayler, G.N. Rolinson, (1959). *Synthesis of penicillin: 6-aminopenicillanic acid in penicillin fermentations*. *Nature* 183: 257

<sup>100</sup> A.M.Geddes, K.P.Klugman, G.N.Rolinson, (2007) *Introduction: historical perspective and development of amoxicillin/clavulanate*. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 30: Supp 2. 109-112.

## 2. Structure et propriétés physico-chimiques

### a. Structure

L'amoxicilline appartient au groupe des médicaments appelés antibiotiques, et plus particulièrement à la famille des pénicillines. C'est une molécule dont la masse moléculaire est de 365,4 daltons. Tel qu'illustré à la figure 12 ci-dessous, elle possède trois groupements ionisables : le groupement acide carboxylique COOH sur le cycle thiazolidine, le groupement hydroxyle OH du cycle para-hydroxyphényle et le groupement amine primaire sur la chaîne latérale du cycle  $\beta$ -lactame.

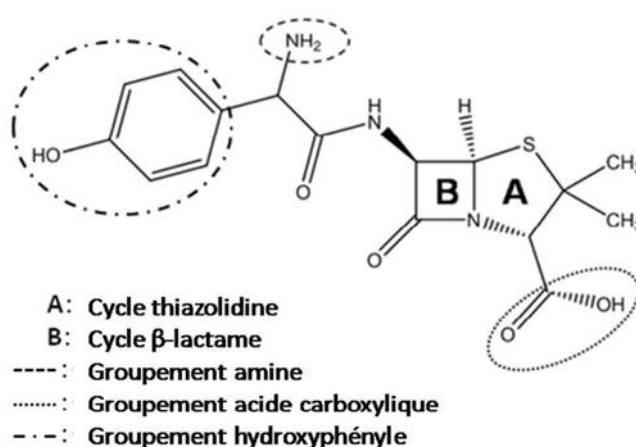


Figure 12 : Structure semi-développée de l'amoxicilline identifiant ses groupements ionisables et les cycles du noyau  $\beta$ -lactamine

La structure commune à toutes les pénicillines est le cycle  $\beta$ -lactame fusionné à un cycle thiazolidine (Figure 13). Le cycle  $\beta$ -lactame des pénicillines porte une chaîne latérale qui est spécifique à chaque antibiotique et influence son action ainsi que son absorption systémique. Pour l'amoxicilline, cette chaîne comporte une amine primaire et un groupement parahydroxyphényle.

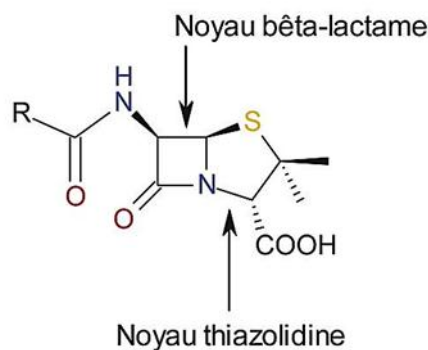


Figure 13 : Structure des pénicillines

### b. Ionisation

Un des préalables à l'activité biologique d'une molécule est qu'elle doit pouvoir traverser les membranes cytoplasmiques de différentes cellules qui s'interposent entre son site d'administration et son site d'action. Cette membrane est composée d'une bicouche lipidique dans laquelle sont dispersés des hydrates de carbone et des protéines. Une propriété physico-chimique qui favorise ce passage transmembranaire est une charge ionique nulle. L'amoxicilline est une molécule amphotère : les valeurs de pKa de ces groupes donneurs de protons respectivement (-COOH et -OH) et celui de son groupe receveur de protons (-NH<sub>2</sub>) sont respectivement de 2,4 et 7,4 et 9,6<sup>101</sup>. Le point isoélectrique (pI) est la valeur de pH à laquelle la charge nette de la molécule est nulle : tel que calculé à l'aide de l'équation (I) ci-dessous<sup>102</sup>, sa valeur pour l'amoxicilline est égale à 6,0 car la valeur de pKa du groupement hydroxyle n'est pas prise en compte étant donné sa proximité avec la valeur du pH sanguin.

$$pI = 1/2 (pK1 + pK2) = 1/2 (2,4 + 9,6) = 6,0 \quad (I)$$

### c. Hydrosolubilité et liposolubilité

Une deuxième propriété physico-chimique favorisant l'absorption est la capacité de la molécule à se solubiliser dans l'eau et les lipides. Il est établi que les molécules liposolubles traversent plus facilement la membrane cytoplasmique que les molécules polaires<sup>103</sup>. Le coefficient de partage octanol/eau (P), qui est habituellement présenté après avoir été transformé logarithmiquement ( $\log P$ ), est un indicateur du caractère lipophile d'une substance. Il est calculé à partir du rapport des concentrations d'antibiotique soluble dans l'octanol et dans l'eau (Équation II). Il est à noter que la concentration d'antibiotique dans l'octanol n'est pas mesurée mais déduite à partir de la diminution de sa concentration dans l'eau, après l'ajout de la phase d'octanol.

$$\log P = \log([\text{octanol}]/[\text{eau}]) \quad (II)$$

Plus sa valeur est négative, plus la molécule est hydrophile, alors qu'à l'inverse plus sa valeur est élevée et positive, plus la molécule est lipophile. Celle de l'amoxicilline est de 0,87<sup>104</sup>. Cette valeur supérieure à 0 indique que ce composé est légèrement plus soluble dans les lipides que dans l'eau, ce qui favorisera son passage transmembranaire.

<sup>101</sup> H.Oka, H.Nakazawa, K.-I.Harada, J.D. MacNeil, (1995). Chemical Analysis of Antibiotics Used in Agriculture. AOAC International, 452p.

<sup>102</sup> D.L.Nelson, M.M. Cox, (2005). Amino acids, peptides, and proteins Lehninger Principles of biochemistry 4th edition. Ch.3: pp. 75-115. New York, NY, États-Unis. W.H. Freeman and Company.

<sup>103</sup> L.Shargel, S.Wu-Pong, A.B.C. Yu, (2004) Applied Biopharmaceutics and Pharmacokinetics 5th edition. États-Unis, McGraw-Hill Medical.

<sup>104</sup> L.Y.Galichet, A. C.Moffat, M. D.Osselton, D.Widdop, (2004) Clarke's analysis of drugs and poisons 3rd edition, Pharmaceutical Press, Londres, Angleterre, 2101 p



#### d. Stabilité en milieu acide

Une des propriétés physico-chimiques qui favorisent l'usage thérapeutique de l'amoxicilline est que sa structure permet de conférer une stabilité au noyau  $\beta$ - lactame en milieu acide, ce qui était un obstacle majeur à l'utilisation orale des pénicillines. Cette stabilité est obtenue grâce à la présence d'une chaîne latérale suffisamment longue pour que son noyau hydroxyphényl protège le lien amide du cycle  $\beta$ -lactame. Cette caractéristique favorise d'ailleurs son utilisation par rapport à celle de l'ampicilline, dont la biodisponibilité orale est moins élevée<sup>105</sup>.

### 3. Propriétés biologiques de l'amoxicilline

#### a. Structure et polymérisation du peptidoglycane

La paroi cellulaire bactérienne, composante essentielle au maintien de la forme et à la protection de celle-ci contre l'osmolyse, est composée en partie de peptidoglycane. La structure de ce polymère consiste en une série de chaînes où s'alternent l'acide N-acétylmuramique (NAM) et l'acide N-acétylglucosamique (NAG), sur lesquels est greffée une chaîne de polypeptides. Ces structures sont reliées entre elles par un pont inter-peptidique (Figure 14).

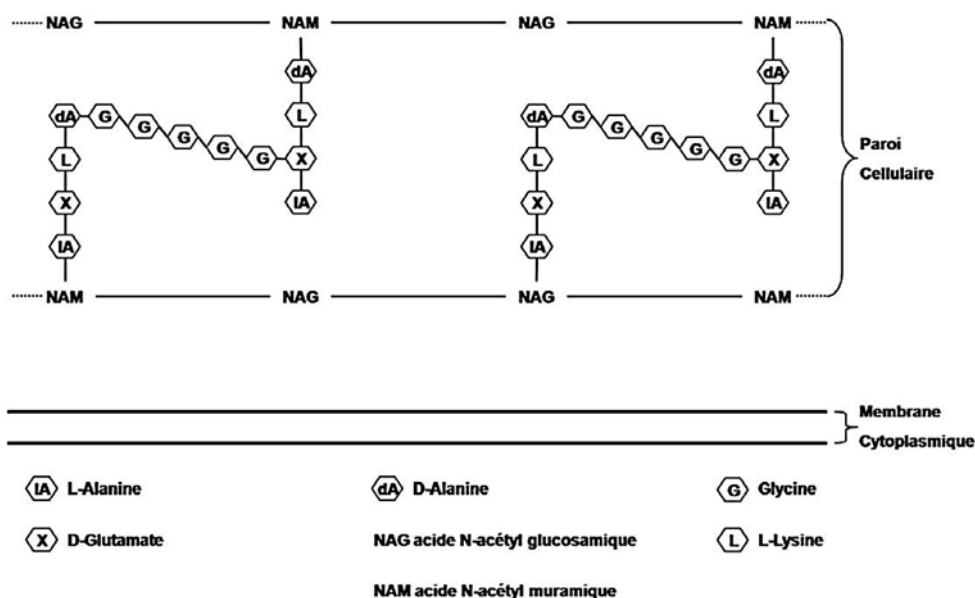


Figure 14 : Structure du peptidoglycane<sup>106</sup>

<sup>105</sup> E. L. Miller, (2002). The penicillins: a review and update. *Midwifery and Women's Health*. 47: 426-434.

<sup>106</sup> Jr. W. Petri (2004) *Antimicrobial agents: Penicillins, Cephalosporins and other  $\beta$ -lactam Antibiotics*. Ch.47: pp. 1189-1218.

Ces ponts inter-peptidiques sont établis grâce à l'action d'enzymes situées à la surface de la membrane cytoplasmique, les transpeptidases ou PLP (Protéines Liant les Pénicillines), qui catalysent la réaction permettant la réticulation du peptidoglycane<sup>107</sup>. Au cours de cette réaction, une pentaglycine est ajoutée et la D-alanine du groupement D-alanyl–D-alanine de la chaîne peptidique subséquente est libérée.

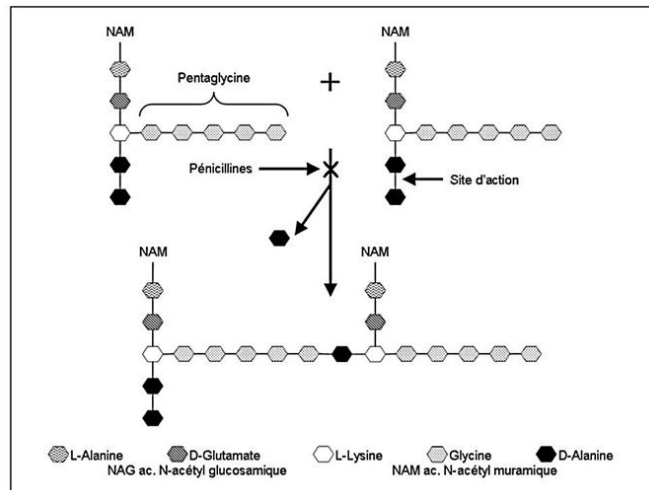


Figure 15 : Réaction de polymérisation du peptidoglycane<sup>107</sup>

#### b. Mécanisme d'action des antibiotiques de type bêta-lactamine

L'amoxicilline, comme les autres pénicillines, possède une conformation qui s'apparente à la D-alanyl–D-alanine du précurseur du peptidoglycane (Figure 16)<sup>107</sup>. Cette similarité lui confère une affinité pour le site actif de la PLP.

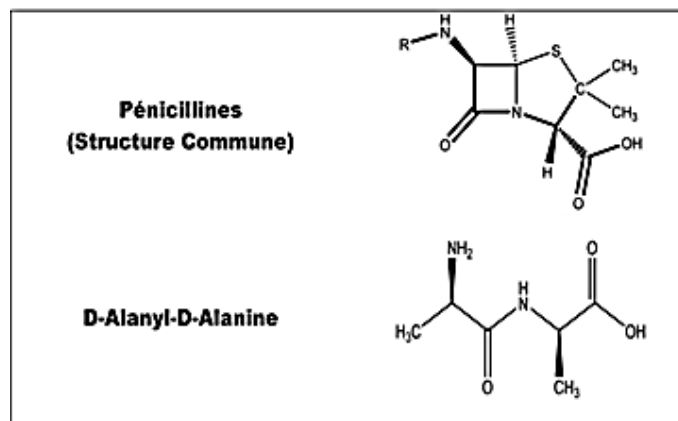


Figure 16 : Structure des pénicillines et du D-Alanyl-D-Alanine

Les  $\beta$ -lactamines sont des antibiotiques inhibiteurs de la synthèse de la paroi bactérienne, que ce soit des Gram positif ou négatif. Ces composés n'exercent de ce fait leur action bactéricide que si les bactéries sont en phase de croissance active et en cours de

<sup>107</sup> D.L.Nelson, M.M. Cox, (2008). Enzymes Lehninger Principles of biochemistry 5th edition. Ch.4:pp. 183-233.

synthèse de leur paroi. Ces antibiotiques possèdent une activité temps-dépendant ce qui signifie que leur action bactéricide dépend de la durée pendant laquelle les concentrations en médicament demeurent supérieures à la concentration minimale bactéricide ou Concentration Minimale Inhibitrice.

- **Principe**

Le mécanisme d'action des  $\beta$ -lactamines est fondé sur la liaison de l'antibiotique aux enzymes participant à la synthèse de la paroi bactérienne, les PLP (Protéines Liant la Pénicilline) encore appelées PBP (Penicillin Binding Proteins). La conséquence de cette interaction moléculaire est l'inhibition de la synthèse et du remodelage du peptidoglycane, composant essentiel de la paroi bactérienne. Ainsi, les transpeptidases bactériennes, PLP intervenant dans la dernière étape de la synthèse du peptidoglycane, vont reconnaître le cycle bêta-lactame du fait de son analogie structurale avec leur substrat naturel. En effet, les  $\beta$ -lactamines sont des analogues structuraux du substrat naturel dipeptidique D-alanyl D-alanine qui termine les chaînes polypeptidiques des précurseurs du peptidoglycane et vont donc se lier avec les enzymes responsables de la réticulation du peptidoglycane : les transpeptidases intervenant au moment de l'élongation (assemblage des chaînes peptidiques par formation de ponts interpeptidiques). Notons dès à présent que la liaison à une PLP se fait de façon covalente et irréversible. Les  $\beta$ -lactamines sont donc des « substrats suicide ». Ainsi, après que l'antibiotique s'est fixé à la PLP, la réaction de transpeptidation est inhibée, la synthèse du peptidoglycane bloquée et la cellule meurt rapidement. Toutefois, l'activité bactéricide des pénicillines n'est pas liée à la rupture de la paroi fragilisée sous l'effet de la pression osmotique car pour qu'il y ait mort cellulaire, il faut la coopération active de la bactérie qui utilise sa propre machinerie enzymatique suicide : les peptidoglycanes-hydrolases (autolysines).

- **Déroulement**

- **Pénétration dans la bactérie**

Les  $\beta$ -lactames ne doivent pas infiltrer la bactérie, mais rejoindre leur cible au niveau de la face interne de la paroi (espace périplasmique). Cet accès est direct et facile pour les bactéries à Gram positif dont le peptidoglycane est relativement perméable aux bêta-lactamines (sauf celui d'*E. faecalis*). Par contre, concernant les Gram(-), les  $\beta$ -lactames doivent emprunter les passages ménagés par les porines au niveau de la membrane externe pour rejoindre l'espace périplasmique. Ainsi, chez les bactéries à Gram négatif, ces propriétés de perméabilité vont contribuer à définir le phénotype naturel de résistance propre à chaque espèce bactérienne.

– **Activité antibactérienne**

Elle résulte de l'inhibition de la synthèse du peptidoglycane par fixation covalente aux protéines liant la pénicilline. Ces dernières sont des enzymes impliquées dans la synthèse du peptidoglycane et sont des transpeptidases et des carboxypeptidases. Elles sont ancrées dans la membrane cytoplasmique par leur extrémité carboxylique, et émergent sur la face externe de cette membrane dans l'espace périplasmique par leur extrémité NH<sub>2</sub> porteuse du site actif enzymatique.

▪ **Arrêt de la croissance bactérienne**

En simulant la structure tridimensionnelle de la séquence D-Alanyl-D-Alanine, les bêta-lactames se comportent comme des inhibiteurs de la transpeptidase. En présence d'antibiotique, cette enzyme, qui agit comme une acyl-transférase à sérine active, exerce son action hydrolytique sur la molécule antibiotique, conduisant à la formation d'un complexe enzyme-produit qui ne se dissocie pas car l'enzyme est liée de façon covalente au produit. Ce mécanisme est appelé inhibition-suicide (l'enzyme elle-même catalyse la transformation de l'antibiotique en un composé hautement réactif qui se lie à l'enzyme de façon irréversible).

Les schémas suivants exposent l'action de la transpeptidase et le principe antibactérien des β-lactamines<sup>108</sup>

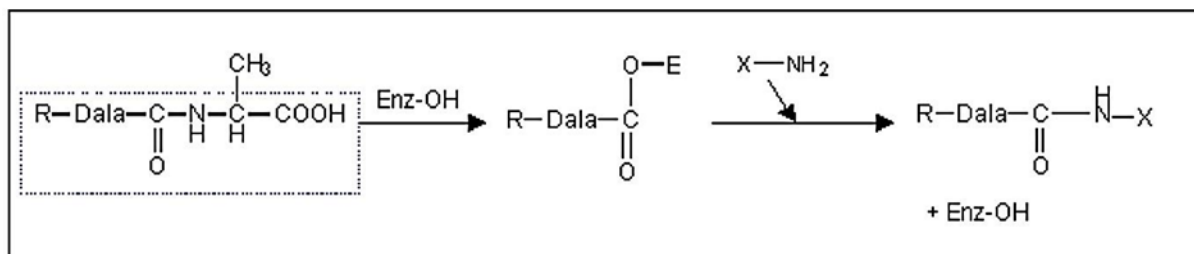


Figure 17 : Réaction de transpeptidation

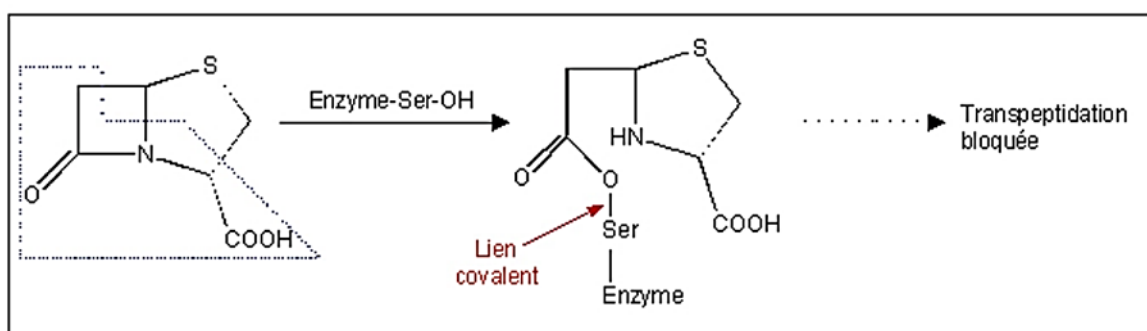


Figure 18 : Inhibition de la transpeptidation par la bêta-lactame

<sup>108</sup> A. Herchuelz, Pharmacologie et pharmacothérapie des anti-infectieux Université catholique de Louvain, Cours en ligne, 2010

Notons en pointillé l'analogie structurelle entre la séquence D-Ala-D-Ala et la  $\beta$ -lactamine. L'inhibition des PLP essentielles entraîne un arrêt de croissance (effet bactériostatique). Trois effets morphologiques différents peuvent être observés selon les fixations préférentielles d'une bêta-lactamine sur la PLP : la filamentation, la formation de sphéroplastes suivie d'une lyse bactérienne, et la formation d'éléments ovoïdes.

Concernant les inhibiteurs de bêta-lactamases, elles n'ont pas de rôle contre les bactéries mais servent de substrats pour les bêta-lactamases qui ne pourront plus exercer leur effet sur les antibiotiques.

- **Effet bactéricide**

Il fait suite à l'arrêt de la croissance de la paroi bactérienne et met en jeu le système des autolysines, qui dégradent le peptidoglycane des bactéries en phase de croissance. Ainsi la rupture de l'équilibre dynamique entre la construction du peptidoglycane et son réarrangement par les autolysines va se faire en faveur des autolysines entraînant la mort de la bactérie.

Une autre hypothèse a été avancée pour expliquer l'action antibactérienne des pénicillines : une fois lié à la PLP, ce type d'antibiotiques activerait des protéines bactériennes, les holines, ayant pour effet de causer des lésions dans la membrane plasmique<sup>109</sup>. Ces altérations causeraient des fuites du contenu cellulaire, entraînant des hydrolases qui briseraient le peptidoglycane et lyseraient la cellule<sup>110</sup>.

## VI. CONCLUSION

La revue bibliographique exposée dans ce chapitre a montré que chaque type de biocapteur comporte des points forts et des points faibles. Le choix du biocapteur se fera surtout en fonction du type d'application visée. Lors de la mise au point d'un biocapteur, le choix de la membrane et celui du matériau de électrode sont primordiaux. En effet, la sensibilité, la limite de détection, la rapidité et la durée de vie du capteur dépendront du choix des matériaux. Cependant la principale problématique est le manque de stabilité durable. Cette analyse bibliographique consacrée aux électrodes électrochimiques a permis de fixer et de comprendre les principes de fonctionnement à la surface de ces électrodes, de cerner les

---

<sup>109</sup> C. H. Collins & D. A. Kennedy, (1999). Laboratory-acquired infections. *Laboratory-acquired Infections : History, incidence, causes and prevention*. (4th ed., pp. 234).

<sup>110</sup> L.M. Prescott, J.P. Harley, D. Klein, (2003). *Microbiologie*. Paris, France, Édition de Boek.

caractéristiques des *staphylocoques aureus* et de mettre en évidence le principe actif de l'amoxicilline et son action sur les souches.

Le chapitre suivant rapprochera les méthodes et les techniques utilisées dans ce travail en vue de l'étude des capteurs électrochimiques élaborés.

# **Chapitre II : Techniques expérimentales**

## INTRODUCTION

Ce chapitre sera consacré à la description des fondements théoriques, pratiques et méthodes électrochimiques sur lesquels s'appuient les techniques expérimentales utilisées pour la réalisation, la compréhension et l'interprétation des résultats obtenus dans ce travail.

Les méthodes de caractérisation physico-chimique sont décrites dans la première partie de ce chapitre, et la deuxième partie est consacrée aux différentes méthodes électrochimiques mises en œuvre. Cette présentation non exhaustive se focalise sur les outils et les équations nécessaires à la compréhension et l'interprétation des résultats expérimentaux.

### I. Caractérisations physico-chimiques

#### 1. Microscopie

Les différentes microscopies utilisées dans cette étude ont permis d'effectuer des observations à différentes étapes du protocole de modification des électrodes :

- analyse de la composition des matériaux utilisés pour la synthèses des électrodes (par microscopie électronique à balayage) ;
- vérification de l'état de surface des électrodes avant et après modification (par microscopie optique).

##### a. Microscopie électronique à balayage

Le microscope électronique à balayage (MEB) est un outil de caractérisation très utilisé pour observer la morphologie des structures (films, nanoparticules) et étudier leur rugosité. Lors de l'analyse, un faisceau d'électrons balaye la surface de l'échantillon à étudier. L'interaction entre le faisceau et l'échantillon génère des rayons X et arrache des électrons de différents types dont des électrons secondaires. Un schéma des interactions entre le faisceau d'électrons primaires et l'échantillon à analyser se trouve sur la figure 19.



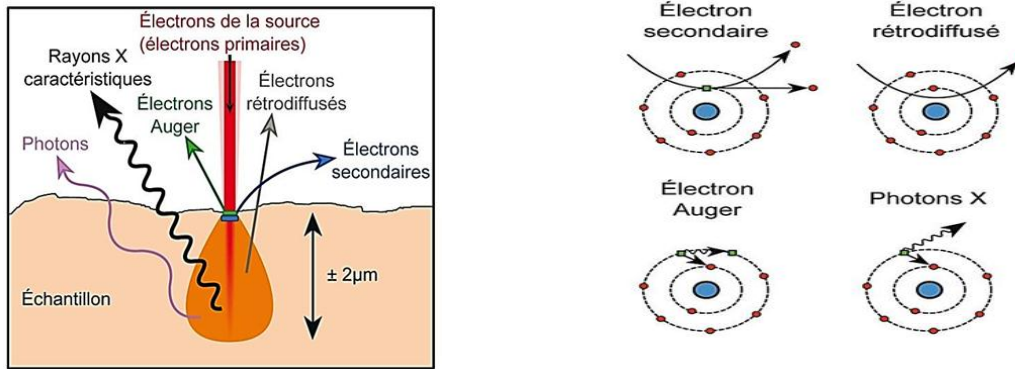


Figure 19 : Interaction entre le faisceau d'électrons du MEB et l'échantillon à analyser

Les électrons secondaires de basse énergie sont accélérés vers un détecteur d'électrons qui mesure un signal électrique. Plusieurs facteurs influencent l'intensité de ce signal dont la topographie de l'échantillon au point d'impact ainsi que la nature de l'échantillon qui détermine le rendement en électrons secondaires. Une cartographie de la zone étudiée peut alors être obtenue en balayant le faisceau sur la surface de l'échantillon. Le schéma de la figure 20 montre les éléments qui constituent un MEB.

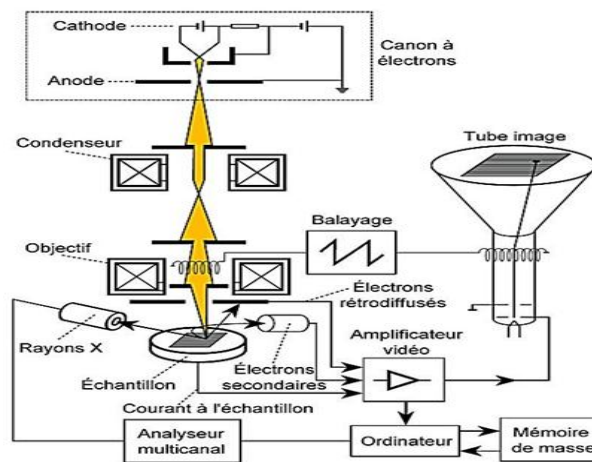


Figure 20 : Fonctionnement d'un microscope à balayage électronique

### b. Microscopie optique

Le microscope en réflexion est un microscope optique permettant d'observer des objets opaques ou épais. Il permet d'illuminer et d'observer l'échantillon du même côté. La lumière observée provenant de l'échantillon est réfléchiée et arrive, à travers l'objectif, pour atteindre l'objet. Puis elle est réfléchiée et réacheminée vers l'objectif par un système

de miroirs.

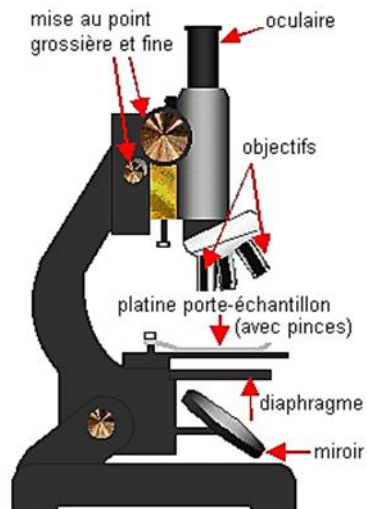


Figure 21 : Schéma d'un microscope optique en réflexion

## 2. Spectrométrie IR à transformée de Fourier (FTIR)

Le principe de la spectroscopie infrarouge repose sur l'interaction entre des ondes lumineuses et les vibrations des atomes des molécules. Lorsqu'un spectre polychromatique interagit avec un solide ou avec des molécules, on observe une absorption à certaines fréquences propres au solide ou à la molécule. Cette absorption, traduite sous forme de pics, correspond à des fréquences de vibrations (ou « mode de vibration »). Chaque mode de vibration est caractérisé par une énergie particulière. Cette technique permet d'analyser la matière à l'état gazeux, liquide ou solide.

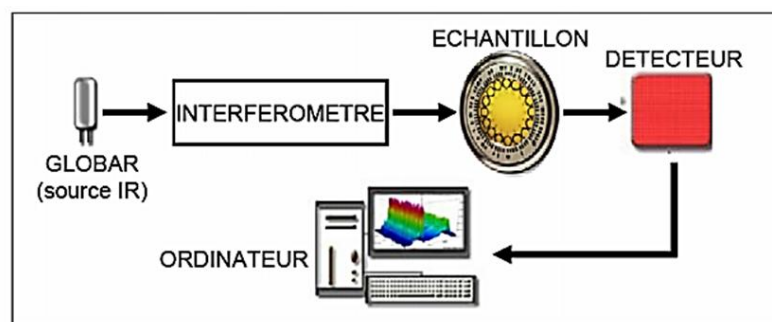


Figure 22 : Schéma de principe d'un spectromètre FT-IR

L'interferomètre permet de mesurer les longueurs d'onde par production d'interférences.

## 3. Diffraction de rayons X

La diffractométrie des rayons X (DRX) est une technique de caractérisation non destructive permettant de déterminer la composition (sans connaître les proportions) et la structure cristalline d'un échantillon ainsi que la taille de ses cristallites. Un cristal est une répétition périodique tridimensionnelle d'éléments (atomes ou molécules) schématisés sur la figure 23. La DRX consiste à irradier l'échantillon cristallin avec un faisceau de rayons X monochromatiques et parallèles et à mesurer l'intensité de rayons X qui est diffusée selon l'orientation dans l'espace grâce à un détecteur (figure 24). En effet, lorsque l'échantillon est irradié par un faisceau de rayons X, les éléments du cristal diffusent des ondes, celles-ci se propagent dans toutes les directions et interfèrent entre elles.

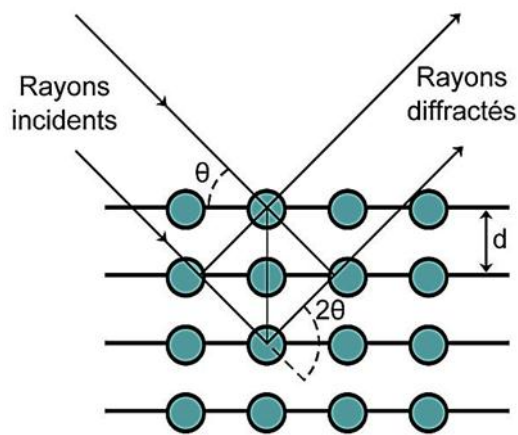


Figure 23 : Diffraction des rayons X par une famille de plans réticulaires espacés d'une distance  $d$

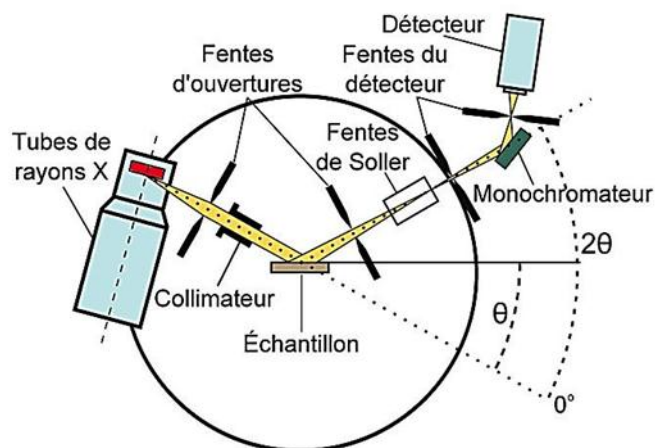


Figure 24 : Principe de fonctionnement d'un diffractomètre de rayon X

L'intensité des rayons X détectés est tracée en fonction de l'angle de déviation  $2\theta$  du faisceau ce qui permet d'obtenir un diffractogramme. De plus, deux rayons lumineux particuliers interfèrent de manière constructive lorsque la différence de chemin optique est

égale à un nombre entier  $n$  de longueur d'onde. Grâce à la loi de Bragg et à une banque de données de spectres, il est possible d'identifier les pics obtenus et de les relier à la phase cristalline de l'échantillon analysé (orientation et distance inter-planaire). La loi de Bragg relie l'angle de déviation du faisceau à la distance inter-planaire et s'écrit :

$$2d\sin\theta = n\lambda$$

où  $d$  est la distance inter-planaire (nm)

$\theta$  est l'angle de Bragg ( $^{\circ}$ )

$n$  est l'ordre de diffraction (sans unité)

$\lambda$  est la longueur d'onde des rayons X (nm)

L'angle de Bragg  $\theta$  est l'angle d'incidence du faisceau parallèle des rayons X sur les plans réticulaires de l'échantillon analysé et est égal à la moitié de l'angle de déviation du faisceau.

De plus, la diffractométrie des rayons X peut être utilisée pour l'estimation de la taille des cristallites  $r$  (diamètre pour des particules sphériques) d'un échantillon grâce à la relation de Debye-Scherrer. Cette relation s'applique à un pic donné du diffractogramme et peut s'écrire de la façon suivante :

$$\tau = \frac{K \times \lambda}{(H - S) \times \cos(\theta)}$$

où :  $\tau$  est la taille moyenne des cristallites (nm)

$K$  est une constante (sans unité)

$\lambda$  est la longueur d'onde des rayons X (nm)

$H$  est la largeur à mi-hauteur du pic (radian)

$S$  est une constante due à l'appareil de mesure (radian)

$\theta$  est l'angle de Bragg ( $^{\circ}$ )

## II. Caractérisations électrochimiques

### 1. Voltammétrie ou voltampérométrie

Le principe général de la voltampérométrie est l'obtention d'une réponse (le courant) du système soumis à une perturbation (le potentiel) responsable de la réaction électrochimique désirée. Cette opération est réalisée en effectuant une exploration par imposition et variation progressive du potentiel d'électrode (balayage de potentiel)<sup>111</sup>.

<sup>111</sup> F. Bedioui, Voltampérométrie sur électrode solide-Introduction, Technique de l'ingénieur, P2125 v3, 2008

Dans ce qui suit, afin d'analyser les caractéristiques expérimentales obtenues sur nos systèmes, nous rappellerons simplement les expressions donnant les courants en régime de diffusion pure dans les trois cas possibles de rencontrer suivant les conditions opératoires que nous adopterons : système rapide, lent et quasi-rapide.

### - Système rapide

Dans le cas d'un système rapide Ox/Red, la loi simplifiée de Nernst suffit à expliquer les différents phénomènes. Le profil de concentration est donné par l'équation suivante et, après intégration, la densité de courant suit la loi ci-dessous :

$$j = -nF C_{Ox}^{sol} (\pi D_{Ox})^{\frac{1}{2}} \left( \frac{nF}{RT} v \right)^{\frac{1}{2}} \chi(\sigma t)$$

Où  $\chi(\sigma.t)$  est une fonction de E, calculée numériquement pour certaines valeurs de  $(E-E_{1/2})$  et  $\sigma = \frac{nF}{RT} v$  avec  $E_{1/2}$  le potentiel de demi-vague telle que représentait sur la figure 25. La densité de courant j sera exprimée en A/cm<sup>2</sup> si D est exprimé en cm<sup>2</sup>/s, v en V/s et la concentration c en mol/cm<sup>3</sup>, à 25°C.

Ainsi, lors du balayage du potentiel pour le tracé du voltampérogramme, on observe d'abord une croissance du courant lorsque la réaction électrochimique commence à se produire (ceci correspond à l'accélération du processus par accroissement du surpotentiel), puis une décroissance lorsque le ralentissement dû au phénomène de diffusion devient prépondérant.

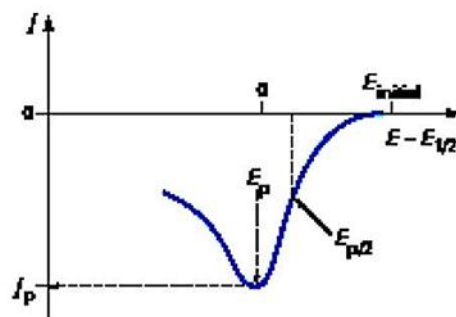


Figure 25 : Courbe courant-potentiel théorique pour une réaction rapide Ox + ne<sup>-</sup> ↔ Red en régime de diffusion pure<sup>112</sup>

### - Système lent

Dans le cas d'un système lent, au lieu de la relation de Nernst, pour prendre en compte les vitesses réactionnelles à la surface des électrodes, on utilise la relation de Butler-Vohner et

<sup>112</sup> F. Bedioui, Voltampérométrie, Théorie et mise en œuvre expérimentale, technique de l'ingénieur, P2126, 2008

si le système est vraiment lent, on peut prendre l'approximation de Tafel. Après intégration nous obtenons l'équation suivante<sup>113</sup> :

$$j = -nFC_{ox}^{sol}(\pi D_{ox})^{\frac{1}{2}} \left(\frac{\alpha nF}{RT} v\right)^{\frac{1}{2}} \chi\left(\frac{\alpha nF}{RT} \sigma t\right)$$

#### - **Système quasi-rapide**

Dans le cas d'un système quasi-rapide, il est nécessaire de prendre en compte la relation inverse et donc de prendre en compte la relation de Butler-Volmer complète. Les développements théoriques ont été développés par plusieurs auteurs<sup>114</sup>. Rappelons que le courant est donné par la relation :

$$j = -nFC_{ox}^{sol} D_{ox}^{\frac{1}{2}} \left(\frac{nF}{RT} v\right)^{\frac{1}{2}} \psi(E)$$

Où  $\psi$  est une fonction tabulée pour différentes valeurs de  $(E - E_{1/2})$ .

A partir de ces expressions, on constate que, suivant la vitesse de balayage que l'on adopte pour appliquer les potentiels, on se trouve dans un système ou dans un autre. Il sera donc important dans le tracé des voltampérogrammes expérimentaux de bien appréhender ce paramètre de vitesse.

#### **a. Voltammétrie à balayage linéaire**

La voltammétrie ou voltampérométrie est un ensemble de techniques pour lesquelles le potentiel est contrôlé et le courant est mesuré. Lors d'une voltammétrie à balayage linéaire, le courant est mesuré pendant que le potentiel appliqué est varié à vitesse constante. La vitesse à laquelle le potentiel change est appelée vitesse de balayage ( $v$ ). La courbe de la variation du courant en fonction du potentiel est appelée voltammogramme. Les voltammogrammes sont tracés avec des valeurs positives de potentiel sur la droite de l'axe des abscisses. Les courants sont quant à eux représentés graphiquement sur l'axe des ordonnées avec des valeurs positives pour les courants dus à l'oxydation et des valeurs négatives pour les courants dus à la réduction. Le balayage est initialisé à un potentiel auquel il n'y a aucune réaction (potentiel de circuit ouvert). Ce potentiel de circuit ouvert peut être mesuré grâce au potentiostat utilisé lors de nos mesures.

La voltammétrie à balayage linéaire est utilisée pour mesurer le courant de pic  $i_p$  (le courant maximum), le potentiel de pic  $E_p$  correspondant au potentiel du courant de pic et le

<sup>113</sup> R.S. Nicholson, I. Shain, Theory of stationary electrode polarography, Anal. Chem. 36, 1964, Page 706

<sup>114</sup> W.H.Reinmuth, Nerst-controlled currents in hanging-drop polarography, J. Am. Chem. Soc. 79, 1957, Page 494

potentiel de demi-pic  $E_{1/2}$  qui est le potentiel auquel le courant est égal à la moitié du courant de pic. Le potentiel de pic est une caractéristique de la réaction d'oxydoréduction et du système étudié. La valeur du courant de pic dépend de plusieurs facteurs, y compris la concentration de l'analyte, la cinétique de transfert d'électrons et le transport de masse de l'analyte. Dans un système où la diffusion est le seul mode de transport de masse (diffusion contrôlée) et la cinétique de transfert d'électrons est rapide (réaction réversible), l'équation de Randles-Sevcik permet de calculer le courant de pic :

$$i_p = 0,4463 \times nFAC^* \left( \frac{nFvD}{RT} \right)^{1/2}$$

où :  $i_p$  est le courant de pic (A)

$n$  est le nombre d'électrons transférés lors de la réaction (sans unité)

$F$  est la constante de Faraday ( $9,65 \cdot 10^4 \text{ C mol}^{-1}$ )

$A$  est la surface de l'électrode ( $\text{cm}^2$ )

$C^*$  est la concentration de l'analyte dans la solution ( $\text{mol cm}^{-3}$ )

$v$  est la vitesse de balayage ( $\text{V s}^{-1}$ )

$D$  est le coefficient de diffusion ( $\text{cm}^2 \text{ s}^{-1}$ )

$R$  est la constante des gaz parfaits ( $8,31 \text{ J} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$ )

$T$  est la température (K)

Et si la solution est à température ambiante ( $25 \text{ }^\circ\text{C}$ ) alors la relation peut s'écrire :

$$i_p = 2,69 \times 10^5 \times n^{3/2} AD^{1/2}v^{1/2}C^*$$

Notons que le courant est dépendant de la concentration de l'analyte au sein de la solution et non de la concentration à la surface de l'électrode ce qui permet de pouvoir utiliser le courant de pic pour des mesures quantitatives de l'analyte en solution.

### **b. Cyclovoltammétrie**

La Voltammétrie cyclique est la technique la plus utilisée pour acquérir des informations qualitatives sur les réactions électrochimiques. Cela revient à sa capacité de fournir rapidement des informations considérables sur les processus redox, la cinétique de réactions de transfert d'électrons hétérogènes, la réversibilité du système électrochimique étudié et sur les réactions chimiques couplées ou encore des procédés d'adsorption. La voltammétrie cyclique est souvent la première expérience réalisée dans l'étude électroanalytique. En particulier, elle offre une localisation rapide des potentiels redox des espèces électroactives, et l'évaluation convenable de l'effet des milieux sur le

processus d'oxydo-réduction<sup>115</sup>.

Son principe est basé sur la mesure du courant d'électrolyse traversant l'électrode de travail à laquelle est appliqué un balayage de potentiel, de forme triangulaire (Figure 26), dont la valeur varie linéairement au cours du temps entre une borne inférieure et une borne supérieure selon l'équation suivante :

$$E = E_i \pm rt$$

$E_i$  est le potentiel initial (V), le plus souvent égal au potentiel à courant nul,  $r$  est la vitesse de balayage des potentiels ( $V.s^{-1}$ ), maintenue constante au cours du tracé d'une courbe, et  $t$  le temps d'électrolyse (s).

L'allure des courbes intensité-potentiel obtenues permet de distinguer les différents systèmes redox selon qu'ils sont réversibles, quasi-réversibles ou irréversibles<sup>116</sup>.

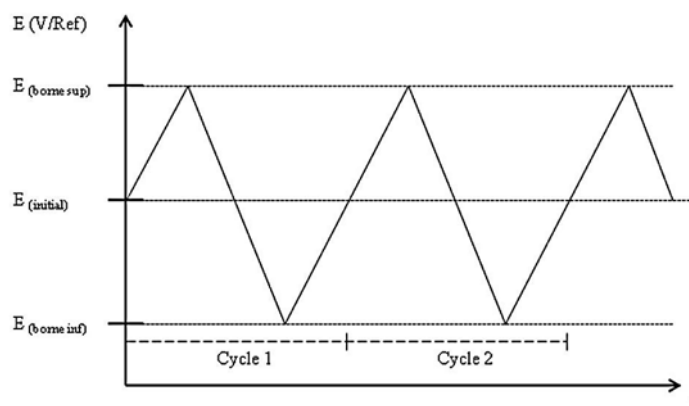
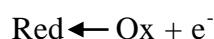
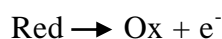


Figure 26 : Rampe de potentiel en voltammétrie cyclique

#### – Cas d'un système réversible :

Considérons une solution électrolytique contenant une espèce réduite, pouvant être oxydée à l'électrode lors d'une réaction électrochimique échangeant  $n$  électrons. Un système est dit réversible (ou Nernstien) lorsque l'espèce oxydée formée peut subir consécutivement la réaction inverse de réduction.



Ce cas est possible lorsque la cinétique de transfert de charge est très rapide. Le rapport des concentrations des formes oxydée et réduite vérifie alors la loi de Nernst :

<sup>115</sup> G. A. Mabbott, An introduction to Cyclic voltammetry., J Chem. Educ., 60 (1983) 697.

<sup>116</sup> D. H. Evans, K. M. O'Connell, R. A. Petersen and M. J. Kelly, Cyclic voltammetry., J Chem. Educ., 60 (1983) 290.



$$E = E^{\circ} + \frac{RT}{nF} \ln \frac{C_{ox}^*}{C_{red}^*}$$

Avec  $E^{\circ}$  le potentiel standard du couple redox considéré (V)  $F$  est la constante de Faraday ( $96485 \text{ C.mol}^{-1}$ ),  $R$  la constante des gaz parfaits ( $8,314 \text{ J.mol}^{-1}.\text{K}^{-1}$ ),  $T$  la température (K),  $n$  le nombre d'électrons échangés, et  $C_{ox}^*$  et  $C_{red}^*$  la concentration de l'espèce oxydée et réduite en solution ( $\text{mol.cm}^{-3}$ ). Les activités chimiques sont assimilées aux concentrations en espèces oxydées et réduites :  $a_{ox} = C_{ox}^*$  et  $a_{red} = C_{red}^*$

L'allure du voltammogramme cyclique obtenu est présentée sur la Figure 27.

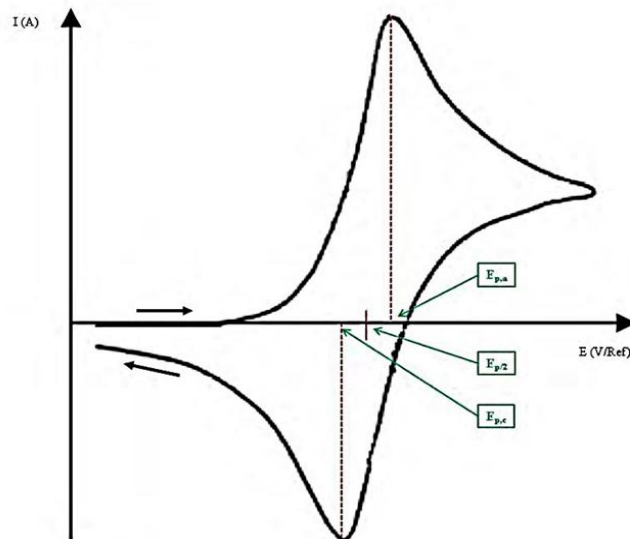


Figure 27 : Voltammogramme cyclique d'un système réversible,  $E_{p,a}$  et  $E_{p,c}$  sont les potentiels de pics anodique et cathodique respectivement et  $E_{p/2}$  le potentiel de demi-vague<sup>117</sup>.

Dans le cas d'une espèce en solution, la valeur du courant de pic  $i_p$  (A) est donnée par la relation.

$$i_p = 0,4463 \left( \frac{P^3}{RT} \right)^{\frac{1}{2}} S n^{\frac{3}{2}} D^{\frac{1}{2}} C^* r^{\frac{1}{2}}$$

à  $25^{\circ}\text{C}$  cette équation devient:

$$i_p = (2,69.10^5) S n^{\frac{3}{2}} D^{\frac{1}{2}} C^* r^{\frac{1}{2}}$$

où  $S$  la surface de l'électrode ( $\text{cm}^2$ ),  $D$  le coefficient de diffusion de l'espèce ( $\text{cm}^2.\text{s}^{-1}$ ) et  $C^*$  la concentration de l'espèce en solution ( $\text{mol.cm}^{-3}$ ).

<sup>117</sup> A. J. Bard and L. R. Faulkner, Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications., Masson, (1982).

Cette équation est connue sous le nom d'équation de Randles-Sevcik<sup>118 119</sup>. Elle permet notamment de déterminer le coefficient de diffusion D de l'espèce électroactive en faisant varier la vitesse de balayage pour une même concentration en espèce redox.

Dans le cas où l'espèce est adsorbée à la surface de l'électrode, l'intensité du courant de pic est donnée par la relation:

$$i_p = \frac{n^2 P^2}{4RT} r S^*$$

avec  $S^*$  la concentration surfacique de l'espèce ( $\text{mol.cm}^{-2}$ )

L'examen de la variation de  $i_p$  en fonction de la vitesse de balayage des potentiel  $r$  permet alors de préciser si la vitesse de la réaction est limitée par la diffusion de l'espèce en solution ( $i_p$  proportionnel à  $r^{1/2}$ ) ou par la quantité d'espèce adsorbée ( $i_p$  proportionnel à  $r$ ).

Le potentiel de pic observé pour une réaction électrochimique est indépendant de la vitesse de balayage, que l'espèce soit en solution ou adsorbée à l'électrode:

$$E_p = E_{p/2} + 1,109 \frac{RT}{nF}$$

$$E_p = E^o + \left(\frac{RT}{nF}\right) \ln \left(\frac{b_o}{b_r}\right)$$

avec  $b_j = \beta_j S_{j,s}$  ( $\text{mol.cm}^{-2}$ ),  $\beta_j$  étant le paramètre d'équilibre dans un isotherme d'adsorption pour l'espèce  $j$  (sans unité) et  $S_{j,s}$  la concentration surfacique à saturation ( $\text{mol.cm}^{-2}$ ).

#### – Cas d'un système irréversible

Un système est dit irréversible lorsque le produit formé à l'électrode lors du balayage aller des potentiels ne peut être consommé via la réaction électrochimique inverse. Un exemple d'une réaction d'oxydation irréversible est représenté par le voltammogramme cyclique de la Figure 28.

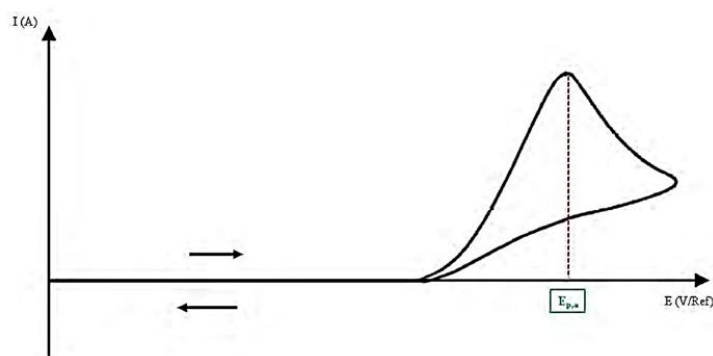


Figure 28 : Voltammogramme cyclique d'une réaction d'oxydation irréversible<sup>118</sup>

<sup>118</sup> J. E. B. Randles, Cathode-ray polarograph. II. Current-voltage curves., Trans. Faraday Soc., 44 (1948) 327.

<sup>119</sup> A. Sevcik, Oscillographic polarography with periodical triangular voltage., Collect. Czech. Chem. Commun., 13 (1948) 349.

Le transfert électronique hétérogène est lent et le rapport des concentrations des formes oxydée et réduite et ne respecte plus la loi de Nernst. Dans le cas d'une espèce en solution, l'intensité de pic s'écrit :

$$i_p = 0,4958F \left( \frac{nF}{RT} \right)^{\frac{1}{2}} n^{\frac{3}{2}} S D^{\frac{1}{2}} C^* r^{\frac{1}{2}}$$

soit, à 25°C:

$$i_p = (2,99.10^5) \alpha^{1/2} n^{\frac{3}{2}} S D^{\frac{1}{2}} C^* r^{\frac{1}{2}}$$

avec  $\alpha$  le coefficient de transfert anodique.

Le potentiel de pic observé ( $E_{p,a}$ ) est fonction de la vitesse de balayage des potentiels, selon la relation de Nicholson et Shain:

$$E_p = E^o - \frac{RT}{\alpha nF} \left[ 0,78 + \ln \left( \frac{D^{\frac{1}{2}}}{k^o} \right) + \ln \left( \frac{\alpha n F r}{RT} \right)^{\frac{1}{2}} \right]$$

avec  $k^o$  la constante de vitesse hétérogène standard ( $\text{cm.s}^{-1}$ )

L'adsorption de l'espèce électroactive à la surface de l'électrode induit une autre expression de l'intensité du courant de pic:

$$i_p = \frac{\alpha n F^2 r S^*}{2,718 RT}$$

Le potentiel de pic observé varie dans ce cas avec la vitesse de balayage des potentiels selon la relation:

$$E_p = E^o + \frac{RT}{\alpha nF} \ln \left( \frac{RT}{\alpha nF} \frac{k^o}{r} \right)$$

#### – Système quasi-réversible

En 1955 Matsuda et Ayabe ont introduit le terme de système « quasi-réversible »<sup>120</sup>. Leurs recherches ont montré que malgré un coefficient de transfert électronique faible, la réaction inverse doit être considérée. L'allure du voltammogramme cyclique résultant est présentée sur la figure 29.

<sup>120</sup> H. Matsuda and Y. Ayabe, The theory of the cathode-ray polarography of Randles-Sevcik, Z. Elektrochem., 59 (1955) 494.

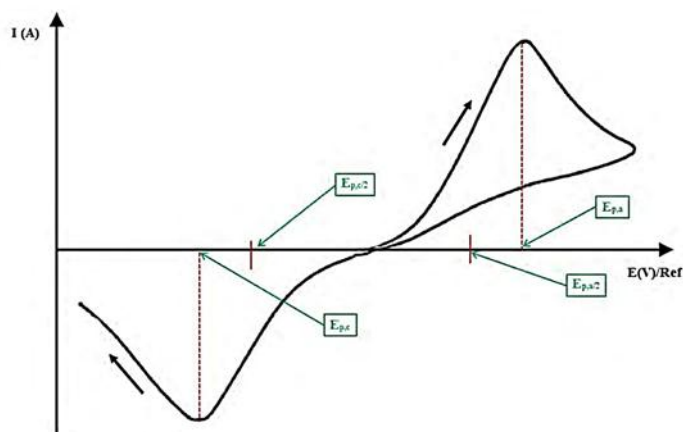


Figure 29 : Voltammogramme cyclique d'un système quasi-réversible,  $E_{p,a/2}$  et  $E_{p,c/2}$  sont les potentiels de demi-vague respectivement anodique et cathodique<sup>118</sup>.

Les équations relatives à ce système sont beaucoup plus complexes que celles associées aux deux précédents systèmes. La forme du pic dépend de la vitesse de transfert électronique et d'un paramètre adimensionnel  $\Lambda$  tel que :

$$\Lambda = \frac{k^0}{\left( D_{ox}^{(1-\alpha)} - D_{red}^{\alpha} \frac{F}{RT} r \right)^{\frac{1}{2}}}$$

avec  $D_{ox}$  et  $D_{red}$  les coefficients de diffusion respectivement de l'oxydant et du réducteur ( $\text{cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ ).

Dans le cas où  $\Lambda$  est supérieur à 15, le système électrochimique s'apparente à un système rapide et les équations correspondantes sont applicables. Lorsque  $\Lambda$  est inférieur  $10^{-2(1+\alpha)}$ , le transfert électronique hétérogène constitue l'étape limitant la vitesse de la réaction; le système est alors assimilable à un système irréversible. Enfin, le système quasi-réversible correspond à des valeurs de  $\Lambda$  intermédiaires, pour lequel le transfert de charge et le transport en solution ont des cinétiques de même ordre.

### c. Voltammétrie à onde carrée

La voltammétrie à onde carrée (ou SWV pour l'anglais square wave voltammetry) utilise des impulsions rectangulaires de potentiel d'amplitude constante et de durée égale à la moitié de la période de la « vague ». La hauteur de l'impulsion de la vague ou amplitude est notée  $A$ . La hauteur du pas de potentiel qui correspond à la différence de hauteur entre deux impulsions consécutives s'écrit  $3E$ . Le courant est mesuré à la fin de l'impulsion ( $I_1$ ) et avant l'impulsion suivante ( $I_2$ ). Sur la figure 30, nous pouvons voir comment varie le potentiel en fonction du temps lors d'une voltammétrie à vague carrée. De manière générale, la différence

$\Delta I = I_1 - I_2$  est tracée en fonction de  $E + A/2$ , où  $E$  est le potentiel du début de la vague<sup>121</sup>. Un exemple se trouve sur les figures 30 et 31.

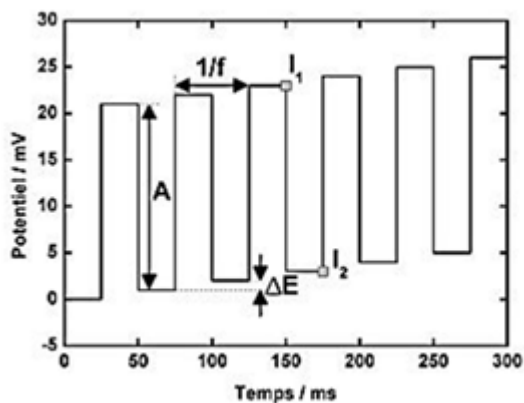


Figure 30 : Variation du potentiel au cours du temps lors d'une voltammétrie à vague carrée

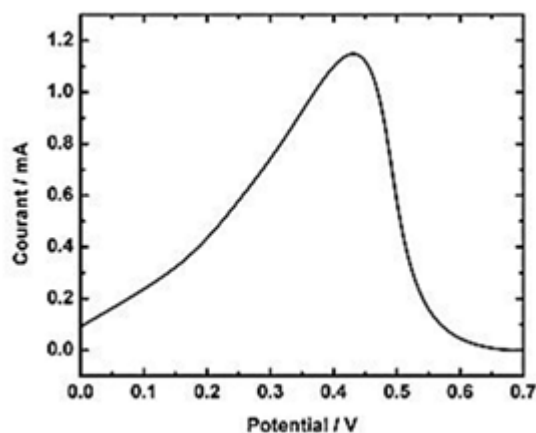


Figure 31 : Réponse en courant en fonction du potentiel lors d'une voltammétrie à vague carrée

Il est possible de faire varier plusieurs paramètres pour une mesure de voltammétrie à vague carrée. Tout d'abord, il faut fixer les potentiels de bornes comme pour la cyclovoltammétrie. Ensuite, il faut optimiser les paramètres de vague, l'amplitude  $A$ , le pas de potentiel  $\Delta E$  et la fréquence de la vague  $f$ . L'exemple de réponse en courant de la figure 30 a été réalisé avec une électrode de papier carbone recouvert de nanotubes de carbone et d'un dépôt d'or par ablation laser (dépôt de 10000 tirs sous vide). Les paramètres d'échantillonnage lors de la voltammétrie à vague carrée sont une amplitude de 20 mV, un pas de potentiel de 1 mV et une fréquence de 20 Hz.

Pour la voltammétrie à vague carrée, c'est la différence entre  $I_1$  et  $I_2$  qui est tracée en fonction du potentiel afin de s'affranchir du courant capacitif dû à la double couche électrode-solution. De plus, la voltammétrie à vague carrée est une technique électrochimique qui peut être utilisée dans le cas où des espèces chimiques possèdent des potentiels d'oxydation proches. Les pics d'oxydation peuvent être séparés et il est alors possible de mesurer les concentrations de chaque espèce. Cette méthode possède donc l'avantage de séparer les pics d'oxydation et d'être relativement rapide par rapport à la cyclovoltammétrie classique mais il peut être assez long et difficile d'optimiser les paramètres de mesure pour obtenir un bon signal.

<sup>121</sup> T. Otake, M. Tabuchi, T. Sato, H. Susaki, T. Korenaga (2001), Analytical Sciences, 17: 535.

## 2. Mesure de spectroscopie d'impédance électrochimique

Les systèmes électrochimiques sont en général des systèmes non linéaires et non stationnaires. On ne peut donc mesurer leur fonction de transfert qu'en utilisant des signaux d'amplitude suffisamment faible autour d'un point de fonctionnement considéré stationnaire pendant la durée des mesures. Dans ces conditions, on peut admettre que le système étudié se comporte comme un système linéaire invariant dans le temps.

On peut superposer une telle perturbation à un potentiel anodique ou cathodique continu ou au potentiel d'équilibre. Une alternative consiste à moduler le courant et à mesurer la réponse en potentiel, dans ce dernier cas, on utilise une régulation galvanostatique.

La spectroscopie d'impédance électrochimique (SIE) est une méthode qui permet de séparer les contributions des différents phénomènes chimiques et électrochimiques se déroulant à l'interface électrode/électrolyte<sup>122</sup>. Comparée à l'étude de la caractéristique courant-potentiel (méthode stationnaire), la spectroscopie d'impédance présente en effet l'avantage de pouvoir différencier les divers phénomènes élémentaires sur la base de leur constante de temps spécifique. Ainsi :

- Les phénomènes électrochimiques rapides sont sollicités dans le domaine des hautes fréquences (transfert de charges).
- Les phénomènes apparaissent dans le domaine des basses fréquences (processus d'adsorption, transport de matière,...)

### a. Principe de la spectroscopie d'impédance électrochimique

La mesure d'impédance ou de l'admittance d'un système électrochimique s'effectue en appliquant au système une contrainte sous la forme d'une variation sinusoïdale de différence de potentiel électrique, de fréquence  $f = \omega/2\pi$ . Pour l'étude du comportement d'un système électrochimique à une électrode indicatrice donnée, cette différence de potentiel étant imposée entre l'électrode de travail et une électrode de référence (de potentiel supposé fixe), la contrainte revient à surimposer une variation sinusoïdale  $\Delta E(t)$  du potentiel de l'électrode de travail à une valeur fixe  $E_0$  (généralement  $E_0$  est choisie de façon à avoir un courant nul dans la cellule électrochimique (le potentiel d'abandon) ; soit la loi de contrainte :

$$E(t) = E_0 + \Delta E(t) = \Delta E_0 \sin(\omega t)$$

La réponse du système est un courant d'intensité  $I(t)$ , composante continue  $I_0$  (le courant correspondant au potentiel  $E_0$ , courant évidemment nul dans le cas où  $E_0$  est le potentiel

---

<sup>122</sup> C Gabrielli. Méthodes électrochimique, mesure d'impédance. Techniques d'Ingénieur, traité Analyse et caractérisation, 2210 (2002) 1-21

d'abandon et une composante alternative  $\Delta I(t)$ . Si  $I_0$  n'est pas nul, on opère dans les conditions où ce courant est stationnaire ( $I_0 = \text{constante}$ ).

$$I(t) = I_0 + \Delta I(t) = \Delta I_0 \sin(\omega t + \varphi)$$

**b. Transfert de charge<sup>123</sup>**

Par définition, la fonction de transfert d'un système linéaire est définie comme le rapport des transformées de Laplace des variations des fonctions de sortie et d'entrée.

Pour un système linéaire la réponse du système à une perturbation est déterminée par une équation différentielle du  $n^{\text{ième}}$  ordre ou par un ensemble de  $n$  équations différentielles du premier ordre:

$$\sum_{i=1}^n a_i \frac{d^i y(t)}{dt^i} = \sum_{i=1}^n b_i \frac{d^i x(t)}{dt^i}$$

Un système linéaire satisfait au principe de superposition qui établit que la fonction de sortie d'une combinaison linéaire de fonctions d'entrée est égale à la combinaison linéaire des fonctions de sortie respectives.

La fonction de transfert s'écrit :

$$H(s) = \frac{\Delta \bar{y}(s)}{\Delta \bar{x}(s)}$$

Quand une interface est éloignée de son équilibre au moyen d'une source d'énergie externe, un flux de charge et de matière s'établit. Cela est dû à l'existence de réactions électrochimiques qui permettent le transfert des charges électriques entre le métal et l'électrolyte. Les lois élémentaires qui gouvernent la cinétique du transport de matière et les diverses réactions électrochimiques, ainsi que les couplages complexes entre ces processus élémentaires, imposent aux systèmes électrochimiques un comportement non linéaire.

Toutefois, on peut montrer que le comportement d'un système non linéaire peut être entièrement défini en termes linéaires si les équations linéaires équivalentes sont connues en chaque point de la caractéristique stationnaire. Par conséquent, l'analyse locale de ce système non linéaire peut alors se limiter à la théorie des systèmes linéaires.

---

<sup>123</sup> H. Hubert Girault, Electrochimie : physique et analytique, Presses polytechnique et universitaires romandes, 2eme édition, 2012

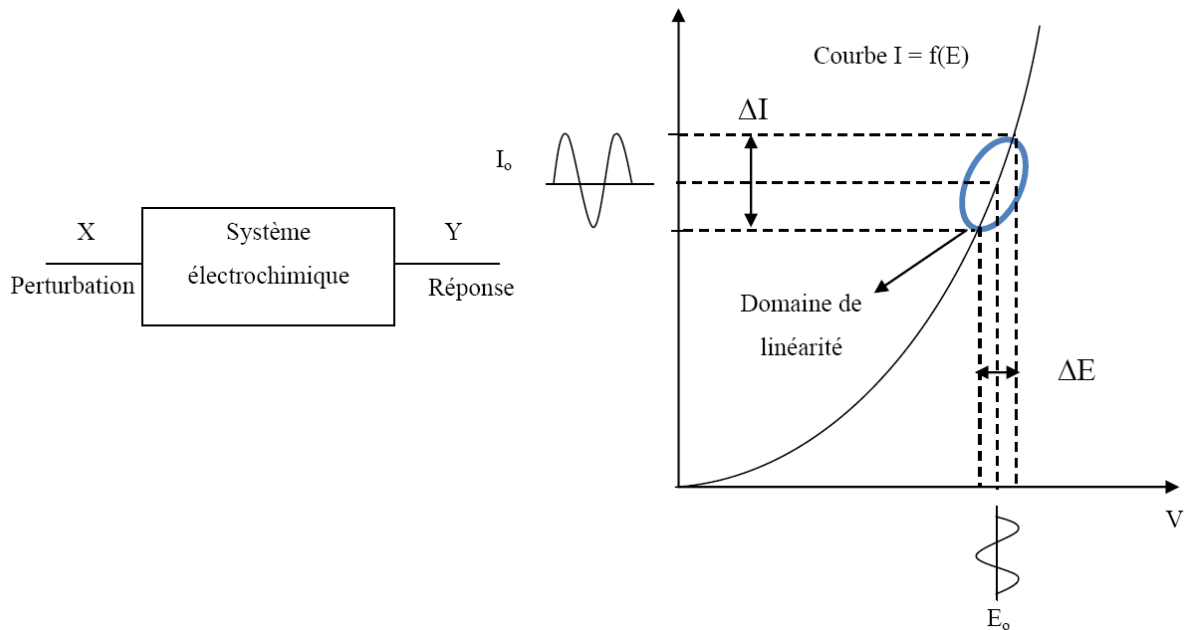


Figure 32 : Exemple de courbe courant-tension

Dans le cas d'une excitation sinusoïdale, nous avons :

$$\Delta x(t) = \Delta x \sin \omega t$$

Dont la transformé de Laplace est :

$$\Delta \bar{x}(s) = \Delta x \frac{\omega}{s^2 + \omega^2}$$

La fonction de sortie s'écrit ainsi :

$$\Delta \bar{y} = H(s) \Delta \bar{x}(s) = \Delta x \frac{H(s) \omega}{s^2 + \omega^2}$$

La transformée de l'inverse de l'équation ci-dessus dans le domaine de fréquence  $s = j\omega$ , donne la partie sinusoïdale de la fonction de sortie et s'écrit :

$$\Delta y(t) = \Delta x |H(\omega)| \sin(\omega t + \varphi)$$

Où  $|H(\omega)|$  est le module de  $H(\omega)$  défini en fonction des parties réelles  $Re(\omega)$  et imaginaires  $ImH(\omega)$ .

$$|H(\omega)| = \sqrt{[ReH(\omega)]^2 + [ImH(\omega)]^2}$$

et  $\varphi$  l'argument défini par :

$$\varphi = Arg[H(\omega)] = Arc \tan \left[ \frac{Im H(\omega)}{ReH(\omega)} \right]$$

Dans le cas d'un circuit électrique ou d'un système électrochimique, la fonction de transfert entre le potentiel (fonction d'entrée) et le courant (fonction de sortie) s'appelle l'admittance  $Y$  du système. Dans le domaine de fréquence, elle est définie par :



$$\Delta\bar{I}(\omega) = Y(\omega)\Delta\bar{E}(\omega)$$

De la même manière, la fonction de transfert entre le courant (fonction d'entrée) et le potentiel (fonction de sortie) s'appelle l'impédance  $Z$  du système. Dans le domaine de fréquence, elle est définie par

$$\Delta\bar{E} = Z(\omega)\Delta\bar{I}(\omega)$$

Il est clair que l'admittance est l'inverse de l'impédance.

La fonction de transfert dans le domaine de fréquence étant un nombre complexe, il est utile de la présenter en traçant la partie imaginaire en fonction de la partie réelle :

$$H(\omega) = Re(\omega) + jImH(\omega)$$

En fait en électrochimie, il est d'usage de tracer plutôt  $-ImH(\omega)$  en fonction de  $ReH(\omega)$ . Le graphe ainsi obtenu s'appelle un diagramme de Nyquist.

Une autre manière de représenter un nombre complexe est de tracer le module en fonction de la vitesse angulaire. En électrochimie, il est aussi usuel de tracer  $\log|H(\omega)|$  en fonction de  $\log\omega$  et le graphe ainsi obtenu s'appelle un diagramme de Bode.

Dans le plan de Bode, on peut observer les variations du logarithme décimal du module  $Z$  en fonction de logarithme de la fréquence d'une part, le déphasage en fonction du logarithme de la fréquence d'autre part. Il conduit notamment à distinguer les différentes constantes de temps du système électrochimique par la présence de rupture de pente.

C'est grâce à ces configurations précises que l'on peut distinguer les différentes étapes en jeu dans le mécanisme<sup>124</sup>.

De façon générale, vis-à-vis d'une faible excitation sinusoïdale, une cellule électrochimique équivaut simplement à une impédance ; on doit donc être capable d'en donner les caractéristiques sous forme d'un circuit électrique équivalent, formé de résistance et de capacité, et traversé, pour une excitation donnée, par un courant de même amplitude et de même déphasage que la cellule réelle.

A l'interface électrode/solution le passage de courant peut s'effectuer suivant deux voies parallèles :

- \* La production d'une réaction électrochimique par transfert d'électron à travers l'interface, donnant naissance au courant faradique  $I_F$
- \* La variation de charge interfaciale, donnant naissance au courant capacitif  $I_C$ .

$$I = I_F + I_C$$

<sup>124</sup> S Elena Luminita, thèse de doctorat, université de Pitești, Roumanie et INSA de Lyon-France.2005

### c. Résistance de la solution

Cette résistance modélise le phénomène de passage du courant entre l'électrode indicatrice (l'électrode de travail) et la contre électrode. Cette résistance dépend, principalement, de la résistivité de la solution, de l'aire et de la géométrie de l'électrode de travail.

$$R_e(\Omega) = \frac{\rho\sqrt{\pi}}{4\sqrt{A}}$$

Où A est la surface en cm<sup>2</sup> et ρ est la résistivité de la solution.

### d. Résistance de transfert de charge R<sub>tc</sub>

La résistance de transfert de charge est définie par :

$$\frac{1}{R_{tc}} = \left( \frac{\delta I_F}{\delta E} \right)$$

Au potentiel d'équilibre la résistance de transfert de charge s'écrit :

$$R_{tc} = \frac{RT}{nFI_0}$$

R : la constante molaire des gaz

T : la température

n : le nombre d'électrons mis en jeu dans la solution

F : la constante de Faraday

I<sub>0</sub> : le courant d'échange à l'équilibre

### e. Phénomène de diffusion et d'impédance de Warburg

Nous allons centrer notre étude sur des tensions sinusoïdales, les ions restant confinés aux voisinages de PEH (Plan externe de Helmholtz). Si la fréquence d'excitation est élevée ces ions ne peuvent pas suivre l'oscillation du champ et l'impédance de diffusion tend vers zéro.

En 1899, Warburg propose un modèle qui décrit la dépendance en fréquence de l'impédance de diffusion<sup>125</sup>

$$|Z_w| = \frac{k}{\sqrt{f}}$$

Où k représente une constante déterminée par l'électrochimie et par la mobilité des ions impliqués dans la réaction de transfert de charge. L'impédance de Warburg est placée en série avec la résistance de transfert de charge puisque la diffusion et le transfert de charge sont

---

<sup>125</sup> E. Warburg, Ann. Pys. Chem., 76, 1899, 493-499.

deux phénomènes qui se produisent successivement. En effet, les charges doivent diffuser du volume de la solution vers l'interface pour contribuer aux réactions d'oxydoréduction.

Cette impédance de Warburg a pour expression :

$$Z_w = (1 - j) \frac{\sigma}{\omega^{1/2}}$$

Avec

$$\sigma = \frac{RT}{n^2 F^2 A \sqrt{2}} \left( \frac{1}{D_o^{1/2} C_o^*} + \frac{1}{D_R^{1/2} C_R^*} \right)$$

Où A est l'aire de l'électrode,  $D_o$  et  $D_R$  représentent respectivement le coefficient de diffusion de l'oxydant et du réducteur,  $C_o^*$  et  $C_R^*$  sont les concentrations en oxydant et en réducteur dans la solution, T la température absolue, F est la constante de faraday et n le nombre d'électrons échangés.

Si les réactions électrochimiques sont lentes, la résistance de transfert de charge est donc élevée et domine la partie résistive. Par contre, si la cinétique de transfert de charge est rapide, l'impédance de diffusion l'emporte par rapport à la résistance de transfert de charge, et l'impédance varie en  $\omega^{-1/2}$ . Il est important de noter que la présence d'une protéine va transformer le comportement de l'interface d'un phénomène limité par la diffusion vers un phénomène limité par la vitesse de la réaction de transfert de charge, vraisemblablement dû à l'adsorption des protéines à la surface du métal. Si des protéines sont adsorbées à la surface, alors la valeur de la surface effectivement disponible pour l'échange des électrons est réduite. En conséquence, pour les applications biologiques où des protéines sont présentes, un changement dans les caractéristiques de l'électrode devrait se produire.

#### f. Circuit électrique équivalent

- **Résistance-condensateur en série**

L'impédance de deux circuits en série est égale à la somme des impédances des éléments du circuit. En effet, la tension aux bornes du circuit est égale à la somme des tensions aux bornes de chaque élément, et le courant est identique à travers les éléments d'un circuit en série.

$$Z = \frac{\Delta \bar{E}}{\Delta \bar{I}} = \frac{\Delta \bar{E}_1 + \Delta \bar{E}_2}{\Delta \bar{I}} = Z_1 + Z_2$$

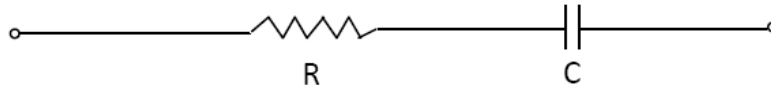


Figure 33 : Circuit résistance-condensateur en série

Dans le cas présent d'une résistance et d'un condensateur en série, on a ainsi

$$Z(\omega) = Z_R(\omega) + Z_C(\omega) = R + \frac{j}{C\omega};$$

La représentation de Nyquist de l'impédance donne une droite verticale qui à haute fréquences tend vers le point  $Z_R = R$  (figure 34)

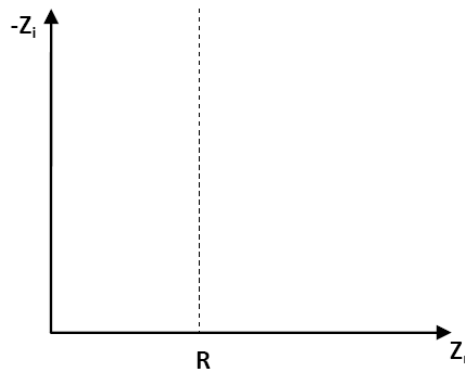


Figure 34 : Diagramme de Nyquist de l'impédance

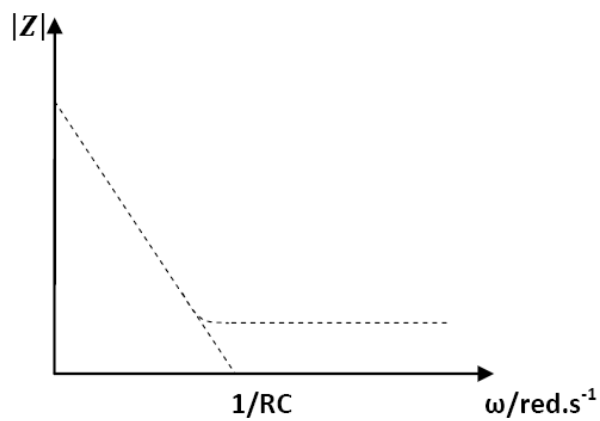


Figure 35 : Diagramme de Bode

- **Résistance-condensateur en parallèle**

L'admittance d'un circuit d'éléments en parallèle est égale à la somme des admittances des éléments respectifs. En effet, le courant à travers le circuit est égal à la somme des courants à travers chaque élément, et la tension est la même aux bornes de tous les éléments.

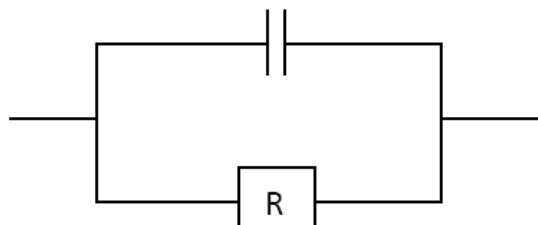


Figure 36 : Circuit résistance-condensateur en parallèle

$$Y = \frac{\Delta \bar{I}}{\Delta \bar{E}} = \frac{\Delta \bar{I}_1 + \Delta \bar{I}_2}{\Delta \bar{E}} = Y_1 + Y_2$$

Dans le cas présent d'une résistance et d'un condensateur en parallèle, on a ainsi

$$Y(\omega) = Y_R(\omega) + Y_C(\omega) = \frac{1}{R} + jC\omega$$

L'impédance est l'inverse de cette expression

$$Z(\omega) = \frac{R}{1 + jRC\omega}$$

Le diagramme de Nyquist de l'impédance est donc un demi-cercle dont la vitesse angulaire au sommet correspond à l'inverse de RC. A basse fréquence, l'impédance tend vers le point  $Z_R = R$ , et à haute fréquence l'impédance tend vers l'origine (figure 37).

Le diagramme de Bode peut être schématisé par deux droites qui se coupent à la valeur angulaire  $1/RC$  comme l'illustre la figure 38.

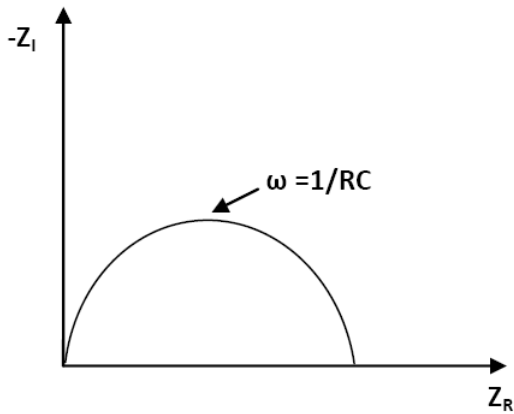


Figure 37 : Diagramme de Nyquist de l'impédance pour résistante-condensateur en parallèle

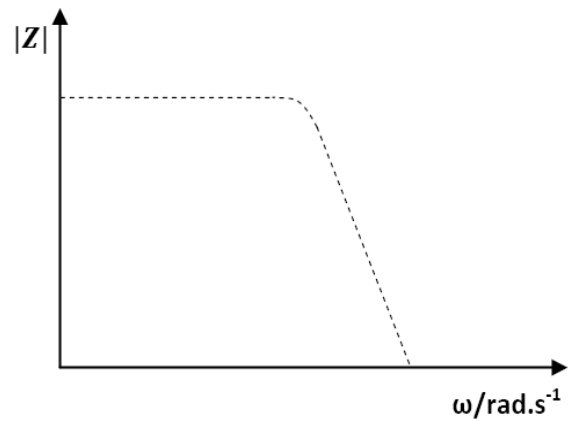


Figure 38 : Diagramme de Bode d'un circuit résistance-condensateur en parallèle

▪ **Circuit de Randels**

Le circuit électrique équivalent le plus utilisé est celui de Randels<sup>126</sup> (figure 39). Il comporte une résistance  $R_S$  de l'électrolyte, une impédance de Warburg,  $Z_W$ , résultant de la diffusion des ions du volume de la solution à l'interface, la capacité de la double couche  $C_{dl}$  et la résistance de transfert de charge  $R_{tc}$  qui existe s'il y a un couple redox dans la solution. Les éléments agissant en parallèle ( $C_{dl}$  et  $R_{tc}$ ,  $Z_W$ ) du circuit équivalent sont introduits car le courant total qui traverse l'électrode est la somme du courant faradique,  $I_F$  et du courant capacitif  $I_C$ .

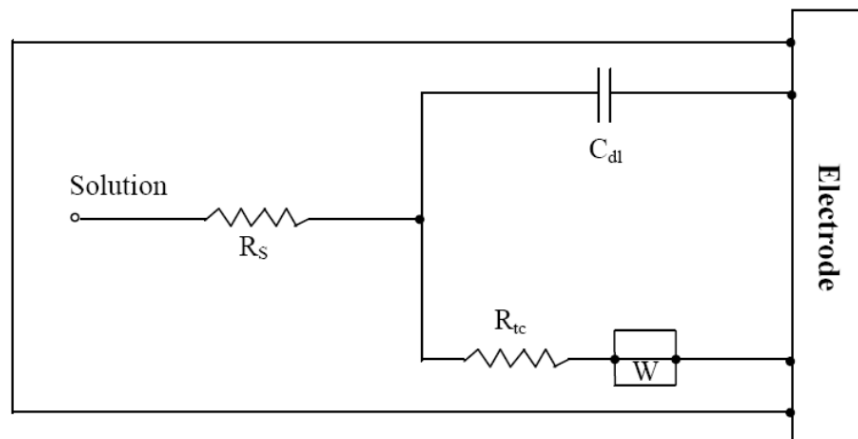


Figure 39 : Modèle électrique de l'interface électrode/solution

Ce circuit équivalent formé d'éléments idéaux, capacités et résistances, ne peut pas tenir compte des imperfections de l'interface notamment de la rugosité et de l'inhomogénéité de la

<sup>126</sup> J. Randles, Discuss. Faraday Soc. 1 (1947) 11.

couche organique. Pour remédier à ce problème, une alternative intéressante consiste à substituer ces éléments idéaux par des impédances généralisées dites aussi des CPEs (constant phase élément)<sup>127</sup> qui traduisent la non-linéarité et la dépendance en fréquences des impédances.

En effet, il est établi que la rugosité et la porosité des électrodes peuvent être à l'origine d'une dispersion en fréquence des spectres d'impédance. Plus tard, il a été démontré que les électrodes qui sont le siège ou non d'un transfert de charge à l'interface, possèdent des impédances qui s'expriment sous la forme d'une loi d'échelle;

$$Z = K(\omega)^{-\alpha}; \quad -1 \leq \alpha \leq 1$$

En particulier,  $Z$  représente une résistance si  $\alpha = 0$ , une capacité si  $\alpha = 1$ , une impédance de Warburg si  $\alpha = 0.5$  et une inductance si  $\alpha = -1$ .

#### g. Diagramme d'impédance totale

Compte tenu de l'intervention, à l'interface électrode/électrolyte, d'un courant capacitif et d'une résistance  $R_s$ , la grandeur mesurable est l'impédance totale exprimée par la relation :

$$Z = R_s + \frac{Z_F}{1 + j\omega C_{dl} Z_F} = R_s + Z_F \frac{1 - j\omega C_{dl} Z_F}{1 + (\omega C_{dl} Z_F)^2}$$

Or  $Z_F$  tend vers  $R_{tc}$  lorsque la fréquence est élevée. Alors cette équation devient :

$$Z = R_s + R_{tc} \frac{1 - j\omega C_{dl} R_{tc}}{1 + (\omega C_{dl} R_{tc})^2}$$

Où les composantes réelle,  $Z_{re}$  et imaginaire,  $Z_{im}$ , de l'impédance peuvent s'exprimer par :

$$Z_{re} = R_s + \frac{R_{tc}}{1 + (\omega C_{dl} R_{tc})^2}$$

$$Z_{im} = \frac{\omega C_{dl} R_{tc}^2}{1 + (\omega C_{dl} R_{tc})^2}$$

Cette équation de l'impédance est un demi-cercle de diamètre  $R_{tc}$  dont les extrémités, sur l'axe des réels sont les points d'abscisse  $R_s$  et  $R_s + R_{tc}$ , la fréquence à laquelle correspond le sommet du demi-cercle, a pour valeur  $f_c = \frac{1}{2\pi R_{tc} C_{dl}}$ .

Comme illustre la figure 40, le diagramme de Nyquist du circuit de Randels comprend un demi-cercle dû à la résistance de transfert de charge  $R_{tc}$  et à la capacité de la double couche  $C_{dl}$ . Aux basses fréquences, l'impédance de Warburg est prédominante et le diagramme

<sup>127</sup> H. Hillebrandt A. Abdelghani, C. Abdelghani, E. Sackmann, Electrical and optical characterization of thrombin-induced permeability of cultured endothelial cell monolayers on semiconductor electrode arrays, Appl. Phys. A 73 (5) (2001) 539.

devient linéaire avec une pente égale à l'unité.

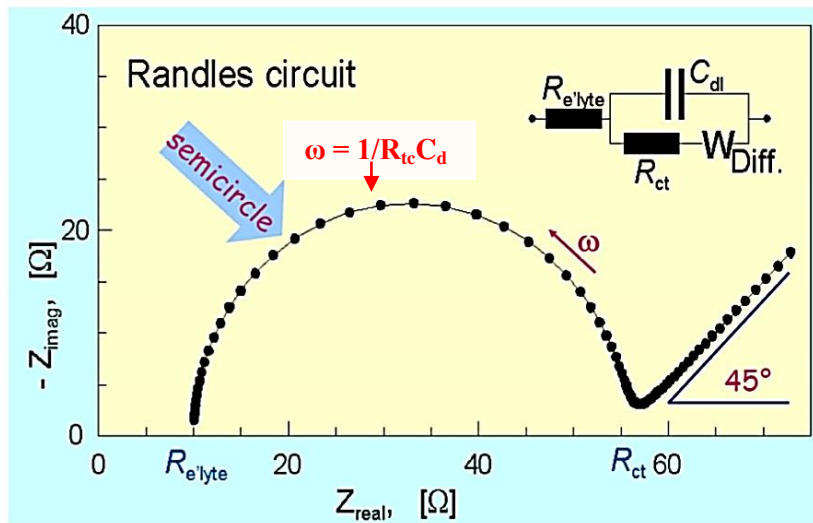


Figure 40 : Diagramme de Nyquist de l'impédance pour un circuit de Randels

## Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons introduit les méthodes de mesure électriques traditionnelles qui ont largement contribué à l'actuelle compréhension approfondie des mécanismes de transduction existants. On a aussi élucidé les principaux facteurs influençant le comportement électrique d'une interface et la modélisation des circuits équivalents. Les concepts et les différentes approches qui gouvernent l'électrochimie des électrodes ont été détaillés. La maîtrise de ces différentes méthodes et l'appropriation des techniques expérimentales présentées sont un préalable pour la compréhension des phénomènes chimiques et électrochimiques que nous observerons à l'interface électrode/solution. Dans la suite de ce travail, nous allons présenter l'étude expérimentale qui a été réalisée.



# Chapitre III : Etude et expérimentation

## **Introduction**

Dans ce chapitre, l'ensemble des produits et matériaux chimiques utilisés dans ce travail est identifié. Le dispositif expérimental est mis en évidence. A la fin de ce chapitre, nous allons illustrer la procédure poursuivie dans notre expérimentation.

## **I. Matériaux**

### **1. Poudre commerciale de graphite**

Nous avons utilisé une poudre commerciale de graphite fournie à partir de la France (Carbone, Lorraine-France, référence 9900). Aucun traitement préalable n'est pratiqué sur cette poudre.



Figure 41 : Poudre commerciale de graphite

### **2. Poudre de phosphate naturel (PN)**

L'échantillon de phosphate naturel utilisé dans ce travail est pris dans la province de Khouribga au Maroc<sup>128</sup>.

La poudre de ce phosphate a subi un tamisage puis une calcination (900°C) pendant une heure afin de se débarrasser des composés organiques susceptibles d'interférer nos résultats (figure 42).

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

---

<sup>128</sup> Natural phosphate comes from Khouribga, Morocco



Figure 42 : Poudre de phosphate naturel

### 3. Poudre d'argile

L'argile utilisée dans cette étude comporte une variabilité texturale et structurale liées à son origine. Sa composition chimique est la suivante :

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

La morphologie de la surface de l'argile Camerounaise a été observée par microscopie électronique à balayage (Figure 43). Nous constatons que la matrice est formée par des particules compactes de fractions comprises entre 1 et 15  $\mu\text{m}$ <sup>129</sup>. L'échantillon a été lavé avec de l'eau désionisée plusieurs fois avec une agitation constante. Il a été ensuite séché et calciné à 900°C pendant une heure. (figure 44)

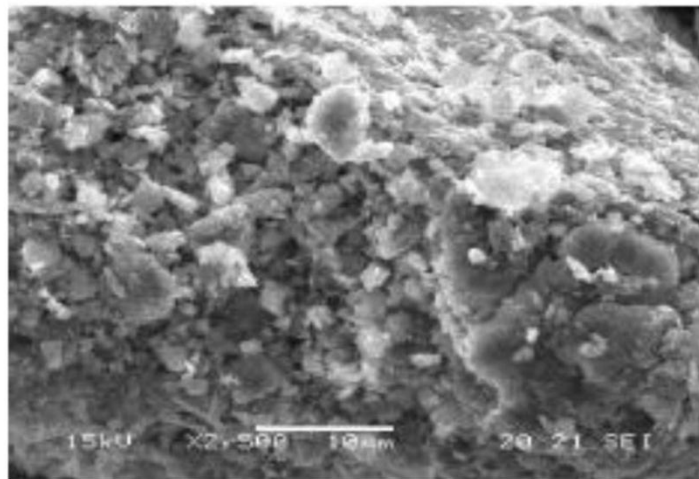


Figure 43. Topographie électronique de l'argile Camerounaise

<sup>129</sup> Kaolin comes Northeast of Douala country. Cameroun.



Figure 44 : Poudre d'argile

## II. Préparation des électrodes

### 1. Elaboration de l'électrode de pâte de carbone (EPC)

1,6 g de la poudre commerciale de graphite a été mélangée avec 0,4 ml d'huile de paraffine (le liant), et avec l'éthanol absolu comme solvant.

La pâte obtenue est utilisée pour remplir la cavité de l'électrode (support creux qui porte la tige de carbone d'une surface de  $0,1256 \text{ cm}^2$ ) (figure 45). Cette tige assure le contact électrique avec la pâte. Une fois l'électrode fabriquée, elle est séchée à température ambiante avec soin pendant 24 heures. Une fois sèche, un polissage mécanique de la surface de cette électrode est réalisé sur papier lisse avant son utilisation pour éliminer toutes les irrégularités et obtenir une surface régulière et plus reproductible.

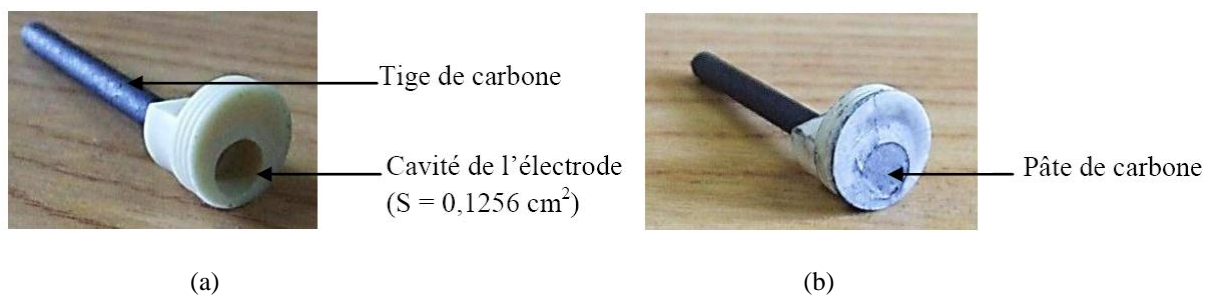


Figure 45 : (a) Electrode sans la pâte de carbone ; (b) Electrode avec la pâte de carbone

### 2. Elaboration de l'électrode de phosphate naturel (EPN)

1,2 g de poudre de phosphate naturel est rajouté à 0,5 ml de l'huile de paraffine et avec de l'éthanol absolu. Une fois préparée, la pâte sert à remplir la cavité de l'électrode. (figure 46)

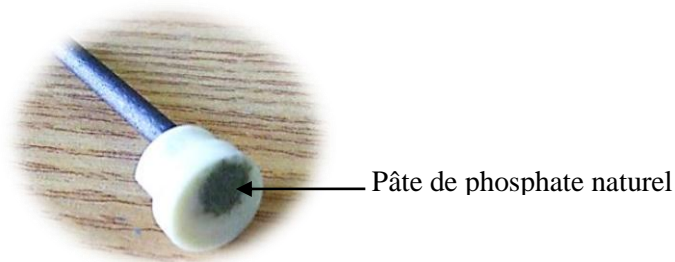


Figure 46 : Electrode de pâte de phosphate naturel

### 3. Elaboration de l'électrode de pâte d'argile (EPArg)

1,4 g de la pâte de pâte d'argile est préparée de la même façon que les deux premières pâtes (figure 47).

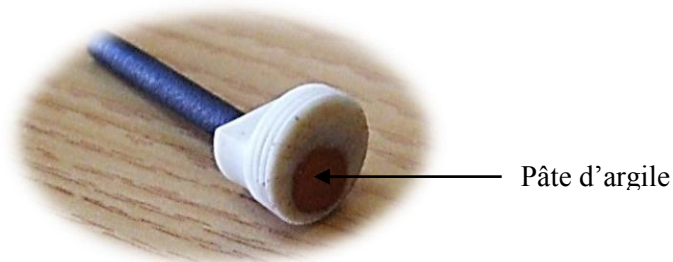


Figure 47 : Electrode de pâte d'argile

## III. Caractérisation des électrodes élaborées

### 1. Caractérisation physique (microscopie en réflexion)

La surface des électrodes a été observée à l'aide d'un microscope à réflexion (fig. 48).

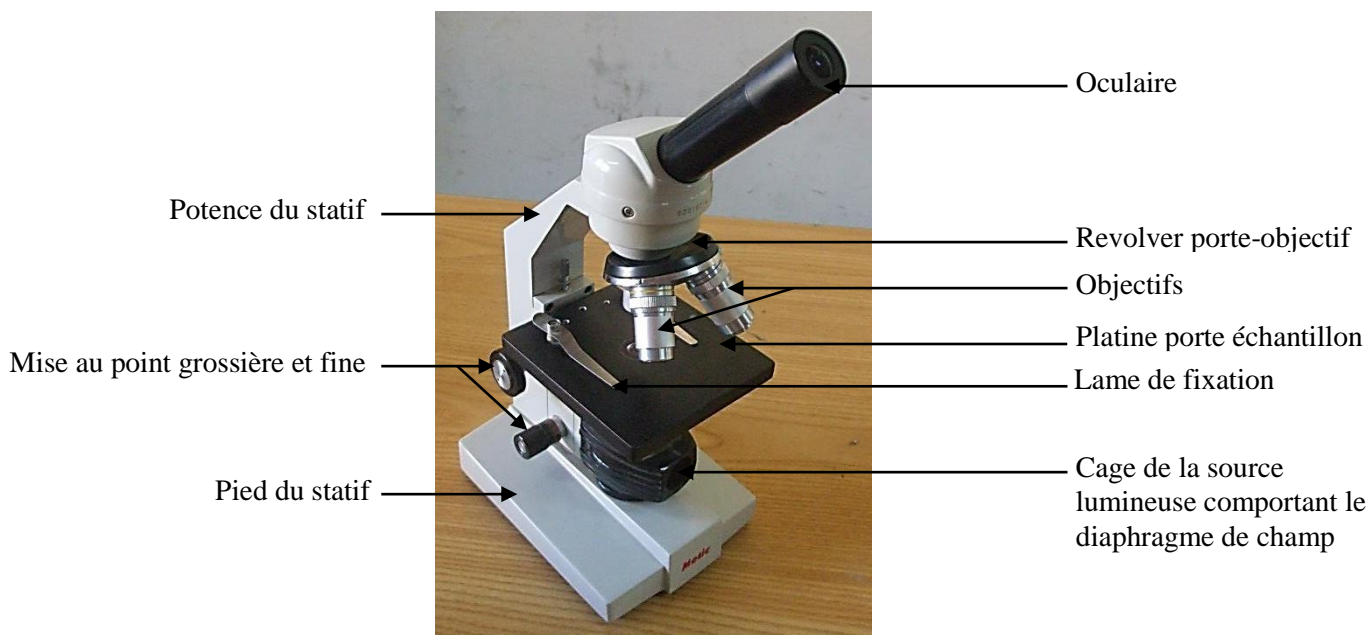


Figure 48 : Microscope optique monoculaire MOTIC série F

## 2. Caractérisation électrochimique

### a. Description du dispositif expérimental

L'appareillage utilisé pour nos mesures est constitué d'une cellule comprenant trois électrodes connectées à un potentiostat de type voltalab PGZ 100 représenté par la figure 49 et 50. L'appareil utilisé est piloté par ordinateur. La programmation, l'acquisition et le traitement des résultats ont été réalisés avec le logiciel voltmaster 4.

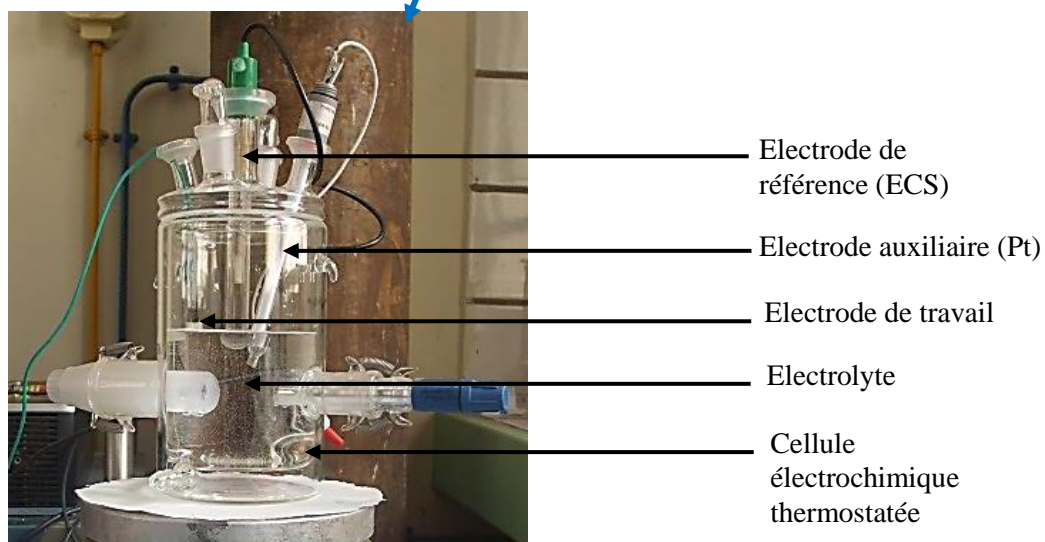
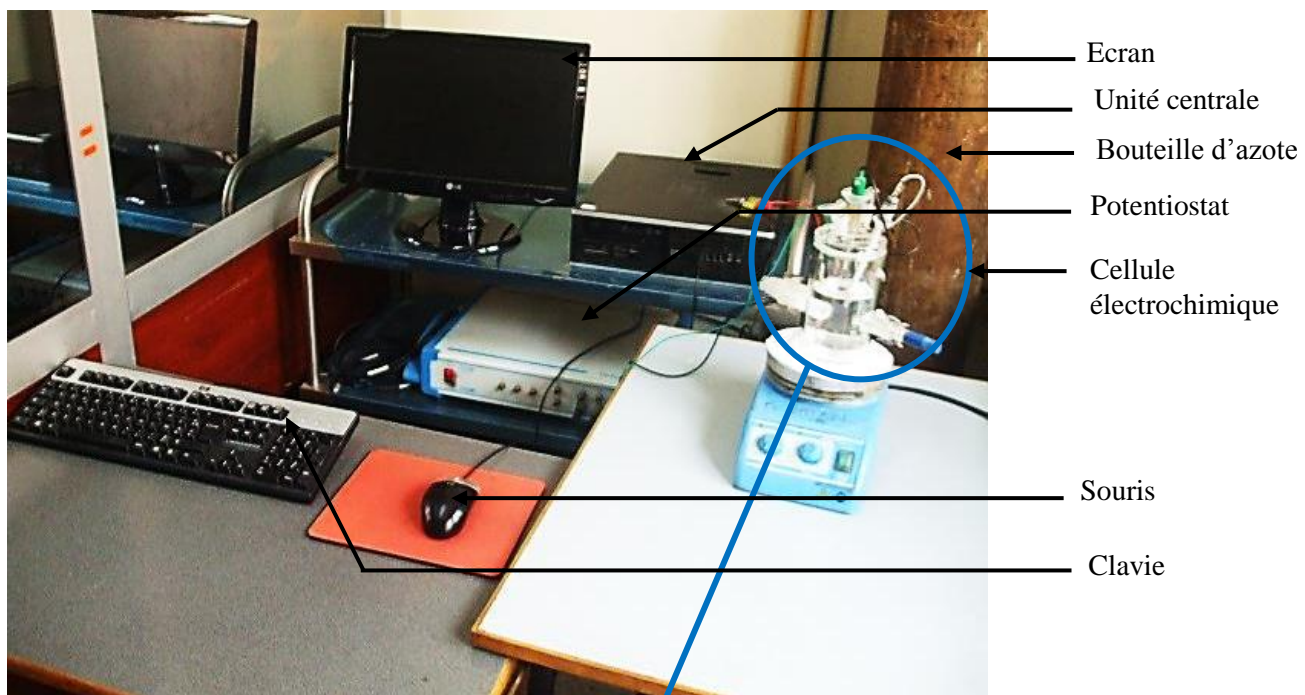


Figure 49 : Montage expérimental

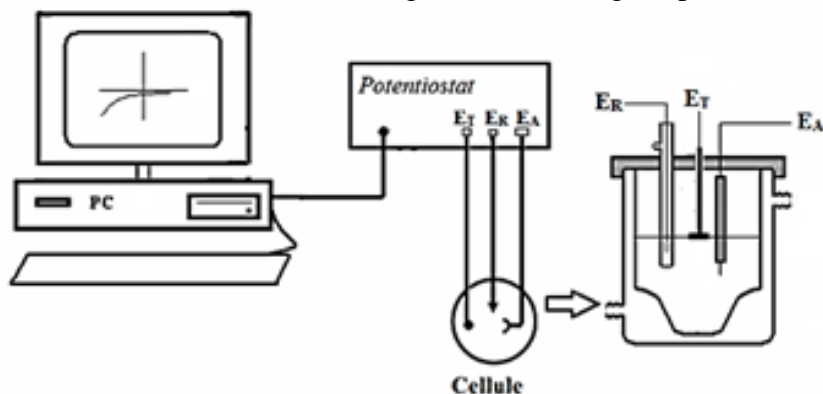
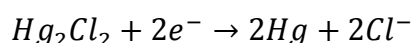


Figure 50 : Schéma du montage expérimental

Le montage illustré ci-dessus est composé d'une cellule électrochimique constituée de trois électrodes:

- **Électrode de référence :**

L'électrode de référence possède un potentiel spécifique et constant. Cette propriété permet de pouvoir imposer un potentiel précisément défini entre cette électrode et l'électrode de travail afin de forcer l'oxydation de la molécule étudiée. L'électrode de référence utilisée pour nos analyses est l'électrode au calomel saturé (ECS) symbolisée par Hg/Hg<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/KCl saturé:



- **Électrode auxiliaire**

L'électrode auxiliaire appelée aussi contre-électrode permet de mesurer l'intensité du courant circulant dans la cellule électrochimique au cours de l'électrolyse<sup>130</sup>. Le potentiel de la contre-électrode n'a en général pas besoin d'être lui-même contrôlé<sup>112</sup>.

En effet, les électrons libérés au cours de la réaction d'oxydoréduction créent un courant entre l'électrode auxiliaire et l'électrode de travail. Il s'agit d'une électrode en inox, en platine ou bien en carbone qui assure le passage du courant. Dans notre étude, l'électrode auxiliaire est une plaque en platine (Pt) d'une surface de 1 cm<sup>2</sup>. En raison de la formation d'oxyde sur la surface du matériau, plusieurs auteurs recommandent ces électrodes<sup>131</sup>.

- **Électrode de travail**

Les réactions produites ont lieu sur l'électrode de travail (ou encore, électrode indicatrice). Celui-ci doit être stable pendant une très grande période, posséder un bon rapport signal/ bruit de fond et doit être simple à manipuler et à conditionner. Le potentiel de cette électrode peut être contrôlé à l'aide d'une électrode de référence. De plus, les solutés à analyser doivent y développer une cinétique de réaction électrochimique rapide dans un large domaine de potentiel accessible<sup>132</sup>. Elle est encore nommée électrode indicatrice, c'est à son contact que va se produire l'échange. Nos électrodes de travail sont une électrode à pâte de carbone (EPC), une électrode à pâte de phosphate naturel (EPN) et une électrode à pâte d'argile (EPArg) modifiées selon les différents cas étudiés. Sa surface est de 0,1256cm<sup>2</sup>.

---

<sup>130</sup> B.Torbiero (2006), Développement de microcapteurs électrochimiques pour l'analyse en phase liquide, thèse de doctorat, Institut National des Sciences Appliquées de Toulouse, p.22

<sup>131</sup> L. Lacourcelle (1997), Traite de Galvanotechnique , Galva-conseils edition.

<sup>132</sup> P.T. Kissinger, W. R. Heinemann (1984), Laboratory techniques in electroanalytical Chemistry, Marcel Dekker, New York.



- **Electrolyte support**

Les mesures électrochimiques sont toujours effectuées en présence d'un électrolyte suffisamment concentré, neutre vis-à-vis des réactions aux électrodes. Son emploi permet de rendre la solution plus conductrice et de minimiser le courant de migration. Il est important en effet, afin d'assurer une densité de courant homogène à l'électrode de travail et de minimiser le phénomène de la chute ohmique, de maintenir aussi proche que possible l'électrode de travail et l'électrode auxiliaire<sup>133</sup>.

Nous avons travaillé avec électrolyte support de NaCl à 0,1 M.

- b. Etude électrochimique des électrodes mères (non modifiées)**

Des dispositions ont été prises pour la désoxygénation en barbotant la solution avec le gaz d'azote pendant environ 5 minutes pendant la mise en œuvre de l'expérience. Afin d'obtenir des résultats reproductibles, une solution fraîche a été faite pour chaque expérience. Toutes les expériences électrochimiques ont été effectuées à la température ambiante.

Pour la caractérisation électrochimique des électrodes, nous avons utilisé la voltammétrie cyclique, linéaire, à ondes carrées et la spectroscopie d'impédance électrochimique.

## **IV. Modification des électrodes mères par l'amoxicilline**

### **1. Amoxil**

Cet antibiotique a été obtenu à la pharmacie. C'est une marque déposée des sociétés du Groupe GlaxoSmithKline Maroc ; Aïn El Aouda, Région de Rabat. Sa composition est exprimée en amoxicilline (sous forme trihydratée) 1 g, comprimés dispersibles.

### **2. Modification des électrodes par adsorption**

- a. Préparation de la solution d'amoxicilline**

1 g d'amoxicilline est dissout dans 100 ml d'eau distillée pour préparer une solution d'antibiotique, soit une concentration de  $2,737 \cdot 10^{-2} \text{ mol.l}^{-1}$ .

- b. Trempage des électrodes de travail dans la solution d'antibiotique en fonction du temps**

Afin de déterminer le temps d'accumulation optimal de l'antibiotique sur les électrodes de travail, nous les avons trempées dans la solution d'amoxicilline, pendant 10, 20, 30 et 60 mn. Au cours de ce trempage, nous avons procédé à l'agitation de la solution d'amoxicilline grâce à un barreau magnétique tournant à vitesse constante tout en permettant

---

<sup>133</sup> T. Otake, M. Tabuchi, T. Sato, H. Susaki, T. Korenaga (2001), Analytical Sciences, 17: 535

la réhomogénéisation du liquide appauvri en substances. La durée de l'agitation est fonction de la durée de l'accumulation.

### **3. Modification des électrodes par mélange avec l'amoxicilline**

Les électrodes ont été modifiées en mélangeant les différentes poudres les identifiant à celle de l'amoxicilline, à une teneur massique de 50% chacune. Leurs surfaces ont été observées au microscope en réflexion.

### **4. Etude électrochimique des électrodes modifiées par l'amoxicilline aux différents temps de préconcentration et par mélange**

Les électrodes modifiées ont été caractérisées électrochimiquement aux différents temps de préconcentration afin de déterminer le temps optimal de dépôt de l'amoxicilline aux surfaces de celles-ci. La surface de l'électrode retenue a été observée au microscope optique en réflexion. Celles obtenues par mélange ont été caractérisées selon les mêmes méthodes électrochimiques.

## **V. Caractérisation des électrodes modifiées en présence des bactéries (*staphylocoque aureus*)**

### **1. Culture des bactéries**

Dans cette partie le laboratoire de biointerfaces et bioprocédés de la faculté des sciences et techniques de Beni Mellal nous a assistés pour la culture des bactéries (*staphylocoque aureus*). Le protocole de la culture est illustré dans l'organigramme de la figure suivante :

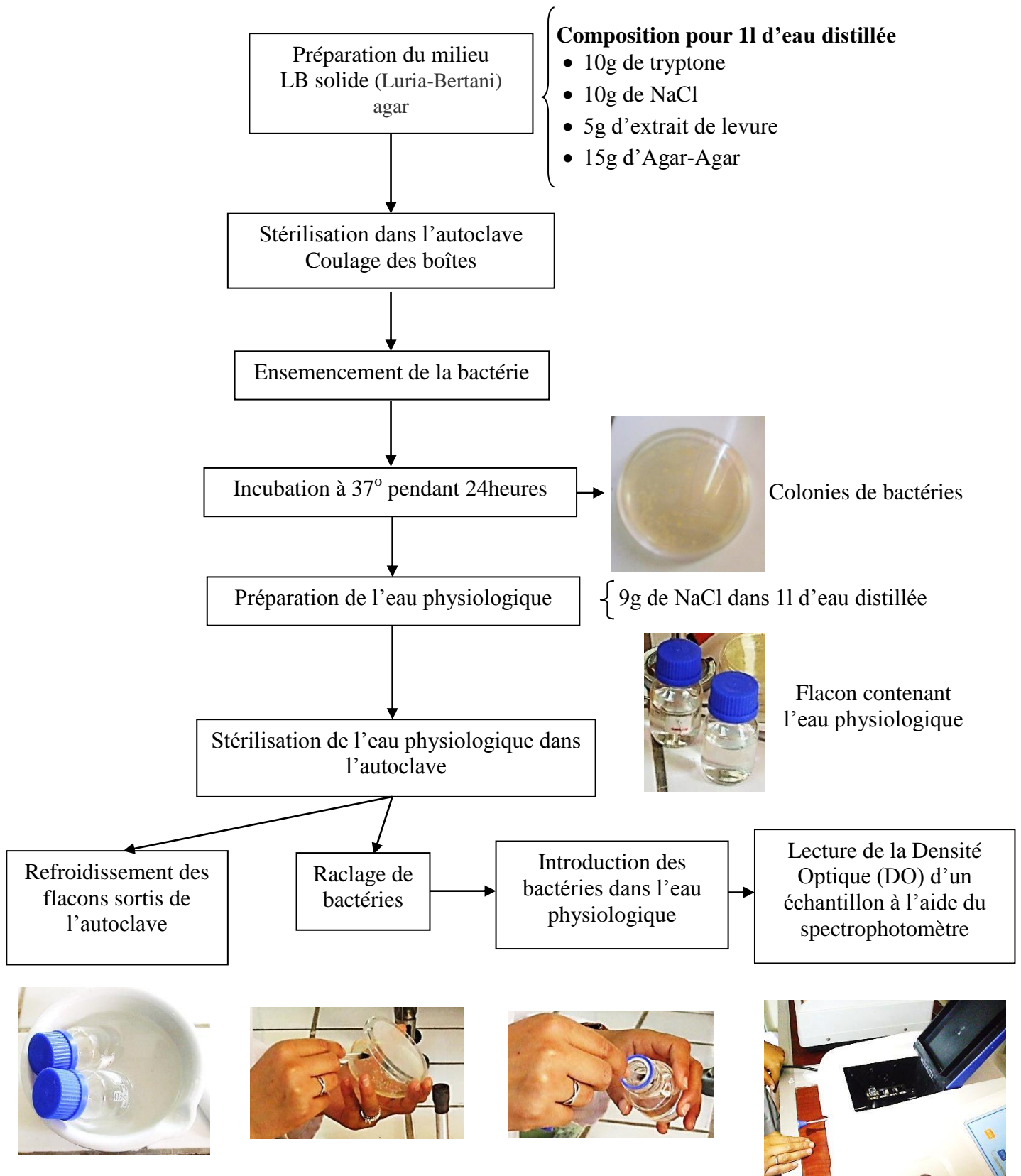


Figure 51 : Protocole de la culture des staphylocoques dorées

## **2. Etudes électrochimiques des électrodes modifiées (adsorption et mélange) en présence des bactéries**

Les électrodes modifiées ont été immergées dans une cellule contenant l'échantillon de bactéries et ensuite caractérisées par la voltammétrie cyclique, linéaire, à ondes carrées et par la spectroscopie d'impédance électrochimique.

### **a. Etude de l'effet du temps de contact avec les bactéries**

En vue d'étudier le comportement électrochimique des électrodes en fonction du temps de contact avec les *staphylocoques aureus*, nous avons fait des caractérisations par la voltammétrie cyclique, linéaire, à ondes carrées et par la spectroscopie d'impédance électrochimique à des intervalles de 20 mn. A ces mêmes intervalles, des prélèvements de l'électrolyte contenant les bactéries ont été faits dans le but de mesurer la densité optique de l'échantillon.

A la fin de cette étude, les surfaces des électrodes ont été observées à l'aide du microscope optique (MO) en réflexion.

### **b. Etude de l'effet de la concentration de l'amoxicilline**

Pour l'étude du comportement électrochimique des électrodes en fonction de la concentration de l'amoxicilline, nous avons utilisé les mêmes méthodes (VC, VL, SWV, EIS). Les électrodes ont été trempées dans les solutions d'amoxicilline à différentes concentrations (1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 et 40 g/l) pendant 20 mn (temps de dépôt optimal). Après 30 min de contact avec la bactérie, des prélèvements de l'électrolyte (contenant les bactéries) ont été faits dans le but de mesurer la densité optique de l'échantillon.

### **c. Etude de l'effet de la densité optique des bactéries**

Afin d'étudier l'effet de la densité optique de la bactérie sur les électrodes, nous avons fait la caractérisation électrochimique de celles-ci en utilisant les méthodes de la voltammétrie cyclique et à ondes carrées. Plusieurs solutions tampons contenant les bactéries à différentes densités optiques ont été préparées au laboratoire de bioprocédés et biointerfaces.

### **d. Etude de la durée de détection des bactéries**

Pour cette étude, l'électrode a été caractérisée par la voltammétrie cyclique à 50 cycles, d'une durée de 66 minutes en présence de la bactérie.

### **e. Etude de l'effet du pH**

Pour étudier l'effet du pH sur les électrodes, nous les avons caractérisées à différents pH (4,22 ; 7,42 et 8,68). Ce choix des pH ne s'est pas fait par hasard. En effet, le

*Staphylococcus aureus* peut croître à un pH entre 4,2 et 9,3<sup>134</sup>. Nous avons donc choisi les pH dans cette plage. Le pH mètre (Microcomputer pH/mV/TEMP Meter 6171) a été utilisé pour ajuster les valeurs du pH.

#### **f. Etude de la reproductibilité du résultat des électrodes**

L'expérience a été réalisée avec différentes électrodes modifiées destinées à la détection des *staphylocoques aureus*.

### **Conclusion**

Dans ce chapitre nous avons décrit une procédure simple de fabrication des électrodes de travail. Les différents protocoles expérimentaux poursuivis pour la préparation de produits, et des solutions contenant les bactéries à étudier ont été abordés. L'ensemble des résultats obtenus ainsi que la caractérisation électrochimique des électrodes étudiées sont présentés dans le chapitre suivant. Nous y discuterons ces résultats en vue d'une exploitation expérimentale et théorique future.

---

<sup>134</sup> A. M Stevens, T.Hennessy, H. C.Baggett, D.Bruden, D.Parks & J. Klejka, (2010). Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Carriage and Risk Factors for Skin Infections, Southwestern Alaska, USA. Emerging Infectious Diseases, 16(5), 797.

# **CHAPITRE IV : Electrode de pate de carbone, l'amoxicilline et les bactéries: Résultats et discussions**

## Introduction

Dans ce chapitre nous présenterons, en premier lieu, les résultats relatifs à l'interaction entre l'électrode de pâte de carbone obtenue par adsorption, l'amoxicilline et les bactéries. Celles relatifs à l'interaction entre l'électrode de pâte de carbone obtenue par mélange, l'amoxicilline et les bactéries seront abordés en second lieu. Plusieurs expériences sont réalisées montrant l'influence de certains paramètres, comme la vitesse de balayage, le temps du dépôt de la bactérie, le pH., sur l'efficacité et les performances des électrodes élaborées

Les résultats obtenus à travers nos manipulations seront discutés à la lumière du fondement théorique déjà présenté dans le premier chapitre.

## I. Electrode de pâte de carbone modifiée par adsorption

### 1. Caractérisation physique et électrochimique de l'électrode de pâte de carbone avant et après modification par l'amoxicilline

#### a. Caractérisation électrochimique

##### ▪ Effet de la vitesse de balayage

Afin d'apprécier l'effet de la vitesse de balayage sur l'allure du voltammogramme de EPC mère, nous avons fait sa caractérisation à différentes vitesses de balayage : 10, 20, 30, 50 et 100 mV/s.

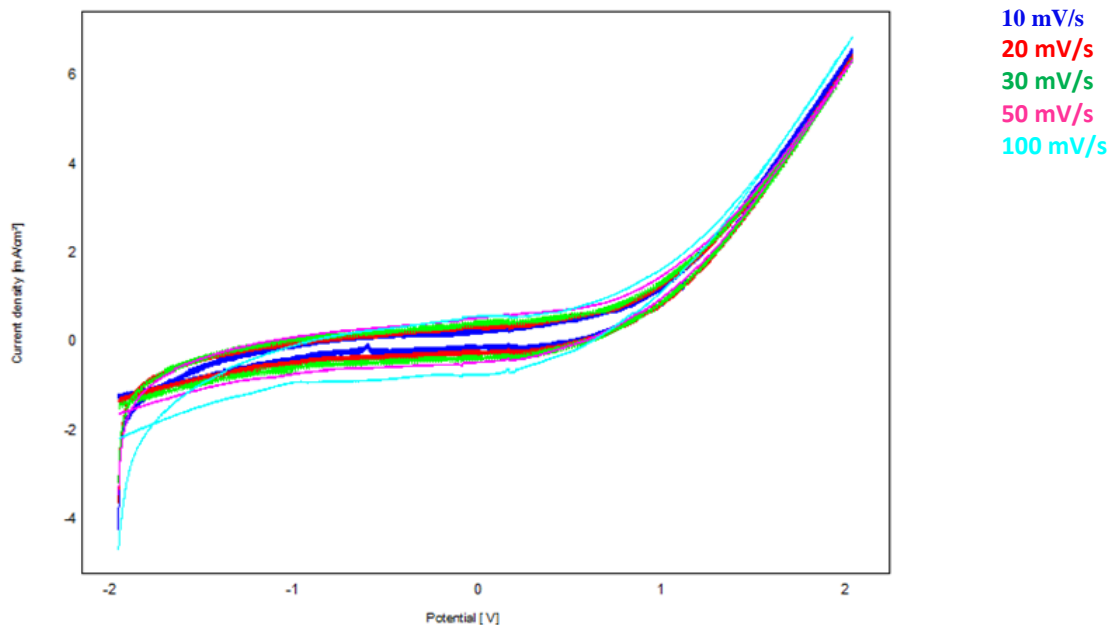


Figure 52 : Superposition des voltammogrammes cycliques de l'EPC mère à différentes vitesses de balayage 10, 20, 30, 50 et 100 mV/s dans NaCl à 0,1 M ; de -2V à 2V

Nous constatons que l'allure des voltammogrammes correspond à un système électrochimique rapide, la forme des courbes voltammétriques est insensible aux facteurs physiques susceptibles de modifier la vitesse de la réaction électrochimique. Cela démontre donc de sa stabilité. De ce fait nous avons choisi de travailler avec des vitesses relativement élevées, cette rapidité permet d'améliorer la reproductibilité des résultats en diminuant les fluctuations dues à des contaminations. La vitesse de balayage choisie est donc 100mV/s.

- **Choix du temps de dépôt**

Afin d'obtenir le temps de dépôt optimal de l'amoxicilline à la surface de l'électrode, celle-ci a été trempée à différents temps dans une solution d'antibiotique à la concentration de 10g/l : 10, 20, 30 et 60 min. Après une caractérisation électrochimique des différentes électrodes obtenues, le temps de dépôt optimal retenu est 20 min.

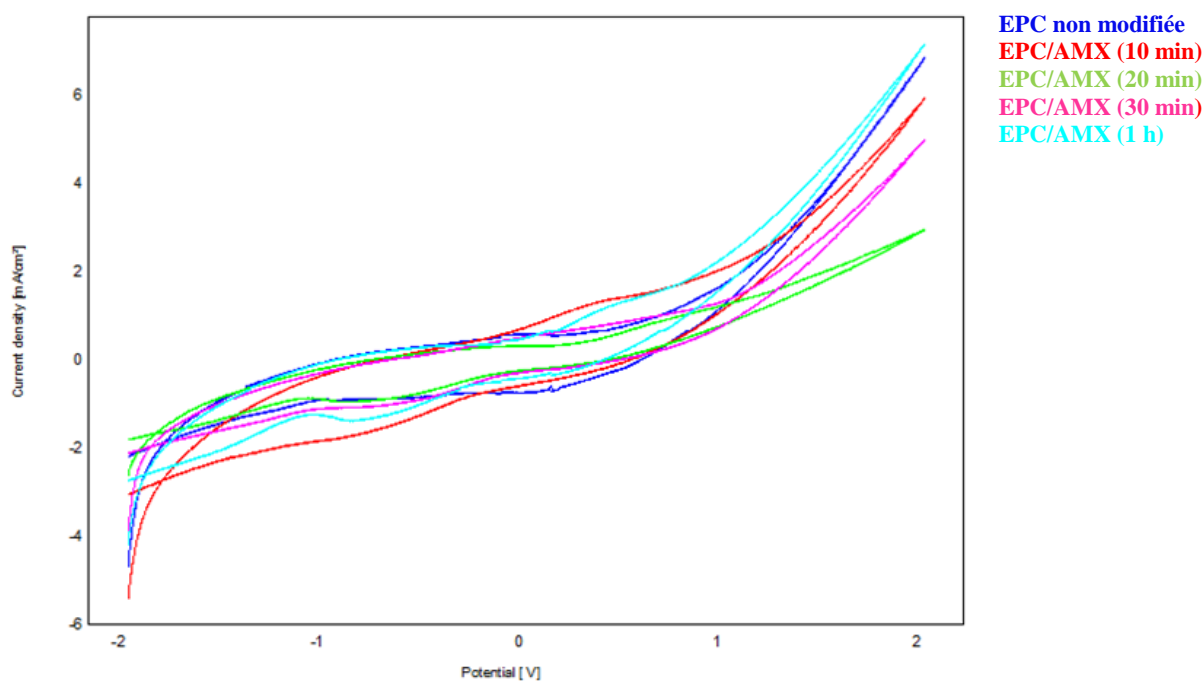


Figure 53 : Superposition des voltammogrammes cycliques de l'EPC non modifiée et EPC modifiée par l'amoxicilline aux différents temps de dépôt, dans NaCl à 0,1 M ;  $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V,  $\text{pH} = 7,42$

- A 20 min de trempage, la densité de courant a considérablement baissé, ce qui indique la présence d'un film de l'amoxicilline formé. La couche est donc à son dépôt optimal.

**b. Caractérisation physique**

La surface de l'électrode de pâte de carbone avant et après modification par l'amoxicilline à 20 min de temps de dépôt a été observée au microscope optique. Nous



constatons que l'antibiotique a été déposé de manière homogène et continue à la surface de l'électrode.

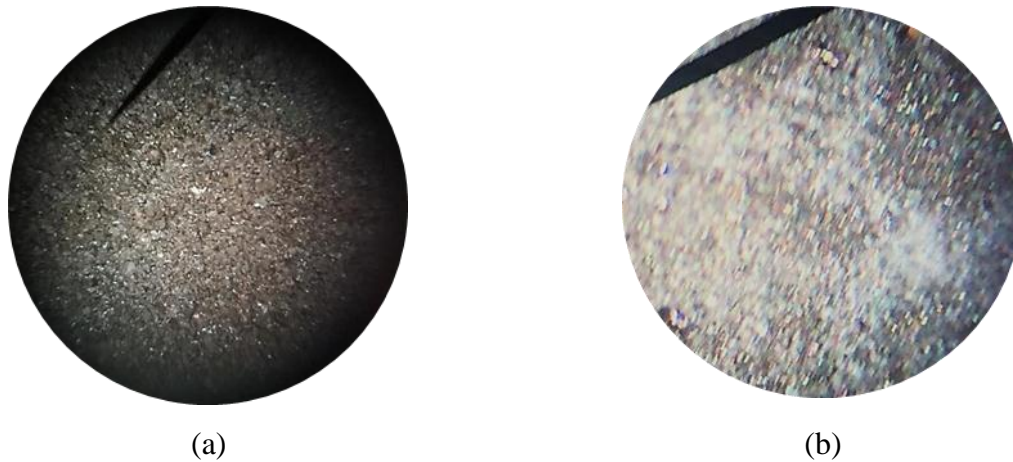


Figure 54 : Electrode de pâte de carbone avant modification (a) et après modification par l'amoxicilline, 20 mn de temps de dépôt (b)

## 2. Caractérisations électrochimiques de EPC/AMX (adsorption) en présence des *staphylocoques aureus*

### a. Caractérisation par la voltammétrie cyclique

L'électrode de pâte de carbone modifiée avec l'amoxicilline par adsorption (EPC/AMX ads.) a été caractérisée en présence des *staphylocoques*. Le voltampérogramme obtenu indique la présence de plusieurs fonctions électro-actives. En effet, comme l'indique la figure 55, le balayage des potentiels en oxydation fourni un pic, nommé I, centré à + 0,09426 V. Quant au balayage en réduction, il a indiqué deux pics, nommés II et III, centrés respectivement sur - 0,4477 V et - 1,141 V. Une étude électrochimique de l'amoxicilline est nécessaire pour pouvoir identifier plus facilement le pic correspondant à la présence de la bactérie.

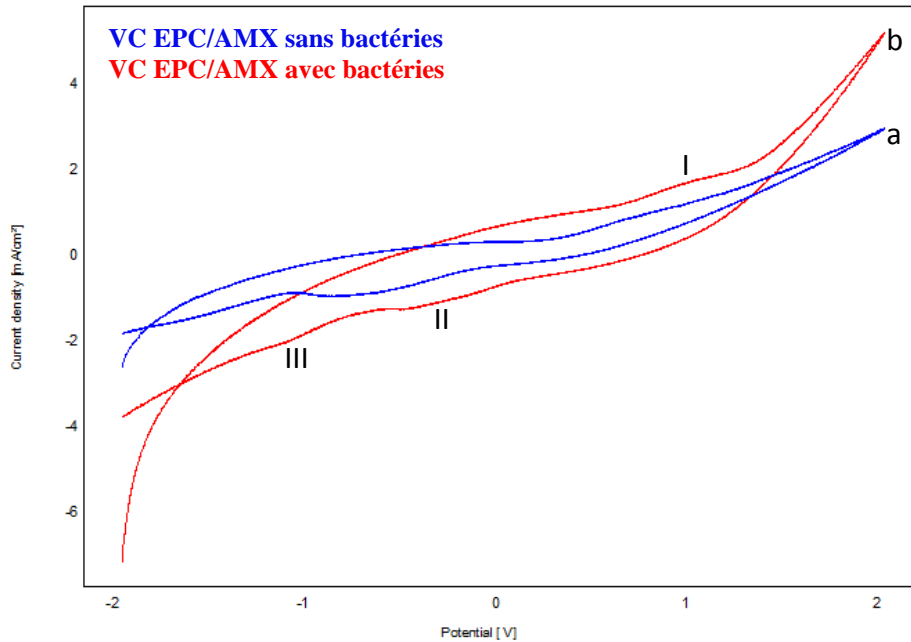


Figure 55 : Superposition des voltammogrammes cycliques de EPC/AMX ads. sans bactéries (a) et EPC/AMX ads. avec bactéries (b) , dans NaCl à 0,1 M ;  $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ; pH = 7,42

#### ➤ Etude électrochimique de l'électrode de pâte d'amoxicilline pur

Le voltampérogramme obtenu indique la présence de plusieurs fonctions électro-actives. Comme l'indique la figure 56, le balayage des potentiels en oxydation fourni un pic, nommé I, centré à - 0,1252 V. Quant au balayage en réduction, il a indiqué deux pics, nommés II et III, centrés respectivement sur - 0,3825 V et - 1,127 V. La différence des potentiels de l'apparition du pic I et II est suffisamment grande pour conclure qu'il s'agit du même système redox.

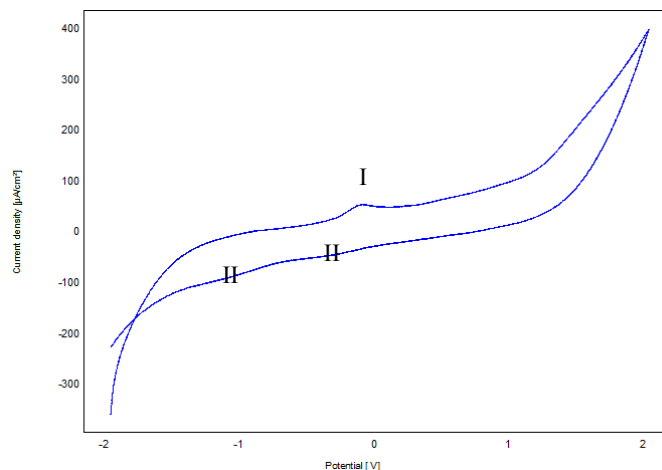


Figure 56 : Voltammogramme cyclique de l'électrode d'amoxicilline pur dans NaCl à 0,1 M ;  
 $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ; pH = 7,42

La fenêtre de potentiel à considérer pourrait être de -1 V à 0 V. Une étude par la voltammétrie à ondes carrées pourrait mieux préciser la zone à exploiter.

#### b. Caractérisation par la voltammétrie à ondes carrées

L'exploration par la voltammétrie à ondes carrées a donné les résultats reportés dans la figure ci-dessous. La bactérie est détectée à un potentiel de  $-0,7616\text{ V}$ .

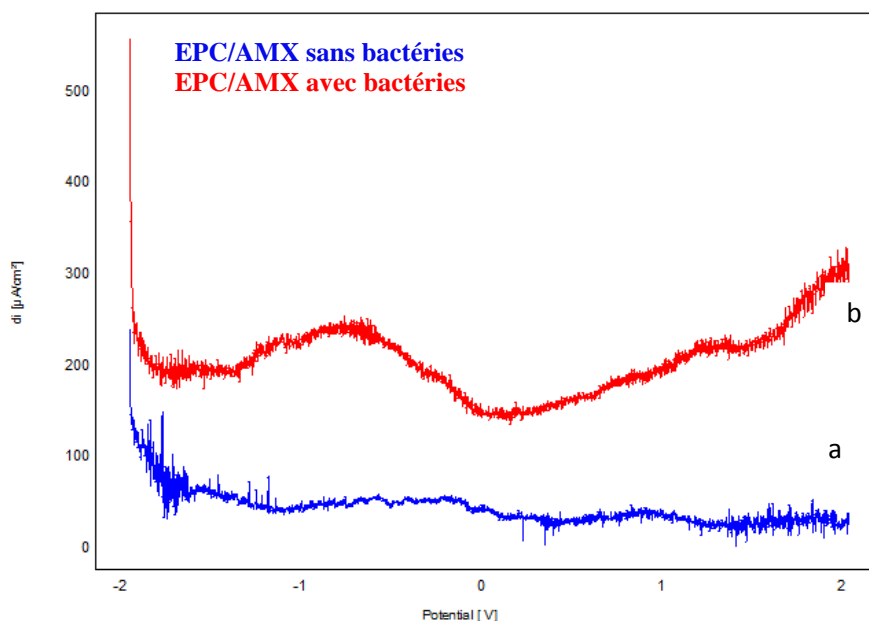


Figure 57 : Voltammogrammes à ondes carrées de EPC/AMX ads. sans bactéries (a) et EPC/AMX ads. avec bactéries (b), dans NaCl à 0,1 M ;  $v = 20\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ; pH = 7,42

### 3. Etude électrochimique EPC/AMX ads. en fonction du temps de contact avec la bactérie

En vue d'étudier le comportement électrochimique de l'électrode (EPC/AMX ads.) en fonction du temps de contact avec les bactéries, nous avons fait des caractérisations par la voltammétrie cyclique, linéaire et à ondes carrées à des intervalles de 20 mn. A ces mêmes intervalles, des prélèvements de l'électrolyte contenant les bactéries ont été faits dans le but de mesurer la densité optique de l'échantillon. Les figures ci-dessous montrent les résultats obtenus.

- **Caractérisation par la voltammétrie cyclique**

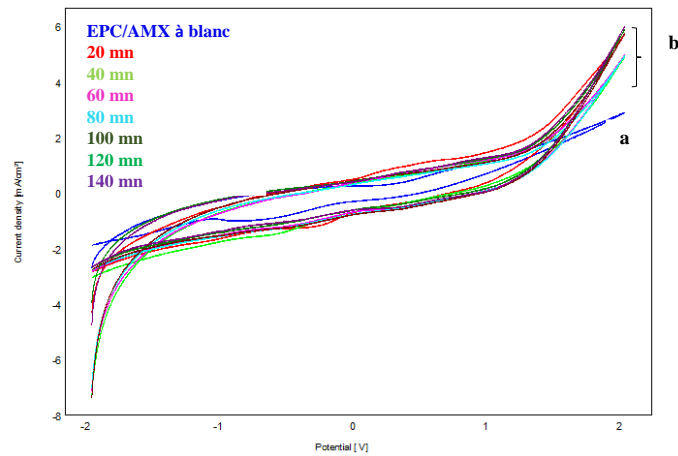


Figure 58 : Superposition des voltammogrammes cycliques de EPC/AMX ads. sans bactéries (a) et EPC/AMX ads. en fonction du temps de contact avec la bactérie (b), dans NaCl à 0,1 M ;  $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ; pH = 7,42

- **Caractérisation par la voltammétrie à ondes carrées**

Nous avons une augmentation de la densité de courant à 40 et 60 min et une baisse à 140 min.

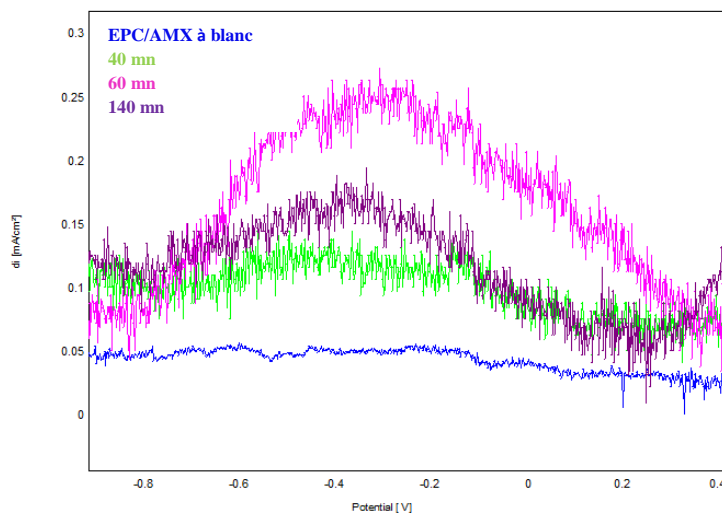


Figure 59 : Superposition des voltammogrammes à ondes carrées de l'électrode de EPC/AMX ads. sans bactéries et EPC/AMX ads. en fonction du temps de contact avec la bactérie, dans NaCl à 0,1 M ;  $v = 20\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ; pH = 7,42

▪ **Densité du courant en fonction du temps de contact**

Tableau 9 : Densité du courant en fonction du temps de contact de EPC/AMX ads. avec la bactérie

Temps (min)	0	20	40	60	80	100	120	140
di ( $\mu\text{A}/\text{cm}^2$ )	52,07	251,4	124,5	249,1	236,8	244,7	247,2	171,4

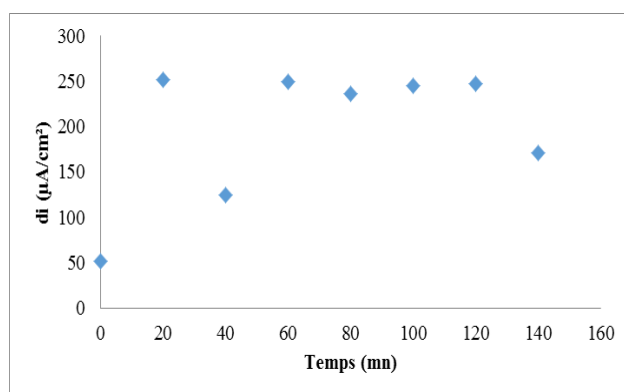


Figure 60 : Densité du courant en fonction du temps de contact de EPC/AMX ads. avec la bactérie

On observe une alternance de pics enregistrés au niveau de la densité de courant en fonction du temps de contact avec la bactérie.

Pendant les 20 premières minutes de contact avec la bactérie, la densité de courant augmente, ce qui traduit une bonne électroactivité à la surface de l'électrode due à l'interaction entre la bactérie et l'amoxicilline, probablement à l'ouverture du noyau  $\beta$ -lactame suivie de la formation de la liaison covalente avec la bactérie.

En effet la paroi cellulaire bactérienne, composante essentielle au maintien de la forme et à la protection de celle-ci contre l'osmolyse, est composée en partie de peptidoglycane et l'amoxicilline, comme les autres pénicillines, possède une conformation qui s'apparente à la D-alanyl-D-alanine, précurseur du peptidoglycane (Figure 61). Cette similarité lui confère une affinité pour le site actif de la PLP. En imitant la structure tridimensionnelle de la séquence D-Ala-D-Ala, les bêta-lactames se comportent comme des inhibiteurs de la transpeptidase. En présence d'antibiotique, la transpeptidase (enzyme), qui agit comme une acyl-transférase à sérine active, exerce son action hydrolytique sur la molécule antibiotique, conduisant à la formation d'un complexe enzyme-produit qui ne se dissocie pas car l'enzyme est liée de façon covalente au produit (Figure 62). Ce mécanisme est appelé inhibition-suicide

(l'enzyme elle-même catalyse la transformation de l'antibiotique en un composé hautement réactif qui se lie à l'enzyme de façon irréversible).

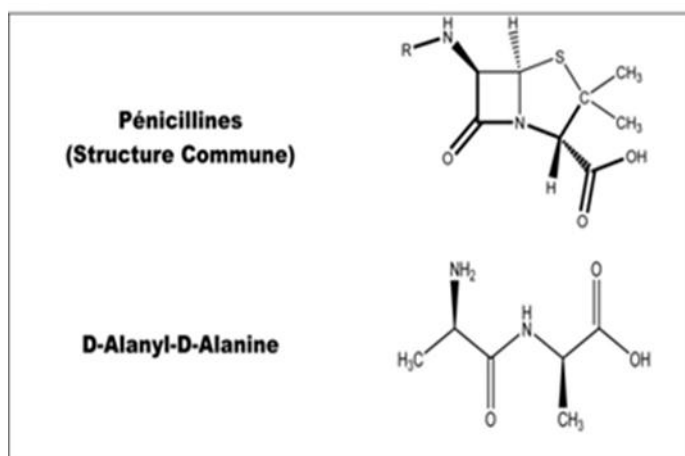


Figure 61 : Structure des pénicillines et du D-Alanyl-D-Alanine

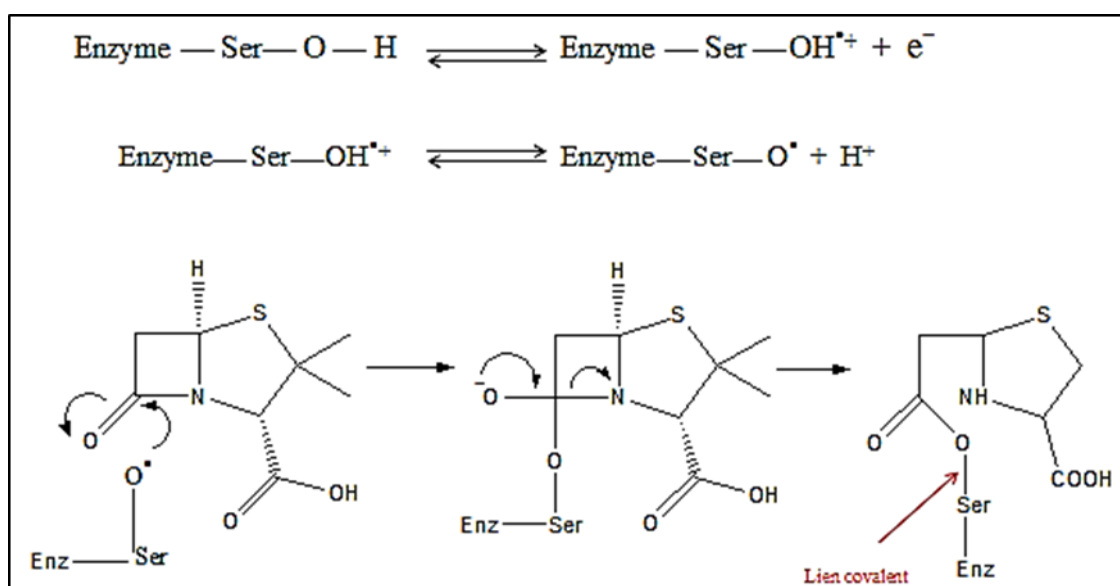


Figure 62 : Mécanisme de l'ouverture du noyau  $\beta$ -lactame

De la 20<sup>e</sup> à la 40<sup>e</sup> minute de contact avec la bactérie, la densité de courant diminue, ce qui pourrait s'expliquer par la formation d'un film moins conducteur à la surface de l'électrode.

De la 40<sup>e</sup> à la 60<sup>e</sup> mn de contact avec la bactérie on assiste à nouveau à une augmentation de l'électroactivité de l'électrode ce qui confirme qu'il y a autolyse de la bactérie (tableau 10) et donc libération de la surface de l'électrode. Cette libération va

entraîner une fois de plus l'insertion des bactéries par la formation de liaison covalente avec l'amoxicilline d'où l'augmentation de l'électroactivité.

Tout ce mécanisme pourrait expliquer les alternances observées au niveau de la densité de courant.

▪ **Densité optique en fonction du temps de contact de EPC/AMX ads. Avec la bactérie**

Tableau 10 : Densité optique en fonction du temps de contact de EPC/AMX ads. Avec la bactérie

Temps (mn)	0	20	40	60	80	100	120	140
DO	0,925	0,873	0,803	0,720	0,643	0,589	0,384	0,250
% des bactéries soustraites de la solution	-	6	13	22	30	36	58	73

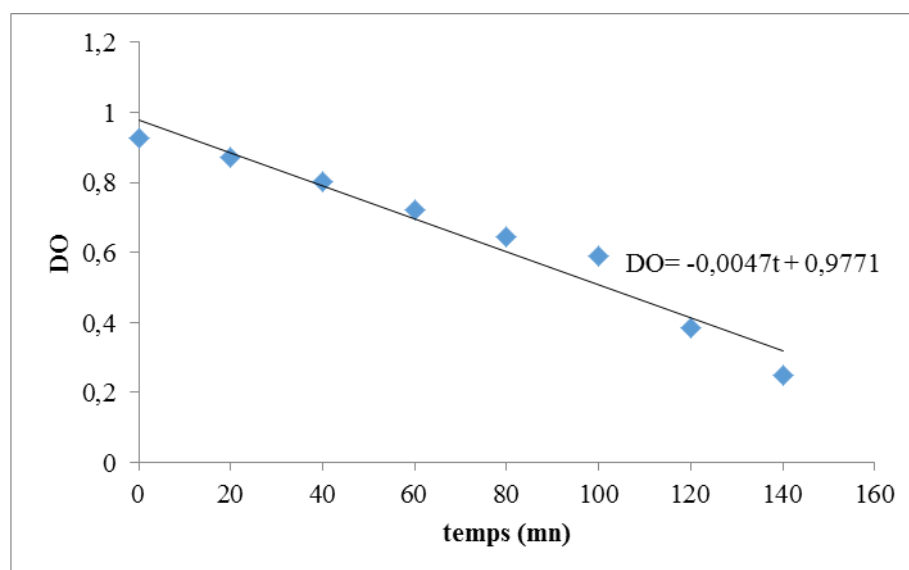


Figure 63 : Densité optique en fonction du temps de contact de EPC/AMX ads. avec la bactérie

On remarque que la DO diminue en fonction du temps de contact de EPC/AMX ads. avec la bactérie.

Les bêtalactamines inhibent la synthèse de la paroi bactérienne en se fixant sur les protéines liant les pénicillines (PLP). Ces protéines sont des carboxypeptidases et des transpeptidases nécessaires à la liaison entre les chaînes latérales des peptidoglycanes. L'inhibition d'une ou plusieurs de ces enzymes fait accumuler des précurseurs de peptidoglycanes qui activent le système autolytique de la bactérie et entraînent sa lyse<sup>135</sup>. D'autre part, les bactéries ont tendance à s'adhérer à la surface de l'électrode modifiée par des

<sup>135</sup> E.Bergogne-bérézin, P.Dellamonica ; antibiothérapie en pratique clinique ; Masson ; 2eme édition 1999

liaisons plus ou moins fortes, ce qui libère la solution des bactéries d'où la diminution de la densité optique.

▪ **Courbes de polarisation**

Les courbes intensité-potentiel appelées aussi courbes de polarisation globale, ou courbes potentiodynamiques sont obtenues en faisant varier de façon continue le potentiel appliqué à l'électrode de travail depuis le domaine cathodique (valeurs négatives du potentiel) jusqu'au domaine anodique et en enregistrant pour chaque valeur de potentiel, la valeur de la densité de courant correspondante. L'allure des courbes renseigne sur les différentes réactions électrochimiques mises en jeu pour des potentiels donnés.

Les paramètres rassemblés déduits des courbes de polarisation, tels que le potentiel de polarisation ( $E_p$ ), le courant de polarisation ( $I_p$ ), les bornes cathodiques et anodiques de Tafel ( $\beta_c$  et  $\beta_a$ ), sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau 11 : Paramètres électrochimiques relatifs à l'effet du temps de contact de EPC/AMX ads. avec la bactérie

	EPC/AMX blanc	EPC/AMX en présence des bactéries						
		20mn	40mn	60mn	80mn	100mn	120mn	140mn
<b>E (i = 0) mV</b>	-468,9	-571,4	-538,4	-628,4	-715,3	-693,4	-803,4	-781,3
<b>Rp (kohm.cm<sup>2</sup>)</b>	1,45	1,25	1,32	1,34	1,16	1,30	1,26	1,80
<b>i<sub>p</sub> (μA/cm<sup>2</sup>)</b>	38,2266	37,1039	45,0633	39,9375	55,7303	42,2113	43,4392	18,3291
<b>β<sub>c</sub> (mV)</b>	341,0	284,1	383,3	361,8	411,8	414,7	375,0	190,0
<b>β<sub>a</sub> (mV)</b>	-350,9	-307,8	-354,1	-305,7	-383,8	-300,8	-323,5	-217,3

La résistance de polarisation est inversement proportionnelle au courant de polarisation. Plus la valeur de la résistance de polarisation est élevée (dû à la présence d'un film de bactéries à la surface de l'électrode), plus l'intensité du courant de polarisation est faible et vice versa.



- **Comparaison du comportement électrochimique et physique de EPC/AMX ads. avant et après le temps de contact avec la bactérie**

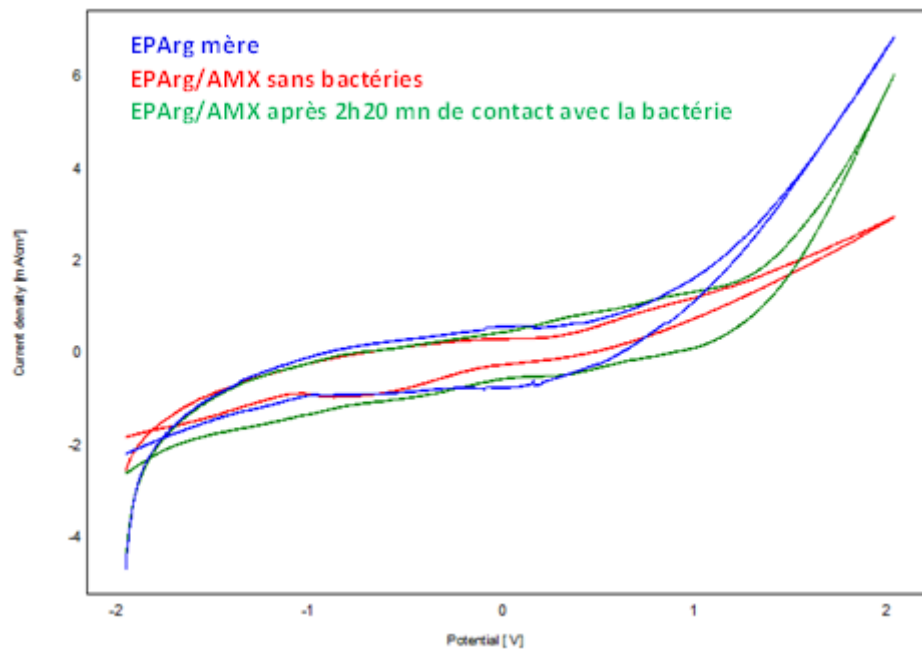


Figure 64 : Superposition des voltammogrammes cycliques de EPC mère, EPC/AMX ads. sans bactéries et EPC/AMX ads. après 2h20mn de contact avec la bactérie, dans NaCl à 0,1 M ;  $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ; pH = 7,42

Après 2 heures 20 minutes de contact avec les bactéries, l'électrode de pâte de carbone modifiée par l'amoxicilline tend vers l'état initial (l'électrode mère). La bactérie après sa lyse semble entraîner les molécules d'amoxicilline avec elle. Ce résultat est confirmé par des photographies issues de l'observation au microscope optique.

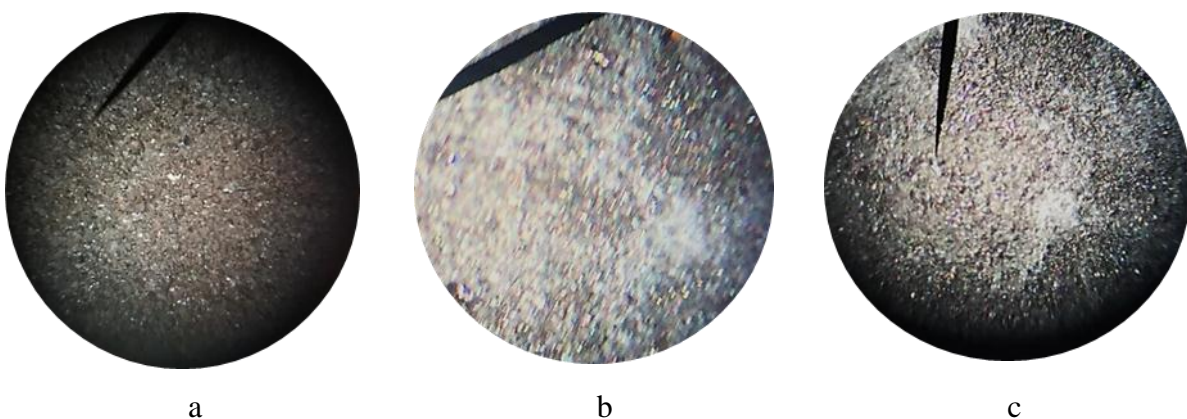


Figure 65 : Electrode de pâte de carbone mère (a), après modification par l'amoxicilline (b) et après 2h20min de temps de contact avec la bactérie (c)

#### 4. Etude électrochimique de l'effet de la concentration de l'amoxicilline à la surface de EPC/AMX ads. sur les bactéries

Les électrodes de pâte de carbone ont été trempées dans des solutions d'amoxicilline à différentes concentrations pendant 20 min (temps de dépôt optimal). Après 30 min de contact avec la bactérie, des prélèvements de l'électrolyte (contenant les bactéries) ont été faits dans le but de mesurer la densité optique de l'échantillon (Tableau 13). Ce tableau montre les résultats obtenus.

##### ▪ Caractérisation par la voltammétrie à ondes carrées

La figure 66 montre une meilleure électroactivité de EPC/AMX modifiée à une concentration de 10 g/l d'amoxicilline. Pour une meilleure appréciation de ces résultats, nous avons procédé à une comparaison de ces électrodes modifiées à différentes concentrations à blanc et avec bactéries (résultats non présentés). Ces comparaisons ont montré que la concentration optimale est bien 10 g/l.

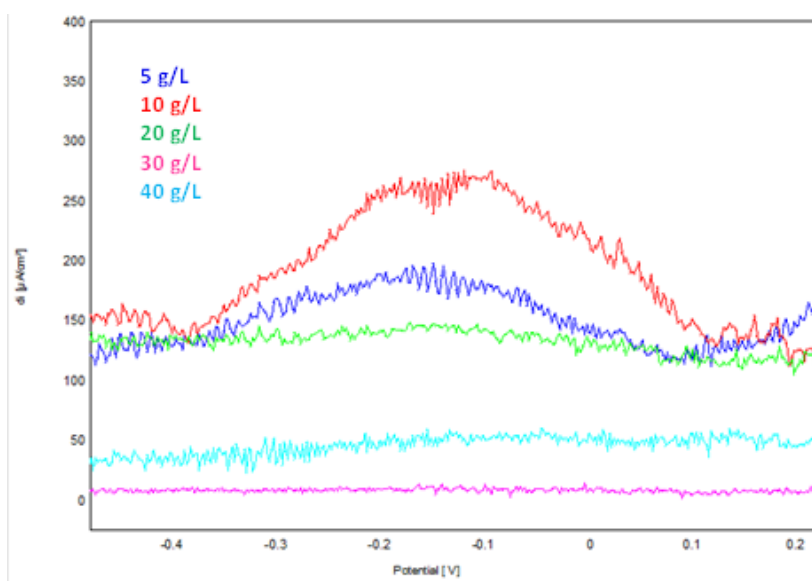


Figure 66 : Superposition des voltammogrammes à ondes carrées de EPC/AMX ads. modifiées à différentes concentrations de l'antibiotique en présence des bactéries dans NaCl à 0,1 M ;  $v = 20\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ; pH = 7,42

##### ▪ Densité de courant en fonction de la concentration de l'amoxicilline

Tableau 12 : Densité de courant en fonction de la concentration de l'amoxicilline à la surface de EPC/AMX ads.

Concentration [AMX] (g/L)	0	1	5	10	15	20	25	30	35	40
di ( $\mu\text{A}/\text{cm}^2$ )	153,8	204,1	187,8	<b>251,4</b>	241,1	143,9	226	6,36	197,3	52,2

La densité de courant est plus importante à une concentration de 10 g/L de la solution d'amoxicilline. Au regard de ces résultats, nous pouvons dire que la concentration de l'amoxicilline est un paramètre à prendre en considération pour la détection des bactéries. Probablement, une forte concentration en antibiotique favorise l'adhésion d'un grand nombre de bactéries qui finissent par détacher le film d'amoxicilline de la surface.

- **Densité optique en fonction de la concentration de l'amoxicilline à la surface de EPC/AMX ads.**

Tableau 13 : Densité optique en fonction de la concentration de l'amoxicilline à la surface de EPC/AMX ads.

[AMX] g/L	0	1	5	10	15	20	25	30	35	40
DO	0,925	0,850	0,782	0,538	0,428	0,335	0,296	0,197	0,161	0,049
% bactéries Soustraites de la solution		8	15	42	54	64	68	79	83	95

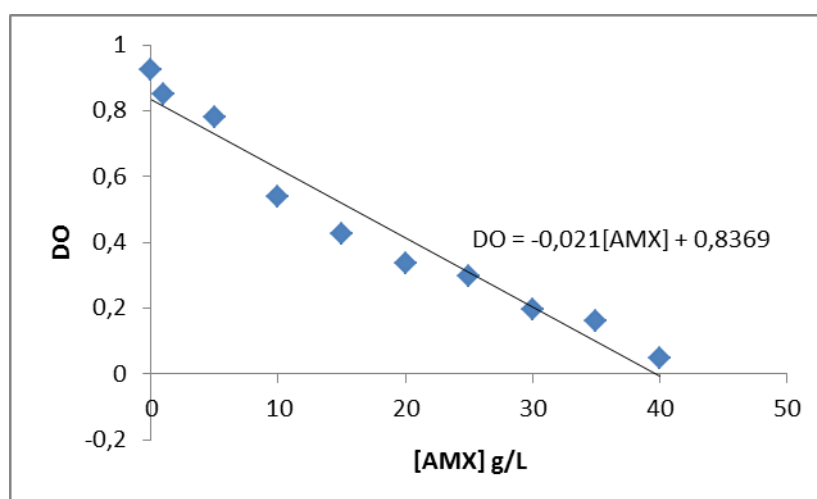


Figure 67 : Densité optique en fonction de la concentration de l'amoxicilline à la surface de EPC/AMX ads

On remarque que plus la concentration de l'amoxicilline augmente plus la DO diminue.

##### 5. Etude de l'effet de la densité optique (DO) de la bactérie sur EPC/AMX ads.

L'électrode de pâte de carbone modifiée par l'amoxicilline à une concentration de 10g/l a été caractérisée en présence de bactéries à différentes densité optique.

- **Caractérisation par la voltammétrie cyclique**

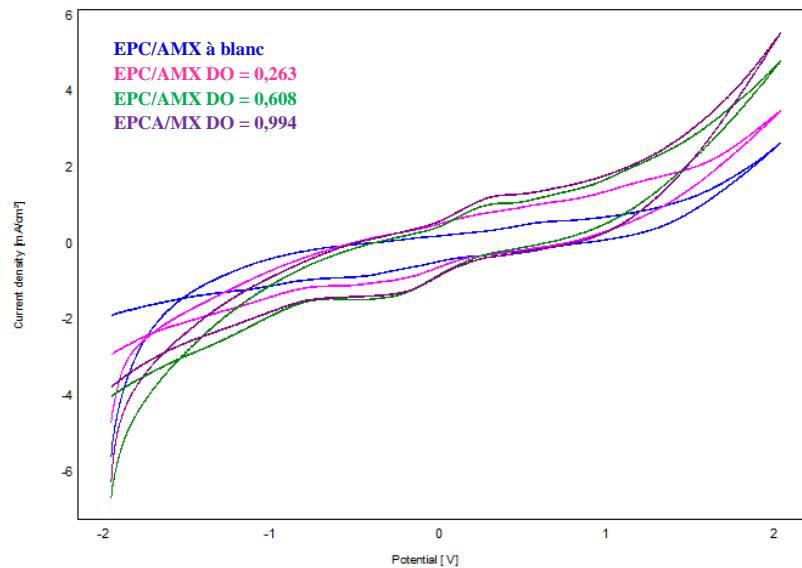


Figure 68 : Superposition des voltammogrammes cycliques de EPC/AMX ads. à blanc et EPC/AMX ads. (10g/L) en présence des bactéries à différentes densités optiques dans NaCl à 0,1 M ;  $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ;  $\text{pH} = 7,42$

On enregistre une augmentation de la densité de courant ponctuée par des alternances. Cette augmentation est illustrée par la voltammétrie à ondes carrées. Les densités de courant augmentent avec la densité optique, ce qui montre que l'électrode modifiée dispose d'une grande surface active, donc un nombre important de sites actifs.

- **Caractérisation par la voltammétrie à ondes carrées**

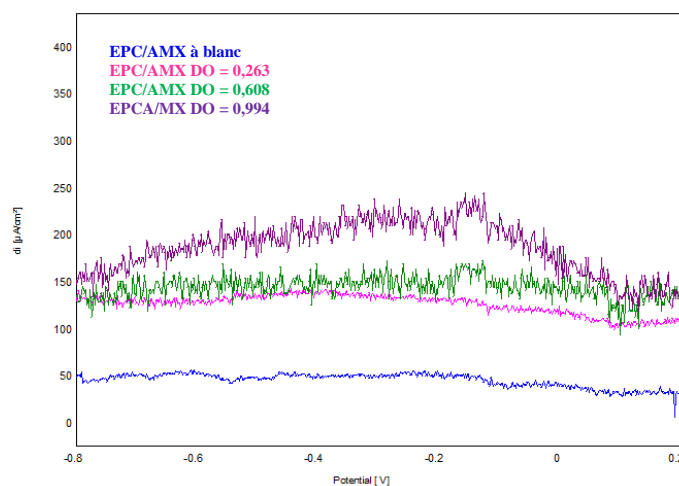


Figure 69 : Superposition des voltammogrammes à ondes carrées de EPC/AMX ads. à blanc et EPC/AMX ads. (10g/L) en présence des bactéries à différentes densités optiques dans NaCl à 0,1 M ;  $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ;  $\text{pH} = 7,42$

- **Densité de courant en fonction de la densité optique**

Tableau 14 : Densité de courant (EPC/AMX ads.) en fonction de la densité optique

<b>DO</b>	0	0,093	0,149	0,263	0,478	0,560	0,608	0,994
<b>di (<math>\mu\text{A}/\text{cm}^2</math>)</b>	52,07	146,6	174,7	138,5	207,7	199,8	165,7	236,2

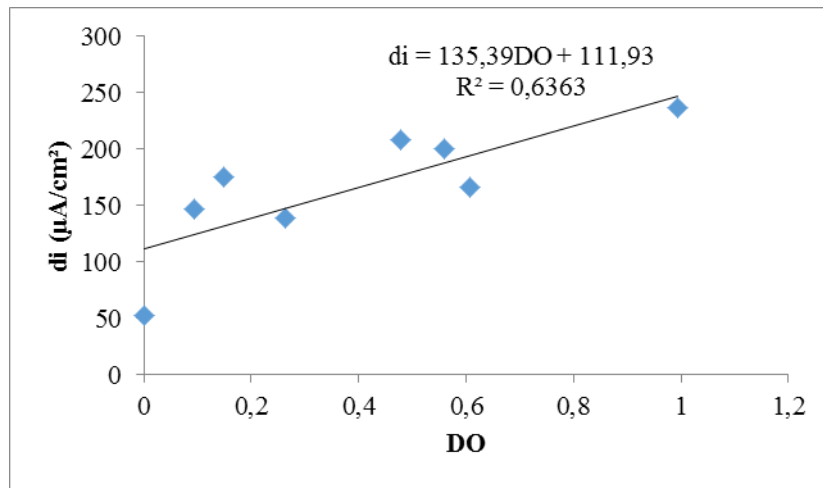


Figure 70 : Densité de courant (EPC/AMX ads.) en fonction de la densité optique

- **Détermination de la limite de détection et de quantification de EPC/AMX ads.**

D'après Miller et Miller<sup>136</sup>, la déviation standard du courant moyen (SD) mesuré peut être modélisée par l'équation:

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

Où  $i_j$  est la valeur expérimentale du courant identifié à la manipulation  $j$  et  $I_j$  est la valeur correspondante calculée à la même densité optique en utilisant l'équation de calibration.  $n$  est le nombre de mesure effectué. La valeur de SD (déviation standard) calculée est utilisée pour la détermination de la limite de détection (LD) et la limite de quantification (LQ).

$$LD = 3 \times \frac{SD}{\text{pente}}$$

$$LQ = 10 \times \frac{SD}{\text{pente}}$$

<sup>136</sup> J.C. Miller, J.N. Miller, Analyst, 113 (1988) 1351–1356

Pour l'électrode de pâte de carbone modifiée par l'amoxicilline, la limite de détection est de  $2,954.10^{-5}$  et la limite de quantification est de  $9,846.10^{-5}$ .

### 6. Détermination de la durée de la détection des bactéries par EPC/AMX ads.

L'électrode a été caractérisée par la voltammétrie cyclique à 50 cycles, d'une durée de 1 h 06 min en présence de la bactérie.

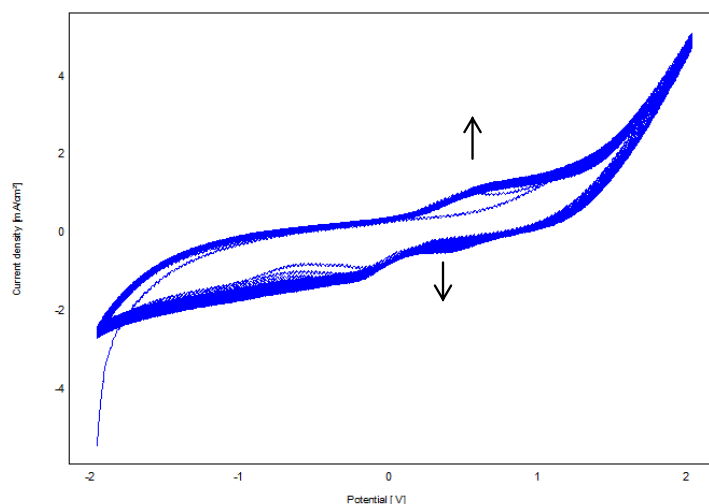


Figure 71 : voltammogrammes cycliques de EPC/AMX ads. en présence des bactéries pendant 50 cycles dans NaCl à 0,1 M ;  $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ;  $\text{pH} = 7,42$

Après 50 cycles, l'électrode enregistre une augmentation de la densité de courant avec la même allure du voltammogramme. Elle continue de détecter la bactérie. Une comparaison des voltammogrammes de EPC/AMX ads. à blanc et EPC/AMX ads. en présence des bactéries après les 50 cycles illustre bien cette croissance de cette électroactivité.

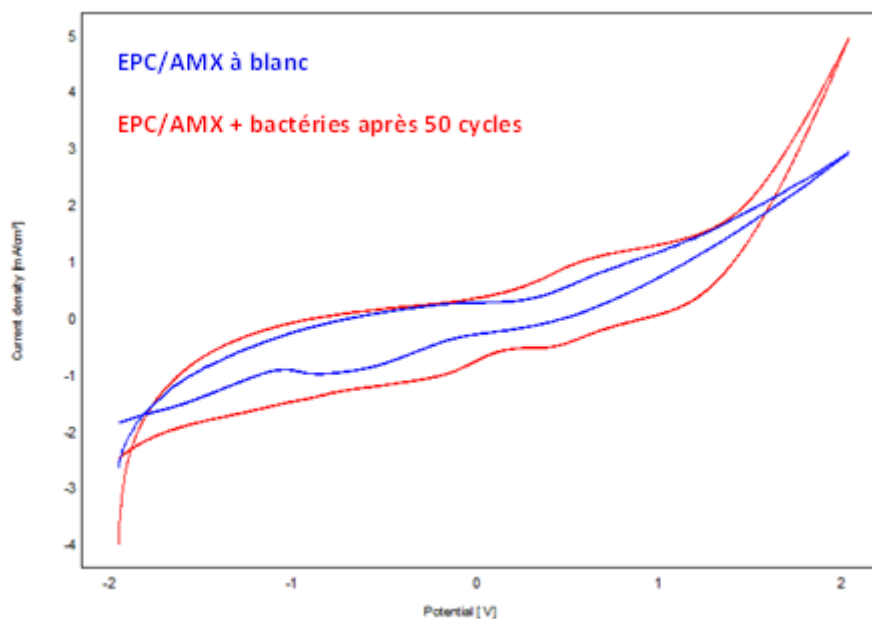


Figure 72 : Comparaison des voltammogrammes cycliques de EPC/AMX ads. à blanc et en présence des bactéries après 50 cycles dans NaCl à 0,1 M ;  $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ; pH = 7,42

## 7. Etude de l'effet du pH

L'EPC/AMX ads. a été caractérisée à différents pH (4,22 ; 7,42 et 8,68).

Nous avons travaillé sous les conditions suivantes :

- Temps de dépôt de l'amoxicilline sur l'électrode : 20 min ;
- Concentration de l'amoxicilline : 10 g/l.

Pour l'électrode ayant donné des résultats satisfaisants quant à la détection des bactéries en milieu acide, neutre et basique, nous avons fait une comparaison des dits voltammogrammes dans le but de déterminer le milieu le plus favorable à l'électroactivité de celle-ci. Les résultats sont illustrés par la figure 73.

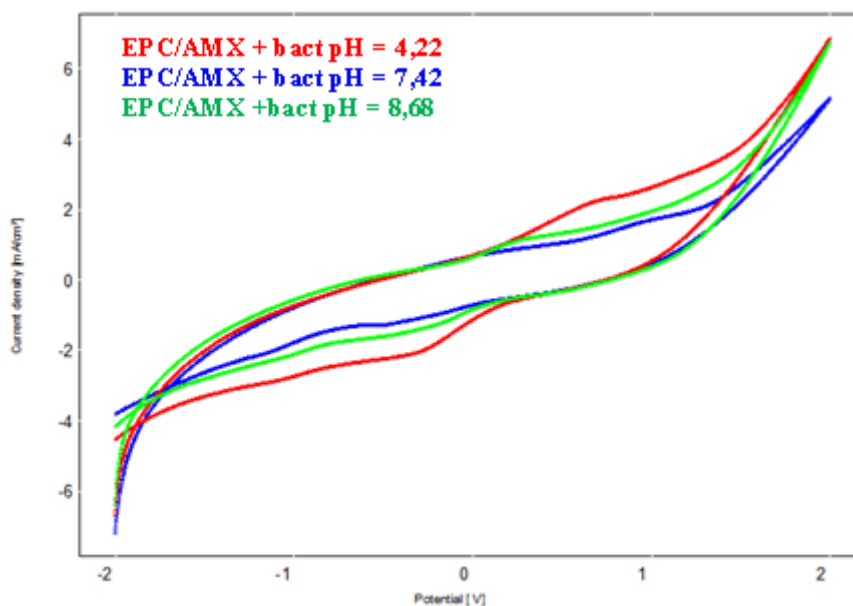


Figure 73 : Superposition des voltammogrammes cycliques de EPC/AMX ads à différents pH en présence des bactéries dans NaCl à 0,1 M ;  $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V

Au regard de ces résultats, nous pouvons dire que notre électrode présente une meilleure électroactivité en milieu acide ;  $\text{pH} = 4,22$ , les pics d'oxydo-réduction sont très bien définis et présentent des densités de courant très importantes.

### 8. Reproductibilité des résultats de EPC/AMX ads.

Les expériences sont réalisées avec différentes électrodes modifiées destinées à la détection des *staphylocoques aureus*. La réponse du signal a été toujours la même caractérisée par une augmentation de la densité de courant.

## II. Electrode de pâte de carbone modifiée par mélange

### 1. Caractérisation physique et électrochimique de l'électrode de pâte de carbone avant et après modification par l'amoxicilline

L'électrode a été obtenue en mélangeant la poudre d'amoxicilline et celle de carbone à une teneur massique de 50% chacune.

#### a. Caractérisation physique de l'électrode obtenue

L'observation au microscope optique de l'électrode modifiée est présentée à la figure 74.



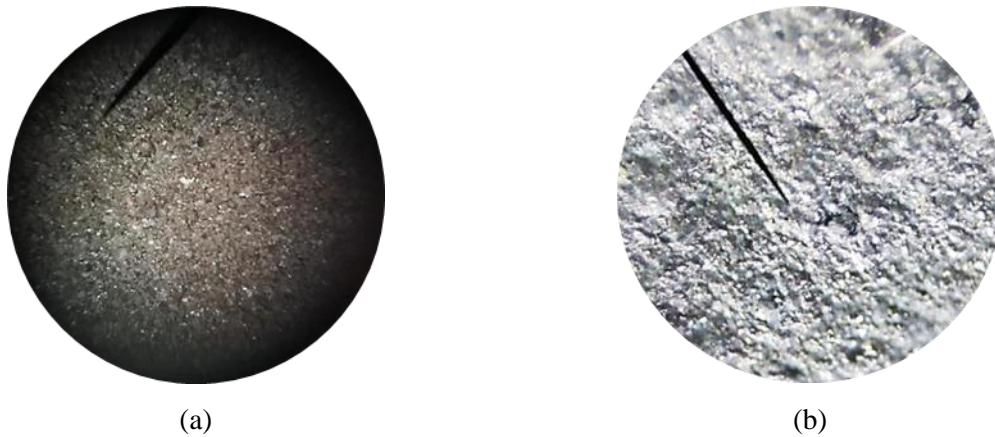


Figure 74 : Electrode de pâte de carbone avant modification (a) et après modification par l'amoxicilline : 50 % poudre de carbone + 50% poudre d'amoxicilline (b)

### b. Caractérisation électrochimique

L'électrode de pâte de carbone modifiée avec l'amoxicilline par mélange (EPC/AMX mél.) a été caractérisée à blanc et ensuite une comparaison a été faite avec le voltammogramme cyclique de l'électrode de pâte de carbone mère.

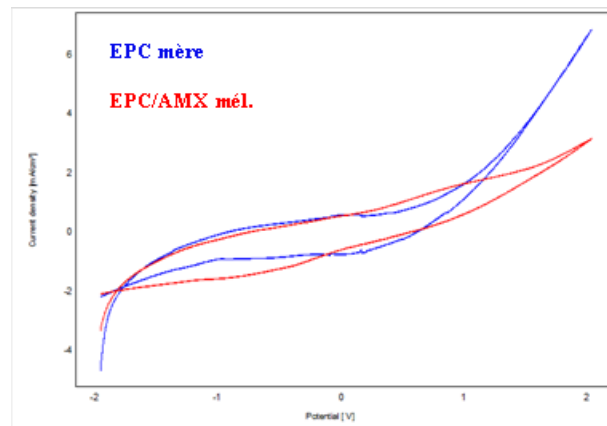


Figure 75 : Superposition des voltammogrammes cycliques de EPC mère et EPC/AMX mél. à blanc dans NaCl à 0,1 M ;  $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ; pH = 7,42

La comparaison des voltammogrammes montre que l'électrode de pâte de carbone mère a été bien modifiée. Cette modification se caractérise par une baisse de l'électroactivité de l'électrode due à la présence d'un film formé par l'amoxicilline à sa surface.

## 2. Etude de EPC/AMX mél. en fonction du temps de contact avec la bactérie

### a. Caractérisation électrochimique de EPC/AMX mél. en fonction du temps de contact avec les bactéries

L'électrode a été caractérisée par la voltammétrie cyclique et à ondes carrées à des intervalles de 20 min. A ces mêmes intervalles, des prélèvements de l'électrolyte contenant

les bactéries ont été faits dans le but de mesurer la densité optique de l'échantillon. Les figures ci-dessous montrent les résultats obtenus.

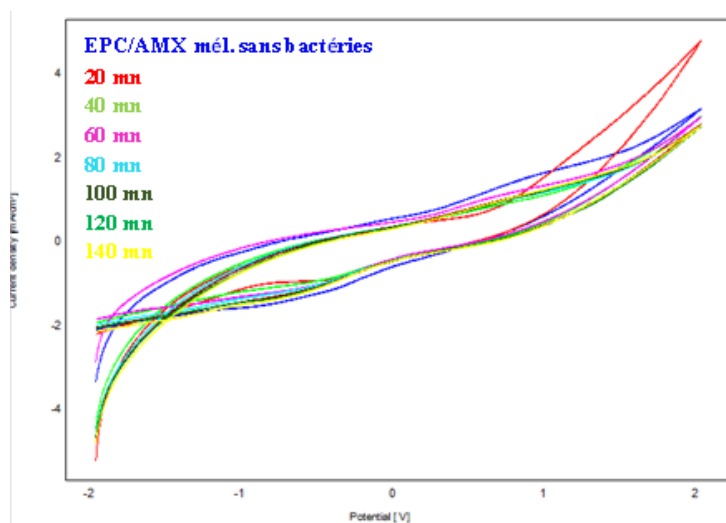


Figure 76 : Superposition des voltammogrammes cycliques de EPC/AMX mél. à blanc et EPC/AMX mél. à différents temps de contact avec les staphylocoques dans NaCl à 0,1 M ;  $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ; pH = 7,42

**b. Densité de courant de l'EPC/AMX mélange en fonction du temps de contact avec les *staphylocoques aureus***

Tableau 15 : Densité de courant de l'EPC/AMX mél. en fonction du temps de contact avec la bactérie

Temps (min)	0	20	40	60	80	100	120	140
di ( $\mu\text{A}/\text{cm}^2$ )	156	133,9	125,5	141,4	149,4	138,9	122,8	141,4

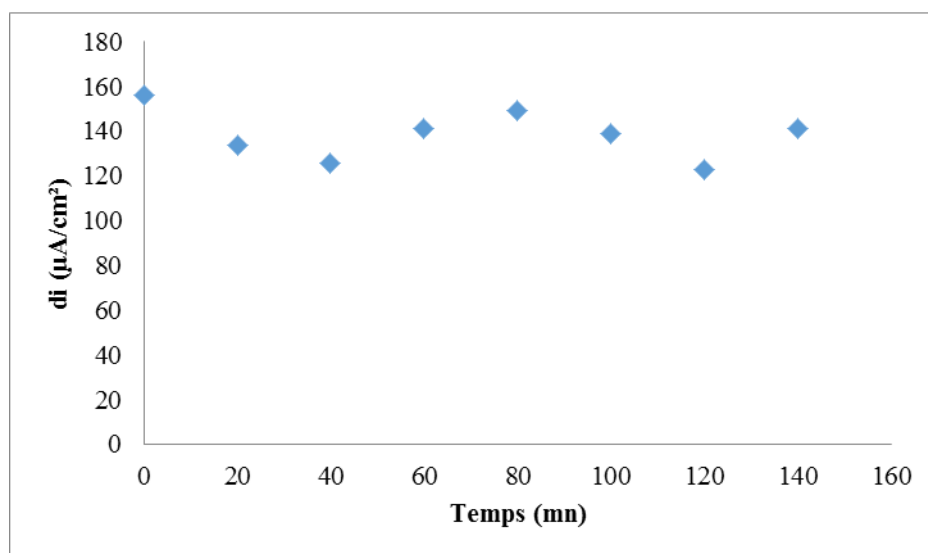


Figure 77 : Densité de courant en fonction du temps de contact de EPC/AMX mél. avec la bactérie

L'électrode constituée du mélange de l'amoxicilline avec la pâte de carbone à différents temps de contact avec la bactérie montre une faible électroactivité par rapport à celle sans bactéries. La détection de la bactérie est donc difficile à mener avec une telle électrode.

**c. Densité optique en fonction du temps de contact de EPC/AMX mél. avec la bactérie**

Tableau 16 : Densité optique en fonction du temps de contact de EPC/AMX mél. avec la bactérie

Temps (min)	0	20	40	60	80	100	120	140
DO	0,925	0,799	0,723	0,618	0,603	0,475	0,210	0,131
% des bactéries soustraites de la solution		14	22	33	35	49	77	86

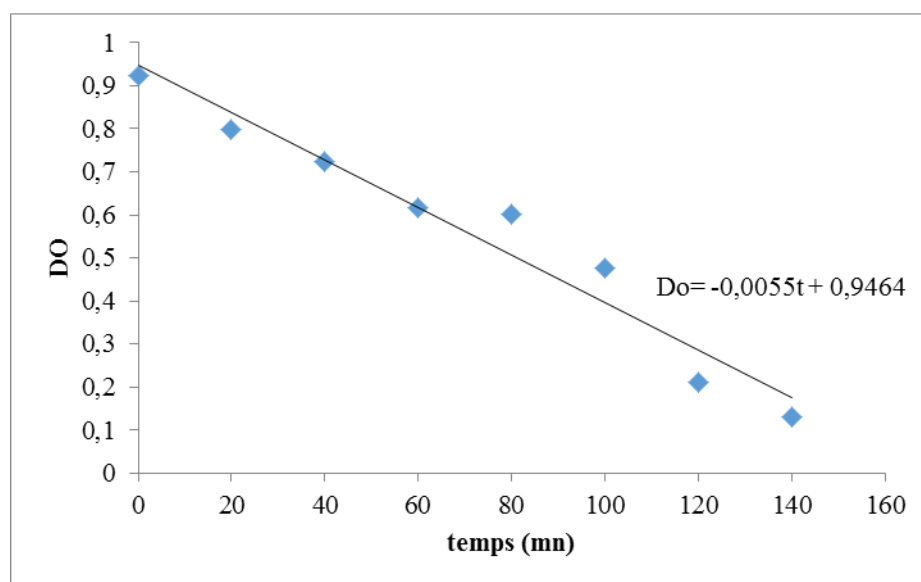


Figure 78 : Densité optique en fonction du temps de contact de EPC/AMX mél. avec la bactérie

On remarque que la densité optique diminue en fonction du temps de contact de l'EPC/AMX mélange avec la bactérie.

**d. Comparaison du comportement physique et électrochimique de EPC/AMX mél. avant et après le contact avec la bactérie**

▪ **Caractérisation physique de EPC/AMX mél.**

L'observation au microscope optique avant et après le contact de l'EPC/AMX mél. avec les staphylocoques a donné les images suivantes (fig79) :

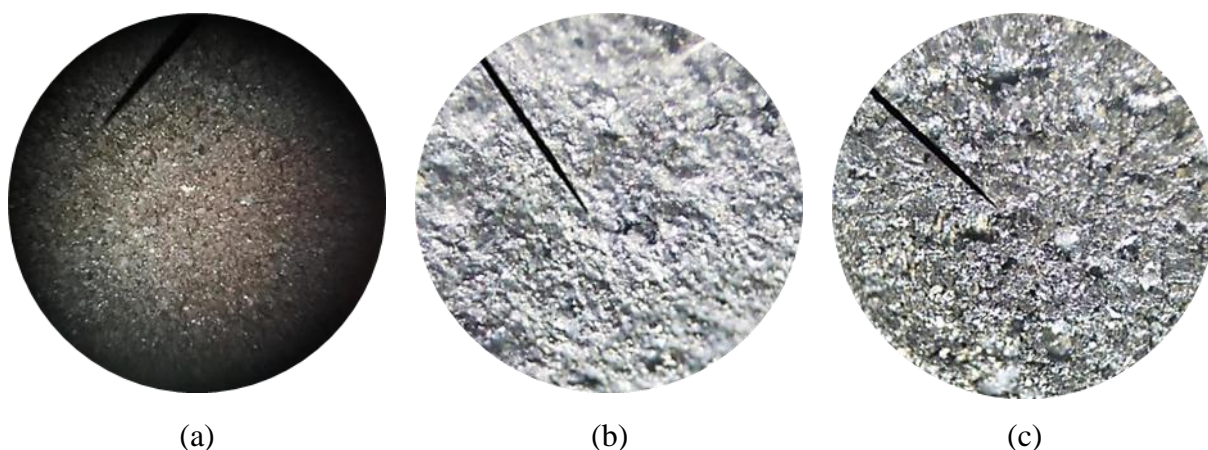


Figure 79 : EPC mère (a), EPC/AMX mél. avant le contact avec les bactéries (b) et après 2h20 mn de contact avec les bactéries (c)

▪ **Caractérisation électrochimique de EPC/AMX mél.**

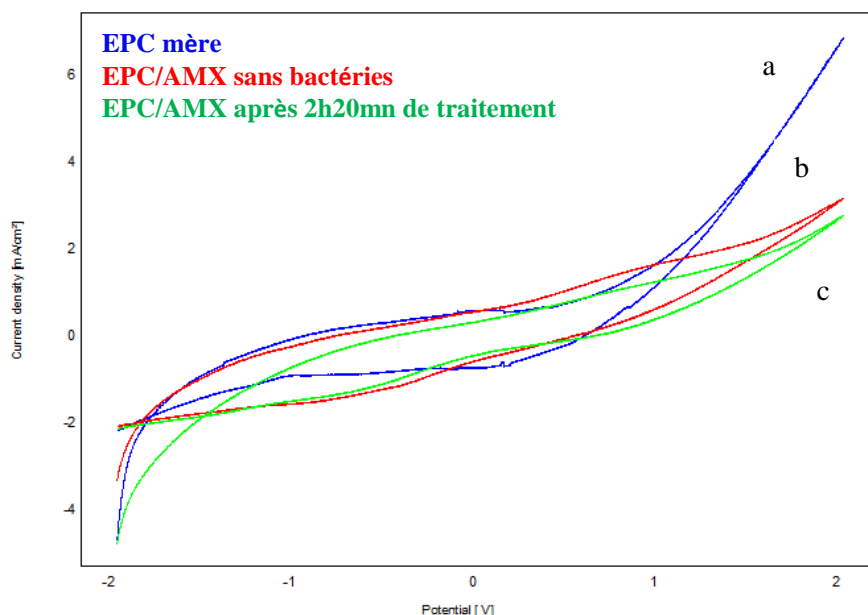


Figure 80 : Superposition des voltammogrammes cycliques de l'EPC mère (a), EPC/AMX mél. avant le contact avec les bactéries (b) et après 2h20 mn de contact avec les bactéries (c) dans NaCl à 0,1 M ;  $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ;  $\text{pH} = 7,42$

Après 2h20 min de traitement, le voltammogramme semble ne pas être trop différent de celui obtenu avant traitement (confirmé par les images de la figure 79).

### 3. Comparaison des données de la densité optique de EPC/AMX ads. et EPC/AMX mél.

Tableau 17 : Comparaison des données de la densité optique EPC/AMX ads. et EPC/AMX mél.

Temps (min)	0	20	40	60	80	100	120	140
DO (par dépôt)	0,925	0,873	0,803	0,720	0,643	0,589	0,384	0,250
DO (par mélange)	0,925	0,799	0,723	0,618	0,603	0,475	0,210	0,131

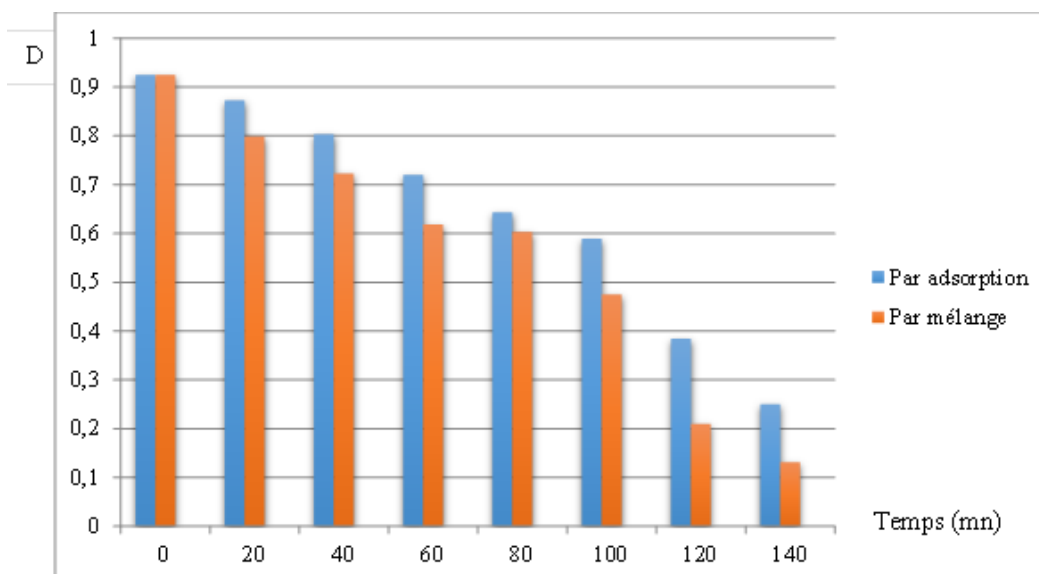


Figure 81 : Comparaison des données de la densité optique de EPC/AMX ads. et EPC/AMX mél.

La baisse de la densité optique de l'électrode obtenue par mélange est plus significative que celle obtenue par adsorption. Cela semble être dû à la forte teneur d'amoxicilline à la surface de l'électrode.

#### 4. Effet du pH sur EPC/AMX mél. en présence des bactéries

L'électrode de pâte de carbone modifiée par l'amoxicilline par mélange n'ayant pas donné de bons résultats en milieu neutre, nous avons donc étudié son comportement électrochimique en milieu acide et basique afin de déterminer le milieu dans lequel elle pourrait être la plus électroactive.

En milieux acide et basique, elle montre une nette amélioration de son électroactivité mais pas assez suffisante pour mettre en évidence la détection de la bactérie, les résultats obtenus ne sont pas très concluant, nous avons choisi de ne pas les présenter dans ce mémoire.

## **Conclusion**

L'étude de l'interaction entre l'électrode de pâte de carbone, l'amoxicilline et les *staphylocoques aureus* dans le but d'élaborer un capteur électrochimique a donné des résultats satisfaisants avec la modification effectuée par adsorption. L'électrode modifiée par l'amoxicilline à une concentration de 10 g/l est un bon capteur pour la détection des *staphylocoques aureus*. En plus elle conserve cette propriété dans les milieux neutre, acide et basique.

# **CHAPITRE V : Electrode de Phosphate Naturel, l'amoxicilline et les bactéries: Résultats et discussions**

## Introduction

Ce chapitre, présentera les résultats des différentes manipulations de l'électrode de phosphate naturel. Des interprétations seront apportées pour les expliquer. Ces résultats et discussions seront présentés en fonction des différentes électrodes de travail. Ainsi, notre présentation s'articulera autour de deux points :

- Interaction entre l'électrode de phosphate naturel obtenue par adsorption, l'amoxicilline et les bactéries ;
- Interaction entre l'électrode de phosphate naturel obtenue par mélange, l'amoxicilline et les bactéries

## I. ELECTRODE DE PHOSPHATE NATUREL MODIFIÉE AVEC L'AMOXCILLINE PAR ADSORPTION

### 1. Caractérisation physico-chimique de la poudre de phosphate naturel

La présentation des caractéristiques du phosphate naturel est faite dans le revue bibliographique. Il est utile d'en rappeler quelques-unes. La figure 82 présente la micrographie électronique de phosphate naturel :

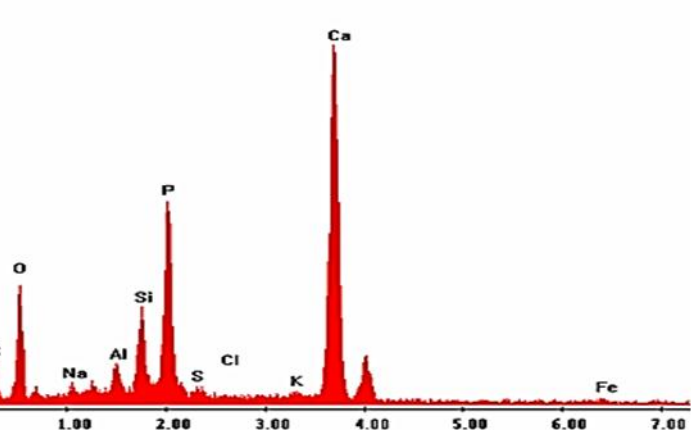
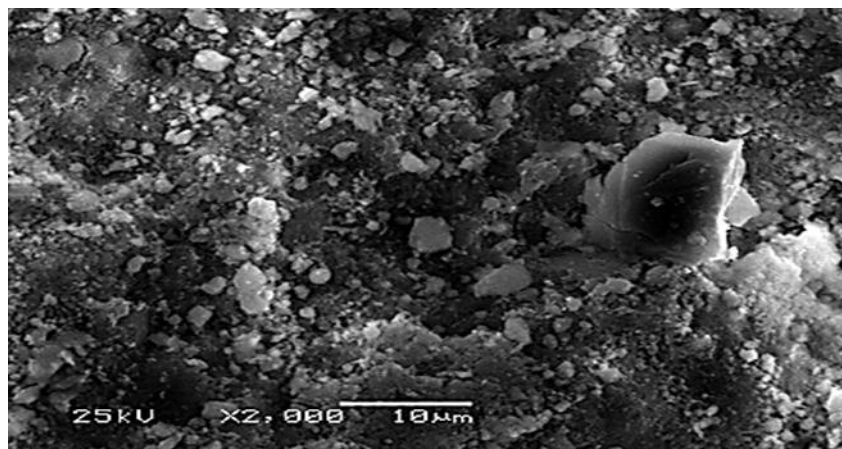


Figure 82 : Micrographie électronique de phosphate naturel



La structure cristallochimique de la matière est  $(Ca_{10}(PO_4)_6F_2)$  ; les pics sont indexés en se basant sur le système hexagonal (groupe d'espace P63/m) comme il est montré par la diffraction des rayons X (figure 83) et la spectroscopie d'émission infrarouge (figure 84). Le phosphate naturel présente une faible surface spécifique de l'ordre de  $1m^2 g^{-1}$ .

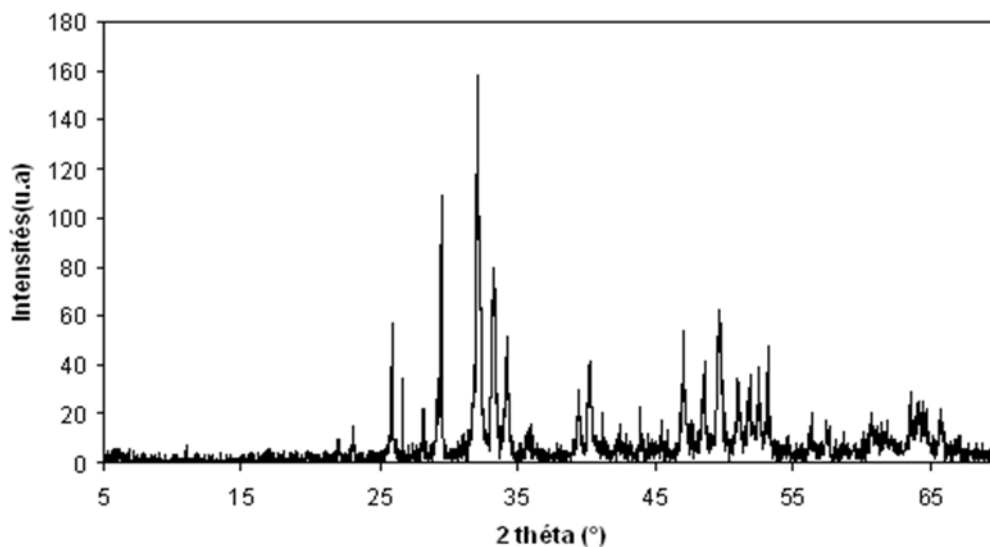


Figure 83 : Spectre de diffraction X de phosphate naturel après traitement

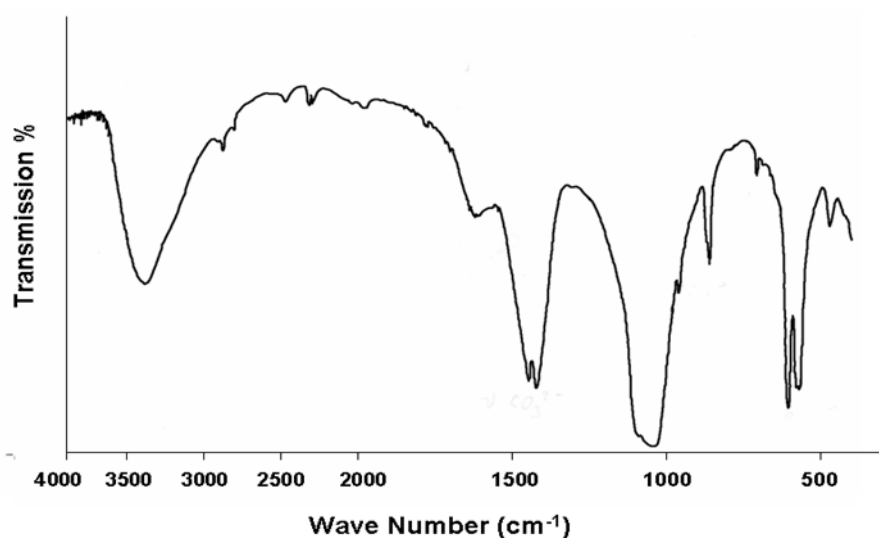


Figure 84 : Spectre d'adsorption infrarouge de phosphate naturel calciné à 900°C

## 2. Caractérisation physique et électrochimique de l'électrode de phosphate naturel avant et après modification par l'amoxicilline

### a. Caractérisation physique

#### ▪ Effet de la vitesse de balayage

L'électrode de phosphate naturel a été caractérisée par la voltammétrie cyclique à différentes vitesses de balayage (10, 20, 30, 50, 100 mV/s) afin de juger de sa stabilité (figure 85). Nous constatons que les densités de courant augmentent à haute vitesse de balayage, probablement en raison du dégagement des sites actifs.

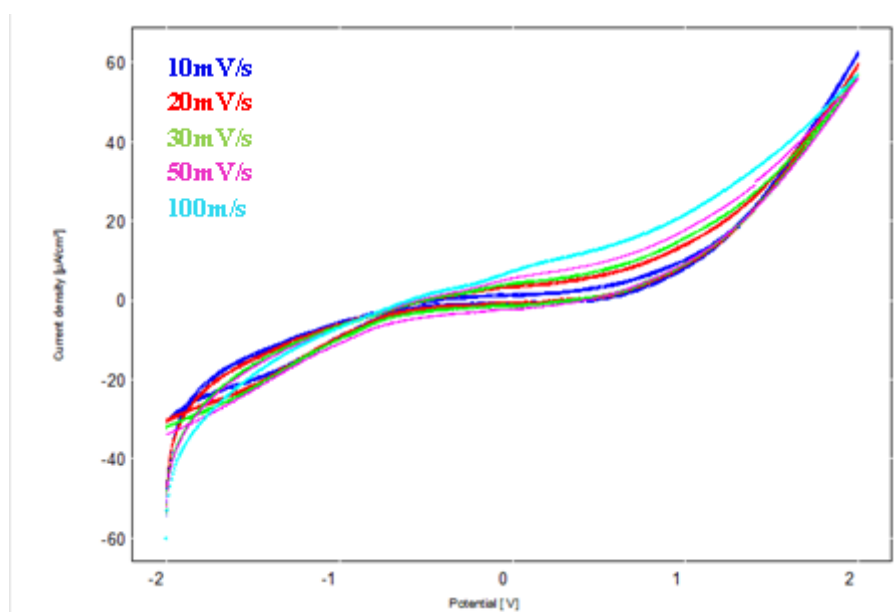


Figure 85 : Superposition des voltammogrammes cycliques de EPN à différentes vitesses de balayage, dans NaCl à 0,1 M ;  $v = 10, 20, 30, 50$  et  $100 \text{ mV/s}$ , de -2V à 2V,  $\text{pH} = 7,42$

#### ▪ Choix du temps de dépôt

L'électrode a été trempée à différents temps dans une solution d'amoxicilline à une concentration de 10g/l : 10, 20, 30 et 60 min.

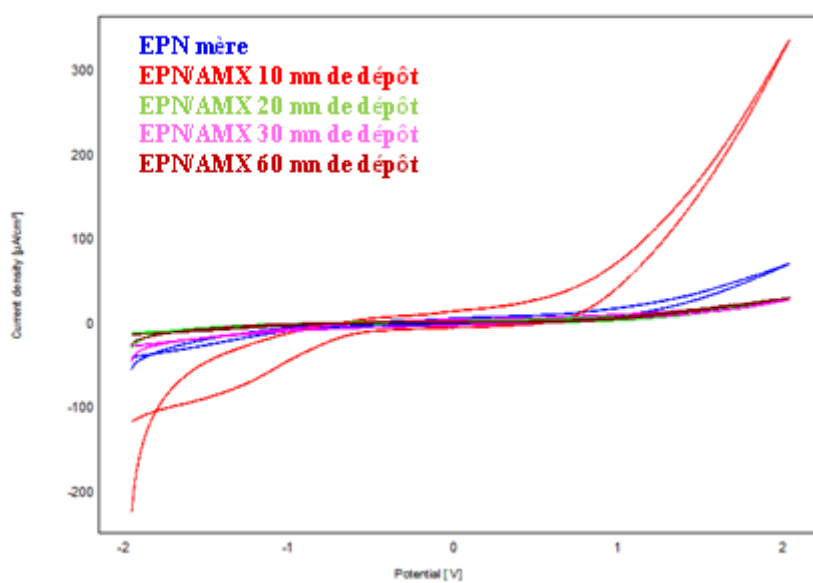


Figure 86 : Superposition des voltammogrammes cycliques de l'EPN non modifiée et EPN modifiée par l'amoxicilline aux différents temps de dépôt, dans NaCl à 0,1 M ;  $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V,  $\text{pH} = 7,42$

- A 10 min de trempage de l'électrode de phosphate naturel dans la solution d'amoxicilline (10 g/l), le voltammogramme présente une augmentation très significative de la densité de courant : Il y a formation d'un film d'amoxicilline à la surface de l'électrode améliorant l'électroactivité de celle-ci.
- A 20 min de trempage, la densité de courant a considérablement baissée, probablement le film d'amoxicilline a évolué vers la formation d'une couche isolante. Le temps optimal de dépôt de l'amoxicilline sur l'électrode de PN est donc de 10 min.

#### b. Caractérisation Electrochimique

La surface de l'électrode de phosphate naturel avant et après modification par l'amoxicilline, à 10 min de temps de dépôt a été observée au microscope optique. On aperçoit la formation d'une couche d'amoxicilline.

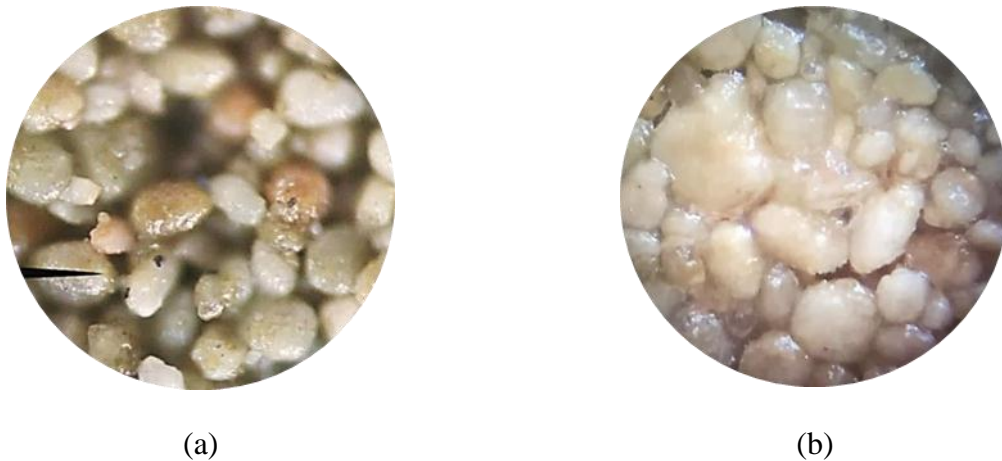


Figure 87 : Electrode de phosphate naturel avant modification (a) et après modification par l'amoxicilline, 10 min de temps de dépôt (b)

### 3. Etude électrochimique EPN/AMX ads. en fonction du temps de contact avec la bactérie

L'électrode a été caractérisée à des intervalles de 20 min en présence de la bactérie. A ces mêmes intervalles, des prélèvements de l'électrolyte contenant les bactéries ont été faits dans le but de mesurer la densité optique de l'échantillon. Les figures ci-dessous montrent les résultats obtenus.

#### a. Caractérisation par la voltammétrie cyclique

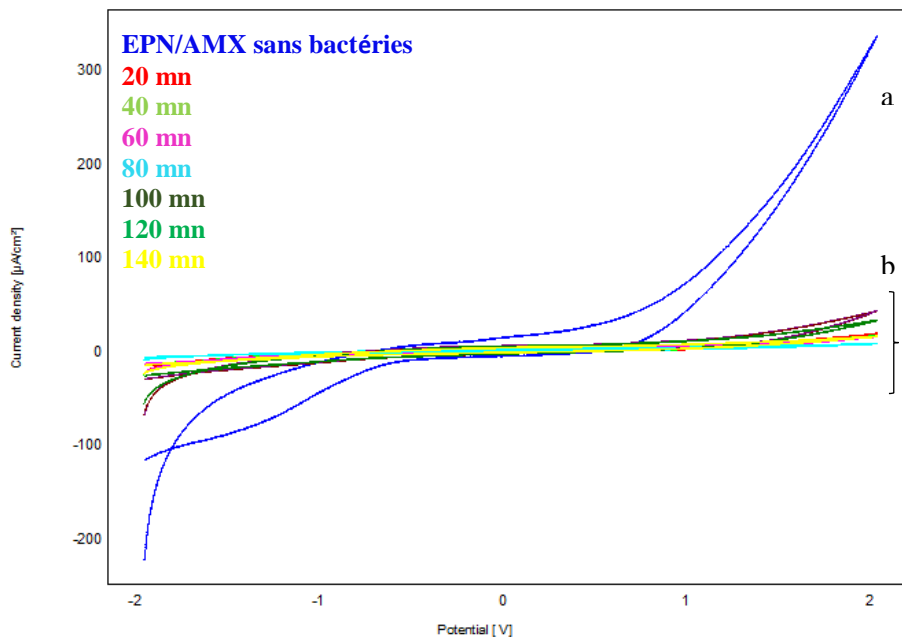


Figure 88 : Superposition des voltammogrammes cycliques de EPN/AMX ads. sans bactéries (a) et EPN/AMX ads. en fonction du temps de contact avec la bactérie (b), dans NaCl à 0,1 M ;  $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ;  $\text{pH} = 7,42$

En présence de bactéries, l'électrode affiche une baisse considérable de la densité de courant et cela de 0 à 140 min. Cela pourrait s'expliquer par la formation instantanée d'un film, isolant, de bactéries à la surface de l'électrode.

#### b. Caractérisation par la spectroscopie d'impédance électrochimique

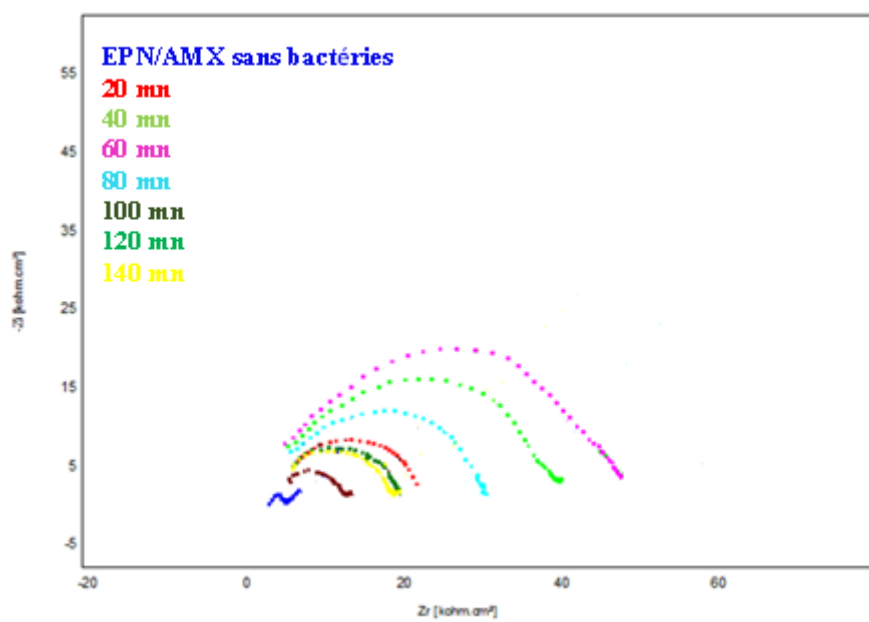


Figure 89 : Superposition des spectres d'impédance électrochimique de EPN/AMX ads. sans bactéries et EPN/AMX ads. en fonction du temps de contact avec la bactérie, dans NaCl à 0,1 de 100 mHz à 100 kHz, pH = 7,42

#### ▪ Paramètres des spectres d'impédances électrochimiques

Les paramètres déduits des spectres d'impédance électrochimiques, tels que le diamètre de la boucle et la capacité de la double couche formée à la surface de l'électrode sont présentés dans le tableau suivant.

Tableau 18 : Paramètres des spectres d'impédance électrochimiques de EPN/AMX ads.

	Diamètres (kohm.cm <sup>2</sup> )	C (pF/cm <sup>2</sup> )
EPN/AMX à blanc	1,788	1596
EPN/AMX (20 mn)	19,43	232,4
EPN/AMX (40 mn)	36,18	198,6
EPN/AMX (60 mn)	44,77	179,4
EPN/AMX (80 mn)	27,67	207,1
EPN/AMX (100 mn)	9,06	314,5
EPN/AMX (120 mn)	16,49	218,1

Les diagrammes d'impédance enregistrés ont la forme d'une demi-boucle dont le diamètre correspond à la résistance du transfert d'électrons. Plus le temps de contact

augmente plus cette résistance augmente, ce qui confirme la formation d'un film de batteries qui bloque les sites actifs de la surface de l'électrode.

**c. Densité optique en fonction du temps de contact de EPN/AMX ads. avec la bactérie**

Tableau 19 : Densité optique en fonction du temps de contact de EPN/AMX ads. avec la bactérie

Temps (min)	0	20	40	60	80	100	120	140
DO	0,805	0,794	0,763	0,724	0,694	0,676	0,621	0,613

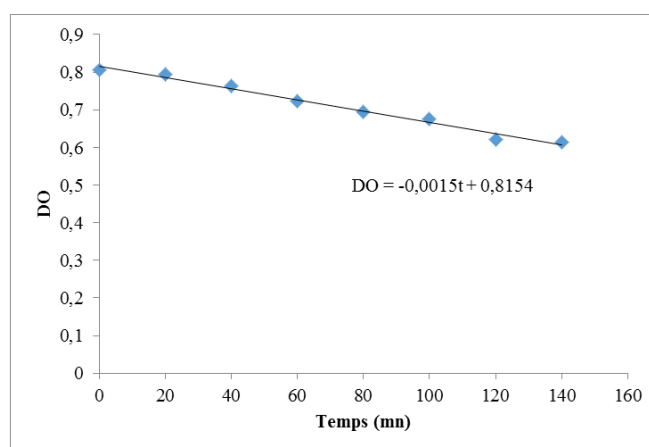


Figure 90 : Densité optique en fonction du temps de contact de EPN/AMX ads. avec la bactérie

On remarque que la DO diminue en fonction du temps de contact de l'EPN/AMX avec la bactérie.

**d. Comparaison du comportement électrochimique et physique de EPN/AMX ads. avant et après le temps de contact avec la bactérie**

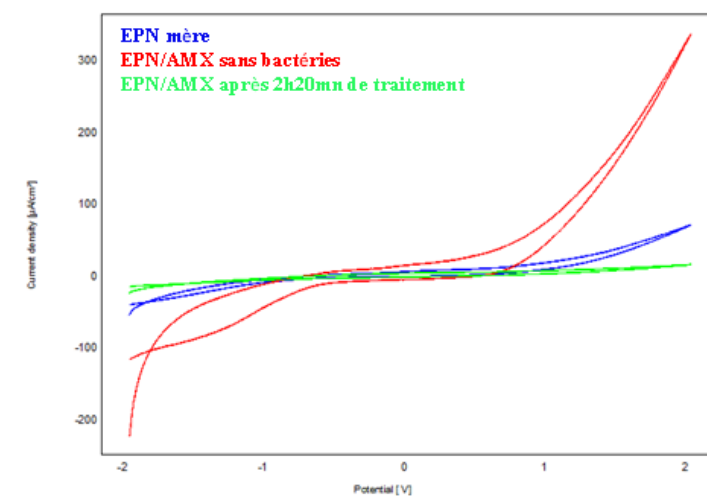


Figure 91 : Superposition des voltammogrammes cycliques de EPN mère, EPN/AMX ads. sans bactéries et EPN/AMX ads. après 2h20mn de contact avec la bactérie, dans NaCl à 0,1 M ;  $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ; pH = 7,42

Après 2 heures 20 minutes de contact avec les bactéries, l'électrode de phosphate naturel modifiée par l'amoxicilline tend vers l'état initial c'est-à-dire vers l'électrode mère. La bactérie après sa lyse semble entraîner les molécules d'amoxicilline avec elle. Ce résultat est confirmé par des photographies issues de l'observation au microscope optique.

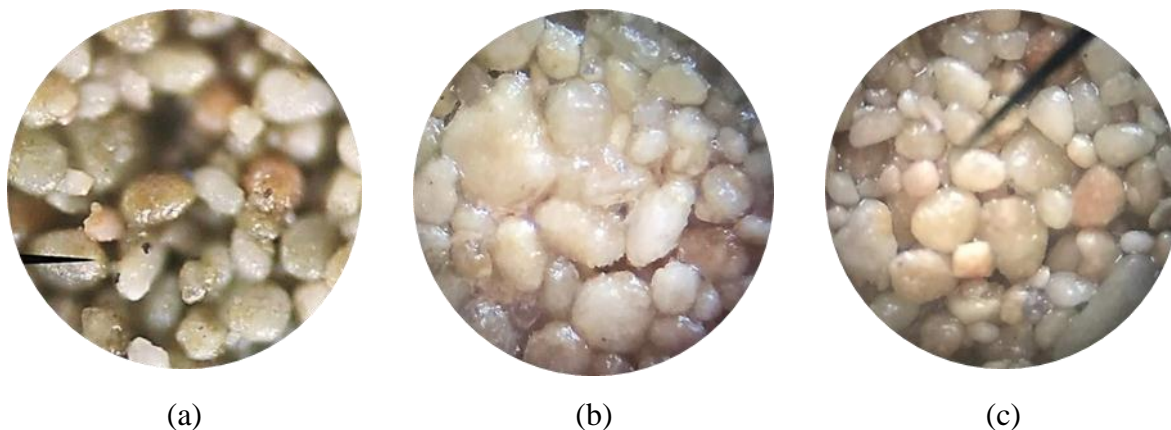


Figure 92 : Electrode de phosphate naturel mère (a), après modification par l'amoxicilline (b) et après 2h20 min de temps de contact avec la bactérie (c)

#### 4. Etude électrochimique de l'effet de la concentration de l'amoxicilline sur les bactéries

Les électrodes de phosphate naturel ont été trempées dans différentes solutions d'amoxicilline pendant 10 min (temps de dépôt optimal) et ensuite, elles ont été caractérisées. Après 30 min de contact avec la bactérie, des prélèvements de l'électrolyte (contenant les bactéries) ont été faits dans le but de mesurer la densité optique de l'échantillon. Les figures ci-dessous illustrent les résultats obtenus.

##### a. Caractérisation par la voltammétrie cyclique

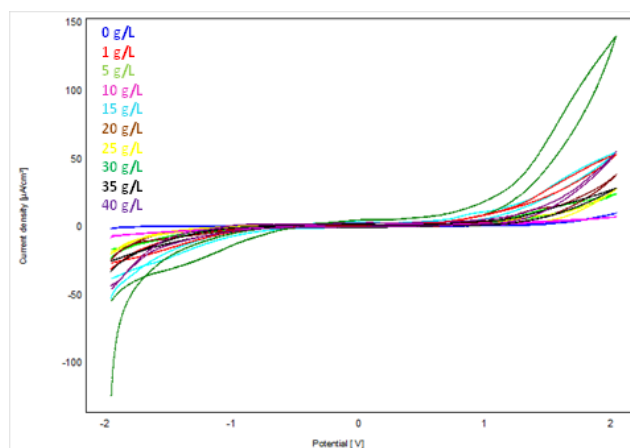


Figure 93 : Superposition des voltammogrammes cycliques de EPN mère, EPN/AMX ads. modifiées à différentes concentrations de l'antibiotique en présence des bactéries dans NaCl à 0,1 M ;  $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ;  $\text{pH} = 7,42$

### b. Densité de courant en fonction de la concentration de l'amoxicilline

Tableau 20 : Densité de courant en fonction de la concentration de l'amoxicilline à la surface de EPN/AMX ads.

[AMX](g/L)	0	1	5	10	15	20	25	30	35	40
di ( $\mu\text{A}/\text{cm}^2$ )	0,1458	0,3965	0,2561	0,0997	0,5156	0,5502	0,272	3,319	0,6331	1,002

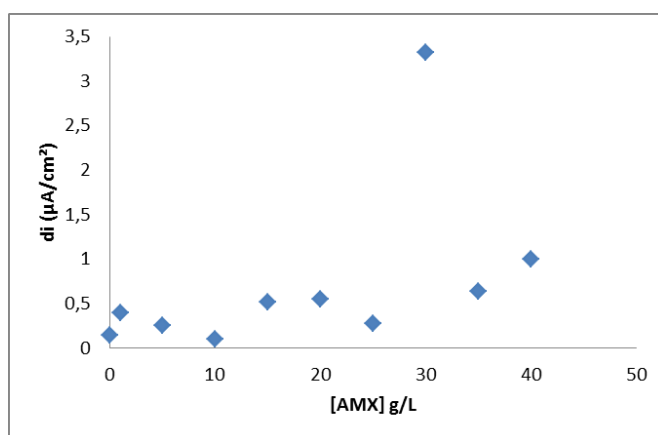


Figure 94 : Densité du courant en fonction du temps de contact de EPN/AMX ads. avec la bactérie

La concentration de 30 g/l donne un excellent résultat au vu de la densité de courant affichée en présence de la bactérie ( $3,319 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ ) donc cette concentration a été adoptée pour la suite de l'expérience.

### c. Caractérisation par la spectroscopie d'impédance électrochimique

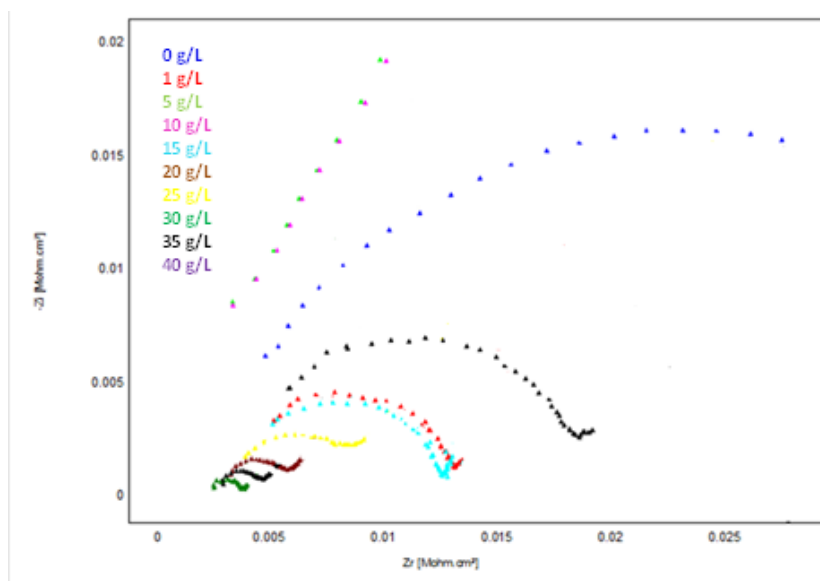


Figure 95 : Superposition des spectres d'impédance électrochimique EPN mère, EPN/AMX ads. modifiées à différentes concentrations de l'antibiotique en présence des bactéries, dans NaCl à 0,1 de 100 mHz à 100 kHz, pH = 7,42



A 30 g/l, on note une bonne électroactivité de l'électrode se traduisant par un faible diamètre de la boucle comparativement aux autres concentrations et aussi l'électrode présente à sa surface une double couche d'une grande capacité (tableau 21).

Tableau 21 : Paramètres des spectres d'impédance électrochimique de EPN/AMX ads. en fonction de [AMX]

	Diamètres (kohm.cm <sup>2</sup> )	C (pF/cm <sup>2</sup> )
<b>EPN</b>	38,86	232,9
<b>EPN/AMX (1g/L)</b>	10,39	308,9
<b>EPN/AMX (5g/L)</b>	16,28	108,1
<b>EPN/AMX (10g/L)</b>	139,7	182,8
<b>EPN/AMX (15g/L)</b>	8,973	355,2
<b>EPN/AMX (20g/L)</b>	2,797	1148
<b>EPN/AMX (25g/L)</b>	7,213	510,8
<b>EPN/AMX (30g/L)</b>	1,241	2284
<b>EPN/AMX (35g/L)</b>	16,06	250
<b>EPN/AMX (40g/L)</b>	1,752	1670

Au regard de ces résultats, la concentration est un paramètre à prendre en considération pour une bonne détection des bactéries. 30 g/l comme concentration semble donner un bon résultat. Afin de mieux apprécier ces résultats, nous avons fait une comparaison de ces électrodes (selon les concentrations) à blanc et avec bactéries. Seule la concentration de 30 g/l a donné un résultat satisfaisant. La bactérie est détectée à un potentiel de  $-0,2417$  V (dans la zone de potentiel allant de  $-1$  à  $0$  V) (figure 96).

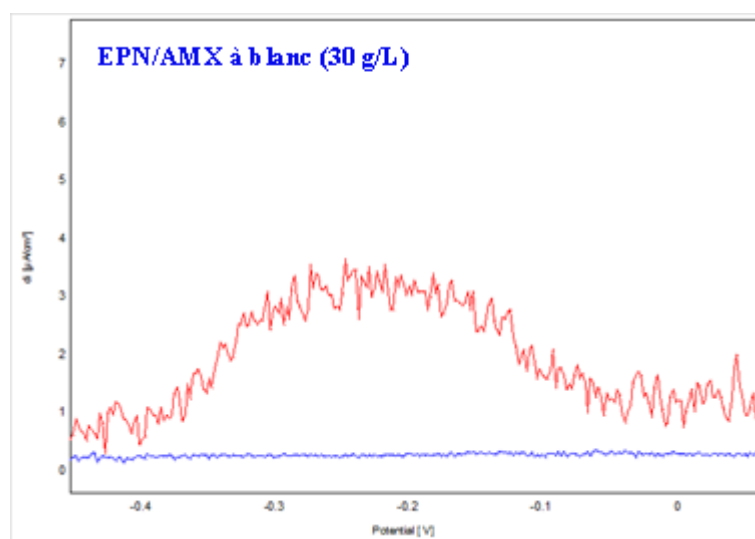


Figure 96 : Superposition des voltammogrammes à ondes carrées de EPN/AMX à blanc et EPN/AMX ads. (30g/L) en présence des bactéries dans NaCl à 0,1 M ;  $v = 200\text{mV/s}$ , de  $-2\text{V}$  à  $2\text{V}$  ;  $\text{pH} = 7,42$

**d. Densité optique en fonction de la concentration de l'amoxicilline à la surface de EPN/AMX ads.**

La variation de la densité optique en fonction de la concentration de l'amoxicilline est donnée dans le tableau 22.

Tableau 22 : Densité optique fonction de la concentration d'amoxicilline à la surface de EPN/AMX ads.

[AMX] (g/l)	0	1	5	10	15	20	25	30	35	40
DO	0,906	0,750	0,688	0,604	0,593	0,473	0,386	0,256	0,239	0,140

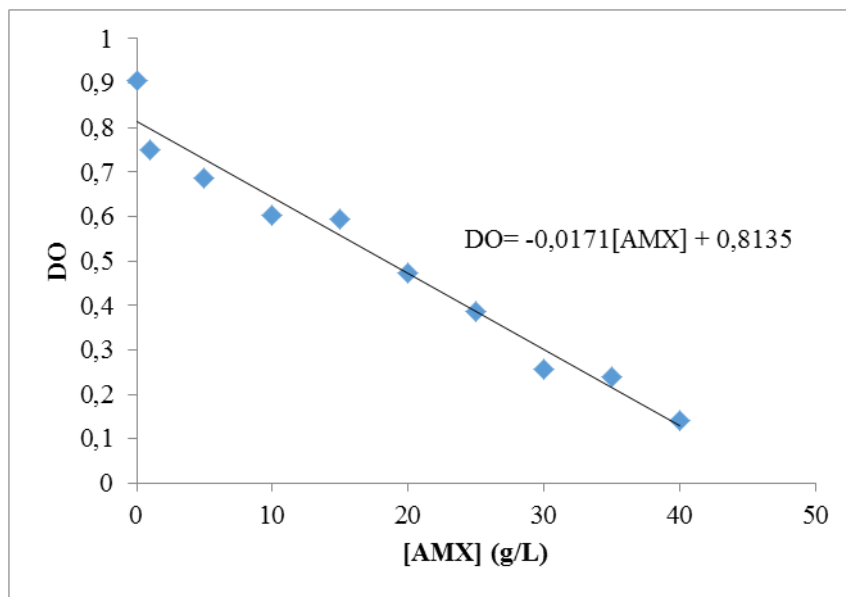


Figure 97 : Densité optique en fonction de la concentration de l'amoxicilline (EPN/AMX ads.)  
On remarque que plus la concentration de l'amoxicilline augmente plus la DO diminue.

**5. Etude de l'effet de la densité optique de la bactérie sur EPN/AMX ads.**

L'électrode de phosphate naturel modifiée par l'amoxicilline à une concentration de 30g/L a été caractérisée en présence de bactéries à différentes densité optique.

### a. Caractérisation par la voltammétrie cyclique

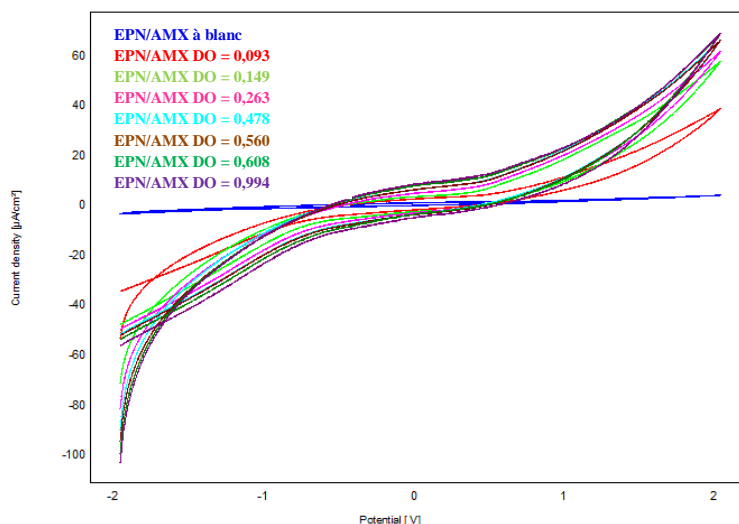


Figure 98 : Superposition des voltammogrammes cycliques de EPN/AMX à blanc et EPN/AMX ads. (30g/L) en présence des bactéries à différentes densités optiques dans NaCl à 0,1 M ;  $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ; pH = 7,42

On enregistre une augmentation de la densité de courant au fur et à mesure que la densité optique augmente. Le pouvoir de détection de l'électrode augmente donc avec l'augmentation de la charge bactériale. Ce comportement électrochimique de l'électrode est confirmé par la voltammétrie à ondes carrées.

### b. Caractérisation par la voltammétrie à ondes carrées

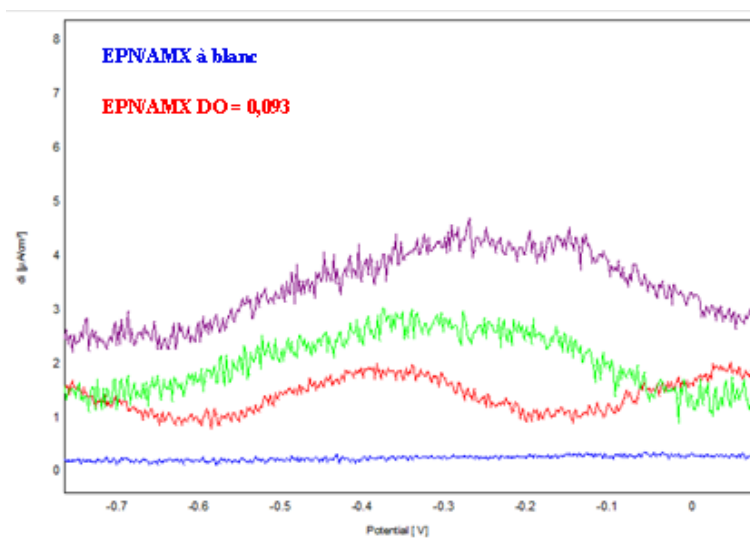


Figure 99 : Superposition des voltammogrammes à ondes carrées de EPN/AMX ads. à blanc et EPN/AMX ads. (30g/L) en présence des bactéries à différentes densités optiques dans NaCl à 0,1 M ;  $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ; pH = 7,42

### c. Densité de courant en fonction de la densité optique

Le tableau 23 présente les variations de la densité de courant en fonction de la densité optique.

Tableau 23 : Densité de courant en fonction de la densité optique (EPN/AMX ads.)

<b>DO</b>	0	0,093	0,149	0,263	0,478	0,560	0,608	0,994
<b>di (<math>\mu\text{A}/\text{cm}^2</math>)</b>	0,2256	1,901	2,83	3,148	3,581	3,782	4,146	4,398

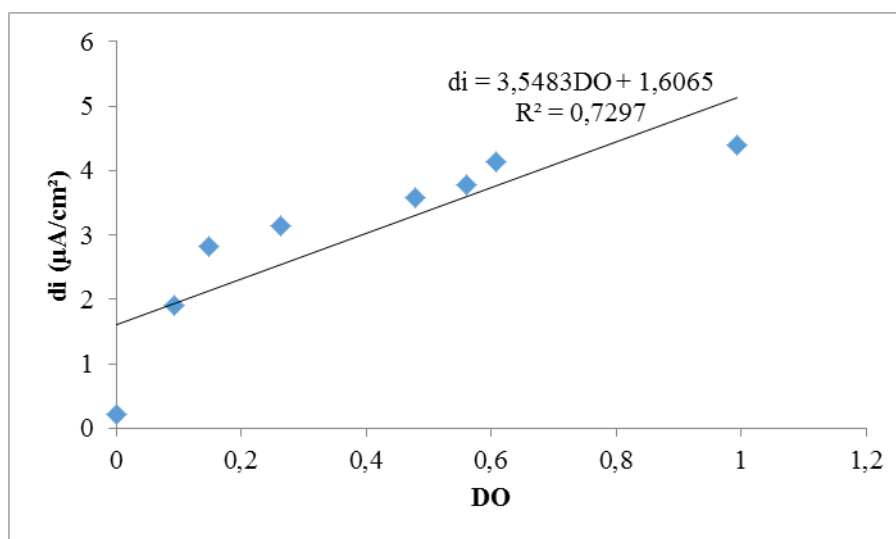


Figure 100 : Densité de courant en fonction de la densité optique (EPN/AMX ads.)

### 6. Détermination de la limite de détection de EPN/AMX ads.

Pour l'électrode de phosphate naturel modifiée avec l'amoxicilline par adsorption, la limite de détection est de  $4,9 \cdot 10^{-7}$  et la limite de quantification est de  $1,635 \cdot 10^{-6}$ .

### 7. Détermination de la durée de la détection des bactéries par EPN/AMX ads.

Pour cette étude, l'électrode a été caractérisée par la voltammétrie cyclique à 50 cycles d'une durée de 1 h 06 mn en présence de la bactérie.

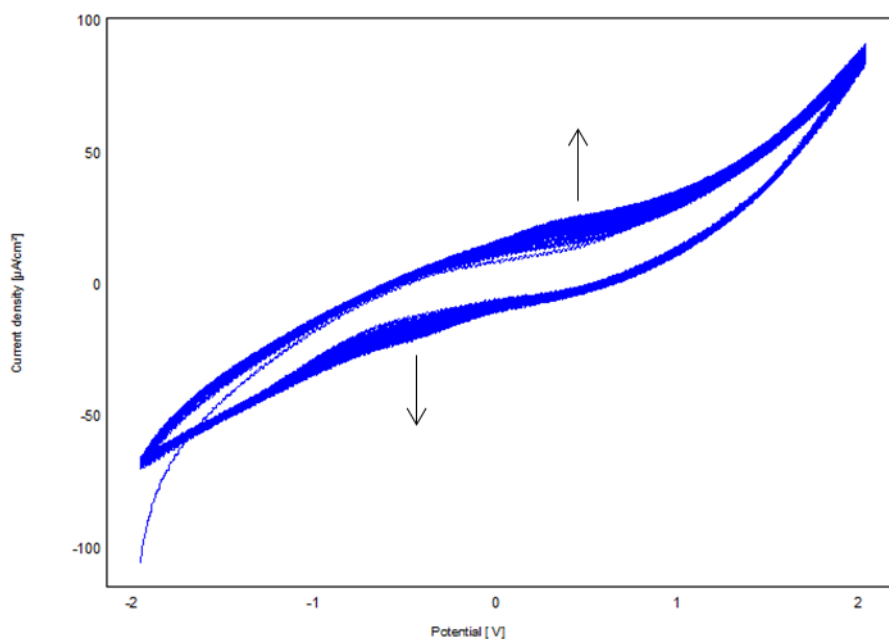


Figure 101 : Voltammogrammes cycliques de EPN/AMX ads. en présence des bactéries pendant 50 cycles dans NaCl à 0,1 M ;  $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ; pH = 7,42

Après 50 cycles, l'électrode enregistre une augmentation de la densité de courant. Elle continue de détecter la bactérie. Une comparaison des voltammogrammes de EPN/AMX ads. à blanc et EPN/AMX ads. en présence des bactéries après les 50 cycles illustre bien cette croissance de cette électroactivité.

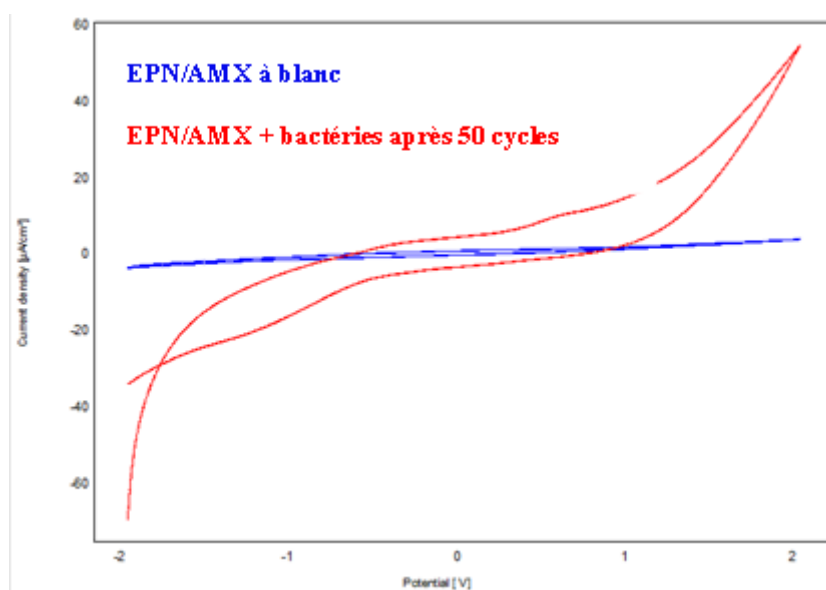


Figure 102 : Comparaison des voltammogrammes cycliques de EPN/AMX ads. à blanc et en présence des bactéries après 50 cycles dans NaCl à 0,1 M ;  $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ; pH = 7,42

## 8. Etude de l'effet du pH

Nous avons caractérisée EPN/AMX ads à différents pH (4,22 ; 7,42 et 8,68).

Nous avons travaillé avec une électrode de phosphate naturel ayant les paramètres suivants :

- Temps de dépôt de l'amoxicilline sur l'électrode : 10 min
- Concentration de l'amoxicilline : 30 g/l

L'électrode a montré une bonne électroactivité en présence des bactéries dans les milieux acide, neutre et basique. Nous avons donc comparé les dits voltammogrammes afin d'identifier le milieu qui lui est le plus favorable. Les résultats sont illustrés par la figure 103.

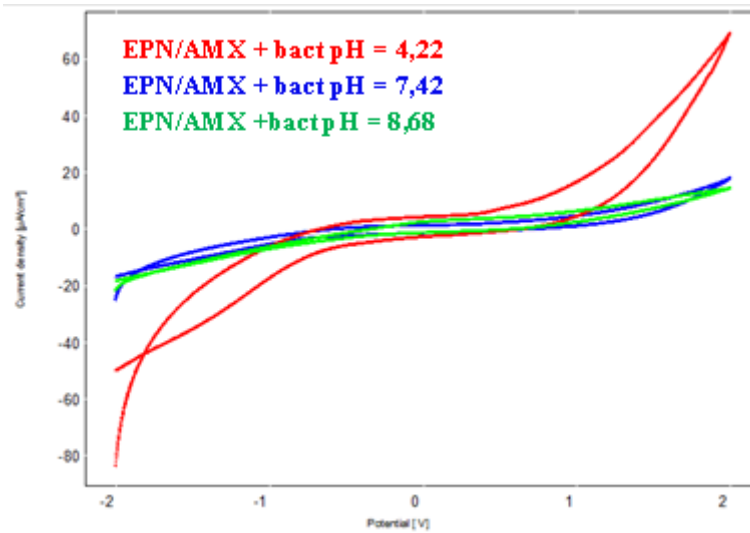


Figure 103 : Superposition des voltammogrammes cycliques de EPN/AMX ads. à différents pH en présence des bactéries dans NaCl à 0,1 M ;  $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V

Au regard de ces résultats, nous pouvons dire que notre électrode présente une meilleure électroactivité en milieu acide ; pH = 4,22.

## 9. Reproductibilité des résultats de EPN/AMX ads.

L'expérience a été réalisée avec différentes électrodes modifiées destinées à la détection des *staphylocoques aureus*. La réponse du signal a été toujours caractérisée par une augmentation de la densité de courant.

## II. ELECTRODE DE PHOSPHATE NATUREL MODIFIÉE AVEC L'AMOXCILLINE PAR MÉLANGE

### 1. Caractérisation physique et électrochimique de l'électrode de phosphate naturel avant et après modification par l'amoxicilline

L'électrode a été obtenue en mélangeant la poudre d'amoxicilline et celle de phosphate naturel à une teneur massique de 50% chacune.

#### a. Caractérisation physique de l'électrode obtenue

L'électrode modifiée après observation au microscope optique donne les résultats présentés à la figure 104.



Figure 104 : Electrode de pâte phosphate naturel avant modification (a) et après modification par l'amoxicilline : 50 % poudre de carbone + 50% poudre d'amoxicilline (b)

#### b. Caractérisation électrochimique

L'EPN/AMX mélange a été caractérisée à blanc et ensuite une comparaison a été faite avec le voltammogramme cyclique de l'électrode de phosphate naturel mère.

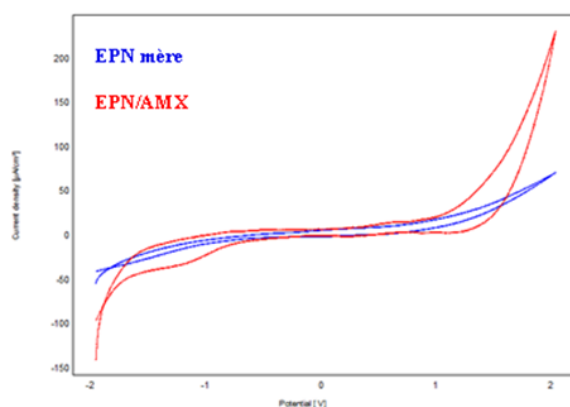


Figure 105 : Superposition des voltammogrammes cycliques de EPN mère et EPN/AMX mél. à blanc dans NaCl à 0,1 M ;  $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ;  $\text{pH} = 7,42$

La comparaison des voltammogrammes montre que l'électrode de pâte de phosphate naturel a été bien modifiée. Cette modification se caractérise par une augmentation de l'électroactivité de l'électrode due à la présence d'un film formé par l'amoxicilline à sa surface.

## 2. Caractérisation électrochimique de EPN/AMX mél. en fonction du temps de contact avec la bactérie

L'électrode a été caractérisée à des intervalles de 20 mn. A ces mêmes intervalles, des prélèvements de l'électrolyte contenant les bactéries ont été faits dans le but de mesurer la densité optique de l'échantillon. Les figures ci-dessous montrent les résultats obtenus.

### a. Caractérisation par la voltammétrie cyclique

On a noté une augmentation de la densité de courant au fur et à mesure que le temps de contact avec la bactérie augmente ( figure 106).

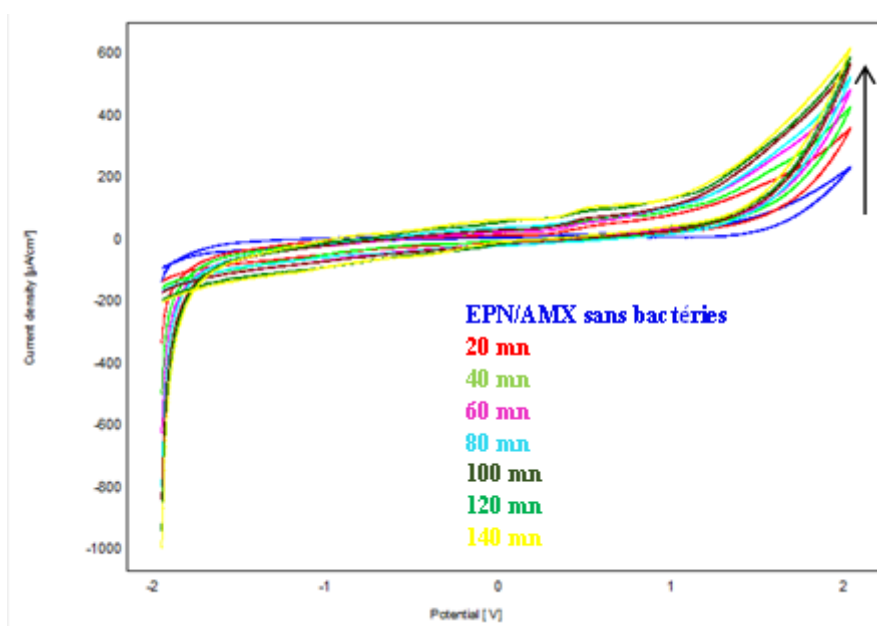


Figure 106: Superposition des voltammogrammes cycliques de EPN/AMX mél. à blanc et EPN/AMX mél. à différents temps de contact avec les staphylocoques dans NaCl à 0,1 M ;  $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ;  $\text{pH} = 7,42$



- **Densité de courant de l'EPN/AMX mélange en fonction du temps de contact avec les *staphylocoques aureus***

L'électrode constituée du mélange de l'amoxicilline avec la pâte de phosphate naturel à différents temps de contact avec la bactérie montre une meilleure électroactivité par rapport à celle sans bactéries. Ce qui est illustré sur la figure 107.

Tableau 24 : Densité de courant de l'EPN/AMX mél. en fonction du temps de contact avec la bactérie

<b>Temps (mn)</b>	<b>0</b>	<b>20</b>	<b>40</b>	<b>60</b>	<b>80</b>	<b>100</b>	<b>120</b>	<b>140</b>
<b>di (<math>\mu\text{A}/\text{cm}^2</math>)</b>	9,938	14,41	18,99	21,77	26,25	26,89	30,39	20,57

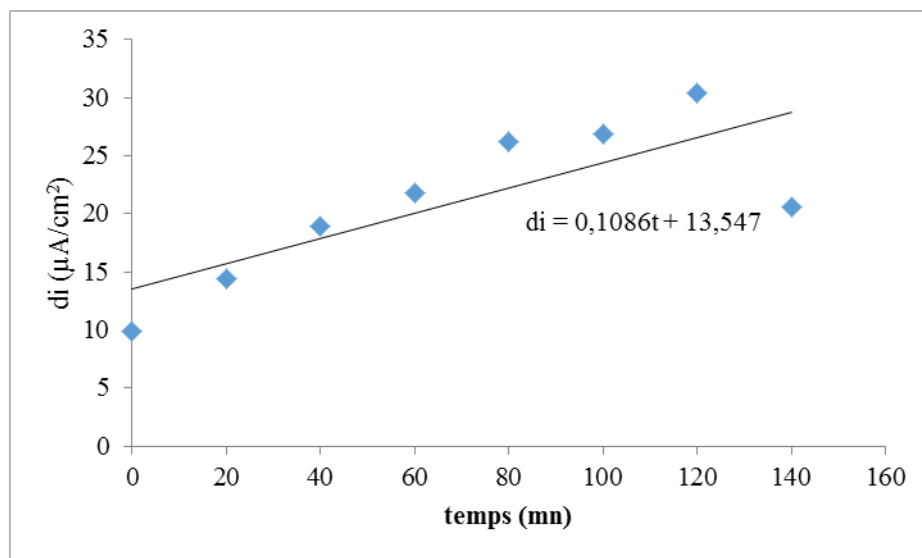


Figure 107 : Densité de courant en fonction du temps de contact avec la bactérie (EPN/AMX mél.)

**b. Courbes de polarisation de EPN/AMX mél. à blanc et EPN/AMX mél. en présence des bactéries**

Les paramètres électrochimiques déduits des courbes de polarisation des électrodes EPN/AMX mél. à blanc et EPN/AMX mél. en présence des bactéries sont présentés dans le tableau 25.

Tableau 25 : Paramètres électrochimiques des courbes de polarisation des électrodes EPN/AMX mél. à blanc et EPN/AMX mél. en présence des bactéries

	EPN/AMX blanc	EPN/AMX en présence des bactéries						
		20mn	40mn	60mn	80mn	100mn	120mn	140mn
<b>E (i = 0) mV</b>	-776,2	-1045,6	-921,2	-737,5	-633,4	-990,2	-1163,5	-966,9
<b>R<sub>p</sub> (kohm.cm<sup>2</sup>)</b>	80,05	23,13	13,17	21,11	24,07	19,29	11,26	17,06
<b>I<sub>p</sub> (μA.cm<sup>2</sup>)</b>	0,6031	2,3013	5,6621	3,2801	1,4056	2,8131	2,6509	2,6199
<b>Ba (mV)</b>	347,8	431,6	665,8	578,9	219,3	357,3	171,5	261,9
<b>Bc (mV)</b>	-265,3	-250,1	-567,1	-403,8	-208,1	-325,6	-200,9	-282,3

▪ **Résistance de polarisation en fonction du temps de contact avec la bactérie**

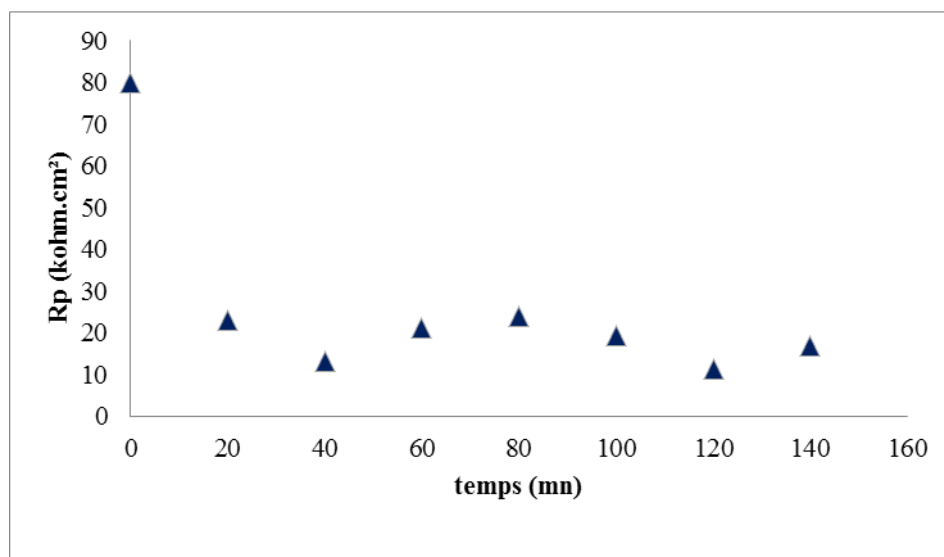


Figure 108 : Résistance de polarisation en fonction du temps de contact de EPN/AMX mél. avec la bactérie

En présence des bactéries l'électrode affiche une baisse de la résistance de polarisation traduisant une meilleure électroactivité de celle-ci, donc une augmentation du courant de polarisation marquée par une alternance qui pourrait s'expliquer par l'occupation et la libération des sites actifs de l'amoxicilline par la bactérie.

c. **Densité optique en fonction du temps de contact de EPN/AMX mél. avec la bactérie**

Tableau 26 : Densité optique en fonction du temps de contact de EPN/AMX mél.avec la bactérie

Temps (min)	0	20	40	60	80	100	120	140
DO	0,805	0,711	0,658	0,579	0,545	0,501	0,477	0,439

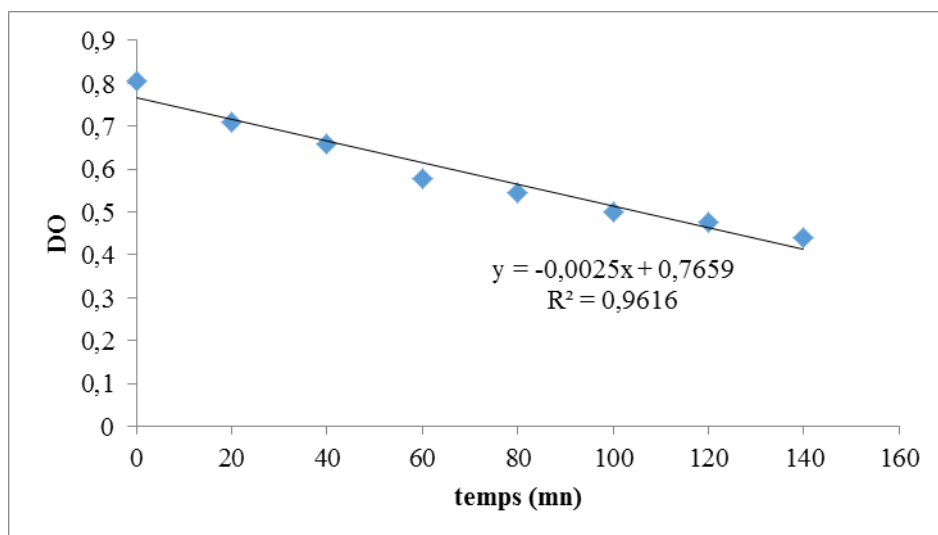


Figure 109 : Densité optique en fonction du temps de contact avec la bactérie (EPN/AMX mél)

La densité optique diminue en fonction du temps de contact de l'EPN/AMX mélange avec la bactérie.

### 3. Etude de l'effet de la densité optique sur EPN/AMX mél.

L'électrode de phosphate naturel modifiée par l'amoxicilline par mélange a été caractérisée en présence de bactéries à différentes densité optique.

#### a. Caractérisation par la voltammétrie cyclique

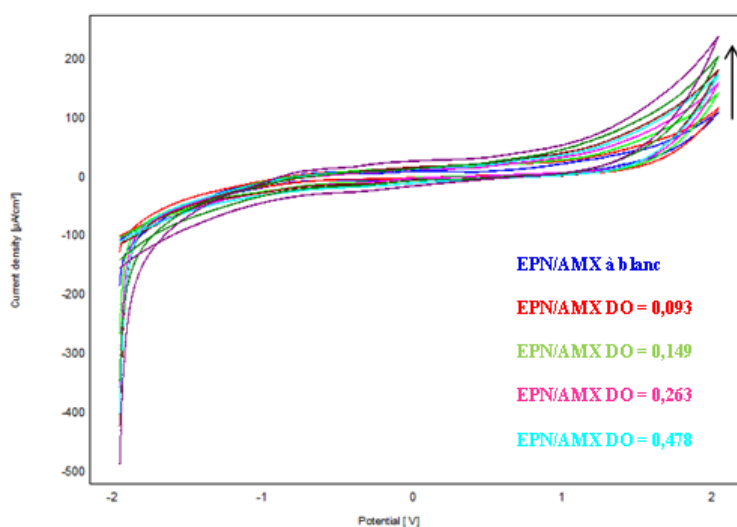


Figure 110 : Superposition des voltammogrammes cycliques de EPN/AMX mél. à blanc et EPN/AMX mél. en présence des bactéries à différentes densités optiques dans NaCl à 0,1 M ;  $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ;  $\text{pH} = 7,42$

On enregistre une augmentation de la densité de courant au fur et à mesure que la densité optique augmente. Ce comportement électrochimique de l'électrode est confirmé par la voltammétrie à ondes carrées.

### 3.1.Caractérisation par la voltammétrie à ondes carrées

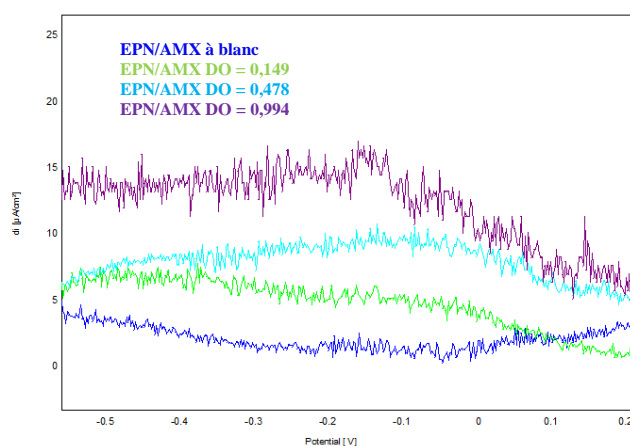


Figure 111 : Superposition des voltammogrammes à ondes carrées de EPN/AMX mél. à blanc et EPN/AMX mél. (30g/L) en présence des bactéries à différentes densités optiques dans NaCl à 0,1 M ;  $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ;  $\text{pH} = 7,42$

#### ▪ Densité de courant en fonction de la densité optique

Tableau 27 : Densité de courant en fonction de la densité optique (EPN/AMX mél.)

<b>DO</b>	0	0,093	0,149	0,263	0,478	0,560	0,608	0,994
<b>di (<math>\mu\text{A}/\text{cm}^2</math>)</b>	2,457	6,523	7,139	9,216	9,637	10,92	11,28	16,11

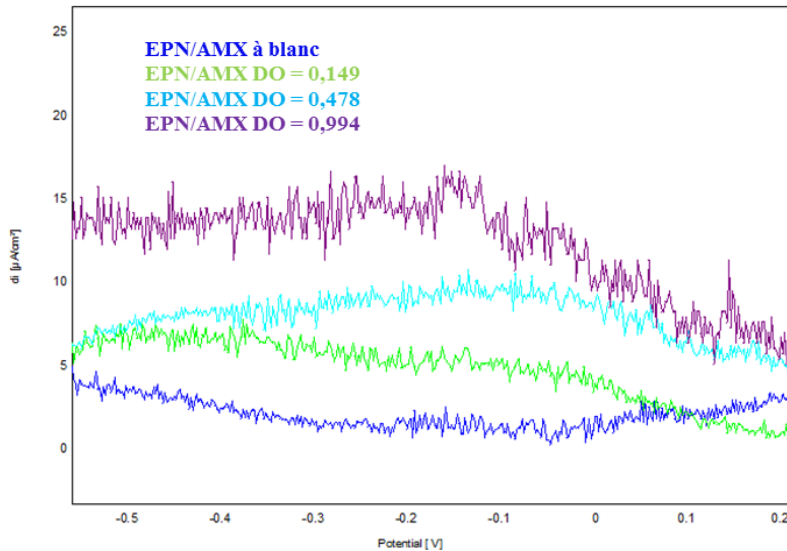


Figure 112 : Densité de courant en fonction de la densité optique (EPN/AMX mél.)

#### 4. Détermination de la limite de détection de EPN/AMX mél.

Pour l'électrode de phosphate naturel modifiée par l'amoxicilline (mélange), la limite de détection est de  $3,80 \cdot 10^{-7}$  et la limite de quantification est de  $1,26 \cdot 10^{-6}$ .

#### 5. Détermination de la durée de la détection des bactéries par EPN/AMX mél.

Pour cette étude, l'électrode a été caractérisée par la voltammétrie cyclique à 50 cycles d'une durée de 1 h 06 min en présence de la bactérie.

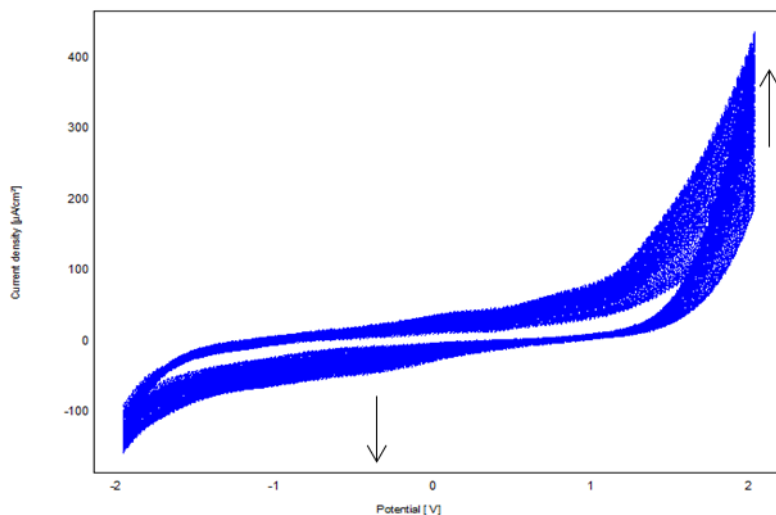


Figure 113 : voltammogrammes cycliques de EPN/AMX mél. en présence des bactéries pendant 50 cycles dans NaCl à 0,1 M ;  $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ; pH = 7,42

Après 50 cycles, l'électrode enregistre une augmentation de la densité de courant tout en gardant la même allure. Elle continue de détecter la bactérie. Une comparaison des

voltammogrammes de EPN/AMX mél. à blanc et EPN/AMX mél. en présence des bactéries après les 50 cycles illustre bien cette croissance de cette électroactivité.

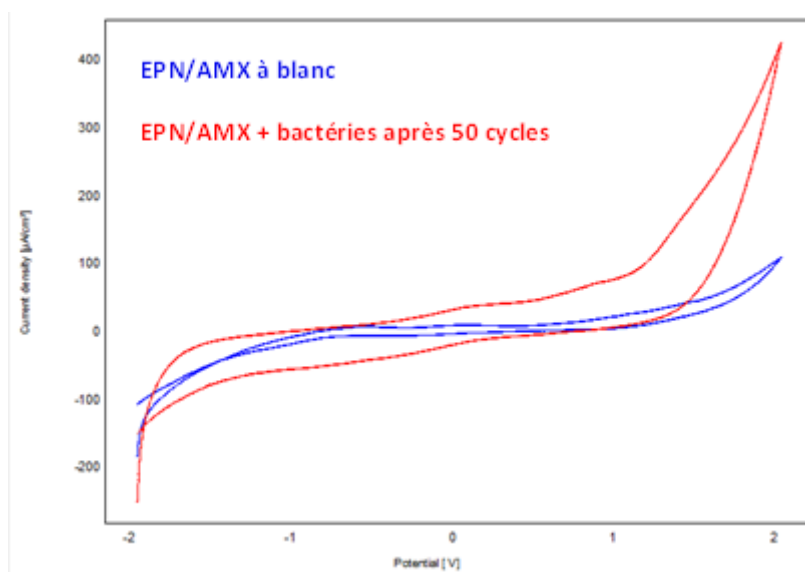


Figure 114 : Comparaison des voltammogrammes cycliques de EPN/AMX mél. à blanc et en présence des bactéries après 50 cycles dans NaCl à 0,1 M ;  $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ; pH = 7,42

## 6. Etude de l'effet du pH sur EPN/AMX mél.

Comme l'électrode de phosphate naturel modifiée par l'amoxicilline par adsorption, nous avons fait varier le pH et étudié ensuite le comportement électrochimique de celle-ci. Elle a aussi montré une bonne électroactivité dans les différents milieux. On a noté cependant une amélioration de l'électroactivité de l'électrode en milieu acide.

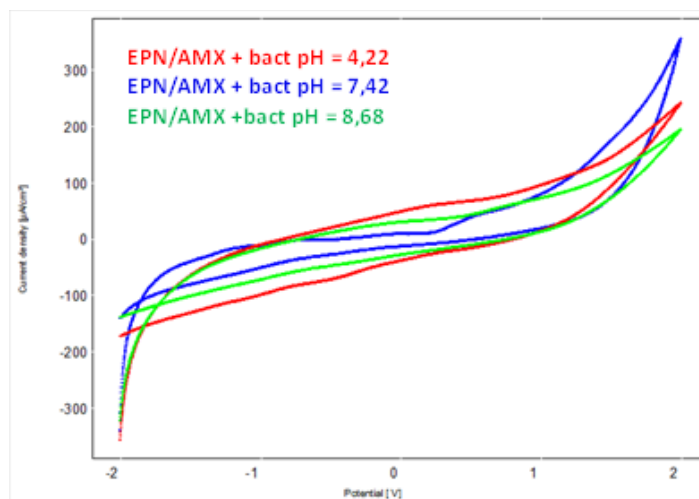


Figure 115: Superposition des voltammogrammes cycliques de EPN/AMX mél. à différents pH en présence des bactéries dans NaCl à 0,1 M ;  $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V

## 7. La reproductibilité des résultats de EPN/AMX mél.

L'expérience a été réalisée avec différentes électrodes modifiées destinées à la détection des *staphylocoques aureus*. La réponse du signal a été toujours la même caractérisée par une augmentation de la densité de courant.

### III. ETUDE COMPARATIVE DE EPN/AMX ADS. ET EPN/AMX MÉL.

#### 1. Comparaison de l'électroactivité des électrodes en fonction du pH

Les résultats des voltammogrammes cycliques obtenus aux différents pH ont été comparés.

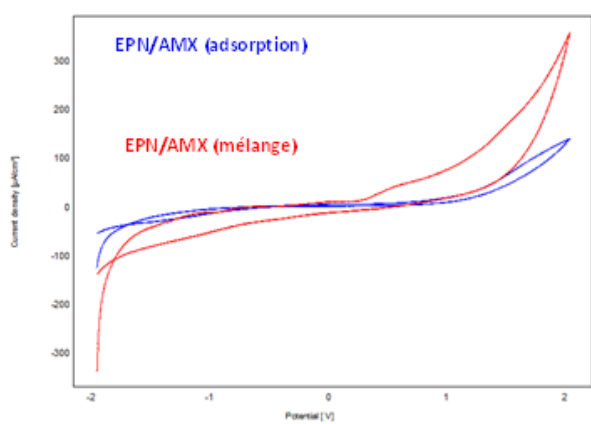


Figure 116 : Superposition des voltammogrammes à ondes carrées de EPN/AMX ads. et EPN/AMX mél. à un pH de 7,42 en présence des bactéries dans NaCl à 0,1 M ;  $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V

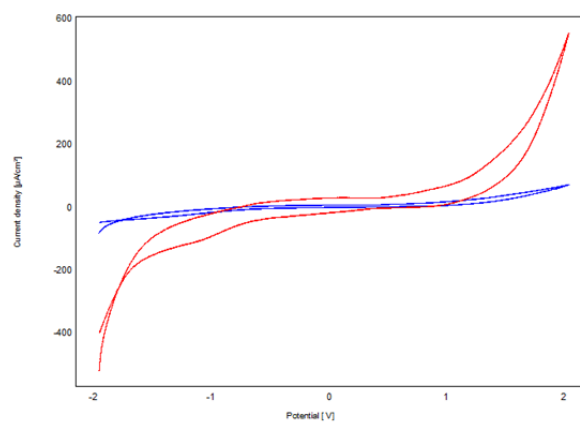


Figure 117 : Superposition des voltammogrammes cycliques de EPN/AMX ads. et EPN/AMX mél. à un pH de 4,22 en présence des bactéries dans NaCl à 0,1 M ;  $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V

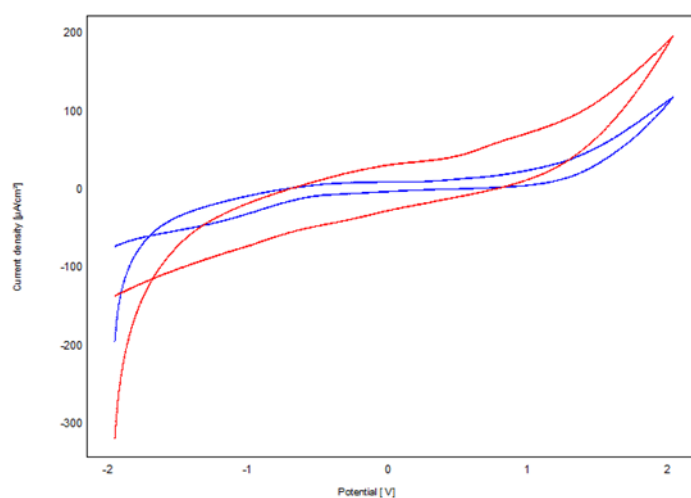


Figure 118 : Superposition des voltammogrammes cycliques de EPN/AMX ads. et EPN/AMX mél. à un pH de 8,68 en présence des bactéries dans NaCl à 0,1 M ;  $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V

L'électrode de phosphate naturel modifiée par l'amoxicilline par mélange affiche une meilleure électroactivité que celle obtenue par adsorption en milieu neutre, acide et basique.

## 2. Comparaison des limites de détection et de quantification des électrodes

Le tableau ci-dessous présente les limites de détection et de quantification des électrodes de phosphate naturel modifiées avec l'amoxicilline par adsorption et par mélange.

Tableau 28 : Comparaison des limites de détection et de quantification de EPN/AMX ads. et EPN/AMX mél.

	EPN/AMX (adsorption)	EPN/AMX (mélange)
Limite de détection	$4,9.10^{-7}$	$3,80.10^{-7}$
Limite de quantification	$1,635.10^{-6}$	$1,267.10^{-6}$

L'électrode modifiée par mélange présente une meilleure limite de détection et de quantification par rapport à celle obtenue par adsorption.

## 3. Comparaison de la durée de détection des électrodes

Après 50 cycles en présence des bactéries, les deux électrodes augmentent en électroactivité tout en gardant la même allure. Elles continuent donc d'être opérationnelles.

## 4. Comparaison des données de la densité optique de l'EPN/AMX par adsorption et l'EPN/AMX par mélange

Tableau 29 : Comparaison des données de la densité optique de l'EPN/AMX ads. et l'EPN/AMX mél.

Temps (min)	0	20	40	60	80	100	120	140
DO (par adsorption)	0,805	0,794	0,763	0,724	0,694	0,676	0,621	0,613
DO (par mélange)	0,805	0,711	0,658	0,579	0,545	0,501	0,477	0,439



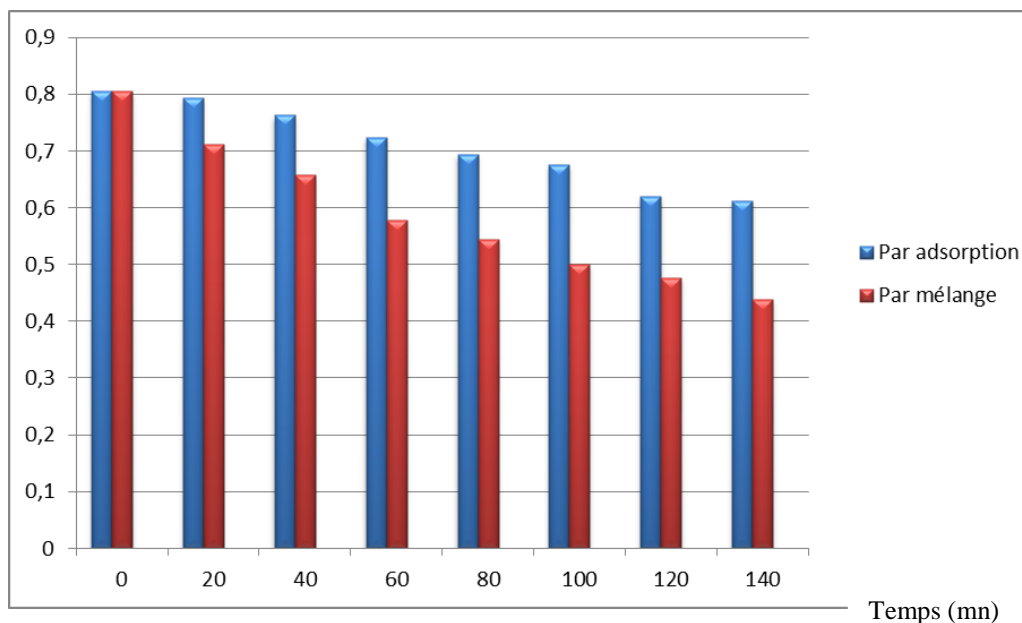


Figure 119 : Comparaison des données de la densité optique de EPN/AMX *aus.* et EPN/AMX mél.

La baisse de la densité optique de l'électrode obtenue par mélange est plus significative que celle obtenue par adsorption. Cela est sûrement dû à la forte teneur d'amoxicilline à la surface de l'électrode. Elle se justifie aussi par la forte électroactivité de celle-ci par rapport à l'électrode obtenue par adsorption.

### Conclusion

L'étude de l'interaction entre l'électrode de phosphate naturel, l'amoxicilline et les *staphylocoques aureus* dans le but d'élaborer un capteur électrochimique a donné des résultats satisfaisants. En effet l'électrode modifiée avec l'amoxicilline par adsorption à une concentration de 30 g/l est un bon capteur pour la détection des *staphylocoques aureus*. Celle obtenue aussi par mélange montre les mêmes caractéristiques et l'étude comparative menée lui confère de meilleures performances.



# **CHAPITRE VI : Electrode de de pate d'argile, l'amoxicilline et les bactéries: Résultats et discussions**

## Introduction

Comme dans les chapitres précédents les résultats des manipulations relatives à l'électrode d'argile modifiée par l'amoxicilline seront présentés en premier lieu. En second lieu des interprétations seront données et une discussion sera menée autour de ces résultats.

Ces résultats et discussions seront présentés en fonction des différentes électrodes de travail. Ainsi, notre présentation s'articulera autour des points suivants :

- Interaction entre l'électrode de pâte d'argile mère et les bactéries ;
- Interaction entre l'électrode de pâte d'argile obtenue par adsorption, l'amoxicilline et les bactéries ;
- Interaction entre l'électrode de pâte d'argile obtenue par mélange, l'amoxicilline et les bactéries.

## I. ELECTRODE DE PÂTE D'ARGILE MODIFIÉE AVEC L'AMOXCILLINE PAR ADS

### 1. Caractérisation physico-chimique de la poudre d'argile

La morphologie de l'argile a été examinée en utilisant le microscope électronique à balayage (MEB). La figure 120 montre le cliché obtenu par MEB d'un échantillon d'argile, dans lequel il est observé comme une matière dense sous forme de feuillets. L'argile présente une structure caractéristique avec une largeur entre 0,5-4,5  $\mu\text{m}$  et une épaisseur entre 0,05-0,5  $\mu\text{m}$ .

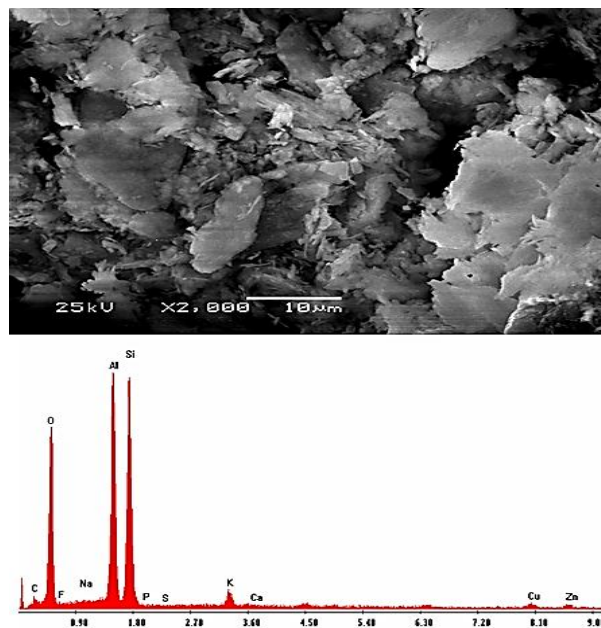


Figure 120 : Micrographie électronique de l'argile

L'argile est souvent cristallisée dans le système hexagonal de telle façon que le plan (001) soit parallèle à la surface de particule de l'argile<sup>137</sup>. L'identification de ce solide par analyse radio cristallographique fournit un système de raies caractéristique de particules de l'argile (figure 121).

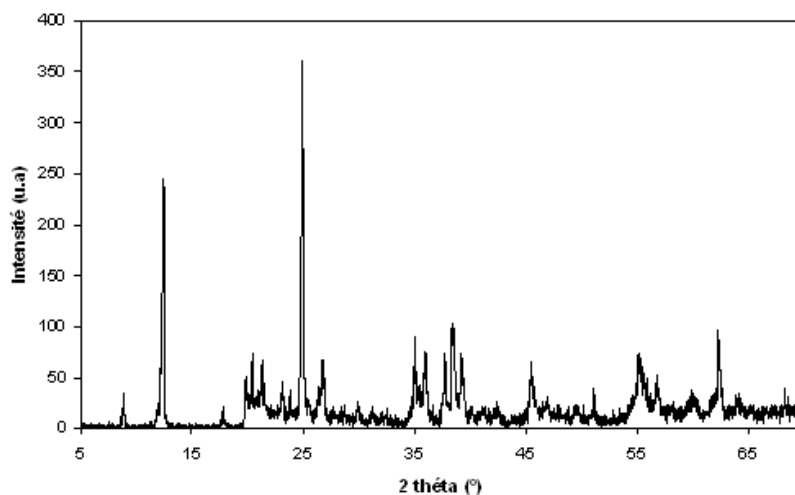


Figure 121 : Spectre de diffraction des rayons X de l'argile

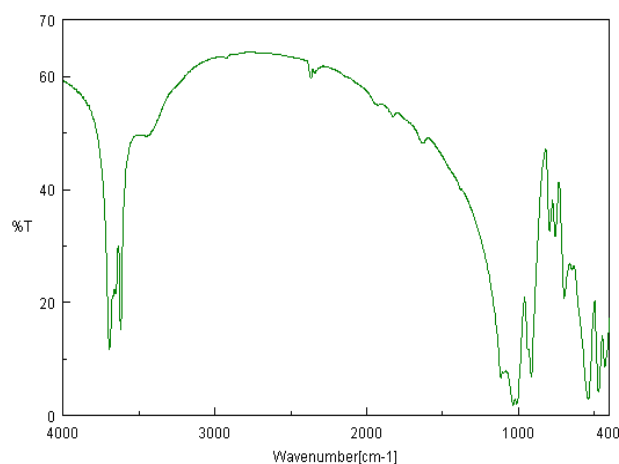


Figure 122: Spectre infrarouge de l'argile

La figure 122 montre le spectre d'infrarouge pris pour des particules de l'argile. On constate la présence de bandes caractéristiques de l'argile en particulier les groupements SiO<sub>4</sub> et Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>.

<sup>137</sup> D. Kraske, Tappi, 43 (1960) 73

## 2. Caractérisation physique et électrochimique de l'électrode de pâte d'argile avant et après modification par l'amoxicilline

### a. Caractérisation électrochimique

#### ▪ Effet de la vitesse de balayage

L'électrode de pâte d'argile a été caractérisée par la voltammétrie cyclique à différentes vitesses de balayage (20, 30, 50, 100 mV/s) afin de juger de sa stabilité (figure 123).

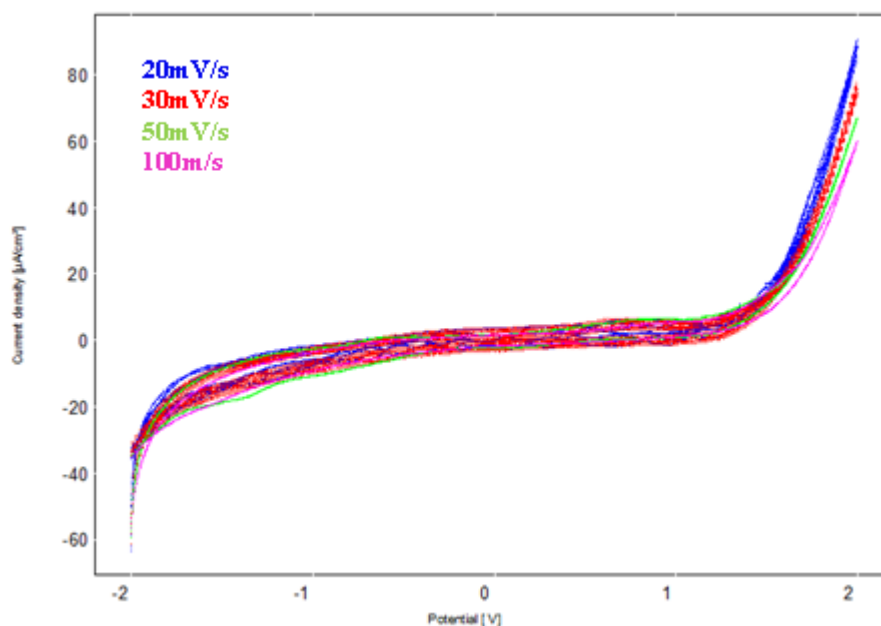


Figure 123 : Superposition des voltammogrammes cycliques de l'EPArg à différentes vitesses de balayage, dans NaCl à 0,1 M ;  $v = 20, 30, 50$  et  $100\text{mV/s}$ , de  $-2\text{V}$  à  $2\text{V}$ ,  $\text{pH} = 7,42$

Nous constatons que la forme des courbes voltammétriques est insensible aux facteurs physiques susceptibles de modifier la vitesse de la réaction électrochimique. Cela démontre donc de sa stabilité. De ce fait nous avons choisi de travailler avec des vitesses relativement élevées ( $100\text{mV/s}$ ).

#### ▪ Choix du temps de dépôt

L'électrode a été trempée à différents temps dans une solution d'antibiotique à une concentration de  $10\text{g/l}$  : 10 et 20 min.

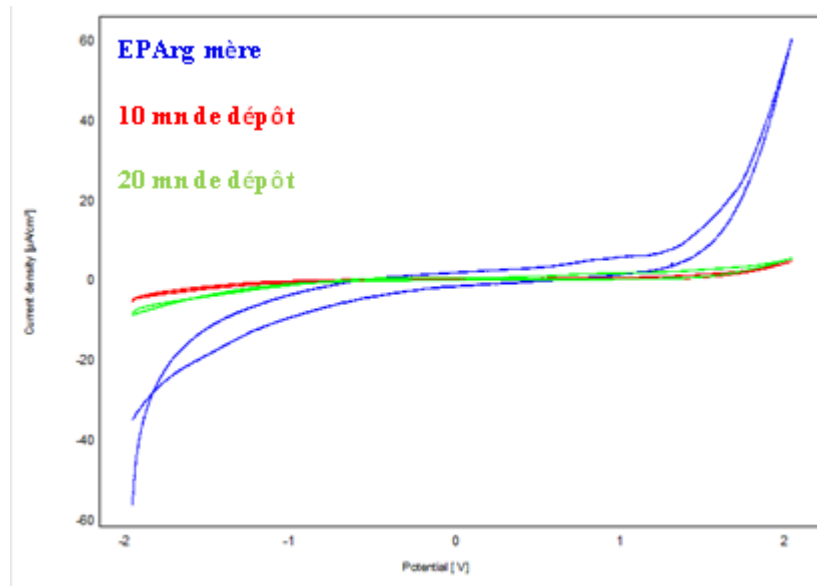


Figure 124 : Superposition des voltammogrammes cycliques de l'EPArg non modifiée et EPArg modifiée par l'amoxicilline aux différents temps de dépôt, dans NaCl à 0,1 M ;  $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V,  $\text{pH} = 7,42$

- A 10 min de trempage de l'électrode de pâte d'argile dans la solution d'amoxicilline, le voltammogramme présente une baisse considérable de la densité de courant : Il y a formation d'un film d'amoxicilline à la surface de l'électrode.

On peut donc déduire qu'à 10 min, la couche est à son dépôt optimal.

Ce résultat est confirmé par la voltammétrie à ondes carrées (figure 125)

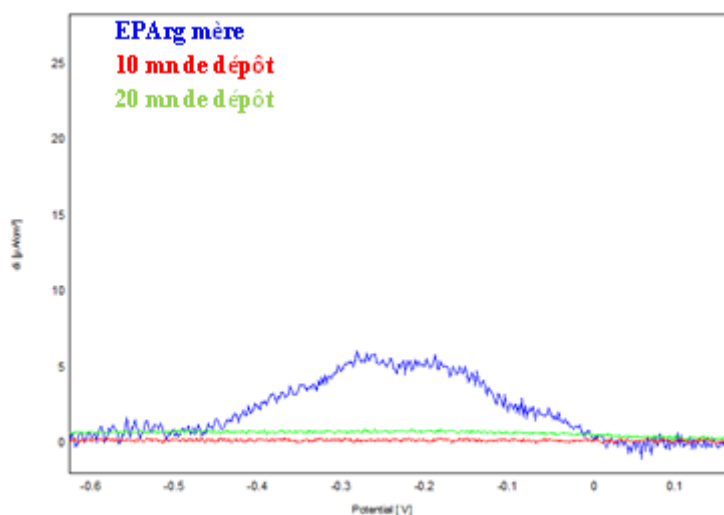


Figure 125 : Superposition des voltammogrammes à ondes carrées de l'EPArg non modifiée et EPArg modifiée par l'amoxicilline aux différents temps de dépôt, dans NaCl à 0,1 de -2V à 2V  $v = 20\text{mV/s}$ ,  $\text{pH} = 7,42$

### b. Caractérisation physique

La surface de l'électrode de pâte d'argile avant et après modification par l'amoxicilline à 10 min de temps de dépôt a été observée au microscope optique. On aperçoit la formation d'une couche d'amoxicilline.

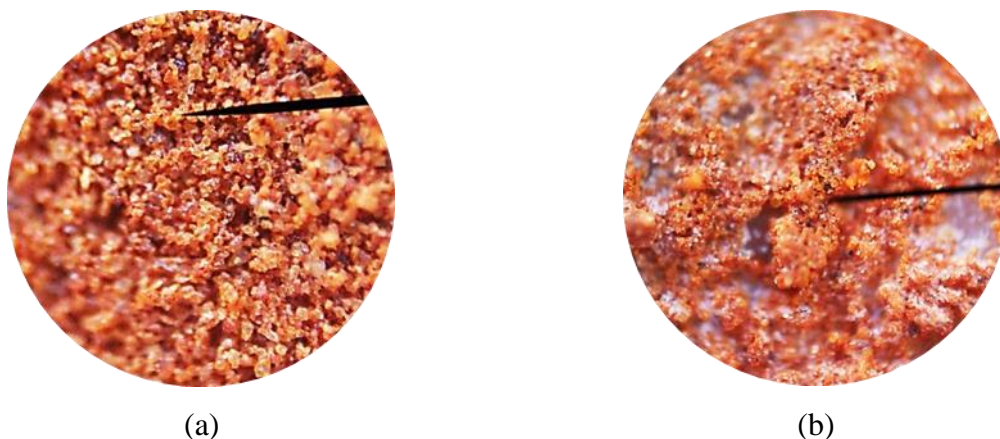


Figure 126 : Electrode de pâte d'argile avant modification (a) et après modification par l'amoxicilline, 10 mn de temps de dépôt (b)

### 3. Etude électrochimique de EPArg/AMX ads. en fonction du temps de contact avec la bactérie

L'électrode modifiée a été modifiée à 20 min d'intervalle. A ces mêmes intervalles, des prélèvements de l'électrolyte contenant les bactéries ont été faits dans le but de mesurer la densité optique de l'échantillon. Les figures ci-dessous montrent les résultats obtenus.

#### a. Caractérisation par la voltammétrie cyclique

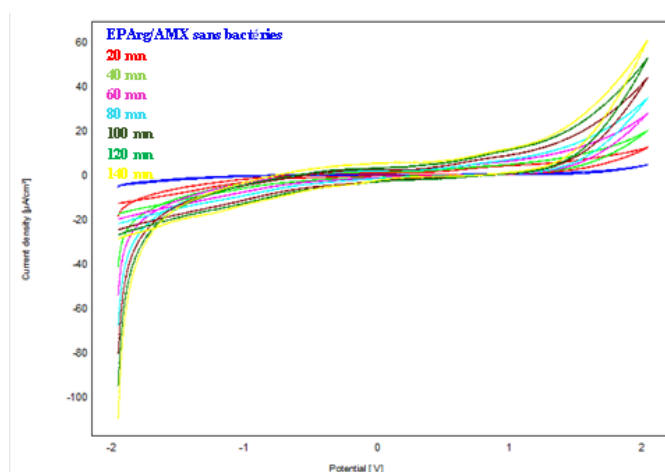


Figure 127 : Superposition des voltammogrammes cycliques de EPArg/AMX ads. sans bactéries (a) et EPArg/AMX ads. en fonction du temps de contact avec la bactérie (b), dans NaCl à 0,1 M ;  $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ; pH = 7,42



▪ **Densité du courant en fonction du temps de contact**

Tableau 30 : Densité du courant en fonction du temps de contact de EParG/AMX ads avec la bactérie

Temps (mn)	0	20	40	60	80	100	120	140
di ( $\mu\text{A}/\text{cm}^2$ )	0,072	0,912	1,528	1,338	2,014	2,396	3,282	2,913

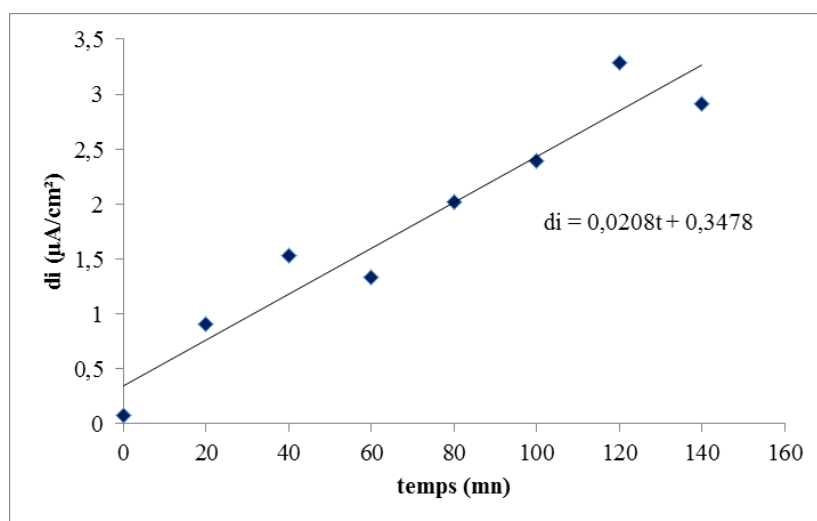


Figure 128 : Densité du courant en fonction du temps de contact de EParG/AMX ads. avec la bactérie

On note une augmentation de la densité de courant au fur et à mesure que le temps de contact avec la bactérie augmente. Dans le même temps on enregistre aussi une baisse de la densité optique traduisant la lyse de la bactérie (tableau 32).

**b. Caractérisation par le spectroscopie d'impédance électrochimique**

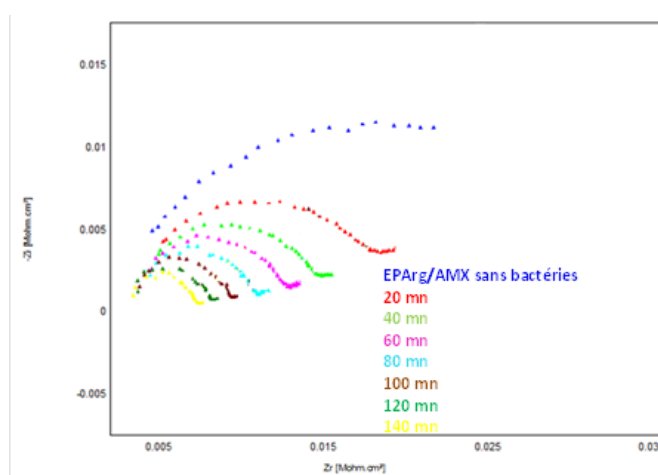


Figure 129 : Superposition des spectres d'impédance électrochimique de EParG/AMX ads. sans bactéries et EParG/AMX ads. en fonction du temps de contact avec la bactérie, dans NaCl à 0,1 de 100 mHz à 100 kHz, pH = 7,42

Plus le temps de contact de l'électrode avec la bactérie augmente plus le diamètre de la boucle diminue et plus la capacité à la surface de l'électrode augmente (voir tableau 31). Ce qui pourrait traduire une augmentation de l'électroactivité de l'électrode justifiée par l'augmentation de la densité du courant.

▪ **Paramètres des spectres d'impédances électrochimiques**

Les paramètres déduits des spectres d'impédance électrochimiques, tels que le diamètre de la boucle et la capacité de l'électrode sont présentés dans le tableau 31.

Tableau 31 : Paramètres des spectres d'impédance électrochimiques de EPArg/AMX ads.

	Diamètres (kohm.cm <sup>2</sup> )	C (pF/cm <sup>2</sup> )
EPArg/AMX sans bact.	27,78	291,2
EPArg/AMX avec bact. (20 mn)	17,68	232,1
EPArg/AMX avec bact. (40 mn)	12,48	289,3
EPArg/AMX avec bact. (60 mn)	9,925	322,6
EPArg/AMX avec bact. (80 mn)	7,771	410,1
EPArg/AMX avec bact. (100 mn)	6,327	447,8
EPArg/AMX avec bact. (120 mn)	5,393	525,9
EPArg/AMX avec bact. (140 mn)	4,279	662,5

c. **Densité optique en fonction du temps de contact avec la bactérie**

Tableau 32 : Densité optique en fonction du temps de contact de EPArg/AMX ads. avec la bactérie

Temps (min)	0	20	40	60	80	100	120	140
DO	0,845	0,688	0,507	0,491	0,342	0,252	0,229	0,190

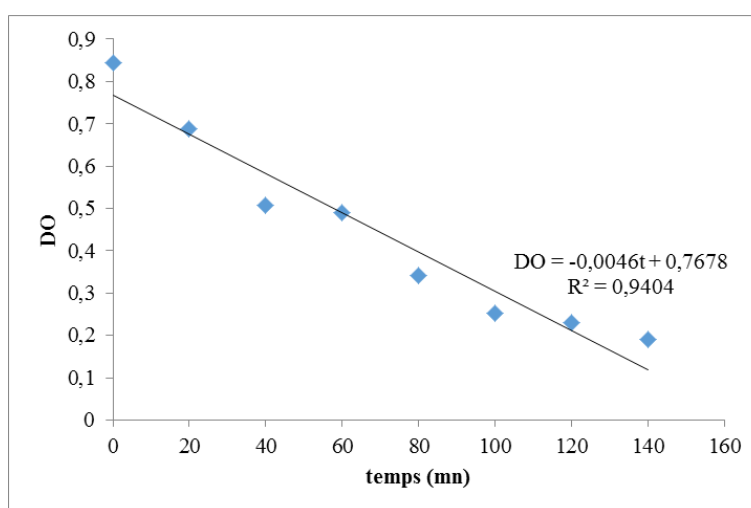


Figure 130 : Densité optique en fonction du temps de contact avec la bactérie (EPArg/AMX ads.)

d. **Caractérisation électrochimique et physique de l'électrode EPArg/AMX ads. après le temps de contact avec la bactérie**

### ▪ Caractérisation électrochimique

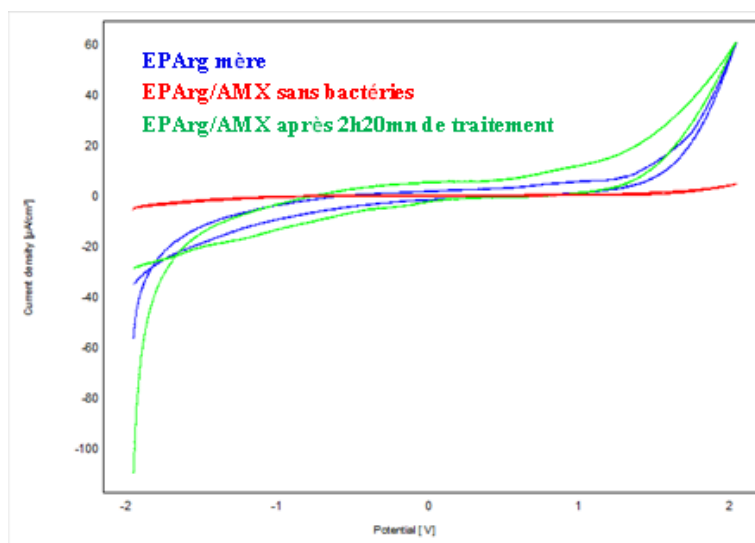


Figure 131 : Superposition des voltammogrammes cycliques de EPArg mère, EPArg/AMX ads. sans bactéries et EPArg/AMX ads. après 2h20mn de contact avec la bactérie, dans NaCl à 0,1 M ;  $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ; pH = 7,42

Après 2 heures 20 minutes de contact avec les bactéries, l'électrode de pâte d'argile modifiée par l'amoxicilline tend vers l'état initial c'est-à-dire vers l'électrode mère. La bactérie après sa lyse semble entraîner les molécules d'amoxicilline avec elle. Ce résultat est confirmé par des photographies issues de l'observation au microscope optique.

### ▪ Caractérisation physique

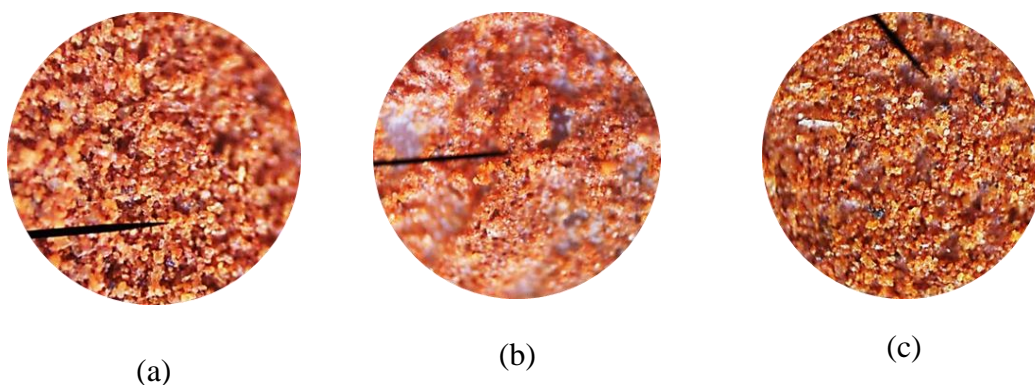


Figure 132 : Electrode de pâte d'argile mère (a), après modification par l'amoxicilline (b) et après 2h20min de temps de contact avec la bactérie (c)

#### 4. Etude électrochimique de l'effet de la concentration de l'amoxicilline à la surface de EPArg/AMX ads. sur les bactéries

Les électrodes de pâte d'argile ont été trempées dans les différentes solutions d'amoxicilline pendant 10 min (temps de dépôt optimal). Après 30 min de contact avec la bactérie, des prélèvements de l'électrolyte (contenant les bactéries) ont été faits dans le but de mesurer la densité optique de l'échantillon.

Contrairement à l'électrode de pâte de carbone et l'électrode de phosphate naturel, l'électrode de pâte d'argile mère a montré une bonne électroactivité en présence des bactéries. Ainsi la pâte d'argile nous permet déjà d'envisager deux électrodes capables de détecter la bactérie (EPArg mère et EPArg/AMX adsorption) figures 133 et 134.

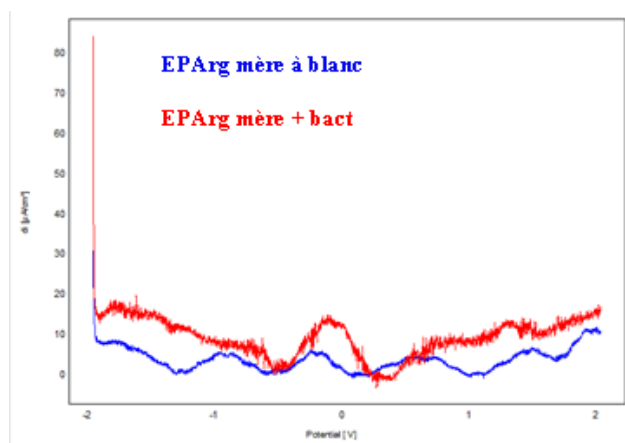


Figure 133 : Superposition des voltammogrammes à ondes carrées de EPArg mère sans bactéries et EPArg mère en présence des bactéries dans NaCl à 0,1 M ;  $v = 20\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ; pH = 7,42

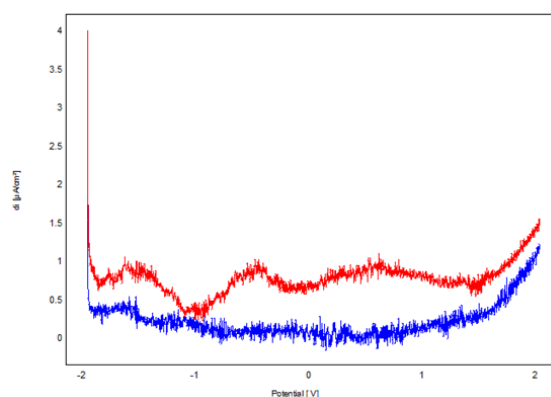


Figure 134 : Superposition des voltammogrammes à ondes carrées de EPArg/AMX ads. à blanc et EPArg/AMX ads. (10g/L) en présence des bactéries dans NaCl à 0,1 M ;  $v = 20\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ; pH = 7,42

#### 5. Densité optique en fonction de la concentration de l'amoxicilline à la surface de EPArg/AMX ads.

Tableau 33 : Densité optique fonction de la concentration d'amoxicilline à la surface de EPArg/AMX ads.

[AMX] (g/l)	0	1	5	10	15	20	25	30	35	40
DO	0,845	0,802	0,793	0,693	0,679	0,554	0,430	0,324	0,234	0,220

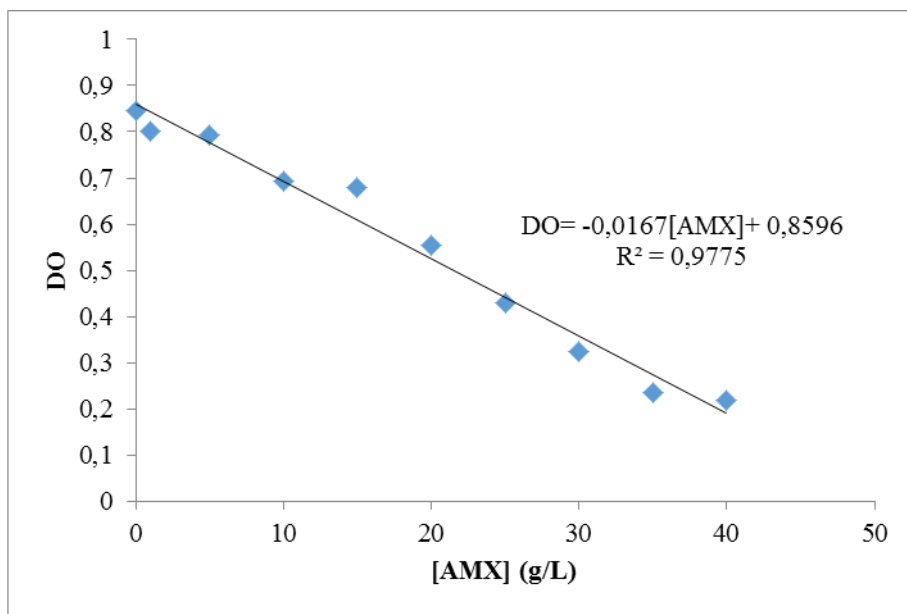


Figure 135 : Densité optique en fonction de la concentration de l'amoxicilline à la surface de EPArg/AMX ads.

On remarque que plus la concentration de l'amoxicilline augmente plus la DO diminue.

## 6. Etude de l'effet de la densité optique sur EPArg/AMX ads.

L'électrode de pâte d'argile modifiée par l'amoxicilline à une concentration de 10g/l a été caractérisée en présence de bactéries à différentes densité optique.

### a. Caractérisation par la voltammétrie cyclique

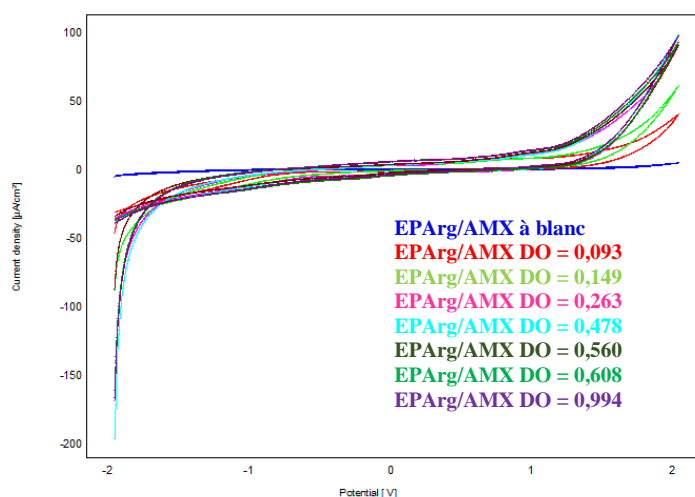


Figure 136 : Superposition des voltammogrammes cycliques de EPArg/AMX ads. à blanc et EPArg/AMX ads. (10g/L) en présence des bactéries à différentes densités optiques dans NaCl à 0,1 M ;  $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ; pH = 7,42

On enregistre une augmentation de la densité de courant au fur et à mesure que la densité optique augmente. Le pouvoir de détection de l'électrode augmente donc avec l'augmentation de la charge bactériale. Ce comportement électrochimique de l'électrode est confirmé par la voltammétrie à ondes carrées.

**b. Caractérisation par la voltammétrie à ondes carrées**

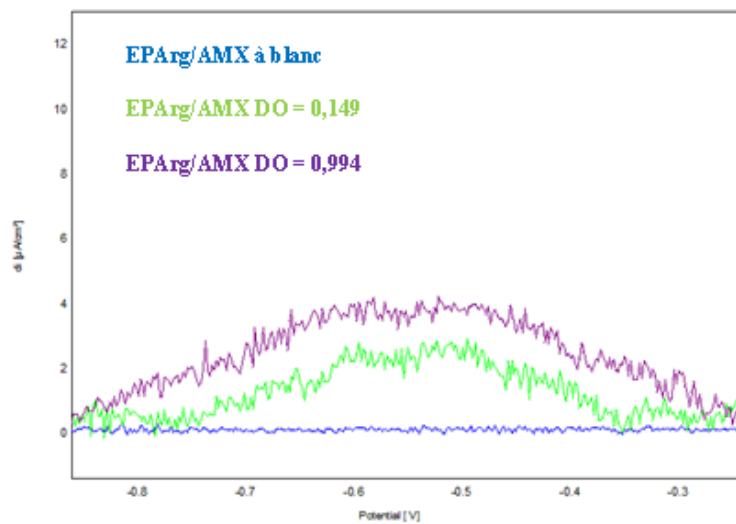


Figure 137 : Superposition des voltammogrammes à ondes carrées de EPArg/AMX ads. à blanc et EPArg/AMX ads. (10g/L) en présence de bactéries à différentes densités optiques dans NaCl à 0,1 M ;  $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ;  $\text{pH} = 7,42$

▪ **Densité de courant en fonction de la densité optique (EPArg/AMX ads.)**

Tableau 34 : Densité de courant en fonction de la densité optique (EPArg/AMX ads.)

<b>DO</b>	0	0,093	0,149	0,263	0,478	0,560	0,608	0,994
<b>di (<math>\mu\text{A}/\text{cm}^2</math>)</b>	0,02945	2,435	2,98	3,673	4,313	4,504	4,917	4,704

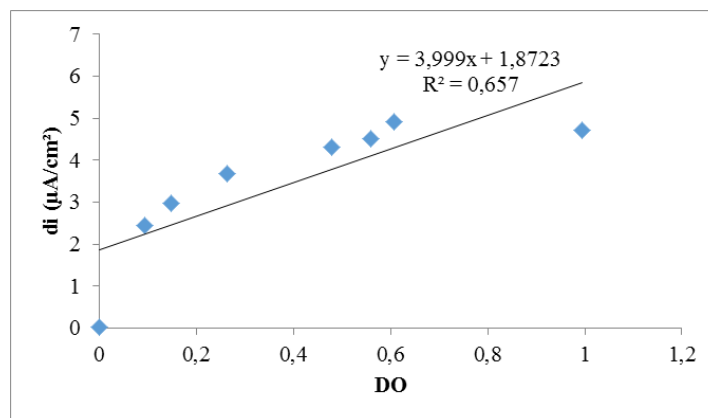


Figure 138: Densité de courant en fonction de la densité optique (EPArg/AMX ads.)

- **Détermination de la limite de détection de EPArg/AMX ads.**

Pour l'électrode de pâte d'argile modifiée par l'amoxicilline (adsorption), la limite de détection est de  $7,967.10^{-7}$  et la limite de quantification est de  $2,656.10^{-6}$ .

**7. Détermination de la durée de détection de la bactérie par EPArg/AMX ads.**

Pour cette étude, l'électrode a été caractérisée par la voltammétrie cyclique à 50 cycles d'une durée de 1 h 06 min en présence de la bactérie.

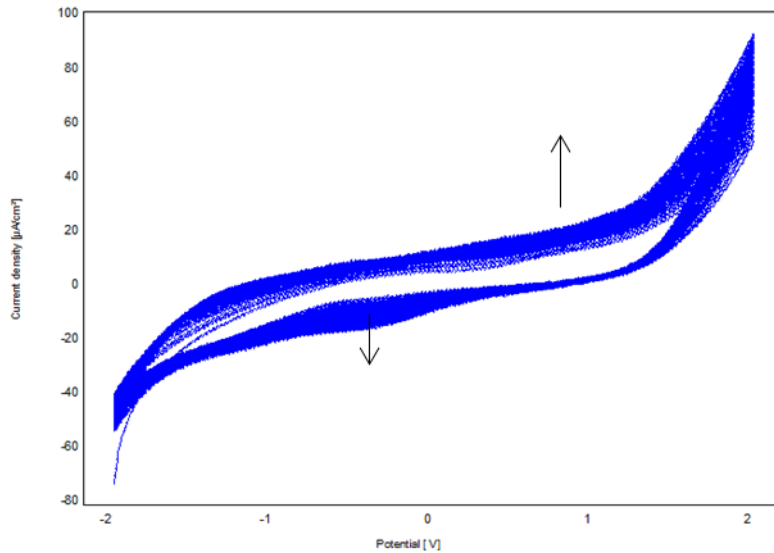


Figure 139: Voltammogrammes cycliques de EPArg/AMX ads. en présence des bactéries pendant 50 cycles dans NaCl à 0,1 M ;  $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ;  $\text{pH} = 7,42$

Après 50 cycles, l'électrode enregistre une augmentation de la densité de courant tout en gardant la même allure. Elle continue de détecter la bactérie. Une comparaison des voltammogrammes de EPArg/AMX à blanc et EPArg/AMX en présence des bactéries après les 50 cycles illustre bien la croissance de cette électroactivité.

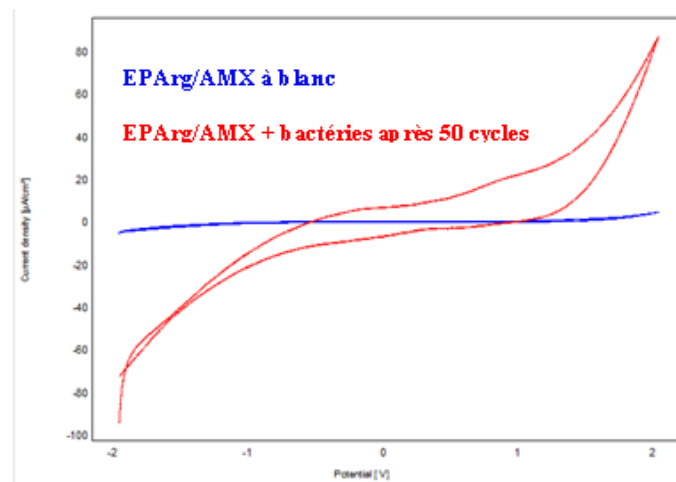


Figure 140: Comparaison des voltammogrammes cycliques de EPArg/AMX ads à blanc et en présence des bactéries après 50 cycles dans NaCl à 0,1 M ;  $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ;  $\text{pH} = 7,42$

## 8. Etude de l'effet du pH sur EPArg/AMX ads.

Nous avons travaillé avec une électrode de pâte d'argile ayant les paramètres suivants :

- Temps de dépôt de l'amoxicilline sur l'électrode : 10 mn
- Concentration de l'amoxicilline : 10 g/l

Les résultats sont illustrés par la figure 141.

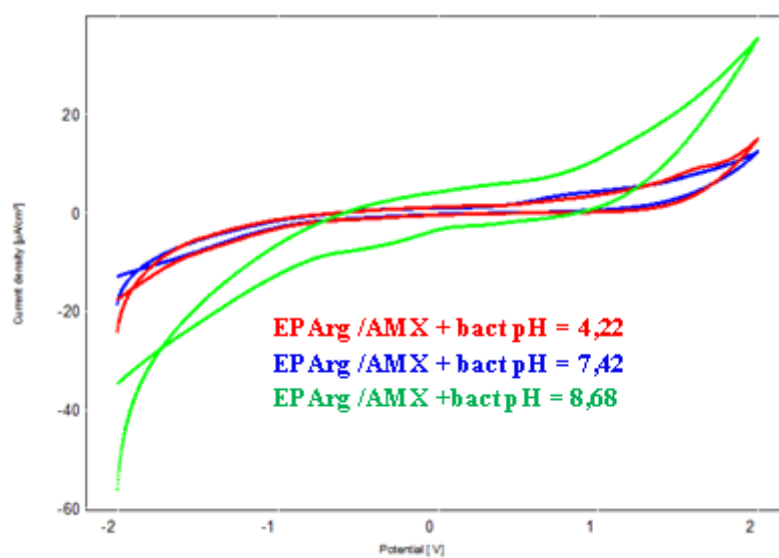


Figure 141: Superposition des voltammogrammes cycliques de EPArg/AMX ads. à différents pH en présence des bactéries dans NaCl à 0,1 M ; v = 100mV/s, de -2V à 2V

Au regard de ces résultats, nous pouvons dire que notre électrode présente une meilleure électroactivité en milieu basique ; pH = 8,68.

## 9. Reproductibilité des résultats de EPArg/AMX ads.

L'expérience a été réalisée avec différentes électrodes modifiées (EPArg/AMX ads.) destinées à la détection des *staphylocoques aureus*. La réponse du signal a été toujours la même caractérisée par une augmentation de la densité de courant.

## II. INTERACTION ENTRE L'ÉLECTRODE DE PÂTE D'ARGILE « MÈRE » (EPARG MÈRE) ET LA BACTÉRIE

Après avoir étudié l'électrode de pâte d'argile et sa détection des *staphylocoques aureus*, nous avons étudié l'effet de la densité optique de la bactérie sur son électroactivité.



## 1. Etude de l'effet de la densité optique sur EPArg mère

### ▪ Caractérisation par la voltammétrie cyclique

On enregistre une augmentation de la densité de courant au fur et à mesure que la densité optique augmente.

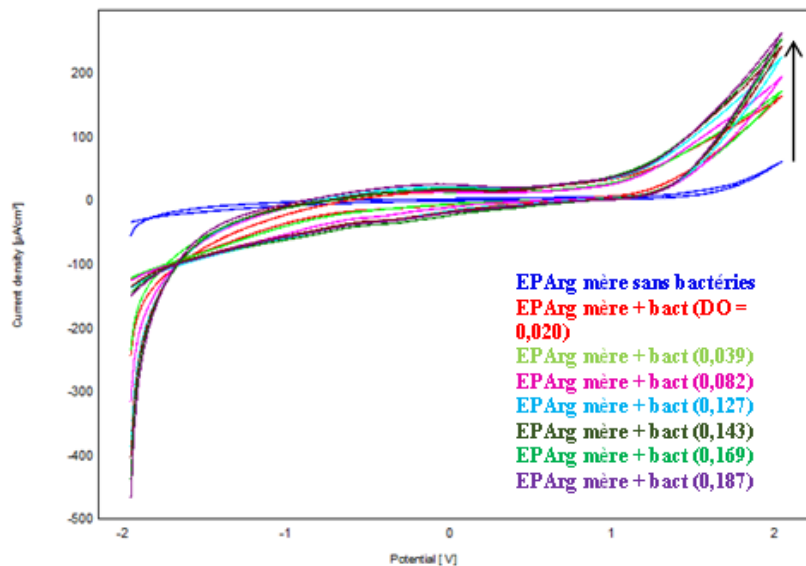


Figure 142: Superposition des voltammogrammes cycliques de EPArg mère à blanc et avec bactéries en fonction de la densité optique dans NaCl à 0,1 M ; v = 100mV/s, de -2V à 2V ; pH = 7,42

Tableau 35 : Densité de courant en fonction de la variation de la densité optique (EPArg mère)

DO	0	0,020	0,039	0,082	0,127	0,143	0,169	0,187
di (µA/cm <sup>2</sup> )	5,101	6,195	11,28	12,28	14,59	12,48	16,2	16,5

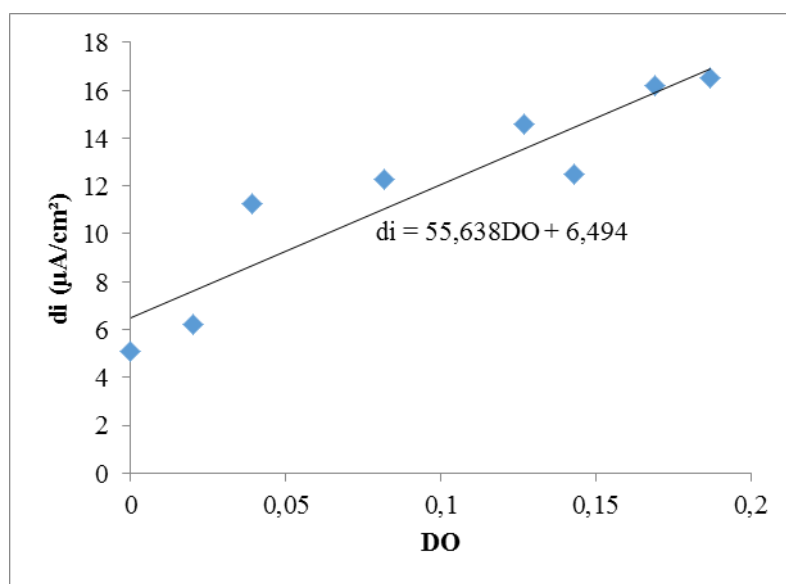


Figure 143: Densité de courant en fonction de la variation de la densité optique (EPArg mère)

Cette augmentation de la densité de courant pourrait se traduire par le fait que l'argile réagisse avec le *staphylocoque aureus*.

En effet les minéraux argileux ont une charge de surface négative qui permet le libre échange des particules de l'environnement telles que les bactéries, les virus, les protéines, les acides nucléiques, et des cations<sup>138</sup>. Les surfaces chargées produisent une grande superficie permettant l'adsorption des toxines<sup>139</sup>.

## 2. Détermination de la limite de détection de EPArg mère

Pour l'électrode de pâte d'argile mère, la limite de détection est de  $1,59.10^{-7}$  et la limite de quantification est de  $5,32.10^{-6}$ .

## 3. Détermination de la durée de détection de la bactérie par EPArg mère

Pour cette étude, l'électrode a été caractérisée par la voltammétrie cyclique à 50 cycles d'une durée de 1 h 06 min en présence de la bactérie.

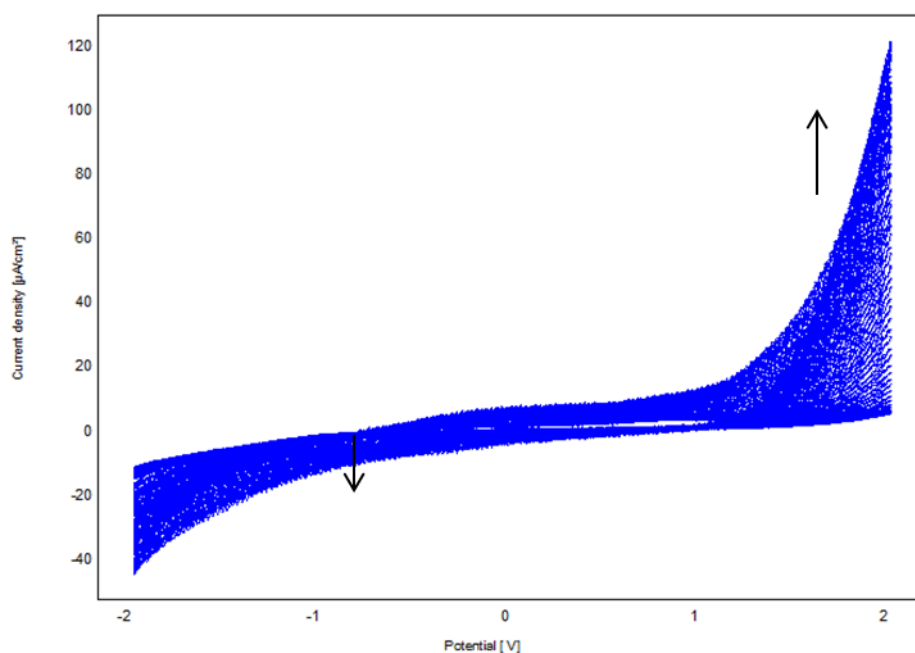


Figure 144: Voltammogrammes cycliques de EPArg mère en présence des bactéries pendant 50 cycles dans NaCl à 0,1 M ;  $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ; pH = 7,42

Après 50 cycles, l'électrode enregistre une augmentation de la densité de courant. Elle continue de détecter la bactérie. Une comparaison des voltammogrammes de EPArg/AMX à blanc et EPArg/AMX en présence des bactéries après les 50 cycles illustre bien cette croissance de cette électroactivité.

<sup>138</sup> McLaren A (1963) Biochemistry and soil science. Science 141: 1141–1147.

<sup>139</sup> Carretero MI. Clay minerals and their beneficial effects upon human health. A review. Appl Clay Sci.2002; 21:155–163

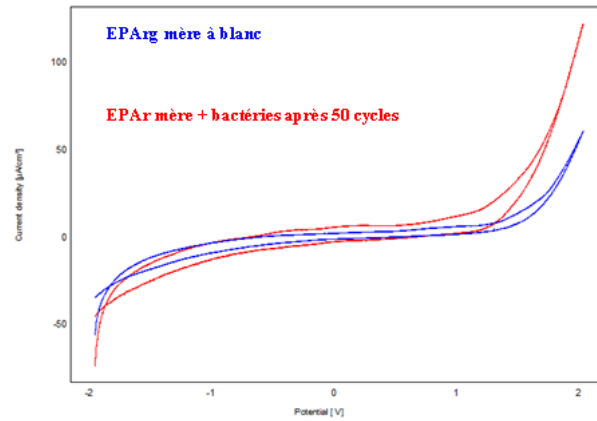


Figure 145: Comparaison des voltammogrammes cycliques de EPArg mère à blanc et en présence des bactéries après 50 cycles dans NaCl à 0,1 M ;  $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ;  $\text{pH} = 7,42$

#### 4. Etude de l'effet du pH sur EPArg mère

L'étude de l'effet du pH a donné les résultats suivants :

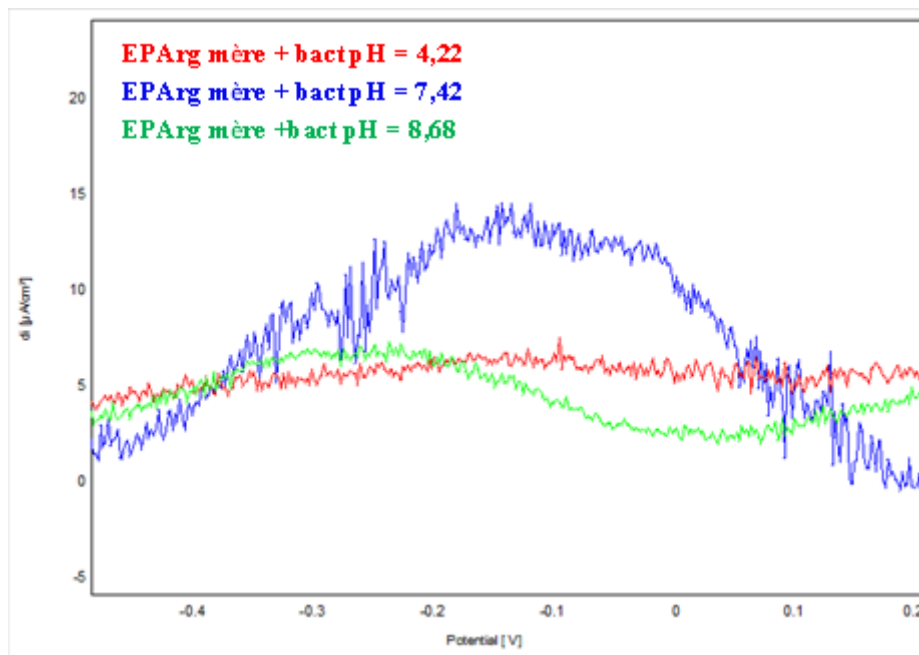


Figure 146 : Superposition des voltammogrammes à ondes carrées de EPArg mère à différents pH en présence des bactéries dans NaCl à 0,1 M ;  $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V

Au regard de ces résultats, notre électrode présente une meilleure électroactivité en milieu neutre.

#### 5. Reproductibilité des résultats de EPArg mère

Différentes électrodes de pâte d'argile mère ont été testées en présence des bactéries et la réponse du signal a été toujours la même, caractérisée par une augmentation de la densité de courant.

### III. ELECTRODE DE PÂTE D'ARGILE MODIFIÉE AVEC L'AMOXICILLINE PAR MÉLANGE

#### 1. Caractérisation physique et électrochimique de l'électrode de pâte d'argile avant et après modification par l'amoxicilline

L'électrode a été obtenue en mélangeant la poudre d'amoxicilline et celle de l'argile à une teneur massique de 50% chacune.

##### a. Caractérisation physique de l'électrode obtenue

L'électrode modifiée après observation au microscope optique donne les résultats présentés par la figure 147.



Figure 147 : Electrode de pâte d'argile avant modification (a) et après modification par l'amoxicilline : 50 % poudre de carbone + 50% poudre d'amoxicilline (b)

##### b. Caractérisation électrochimique

###### ▪ Caractérisation par la voltammétrie cyclique

L'EPAArg/AMX par mélange a été caractérisée à blanc et ensuite une comparaison a été faite avec le voltammogramme cyclique de l'électrode de pâte d'argile mère.

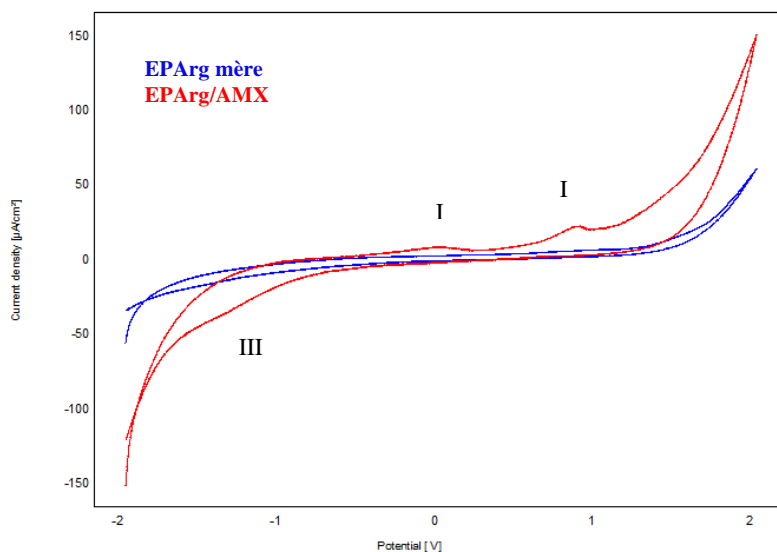


Figure 148 : Superposition des voltammogrammes cycliques de EArg mère et EArg/AMX mél. à blanc dans NaCl à 0,1 M ;  $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ;  $\text{pH} = 7,42$

La comparaison des voltammogrammes montre que l'électrode de pâte d'argile a été bien modifiée. Cette modification se caractérise par une augmentation de l'électroactivité de l'électrode due à la présence d'un film formé par l'amoxicilline à sa surface. Le balayage des potentiels en oxydation fourni deux pics, nommés I et II, centré respectivement à 0,8698 V et -0,0304 V et le balayage en réduction, un pic nommé III centré sur -1,378 V.

## 2. Etude de EArg/AMX mél. en fonction du temps de contact avec la bactérie

### a. Caractérisation électrochimique de EArg/AMX mél. en fonction du temps de contact avec la bactérie

L'électrode a été caractérisée à des intervalles de 20 mn. A ces mêmes intervalles, des prélèvements de l'électrolyte contenant les bactéries ont été faits dans le but de mesurer la densité optique de l'échantillon. Les figures ci-dessous illustrent les résultats obtenus.

- **Caractérisation par la voltammétrie cyclique**

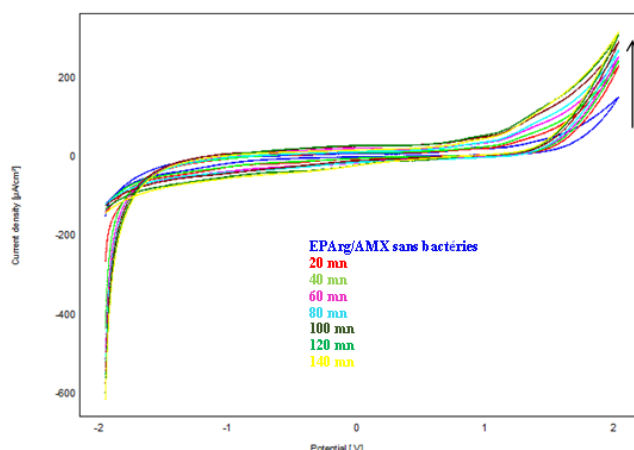


Figure 149 : Superposition des voltammogrammes cycliques de EPArg/AMX mél. à blanc et EPArg/AMX mél. à différents temps de contact avec les staphylocoques dans NaCl à 0,1 M ;  $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ; pH = 7,42

On note une augmentation de la densité de courant au fur et à mesure que le temps de contact avec la bactérie augmente.

- **Caractérisation par la voltammétrie à ondes carrées**

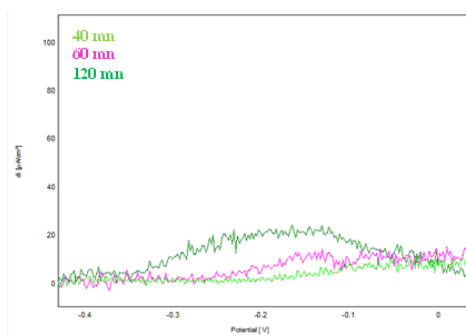


Figure 150 : Superposition des voltammogrammes à ondes carrées de EPArg/AMX mél. à différents temps de contact avec les staphylocoques dans NaCl à 0,1 M ;  $v = 20\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ; pH = 7,42

- **Densité de courant de EPArg/AMX mél. en fonction du temps de contact avec les bactéries**

Tableau 36 : Densité de courant de EPArg/AMX mél. en fonction du temps de contact avec la bactérie

Temps (min)	0	20	40	60	80	100	120	140
di ( $\mu\text{A}/\text{cm}^2$ )	9,115	8,766	12,82	14,53	15,85	18,94	18,16	19,42

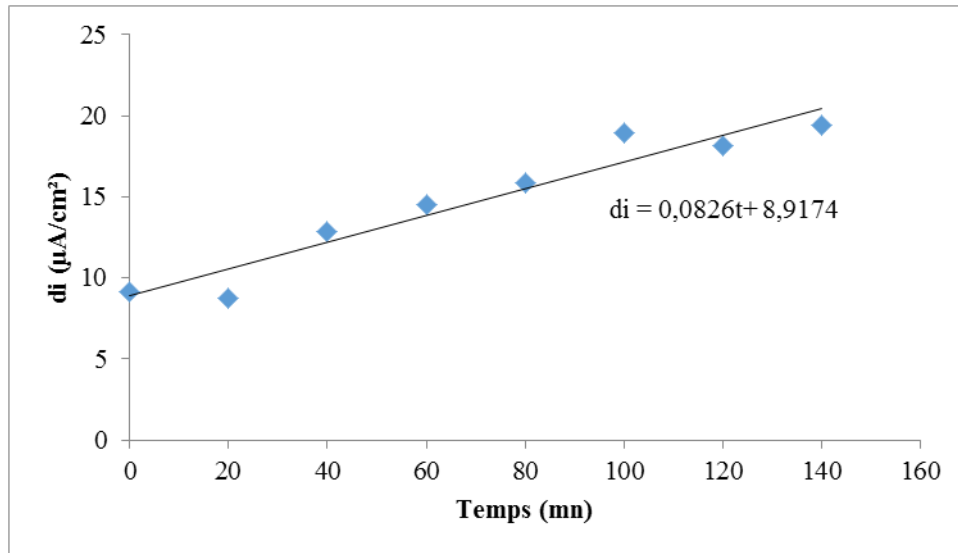


Figure 151 : Densité de courant en fonction du temps de contact de EPArg/AMX mél. avec la bactérie

L'électrode constituée du mélange de l'amoxicilline avec la pâte d'argile à différents temps de contact avec la bactérie montre une meilleure électroactivité par rapport à celle sans bactéries.

**b. Caractérisation physique et électrochimique de EPArg/AMX mél. avant et après le temps de contact avec les bactéries**

▪ **Caractérisation physique**

L'observation au microscope optique avant et après le contact de l'EPArg/AMX mél. avec les staphylocoques a donné les résultats suivants :

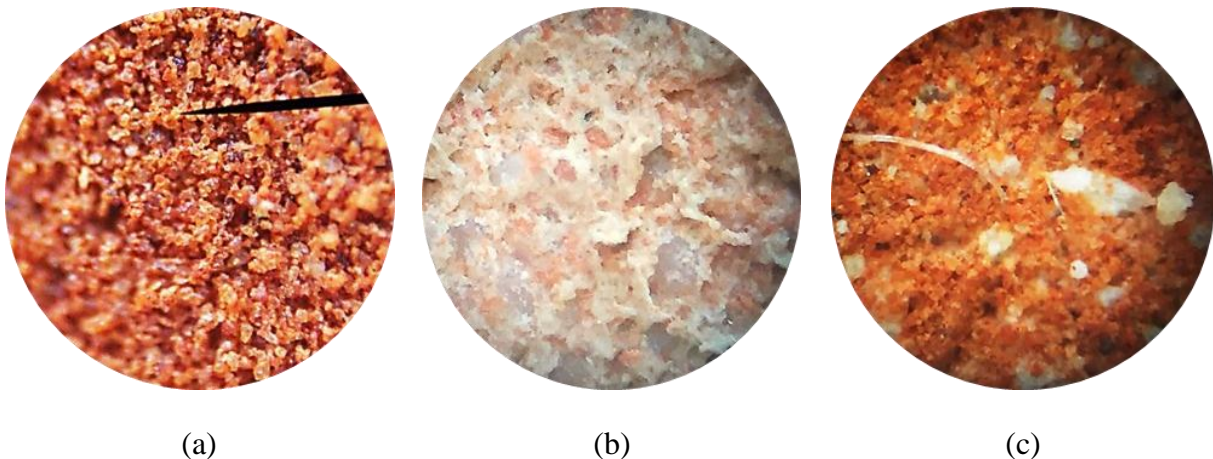


Figure 152 : EPArg mère (a), EPArg/AMX mélange avant le contact avec les bactéries (b) et après 2h20 mn de contact avec les bactéries (c)

■ **Caractérisation électrochimique**

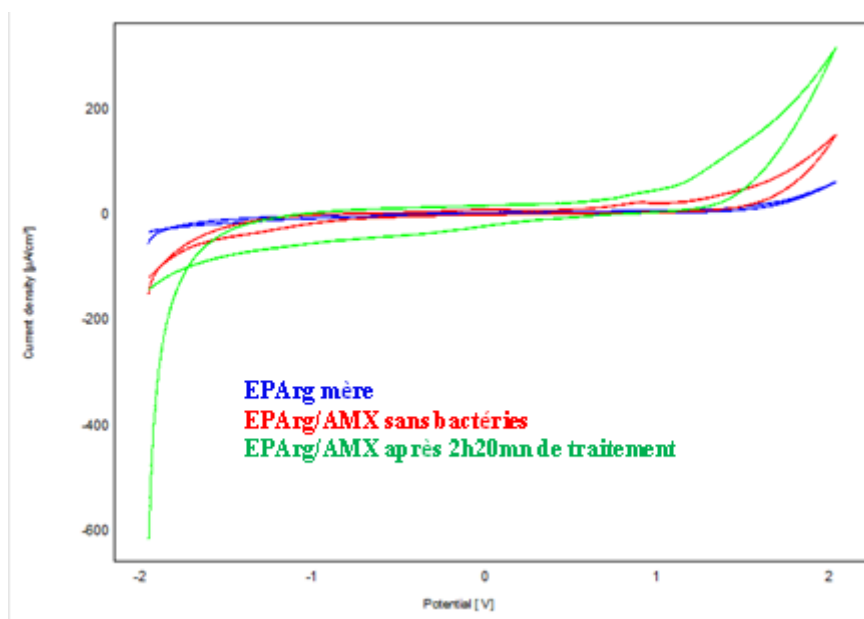


Figure 153 : Superposition des voltammogrammes cycliques de l'EPC mère (a), EPC/AMX mél. avant le contact avec les bactéries (b) et après 2h20 mn de contact avec les bactéries (c) dans NaCl à 0,1 M ;  $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ; pH = 7,42

Après 2h20 min de traitement, le voltammogramme est différent de celui obtenu avant le contact avec la bactérie (confirmé par les photos ci-dessus). L'électrode montre une meilleure électroactivité après 2 h 20 min de contact avec la bactérie.

**3. Densité optique en fonction du temps de contact de EPArg/AMX mél. avec la bactérie**

Tableau 37 : Densité optique en fonction du temps de contact de EPArg/AMX mél. avec la bactérie

<b>Temps (min)</b>	<b>0</b>	<b>20</b>	<b>40</b>	<b>60</b>	<b>80</b>	<b>100</b>	<b>120</b>	<b>140</b>
<b>DO</b>	0,845	0,761	0,707	0,601	0,548	0,392	0,271	0,207



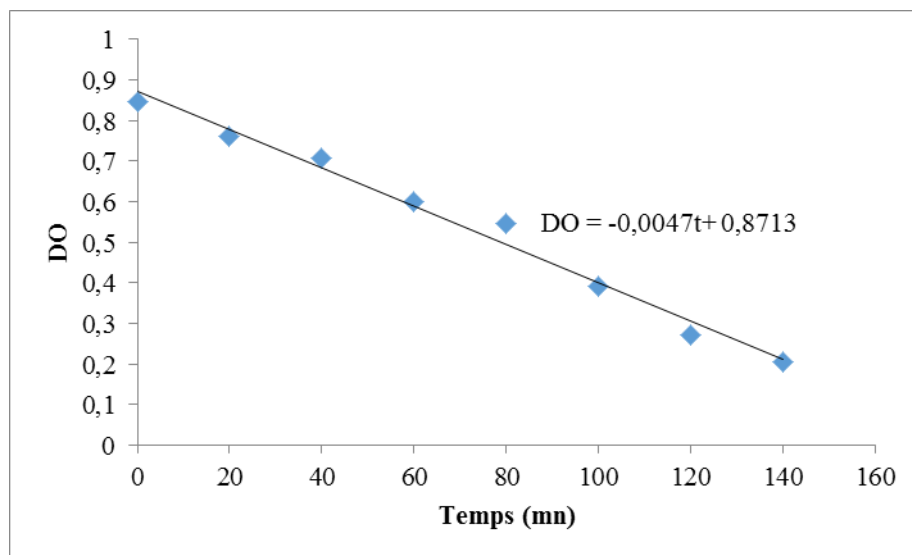


Figure 154 : Densité optique en fonction du temps de contact de EArg/AMX mél. avec la bactérie

On remarque que la densité optique diminue en fonction du temps de contact de l'électrode (EArg/AMX mél.) avec la bactérie.

#### 4. Comparaison des données de la densité optique de EArg/AMX ads. et EArg/AMX mél.

Tableau 38 : Comparaison des données de la densité optique de l'EArg/AMX ads. et l'EArg/AMX mél.

Temps (min)	0	20	40	60	80	100	120	140
DO (par adsorption)	0,845	0,688	0,507	0,491	0,342	0,252	0,229	0,190
DO (par mélange)	0,845	0,761	0,707	0,601	0,548	0,392	0,271	0,207

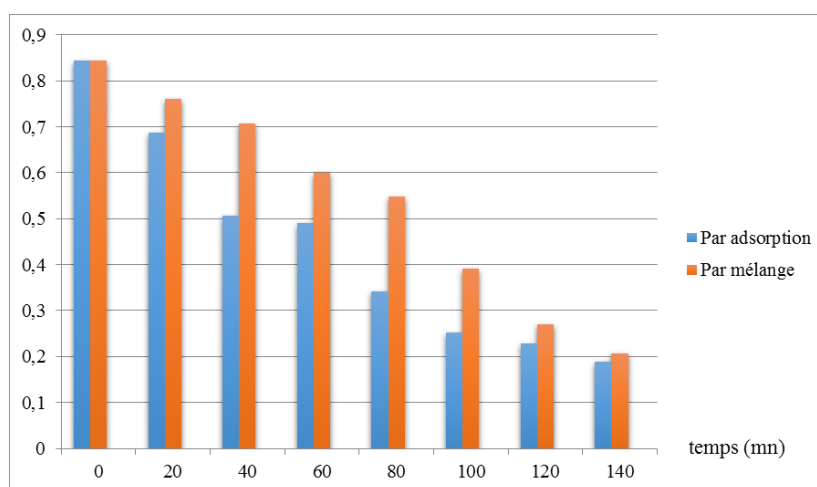


Figure 155 : Comparaison des données de la densité optique de l'EArg/AMX ads. et l'EArg/AMX mél.

EPArg/AMX modifiée par adsorption a plus d'effet sur la lyse de la bactérie. Les surfaces chargées de l'argile produisent une grande superficie permettant l'adsorption des toxines. La présence en grande quantité de l'amoxicilline pourrait sans doute inhiber cette propriété.

## 5. Etude de l'effet de la densité optique sur EPArg/AMX mél.

L'électrode de pâte d'argile modifiée par l'amoxicilline par mélange avec une teneur massique de 50% chacun a été caractérisée en présence de bactéries à différentes densité optique.

### a. Caractérisation par la voltammétrie cyclique

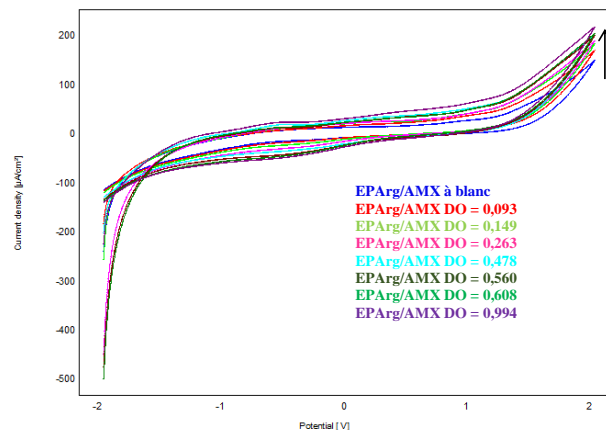


Figure 156 : Superposition des voltammogrammes cycliques de EPArg/AMX mél. à blanc et EPArg/AMX mél. en présence de bactéries à différentes densités optiques dans NaCl à 0,1 M ; v = 100mV/s, de -2V à 2V ; pH = 7,42

On enregistre une augmentation de la densité de courant au fur et à mesure que la densité optique augmente. Ce comportement électrochimique de l'électrode est confirmé par la voltammétrie à ondes carrées.

### b. Caractérisation par la voltammétrie à ondes carrées

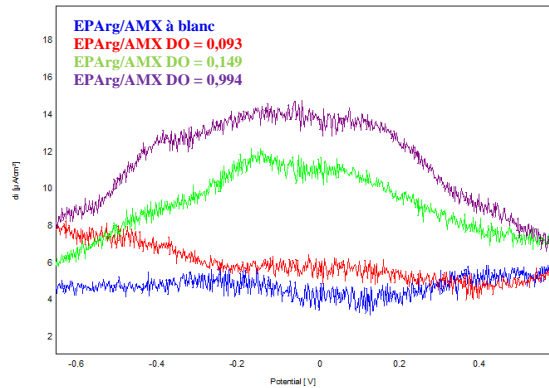


Figure 157 : Superposition des voltammogrammes à ondes carrées de EPARg/AMX mélangé à blanc et EPARg/AMX mélangé (10g/L) en présence de bactéries à différentes densités optiques dans NaCl à 0,1 M ;  $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ;  $\text{pH} = 7,42$

### c. Densité de courant en fonction de la densité optique

Tableau 39 : Densité de courant en fonction de la densité optique (EPArg/AMX mélangé.)

DO	0	0,093	0,149	0,263	0,478	0,560	0,608	0,994
di ( $\mu\text{A}/\text{cm}^2$ )	5,009	7,608	11,78	10,52	12,26	10,68	13,91	14,23

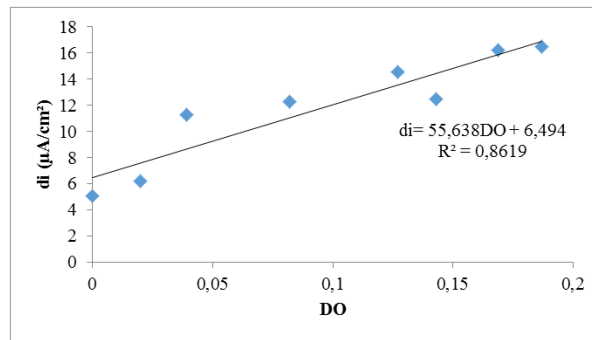


Figure 158 : Densité de courant en fonction de la densité optique (EPArg/AMX mélangé)

## 6. Détermination de la limite de détection de EPARg/AMX mélangé.

Pour l'électrode de pâte d'argile modifiée par l'amoxicilline (mélange), la limite de détection est de  $1,514 \cdot 10^{-6}$  et la limite de quantification est de  $5,045 \cdot 10^{-6}$ .

## 7. Détermination de la durée de détection de la bactérie par EPARg/AMX mélangé

Pour cette étude, l'électrode a été caractérisée par la voltammétrie cyclique à 50 cycles d'une durée de 1 h 06 min en présence de la bactérie.

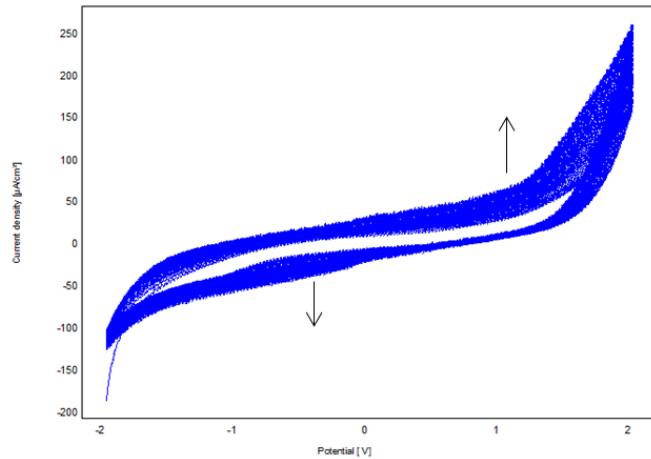


Figure 159 : voltammogrammes cycliques de EPArg/AMX mél. en présence des bactéries pendant 50 cycles dans NaCl à 0,1 M ;  $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ; pH = 7,42

Après 50 cycles, l'électrode conserve sa propriété de détecteur de *staphylocoque aureus*.

### 8. Etude de l'effet du pH sur EPArg/AMX mél.

L'électrode ayant donné de bons résultats en milieu acide, neutre et basique, la comparaison des voltammogrammes a donné les résultats suivants :

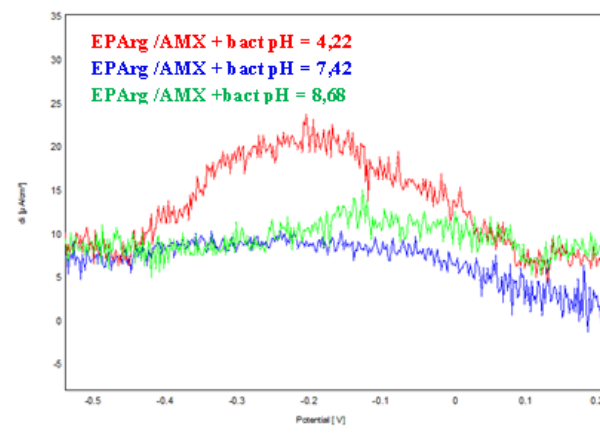


Figure 160 : Superposition des voltammogrammes à ondes carrées de EPArg/AMX mél. à différents pH en présence des bactéries dans NaCl à 0,1 M ;  $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V

Au regard de ces résultats, nous pouvons dire que notre électrode présente une meilleure électroactivité en milieu acide.

### 9. Reproductibilité des résultats de EPArg/AMX mél.

L'expérience a été réalisée avec différentes électrodes modifiées (EPArg/AMX mél.) destinées à la détection des staphylocoques aureus. La réponse du signal a été toujours la même caractérisée par une augmentation de la densité de courant.

## IV. ETUDE COMPARATIVE DE EPARG MÈRE, EPARG/AMX ADS. ET EPARG/AMX MÉL.

### 1. Comparaison de l'électroactivité des électrodes en fonction des pH

#### a. Milieu neutre

Les électrodes ont été caractérisées à un pH de 7,42.

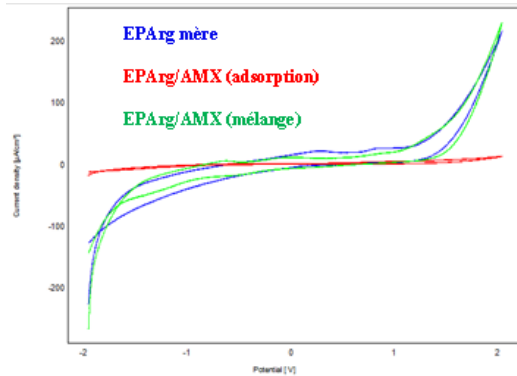


Figure 161 : Superposition des voltammogrammes cycliques de EPArg mère, EPArg/AMX ads. et EPArg/AMX mél. à un pH de 7,42 en présence des bactéries dans NaCl à 0,1 M ;  $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V

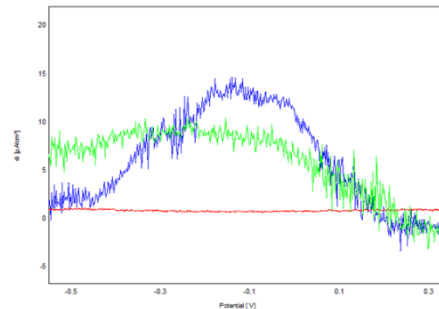


Figure 162 : Superposition des voltammogrammes à ondes carrées de EPArg mère, EPArg/AMX ads. et EPArg/AMX mél. à un pH de 7,42 en présence des bactéries dans NaCl à 0,1 M ;  $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V

L'électrode de pâte d'argile mère affiche une meilleure électroactivité en milieu neutre.

#### b. Milieu acide

Les électrodes ont été caractérisées à un pH de 4,22.

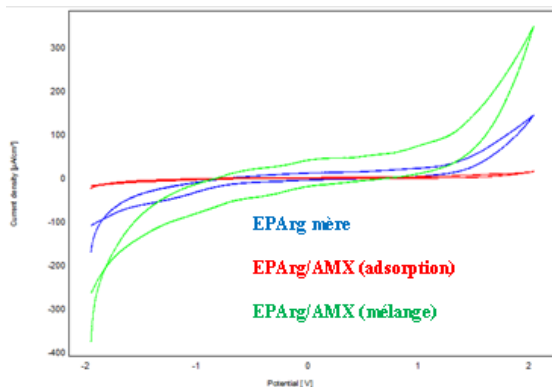


Figure 163 : Superposition des voltammogrammes cycliques de EPArg mère, EPArg/AMX ads. et EPArg/AMX mél. à un pH de 4,22 en présence des bactéries dans NaCl à 0,1 M ;  $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V

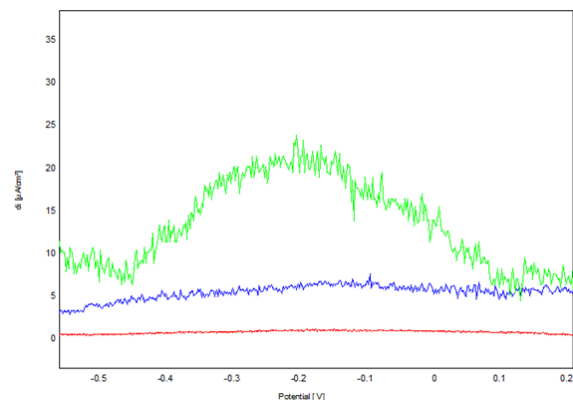


Figure 164 : Superposition des voltammogrammes à ondes carrées de EPArg mère, EPArg/AMX ads. et EPArg/AMX mél. à un pH de 4,22 en présence des bactéries dans NaCl à 0,1 M ;  $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V

L'électrode de pâte d'argile modifiée avec l'amoxicilline par mélange affiche une meilleure électroactivité en milieu acide.

### c. Milieu basique

Les électrodes ont été caractérisées à un pH de 8,68.

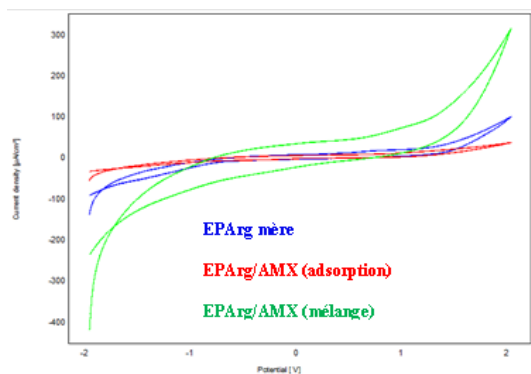


Figure 165 : Superposition des voltammogrammes cycliques de EPArg mère, EPArg/AMX ads. et EPArg/AMX mél. à un pH de 8,68 en présence des bactéries dans NaCl à 0,1 M ;  $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V

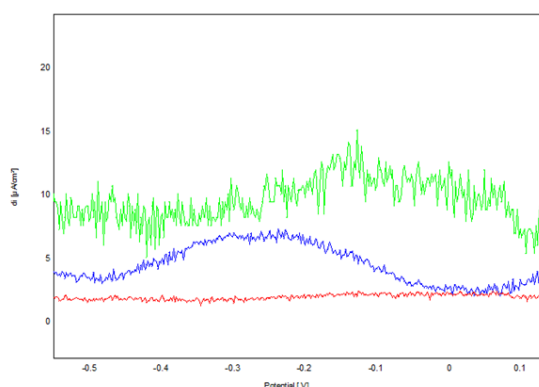


Figure 166 : Superposition des voltammogrammes à ondes carrées de EPArg mère, EPArg/AMX ads. et EPArg/AMX mél. à un pH de 8,68 en présence des bactéries dans NaCl à 0,1 M ;  $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V

L'électrode de pâte d'argile modifiée avec l'amoxicilline par mélange affiche une meilleure électroactivité en milieu basique.

## 2. Comparaison des limites de détection et de quantification des électrodes

Le tableau ci-dessous présente les limites de détection et de quantification des électrodes de pâte d'argile mère et de pâte d'argile modifiées avec l'amoxicilline par adsorption et par mélange.

Tableau 40 : Comparaison des limites de détection et de quantification des électrodes issues de l'argile

	EPArg mère	EPArg/AMX (adsorption)	EPArg/AMX (mélange)
Limite de détection	$1,59.10^{-7}$	$7,967.10^{-7}$	$1,514.10^{-6}$
Limite de quantification	$5,32.10^{-7}$	$2,656.10^{-6}$	$5,045.10^{-6}$

L'électrode mère présente une meilleure limite de détection et de quantification par rapport aux autres électrodes.

## 3. Comparaison de la durée de détection des électrodes

Après 50 cycles en présence des bactéries, les trois électrodes augmentent en électroactivité tout en gardant la même allure. Elles continuent donc d'être opérationnelles. Nous ferons une comparaison de ces voltammogrammes après les 50 cycles afin d'identifier la plus électroactive.

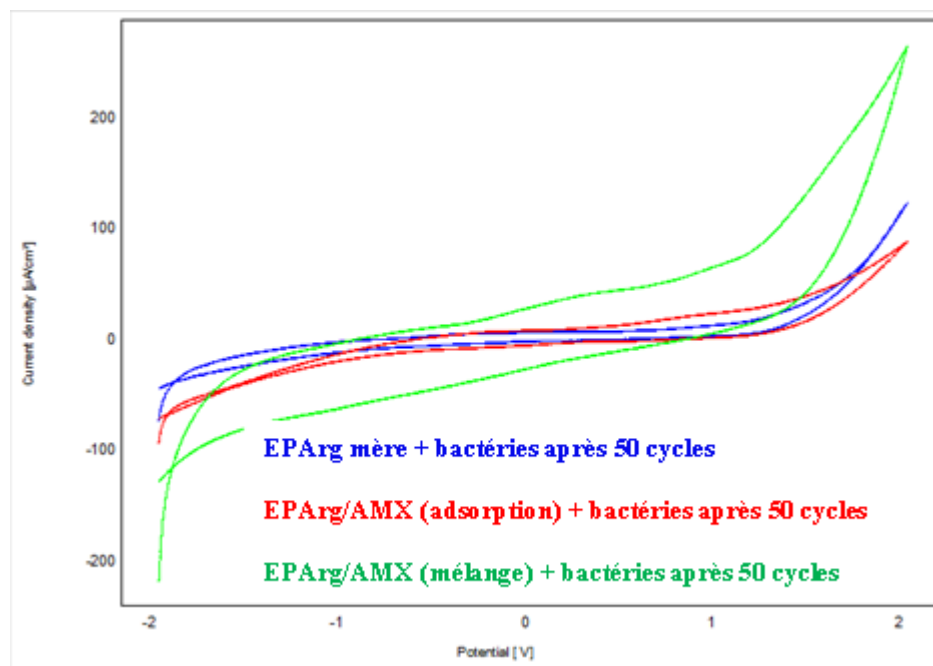


Figure 167 : Superposition des voltammogrammes cycliques de EPArg mère, EPArg/AMX ads. et EPArg/AMX mél. après 50 cycles en présence des bactéries dans NaCl à 0,1 M ;  $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ;  $\text{pH} = 7,42$

L'électrode modifiée par mélange présente une meilleure électroactivité par rapport aux autres électrodes après 50 cycles. Cela pourrait être dû à la forte teneur d'amoxicilline à la surface de l'électrode.

## Conclusion

Les trois électrodes issues de l'argile ont montré des résultats satisfaisants en ce qui concerne la détection des *staphylocoques aureus*. L'électrode mère affiche une meilleure électroactivité en milieu neutre et l'électrode modifiée par mélange se comporte mieux en milieu acide et neutre.

# **CHAPITRE VII : Etude comparative des biocapteurs électrochimiques étudiés**



## Introduction

L'étude menée précédemment nous a permis de spécifier l'électrode biocapteur électrochimique le plus significatif vis-à-vis de la détection des *staphylocoques aureus* en présence de l'amoxicilline.

Une comparaison entre ces trois biocapteurs sera menée en fonction du pH du milieu.

## I. ETUDE COMPARATIVE DES BIOCAPTEURS ÉLECTROCHIMIQUES

### 1. Etude comparative des biocapteurs électrochimiques obtenus par adsorption en présence des bactéries

#### a. Etude comparative de l'électroactivité en fonction du pH

##### ▪ Milieu neutre

Cette comparaison s'est faite sur l'électrode de pâte de carbone, de phosphate naturel et de pâte d'argile modifiées selon les paramètres optimaux mentionnés dans le tableau 41.

Tableau 41 : Paramètres optimaux des électrodes sélectionnées en milieu neutre

Electrodes	[AMX](g/L)	Temps de dépôt (mn)	pH
Pâte de carbone	10	20	7,42
Phosphate naturel	30	10	7,42
Pâte d'argile	10	10	7,42

#### – Voltammétrie cyclique

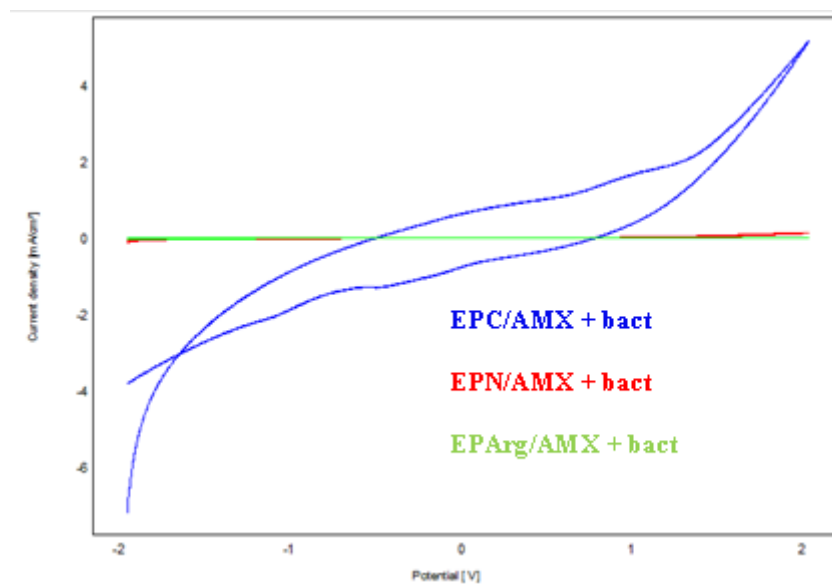


Figure 168 : Superposition des voltammogrammes cyclique de EPC/AMX ads., EPN/AMX ads. et EPArg/AMX ads. optimisés en présence des bactéries dans NaCl à 0,1 M ;  $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ; pH = 7,42

Au regard de ces résultats, nous pouvons conclure que l'électrode de pâte de carbone présente une meilleure électroactivité dans un milieu neutre en présence des bactéries.

– **Courbes de polarisation**

Les paramètres issus des courbes de polarisation de EPC/AMX ads., EPN/AMX ads. et EPArg/AMX ads. optimisées sont inscrits dans le tableau 42.

Tableau 42 : Paramètres électrochimiques de EPC/AMX ads., EPN/AMX ads. et EPArg/AMX ads. optimisées en présence de bactéries dans un milieu neutre

	<b>EPC/AMX</b>	<b>EPN/AMX</b>	<b>EPArg/AMX</b>
<b>E (i = 0) mV</b>	-571,4	-677,3	-626,9
<b>Rp(kohm.cm<sup>2</sup>)</b>	1,25	0,1037	0,2579
<b>I<sub>p</sub> (μA.cm<sup>2</sup>)</b>	37,1039	0,6525	0,2737
<b>β<sub>a</sub> (mV)</b>	284,1	486,0	595,2
<b>β<sub>c</sub> (mV)</b>	-307,8	-434,4	-389,4

▪ **Milieu acide**

Cette comparaison s'est faite sur l'électrode de pâte de carbone, de phosphate naturel et de pâte d'argile modifiées selon les paramètres optimaux mentionnés dans le tableau 43.

Tableau 43 : Paramètres optimaux des électrodes sélectionnées en milieu acide

<b>Electrodes</b>	<b>[AMX](g/L)</b>	<b>Temps de dépôt (mn)</b>	<b>pH</b>
<b>Pâte de carbone</b>	10	20	4,22
<b>Phosphate naturel</b>	30	10	4,22
<b>Pâte d'argile</b>	10	10	4,22

– **Voltammétrie cyclique**

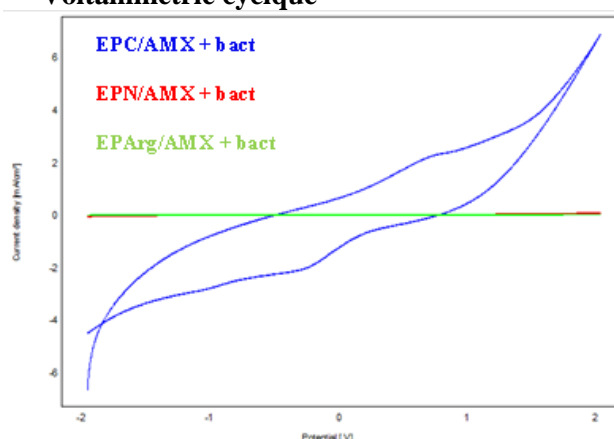


Figure 169: Superposition des voltammogrammes cyclique de EPC/AMX ads., EPN/AMX ads. et EPArg/AMX ads. optimisés en présence des bactéries dans NaCl à 0,1 M ;  $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ;  $\text{pH} = 4,22$

– Courbes de polarisation

Les paramètres issus des courbes de polarisation de EPC/AMX ads., EPN/AMX ads. et EPArg/AMX ads. optimisées sont inscrits dans le tableau 44.

Tableau 44 : Paramètres électrochimiques de EPC/AMX ads., EPN/AMX ads. et EPArg/AMX ads. optimisées en présence de bactéries dans un milieu acide.

	<b>EPC/AMX</b>	<b>EPN/AMX</b>	<b>EPArg/AMX</b>
<b>E (i = 0) mV</b>	-641,2	-773,9	-541,0
<b>Rp(kohm.cm<sup>2</sup>)</b>	0,707	63,02	390,90
<b>I<sub>p</sub> (μA.cm<sup>2</sup>)</b>	92,83	0,8446	0,174
<b>βa (mV)</b>	465,1	372,6	484,2
<b>βc (mV)</b>	-369,8	-292,7	-379,9

▪ Milieu basique

Cette comparaison s'est faite sur les trois électrodes selon les paramètres optimaux mentionnés dans le tableau 45.

Tableau 45 : Paramètres optimaux des électrodes sélectionnées en milieu basique

<b>Electrodes</b>	<b>[AMX](g/L)</b>	<b>Temps de dépôt (mn)</b>	<b>pH</b>
<b>Pâte de carbone</b>	10	20	8,68
<b>Phosphate naturel</b>	30	10	8,68
<b>Pâte d'argile</b>	10	10	8,68

– Voltammétrie cyclique

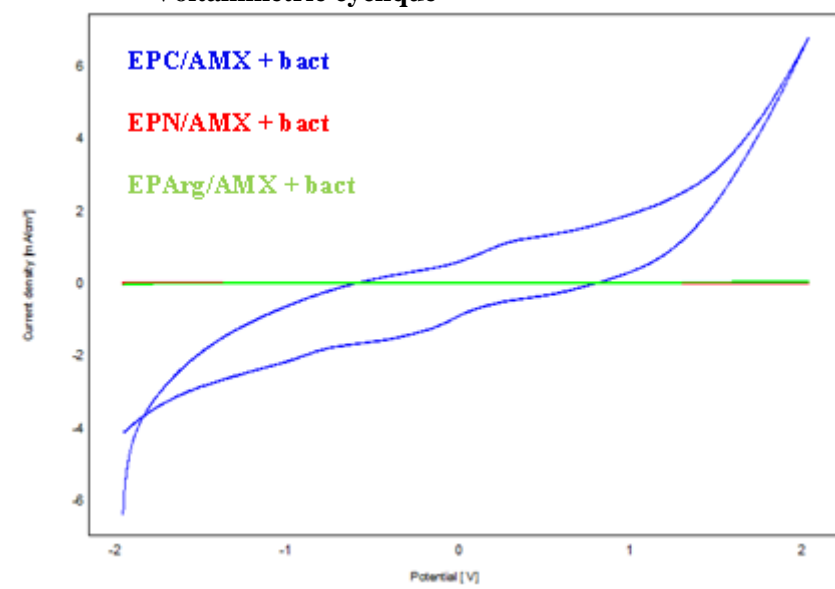


Figure 170 : Superposition des voltammogrammes cyclique de EPC/AMX ads., EPN/AMX ads. et EPArg/AMX ads. optimisés en présence des bactéries dans NaCl à 0,1 M ; v = 100mV/s, de -2V à 2V ; pH = 8,68

– **Courbes de polarisation**

Les paramètres issus des courbes de polarisation de EPC/AMX ads., EPN/AMX ads. et EPArg/AMX ads. optimisées sont inscrits dans le tableau 46.

Tableau 46 : Paramètres électrochimiques de EPC/AMX ads., EPN/AMX ads. et EPArg/AMX ads. optimisées en présence de bactéries dans un milieu basique.

	<b>EPC/AMX</b>	<b>EPN/AMX</b>	<b>EPArg/AMX</b>
<b>E (i = 0) mV</b>	-661,8	-507,8	-680,4
<b>Rp(kohm.cm<sup>2</sup>)</b>	0,863	2100	76,40
<b>I<sub>p</sub> (μA.cm<sup>2</sup>)</b>	62,83	0,029	0,9021
<b>βa (mV)</b>	360,6	411,1	507,7
<b>βc (mV)</b>	-320,3	-343,3	-384,4

**b. Comparaison des limites de détection et de quantification**

Le tableau suivant présente les valeurs exprimant les limites de détection et de quantification de EPC/AMX, EPN/AMX et EPArg/AMX obtenus par adsorption.

Tableau 47 : Comparaison des limites de détection et de quantification de EPC/AMX, EPN/AMX et EPArg/AMX obtenus par adsorption

	<b>EPC/AMX</b>	<b>EPN/AMX</b>	<b>EPArg/AMX</b>
<b>Limite de détection</b>	$2,954.10^{-5}$	$4,9.10^{-7}$	$7,967.10^{-7}$
<b>Limite de quantification</b>	$9,846.10^{-5}$	$1,635.10^{-6}$	$2,656.10^{-6}$

L'électrode de phosphate naturel montre une meilleure limite de détection et de quantification.

**2. Etude comparative des biocapteurs électrochimiques obtenus par mélange en présence des bactéries**

Au cours de l'étude des électrodes modifiées par mélange, l'électrode de pâte de carbone sera abandonnée vu les résultats non concurrentielles par rapport aux deux autres électrodes. Nous ferons la comparaison de celle du phosphate naturel et celle de l'argile.

**a. Etude comparative de l'électroactivité en fonction du pH**

▪ **Milieu neutre**

– **Voltammétrie cyclique**

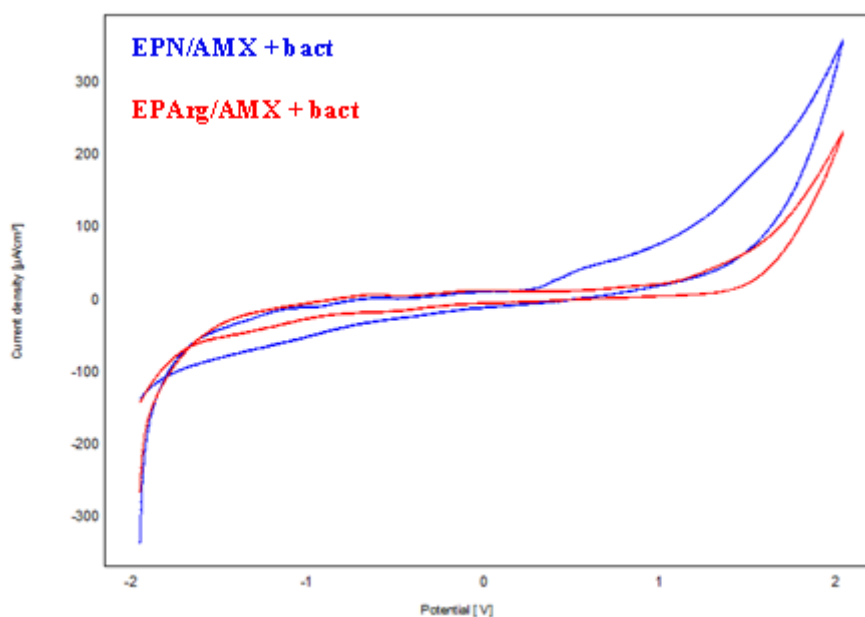


Figure 171: Superposition des voltammogrammes cycliques de EPN/AMX mél. et EPArg/AMX mél. en présence des bactéries dans NaCl à 0,1 M ;  $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ; pH = 7,42

#### – Courbes de polarisation

Les paramètres déduits des courbes de polarisation de EPN/AMX et EPArg/AMX modifiées par l'amoxicilline en présence des bactéries sont inscrits dans le tableau 48.

Tableau 48 : Paramètres déduits des courbes de polarisation de EPN/AMX mél. et EPArg/AMX mél. modifiées par l'amoxicilline en présence des bactéries en milieu neutre

	EPN/AMX	EPArg/AMX
<b>E (<math>i = 0</math>) mV</b>	-1045,6	-938,9
<b>R<sub>p</sub> (kohm.cm<sup>2</sup>)</b>	23,13	51,07
<b>I<sub>p</sub> (µA.cm<sup>2</sup>)</b>	2,3013	0,7372
<b>β<sub>a</sub> (mV)</b>	431,6	257,8
<b>β<sub>c</sub> (mV)</b>	-250,1	-220,9

L'électrode de phosphate naturel modifiée par l'amoxicilline par mélange affiche une meilleure électroactivité en présence des bactéries que celle d'argile en milieu neutre.

#### ▪ Milieu acide

##### – Voltammétrie cyclique

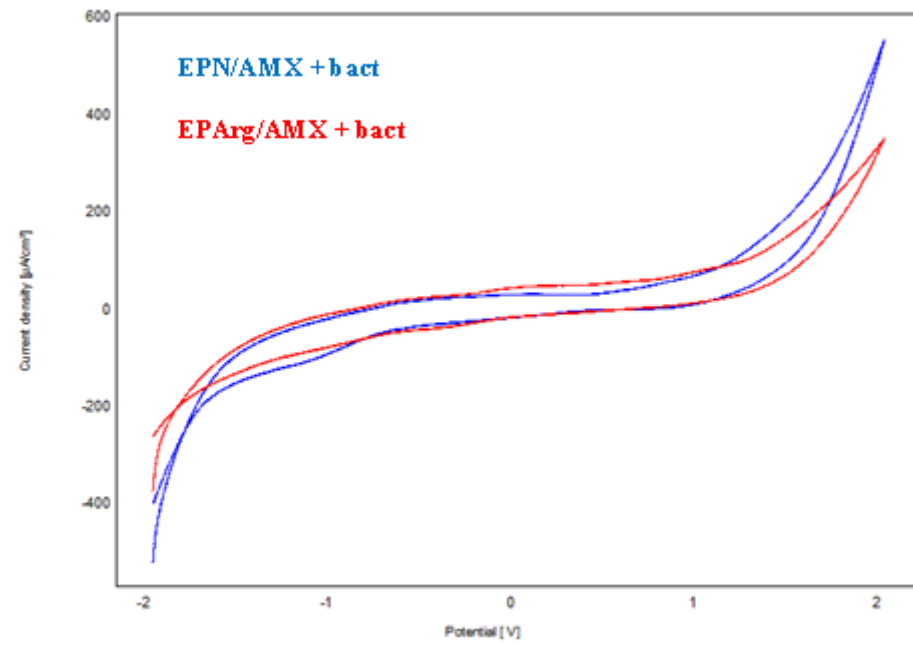


Figure 172 : Superposition des voltammogrammes cycliques de EPN/AMX mél. et EArg/AMX mél. en présence des bactéries dans NaCl à 0,1 M ;  $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ; pH = 4,22

– **Courbes de polarisation**

Les paramètres déduits des courbes de polarisation de EPN/AMX et EArg/AMX modifiées par l'amoxicilline en présence des bactéries sont inscrits dans le tableau 49.

Tableau 49 : Paramètres déduits des courbes de polarisation de EPN/AMX mél. et EArg/AMX mél. modifiées par l'amoxicilline en présence des bactéries en milieu acide.

	<b>EPN/AMX</b>	<b>EArg/AMX</b>
<b>E (i = 0) mV</b>	-866,8	-996,5
<b>Rp (kohm.cm<sup>2</sup>)</b>	9,52	16,32
<b>I<sub>p</sub> (µA.cm<sup>2</sup>)</b>	5,4902	2,6759
<b>β<sub>a</sub> (mV)</b>	329,5	315,2
<b>β<sub>c</sub> (mV)</b>	-359,9	-235,8

L'électrode de phosphate naturel modifiée par l'amoxicilline par mélange affiche une meilleure électroactivité en présence des bactéries que celle d'argile en milieu acide.

▪ **Milieu basique**

– **Voltammétrie cyclique**

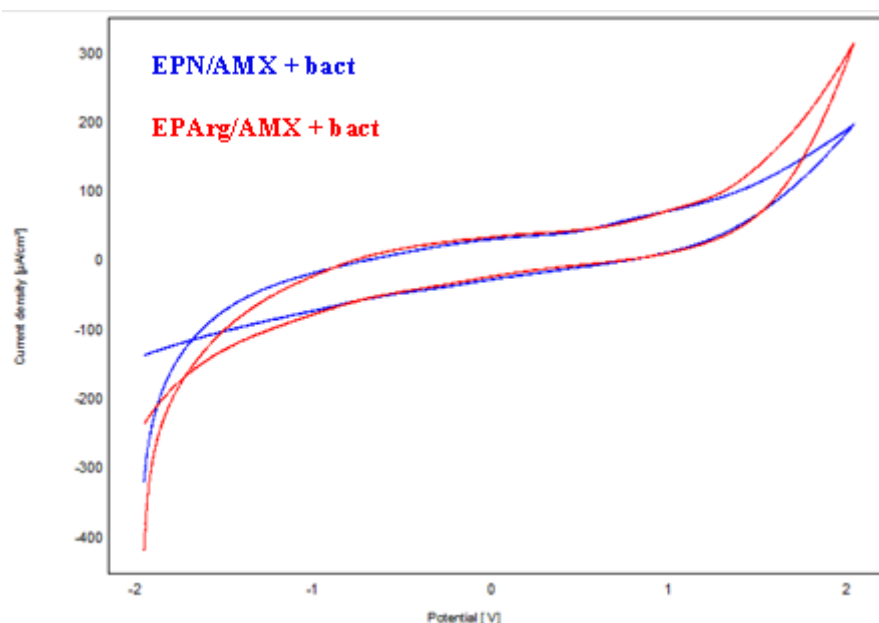


Figure 173: Superposition des voltammogrammes cycliques de EPN/AMX mél. et EPArg/AMX mél. en présence des bactéries dans NaCl à 0,1 M ;  $v = 100\text{mV/s}$ , de -2V à 2V ; pH = 8,68

#### – Courbes de polarisation

Les paramètres déduits des courbes de polarisation de EPN/AMX et EPArg/AMX modifiées par l'amoxicilline en présence des bactéries sont inscrits dans le tableau 50.

Tableau 50 : Paramètres déduits des courbes de polarisation de EPN/AMX mél. et EPArg/AMX mél. modifiées par l'amoxicilline en présence des bactéries en milieu basique.

	EPN/AMX	EPArg/AMX
<b>E (i = 0) mV</b>	-863,0	-834,0
<b>Rp (kohm.cm<sup>2</sup>)</b>	20,50	15,25
<b>I<sub>p</sub> (µA.cm<sup>2</sup>)</b>	3,083	3,5207
<b>β<sub>a</sub> (mV)</b>	443,8	386,7
<b>β<sub>c</sub> (mV)</b>	-359,9	-301,1

Les deux électrodes affichent sensiblement la même électroactivité avec une nette amélioration de celle d'argile en milieu basique.

#### b. Comparaison de la limite de détection et de quantification

Le tableau suivant présente les valeurs exprimant les limites de détection et de quantification de EPN/AMX et EPArg/AMX obtenus par mélange.

Tableau 51 : Comparaison des limites de détection et de quantification de EPN/AMX et EPArg/AMX obtenus par mélange

	EPN/AMX	EPArg/AMX
<b>Limite de détection</b>	$3,80 \cdot 10^{-7}$	$1,514 \cdot 10^{-6}$
<b>Limite de quantification</b>	$1,267 \cdot 10^{-6}$	$5,045 \cdot 10^{-6}$

L'électrode de phosphate naturel montre une meilleure limite de détection et de quantification.

Au terme de notre étude comparative, les électrodes modifiées par adsorption, l'électrode de pâte de carbone donne des résultats plus satisfaisants mais cette forte électroactivité se justifie par l'oxydo-réduction du carbone en régime pur de transfert de charge. Cela se démontre par sa faible limite de détection devant celle du phosphate naturel.

En ce qui concerne celles modifiées par mélange, l'électrode de phosphate naturel affiche de meilleures caractéristiques.

Dans la même lancée, en considérant les interactions entre les électrodes mères et les bactéries, nous pouvons affirmer que l'électrode d'argile est un capteur électrochimique pour la détection des staphylocoques aureus.

Le tableau ci-dessous récapitule les caractéristiques des biocapteurs selon leurs performances.

Tableau 52 : Récapitulatif des caractéristiques des biocapteurs selon leurs performances

	<b>EPC/AMX</b>	<b>EPN/AMX</b>		<b>EPAArg/AMX</b>		<b>EPAArg mère</b>
	<b>adsorption</b>	<b>adsorption</b>	<b>mélange</b>	<b>adsorption</b>	<b>mélange</b>	
<b>Electroactivité en milieu neutre</b>	+		+			+
<b>Electroactivité en milieu acide</b>	+		+			+
<b>Electroactivité en milieu basique</b>	+				+	+
<b>Limite de détection</b>		+	+			+
<b>Limite de quantification</b>		+	+			+



# Conclusion générale

Les travaux présentés dans ce manuscrit avaient pour objectif la réalisation de biocapteur de détection de la bactérie *staphylocoques aureus*. Nous avons proposé des électrodes de pâte de carbone, de phosphate naturel et d'argile, modifiées par l'amoxicilline en utilisant les méthodes d'adsorption et de mélange. On note la simplicité et la reproductibilité de ces réalisations.

Dans ce travail, nous nous sommes intéressés à l'étude de la détection dans des solutions. Cette étude a été réalisée par l'utilisation des techniques de voltammétrie cyclique, linéaire, à ondes carrées et par la spectroscopie d'impédance électrochimique. Les matériaux (carbone graphite, argile, et phosphate naturel) utilisés dans ce travail ont montré un rendement appréciable comme support pour étudier le comportement électrochimique des bactéries à la surface des électrodes supports. En effet, celles-ci ont été modifiées par l'amoxicilline et cette interaction a été d'un apport significatif pour atteindre notre objectif. La molécule d'amoxicilline, jouant le rôle de biorécepteur, à la surface des électrodes synthétisées a été d'une bonne sensibilité aux bactéries à l'étude. Les résultats obtenus nous montrent que les électrodes élaborées sont particulièrement capables de détecter le *staphylocoque aureus* à de faibles densités optiques. Ces électrodes affichent une bonne reproductibilité des résultats, une bonne électroactivité en présence des bactéries dans les milieux acide, neutre et basique et une durée de détection très acceptables. En outre il faut noter que l'électrode d'argile mère (sans modification par l'amoxicilline) a donné des résultats très tolérables dans la détection des bactéries.

La variation de temps de préconcentration dans la solution d'amoxicilline, la concentration de l'antibiotique et le pH du milieu analytique ont conditionnés nos expériences. La bactérie a été détectée à la surface des différentes électrodes dans la fenêtre de potentiel allant de -1 à 0 V. Cette détection s'est exprimée par l'augmentation de la densité de courant pour la caractérisation par la voltammétrie cyclique et à ondes carrées. Une augmentation du courant de polarisation a induit une diminution de la résistance de polarisation lors de la caractérisation par la courbe de polarisation et une diminution du diamètre de la boucle. Ceci est accompagné d'une augmentation de la capacité de la double couche formée à la surface de l'électrode pour la spectroscopie d'impédance électrochimique.

Les biocapteurs élaborés, en plus de détecter les bactéries, développent une autre propriété, celle d'épuratrice, se traduisant par la baisse de la densité optique de la bactérie.

En plus, nous avons pu déterminer par une approche statistique, les limites de détection et de quantification pour chaque biocapteur.

Une étude comparative des biocapteurs a été menée. Il en ressort que l'électrode de phosphate naturel affiche de bonnes performances telles la limite de détection, de quantification vis-à-vis des biocapteurs obtenus par adsorption et par mélange. Pour ce qui concerne les électrodes mères, l'argile a été la seule à montrer des caractéristiques de capteurs électrochimiques.

### **PERSPECTIVES**

Les travaux réalisés ne constituent que les bases indispensables à l'élaboration d'un nouveau biocapteur. Une étude de validation des propriétés de chaque électrode sera menée en perspective. Il serait également intéressant de poursuivre l'étude sur les données cinétiques obtenues sur matériaux massifs ou fonctionnalisés en milieu neutre. Il est à noter l'intérêt d'un tel milieu pour de nombreuses applications en relation avec la biologie ou la médecine.

Nous envisageons aussi élaborer des capteurs électrochimiques pour la détection de certaines bactéries aussi dangereuse que le *Staphylococcus doré*.