

# وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE BADJI MOKHTAR –ANNABA-

FACULTE DES SCIENCES DE  
L'INGENIORAT

Département de Génie des  
procédés



كلية الهندسة

: هندسة

Spécialité : Génie des procédés

## Thèse

*Présentée et soutenue publiquement le 19/10/2017*

*Par*

**TOUATI Amina**

*Pour obtenir le grade de Docteur de l'Université de Badji Mokhtar Annaba*

Thème

**Élaboration de nouveaux capteurs chimiques  
et biocapteurs sélectifs pour la détection du  
Zinc et de l'urée dans les milieux réels**

*Soutenue devant la commission d'examen composée de :*

Prof.	Oualid Hamdaoui	U. Annaba	Président
Prof.	Messaoud Benounis	U. Khenchela	Directeur
Prof.	Rochdi Kherrat	U. Annaba	Co-directeur
Prof.	Hamid Satha	U. Guelma	Examineur
Prof.	Ferkhi Mosbah	U. Jijel	Examineur
Dr.	Riad Khetabi	U. Guelma	Examineur

Je remercie tout d'abord notre **dieu** qui m'adonné la force et la puissance  
pour  
terminer ce modeste travail

J'ai le grand plaisir de dédier ce modeste travail :

A ma très chère **mère**, qui me donne toujours l'espoir de vivre et qui n'a  
jamais cessé de prier pour moi. A la mémoire de mon **père** que dieu est pitié  
de son âme et L'accueil dans son vaste paradis

A Tous ceux que j'aime et je respecte.

A Mes Très Adorables **Frères**

A Mes Très Chères **Sœurs**

A mes **amis**

A tous ceux que me sont chers.....

---

## Remerciements

---

Je tiens à vous remercier infiniment "ALLAH "

Ce travail de thèse a été réalisé principalement au sein de Laboratoire des Capteur, Instrumentations et Procédés (LCIP) de l'Université de Khenchela, Algérie sous la direction de Monsieur **BENOUNIS Messaoud**, Professeur à la Faculté de science et technologie de l'université de Khenchela, en collaboration avec les laboratoires suivants:

- Laboratoire de l'Environnement (LE), Université d'Annaba, sous la direction de Monsieur **KHERRAT Rochdi**, Professeur à l'université d'Annaba.
- Laboratoire de Physique et Chimie des Interfaces, Faculté des Sciences de Monastir, sous la direction de Monsieur **BARHOUMI Houcine**, Professeur à la Faculté des Sciences de Monastir.
- Laboratoire de sciences analytiques, LSA, Université de Claude Bernard -Lyon 1, sous la direction de Mme **Nicole Jaffrezic-Renault**, Directeur de recherche CNRS.

Je tiens, tout d'abord, à remercier très sincèrement le Professeur **BENOUNIS Messaoud**, directeur de thèse, de m'avoir accueilli dans son groupe, pour la liberté qu'il m'a laissée pour réaliser ce travail, pour les nombreux conseils qu'il m'a prodigués ainsi que pour sa gentillesse.

Je présente mes remerciements les plus sincères au Professeur **Rochdi KHARRAT**, d'avoir accepté d'être mon co-directeur et m'avoir accueilli dans son groupe.

Je voudrai exprimer mes vifs remerciements à Monsieur **HAMDAOUI Oualid**, professeur à l'Université d'Annaba, pour avoir accepté la présidence de ce jury. Monsieur **SATHA Hamid**, professeur à l'Université de Guelma, Monsieur **Ferkhi Mosbah**, Professeur à l'Université de Jijel et Monsieur **KHETABI Riad**, Maitre de conférences à l'Université de Guelma, qui m'ont fait le grand plaisir d'accepter de juger ce travail et d'être des examinateurs.

Je remercie vivement Mme **Nicole Jaffrezic-Renault** de m'avoir accueilli durant deux mois de stage au sein de son équipe et de m'avoir permis de travailler dans de bonnes conditions. Je tiens aussi à remercier infiniment Monsieur **Mohammed Braiek** pour ses conseils, son suivie, son professionnalisme et la bonne humeur dont il a fait preuve à mon égard durant ce stage.

Je veux adresser tous mes remerciements à Monsieur **Houcine Barhoumi** Qu'il accepte ma respectueuse considération.

Je tiens à remercier tous mes amis pour leurs encouragements.

Enfin, mes remerciements vont également à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Merci

---

---

# Sommaire

INTRODUCTION GÉNÉRALE .....	15
<i>I. CHAPITRE .....</i>	<i>19</i>
CAPTEURS ÉLECTROCHIMIQUES À ÉLECTRODES DE CARBONE VITREUX MODIFIÉES ET BIOCAPTEURS CONDUCTIMÉTRIQUES .....	19
I.1. Capteur électrochimique à électrode de carbone .....	19
I.1.1. Définition d'un capteur .....	19
I.1.2. Classification des capteurs électrochimiques .....	20
I.1.3. Fonctionnalisation de la surface d'électrode de carbone vitreux .....	21
I.1.4. Synthèse d'ion diazonium .....	24
I.1.5. Modification de l'électrode par EDTA .....	26
I.2. Biocapteurs conductimétriques .....	28
I.2.1. Description du biocapteur .....	28
I.2.2. Techniques d'immobilisation des enzymes .....	32
I.2.3. Electrodes Enzymatiques .....	34
I.2.4. Nanotechnologie et biocapteurs .....	35
I.3. Conclusion .....	36
<i>II. CHAPITRE .....</i>	<i>47</i>
TECHNIQUES D'ANALYSES ÉLECTROCHIMIQUES .....	47
II.1. Introduction .....	47
II.2. Techniques d'analyses électrochimiques .....	47
II.2.1. Voltampérométrie cyclique (VC) .....	47
II.2.2. Expressions mathématiques des courants et des potentiels de pic dans un transfert de charge .....	50
II.2.3. Critères d'analyse et discrimination des différents systèmes .....	51
II.2.4. Facteurs influençant la vitesse de la réaction électrochimique .....	52
II.2.5. Application de la voltampérométrie cyclique dans le domaine de capteur chimique .....	53
II.3. Spectroscopie d'impédance électrochimique (SIE) .....	54
II.3.1. Généralités .....	54
II.3.2. Théorie .....	55
II.3.3. Equilibre du système .....	57
II.3.4. Impédance de différents phénomènes pouvant se produire à l'interface électrode/électrolyte .....	58
II.3.5. Application de la spectroscopie d'impédance électrochimique .....	61
II.4. Voltampérométrie différentielle à onde carrée (SWV) .....	62

---

II.4.1. Application de la voltampérométrie différentielle à onde carrée .....	64
II.5. Conclusion.....	64

**III. CHAPITRE..... 71**

**ÉLABORATION D'UNE NOUVELLE ÉLECTRODE SÉLECTIVE À  
BASE D'EDTA APPLIQUÉE À LA DÉTECTION DES IONS DE ZINC  
DANS LES MATRICES RÉELLES D'ANNABA.....71**

III.1. Introduction.....	71
III.2. Procédure expérimental .....	71
III.2.1. Matériel électrochimique.....	71
III.2.2. Méthodes électrochimiques .....	72
III.2.3. Préparation de l'électrode de carbone vitreux .....	73
III.2.4. Synthèse du sel de diazonium.....	74
III.2.5. Modification de la surface de l'électrode de carbone vitreux.....	75
III.3. Résultats et discussions .....	78
III.3.1. Caractérisation de la surface de CV-EDTA par VC et SIE.....	78
III.3.2. Effet du pH de l'électrolyte support .....	81
III.3.3. Sensibilité et limite de détection du capteur .....	83
III.3.4. Étude de la sélectivité du capteur de zinc .....	84
III.3.5. Application du capteur EDTA-CV à l'analyse réelle .....	87
III.4. Conclusion.....	90

**IV. CHAPITRE..... 94**

**ÉLABORATION D'UN NOUVEAU BIOCAPTEUR  
CONDUCTIMÉTRIQUE À BASE DES NANOTUBES DE CARBONE  
DÉCORÉS PAR DES NANOPARTICULES D'OR SENSIBLE À L'URÉE.....94**

IV.1. Introduction.....	94
IV.2. Procédure expérimental.....	95
IV.2.1. Matériels et méthodes .....	95
IV.2.2. Elaboration d'un biocapteur conductimétrique pour la détection de l'urée .....	95
IV.2.3. Caractérisation conductimétrique du biocapteur enzymatique .....	99
IV.3. Résultats et discussions .....	101
IV.3.1. Temps de réponse.....	101
IV.3.1. Performances du biocapteur.....	102
IV.3.2. Application de biocapteur pour la détection de l'urée dans des échantillons de sang.....	104
IV.4. Conclusion.....	105

---

CONCLUSION GÉNÉRALE.....	109
ANNEXE .....	111

---

## Liste des figures

---

Figure I-1 : Représentation schématique du principe de fonctionnement d'un (bio) capteur.....	20
Figure I-2 : Capteurs ioniques basés sur des méthodes de détection électrochimique.....	21
Figure I-3 : Evolution du nombre annuel de publication ayant « diazonium » pour mot-clé (source : SciFinder) [4]. .....	22
Figure I-4: Evolution de la part des travaux utilisant un diazonium comme agent modification d'électrode (source : SciFinder) [4].....	22
Figure I-5: Schéma réactionnel de la réaction de réduction d'ions diazonium par voie électrochimique [8]. .....	23
Figure I-6: Schéma réactionnel de la synthèse de l'ion diazonium en milieu organique [24].....	25
Figure I-7: Schéma réactionnel de la synthèse de l'ion diazonium en milieu aqueux [24].....	26
Figure I-8: Structure de l'EDTA [28].....	26
Figure I-9: Principe d'un capteur conductimétrique.....	30
Figure I-10 : Transducteur à base d'électrodes interdigitées en Or. ....	30
Figure I-11 : Enzymes : biocatalyseurs les plus utilisés dans la construction de biocapteur.....	31
Figure I-12 : Représentation schématique des différentes méthodes d'immobilisation de l'élément biologique. ...	33
Figure I-13 : Co-réticulation au Glutaraldéhyde. ....	34
Figure II-1 : Cellule électrochimique à trois électrodes.....	48
Figure II-2 : Programmation en tension utilisée en voltampérométrie cyclique pour obtenir le voltampérogramme de la figure II.3 [8].....	49
Figure II-3: Voltampérogramme cyclique d'une solution 6 mM en $K_3Fe(CN)_6$ et 1M en $KNO_3$ [8].....	50
Figure II-4 : Différentes étapes d'une réaction électrochimique générale [3].....	53
Figure II-5 : Schéma de principe d'un montage à trois électrodes.....	54
Figure II-6: Représentation d'un nombre complexe dans l'espace à deux dimensions. ....	56
Figure II-7: Schéma d'un système électrochimique non linéaire soumis à une perturbation sinusoïdale [26]. .....	57
Figure II-8 : Représentation graphique des diagrammes :(a) de Nyquist, et (b) de Bode.....	60
Figure II-9 : Impédance du circuit équivalent de Randles: cas d'une couche de diffusion [32].....	61
Figure II-10 : Variation de potentiel en fonction du temps d'un voltammogramme à onde carrée [55].....	62
Figure II-11 : Voltammogramme à onde carrée pour un système réversible, $I_c$ , $I_f$ et $\Delta I$ représentent respectivement, le courant aller (A), le courant retour (B) et le rapport entre les deux courants $I_c$ , $I_f$ (C) [55]. .....	63
Figure III-1: Montage expérimental potentiostatique à trois électrodes. ....	72
Figure III-2 : Réaction de Synthèse du sel : Nitrobenzène de Diazonium [18]. ....	74
Figure III-3 : Voltampérogramme cyclique d'une électrode de carbone vitreux greffée avec nitrobenzène de diazonium. ....	75

Figure III-4 : Voltampérogramme cyclique à 100 mVs <sup>-1</sup> de réduction des groupements Nitro (NO <sub>2</sub> ) sur la surface d'électrode de CV dans une 0,1M de KCL.....	76
Figure III-5 : Réduction de groupements Nitro (NO <sub>2</sub> ) en groupements Amine (NH <sub>2</sub> ) sur la surface d'électrode de carbone vitreux (AP-CV) [18]......	77
Figure III-6 : Dépôt électrochimique d'EDTA sur la surface d'électrode de carbone vitreux [18].....	78
Figure III-7 : Voltampérogrammes cycliques des électrodes de: (a) CV nue, (b) NP-CV, (c) AP-CV et (d) EDTA-CV, dans une solution de 5 mM [Fe(CN) <sub>6</sub> ] <sup>3-/4-</sup> /0,1 M KCl, vitesse de 100mVs <sup>-1</sup> .....	79
Figure III-8 : Diagramme de Nyquist des électrodes de: (a) CV nue, (b) NP-CV, (c) AP-CV et (d) EDTA-CV. dans une solution de 5 mM [Fe(CN) <sub>6</sub> ] <sup>3-/4-</sup> /0,1 M KCl, avec une gamme de fréquences 100 mHz -100 kHz. ....	81
Figure III-9 : Courbes de SWV de sensibilité de capteur EDTA-CV aux ions Zn <sup>2+</sup> de concentrations variées entre 2,5E-12 à 1,98 E-07 g L <sup>-1</sup> dans une solution tampon composée : (a)d'acétate et d'acide acétique à pH 4,5 et (b) PBS à pH 7.....	82
Figure III-10 : Intensité maximale de courant des courbes de SWV en fonction de la concentration de Zn <sup>2+</sup> (2,5 E-12 à 1,98 E-07 g L <sup>-1</sup> ) dans une solution tampon composée : (a)d'acétate et d'acide acétique à pH 4,5 et (b) PBS à pH 7.....	83
Figure III-11 : Courbes de calibration du capteur. Détection des ions Zn <sup>2+</sup> à différentes concentration dans une solution tampon composée d'acétate et d'acide acétique à pH 4,5. ....	84
Figure III-12 : Courbes de SWV de sensibilité de capteur EDTA-CV aux ions : a) Zn <sup>2+</sup> , b) Pb <sup>2+</sup> , c) Cu <sup>2+</sup> et d) Cd <sup>2+</sup> , de concentrations variées entre 2,5E-12 à 1,98 E-07 g L <sup>-1</sup> , dans une solution tampon composée d'acétate et d'acide acétique à pH 4,5.....	85
Figure III-13 : Intensité maximale de courant des courbes de SWV en fonction de concentration de Zn <sup>2+</sup> , Cu <sup>2+</sup> , Pb <sup>2+</sup> et Cd <sup>2+</sup> , dans une solution tampon composée d'acétate et d'acide acétique à pH 4,5.....	86
Figure III-14 : Courbes d'étalonnage de SWV du capteur EDTA-CV pour les ions: Zn <sup>2+</sup> , Cu <sup>2+</sup> , Pb <sup>2+</sup> et Cd <sup>2+</sup> , dans une solution tampon composée d'acétate et d'acide acétique à pH 4,5. ....	87
Figure III-15 : Position géographique des sites d'échantillonnage.....	88
Figure III-16 : Courbes de SWV de sensibilité de capteur EDTA-CV aux ions Zn <sup>2+</sup> dans les matrices réelles de ANNABA : a) PORT, b) ASMIDAL et c) SIDI SALEM dans une solution tampon composée d'acétate et d'acide acétique à pH 4,5. ....	89
Figure IV-1 : Photographie des électrodes interdigitées en Or. ....	95
Figure IV-2 : Fonctionnalisation des MWCNTs par oxydation dans des milieux acides.....	97
Figure IV-3 : Image TEM de surface nanotubes de carbone décorés par des nanoparticules d'or en présence de HAuCl <sub>4</sub> et THPC [17].....	98
Figure IV-4 : Schéma d'immobilisation d'enzyme de l'uréase sur la surface d'électrode. ....	99
Figure IV-5 : Vue générale du dispositif de mesure conductimétrique.....	101
Figure IV-6 : Représentation schématique des mesures conductimétriques [24]. ....	100
Figure IV-7 : Réponse de microélectrode à différentes concentrations de l'urée dans un tampon de 5 mM de phosphate de potassium à pH 7,4.....	101
Figure IV-8: Courbe de calibration du biocapteur conductimétrique de l'urée dans un tampon de phosphate de potassium de concentration de 5 mM et pH 7,4.....	102
Figure IV-9 : Corrélation entre les concentrations d'urée ajoutées au sérum et les valeurs mesurées par notre capteur conductimétrique.....	104

---

## *Liste des tableaux*

---

Tableau III-1 : Protocole de polissage et rinçage d'une électrode de carbone vitreux [1].....	74
Tableau III-2 : Performances de quelques capteurs chimiques pour la détection du Zinc.....	84
Tableau III-3 : Application de capteur EDTA-CV pour la détection des ions $Zn^{2+}$ dans des eaux de surface et des eaux de mer, prélevés dans différents sites de la région d'Annaba.....	88
Tableau IV-1 : Performances analytiques de quelques biocapteurs pour la détection de l'urée.....	103

---

---

## *Listes des Acronymes et Symboles*

---

### Acronyme

<b>Acronyme</b>	<b>Signification</b>
<b>AuNPs</b>	Nanoparticules d'or
<b>BSA</b>	Albumine de Sérum Bovin
<b>CCFs</b>	Fragments de carbone carboxylés
<b>CEI</b>	Commission Electrotechnique Internationale
<b>CRSTRA</b>	Centre de Recherche Scientifique et Technique sur les Régions Arides
<b>CV</b>	Carbone vitreux
<b>ECS</b>	Electrode au Calomel Saturé
<b>ECV</b>	Electrode de Carbone Vitreux
<b>EDC</b>	N-(3-Diméthylaminopropyl)-N -ethylcarbo-diimide
<b>EDTA</b>	Éthylène Diamine Tétra-Acétique
<b>GA</b>	Glutaraldéhyde
<b>LCIP</b>	Laboratoire des Capteurs, Instrumentations et Procédés
<b>LPCI</b>	Laboratoire de Physique et Chimie des Interfaces
<b>LOD</b>	Limite De Détection
<b>LSA</b>	Laboratoire de Sciences Analytiques
<b>MWCNT-AU-COOH</b>	Nanotubes de carbone décorés par nanoparticule d'or
<b>MWCNTs</b>	Nanotubes de carbone multi parois
<b>NHS</b>	N-Hydro-xysuccinimide
<b>NP</b>	4-Nitrophényle
<b>NTCs</b>	Nanotubes de Carbone
<b>P-NBD</b>	Para -Nitrobenzène de Diazonium
<b>PBS</b>	Tampon de Phosphate
<b>PNR</b>	Projet National de Recherche
<b>SiC</b>	Carbure de silicium
<b>SIE</b>	Spectroscopie d'Impédance Electrochimique
<b>SPR</b>	Résonance de Plasmonique de Surface
<b>SWCNTs</b>	Nanotubes de Carbone mono paroi
<b>SWV</b>	Voltampérométrie à Onde Carrée
<b>TEM</b>	Microscopie électronique en transmission
<b>THPC</b>	Chlorure de tétrakis (hydroxyméthyl) phosphonium
<b>VC</b>	Voltampérométrie Cyclique

## Symboles

Symbole	Signification	Dimension usuelles
<b>A</b>	Aire de l'électrode	$\text{cm}^2$
<b>C</b>	Concentration de l'espèce en solution	$\text{mol m}^{-3}$
<b>C<sub>Ox</sub></b>	Concentrations des espèces oxydées en solution	$\text{mol cm}^{-3}$
<b>C<sub>dl</sub></b>	Capacité de la double couche	$\mu\text{F cm}^{-2}$
<b>C<sub>red</sub></b>	Concentrations des espèces réduites en solution	$\text{mol cm}^{-3}$
<b>D</b>	Coefficient de diffusion	$\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$
<b>E<sub>0</sub></b>	Potentiel standard	V
<b>E<sub>pc</sub>, E<sub>pa</sub></b>	Potentiel de pic cathodique et anodique	V
<b>E<sub>0.5</sub>, E<sub>0.5</sub></b>	Potentiel à mi-hauteur des pics cathodique et anodique	V
<b>E<sub>eq</sub></b>	Potentiel d'équilibre	V
<b>F</b>	Constante de Faraday	$\text{C mol}^{-1}$
<b>G</b>	Conductance	S
<b>I</b>	Intensité du courant	A
<b>I<sub>c</sub></b>	Courant capacitif	A
<b>I<sub>f</sub></b>	Courant faradique	A
<b>I<sub>pc</sub>, I<sub>pa</sub></b>	Courant de pic cathodique et anodique	A
<b>J</b>	Densité de courant	$\text{A cm}^{-2}$
<b>k<sub>ca</sub>, k<sub>cc</sub>, k<sub>cs</sub></b>	Constant de vitesse	$\text{cm s}^{-1}$
<b>l</b>	longueur de la section	cm
<b>n</b>	Nombre d'électrons	sans unité
<b>Ni</b>	Quantité de matière électrolysée	mol
<b>Q</b>	Quantité d'électricité	C
<b>R<sub>s</sub></b>	Résistance d'électrolyte	
<b>R<sub>tc</sub></b>	Résistance de transfert de charge	
<b>R<sub>sol</sub></b>	Résistance de solution	
<b>V</b>	Vitesse de balayage	$\text{V s}^{-1}$
<b>Z</b>	Nombre complexe	sans unité
<b>Z<sub>im</sub></b>	Impédance imaginaire	
<b>Z<sub>re</sub></b>	Impédance réelle	
<b>Z<sub>w</sub></b>	Impédance de Warburg	
<b>ΔE<sub>p</sub></b>	Différence de potentiel entre E <sub>pc</sub> et E <sub>pa</sub>	A
	Coefficient de transfert	sans unité
	Conductance (conductivité) spécifique caractéristique du corps	$\text{S cm}^{-1}$
	Fréquence radiale	$\text{rad s}^{-1}$

---

# INTRODUCTION GÉNÉRALE

---

Ces dernières années, l'élaboration de capteurs chimiques et biocapteurs enzymatiques a suscité un grand nombre de travaux par contribution de nombre important des ionophores chimiques et enzymatiques. Leur contribution permet d'élargir l'application de ces (bio)capteurs dans des domaines différents, surtout dans le domaine de la protection de l'environnement et la détection des polluants.

**Le zinc**, est un élément naturellement présent dans l'environnement, il est par conséquent un élément essentiel pour toute forme de vie, depuis le plus petit micro-organisme jusqu'à l'être humain. Le zinc est la substance la plus utilisée dans l'organisme et l'industrie. Présent en excès dans la nature, cette substance provoque de sérieux problèmes de santé (difficulté à marcher ; troubles de l'élocution ; tremblements ; nausées, vomissements).

**L'urée** est une molécule qui résulte d'un processus de dégradation des protéines. C'est la forme principale d'élimination des déchets azotés, par l'urine. C'est l'azote des protéines qui, combiné avec des molécules produites par le foie, constitue l'urée. La détection de l'urée dans le sang permet, d'évaluer la fonction rénale, particulièrement la présence d'une insuffisance rénale. Il est aussi prescrit pour surveiller la fonction rénale des personnes atteintes de diabète ou ayant subi un infarctus du myocarde. En effet, lorsque les reins ne fonctionnent plus normalement, il y a une augmentation dans le sang des concentrations d'urée. Certaines pathologies du foie peuvent également affecter le taux d'urée dans le sang.

Le besoin en détecteurs sensibles et sélectifs de ces composés (le zinc et l'urée) est d'une importance cruciale. Ce besoin qu'entraîne la croissante sévérité des normes dans tous les domaines (environnement, industrielle, alimentation, pharmacie, médical, et sécurité domestique ...) a incité les scientifiques à développer des techniques électrochimiques d'analyse et de détection de ces substances de plus en plus performante.

En égard, à leur sélectivité, à leur sensibilité de la détection des polluants, faible coût, possibilité d'utilisation sur site, et à leur rapidité ; les (bio) capteurs constituent des matériaux de choix pour l'application de la protection de l'environnement et la détection des polluants. Ceux-ci sont pour cette raison la demande d'élaboration des ces capteurs a considérablement augmenté. Cet intérêt est essentiellement dû aux considérations environnementales, de sécurité, de contrôle de procédé ou de diagnostic médical rapide. Les capteurs sont en général constitués d'une partie sélective (couche sensible), et d'un système transducteur transformant en signal électrique les modifications physicochimiques induites par les interactions se produisant dans la couche

---

---

sensible [1].

Ce travail, accorde une importance particulière au suivi permanent de forte sensibilité de détection de polluants chimique à l'état de traces et de mesure de leur concentration très faible dans l'eau et dans le milieu réel avec une propriété de sélectivité de détection de ces polluant parmi les autres polluants.

A cause de la grande capacité de fonctionnalisation en surface, par greffage de molécules soufrées ou aminées de molécules biologiques, les matières carbonées constituent un matériau de choix pour le développement des capteurs. Les électrodes à base de carbone occupent une position importante dans l'électro-analyse tant par leur faible coût et leur mise en œuvre aisée que par leurs performances électrochimiques en analyses organiques et inorganiques [2].

Cependant, notre objectif était de développer deux types de capteurs, et qui rentre dans le cadre d'un projet national de recherche (PNR) [3]. Le premier est un capteur sélectif pour les ions du Zinc basé sur le greffage électrochimique du sel de diazonium plus l'EDTA sur la surface d'électrode de carbone vitreux. Ce capteur testé dans le milieu réel. Le deuxième volet est une étude d'élaboration d'un micro biocapteur conductimétrique à base des nanotubes de carbone décorés par des nanoparticules d'or pour la détection de l'urée. L'élaboration des capteurs a été réalisée principalement au sein du Laboratoire des Capteurs, Instrumentations et Procédés (LCIP) de l'Université de Khenchela (Algérie) en collaboration avec les Laboratoire de Physique et Chimie des Interfaces(LPCI) (Université de Monastir, Tunisie) et de Génie de l'Environnement (Université de Annaba). La mise au point de biocapteurs a été effectuée au Laboratoire de Sciences Analytiques (LSA), Université de Claude Bernard Lyon 1.

Cette thèse s'organise en quatre chapitres.

Le premier chapitre subdivisé en deux parties; la première présente une étude générale sur les capteurs électrochimiques basés sur le greffage du sel de diazonium sur les électrodes carbonés pour la détection des ions du Zinc dans les solutions aqueuses et dans les milieux réels, la deuxième basée sur les biocapteurs conductimétriques élaborés par une modification de la surface d'électrodes par des nanomatériaux (nanotubes de carbone et nanoparticules d'Or), et l'immobilisation enzymatique.

Les développements réalisés jusqu'à présent sont présentées dans ce chapitre.

Le deuxième chapitre présente les bases théoriques des techniques d'analyses utilisées : la spectroscopie d'impédance (SIE), la voltampérométrie cyclique (VC), la voltampérométrie à onde carrée et la conductimétrie (SWV).

Les conditions expérimentales, les modes opératoires, la conception du capteur chimique et les résultats du travail effectué sont présentés dans le troisième chapitre. L'influence des

---

---

interférences dans les milieux de mesures, la sensibilité, la sélectivité et la limite de détection sont aussi étudiées.

Dans le dernier chapitre nous allons présenter la détection de l'urée en utilisant un biocapteur conductimétriques à base de nanotubes de carbone décorés par des nanoparticules d'or avec une immobilisation de l'enzyme de l'uréase sur la surface de micro électrode interdigitée. Des testes en milieux réels ont été réalisés avec une grande sensibilité (détection de l'urée dans le sang).

Nous finirons ce manuscrit par une conclusion générale reprenant les démarches et les résultats importants.

---

## Références bibliographiques de l'introduction générale

**[1] Benoit Torbiero,**

Développement de microcapteurs électrochimiques pour l'analyse en phase liquide, thèse de Doctorat de l'Institut National des Sciences Appliquées de Toulouse, 2006. Français. <tel-00126683> (<https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00126683>).

**[2] C. Urbaniczky et K. Lundstrom,**

Voltammetric studies on carbon paste electrodes: The influence of paste composition on electrode capacity and kinetics, J. Electroanal. Chem., 1984, Vol. 176(1-2) pp. 169-182.

**[3] Messaoud Benounis,**

Elaboration de nouveaux capteurs appliqués au contrôle et l'analyse des métaux lourds dans l'eau, Projet PNR, CRSTRA (2011) code : 4/u40/4264.

---

## CHAPITRE .I

# CAPTEURS ÉLECTROCHIMIQUES À ÉLECTRODES DE CARBONE VITREUX MODIFIÉES ET BIOCAPTEURS CONDUCTIMÉTRIQUES

---

### I.1. Capteur électrochimique à électrode de carbone

L'intérêt porté aux capteurs électrochimiques ne cesse de croître, stimulé par leurs nombreuses applications, surtout dans le domaine de la protection de l'environnement et la détection des polluants. Grâce à leur rapidité, leur simplicité, leurs petites dimensions et leur faible coût par rapport aux techniques "lourdes" d'analyse de l'eau. L'électrode de carbone vitreux a pris un rôle très important pour le développement des capteurs électrochimiques sélectifs et sensibles appliqués à la protection de l'environnement et la détection des polluants, à cause de leur résistance élevée à la flexion, leur faible densité, leur résistance à la corrosion aux agents chimiques exceptionnellement élevée, et leur bonne résistance aux chocs thermiques.

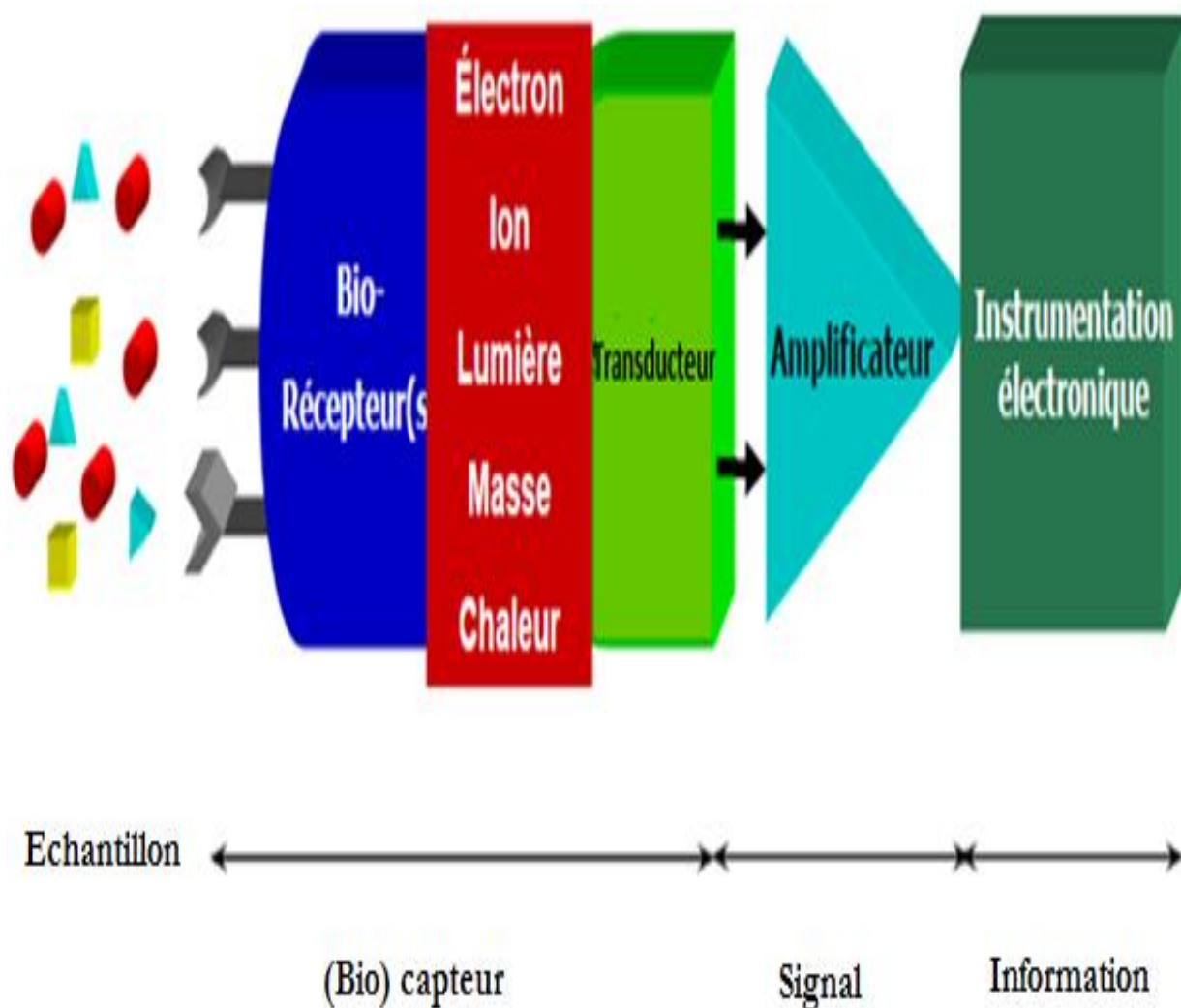
Dans cette partie d'étude, une recherche bibliographique approfondie sur les capteurs électrochimiques à base d'électrode de carbone vitreux modifiées pour la détection des ions du Zinc. L'électro-greffage du sel de diazonium sur la surface d'électrode de carbone vitreux et la fonctionnalisation de sa surface par l'ETDA pour la détection des ions métalliques ont été étudiés et discutés.

#### I.1.1. Définition d'un capteur

Un (bio) capteur est un dispositif analytique conçu pour transformer un phénomène (bio) chimique en un signal mesurable. Il combine d'un composant chimique ou biologique appelé "(bio) récepteur" et un "transducteur" représentant le mode de détection.

La « **Figure I-1** » présente le principe de fonctionnement d'un (bio) capteur permettant d'obtenir, à partir de l'espèce à détecter dans un échantillon, toute information utile à son évaluation.

Cette donnée pourra être traitée, enregistrée, stockée pour utilisation ultérieure [1].



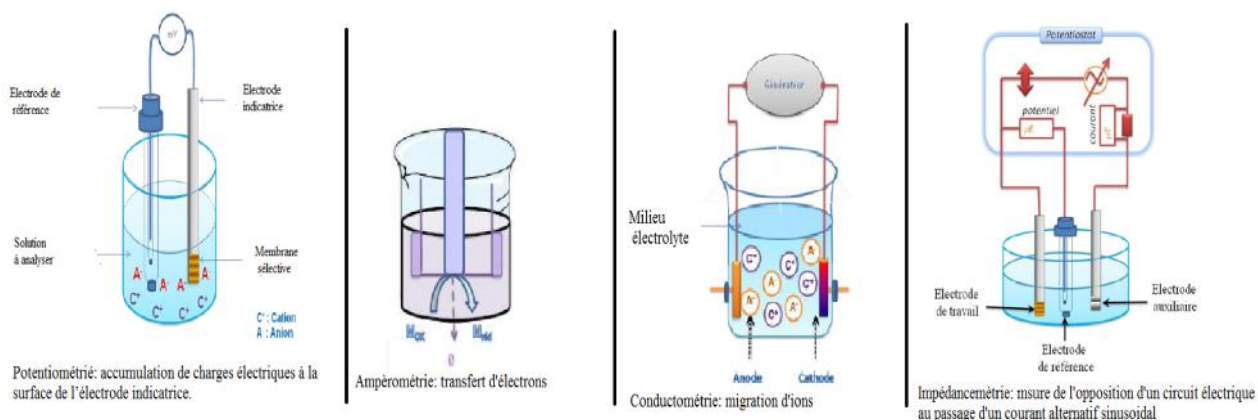
**Figure I-1** : Représentation schématique du principe de fonctionnement d'un (bio) capteur.

### I.1.2. Classification des capteurs électrochimiques

Les capteurs chimiques sont soit des capteurs d'espèces ioniques ou moléculaires en solutions soit des capteurs d'espèces gazeuses.

Les capteurs d'espèces ioniques sont basés sur des méthodes de détection électrochimique et classés en quatre catégories « **Figure I-2** », suivant leur mode de détection. Ce sont :

- Les capteurs potentiométriques : basés sur une mesure de potentiel ;
- Les capteurs ampérométriques : basés sur une mesure de courant ;
- Les capteurs conductimétriques : basés sur la mesure de conductance d'une solution électrochimique.
- Les capteurs impédimétriques : basés sur la mesure de l'impédance d'une cellule électrochimique par la technique de spectroscopie d'impédance.



**Figure I-2** : Capteurs ioniques basés sur des méthodes de détection électrochimique.

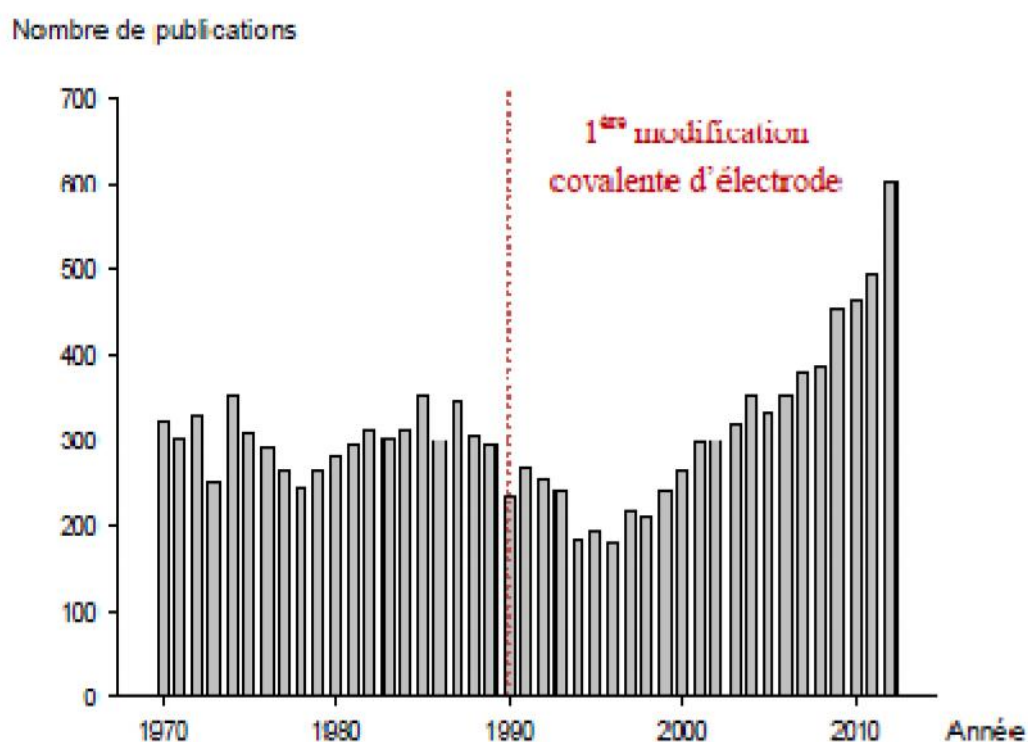
Les performances des capteurs sont caractérisées par différents paramètres. Les principaux sont les suivants :

- La sensibilité : lien entre les variations de signal du capteur et la concentration en espèce cible ;
- La stabilité : la reproductibilité dans les mêmes conditions de réponse ;
- La limite de détection : concentration minimale détectable en espèce cible ;
- La sélectivité : la capacité de détection à détecter l'espèce cible parmi les autres espèces ;
- Le temps de réponse : temps requis pour atteindre 90 % de la réponse en régime après mise en contact avec l'espèce cible à détecter ;
- La durée de vie : période pendant laquelle les caractéristiques du capteur permettent son utilisation avec un degré de précision suffisant.

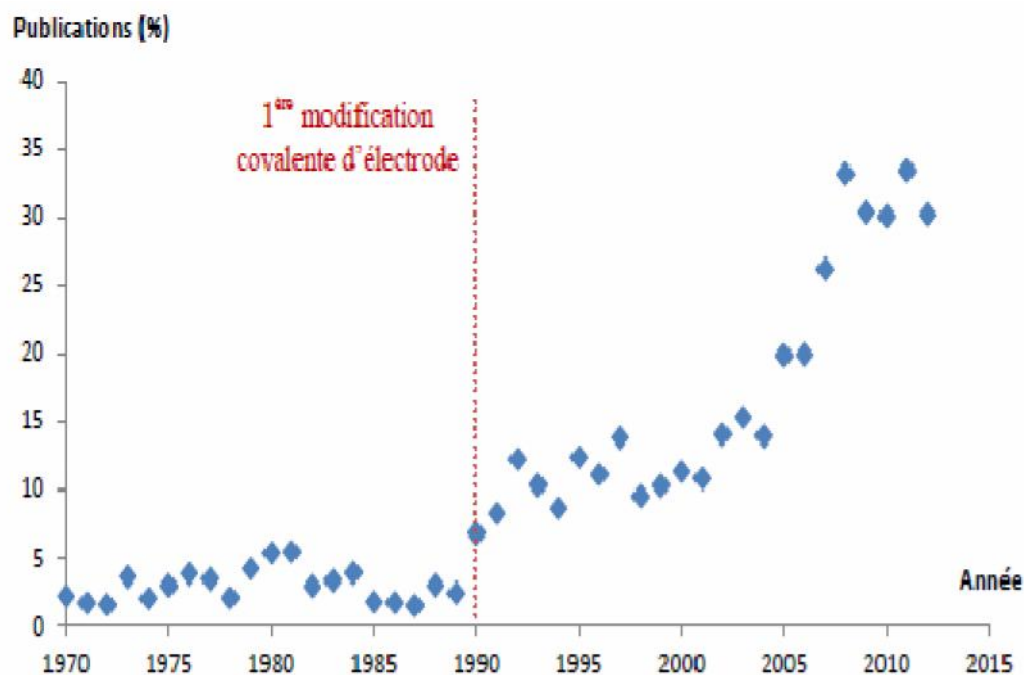
### I.1.3. Fonctionnalisation de la surface d'électrode de carbone vitreux

Il existe différentes méthodes de fonctionnaliser une surface d'électrode de carbone vitreux (CV) pour lui conférer une charge négative ou positive, plus douces, permettent le greffage de groupes organiques spécifiques : il s'agit de méthodes d'oxydation électrochimique, d'alcools, de carboxylates, d'amines primaires et secondaires, d'hydrazides ou encore de réduction des sels de diazonium, cette dernière permet la détection sélective de certains solutés. Le nombre de travaux utilisant un diazonium a connu une croissance très nette « **Figure I-3** » de manière concomitante avec la part de ceux concernant un protocole de modifications d'électrode « **Figure I-4** ». Cette

évolution traduit donc une méthode en pleine expansion [2, 3].



**Figure I-3 :** Evolution du nombre annuel de publication ayant « diazonium » pour mot-clé (source : SciFinder) [4].

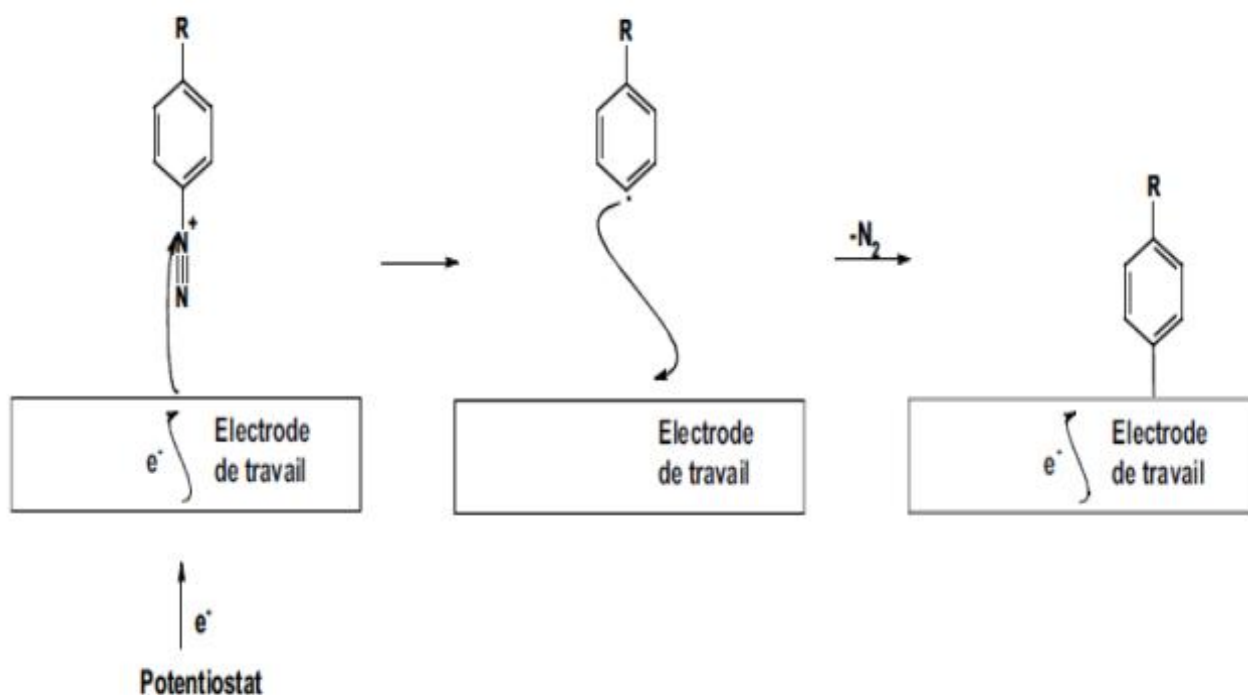


**Figure I-4:** Evolution de la part des travaux utilisant un diazonium comme agent modification d'électrode (source : SciFinder) [4].

### I.1.3.1. Réduction électrochimique d'un sel de diazonium

Une méthode employée très souvent pour fonctionnaliser la surface des électrodes de carbone est de réduire les sels de diazonium de façon électrochimique. Elle permet de former une liaison covalente entre la couche fonctionnelle et l'électrode de travail. Ces systèmes possèdent une haute stabilité et une grande variété de groupements fonctionnels. Cette méthode a été découverte au début des années 90 par Delamar et *al.* [5] et appliquée aux substrats tels que le carbone, les métaux, les semi-conducteurs en milieu aqueux acide mais peut également être réalisée en milieu aprotique [5, 6] tel que l'acétonitrile. Le mécanisme de cet électro-greffage a été éclairci par Andrieux et Pinson [7], ce mécanisme met en jeu un transfert d'électron vers le sel de diazonium ce qui entraîne le clivage de l'azote lors de la réduction conduisant à la formation d'un radical aryle, puis la formation d'une liaison covalente carbone-carbone ou carbone-métal. Une couche organique homogène et robuste liée à la surface d'électrode de façon covalente se forme lorsque la réduction du diazonium se prolonge. Les électrons circulent dans le matériau d'électrode et sont capables de réduire les ions diazoniums présents à proximité de l'électrode.

La « **Figure I-5** » schématise le mécanisme de greffage électrochimique sur une surface l'électrode de travail.



**Figure I-5:** Schéma réactionnel de la réaction de réduction d'ions diazonium par voie électrochimique [8].

Les moyens mis en œuvre consistent généralement en un système électrochimique à trois électrodes contrôlé par un potentiostat. Il est alors possible de réaliser le greffage par chrono-ampérométrie ou voltampérométrie cyclique. La voltampérométrie cyclique permet de suivre la réaction au cours de la variation linéaire de potentiel afin de connaître les spécificités de l'échange électronique. La réduction des ions diazoniums se traduit par un pic de courant lors du premier cycle électrochimique qui n'apparaît pas, ou dans une faible mesure, lors des cycles suivants, signe que la surface est alors recouverte d'une couche organique. Cette disparition du pic de courant de réduction intervient lorsqu'une première couche de molécules est greffée, le transfert d'électron est rendu difficile, puisque la distance séparant le matériau conducteur d'électrons et l'électrolyte contenant les ions diazoniums augmente. Un apport continu en électrons permet de faire croître la couche greffée en imposant par exemple, un potentiel inférieur à celui de la réduction du diazonium ou en augmentant la durée de la réduction [8]. Certains travaux relatent la construction d'un capteur suivant cette méthode plus récente [8-13]. Une de ces stratégies utilise l'électrochimie pour greffer de façon covalente des groupements chimiques particuliers sur la surface de carbone vitreux [14 - 18].

#### ➤ Avantages d'électro-greffage

La réduction par voie électrochimique de phényldiazonium sur un substrat carboné est intéressante car :

- Le greffage électrochimique de sel de diazonium est très rapide, et il est capable de résister à des températures élevées et aux conditions chimiques dures [19].
- Le greffage du sel de diazonium sur un substrat donne une grande variété de groupements fonctionnels (COOH, NO<sub>2</sub>, OH ...) sur la surface [20].
- Les seuls moyens de la retirer restent le polissage abrasif ou des attaques radicalaires [21, 22].
- la couche organique est très stable, en raison de la nature covalente de la liaison formée [23].

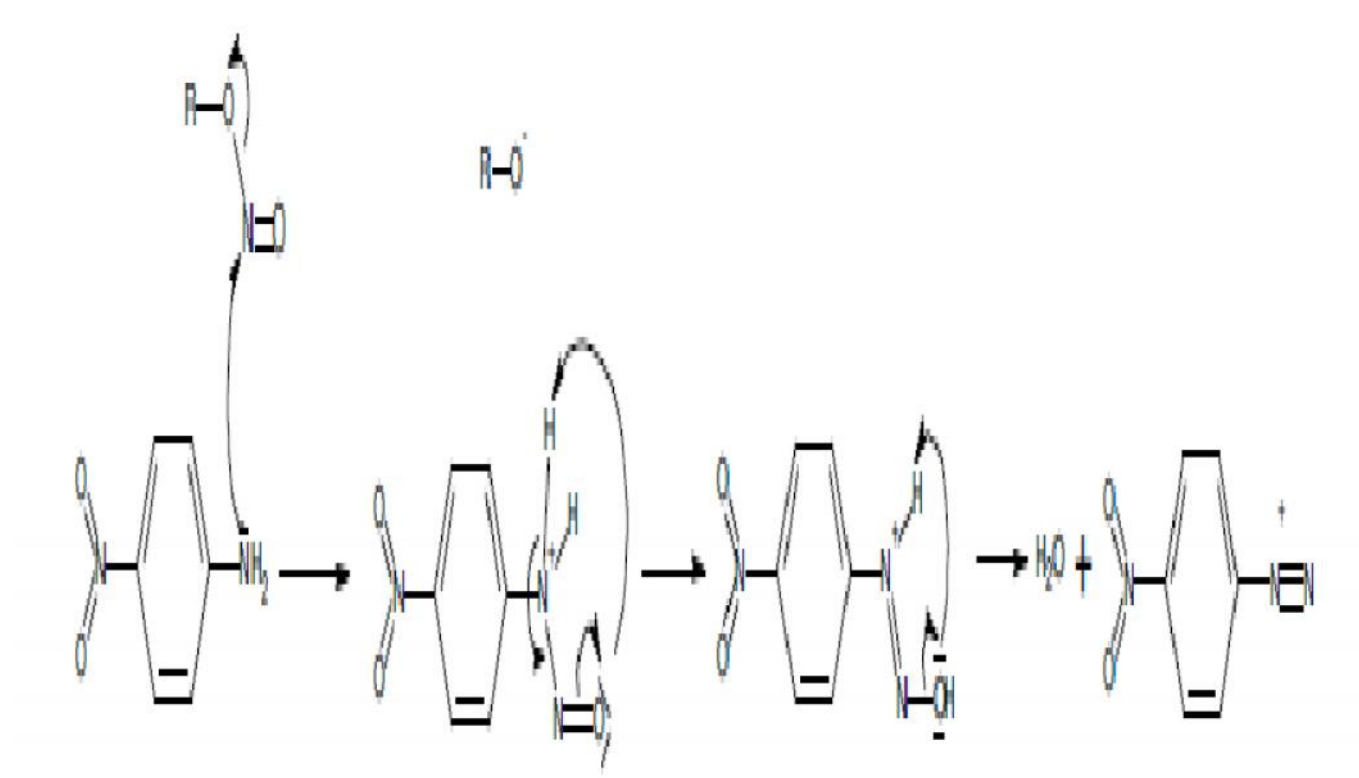
#### I.1.4. Synthèse d'ion diazonium

La méthode la plus utilisée pour la préparation de sels de diazonium est le traitement des amines aromatiques telles que l'aniline ou ses dérivés avec des composés nitrites en milieu aqueux ou organiques. En solution aqueuse, ces sels sont instables à des températures supérieures à +5 ° C, les groupes N<sub>2</sub><sup>+</sup> tendent à former de l'azote sous forme gazeux. Il est possible de stabiliser les composés en leur adjoignant un contre-ion tétrafluoroborate, l'ion diazonium est alors stable à

température ambiante, les ions ainsi formés peuvent être stockés pour une utilisation ultérieure. Il est également possible d'utiliser les ions diazonium directement après leurs synthèses, sans étape de stabilisation, l'ion diazonium est alors un intermédiaire réactionnel pour une autre réaction [24].

#### I.1.4.1. Synthèse en milieu organique

Lors de la réaction de synthèse en milieu organique, il est classique d'utiliser l'acétonitrile, ce solvant ayant une fenêtre électrochimique suffisamment large pour mener les opérations successives d'oxydation de l'amine puis de réduction de l'ion diazonium [25]. La « **Figure I-6** » rend compte du mécanisme de réaction qui prend place.

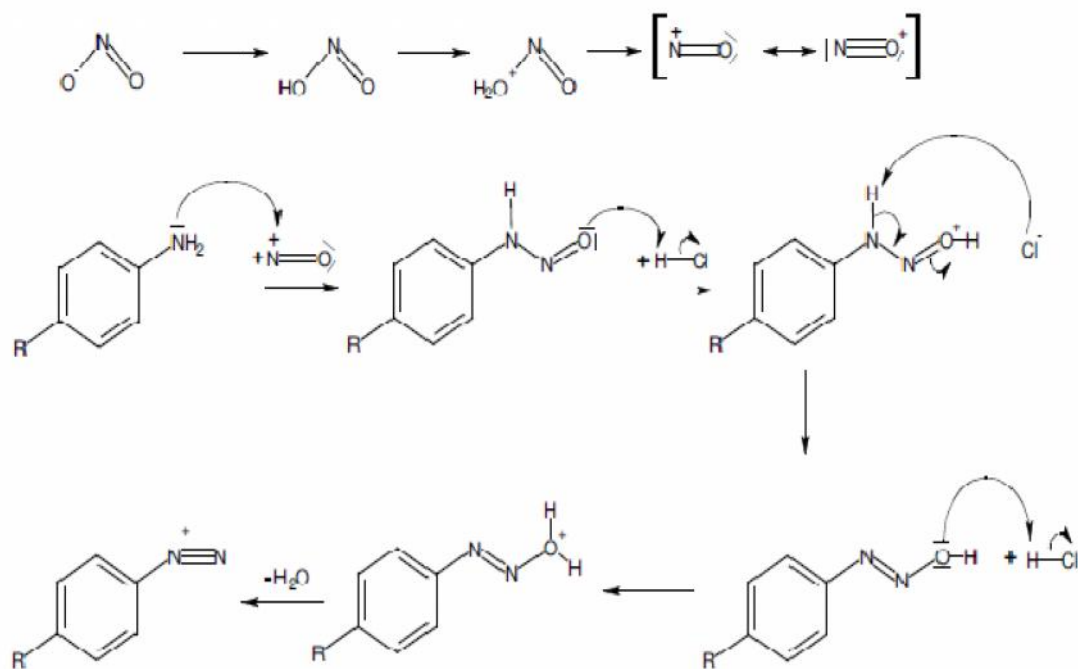


**Figure I-6:** Schéma réactionnel de la synthèse de l'ion diazonium en milieu organique [24].

#### I.1.4.2. Synthèse en milieu aqueux

Le travail en milieu aqueux nécessite d'évoluer à faible pH afin de former, à partir des ions nitrite, des ions Nitrosonium qui sont des molécules plus réactives et améliorent donc grandement la cinétique de réaction [26, 27]. Dans ce cas, le mécanisme de réaction est présenté sur la « **Figure I-6** ».

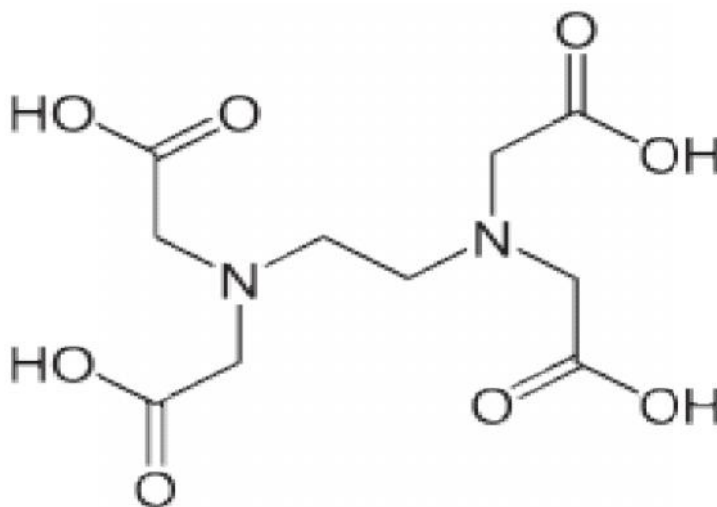
Les ions diazoniums ainsi formés peuvent être utilisés *in situ*, c'est à dire directement après leurs synthèses en solution, où ils peuvent être stockés et être utilisés ultérieurement [24].



**Figure I-7:** Schéma réactionnel de la synthèse de l'ion diazonium en milieu aqueux [24].

### I.1.5. Modification de l'électrode par EDTA

L'Acide éthylène diamine tétraacétique (EDTA) comporte six sites basiques, quatre correspondant aux bases conjuguées (carboxylates) des fonctions carboxyliques et deux correspondant aux fonctions amines.



**Figure I-8:** Structure de l'EDTA [28].

---

Ces sites basiques sont également des centres ligands, faisant de l'EDTA un ligand hexadentate (ou parfois tétradentate, lorsque seuls les sites carboxyliques sont utilisés). C'est d'ailleurs sa principale caractéristique, son fort pouvoir chélatant (ou complexant) par lequel il forme des complexes métalliques très stables. Dans les complexes, l'EDTA est lié aux cations métalliques sous la forme d'une de ses bases conjuguées [28].

Les dérivés de l'Acide éthylène diamine tétra-acétique (EDTA) sont en effet largement utilisés pour leurs excellentes propriétés de complexations vis-à-vis des cations métalliques [29] dans les domaines de la chimie analytique [30-32], de la biologie [33-37] ou de la médecine [38-45] mais aussi dans les processus industriels [46]. Quelques matériaux complexant d'électrode préparés par fonctionnalisation chimique de l'EDTA sur la surface de différents matériaux de support [47-55], ces matériaux ont été appliqués à la détection ou l'adsorption d'ions métalliques lourds.

La modification de surface de carbone vitreux par l'EDTA a été rapportée dans la littérature, et pouvait être utilisée pour la détection des ions métalliques. Une électrode modifiée par un polymère conducteur lié de l'EDTA a été utilisée pour complexer des ions métalliques, tels que Pb (II), Cu (II) et Hg (II) [56]. Des électrodes modifiées par des films de poly (pyrrole- EDTA) complexant, électrodéposés sur électrode de carbone, ont été utilisées pour la détection et la quantification de traces de métaux lourds en milieux aqueux, tels que Cu(II), Pb(II) et Cd (II) [57]. Une électrode à disque tournante en carbone vitreux modifiée par un film bismuth-EDTA a été utilisée pour la détection des ions de Fe(II) [58].

Üstünda et al [59] ont élaboré un capteur chimique (EDTA-CV) sensible aux ions Pb (II) par un greffage électrochimique du sel de diazonium sur la surface d'électrode de carbone vitreux, puis la surface d'électrode a été fonctionnalisée par un film d' EDTA-phénoxyamide, La complexation des ions Pb (II) sur la surface de capteur élaboré (EDTA-CV) a été étudiée à pH 4,5. Ils ont conclu que ce capteur est sensible aux ions Pb (II) avec une faible limite de détection.

Différents capteurs électrochimiques ont été élaborés et appliqués à la détection sélective et sensible des ions Zn(II) dans des milieux réels [60-67]; des échantillons d'eau [60, 61], des extraits de cendres volantes et des eaux minérales [62], de l'eau minière [63], des repas [64], des eaux usées [65, 66], de l'eau, des aliments et des échantillons pharmaceutiques [67].

Dans ce travail, nous avons caractérisé le phénomène de complexation des cations de Zinc (II) sur la surface d'électrode de carbone vitreux modifiée par réduction électrochimique du sels de diazonium, puis la surface de l'électrode a été fonctionnalisée par un film d'EDTA (voire chapitre III).

## I.2. Biocapteurs conductimétriques

Depuis le premier biocapteur développé par Clark et Lyon au début des années 1960s [68], la recherche sur leur développement a connu ces dernières années un développement considérable en raison des nombreuses applications potentielles, que ce soit dans le domaine médical, agroalimentaire ou du contrôle environnemental. De plus, leur petite taille, leur facilité d'utilisation ou encore la possibilité qu'ils offrent de réaliser des mesures sur site en fait des outils particulièrement intéressants.

Cette étude est principalement consacrée aux biocapteurs à base d'enzymes.

En premier lieu, une recherche bibliographique sur les biocapteurs conductimétriques enzymatiques a été présentée. Ensuite, une description des matériaux utilisés récemment pour le développement de biocapteurs dans le domaine de nanotechnologie tout en précisant leur intérêt pour l'amélioration de tels dispositifs.

### I.2.1. Description du biocapteur

#### I.2.1.1. Transducteur

Le transducteur est l'élément physique qui sert à exploiter la modification biochimique issue d'une interaction entre un analyte et le biorécepteur pour la transformer en signal électrique. Le type de transducteur sera choisi en fonction des modifications biochimiques se produisant au niveau du biorécepteur. Cette adéquation entre le transducteur et l'élément biologique permettra d'obtenir un signal sensible, facilement exploitable et avec un minimum de bruit de fond. Plus le bruit de fond sera faible, plus il assurera un seuil de détection bas et améliorera les performances du biocapteur [69,70].

Les différents types de transducteurs sont :

- **Optique** : UV/visible absorption, fluorescence, Bioluminescence, SPR ;
- **Thermique** ;
- **Cristal piézoélectrique** ;
- **Systèmes micromécaniques** et;
- **Electrochimique** : Dans les systèmes de transduction électrochimiques, les mesures peuvent être potentiométrique, ampérométrique ou impédimétriques, **conductimétrique**.

La **conductimétrique** est une technique électrochimique alternative à l'ampérométrie et à la

potentiométrie [71]. Cependant, ces dernières années, on a assisté à un intérêt croissant pour les biocapteurs conductimétriques vu le nombre d'avantages qu'ils offrent :

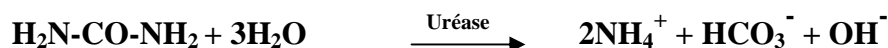
En effet, non seulement ils ne nécessitent pas d'électrodes de référence et ne sont pas sensibles à la lumière (comme certains capteurs potentiométriques) mais en plus ils sont de petites tailles, interface directe avec le potentiostat, miniaturisables (temps de réponse plus court) et s'adaptent à une production à grande échelle et à faible coût. D'autre part, plusieurs combinaisons de biorécepteurs ont été testées : enzymes, levure et enzyme-bactérie.

Pour ce la, on s'est intéressé à des transducteurs conductimétrique se basant sur des électrodes interdigitées en Or.

#### ▪ Transduction électrochimique conductimétrique

La conductimétrie permet de mesurer les variations (consommation ou production) d'espèces chargées générées au cours des réactions enzymatiques (amidase, estérase, kinase).

**Exemple: détection de l'urée avec une uréase :**



La conductance électrique d'un corps est donnée par l'équation I-1;

$$G = \kappa \cdot \frac{A}{l} \tag{I-1}$$

Tel que :

**G**: Conductance (S) ;

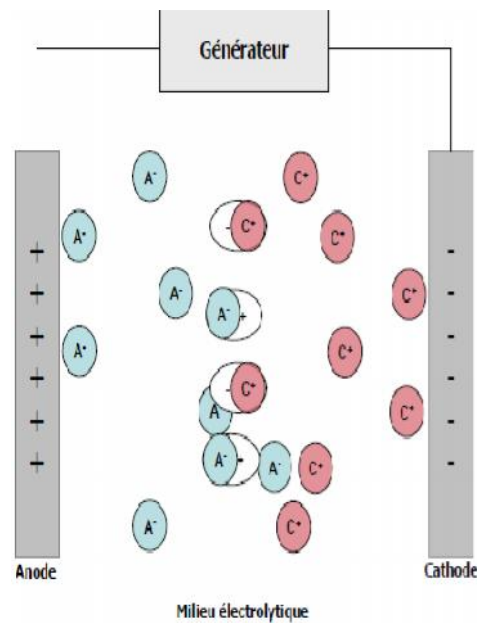
$\kappa$  : Conductance (conductivité) spécifique caractéristique du corps (en S cm<sup>-1</sup>) ;

**A**: aire de l'électrode (cm<sup>2</sup>); et

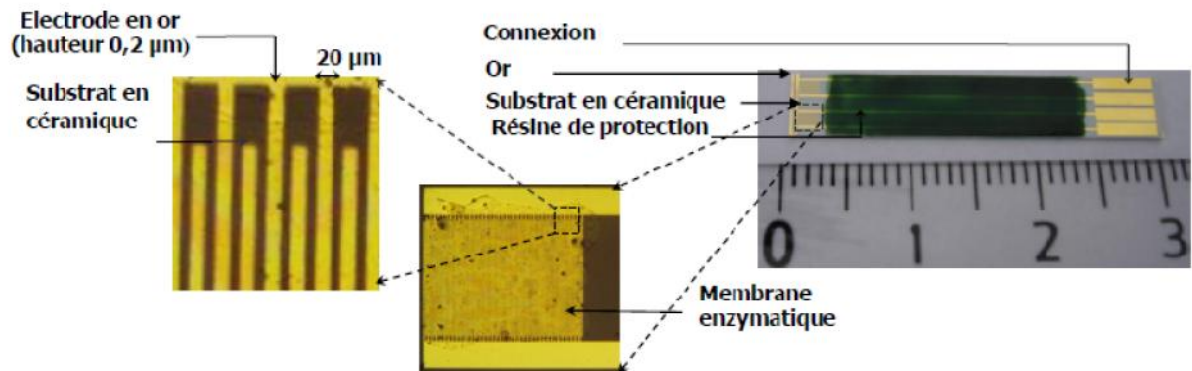
**l**: longueur de la section.

La mesure de la conductance d'un électrolyte s'effectue en immergeant dans la solution, une cellule de mesure comprenant deux électrodes « **Figure I-9** », dont la surface S et la longueur l sont données.

La « **Figure I-10** » montre des électrodes interdigitées en Or qu'ils contiennent deux bandes parallèles alternativement interconnectées entre elles afin d'avoir alternativement une anode et une cathode, plus la surface de contact pour la biomembrane.



**Figure I-9:** Principe d'un capteur conductimétrique.



**Figure I-10 :** Transducteur à base d'électrodes interdigitées en Or.

### I.2.1.2. Biorécepteurs enzymatiques

Le biorécepteur (enzymes, organites cellulaires, cellules, tissus...) catalyse des réactions biochimiques de substrats, ou interagit avec des structures complémentaires (antigène, anticorps, ADN ou récepteur-hormones) conduisant à des changements de propriétés physiques, chimiques ou optiques des substrats.

Quant au transducteur, il convertit ce changement en signaux électriques mesurables. Enfin, les signaux électriques sont amplifiés et traités par des circuits électroniques.

Parmi les biorécepteurs, les enzymes sont très largement utilisées dans le domaine des biocapteurs.

Elles sont des biocatalyseurs très spécifiques.

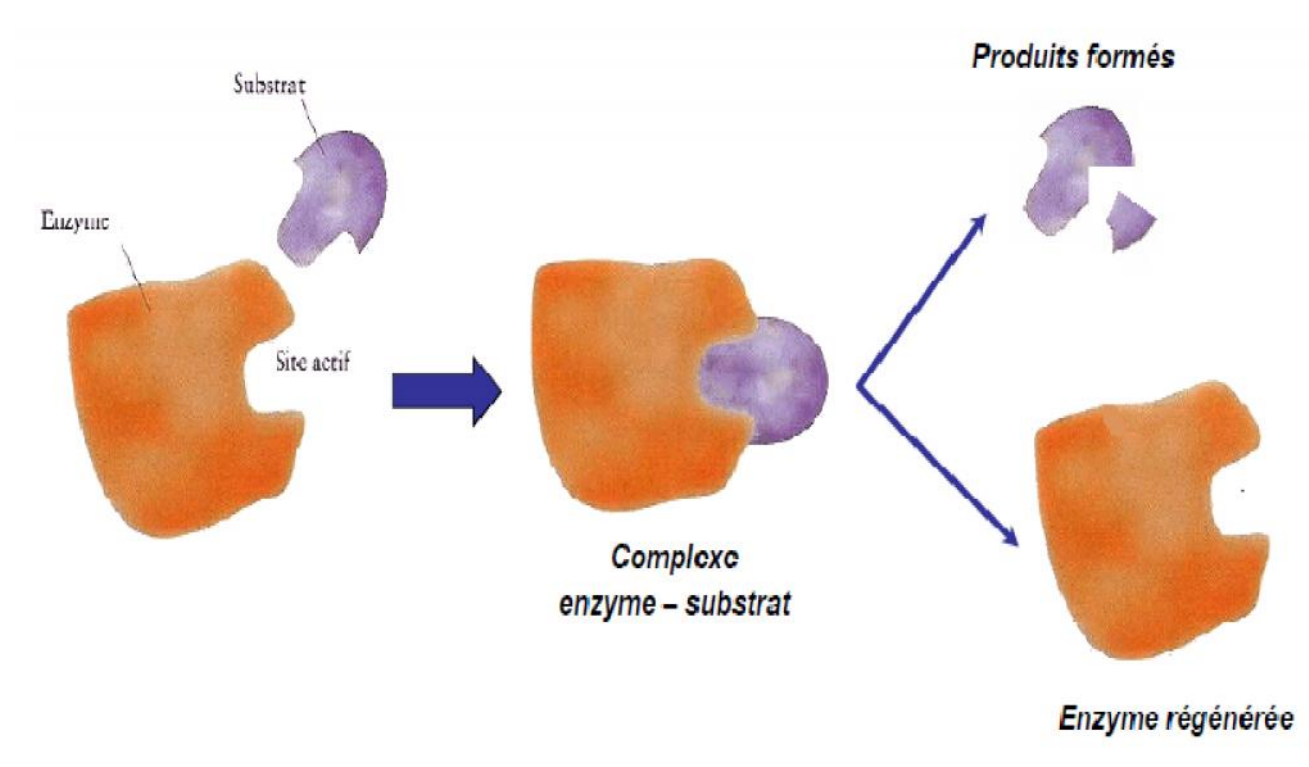
Les réactions qu'elles catalysent sont relativement simples: l'hydrolyse, l'oxydation, la décarboxylation de liaisons peptides par exemple.

Les enzymes, jusqu'à maintenant, ont été employées dans les biocapteurs pour la détermination d'environ 80 substrats [72].

#### a) Définition des enzymes

Les enzymes sont des composés biologiques de nature protéique, doués d'activité catalytique et produits par la cellule vivante.

- Ce sont donc des catalyseurs biologiques autrement dit, des substances qui sans éprouver de transformation visible et à faible dose, modifient la vitesse d'une réaction chimique. Elles sont répertoriées en 6 catégories: les oxydoréductases, les transférases, les hydrolases, les lyases, les isomérases, et les ligases [73].



**Figure I-11** : Enzymes : biocatalyseurs les plus utilisés dans la construction de biocapteur.

L'activité de l'enzyme est due à une petite partie de l'enzyme appelée site actif. C'est une zone privilégiée située au niveau de la zone hydrophobe interne de la protéine enzymatique au niveau de laquelle s'exerce électivement le pouvoir catalytique de l'enzyme.

Cette activité enzymatique peut être influencée par un certain nombre de facteurs [74].

### **b) Facteurs de variation de l'activité enzymatique**

#### **➤ Les agents physiques**

##### **1) La température**

Elle a un double effet sur les enzymes [75]. Une activation Lorsque la température, croît et cette activation est maximale pour une température dite optimale. Mais au-delà de la température optimale on note une inactivation progressive qui correspond à une dénaturation de l'enzyme sous l'influence de l'élévation de la température [76].

##### **2) Le pH**

Toutes les enzymes ont un pH optimum auquel elles présentent une vitesse de réaction maximale. Quand l'enzyme est immobilisée, le pH optimum peut se décaler suivant la nature et la charge positive ou négative du support.

Par exemple, un support chargé négativement peut entraîner un pH de la couche enzymatique plus faible que celui du pH du milieu.

En conséquence, on observe un décalage du pH optimum vers une zone plus alcaline pour compenser l'augmentation locale de la concentration en protons. On constate que l'effet est contraire pour un support chargé positivement [74].

##### **3) Les radiations ionisantes**

Elles inactivent directement ou indirectement les protéines enzymatiques.

#### **➤ Les agents chimiques**

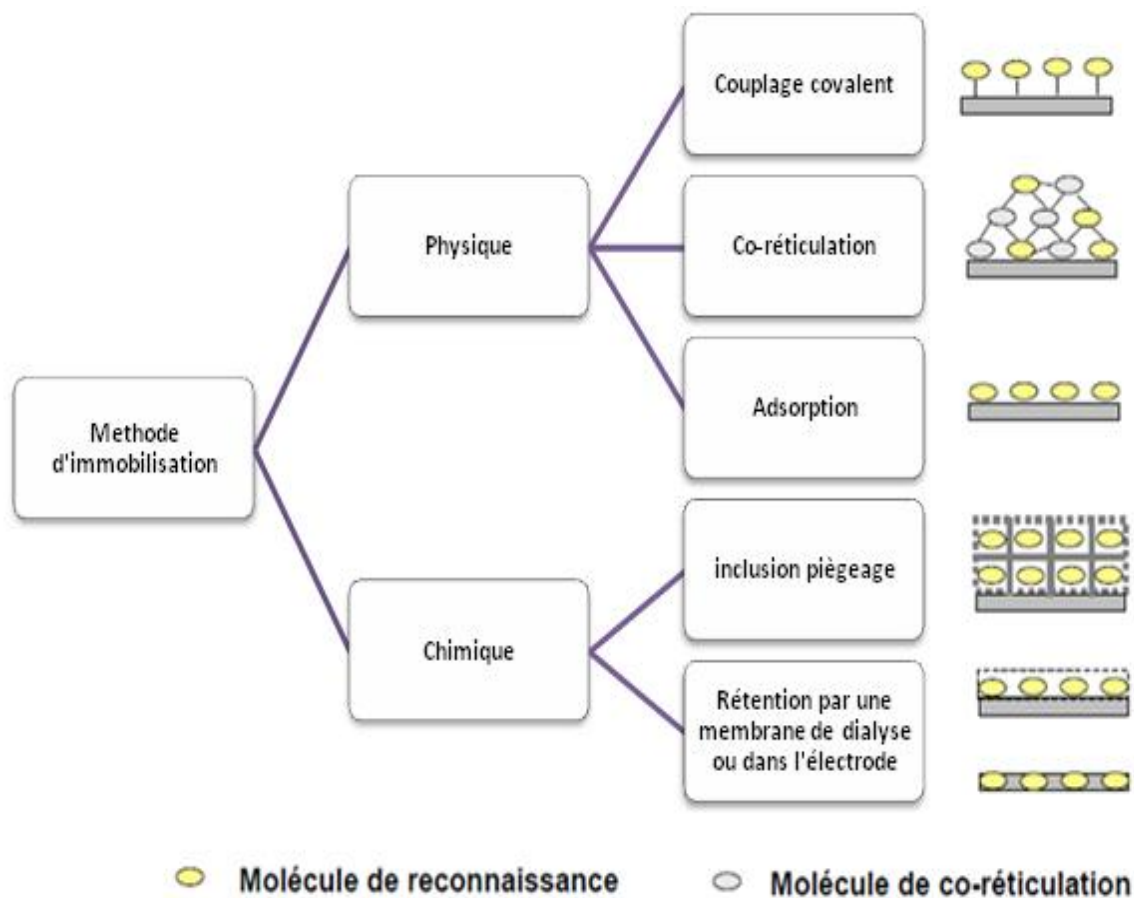
Peuvent être des activateurs ou des inhibiteurs.

### **I.2.2. Techniques d'immobilisation des enzymes**

Dans un biocapteur, l'élément biologique est fixé au proche contact du transducteur ce qui permet une détection immédiate et très sensible du processus de reconnaissance moléculaire. De plus, l'immobilisation du bio-composé augmente sa stabilité et permet une réutilisation éventuelle du biocapteur.

La sélection d'une méthode d'immobilisation appropriée dépend de la nature du ligand biologique, du type de transducteur utilisé, des propriétés physico-chimiques de l'analyte et des conditions opératoires du biocapteur [77]. Les enzymes peuvent être immobilisées par des méthodes chimiques et/ou physiques elles sont résumées dans la « **Figure I-12** ». Seule la technique qui a été utilisée seront détaillée c'est-à-dire la co-réticulation au Glutaraldéhyde.

---



**Figure I-12** : Représentation schématique des différentes méthodes d'immobilisation de l'élément biologique.

Dans ce travail nous avons principalement utilisé la méthode de co-réticulation au Glutaraldéhyde afin d'élaborer une microélectrode enzymatique pour la détection de l'urée « **Figure I-13** ».

Il s'agit de la réticulation ou co-réticulation avec un agent bi-fonctionnel (généralement en association avec 1 à 3 polymères). Il est possible d'immobiliser les molécules d'enzyme en procédant à leur pontage covalent à l'aide de réactifs bi-fonctionnels tel que le Glutaraldéhyde [78]. Ces liaisons covalentes intermoléculaires donnent des composés de haut poids moléculaire qui sont insolubles dans l'eau. Il est également possible de co-réticuler une enzyme et une protéine inactive, par exemple, l'albumine. L'utilisation de cette protéine permet, par une meilleure répartition des masses des différentes protéines, une meilleure maîtrise de l'activité enzymatique sans altérer les propriétés mécaniques des membranes obtenues [79].

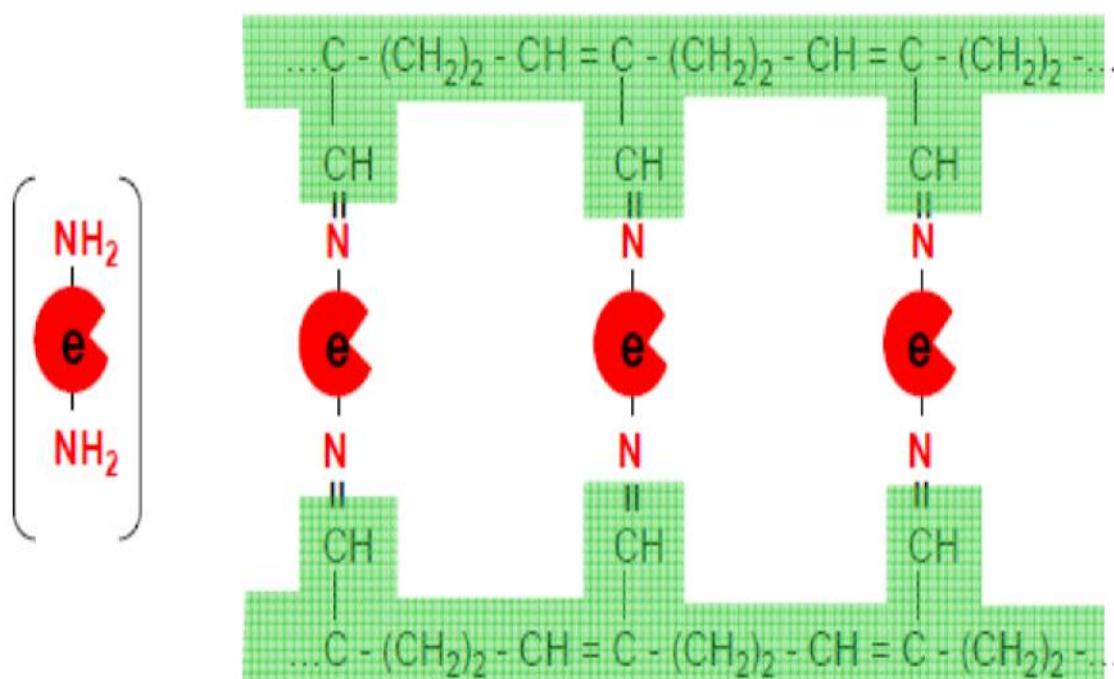


Figure I-13 : Co-réticulation au Glutaraldéhyde.

L'immobilisation par réticulation a permis de développer des biocapteurs enzymatiques [80].

### I.2.3. Electrodes Enzymatiques

La majorité des biocapteurs utilisent les enzymes comme système de reconnaissance biologique (système de réponse) lié à un appareillage électrochimique capable de répondre à des protons, des ions, des gaz ou des électrons générés durant le cycle catalytique [81]. Les électrodes à enzymes résultent de la combinaison de quelques types de capteurs électrochimiques avec une couche d'enzyme de 10 à 200  $\mu\text{m}$  accolée à la surface active du transducteur. Le composé à doser est le plus souvent un substrat ou un produit issu de la réaction enzymatique [82].

On s'intéresse de plus en plus à développer les capteurs enzymatiques [83-88] pour la détection de polluants en milieu aqueux [89], car leur fabrication est beaucoup plus simple comparée à celle d'autres types de capteurs. Zhylyak et Dzyadevych ont développé ce type de biocapteur pour déterminer les métaux lourds avec une gamme de détection très intéressante ( $\text{Hg}^{2+}$ :  $1\mu\text{M}$ ;  $\text{Cu}^{2+}$ :  $2\mu\text{M}$ ;  $\text{Cd}^{2+}$ :  $5\mu\text{M}$ ;  $\text{Co}^{2+}$ :  $10\mu\text{M}$ ;  $\text{Pb}^{2+}$ :  $20\mu\text{M}$ ;  $\text{Sr}^{2+}$ :  $100\mu\text{M}$ ) en utilisant l'enzyme de l'uréase[90].

Dans ce travail, on s'intéresse beaucoup plus sur l'étude des biocapteurs conductimétriques enzymatiques sensible à l'urée, par exemple le système de dosage développé par Eva Horak et *al*,

en 1972, pour la détection de l'urée dans un mélange réactionnel de tris- sérum tampon-uréase à pH 7, ils ont mesuré le taux de l'augmentation de la conductivité de ce mélange, due à la réaction d'hydrolyse enzymatique du l'urée en ammonium et les ions bicarbonate par l'uréase[91].

En 1996, Jdanova et *al*, ont élaboré des biocapteurs conductimétriques enzymatiques sensibles à l'urée, l'enzyme de d'uréase est immobilisée par co-réticulation avec le BSA et le (poly (4-vinylpyridine-co-styrène)), sur la surface d'électrode interdigitée en or, en présence d'une vapeur saturée en Glutaraldéhyde. La stabilité, et la reproductibilité de ce biocapteur élaboré sont prometteuses pour plusieurs applications, notamment dans le domaine biomédical [92].

En 1999, Senillou, et Jaffrezic [93] ont proposé une méthode intéressante d'immobilisation d'enzyme pour la détection de l'urée, dans laquelle l'uréase est piégée dans un gel d'argile. Le mélange est ensuite co-réticulé avec le poly (pyrrolepyridinium) en présence d'une vapeur saturée en Glutaraldéhyde. La membrane enzymatique est enfin déposée sur une microélectrode interdigitée. L'avantage de cette méthode est de permettre une location précise de l'enzyme immobilisée sur l'électrode ce qui améliore la stabilité et le temps de stockage du biocapteur.

Saiapina et *al* [94] ont développé des biocapteurs conductimétriques hautement sensibles à l'urée, la surface d'électrode modifiée par un mélange d'ammonium-tamiser, de clinoptilolite, et en présence de l'uréase. Ce biocapteur élaboré à base de clinoptilolite montre une grande stabilité avec de bonnes performances analytiques en termes de (sensibilité, plage dynamique, et la limite de détection (20,36  $\mu\text{S} / \text{mM}$ , 0-64 mM, et  $10^{-6}$  M, respectivement).

#### **I.2.4. Nanotechnologie et biocapteurs**

Au cours des dernières décennies, différentes techniques ont été développées pour obtenir des matériaux à un niveau nanométrique pour concevoir des biocapteurs avec une sensibilité élevée, la sélectivité et l'efficacité à cause de leurs grandes capacités de fonctionnalisation en surface, par greffage de molécules soufrées ou aminées ou de molécules biologiques,... Nanoparticules, en particulier nanoparticules d'or (AuNPs), sont des matériaux d'intérêt dans une zone en plein développement de biocapteurs [95-99]. Nous pouvons trouver nano-biocapteurs pour la détection spécifique de molécules biologiquement pertinentes comme des enzymes [100] acides nucléiques [101] et des protéines [102].

Les propriétés électroniques remarquables des NTCs, leur sensibilité à l'environnement extérieur et leur dimension nanométrique, en font des composés très attrayants pour le développement des biocapteurs pour, la détection de biomolécules [103], des protéines [104], du

glucose [105], de l'ADN [106 ,107] et de l'urée [108].

Plusieurs travaux ont utilisé les nanotubes de carbone décorés par les nanoparticules pour élaborés des biocapteurs enzymatiques. Hrapovic et *al* ont préparé et utilisé des nanoparticules de platine en combinaison avec des nanotubes de carbone à paroi simple (SWCNT) pour fabriquer un biocapteur électrochimique avec une sensibilité remarquable au glucose [109]. Un biocapteur ampérométrique sensible au glucose a été élaboré par un réseau ; de nanotubes de carbone, et des nanotubes d'oxyde de titane décoré par des nanoparticules de platine [110].

Dans notre travail, l'enzyme de l'uréase est immobilisée sur la surface d'électrode interdigitée en or, par co-réticulation avec le BSA, et des nanotubes de carbone décorés par des nanoparticules d'or, en présence d'une vapeur saturée en Glutaraldéhyde, pour élaborer un biocapteur sensible à l'urée (**voire chapitre IV**).

### **I.3. Conclusion**

Ces dernières années, l'élaboration de capteurs chimiques et biocapteurs enzymatiques a suscité un grand nombre de travaux par contribution de nombre important des ionophores chimiques et d'enzymes commercialement enzymatiques. Leur contribution permet d'élargir l'application de ces (bio) capteurs dans des domaines différents (environnemental, santé, industriel...).

Cependant, très peu de systèmes ont su trouver des applications environnementales du fait de contraintes de sensibilité, sélectivité et en fonctionnement des (bio) capteurs. Ces problèmes limitent leur utilisation hors laboratoire surtout dans le domaine réel. Nous nous attacherons dans ce travail à élaborer et développer des capteurs présentant de bonnes performances analytiques surtout la sensibilité de détection.

Un capteur électrochimique sélectif aux ions du zinc et un micro-biocapteur conductimétrique, sur lequel l'uréase est immobilisée. L'élaboration de ces (bio) capteurs sera discutée dans les prochains chapitres

Les deux capteurs peuvent être utilisés dans le domaine environnemental pour la détection de l'urée et le Zinc.

## Références bibliographiques de chapitre I

- [1] **Anh Tuan Mai**,  
"Développement de biocapteurs électrochimiques à base de tyrosinase pour la détection de polluants organiques en phase aqueuse. Matériaux". Thèse de doctorat de l'Université Claude Bernard -Lyon I, 2004.
- [2] **A. J. Downard**,  
"Electrochemically assisted covalent modification of carbon electrodes", *Electroanal.*, Vol. 12, 2000, p. 1085.
- [3] **J. Pinson, F. Podvorica**,  
"Attachment of organic layers to conductive or semiconductive surfaces by reduction of diazonium salts", *Chemical Society Reviews*, Vol. 34, 2005, p. 429.
- [4] **William RICHARD**,  
"Nouvelle stratégie de fonctionnalisation de surfaces d'électrodes à base de sels de diazonium : application aux capteurs à antioxydants", Thèse de doctorat de l'Université de Toulouse, novembre 2013.
- [5] **M. Delamar, R. Hitmi, J. Pinson, and J. M. Saveant**,  
"Covalent modification of carbon surfaces by grafting of functionalized aryl radicals produced from electrochemical reduction of diazonium salts", *J. Am. Chem. Soc.* Vol. 114, 1992, p. 588-5884.
- [6] **P. Allongue, M. Delamar, B. Desbat, O. Fagebaume, R. Hitmi, J. Pinson et J. M. Savéant**.  
"Covalent Modification of Carbon Surfaces by Aryl Radicals Generated from the Electrochemical Reduction of Diazonium Salts". *J. Am. Chem. Soc.*, Vol. 119, 1997, pp. 201-207.
- [7] **C. P. Andrieux, , and J. Pinson**,  
"The Standard Redox Potential of the Phenyl Radical/Anion Couple", *J. Am. Chem. Soc.*, Vol. 125, 2003, p. 14801-14806.
- [8] **J. K. Kariuki, M. T. McDermott**,  
"Formation of Multilayers on Glassy Carbon Electrodes via the Reduction of Diazonium Salts". *Langmuir*, Vol., 17, 2001 pp. 5947–5951.
- [9] **M. Delamar, R. Hitmi, J. Pinson, J.-M. Savéant**,  
"Covalent modification of carbon surfaces by grafting of functionalized aryl radicals produced from electrochemical reduction of diazonium salts". *J. Am. Chem. Soc.*, Vol., 114, 1992, pp. 5883–5884.
- [10] **C. Saby, B. Ortiz, G. Y. Champagne, D. Bélanger**,  
"Electrochemical Modification of Glassy Carbon Electrode Using Aromatic Diazonium Salts. 1. Blocking Effect of 4-Nitrophenyl and 4-Carboxyphenyl Groups". *Langmuir*, Vol., 13, 1997, pp. 6805–6813.

- 
- [11] **K. Morita, A. Yamaguchi, N. Teramae,**  
"Electrochemical modification of benzo-15-crown-5 ether on a glassy carbon electrode for alkali metal cation recognition". *J. Electroanal. Chem.*, Vol., 563, 2004, pp. 249–255.
- [12] **D. R. Jayasundara, R. J. Cullen, L. Soldi, P. E. Colavita,**  
"In Situ Studies of the Adsorption Kinetics of 4-Nitrobenzenediazonium Salt on Gold", *Langmuir*, Vol. 27, 2011, p. 13029.
- [13] **J. Lehr, B. E. Williamson, B. S. Flavel, A. J. Downard,**  
"Reaction of Gold Substrates with Diazonium Salts in Acidic Solution at Open-Circuit Potential", *Langmuir*, Vol. 25, 2009, p. 13503.
- [14] **A. Adenier, E. Cabet-Deliry, A. Chausse, S. Griveau, F. Mercier, J. Pinson, C. Vautrin-Ul,**  
"Grafting of Nitrophenyl Groups on Carbon and Metallic Surfaces without Electrochemical Induction", *Chem. Mater.*, Vol. 17, 2005, p. 491.
- [15] **M. Ceccato, L. T. Nielsen, J. I. Ayaraj, M. Hinge, S. U. Pedersen and K. Daasbjerg,**  
"Nitrophenyl Groups in Diazonium-Generated Multilayered Films: Which are Electrochemically Responsive? ", *Langmuir*, Vol. 26, 2010, pp. 10812-10821.
- [16] **G. Shul, C. A. C. Ruiz, D. Rochefort, P. A. Brooksby and D. Bélanger,**  
"Electrochemical functionalization of glassy carbon electrode by reduction of diazonium cations in protic ionic liquid", *Electrochim. Acta*, Vol. 106, 2013, pp. 378–385.
- [17] **Z. Nasri and E. Shams,**  
"A glucose biosensor based on direct electron transfer of glucose oxidase immobilized onto glassy carbon electrode modified with nitrophenyl diazonium salt", *Electrochim. Acta*, Vol. 112, 2013, pp. 640-647.
- [18] **M. Khoshroo and A. A. Rostami,**  
"Characterization of the organic molecules deposited at gold surface by the electrochemical reaction of diazonium salts". *J. Electroanal. Chem.*, Vol. 647, 2010, pp. 117–122.
- [19] **J. L. Bahr and J. M. Tour,**  
"Highly Functionalized Carbon Nanotubes Using in Situ Generated Diazonium Compounds". *Chem. Mater.*, Vol. 13, 2001, pp. 3823–3824.
- [20] **S. Baranton, D. Belanger,**  
"Electrochemical Derivatization of Carbon Surface by Reduction of in Situ Generated Diazonium Cations", *Journal of Physical Chemistry B*, Vol. 109, 2005, p. 24401.
- [21] **E. Kibena, K. Tammeveski, L. Matisen, U. Hasse, F. Scholz,**  
"OH radical degradation of blocking aryl layers on glassy carbon and gold electrodes leads to film thinning on glassy carbon and pinhole films on gold", *Electrochemistry Communications*, Vol. 29, 2013, p. 33.
- [22] **J.M. Noel, A. Latus, C. Lagrost, E. Volanschi, P. Hapiot,**  
"Evidence for OH Radical Production during Electrocatalysis of Oxygen Reduction on Pt
-

---

Surfaces: Consequences and Application", J. Am. Chem. Soc., Vol. 134, 2012, p. 2835.

- [23] **S. E. Creager, B. Liu, H. Mei, D. DesMarteau**,  
"Electrochemical Grafting of an Aryl Fluorosulfonimide Electrolyte onto Glassy Carbon",  
Langmuir, Vol. 22, 2006, p. 10747.
- [24] **Martin weissmann**,  
"Modification de supports carbonés pour catalyseurs de pile à combustible par greffage de  
molécules à propriétés spécifiques", Thèse de doctorat de l'Université de POITIERS,  
Faculté des Sciences Fondamentales et Appliquées, 2006.
- [25] **P. D. Doyle, W. J. Bryker**,  
"Alkyl nitrite-metal halide deamination reactions. 6. Direct synthesis of arenediazonium  
tetrafluoroborate salts from aromatic amines, tert-butyl nitrite, and boron trifluoride etherate  
in anhydrous media", J. Org. Chem., Vol. 44, 1979, p. 1572.
- [26] **K. Peter, C. Vollhardt, N. E. Schore**,  
"Traité de chimie organique, Edition 4 ", De Boeck Université, 2004.
- [27] **M. F. W. Dunker, E. B. Starkey, G. L. Jenkins**,  
"The Preparation of Some Organic Mercurials from Diazonium Borofluorides",  
J. Am. Chem. Soc., Vol. 58, 1936, p. 2308.
- [28] <https://fr.wikipedia.org/wiki/EDTA> (10-03- 2017).
- [29] **M. Kodama, T. Koike, A. B. Mahatma, E. Kimura**  
"Thermodynamic and kinetic studies of lanthanide complexes of 1,4,7,10,13-  
pentaazacyclopentadecane-N,N',N'',N''',N''''-pentaacetic acid and 1,4,7,10,13,16-  
hexaazacyclooctadecane-N,N',N'',N''',N''''-hexaacetic acid", Inorg. Chem., Vol. 30,  
1991, pp. 1270–1273.
- [30] **Md. Aminur Rahman, Mi-Sook Won, Yoon-Bo Shim**,  
"Characterization of an EDTA Bonded Conducting Polymer Modified Electrode: Its  
Application for the Simultaneous Determination of Heavy Metal Ions", Anal. Chem., Vol.  
73, 2003, pp. 1123-1129.
- [31] **Md. Aminur Rahman, Deog Su Park, Mi-Sook Won, Su-Moon Park, Yoon-Bo Shim**,  
"Selective Electrochemical Analysis of Various Metal Ions at an EDTA Bonded Conducting  
Polymer Modified Electrode", Electroanal., Vol. 16, 2004, pp. 1366-1370.
- [32] **Joseph S.H. Wong, Ronald F. Probst**,  
" EDTA-enhanced electroremediation of metal-contaminated soils ", J. Hazard. Mater., Vol.  
55, 1997, pp. 61-79.
- [33] **R. Mark Jones, Haini Yu, J. B. Delehanty, D. A. Blake**,  
"Monoclonal Antibodies That Recognize Minimal Differences in the Three-Dimensional  
Structures of Metal–Chelate Complexes", Bioconjugate Chem., Vol. 13, 2002, pp. 408-415.

- 
- [34] **M. Westhoff, C. M. Goebel, P. Wylie, R. C. Blake,**  
"Metal Binding Properties of a Monoclonal Antibody Directed toward Metal-Chelate Complexes", *J. Biol. Chem.*, Vol. 271, 1996, pp. 27677-27685.
- [35] **R. A. Love, J. E. Villafranca, R. M. Aust, K.K. Nakamura, R. A. Jue, J. G. Major, R. Radakrishnan, W. F. Butler,**  
"How the anti-(metal chelate) antibody CHA255 is specific for the metal ion of its antigen: X-ray structures for two Fab/hapten complexes with different metals in the chelate", *Biochemistry*, Vol.32, 1993, pp. 10950-10959.
- [36] **AL RFAN LBA , YASEM NERO LU, HAL L ERHANERO LU,**  
"Effects of Dosages and Application Periods of EDTA on Morphological and Cytogenetic Characters of Barley (*Hordeum vulgare* L.) Seedlings", *Turk J Biol.*, Vol. 30, 2006, pp. 59-63.
- [37] **A. Ruggeri, Jr., C. Prati, A. Mazzoni, C. Nucci, R. Di Lenarda, G. Mazzotti, L. Breschi,**  
"Effects of citric acid and EDTA conditioning on exposed root dentin: An immunohistochemical analysis of collagen and proteoglycans", *Archives of Oral Biology*, Vol. 52(1), 2003, pp. 1 - 8.
- [38] **R. A. Bulman,**  
" The chemistry of chelating agents in medical sciences. In: *Coordination Compounds: Synthesis and Medical Application*", *Struct. Bonding*, Vol. 67, 1987, Springer, Berlin, Heidelberg , pp. 91-141.
- [39] **C. Hasserodt, R. J. Motekaitis, A. E. Martell,**  
"New multidentate ligands. 22. N,N'-Dipyridoxylethylenediamine-N,N'-diacetic acid: a new chelating ligand for trivalent metal ions", *Inorg. Chem.* Vol. 23 (9), 1984, pp. 1188–1192.
- [40] **Joan F. Markley,**  
"Removal of Polymeric Plutonium from Mice by Combined Therapy with the Calcium Chelate and Penta-ethyl Ester of DTPA ", *Int. J. Rad. Biol.*, Vol. 7(4), 1963, pp. 405–407.
- [41] **R. B. Lauffer,**  
"Paramagnetic metal complexes as water proton relaxation agents for NMR imaging: theory and design", *Chem. Rev.*, Vol. 87 (5), 1987, pp. 901–927.
- [42] **C. Allen Chang, Peter H. L. Chang, Sheng Ying Qin,**  
"Decreased overall basicity of a series of new N,N'-bis(carboxymethyl) macrocyclic ether-bis(lactone) ligands derived from EDTA and the ring size effect on the stability constants of their lanthanide complexes", *Inorg. Chem.*, Vol. 27 (5), 1988, pp. 944–946.
- [43] **M. B. Inoue, M. Inoue, I. C. Muñoz, M. A. Bruck, F. Quintus,**  
"Syntheses of new 15-membered and 16-membered macrocyclic ligands with three pendant acetato groups and the structures of the gadolinium (III) complexes", *Inorg. Chim. Acta*, Vol. 209(1), 1993, pp. 29–34.
- [44] **J. F. Carvalho, K. Sook Hui, C. A. Chang,**
-

---

"Synthesis and metal complex selectivity of macrocyclic DTPA and EDTA bis(amide) ligands", *Inorg. Chem.*, Vol. 31 (20), 1992, pp. 4065–4068.

[45] **R. P. Hertsberg, P. B. Dervan,**

"Cleavage of double helical DNA by methidium-propyl-EDTA-iron (II) ", *J. Am. Chem. Soc.*, Vol. 104 (1), 1982, pp 313–315.

[46] **J. Roger Hart,**

"EDTA-type chelating agents in everyday consumer products: Some food, cleaning, and photographic applications", *J. Chem. Educ.*, Vol. 62 (1)1985, p. 75.

[47] **S.E. Quintar, J.P. Santagata, V.A. Cortinez,**

" Determination of vanadium(V) by direct automatic potentiometric titration with EDTA using a chemically modified electrode as a potentiometric sensor", *Talanta*, Vol. 67(4), 2005, pp. 843–847 (<http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2005.04.010>).

[48] **M. A. Rahman, D. S. Park, M.-S. Won, S.-M. Park et Y.-B. Shim,**

"Selective electrochemical analysis of various metal ions at an EDTA bonded conducting polymer modified electrode", *Electroanal.*, Vol. 16, 2004, pp. 1366-1370.

[49] **G. O. Buica, C. Bucher, J-C Moutet, G.Royal , E. Saint- Aman , E. M. Ungureanu,**

"Voltammetric Sensing of Mercury and Copper Cations at Poly(EDTA-like) Film Modified Electrode", *Electroanal.*, Vol. 21(1), 2009, pp. 77-86.

[50] **Y. Zhang, Y. Li, L. Yang, X. Ma, L. Wang, Z. Ye,**

"Characterization and adsorption mechanism of Zn<sup>2+</sup> removal by PVA/EDTA resin in polluted water", *J. Hazard. Mater.*, Vol. 178, 2010, pp. 1046–1054.

[51] **L. Yang, Y. Li, L. Wang, Y. Zhang, X. Ma, Z. Ye,**

"Preparation and adsorption performance of a novel bipolar PS-EDTA resin in aqueous phase", *J. Hazard. Mater.*, Vol. 180, 2010, pp. 98–105.

[52] **E. Repo, L. Malinen, R. Koivula, R. Harjula, M. Sillanpää,**

"Capture of Co (II) from its aqueous EDTA-chelate by DTPA-modified silica gel and chitosan", *J. Hazard. Mater.*, Vol. 187, 2011, pp. 122–132.

[53] **E. Repo, J.K. Warchol, A. Bhatnagar, M. Sillanpää,**

"Heavy metals adsorption by novel EDTA-modified chitosan-silica hybrid materials", *J. Colloid Interface Sci.*, Vol. 358, 2011, pp. 261–267.

[54] **E. Repo, J.K. Warchol, T.A. Kurniawan, M. Sillanpää,**

"Adsorption of Co (II) and Ni(II) by EDTA- and/or DTPA-modified chitosan: Kinetic and equilibrium modeling", *Chem. Eng. J.*, Vol. 161 ,2010, pp. 73–82.

[55] **C.J. Madarang, H.Y. Kim, G. Gao, N. Wang, J. Zhu, H. Feng, M. Gorrng, M.L. Kasner, S. Hou,**

"Adsorption behavior of EDTA-graphene oxide for Pb (II) removal", *ACS Appl. Mater. Interfaces*, Vol. 4, 2012, pp. 1186–1193.

- 
- [56] **M. A. Rahman, M.-S. Won et Y.-B. Shim,**  
"Characterization of an EDTA Bonded Conducting Polymer Modified Electrode: Its Application for the Simultaneous Determination of Heavy Metal Ions", *Anal. Chem.*, Vol. 75, 2003, pp. 1123-1129.
- [57] **M. Heitzmann, C. Bucher, Jean-Claude Moutet, E. Pereira, B. Rivas, G. Royal, E. Saint-Aman,**  
"Complexation of poly(pyrrole-EDTA like) film modified electrodes: Application to metal cations electroanalysis", *Electrochim. Acta*, Vol. 52(9), 2007, pp. 3082–3087.
- [58] **T. M. Florence,**  
"Determination of iron by anodic stripping voltammetry", *Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry*, Vol. 26, 1970, pp. 293–298.
- [59] **Z. Üstünda , A. Osman Solak,**  
"EDTA modified glassy carbon electrode: Preparation and characterization", *Electrochim. Acta* , Vol. 54(26), 2009, pp. 6426–6432.
- [60] **J. M. Zen, D. M. Tsai, H. H. Yang,**  
"Sensitive Determination of Zinc(II) in Real Samples Using a Poly(4-vinylpyridine)/Mercury Film Electrode, Sensitive Determination of Zinc(II) in Real Samples Using a Poly(4-vinylpyridine)/Mercury Film Electrode", *Chinese Chemical Society*, Vol. 50, 2003, pp. 375-380.
- [61] **L. Tang, X. Dai, K. Zhong, D. Wu, X. Wen,**  
"A novel 2, 5-diphenyl-1, 3, 4-oxadiazole derived fluorescent sensor for highly selective and ratiometric recognition of  $Zn^{2+}$  in water through switching on ESIPT", *Sens. Actuators B*, Vol. 203, 2014, pp. 557–564.
- [62] **Królicka, A. Bobrowski ,**  
"Employing a magnetic field to amplify zinc signal obtained at bismuth film screen-printed electrodes generated using dual bismuth precursor", *Electrochim. Acta*, Vol. 187, 2016, pp. 224–233.
- [63] **S. Uba, B.R. Horrocks, A. Uzairu, M.S. Sallau, H. Abba,**  
"Comparative Studies of Heavy Metals in Mine Water by Square Wave Stripping Voltammetry and Atomic Spectroscopy", *International Research Journal of Pure and Applied Chemistry*, Vol. 4, 2014, pp. 417-429.
- [64] **C. Locatelli,**  
"Heavy Metals in Matrices of Food Interest: Sequential Voltammetric Determination at Trace and Ultratrace Level of Copper, Lead, Cadmium, Zinc, Arsenic, Selenium, Manganese and Iron in Meals", *Electroanal.*, Vol.16, 2004, pp. 1478–1486.
- [65] **M. Hosseini, S.D. Abkenar, M.R. Ganjali, F. Faridbod,**  
"Determination of zinc(II) ions in waste water samples by a novel zinc sensor based on a new synthesized Schiff's base", *Mater. Sci. Eng.*, Vol. 31, 2011, pp. 428–433.
-

- [66] **M. Á.G. Rico, M. Olivares-Marín, E.P. Gil,**  
"A Novel Cell Design for the Improved Stripping Voltammetric Detection of Zn(II), Cd(II), and Pb(II) on Commercial Screen-Printed Strips by Bismuth Codeposition in Stirred Solutions", *Electroanal.*, Vol. 20 , pp. 2608–2613.
- [67] **E. Roy, S. Patra, R. Madhuri, P.K. Sharma,**  
"Development of an imprinted polymeric sensor with dual sensing property for trace level estimation of zinc and arginine", *Mater. Sci. Eng.*, Vol. 49, 2015, pp. 25–33.
- [68] **L.C. Clark, C. Lyon,**  
"Electrode system for continuous monitoring of cardiovascular surgery", *Ann. NY Acad. Sci.*, Vol. 102, 1962, pp. 29-45.
- [69] **C. Tran-Minh,**  
"Les biocapteurs. Principes, constructions et applications", Masson, Paris, 1991.
- [70] **M. Comtat, A. Bergel,**  
"Biocapteurs: rêve ou réalité industrielle? ", *Biofur*, Vol. 171, 1997, pp. 33-36.
- [71] **Bard A. J., L.R. Faulkner,**  
"Electrochemical Methods", J. Willey & Sons, 1980.
- [72] **Anh Tuan MAI,**  
"Développement de biocapteurs électrochimiques à base de tyrosinase pour la détection de polluants organiques en phase aqueuse", Thèse de doctorat de l'Université Claude Bernard - Lyon I, 2004. France.
- [73] **J. Stolkowski,**  
" Les enzymes, Que sais-je ? ", 6<sup>ème</sup> édition, 1983.
- [74] **Georges-Anicet Ouedraogo,**  
"Contribution a la connaissance des valeurs sériques des enzymes du ZEBU GOBRA (PAL, TGP, TGO, GGT ET LDH) ", Thèse de doctorat de l'Université de Dakar école inter-états des sciences et médecine vétérinaires (E.L S.M.V.), 1986.
- [75] **J. MERCIER,**  
"Les enzymes sériques témoins de la pathologie et de la physiologie de la fibre musculaire striée squelettique", Thèse de doctorat de l'Université de Toulouse, 1975.
- [76] **M. POLONOVSKI,**  
"Biochimie médicale: Enzymes et métabolisme", paris: Masson et Cie, 1973, p.430.
- [77] **C. Tran-Minh,**  
"Les biocapteurs. Principe, construction et applications", Thèse de doctorat, de l'Université de Paris, Masson 1991.
- [78] **S. Kumaran and C. Tran-Minh,**  
"Insecticide determination with enzyme electrodes using different enzyme immobilization
-

techniques", *Electroanal.*, Vol. 4,1992, pp. 949-954.

[79] **Kai WAN,**

"Etude de différentes méthodes de biofonctionnalisation pour la réalisation de biocapteurs. Application a la détection de pesticides", Thèse de doctorat, Ecole centrale de Lyon, 1999, p. 17.

[80] **A. C. Pereira, M. R. Aguiar, A. Kisner, D. V. Macedo, and L. T. Kubota,**

"Amperometric biosensor for lactate based on lactate dehydrogenase and meldola blue coimmobilized on multiwall carbon-nanotube", *Sens. Actuators B*, Vol. 124, 2007, pp. 269–276.

[81] **C. R. Lowe, F.Y. Yon Hin. Bernadette, D.C. Cullen, P. Maynard,**

"Biosensors", *J. Chromatogr. A*, Vol. 510, 1990, pp.347-354.

[82] **Jane E. Frew and H. Allen O. Hill,**

"Electrochemical Biosensors", *Anal. Chem.*, Vol. 59(15), 1987, pp.933A-944A.

[83] **W. Limbut, P. Thavarungkul, P. Kanatharana, P. Asawatreratanakul, C. Limsakul, B. Wongkittisuks,**

"Comparative study of controlled pore glass, silica gel and Poraver for the immobilization of urease to determine urea in a flow injection conductimetric biosensor system", *Biosens. Bioelectron.*, Vol. 19(8), 2004, pp. 813-821.

[84] **F. H. Arnold, W. Zheng, A. S. Michaels,**

"A membrane-moderated, conductimetric sensor for the detection and measurement of specific organic solutes in aqueous solutions", *J. Membrane Science*, Vol. 167, 2000, pp. 967-979.

[85] **S. A. Piletsky, E.V. Piletskaya, K. Yano, I. Karube,**

"Atrazine sensing by molecularly imprinted membranes", *Biosens. Bioelectron.*, Vol.10, 1995, pp. 959-964.

[86] **S. C. Pak, W. Penrose, P. J. Hesketh,**

"An ultrathin platinum film sensor to measure biomolecular binding", *Biosens. Bioelectron.*, Vol. 6, 2001, pp. 1371-379.

[87] **S. P. Friedman,**

"Soil properties influencing apparent electrical conductivity", *Computers and Electronics in Agriculture*, Vol. 46, 2005, pp. 45-70.

[88] **N. F. Sheppard Jr and D. J. Mears,**

"Model of an immobilized enzyme conductimetric urea biosensor", *Biosens. Bioelectron.* Vol. 11(10), 1996, pp. 967-979.

[89] **E. C. Alosilja, and *al.*,**

"Conductimetric biosensor device, method and system", United States Patent Application, 2003, US 07449910. Numéro de publication, US20030153094 A1.

- 
- [90] **G. A. Zhylyak, S. V. Dzyadevych, Y.I. Korpan, A.P. Soldakin, A.V. Elskaya,**  
"Application of urease conductimetric biosensors for heavy metal ion determination", *Sens. Actuators B*, Vol. (24), 1995, pp. 145-148.
- [91] **Ph. D. Eva Horak, and M.D. F. William Sunderman Jr ,**  
"Measurements of Serum Urea Nitrogen by Conductivimetric Urease Assay", *Ann. Clin. Lab. Sci.*, Vol. 2(6), 1972, pp 425-431.
- [92] **A.S. Jdanova , S. Poyard a, A.P. Soldatkin , N. Jaffrezic-Renault a, C. Martelet,**  
"Conductometric urea sensor. Use of additional membranes for the improvement of its analytical characteristics", *Anal. Chim. Acta*, Vol. 321(1), 1996, pp. 35-40
- [93] **A. Senillou, N. Jaffrezic, C. Martelet, S. Cosnier,**  
"A laponite clay-poly(pyrrole-pyridinium) matrix for the fabrication of conductimetric microbiosensors", *Anal. Chim. Acta*, Vol. 401, 1999, pp. 117-124.
- [94] **O.Y. Saiapina , V.M. Pyeshkova , O.O. Soldatkin, V.G. Melnik, B. Akata Kurç, A. Walcarius, S.V. Dzyadevych, N. Jaffrezic-Renault,**  
"Conductometric enzyme biosensors based on natural zeolite clinoptilolite for urea determination", *Mater. Sci. Eng. C*, Vol. 31(7), 2011, pp 1490–1497.
- [95] **N. Nath, A. Chilkoti,**  
"Label free colorimetric biosensing using nanoparticles", *J. Fluoresc.*, Vol. 14, 2004, pp. 377–389.
- [96] **E. Palecek, M. Fojta,**  
"Magnetic beads as versatile tools for electrochemical DNA and protein biosensin", *Talanta* Vol. 74, 2007, pp. 276–290.
- [97] **P. Baptista, E. Pereira, P. Eaton, G. Doria, A. Miranda, et al,**  
"Gold nanoparticles for the development of clinical diagnosis methods", *Anal. Bioanal. Chem.*, Vol. 391, 2008, pp. 943–950.
- [98] **W. Noura , A. Maaref, H. Elaissari, F. Vocanson, M. Siadat, N. Jaffrezic-Renault,**  
"Comparative study of conductometric glucose biosensor based on gold and on magnetic nanoparticles", *Mater. Sci. Eng. C*, Vol. 33(1), 2013, pp. 298–303.
- [99] **X. Shi ,W. Gu, B. Li, N. Chen, K. Zhao, Y. Xian,**  
" Enzymatic biosensors based on the use of metal oxide nanoparticles", *Microchimica Acta*, Vol. 181(1), 2014, pp 1–22.
- [100] **H. Wu,; J. Wang, X. Kang, C. Wang, D. Wang, J. Liu, I. A. Aksay, Y. Lin,**  
"Glucose biosensor based on immobilization of glucose oxidase in platinum nanoparticles/graphene/chitosan nanocomposite film", *Talanta*, Vol. 15, 2009, pp. 403–406.
- [101] **S. Hong, I. Choi, S. Lee, Y.I. Yang, T. Kang, J. Yi,**  
"Sensitive and colorimetric detection of the structural evolution of superoxide dismutase with gold nanoparticles", *Anal. Chem.*, Vol. 81, 2009, pp. 1378–1382.
-

- 
- [102] **I.K. Litos, P.C. Ioannou, T.K.Christopoulos, J. Traeger-Synodinos, E. Kanavakis,**  
"Multianalyte, dipstick-type, nanoparticle-based DNA biosensor for visual genotyping of  
single-nucleotide polymorphisms", *Biosens. Bioelectron.*, Vol. 24, 2009, pp. 3135–3139.
- [103] **F. Lu, L. Gu, M. J. Mezirani, X. Wang, P.G. Luo, L. M. Veca, L. Cao and Y.P. Sun,**  
"Advances in bioapplications of carbon nanotubes", *Adv. Mater.*, Vol. 21, 2009, pp. 139-  
152.
- [104] **Arkan E, Saber R, Karimi Z, Mostafaie A and Shamsipur M,**  
"Multiwall carbon nanotube-ionic liquid electrode modified with gold nanoparticles as a  
base for preparation of a novel impedimetric immunosensors for low level detection of  
human serum albumin in biological fluids", *J. Pharm. Biomed. Anal.*, Vol. 92, 2014, pp. 74-  
81.
- [105] **S. Masoomi-Godarzi, A. A. Khodadadi, M. Vesali-Naseh and Y. Mortazavi,**  
"Highly stable and selective non-enzymatic glucose biosensor using carbon nanotubes  
decorated by Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles", *J Electrochem Soc*, Vol. 161 (1), 2014, B19-B25.
- [106] **Q.D. Zhang, B. Piro, V. Noël, S. Reisberg and M.C. Pham,**  
"Functionalization of single-walled carbon nanotubes for direct and selective  
electrochemical detection of DNA", *analyst*, Vol. 136, 2011, pp. 1023-1028.
- [107] **Y.K. Baek, D.H. Jung, S.M. Yoo, S. Shin, J.H. Kim, H.J. Jeon, Y.K. Choi, et al.,**  
"Label-free detection of DNA hybridization using pyrene-functionalized single-walled  
carbon nanotubes: effect of chemical structures of pyrene molecules on DNA sensing  
performance", *J. Nanosci. Nanotechnol.*, Vol. 11, 2011, pp. 4210-4216.
- [108] **K.K. Reza, S. Srivastava, S. Yadav and A.M. Biradar,**  
"Biofunctionalized carbon nanotubes platform for biomedical applications", *Mater. Lett.*,  
Vol. 126, 2014, pp. 126-130.
- [109] **S. Hrapovic, Y. Liu, K. B. Male, and John H. T. Luong,**  
"Electrochemical Biosensing Platforms Using Platinum Nanoparticles and Carbon  
Nanotubes", *Anal. Chem.*, Vol. 76 (4), 2004, pp. 1083–1088.
- [110] **X. Pang, D. He, Sh. Luo, Q. Cai,**  
"An amperometric glucose biosensor fabricated with Pt nanoparticle-decorated carbon  
nanotubes/TiO<sub>2</sub> nanotube arrays composite", *Sens. Actuators B.*, Vol. 137 (1), 2009, pp.  
134–138.
-

# CHAPITRE .II

## TECHNIQUES D'ANALYSES ÉLECTROCHIMIQUES

---

### II.1. Introduction

L'électrochimie est la discipline d'étude des processus qui régissent les transferts de charge entre deux types de conducteur: un conducteur électronique qui assure le transport de charge par le déplacement d'électrons et un conducteur ionique, qui permet le transport de charge par le déplacement des ions [1]. Pour affronter les nouveaux défis liés aux problèmes analytiques, il y a un grand besoin d'effectuer plusieurs analyses simultanément et rapidement sur les mêmes échantillons, par une méthode analytique performante avec une haute sensibilité et une haute sélectivité [2]. Les techniques électrochimiques offrent l'avantage d'être rapides, sensibles et faciles à mettre en œuvre. Afin de pouvoir situer les travaux présentés dans ce manuscrit, un rappel des principales connaissances sur les techniques d'analyses électrochimiques est proposé dans ce chapitre, seules les techniques qui ont été utilisées seront détaillées. En l'occurrence, la spectroscopie d'impédance électrochimique (SIE), la voltampérométrie cyclique (VC) et la voltampérométrie différentielle à onde carrée (SWV).

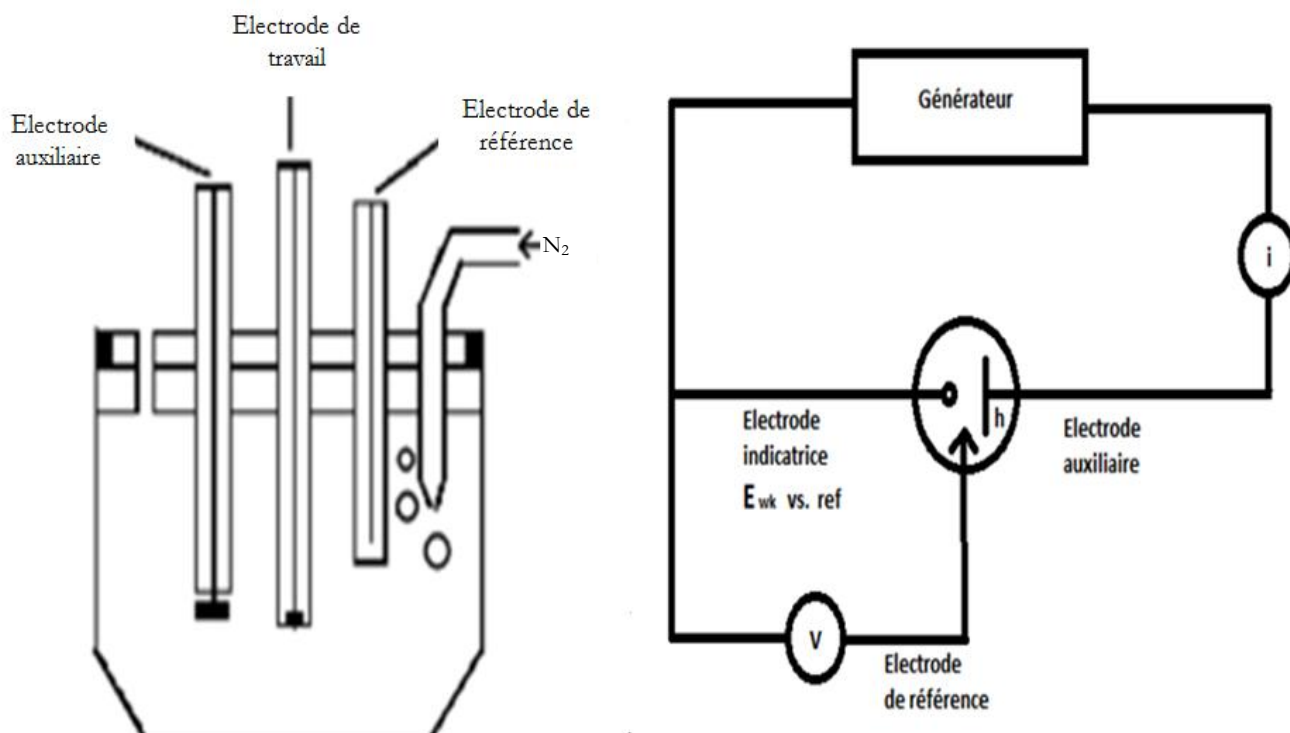
### II.2. Techniques d'analyses électrochimiques

Les méthodes électrochimiques peuvent être divisées en plusieurs catégories en fonction du paramètre qui est contrôlé et de celui qui est mesuré [3]. On peut ainsi distinguer :

#### II.2.1. Voltampérométrie cyclique (VC)

La voltampérométrie cyclique est une technique électrochimique stationnaire couramment employée notamment pour le contrôle des processus qui se produisent sur une surface d'un métal. Cette technique utilise un système de trois électrodes (électrode de travail (indicateur), électrode de référence et une électrode auxiliaire) plongées dans un électrolyte support placé dans la cellule électrochimique, sans agitation de la solution d'électrolyte (régime de diffusion naturel) « **Figure II-1** ».

La caractéristique principale de l'électrode de travail est que son potentiel peut varier dans le temps ; par conséquent, elle devrait être facilement polarisable contrairement à l'électrode de référence dont le potentiel reste constant pendant la mesure [4].



**Figure II-1** : Cellule électrochimique à trois électrodes.

L'électrode auxiliaire ou la contre-électrode qui conduit l'électricité jusqu'à l'électrode de travail à travers la solution est généralement une électrode de platine [5].

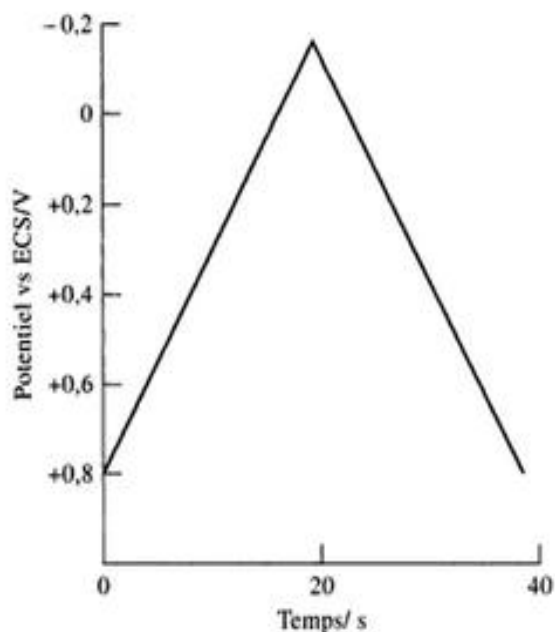
Dans le cas d'un système à deux électrodes (indicatrice et référence), le potentiel de l'électrode indicatrice ne peut être connu de façon exacte, compte tenu de la chute ohmique au sein de la solution et des possibles variations du potentiel de référence [6].

La résistivité du milieu devient un facteur limitatif important pouvant rendre dans certains cas les polarogrammes inexplicables. Ceci explique la présence d'une troisième électrode [7].

La principale propriété de la voltampérométrie cyclique est sa capacité à donner des informations qualitatives sur une réaction d'oxydo-réduction produisant à l'interface de l'électrode de travail dans une solution, et étudier le comportement des espèces en solution (système rapide, réversible, nombre d'électrons échangés...).

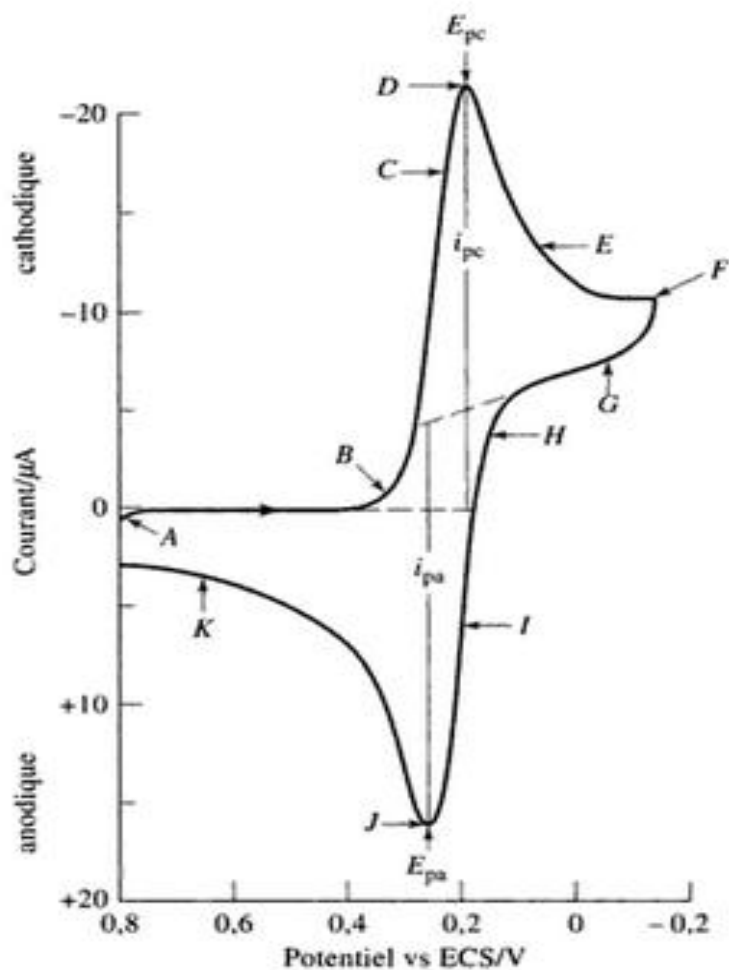
La voltampérométrie cyclique (VC), est une méthode d'analyse électrochimique utilisée pour étudier la réponse en courant d'une électrode statistique immergée dans une solution non agitée soumise à une tension de forme triangulaire telle que celle présentée à la « **Figure II-2** », on applique une tension qui varie linéairement par rapport à une électrode de référence. On inverse alors la direction du balayage et on ramène la tension à sa valeur de départ. Ce cycle est répété plusieurs fois. Les tensions pour lesquelles on effectue le changement de direction sont appelées potentiel de commutation. Les valeurs de potentiel de commutation sont choisies en fonction du

système étudié afin qu'une oxydation ou réduction du ou des analytes contrôlés par la diffusion se produise dans le domaine balayé. Selon la composition de l'échantillon, la direction du balayage initiale peut être soit négative (comme c'est le cas de la « **Figure II-3** ») soit positive. Dans le cas présent, le balayage vers les tensions plus négatives est appelé balayage aller, et balayage retour dans le sens opposé. En général, la durée d'un cycle est très variable, elle peut aller de moins de 1 ms à plus de 100 s.



**Figure II-2** : Programmation en tension utilisée en voltampérométrie cyclique pour obtenir le voltampérogramme de la **figure II.3** [8].

« **Figure II-3** » représente la réponse en courant en fonction de la tension appliquée est soumis à un balayage en tension de la « **Figure II-2** ». Cette réponse se présente sous la forme de la courbe  $I = f(E)$ , appelé voltampérogramme. Au potentiel initial, on observe un faible courant anodique qui diminue rapidement pour devenir nul lorsque le balayage a lieu. Ce courant initial est dû à une réaction d'oxydation ( $\text{Red} \rightarrow \text{Ox} + e$ ). À des potentiels plus positifs, ce courant augmenterait rapidement pour devenir très élevé. Quand la tension devient largement positive, un courant cathodique apparaît (point B) issu de la réduction de l'espèce oxydée produite à l'aller ( $\text{Ox} + e \rightarrow \text{Red}$ ). Le courant est maximum et le résultat de deux contributions. La première correspond au courant nécessaire à l'ajustement de la concentration de la surface du réactif à sa concentration d'équilibre imposée par la relation de Nernst. La seconde contribution est le courant contrôlé par la diffusion. Le premier courant décroît rapidement (point D et F) au fur et à mesure de l'extension de la couche de diffusion vers le sein de la solution [8].



**Figure II-3:** Voltampérogramme cyclique d'une solution 6 mM en  $K_3Fe(CN)_6$  et 1M en  $KNO_3$ [8].

$I_{pc}, I_{pa}$ : Courant de pic cathodique et anodique,  $E_{pc}, E_{pa}$ : potentiel de pic cathodique et anodique,  $E_{pc/2}, E_{pa/2}$ : potentiel à mi-hauteur des pics cathodique et anodique,  $\Delta E_p$ ; différence de potentiel entre  $E_{pc}$  et  $E_{pa}$ .

### II.2.2. Expressions mathématiques des courants et des potentiels de pic dans un transfert de charge

Les expressions mathématiques du courant et du potentiel du pic ont été développées initialement pour un balayage aller (voltampérométrie linéaire) par Randals et *al.* [9, 10] pour des systèmes rapides, et par Delahay [11] pour des systèmes lents. Cette théorie est étendue par Matsuda et *al.* [12] aux systèmes semi-rapides. Les travaux de Nickolson et *al.* [13] ont permis la mise au point des relations décrivant les courbes expérimentales des balayages cycliques.

Dans le cas d'un transfert de charge rapide  $Ox + ne \rightleftharpoons Red$ .

$$I_P = 0,269 A n^{3/2} D_R^{1/2} C_R V^{1/2} \quad (\text{II-1})$$

$$E_P = E_{P_{1/2}} + \frac{0,029}{n} \quad (\text{II-2})$$

$$E_{P_a} - E_{P_c} = \frac{0,059}{n} \quad (\text{II-3})$$

$$\frac{I_{P_a}}{I_{P_c}} = 1 \quad (\text{II-4})$$

Dans le cas d'un transfert de charge semi-rapide

$$I_P = 0,269 A n^{3/2} D^{1/2} C_R K_S V^{1/2} \quad (\text{II-5})$$

Dans le cas d'un transfert de charge lent (irréversible)

$$I_P = 0,299 A n^{1/2} D_R^{1/2} C_R V^{1/2} \quad (\text{II-6})$$

$K_s$ : Constante de vitesse,  $\gamma$ : Coefficient de transfert,  $D$ : Coefficient de diffusion ( $\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$ ),  $C$ : Concentration,  $V$ : Vitesse de balayage ( $\text{V s}^{-1}$ ),  $A$ : Aire de l'électrode ( $\text{cm}^2$ ), et  $n$ : Nombre d'électrons.

### II.2.3. Critères d'analyse et discrimination des différents systèmes

L'étude des variations du courant et du potentiel en fonction de la vitesse de balayage ( $I_P = f(V^{1/2})$ ) et ( $E_P = f(\log V)$ ) peut nous informer sur la nature de l'étape limitant du courant mesurée sur le mécanisme à l'électrode.

- Si  $I_P = f(V^{1/2})$  est une droite ; la réaction est régie par la diffusion pure.
- Si  $I_P = f(V^{1/2})$  est une courbe de concavité tournée vers l'axe des courants; le processus à l'électrode comporte un transfert de charge accompagné d'une adsorption; et dans le cas où la concavité est tournée vers l'axe des vitesses de balayage; le processus à l'électrode est associé à une réaction chimique.
- Si  $E_P = f(\log V)$  est une droite :

a) de pente nulle; la réaction à l'électrode est rapide.

b) de pente différente de zéro et égale à  $-30 \text{ n (mV)}$ ; il s'agit d'un transfert de charge lent.

- Si  $E_p = f(\log V)$  est une courbe et  $I_p = f(V^{1/2})$  est une droite; on affaire à des processus semi – rapide.

Dans ce cas; on note que pour un processus régit par la diffusion; le courant de pic est proportionnel à la concentration analytique de l'espèce électroactive.

En électrochimie analytique et plus particulièrement en voltampérométrie, il est important de pouvoir interpréter les courbes courant-potential en fonction de la composition de la cellule d'électrolyse. La loi de Faraday permet de relier la quantité de matière électrolysée Ni(en mol) à la quantité d'électricité Q(en Coulomb) avec F la constante de Faraday ( $F = 96485 \text{ C mol}^{-1}$ ) et n le nombre d'électrons impliqués dans la réaction.

$$N_i = \frac{Q}{nF} \quad (\text{II-7})$$

Le courant I étant la quantité d'électricité par unité de temps (t), la vitesse globale de réaction électrochimique  $V_{\text{globale}}$  ( $\text{mole s}^{-1} \text{ cm}^{-2}$ ) peut être définie par la relation :

$$V_{\text{globale}} = \frac{I}{nFA} = \frac{J}{nF} = K_a C_R - K_c C_O \quad (\text{II-8})$$

Avec

J : la densité de courant. ( $\text{A cm}^{-2}$ );

A : l'aire de l'électrode de travail ( $\text{cm}^2$ );

$K_a$  et  $K_c$  : constant de vitesse ( $\text{cm s}^{-1}$ ) et ;

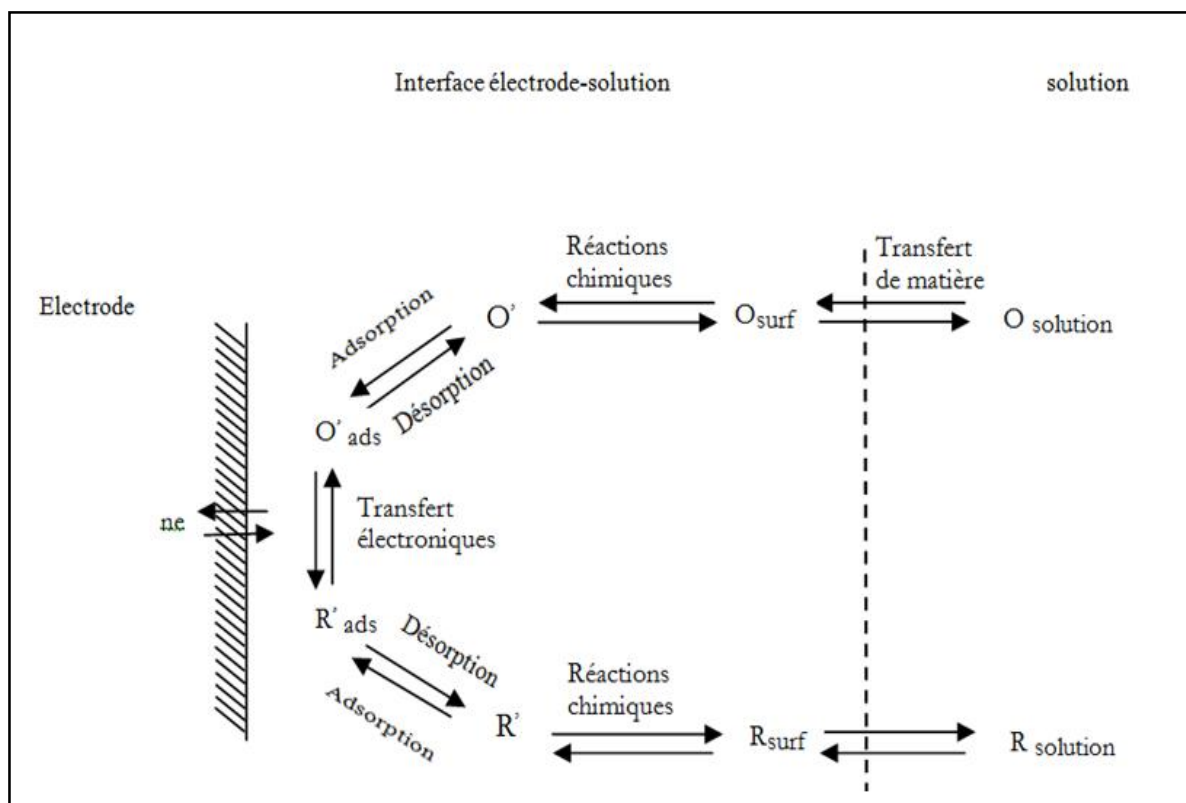
$C_R$  et  $C_O$ : concentration Red et Ox ( $\text{mole cm}^{-3}$ ).

#### II.2.4. Facteurs influençant la vitesse de la réaction électrochimique

Considérons une réaction électrochimique globale  $\text{Ox} + \text{né} \Leftrightarrow \text{Red}$  que l'on peut décomposer en une série d'étapes à l'issue desquelles l'espèce dissoute Ox, est réduite en l'espèce Red « **Figure II-4** » En générale, le courant (ou la vitesse de la réaction électrochimique) dépend de la vitesse de processus [3] tels que :

- Le transfert électronique (transfert de charge) : c'est-à-dire le transfert des électrons de l'électrode vers les espèces électroactives ou inversement. Décrit par la loi de Butler-Volmer, ce phénomène implique que le courant évolue de façon exponentielle en fonction de la surtension appliquée à l'électrode de travail. Il dépend de la nature de l'électrode de travail.

- Le transfert de matière : c'est-à-dire le transport des espèces électroactives vers l'interface électrode-électrolyte. Ce transport a lieu par diffusion et il est décrit par les lois de Fick. Il en découle que le courant est proportionnel à la concentration en solution de l'espèce électroactive si la couche de diffusion est d'épaisseur constante (régime de diffusion stationnaire). En revanche, le courant décroît en  $t^{-1/2}$  dans le cas d'un régime de diffusion naturelle (loi de Cottrell) car l'épaisseur de la couche de diffusion est variable [14].
- Les réactions chimiques qui précèdent ou suivent le transfert électrochimique, il peut s'agir de processus homogènes tel que des protonations ou dimérisations ou de processus hétérogènes tel que des décompositions catalytiques à la surface d'électrode.
- D'autres réactions chimiques à la surface d'électrode, telle qu'adsorption, désorption ou cristallisation (électrodéposition) [3].



**Figure II-4 :** Différentes étapes d'une réaction électrochimique générale [3].

### II.2.5. Application de la voltampérométrie cyclique dans le domaine de capteur chimique

La voltampérométrie cyclique s'applique avantageusement dans le domaine de capteurs chimique car elle permet d'obtenir des informations sur les mécanismes mis en jeu [15], et aussi pour fonctionnaliser la surface d'électrode de travail par électro-greffage (par exemple électro-

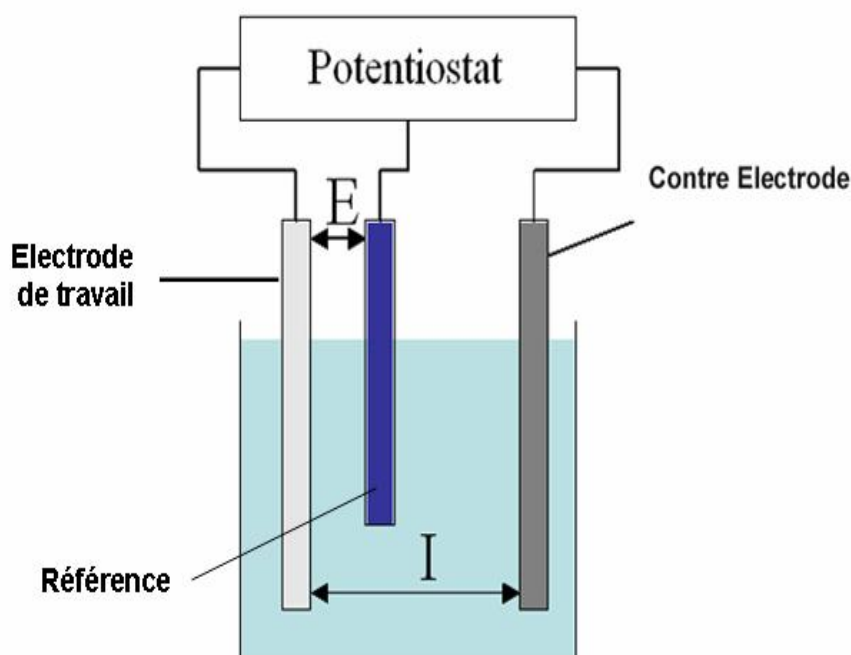
greffage de sel de diazonium sur la surface d'électrode [16-18]. Cette technique non invasive qui ne requiert pas d'instrumentation complexe permettant des applications courantes en laboratoire. Il est possible d'employer cette technique non seulement pour caractériser le comportement et les propriétés des différentes couches fonctionnalisées sur la surface d'électrode de travail, mais également comme un moyen de transduction pour la détection des molécules cibles comme les métaux lourds [19-21], le brome [22] l'hydrazine [23], les nitrites[24], et ainsi que le phénol [25].

### II.3. Spectroscopie d'impédance électrochimique (SIE)

#### II.3.1. Généralités

La technique de l'impédance électrochimique utilise un système de trois électrodes plongées dans un électrolyte support placé dans la cellule électrochimique « **Figure II-5** ». Les trois électrodes sont reliées à un montage constitué de la chaîne de mesure, Potentiostat. Ce dernier permet d'imposer un potentiel entre l'électrode de référence et l'électrode de travail et de mesurer le courant entre l'électrode de travail et l'électrode auxiliaire.

Le générateur de réponse en fréquence permet d'obtenir la forme sinusoïdale du signal de perturbation. La réponse à ce potentiel est un signal de courant alternatif qui sera analysé en fonction du temps et des caractéristiques du signal appliqué (fréquence, amplitude,...). Le traitement du signal de réponse par l'analyseur en fréquence permet d'obtenir les valeurs réelles et imaginaires de l'impédance électrochimique du système.



**Figure II-5** : Schéma de principe d'un montage à trois électrodes.

Cette technique non destructive adaptée à l'étude des propriétés électriques inter-faciales [3], différents processus électrochimiques sont observés à l'interface métal/électrolyte en fonction de la fréquence : le transfert de charge se produit à hautes fréquences qui a lieu entre l'interface et le métal défini comme un phénomène rapide, tandis que le transport de matière a lieu à basses fréquences qui a lieu entre l'interface et l'électrolyte, défini comme un phénomène plutôt lent. L'interface est également le lieu où se retrouvent les produits de corrosion, des réactions chimiques conduisant à l'adsorption et à la désorption de molécules au niveau de l'interface.

### II.3.2. Théorie

La résistance électrique, c'est la capacité d'un élément à résister à la circulation du courant électrique. La loi d'Ohm définit en termes de résistance : le rapport entre la tension  $E$ , et le courant  $I$ .

$$R = \frac{E}{I} \quad (\text{II-9})$$

Bien que cette loi explique le phénomène de la résistance, son utilisation est limitée à un seul élément de circuit (la résistance idéale).

Cependant, en réalité un circuit électrique contient des éléments qui présentent un comportement beaucoup plus complexe (capacité du condensateur, Inductance...). Ces éléments nous obligent à abandonner le concept simple de la résistance, et de le remplacer par l'impédance, un paramètre plus général du circuit électrique. Impédance vient du terme anglais « *impede* » signifiant faire obstacle.

Comme la résistance, l'impédance est une mesure de l'aptitude d'un circuit de résister à la circulation du courant électrique.

La définition d'impédance est une généralisation de la loi d'Ohm dans l'étude des circuits en courant alternatif.

Selon le vocabulaire et les notations normalisés par la Commission Electrotechnique Internationale (CEI), l'impédance d'un dipôle linéaire passif de bornes A et B est définie en régime sinusoïdal de courant et de tension par le quotient du nombre complexe image  $U$ , représentant la tension entre les bornes, par le nombre complexe image  $I$ , représentant le courant électrique à travers le dipôle.

$$Z = \frac{U}{I} \text{ en ohms } (\Omega) \quad (\text{II-10})$$

Avec :

- $U$  en Volt.
- $I$  en Ampère.

En toute rigueur, il convient de faire la différence entre impédance et résistance : la résistance est une grandeur réelle, alors que l'impédance fait appel aux nombres complexes, comportant une composante imaginaire.

Un nombre complexe est un ensemble de deux nombres réels **a** et **b** on écrit :

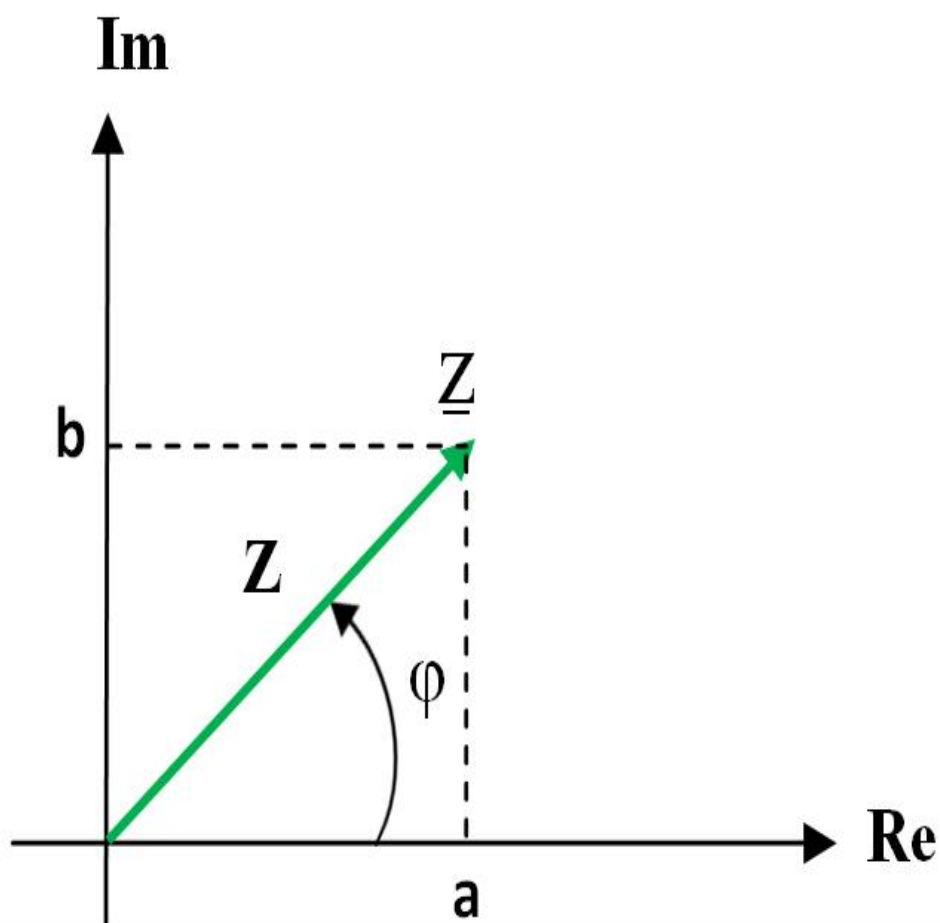
$$Z = a + i b \text{ (ou } Z = a + j b \text{)} \quad (\text{II-11})$$

*i* est la partie imaginaire avec  $i^2 = -1$  ou  $i = \sqrt{-1}$

Le symbole habituellement utilisé en mathématique pour représenter un imaginaire pur est la lettre *i*. Les nombres complexes, notés habituellement **z**, peuvent ainsi être présentés de forme cartésienne d'une manière :

- algébrique :  $z = x + iy$
- ou vectorielle :  $z = (x, y)$

Le réel **a** est appelé partie réelle de **z** et se note **Re(z)**, le réel **b** est sa partie imaginaire et se note **Im(z)** « Figure II-6 ».



**Figure II-6:** Représentation d'un nombre complexe dans l'espace à deux dimensions.

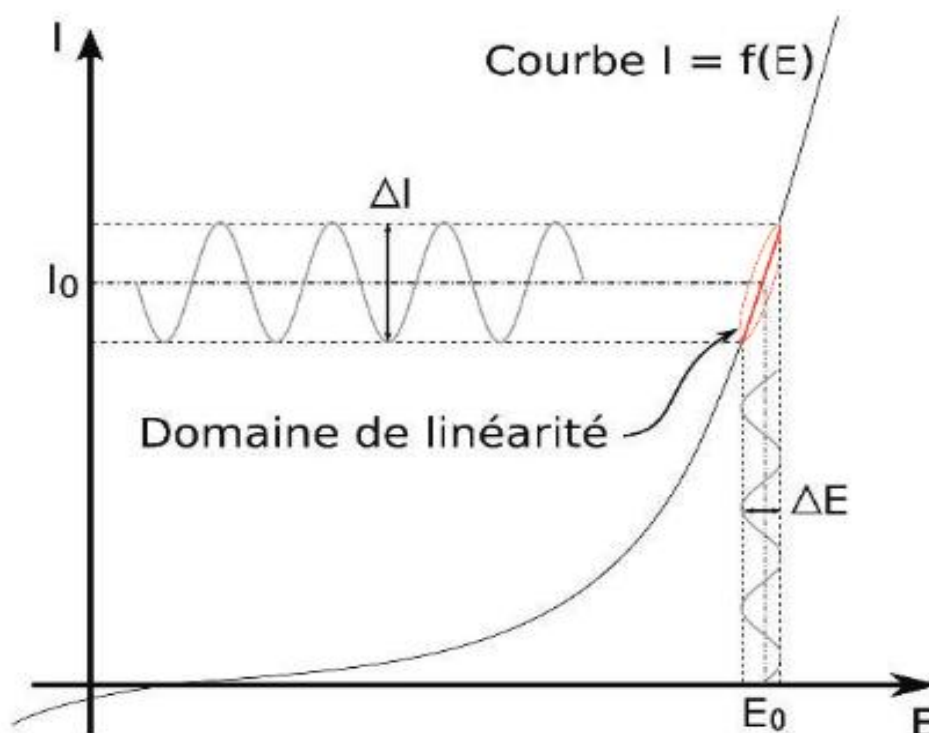
### II.3.3. Equilibre du système

La mesure d'un spectre SIE prend du temps. Le système mesuré doit être à un état d'équilibre pendant tout le temps de mesure. Une cause fréquente de problèmes dans les mesures et l'analyse par SIE est la dérive dans le système mesuré.

En pratique, un état d'équilibre peut être difficile à atteindre. La cellule peut être modifiée par adsorption des impuretés de la solution, la croissance d'une couche d'oxyde, l'accumulation de produits de réaction dans la solution, la dégradation du revêtement, ou les changements de température, pour ne citer que quelques facteurs.

Les outils d'analyse de la SIE peuvent donner des résultats très imprécis sur un système qui n'est pas à l'état stationnaire.

Les systèmes électrochimiques étudiés n'étant généralement ni linéaires, ni stables dans le temps, un certain nombre de précautions s'impose. Il faut s'assurer que le système reste « quasi stable » sur toute la durée de la mesure, et que l'amplitude de la sinusoïde soit suffisamment faible pour que la fonction  $I = f(E)$  soit linéaire dans le domaine perturbé « **Figure II-7** ».



**Figure II-7:** Schéma d'un système électrochimique non linéaire soumis à une perturbation sinusoïdale [26].

Le signal d'excitation, exprimée en fonction du temps, est de la forme

$$E_t = E_0 \sin(\omega t) \quad (\text{II-12})$$

où  $E_t$  est le potentiel au temps  $t$ ,  $E_0$  est l'amplitude du signal, et  $\omega$  est la fréquence radiale. La relation entre la fréquence radiale  $\omega$  (exprimé en radians / seconde) et la fréquence  $f$  (exprimée en hertz) est:

$$\omega = 2\pi f \quad (\text{II-13})$$

Dans un système linéaire, le signal de réponse,  $I_t$ , est décalé en phase ( $\phi$ ) et possède une amplitude différente de celle de  $I_0$ .

$$I_t = I_0 \sin(\omega t + \phi) \quad (\text{II-14})$$

Une expression analogue à la loi d'Ohm permet de calculer l'impédance du système en tant que:

$$Z = \frac{E_t}{I_t} = \frac{E_0 \sin(\omega t)}{I_0 \sin(\omega t + \phi)} = Z_0 \frac{\sin(\omega t)}{\sin(\omega t + \phi)} \quad (\text{II-15})$$

Il est possible d'exprimer l'impédance en fonction complexe. Le potentiel est décrit comme :

$$E_t = E_0 \exp(j\omega t) \quad (\text{II-16})$$

Et la réponse de courant :

$$I_t = I_0 \exp(j\omega t - \phi) \quad (\text{II-17})$$

L'impédance est alors représentée par un nombre complexe [26],

$$Z_{(\omega)} = \frac{E}{I} = Z_0 \exp(j\phi) = Z_0 (\cos \phi + j \sin \phi) \quad (\text{II-18})$$

### II.3.4. Impédance de différents phénomènes pouvant se produire à l'interface électrode/électrolyte

Lors de la mise en contact d'une électrode et d'un électrolyte, différents phénomènes physiques et physico-chimiques s'amorcent, chacun suivant sa propre cinétique, et conduisent le système vers un équilibre thermodynamique.

Ces phénomènes vont dépendre en partie du potentiel de surface de l'électrode et de celui présent au sein de la solution.

Ceci a pour conséquence de créer une variation de potentiel et de courant dans l'électrolyte, qui conduit au concept de chute ohmique. La chute ohmique est classiquement décrite comme étant une résistance d'électrolyte  $R_e$  [27]. L'impédance de la chute ohmique est

$$Z_{R_e}(\omega) = R_e \quad (\text{II-19})$$

#### II.3.4.1. Impédance de la double couche

Un autre phénomène observé à l'interface électrode/électrolyte est la formation d'une double

couche d'ions [28]. L'application d'une perturbation sinusoïdale lors de la mesure d'impédance entraîne la charge et la décharge de cette couche qui se comporte alors comme un condensateur électrique. La réponse de cette double couche génère d'un courant  $I_{dc}$  qui dépend de la fréquence de perturbation. Ce type de processus peut être généralisé à tous les phénomènes qui entraînent la charge et la décharge de deux zones séparées par un diélectrique. L'impédance d'un condensateur de capacité  $C$  est donnée par l'équation [26] :

$$Z_C(\omega) = -\frac{1}{j\omega C} \quad \text{Avec, } C = \epsilon\epsilon_0 \frac{A}{e} \quad (\text{II-20})$$

Où

$C$  : est la capacité de la double couche,

$\omega$  : La pulsation en  $[\text{rad s}^{-1}]$  (avec  $\omega = 2\pi f$  où  $f$  est la fréquence du signal en Hertz)

$\epsilon$  : La permittivité relative du diélectrique,

$\epsilon_0$  : La permittivité diélectrique du vide,

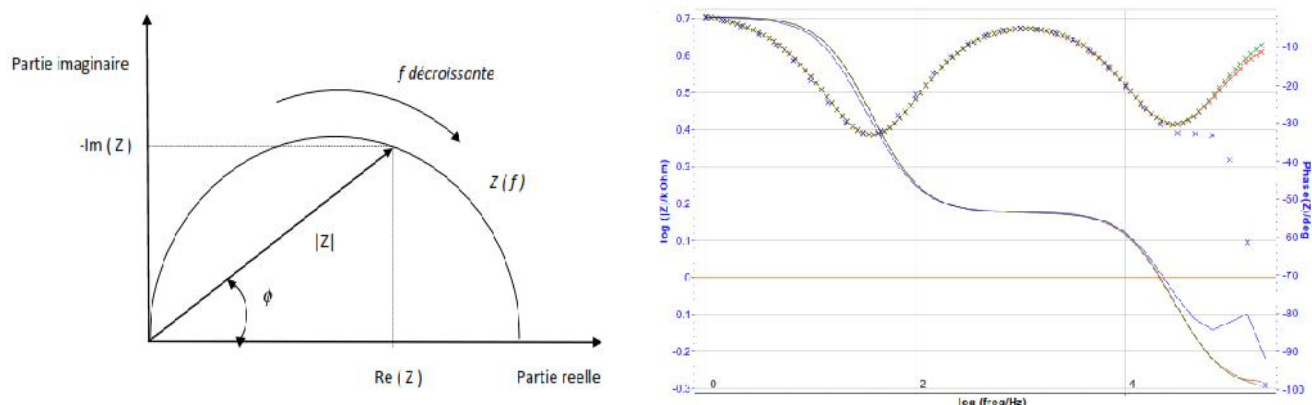
$A$  : L'aire de réaction et  $e$  l'épaisseur du diélectrique.

#### II.3.4.2. Résistance de transfert de charge $R_{tc}$

L'impédance électrochimique traduit la contribution électrochimique du système à la réponse électrique observée [29], elle comprend toujours une résistance au transfert d'ions et d'électrons impliquée dans la dissolution, appelée résistance de transfert de charge  $R_{tc}$ ,

#### II.3.4.3. Représentation traditionnelle des données

Habituellement, il existe deux modes de représentation des diagrammes d'impédance électrochimique. Ils peuvent être tracés en coordonnées cartésiennes dans le plan complexe de Nyquist en plaçant les valeurs  $\text{Re}(Z)$  en abscisse et  $-\text{Im}(Z)$  en ordonnée. La représentation de Bode est l'autre représentation classique pour visualiser les diagrammes. Dans ce cas, le module de l'impédance  $|Z|$  (représenté en échelle logarithmique) et le déphasage sont tracés en fonction de la fréquence, elle aussi représentée en échelle logarithmique. Ces deux visions différents d'un même résultat ne sont pas en compétition, elles sont complémentaires ; chacune d'entre-elles montre un aspect particulier du diagramme d'impédance. La représentation de Nyquist permet de voir les différentes « boucles et droites » du diagramme, mais masque les résultats à haute fréquence alors que la représentation de Bode offre la vision complète du domaine de fréquence, tout en étant moins parlant pour identifier certains phénomènes caractéristiques [26] « **Figure II-8** ».



**Figure II-8 :** Représentation graphique des diagrammes :(a) de Nyquist, et (b) de Bode.

#### II.3.4.4. Schémas électriques équivalents

L'impédance d'un système électrochimique, quel qu'il soit, peut être assimilée, par analogie, à une impédance électrique. Chaque phénomène physico-chimique se déroulant à l'interface électrode de travail/électrolyte peut être modélisé par un composant électrique (résistance, condensateur, bobine, etc....) placé en série ou en parallèle avec d'autres composants, constituant un circuit électrique équivalent. Ces circuits permettent d'ajuster les spectres d'impédance expérimentaux et d'extraire les paramètres (résistance  $R$ , capacité  $C$ , inductance  $L$ ) associés aux phénomènes physico-chimiques observés [30].

Dans la construction de ces circuits électriques équivalents, certains composants utilisés sont identiques à de véritables composants électriques, comme la résistance  $R$ , la capacité  $C$  ou même l'inductance  $L$  dont l'impédance est donnée par la relation suivante :

$$Z_L = jL\omega \quad (\text{II-21})$$

Qui peut servir dans le cadre d'impédance mesurée sur des systèmes complexes (batteries par exemple) [31].

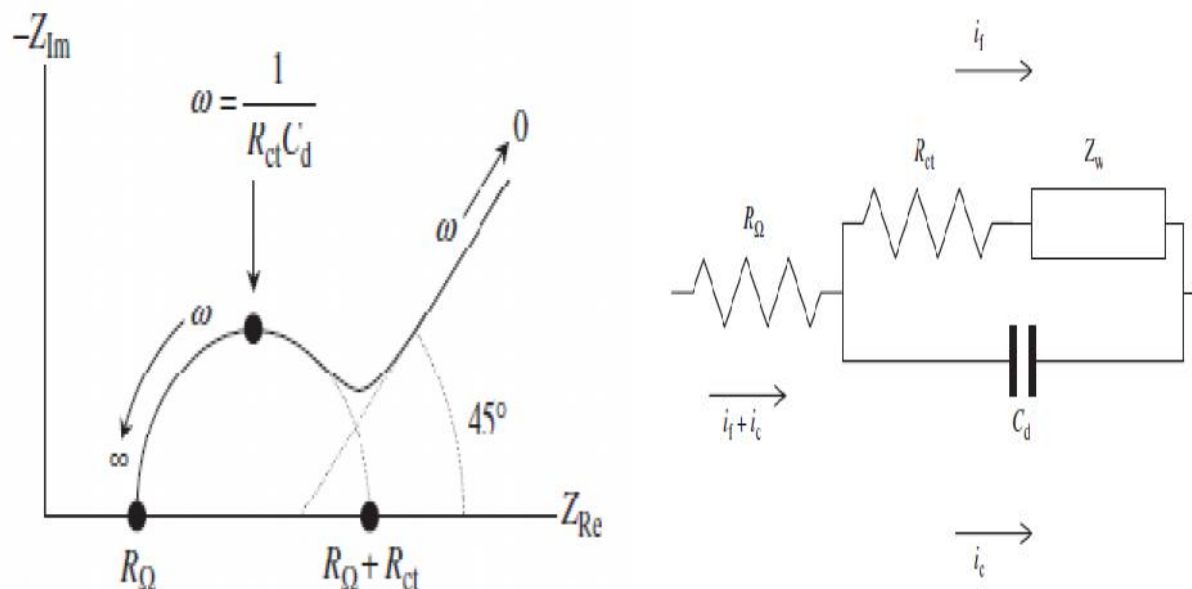
D'autres composants sont spécifiques aux processus électrochimiques comme l'impédance de Warburg, qui caractérise les phénomènes de transport de matière (diffusion), qui apparaît lorsque le porteur de charge diffuse à travers un matériau.

La diffusion des espèces dans une solution d'électrolyte est un phénomène lent, donc mesurable à basse fréquence. Pour une perturbation sinusoïdale du potentiel, le phénomène de diffusion se traduit par l'intervention d'une résistance au transfert de matière et dont l'expression en fonction de la fréquence angulaire est :

$$Z_W = \frac{\sigma}{\sqrt{\omega}} - j \frac{\sigma}{\sqrt{\omega}} \quad \text{Ou} \quad Z_W = \frac{\sqrt{2}\sigma}{\sqrt{j2\pi f}} \quad (\text{II-22})$$

où  $\sigma$  désigne le coefficient de Warburg. L'impédance de Warburg est représentée dans le plan

complexe, par une droite à 45° des axes « **Figure II-9** ».



**Figure II-9** : Impédance du circuit équivalent de Randles: cas d'une couche de diffusion [32].

### II.3.5. Application de la spectroscopie d'impédance électrochimique

La spectroscopie d'impédance électrochimique (SIE) est la catégorie de la spectroscopie d'impédance qui a été largement utilisée dans de nombreux domaines de l'électrochimie, par exemple, pour étudier la cinétique des réactions aux électrodes, la double couche, les batteries, la corrosion, l'électrochimie à l'état solide.

La SIE s'est montrée comme une technique intéressante pour la caractérisation, l'analyse et l'étude des piles à combustible [33], l'électrodéposition [34], les batteries [35, 36], et les phénomènes de corrosion [37]. Elle a été largement utilisée comme un outil pour étudier la cinétique d'électrode, les polymères conducteurs, les semi-conducteurs, les tissus d'origine animale et végétale, et le matériel en général [38].

Grâce à sa grande sensibilité pour sonder les propriétés interfaciales d'une surface d'électrode et sa capacité pour la caractérisation des interfaces électrode/électrolyte, la SIE a été largement appliquée aux biocapteurs aux cours des dernières années [39- 44].

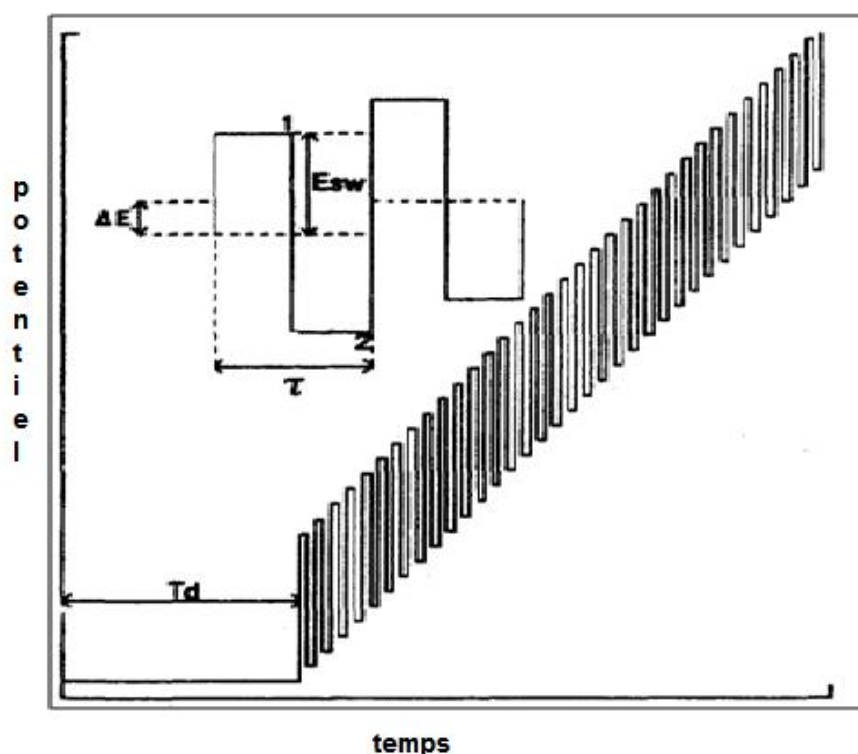
En plus, de surveiller l'effet du processus de reconnaissance, la spectroscopie d'impédance électrochimique est une méthode utile pour rechercher l'état de la surface de l'électrode après modification [45-47]. Il s'agit d'un pas important dans le développement de différents types de capteurs électrochimiques basés sur des couches polymériques sur des surfaces de matériaux conducteurs [48-54].

#### II.4. Voltampérométrie différentielle à onde carrée (SWV)

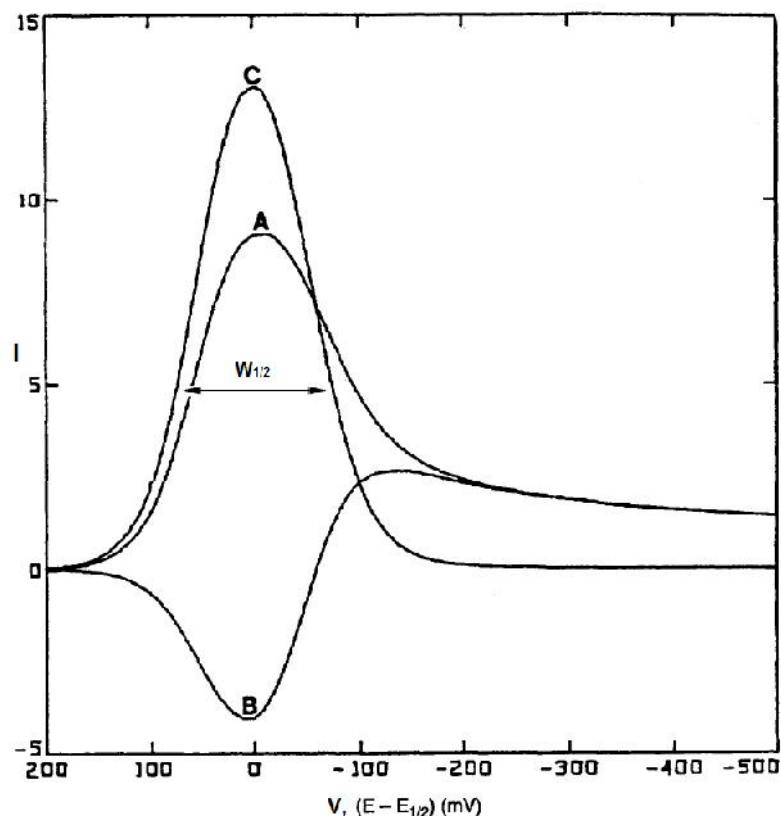
La Voltampérométrie à onde carrée (SWV), est basée sur la variation de potentiel, appliqué à l'électrode de travail, en fonction du temps, est constitué d'un escalier de potentiel, sur les marches duquel une impulsion de potentiel de période  $\tau = (1 / f)$  (typiquement la fréquence  $f$ ), et d'amplitude constante  $E$ .

Le signal mesuré est la différence  $I = I_c - I_f$  entre les courants mesurés à la fin de chaque montant,  $I_c$  (courant capacitif à  $t_1$ ) et pulse descendant de l'onde carrée,  $I_f$  (courant faradique à  $t_2$ ) voire « **figure II-10** ».

Le principal avantage de la voltampérométrie à onde carrée est permet de varier le potentiel à des vitesses de balayage beaucoup plus élevées (de l'ordre de  $0.5 \text{ V s}^{-1}$ ) et ainsi d'améliorer la sensibilité avec des limites de détection très faibles, en prenant avantage des réponses. Non seulement par la réduction du temps d'analyse (un voltammogramme peut être enregistré en quelques secondes), mais également par une augmentation du rapport ( $I_f / I_c$ ). En effet, après une variation instantanée de potentiel, la décroissance du courant capacitif a lieu plus rapidement que la décroissance du courant faradique.



**Figure II-10** : Variation de potentiel en fonction du temps d'un voltammogramme à onde carrée [55].



**Figure II-11 :** Voltammogramme à onde carrée pour un système réversible,  $I_c$ ,  $I_f$  et  $I$  représentent respectivement, le courant aller (A), le courant retour (B) et le rapport entre les deux courants  $I_c$ ,  $I_f$  (C) [55].

Dans le cas d'un système réversible, le courant différentiel  $I_p$  est proportionnel à la concentration des analytes correspondants selon l'équation (II-23) :

$$\delta I_p = nFC \frac{1-\Omega}{1+\Omega} \sqrt{\frac{D}{\pi t_m}} \quad \text{Avec } \Omega = \exp\left(\frac{nF\Delta E}{2RT}\right) \quad (\text{II-23})$$

Avec

$\delta I_p$  : Le courant différentiel (A) ;

C: La concentration de l'espèce électroactive ( $\text{mol m}^{-3}$ ) ;

D: Le coefficient de diffusion ( $\text{m}^2 \text{s}^{-1}$ ) ;

$\Delta E$  : L'amplitude du signal carré (V).

Dans le domaine de fréquences où le système peut être considéré comme réversible ( $I_p$  proportionnel à la concentration des analytes) et pour de faibles amplitudes de potentiel, la courbe obtenue présentée en « **Figure II-11(C)** » a une forme gaussienne et la largeur à mi-hauteur du pic  $W_{1/2}$  est définie par la relation suivante :

$$W_{1/2} = 3,52 \frac{RT}{nF} \quad (\text{II-24})$$

A partir de cette mesure réalisée sur un pic isolé, il est possible de déterminer le nombre d'électrons échangés au cours de la réaction électrochimique d'une manière plus précise qu'en voltampérométrie cyclique [55].

#### II.4.1. Application de la voltampérométrie différentielle à onde carrée

La voltampérométrie à onde carrée (SWV) a été utilisée pour la caractérisation électrochimique. Elle est une méthode rapide, précise et rentable, cette technique est très importante pour la détection sélective et sensible des ions du Zinc dans des échantillons réels: des échantillons d'eau [56, 57], des extraits de cendres volantes et des eaux minérales [58], de l'eau minière [59], des repas [60], des eaux usées [61, 62], de l'eau, des aliments et des échantillons pharmaceutiques [63].

### II.5. Conclusion

Dans ce chapitre nous nous sommes consacrés à détailler les techniques électrochimiques d'analyse. Ces techniques offrent l'avantage d'être rapides, sensibles et faciles à mettre en œuvre, elles peuvent être divisées en plusieurs catégories en fonction du paramètre qui est contrôlé et de celui qui est mesuré, seules les techniques qui ont été utilisées sont détaillées. En l'occurrence, la spectroscopie d'impédance électrochimique (SIE), la voltampérométrie cyclique (VC) et la voltampérométrie différentielle à onde carrée (SWV). La principale propriété de la VC est sa capacité à donner des informations qualitatives sur une réaction d'oxydo-réduction produisant à l'interface de l'électrode. SIE a été largement utilisée pour étudier la cinétique des réactions aux électrodes, elle est fréquemment utilisée pour la détermination des paramètres de transfert de charge et les études de structure du double couche, les propriétés interfaciales d'une surface d'électrode et sa capacité pour la caractérisation des interfaces électrode/électrolyte. Elle est une méthode utile pour rechercher l'état de la surface de l'électrode après modification. La SWV a été utilisée pour la caractériser électrochimiquement les surfaces des (bios) capteurs. Elle est rapide, précise et rentable, et très importante pour la détection sélective et sensible des ions du Zinc dans des échantillons des eaux de surface et des eaux de mer. Le principal avantage de la SWV est de permettre la variation du potentiel à des vitesses de balayage beaucoup plus élevées et ainsi d'améliorer la sensibilité avec des limites de détection très faibles, en prenant avantage des réponses.

**Références bibliographiques de chapitre II**

- [1] **M. Pourbaix**,  
"Atlas d'équilibres électrochimiques", Gauthier-Villars, Paris, 1963, p. 40.
- [2] **I. Naranjo Rodriguez, J. L. Hidalgo de Cisneros**,  
"Organic analysis in environmental samples by electrochemical methods. Encyclopedia of Analytical Chemistry: Instrumentation and Application", John Sons, United Kingdom, 4(2000) 3035-3064.
- [3] **A. Bard and L. Faulkner**,  
"Electrochemical methods: Fundamentals and applications", John Miley & sons, Inc. 2001.
- [4] **Z. Borkowska et al**,  
"Double layer structure at the mercury/N-methylformamide interface", J. Electroanal. Chem., Vol. 124, 1981, pp. 263-275.
- [5] **A.M. Bond**,  
"Techniques and procedures for polarography in anhydrous hydrogen fluoride: Fabrication of a teflon DME by electrical discharge", J. Electroanal. Chem., Vol. 39, 1972, pp.137-146.
- [6] **C. Lamy, P. Malaterre**,  
"Analyse théorique du fonctionnement et de la stabilité d'un système potentiostatique a large bande passante avec correction automatique de chute ohmique", J. Electroanal. Chem., Vol. 32,1971, pp.137-151.
- [7] **J. Tacussel**,  
"Facteurs déterminant le temps de réponse d'un potentiostat. Technique nouvelle pour la mise en œuvre de la méthode de la "préimpulsion" potentiostatique", J. Electrochim. Acta., Vol. 11, 1966, pp.437-447.
- [8] **D. Arvid Skoog, F. J. Holler, T. A. Nieman**,  
"Principes d'analyse instrumentale, traduction et révision scientifique de la 5<sup>eme</sup> édition américaine par Claudine Buess-Herman et Freddy Dumont", (Université libre de Bruxelles), 2003 p.655.
- [9] **J. E. B. Randles**,  
"A cathode ray polarograph", Trans. Faraday Soc., Vol. 44, 1948, p.327.
- [10] **A. Šev ík, Collect. Czech**,  
"Oscillographic polarography with periodical triangular voltage", Chem. Commun.,Vol. 13,1948, pp. 349-377. <https://doi.org/10.1135/cccc19480349>.
- [11] **P. Delahay**,  
"Unified Theory of Polarographic Waves<sup>1</sup>", J. Am. Chem. Soc., Vol. 75(6), 1953, pp. 1430–1435.
- [12] **H. Matsuda, Y. Ayabe**,  
"The theory of the cathode-ray polarography of Randles-Sevcik, Zeitschrift fuer

- Elektrochimie and Angewandte Physikalische Chemie", *Z. Electrochem.*, 59, 1955, pp. 494-503.
- [13] **R. S. Nicholson, and Irving. Shain**,  
"Theory of Stationary Electrode Polarography. Single Scan and Cyclic Methods Applied to Reversible, Irreversible, and Kinetic Systems", *Anal. Chem.*, Vol. 36 (4), 1964, pp 706–723.
- [14] **Sébastien DELILE**,  
"Détection électrochimique du nitrométhane pour un détecteur de traces d'explosifs par concentration en milieu liquide", Thèse de doctorat de l'université François – Rabelais de Tours, 2013, p. 49.
- [15] **G.CAUQUIS et D.SERVE**,  
"Quelques observations relatives aux voltammétries sur électrode de carbone vitreux dans les milieux aprotiques", *J. Electroanal. Chem.*, Vol. 34, 1972, pp. A1-A6.
- [16] **R. BOURGEOIS et A. DELAY**,  
" Contribution de la voltammétrie à l'étude du comportement électrochimique, sur électrode de mercure, de certains ortho- et para-nitrophenylazobenzenes", *Electrochim. Acta*, Vol. 22(8), 1977, pp. 857-865.
- [17] **N. Zehani, P. Fortgang, M. S. Lachgar, A. Baraket , M. Arab, S. Dzyadevych, R. Kherrat, N. Jaffrezic-Renault**,  
"Highly sensitive electrochemical biosensor for bisphenol A detection based on a diazonium-functionalized boron-doped diamond electrode modified with a multi-walled carbon nanotube-tyrosinase hybrid film", *Biosens. Bioelectron.*, Vol. 74, 2015, pp.830–835.
- [18] **Z. Üstünda , A. Osman Solak**,  
"EDTA modified glassy carbon electrode: Preparation and characterization", *Electrochim. Acta* , Vol. 54(26), 2009, pp. 6426–6432.
- [19] **N. Ruecha, N. Rodthongkum, D. M. Cate, J. Volckens, O. Chailapakul , C. S. Henry**,  
"Sensitive electrochemical sensor using a graphene–polyaniline nanocomposite for simultaneous detection of Zn(II), Cd(II), and Pb(II) ", *Anal. Chim. Acta*, Vol. 874, 2015, pp. 40–48.
- [20] **M. Yüce , H. Nazır , G. Dönmez**,  
"Using of *Rhizopus arrhizus* as a sensor modifying component for determination of Pb(II) in aqueous media by voltammetry", *Bioresource Technology*, Vol. 101, 2010, pp. 7551–7555.
- [21] **W. Zhang , J. Yin , F. Min , L. Jia, D. Zhang, Q. Zhang, J. Xie ,**  
"Cyclic voltammetry analysis of copper electrode performance in Na<sub>2</sub>WO<sub>4</sub> solution and optical property of electrochemical synthesized CuWO<sub>4</sub> nanoparticles", *J. Alloys and Compounds*, Vol. 690, 2017, 221-227.
- [22] **B. Bennett, J. Chang, A. J. Bard**,  
"Mechanism of the Br<sub>2</sub>/Br<sup>-</sup> Redox Reaction on Platinum and Glassy Carbon Electrodes in Nitrobenzene by Cyclic Voltammetry", *Electrochim. Acta*, Vol. 219, 2016, pp. 1–9.
- [23] **H. Heydari, M. B. Gholivand , A. Abdolmaleki**,  
"Cyclic voltammetry deposition of copper nanostructure on MWCNTs modified pencil

graphite electrode: An ultra-sensitive hydrazine sensor", *Mater. Sci. Eng. C*, Vol. 66, 2016, pp. 16–24.

[24] **A. Terbouche , S. Lameche, C. Ait-Ramdane-Terbouche, D. Guerniche , D. Lerari, K. Bachari, D. Hauchard ,**

"A new electrochemical sensor based on carbon paste electrode/Ru(III) complex for determination of nitrite: Electrochemical impedance and cyclic voltammetry measurements", *Measurement* , Vol. 92, 2016, pp. 524–533.

[25] **B. Idbelkas, D. Takky,**

"Traitement électrochimique d'eaux usées chargées de phénol : étude comparative sur des électrodes de dioxyde de plomb et de platine", *Ann. Chim. Sci. Mat.*, Vol. 26 (2), 2001, pp. 33-44.

[26] **J . JORCIN**

"Spectroscopie d'impédance électrochimique locale : caractérisation de la delamination des peintures et de la corrosion des alliages Al-Cu", Thèse de doctorat de l'institut national polytechnique de Toulouse, 2007, pp. 12,17.

[27] **J. Newman,**

"Frequency dispersion in capacity measurements at a disk electrode", *J. Electrochem. Soc.*, Vol. 117(2), 1970, pp. 198–203.

[28] **S. Amokrane et J. P. Badiali,**

"Analysis of the Capacitance of the Metal—Solution Interface: Role of the Metal and the Metal—Solvent Coupling", Vol. 22, of the series: *Modern Aspects of Electrochemistry*, 1992, pp. 1–95.

[29] **D. LOVEDAY, P. PETERSON, B. RODGERS,**

"Evaluation of Organic Coatings with Electrochemical Impedance Spectroscopy part1: fundamental of electrochemical impedance spectroscopy", *JCT Coatings Tech*, 2004, pp. 46- 52.

[30] **E. L. DIN-STIRBU,**

"Comportement à la corrosion des alliages d'aluminium utilisés dans l'industrie automobile pour la fabrication de radiateur de chauffage", Thèse de doctorat. INSA de Lyon, 2005.PP46-48.

[31] **S. Hong et L. Tai-Chin,**

"Electrochemical Impedance Spectroscopy for Battery Research and Development", Rapport technique 31, Solartron, 1996.

[32] **Cynthia G. Zoski,**

"Handbook of Electrochemistry", Las Cruces, New Mexico, USA 2007.

[33] **D. Malkoa, , T. Lopesb, , E. A. Ticianellib, , A. Kucernaka,**

"A catalyst layer optimisation approach using electrochemical impedance spectroscopy for PEM fuel cells operated with pyrolysed transition metal-N-C", *Catalysts Journal of Power Sources*, Vol. 323, 2016, pp. 189–200 (<http://dx.doi.org/10.1016/j.jpowsour.2016.05.035>).

- [34] **S. Ramalingam, K. Balakrishnan, S. Shanmugasamy and, A. Subramania,**  
"Electrodeposition and characterisation of Cu–MWCNTs nanocomposite coatings", *Surface Engineering*, Vol. 33(5), 2017, pp. 369-374.
- [35] **A. Ganesan, A. Varzi, S. Passerini, M. M. Shaijumon,**  
"Graphene derived carbon confined sulfur cathodes for lithium-sulfur batteries: Electrochemical impedance studies", *Electrochim. Acta*, Vol. 214, 2016, pp. 129–138.
- [36] **I.A. Jiménez Gordon, S. Grugeon, H. Takenouti, B. Tribollet, et al.,**  
"Electrochemical Impedance Spectroscopy response study of a commercial graphite-based negative electrode for Li-ion batteries as function of the cell state of charge and ageing", *Electrochim. Acta*, Vol. 223, 2017, pp 63–73.
- [37] **S. Ben Aoun, M. Bouklah, K.F. Khaled, B. Hammouti,**  
"Electrochemical Impedance Spectroscopy Investigations of Steel Corrosion in Acid media in the presence of Thiophene Derivatives", *Int. J. Electrochem. Sci.*, Vol.11, 2016, pp. 7343–7358.
- [38] **L. A. Tobias Kogel, E. Boschmann, J. Baur,**  
"Lubricant induced metal corrosion - an electrochemical impedance spectroscopy approach", *Goriva i maziva*, Vol. 55, 2016, pp. 131-135.
- [39] **M. V. Riquelme, H. Zhao, V. Srinivasaraghavan, A. Pruden, P. Vikesland, M. Agah,**  
"Optimizing blocking of nonspecific bacterial attachment to impedimetric biosensors", *Sensing and Bio-Sensing Research*, Vol. 8, 2016, pp. 47–54 (<http://dx.doi.org/10.1016/j.sbsr.2016.04.003>).
- [40] **M. S. Wiederoder, I. Misri, D. L. De Voe,**  
"Impedimetric immunosensing in a porous volumetric microfluidic detector", *Sens. Actuators B.*, Vol. 234, 2016, pp. 493–497.
- [41] **E. B. Bahadır, and M. K. Sezgintürk,**  
"A review on impedimetric biosensors", *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, Vol. 44(1), 2016, pp. 248-262.
- [42] **Zhe-Han Yang, Y. Zhuo, R. Yuan, and Ya-Qin Chai,**  
"Amplified impedimetric aptasensor combining target-induced DNA hydrogel formation with pH-stimulated signal amplification for the heparanase assay", *Nanoscale*, Vol.9, 2017, pp. 2556-2562.
- [43] **Seon-Ah Jin, S. Poudyal, E. E. Marinero, R. J. Kuhn, L. A. Stanciu,**  
"Impedimetric Dengue Biosensor based on Functionalized Graphene Oxide Wrapped Silica Particles", *Electrochim. Acta*, Vol. 194, 2016, pp. 422–430.
- [44] **A. Hushegyi, D. Pihíková, T. Bertok, V. Adam, R. Kizek, J. Tkac,**  
"Ultrasensitive detection of influenza viruses with a glycan-based impedimetric biosensor", *Biosens. Bioelectron.*, Vol. 79, 2016, pp. 644–649.
-

- [45] **F.S. Husairia, J. Rouhia, K.A. Eswara, C.H. Raymond Ooid, M. Rusopa, S. Abdullaha**, "Ethanol solution sensor based on ZnO/PSi nanostructures synthesized by catalytic immersion method at different molar ratio concentrations: An electrochemical impedance analysis", *Sens. Actuators A*, Vol. 236, 2015, pp. 11–18.
- [46] **A. Sharma, J. K. Bhattarai, S. S. Nigudkar, S. G. Pistorio, A. V. Demchenko, K. J. Stine**, "Electrochemical impedance spectroscopy study of carbohydrate-terminated alkanethiol monolayers on nanoporous gold: Implications for pore wetting", *J. Electroanal. Chem.*, Vol. 782, 2016, pp. 174–181.
- [47] **J. K. Bhattarai, Y. H. Tan, B. Pandey, K. Fujikawa, A. V. Demchenko, K. J. Stine**, "Electrochemical impedance spectroscopy study of Concanavalin A binding to self-assembled monolayers of mannosides on gold wire electrodes", *J. Electroanal. Chem.*, Vol. 780, 2016, pp. 311–320.
- [48] **H. Bagheri, N. Pajoohepour, A. Afkhami and H. Khoshshafar**, "Fabrication of a novel electrochemical sensing platform based on a core-shell nanostructured/molecularly imprinted polymer for sensitive and selective determination of ephedrine", *RSC Adv.*, Vol. 6, 2016, pp. 51135-51145.
- [49] **L. Mendecki, N. Callan, M. Ahern, B. Schazmann and A. Radu**, "Influence of Ionic Liquids on the Selectivity of Ion Exchange-Based Polymer Membrane Sensing Layers", *Sensors*, Vol. 16(7), 2016, p. 1106.
- [50] **G. Evtugyn, T. Hianik**, "Electrochemical DNA sensors and aptasensors based on electropolymerized materials and polyelectrolyte complexes, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*", Vol. 79, 2016, pp. 168–178.
- [51] **B. Rezaei, M. K. Boroujeni, A. A. Ensafi**, "Development of Sudan II sensor based on modified treated pencil graphite electrode with DNA, o-phenylenediamine, and gold nanoparticle bioimprinted polymer", *Sens. Actuators B.*, Vol. 222, 2016, pp. 849–856.
- [52] **Y. Li, H. Song, L. Zhang, P. Zuo, Bang-ce Ye, J. Yao, W. Chen**, "Supportless electrochemical sensor based on molecularly imprinted polymer modified nanoporous microrod for determination of dopamine at trace level", *Biosensors and Bioelectronics*, Vol. 78, 2016, pp. 308–314.
- [53] **J. Bai, X. Zhang, Y. Peng, X. Hong, Y. Liu, S. Jiang, B. Ning, Z. Gao**, "Ultrasensitive sensing of diethylstilbestrol based on AuNPs/MWCNTs-CS composites coupling with sol-gel molecularly imprinted polymer as a recognition element of an electrochemical sensor", *Sens. Actuators B*, Vol. 238, 2017, pp. 420–426.
- [54] **Y. Hu, B. Liang, L. Fang, G. Ma, G. Yang, Q. Zhu, S. Chen, and X. Ye**, "Antifouling Zwitterionic Coating via Electrochemically Mediated Atom Transfer Radical Polymerization on Enzyme-Based Glucose Sensors for Long-Time Stability in 37 °C Serum", *Langmuir*, 2016, Vol. 32 (45), pp. 11763–11770.
-

[55] **Joseph WANG,**

"Analytical electrochemistry, Second Edition", Wiley-VCH; 2000, pp 72, 73

[56] **J. M. Zen, D. M. Tsai, H. H. Yang ,**

"Sensitive Determination of Zinc(II) in Real Samples Using a Poly(4-vinylpyridine)/Mercury Film Electrode, Sensitive Determination of Zinc(II) in Real Samples Using a Poly(4-vinylpyridine)/Mercury Film Electrode", Chinese Chemical Society, Vol. 50, 2003, pp. 375-380.

[57] **L. Tang, X. Dai, K. Zhong, D. Wu, X. Wen,**

"A novel 2, 5-diphenyl-1, 3, 4-oxadiazole derived fluorescent sensor for highly selective and ratiometric recognition of  $Zn^{2+}$  in water through switching on ESIPT", Sens. Actuators B vol. 203, 2014, pp. 557–564. Sens. Actuators B, Vol. 203, 2014, pp. 557–564.

[58] **Królicka, A. Bobrowski ,**

"Employing a magnetic field to amplify zinc signal obtained at bismuth film screen-printed electrodes generated using dual bismuth precursor", Electrochim. Acta, Vol. 187, 2016, pp. 224–233.

[59] **S. Uba, B.R. Horrocks, A. Uzairu, M.S. Sallau, H. Abba,**

"Comparative Studies of Heavy Metals in Mine Water by Square Wave Stripping Voltammetry and Atomic Spectroscopy", International Research Journal of Pure and Applied Chemistry, Vol. 4, 2014, pp. 417-429.

[60] **C. Locatelli,**

"Heavy Metals in Matrices of Food Interest: Sequential Voltammetric Determination at Trace and Ultratrace Level of Copper, Lead, Cadmium, Zinc, Arsenic, Selenium, Manganese and Iron in Meals", Electroanal., Vol.16, 2004, pp. 1478–1486.

[61] **M. Á.G. Rico, M. Olivares-Marín, E.P. Gil,**

"A Novel Cell Design for the Improved Stripping Voltammetric Detection of Zn(II), Cd(II), and Pb(II) on Commercial Screen-Printed Strips by Bismuth Codeposition in Stirred Solutions", Electroanal., Vol. 20 , pp. 2608–2613.  
DOI: 10.1002/elan.200804360

[62] **M. Hosseini, S.D. Abkenar, M.R. Ganjali, F. Faridbod,**

"Determination of zinc (II) ions in waste water samples by a novel zinc sensor based on a new synthesized Schiff's base", Mater. Sci. Eng., Vol. 31, 2011, pp. 428–433.

[63] **E. Roy, S. Patra, R. Madhuri, P.K. Sharma,**

"Development of an imprinted polymeric sensor with dual sensing property for trace level estimation of zinc and arginine", Mater. Sci. Eng., Vol. 49, 2015, pp. 25–33.

---

## CHAPITRE .III

# ÉLABORATION D'UNE NOUVELLE ÉLECTRODE SÉLECTIVE À BASE D'EDTA APPLIQUÉE À LA DÉTECTION DES IONS DE ZINC DANS LES MATRICES RÉELLES D'ANNABA

---

### III.1. Introduction

Dans ce chapitre, nous nous sommes intéressés à l'élaboration d'un nouveau capteur électrochimique basé sur une électrode de carbone vitreux (CV) modifiée pour la détection des ions de Zinc. Pour cette raison, le 4 para –nitrobenzène de diazonium (P-NBD), 4-Nitrophényle (NP), 4-Aminophényle (AP) et l'éthylène diamine tétra acétique (EDTA) ont été successivement déposés électrochimiquement sur la surface d'électrode de carbone vitreux (CV). La spectroscopie d'impédance électrochimique (SIE), la voltampérométrie cyclique (VC), et la voltampérométrie à onde carrée (SWV) ont été utilisées pour la caractérisation du capteur sélectif élaboré.

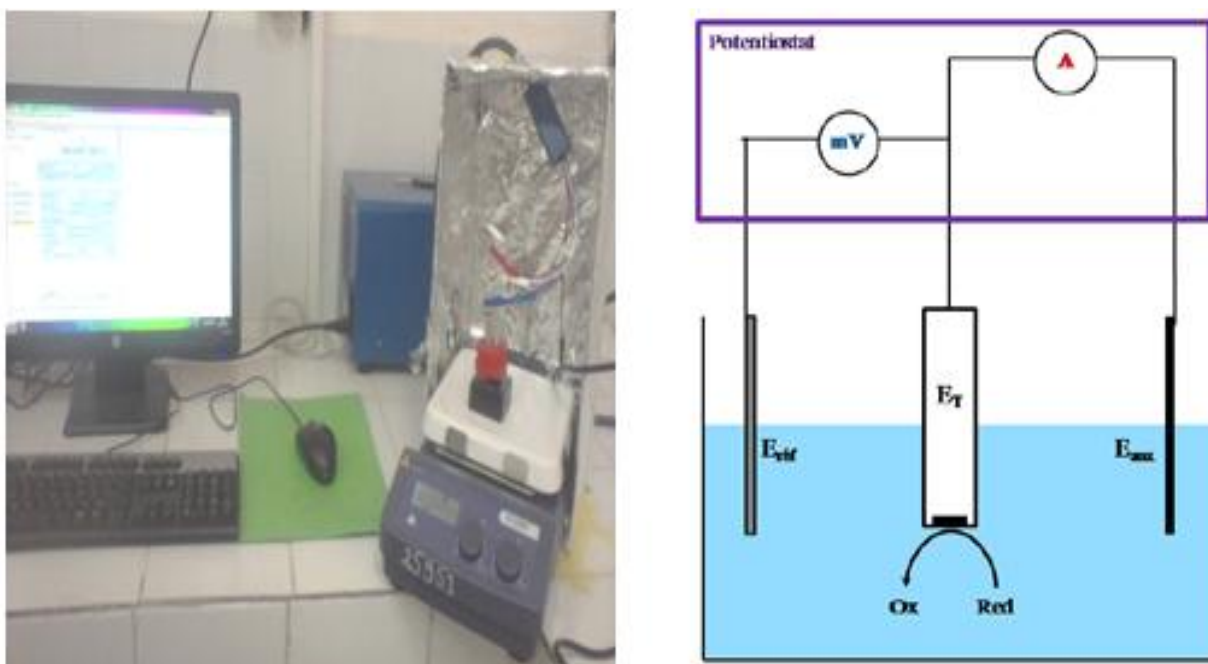
La sensibilité et la sélectivité du nouveau capteur élaboré pour la détection du Zinc ont été étudiées et testées dans des solutions aqueuses et dans des matrices réelles de la ville d'Annaba. En plus du Zinc, trois métaux lourds ont été utilisés pour les mesures d'interférence (le Cuivre, le Plomb et le Cadmium).

### III.2. Procédure expérimental

#### III.2.1. Matériel électrochimique

Les mesures électrochimiques réalisées au cours de ce travail font appel à un montage potentiostatique à trois électrodes « **Figure III-1** ». Il comprend une électrode de travail, qui est un siège des réactions électrochimiques étudiées, une électrode auxiliaire, qui ferme le circuit électrique, et une électrode de référence, qui permet de contrôler et mesurer à chaque instant le

potentiel de l'électrode de travail. Pour toutes les mesures électrochimiques réalisées, nous avons utilisé une cellule électrochimique, thermostatée et à double paroi. Ces mesures ont été effectuées à l'aide d'un EC-Lab SP-300 avec un système à trois électrodes classiques à l'intérieur d'une cage de Faraday à la température ambiante: une électrode CV modifiée qui a été utilisé en tant qu'électrode de travail, un fil de platine comme contre électrode et une électrode au calomel saturé (ECS) comme étant l'électrode de référence.



**Figure III-1:** Montage expérimental potentiostatique à trois électrodes.

### III.2.2. Méthodes électrochimiques

Les électrodes modifiées ont été caractérisées par plusieurs techniques électrochimiques, telles que : la spectroscopie d'impédance électrochimique (SIE), la voltampérométrie cyclique (VC), et la voltampérométrie à onde carrée (SWV).

La spectroscopie d'impédance électrochimique permet d'obtenir des informations sur l'état de la charge des groupements greffés à la surface de l'électrode. Les mesures d'impédance sont effectuées à la température ambiante. La gamme de fréquence était de 100 mHz à 100 kHz et l'amplitude du voltage sinusoïdal était de 10 mV. Toutes ces mesures ont été effectuées au potentiel en circuit ouvert dans une solution aqueuse de 0,1 M KCl contenant un couple redox de ferrocyanure / potassium ( $5\text{mM } [\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-} / 0,1 \text{ M KCl}$ ) ajustée à pH 7 par une solution de KOH

---

1 M. Le logiciel Zview a été utilisé pour l'analyse des données de la spectroscopie d'impédance électrochimique.

La voltampérométrie cyclique a été utilisée au cours de ces expériences a fin de réaliser des couches greffées sur l'électrode de carbone vitreux et le contrôler des processus qui se produisent sur les surfaces des électrodes modifiées. Elle permet d'obtenir des informations caractéristiques sur les mécanismes mis en jeu. La plage de potentiel utilisée pour l'électro-greffage du sel de diazonium sur la surface de l'électrode de carbone vitreux est située entre 0,6 et -0,4 V. La modification par réduction des groupements Nitrophényles en groupements Aminophényles sur le carbone vitreux est située entre 0,4 et -1,25 V. Une vitesse de balayage de potentiel de  $100 \text{ mV s}^{-1}$  a été utilisée pour les deux processus d'oxydation et de réduction.

Les mesures de la voltampérométrie à onde carrée ont été utilisées pour caractériser la sensibilité des capteurs élaborés et étudier l'effet du pH de l'électrolyte support. La plage de potentiel utilisée se situe entre -0,2 et 0,5V avec une vitesse de balayage de  $100 \text{ mV s}^{-1}$ . Selon la valeur du pH deux électrolytes support ont été utilisés : un mélange acétate de sodium / acide acétique à pH 4,5 et une solution de PBS à pH 7,0.

### III.2.3. Préparation de l'électrode de carbone vitreux

Avant toute manipulation électrochimique, l'électrode de travail est polie, nettoyée et rincée. Le protocole de préparation est décrit comme suit :

- **Polissage primaire**

La première étape de préparation de l'électrode de carbone vitreux consiste à un polissage abrasif utilisant du Carbure de Silicium (SiC), qui permet un renouvellement complet et efficace de la surface de l'électrode.

- **Réduction des irrégularités de la surface d'électrode**

Afin de réduire les irrégularités de la surface causées par la première étape de polissage, un second polissage avec des suspensions diamantées de granulométrie décroissante. Ce protocole permet d'obtenir une surface plane avec un effet miroir. L'électrode est ensuite rincée successivement à l'eau Milli-Q puis passée aux ultrasons dans une solution d'éthanol, pour éliminer les particules de diamant ou d'impureté de la surface de l'électrode. Les protocoles de polissage et de rinçage sont reportés dans le « **Tableau III-1** ».

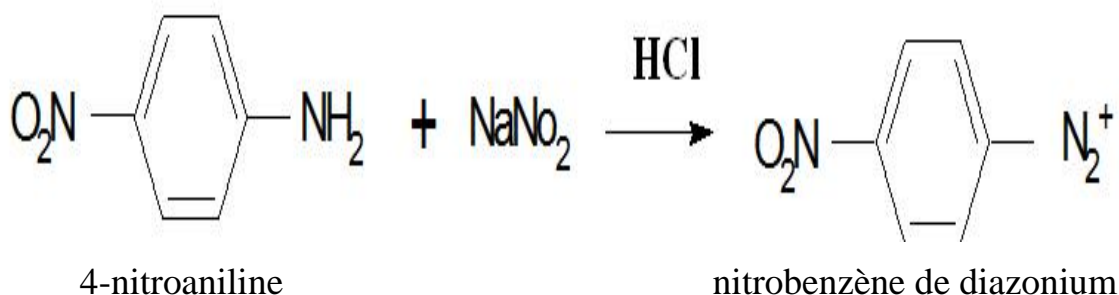
**Tableau III-1** : Protocole de polissage et rinçage d'une électrode de carbone vitreux [1].

<b>Polissage</b>	<b>Tapis : Carbure de silicium (SiC) P1200 15<math>\mu</math>m / t=10s / H<sub>2</sub>O / r=100rpm</b>	
	<b>Tapis : Presi PAD TOP Ø250 / t=60s / Suspension diamantée Presi 9<math>\mu</math>m / r=400 tr.min<sup>-1</sup></b>	
	<b>Tapis : Presi PAD RAM Ø250 / t=60s / Suspension diamantée Presi 3<math>\mu</math>m / r=300 tr.min<sup>-1</sup></b>	
	<b>Tapis : Presi PAD RAM Ø250 / t=60s / Suspension diamantée Presi 1<math>\mu</math>m / r=200 tr.min<sup>-1</sup></b>	
	<b>Tapis : Presi PAD NT Ø250 / t=60s / Suspension diamantée Presi 1/4<math>\mu</math>m / r=100 tr.min<sup>-1</sup></b>	
<b>Rinçage</b>	<b>H<sub>2</sub>O Milli-Q + EtOH</b>	
	<b>Ultrasons 5min dans EtOH</b>	<b>x3</b>
	<b>Lavage H<sub>2</sub>O Milli-Q + EtOH</b>	
	<b>Lavage H<sub>2</sub>O Milli-Q</b>	

### III.2.4. Synthèse du sel de diazonium

Les sels de diazonium aromatiques ont été découverts en 1858 par Johann Peter Griess (1828-1886) [2] et leur usage en synthèse s'est rapidement démocratisé [3-5]. Ils sont communément préparés à partir de l'arylamine correspondante en présence d'une source de Nitrite [6-11].

Lorsque la réaction est effectuée en milieu aqueux, le sel de diazonium est généralement préparé en employant le Nitrite de Sodium en milieu acide fort « **Figure III-2** » [12-17].

**Figure III-2** : Réaction de Synthèse du sel : Nitrobenzène de Diazonium [18].

- Dans un ballon Bicol de 500ml, on met une solution aqueuse de HCl de concentration 0,1 M dans laquelle on dissout 2 g de Nitroaniline sous agitation. Après quelques minutes d'agitation, la solution change de couleur et devient jaune.
- 1,5 g de Nitrite de Sodium NaNO<sub>2</sub> est dissout dans 12 ml d'eau distillée. Ensuite, la solution est introduite dans une ampoule à décanter.

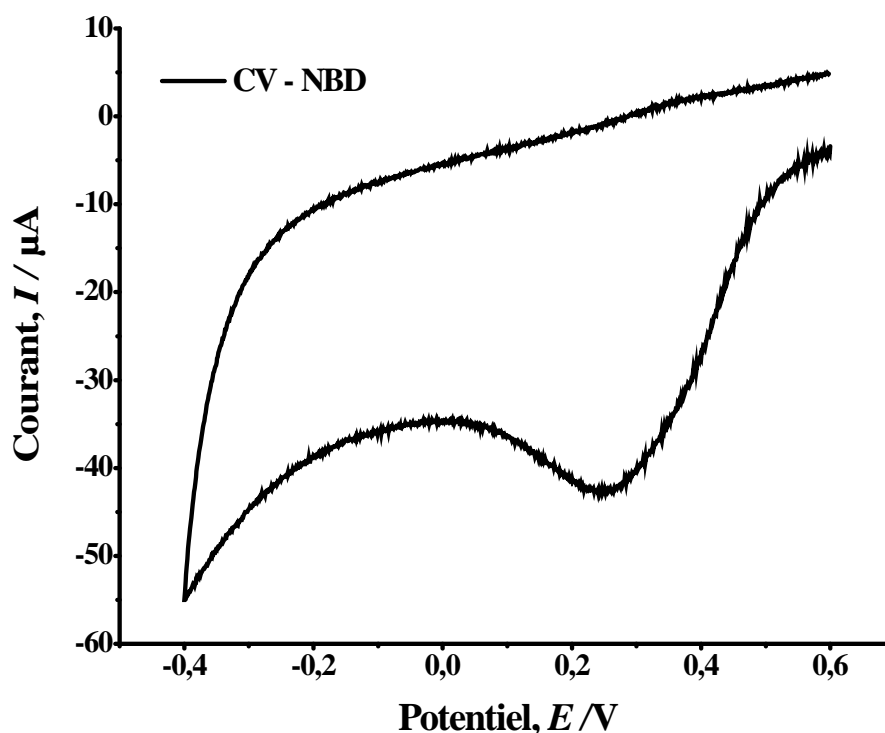
- Pour favoriser une température inférieure à 4°C, on met le ballon qui contenant la solution de Nitroaniline sous agitation dans un bain glacé composé d'eau, de morceaux de glace broyé et de NaCl.
- Après, la solution aqueuse de Nitrite de Sodium est ajoutée goutte à goutte à la solution de Nitroaniline. La couleur du mélange devient marron. Le sel de diazonium synthétisé est stocké à l'obscurité entre à 4 ° C.

### III.2.5. Modification de la surface de l'électrode de carbone vitreux

Les mesures électrochimiques ont été effectuées en utilisant un EC-Lab SP-300 avec un système de cellule électrochimique contenant trois électrodes « **Figure III-1** ».

#### a) Déposition électrochimique de 4-nitrophenyl et 4-aminophenyl

L'électrode de carbone vitreux a été immergée dans une solution de sel de diazonium de 0,1M.

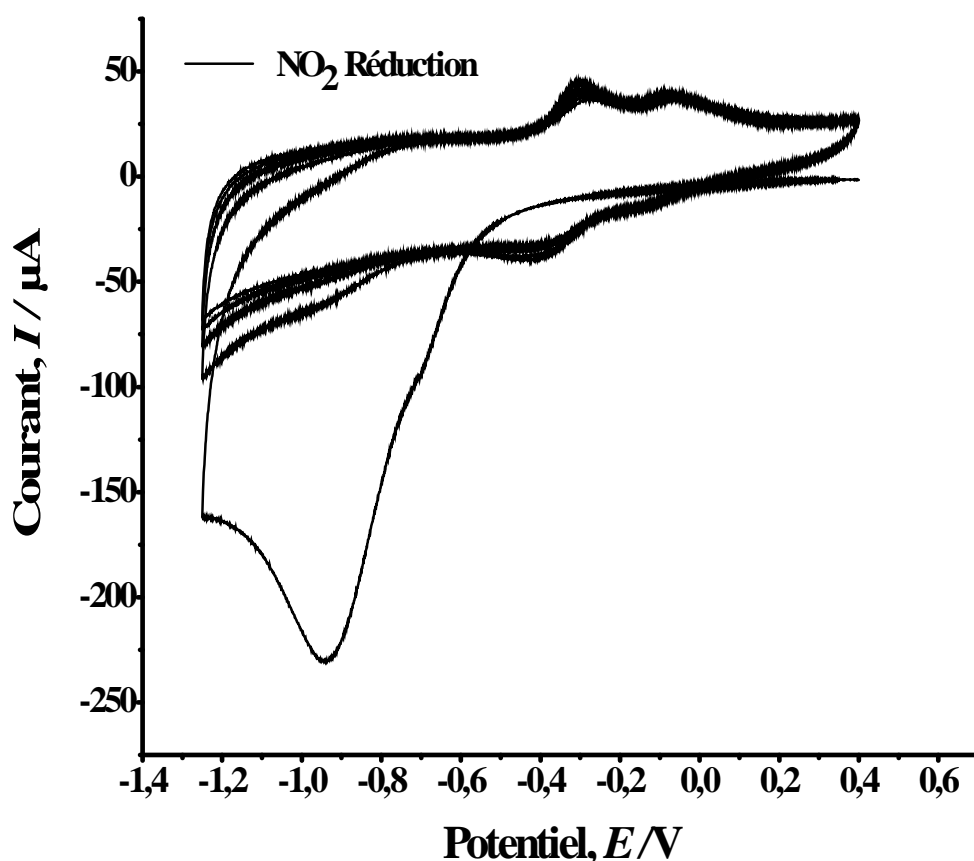


**Figure III-3** : Voltampérogramme cyclique d'une électrode de carbone vitreux greffée avec nitrobenzène de diazonium.

La réduction du nitrobenzène de diazonium sur la surface d'électrode de carbone vitreux (CV) a été réalisée par voltampérométrie cyclique entre 0,6 et -0,4 V pendant un cycle. La vitesse de balayage de potentiel est fixée à  $100 \text{ mV s}^{-1}$ .

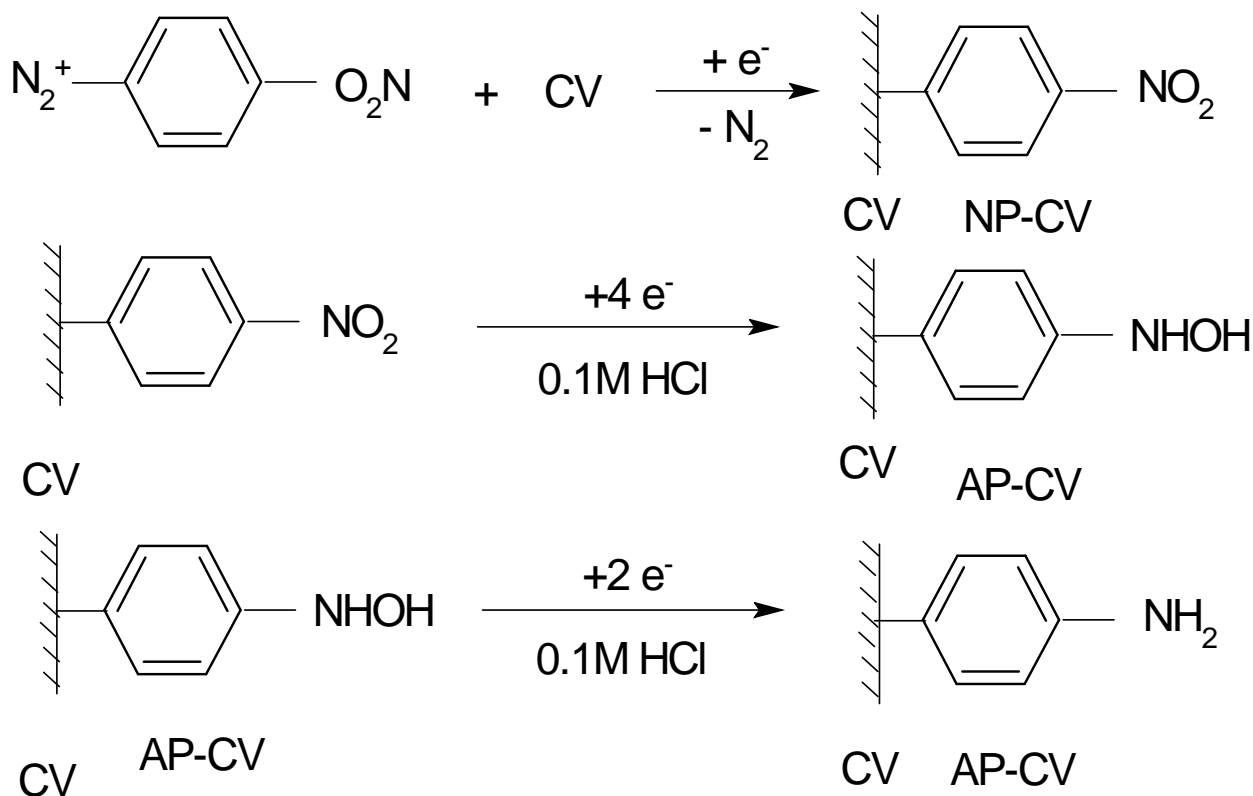
Lors du balayage en potentiel, un pic en réduction est visible à 0,25 V voir « **Figure III-3** ». Ce pic est attribué à la formation d'un radical aryle.

Après l'attachement des Nitrophényles, l'électrode modifiée a été ensuite rincée à l'eau distillée et transférée dans une solution de KCl de concentration 0,1 M. Cinq cycles de balayage en potentiel ont été réalisés entre 0,4 et -1,25 V, pour réduire les groupements Nitro ( $\text{NO}_2$ ) en groupements Amine ( $\text{NH}_2$ ) des cycles phényles attachés à la surface de l'électrode de CV « **Figure III-4** ».



**Figure III-4** : Voltampérogramme cyclique à  $100 \text{ mVs}^{-1}$  de réduction des groupements Nitro ( $\text{NO}_2$ ) sur la surface d'électrode de CV dans une 0,1M de KCL.

La modification de la surface de l'électrode de carbone vitreux et la réduction du groupement Nitrophényle en groupement Amine ( $\text{NH}_2$ ) ont été présentées sur la « **Figure III-5** ».



**Figure III-5 :** Réduction de groupements Nitro ( $\text{NO}_2$ ) en groupements Amine ( $\text{NH}_2$ ) sur la surface d'électrode de carbone vitreux (AP-CV) [18].

#### b) Modification de l'électrode AP-CV par l'EDTA

Pour attacher par une liaison covalente les groupes COOH activés de l'EDTA, avec le groupement Amine ( $\text{NH}_2$ ) sur sa surface, l'électrode modifiée AP-CV est immergée pendant 12 heures dans une solution de PBS contenant 0,1 M d'EDC et 0,01 M d'EDTA à pH 7 [19] « **Figure III-6** ». Les méthodes de voltampérométrie cyclique et d'impédance ont été utilisées pour les analyses de caractérisation électrochimique des surfaces des : électrodes de carbone vitreux modifiées (NP-CV, AP-CV, et EDTA-CV) et nue, en présence d'une solution de 5 mM  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$  /  $^{4-}$  / 0,1 M KCl. Les spectres d'analyse électrochimique pour les électrodes de carbone nue et modifiées sont représentés aux « **Figure III-7** » et « **Figure III-8** ».

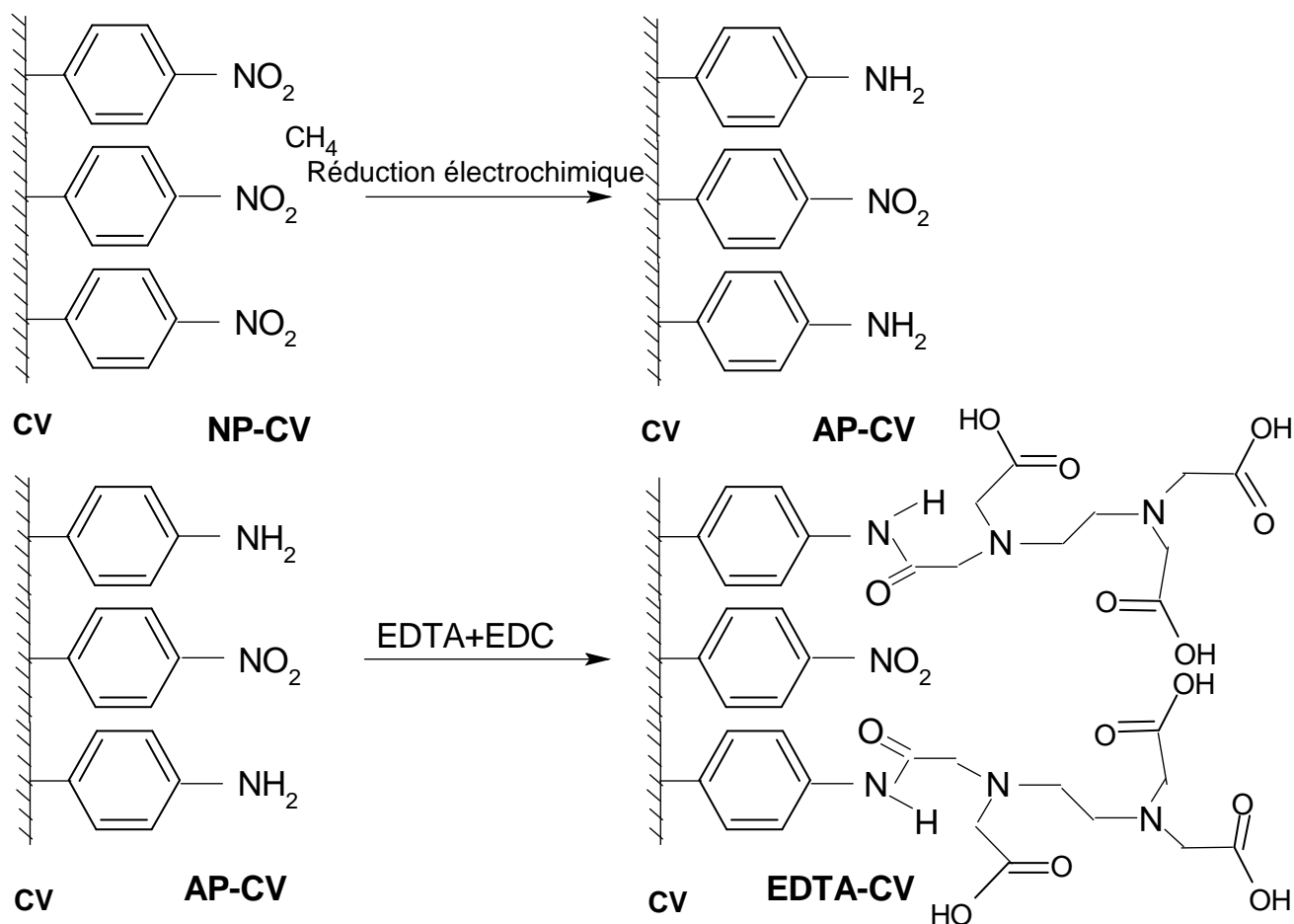


Figure III-6 : Dépôt électrochimique d'EDTA sur la surface d'électrode de carbone vitreux [18].

### III.3. Résultats et discussions

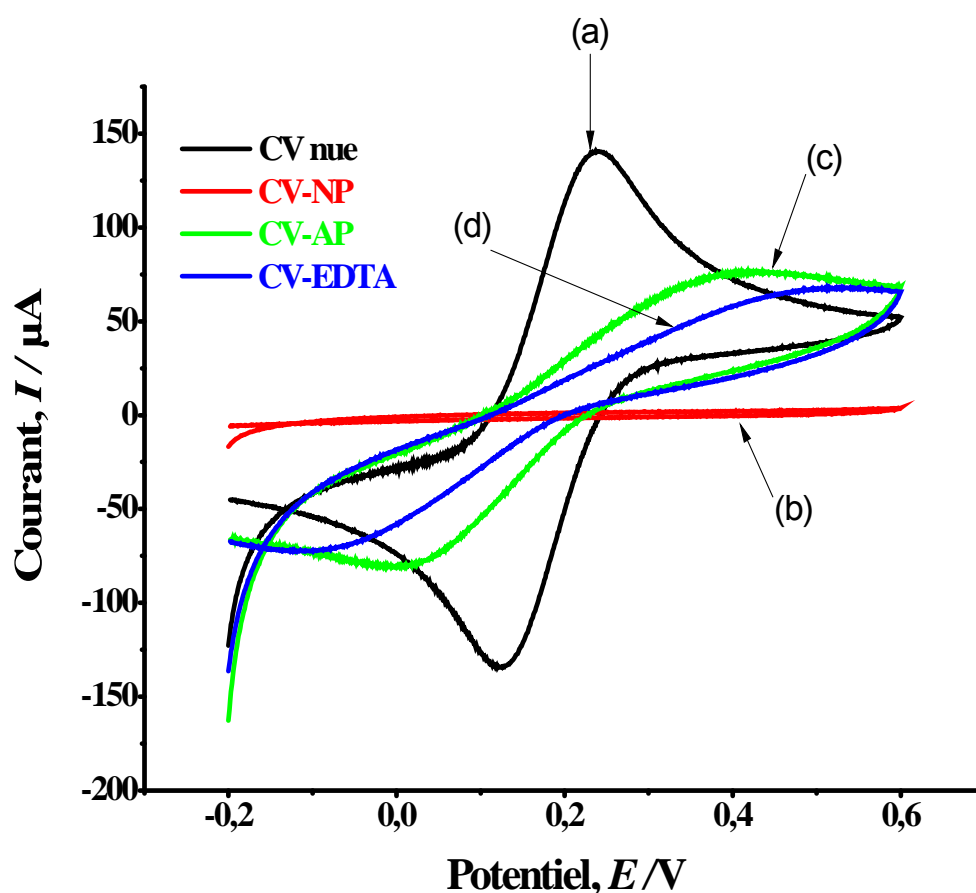
#### III.3.1. Caractérisation de la surface de CV-EDTA par VC et SIE

La «Figure III-4» présente la réduction irréversible du groupement Nitrophenyl en groupement Aminophényl. Au premier cycle, un pic de réduction irréversible est visible à  $-0,94$  V. Ce pic est attribué à la réduction du groupement Nitro ( $\text{NO}_2$ ) en groupement Amine ( $\text{NH}_2$ ) et disparaît lors du second cycle. Ces observations confirment la modification de la surface d'électrode NP-CV par le greffage du groupement amine ( $\text{NH}_2$ ) [20]. Cette réduction se fait avec un transfert de 6 électrons [21-23].

L'électroactivité du couple  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$  a été étudiée par voltampérométrie cyclique entre  $-0,2$  V et  $0,6$  V sur deux électrodes de CV nue et modifiées, dans une solution aqueuse de  $0,1$  M KCl

en présence du couple redox  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$  (5/5 mM) à pH 7.

La « **Figure III-7** » montre les voltampérogrammes cycliques de ferricyanure de : (a) **CV nue**, (b) **NP-CV**, (c) **AP-CV** et (d) **EDTA-CV**. Sur l'électrode nue, les pics en oxydation et en réduction de  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$  sont visibles à 0,22 V et 0,13 V, respectivement. On constate que l'intensité de ces pics diminue de façon importante sur les électrodes modifiées. Cela montre que la surface est partiellement bloquée par les couches greffées et le succès de greffage de la couche d'EDTA sur la surface d'électrode de CV [18].



**Figure III-7** : Voltampérogrammes cycliques des électrodes de: (a) CV nue, (b) NP-CV, (c) AP-CV et (d) EDTA-CV, dans une solution de 5 mM  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$  /0,1 M KCl, vitesse de  $100\text{mVs}^{-1}$ .

L'effet de blocage des couches greffées sur l'électrode de carbone vitreux a aussi été évalué par spectroscopie d'impédance électrochimique dans une solution aqueuse de 0,1 M KCl de en présence du couple redox  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$  (5/5 mM) à pH 7.

Lorsqu'une électrode est en contact avec un électrolyte, le phénomène d'impédance prend naissance. La mesure de la résistance de transfert de charge se fait à partir de la détermination du diamètre du demi-cercle obtenu lors du tracé, dans les domaines de hautes fréquences [24].

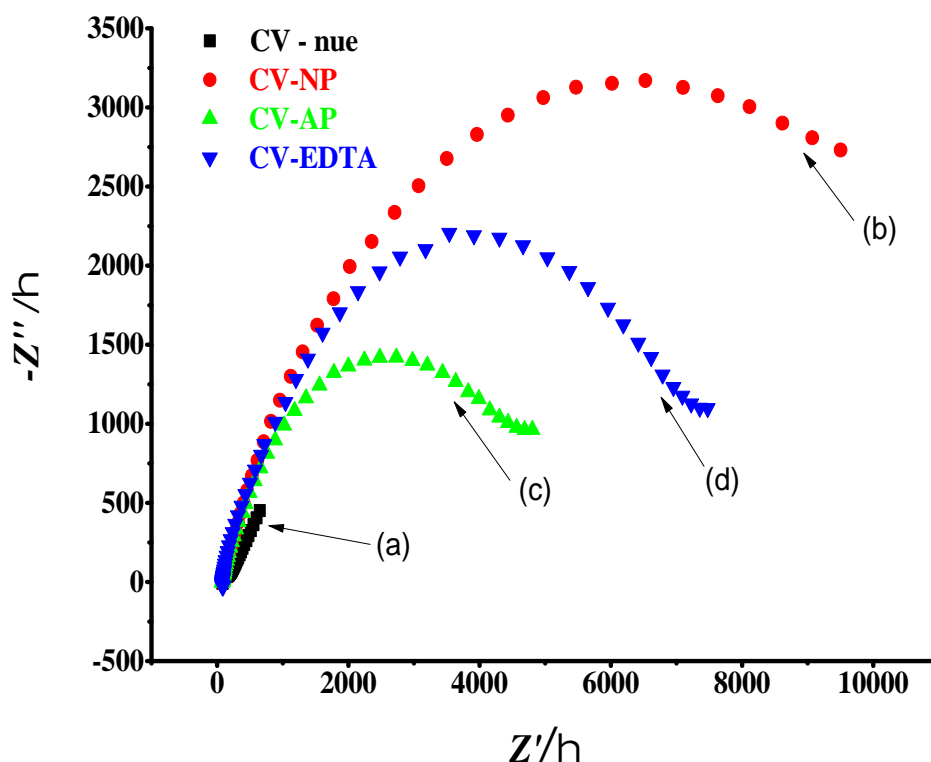
La « **Figure III-8** » montre le diagramme de Nyquist pour une électrode non modifiée et des électrodes modifiées : **NP-CV**, **AP-CV** et **EDTA-CV**. Pour l'électrode de carbone vitreux nue, la résistance au transfert de charge ( $R_{ct}$ ) mesurée à partir du diamètre du demi-cercle est de 90  $\Omega$ . Cette faible valeur de la résistance s'explique par la facilité du transfert électronique qui existe entre la surface de l'électrode de carbone vitreux nue et le couple redox ferro/ferricyanure.

Le diagramme de Nyquist obtenu pour l'électrode modifiée **EDTA-CV** montre une valeur de résistance de transfert de charge de 8 k  $\Omega$ . Déterminée à partir du diamètre du demi-cercle. Cela représente une croissance significative à comparer à la valeur obtenue pour l'électrode CV **nue**. Ce qui suggère que la couche (**EDTA-CV**) montre une capacité de blocage de transfert d'électrons de ferro/ferricyanure plus élevée [18]. Le diagramme de Nyquist obtenu pour l'électrode **NP-CV** un petit demi-cercle dans la région des hautes fréquences, qui correspond au circuit constitué de valeur plus faible de la résistance de transfert de charge que celle obtenue pour l'électrode modifiée (**NP-CV**). Cette diminution est probablement due à la protonation des groupes amines de la surface de l'électrode modifiée (**AP-CV**) qui permet de donner une charge globale positive, cette charge attire les anions de ferricyanure [25].

Ces valeurs obtenues par SIE sont en parfait accord avec les résultats obtenus par voltampérométrie cyclique indiquée sur la « **Figure III-7** ». Les sources de l'effet du blocage des couches greffées sont multiples. Il peut s'agir du rôle de barrière physique de la couche greffée qui empêche le transfert électronique entre la surface de l'électrode et la sonde électrochimique  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$  et de la répulsion électrostatique entre le groupement terminal des composés greffés (**NP**, **AP** et **EDTA**) et la sonde électrochimique.

Le diagramme de Nyquist correspondant à un circuit de Randles [26] est représenté dans la « **Figure III-8** », Ce circuit comprend également la résistance de transfert des charge impliquée dans la dissolution ( $R_{ct}$ ), ainsi que la résistance de l'électrolyte ( $R_s$ ), qui représente la chute ohmique dans l'électrolyte entre l'électrode de travail et de référence lorsqu'un courant passe. Notons que CPE et  $R_{ct}$  sont introduites en parallèle pour rendre compte du fait que le courant total traversant l'interface est la somme des contributions distinctes du processus faradique (courant faradique qui correspond au transfert d'électrons à travers l'interface dû aux réactions électrochimiques) et de la charge de

double couche (courant capacitif qui est dû à la modification de la répartition des charges électriques à l'interface)[27].

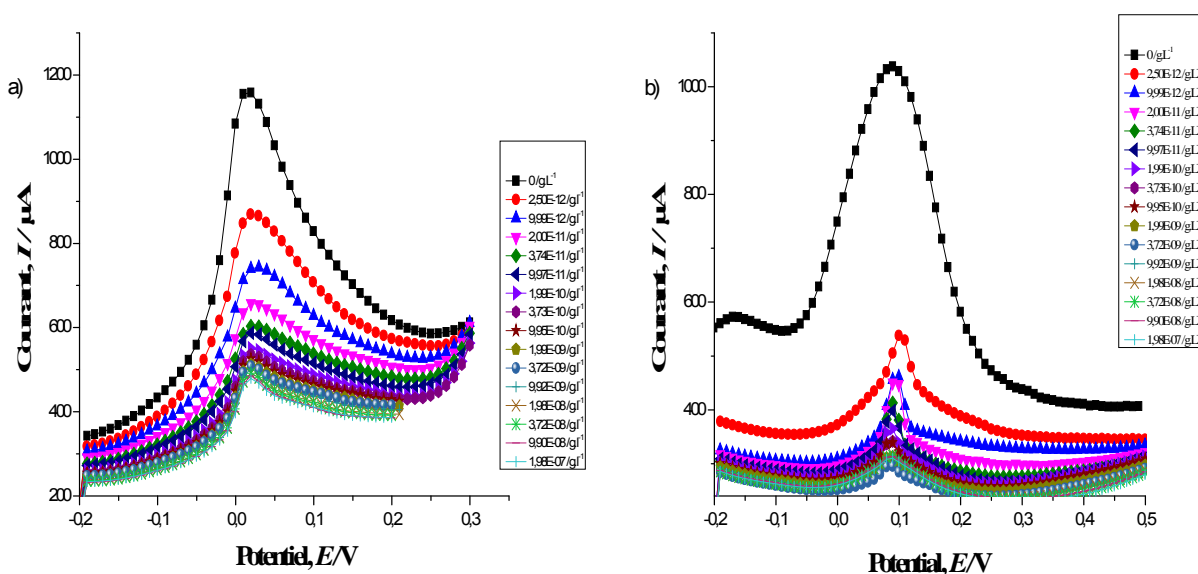


**Figure III-8 :** Diagramme de Nyquist des électrodes de: (a) CV nue, (b) NP-CV, (c) AP-CV et (d) EDTA-CV. dans une solution de 5 mM  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$  /0,1 M KCl, avec une gamme de fréquences 100 mHz -100 kHz.

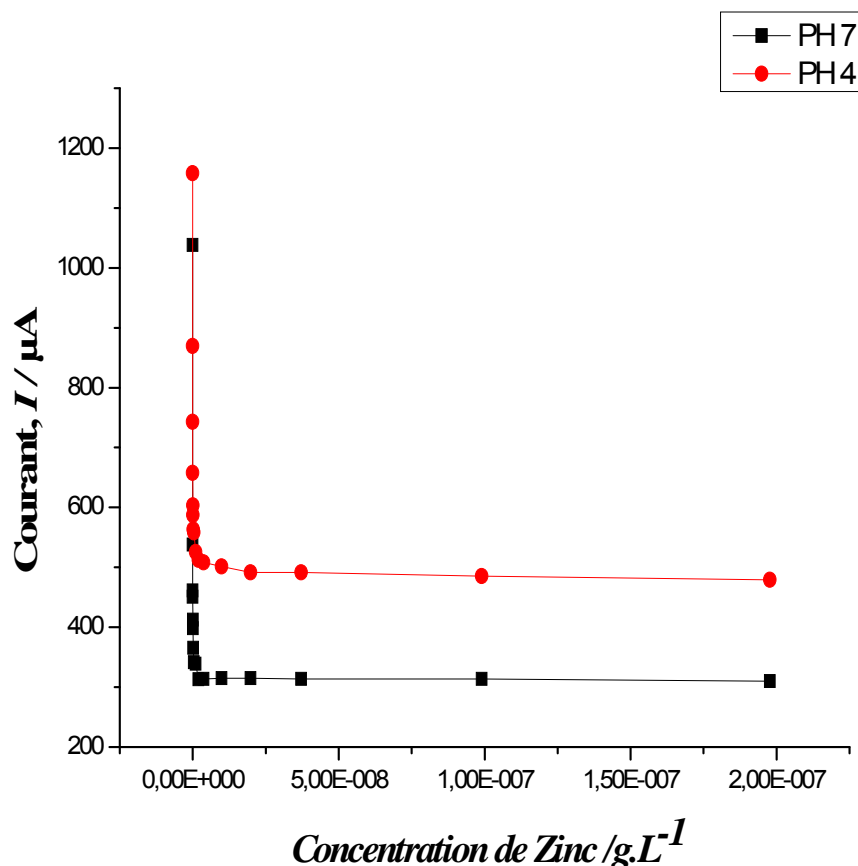
### III.3.2. Effet du pH de l'électrolyte support

L'effet du pH sur la réponse du capteur élaboré EDTA-CV a été étudié par la voltampérométrie à onde carrée (SWV) en utilisant deux électrolytes support (acide acétate / acide acétique à pH 4,5 et PBS à pH 7) avec une large gamme de concentrations des ions de Zinc de  $2,5 \cdot 10^{-12}$  à  $1,98 \cdot 10^{-07}$  g L<sup>-1</sup>. Les figures « **Figure III-9** » et « **Figure III-10** » montrent que l'intensité maximale du courant ( $I_p$ ) varie entre 869,5 à 479,4  $\mu\text{A}$  à pH 4,5 et de 537,8 à 309,9  $\mu\text{A}$  à pH 7. On remarque que le potentiel maximal change légèrement avec le changement du pH (de 0,01 à 0,09V) et que l'intensité du courant diminue avec l'augmentation du pH. Ceci peut être expliqué par une

faible capacité d'adsorption de métaux lourds tels que le Zinc à cause de la concurrence entre les groupements fonctionnels de chélate et  $H^+$  sur les mêmes sites de complexation en milieu acide. En outre, selon l'équation de Nernst, lorsque le pH diminue le potentiel du couple redox et l'intensité maximale rendent plus positive et plus intensive [28]. En plus, les métaux lourds sont généralement plus solubles et plus mobiles à pH acide qu'à des pH basiques. En milieu acide, ils se trouvent sous forme d'ions libres, alors qu'une augmentation progressive du pH (donc des concentrations en ions hydroxydes) provoque la formation de complexes métalliques hydroxylés dans l'ordre suivant :  $M^{2+}$ ,  $MOH^+$ ,  $M(OH)_2$ ,  $M(OH)_3^-$  et  $M(OH)_4^{2-}$  ( $M^{2+}$  représentant des cations divalents tels que  $Zn^{2+}$ ,  $Pb^{2+}$  et  $Cd^{2+}$ ). La spéciation des métaux peut également changer considérablement avec une augmentation du pH et en présence de certains anions. Par exemple, le Carbonate et le Sulfate, qui sont omniprésents dans l'environnement, précipitent les métaux lourds à des pH alcalins les rendant ainsi indisponibles aux organismes. Par ailleurs, des composés organiques chargés négativement en milieu alcalin peuvent également renforcer la complexation des cations métalliques environnants [29]. Ces résultats indiquent clairement que le pH de tampon utilisé a un effet sur la sensibilité de détection de capteur électrochimique élaboré.



**Figure III-9 :** Courbes de SWV de sensibilité de capteur EDTA-CV aux ions  $Zn^{2+}$  de concentrations variées entre  $2,5E-12$  à  $1,98 E-07 g L^{-1}$  dans une solution tampon composée : (a) d'acétate et d'acide acétique à pH 4,5 et (b) PBS à pH 7.



**Figure III-10** : Intensité maximale de courant des courbes de SWV en fonction de la concentration de  $Zn^{2+}$  ( $2,5 \text{ E-}12$  à  $1,98 \text{ E-}07 \text{ g L}^{-1}$ ) dans une solution tampon composée : (a) d'acétate et d'acide acétique à pH 4,5 et (b) PBS à pH 7.

### III.3.3. Sensibilité et limite de détection du capteur

La sensibilité du capteur EDTA-CV aux ions du Zinc a été étudiée en utilisant la méthode de SWV dans une solution de tampon composée d'acétate et d'acide acétique à pH 4,5, les concentrations du  $Zn^{2+}$  variées entre  $2,5 \times 10^{-12}$  à  $1,98 \times 10^{-07} \text{ g L}^{-1}$ .

La limite de détection (LOD) du capteur EDTA-CV a été comparée avec d'autres valeurs recueillies dans la littérature « **Tableau III.2** ».

La « **Figure III.11** » montre que notre capteur présente une meilleure LOD, par rapport à celles rapportées dans les références [30-32], d'environ  $3,74 \times 10^{-11} \text{ g L}^{-1}$  avec une large zone de linéarité entre  $2,50 \times 10^{-12}$  et  $3,74 \times 10^{-11} \text{ g L}^{-1}$ , et un facteur de corrélation  $R^2=0,995$ .

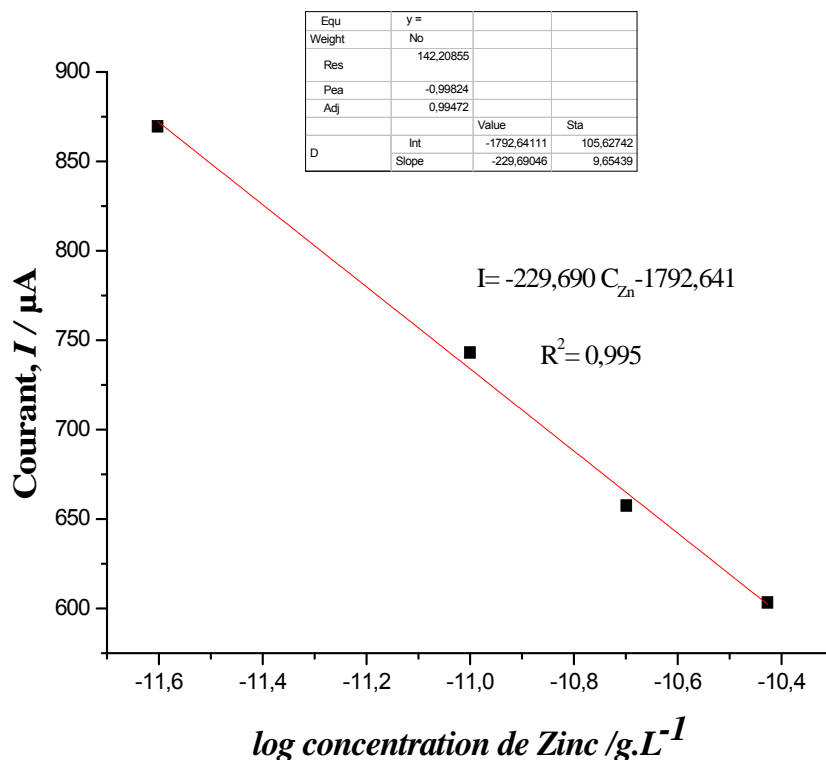


Figure III-11 : Courbes de calibration du capteur. Détection des ions Zn<sup>2+</sup> à différentes concentration dans une solution tampon composée d'acétate et d'acide acétique à pH 4,5.

Tableau III-2 : Performances de quelques capteurs chimiques pour la détection du Zinc.

Capteur	Linéarité C/g L <sup>-1</sup>	Limit de detection LOD/g L <sup>-1</sup>	Référence
1	1,00×10 <sup>-5</sup> à 2,20×10 <sup>-4</sup>	3,40×10 <sup>-8</sup>	[30]
2	3,33×10 <sup>-4</sup> à 3,00×10 <sup>-3</sup>	3,06×10 <sup>-9</sup>	[31]
3	1,50×10 <sup>-6</sup> à 1,00×10 <sup>-2</sup>	2,55×10 <sup>-9</sup>	[32]
EDTA-CV	2,50×10 <sup>-12</sup> à 3,74×10 <sup>-11</sup>	3,74×10 <sup>-11</sup>	Ce travail

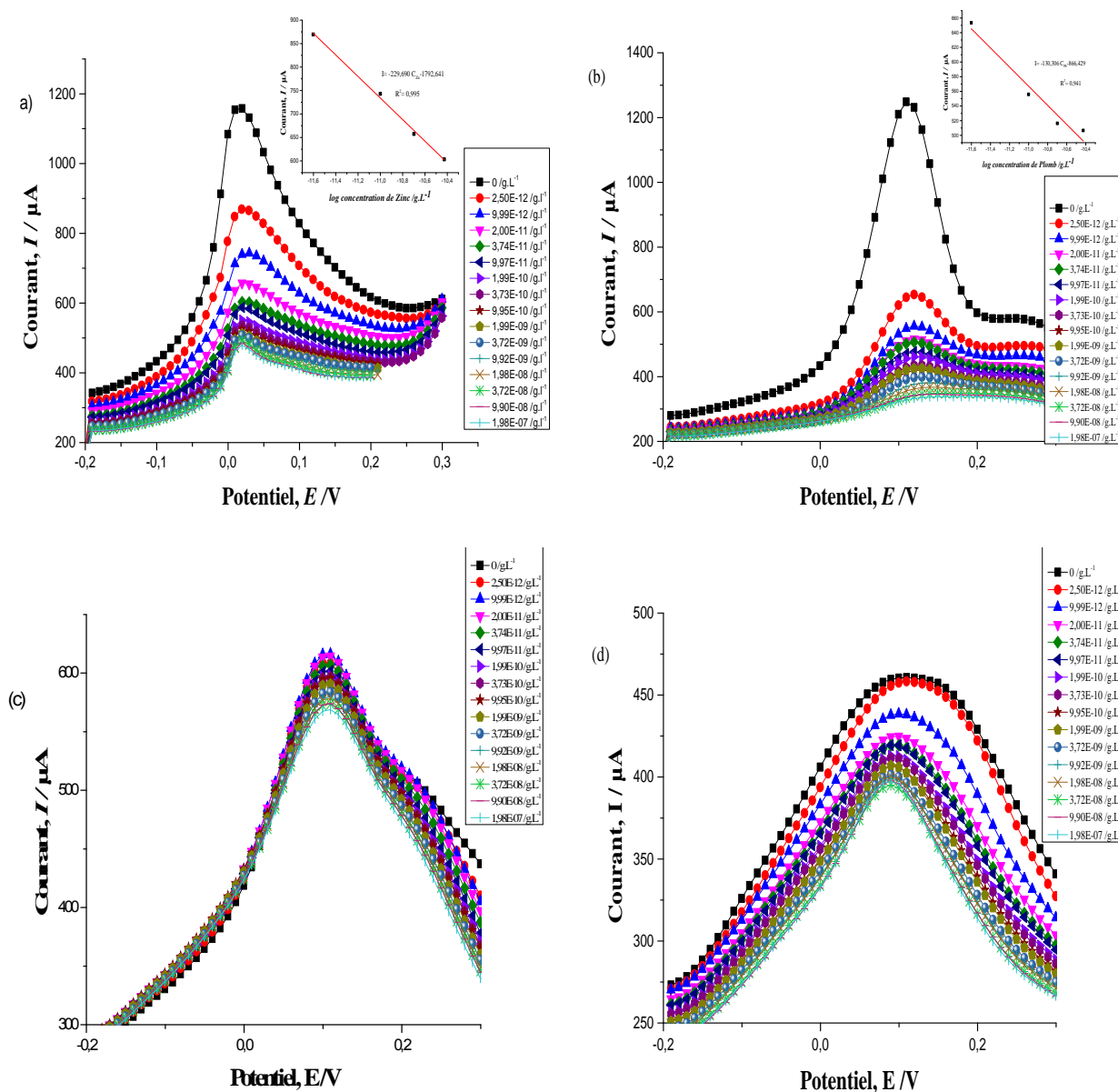
### III.3.4. Étude de la sélectivité du capteur de zinc

La sélectivité est un facteur important pour un capteur sensible au zinc, elle est définie comme l'aptitude du capteur EDTA-CV à reconnaître les ions du Zinc parmi les autres ions de métaux

lourds tel que  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$  et  $\text{Pb}^{2+}$ , et à donner un signal quantitatif non-perturbé.

En effet, la réponse du capteur aux ions  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$  et  $\text{Pb}^{2+}$  a été étudiée par la méthode SWV.

Des solutions des ions de Zinc et des cations interférents ont été préparées sur une large gamme de concentration de  $2,5 \times 10^{-12}$  à  $1,98 \times 10^{-07}$  g L<sup>-1</sup>, dans des solutions tampon d'acétate de sodium / acide acétique s à pH 4,5 et sous agitation.



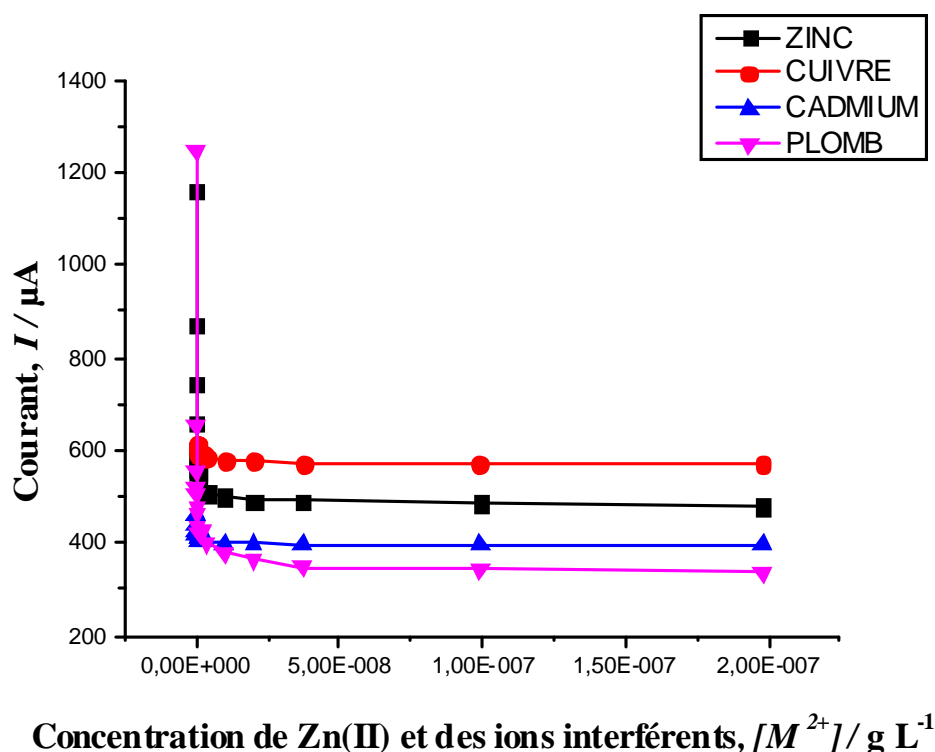
**Figure III-12 :** Courbes de SWV de sensibilité de capteur EDTA-CV aux ions : a)  $\text{Zn}^{2+}$ , b)  $\text{Pb}^{2+}$ , c)  $\text{Cu}^{2+}$  et d)  $\text{Cd}^{2+}$ , de concertations variées entre  $2,5\text{E}-12$  à  $1,98 \text{E}-07$  g L<sup>-1</sup>, dans une solution tampon composée d'acétate et d'acide acétique à pH 4,5.

On observe sur les figures « **Figure III-12** » et « **Figure III-13** » une diminution de l'intensité maximale du courant de réduction lorsque les concentrations de  $Zn^{2+}$  et  $Pb^{2+}$  augmentent de  $2,50 \times 10^{-12} \text{ g L}^{-1}$  à  $1,98 \times 10^{-07} \text{ g L}^{-1}$ , et une stabilisation de l'intensité maximale du courant s'observe avec l'augmentation des concentrations de  $Cu^{2+}$  et  $Cd^{2+}$ . La « **Figure III-14** » montre les courbes d'étalonnage de SWV du capteur EDTA-CV pour les ions de Zinc, Cadmium, Cuivre et Plomb obtenus à partir des réponses ampérométriques. La régression linéaire de ces courbes donne les équations suivantes:

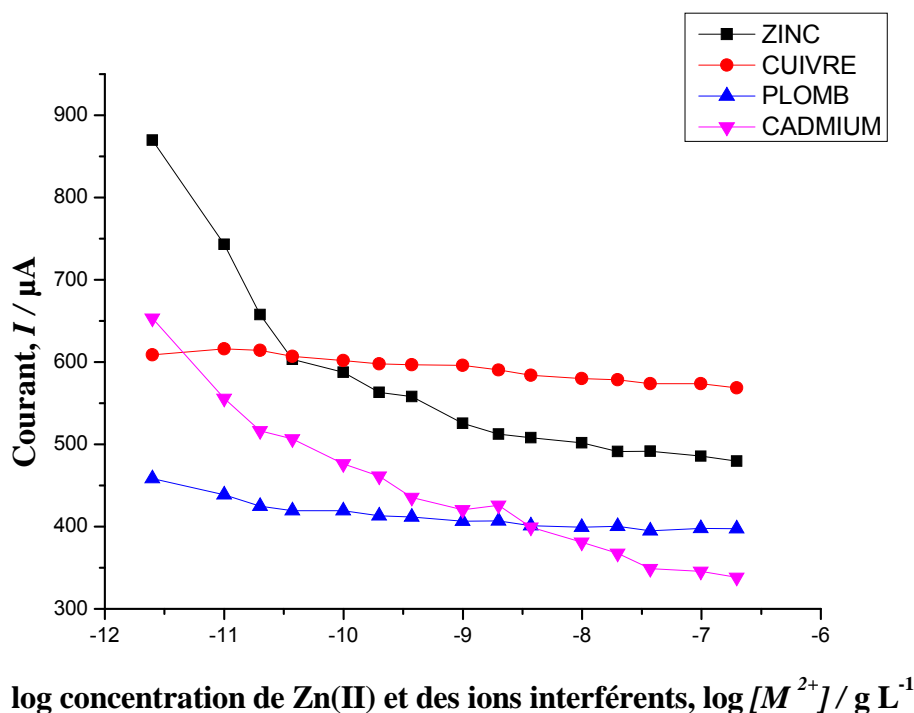
$$I_{Zn} = - 229,690 C_{Zn} - 1792,641 \quad R^2 = 0,995$$

$$I_{Pb} = - 130,960 C_{Pb} - 866,429 \quad R^2 = 0,941$$

Une réponse élevée a été obtenue pour  $Zn^{2+}$  en comparaison avec celles obtenues pour  $Cd^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$  et  $Pb^{2+}$ . De ce fait, on peut conclure que ce capteur de carbone vitreux à base d'EDTA est sensible et sélectif aux ions  $Zn^{2+}$ .



**Figure III-13** : Intensité maximale de courant des courbes de SWV en fonction de concentration de  $Zn^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Pb^{2+}$  et  $Cd^{2+}$ , dans une solution tampon composée d'acétate et d'acide acétique à pH 4,5.



**Figure III-14 :** Courbes d'étalonnage de SWV du capteur EDTA-CV pour les ions:  $Zn^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Pb^{2+}$  et  $Cd^{2+}$ , dans une solution tampon composée d'acétate et d'acide acétique à pH 4,5.

### III.3.5. Application du capteur EDTA-CV à l'analyse réelle

Le capteur EDTA-CV sélectif aux ions du Zinc a été utilisé pour tester les échantillons des eaux de surface et des eaux de mer, prélevés dans la région d'Annaba qui représente une zone d'eau de contamination importante par le Zinc. Trois sites ont été étudiés (**Port d'Annaba**, **Oued Seybouse**, et **Sidi-Salem**) voire la « **Figure III-15** ».

#### ▪ Zones d'étude

**Station (E1) «Port» :** localisée à l'entrée du deuxième bassin, à proximité d'une région fortement industrialisée et urbanisée (l'ensemble des rejets industriels de l'usine de la Belle) ;

**Station (E2) «Oued Seybouse» :** elle est située à proximité de la fin d'embouchure de l'oued Seybouse et de l'ensemble des rejets industriels (émissaire d'usine de fabrication de fertilisants) et urbains (émissaire du «Bejima» qui draine toute la plaine Ouest de la ville d'Annaba) ;

**Station (E3) «Sidi Salem» :** Cette station, se situe à proximité d'une région fortement industrialisée et urbanisée ; elle se trouve à 500 mètres de la décharge vers l'Est, à 1000 mètres de l'embouchure de l'oued Seybouse qui charrie des eaux usées de plusieurs usines, et à 1500 mètres des cuves de

stockages de carburants et de l'usine Fertial, et à 2000 mètres du Port où se trouve une grande centrale thermique.

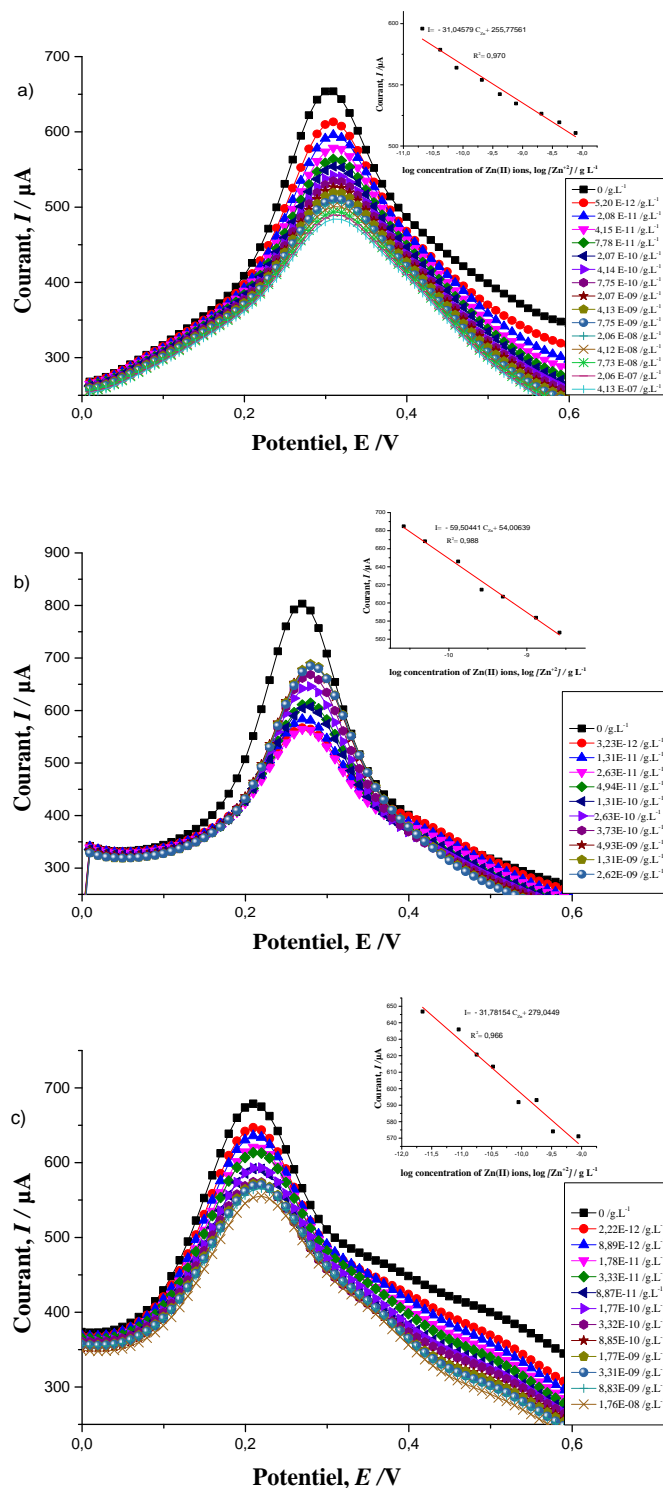


**Figure III-15 :** Position géographique des sites d'échantillonnage.

Les échantillons d'eau ont été obtenus à partir des zones sélectionnées « **Figure III. 15** », puis les concentrations initiales des ions du Zinc ont été déterminées par spectroscopie d'absorption atomique voire « **Tableau III.3** ». Par la suite, des dilutions au tampon (acétate de sodium / acide acétique à pH 4.5) sont réalisées sur ces échantillons d'eau. Le capteur a été soumis à différentes concentrations du Zinc dans les échantillons d'eau, et sa réponse s'est révélée en utilisant la méthode SWV.

**Tableau III-3 :** Application de capteur EDTA-CV pour la détection des ions  $Zn^{2+}$  dans des eaux de surface et des eaux de mer, prélevés dans différents sites de la région d'Annaba.

Station	Concentration initiale $\mu\text{g L}^{-1}$	Linéarité $\text{g L}^{-1}$	Limit de detection $\text{LOD/g L}^{-1}$	$R^2$
Port d'ANNABA	208	$2,08 \times 10^{-11}$ à $7,74 \times 10^{-9}$	$3,40 \times 10^{-8}$	0,970
Oued Seybouse	132	$2,63 \times 10^{-11}$ à $2,62 \times 10^{-9}$	$3,06 \times 10^{-9}$	0,988
Sidi-Salem	89	$2,24 \times 10^{-12}$ à $8,85 \times 10^{-10}$	$2,55 \times 10^{-9}$	0,966
Solution aqueuse		$2,50 \times 10^{-12}$ à $3,74 \times 10^{-11}$	$3,74 \times 10^{-11}$	0,995



**Figure III-16 :** Courbes de SWV de sensibilité de capteur EDTA-CV aux ions  $\text{Zn}^{2+}$  dans les matrices réelles de ANNABA : a) PORT, b) ASMIDAL et c) SIDI SALEM dans une solution tampon composée d'acétate et d'acide acétique à pH 4,5.

### III.4. Conclusion

Une nouvelle électrode sélective de carbone vitreux à base d'EDTA a été élaborée et proposée pour la détection d'ions du Zinc appliquée aux eaux de surface et eaux de mer. La ville d'Annaba est une zone industrielle où la contamination de l'eau par le Zinc est importante, a été sélectionnée pour tester le nouveau capteur sélectif aux ions du zinc. L'électrode de carbone vitreux à base d'EDTA (EDTA-CV) présente une réponse élevée et une bonne sélectivité vis-à-vis de la détermination du Zn (II) en milieu acide à **pH 4,5**. Le capteur développé présente des performances électrochimiques avancées avec une faible **limite de détection** d'environ  $3,74 \times 10^{-11} \text{ g L}^{-1}$  et une large **gamme linéarité** de  $2,50 \times 10^{-12}$  à  $3,74 \times 10^{-11} \text{ g L}^{-1}$  et une meilleure sélectivité comparée aux autres cations testés tels que le Cuivre, le Cadmium et le Plomb.

Pour conclure, ce nouveau capteur sélectif au Zinc peut être appliqué avec succès et une bonne précision à la détermination des ions de ce métal dans des milieux réels.

---

**Références bibliographiques de chapitre III**

- [1] **Guillaume GOTTI**,  
"Modification de surfaces électrochimiques par des nanoparticules d'or pour la détection de molécules impliquées dans le stress oxydant", Thèse de doctorat de l'Université de Toulouse III Paul Sabatier, 2013, p. 93.
- [2] **P. Griess**,  
"XLVI.—On a new class of organic compounds in which hydrogen is replaced by nitrogen", J. Chem. Soc., Vol. 18, 1865, pp. 298-318.
- [3] **R. J. Lindsay**,  
"In Comprehensive Organic Chemistry", S. D. Barton, W. D. Ollis, I. O. Sutherland, Eds., Pergamon Press: Oxford, Vol. 2, 1979, p. 154.
- [4] **H. D. Zollinger**,  
"Chemistry I: Aromatic and Heteroaromatic Compounds", John Wiley & Sons, New York, 1994.
- [5] **S. Patai**,  
"The Chemistry of Diazonium and Diazo Groups", Ed., Wiley: New York, 1978.
- [6] **A.I. Vogel, A.R. Tatchell, B.S. Furnis, A.J. Hannaford, P.W.G. Smith**,  
"Vogel's Textbook of Practical Organic Chemistry", 5th ed. Eds., Longman: Singapore, 1989.
- [7] **G. Balz, G. Schiemann**,  
"The Balz-Schiemann reaction is still considered the most reliable and useful method of making aryl C--F bonds", Ber. dtsch. Chem. Ges., Vol. 60, 1927, p. 1186.
- [8] **Melvin F. W. Dunker, Edgar B. Starkey, Glenn L. Jenkins**,  
"The Preparation of Some Organic Mercurials from Diazonium Borofluorides", J. Am. Chem. Soc. 1936, Vol. 58, p. 2308.
- [9] **A. Roe**,  
"Preparation of Aromatic Fluorine Compounds from Diazonium Fluoborates: The Schiemann Reaction", Org. React. Vol. 5, 1949, p. 193.
- [10] **M. P. Doyle, W. J. Bryker**,  
"Alkyl nitrite-metal halide deamination reactions. 6. Direct synthesis of arenediazonium tetrafluoroborate salts from aromatic amines, tert-butyl nitrite, and boron trifluoride etherate in anhydrous media", J. Org. Chem., Vol. 44(4), 1979, pp. 1572 -1574.
- [11] **S. Sengupta, S. K. Sadhukhan**,  
"Synthesis of Symmetrical trans -Stilbenes by a Double Heck Reaction of (Arylazo)Amines with Vinyltriethoxysilane: trans-4,4 -Dibromostilbene", Org. Synth., Vol. 10, 2004, p. 263.

- 
- [12] **A. Maresca, F. Carta, D. Vullo, A. Scozzafava, C. T. Supuran,**  
"Carbonic anhydrase inhibitors. Inhibition of the Rv1284 and Rv3273 -carbonic anhydrases from Mycobacterium tuberculosis with diazenylbenzenesulfonamides", *Chem. Lett.*, Vol. 19(17), 2009, p. 4929.
- [13] **B. Haag, Z. Peng, P. Knochel,**  
"Preparation of Polyfunctional Indazoles and Heteroarylazo Compounds Using Highly Functionalized Zinc Reagents", *Org. Lett.*, Vol. 11, 2009, p. 4270.
- [14] **A. M. Lord, M. F. Mahon, M.D. Lloyd, M. D. J. Threadgill,**  
"Design, Synthesis, and Evaluation in Vitro of Quinoline-8-carboxamides, a New Class of Poly(adenosine-diphosphate-ribose)polymerase-1 (PARP-1) Inhibitor", *Med. Chem.*, Vol. 52(3), 2009, pp. 868–877.
- [15] **Z. Zhu, Q. Li, Q. Zeng, Z. Li, Z. Li, J. Qin, C. Ye,**  
"New azobenzene-containing polyurethanes: Post-functional strategy and second-order nonlinear optical properties", *Dyes Pigments*, Vol. 78(3), 2008, pp. 199–206.
- [16] **Ö. Güzel, A. Innocenti, A. Scozzafava, A. Salman, S. Parkkila, M. Hilvo, C. T. Supuran,**  
"Carbonic anhydrase inhibitors: Synthesis and inhibition studies against mammalian isoforms I–XV with a series of 2-(hydrazinocarbonyl)-3-substituted-phenyl-1*H*-indole-5-sulfonamides", *Med. Chem.*, Vol. 16(20), 2008, pp. 9113–9120.
- [17] **C. Combellas, F. Kanoufi, J. Pinson, F. I. Podvorica,**  
"Sterically Hindered Diazonium Salts for the Grafting of a Monolayer on Metals", *J. Am. Chem. Soc.*, Vol. 130(27), 2008, pp. 8576–8577.
- [18] **Z. Üstünda , A. Osman Solak,**  
"EDTA modified glassy carbon electrode: Preparation and characterization", *Electrochim. Acta* , Vol. 54(26), 2009, pp. 6426–6432.
- [19] **M. A. Rahman, M.S. Won, et Y.-B. Shim,**  
"Characterization of an EDTA Bonded Conducting Polymer Modified Electrode: Its Application for the Simultaneous Determination of Heavy Metal Ions", *Anal. Chem.*, Vol. 75, 2003, pp. 1123-1129.
- [20] **J. Lehr, D. J. Garrett, M. G. Paulik, B. S. Flavel, P. A. Brooksby, B. E. Williamson and A. Downard,**  
"Patterning of Metal, Carbon, and Semiconductor Substrates with Thin Organic Films by Microcontact Printing with Aryldiazonium Salt Inks", *Anal. Chem.*, Vol. 82(16), 2010, pp. 7027-7034.
- [21] **P. A. Brooksby and A. J. Downard,**  
"Electrochemical and Atomic Force Microscopy Study of Carbon Surface Modification via Diazonium Reduction in Aqueous and Acetonitrile Solutions", *Langmuir*, Vol. 20, 2004, pp. 5038-5045.
-

- 
- [22] **T. Itoh and R. L. McCreery**,  
"In Situ Raman Spectroelectrochemistry of Electron Transfer between Glassy Carbon and a Chemisorbed Nitroazobenzene Monolayer", *Am. Chem. Soc.*, Vol. 124, 2002, pp. 10894-10902.
- [23] **S. S. C. Yu, E. S. Q. Tan, R. T. Jane and A. J. Downard**,  
"An Electrochemical and XPS Study of Reduction of Nitrophenyl Films Covalently Grafted to Planar Carbon Surfaces", *Langmuir*, Vol. 23(22), 2007, pp. 11074-11082.
- [24] **C. Saby, B. Ortiz, G. Y. Champagne et D. Bélanger**,  
"Electrochemical Modification of Glassy Carbon Electrode Using Aromatic Diazonium Salts. 1. Blocking Effect of 4-Nitrophenyl and 4-Carboxyphenyl Groups". *Langmuir*, Vol. 7463, 1997, pp. 6805-6813.
- [25] **J. R. Macdonald and J. Wiley Ed.**,  
"Impedance Spectroscopy", 1987, sect. 2.2.3.4.
- [26] **Joseline NTIENOUE**,  
"Étude, caractérisation et suivi électrochimique de la surface de l'acier inoxydable 254 SMO en milieux aqueux naturels amazoniens", Thèse de doctorat en chimie de l'Université des Antilles et de la Guyane, 2013, p. 57.
- [27] **S. Baranton, D. Belanger**,  
"Electrochemical Derivatization of Carbon Surface by Reduction of in Situ Generated Diazonium Cations", *Phys. Chem. B*, Vol. 109, 2005, p. 24401.
- [28] **D. T. Nguyen, L. D. Tran, H. L. Nguyen, B. H. Nguyen and N. V. Hieu**,  
Modified interdigitated arrays by novel poly (1, 8-diaminonaphthalene)/carbon nanotubes composite for selective detection of mercury(II) ", *Talanta*, Vol. 85(5), 2011, pp. 2445-2450.
- [29] **M. M. S. Aranguren**,  
"Contamination en métaux lourds des eaux de surface et des sédiments du Val de Milluni (Andes Boliviennes) par des déchets miniers Approches géochimique, minéralogique et hydrochimique", *Planète et Univers [physics]*. Thèse de doctorat de l'Université Paul Sabatier - Toulouse III, 2008. (<https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00277431>).
- [30] **R. Favaron and L. M. Aleixo**,  
"Voltammetric Determination of Zn(II) in Zn-Fe Alloy Electroplating Baths Using Square-Wave Voltammetry", *J. Braz. Chem. Soc.*, Vol. 12, 2001, pp. 173-179.
- [31] **J. K. B. Bernardelli, F. R. Lapolli, C. Marcus and J. B. Floriano**,  
"Determination of zinc and cadmium with characterized Electrodes of carbon and polyurethane modified by a bismuth film", *Mater. Res.*, Vol. 14, 2011, pp. 366-371.
- [32] **P. Singh, A. K. Singh and A. K. Jain**,  
"Electrochemical sensors for the determination of Zn<sup>2+</sup> ions based on pendant armed macrocyclic ligand", *Electrochim. Acta*, Vol. 56, 2011, pp. 5386-5395.
-

---

## CHAPITRE .IV

# ÉLABORATION D'UN NOUVEAU BIOCAPTEUR CONDUCTIMÉTRIQUE À BASE DES NANOTUBES DE CARBONE DÉCORÉS PAR DES NANOPARTICULES D'OR SENSIBLE À L'URÉE

---

### IV.1. Introduction

Depuis leur découverte, l'usage des nanotubes de carbone (CNTs) n'a cessé de se développer. Ils sont désormais utilisés dans de nombreux domaines liés à protection de l'environnement, alimentation, biomédical et industrie, comme les (bios) capteurs. Ces matériaux possèdent de nombreuses propriétés très attractives pour l'élaboration d'électrodes, notamment une excellente conductivité, une importante surface spécifique et une grande stabilité thermique et mécanique [1]. De plus, ils sont assez faciles à modifier chimiquement, pour introduire toutes sortes de fonctions nécessaires à l'immobilisation des protéines. Néanmoins, leur caractère très hydrophobe et leur morphologie les rend insolubles dans un très grand nombre de solvants aqueux et organiques, ce qui ne facilite pas leur manipulation [2]. Leur fonctionnalisation ou l'utilisation de surfactant permet dans certains cas d'améliorer leur solubilité [3].

Les nanoparticules d'or (AuNPs) présentent des propriétés très intéressantes pour l'élaboration d'électrode, en particulier leurs propriétés de Transfert d'électron. En effet, leur surface électronique est élevée, leur surface spécifique très importante grâce à leur taille nanométrique variant de 3,5261 à 20nm environ [4].

Dans ce travail un microcapteur conductimétrique a été élaboré à base de nanotubes de carbone décorés par des particules d'or pour la détection de l'urée. Notre objectif était de combiner les excellentes propriétés physiques et chimiques des nanotubes de carbone et les propriétés particulières de nanoparticules d'Or pour élaborer un nouveau biocapteur. La décoration des nanotubes de carbone multifeuillet par des nanoparticules d'Or a été réalisée. La détermination de l'urée est très importante dans l'industrie alimentaire et la surveillance environnementale via

l'immobilisation de l'uréase sur des microélectrodes conductimétriques interdigitées sensibles à la détection de l'urée. La protéine Albumine de Sérum Bovine (BSA) a été choisie en premier lieu comme protéine de référence pour le développement du biocapteur enzymatique.

## IV.2. Procédure expérimental

### IV.2.1. Matériels et méthodes

L'enzyme d'uréase (E.C. 3.5.1.5) et l'Albumine de Sérum Bovine (BSA) ont été fournis par Sigma. Le Glutaraldéhyde (GA) utilisé (grade II, 25 % en solution aqueuse) est fourni par Acros Organics. N-(3-Diméthylaminopropyl)-N-éthylcarbo-diimide (EDC), N-Hydro-xysuccinimide (NHS), solution de tampon phosphate (pH 7,4) ont été fournis par Sigma-Aldrich.

Toutes les expériences sont réalisées à température ambiante. Toutes les solutions ont été préparées avec de l'Eau Ultra Pure (EUP) produite par le système Millipore "Milli-Q lus". L'EUP présente une résistivité de 18,2 M $\cdot$ cm.

Les concentrations de l'urée ont été préparées dans une solution de PBS de concentration de 5 mM (pH 7,4) et elles sont stockées à 4°C.

### IV.2.2. Elaboration d'un biocapteur conductimétrique pour la détection de l'urée

#### IV.2.2.1. Microélectrodes interdigitées en Or

Le transducteur utilisé est constitué de deux paires d'électrodes en Or interdigitées fabriquées à l'Institut de Physique des Semi-conducteurs Lashkaryov (IPSL, Kiev, Ukraine), la première constituant l'électrode de référence et la seconde l'électrode de travail, la surface sensible de chaque électrode est d'environ 1 mm<sup>2</sup> (épaisseur de la couche d'Or : 150 nm). « **Figure IV-1** ».



**Figure IV-1** : Photographie des électrodes interdigitées en Or.

Ces électrodes ont été fabriquées par dépôt sur un substrat en céramique (5×30 mm). Une couche intermédiaire de chrome (0,1 nm d'épaisseur) a été employée pour une meilleure adhérence de l'Or. Chaque doigt de l'électrode est de 20 µm de large et 1mm de long, avec un espacement de 20 µm également entre les doigts. La partie sensible de chacune des deux électrodes est d'environ 1×1,5 mm [5].

#### IV.2.2.2. Nettoyage d'électrode d'Or

Avant toute analyse, l'électrode doit être nettoyée. Or, lors de la réalisation de notre travail les électrodes interdigitées ont été utilisées.

En effet les microélectrodes d'Or sont nettoyées en trois étapes :

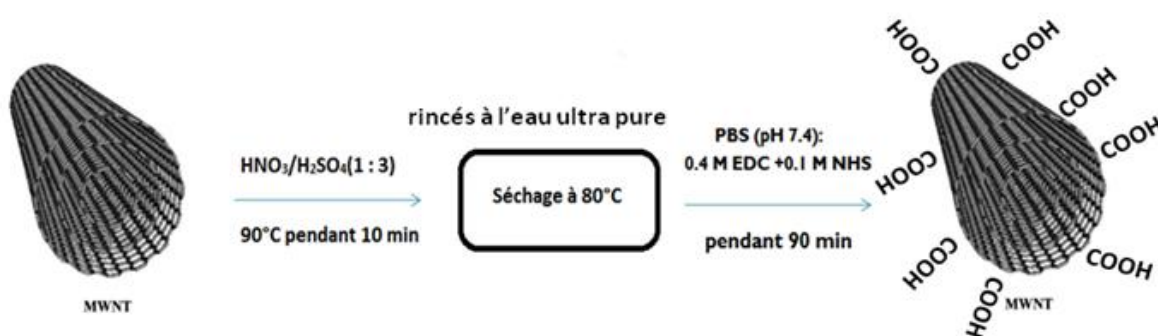
- L'électrode d'Or est trempée dans l'acétone pendant 10 min sous ultrason. ensuite, elle est séchée sous flux d'azote (N<sub>2</sub>).
- L'électrode d'Or est nettoyée en utilisant le mélange 'Piranha' pendant 4 min, cette solution est composée d'un mélange de 2/3 d'acide sulfurique concentré (96%) et de 1/3 d'eau oxygénée H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, après ce traitement l'électrode est rincée à l'eau ultra pure et séchée sous un flux d'azote.
- Puis rincée par éthanol puis séchée sous un flux d'azote.

#### IV.2.2.3. Activation des nanotubes de carbone

Les Nanotubes de carbone multi-parois (MWCNTs) ont été fonctionnalisés par oxydation dans des milieux acides, les traitements adoptés par la plus grande partie des chercheurs sont le plus couramment à base de HNO<sub>3</sub> en mélange concentré avec H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> selon un rapport volumétrique HNO<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>(1:3) sous agitation à une température de 90°C pendant 10 minutes [6, 7]. La fonctionnalisation covalente permet de greffer des molécules aux parois externes et aux extrémités des NTCs via la création de liaisons fortes (covalentes). La formation de ces liaisons a pour conséquence une modification de la structure des NTC et donc de leurs propriétés intrinsèques [8]. Une autre conséquence liée à ces traitements est le greffage de groupements fonctionnels oxygénés sur les parois des NTCs (modification de la structure): il s'agit principalement de groupements carboxyliques [9-11], hydroxyles [12] ou même sulfoniques (SO<sub>3</sub>H) sur des Nanotube de carbone mono-paroi (SWNTs) oxydés par un mélange HNO<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> [13]. Etant donné que ces groupements fonctionnels sont localisés à la fois sur les extrémités des NTCs (au niveau des structures pentagonales), au niveau des défauts des parois mais également sur les Fragments carbonés

carboxylés (CCFs) [10-15], il est important de prendre en compte cette information lorsque le traitement oxydant n'est qu'une étape préliminaire à la fonctionnalisation des NTCs. En effet, le nombre de groupements fonctionnels –COOH uniquement greffés sur les parois des NTCs doit être bien inférieur à ce qui peut être attendu [8].

Ensuite, les composés MWCNT fonctionnalisés sont filtrés et rincés à l'eau ultra pure et séchés dans un four à une température de 80 ° C. Après, les MWCNT ont été immergés pendant 90 min dans une solution de PBS (pH 7,4) contenant 0,4 M EDC et 0,1 M NHS, pour attacher par une liaison covalente les groupes COOH activés [16]. Enfin, la décoration des NTCs par des nanoparticules sera abordée.



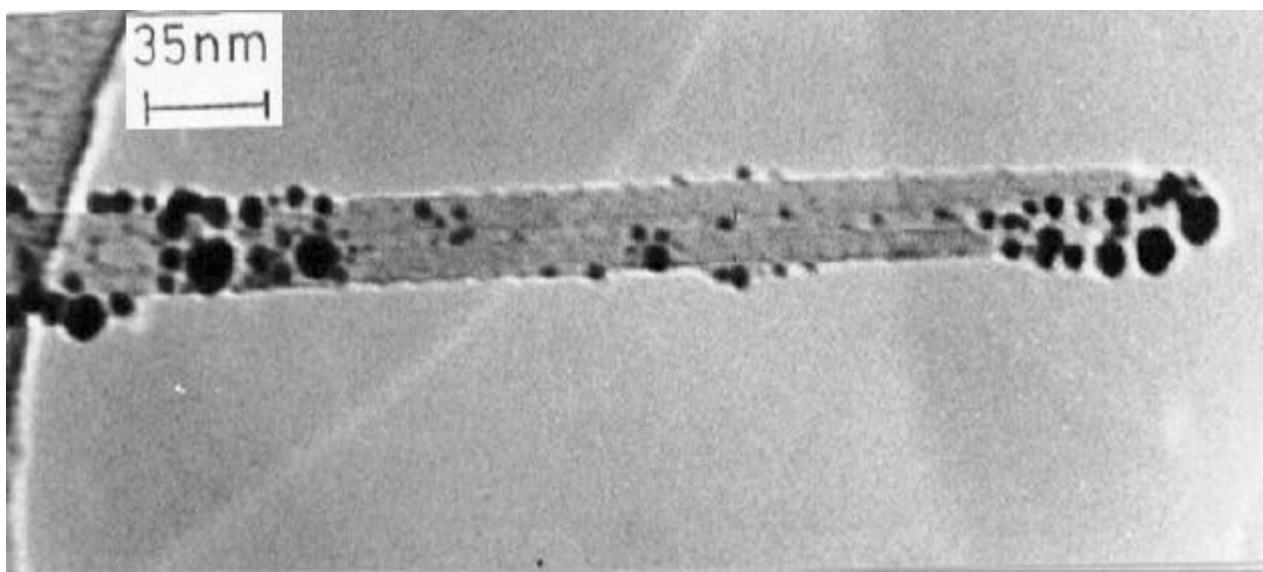
**Figure IV-2 :** Fonctionnalisation des MWCNTs par oxydation dans des milieux acides.

#### IV.2.2.4. Décoration des nanotubes de carbone

Les surfaces des nanotubes de carbone multi parois fonctionnalisées par oxydation en milieu acide (MWCNTs), ont été décorées par des nanoparticules d'or. Cette technique a été utilisée par Satishkumar et al. [17], Ozhikandathil et al. [18], et Chang et al. [19], par réduction des ions  $\text{Au}^{3+}$  sur la surface des MWCNTs dans un milieu aqueux.

Pour élaborer le biocapteur conductimétrique, les composés MWCNTs fonctionnalisés ont été immergés pendant 4h dans une solution de 10 ml d'eau distillée contenant 25 mg des nanotubes de carbone multi parois et 5 mg de  $\text{Au HCl}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  en présence de Chlorure de tétrakis (hydroxyméthyl) phosphonium (THPC). Nous avons utilisé des nanotubes traités en milieu acide, ce dernier ouvre non seulement les extrémités fermées des tubes, mais également augmente les groupements fonctionnels à leur surface.

La « **Figure IV-3** » montre la déposition des petites particules d'Or sur la surface de nanotubes multi parois (MWCNTs) [17].



**Figure IV-3 :** Image TEM de surface nanotubes de carbone décorés par des nanoparticules d'or en présence de  $\text{HAuCl}_4$  et THPC [17].

#### IV.2.2.5. Immobilisation des enzymes à base d'albumine de sérum bovin (BSA)

L'utilisation de la technique d'immobilisation d'un biorécepteur avec la BSA a été introduite par Dzyadevych et *al.* (1994) dans le cadre du développement de biocapteurs enzymatiques [20] et a été adaptée par Soldatkin et *al.* (2017) et Kirdeciler et *al.* (2011), pour immobiliser l'enzyme de l'uréase [21, 22].

Dans ce chapitre, nous avons principalement utilisé la méthode de co-réticulation d'une protéine inactive de l'Albumine de Sérum Bovine (BSA), avec l'enzyme de l'uréase dans une vapeur saturée en Glutaraldéhyde.

Le mélange membranaire déposé sur la microélectrode est composé de :

- Un mélange contenant 6 mg d'enzyme d'uréase, 4 mg BSA, 10  $\mu\text{L}$  glycérol, 30  $\mu\text{L}$  nanotubes de carbone décorés par nanoparticule d'or (MWCNT-AU-COOH) dans 30  $\mu\text{L}$  du tampon phosphate de 5 mM pH 7,4, a été préparé, 0,3  $\mu\text{L}$  de cette solution enzymatique est ensuite déposé sur la partie sensible d'électrode de travail.
- Un mélange contenant 10 mg BSA, 10  $\mu\text{L}$  glycérol, 30  $\mu\text{L}$  nanotubes de carbone décorés par nanoparticule d'or (MWCNT-AU-COOH) dans 30  $\mu\text{L}$  du tampon phosphate de 5 mM pH 7,4, a été préparé, 0,3  $\mu\text{L}$  de cette solution enzymatique est ensuite déposé sur la partie

sensible d'électrode de référence.

En dernière phase, la microélectrode modifiée est placée dans une atmosphère saturée en Glutaraldéhyde pendant 25 min afin de permettre la co-réticulation de l'enzyme avec la BSA et la Glutaraldéhyde. Enfin les électrodes sont laissées à l'air libre pendant 20 minutes, puis dans un milieu de 4°C pendant 12 heures, le temps de sécher.

### Stockage

Le biocapteur est stocké, entre les différentes expériences, à 4°C dans du tampon phosphate 5 mM, pH 7,4.

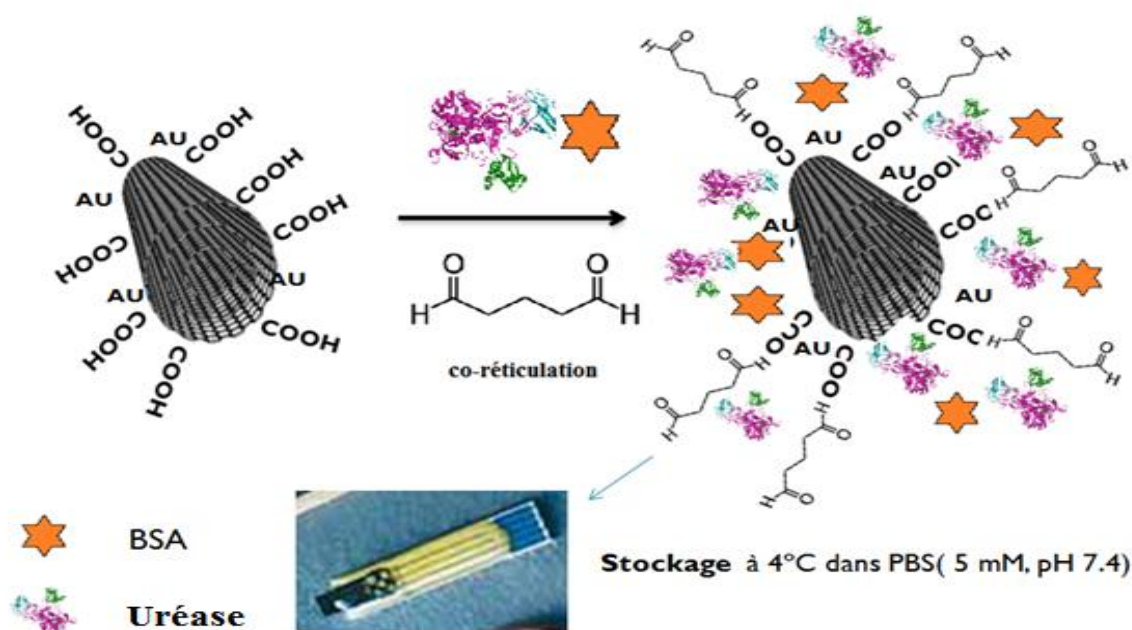


Figure IV-4 : Schéma d'immobilisation d'enzyme de l'uréase sur la surface d'électrode.

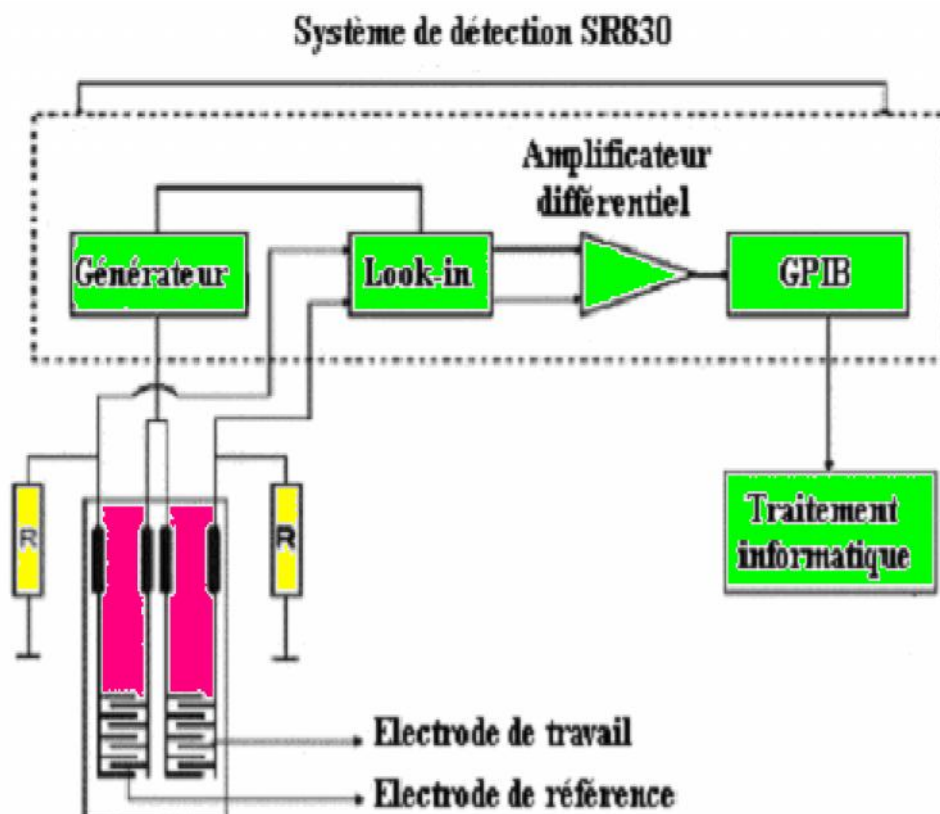
### IV.2.3. Caractérisation conductimétrique du biocapteur enzymatique

#### IV.2.3.1. Principe des mesures conductimétriques

Les mesures conductimétriques sont basées sur une mesure différentielle entre l'électrode de travail et l'électrode de référence. Grâce à un générateur, un signal d'excitation sinusoïdal de faible amplitude (10 mV) et de fréquence 100 kHz est alors appliqué aux deux électrodes excitatrices. Les signaux de sortie mesurés au niveau des électrodes.

Les mesures ont été effectuées à une température ambiante dans une cellule en verre de 5 ml. Le biocapteur a été immergé vigoureusement remué dans le tampon de PBS de concentration de 5 mM

et de pH 7,4. Après stabilisation du signal, différentes concentrations de l'urée ont été injectées dans la cellule de mesure sous agitation. Le signal différentiel a été enregistré en utilisant l'amplificateur synchrone SR830 (Stanford Research Systems) permet de fixer la phase à laquelle est mesuré le signal de sortie. En effet, la détection synchrone est utilisée chaque fois que l'on veut isoler un signal sinusoïdal en phase avec une sinusoïde de référence. Ainsi, le signal sinusoïdal de référence généré est transmis à l'électrode excitatrice de chaque paire. Les signaux sont ensuite filtrés par la technique du lock-in. Cette technique permet de filtrer un signal avec une bande passante arbitrairement faible centrée sur la fréquence du signal d'excitation [23]. Les signaux ainsi recueillis sont transmis à la détection synchrone qui fait la différence des deux signaux (électrode de référence et électrode de travail). Cette mesure en mode différentiel permet de neutraliser tous les signaux non spécifiques liés, par exemple, à l'adsorption d'espèces chargées sur l'électrode. La différence de tension (dans notre cas de figure, proportionnelle avec un coefficient 1, à la différence de conductance) est transmise à un enregistreur ou à un ordinateur par l'intermédiaire d'une carte GBIP « Figure IV-5 ».



**Figure IV-5** : Représentation schématique des mesures conductimétriques [24].



Figure IV-6 : Vue générale du dispositif de mesure conductimétrique.

### IV.3. Résultats et discussions

#### IV.3.1. Temps de réponse

La « **Figure IV-7** » montre une réponse typique du biocapteur obtenue après addition des différents volumes de l'urée dans un tampon de 5 mM de phosphate de potassium à pH 7,4.

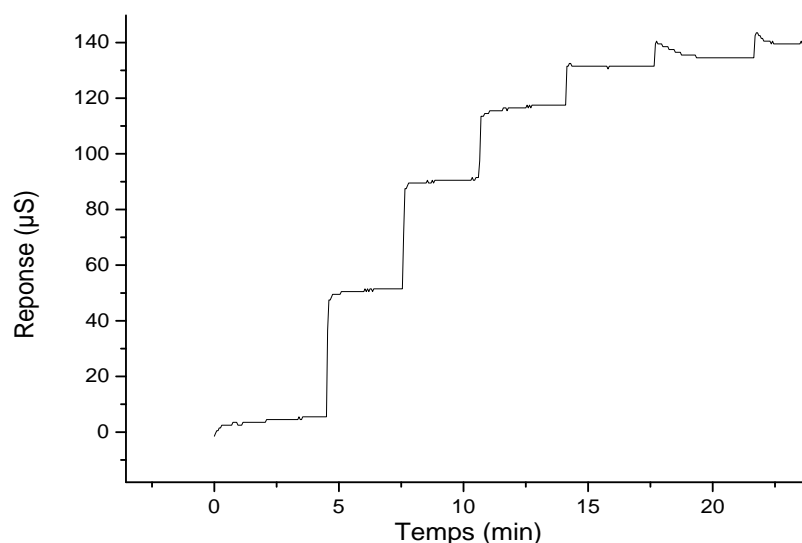


Figure IV-6 : Réponse de microélectrode à différentes concentrations de l'urée dans un tampon de 5 mM de phosphate de potassium à pH 7,4.

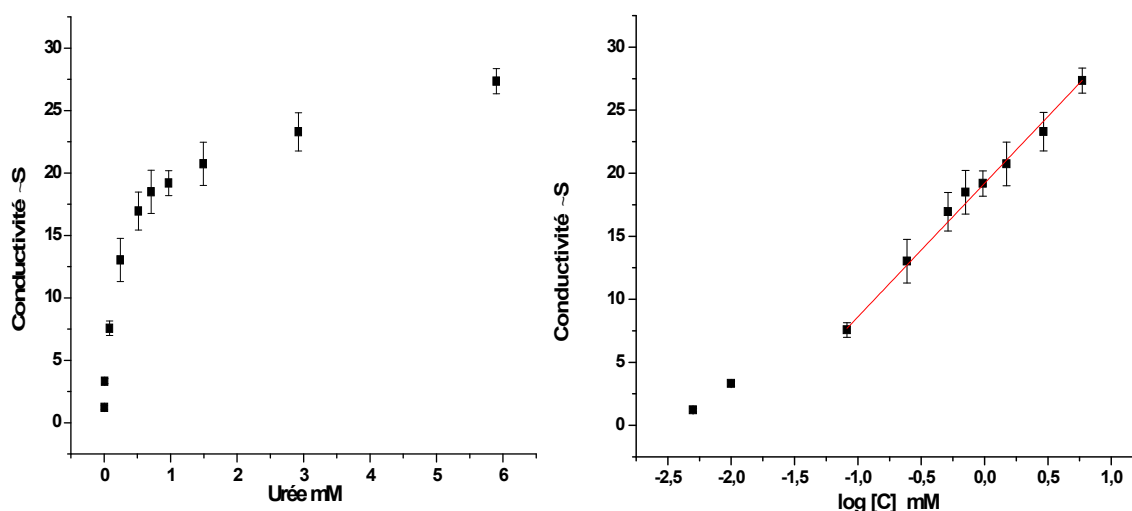
La variation de conductance a été enregistrée à l'état d'équilibre du biocapteur, trois mesures ont été effectuées à chaque niveau de concentration. L'injection de l'urée dans la cellule de mesure entraîne une augmentation rapide et significative de la conductivité due à la réaction d'hydrolyse

enzymatique de l'urée par l'uréase. L'équilibre est atteint après 5 min, le temps de réponse  $t_{90}$  est de l'ordre de quelques secondes (6 secondes).

Le temps de réponse de ce biocapteur élaboré à base de l'enzyme de l'uréase est court par rapport aux autres biocapteurs élaborés pour la détection de l'urée à ceux rapportés dans la littérature [25-27].

### IV.3.1. Performances du biocapteur

La réponse conductimétrique de notre biocapteur a montré une relation linéaire entre la variation de conductivité et les valeurs logarithmique des concentrations en urée « **Figure IV-8** ». Cette linéarité est obtenue dans une large gamme de 0,01 mM à 6 mM avec une sensibilité de 10,5  $\mu\text{S}/\text{mM}$  et un coefficient de corrélation de 0,989.



**Figure IV-7:** Courbe de calibration du biocapteur conductimétrique de l'urée dans un tampon de phosphate de potassium de concentration de 5 mM et pH 7,4.

La reproductibilité du biocapteur a été étudiée en répétant l'expérience avec d'autres capteurs élaborés dans les mêmes conditions. Les résultats montrent que la réponse du biocapteur présente un écart type moyen de l'ordre de 12% qui est assez élevé. Cela peut être expliqué par le contrôle difficile de la fixation des enzymes sur les nanotubes décorés.

Afin d'étudier la sélectivité du capteur, vis-à-vis de l'urée, on a testé sa réponse en présence d'autres molécules qui peuvent interférer et qu'on les trouve souvent avec l'urée.

Interférents	Sensibilité ( $\mu\text{S}$ )
Pas d'interférent	10,5
Acide urique	11,2
Acide ascorbique	9,8
Créatine	10,7
Glucose	10,9

En se référant aux résultats ci-dessus de la sensibilité du biocapteur en présence de la molécule interférente, on constate que la réponse n'est pas perturbée d'une manière remarquable.

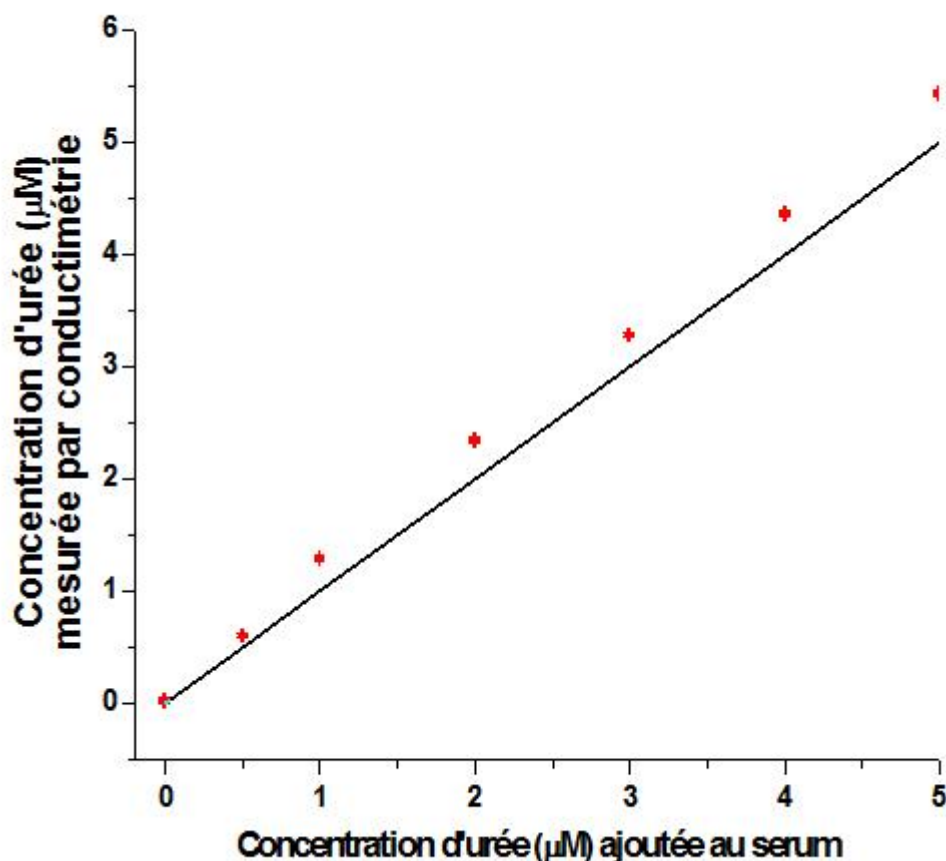
Les biocapteurs sont élaborés afin d'être utilisés comme outils analytiques dans divers domaines, tels que le biomédical, le contrôle de l'environnement, ou l'agroalimentaire. Donc, la fréquence des mesures, ou la manière dont sont utilisées ces sondes dépend de l'application envisagée. Ainsi, elles peuvent être utilisées, soit en continu, soit dans le cadre de tests nombreux et rapprochés, ou encore pour un usage unique. Donc dans ce contexte la durée de vie et la stabilité des bioélectrodes apparaissent comme l'un des éléments clés de leur application à grande échelle. La stabilité de la structure de notre biocapteur élaboré en fonction du temps a été mesurée périodiquement. Les résultats trouvés étaient encourageants, car notre capteur peut être utilisé 12 fois et conservé pendant deux mois. Les performances de notre biocapteur ont été comparées à ceux rapportées dans la littérature «**Tableau IV-1**».

**Tableau IV-1** : Performances analytiques de quelques biocapteurs pour la détection de l'urée.

Membrane	Linéarité	LOD	Référence
<b>Uréase- MWCNT-AU-COOH</b>	0,01 - 6 mM	2 $\mu\text{M}$	<b>Ce travail</b>
<b>Fullerene-urease bio-conjugate</b>	1,2 – 0,042 mM	-	[27]
<b>Urease-PAN [poly(acrylonitrile–methylmethacrylate–sodium vinylsulfonate)</b>	1 - 100 mM	0,3mM	[28]
<b>Eggshell- polyethyleneimine (PEI)</b>	0,5 - 10 mM.	0.1 mM	[29]
<b>Urease H40–Au nanoparticles</b>	0,01 -35 mM	$10^{-5}$ M	[30]
<b>Polyaniline-Nafion/Au/ceramic composite</b>	6 – 60mg/dL	0,3mg/dL	[31]
<b>Urease –adsorption- silicalite</b>	0,05–15 mM	20 m	[32]
<b>Urease – électropolymérisation-électrode de platine</b>	$4,9 \times 10^{-5}$ - $5,8 \times 10^{-3}$ M	$4,9 \times 10^{-5}$ M	[33]

### IV.3.2. Application de biocapteur pour la détection de l'urée dans des échantillons de sang

Le biocapteur enzymatique a été également évalué pour la détection de l'urée dans des échantillons de sang. Ces derniers ne nécessitent qu'une étape de centrifugation et une seule étape de dilution selon un rapport volumétrique 1/30 dans un tampon de 5 mM de phosphate de potassium à pH 7,4, afin d'adapter les concentrations dans la gamme linéaire de la courbe de calibration de la « **Figure IV-8** ». Les échantillons ont été pollués par l'urée puis en utilisant la méthode conductimétrique pour la mesure de l'évolution de la réponse du biocapteur enzymatique en fonction de la concentration de l'urée. La « **Figure IV-9** » résume les résultats obtenus, on peut constater que ces résultats sont un peu plus élevés par rapport aux résultats théorique, cela peut être expliqué par l'augmentation de la conductivité de la solution en présence du plasma sanguin.



**Figure IV-8** : Corrélation entre les concentrations d'urée ajoutées au sérum et les valeurs mesurées par notre capteur conductimétrique.

#### IV.4. Conclusion

Dans ce travail, un nouveau biocapteur enzymatique à base d'enzyme d'uréase a été élaboré et appliqué à la détection de l'urée. La microélectrode d'or a été modifiée par des nanotubes de carbones décorés avec des nanoparticules d'Or et d'enzyme d'uréase. Le biocapteur élaboré est caractérisé par un faible **temps de réponse de 6 secondes**, une basse limite de détection (**LOD**) de **2  $\mu\text{M}$**  et une haute **sensibilité de 10,5  $\mu\text{S}/\text{mM}$**  avec une large **gamme linéaire de 0,01 mM à 6 mM**.

En outre, ce biocapteur élaboré pour la détermination de l'urée permet une détection directe avec un temps de mesure très court. Ce biocapteur a été appliqué à la quantification de l'urée dans des échantillons de sang, ce qui démontre le bon fonctionnement du biocapteur proposé pour des applications pratiques dans l'analyse médicale.

---

**Références bibliographiques de chapitre IV**

- [1] **M. Valcárcel, S. Cárdenas, B. M. Simonet,**  
"Role of Carbon Nanotubes in Analytical Science", *Anal. Chem.*, Vol. 79(13), 2007, 4788–4797.
- [2] **K. D. Ausman, R. Piner, O. Lourie, R. S. Ruoff, M. Korobov,**  
"Organic Solvent Dispersions of Single-Walled Carbon Nanotubes: Toward Solutions of Pristine Nanotubes", *J. Phys. Chem. B*, Vol. 104(38), 2000, pp. 8911–8915.
- [3] **L. Vaisman, H. D. Wagner, G. Marom,**  
"The role of surfactants in dispersion of carbon nanotubes", *Adv. Colloid Interface Sci.*, Vol. 128-130, 2006, pp. 37–46.
- [4] **H. Matsumura, R. Ortiz, R. Ludwig, K. Igarashi, M. Samejima, L. Gorton,**  
"Direct Electrochemistry of *Phanerochaete chrysosporium* Cellobiose Dehydrogenase Covalently Attached onto Gold Nanoparticle Modified Solid Gold Electrodes", *Langmuir*, Vol. 28 (29), 2012, pp.10925–10933.
- [5] **N. Jaffrezic-Renault, S.V. Dzyadevych,**  
"Conductometric Microbiosensors for Environmental Monitoring", *Sensors*, Vol. 8(4), 2008, pp. 2569-2588.
- [6] **J. W. CHO, J. W. KIM, Y.C. JUNG, N. S. GOO,**  
"Electroactive Shape-Memory Polyurethane Composites Incorporating Carbon Nanotubes Macromol", *Rapid Commun.*, Vol. 26, 2005, pp. 412–416.
- [7] **N. G. SAHOO, Y.C. JUNG, H. H. SO, J. W. CHO,**  
"Polypyrrole coated carbon nanotubes: Synthesis, characterization, and enhanced electrical properties", *Synth. Met.*, Vol. 157(9-8), 2007, pp.374–379.
- [8] **T. Bortolamiol,**  
"Nanotubes de carbone Biparois : fonctionnalisation et détection in VITRO", Thèse de doctorat de l'université de TOULOUSE, 2015.
- [9] **H. Kuzmany, A. Kukovecz, F. Simon, M. Holzweber, C. Kramberger and T. Pichler,**  
"Functionalization of carbon nanotubes", *Synth. Met.*, Vol. 141, 2004, pp. 113-122.
- [10] **H. Yu, Y. Jin, F. Peng, H. Wang and J. Yang,**  
"Kinetically controlled sidewall functionalization of carbon nanotubes by nitric acid oxidation", *J. Phys. Chem. C*, Vol.112, 2008, pp. 6758-6763.
- [11] **K. A. Worsley, I. Kalinina, E. Bekyarova and R. C. Haddon,**  
"Functionalization and dissolution of nitric acid treated single-walled carbon nanotubes", *J. Am. Chem. Soc.*, Vol.131, 2009, pp. 18153-18158.
- [12] **J. Wang, G. Liang, H. Yan and S. He,**
-

- "Mechanical and thermal properties of functionalized multiwalled carbon nanotubes/cyanate ester composite", *Polym. Eng. Sci.*, Vol. 49(4) 2009, pp. 680-684.
- [13] **Y. WANG, Z. IQBAL AND S. MITRA,**  
"Rapidly functionalized, water dispersed carbon nanotubes at high concentration", *J. Am. Chem. Soc.*, 2006, Vol. 128, pp. 95-99.
- [14] **C.G. SALZMANN, S.A. LLEWELLYN, G. TOBIAS, M. WARD, Y. HUH AND M. GREEN,**  
"The role of carboxylated carbonaceous fragments in the functionalization and spectroscopy of a single-walled carbon-nanotube material", *Adv. Mater.*, Vol. 19, 2007, pp. 883-887.
- [15] **P. HOU, C. LIU AND H. CHENG,**  
"Purification of carbon nanotubes", *Carbon*, 2008, 46(15), pp. 2003-2025.
- [16] **N. Zehani, P. Fortgang, M. S. Lachgar, A. Baraket , M. Arab, S. Dzyadevych, R. Kherrat, N. Jaffrezic-Renault,**  
"Highly sensitive electrochemical biosensor for bisphenol A detection based on a diazonium-functionalized boron-doped diamond electrode modified with a multi-walled carbon nanotube-tyrosinase hybrid film", *Biosens. Bioelectron.*, Vol. 74, 2015, pp.830–835.
- [17] **B. C. Satishkumar, Erasmus. M. Vogl, A. Govindaraj et C. N. R. Rao,**  
"The decoration of carbon nanotubes by metal nanoparticles, *J. Phys. D: Appl. Phys.*, Vol.29, 1996, pp. 3173–3176.
- [18] **J. Ozhikandathil, S. Badilescu & M. Packirisamy,**  
"Plasmonic Gold Decorated MWCNT Nanocomposite for Localized Plasmon Resonance Sensing", *Scientific Reports*, Vol. 5, Article number: 13181, 2015, pp. 1-11
- [19] **Dong Wook Chang, In-Yup Jeon, Hyun-Jung Choi and Jong-Beom Baek,**  
"Mild and Nondestructive Chemical Modification of Carbon Nanotubes (CNTs): Direct Friedel-Crafts Acylation Reaction", *World's largest Science, Technology & Medicine, Open Access book publisher*, Chapter 12, <http://dx.doi.org/10.5772/50805>
- [20] **S. V. Dzyadevych, , A.A. SHUL'GA, and S.V. PATSKOVSKY,**  
"Thin film conductometric sensors for enzyme biotransducers", *Russian journal of electrochemistry*, Vol. 30(8) 1994, pp. 987-991.
- [21] **S. K. KIRDECILERA, E. SOYA, S. ÖZTÜRKA, I. KUCHERENKOB, O. SOLDATKINB, ET AL,**  
"A novel urea conductometric biosensor based on zeolite immobilized urease", *Talanta*, Vol. 85(3), 2011, pp. 1435–1441 <http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2011.06.034>.
- [22] **O.O. SOLDATKINA, K.V. STEPURSKA, V.M. ARKHYPOVA, A.P. SOLDATKINA, ET AL,**  
"Conductometric enzyme biosensor for patulin determination", *Sens. Actuators B.*, Vol. 239, 2017, pp. 1010–1015. <http://dx.doi.org/10.1016/j.snb.2016.08.121>.
- [23] **J. AUVRAY,**  
"Traitement des signaux. Techniques de l'ingénieur, traité Mesures et contrôle", 1987, R

305, pp. 1- 31.

[24] **H. GUEDRI,**

"Mise au point de biocapteurs basés sur la mesure d'activités enzymatiques de cellules algales pour la surveillance des milieux aquatiques", Thèse de doctorat, institut National des Sciences Appliquées de Lyon, 2010.

[25] **S.V. Marchenko, I.S. Kucherenko, A.N. Hereshko, I.V. Panasiuk, O.O. Soldatkin, A.V. El'skaya, A.P. Soldatkin,**

"Application of potentiometric biosensor based on recombinant urease for urea determination in blood serum and hemodialyzate", *Sens. Actuators B*, Vol. 207(B), 2015, pp. 981–986.

[26] **A. S. Emami Meibodi, S. Haghjoo,**

"Amperometric urea biosensor based on covalently immobilized urease on an electrochemically polymerized film of polyaniline containing MWCNTs", *Synthetic Metals*, Vol. 194, 2014, pp. 1–6.

[27] **K. SAEEDFAR, L.Y. HENG, T.L. LING, M. REZAYI,**

"Potentiometric urea biosensor based on an immobilised fullerene-urease bio-conjugate", *Sensors*, Vol. 13, 2013, pp. 16851–16866.

[28] **R. RAMESH, P. PUHAZHENDI, J. KUMAR, M. K. GOWTHAMAN, ET AL.,**

"Potentiometric biosensor for determination of urea in milk using immobilized *Arthrobacter creatinolyticus* urease", *Mater. Sci. Eng. C*, Vol. 49, 2015, pp. 786–792.

[29] **S. F. D'SOUZA, J. KUMAR, S. K. JHA, B. S. KUBAL,**

"Immobilization of the urease on eggshell membrane and its application in biosensor", *Mater. Sci. Eng. C*, Vol. 33, 2013, pp. 850–854.

[30] **A. TIWARI, S. ARYAL, S. PILLA, S. GONG,**

"An amperometric urea biosensor based on covalently immobilized urease on an electrode made of hyperbranched polyester functionalized gold nanoparticles", *Talanta*, Vol. 78(4–5), 2009, pp. 1401–1407.

[31] **Y.C. LUO, J.S. DO,**

"Urea biosensor based on PANi(urease)-Nafion®/Au composite electrode", *Biosens. Bioelectron.*, Vol. 20(1), 2004, pp. 15–23.

[32] **T. P. VELYCHKO, . . SOLDATKIN, V. G. MELNYK, ET AL,**

"A Novel Conductometric Urea Biosensor with Improved Analytical Characteristic Based on Recombinant Urease Adsorbed on Nanoparticle of Silicalite", *Nanoscale Res Lett*, Vol. 11, 2016, p.106.

[33] **H. GHOURCHIAN, A. M. RAD, AND H. ELYASVANDI,**

"A Conductometric Urea Biosensor by direct immobilisation of urease on Pt Electrode", *Chem. & chem. Eng.*, Vol. 23(2), 2004, pp. 55-63.

---

# CONCLUSION GÉNÉRALE

---

Nos travaux de thèse ont été consacrés au développement des capteurs électrochimiques sélectifs pour la détection du Zinc dans les matrices réelles et de biocapteurs conductimétriques appliqués à la détection de l'urée dans le sang.

Ce travail a été réalisé principalement au Laboratoire des Capteurs, Instrumentations et Procédés (LCIP) de l'Université de Khenchela en collaboration avec le laboratoire de Génie de L'Environnement (Université de Annaba), le laboratoire de Physique et Chimie des Interfaces (Université de Monastir, Tunisie) et le laboratoire de sciences analytiques (Université de Claude Bernard Lyon 1).

Deux types de capteurs ont été développés. Le premier est un capteur électrochimique de carbone vitreux à base d'EDTA sélectif aux ions de Zinc. Ce capteur a été modifié électrochimiquement par un greffage de sel de diazonium et d'EDTA sur la surface d'électrode de carbone vitreux. La sensibilité et la sélectivité du nouveau capteur élaboré pour la détection du Zinc ont été étudiées et testées dans des solutions aqueuses et dans des eaux de surface à pH 4,5. En plus du Zinc, trois métaux lourds ont été utilisés pour les mesures d'interférence (le cuivre, le plomb et le cadmium). La ville d'Annaba qui est une zone industrielle a été choisie pour tester le nouveau capteur sélectif élaboré. En conséquence, ce nouveau capteur de zinc montre une haute sensibilité, une meilleure sélectivité aux ions de zinc comparé aux autres ions étudiées ( $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  et  $\text{Cd}^{2+}$ ), une faible **limite de détection** d'environ  $3,74 \times 10^{-11} \text{ g L}^{-1}$  et une **large zone dynamique de  $2,50 \times 10^{-12}$  à  $3,74 \times 10^{-11} \text{ g L}^{-1}$** . Cependant, ce nouveau capteur électrochimique de carbone vitreux à base d'EDTA peut être appliqué avec succès et une bonne précision à la détermination sélective des ions de zinc dans les eaux de rivières.

Le deuxième est un nouveau biocapteur enzymatique conductimétrique à base d'enzyme d'uréase appliqué à la détermination de l'urée dans des milieux biologiques. Ce biocapteur a été élaboré à base de nanotubes de carbone décorés par des nanoparticules d'or avec une immobilisation de l'enzyme de l'uréase sur la surface de micro électrode d'or. Le biocapteur élaboré est caractérisé par un faible **temps de réponse de 6 secondes**, une basse **limite de détection (LOD) de 2  $\mu\text{M}$**  et une haute **sensibilité de 10,5  $\mu\text{S/mM}$**  avec une large zone linéaire de **0,01 mM à 6 mM**. En outre, ce biocapteur élaboré pour la détermination de l'urée permet une détection directe avec un temps de mesure très court. Ce biocapteur à base d'enzyme d'uréase a été appliqué à la quantification de

---

l'urée dans des échantillons de sang. Ce qui démontre le bon fonctionnement du biocapteur proposé pour des applications pratiques dans l'analyse médicale.

Ces résultats promoteurs ouvrent la voix à plusieurs perspectives notamment pour améliorer les performances des capteurs élaborés : le mode de fonctionnalisation électrochimique et la co-réticulation, développer des outils d'analyse rapide, avec une bonne stabilité de stockage, et Il faudra encore utiliser les nanomatériaux pour la conception des capteurs électrochimiques.

**Pour conclure, nos résultats montrent clairement que les deux capteurs électrochimiques et biocapteur élaborés, que ce soit pour la détection du zinc dans l'eau ou de l'urée dans le sang, peuvent être appliqués avec succès à l'environnement et à la santé.**

---

# ANNEXE

---

## Liste des publications et communications scientifiques

- **Publications internationales**

*Amina Touati, Messaoud Benounis, Abdesselam Babouri, Houcine Barhoumi and Merieme Bourourou, A Sensitive Zinc Ion Electrode Based on Electrochemically Deposited Ethylene Diamine Tetra Acetic onto Glassy Carbon Surface, Materials Transactions, Vol. 57, No. 5 (2016) pp 669–673.*

*Amina Touati, Messaoud Benounis, Kheir-Eddine Boudjema, and Houcine Barhoumi, New Modified EDTA-Selective Glassy Carbon Electrode for Detection of Zinc Ions in Real Water of Annaba (East Algeria), Sensor Lett. 14, (2016) pp 1138–1143*

- **Conférences internationales**

*A.Touati, M. Benounis, H. Barhoumi, M. Bourourou; ELECTROCHEMICAL SENSOR BASED ON MODIFIED GLASSY CARBON ELECTRODE FOR THE DETECTION OF ZINC IN WATER, 9<sup>èmes</sup> JOURNEES MAGHREB-EUROPE MATERIAUX et APPLICATIONS aux DISPOSITIFS et CAPTEURS Mahdia (Tunisie), (du 5 au 7 Novembre 2014).*

*A. Touati, M. Benounis, R. Kherrat, S. Zouggar; NOUVEAU CAPTEUR A ION SELECTIF A BASE DE ZEOLITE POUR LA DETECTION DU ZINC, 9<sup>èmes</sup> JOURNEES MAGHREB-EUROPE MATERIAUX et APPLICATIONS aux DISPOSITIFS et CAPTEURS Mahdia (Tunisie), (du 5 au 7 Novembre 2014).*

*A. Touati, Une électrode sensible aux ions du zinc sur la base dépôt électrochimique de l'EDTA sur la surface d'électrode de carbone vitreux, Premier congrès international: La Santé dans un Environnement à Risques, Gafsa (Tunisie), (du 4 au 6 juin 2015).*

*A. Touati, M. Benounis, H. Barhoumi, M. Bourourou, N. Messai; A sensitive zinc ion electrode based on electrochemically deposited EDTA onto glassy CARBON surface, 10<sup>èmes</sup> JOURNEES MAGHREB-EUROPE MATERIAUX et APPLICATIONS aux DISPOSITIFS et CAPTEURS Mahdia (Tunisie), (du 9 au 10 Novembre 2016).*

---

*A. Touati, M. Braiek, H. Fourou, M. Arab, M. Benounis, Nicole Jaffrezic-Renault; Elaboration d'un biocapteur conductimétrique à base des nanotubes de carbone décorés avec des nanoparticules d'or pour la détection de l'urée, 10<sup>èmes</sup> JOURNEES MAGHREB-EUROPE MATERIAUX et APPLICATIONS aux DISPOSITIFS et CAPTEURS Mahdia (Tunisie), (du 9 au 10 Novembre 2016).*

تتمثل أهمية هذا العمل في تطوير اثنين أجهزة كهروكيميائية ، لأيونات الذهب وتم مياه السطحية ومياه البحر ولاقط بيولوجي توصيلي تطويره بواسطة أنابيب كربونية مزينة بجزيئات نانوية لايونات (EDTA-CV) جديد حساسية وانتقائية هذا اللاقط الكهروكيميائي واختبارها محاليل مائية عينات مياه سطحية أجهزة الجديدة حيث أظهرت اولاً قمنا بتطوير لاقط كهروكيميائي جديد (EDTA-CV) لايونات حساسية وانتقائية هذا اللاقط الكهروكيميائي واختبارها محاليل مائية عينات مياه سطحية أجهزة الجديدة حيث أظهرت حساسية انتقائية عالية لايونات ديناميكية  $2,50 \times 10^{-12}$  /  $3,74 \times 10^{-11}$  /  $3,74 \times 10^{-11}$  ثانياً تطوير بيولوجي توصيلي أنابيب كربونية مزينة بجزيئات نانوية الذهب أنزيم الاورياز تم توصيلهم ع ميكرو انترديجيتية . هذا البيولوجي البيوريا . تقييم حساسيته ولوحظ خطية بين زيادة الناقلية والقيمة اللوغاريتمية لتركيز البيوريا حساسية جيدة (LOD = 2  $\mu$ M).

**كلمات مفتاحية:** كهروكيميائي ، انتقائي ، ايونات الزنك ، جهاز استشعار بيولوجي ، أنابيب كربونية ، البيوريا، حساسية، حد أدنى للكشف ، EDTA .

## Résumé

Nos travaux de thèse ont été consacrés au développement de deux capteurs. Un capteur électrochimique sélectif aux ions du Zinc dans les eaux surfaces et de mer, et un biocapteur conductimétrique à base de nanotubes de carbone décorés par des particules d'or appliqué à la détection de l'urée dans le sang.

Dans un premier lieu, nous avons élaboré un nouveau capteur de carbone vitreux modifié sélectif aux ions  $Zn^{2+}$  et appliqué aux matrices réelles (eaux surfaces et les eaux de mer). La surface de l'électrode de carbone vitreux a été modifiée par un greffage électrochimique successif de sel de diazonium et d'EDTA. La sensibilité et la sélectivité du capteur ont été étudiées et testées dans des solutions aqueuses et dans des eaux surfaces et des eaux de mer à **pH 4,5**. En plus du Zinc, trois métaux lourds ont été utilisés pour les mesures d'interférence ( $Cu^{2+}$ ,  $Pb^{2+}$  et  $Cd^{2+}$ ). Les eaux de la ville d'Annaba ont été choisies pour tester le nouveau capteur élaboré. Ce capteur montre une haute sensibilité et une meilleure sélectivité au zinc avec une large gamme dynamique de  **$2,50 \times 10^{-12}$  à  $3,74 \times 10^{-11}$  g L<sup>-1</sup>**, et une faible limite de détection d'environ  **$3,74 \times 10^{-11}$  g L<sup>-1</sup>**.

La seconde partie de notre travail consiste au développement d'un biocapteur conductimétrique à base de nanotubes de carbone décorés par des particules d'or via l'immobilisation de l'uréase sur des microélectrodes interdigitées. Ce biocapteur a été utilisé pour la détection de l'urée dans le sang. Les performances du biocapteur ont été évaluées en fonction de la sensibilité, la limite de détection, la plage dynamique et la reproductibilité. Une relation linéaire entre l'augmentation de la conductivité locale au niveau de la membrane et la valeur logarithmique de la concentration d'urée a été observée avec une très bonne sensibilité et une faible limite de détection (**LOD = 2  $\mu$ M**).

**Mots Clés :** capteur, biocapteur, carbone vitreux, EDTA, zinc, sélectivité, sensibilité, nanotubes de carbone, nanoparticules d'Or, conductimétrique, uréase.

## Abstract

Our work was devoted to the development of two sensors. A selective electrochemical sensor for Zinc ions in real waters and a conductimetric biosensor based on carbon nanotubes decorated with gold nanoparticles applied to the detection of urea in the blood.

First, we have developed a new selective EDTA-CV sensor for  $Zn^{2+}$  ions in real waters, by electrochemical grafting of diazonium salt and EDTA on a glassy carbon surface. The sensitivity and selectivity of the sensor were studied and tested in aqueous and real solutions at pH 4.5. In addition to Zinc, three heavy metals were used for interference measurements ( $Cu^{2+}$ ,  $Pb^{2+}$  and  $Cd^{2+}$ ). The waters of the city of Annaba were chosen to test the new elaborate sensor. This sensor exhibits high sensitivity and zinc selectivity with a wide dynamic range of  **$2,50 \times 10^{-12}$  to  $3,74 \times 10^{-11}$  g L<sup>-1</sup>** and a low detection limit of about  **$3,74 \times 10^{-11}$  g L<sup>-1</sup>**.

Then, a conductimetric biosensor was developed based on carbon nanotubes decorated with gold nanoparticles via the immobilization of urease on interdigital microelectrodes. This biosensor was used for the detection of urea in the blood. The performance of the biosensor was evaluated in terms of sensitivity, detection limit, dynamic range and reproducibility. A linear relation between the increase of the local conductivity at the membrane and the logarithmic value of the urea concentration was observed with very good sensitivity and a low detection limit (**LOD = 2  $\mu$ M**).

**Key Words:** sensor, biosensor, glassy carbon, EDTA, zinc, selectivity, sensitivity, carbon nanotubes, gold nanoparticles, conductimetric, urease