

# وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITÉ ABBES LAGHROUR-  
KHENCHELA

FACULTÉ DES SCIENCES ET DE  
TECHNOLOGIE

Département de Génie industrielle



جامعة عباس لغرور خنشلة

كلية العلوم و التكنولوجيا

قسم: الهندسة الصناعية

## Mémoire de Master

No. Réf. : .....

Domaine : Science et Technologies  
Filière : Génie des procédés  
Spécialité : Génie des procédés de l'environnement

Réalisé par :

M<sup>elle</sup> : Gharbi Chahrazed

Thème

### ÉLABORATION D'UN BIOCAPTEUR ÉLECTROCHIMIQUE À BASE DE NANOTUBES DE CARBONE POUR LA DÉTECTION DES IONS $Zn^{2+}$

*Soutenue le 28/06/2022 devant la commission d'examen composée de :*

Dr.	MAKHLOUF Azzeddine	Président
Dr.	Touati Amina	Directeur du Mémoire
Dr.	KIHAL Rafiaa	Examineur

Année 2021-2022

## Dédicace

---

*Je dédie ce mémoire*

*A mes parents source d'amour et de ma réussite que dieu me les garde.*

*A mes sœurs : Marwa et asya*

*A mes frères : Hamza et Sami.*

*Pour leurs aides durant ce mémoire*

*Et à tous mes amis chacun par son nom.*

*A tous les bons moments que nous avons passés ensemble*

*En fin ils disent « tous ce qui monte converge ».*

---

## *Remerciements*

---

Tout d'abord, nous remercions Dieu Tout-Puissant qui m'a aidé à terminer ce mémoire.

Nous tenons à exprimer mes sincères remerciements et ma profonde gratitude au Dr Touati Amina ; Le directeur de cette thèse qui m'a beaucoup aidé dans la réalisation de ce travail, ainsi que pour ses précieux conseils scientifiques qu'elle m'a donnés au cours de ce travail.

Je tiens également à remercier tous les membres du jury pour l'intérêt qu'ils portent à mon travail :

Dr : MAKHLOUF Azzeddine

Dr : KIHAL Rafiaa

Je tiens à exprimer mes sincères remerciements à tous ceux qui m'ont aidé à réaliser ce travail.

Je remercie également le professeur Amer qui m'a aidé à compléter mon mémoire.

CHAHRAZED

## Sommaire

INTRODUCTION GENERALE .....	X
<i>Chapitre 01</i> .....	<i>1</i>
CAPTEURS ET BIOCAPTEURS ELECTROCHIMIQUES.....	1
1.1. Capteurs .....	1
1.1.1. Définition.....	1
1.1.2. Chaîne de mesure .....	1
1.1.3. Types de grandeur physique .....	2
1.1.4. Grandeurs d'influence.....	2
1.1.5. Constituants d'un capteur .....	3
1.1.6. Différents types du capteur .....	3
1.1.7. Domaines d'application du capteur .....	5
1.2. Biocapteurs .....	6
1.2.1. Définition.....	6
1.2.2. Transducteurs.....	7
1.2.3. Classification des capteurs électrochimique.....	21
1.2.4. Paramètres de performance d'un capteur électrochimique.....	22
1.2.5. Description du biocapteur.....	25
1.2.6. Techniques d'immobilisation des enzymes.....	35
1.2.7. Électrodes enzymatique .....	37
1.2.8. Nanotechnologie et biocapteurs.....	38
1.2.9. Polymères conducteurs .....	42
1.3. Conclusion.....	46
<i>Chapitre 02</i> .....	<i>47</i>
TECHNIQUES D'ANALYSES ELECTROCHIMIQUES.....	47
2.1. Introduction.....	47
2.2. Techniques électrochimiques.....	48
2.2.1. Voltampérométrie cyclique.....	48
2.3. Conclusion.....	52

---

**Chapitre 03.....53****ELABORATION D'UN NOUVEAU BIOCAPTEUR A BASE DE  
NANOTUBES DE CARBONE POUR LA DETECTION DES IONS  
DU ZINC DANS UNE SOLUTION AQUEUSE .....53**

3.1. Introduction.....	53
3.1.1. Appareillage .....	54
3.2. Description du dispositif expérimental.....	55
3.2.1. Composé chimique .....	56
3.3. PROCEDURES EXPERIMENTALES.....	56
3.3.1. Préparation de solution tampon de buffer PH=4,5 .....	56
3.4. Protocol 1 .....	57
3.4.1. Nettoyage de l'électrode de travail .....	57
3.4.2. Préparation des échantillons .....	57
3.4.3. Préparation du capteur électrochimique.....	58
3.4.4. Résultat et discussion.....	59
3.5. Protocol 2 .....	61
3.5.1. Nettoyage de l'électrode de travail .....	61
3.5.2. Préparation du capteur électrochimique.....	62
3.5.3. Dépôt de nanotube de carbone, chitosane et Benzocrown.....	63
3.6. Résultat et discussion.....	65
3.6.1. Sensibilité et limite de détection du capteur .....	67
3.6.2. Teste de sélective .....	70
3.7. Conclusion.....	72
<b>CONCLUSION GENERALE.....</b>	<b>73</b>

## Liste des figures

Figure 1.1.Principe d'un capteur.....	1
Figure 1.2.Constitution d'une chaîne de mesure classique. ....	2
Figure 1.3.Constituants d'un capteur. ....	3
Figure.1.4.Quelques exemples des capteurs physiques (balance, thermomètre et spectrophotomètre UV-Visible). ....	4
Figure.1.5.Quelques exemples des capteurs chimiques (conductimètre et pH-mètre). ....	5
Figure. 1.6.Représentation schématique du principe de fonctionnement d'un biocapteur. ....	6
Figure. 1.7.Schéma d'un biocapteur thermique.....	9
Figure. 1.8.Schéma des capteurs optiques. ....	10
Figure. 1.9.Détection électrochimique. ....	13
Figure. 1.10.Capteurs ampérométriques de première génération.....	14
Figure. 1.11. Schéma d'un biocapteur de type de Clark.....	15
Figure. 1.12.Biocapteur ampérométrique de deuxième génération M est le médiateur sous forme oxydée (ox)ou réduite(réd). ....	15
Figure. 1.13.Médiateur sous forme réduite (donneur) ou oxydée (accepteur). ....	16
Figure. 1.14.Transfert d'électron du biocapteur enzymatique de troisième génération. ....	16
Figure. 1.15.Représentation schématique de quelques biorécepteurs. ....	25
Figure. 1.16.Principe de la réaction catalytique d'un enzyme (type protéase). ....	26
Figure. 1.17.Représentation schématique d'un anticorps et de la partie se liant à l'antigène, le paratope.....	32
Figure. 1.18.Exemples de méthodes d'immobilisation d'enzyme.....	35
Figure. 1.19.:Electrode à enzyme.....	38
Figure. 1.20.Différents polymères conducteurs. ....	42
Figure. 1.21.:Structureur de la polyaniline.....	44
Figure. 1.22.Représente schématiquement ces nanotube.....	45
Figure 2.1.Evolution du potentiel en fonction du temps en voltammétrie cyclique. ....	48
Figure 2.2. Voltampérogramme pour un système réversible.....	49
Figure 2.3. Voltamogramme cyclique d'un système irréversible.....	50
Figure 2.4: Réponse en courant typique d'un voltammogramme à vague carrée. ....	51
Figure 3.1. De gauche à droite, électrode de travail, contre électrode et électrode de référence. ....	55
Figure 3.2.Nettoyage des électrodes d'acétone avec Fisherbrand FB15047.....	57
Figure 3.3.Dilution de nitrate de cadmium. ....	58

<b>Figure 3.4.</b> Incubation de l'électrode de carbone vitreux modifié par le PANI dans la solution de Mercuric chloride( $\text{HgCl}_2$ ). .....	58
<b>Figure 3.5.</b> Voltamogrammes cycliques (15 cycles) de l'électrodéposition du film de polyaniline (PANI) sur l'électrode de carbone vitreux dans une solution de 0,1M aniline et 0,5M $\text{H}_2\text{SO}_4$ à un potentiel de -0,2V à +1,2V et à de scan une vitesse 50mV/s.....	59
<b>Figure 3.6.</b> Reflet vert formé du film PANI à la surface de l'électrode de carbone vitreux. ....	60
<b>Figure 3.7.</b> Voltamogramme cyclique des électrodes : CV nue, CV-PANI dans la solution de ferrocyanure ferrique de Potassium à un potentiel de -0,8V à +0,8V, à une vitesse 80mV/s. ....	60
<b>Figure 3.8.</b> Voltamogramme cyclique des électrodes de détection de $\text{Cd}^{+2}$ par l'électrode de carbone vitreux modifie PANi/GA/ $\text{HgCl}_2$ à un potentiel de -1V à +1 V et à de scan une vitesse 80mV/s. ....	61
<b>Figure 3.9.</b> Nettoyage des électrodes d'acétone avec Fisherbrand FB 15047.....	62
<b>Figure 3.10.</b> Dilution de nitrate de cadmium. ....	63
<b>Figure 3.11.</b> Dilution de nitrate de zinc.....	63
<b>Figure 3.12.</b> Dépôt de nanotubes de carbone et de chitosane sur la surface de l'électrode polyaniline/ nue. ..	64
<b>Figure 3.13</b> Benz crown et acétate de buffer sur la surface de l'électrode nanotube de carbone et de chitosane.....	64
<b>Figure 3.14.</b> Benzo-18-crown-6.....	65
<b>Figure 3.15.</b> Voltamogrammes cycliques (15 cycles) de l'électrodéposition du film de polyaniline (PANI) sur l'électrode de carbone vitreux dans une solution de 0,1M aniline et 0,5M $\text{H}_2\text{SO}_4$ à un potentiel de -0,2V à +1,2V et à de scan une vitesse 50mV/s.....	65
<b>Figure 3.16.</b> Reflet vert formé du film PANI à la surface de l'électrode de carbone vitreux. ....	66
<b>Figure 3.17.</b> Voltamogramme cyclique des électrodes (a) CV nue, (b) CV-PANI ,CV nanotube de carbone, CV Benz crowns, dans la solution de ferrocyanure ferrique de Potassium à un potentiel de -1V à +1V, à une vitesse 80mV/s.....	66
<b>Figure 3.18.</b> Voltamogrammes cycliques de détection de $\text{Cd}^{+2}$ par l'électrode de carbone vitreux modifie PANi/MWCNT/chitosane/Benz à un potentiel de -0,8V à +0,8 V et à de scan une vitesse 80mV/s.....	67
<b>Figure 3.19.</b> Voltamogrammes cycliques de détection de $\text{Zn}^{+2}$ par l'électrode de carbone vitreux modifie PANi/MWCNT/chitosane/Benz à un potentiel de -1.5V à +1 V et à de scan une vitesse 80mV/s. ....	68
<b>Figure 3.20.</b> Courbe de calibrage de la voltammétrie cyclique. ....	68
<b>Figure 3.21.</b> Linéarisation de l'intensité en fonction de $\log[\text{C}]$ .....	69
<b>Figure 3.22.</b> Linéarisation de détection de cadmium et zinc de l'intensité en fonction $\log(\text{c})$ . ....	71

---

---

## Liste des tableaux

---

---

<b>Tableau 1.1.</b> Enthalpies de certaines réactions catalysées par une enzyme.....	8
<b>Tableau 1.2.</b> Exemples d'applications des biocapteurs optiques. ....	11
<b>Tableau 1.3.</b> Exemples des biocapteurs ampérométriques enzymatiques.....	17
<b>Tableau 1.4.</b> Exemples des biocapteurs pontentiométriques appliquées dans le contrôle environnemental.....	19
<b>Tableau 1.5.</b> Les effets utilisés pour réaliser la mesure.....	22
<b>Tableau 1.6.</b> L'effet utilisé sur la mesurande pour réaliser la grandeur de sortie.....	22
<b>tableau1.7.</b> Les différents objets et différentes familles de produits considérés comme nano-objet. ....	39
<b>Tableau 3.1.</b> Appareillage et montage utiliser.....	54
<b>Tableau 3.2.</b> Tableau montrant la concentration de zinc et La valeur maximale de L'intensité du courant.....	69
<b>Tableau 3.3.</b> Tableau montrant la concentration de zinc et cadmium et la valeur maximale de l'intensité du courant. ....	70

## Listes des Acronymes et Symboles

### Acronymes

<b>IgA</b>	Immunoglobuline de type A
<b>IgD</b>	Immunoglobuline de type D
<b>IgE</b>	Immunoglobuline de type E
<b>IgG</b>	Immunoglobuline de type G
<b>CV</b>	Voltamétrie cyclique
<b>ENH</b>	Électrode Normale à Hydrogène
<b>ECS</b>	Électrode de référence au calomel
<b>KCl</b>	chlorure de Potassium (KCl)
<b>PANi</b>	Poly aniline
<b>PCR</b>	Polymérase Chain réaction (Réaction de polymérisation en chaine)
<b>LOD</b>	Limite de détection
<b>redox</b>	Oxydoréduction
<b>GA</b>	Glutaraldéhyde
<b>CDR</b>	Complémenter-Determining Régions e
<b>COOH</b>	Fonction carboxyle
<b>Cl</b>	Chlore
<b>CH</b>	Domaine constant
<b>E-S</b>	Enzyme-Substrat
<b>F c</b>	Fragment cristallisable
<b>GOD</b>	glucose oxydase
<b>Hz</b>	Hertz
<b>H<sub>2</sub>O</b>	Eau
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	Eau oxygénée
<b>pH</b>	potentiel hydrogène
<b>NH<sub>2</sub></b>	Fonction amine
<b>UV</b>	Ultraviolet

### Symboles

<b>KJ</b>	<b>Kilo Joule</b>
<b>KV</b>	<b>Kilo volte</b>
<b>S</b>	<b>Substrat</b>
<b>V</b>	<b>Volt</b>
<b>μL</b>	<b>Microlitre</b>
<b>M</b>	<b>micro mole</b>

---

# INTRODUCTION GENERALE

---

Les biocapteurs sont des dispositifs d'analyse qui répondent à ces exigences pour la détection et le dosage d'espèces chimiques ou biochimiques, et ils peuvent par conséquent être envisagés en remplacement de certains instruments généralement utilisés.

Cependant, malgré les efforts intenses faits en matière de recherche, très peu de réalisations commerciales ont vu le jour, en raison de leur principal inconvénient qui réside dans la dénaturation et l'instabilité de la molécule biologique. Pour remédier à ces problèmes, les recherches actuelles sont orientées vers la création et l'amélioration des stratégies d'immobilisation déposées sur l'élément biologique. Parmi les différentes stratégies d'immobilisation employées, l'une des plus prometteuses est celle qui consiste à utiliser des polymères. En effet, ceux-ci permettent de préserver l'accessibilité des macromolécules biologiques greffées sur la surface du transducteur tout en alliant une grande précision et une bonne reproductibilité des dépôts dues à leur adressage électrochimique. En raison de leurs propriétés aisément modulables.

Ce travail a concerné l'élaboration et la caractérisation d'un Capteurs électrochimiques à base de polymère pour la détection du ions de zinc ; sont constituées de polymères permettant la reconnaissance de l'espèce à détecter. Les polymères les plus utilisés sont le polyaniline, et encore nous avons développé un nouveau capteur nanotube de carbone .La réponse de capteur a été analysée par la Voltamétrie cyclique.

Ce mémoire comprend trois chapitres :

Le premier chapitre présente des généralités sur les capteurs et biocapteur électrochimiques. Dans ce chapitre, nous présentons les principes de fonctionnement et les applications de quelques capteurs (chimique, électrochimique, biocapteur).Nous fournissons également des informations sur les nanostructures de carbone.

Le deuxième chapitre contient un méthode électrochimique, la Voltamétrie cyclique est une mesure électrochimique basée sur une variation contrôlée du potentiel électrique appliqué à l'échantillon. Pour obtenir un diagramme voltampérométrie cyclique, le potentiel appliqué doit être varié suivant un cycle fermé, et on mesure le cycle (éventuellement incomplet) que suit la variation du courant électrique par rapport à celle du potentiel.

Dans le dernier chapitre, nous présentons une étude expérimentale de élaboration d'un nouveau biocapteur à base de nanotubes de carbone pour le détection des ions du zinc dans une solution aqueuse de détecté des ions du zinc en utilisent la méthode d'analyse : Voltamétrie cyclique avec

modilisation pour obtenir les caractéristique suivant :linéarité, limite de détection, sélectivité.

Finalement, nous donnant une conclusion générale avec des perspectives.

# Chapitre 01

## CAPTEURS ET BIOCAPTEURS ELECTROCHIMIQUES

---

### 1.1. Capteurs

#### 1.1.1. Définition

Un capteur est un dispositif qui transforme l'état d'une grandeur physique observée en une grandeur utilisable, exemple : une tension électrique, une hauteur de mercure, une intensité, la déviation d'une aiguille...On fait souvent (à tort) la confusion entre capteur et transducteur : le capteur est au minimum constitué d'un transducteur.

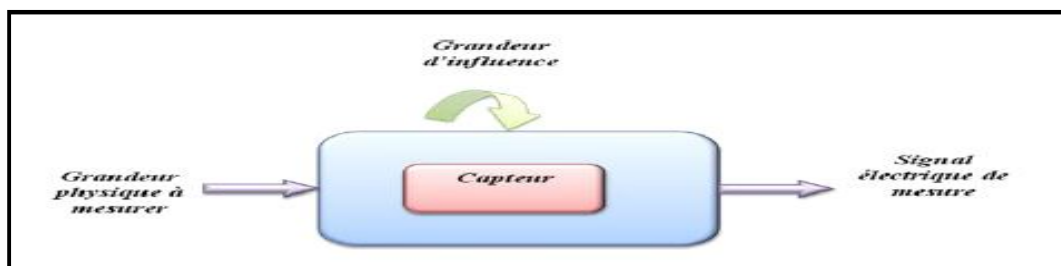


Figure 1.1.Principe d'un capteur

Les capteurs sont les éléments de base des systèmes d'acquisition de données. Leur mise en œuvre est du domaine de l'instrumentation [1].

Généralement, on obtient une grandeur de sortie du type électrique.

Elle peut être soit : une charge, une tension, un courant et une impédance.

#### 1.1.2. Chaîne de mesure

Pour obtenir une image d'une grandeur physique, on fait appel à une chaîne de mesure qui peut faire intervenir plusieurs phénomènes différents.

Par exemple, la mesure d'un débit peut se faire en plusieurs étapes :

- Transformation du débit en une pression différentielle.
- Transformation de la pression différentielle en la déformation mécanique d'une membrane.

- Transformation de la déformation mécanique en une grandeur électrique (à l'aide d'un piézoélectrique) via un circuit électronique associé.

L'ensemble de ces étapes constitue la chaîne de mesure :

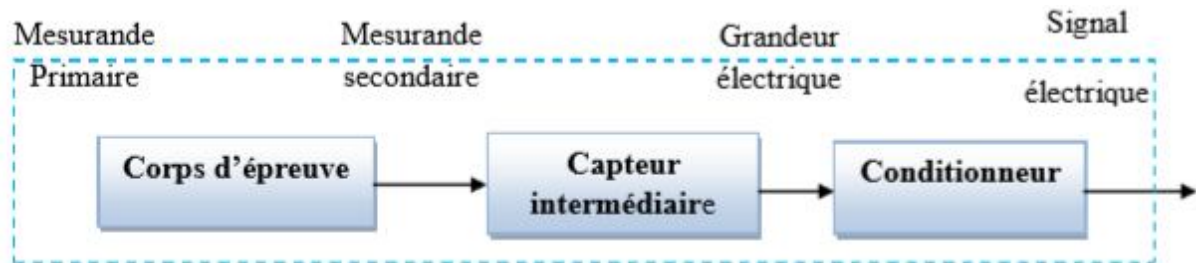


Figure 1.2. Constitution d'une chaîne de mesure classique.

De manière classique la sortie d'une chaîne de mesure est du type électrique. Si la chaîne de mesure fait intervenir plusieurs transducteurs.

On appelle corps d'épreuve celui qui est en contact direct avec la mesure, le dernier transducteur est associé à un conditionneur qui fournit la grandeur électrique de sortie de manière exploitable.

Le choix de conditionneur est une étape importante dans le cadre de la chaîne de mesure car, associé au capteur, il détermine la nature finale du signal électrique et va influencer sur les performances de la mesure.

### 1.1.3. Types de grandeur physique

On peut classer les grandeurs physiques en 6 familles, chaque capteur s'associant à l'une d'entre elles :

- Mécanique : déplacement, force, masse, débit...
- Thermique : température, capacité thermique, flux thermique...
- Électrique : courant, tension, charge, impédance, diélectrique...
- Magnétique : champs magnétique, perméabilité, moment magnétique...
- Radiatif : lumière visible, rayon X, micro-onde...
- (Bio) chimique : humidité, gaz, sucre, hormone...

### 1.1.4. Grandeurs d'influence

Parmi les grandeurs d'influence usuelles on peut répertorier [2]

- La température du milieu dans lequel évolue le capteur.
- Des grandeurs mécaniques auxquelles est associé le capteur (position, vitesse, accélération, etc.).
- Des grandeurs chimiques associées au milieu (pH, concentrations en certains ions...).

- Les champs électromagnétiques et les grandeurs électromagnétiques associées (champ E, B, etc.).
- Les rayonnements parasites de type nucléaire, X, gamma...-La pression de vapeur saturante, etc..

### 1.1.5. Constituants d'un capteur

Les différentes parties constitutives d'un capteur sont décrites.[3]

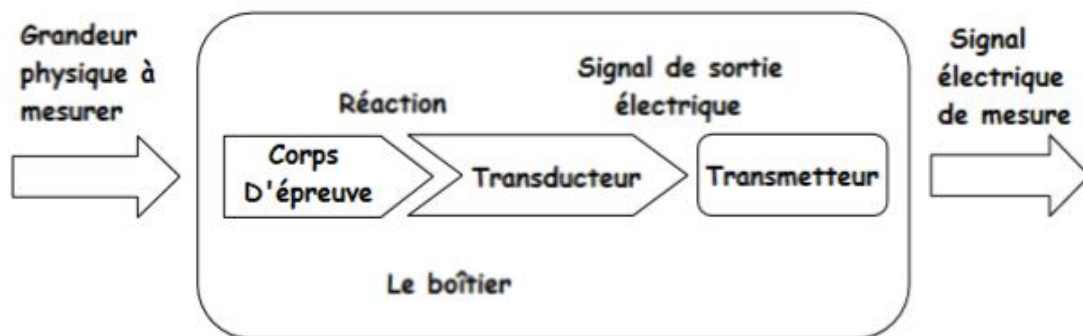


Figure 1.3. Constituants d'un capteur.

- **Corps d'épreuve**

Le corps d'épreuve est un élément qui réagit sélectivement avec la grandeur à mesurer. Il transforme la grandeur à mesurer en une autre grandeur physique mesurable.

- **Transducteur**

Le transducteur est un élément sensible lié au corps d'épreuve, il traduit les réactions du corps d'épreuve en une grandeur électrique constituant le signal de sortie.

- **Transmetteur**

Le transmetteur est un élément d'amplification, de filtrage et de mise à niveau du signal de sortie pour sa transmission à distance. Il peut être incorporé ou non au capteur.

- **Le boîtier**

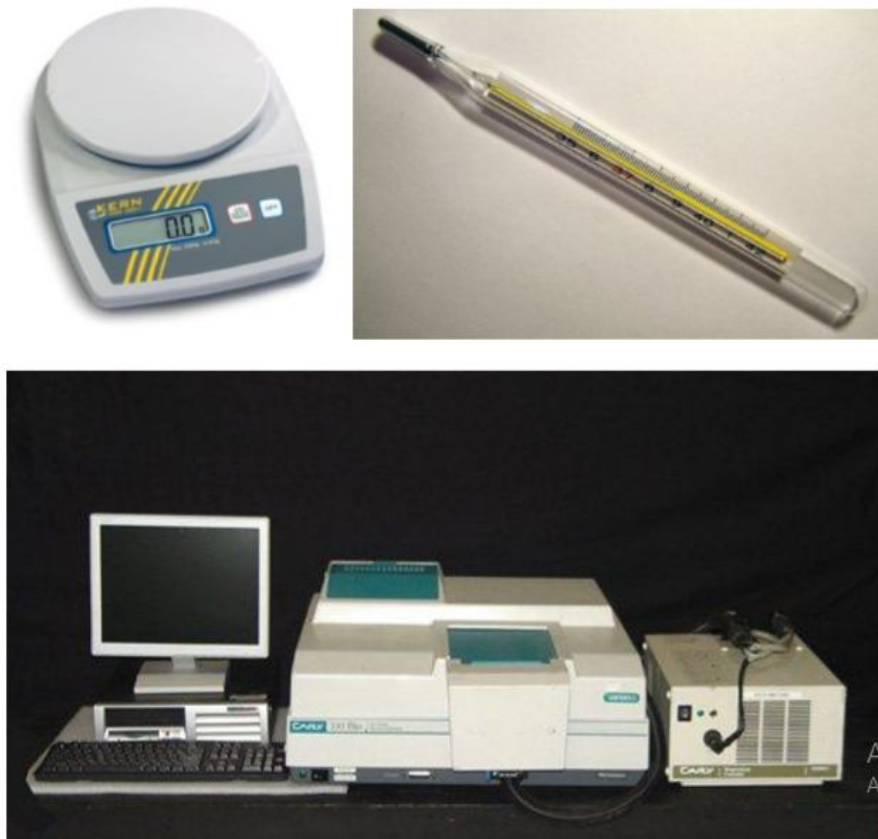
Le boîtier est un élément mécanique de protection, de maintien et de fixation du capteur.

### 1.1.6. Différents types du capteur

Il existe plusieurs classifications des capteurs. La plus répandue se réfère à la nature des mesurands ou à la transduction, de façon indépendante de l'utilisation. [4]

- **Capteurs physiques**

Ce sont des dispositifs sensibles à des phénomènes physiques, les mesurands étant notamment la température, la pression (totale), la masse, la vitesse, le déplacement, la position (niveau), le débit, la force (accélération), le rayonnement (visible, UV, RX, gamma, IR, microondes). [4]



**Figure.1.4.** Quelques exemples des capteurs physiques (balance, thermomètre et spectrophotomètre UV-Visible).

- **Capteurs chimiques**

On désigne ainsi les capteurs permettant de déterminer des mesurands chimiques, c'est-à-dire des pressions partielles pour les espèces en phase gazeuse, les concentrations (activités) pour les espèces en solution (ions ou molécules dissoutes). Ils ont généralement une double fonction : identification et quantification.



**Figure.1.5.** Quelques exemples des capteurs chimiques (conductimètre et pH-mètre) .

#### 1.1.7. Domaines d'application du capteur

Les principales applications concernent le contrôle des bioprocédés. Spécialement les capteurs chimiques, ils trouvent, ou trouveront, leur utilité dans les domaines suivants [4] :

- **L'environnement** (analyses d'effluents et de milieux naturels, liquides ou gazeux), pour mesurer la demande biologique en oxygène, la teneur en matières organiques et organophosphorées, le pouvoir oxydant, le pH des effluents, l'émanation d'hydrocarbures dans les gaz de combustion...
- Le secteur **automobile** avec le contrôle de la combustion, de l'habitacle, de la charge des batteries...
- **L'agroalimentaire** (procédés et qualité des produits) par l'analyse du glucose, du lactate, du saccharose dans la fabrication des confitures, de l'éthanol dans les boissons alcoolisées...
- **L'agriculture** (analyse des sols et des eaux d'irrigation).
- **Le biomédical** (diagnostic, surveillance par exemple lors des anesthésies) pour l'analyse du glucose, de l'urée, du cholestérol, des ions minéraux, du pH...
- **La domotique** pour la surveillance de fuites de gaz et émanations toxiques, la dureté de l'eau, le contrôle des cuissons, la qualité de l'habitacle, l'optimisation de la combustion au niveau des chaudières domestiques...

Le développement industriel est fonction du marché potentiel, car la valeur ajoutée sur un capteur reste toujours relativement faible, le développement est donc fonction de la potentialité d'une

production de masse et, sachant que dans ce cas le cout d'un capteur doit rester très bas, on comprend que les techniques de production s'orientent vers les micro technologies.

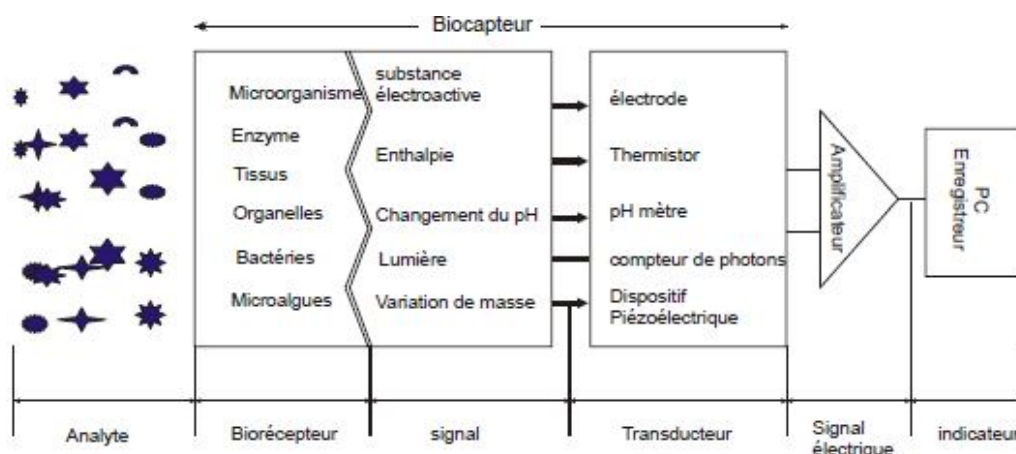
## 1.2. Biocapteurs

Depuis le premier biocapteur développé par Clark et Lyon au début des années 1960s [5], la recherche sur leur développement a connu ces dernières années un effort considérable en raison de leurs nombreuses applications potentielles, que ce soit dans le domaine médical, agro-alimentaire, ou du contrôle environnemental. dans ce dernier cas, les biocapteurs sont considérés comme une solution alternative particulièrement intéressante, aux techniques analytiques traditionnelles telles que la chromatographie ou la spectrométrie (la chromatographie en phase gazeuse, couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS), la chromatographie liquide haute performance (HPLC), couplée à la spectrométrie de masse (HPLC-MS), la spectrométrie d'absorption atomique (SAA) ou encore la technique Inductive Ly couple Plasma (ICP-MS). De plus, leur petite taille, leur facilité d'utilisation ou encore la possibilité qu'ils offrent de réaliser des mesures sur site en font des outils particulièrement intéressants.

Ce chapitre présente les différents composants d'un biocapteur et son principe de fonctionnement.

### 1.2.1. Définition

Un biocapteur est un dispositif analytique conçu pour transformer un phénomène biochimique en un signal mesurable. Il combine un composant biologique appelé "biorécepteur" et un "transducteur" représentant le mode de détection [6]



**Figure. 1.6.** Représentation schématique du principe de fonctionnement d'un biocapteur.

La figure.1.6. Présente le principe de fonctionnement d'un biocapteur 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.

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.

Les biocapteurs dits "biocapteurs d'affinité" sont fondés sur de simples interactions entre les analyse chimiques en solution et le bio récepteur.

L'analyte à détecter n'est pas détruit.

Les biocapteurs dits "biocapteurs métaboliques" reposent sur une réaction spécifique entre l'analyte en solution et le biorécepteur.

La molécule recherchée est alors dégradée. La diminution de la concentration d'un réactif ou la formation de produits est alors détectée [7].

### 1.2.2. Transducteurs

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 bio récepteur.

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 [6,7].

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

#### 1.2.2.1. Capteur thermique

Les capteurs thermométriques appelés aussi capteurs enthalpie métriques sont destinés à déterminer la concentration d'un substrat par la variation d'enthalpie associée à la réaction enzymatique [8].

Cette méthode fait essentiellement appel aux réactions exo ou endothermiques.

Le Changement de température,  $\Delta T$ , est déterminé par un microcalorimètre et est relié aux variations d'enthalpie,  $\Delta H$ , et la capacité de chaleur du réacteur,  $C_p$  par la relation suivante:

$$\Delta T = \frac{n\Delta H}{C_p} \quad (1.1)$$

Avec  $n$  étant le nombre de moles de substrat ayant réagit.

Pour ce type de biocapteur, il n'est pas nécessaire de mesurer le produit de la réaction, seule la chaleur dégagée au cours de la réaction est utilisée dans la mesure.

Les enthalpies molaires de certaines réactions enzymatique ment catalysées sont présentées dans le **tableau 1.1**

**Tableau 1.1.** Enthalpies de certaines réactions catalysées par une enzyme.

Enzyme	No.E.C	Substrat	$-\Delta H(\text{KJ/mol})$
Uréase	3.5.1.5	Urée	6,6
Trypsine	3.4.21.4	Benzol-L-arginine amide	27,8
Uricasé	1.7.3.3	Acide urique	49,1
B-lactames	3.5.2.6	Pénicilline G	67,0
Lacta-déshydrogénase	1.1.1.27	Pyruvate	62,1
Haxo kinase	2.7.1 ;1	Glucose	27,6
Glucose oxydase	1.1.3.4	Glucose	80,0
Cholestérol oxydase	1.1.3.6	Cholestérol	52,9
Catalase	1.11.1.6	$\text{H}_2\text{O}_2$	100,4

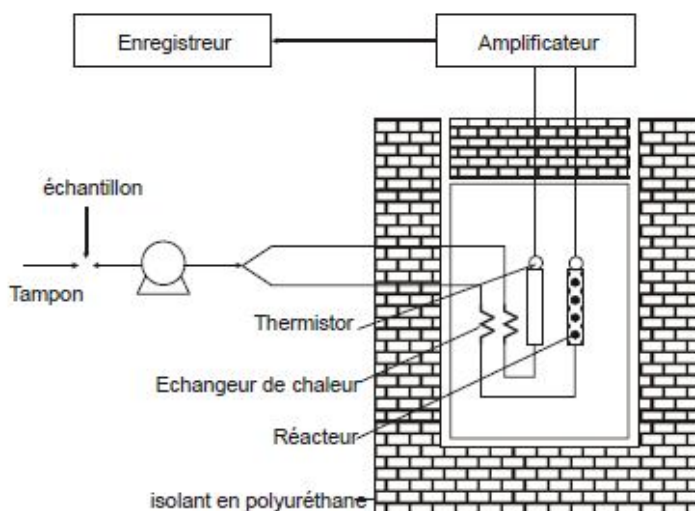
Dans des premières études sur les biocapteurs thermiques [9,10,11], l'enzyme(Récepteur) était fixée directement sur un thermistor, puis ce capteur était plongé dans un échantillon. Les difficultés rencontrées au cours des mesures sont des bruits de fond provenant des variations thermiques du milieu.

Pour résoudre ce problème, Daniels son et ses collègues [12] ont développé un système de mesure dans lequel se trouvent deux capteurs, sur un des deux capteurs est immobilisée une enzyme et on suit le changement thermique créé par la réaction enzymatique par rapport à un autre capteur de référence qui ne porte pas d'enzyme. dans ce cas, l'enzyme est immobilisée à l'intérieur d'un réacteur, qui se présente en générale sous la forme d'une colonne enzymatique [13], le thermistor est placé en dehors de cette colonne, **figure. 1.6**

Les échantillons sont injectés dans les réacteurs par l'intermédiaire de micro pompes situées à l'extérieur.

Les perturbations thermiques dues à la convection sont limitées par une enveloppe en polyuréthane.

Jusqu'à maintenant, cette structure est encore étudiée et en voie de développement.



**Figure. 1.7.** Schéma d'un biocapteur thermique.

La plupart des biocapteurs thermiques trouvent leurs applications dans les domaines pharmaceutique et clinique pour la détection de la pénicilline [14,15,16], du glucose [15,17,18]; l'application de ce type de capteur dans le domaine environnemental pour la détermination des métaux lourds et des pesticides est moins courante.

Par exemple les travaux de Mattias son, Preininger et Danielsson ont décrit la détection des ions de métaux lourds  $Hg^{+2}$ ,  $Cu^{+2}$  et  $Ag^{+}$  [19, 20] en utilisant l'urées comme biorécepteur. De même, matisson et Danielsson ont détecté la présence de pesticides en utilisant l'acétylcholinestérase immobilisée dans la colonne. La concentration en pesticides est calculée par le changement de chaleur causé par l'inhibition de l'acétylcholinestérase par le pesticide [19].

Ces biocapteurs sont adaptés aux mesures en continu, et en outre ils ne sont pas sensibles à la lumière.

Cependant, à cause de la difficulté à les mettre en œuvre, ces appareils sont très chers, ils ne sont pas couramment utilisés.

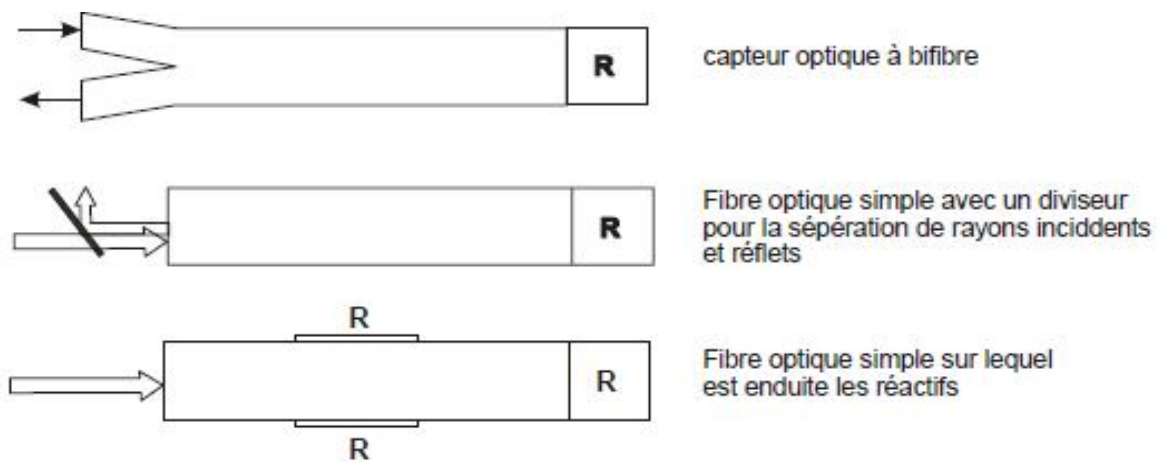
### 1.2.2.2. Capteur optoélectronique

La reconnaissance biologique à la surface du transducteur se traduit par des changements des propriétés optiques de celui-ci.

Ces appareils sont constitués d'une ou plusieurs fibres optiques pour le rayon incident et pour le faisceau lumineux qui sera mesuré, **figure 1.7.**

Le principe de fonctionnement des capteurs à fibre optique sont décrits dans certains ouvrages.

[21,22]



**Figure. 1.8.**Schéma des capteurs optiques.

Les capteurs à fibre optique se divisent en deux catégories:

- *les capteurs intrinsèques* qui mettent en jeu les caractéristiques propres de la fibre.

Ce sont, par exemples, des capteurs interférométriques qui exploitent les changements de phase de la lumière transmise. ces capteurs peuvent détecter les variations de pression, de température ou de champ magnétique.

- *les capteurs extrinsèques* qui utilisent un élément sensible externe à la fibre: par Exemple, un réactif immobilisé dont l'interaction avec le composé à doser change ses propriétés optiques (l'absorption, la fluorescence et la chimu/bioluminescence).

Dans ce cas, la fibre sert au transport de la lumière vers l'élément sensible et son retour vers l'appareil de mesure.

Ce sont en général les capteurs extrinsèques qui servent de base à la réalisation de biocapteurs. La plus importante application de ce type de biocapteur à fibre optique est la détection des ADN s par des interactions entre des protéines [23-24].

Les biocapteurs à fibre optique sont également utilisés pour la détection des polluants en phase aqueuse.

Les exemples des travaux sur ces capteurs sont donnés dans le tableau :

**Tableau 1.2.** Exemples d'applications des biocapteurs optiques.

Dispositif	Changement de signal	élément immobilisé	Molécule à doser [limite de détection- ppm]	Réf.
Montage Spécifique	Adsorption de lumière	<i>AcChE</i>	Captan, paraoxon [--]	25
LED light emitting diode	Fluorescence	Uréase	Cu <sup>++</sup> , Cd <sup>++</sup> , Pb <sup>++</sup> , Zn <sup>++</sup> , Ni <sup>++</sup>	26
Fibre Optique	Luminescence	Anti-Atrazine modifié	Atrazine [0,1]	27
RIFS Reflectometric Interférence Spectroscopie	Interférence	Atrazine-acide caproïque	Atrazine [0,2]	28
Guide d'onde M-Z Mach-Zhender	Changement de phase	Atrazine albumine	Atrazine [0,1]	29
Montage spécifique	Fluorescence	Anti-2,4-D modifié	2,4-D [-]	30
'Resonant Mirror'	Changement de phase	Atrazine Albumine	Atrazine [-]	31
TIRF Total Internal Réflexion Fluorescence'	Fluorescence	DN1 Dichlo aniline-acide glutarique  ZABA Atrazine-4-acide Amin be896pânzoïque IP5 4 –isopropyl aniline.	2,4-D [0,7]  Simazine [0,3]  Isoproturon [0,1]	32

Les biocapteurs à fibre optique offrent de nombreux avantages; ils ne sont pas influencés par le champ électrique, ils sont utilisables pour les mesures en continu, et ils maintiennent les propriétés chimiques des échantillons pendant la mesure, ils ne demandent ni signal de référence ni armature électrique. De plus, leur sensibilité est facilement adaptable à la gamme de mesure désirée. Mais ils sont perturbés par lumière naturelle, ils sont alors normalement mis en œuvre à l'obscurité. Ce type de biocapteur permet de détecter de nombreux pesticides (cf. tableau 1.2) en utilisant des enzymes différentes. Toute fois, la gamme de détection de ces pesticides n'est pas encore très intéressante de l'ordre de la dizaine de ppm à la centaine de ppm. Il est nécessaire donc de les développer davantage pour une bonne application dans l'environnement.

### 1.2.2.3. Capteur à effet piézoélectrique

Les transducteurs piézoélectriques mesurent des variations de masse à leur surface. le principe de ces transducteurs repose sur les propriétés piézoélectriques des matériaux utilisés. L'effet piéze direct correspond au phénomène qui a lieu lorsqu'un solide cristallin est soumis à une contrainte mécanique appliquée sur ses faces:

La déformation du cristal s'accompagne d'une polarisation électrique dont l'amplitude est proportionnelle à la contrainte appliquée.

La piézoélectricité traduit donc l'interdépendance des propriétés électriques et mécaniques de certains matériaux. a l'inverse, si une différence de potentiel est appliquée entre les faces d'un matériau piéze, cela fait apparaître des contraintes au sein du matériau qui induit sa déformation: c'est l'effet piéze inverse, à la base du fonctionnement des transducteurs piéze.

L'application d'un champ électrique alternatif au sein d'un cristal de quartz provoque sa déformation, le cristal se met à vibrer et une onde acoustique est générée au sein du matériau. Quand le quartz est inséré dans un circuit électronique approprié, la vibration peut être entretenue. Des variations de masse à la surface du cristal vont modifier la fréquence de vibration selon l'équation Sauebrey [33,34] et ces vibrations de fréquence ( $\Delta f$ ) seront enregistrées.

$$\Delta f = -2.3 * 10^{-6} * F^2 \frac{\Delta m}{A} \quad (1.2)$$

Où :

**f** est la fréquence de résonance (en Hz).

**F** la fréquence fondamentale du cristal(en Hz).

**$\Delta m$** variation de masse (en g).

**A** la surface de l'électrode (en cm<sup>2</sup>).

En général, le capteur à effet piézoélectrique comprend un cristal en quartz (généralement un disque de 10 à 16 mm de diamètre avec une épaisseur d'environ 0,15 mm), résonant à des fréquences différentes; 5, 9, 10 ou 15 MHz (QCR). On dépose, de part et d'autre de ce cristal, une couche mince métallique (argent, or ou aluminium) suivie d'une couche contenant le biorécepteur, comme par exemple un brin d'ADN [35].

P. Skádal utilisé un capteur de ce type pour la détection du virus de l'hépatite type C. Son capteur utilise une électrode résonante à 10 MHz. Le biorécepteur utilisé ici est un brin d'ADN [36]. En utilisant des électrodes similaires, d'autres auteurs se sont intéressés à détecter d'autres types de virus [37,38].

Ce type de capteur a également été utilisé pour la détermination des anti-gènes ou des anticorps. Ils fonctionnent à la suite de l'interaction entre l'analyte de cibles et les biorécepteurs [39,40].

Dans les études de contrôle environnemental, les biocapteurs enzymatiques à effet piézoélectrique servent à détecter indirectement des pesticides ou des métaux lourds dans les eaux par inhibition de l'activité enzymatique en présence de ces polluants [41,42].

Par exemple le système utilisé dans le travail d'alexander makower et ses collègues permet de détecter 2 ppm de DiisopropulFluoro Phosphate (DFP) [43].

#### 1.2.2.4. Capteurs électrochimiques

Nous allons classer les capteurs électrochimiques selon leur mode de transduction: potentiométrique, conductimétrique ou ampérométrique comme dans la figure 1.9.

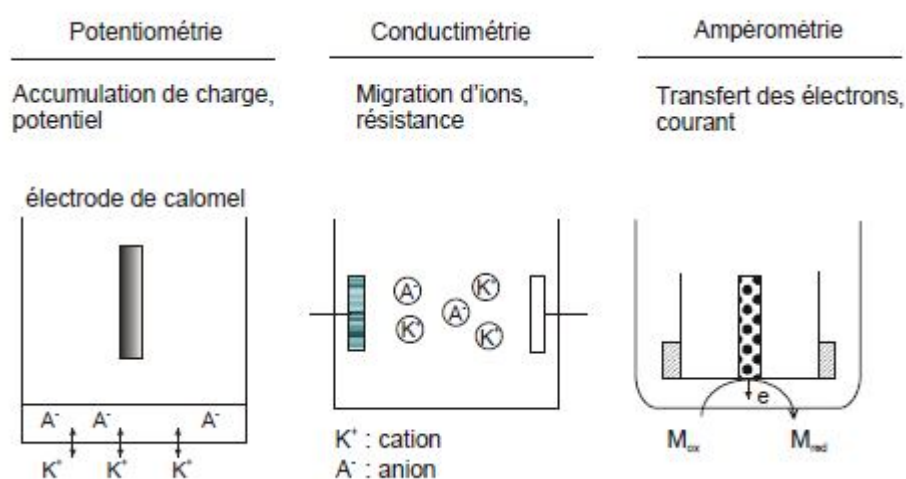


Figure. 1.9. Détection électrochimique.

Les capteurs potentiométriques et ampérométriques sont les plus répandus mais il y a peu de travaux portant sur les capteurs conductimétriques. Toutefois, depuis les années 1980s, les capteurs conductimétriques commencent à être à leur tour de plus en plus utilisés compte tenu de leur facilité d'élaboration.

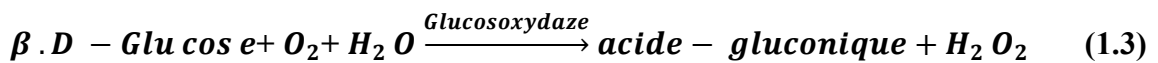
*a. Capteurs ampérométriques*

L'ampèremètre est une technique qui repose sur la détermination de l'intensité de courant qui traverse une cellule électrochimique à un potentiel imposé. Elle est fonction de la concentration des corps électro actifs qui seront oxydés ou réduits à une électrode indicatrice, la seconde étant en général une électrode de référence. Il est donc possible, après étalonnage, de déterminer la concentration de certains corps présents, par la mesure de l'intensité.

Il existe trois générations de biocapteurs ampérométriques.

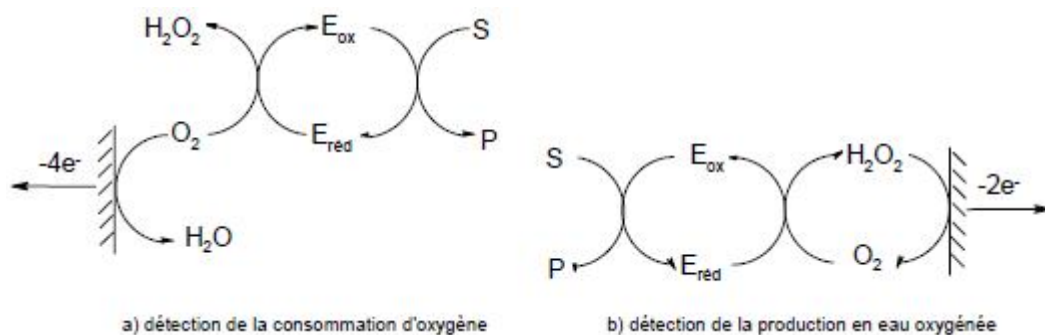
Dans la première génération de biocapteurs ampérométriques développé par L.

Clark, l'analyte enzymatique ment généré est directement oxydé ou réduit au niveau de l'électrode. Par exemple dans le cas où le biorécepteur est la glucose oxydase (GOD), la réaction *red ox* du glucose est donnée par l'équation (1.3) :



D'après cette réaction on voit que, le capteur peut mesurer soit la consommation d'oxygène, **figure.1.10.a.** Soit la production d'eau oxygénée, **figure .1.10.b.**[5,44].

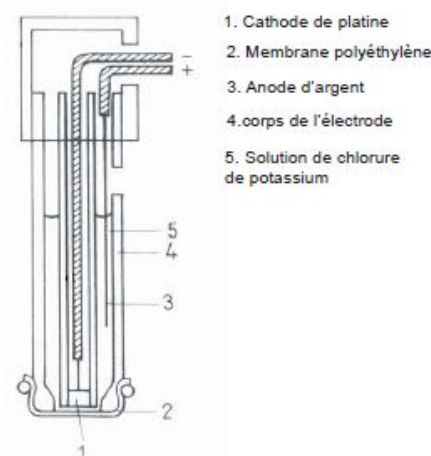
De tels systèmes sont encore exploités et développés bien que certains problèmes persistent, **figure 1.10.**



**Figure. 1.10.**Capteurs ampérométriques de première génération.

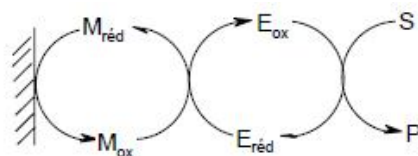
En effet, la réponse du biocapteur vis-à-vis du glucose est tributaire de la pression partielle en oxygène et de ses fluctuations. Quant à la mesure en eau oxygénée, de nombreuses substances électroactive comme l'acide ascorbique, l'acide urique, le glutathion ou les catécholamines sont aussi Co-oxydées au potentiel anodique à  $+0,65\text{ V}$  par rapport à l'électrode au calomel saturé (ECS), potentiel de l'oxydation de  $H_2 O_2$ .

Cela interfère avec la réponse du biocapteur et se traduit par une mesure non sélective.



**Figure. 1.11.** Schéma d'un biocapteur de type de Clark. (adapté de [45])

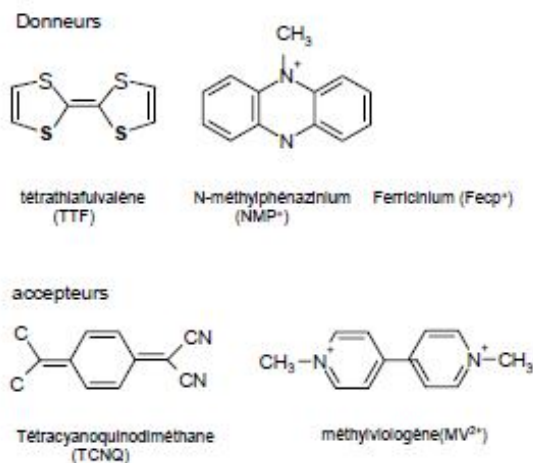
La deuxième génération de biocapteurs ampérométriques, figure.1.11, a été développée pour réduire les phénomènes d'interférences en abaissant le potentiel de détection des espèces électroactives.



**Figure. 1.12.** Biocapteur ampérométrique de deuxième génération M est le médiateur sous forme oxydée (ox) ou réduite (réd).

Pour ce faire on utilise des médiateurs *redox* artificiels [46, 47] comme le ferrocène, les quinones, le ferricyanure, le phénicien-méthosulfate, le tétrathiafulvalène (TTF), et le tétracyanoquinodiméthane (TCNQ), figure (1.12).

Ces médiateurs peuvent être simplement absorbés à la surface de l'électrode, emprisonnés dans les mailles du polymère [48,49], du sol-gel [50,51] ou greffés sur celui-ci.



**Figure. 1.13.** Médiateur sous forme réduite (donneur) ou oxydée (accepteur).

Enfin, une troisième génération de biocapteur est à l'étude, **figure 1.13**.

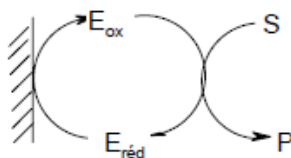
Dans cette génération, l'enzyme est directement connectée à l'électrode afin de simplifier le transfert d'électrons. Ce système permet de système permet alors s'affranchir des problèmes d'interférences rencontrés lors de dosage dans des milieux complexe [52,53].

Très récemment L.A. Dang a présenté un nouveau copolymère conducteur multifonctionnel (juglone-co-juglone thioacétique ou poly (JUG-co-JUGA)) permettant à la fois le greffage covalent des enzymes (Pyruvate Oxydase (PyOD)) et le transfert d'électrons entre les sites actifs de l'enzyme et l'électrode.

Le biocapteur à pyruvate à base de ce copolymère JUG-co-JUGA peut fonctionner à 0,1 V/ECS, un potentiel faible pour que la réponse du biocapteur soit indépendante des interférences en solution conduisant à une bonne sélectivité du biocapteur [54].

Dans le même groupe que L.A. Dang, J. Haccoun a utilisé le même copolymère pour développer le biocapteur ampérométrique à base de la Lactase Oxydase (LOD) pour la détermination du substrat L-Lactate. Le biocapteur à base de ce copolymère conducteur travaillant à très faible potentiel d'oxydation -0,1 V/ECS (le plus bas que tous les médiateurs immobilisés utilisés jusqu'à présent) permet une gamme de détection relativement large de concentration en substrat (0,05 – 0,8mM) avec une sensibilité très remarquable ( $S=110 \pm 20 \mu A/mM/cm^2$ ).

De plus, il est peu sensible à la présence d'oxygène en solution [55].



**Figure. 1.14.** Transfert d'électron du biocapteur enzymatique de troisième génération.

L'ampèremètre est le mode le plus utilisé pour les biocapteurs enzymatiques. la majorité des dispositifs commercialisés [56,57] sont des électrodes ampérométriques.

De nombreux brevets ont été déposés sur ce type de biocapteurs et les applications sont très variables [58,59]. des exemples de biocapteurs ampérométriques à base d'enzymes servant à la détection des polluants dans l'eau sont présentés dans le tableau 1.3

**Tableau 1.3.**Exemples des biocapteurs ampérométriques enzymatiques pour la détection des polluants.

Transducteur	Enzyme Inhibée	Produits détectés [limites de détection]	Réf.
SPE (Screen-Printed Electrode)	<i>AcChE</i>	Organophosphorés [para oxo n 0,1 n M]	60
	<i>BuChE</i> Butyrylcholine Estérase	Carbamates [carbofuran: 0,01 n M]	61
Microélectrode de verre/ SCE/Electrode de Platine (Pt)	Tyrosinase	CP [3,4-dichlorophénol: 0,4 $\mu$ M], carbamates [chloroisopropylphenylcarbamate] : 2 M, 3-chloré aniline: 2 M	62
Microélectrode de verre/SCE/Pt	Tyrosinase	Organophosphorés [diazinon: 5 M; dichlovos: 75 nM]	63
SPE (Screen-Printed Electrode)	Tyrosinase	Diethyl dithiocarbamate [2 M]; 4,6-dinitré cresol [9 M], aside benzoïque [5 M], 2,4 D [5 M]	64
SPE Standard Calomel Electrode	Tyrosinase	Atrazine [5 $\mu$ M]	65
Micro -électrode de verre/SCE/Pt	Peroxydase	Thio-urée [-], éthylène thio-urée [-]	66
Electrode d'oxygène de type de Clark	PPD Phosphatase acide	Organophosphorés [Maltions: 5nM; parathionméthyl: 2nM; paraoxo: 5nM]	67
Paire de Platine	ADDE Aldéhyde déshydrogénase	Dithio carbamate [maneb: 5nM]	68

*Abréviation dans le tableau 1.3:* SCE: Standard Calomel Electrode, *AcChE*:cholinestérase, *BuChE*: ButyrylCholine Estérase, PPD: Phosphatase acide, ADDE:Aldéhyde déshydrogénase, CP: chloré phénol.

### *b. Détection pontentiométriques*

La potentiomètre est une méthode électrochimique basée sur la mesure de la différence de potentiel entre une électrode de mesure et une électrode de référence. la détermination des potentiels des électrodes permet de mesurer directement la concentration de l'analyte à doser.

Dans ce type de système, un équilibre local est établi à la surface du capteur et conduit à la génération d'un potentiel proportionnel au logarithme de la concentration (activité) de l'échantillon selon la loi de Nernst (équation 1.4):

$$E_P = E_{Ox>Red}^{\circ} + \frac{RT}{nF} * \ln \frac{a_{ox}}{a_{Red}} \quad (1.4)$$

Où :

$E_P$  représente le potentiel du couple redox.

$E_{Ox/Red}^{\circ}$  le potentiel normal standard du couple redox.

R la constante des gaz parfaits ( $8.314 \text{ K}\cdot\text{mol}^{-1}$ ).

$a_{ox} / a_{Red}$  le rapport de l'activité de l'espèce déterminant le potentiel à l'état oxydé et à l'état réduit

T la température absolue en Kelvin.

Deux méthodologies sont utilisées.

*La première* se sert d'une électrode de travail(ISE – Ion Sélective Electrode) sur laquelle est fixé un biorécepteur et aussi d'une électrode de référence (une électrode au calomel par exemple).

Le potentiel de l'électrode de mesure varie lorsque l'analyste réagit avec le biorécepteur.

Les différents transducteurs sont l'électrode conventionnelle pour la mesure du pH [69-70], l'électrode à membrane sensible aux ions [71,72] et les électrodes sélectives aux gaz - $p\text{CO}_2$ ,  $p\text{NH}_3$  [73,74].

L'emploi de transistors à effet de champ (FET-Field-Effet Transistor) constitue *le deuxième* volet des capteurs pontentiométriques,[75,76].

Ces transistors sont sensibles aux charges sur la surface d'une électrode, appelée grille. en modifiant cette grille en une Ion Sélective Electrode(ISE) on obtient un ISFET (ion sensitive Field effet transistor) sensible aux ions. Ce principe a été extrapolé aux capteurs biologiques avec l'intégration d'enzyme; ils sont alors appelés ENFETs (Enzyme FET).

Il est admis que les avantages majeurs de la deuxième méthodologie par rapport à la première méthodologie sont des temps de réponse très courts (entre 5 à 10 minutes)contre 30 minutes environ

pour les électrodes ISEs. Ainsi, le temps d'analyse en utilisant les capteurs de type Field-Effet Transistor (FET) est plus intéressant que celui en utilisant les ISEs conventionnelles [77]. De plus, la fabrication en masse des capteurs de type FET permet une fabrication moins coûteuse. Par ailleurs, les ISFETs sont robustes, ont une faible impédance de sortie, sont miniaturisés etc....[78].

Par exemple, le biocapteur à base d'ISFET (ion sensitive Field effect transistor) en utilisant la butyrylcholine estérase décrit par Kai Wan permet de déterminer le trichlofon à très faible concentration (26 ppb) [79]. Quelques applications récentes des biocapteurs potentiométriques sont présentées dans le tableau 1.4.

**Tableau 1.4.** Exemples des biocapteurs potentiométriques appliqués dans le contrôle environnemental.

Transducteur	Enzyme inhibée	Produits détectés limites de détection	Réf.
Capteur pH à (FET) effet de champs (Field Effet) Electrode de pH modifiée	Organophosphoré hydrolase (OPH)	Organophosphorés	<b>80</b>
		Para oxon: 1 M, Dichlorvos: 1 $\mu$ M Para oxon: 1 $\mu$ M	<b>81</b>
LAPS Light Adressable Potentiomètre Sensor	Murine hybridome clone (P6A7)	Terbutyazine (TBA) 1,5 g/l	<b>82</b>
(LAPS) Light Adressable Potentiomètre Sensor	E. coli WP2	tryptophane: 0,12 Mm	<b>83</b>
Electrode de pH	Acétylcholinestérase (AChE)	Dianizon: 0,2 nM	<b>84</b>
Electrode de pH modifiée	butyrylcholinestérase, choline oxydase et peroxydase	trichlofon: 2.10 <sup>-4</sup> nM	<b>85</b>

En 1996, Andrey L.G. et ses collègues ont présenté un biocapteur dans lequel est immobilisé un mélange de trois enzymes (la peroxydase de raifort EC 1.11.1.7, la choline oxydase EC 1.1.3.17, la choline oxydase EC 3.1.1.8) dans de la pâte de carbone et du polyéthylèneimine sur l'électrode de travail sensible aux variations de pH. Une électrode de Ag /AgCl sert de référence. Dans la membrane de trois couches d'enzymes, une couche d'enzyme de BuChE en-dessus permettait d'empêcher la diffusion du substrat dans la membrane en solution et de libérer les produits de

réaction vers l'extérieur de la membrane. Grâce à cela, d'après les auteurs, la sélectivité et la sensibilité du biocapteur seraient améliorées. Le système permettait de déterminer 0,0002 nM de trichlo fon (soit 0,025 ppb). Le temps d'analyse est de 15 minutes et le biocapteur était très stable après 4 semaines au moins dans un tampon à 4°C [85]. Nous sommes très surpris de ces résultats remarquables. Toutefois, nous n'avons trouvé aucun résultat supplémentaire de cette équipe. En conclusion les biocapteurs de type FET semblent plus intéressants que les capteurs de type ISE.

### c. Mesures conductimétriques

La conductimétrie est une technique électrochimique alternative à l'ampèremètre et à la potentiomètre [86]. La conductimètre permet de mesurer les variations (consommation ou production) d'espèces chargées générées au cours des réactions enzymatiques.

La conductance d'un corps est donnée par l'équation (1.5)

$$G = \gamma \frac{A}{\lambda} \quad (1.5)$$

la constante  $\gamma$  (en S.cm<sup>-1</sup>) qui est la constante caractéristique d'un produit connu, est la conductance ou conductivité spécifique;  $A/\lambda$  (en cm) la constante géométrique de la cellule.

La mesure de la conductance d'un électrolyte s'effectue en immergeant dans la solution une cellule de mesure comprenant deux électrodes dont la surface A et la longueur  $\lambda$  sont données. L'étalonnage ou le contrôle de la cellule sont effectués en mesurant sa conductance  $G_e$  pour un électrolyte de conductivité  $\gamma_e$  connue :  $k = G_e/\gamma_e$ .

Lorsque l'on connaît la constante de conductivité de la cellule k, on peut déterminer la conductivité  $\gamma$  d'un électrolyte quelconque, en mesurant la conductance G de la cellule immergée dans cette électrolyte  $\gamma = G/K$ .

La mesure de conductance est considérée comme relativement non-sélective.

Cependant, des nombreux brevets récents montrent de nouvelles approches dans le développement des biocapteurs conductimétriques notamment dans le domaine biomédical pour la détermination du glucose dans le sang et l'urine.

Par exemple un biocapteur proposé par *Toshiba Corp.* dans lequel on a mis une membrane semi-conductrice de polyacétylène dopé de sels d'iode entre deux électrodes.

Dans ce biocapteur, un mélange de deux enzymes de glucose oxydase et de peroxydase ont été immobilisées sur cette membrane polymérique.

En présence du glucose, la réaction catalysée par les enzymes conduit à un changement de conductance de la membrane [87]. par ailleurs, la structure proposée dans le travail de Hu, K. W. J.

et Vogel ut utilise une matrice de polypyrrole tetrachlororuthenate étalée sur une électrode en or dans laquelle est immobilisée du glucose oxydase [88].

Le biocapteur de Kuroda et os axa utilisant l'enzyme crânien déminasse permet [89] la détermination de la créatinine, un des paramètres qui permet d'estimer le fonctionnement de rein.

A., Senillou et N., Jaffrezic 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, la Laporite. Le mélange est ensuite coréticulée avec le poly(pyrrolepyridinium) en présence de vapeurs de glutaraldéhyde. La membrane enzymatique est enfin déposée sur un capteur conductimétrique interdigité. 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 [90].

L'application des biocapteurs conductimétriques n'est pas limitée au domaine biomédical. P.C.J. Roach et al., ont réalisé un système comprenant une électrode en diméthyl silicone poreux (10x1 mm de diamètre-épaisseur chez *ImmobaSil<sup>TM</sup>*, Ashy Scientific, Coalville, Leics., UK) comme électrode de travail et deux électrodes de platine. On a immobilisée sur l'électrode de travail une membrane *Rhodococcus ruber NCMB40757*, préparée par un mélange d'acétonitrile, d'hydrochlorure de thiamine, de pantothénate de calcium, d'hydrochlorure de pyridoxine, de *d*-biotine et d'un tampon KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, dans laquelle se trouve l'enzyme *nitrilase*. Le système permet une large gamme de détection très linéaire de l'acrylonitrile: 106 - 2650 ppm [91].

Le système développé par Zhylyak G.A et S. Dzyadevych permet quant à lui de déterminer les métaux lourds avec une gamme de détection très intéressante (Hg<sup>2+</sup>: 1 M; Cu<sup>2+</sup>: 2 M; Cd<sup>2+</sup>: 5 M; Co<sup>2+</sup>: 10 μM, Pb<sup>2+</sup>: 20 M; Sr<sup>2+</sup>: 100 μM) en utilisant l'enzyme uréase [92].

On s'intéresse de plus en plus à développer ce type de capteur [93-94] pour la détection de polluants en milieu aqueux [95] car leur fabrication est beaucoup plus simple par rapport aux autres types de capteurs.

### 1.2.3. Classification des capteurs électrochimique

On classe les capteurs en deux grandes familles : en fonction de la caractéristique électrique de la grandeur de sortie. Cette classification influe sur le conditionneur qui lui est associé.

#### 1.2.3.1. Capteurs passifs

Le capteur se comporte en sortie comme un dipôle passif qui peut être résistif, capacitif ou inductif. Le tableau ci-dessous résume, en fonction de la mesurande, les effets utilisés pour réaliser la mesure.

**Tableau 1.5.** Les effets utilisés pour réaliser la mesure.

Mesurande	Effet utilisé	Matériaux
Température Très basse température	Résistivité Constant diélectrique	Platine, nickel, cuivre, semi-conducteur, verre
Flux optique	Résistivité	Semi-conducteurs
Déformation	Résistivité	Alliages nickel Alliages ferromagnétiques
Position	Résistivité	Magnétorésistances : Bismuth, antimoine d'indium
Humidité	Résistivité	Chlorure de Lithium

### 1.2.3.2. Capteurs actifs

Dans ce cas, la sortie du capteur est équivalente à un générateur. C'est un dipôle actif qui peut être du type courant, tension ou charge. les principes physiques mis en jeu sont présentés ci-dessous [96].

**Tableau 1.6.** L'effet utilisé sur la mesurande pour réaliser la grandeur de sortie.

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

### 1.2.4. Paramètres de performance d'un capteur électrochimique

Un capteur électrochimique doit répondre à certains nombre de critères que nous avons présentés comme suivant :

#### 1.2.4.1. Etalonnage

L'étalonnage : du capteur comprend l'ensemble des opérations qui permettent d'explicitier, sous forme graphique ou algébrique, la relation entre les valeurs du mesurande ( $m$ ) et celles de la grandeur électrique ( $s$ ) de sortie et ceci, compte tenu de tous les paramètres additionnels

susceptibles de modifier la réponse du capteur[97]

#### **1.2.4.2. Sensibilité**

Sensibilité ( $S$ ) : est une spécification déterminante dans le choix d'un capteur. Par définition,  $S$  est le rapport de la variation du signal de sortie ( $\Delta s$ ) et celle du mesurande ( $\Delta m$ ) (pente de la portion linéaire de la courbe d'étalonnage) et s'écrit

$$S = \Delta s / \Delta m \quad (1.6)$$

#### **1.2.4.3. Temps de réponse**

Temps de réponse : d'un capteur est défini comme étant le temps nécessaire pour générer un signal de sortie mesurable stable en présence de l'analyte. Il dépend de plusieurs paramètres tels que la température de fonctionnement du capteur et la cinétique de réponse à l'analyte. Le temps de réponse d'un capteur pourrait être de quelques secondes à quelques jours aussi. Un bon capteur est supposé avoir un temps de réponse minimum [98].

#### **1.2.4.4. Linéarité**

Un capteur électrochimique est dit linéaire dans une plage déterminée du mesurande si le signal électrique ( $s$ ) est proportionnel à la variation du mesurande ( $m$ ). pour un capteur non linéaire, il est nécessaire d'inclure dans sa chaîne de mesure des corrections afin que le signal soit proportionnel aux variations du mesurande.

L'équation de la droite est déterminée à partir des points expérimentaux de la variation du mesurande ( $m_i$ ) en fonction de l'intensité du signal ( $s_i$ ) mesuré à chaque point. Elle est dite meilleure droite lorsque la somme des carrés des écarts ( $\delta_i$ ), des divers points expérimentaux à cette droite est minimale. L'équation de la droite peut donc s'écrire comme suit :

$$s = am + b \quad (1.7)$$

Où les paramètres  $a$  et  $b$  ne dépendent pas du mesurande  $m$ .

#### **1.2.4.5. Limite de détection et de quantification**

Limite de détection ( $LOD$ ) : d'un capteur est la plus petite quantité de l'analyte qui produit un

signal détectable avec une fiabilité définie statistiquement différent de celui produit par un blanc dans les mêmes conditions.

La limite de détection (*LOD*) peut être estimée selon la formule suivante :

$$LOD = 3 \times \sigma_B / b \quad (1.8)$$

Où :  $\sigma_B$  est l'écart-type sur les  $n$  mesures de blanc, selon les recommandations de l'IUPAC elle est déterminée à partir de dix mesures.  $b$  est la pente de la droite de régression.

La limite de quantification (*LOQ*) est la limite inférieure réelle de la gamme linéaire lors de la réalisation de mesures quantitatives.

Elle est calculée comme un multiple arbitraire de la limite de détection (*LOD*). les chaux les plus fréquents sont ceux dans lesquels le multiplicateur de  $\sigma_B$  est choisi égal à 5, 6 ou 10. [99]

#### **1.2.4.6. Répétabilité, reproductibilité et stabilité**

La répétabilité : est définie comme la mesure de l'écart des résultats d'essai par rapport à la valeur moyenne. Il est souhaitable qu'un capteur ait une bonne répétabilité. Si un certain nombre de capteurs sont fabriqués avec le même principe pour la détection d'un analyte particulier, la similitude de leurs réponses en présence de l'analyte correspond à la reproductibilité. Différentes sondes de détection d'un même capteur doivent conduire à une reproductibilité raisonnablement bonne. [100]

La stabilité est utilisée pour caractériser la dérive du signal du capteur dans le temps. en effet, le vieillissement du capteur particulièrement sa couche sensible limite son utilisation à long terme. Différentes solutions sont proposées pour y remédier, notamment par un traitement préalable de la couche sensible.

#### **1.2.4.7. Sélectivité**

La sélectivité : est définie comme étant la capacité d'un capteur à répondre en présence d'autres espèces interférentes. elle est l'un des paramètres les plus importants car le capteur est souvent utilisé pour détecter l'analyte dans un milieu contenant d'autres espèces interférentes. Généralement, deux méthodes sont recommandées pour la détermination de la sélectivité d'un capteur. La première méthode consiste à ajouter dans le milieu de mesures les espèces interférentes à une concentration donnée et en présence de l'analyte.

La deuxième méthode consiste à étudier l'effet de chaque espèce interférente dans une gamme de concentration supérieure ou égale à celle de l'analyte.

### 1.2.4.8. Taux de recouvrement

Le taux de recouvrement : est un paramètre largement rapporté lors de la description des performances analytiques des capteurs électrochimiques. Le taux de recouvrement est la proportion de la quantité d'analyte présente ou ajoutée à la partie analytique de l'échantillon d'essai, qui est extraite et présentée pour la mesure.

Dans le cas le plus simple, le pourcentage de taux de recouvrement % R, est calculé comme suit :

$$\%R = (C_F - C_U) / C_A \times 100 \quad (1.9)$$

$C_F$  est la concentration d'analyte dans l'échantillon fortifié,

$C_U$  est la concentration d'analyte dans l'échantillon non fortifié et

$C_A$  est la concentration d'analyte (connue, non déterminée par la méthode) ajoutée dans l'échantillon non fortifié. [101]

## 1.2.5. Description du biocapteur

### 1.2.5.1. Biorécepteur

Le biorécepteur représente le premier maillon du biocapteur. Il assure l'identification de l'espèce d'intérêt grâce à son site sélectif. Il permet ainsi la biorecognition moléculaire, liée ou non à la transformation de l'analyte à mesurer. Dans un biocapteur, le biorécepteur offre une sensibilité et une spécificité importante particulière de l'espèce à détecter, ainsi qu'une réponse rapide.

Dans ce contexte, divers types de biorécepteur ont été utilisés comme outils de biorecognition moléculaire **figure I.15**.



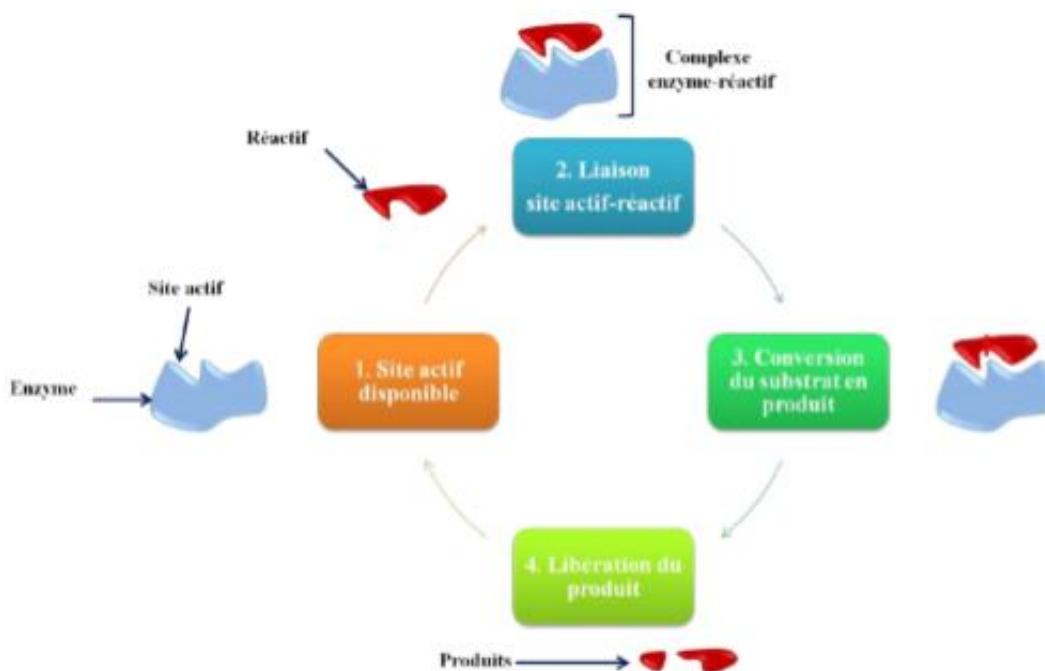
**Figure. 1.15.** Représentation schématique de quelques biorécepteurs.

Les biorécepteurs catalytiques : Les biorécepteurs catalytiques, comme les enzymes, présentent un

fort intérêt pour différentes application industrielles.

Les enzymes sont des macromolécules biologiques, chargées des transformations biochimiques des molécules de l'organisme vivant, c'est le phénomène de catalyse enzymatique.

A la fin du 18<sup>ème</sup> siècle, Lazzaro Spallanzani a été le premier à décrire le phénomène de la catalyse enzymatique.



**Figure. 1.16.** Principe de la réaction catalytique d'un enzyme (type protéase).

Les enzymes ont été utilisées dans les premiers biocapteurs [102]. ce sont des macromolécules le plus souvent de nature chirale (ne possédant pas de symétrie) et protéique. les enzymes sont des protéines à site actif qui leur confère l'activité catalytique pour transformer un substrat donné en un produit **figure. I.16.** cependant, le substrat va se lier au site actif de l'enzyme afin de permettre la formation d'un complexe intermédiaire enzyme substrat (E-S). Suite à la coupure de cette liaison (entre le site actif et l'E-S), comme la durée de vie de ce complexe intermédiaire est bien définie et limitée, un produit de la réaction va être formé [103].

Les enzymes peuvent être classées en deux catégories, (i) les enzymes redox (oxydase, réductase, oxydoréductase) qui utilisent les électrons comme substrats et produits de réaction, et (ii) les enzymes hydrolytiques (lipases, protéases, estérases) qui utilisent les protons comme substrats et pro

duits de réaction. Les capteurs catalytiques sont des capteurs chimiques dont l'enzyme ou « ligand » est immobilisée sur le transducteur de l'électrode (en négligeant le phénomène de transfert de masse

au niveau de cette interface).

L'électrode modifiée avec la couche enzymatique est en contact direct avec le liquide contenant le substrat à doser.

Ce dernier va entrer à l'intérieur de cette couche enzymatique, pour s'attacher au site actif, puis se décomposer en produit de réaction catalytique. en effet, pour respecter l'équilibre des concentrations substrat/produit, la solution doit être bien agitée et la couche enzymatique aussi fine que possible [104].

Les différentes étapes de fonctionnement d'un capteur catalytique sont :

- Migration du substrat de la solution vers la membrane enzymatique.
  - Diffusion du substrat à l'intérieur de cette couche, dont une transformation enzymatique de substrat en produit de réaction.
  - Diffusion du produit vers le transducteur.
  - Traduction par le transducteur de concentration de ce produit en un signal électrique.
- L'activité catalytique de l'enzyme dépend de sa structure native, et sa dénaturation supprime l'activité de site actif. La réponse de capteur enzymatique peut être affectée par plusieurs facteurs tels que le pH [105] (qui peut agir sur l'état d'ionisation des fonctions chimiques des chaînes latérales de l'enzyme, comme il peut agir sur les acides aminés de contact chargés de l'interaction avec le ligand ainsi que les acides aminés auxiliaires, les acides aminés collaborateurs responsables de la conformation de site actif de l'enzyme) et la température [104 ; 106] (l'élévation de la température peut augmenter la vitesse de la réaction mais dénaturer l'enzyme).

- **Les biorécepteurs d'hybridation**

Les acides nucléiques sont des macromolécules biologiques structurées par des chaînes polymériques, renfermant l'information nécessaire pour la synthèse des protéines. en plus de leur rôle comme biomolécule d'intérêt biologique, elles permettent de développer des biocapteurs d'ADN (acide désoxyribonucléique) capables d'analyser des gènes in situ [107].

Les molécules d'ADN peuvent être immobilisées sur un transducteur physique en tant que double brin pour étudier des interactions possibles avec des drogues synthétiques, ou en tant que simple brin pour détecter les processus d'hybridation.

L'utilisation d'un ADN double brin, qui est immobilisé sur un transducteur électrochimique ou optique, a connu des développements importants pour un dépistage rapide des toxines ou des substances organiques cancérigènes, ainsi que l'identification des principes actifs anti-tumoraux [108].

Les biocapteurs d'ADN simple brin dits aussi biopuces, représentent une nouvelle technologie qui

exploite la complémentarité de deux oligonucléotides. De tels biocapteurs sont capables d'identifier la séquence d'un gène, et détecter des mutations génétiques [109]. Cette nouvelle technique de détection d'ADN a gagné un grand intérêt ces dernières années à cause de son importance considérable pour un diagnostic précoce de certaines maladies, comme l'hypercholestérolémie ou le cancer, favorisé par le décodage du génome humain [110]. Ces biopuces à base d'ADN ont mis en valeur ce domaine, en offrant la possibilité de réaliser plusieurs analyses génétiques en même temps que ce soit dans le domaine du génotypage, du diagnostic, de la pharmacogénomique ou de l'analyse globale de l'expression génétique [111].

- **Les aptamères**

Un aptamère est une petite séquence synthétique d'oligonucléotide simple brin (ADN, ARN ou nucléotide modifié) relativement courte (entre 15 et 60 bases), capable de subir des repliements complexes et de se lier, avec affinité et spécificité élevées, à des molécules cibles comme des médicaments, protéines, peptides, voire même des cellules entières, virus ou bactéries.

Le terme aptamère a été employé pour la première fois en 1990 par Ellington et Szostak [112].

En fait, sa découverte est reliée à la mise au point d'une technologie responsable de la sélection de ces séquences d'oligonucléotides pour une cible choisie, dite SELEX (Systematic Evolution of Ligands by EXponential enrichment) [113].

La technique de sélection des Aptamères repose sur trois étapes indispensables : (i) synthèse d'une réserve suffisante par amplification des échantillons d'oligonucléotides spécifiques, à partir de laquelle seront choisies les meilleures séquences ; (ii) un criblage de ces séquences selon leur affinité pour la cible par diverses techniques (électrophorèse, chromatographies, rétention sur filtre ...) et ; finalement (iii) identification et amplification des séquences retenues par la technique PCR (réaction en chaîne par polymérase) [114].

L'utilisation des aptamères concerne divers domaines [115], notamment le domaine d'analyse médicale [116, 117] et même thérapeutique lorsque l'aptamère présente, outre que ses propriétés spécifiques, joue le rôle d'inhibiteur pour sa cible protéique. L'utilisation des aptamères présente de nombreux avantages. Ce sont des molécules de petite taille, souvent flexibles et stables chimiquement. Leur production est peu coûteuse, et leur utilisation n'exige pas des conditions physiologiques. Leur modification est aisée, permettant l'incorporation de molécules marqueurs, ou pour faciliter leur immobilisation sur support solide.

La sensibilité des biocapteurs à aptamères dépend du transducteur utilisé. En effet, des transducteurs utilisés en coordination avec des aptamères, ont montré d'excellents résultats [115, 118] pour une large variété d'application, telles que la détection d'agents pathogènes, ou pour des diagnostics médicaux [119].

- **Les polymères à empreintes moléculaires**

La notion d'empreinte moléculaire connaît une évolution depuis les années 90. En 1949, Dickey a mis en évidence, pour la première fois, la technologie d'empreinte moléculaire dans le but de la création des récepteurs synthétiques vis-à-vis des molécules cibles [120].

Le polymère à empreinte moléculaire (MIP) est obtenu après polymérisation de monomères fonctionnels, suite à une irradiation sous UV ou par effet thermique, en présence d'un agent réticulant (dit « cross-linker », c'est une molécule capable de s'intégrer entre les longues chaînes de polymères pour les lier entre elles et ainsi solidifier la solution en formant un réseau en 3D) et un agent porogène (en lui ajoutant à une solution, il donne un produit spongieux), autour d'un type bien défini de molécule cible dite « patron » pour lui créer une cavité de reconnaissance spécifique. Cette structure en 3D nouvellement synthétisée [121] sera utilisée comme récepteur artificiel d'une molécule avec la même affinité et la même spécificité que celles obtenues par des biorécepteurs naturels [122 , 123]. Comme ils sont de nature synthétique, ces MIPs sont caractérisés par une dureté et stabilité importante, permettant leur utilisation lors des conditions drastiques (conditions acide, basique ...).

La synthèse des MIPs passe par trois étapes :

- Pré-arrangement entre molécule patron et monomères fonctionnels : soit par liaison non covalente (auto-assemblage de molécule cible à imprimer avec le monomère fonctionnel par l'intervention des liaisons de type hydrogène, dipôle-dipôle et interaction ionique, pour créer un site de reconnaissance spécifique tout en gardant en mémoire la forme et les groupements fonctionnels, puis le complexe est réticulé soit par un monomère réticulant) [124] soit par une liaison covalente (formation d'une molécule cible polymérisable suite à une liaison covalente entre la molécule patron et les monomères fonctionnels.

Après la copolymérisation avec le monomère réticulant, la molécule imprimée ne peut être obtenue que par rupture chimique, généralement par hydrolyse) [125].

- La polymérisation : la synthèse de MIPs impose une étape de copolymérisation entre le monomère fonctionnel et le monomère réticulant autour de molécule cible pour former un réseau de polymère rigide.
- Elimination de la molécule cible : Cette molécule peut être ensuite détachée du complexe de polymérisation, permettant l'apparition d'une cavité de reconnaissance spécifique, présentée par une structure et une organisation en groupes fonctionnels, identiques à la molécule cible.

Dans la littérature, les MIPs sont intégrés dans plusieurs types de biocapteurs comme ceux qui peuvent être utiles dans la séparation et l'analyse des échantillons complexes tels que les liquides

biologiques et les échantillons environnementaux [126].

Ces biorécepteurs artificiels peuvent éviter toutes contraintes de dénaturation rencontrées telles que pH, température, temps de conservation ... pour assurer une stabilité et reproductibilité élevés, mais la variété des molécules cibles dans le milieu hétérogène à analyser, peut limiter les possibilités de reconnaissance biologique par les MIPs.

- **Les biorécepteurs d'affinité**

Les biorécepteurs d'affinité sont des molécules biologiques offrant la possibilité d'une reconnaissance spécifique. Les molécules les plus utilisées sont les immunoglobulines (ou anticorps) présentant des avantages tels que la sensibilité, la sélectivité et l'affinité. A la différence de la biocatalyse, la reconnaissance immunologique n'implique pas de consommation de substrat ou de formation de produits de réaction.

En fait, les anticorps sont des glycoprotéines. Elles sont produites après une réponse immunitaire, provoquée par l'introduction d'un antigène étranger dans un organisme (Homme ou animal) [127]. Un anticorps de type polyclonal est obtenu par purification du sérum de l'animal sur l'antigène correspondant. Un anticorps de type monoclonal (le type le plus spécifique) est obtenu par culture cellulaire, *in vitro*, à partir d'une cellule, appelée hybridome, suite à une fusion cellulaire entre une cellule productrice d'anticorps (le lymphocyte B) et une cellule de tumeur (myélome) qui lui accorde les propriétés d'immortalité de la lignée. Ainsi, ces systèmes de production permettent l'obtention de grandes variétés d'anticorps, en leur donnant un aspect de biorécepteurs.

D'après Porter-Edelman (1958), les immunoglobulines sont des protéines composées de 4 chaînes polypeptidiques ; deux chaînes lourdes (d'environ 50 kDa, 450 AA, chacune est composée de trois ou quatre domaines constants CH et un domaine variable VH) associées à deux chaînes légères (d'environ 25 kDa, 212 AA, chacune est composée d'un domaine constant CL et un domaine variable VL) identiques, et reliées entre elles par des ponts disulfures [128].

La structure de l'anticorps, généralement en forme Y (Figure 8), se présente en deux parties : le Fragment cristallisable (Fc, commun à tous les immunoglobulines d'un même mammifère) et deux Fragments Antigen Binding (*Fab*, sites de liaison à l'antigène).

Cette structure en Y est commune pour les différents types des anticorps (IgG, IgM, IgA, IgD et IgE) qui diffèrent entre eux en termes de séquence et organisation protéiques. La biosynthèse des molécules d'anticorps dépend du stade de maturation des cellules de lymphocyte B [129].

En effet, au stade de maturation pro-B, les réarrangements des zones constantes des chaînes lourdes ont lieu, suivis par des appariements des zones variables des chaînes lourdes au stade des cellules pré-B. Au cours de ces deux stades de maturation, une expression des enzymes de recombinaison, permet la conformité des chaînes lourdes [130].

Au niveau de stade de maturation pré-B, une pseudo-chaine légère s'exprime [131].

Au stade lymphocyte B immature, cette pseudo-chaine légère est remplacée par une chaine légère fonctionnelle.

Et finalement, les lymphocytes B matures sont capables d'exprimer des molécules d'immunoglobulines à leur surface, possédant des zones variables identiques entre elles, ainsi qu'améliorer leur affinité pour les antigènes.

Pour intensifier la reconnaissance entre antigène-anticorps, il faut s'intéresser au fragment Fab des immunoglobulines. La zone de liaison qui réagit avec l'antigène est dite paratope (dans des anticorps divalents, les deux par Atopes sont identiques) et la zone sur l'antigène qui interagit avec l'anticorps est dite épitrope (complémentaire au paratope).

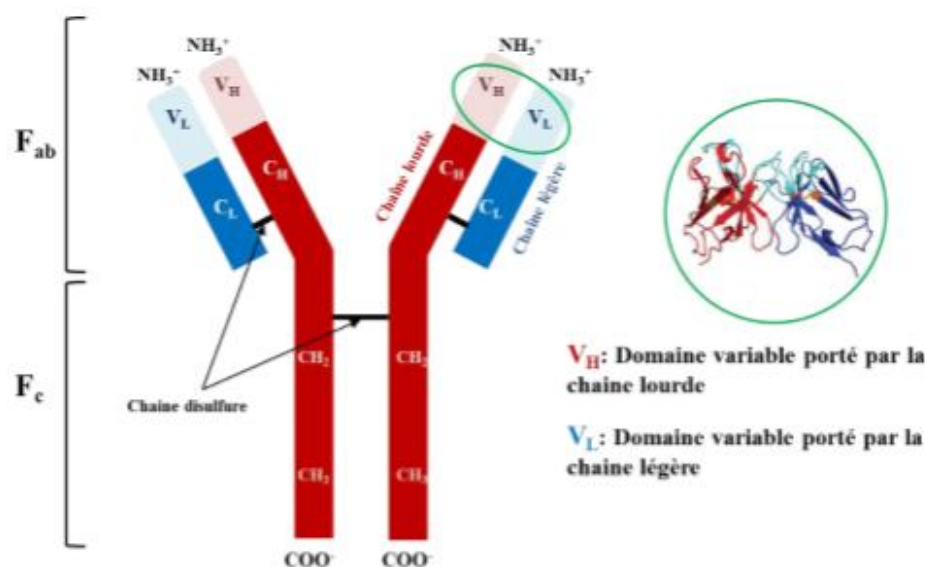
Le paratope est composé de trois zones hypervariables ou Complementary-Determining Regions (CDR) sur chaque immunoglobuline lesquelles sont liées entre elles dans l'espace par des liaisons non covalentes.

La liaison des (CDR) Complementary-Determining Regions avec l'épitope de l'antigène est responsable de la reconnaissance Ag-Ac [132].

Les mesures thermodynamiques montrent que l'interaction antigène-anticorps est réversible, impliquant une énergie de liaison qui varie de 34 à 65 kJ/mole.

Ces données éliminent la supposition d'interaction de liaisons covalentes dont l'énergie est d'environ 210 à 500 kJ/mole.

L'interaction Ag-Ac se fait donc par l'intervention des liaisons de type hydrogènes, hydrophobes, électrostatiques et Van Der Waals. Ainsi, leur K est d'environ 10<sup>15</sup>, la liaison mise en jeu est forte grâce aux interactions moléculaires nombreuses, mettant en valeur la notion de valence.



**Figure. 1.17.** Représentation schématique d'un anticorps et de la partie se liant à l'antigène, le paratope.

Les immun capteurs permettent la détection immunologique directe, sans marquage, afin de suivre les interactions Ag-Ac. La mise au point des techniques de liaison Ag-Ac permet de mesurer un signal physique suite à la formation du complexe immunitaire. Ainsi, trois types de détection immunologique, ont été utilisés : détection optique [133], piézoélectrique [134] et électrochimique [135].

Dans ce dernier cas, des approches récentes fixent les anticorps de façon covalente sur les surfaces des transducteurs, en montrant la détection immunologique spécifique directe (sans marquage) et en temps réel par mesure d'impédance électrochimique (SIE) [136]. La structure des anticorps contient plusieurs fonctions carboxyles (COOH) et amines (NH<sub>2</sub>) permettant leur immobilisation covalente sur les transducteurs activés par des fonctions d'ancrage correspondantes qui peuvent être par exemples des silanes [136,137] ou des thiols [138].

Les immun capteurs ont montré un potentiel élevé dans le domaine des applications diagnostic, comme par exemple le diabète insulino-dépendant [139] et les biomarqueurs spécifiques du HIV (Virus de l'immunodéficience humaine) [140], à cause de leur importante spécificité envers l'agent à détecter [141].

### 1.2.5.2. *Transducteur*

Transducteur : est l'élément physique dans le biocapteur qui sert à traduire la modification biochimique suite à l'interaction analyte-bio récepteur pour la convertir en un signal électrique mesurable. Le type de transducteur est choisi en fonction des transformations biochimiques au niveau du bio récepteur [142].

Le choix du transducteur dépend [104] :

- Du type de réaction et de substances consommées ou libérées : modification de charge, de pH, variation de la fluorescence...
- De l'utilisation du biocapteur : un biocapteur pour les analyses biomédicales doit être à usage unique alors qu'un biocapteur pour les analyses environnementales doit être robuste...
- Des possibles interférences : dans les milieux troubles, une détection optique n'est pas recommandée...

Différents types de transducteurs sont utilisés pour la conception de biocapteurs. En effet le transducteur peut être gravimétrique (mesurant le changement de masse résultat d'une réaction biologique), optique (pour mesurer les changements tels que la fluorescence, l'indice de réfraction ou l'absorption optique), thermique (pour mesurer le changement thermique avec une réaction en do ou exothermique) ou électrochimique (basé sur le changement des propriétés électriques ou mécanique) [143].

Au cours de notre thèse, nous nous sommes intéressés à un transducteur électrochimique. Dans le cas de **la transduction électrochimique**, l'immobilisation de l'analyte sur le biorécepteur produit une réaction d'oxydoréduction ou encore changement de la conductivité locale qui génère une modification de signal électrique. Ces transducteurs sont basés généralement sur une électrode fonctionnalisée par des entités biologiques et fonctionnent le plus souvent dans un milieu liquide.

- **Transducteur impédimétrique**

L'impédance électrochimique est le rapport de la réponse fréquentielle potentiel/courant. Sa première publication remonte à 1975.

Le principe du capteur impédimétrique repose sur la mesure de l'impédance par la technique de spectroscopie d'impédance électrochimique, dont le principe sera détaillé dans le paragraphe de la caractérisation de transducteur par des mesures électrochimiques.

Cette technique permet de suivre le phénomène de transfert de charge au niveau de l'interface électrode/électrolyte.

En effet, la mesure de l'impédance se réalise à l'intérieur d'une cellule à trois électrodes, dont une électrode de travail sur laquelle est immobilisée l'élément sensible (biorécepteur), une électrode auxiliaire et une électrode de référence.

En effet, un potentiel appliqué avec une perturbation sinusoïdale de faible amplitude, entre l'électrode de travail et l'électrode de référence, permet de mesurer un courant de la même forme, créé entre l'électrode de travail et l'électrode auxiliaire [144].

Le rapport de la tension imposée sur l'intensité du courant résultant mesurée, définit la notion de l'impédance du système électrochimique. L'impédance est représentée par un circuit électrique équivalent. Ce circuit permet de soustraire les paramètres électriques qui définissent le processus de transfert de charge généré à l'interface électrode/électrolyte. La variation de ces paramètres, dépend des variations interfaciales générées à la surface de l'électrode de travail.

Avantageusement, les biocapteurs impédimétriques sont appliqués aux réactions mettant en place des phénomènes de chémorécepteurs membranaires ou d'affinité moléculaire de type Ag-Ac à cause des faibles changements de conductance et de capacitance qui peuvent être détectés au niveau de l'interface entre le substrat immobilisé et l'électrode.

- **Transducteur ampérométrique**

Les techniques ampérométriques reposent sur la mesure de l'intensité du courant traversant la cellule électrochimique à un potentiel imposé [145]. la réaction de l'analyte avec le biorécepteur immobilisé sur la surface de l'électrode de travail, incite un changement de courant à un potentiel constant. Ce changement provient de la réduction ou de l'oxydation d'une espèce électroactive à un potentiel donné qui se crée au contact de l'électrode de travail. l'intensité du courant induit est proportionnelle à la concentration de l'entité reconnue par le biorécepteur.

Les biocapteurs ampérométriques sont classés en trois catégories [143 , 145] :

- Biocapteurs mesurant la concentration des analytes naturels ou les produits des réactions enzymatiques. Généralement, les enzymes catalysant ces réactions sont des oxydases [146, 147].
- Biocapteurs qui utilisent des médiateurs comme transporteurs des électrons de l'enzyme électro active à l'électrode [148 , 149].
- Biocapteurs basés sur un transfert direct entre l'enzyme électroactive et l'électrode. Ce processus est appelé bio-électrocatalyse[145,150]. De nos jours, plusieurs biocapteurs enzymatiques ampérométriques sont commercialisés, tels que le biocapteur de la société Yellow Spring Instruments Compagnie® (Ohio).

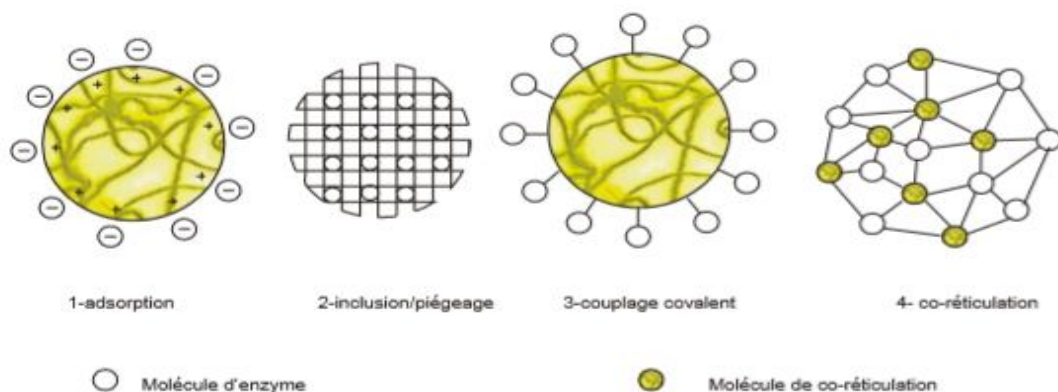
- **Transducteur potentiométrique**

Le transducteur potentiométrique est capable de mesurer l'accumulation de charges électriques sur la surface de l'électrode de travail. Pratiquement cela se traduit par la mesure de différence de potentiel entre l'électrode de référence et l'électrode de travail, pour une intensité du courant nulle. La conception des potentiels des électrodes permet la mesure directe de la concentration de l'analyte à doser [104].

### 1.2.6. Techniques d'immobilisation des enzymes

L'immobilisation de l'élément biologique, en particulier celle des enzymes, au contact du transducteur ou placé dans une position optimale vis-à-vis du transducteur (par exemple une fibre optique n'est pas forcément en contact avec le biorécepteur mais elle doit être alignée avec celui-ci), est nécessaire à une bonne détection du signal biochimique issu du biorécepteur. Les enzymes peuvent être immobilisées par des méthodes chimiques et/ou physiques. Les qualités demandées à la membrane enzymatique sont nombreuses:

- stabilité: la capacité à conserver l'activité de l'enzyme pendant un temps nécessaire pendant les mesures;
- sélectivité: l'aptitude de l'enzyme à reconnaître un seul analyte défini;
- reproductibilité: l'aptitude de l'enzyme à retrouver l'activité initiale après des mesures;
- sensibilité: la capacité à détecter une concentration faible de l'analyte;
- accessibilité de l'espèce de reconnaissance: la capacité de l'analyte de passer facilement à travers la couche sensible vers l'enzyme.



**Figure. 1.18.**Exemples de méthodes d'immobilisation d'enzyme.

Plusieurs méthodes d'immobilisation permettent de réaliser une association biorécepteur-transducteur n'empêchant pas l'accès du polluant au bio récepteur [151,152]. Ces méthodes d'immobilisation figure 1.18 sont résumées dans les paragraphes suivants :

#### **1.2.6.1. Adsorption**

L'adsorption est due à des interactions de type ionique, hydrophobe ou encore des liaisons hydrogène entre l'enzyme et la surface du transducteur, figure 1.18.1 par l'intermédiaire d'un matériau actif. Les matériaux actifs peuvent être des résines échangeuses d'ions anionique ou cationique, du charbon de bois actif, des gels de silice, de l'argile, de l'oxyde de l'aluminium, du verre poreux ou des céramiques [153].

Cette technique permet une immobilisation simple et non dénaturante de l'enzyme. Malgré sa simplicité de mise en œuvre, elle demeure peu utilisée pour la conception des biocapteurs parce que les enzymes immobilisées peuvent facilement se désorber sous l'action des variations de pH, de la température, de la concentration en substrat ou de la force ionique [154]. La stabilité et la durée de vie des biocapteurs sont donc diminuées.

#### **1.2.6.2. Inclusion ou piégeage**

La méthode d'inclusion consiste à incorporer l'enzyme dans un gel insoluble. Ce gel peut être constitué d'une matrice organique (polymère)[155-156] ou inorganique (argiles)[157]. Dans les deux cas, l'enzyme est mélangée au matériau, puis déposé à la surface d'un biocapteur sous certaines conditions, figure 1.18.2.

L'enzyme se trouve piégée mécaniquement à l'intérieur des matrices polymériques ou inorganiques. La maille de la matrice assure de manière purement physique la rétention de l'enzyme tout en permettant la diffusion du substrat jusqu'au site actif de l'enzyme grâce à une porosité du gel suffisante.

Toutefois cette technique est parfois limitée par la taille des pores du gel qui favorise le relargage des enzymes de faible poids moléculaire. L'activité de l'enzyme est dépendante du microenvironnement local de l'enzyme immobilisé (pH, force ionique, diffusion moléculaire, etc.)

#### **1.2.6.3. Couplage covalent**

Le couplage covalent d'enzyme sur un transducteur nécessite la présence d'un groupement fonctionnel sur la surface de celui-ci, figure 1.18.3. Ces groupements sont en général  $-\text{COOH}$ ,  $-\text{NH}_2$ ,  $-\text{OH}$ , ou  $-\text{SH}$  ; ils sont peu réactifs chimiquement et il convient de les activer pour qu'ils réagissent dans des conditions douces avec des groupements fonctionnels de l'enzyme,

n'intervenant pas dans le processus de reconnaissance moléculaire. On peut aussi procéder à la salinisation de support portant des groupements M-OH pour changer la nature des groupements de surface.

#### 1.2.6.4. *Réticulation et la Co-réticulation*

La réticulation consiste, à l'aide d'un agent réticulant, à créer des liaisons chimiques qui renforcent la cohésion de la membrane, figure 1.18. 4. Quant à la Co-réticulation, elle est basée sur le même principe que la réticulation en utilisant à la fois un agent réticulant et une protéine inerte pour faciliter ou améliorer la réticulation.

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. Cependant, à cause de la réaction chimique, une perte d'activité enzymatique de la membrane Co-réticulée peut être observée pendant les mesures.

Le choix de la technique d'immobilisation dépend du type d'élément biologique utilisé (enzyme, cellule entière...), du transducteur et de l'environnement dans lequel le biocapteur fonctionne. Il dépend aussi des stabilités mécaniques et chimiques de la matrice et de son coût. La 'meilleure' technique, d'après Bowes, n'existe pas [158].

Malgré la perte de l'activité de l'enzyme due à l'altération chimique des sites catalytiques de la protéine observée pour la méthode d'immobilisation par Co-réticulation nous avons utilisé cette méthode pour fixer la tyrosinase sur un ISFET et un capteur conductométrique. En effet, cette méthode est facile à mettre en œuvre, elle offre des bonnes liaisons chimiques pour les biomolécules et une bonne stabilité des édifices obtenus.

#### 1.2.7. **Électrodes enzymatique**

Depuis plusieurs années des électrodes spécifiques de certains gaz ( $NH_2$ ,  $CO_2$ ,  $O_2$ ) ou d'ions libres, autres que les protons, sont commercialisées, mais la détection d'espèces organiques reste à développer. L'association d'un enzyme sous forme soluble est d'un capteur électrochimique à été décrite pour la première fois en 1962 [159]. Depuis cette date, l'obtention d'enzymes immobilisés notamment par les techniques d'inclusion dans les gels ont permis le développement de divers types d'électrodes à enzymes [160,161,162].. la figure 1.19 montre qu'une électrode à enzyme se compose essentiellement d'un capteur électrochimique sur lequel est maintenu par un moyen mécanique la préparation enzymatique.

Certains procédés utilisent l'enzyme en solution maintenu dans une microcavité par une membrane à dialyse [163].

Dans notre cas, les molécules enzymatiques ont été fixées sur membrane de collagène selon le procédé décrit plus haut et associées à différents capteurs du commerce ou à des prototypes fabriqués par la société CERAC-T Aussel.

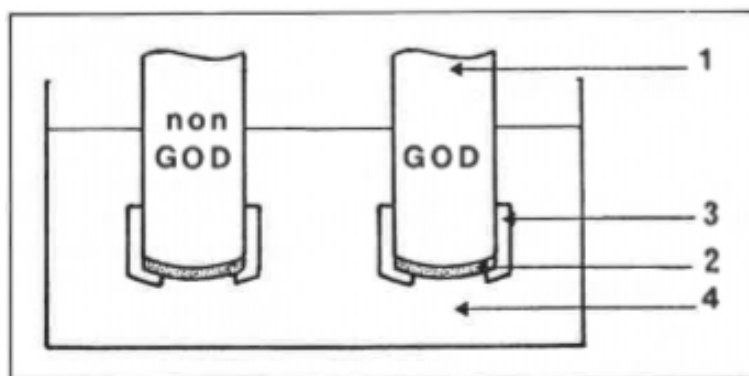


Figure. 1.19.:Electrode à enzyme.

(1) :capteur électrochimique.

(2) :Membrane de collagène :avec GOD : électrode  $E_1$ ;sans GOD: électrode compensatrice  $E_2$  .

(3) :Embout vissant .

(4) :Milieu tamponné recevant l'échantillon à doser..

En résumé, il faut donc une réaction enzymatique spécifique du substrat à doser et un capteur électrochimique donnant une réponse amplifiable sous forme de variation de potentiel ou variation de courant.la présence d'un enzyme confère à ce système de dosage spécificité mais n'exclut pas les interférences parasites dues ou capteur électrochimique.

### 1.2.8. Nanotechnologie et biocapteurs

Les **nanosciences** et **nanotechnologies** (NST) peuvent être définies au minimum comme l'ensemble des études et des procédés de fabrication et de manipulation de structures (physiques, chimiques ou biologiques), de dispositifs et de systèmes matériels à l'échelle du nanomètre (nm), ce qui est l'ordre de grandeur de la distance entre deux atomes [164].

Les NST présentent plusieurs acceptions liées à la nature transversale de cette jeune discipline. En effet, elles utilisent, tout en permettant de nouvelles possibilités, des disciplines telles que l'optique, la biologie, la mécanique, micro technologie. Ainsi, comme le reconnaît le portail français officiel des NST.

Les nanomatériaux ont été reconnus comme toxiques pour les tissus humains et les cellules en culture [165]. La nano toxicologie étudie les risques environnementaux et sanitaires liés aux nanotechnologies. La dissémination à large échelle de nanoparticules dans l'environnement est sujette à des questions éthiques.

### 1.2.8.1. Définition d'une nanoparticule

Une nanoparticule est un nano-objet dont les trois dimensions sont à l'échelle nanométrique, c'est-à-dire une particule dont le diamètre nominal est inférieur à 100 nm environ.

On entend par «nanomatériau» un matériau naturel, formé accidentellement ou manufacturé contenant des particules libres, sous forme d'agrégat ou sous forme d'agglomérat, dont au moins 50 % des particules, dans la répartition numérique par taille, présentent une ou plusieurs dimensions externes se situant entre 1 nm et 100 nm.

### 1.2.8.2. Les familles de produits par nano-objets

Le tableau ci-contre représente les différents objet et différentes familles de produits considérés comme nano-objet :

**tableau1.7.** Les différents objets et différentes familles de produits considérés comme nano-objet.

Famille	Démentions	Exemple
Nanoparticules ou particules ultrafines.	Diamètre inférieur à 100nm.	Dioxyde de titane , alumine, noir de carbone, silice, fumées de sodage, émission de moteur diesel...
Nano fibres , Nanotubes ,Nano filaments, Nano bâtonnets	Section compris entre 1et quelques dizaines de nm et longueur comprise entre 500 et 10 000 nm.	Nanotubes de carbone , nanotubes de nitrure de Bor, nano fibres de polyeter....
Nano films, Nano couches, Nano revêtements.	2 démentions sont supérieures à 100 nm.	Nano couches de silicium, nano films de titanate de strontium....

Il est bien claire que chaque famille ou nano objet est à l'ordre de 100 nm. Au-delà de cette valeur, l'objet, la particule ou la couche ne peut pas être considérée comme nanométrique.

### 1.2.8.3. Méthodes de l'obtention d'un nanomatériau (synthèse)

Les méthodes de synthèse pour la préparation de matériaux de cathode sont nombreuses et différent l'une par rapport à l'autre selon les réactifs utilisés, les conditions de travail et selon la qualité des matériaux élaborés.

Les propriétés des poudres finales synthétisées dépendent essentiellement de la méthode de synthèse qui influe directement sur la taille des grains et des particules du matériau, jouant un rôle important vis-à-vis de l'adsorption et la réduction de l'oxygène à la surface et dans le volume de la

cathode.

Avant de détailler la méthode de synthèse et les résultats relatifs aux différents matériaux, nous donnerons une brève description des méthodes de synthèse utilisées et les techniques de dépôt des matériaux de cathodes, suivies par le cycle thermique requis pour l'accrochage du matériau poreux sur un électrolyte dense.

#### **1.2.8.4. Méthode de synthèse**

Il existe plusieurs méthodes de synthèse dont l'objectif est d'optimiser les conditions conduisant à la formation de matériaux de bonne qualité :

\* Voie solide : méthode classique appelé solide-solide.

\* Voie liquide : Co-précipitation des hydroxydes.

\* Deux méthodes faisant intervenir la "chélation des cations" :

a) Voie nitrate – citrate.

b) Voie sol-gel (exemple gel polyacryl amide).

#### **\* Voie solide-solide**

Les précurseurs utilisés, en général des oxydes, des nitrates ou des hydroxydes de cations, sont préalablement broyés et frittés

à des températures pouvant atteindre jusqu'à 1000 °C. L'étape de recuit nécessite donc le mélange des produits broyés, pour homogénéiser tout le volume du mélange, et le soumettre à la requise pendant un temps suffisamment long. Ce sont des réactions qui se font lentement et par diffusion en passant par des étapes de broyage intermédiaires. C'est une méthode coûteuse mais elle est simple à mettre en œuvre. Le produit final est un oxyde mixte des cations mélangés.

#### **\* Co-précipitation**

À la différence de la méthode précédente, cette méthode se fait en solution liquide. elle est fondée sur la précipitation simultanée de deux sels précurseurs. L'objectif de cette méthode de préparation est d'obtenir un Co-précipité homogène, dans une solution sous une agitation moyenne en basant sur la répartition aléatoire des deux précurseurs dans le précipité. l'étape de recuit est nécessaire permettant l'élaboration des matériaux purs désirés. Le contrôle du pH est parfois obligatoire.

#### **Méthodes faisant intervenir la "chélation des cations"**

Les méthodes nitrate-citrate et gel polyacryl amide passent par une étape importante appelée l'étape d'auto combustion en dégageant une énergie importante provenant de réactions d'oxydoréduction exothermiques. malgré cet inconvénient, ces deux méthodes présentent quelques avantages :

- Temps de réaction relativement court par rapport aux autres réactions.

- Formation des matériaux à l'état pur à des températures plus au moins faibles (entre 800 et 1000 °C) et de surfaces spécifiques élevées.

### **Méthode nitrate-citrate**

C'est une méthode qui consiste à stabiliser les cations sous forme de complexes. Les complexes formés sont des "chélates". Les agents chélatants les plus couramment utilisés sont les acides carboxyliques comme par exemple l'acide citrique. Le ligand déplace certaines molécules de la sphère de coordination du métal pur pour établir des liaisons de coordinations beaucoup plus stables [166].

Pour une solution de nitrate, l'acide citrique se comporte comme un réducteur vis-à-vis des ions nitrate qui constituent la source d'oxydant, le produit obtenu après le départ du solvant est un produit visqueux. Sa viscosité élevée empêche sa précipitation, quand elle augmente, des bulles se forment et la masse gonfle et l'on observe la formation d'une mousse rigide qui constitue un précurseur d'aspect vitreux.

Cette étape est suivie d'un phénomène d'auto combustion du précurseur accompagné d'un dégagement important de chaleur, ce qui conduit à la formation d'une meringue bien aérée. Celle-ci doit être bien broyée puis soumise à une température suffisante pour évacuer les matières organiques et les nitrates résiduels, puis vers 1000°C pour obtenir la phase pure, dans un creuset en platine.

Comme exemple, C. Lalani [167] a pu synthétiser la phase  $Nd_{1.95}NiO_{4\pm\delta}$ , par cette méthode en utilisant  $Nd_2O_3$  et  $NiO$  comme produits de départ (1.1 mole d'acide citrique pour 1 mole de cations présents en solution).

La température de recuit utilisée est de 900°C pendant 12 heures et le phénomène d'auto combustion s'effectue à 174°C correspondant à la température de décomposition de l'acide citrique.

### **Voie gel polyacryl amide**

Le phénomène d'auto combustion observé dans le cas précédent peut être dangereux et provoquer la contamination des appareils utilisés. La voie gel polyacryl amide peut y remédier par l'utilisation d'un monomère de l'acrylamide et un agent chélatant l'EDTA. Le rapport molaire, agent complexant/cation, dépend directement de la charge du cation.

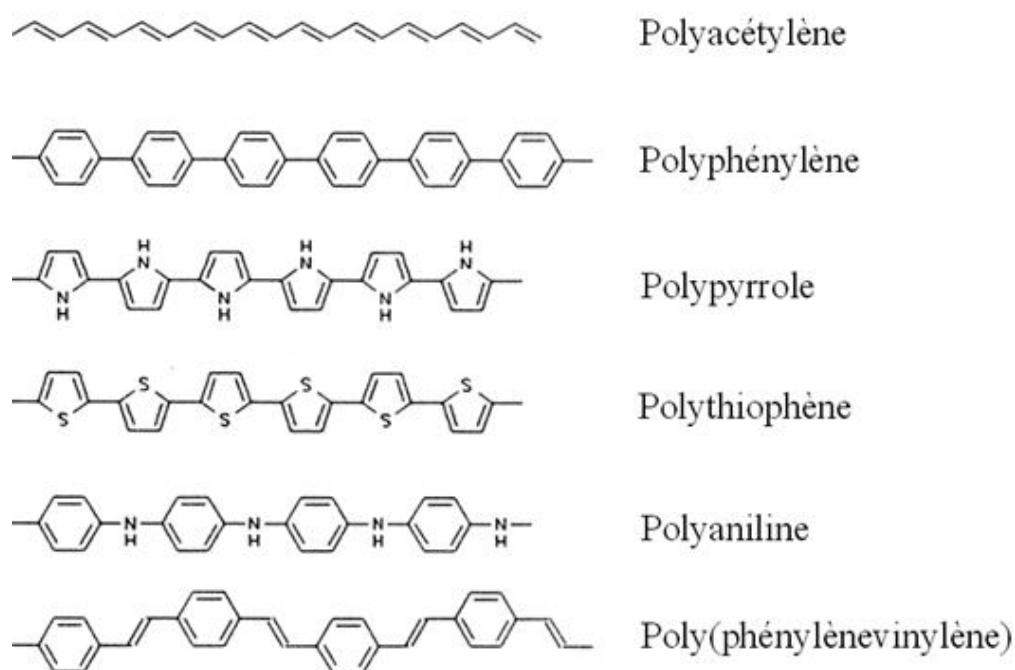
### 1.2.9. Polymères conducteurs

la majorité des polymères sont isolants électriques. Cependant, certains d'entre eux peuvent posséder des propriétés de conduction électrique approchant celles de semi-conducteurs, voire de métaux.

Le premier exemple majeur, mis en évidence par Shirakawa et al., consiste en la préparation de films de poly acétylène (PA) exposés à des vapeurs d'halogènes [168]. Ces travaux ont permis aux auteurs de recevoir le prix Nobel en 2000 [169]. Par exemple, la conductivité électrique d'un film de PA dopé à l'iode et de composition est de  $3,8.10^3 \text{ S.m}^{-1}$  à  $25^\circ \text{C}$ , ce qui est légèrement supérieur à celle d'un film de carbone amorphe [170, 171]. Depuis, de nombreux polymères ont été étudiés, tels que la polyaniline (PANI), le poly thiophène (PT) ou le polypyrrole (PPy).

Les meilleures performances ont été obtenues par le PEDOT:PSS, mélange de poly(3,4-éthylènedioxythiophène) (PEDOT) et de poly(styrène sulfonate) de sodium (PSS) **Figure**

**1.21**



**Figure. 1.20.** Différents polymères conducteurs.

**a)** Polyacétylène. **b)** Polythiophène. **c)** Polypyrrole. **d)** Polyaniline. **e)** PEDOT:PSS

Bon conducteur électrique ( $300 \Omega/\text{sq}$  à  $25^\circ \text{C}$ , soit  $3,3.10^3 \text{ S.m}^{-1}$  pour un film d'un micromètre d'épaisseur) [172], le PEDOT est cependant insoluble dans l'eau et les solvants organiques [173,174].

L'addition de PSS, chargé négativement, permet le dopage du PEDOT et sa stabilisation dans l'eau.

En plus d'être transparents, les films de PEDOT:PSS possèdent une très bonne conductivité

électrique (les premiers films ayant une résistance surfacique de  $500\Omega/\text{sq}$ ) [175,176].

Le PEDOT:PSS est couramment utilisé dans les cellules solaires organiques ou les diodes électroluminescentes organiques. par exemple, Kimetal. présentent des films de PEDOT:PSS sur PEN traités à l'acide sulfurique ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) et ayant une résistance surfacique de  $46\Omega/\text{sq}$  pour une transmittance de 90 % [177] tandis que Worfolketal. font état de films réalisés par cisaillement d'une solution à l'aide d'une lame en silicium (solution shearing) présentant une résistance surfacique de  $17\Omega/\text{sq}$  à 97,2 % de transmittance [178]. les polymères conducteurs sont aisément manipulables sous forme liquide à température ambiante. de plus, leurs propriétés électriques ne sont pas (ou très peu) affectées lors de déformations mécaniques. Il est donc simple de réaliser des couches minces à partir de ces polymères sur substrats plastiques .

Cependant, ces matériaux sont très sensibles à différents types de contraintes (thermiques, chimiques, humidité notamment) et peuvent à terme subir une altération de leurs propriétés optiques et de transport.[179-180]

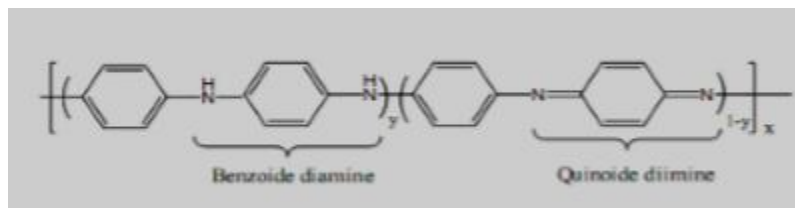
### **1.2.9.1. Polyaniline**

La polyaniline (PANI) est produite par polymérisation oxydative de l'aniline. La polyaniline peut être préparée à différents degrés d'oxydation. La stabilité, la facilité de préparation et ses propriétés électriques, optiques et électrochimiques font de ce polymère un composé unique dans la famille des polymères conducteurs. Dès 1910, Green et Woodhead effectuent la synthèse de la polyaniline par oxydation chimique avec le persulfate d'ammonium. Il se formait alors, une poudre vert foncée [181].

Ces produits d'oxydation sont pas alors considérés comme étant des chaînes macromoléculaires et serviront de colorants de synthèse dans l'industrie textile. Les premiers articles traitant de l'électro polymérisation de l'aniline réalisée avec succès ont été publiés au début des années soixante [182]. Ce n'est que vers les années 1980, que Mac Diamide décrivit la polyaniline comme un nouveau polymère conducteur.

La polyaniline (PANI) Continue à susciter beaucoup d'intérêt en raison de sa stabilité, sa facilité de préparation et ses intéressantes propriétés électriques, optiques et électrochimique. sa formule idéale en forme base est consiste de 3 ( $-\text{C}_6\text{H}_4-\text{NH}-$ ) unité benzoïde et une unité quinoïde ( $-\text{N}=\text{C}_6\text{H}_4=\text{N}-$ ). [183].

La structure de la poly aniline peut être décrite par la formule suivante (Figure 1-21) [183].



**Figure. 1.21.:**Structure de la polyaniline.

La polyaniline possède une propriété unique entre les polymères conducteur est le dopage/dédopage réversible et relativement simple par l'ajout d'acide ou de base. Cette dernière propriété permet à la polyaniline d'être utilisés dans des capteurs de vapeur chimiques et de gaz toxiques.

### 1.2.9.2. Nanostructures carbonées

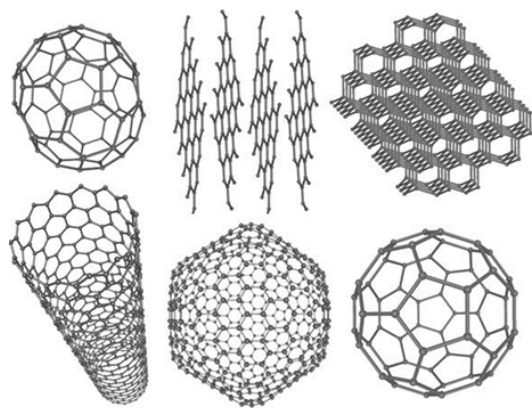
Les matériaux carbonés comme le graphite et le carbone amorphe ont de bonnes propriétés de conduction électrique mais cependant insuffisantes pour réaliser des ETC performantes. La découverte des nanotubes de carbone et du graphène a ouvert de nombreux champs de possibilités pour améliorer ces technologies. Malgré leur forte absorption dans la gamme du visible qui leur confère une couleur noire, graphène et nanotubes de carbone sont de très bons candidats comme matériaux d'électrode.

### 1.2.9.3. Nanotubes de carbone

Mis en évidence pour la première fois en 1952 [184], les nanotubes de carbone n'ont vraiment pu être observés et finement étudiés qu'en 1991 par S. Iijima par microscopie électronique à transmission (MET) dans des suies carbonées issues de synthèses de fullerènes [185]. Un nanotube de carbone est une autre forme allotropique du carbone et peut être décrit comme un feuillet de graphène enroulé sur lui-même et formant un cylindre. Ses parois sont ainsi constituées d'atomes de carbone.

Comme son nom l'indique, un nanotube monoparoï (Single-Walled Carbon Nanotubes, SWCNT) ne possède qu'un feuillet enroulé sur lui-même. Leur diamètre moyen est de 1,4 nm [186]. Un nanotube multiparoï (Multi-Walled Carbon Nanotubes, MWCNT), possède au minimum deux feuillets de graphène, empilés de façon coaxiale et espacés d'environ 0,34 nm, soit la distance entre deux plans de graphène dans le graphite. Leur diamètre moyen est de 10 nm pour les plus courants [186] et varie en fonction des conditions de synthèse.

La **Figure 1-22** ci-dessous représente schématiquement ces nanotubes:



**Figure. 1.22.** Représente schématiquement ces nanotube

### 1.3. Conclusion

Tous les capteurs comportent généralement deux parties distinctes : la première partie, qui a un rôle dans la détection d'un événement, et la deuxième partie, qui a un rôle dans la traduction de l'événement en une grandeur électrique en général.

Pour choisir correctement un capteur, vous devez d'abord sélectionner. Le type d'événement à détecter, la nature et la taille de l'événement, et l'environnement de l'événement.

Malgré le coût relativement important des enzymes, de nombreux biocapteurs enzymatiques ont été développés en laboratoire et certains ont été commercialisés. Chaque type de biocapteur comporte des points forts et des points faibles. Le manque de stabilité durable de ces capteurs est souvent le plus problématique. Le nombre important d'enzymes commercialement disponibles a contribué au développement des biocapteurs enzymatiques. Leur contribution permet d'élargir l'application des biocapteurs dans des domaines différents.

# Chapitre 02

## TECHNIQUES D'ANALYSES ELECTROCHIMIQUES

---

### 2.1. Introduction

L'analyse électrochimique regroupe l'ensemble des méthodes d'analyses quantitatives. celles –ci font appel aux propriétés électrique d'une solution lorsque celle-ci par fait partie d'une cellule électrochimique.

Les méthodes électrochimiques sont basées sur les réactions d'oxydoréduction qui sont le siège d'un échange d'électrons entre L'oxydant et le réducteur.

Elles sont capables d'atteindre des limites de détection très basses et de fournir de nombreuses information concernant le système étudié parmi celles-ci nous pouvons citer : la stœchiométrie et la vitesse de transfert de charge aux interfaces, la vitesse de transport de matière, le degré d'adsorption ou de chimisorption, les vitesses et les constantes d'équilibre des réactions chimiques. Pour ce faire, le suivi des paramètres potentiel (E), courant (I), et temps(t), est réalisé dans une cellule électrochimique à trios électrodes.

Les bases et les application de L'électrochimie ont commencé avec le début de L'électricité et sont appuyées essentiellement sur la thermodynamique et sur des techniques expérimentales électriques utilisant la loi de Faraday pour déterminer le nombre d'espèces impliquées dans tel ou tel processus : mesures galvanostatique, ou L'on impose une densité de courant et où l'on mesure le potentiel de l'électrode par rapport à une électrode de référence ; mesures potentiostatique ou c'est le potentiel qui est contrôlé et la densité de courant mesurée : signalons qu'une des techniques les mieux adaptées à l'étude des électrodes solides est la Voltamétrie cyclique. chaque <<événement>> interfacial est détecté par un pic de courant positif (oxydation) ou négatif (réduction) dont l'analyse en fonction de la vitesse de balayage en potentiel, de la concentration et du pH de la solution, des limites de potentiel ... permettent de remonter à la description du processus interfacial. Ce pendant, ces techniques n'ont pas de spécificité chimique et ne permettent pas d'identifier les espèces impliquées dans la réaction.

## 2.2. Techniques électrochimiques

Les techniques évoquées ci-après nécessitent l'utilisation d'une cellule à trois électrodes comprenant une électrode de travail, une contre-électrode et une électrode de référence. La chaîne de mesure est constituée d'une interface électrochimique solartron 1287 Pilotée par un ordinateur grâce au logiciel Potentiostat/galvanostat provenant de la même compagnie.

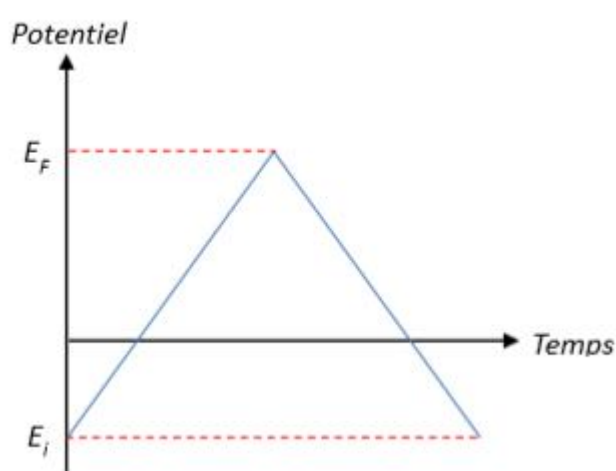
### 2.2.1. Voltampérométrie cyclique

#### 2.2.1.1. Définition

La voltamétrie est une technique d'électroanalyse basée sur la mesure du flux de courant résultant de la réduction ou de l'oxydation des composés tests présents en solution sous l'effet d'une variation contrôlée de la différence de potentiel entre deux électrodes. Elle permet d'identifier et de mesurer quantitativement un grand nombre de composés (cations, anions) et également d'étudier les réactions chimiques incluant ces composés [1].

#### 2.2.1.2. Principe

La Voltampérométrie cyclique permet de connaître le comportement redox d'un système, en particulier dans le cas des composés de coordination. Cette technique consiste à mesurer le courant d'une électrode de travail en fonction d'une différence de potentiel variable imposée entre cette électrode et une électrode de référence. Ce potentiel varie de façon linéaire entre deux valeurs limites  $E_i$  (potentiel initial) et  $E_f$  (potentiel final).



**Figure 2.1.** Evolution du potentiel en fonction du temps en Voltamétrie cyclique.

Avec une vitesse de balayage  $v$ , nous avons, dans le cas de l'oxydation,  $E(t)=E_i+vt$  (balayage aller) et  $E(t)=E_f-vt$  (balayage retour), le potentiel étant balayé dans le sens inverse pour la réduction.

D'après le voltampérogramme obtenu dans le cas d'un système réversible (Figure II- 2), on déduit les paramètres  $i_{pc}$  et  $i_{pa}$  correspondant respectivement au courant de pic cathodique et au courant de pic anodique ainsi que les deux potentiels associés  $E_{pc}$  et  $E_{pa}$ . Le rapport  $[Ox]/[Red]$  à la surface de l'électrode obéit à tout moment à l'équation de Nernst :



$$E = E^\circ + \frac{RT}{nF} \ln \frac{a_{ox}}{a_{red}} \quad (2.2)$$

**R** : constante des gaz parfaits.

**F** : constante de Faraday.

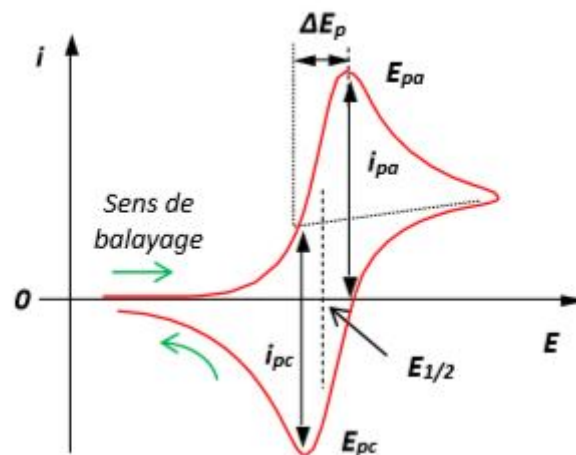
**T** : température absolue.

**E°** : potentiel standard.

(Ox) et (Red), ils sont respectivement les activités relatives des espèces oxydante et réductrice.

Dans le cas d'un système réversible, un exemple de voltammogramme typique obtenu en CV avec les principales grandeurs caractéristiques est représenté sur la **figure 2.2**

#### a. Système réversible



**Figure 2.2.** Voltampérogramme pour un système réversible.

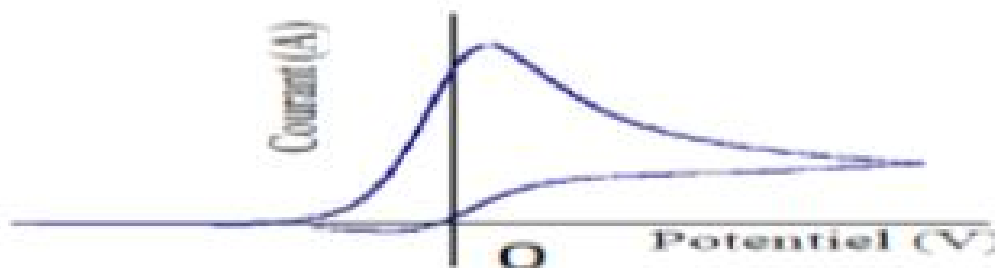
Avec  $E_{pa}, E_{pc}$  Potentiels de pic anodique et cathodique.

$E_{1/2}$  : Potentiel de mi-vague.

$i_{pa}, i_{pc}$  : Courants de pic anodique et cathodique.

$\Delta E_p$  : Différence de potentiel du pic anodique et cathodique.

### b. Système irréversible



**Figure 2.3.** Voltamogramme cyclique d'un système irréversible

Au départ, seule l'espèce Red est en solution, le potentiel initial est choisi pour qu'aucune conversion électrochimique n'ait lieu. Lorsque le potentiel augmente, l'équation de Nernst impose l'augmentation de la concentration en espèce Ox et on observe donc une augmentation du courant anodique au fur et à mesure que la conversion Red /Ox se fait. Le courant augmente jusqu'à ce que le potentiel devienne suffisamment positif pour que la concentration en Red soit négligeable à la surface de l'électrode. À ce moment, l'intensité diminue car la concentration en Red est uniquement maintenue par la diffusion depuis la solution.

La comparaison de l'allure des courbes cathodiques et anodiques permet de déterminer si l'échange électronique à l'électrode correspond à un processus réversible ou non. Ainsi, lorsque l'échange électronique à l'électrode de travail est suffisamment rapide et que les coefficients de diffusion des formes oxydante et réductrice sont voisins, le couple est électrochimiquement réversible. Dans ce cas, le potentiel standard apparent

$$E^{\circ} = (E_{pa} + E_{pc})/2 \quad (2.3)$$

La séparation entre les deux pics permet de déterminer le nombre  $n$  d'électrons échangés au cours de la réaction. En effet, lors de balayages en potentiels successifs,  $i_{pc}$  décroît et  $i_{pa}$  croît jusqu'à l'obtention d'un régime stationnaire. Dans ces conditions, à 25 °C, nous avons :

$$DEp = E_{pa} - E_{pc} = 0,059/n \quad (2.4)$$

De plus, si les produits et réactifs sont stables, on doit avoir  $i_{pa}/i_{pc} = 1$ .

Dans le cas d'un système irréversible,  $DEp$  est supérieure à  $0,059/n$  et le rapport  $i_{pa}/i_{pc}$  est différent de 1. En effet, d'autres facteurs sont responsables de l'augmentation de  $DEp$  tels que la vitesse de balayage, le potentiel d'inversion et la chute ohmique qui n'est pas toujours négligeable dans les milieux non aqueux. Néanmoins, la valeur  $(E_{pa} + E_{pc})/2$  permet de donner une valeur approximative réaliste du potentiel du système redox étudié [3], permettant de montrer l'influence des différents substituants et la nature des atomes coordonnés sur le pouvoiroxydo – réducteur de ces composés.

La surface des pics de courant peut être utilisée afin de calculer le taux de recouvrement selon l'équation suivante [4]:

$$T = Q / nFs \quad (2.5)$$

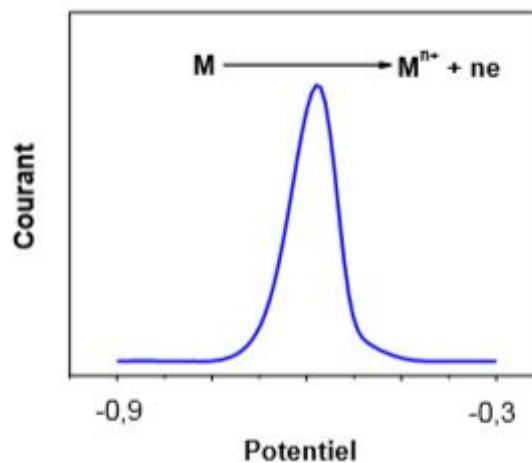
Avec :

**T** : Le taux de recouvrement ( $\text{mol.cm}^{-2}$ ) ;

**Q** : La charge après soustraction de la contribution capacitive (C) ;

**n** : Le nombre d'électrons transférés par molécule adsorbée ;

**F** : La constante de Faraday ( $96485 \text{ C. mol}^{-1}$ ) ;



**Figure 2.4:** Réponse en courant typique d'un voltammogramme à vague carrée.

L'intensité de courant du pic ( $I_p$ ) est directement proportionnelle à la concentration des analytes correspondants, le potentiel de pic ( $E_p$ ) correspond au potentiel de demi-vague observé en voltampérométrie classique. Le pas de potentiel  $\Delta E_p$ , la période  $\tau$  et l'amplitude de l'impulsion  $|\Delta E_s|$  sont les trois paramètres susceptibles d'influencer la largeur et la hauteur du pic et par conséquent la résolution et la sensibilité de la méthode [6], [7].

### 2.3. Conclusion

Les méthodes électrochimiques sont basées sur les réactions d'oxydoréduction qui sont le siège d'un échange d'électrons entre l'oxydant et le réducteur.

Elles sont capables d'atteindre des limites de détection très basses et de fournir de nombreuses informations concernant le système étudié parmi celles-ci nous pouvons citer : la stœchiométrie et la vitesse de transfert de charge aux interfaces, la vitesse de transport de matière, le degré d'adsorption ou de chimisorption, les vitesses et les constantes d'équilibre des réactions chimiques. Pour ce faire, le suivi des paramètres potentiel, courant, et temps, est réalisé dans une cellule électrochimique à trois électrodes. Cependant, ces techniques n'ont pas de spécificité chimique et ne permettent pas d'identifier les espèces impliquées dans la réaction.

## *Chapitre 03*

# ELABORATION D'UN NOUVEAU BIOCAPTEUR A BASE DE NANOTUBES DE CARBONE POUR LA DETECTION DES IONS DU ZINC DANS UNE SOLUTION AQUEUSE

---


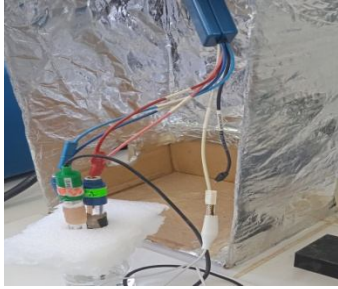

### 3.1. Introduction

Ce chapitre présente les techniques expérimentales que nous avons utilisées au cours de la thèse. On présente ensuite la Voltamétrie cyclique vient confirmer les phénomènes interraciaux ; les courbes simulées et les réponses électrochimique obtenues expérimentalement permet d'évaluer certains paramètres spécifiques tel que la linéarité, la sensibilité, limite de détection. dont l'objectif est de construire une membrane à base de polymère qui est l'aniline sur lequel une nanotube de carbone et chitosane est polymérisation de PANI et déposition de nanotube de carbone, chitosane et Benz crown sur une électrode de carbone vitreux afin de détecter des ions de zinc et de cadmium.

Dans un premier temps, nous allons détailler le protocole expérimental de l'extraction de nanotube de carbone et chitosane de la détection de zinc.

Par la suite, nous allons présenter les résultats et leurs discussions.

## 3.1.1. Appareillage

Nom	Illustration	Informations supplémentaires
<b>Potentiostat/galvanostat EC-LAB</b>		permis d'analyser les diagramme afin de déterminer les circuits électroniques équivalents aux cellule.
<b>Cellule électrochimique</b>		utilises pour effectuer les mesures électrochimiques Les trois électrodes sont l'électrode de travail, l'électrode de référencé et la contre électrode
<b>Cellule avec support</b>		Utilisé pour contient l'électrolyte

**Tableau 3.1.**Appareillage et montage utiliser.

Les électrodes utilisées sont les suivants :



**Figure 3.1.** De gauche à droite, électrode de travail, contre électrode et électrode de référence.

- **Électrode de travail**

C'est une électrode sur laquelle s'effectuent des réactions d'oxydo-réduction, dans le présent travail, elle est à base de Carbone vitreux d'un diamètre de 3 mm.

- **Contre-électrode**

L'électrode auxiliaire est utilisée d'une part pour permettre au courant de circuler dans la cellule sans endommager l'électrode de référence, et d'autre part de minimiser les effets de la chute ohmique, généralement elle est en platine de 1mm de diamètre.

- **Électrode de référence**

L'électrode de référence sert uniquement à mesurer des variations de potentiel, car elle reste à un potentiel fixe grâce à une concentration maintenue constante en ions en son sein, elle est à base de Ag/Ag Cl Calomel saturé (ECS) en chlorure de Potassium (KCl) constituée par le système calomel (chlorure mercureux/mercure+chlorure de potassium)  $[Hg/Hg_2Cl_2/KCl]$ .

### 3.2. Description du dispositif expérimental

L'appareillage permettant d'effectuer les mesures en courant continu est constitué d'une cellule électrochimique de trois électrodes connectées à l'EC-LAB.

Ces électrodes sont : l'électrode de travail, l'électrode de référence et la contre électrode (ou électrode auxiliaire). L'électrode de travail est l'électrode où les analytes réagissent et la demi-réaction d'intérêt se produit. Le transfert d'électron de la réaction se déroule à la surface de l'électrode de travail. L'électrode de référence permet d'appliquer un potentiel connu à l'électrode de travail. La seconde demi-réaction se produit à la contre-électrode et le courant issu de la réaction globale est mesuré entre l'électrode de travail et la contre-électrode. La réaction qui se produit à la

contre-électrode ne doit pas être déterminante, elle ne doit pas régir le courant global. Ainsi, la contre-électrode doit avoir une grande surface (de sorte que le courant ne soit pas limité par sa surface) et elle doit être suffisamment éloignée de l'électrode de travail pour que la réaction à la contre-électrode n'interfère pas avec la réaction se produisant à l'électrode de travail.

#### – Cage faradique

Une cage de Faraday est souvent utilisée lorsque l'on désire effectuer des mesures précises en électronique, en électricité.

#### – Electrolyte

est une substance, ou un composé, qui à l'état liquide ou en solution, permet le passage du courant électrique, par déplacement d'ions. Dans ce travail on utilise le tampon acétate comme électrolyte.

#### – Agitation

une opération utilisée de manière totalement expérimentale, consiste sur un barreau magnétique permet d'homogénéiser un mélange de façon automatique, la durée pour obtenir un degré d'homogénéité défini.

### 3.2.1. Composé chimique

Dans notre travail on utilise les produits suivants :

- ✓ Analyte : acétate de buffer.
- ✓ benzo-18-crown-6 ( $C_{16}H_{24}O_6$ ).
- ✓ Polymère: (polyaniline PANI).
- ✓ Acide Sulfurique  $H_2SO_4$  ( $M=98,08/mol$ ).
- ✓ mercuric chloride  $HgCl_2$ .

## 3.3. PROCEDURES EXPERIMENTALES

### 3.3.1. Préparation de solution tampon de buffer PH=4,5

(Solution d'acétate de sodium 0,1 M) : Peser 8.2g d'acétate de sodium dihydraté dans une fiole jaugée d'un litre et on ajoute 5.75 ml d'acide acétique et après ajout 800 ml d'eau déminéralisée. Mélanger et dissoudre le mélange et mesurer le pH jusqu'à obtention de PH=4.5.

### 3.4. Protocol 1

#### 3.4.1. Nettoyage de l'électrode de travail

Il est indispensable de précéder au nettoyage que l'électrode de travail avant toute analyse. Le nettoyage de surface est un traitement qui s'avère nécessaire pour ces électrodes à cause de leur épaisseur et de leurs différentes conceptions.

Nettoyage de l'électrode par acéton pendant 10min



**Figure 3.2.**Nettoyage des électrodes d'acétone avec Fisherbrand FB15047.

Le premier nettoyage consiste à enlever la couche de la matière organique sur la surface d'électrode. on utilise principalement de l'acétone. l'échantillon est soumis à l' ultrason pendant 10 minutes.

La deuxième étape de nettoyage est la plus importante.

En effet, l'électrode de carbone vitreux est nettoyée en utilisant un papier de polissage suivi d'un nettoyage électrochimique avec la solution NaOH (0,5M), dont la surface de carbone vitreux est alors activée en milieu basique en imposant une série de balayages en potentiel de (-1V à +1V) à une vitesse de 50mV/s pendant 20 cycles, ce qui permet de produire de l'hydrogène à la surface par l'électrolyse de l'eau dans la soude et conduit à une surface propre et réduite, la stabilisation du voltamogramme indique la fin du nettoyage et que toute les impuretés sont désorbées.

#### 3.4.2. Préparation des échantillons

La solution mère de Nitrate de cadmium tétra hydraté ( $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ) a été préparée à une concentration de  $10^{-1}$  mol/l (1.5424 g de Nitrate de cadmium dissous dans un volume de 25 ml de solution tampon.) Les solutions filles ont été diluées dans des solutions acétate de buffer à partir de

la solution mère ( $10^{-1}$  mol/l) jusqu'à une concentration de  $10^{-14}$  mol/l « Figure. ».



**Figure 3.3.** Dilution de nitrate de cadmium.

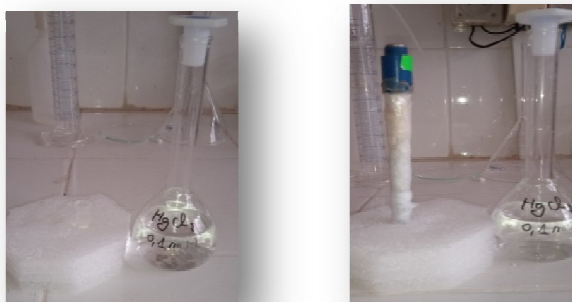
### 3.4.3. Préparation du capteur électrochimique

#### 3.4.3.1. Dépôt électrochimique d'aniline

L'électrode de Carbone vitreux a été modifiée par la synthèse d'un film de polyaniline (PANI) par l'application d'un potentiel à la solution monomère d'aniline (0.1M aniline; 0,5M  $H_2SO_4$ ) en appliquant la Voltamétrie cyclique (CV) pour 15 cycles à un potentiel de -0.2V, à +1,2V et une vitesse de 50mV/s après, l'électrode est lavée doucement avec PBS et séchée à l'air libre.

#### 3.4.3.2. Activation de la surface du carbone vitreux

L'électrode de carbone vitreux modifiée GCE-PANI a été placée dans 10  $\mu$ l de glutaraldéhyde (0,5%) pendant une heure à 25°C (température ambiante) (GCE-PANI-GA), lavée au PBS et émergée l'électrode dans la solution de Mercuric chloride  $HgCl_2$  (0.1Mm) pendant une nuit à la température ambiante, après elle est rincée pour éliminer l'électrode non liée au Mercuric et stockée dans le PBS toujours à température ambiante (GCE-PANI-GA-FMM).



**Figure 3.4.** Incubation de l'électrode de carbone vitreux modifié par le PANI dans la solution de Mercuric chloride ( $HgCl_2$ ).

Dans ce travail, la matrice hôte est la polyaniline PANI où on a utilisé le glutaraldéhyde pour  $\text{HgCl}_2$ . Le GA est un dialdéhyde qui forme une liaison covalente entre son groupe aldéhyde et un groupe amine de la molécule de liaison formant un groupe amide. Dans le cas présent, un groupe fonctionnel  $-\text{CHO}$  du glutaraldéhyde réagit avec le groupe amine des chaînes PANI à une extrémité et l'autre groupe de cet aldéhyde réagit avec le groupe amine.

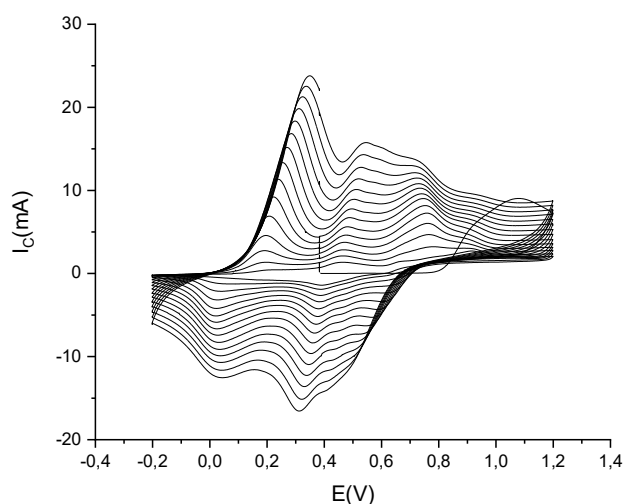
#### 3.4.4. Résultat et discussion

- **Caractérisation**

Cette étape est pour caractériser la surface de l'électrode après le dépôt de  $\text{HgCl}_2$  (Mercuric chloride) sur le polymère aniline, ceci est réalisé en émergeant l'électrode dans la solution de ferrocyanure ferrique et par l'application de la Voltamétrie cyclique avec les paramètres suivants (potentiel de  $-0,8\text{V}$  à  $0,8\text{V}$ , à une vitesse de  $80\text{mV/s}$ , pendant 5 cycles).

- **Dépôt électrochimique d'aniline**

montre l'allure de l'électrodéposition du film PANI sur l'électrode voltamètre cyclique (CV) de tous les cycles (15 cycles). Le dépôt électrochimique d'aniline (électro-polymérisation) est une méthode écologique et souhaitable par rapport à la méthode chimique. La solution déchargée du processus électrochimique peut être facilement traitée, car aucun oxydant ou un surfactant non toxique est impliqué dans le processus et la solution de polymérisation qui peut être utilisée à plusieurs reprises. Un autre avantage de ce procédé est que le film de polyaniline peut être déposé sur les matériaux de substrat à la quantité et à l'épaisseur souhaitée en une seule étape.



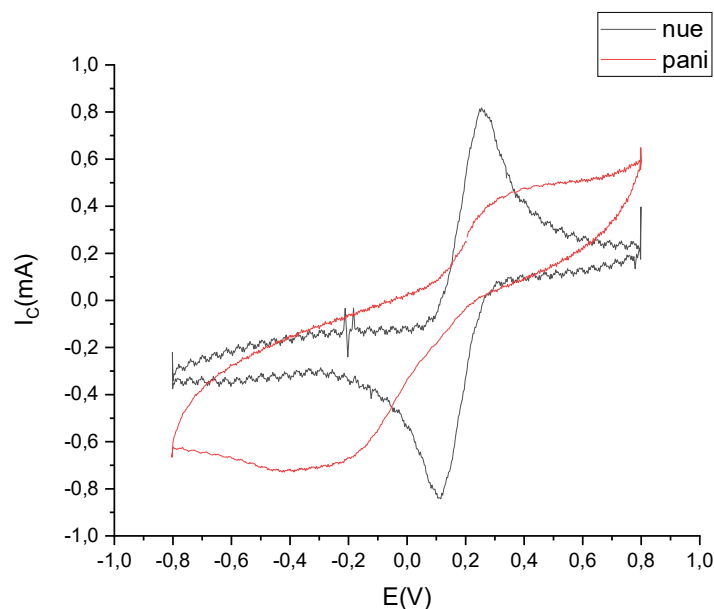
**Figure 3.5.** Voltamogrammes cycliques (15 cycles) de l'électrodéposition du film de polyaniline (PANI) sur l'électrode de carbone vitreux dans une solution de  $0,1\text{M}$  aniline et  $0,5\text{M}$   $\text{H}_2\text{SO}_4$  à un potentiel de  $-0,2\text{V}$  à  $+1,2\text{V}$  et à de scan une vitesse  $50\text{mV/s}$ .



**Figure 3.6.** Reflet vert formé du film PANI à la surface de l'électrode de carbone vitreux.

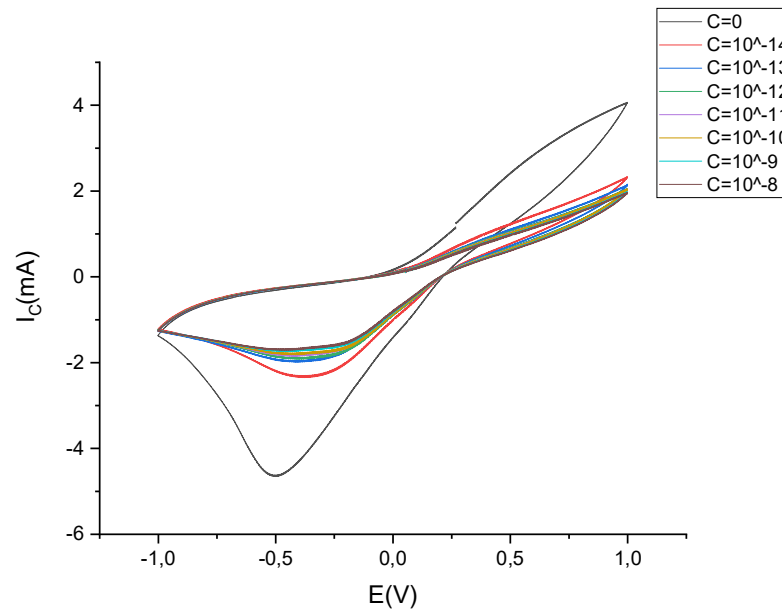
- **Caractérisation**

Après la polymérisation de PANI une caractérisation au ferrocyanure ferrique (de  $-0,8\text{V}$  à  $+0,8\text{V}$  et une vitesse de  $80\text{mV/s}$  durant 5 cycles) est faite pour voir la surface de l'électrode de carbone vitreux.



**Figure 3.7.** Voltamogramme cyclique des électrodes : CV nue, CV-PANI dans la solution de ferrocyanure ferrique de Potassium à un potentiel de  $-0,8\text{V}$  à  $+0,8\text{V}$ , à une vitesse  $80\text{mV/s}$ .

Le processus de  $\text{HgCl}_2$ , explique la formation d'une couche qui réduit le pic de courant de l'oxydoréduction au surface de l'électrode de carbone vitreux nue, et l'apparition d'un pic anodique de PANI à un potentiel de  $-0,5\text{V}$ , ceci est expliqué par les propriétés structurales de (présence d'acides aminés portant des fonctions amines  $\text{NH}_2^+$ , que nous allons voir par la suite).



**Figure 3.8.** Voltamogramme cyclique des électrodes de détection de  $\text{Cd}^{+2}$  par l'électrode de carbone vitreux modifiée PANI/GA/ $\text{HgCl}_2$  à un potentiel de -1V à +1 V et à de scan une vitesse 80mV/s.

Nous pouvons voir sur le graphique qui nous représente voltamogrammes cycliques de détection de cadmium par l'électrode de carbone vitreux GCE-PANI-GA- $\text{HgCl}_2$ , après modification de l'électrode de carbone vitreux en remarque il y a une petite variation de détection pour chaque concentration et que le cadmium n'est pas détecté.

### 3.5. Protocol 2

#### 3.5.1. Nettoyage de l'électrode de travail

Il est indispensable de précéder au nettoyage que l'électrode de travail avant toute analyse. Le nettoyage de surface est un traitement qui s'avère nécessaire pour ces électrodes à cause de leur épaisseur et de leurs différentes conceptions.

Nettoyage de l'électrode par acétone pendant 10min.



**Figure 3.9.** Nettoyage des électrodes d'acétone avec Fisherbrand FB 15047.

Le premier nettoyage consiste à enlever la couche de la matière organique sur la surface d'électrode. On utilise principalement de l'acétone. L'échantillon est soumis à l'ultrason pendant 10 minutes.

La deuxième étape de nettoyage est la plus importante.

En effet, l'électrode de carbone vitreux est nettoyée en utilisant un papier de polissage suivi d'un nettoyage électrochimique avec la solution NaOH (0,5M), dont la surface de carbone vitreux est alors activée en milieu basique en imposant une série de balayages en potentiel de (-1V à +1V) à une vitesse de 50mV/s pendant 20 cycles, ce qui permet de produire de l'hydrogène à la surface par l'électrolyse de l'eau dans la soude et conduit à une surface propre et réduite, la stabilisation du voltamogramme indique la fin du nettoyage et que toutes les impuretés sont désorbées.

### 3.5.2. Préparation du capteur électrochimique

#### 3.5.2.1. 1. Dépôt électrochimique d'aniline

L'électrode de Carbone vitreux a été modifiée par la synthèse d'un film de polyaniline (PANI) par l'application d'un potentiel à la solution monomère d'aniline (0.1M aniline; 0,5M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) en appliquant la voltamétrie cyclique (CV) pour 15 cycles à un potentiel de -0.2V, à +1,2V à une vitesse de 50mV/s après, l'électrode est lavée doucement avec l'eau et séchée à l'air libre.

#### 3.5.2.2. Préparation de échantillons

##### a. Cadmium Cd<sup>2+</sup>

La solution mère du nitrate de cadmium tétra hydraté (Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O) a été préparée, est une concentration de 10<sup>-1</sup>mol/l (1.5424 g de nitrate de cadmium dissous dans un volume de 50 ml acétate de buffer).

Les solutions filles ont été diluées dans des solutions acétate de buffer à partir de la solution mère (10<sup>-</sup>

$10^{-16}$  mol/l jusqu'à une concentration de  $10^{-10}$  mol/l)



**Figure 3.10.**Dilution de nitrate de cadmium.

### 3.5.2.3. Préparation de échantillons

#### a. Zinc $Zn^{+2}$

La solution mère du nitrate de zinc  $Zn(NO_3)_2$  a été préparée à une concentration de  $10^{-1}$  mol/l (dissous dans un volume de 50 ml acétate de baffle).

Les solutions filles ont été diluées dans des solutions acétate de baffle à partir de la solution mère ( $10^{-10}$  mol/l jusqu'à une concentration de  $10^{-16}$  mol/l).



**Figure 3.11.**Dilution de nitrate de zinc.

### 3.5.3. Dépôt de nanotube de carbone, chitosane et Benzocrown

#### 3.5.3.1. Dépôt des nanotube de carbone et chitosane

Dans une solution de acide acétique 1 %(2,5ml) on ajout 5 mg nanotube de carbone et 5 mg chitosane après agitation 5 min et après dépôt de 15  $\mu$ l par dépôt chimique sur la surface d'électrode de PANi puis séché pendant 2h à une température ambiante.



**Figure 3.12.** Dépôt de nanotubes de carbone et de chitosane sur la surface de l'électrode polyaniline/ nue.

### 3.5.3.2. Dépôt de Benzocrown

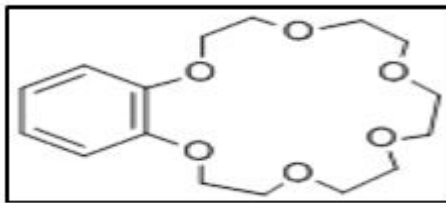
Dans une solution acétate de buffer 0,1 M de volume 1.5 ml en ajout 5,5mg de Benzocrown après agitation ; on met une goutte de cette solution sur la surface de l'électrode modifiée et sécher à l'air ambiante pendant 2h à une température ambiante.



**Figure 3.13** Benz crown et acétate de buffer sur la surface de l'électrode nanotube de carbone et de chitosane.

**Benz-18-crown-6 :** Formule moléculaire :  $C_{16}H_{24}O_6$

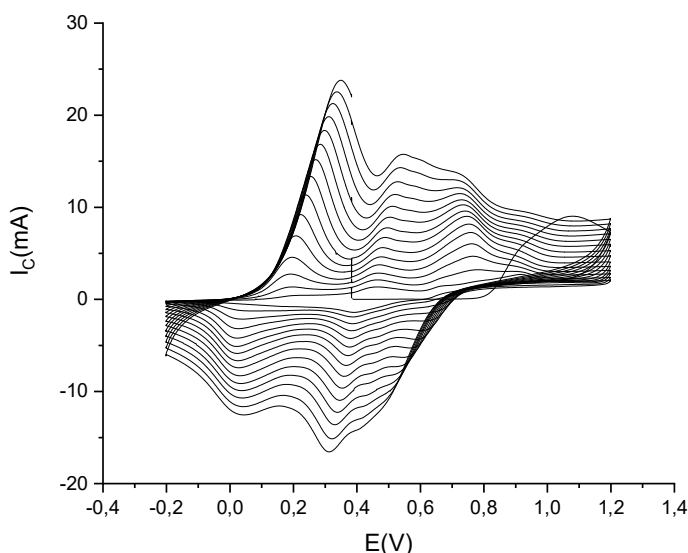
Constantes de formation dans l'eau de benzo-18-couronne-6 (B18C6) complexes d'ions -métal et la solubilité de B18C6 dans l'eau ont été déterminés à 25 ° C par conductimétrie ou potentiométrie avec des électrodes sélectives d'ions et spectrophotométrie, respectivement. Les séquences de sélectivité des B18C6 pour les ions métalliques dans l'eau sont  $Pb^{2+} > Ba^{2+} > Sr^{2+} > Ag^+ > K^+ > TI^+ > Na^+ > Rb^+$ . Dans chaque cas, des ions de métaux alcalins et alcalino-terreux, plus près d'un ion métallique entre dans la cavité B18C6, plus stable est le complexe d'ion métallique B18C6.



**Figure 3.14.** Benzo-18-crown-6.

### 3.6. Résultat et discussion

#### Dépôt électrochimique d'aniline



**Figure 3.15.** Voltammogrammes cycliques (15 cycles) de l'électrodéposition du film de polyaniline (PANI) sur l'électrode de carbone vitreux dans une solution de 0,1M aniline et 0,5M  $H_2SO_4$  à un potentiel de -0,2V à +1,2V et à de scan une vitesse 50mV/s.

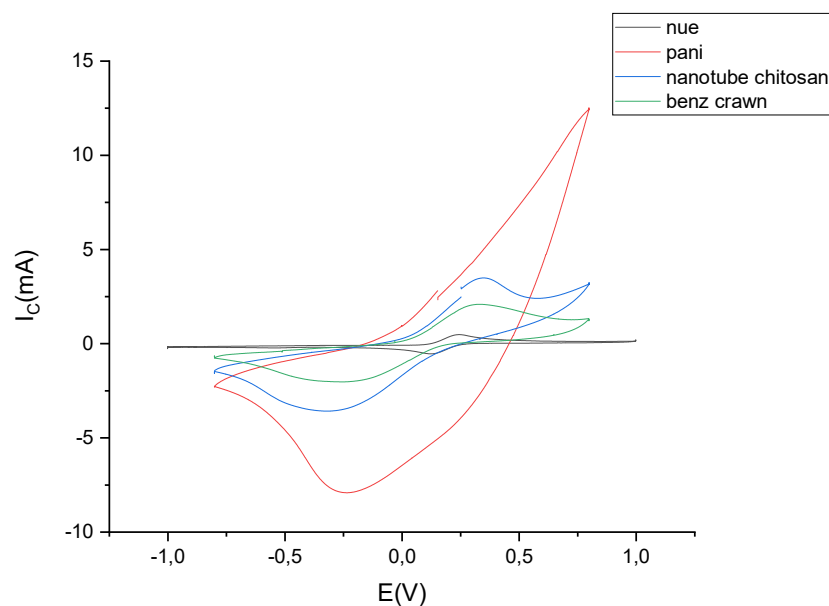
Les propriétés optiques de la polyaniline peuvent être adaptées par transfert d'ions et d'électrons sous une tension appliquée. Ce phénomène est connu sous le nom d'électrochromisme. La PANi est un matériau polyélectrochrome qui a quatre couleurs distinguées qui sont : à l'état complètement réduit est la base leucoéméraldine (LB, jaune), l'état semi-oxydé est le sel d'éméraldine (ES, vert) et la base d'éméraldine (EB, bleu) et enfin, l'état complètement oxydé est la base de pernigraniline (PB, noir / violet) Parmi les quatre états d'oxydation, le vert ES est le plus stable et le plus conducteur. La transition jaune-vert est durable au changement de couleur répétitif même si la forme jaune (LB) n'est pas complètement conjuguée.



**Figure 3.16.** Reflet vert formé du film PANI à la surface de l'électrode de carbone vitreux.

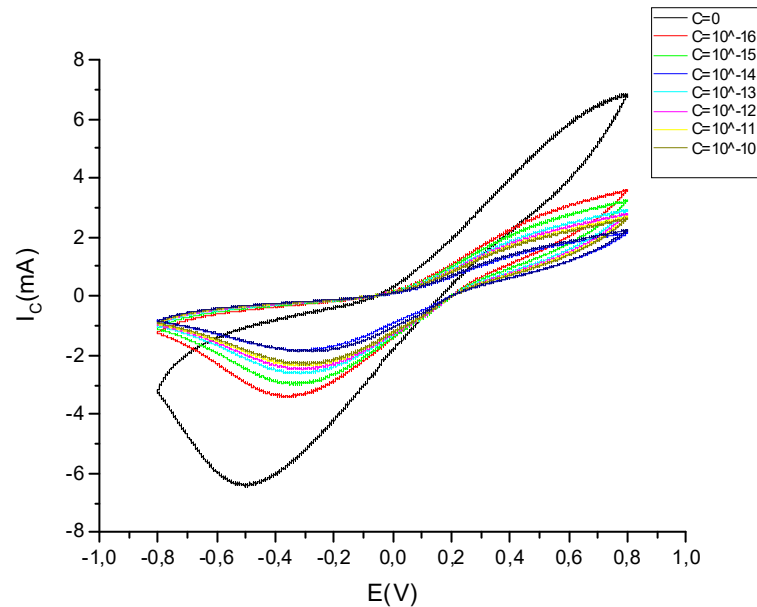
- **Caractérisation**

Après polymérisation de PANI et dépôt électrochimique d'aniline et dépôt nanotube de carbone avec chitosane et dépôt Benz crown une caractérisation au ferrocyanure ferrique (de -1V à +1V et une vitesse de 80mV/s durant 5 cycles) est faite pour voir la surface de l'électrode de carbone vitreux.



**Figure 3.17.** Voltamogramme cyclique des électrodes (a) CV nue, (b) CV-PANI ,CV nanotube de carbone, CV Benz crowns, dans la solution de ferrocyanure ferrique de Potassium à un potentiel de -1V à +1V, à une vitesse 80mV/s.

Le processus de dépositions des nanotube de carbone et chitosane et Benz Crown sur la surface explique la formation d'un couche que à augment le pic de courant de l'oxydoréduction au surface de l'électrode de carbone vitreux nue et l'apparition d'un pic anodique de (**Figure 3.17**)à un potentiel de -0,12V.



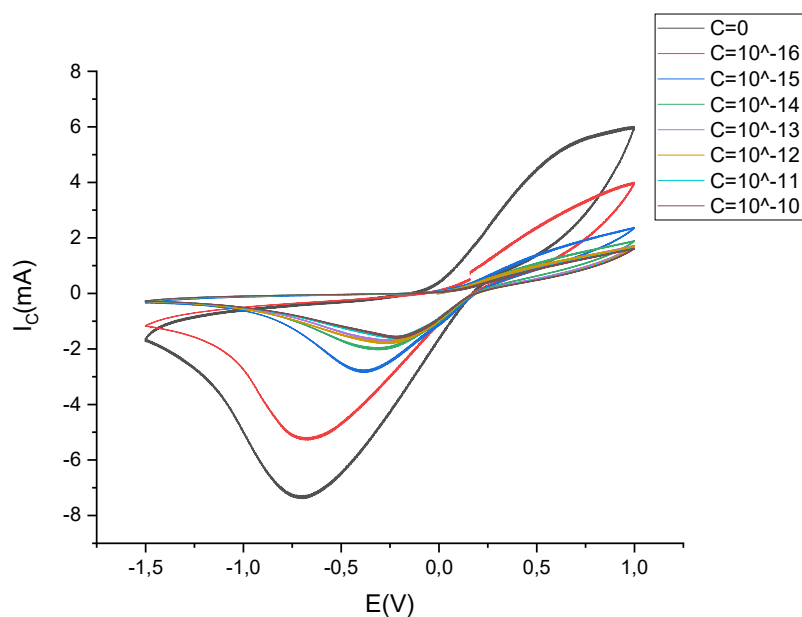
**Figure 3.18.** Voltamogrammes cycliques de détection de  $\text{Cd}^{2+}$  par l'électrode de carbone vitreux modifiée PANI/nanotube de carbone/chitosane/Benz à un potentiel de  $-0,8\text{V}$  à  $+0,8\text{V}$  et à de scan une vitesse  $80\text{mV/s}$ .

Nous pouvons voir sur le graphique qui nous représente voltamogrammes cycliques de détection de par l'électrode de carbone vitreux PANI/nanotube de carbone/chitosane/Benz Après modification de l'électrode de carbone vitreux en remarque Il 'y un petite variation de détection pour chaque concentration et que le cadmium n'est pas détecté.

### 3.6.1. Sensibilité et limite de détection du capteur

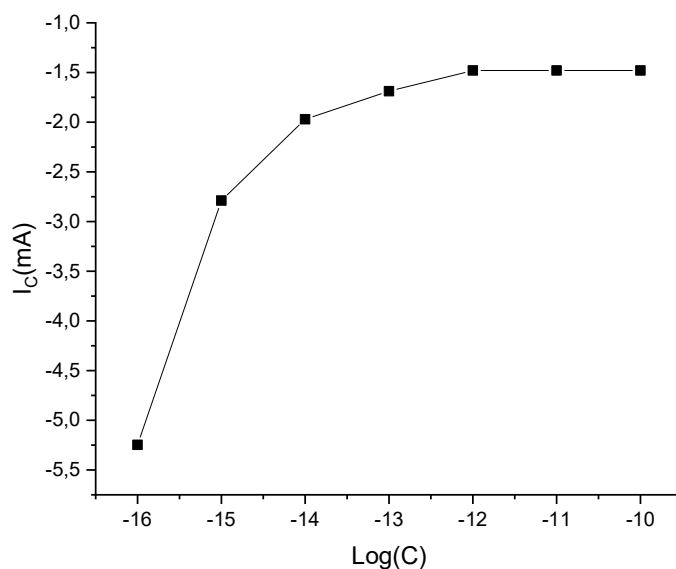
La sensibilité du capteur aux ions du Zinc a été étudiée en utilisant la méthode de Voltamétrie cyclique (CV) dans une solution de tampon composée d'acétate à pH 4,5, les concentrations du  $\text{Zn}^{2+}$  variées entre  $10^{-10}$  à  $10^{-16}\text{mol/l}$ .

La voltampérométrie cyclique consiste à effectuer un balayage aller-retour complet du potentiel appliqué. **Figure 3.19** montre le voltamrnogramrne cyclique avant modification qui laisse apparaître les pics réversibles d'oxydoréduction, ces pics traduisent effectivement le transfert électronique entre le couple présent en solution et la surface de l'électrode de carbone vitreux. après modification, on peut constater une diminution considérable des pics réversibles d'oxydoréduction. Ceci confirme l'effet passivant du film organique électro déposé à la surface de l'électrode de zinc.



**Figure 3.19.** Voltamogrammes cycliques de détection de  $Zn^{+2}$  par l'électrode de carbone vitreux modifiée PANI/nanotube de carbone/chitosane/Benz crown à un potentiel de -1.5V à +1 V et à de scan une vitesse 80mV/s.

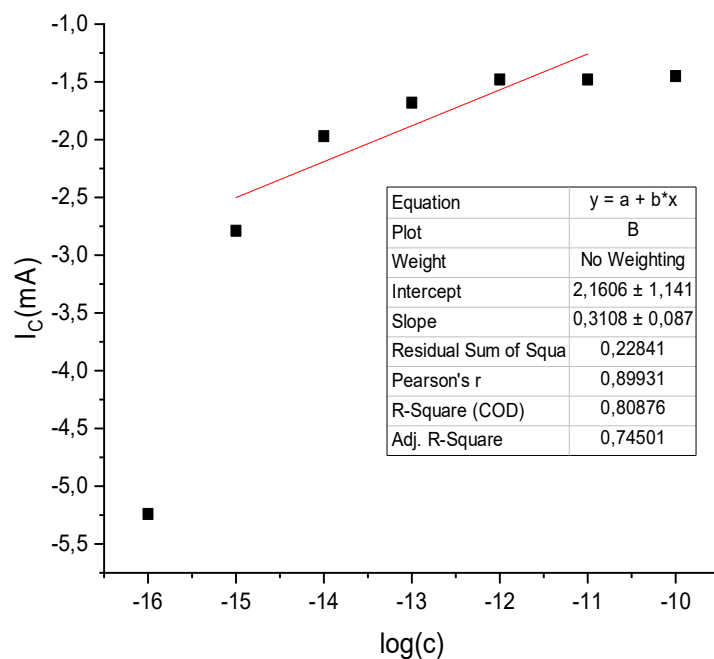
À l'aide de la fonction Fit linear les séries de graphes de voltammétrie cyclique sont modélisées automatiquement. Les graphes de voltammétrie étant composés au maximum de deux boucles, nous avons choisi d'utiliser l'option Fiting, les résultats schématisé sur les 2 figure



**Figure 3.20.** Courbe de calibrage de la voltammétrie cyclique.

**Tableau 3.2.** Tableau montrant la concentration de zinc et La valeur maximale de L'intensité du courant.

Concentration $Zn^{2+}$	Log(c) (mol/L)	$I_c$ (mA)
$10^{-16}$	-16	-5,24
$10^{-15}$	-15	-2,789
$10^{-14}$	-14	-1,97
$10^{-13}$	-13	-1,688
$10^{-12}$	-12	-1,48
$10^{-11}$	-11	-1,48
$10^{-10}$	-10	-1,45



**Figure 3.21.** Linéarisation de l'intensité en fonction de  $\log[C]$ .

$$I_{\max} = 0,31(\pm 0,087) \log(c) + 2,16(\pm 1,141)$$

Une équation de la figure suivante  $Y = a x + b$

$$R^2 = 0,81.$$

D'après «**Figure 3.21.**» on obtient :

une zone de linéarité dans l'intervalle :  $[10^{-15} - 10^{-11}]$ .

Une limite de détection égale à  $10^{-15}$ .

Une sensibilité :  $S = 0,31$ .

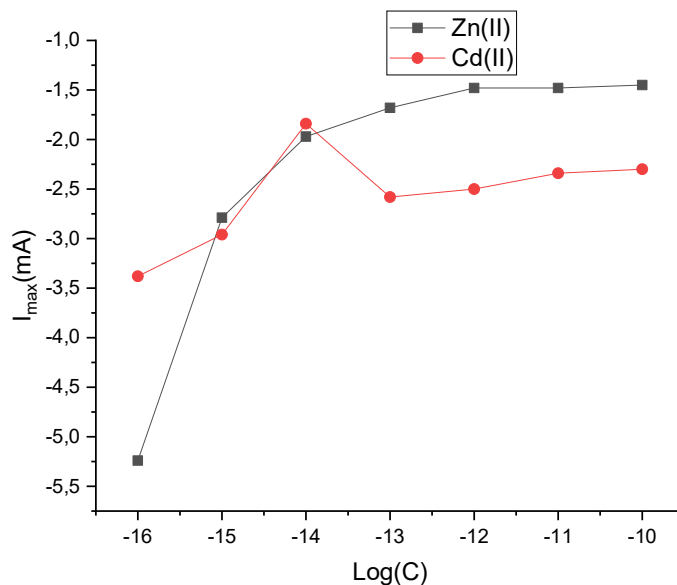
### 3.6.2. Teste de sélective

La sélectivité est un facteur important pour un capteur sensible, elle est définie comme l'aptitude du notre capteur à reconnaître les ions du Zinc parmi les autres ions de métaux lourds, et à donner un signal quantitatif non-perturbé (dans ce travail on a choisi les ions de cadmium).

La réponse du capteur aux ions  $Zn^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$  a été étudiée par la méthode voltamétrie cyclique (CV). Des solutions des ions de Zinc et des cations interférents ont été préparées sur une large gamme de concentration de  $10^{-16}$  à  $10^{-10}$  mol l<sup>-1</sup>, dans des solutions tampon d'acétate à pH 4,5 et sous agitation.

**Tableau 3.3.** Tableau montrant la concentration de zinc et cadmium et la valeur maximale de l'intensité du courant.

Concentration des ions $Zn^{2+}$ et $Cd^{2+}$	Log(c) (mol/l)	$I_c$ (mA) (pour $Zn^{2+}$ )	$I_c$ (mA) <sup>+</sup> , (pour $Cd^{2+}$ )
$10^{-16}$	-16	-5,24	-3,38
$10^{-15}$	-15	-2,789	-2,96
$10^{-14}$	-14	-1,97	-1,84
$10^{-13}$	-13	-1,688	-2,58
$10^{-12}$	-12	-1,48	-2,5
$10^{-11}$	-11	-1,48	-2,34
$10^{-10}$	-10	-1,45	-2,3



**Figure 3.22.** Linéarisation de détection de cadmium et zinc de l'intensité en fonction  $\log(c)$ .

Les résultats obtenue comprend la spécificité d'un capteur électrochimique par l'adjonction de la couche chimiquement sensible ; après les résultats obtenus on remarque dans la couche de  $I_{\max}$  en fonction du  $\log(C)$  et après la courbe de courant en fonction de potentiel la variation du pic de réduction de  $Zn^{+2}$  que  $Cd^{+2}$ .

Toutefois les caractéristiques des capteurs (sensibilité et sélectivité) dépendent non seulement des couches sensibles mais aussi des structures des trois électrodes, des tensions appliquées et du type de dépôts réalisé.

### 3.7. Conclusion

Ce travail analytique est porté d'une part sur l'étude caractéristique des méthodes électrochimique présenter dans notre travail ; la Voltamétrie cyclique.

Une nouvelle électrode sélective de carbone vitreux à base d'une membrane de polyaniline et de nanotube de carbone a été élaborée et proposée pour la détection d'ions du Zinc.

. L'électrode de carbone vitreux à base nanotube de carbone présente une réponse élevée et une bonne sélectivité vis-à-vis de la détermination du  $Zn^{+2}$  en milieu acide à **pH 4,5**. Le capteur développé présente des performances électrochimiques avancées avec une faible **limite de détection** d'environ  $10^{-15}$  mole/l et une large **gamme linéarité** de  $10^{-10}$  à  $10^{-15}$  mol l<sup>-1</sup> et une meilleure sélectivité comparée aux ions de Cadmium.

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

---

## CONCLUSION GÉNÉRALE

---

Les instruments classiques d'analyse pour la détection d'une espèce (bio) chimique sont généralement complexes, coûteux, volumineux et souvent difficiles à mettre en œuvre. Alors, ils font face à l'avènement des capteurs chimiques. Ceux-ci sont des dispositifs souvent simples et compacts transformant le signal (bio) chimique en un signal électrique facilement exploitable. L'intérêt porté aux capteurs électrochimiques ne cesse de croître, stimulé par leurs nombreuses applications. Grâce à leur rapidité, leur simplicité, leurs petites dimensions et leur faible coût par rapport aux techniques "lourdes" d'analyse de l'eau, les capteurs électrochimiques ont pris rapidement une place importante pour le développement industriel. Ils sont pour la plupart issus des techniques de la microélectronique. Ils 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. Ils disposent aussi d'un environnement d'exploitation qui permet notamment le traitement électrique des signaux. Le travail présenté dans ce manuscrit est consacré au développement des capteurs électrochimiques pour des applications environnementales. Malgré leurs avantages importants: compatibilité avec la technologie, rapidité, etc... l'introduction des capteurs chimiques dans la fabrication industrielle est essentiellement freinée par l'adaptation des couches sensibles et leurs techniques de dépôt, par l'encapsulation spécifique et par la fiabilité de l'interface de mesure.

Notre objectif est d'illustrer les diverses potentialités en présentant les travaux de recherche réalisés afin de fonctionnaliser des électrodes métallique à base de polymère qui est l'aniline sur lequel un dépôt électrochimique de nanotube de carbone, chitosane et Benz crown sur une électrode de carbone vitreux afin de détecter de ions de zinc et ions de cadmium. ; et sa caractérisation par la méthode électrochimique de voltammétrie cyclique.

Dans un premier lieu ; la voltammétrie a fait l'objet d'une étude théorique des mécanismes réagissant aux interfaces électrodes modifiée/électrolyte. Le Polyaniline (PANI) a été utilisé en tant que conférer ces propriétés de détection (sélectivité, sensibilité) en utilisant une solution tampon a PH=4.5 a différents concentration ( $10^{-10}$ - $10^{-16}$ ).

La voltampérométrie cyclique consiste a effectuer un balayage aller-retour complet du potentiel applique. Montre le voltamrnogramrne cyclique avant modification qui laisse apparaître les pics réversibles d'oxydoréduction, Ces pics traduisent effectivement le transfert électronique entre le couple présent en solution et la surface de l'électrode de carbone vitreux. Après modification, on

peut constater une diminution considérable des pics réversibles d'oxydoréduction. Ceci confirme l'effet passivant du film organique électro déposé à la surface de l'électrode de zinc.

Après on a optimisé les protocoles de mise en oeuvre des capteurs voltamétrique destinés à la détection des ions  $Zn^{+2}$  et interpréter les différentes mesures.

une bonne sélectivité vis-à-vis de la détermination du  $Zn^{+2}$  en milieu acide à pH 4,5. Le capteur développé présente des performances électrochimiques avancées avec une faible limite de détection d'environ  $10^{-15}$  mole/l et une large gamme linéarité de  $10^{-10}$  à  $10^{-15}$  mol L<sup>-1</sup> et une meilleure sélectivité comparée aux ions de Cadmium.

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

D'une manière générale nous souhaitons approfondir notre vision dans le développement des capteurs chimiques surtout que l'ALGÉRIE accuse un important retard industriel dans ce domaine.

## Références Bibliographiques

- [1] <http://fr.wikipedia.org/wiki/capteur>.
- [2] F. Baudoin, M. Lavabre, capteurs : principes et utilisation cours et exercices résolus, Editions Casteilla, Paris, (2007).
- [3] P. Tramobouze, Le raffinage du pétrole Matériels et équipements, Technip, Paris, 1999,P-667.
- [4] P. Fabry, C. Gondran, Capteurs électrochimiques, Ellipses, Paris, (2008).
- [5] Clark, L.C., Lyon, C., Electrode system for continuous monitoring of cardiovascular surgery. Ann. NY Acad. Sci. 102(1962) 29-45.
- [6] Tran-Minh, C, Les biocapteurs. Principes, constructions et applications, Masson, Paris, (1991).
- [7] Comtat, M., Bergel, A., Biocapteurs: rêve ou réalité indistruelle? Biofur. 171 (1997) 33-36.
- [8] Kumaran Ramanathan, Bengt Danielsson, Review. Principles and applications of thermal biosensors, Biosens. Bioelectron.16 (2001)417-423.
- [9] Frieder Scheller and Florian Schubert, Biosensors: Techniques and instrumentation in analytical chemistry. Vol. 11: 1992: Elsevier.11.
- [10] Weaver J., Cooney C., Fulton S., Schüder S. and Tannenbaum S., Biochim. Biophys. Acta 452(1976)285.
- [11] Smith A.G. and Brooks C.J.W., J. Steroid Biochem. 7(1976)705.
- [12] Danielsson et al., Appl.Biochem.Bioeng., 3(1981)97.
- [13] Matiason B.O., Danielsson B. and Mosbach K., Enzyme thermistor assay of cholesterol glucose, lactose and uric acid in standard solutions as well as in biological samples. Anal. Letters 9(1976)217-234.
- [14] Danielsson B., Matiason B.O., and Mosbach K., Appl. Biochem. Bioeng. 3(1981)97.
- [15] Danielsson B., and Flygare L., Performance of a Thermal Biosensor in Organic Sovents. Sens. Actuators B1 (1990) 523-527.
- [16] Bin Xie and Danielsson B., Development of a thermal micro-biosensor fabricated on a silicon chip. Sens. Actuators B, 6 (1992) 127-130.
- [17] Xie Bin and Ren Shu, A versatile tizermal biosensor, Sensors and Actuators, 19 (1989) 53 – 59.
- [18] Ramanathan K., Jönsson R., Danielsson B., Sol-gel based thermal biosensor for glucose. Anal. Chim. Acta B 427(2001)1-10.
- [19] Mattiasson, B., Danielsson, B., Hermannsson, C., Mosbach, K., Enzyme thermistor analysis of heavy metal ions with use of immobilized urease. FEBS Lett. 85(1978) 203-206.
- [20] Preininger, C., Danielsson B., Thermometric determination of copper (II) using acid urease. Analyst B. 121(1996) 1717-1720.
- [21] Brecht A., Gauglitz G., Optical probes and transducer. Biosens. Bioelectron.10 (1995)923-936
- [22] Bilitewski U., Turner A.P.F., Biosensor for environmental monitoring. (Eds.) Amsterdam, Harwood Academic Publishersv,(2000).
- [23] Mengsu Yang, Hing Leung Chan, Wing Lam, W.F. Fong, Cytotoxicity and DNA binding characteristics of dextran-conjugated doxorubicins. Biochimica et Biophysica Acta 1380(1998) 329-335.
- [24] Bo Lin, Jean Qiu, John Gerstenmeier, Peter Li, Homer Pien, Jane Pepper, Brian Cunningham, A label-

- free optical technique for detecting small molecule interactions. *Biosensors and Bioelectronics* 17 (2002) 827-834.
- [25] Jeong-Woo Choi, Young-Kee Kim, Byung-Keun Oh, Sun-Young Song, Won Hong Lee, Optical biosensor for simultaneous detection of captan and organophosphorus compounds. *Biosens. Bioelectron.* 18 (2003) 591-597.
- [26] Hsiao-Chung Tsai, Ruey-An Doong, Huai-Chih Chiang, Kun-Tien Chen, Sol-gel derived urease-based optical biosensor for the rapid determination of heavy metals. *Anal. Chim. Acta.* 481 (2003) 75-84.
- [27] Oroszlan P., Duveneck G.L., Ehrat M., Widmerr H.M., Fiber-optic atrazine immunosensor. *Sens. Actuators B.* 11(1993)301-305.
- [28] Brecht A., Piehler J., Lang G., A direct optical immunosensor for atrazine detection. *Anal. Chim. Acta.* 311(1995)289-299.
- [29] Schipper E.F., Bergervoet A.J.H., Kooyman R.P.H., Greve J., New detection method for atrazine pesticides with the optical wave guide Mach-Zehnder immunosensor. *Anal. Chim. Acta.* 341(1997)171-176.
- [30] Meusel M., Trau D., Katerkamp A., Meier F., Polzius R., Camman K., New ways in bioanalysis. One-way optical sensor chip for environmental analysis. *Sens. Actuators B.* 51(1998)249-255.
- [31] Skládal P., Deng A., Kolar V., Resonant mirror-based optical immosensor: application for the atrazine measurement in soil. *Anal. Chim. Acta.* 399(1999)29-36.
- [32] Barzen C., Brecht A., Gauglitz G., Optical multiple-analyte immunosensor for water pollution control. *Biosens. Bioelectron.* 17(2002)289-295.
- [33] G. Sauerbrey, *J. Phys.*, 155(1959)206.
- [34] Ader J.F. and Mc Callum J.J., Piezoelectric crystal for mass and chemical measurements. *Analyst* 108(1983)1169-1189.
- [35] Per Dannemand Andersen et al., Sensor foresight-technology and market. *Technovation* 24 (2004) 311-320.
- [36] Petr Skládal et al., Piezoelectric biosensors for real-time monitoring of hybridization and detection of hepatitis C virus. *Journal of Virological Methods* 117 (2004) 145-151.
- [37] Erich Uttenthaler, Conrad Köblinger, Stephan Drost, Quartz crystal biosensor for detection of the African swine fever disease. *Anal. Chim. Acta* 362 (1998) 91-100.
- [38] Xiaodong Zhou, Lijia Liu, Min Hu, Leilei Wang, Jiming Hu, Detection of hepatitis B virus by piezoelectric biosensor. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 27 (2002) 341-345.
- [39] Tombelli S., Mascini M., Turner A.P.F., Improved procedures for immobilisation of oligonucleotides on goldcoated piezoelectric quartz crystals. *Biosensors and Bioelectronics* 17 (2002) 929-936
- [40] Gi-Ho Kim, Garth Rand A., Stephen V., Letcher. Impedance characterization of a piezoelectric immunosensor part II: *Salmonella typhimurium* detection using magnetic enhancement. *Biosens. Bioelectron.* 18 (2003) 91-99.
- [41] Sara Tombelli, Marco Mascini, Cristiana Sacco, Anthony P.F. Turner, A DNA piezoelectric biosensor assay coupled with a polymerase chain reaction for bacterial toxicity determination in environmental samples. *Anal. Chim. Acta* 418 (2000) 1-9
- [42] Jiří Horáček, Petr Skládal, Effect of organic solvents on immunoassays of environmental pollutants studied using a piezoelectric biosensor. *Anal. Chim. Acta* 412 (2000) 37-45.
- [43] Alexander Makower, Jan Hálánek, Petr Skládal, Frank Kernchen, Frieder W. Scheller, New principle of direct real-time monitoring of the interaction of cholinesterase and its inhibitors by piezoelectric biosensor. *Biosens. Bioelectron.* 18 (2003) 1329-1337.

- 
- [44] Guilbault, G.G., and Lubrano G.J., An enzyme electrode for the amperometric determination of glucose. *Anal. Chim. Acta* 64(1973)439-455.
- [45] Freider Scheller and Florian Schubert, *Biosensors: techniques and instruments in analytical chemistry*. Vol. 11, Amsterdam: Elsevier. 1992. 27.
- [46] Cass A.E.G., et al., Ferrocene-mediated enzyme electrode for amperometric determination of glucose. *Anal.Chem.* 56(1984)667-671.
- [47] Turner A.P.F., S.P. Hendry and M.F. Cardosi, Tetrathifulvaline: a new mediator for amperometric biosensor. *World Biotechnol. Rep.1* (1987) 125-127.
- [48] Heller A., Electrical Connection of enzyme redox centres to electrodes. *J. Phys. Chem.*, 96(1992)3579-3587.
- [49] Koide A., and Yokoyama K., Electrochemical characterization of an enzyme electrode based on a ferrocene-containing redox polymer. *J.Electroanal.Chem.*, 468(1999)193-201.
- [50] Pankratove I., and Lev O., Sol-gel derived renewable surface biosensors. *J.Electroanal.Chem.*, 393(1995)35-41.
- [51] Walcarius A., Analytical application of silica-modified electrode-a comprehensive review. *Electroanal.* Vol. 10 No. 18 (1998)1217-1235.
- [52] Schuhmann, W., C. Kranz, J. Huber, and Wohlschlager H., Conducting polymer based amperometric enzyme electrodes: towards the development of miniaturized reagentless biosensors. *Synth. Met.* 61(1993)31-35.
- [53] Lötzbeyer, T., Schuhmann W., and Schmidt H.-L., Electron transfer principles in amperometric biosensors: direct electron transfer between enzymes and electrode surface. *Sens. Actuat. B* 33(1996)50-54.
- [54] Lan Anh DANG, Recyclage d'enzymes oxydoréductases immobilisées sur un polymère conducteur transfert électronique par médiateur rédox et transfert direct, Thèse de l'Université Paris 7-Denis Diderot. 2004: Paris, France.
- [55] Julien HACCOUN, Conception et étude d'un biocapteur enzymatique compact à lactate à base de polymère conducteur électronique, Thèse de l'Université Paris 7-Denis Diderot. Paris, France, (2004).
- [56] Matsushita Ltd Quantitative determination of biochemicals with enzyme electrodes. Japanese Patent Application JP 59217152, (1984).
- [57] Kessler, M. and Hoepfer J., Device for measuring the concentration of substances. FRG Patent Application DE 3332745,(1985).
- [58] Klitgaard P. C. and Pedersen K. G., (1984). An electrode device for transcutaneously measuring a blood gas parameter and for sensing a bioelectrochemical signal and electrode assembly comprising such an electrode device (Radiometer). European Patent Application EP 127148.
- [59] Chang J. J., and Ramsey M., Retreated sensing electrode (Critikon). US Patent Application US 4499981, (1985).
- [60] Albareda M., Merkoçi A., Aleret S., Pesticides determination in tap water and juice samples using disposable amperometric biosensors made using thick-film technology. *Anal. Chim. Acta.* 442(2001) 35-44.
- [61] Montesinos T., Pérez-Munguia S., Valdez F., Marty J-L., Disposable cholinesterase biosensor for the detection of pesticides in water-miscible organic solvents. *Anal. Chim. Acta.* 431(2001) 231-237.
- [62] Besombes J.L., Cosnier S., Labbé P., Reverdy G., A biosensor as warning device for the detection of the cyanide, chlorophenols, atrazine and carbamate pesticides. *Anal. Chim. Acta.* 311(1995)255-263.
- [63] Everett W.R., Rechnitz G.A., Mediated bioelectrocatalytic determination of organophosphorous pesticides with a tyrosinase-based oxygen biosensor. *Anal. Chem.* 70(1998)807810.
-

- 
- [64] Wang J., Nascimento V.B., Kane S.A., Roger K., Smyth M.R., Angnes L., Screenprinted tyrosinase containing electrodes for the biosensing of the enzyme inhibitors. *Talanta* 43(1996)1903-1907.
- [65] McArdle F.A., and Persaud K.C., Development of an enzyme-based biosensor for atrazine detection. *Analyst*. 118(1993)419-423.
- [66] Adeyolu O., Iwuoha E.I., Smyth M.R., Teactivities, of amperométric organic phase peroxidase-modified electrodes in the presence and absence of thiourea and ethylenethiourea as inhibitors. *Anal. Chim. Acta*. 305(1995)57-64.
- [67] Mazzei F., Botrè F., Lorenti G., Simonetti G., Porceli F., Scibona G., Botrè C., Plant tissue électrode for the determination of atrazine. *Anal. Chim. Acta* 316(1995)79-82.
- [68] Noguer T., and Marty J.-L., High sensitive bienzymatic sensor for detection of dithiocarbamate funficides. *Anal. Chim. Acta*, 347 (1997)63-70.
- [69] Nilsson H., Akerlund A.C. and Mosbach K., Determination of glucose urea and penicillin using enzyme-pH electrode. *Biochim. Biophys. Acta* 320(1973)529-534.
- [70] Kuly J.J. et al., Urea sensor based on differential antimony electrodes. *Biosensors* 2(1986)35-44.
- [71] Stefanac Z., and Simon W. *Chimica* 20(1966)436.
- [72] Simon W. *GBF monographs* 10(1987)13.
- [73] Stow R. and Randall B. *Am. J. Physiol.* 33(1973)97.
- [74] Mascini M., and Guilbault G.G., Urea coupled ammonia electrode for urea determination in blood serum. *Anal. Chem.* 145(1983)795-798.
- [75] Hafeman D.G., Parce J.W., and McConnell H.M., *Science* 240(1988)1182.
- [76] Lundström I., *Phys. Scripta*, 18(1978)424.
- [77] Campanella L., Colapicchioni C., Favero G., Sammartino M.P., Tomassetti M., Organophosphorus pesticide (Paraoxon) analysis using solid state sensors. *Sens. Actuators B33* (1996) 25-33.
- [78] Jean-Marc CHOVELON, Préparation de couches minces d'oxynitru de silicium par PECVD en vue de greffage chimique. Application à un ISFET pH, spécialité électronique. 1991, Thèse de l'Ecole Centrale de Lyon: Lyon, France.
- [79] K. Wan, J.M. Chovelon, N. Jaffrezic-Renault, Enzyme-octadecylamine Langmuir Blodgett membranes for ENFET biosensors. *Talanta* 52 (2000) 663-670.
- [80] Schöning M.J., Krause R., Block K., Musahmehc M., Mulchandani A., Wang J., A dual amperometric/potentiometric FIA-based biosensor for the distinctive detection of organophosphorus pesticides. *Sens. Actuators B* 95 (2003) 291-296.
- [81] Priti Mulchandani, Ashok Mulchandani, Irina Kaneva, Wilfred Chen, Biosensor for direct determination of organophosphate nerve agents. 1. Potentiometric enzyme electrode. *Biosens. Bioelectron.* 14 (1999) 77-85
- [82] Lucia Mosiello, Cristina Laconi, Maddalena Del Gallo, Claudia Ercole, Aldo Lepidi, Development of a monoclonal antibody based potentiometric biosensor for terbuthylazine detection. *Sens. Actuators B* 95 (2003) 315-320.
- [83] Atsushi Seki, Kazunari Kawakubo, Mitsuhiro Iga, Satoshi Nomura, Microbial assay for tryptophan using silicon-based transducer. *Sens. Actuators B* 94 (2003) 253-256.
- [84] Hye Sung-Lee, Young A Kim, Young Ae Cho, Yong Tae Lee, Oxydation of organophosphorus pesticides for the sensitive detection by a cholinesterase-based bioisensor. *Chemosphere*, 46 (2002) 571-576.
- [85] Andrey L. Ghindilis, Tatyana G. Morzunova, Anatoly V. Barmin and Ilya N. Kurochkin, Potentiometric biosensors forcholinesterase inhibitor analysis based on mediatorless bioelectrocatalysis. *Biosens.*
-

- Bioelectron. vol. II, No. 9(1996) 873-880.
- [86] Bard A. J., L.R. Faulkner, *Electrochemical Methods*, 1980. J. Willey & Sons.
- [87] Hu, K. W. J. & Vogelhut, Polymer catalyst transducers and their use in test kits for analytical methods (Miles). European Patent Application EP 140322, (1985),P. 0.
- [88] Toshiba Corp. Method and apparatus for the quantitative determination of glucose in blood and urine. Japanese Patent Application JP 6095343,(1985)..
- [89] Kuroda, M. & Osawa, H. Enzymic determination of creatinine in body fluids for diagnosis of kidney function (Fuji). Japanese Patent Application JP 60151560, (1985).
- [90] Senillou A., N. Jaffrezic, Martelet C., Cosnier S., A laponite clay-poly(pyrrole- pyridinium) matrix for the fabrication of conductimetric microbiosensors. *Anal. Chim. Acta* 401 (1999) 117-124.
- [91] Roach P.C.J., Ramsden D.K., Hughes J., Williams P., Development of a conductimetric biosensor using immobilized *Rhodococcus ruber* whole cells for the detection and quantification of acrylonitrile. *Biosens. Bioelectron.* 19 (2003) 73-78.
- [92] Zhylyak, G.A., Dzyadevich, S.V., Korpan, Y.I., Soldakin, A.P., Elskaya A.V., Application of urease conductimetric biosensors for heavy metal ion determination. *Sens. Actuators B24-25(1995)*145-148.
- [93] Warakorn Limbut, Panote Thavarungkul, Proespichaya Kanatharana, Punnee Asawatreratanakul, Chusak Limsakul, Booncharoen 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.* 19 (2004) 813-821.
- [94] Samantha C. Pak, William Penrose, Peter J. Hesketh, An ultrathin platinum film sensor to measure biomolecular binding. *Biosens. Bioelectron.*16 (2001) 371-379.
- [95] Alosilja, Evangelyn C., et al. (2003). Conductimetric biosensor device, method and system, United States Patent Application US O7449910, (2003).
- [96] <http://www.esiee.fr/Francaio/enseignement/version-pdf/II-capteur.pdf>.
- [97] G. Asch, *Les capteurs en instrumentation industrielle - 7ème édition*. Dunod, (2010).
- [98] B. D. Gupta, S. K. Srivastava, et R. Verma, *Fiber Optic Sensors Based on Plasmonics*. World Scientific, 2015.
- [99] S. N. Arshad, M. Naraghi, et I. Chasiotis, « Strong carbon nanofibers from electrospun polyacrylonitrile », *Carbon*, vol. 49, no 5, (2011), p. 1710-1719, avr.
- [100] R. Nm, C. A, et B. Rt, « Catalytic Engineering of Carbon Nanostructures », *Langmuir*, vol. 11, no 10, (1995) ,p. 3862-3866.
- [101] E. Desimoni et B. Brunetti, « Presenting Analytical Performances of Electrochemical Sensors. Some Suggestions », *Electroanalysis*, vol. 25, no 7, p. 1645-1651, juill. 2013.
- [102] C. Clark Jr., L., & Lyons, C. Electrodes Systems for monitoring in cardiovascular surgery. *Annals of New York Academy of sciences*, 102(1962), 29-45.
- [103] Donald, V., & Judith, G. V. (1998). *Biochimie*, de Boeck Université, Bruxelles.
- [104] Tran-Minh, C. *Les biocapteurs. Principes, construction et application*. Edition Masson, Paris, (1991),1-158.
- [105] Tran-Minh, C., & Broun, G. Utilisation des électrodes à pression partielle de gaz carbonique pour la mesure spécifique de l'urée en solution. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences, Paris. Séries D*, 276(1973), 2215-2217.
- [106] Anh Tuan Mai. Développement des biocapteurs électrochimiques à base de tyrosinase pour la détection des polluants organiques en phase aqueuse, Thèse de doctorat de l'université de Claude

- Bernard - Lyon 1, N° d'ordre : 194-2004.
- [107] Dugas, V., Depret, G., Chevalier, Y., Nesme, X., Souteyrand, E. Immobilization of single-stranded DNA fragments to solid surfaces and their repeatable specific hybridization: covalent binding or adsorption? *Sensors Actuators B Chem.*, 101(2004), 112-121.
- [108] Mehrvar, M., & Abdi, M. (2004). Recent developments, characteristics, and potential applications of electrochemical biosensors. *Analytical sciences*, 20(2004), 1113-1126.
- [109] Palecek, E., Fojta, M. (2001). Detecting DNA hybridization and damage. *Analytical chemistry*, 73, 74A-83A.
- [110] Scheller, F. W., Wollenberger, U., Warsinke, A., & Lisdat, F. Research and development in biosensors. *Current Opinion in Biotechnology*, 12(2001)., 35-40.
- [111] Bidan, G., Billon, M., Livache, T., Mailley, P., & Roget A. (2003). Ingénierie et électrochimie moléculaires pour la conception de puces à ADN, *l'actualité chimique : Molécules et matériaux d'intérêt médical*, novembre-décembre 2003.
- [112] Ellington, A. D., & Szostak, J. W. In vitro selection of RNA molecules that bind specific ligands. *Nature*, 346(1990)., 818-822.
- [113] Tuerk, C., & Gold, L. Systematic evolution of ligands by exponential enrichment: RNA ligands to bacteriophage T4 DNA polymerase. *Science*, 249(1990), 505-510.
- [114] Mullis, K., Faloona, F., Scharf, S., Saiki, R., Horn, G., & Erlich, H. Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction. *Cold spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, 51(1986), 263-273.
- [115] Iliuk, A.B., Hu, L. & Tao, W. A. Aptamer in bioanalytical applications. *Analytical Chemistry*, 83(2011)., 4440-4452.
- [116] Luzi, E., Minunni, M., Tombelli, S., & Mascini, M. New trends in affinity sensing: aptamers for ligand binding. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 22(2003), 810-818.
- [117] Tombelli, S., Minunni, M., & Mascini, M. Analytical applications of aptamers. *Biosensors and Bioelectronics*, 20(2005), 2424-2434.
- [118] Liu, J., Cao, Z., & Lu, Y. Functional nucleic acid sensors. (2009). *Chemical Reviews*, 109, 1948-1998.
- [119] Tombelli, S., Minunni, M., & Mascini, M. Aptamers-based assays for diagnostics, environmental and food analysis. *Biomolecular Engineering*, 24(2007), 191-200.
- [120] Dickey, F. H. The preparation of specific adsorbents. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 35(1949), 227-229.
- [121] Ramström, O., & Mosbach, K. Synthesis and catalysis by molecularly imprinted materials. *Current Opinion in Chemical Biology*, 3(1999), 759-764.
- [122] Takagishi, T., & Klotz, I. M. Macromolecule-small molecule interactions; introduction of additional binding sites in polyethyleneimine by disulfide cross-linkages. *Biopolymers*, 11(1972), 483-491.
- [123] Poma, A., Anthony, Turner, P. F. T., & Piletsky, S. A. Advanced in the manufacture of MIP nanoparticles. *Trends in Biotechnology*, 28(2010), 629-637.
- [124] Sellergren, B., Lepistoe, M., & Mosbach, K. Highly enantioselective and substrate-selective polymers obtained by molecular imprinting utilizing noncovalent interactions. NMR and chromatographic studies on the nature of recognition. *Journal of the American Chemical Society*, 110(1988), 5853-5860.
- [125] Wulff, G., & Schauhoff, S. Enzyme-analog-built polymers. 27. Racemic resolution of free sugars with macroporous polymers prepared by molecular imprinting. Selectivity dependence on the arrangement of functional groups versus spatial requirements. *The Journal of Organic Chemistry*,

- 56(1991), 395-400.
- [126] Vasapollo, G., Mele, G., & Del Sole, R. Cardanol-based materials as natural precursors for olefin metathesis. *Molecules*, 16(2011), 6871-6882.
- [127] Bosseboeuf, A., Gilles, J. P., Danaie, K., Yahiaoui, R., Dupeux, M., Puissant, J. P., Chabrier, A., Fort, F., & Cotes, P. (1999). Proceedings of the SPIE Microsystems, Metrology and Inspection Congress.
- [128] Schroeder Jr., H. W., & Cavacini, L. (2010). Structure and function of immunoglobulins. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 125, S41-S52.
- [129] Ehlich, A., Schaal, S., Gu, H., Kitamura, D., Muller, W., & Rajewsky, K. (1993). Immunoglobulin heavy and light chain genes rearrange independently at early stages of B cell development. *Cell*, 72, 695-704.
- [130] Shinkai, Y., Rathbun, G., Lam, K. P., Oltz, E. M., Stewart, V., Mendelsohn, M., Charron, J., Datta, M., Young, F., & Stall, A. M. (1992). RAG-2-deficient mice lack mature lymphocytes owing to inability to initiate V(D)J rearrangement, *Cell* 68, 855-867.
- [131] Loffert, D., Ehlich, A., Muller, W., & Rajewsky, K. (1996). Surrogate light chain expression is required to establish immunoglobulin heavy chain allelic exclusion during early B cell development. *Immunity*, 4, 133-144.
- [132] Novotny, J., Bruccoleri, R., Newell, J., Murphy, D., Haber, E., & Karplus, M. (1983.) Molecular anatomy of the antibody binding site. *Journal of Biological Chemistry*, 258, 14433-14437.
- [133] Marks, R.S., Novoa, A., Thomassey, D., & Cosnier, S. (2002). An innovative strategy for immobilization of receptor proteins on to an optical fiber by use of poly(pyrrole-biotin). *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 374, 1056-1063.
- [134] Armes, S. P. (1987). Optimum reaction conditions for the polymerization of pyrrole by iron (III) chloride in aqueous solution. *Synthetic Metals*, 20, 365-371.
- [135] Novak, P. (1992). Limitation of polypyrrole synthesis in water and their causes. *Electrochimica Acta*, 37, 1227-1230.
- [136] Souiri, M., Blel, N., Sboui, D., Mhamdi, L., Epalle, T., Mzoughi, R., Riffard, S., & Othmane A (2014). AFM, CLSM and EIS characterization of the immobilization of antibodies on indium-tin oxide electrode and their capture of *Legionella pneumophila*. *Talanta*, 118, 224-230.
- [137] Leggett, G. J., Roberts, C. J., Williams, P. M., Davies, M. C., Jackson, D. E., & Tendler, S. J. B. (1993). Approaches to the immobilization of proteins at surfaces for analysis by scanning tunneling microscopy. *Langmuir*, 9, 2356-2362.
- [138] Braiek, M., Bekir Rokbani, K., Chrouda, A., Mrabet, B., Bakhrouf, A., Maaref, A., & Jaffrezic-Renault, N. (2012). An electrochemical immunosensor for detection of *Staphylococcus aureus* bacteria based on immobilization of antibodies on self-assembled monolayers-functionalized gold electrode. *Biosensors*, 2, 417-426.
- [139] Ayela, C., Roquet, F., Valera, L., Granier, C., Nicu, L., & Pugnière, M. (2007). Antibody-antigenic peptide interactions monitored by SPR and QCM-D. A model for SPR detection of IA-2 autoantibodies in human serum. *Biosensors and Bioelectronics*, 22, 3113-3119.
- [140] Parekh, B. S., Pau, C. P., Kennedy, M. S., Dobbs, T. L., & McDougal, J. S. (2001). Assessment of antibody assays for identifying and distinguishing recent from long-term HIV Type 1 infection. *AIDS Research & Human Retroviruses*, 17, 137-146.
- [141] Lee, H. J., Namkoong, K., Cho, E. C., Ko, C., Park, J. C., & Lee, S. S. (2009) Surface acoustic wave immunosensor for real-time detection of hepatitis B surface antibodies in whole blood samples. *Biosensors and Bioelectronics*, 24, 3120-3125.
- [142] TLILI, C. (2006). Etude et réalisation de biocapteurs impédancemétriques en utilisant différentes

- approches d'immobilisation. Thèse de doctorat, Université Paris 11.
- [143] Guedri, H. 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).
- [144] Velusamy, V., Arshak, K., Korostynska, O., Oliwa, K., & Adley, C. (2010). An overview of foodborne pathogen detection: in the perspective of biosensors. *Biotechnology Advances*, 28, 232-254.
- [145] Dzyadevych, S.V., Arkhypova, V. N., Soldatkin, A. P., El'skaya, A. V., Martelet, C., & J. Renault, N. Amperometric enzyme biosensors: Past, present and future. *IRBM*. 29(2008), 171-180.
- [146] Bardeletti, G., Sechaud, F., & Coulet, P. R. (1986). A reliable -lactate electrode with a new membrane for enzyme immobilization for amperometric assay of lactate. *Analytica Chimica Acta*, 187, 47-54.
- [147] Mizutani, F., Yamanaka, T., Tanabe, Y., & Tsuda, K. (1985). An enzyme electrode for L-lactate with a chemically-amplified response. *Analytica Chimica Acta*, 177, 153-166.
- [148] Bradley, J., & Schmid, R. D. (1991). Optimisation of the biosensor for in situ fermentation monitoring of glucose concentration. *Biosensors and Bioelectronics*, 6, 669-674.
- [149] Dempsey, E., Wang, J., Wollenberger, U., Ozsoz, M., & R. Smyth, M. A lysine dehydrogenase-based electrode for biosensing of lysine. *Biosensors and Bioelectronics*, 7(1992), 323-327.
- [150] Marcus, R. A., & Sutin, N. Electron transfers in chemistry and biology. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Bioenergetics*, 811(1985), 265-322.
- [151] W. Hartmeier., *Immobilized biocatalysts: An introduction*. (1988), Berlin, Springer-Verlag.
- [152] Mulchandani, A. and K.R. Rogers., *Principles of enzyme biosensors*. Dans: Mulchandani A., and K.R. Rogers., *Enzyme and microbial biosensors: techniques and protocols*. Eds. 1998 Totowa, Humana Press.
- [153] Frieder Scheller and Florian Schubert, *Biosensors: Techniques and instrumentation in analytical chemistry*. Vol. 11. (1992): Elsevier.51.
- [154] Car P.V., and Bowers L.D., *Immobilized Enzymes in Analytical and Clinical Chemistry*. (1980): Willey, NewYork.
- [155] Bratov A., Abramova N., Munor J., Carlos Domínguez, Alegret S., and Bartrolí J., Photocurable polymer matrices for potassium-sensitive ion selective electrode. *Anal. Chem.* 67(1995)3589-3595.
- [156] K.Wan, J.M Chovelon, N. Jaffrezic-Renault and Soldatkin A.P., Sensitive detection of pesticide using ENFET with enzymes immobilized by cross-linking and entrapment method. *Sensors and Actuators B* 58(1999)399-408.
- [157] J.L. Besombes, Thèse de Doctorat de l'Université de Savoie, spécialité chimie (1994).
- [158] Bowers L.D., Application of immobilized biocatalysts in chemical analysis. *Anal. Chem.* 58 (1986)523-530.
- [159] L. C. Clark, Jr. et C. Lyons, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, (1962), 102, 29.
- [160] S. J. Updike et G. P. Hicks, *Nature*,(1967), 214, 286.
- [161] G. G. Guilbault et M. H. Sadar, *Accounts Chem. Res.*, (1979), 12, 344.
- [162] M .M. Fishman, *Anal Chem.*,(1980),52,185R.
- [163] . Durliat. M, Comtat, J. Mahenc et A. Baudras, *J. Electroanal. Chem.*, (1975), 52, 185R.
- [164] The Royal Society & The Royal Academy of Engineering, « Nanoscience and nanotechnologies: opportunities and uncertainties » [archive], 2004, p5.
- [165] Marianne Geiser, « Ultrafine Particles Cross Cellular Membranes by Nonphagocytic Mechanisms in

- Lungs and in Cultured Cells », *Environmental Health Perspectives*, vol. 113, no 11, novembre 2005, p. 1555;60 (PMID 16263511, PMID 1310918, DOI 10.1289/ehp.8006).
- [166] P. Coutry, H. Ajot, C. Marcilly, and B. Delmon, *B 1973, Powder Technol*, vol. 7, p. 21.
- [167] J. Lalanne, thèse doctorale de l'université de Bordeaux 1, (2005), France.
- [168] H. Shirakawa et al., *Synthesis of electrically conducting organic polymers: halogen derivatives of poly acetylene, (CH)<sub>x</sub>*, *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications*, (1977), pp. 578–580.
- [169] Nobel Prize. [http://www.nobelprize.org/nobel\\_prizes/chemistry/laureates/\(2000\)](http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/(2000)).
- [170] Y. Pauleau and P. B. Barna, *Protective Coatings and Thin Films: Synthesis, Characterization and Applications*. Springer, (1997).
- [171] R. A. Serway, *Principles of Physics (2nd Ed.)*. Fort Worth, Texas; London: Saunders College Publishing, 1998. [29] F. Jonas and L. Schrader, *Conductive modifications of polymers with polypyrroles and polythiophenes*, *Synthetic Metals*, 41, (1991), pp. 831–836.
- [172] F. Jonas and L. Schrader, *Conductive modifications of polymers with polypyrroles and polythiophenes*, *Synthetic Metals*, 41, (1991), pp. 831–836.
- [173] M. Dietrich et al., *Electrochemical and spectroscopic characterization of polyalkylenedioxythiophenes*, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 369, (1994) pp. 87–92.
- [174] I. Winter et al., *The thermal ageing of poly(3,4-ethylenedioxythiophene). An investigation by X-ray absorption and X-ray photoelectron spectroscopy*, *Chemical Physics*, 194, (1995), pp. 207–213.
- [175] Bayer AG, *Neue Polythiophen-Dispersionen, ihre Herstellung und ihre Verwendung*, *European Patent 0440957 A2*, (1991).
- [176] F. Jonas et al., *Poly(3,4-ethylenedioxythiophene): Conductive coatings, technical applications and properties*, *Macromolecular Symposia*, 100, (1995), pp. 169–173.
- [177] N. Kim et al., *Highly conductive all-plastic electrodes fabricated using a novel chemically controlled transfer-printing method*, *Advanced Materials*, 27, (2015), pp. 2317–2323.
- [178] B. J. Worfolk et al., *Ultrahigh electrical conductivity in solution-sheared polymeric transparent films*, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112, (2015), pp. 14138–14143.
- [179] N. C. Billingham et al., *Stability and degradation of some electrically conducting polymers*, *Polymer Degradation and Stability*, 19, (1987), pp. 323–341.
- [180] E. Vitoratos et al., *Thermal degradation mechanisms of PEDOT:PSS*, *Organic Electronics*, 10, pp. 61–66, 2009.
- [181] Letheby, H. XXIX.—On the Production of a Blue Substance by the Electrolysis of Sulphate of Aniline. *J. Chem. Soc.*, (1862), 15, 161–163.
- [182] Mohilner, D.M.; Adams, R.N.; Argersinger, W.J. Investigation of the Kinetics and Mechanism of the Anodic Oxidation of Aniline in Aqueous Sulfuric Acid Solution at a Platinum Electrode. *J. Am. Chem. Soc.*, (1962), 84, 3618–3622.
- [183] T. Lindfors et A. Ivaska, *pH sensitivity of polyaniline and its substituted derivatives*, *Journal of Electroanalytical Chemistry* 531 (2002).
- [184] L. Radushkevich, O. struktureugleroda, obrazujucesjapritermiceskomrazlozeniiokisiuglerodanazeleznomkontakte, *Zhurnal Fizicheskoi Khimii*, 26, (1952), pp. 88–95.
- [185] S. Iijima, *Helical microtubules of graphitic carbon*, *Nature*, 354, (1991) pp. 56–58.
- [186] M. S. Dresselhaus et al., *Carbon nanotubes: Synthesis, Structure, Properties, and*

Applications. Springer, (2001).

## **Chapter 2**

- [1] D. Devilliers, É. Mahé ; Cellules électrochimiques : aspects thermodynamiques et cinétiques. Janvier (2003).
- [2] F. BEDIQUI, « Voltampérométrie. Théorie et mise en œuvre expérimentale », Tech. Ing. Anal. Caractér., vol. 3, (1999), no P2126, p. P2126-1.
- [3] A. Bard, L.R.Faulkner. Electrochimie, Principes, Méthodes et Applications. Ed. Masson, Paris (1983).
- [4] E. Laborda, Reverse Pulse Voltammetry at spherical electrodes: Simultaneous determination of diffusion coefficients and formal potentials. Application to Room Temperature Ionic Liquids, Journal of Electroanalytical Chemistry 634 (2009) 1-10.
- [5] Z. Stojek, Electroanalytical Methods, Guide to Experiments and Applications 2nd edition, Germany, F. Scholz (ed.) (2009) 1-359.
- [6] Gabrielli; Techniques de l'Ingénieur ; traités Analyse et Caractérisation Mesures et Contrôle (1994).
- [7] N.K. Guimard, N. Gomez, C. E. Schmidt, conducting polymers in biomedical engineering, progress in polymer science 32 (2007) 876-921.

## ملخص:

في الجزائر ، تعد الصناعة الكيميائية والمعدنية المصدر الأول للملوثات المعدنية التي تشكل مشكلة على الصحة والبيئة ، وهذا يقودنا إلى الاهتمام بتطوير جهاز استشعار حيوي كهر وكيميائي جديد للكشف عن أيونات الزنك.

أدى التحدي المتمثل في الكشف عن المعادن الثقيلة للأغراض البيئية والصناعية والطبية إلى تطوير العديد من التقنيات التحليلية. قياس الفولتميتر الدوري هو طريقة كهر وكيميائية حساسة وقد استخدم على نطاق واسع للكشف عن المعادن الثقيلة.

تمت دراسة حساسية المستشعر لأيونات الزنك باستخدام طريقة قياس الجهد الدوري في محلول منظم مكون من أسيتات عند درجة حموضة 4.5 ، وتراوحت تركيزات أيونات الزنك بين  $10^{-16}$  إلى  $10^{-10}$  مول / لتر.

النتائج التي تم الحصول عليها تشمل خصوصية هذا المستشعر بإضافة الطبقة الحساسة كيميائياً ؛ ومع ذلك ، فإن خصائص المستشعرات (الحساسية والانتقائية) لا تعتمد فقط على الطبقات الحساسة ولكن أيضاً على هياكل الأقطاب الثلاثة والفولتية المطبقة ونوع الرواسب الناتجة ، من أجل الحصول على حد كشف يساوي  $10^{-15}$

**كلمات مفتاحية:** المستشعر ، جهاز استشعار ، أيونات  $Zn^{2+}$  ، الانتقائية ، حساسية ، أنابيب الكربون النانوية.

## Résumé :

En Algérie, l'industrie chimique et métallurgique est la première source des polluants métalliques qui pose problème sur la santé et l'environnement, cela nous conduit à nous intéresser à l'élaboration d'un nouveau biocapteur électrochimique pour la détection des ions  $Zn^{2+}$ .

Le défi de la détection des métaux lourds à des fins environnementales, industrielles et médicale a conduit au développement de nombreuses techniques analytiques. La Voltamétrie cyclique est une méthode électrochimique sensible et a été largement utilisée pour la détection des métaux lourds.

La sensibilité du capteur aux ions du Zinc a été étudiée en utilisant la méthode de Voltamétrie cyclique dans une solution de tampon composée d'acétate à pH 4,5, les concentrations des ions  $Zn^{2+}$  variées entre  $10^{-16}$  à  $10^{-10}$  mol/ L<sup>-1</sup>.

Les résultats obtenus comprennent la spécificité de ce capteur par l'adjonction de la couche chimiquement sensible ; toutefois les caractéristiques des capteurs (sensibilité et sélectivité) dépendent non seulement des couches sensibles mais aussi des structures des trois électrodes, des tensions appliquées et du type de dépôts réalisés, afin d'obtenir une limite de détection égale à  $10^{-15}$ .

**Mots Clés :** capteur, biocapteur, ions  $Zn^{2+}$ , sélectivité, sensibilité, nanotubes de carbone.

## Abstract:

In Algeria, the chemical and metallurgical industry is the first source of metallic pollutants which pose a problem on health and the environment, this leads us to be interested in the development of a new electrochemical biosensor for the detection of  $Zn^{2+}$  ions.

The challenge of detecting heavy metals for environmental, industrial and medical purposes has led to the development of many analytical techniques. Cyclic voltammetry is a sensitive electrochemical method and has been widely used for the detection of heavy metals. Carbon nanotubes, chitosane, banze crown.

The sensitivity of the sensor to Zinc ions was studied using the cyclic voltammetry method in a buffer solution composed of acetate at pH 4.5, the concentrations of  $Zn^{2+}$  ions varied between  $10^{-16}$  to  $10^{-10}$  mol/L<sup>-1</sup>.

The results obtained include the specificity of this sensor by the addition of the chemically sensitive layer; However, the characteristics of the sensors (sensitivity and selectivity) depend not only on the sensitive layers but also on the structures of the three electrodes, the voltages applied and the type of deposits made, in order to obtain a detection limit equal to  $10^{-15}$ .

**Key Words :** sensor, biosensor, glassy carbon,  $Zn^{2+}$  ions, selectivity, sensitivity, carbon nanotubes.