

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République algérienne démocratique et populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique



Université 20 Août 1955 – Skikda

Faculté de Technologie

Département de Pétrochimie et Génie des Procédés

Ref :D012120029D

جامعة 20 أوت 1955_ سكيكدة

كلية التكنولوجيا

قسم البيتروكيميا و هندسة الطرائق

THESE

En vue de l'obtention du diplôme de

DOCTORAT 3^{ème} cycle

Filière : Génie chimique

Spécialité : Matériaux et environnement

Présentée par

HADNINE Selma

Titre

Extraction et modification des substances naturelles et leur application à la détection des métaux lourds

Devant le jury composé de :

MEDJRAM Mohamed Salah	Professeur	Université de Skikda	Président
ZIGHED Lilia	Professeur	Université de Skikda	Encadreur
ZAZOUA Ali	Professeur	Université de Jijel	Examineur
KRID Ferial	M. C. A	Université de Skikda	Examinatrice
MARSA Zoubida	M. C. A.	Université de Skikda	Examinatrice
ZOUAOUI Emna	Professeur	Université de Skikda	Invitée

Année Universitaire 2019-2020

REMERCIEMENTS

Ce travail de thèse est élaboré au sein du Laboratoire de Génie Chimique et Environnement de Skikda (LGCES) et de Laboratoire des Interfaces et des Matériaux Avancés (LIMA) à la Faculté de Sciences de Monastir.

Je tiens à remercier Mme Lilia ZIGHED, professeur à l'université 20 août 1955-Skikda pour avoir encadré mon travail de thèse et pour les connaissances qu'elle m'a inculquées durant toutes les années de doctorat. La liberté qu'elle m'a accordée et les responsabilités qu'elle m'a confiées m'ont permis d'atteindre un bon niveau de maturité professionnelle.

Messieurs et mesdames les membres du jury, vous me faites l'honneur d'accepter d'examiner mon travail. Veuillez trouver ici, le témoignage de ma reconnaissance et de mon profond respect. J'adresse mes remerciements à tous les membres de jury pour le temps qu'ils ont consacré à évaluer mon travail.

J'exprime mes sincères remerciements à Monsieur Mohamed Salah MADJRAM, professeur à l'université 20 août 1955- Skikda pour l'honneur qu'il me fait d'avoir accepté d'être examinateur et de présider le jury de cette thèse. Et avant tout ça, pour ses qualités humaines, son encouragement et ces conseils qui ont largement contribué à la réussite et la continuation des projets de doctorat de mes collègues au laboratoire (LGCES).

Je tiens aussi à remercier Monsieur Ali ZAZOUA, professeur à l'université de Jijel pour l'honneur qui ma fait d'avoir accepté d'examiner mon travail.

Je suis très reconnaissante envers Madame Ferial KRID et Madame Zoubida MARSA, maîtres de conférences à l'université 20 août 1955- Skikda pour avoir accepté de juger ce travail.

J'exprime ma grande gratitude à madame Emna ZOUAOUI, professeur à l'université 20 août 1955- Skikda. Ses orientations au début de la recherche m'ont permis de clarifier la vision et m'ont donné de nouvelles pistes de réflexion.

Ce travail n'aurait pu être mené à bien sans l'accueil chaleureux et la disponibilité de Monsieur Houcine BARHOUMI, maître de conférences à la Faculté des Sciences de Monastir, qui m'a accueilli sans hésitation au laboratoire des interfaces et des matériaux avancés (LIMA) de la faculté de sciences de Monastir avec son groupe de recherche d'électrochimie et capteurs, et d'avoir mis à ma disposition tous les matériaux et produits dont j'avais besoin pour réaliser une grande partie de ce travail.

Mes remerciements vont également à Mesdames; Mémia BENNA ZAYANI, Malika AYADI TRABOULSI et Jamila CHERIF, professeurs à l'université de Tunis El-Manar pour m'avoir permis d'effectuer des stages au sein du Laboratoire d'application de la chimie aux ressources et substances naturelles et à l'environnement (LACReSNE), dans l'institut supérieur de sciences et technologies de l'environnement à Tunis et la faculté des sciences de Bezert, ainsi que l'ensemble du service de m'avoir accueilli. Qu'elles trouvent ici le témoignage de ma reconnaissance.

Un grand merci à tous les doctorants que j'ai rencontrés et côtoyés durant cette thèse pour l'apport de la bonne humeur et pour leur encouragement, je mentionne surtout: Hamed Abbassi et Chama Mabrouk (Tunisie) pour leur coopération inconditionnelle.

الملخص

تناولت هذه الأطروحة تطوير ثلاث أجهزة استشعار كهروكيميائية باستخدام ثلاث معدلات جديدة محضرة من مستخلصات طبيعية وهي الشيتوزان ومتعدد الفينول المستخلص من نبات الأس. تم التحقق من هذا التعديل عن طريق دراسة الخصائص المورفولوجية للمعدلات بواسطة التقنيات المناسبة. تم تصميم المستشعر الأول للكشف عن أيونات الزئبق بواسطة قطب من عجينة الكربون تم تعديله باستخدام راتنج مخليبي من الشيتوزان - ثيوربا. المستشعر الثاني خصص للكشف المتزامن عن أربعة معادن ثقيلة على سطح قطب كربون زجاجي تم تنشيطه بواسطة غشاء حيوي من الكيتوزان و عصف نبات الأس. في حين تم تصميم المستشعر الأخير للكشف الانتقائي لكاتيونات الرصاص عن طريق تطبيق تقنية بوليمر ببصمة الأيون. تم إجراء اختبارات كهروكيميائية عن طريق التحليل الطيفي للمقاومة وقياس الجهد الدوري من أجل دراسة السلوك الكهروكيميائي للأقطاب الكهروكيميائية المعدلة قبل تطبيق تقنية قياس الجهد بالنابض التفاضلي أو الموجات المربعة من أجل تقييم درجة الانتقائية والحساسية و كذا إيجاد الحد الأدنى للكشف والتي أعطت نتائج جد مرضية. تم تقييم الأداء التحليلي لهذه المعادن من خلال تطبيقها بنجاح في تحليل عينات مياه طبيعية ملوثة بالمعادن الثقيلة

كلمات البحث: الاستشعار ، المعادن الثقيلة ، الشيتوزان ، بوليفينول نبات الأس

Résumé: La présente thèse a pour objectif l'élaboration de trois capteurs électrochimiques en utilisant trois nouveaux modificateurs préparés à base des extraits naturelles qui sont le chitosan et les polyphénols de myrte. Des caractérisations morphologiques par MEB, FTIR, UV et angle de contact sont appliqués pour confirmer l'extraction, la synthèse des biomatériaux et la modification des électrodes. Le premier capteur est destiné à la détection des ions Hg(II) par une électrode en pate de carbone (CPE) modifiée par une résine chélatante de chitosan-thiourée. Le deuxième est consacré pour la détermination simultanée de quatre métaux lourds sur la surface d'une électrode en carbone vitreux activée par un film de chitosan- tanin de myrte. Le dernier capteur est désigné pour la détection sélective des cations de plomb(II) par application de la technique de polymere a empreinte ionique. Des caractérisations électrochimiques par spectroscopie d'impédance et cycle voltamétrique sont exercées pour étudiées le comportement électrochimique des électrodes modifiées avant d'appliquer la voltamétrie à onde carrée ou par impulsion différentielle pour évaluer la sélectivité et la sensibilité du capteur et déterminer les limites de détections. Les résultats obtenus sont très satisfaisant, et la performance analytique de ces capteurs est évaluée en l'appliquant avec succès pour l'analyse des eaux naturelles contaminées par des métaux lourds.

Mots clés : Capteur, Métaux lourds, Chitosan, Polyphénols de myrte,

Abstract: Present thesis is centered on the development of three electrochemical sensors using three new modifiers prepared from natural extracts which are chitosan and myrtle polyphenols. The biomaterials synthesis and modifiers elaboration were verified by application of FTIR, SEM, UV and contact angle as morphological characterisations. The first sensor based on carbon paste electrode (CPE) modified by thiourea derivative chitosan as a chelating resin was intended for the detection of Hg(II) ions. Using a glassy carbon electrode activated by a film of chitosan- myrtus tannin, the second sensor was devoted to the simultaneous determination of four heavy metals. The same film was used for the production of a third sensor applying the ion imprinted polymer technique in order to selective detection of lead (II) cations. Electrochemical characterizations by impedance spectroscopy and cycle voltammetry are exercised to study the electrochemical behavior of the modified electrodes. The selectivity, sensibility and limit of detection were examined by square wave or differential pulse voltammetry. The results obtained are very satisfactory, and the developed ion sensors were successfully used for heavy metal determination in real samples of water.

Keywords: Sensor, Heavy metals, Chitosan, Myrtus polyphenols.

Sommaire

Introduction générale	01
-----------------------------	----

Chapitre I : Métaux lourds : problématique sanitaire/environnementale et moyens de détection

I. Introduction	04
II. Problématique environnementale	04
II.1. Définition de métaux lourds.....	05
II.2. Origine	05
II.2.1. Sources naturelles	06
II.2.2. Sources anthropiques	06
II.3. Les effets des métaux lourds.....	06
II.3.1. Sur l'environnement.....	06
II.3.2. Sur la santé humaine.....	07
II.4. Paramètres influençant la mobilité et la biodisponibilité des métaux lourds.....	08
II.4.1. Le pH.....	08
II.4.2. La salinité.....	08
II.4.3. Le potentiel redox.....	08
II.4.4. Les anions.....	09
II.4.4. La température.....	09
II.5. Normes et réglementation.....	09
II.6. Généralités sur les métaux utilisés	10
II.6.1. Mercure.....	10
II.6.1.1. Biodisponibilité et comportement dans l'environnement.....	10
a) Dans l'eau.....	11
b) Dans les sols.....	11
c) Dans l'air.....	11
II.6.2. Plomb.....	11
II.6.2.1 Biodisponibilité et comportement dans l'environnement.....	12
a) Dans l'eau	12
b) Dans les sols.....	12
c) Dans l'air.....	12

II.6.3. Cadmium	12
<i>II.6.3.1. Biodisponibilité et comportement dans l'environnement</i>	13
a) Dans l'eau.....	13
b) Dans les sols.....	13
c) Dans l'air	13
II.6.4. Cuivre.....	13
<i>II.6.4.1. Biodisponibilité et comportement dans l'environnement</i>	14
a) Dans l'eau.....	14
b) Dans les sols.....	14
c) Dans l'air.....	15
III. Analyse électrochimiques des métaux lourds.....	16
III.1. Capteur électrochimiques.....	16
III.1.1. Définition.....	16
III.1.2. Paramètres métrologiques d'un capteur.....	16
<i>III.1.2.1. Etalonnage</i>	17
a) La saturation.....	17
b) Le seuil.....	17
c) Limite de détection.....	17
d) Etendue de mesure.....	18
e) Domaine de linéarité.....	18
<i>III.1.2.2. Sensibilité</i>	18
<i>III.1.2.3. Résolution</i>	18
<i>III.1.2.4. Répétabilité et reproductibilité</i>	18
III.1.2. Principe des capteurs électrochimiques.....	18
<i>III.1.2.1. Système récepteur</i>	19
<i>III.1.2.1. Système transducteur</i>	19
<i>III.1.2.1. Système analyseur</i>	19
III.2. Électrodes usuelles.....	19
III.3. Choix de matériau d'électrode.....	21
III.3.1. Carbone vitreux (GCE).....	22
III.3.2. Électrodes à pâte de carbone (CPE).....	23
III.3. Les électrodes chimiquement modifiées (ECM).....	23
III.3.1. Définition.....	23

III.3.2. Modes de modification des électrodes en carbone vitreux (GCE) pour la détection des ETM.....	24
<i>III.3.2.1. Fonctionnalisation par dépôt simple.....</i>	24
<i>III.3.2.2. Fonctionnalisation par voies électrochimique.....</i>	25
a) électrodéposition d'un film métallique.....	25
b) Fonctionnalisation par électropolymérisation.....	25
c) Fonctionnalisation par électro-greffage.....	25
III.3.3. Modes de modification des électrodes en pâte de carbone.....	26
III.3.4. Classification des modificateurs.....	26
<i>III.3.4.1. Modificateurs chimiques.....</i>	26
<i>III.3.4.2. Modificateurs biologiques.....</i>	27
<i>III.3.4.3. Modificateurs de nouvelle génération</i>	27
III.3.5. Technique de polymère à empreinte ionique.....	28
<i>III.3.5.1. Généralité.....</i>	28
<i>III.3.5.2. Différentes approches pour l'élaboration de l'IIP.....</i>	28
a) Polymères à chaîne linéaire	28
b) Immobilisation chimique	28
c) Piégeage	29
d) Impression de surface	29
IV. Substances naturelles de potentiel chélateur.....	30
IV.1. Le choix de modificateur d'électrode	30
IV.2. Chitosane	31
IV.2.1. Isolement de la chitine et extraction de chitosane.....	32
<i>IV.2.1.1. Déminéralisation.....</i>	33
<i>IV.2.1.2. Déprotéinisation.....</i>	33
<i>IV.2.1.3. Blanchiment.....</i>	34
<i>IV.2.1.4. Déacétylation</i>	34
IV.2.2. Structure.....	34
IV.2.3. Propriétés physico-chimiques du chitosane	35
<i>IV.2.3.1. Degré d'acétylation.....</i>	35
<i>IV.2.3.2. Masse moléculaire.....</i>	35
<i>IV.2.3.3. Viscosité</i>	37
<i>IV.2.3.4. Solubilité.....</i>	37
<i>IV.2.3.5. Formation de films</i>	38

IV.2.3.5. Réactivité	38
IV.2.4. Mécanismes d'adsorption des ions métalliques par chitosane	39
IV.3. Les polyphénols de Myrte.....	40
IV.3.1. Définition des polyphénols	40
IV.3.2. Classification des polyphénols	40
IV.3.2.1. Polyphénols simples	41
IV.3.2.2. Polyphénols complexes	41
a) Les proanthocyanidines	42
b) Les tanins hydrolysables	42
IV.3.3. <i>Myrtus communis</i> L.....	42
IV.3.3.1. Description botanique, écologie et localisation.....	42
IV.3.3.2. Position systématique	43
IV.3.3.3. Extraction et compositions chimiques des polyphénols de myrte.....	43
a) Macération.....	44
b) Extraction par soxhlet.....	44
c) Extraction assistée par ultrasons (UAE)	44
d) Extraction assistée par micro-ondes (MAE).....	44
IV.3.3.4. Compositions chimiques	45
IV.3.3.5. Chélation des ions métalliques	45
IV.3.3.6. Teste de la capacité de chélation du fer ferreux.....	46
V. Méthodes de caractérisation électroanalytique.....	47
V.1. Techniques voltamétriques	47
V.1.1. Voltamétrie par impulsions (pulse voltammetry).....	47
V.1.1.1. Voltamétrie à impulsions différentielles	47
V.1.1.2. Voltamétrie à ondes carrées	49
V.1.1.3. Voltamétrie par redissolution	49
V.1.2. Voltamétrie cyclique	50
V.1.2.1. Les applications de la voltamétrie cyclique	51
V.1.2.2. Modes de transport de masse en voltammétrie.....	51
a) Diffusion.....	52
b) Migration.....	52
c) Convection.....	52
V.1.2.3. Types de transfert d'électrons.....	53
a) Transfert de charge réversible.....	53

b) Transfert de charge irréversible.....	54
c) Transfert de charges quasi réversible.....	54
V.1.2.4. <i>Cinétique du transfert d'électrons et de transport de masse</i>	54
a) Méthode de Nicholson.....	55
b) Méthode de Laviron.....	56
V.2. Chrono-ampérométrie.....	56
V.3. Spectroscopie d'impédance électrochimique (EIS).....	57
V.3.1. Circuit électrique équivalent et ses éléments.....	58
V.3.1.1. <i>Résistance de l'électrolyte</i>	59
V.3.1.2. <i>Résistance de transfert de charge</i>	59
V.3.1.3. <i>Capacité de la double couche</i>	59
V.3.1.4. <i>Elément de phase constante (CPE)</i>	59
V.3.1.5. <i>Impédance de Warburg</i>	60
VI. Conclusion.....	60
Références bibliographiques.....	61

Chapitre II : Extraction et caractérisation de Chitosane et de polyphénols de Myrte

I. Introduction.....	68
II. Extraction de chitosane.....	68
II.1. Matériaux utilisé.....	68
II.2. Extraction de la chitine	69
II.2.1. Prétraitement des carapaces.....	69
II.2.2. La déminéralisation.....	69
II.2.3. La Déprotéinisation.....	69
II.2.4. Décoloration et blanchissement.....	69
II.3. La désacétylation de la chitine	70
II.4. Caractérisation du chitosane préparé	70
II.4.1. Test de solubilité	70
II.4.2. Détermination de la masse moléculaire moyenne viscosimétrique	71
II.4.3. Détermination du degré de désacétylation par (FTIR).....	72
III. Extraction de polyphenol de Myrte.....	73
III.1. Matériaux utilisé.....	73
III.2. Préparation de l'extrait de feuille de myrte.....	74

III.2.1. Rendement d'extraction.....	74
III.3. Tests phytochimiques sur l'extrait.....	74
III.3.1. Identification des tanins.....	75
III.3.2. Recherche des tanins catéchiques et galliques.....	75
III.3.3. Identification des flavonoïdes.....	75
III.3.3.1. Les anthocyanes	75
III.3.3.2. Réaction à la Cyanidine.....	75
III.4. Détermination de la teneur en polyphénols.....	76
III.4.1. Polyphénols totaux	76
III.4.2. Flavonoïdes	77
III.4.3. Tanins totaux.....	78
III.5. Chélation des métaux.....	79
III.6. Discussions des résultats	80
IV. Conclusion	81
Références bibliographiques.....	82

Chapitre III : Détection des ions de mercure(II) par chitosane greffé à la thiourée

I. Introduction.....	83
II. Etat de l'art.....	83
III. Préparation et caractérisation des électrodes.....	85
III.1. Produits chimiques et appareils.....	85
III.2. Préparation des modificateurs.....	86
III.2.1. Greffage de chitosan à la thiourée	86
III.2.2. Réticulation de chitosan par glutaraldehyde.....	87
III.3. Caractérisation par spectroscopie FTIR.....	87
III.4. Construction des électrodes.....	89
III.5. Comparaison du comportement des électrodes dans une solution d' Hg^{+2}	90
III.6. Caractérisation électrochimique.....	91
III.6.1. Par voltammetrie cyclique.....	91
III.6.2. Par spectroscopie d'impédance.....	94
IV. Propriétés électrochimiques et étude de réversibilité.....	95
IV.1. Effet de la vitesse de balayage sur le comportement voltammetrique.....	95

IV.1.1. Mécanisme de transfert d'électron et de transport de masse.....	95
IV.1.2. Coefficient de transfert des électrons.....	97
IV.2. Chronoampérométrie.....	98
IV.2.1. Coefficient de diffusion.....	98
IV.2.2. Constante de la vitesse hétérogène de transfert d'électron.....	99
V. Application a la détection des ions Hg(II) par SWASV.....	99
V.1. Optimisation des paramètres analytiques.....	99
V.1.1. Paramètres électrochimique.....	99
<i>V.1.1.1. Etude de l'effet de la concentration du HCl.....</i>	99
<i>V.1.1.2. Etude de l'effet de potentiel d'électro-accumulation.....</i>	100
<i>V.1.1.3. Etude de l'effet de temps d'électro-accumulation.....</i>	101
V.1.2. Paramètres instrumentaux.....	101
V.2. Courbe d'étalonnage et limite de détection.....	102
V.3. Validation du capteur.....	104
V.3.1. Reproductibilité et stabilité du capteur.....	104
V.3.2. Effet des interférences.....	105
V.3.3. Application avec échantillons réelles.....	106
VI. Conclusion.....	107
Références.....	108

Chapitre IV : Elaboration des électrodes à base d'un bioconjugué de chitosane-tanin de myrte

Partie A: Détection simultanée des traces d'ions de métaux lourds par DPASV à l'aide d'une électrode en carbone vitreux modifiée par chitosane - tanin de myrte

I. Introduction.....	110
II. Etat de l'art.....	110
III. Elaboration d'électrode.....	112
III.1. Réactifs et Appareillage.....	112
III.2. Préparation de la bioconjugué de chitosane et tanin de myrte.....	113
III.3. caractérisation par spectroscopie UV-Visisble.....	113
III.4. Prétraitement de la surface de l'électrode de carbone vitreux.....	114

III.4.1. Le polissage mécanique.....	114
III.4.2. Electro-polissage.....	115
III.5. Modification et caractérisation de la surface de l'électrode	115
III.5.1. Caractérisation par angle de contact.....	116
III.5.2. Caractérisation par MEB.....	117
III.5.3. Caractérisation par voltamétrie cyclique... ..	118
III.5.4. Caractérisation par spectroscopie d'impédance	119
IV. Application de l'électrode modifiée Cts-TM/GCE pour l'analyse des cations métalliques.....	120
V.1. Optimisation des conditions analytiques de détection.....	120
V.1.1. Effet de pH.....	120
V.1.2. Effet de potentiel et de temps d'électroaccumulation	121
V.2. Détection individuelle de métaux lourds par DPASV.....	123
V.2.1. Analyse voltampérométrique de Cd(II)... ..	123
V.2.2. Analyse voltampérométrique de Pb(II)... ..	124
V.2.3. Analyse voltampérométrique de Cu(II).....	125
V.2.4. Analyse voltampérométrique de de Hg (II).....	126
V.3. Détection simultanée de quatre cations métalliques.....	127
VI. Conclusion.....	132

Partie B : Développement d'un capteur électrochimique a base d'une matrice a empreinte ionique pour la détection sélective des ions Pb(II)

I. Introduction.....	133
II . Etat de l'art.....	133
III. Elaboration d'électrode.....	135
III.1. Appareillage.....	135
III.2. Modification de la GCE par l'IIP.....	136
III.2.1. Préparation de la matrice polymerique.....	136
III.2.2. Dépôt de la matrice préparée sur le GCE.....	136
III.2.3. Extraction des ions du plomb.....	136
III.3. Caractérisation de surface modifiée.....	138
III.3.1. Caractérisation morphologique par MEB.....	138
III.3.2. Caractérisation électrochimique par voltamétrie cyclique.....	139
III.3.3. Caractérisation électrochimique par spectroscopie d'impédance.....	141

III.3.4. Comportement des électrodes modifiées avec les ions Pb(II)	143
IV. Application a la détection des ions du plomb Pb(II).....	144
IV.1. Optimisation des conditions analytiques de détection.....	145
IV.1.1. Effet de pH.....	145
IV.1.2. Effet de rapport massique optimal de Pb(II)/Cts.....	145
IV.1.3. Effet de otentiel d'électroréduction.....	146
IV.1.4. Effet de temps d'électroréduction.....	147
IV.2. Courbe d'étalonnage et limite de détection.....	148
IV.3. Validation du capteur	149
IV.3.1. Sélectivité.....	149
IV.3.2. Reproductibilité et répétabilité du capteur.....	151
IV.3.3. Application avec échantillons réelles.....	151
V. Conclusion.....	152
Références.....	153

Conclusion générale	155
---------------------------	-----

Liste des figures

Figure I.1 : spéciation du mercure, cuivre, plomb et cadmium	15
Figure I.2 : Courbe d'étalonnage du capteur	17
Figure I.3: Schéma du principe général d'un capteur chimique.	18
Figure I.4: Domaines d'électroactivité avec différents matériaux d'électrodes et potentiels standards de quelques métaux	22
Figure I.5. Schéma d'une électrode modifiée pour application électrochimique.....	24
Figure I.6 : Différentes approches pour l'élaboration de l'IIP	29
Figure I.7: Procédé de la fabrication de chitine et chitosane	32
Figure I.8 : structure chimique de la chitine (a), du chitosane (b)	35
Figure I.9 : complexation intermoléculaire suivant trois formes	39
Figure I.10: Structure du noyau phénol	40
Figure I.11: classification des polyphénols simples	41
Figure I.12: Structure chimique (a) d'un tanin condensé (proanthocyanidine) et (b) d'un gallotanin	42
Figure I.13 : Feuilles et fruits de myrte.....	43
Figure I.14 : les sites proposés pour la chélation des ions métalliques (Mn^{+2}) (a) Les flavonoïdes, (b) Le mécanisme de réaction Tanins / Cu^{2+} : (b1) échange d'ion groupe Cathecol _ Cu^{+2} , (b2) échange d'ion groupe Pyrogallol _ Cu^{+2}	46
Figure I.15: Signaux d'excitation pour les techniques d'impulsions et les comportements (I-E) en sortie.....	48
Figure I.16 : Une représentation schématique de la voltamétrie de stripping anodique illustrant les deux étapes clés: électrodéposition et redissolution	49
Figure I.17: Signal de potentiel d'excitation utilisé pour CV (a), Réponse typique de CV pour un système électrochimiquement réversible (b).	50
Figure I.18: Voie de réaction générale sur une électrode.....	51
Figure I.19: Modes de transport de masse en voltammétrie	52
Figure I.20: Voltammogrammes cycliques pour le transfert d'électrons réversible (a), quasi-réversible (b) et irréversible (c)	53
Figure I.21: Signal de potentiel d'excitation (a), Courbe typique de chronoampérométrie(b).....	57
Figure I.22 : Schéma de signal d'entrée $V(t,\omega)$ et de signal de sortie $I(t,\omega)$ et qui montre le déphasage ϕ (a) , schéma représentatif des coordonnées cartésiennes et polaires (b), Diagramme de Nyquist (c).....	58
Figure I.23 : Modélisation des différentes couches d'un capteur par un circuit équivalent de Randle.....	58
Figure II.1 : Carapace de crevettes après prétraitement et chitosane après deacétylation.....	70
Figure II.2: la solubilité de la chitine et du chitosane dans l'acide acétique 1%	70
Figure II.3: Détermination de la viscosité intrinsèque η	72

Figure II.4 : Spectre IR du chitosane extrait.....	73
Figure II.5. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique suivant le protocole de détermination des polyphénols totaux.....	77
Figure II.6. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique suivant le protocole de détermination des flavonoïdes.....	78
Figure II.7. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique suivant le protocole de détermination des tanins totaux.....	79
Figure II.8. Activité chélatrice de l'EDTA et de l'extrait de feuille de myrte.....	80
Figure III.1 : Schéma de l'étapes de modification, (1)glutaraldéhyde,(2)thiorée, (3) base de Schiff "thiourée / glutaraldéhyde.....	87
Figure III.2: Specters FT-IR de (Cts), (CCts) and (TU-gt-Cts).....	88
Figure III.3: Schéma des étapes de préparation de l'électrode, et photo d'une électrode en pâte de carbone.....	89
Figure III.4: Profil SWV de 5,0 μM de Hg^{+2} pour CPE, CTs / CPE, CCts / CPE et TU-gt-Cts / CPE.	90
Figure III.5: Voltammogrammes cycliques pour 1 mM de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ dans une solution contenant 0,1M de KCl à la surface des électrodes préparées.....	91
Figure III.6: CV des trois électrodes à différentes vitesses de balayage; CPE nue, CCts/CPE et Tu-gt-Cts/CPE	92
Figure III.7: Variation du courant en fonction de la racine carrée de la vitesse de balayage de l'électrode de carbone vitreux.	93
Figure III. 8 : Tracés de Nyquist pour 1 mM de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$	94
Figure III.9: Circuit électrique équivalent utilisé pour la modélisation des spectres d'impédance de (TU-g-Cts).....	95
Figure III.10: a) Réponses CV de TU-gt-Cts / CPE à des vitesses de balayage 10, 20, 35, 50, 75, 100, 150 $\text{mV}\cdot\text{s}^{-1}$. (b) les tracés de courant de crête en fonction de la racine carrée du taux de balayage, (c) les tracés du logarithme du courant de crête en (A) en fonction du logarithme du vitesse de balayage (V / s), (d) variation du potentiel (V) en fonction du logarithme du taux de balayage (V / s).....	96
Figure III.11 : Tracés de Tafel dérivés de la partie montante des voltammogrammes enregistrés aux taux de balayage de 20, 35, 75 et 100 $\text{mV}\cdot\text{s}^{-1}$	97
Figure III.12: Chronoampérogramme obtenu pour TU-gt-Cts / CPE en présence de $6,0 \times 10^{-5} \text{ M}$, $1,3 \times 10^{-4} \text{ M}$; et $2,5 \times 10^{-4} \text{ M}$ de Hg (II) dans 0,2 M de HCl. Encart: courbes de Cottrell a différentes concentrations.....	98
Figure III.13: Variation du courant de crête en fonction de la concentration [HCl].....	100
Figure III.14: Variation du courant de crête en fonction de potentiel d'électroréduction....	100
Figure III.15: Variation du courant de crête en fonction du temps d'électroréduction.....	101
Figure III.16: Variation du courant de crête en fonction du (a) le pas de potentiel et (b) la hauteur d'impulsion.....	101
Figure III.17: (a) Voltammogrammes à onde carrée pour différentes concentrations de Hg (II). Encart: (b) Courbe d'étalonnage linéaire correspondante du courant de crête en fonction de la concentration de Hg (II); de 5 nm à 5 μM	102
Figure III.18 : Courbe d'étalonnage linéaire correspondante du courant de crête	

en fonction de la concentration d'Hg (II).....	103
Figure IV.1: (a) Dispositif expérimental concernant les mesures voltamétriques et la spectroscopie d'impédance, (b) Cellule électrochimique.....	113
Figure IV.2: Spectrs d'absorption UV-vis de (a) chitosan, (b) tanin de myrte, (c) bioconjugué de chitosan-tanin de myrte.....	114
Figure IV.3 : Voltamogrammes cycliques d'une électrode de carbone vitreux nue. Mesures effectuées dans 1mM de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ dans 0.1M KCl; $v=100\text{mV/s}$	115
Figure IV.4 : Les étapes de fonctionnalisation de l'électrode.....	116
Figure IV.5: Images d'une goutte d'eau déposée sur la surface d'un substrat en carbone sérigraphie nu (gauche) et Cts-TM/SCE (droite).....	117
Figure IV.6: Clichés obtenus par Microscopie Electronique à Balayage de (a) biofilm de chitosane, (b) biofilm de Cts-TM.....	118
Figure IV. 7: Voltamogrammes obtenus avant et après modification de la surface de GCE. Par Cts-TM.	118
Figure IV. 8: Diagrammes de Nyquist correspondant aux GCE et Cts-TM/GCE (0.1M de KCl en présence du couple redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$).....	119
Figure IV. 9 : Effet du pH sur la détection des métaux: cadmium, cuivre, plomb et le mercure.....	121
Figure IV.10 : Effet du potentiel d'accumulation et du temps d'accumulation sur la détection des métaux: cadmium, cuivre, plomb et mercure	122
Figure IV.11 : (a) Voltammogrammes DPASV de différentes concentrations de Cd(II). Encarts (b, c, d): Courbes d'étalonnage linéaires correspondantes au pic de courant en fonction de la concentration de Cd (II).....	123
Figure IV.12 : (a) Voltammogrammes DPASV de différentes concentrations de Pb (II). Encarts (b, c, d): Courbes d'étalonnage linéaires correspondantes au pic de courant en fonction de la concentration de Pb (II).....	124
Figure IV.13: (a) Voltammogrammes DPASV de différentes concentrations de Cu(II). Encarts (b, c, d): Courbes d'étalonnage linéaires correspondantes au pic de courant en fonction de la concentration de Cu (II).....	125
Figure IV.14 : (a) Voltammogrammes DPASV de différentes concentrations de Hg(II). Encarts (b, c, d):Courbes d'étalonnage linéaires correspondantes au pic de courant en fonction de la concentration de Hg (II).....	126
Figure IV.15: Courbes de détection simultanée par DPASV de différentes concentrations pour les quatre ions par l'électrode Cts-TM / GCE,	128
Figure IV.16: Courbes d'étalonnage linéaires correspondantes au chaque ion métallique lors de l'analyse simultanée des quatre ions dans la gamme de concentration 5×10^{-9} à 5×10^{-6} M. Encarts: Courbes d'étalonnage linéaires correspondantes à la gamme de concentration : 5 nM à 0.1 μM , utilisé pour calculer LODs.....	129
Figure IV.17 : Illustration schématique du processus d'impression des polymères et de modification des électrodes.....	137
Figure IV.18 : Le dépôt de la membrane sur la surface de GCE.....	138
Figure IV.19: Image MEB de la matrice IIP après extraction du plomb.....	139
Figure IV.20: Voltamogrammes cycliques en présence du $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$	

dans KCl d'une électrode nue (noire), Cts-TN/GCE (rouge), NIP/GCE (bleu), (Cts-Pb-TM)glt/GCE (vert), IIP/GCE (rose).....	140
Figure IV.21: Diagrammes de Nyquist de l'électrode de carbone vitreux nue (noire), Cts-TN/GCE . (rouge), NIP/GCE (bleu), (Cts-Pb-TM)glt/GCE (vert), IIP/GCE (rose).....	142
Figure IV.22: Circuit électrique équivalent utilisé pour la modélisation des spectres d'impédance de l'électrode de carbone vitreux modifiée.....	142
Figure IV.23: Voltammogrammes cycliques en présence ions cible Pb(II) dans (Bac) d'une électrode nue (noire), Cts-TN/GCE (rouge), NIP/GCE (bleu), (Cts-Pb-TM)glt/GCE (vert), IIP/GCE (rose).....	143
Figure IV.24: Effet du pH sur le pic de courant.....	145
Figure IV.25: Effet du rapport massique de Pb(II)/Cts sur le pic de courant.....	146
Figure IV.26: Effet du potentiel d'accumulation sur le pic de courant.....	147
Figure IV.27: Effet du temps d'accumulation sur le pic de courant.....	147
Figure IV.28: Voltammogrammes DPASV de diverses concentrations de Pb (II) Encart: Courbes d'étalonnage linéaires correspondantes du courant de crête en fonction de la concentration de Pb (II); (a) de 10^{-9} à 10^{-6} M et (b) de 10^{-6} à 10^{-5} M.....	148
Figure IV.29: Comparaison de la sélectivité des électrodes pour $2,5 \times 10^{-6}$ d'ions Pb (II) en présence de Cd (II), Cu (II), Hg (II) à différents rapports molaires [Mn ²⁺] / [Pb ²⁺] = 5, 10 et 15.	150

Liste des tableaux

Tableau I.1 : Les effets des métaux lourds sur la santé avec ses principales sources.....	07
Tableau I.2 : Paramètres de qualité de l'eau de consommation et rejets industriels.....	09
Tableau I.3 : Classification des différents types de matériaux d'électrodes.....	20
Tableau I.4 : classification des cations métalliques selon la théorie HSAB.....	30
Tableau I.5: Sources de la chitine et du chitosane	31
Tableau I.6: les constantes reliées à l'équation de Mark-Houwink dans littérature.....	36
Tableau I.7 : Les termes liés aux mesures de viscosité.....	37
Tableau II.1 : Les paramètres viscosimétriques en fonction de la concentration....	71
Tableau II.2 : Résultats des tests phytochimique sur l'extrait de myrte	76
Tableau II.3 : Dosage des composés phénoliques.....	79
Tableau II.4 : l'activité chélatrice.....	80
Tableau III.1: Variation des paramètres électrochimiques de l'électrode de CPE avant et après modification.....	93
Tableau III.2: Variation de $n.\Delta E_p$ avec la vitesse de balayage.....	99
Tableau III.3: Comparaison de l'efficacité de TU-gt-Cts / CPE avec d'autres électrodes modifiées dans la littérature pour la détermination de Hg(II).....	104
Tableau III.4: Influence des interférences sur la réponse en courant	105
Tableau III.5: résultats de récupération de l' Hg^{+2} dans des échantillons d'eau du robinet et d'eau de mer.....	106
Tableau IV.1: Sensibilité et limite de détection analysés individuellement pour les cations Cd(II), Cu(II), Pb(II) et Hg(II) par la matrice Cts-TM.....	127
Tableau IV.2: Sensibilité et limite de détection analysés simultanément pour les cations Cd(II), Cu(II), Pb(II) et Hg(II) par le système Cts-TM.....	130
Tableau IV.3 : Comparaison analytique des performances de notre capteur avec quelques autres de la littérature.....	131
Tableau IV.5: Variation des paramètres électrochimiques de courbes CV après chaque étape de modification.....	141
Tableau IV.6: Paramètres de simulation des électrodes modifiées par Nova1.5, à partir des diagrammes de Nyquist. Le circuits utilisé est [(R(Q[RW])).....	143
Tableau IV.7 : Niveaux d'interférence de certains ions interférents sur la réponse de courant de crête de Pb (II).....	149
Tableau IV.8: Comparaison de l'efficacité du IIP / GCE avec les électrodes de la littérature basées sur la matrice Pb-IP	151
Tableau IV.9: résultats de récupération du Pb^{+2} à des niveaux traces dans des échantillons contaminés d'eau du robinet et d'eau de mer.....	152

Liste des abréviations

A	Area of the electrode
ABS	Absorbance
Ag/AgCl	Electrode de référence
BAc	Tampon acétate
CA	Chronoamperometrie
CV	Cyclic voltammetry
Cts	Chitosane
CPE	Carbone paste electrode
cpe	Elément de phase constante
C_{dl}	Capacité de la double couche
D	Coefficient de diffusion en cm ² /s
DD	Degré déacétylation
DPASV	Differential pulse Anodic stripping voltammetry
EDTA	Éthylènediaminetétraacétique
EIS	Spectroscopie d'impédance
ETM	Elément trace métallique
E_{acc}	Potentiel d'électro-accumulation
F	Constante de Faraday
FTIR	Fourier Transform Infrared Spectroscopy
GCE	Glassy carbone electrode
gl	glutaraldehyde
IC 50	Inhibitory concentration of 50%
I_{pa}	Intensité du pic anodique
I_{pc}	Intensité du pic cathodique
IIP	Ion imprinted polymer
LOD	Limite Of Détection
M_v	Masse molaire moyenne viscosimétrique du polymère
MEB	Microscopie Electronique à Balayage
NIP	Non-imprinted polymer
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
R_{tc}	Résistance de transfert de charge
R_s	Résistance de la solution
RSD	Relative Standard deviation
SD	Standard deviation
SWASV	Square Wave Anodic stripping voltammetry
TM	Tanin de Myrte
TU	Thiourée
t_{acc}	Temps d'électro-accumulation
UV	Ultra Violet
W	Warburg
ΔE_p	Difference de potentiel entre E _{pa} et E _{pc}
v	Vitesse de balayage
α	Coefficient de transfert d'électrons
n	Nombre total d'électrons transférés
η	Viscosité
k⁰	Constante de vitesse de transfert d'électrons hétérogène
b	Pente de la courbe de Tafel

Introduction générale

Introduction générale

La présence de métaux lourds dans notre environnement est considérée comme un problème écologique majeur. Ces substances métalliques non seulement, elles ne sont pas biodégradables, mais également hautement toxiques pour les organismes vivants. Le danger de ce type de pollution réside dans la stabilité de ces métaux dans les sites contaminés par des mécanismes de toxicité biologique très compliqués. Leur capacité à s'accumuler dans les organismes vivants mène à des effets très graves. La présence de l'homme au sommet de la chaîne alimentaire en fait de lui, l'une des victimes les plus affectées par le phénomène de bioaccumulation. Le mercure, le cadmium et le plomb sont visées prioritairement par cette directive, en raison de leur classement parmi les 30 substances les plus toxiques. L'exposition permanente des êtres vivants à ces métaux lourds toxiques s'est fortement aggravée au cours des cinquante dernières années avec l'augmentation exponentielle de l'utilisation de ces éléments métalliques dans les processus et produits industriels. Face à ce problème de plus en plus sévère, Il est devenu nécessaire de mettre au point des outils de surveillances fiables, sensibles et précis.

Jusqu'à présent, les techniques spectrométriques sont les plus fréquemment utilisées pour l'analyse des ions traces métalliques, grâce à leur sensibilité et sélectivité élevée, cependant, elles sont coûteuses, nécessitent une technicité associée et une main d'œuvre généralement qualifiée et ne conviennent pas à la mesure sur site. Dans ce contexte, les méthodes électro-analytiques utilisant les capteurs électrochimiques sont acceptées comme dispositifs alternatives et efficaces possédant des caractéristiques équivalentes en termes de fiabilité, sélectivité et rapidité de la détermination individuelle et simultanée de telles substances avec possibilité d'une surveillance continue et à un coût amoindri.

Le point clé pour avoir un capteur électrochimique bon et fiable est la nature du modificateur d'électrode utilisé. Ce dernier peut améliorer considérablement l'efficacité de l'accumulation des cations. Un modificateur d'électrode peut varier d'une simple molécule à une matrice de nombreux éléments de nature différente.

Introduction générale

Les biomolécules sont considérés parmi les meilleurs choix disponibles pour élaborer des matériaux destinés à la modification des électrodes, grâce à leur diversité, leur abondance et leur facilité d'extraction, ainsi que leur propriété physico-chimiques telles que l'adsorption, la chélation et la capacité à former des films ou des nanoparticules.

Notre travail de thèse porte sur le développement des capteurs électrochimiques à base des biomatériaux préparés à partir de biomolécules extraites de sources naturelles ; animales (chitosane) et végétales (les polyphénols de myrte), en vue de l'analyse des ions métalliques toxiques dans des milieux aqueux.

Notre manuscrit de thèse s'articule en quatre chapitres :

Dans le premier chapitre nous abordons en premier lieu les problématiques environnementales et sanitaires liées aux métaux lourds, avant de présenter des généralités sur les capteurs électrochimiques, notamment, les électrodes chimiquement modifiés comme outil alternatif de détection des ces éléments toxiques. Par la suite, nous rappelons le chitosane et les polyphénols de *Myrtus communis* L., en tant que matériaux chélatants, qui conviennent à l'élaboration des modificateurs. En vue de comprendre la caractérisation électrochimique mises en œuvre au cours de notre travail de thèse, nous rappelons les différentes techniques voltamétriques utilisées, seront inclus aussi les concepts et les théories liées aux modes de transport de masse et à la cinétique de transfert des électrons dans un système électrochimique.

Dans le deuxième chapitre les étapes d'isolation de chitosane de carapaces des crevettes et de polyphénols de feuilles de myrte sont détaillées. Des tests d'identification et de quantification sont réalisés pour caractériser les extraits.

Le troisième chapitre est réservé à l'élaboration d'un capteur électrochimique destiné à la détection des ions de mercure Hg(II) par une électrode en pate de carbone (CPE) a base d'une résine chélatante de chitosane-thiourée, notée TU-g-Cts/CPE. Une caractérisation électrochimique de l'électrode modifiée ainsi qu'une discussion des réactions d'interface, y compris la réversibilité des électrodes, le mécanisme de transport de masse et la cinétique des réactions de transfert d'électrons hétérogènes sont décrits.

Introduction générale

La modification des électrodes par des matrices à base de chitosane- polyphénols de Myrte fait l'objet de quatrième chapitre qui divisé en deux parties; une première décrit l'application d'une électrode en carbone vitreux modifiée par le bioconjugué de ces deux polymère à la détection simultanée des quatre ions métalliques a savoir la cadmium, le plomb, le cuivre et le mercure. Dans la deuxième partie, la technique de polymère à empreinte ionique (IIP) est appliquée sur ce même bioconjugué Cts-TM en vue de réaliser un capteur sélectif des ions de plomb(II). A la fin de cette application, l'interférence de quelques espèces sur le signale de réponse, ainsi que, la performance du capteur avec des échantillons réels sont également testée.

Notre thèse s'achève par une conclusion générale dans laquelle nous repositionnerons l'ensemble de notre travail en regard des objectifs initiaux de l'étude. Nous aborderons également une discussion sur les perspectives de travail qui découlent de cette thèse.

*Chapitre I : Métaux lourds : problématique
sanitaire /environnementale et moyens de
détection*

I. Introduction

Ce premier chapitre est consacré en premier lieu à la présentation des notions et des problèmes liés aux métaux lourds au niveau environnemental et sanitaire, avec un focus sur le comportement et la biodisponibilité du plomb, du mercure, du cadmium et du cuivre, éléments visés dans ce travail. En second lieu, sont exposées des généralités sur les capteurs électrochimiques et les électrodes chimiquement modifiés, notamment les électrodes en carbone, utilisés pour la détection des micropolluants métalliques. Dans le même contexte des rappels sur le chitosane et les polyphénols de myrte sont présentés, ces molécules peuvent former des complexes avec les ions métalliques, ce qui rend possible leur utilisation en tant que modificateur d'électrode. Enfin, les méthodes de caractérisations électrochimiques employées sont détaillées.

II. Problématique environnementale

En plus d'être toxiques, les métaux lourds ne sont pas biodégradables, ils peuvent s'accumuler dans l'environnement en particulier dans le milieu aquatique naturel, pour transmettre ensuite par la chaîne alimentaire. Ce qui nous met face à un problème écologique majeur. Ces éléments traces métalliques (ETM) ont deux sources d'origines distinctes : le fond géochimique et les pollutions anthropogéniques [1]. À partir de ces sites originaux où les teneurs naturelles sont très élevées, la mobilité des ETM découle principalement sous l'effet de certains processus chimiques ou biochimiques complexes. Ces processus sont liés à l'environnement du site et aux propriétés physico-chimiques des ETM, qui induisent la dispersion et le déplacement de cette pollution vers de nouveaux endroits [2]. Il est donc, extrêmement important d'avoir une vision complète et précise de cette problématique environnementale et sanitaire. Dans cette partie quelques généralités sont données sur les éléments trace métalliques; comme les origines et les effets sur l'environnement et la santé; notamment les paramètres influençant leur mobilité et la biodisponibilité des métaux lourds cibles dans cette étude.

Chapitre 1: Métaux lourds : problématique sanitaire/environnementale et moyens de détection

II.1. Définition de métaux lourds:

Le terme générique « métaux lourds » est l'expression couramment utilisé pour exprimer les éléments traces métalliques naturels dont la masse volumique dépasse 5g/cm^3 . Il désigne en fait un ensemble de métaux ou métalloïdes de forte toxicité pour la santé et l'environnement [3]. Les éléments traces les plus souvent considérés comme toxique pour l'homme sont : le plomb, le mercure, l'arsenic et le cadmium. D'autres comme le cuivre, le zinc, le fer, le chrome, pourtant nécessaires à l'organisme en petites quantités, peuvent devenir toxiques à doses plus importantes. Les métaux lourds possèdent les propriétés physiques générales des métaux (bonne conductivité thermique et électrique). Ils sont fortement électropositifs et donnent par perte d'électrons des cations métalliques de charge variable. Ces cations métalliques qui présentent à la fois des densités de charge élevées et un caractère électrophile peuvent former avec des ligands des liaisons ioniques covalentes ou intermédiaires et donnent naissance à des complexes plus ou moins stables [4].

Dans le cadre de chimie, les métaux lourds sont généralement définis sur la base de leurs propriétés physico-chimiques. En science du sol, il est convenu de parler "d'éléments trace métalliques" qui désignent des composés minérales présents à très faible concentration. En toxicologie, ils peuvent être définis comme des métaux à caractère cumulatif (souvent dans les tissus biologiques) ayant essentiellement des effets très néfastes sur les organismes vivants. En nutrition et en agronomie, ils peuvent même être assimilés à des oligo-éléments indispensables à certains organismes, en particulier par leur action catalytique au niveau du métabolisme [5]. D'un point de vu environnementale, ils sont tous potentiellement polluants et non biodégradables.

II.2. Origine :

Les métaux sont présents naturellement dans le manteau supérieur de la terre (asthénosphère, lithosphère), l'hydrosphère et l'atmosphère, compartiments entre lesquels des échanges permanents se produisent [6]. Cependant, le développement des sociétés industrielles basé sur la découverte et l'utilisation des métaux est à l'origine d'une pollution supplémentaire des sols et des eaux conduisant à des quantités de micropolluants métalliques dispersées en milieu aqueux de plus en plus importantes [7]. Par conséquent, les métaux lourds ont deux sources d'origines distinctes : le fond géochimique et les pollutions anthropogéniques:

Chapitre 1: Métaux lourds : problématique sanitaire/environnementale et moyens de détection

II.2.1. Sources naturelles :

Les teneurs provenant d'apports originelles dépendent principalement des gisements des métaux lourds. La composition des roches présentes. Ainsi que des apports et modifications occasionnés des évènements naturels d'évolution géologique comme les activités volcanique, crues, tremblements de terre, érosion, le transport d'aérosols, les eaux de surface et souterrains etc) [8].

II.2.2. Sources anthropiques :

Désignent toute pollution par les métaux lourds découlant de l'activité humaine. Ces actions anthropogéniques influent sur la dispersion et donc sur la contamination de nouvelles zones et modifient les teneurs en élément traces liées au fond géochimique [9]. Ce type de pollution est liée principalement aux sites miniers pour lesquels les concentrations en éléments traces métalliques sont localement très élevées et d'anciens sites industriels qui sont susceptibles d'être réutilisés [7]. Ainsi ; la mobilité de micropolluants métalliques présents dans ces sites miniers découle principalement de l'oxydation des sulfures présents (originels ou introduits en tant que réactifs) ou de l'acidification induite (pluies acides ou réactifs d'extraction) par les eaux du milieu qui favorise le transport par dissolution des métaux. Les sources anthropiques des principaux éléments toxiques seront détaillées dans le tableau I.1.

II.4. Les effets des métaux lourds

II.4.1. Sur l'environnement

A de faibles concentrations, beaucoup de métaux lourds, dont Hg, Cd, Pb, As et Cu inhibent la photosynthèse et la croissance du phytoplancton. Les effets observés à des niveaux trophiques supérieurs se manifestent notamment par un retard du développement des embryons, des malformations et une moins bonne croissance des adultes chez les poissons, les mollusques et les crustacés. En outre, tout au long de la chaîne alimentaire, certains se concentrent dans les organismes vivants. Ils peuvent ainsi atteindre des taux très élevés dans certaines espèces consommées par l'homme, comme les poissons. Cette " bioaccumulation " explique leur très forte toxicité [10]. Dans les sols des concentrations élevées en métaux sont généralement associées à la présence d'eau souterraine contaminées ainsi qu'à l'utilisation de certains engrais et produits chimiques agricoles. Dans des conditions extrêmes où l'accumulation des métaux est à des concentrations supérieures à celles acceptées par l'Organisation Mondiale de la Santé OMS, les sols peuvent devenir impropres aux cultures destinées à la consommation humaine [11].

Chapitre 1: Métaux lourds : problématique sanitaire/environnementale et moyens de détection

II.4.2. Sur la santé humaine

Les hommes sont exposés par inhalation des polluants aériens, la consommation d'eau contaminée, l'exposition à des sols contaminés de déchets industriels. Ces métaux peuvent être absorbés sous la forme inorganique ou sous la forme organique, ensuite, ils s'accumulent dans les organismes vivants et perturbent les équilibres et mécanismes biologiques, provoquant des effets toxiques. Les effets des ETM sur la santé avec ses principales sources anthropiques sont résumés dans le tableau I.1.

Tableau I.1 : Les effets des métaux lourds sur la santé avec ses principales sources [12, 13, 14].

Métaux lourds	Principales Sources	Effets sur la santé
As	Pesticides, fongicides, fonderies de métaux, Textile, électricité, bois et produits du bois, unités de fabrication de papier.	Bronchite, dermatite, Maladies de la peau, cancers viscéraux, maladies vasculaires, empoisonnement
Cd	Galvanoplastie, batteries Cd-Ni, Barres de contrôle, les réacteurs nucléaires, phosphores de télévision, Soudage, pesticides, engrais.	Dysfonction rénale, maladie pulmonaire, cancer du poumon, défauts osseux, lésions rénales, moelle osseuse.
Cr	Dépôts naturels; exploitation minière, galvanoplastie, pigments, tannage du cuir, refroidissement industriels, sources minérales	Dommages au système nerveux, irritabilité, Foie, rein, troubles circulatoires, Ulcère, hépatiques.
Cu	Exploitation minière, production de pesticides, industrie chimique, gisements naturels / industriels; plomberie, galvanoplastie, fonderie	Anémie, lésions hépatiques et rénales, Irritation gastro-intestinale, Anémie, lésions hépatiques et rénales.
Hg	Produits pharmaceutiques et électroniques, centrales thermiques, Pesticides, batteries, papeterie, lampes fluorescentes, usines de chlore-alcali	Tremblements, gingivite, empoisonnement au protoplasme, lésions du système nerveux, avortement spontané, empoisonnement au protoplasme, Polyarthrite rhumatoïde.
Pb	Dépôts naturels / industriels; plomberie, soudure, robinets en alliage de laiton, peinture, combustion de charbon, pesticides, tabagisme, émissions automobiles, exploitation minière.	Retard mental chez les enfants, retard de développement, encéphalopathie infantile mortelle, lésions chroniques du système nerveux, foie, lésions rénales.

II.3. Paramètres influençant la mobilité et la biodisponibilité des métaux lourds

La mobilité des métaux se traduit généralement par le passage de la forme colloïdale et particulaire à la forme dissoute (ionique ou adsorbée) et inversement [15]. Un métal est considéré comme étant biodisponible s'il se trouve sous forme d'ion libre, et donc généralement solubles et mobiles [16]. Pourtant dans l'environnement, la spéciation d'un métal est affectée par de nombreux facteurs interdépendants :

II.3.1. Le pH

Le pH constitue un facteur dont le rôle est crucial pour la mobilité des ions métalliques, car il influence le nombre de charges négatives pouvant être mises en solution [17]. Les protons proviennent majoritairement de la respiration végétale et microbienne, ainsi que de l'oxydation des sulfures. A l'inverse, ils sont consommés par l'hydrolyse des minéraux altérables. D'une façon générale, lorsque le pH augmente, les cations sont moins solubles et les anions sont plus solubles [18]. De plus, l'augmentation de pH induit souvent la formation d'espèces précipitées qui peuvent limiter la solubilité et la biodisponibilité de toutes les espèces ioniques [19]. Cependant, elle entraîne également la dissolution de matières organiques et la formation consécutive de complexes organo-métalliques plus solubles [20].

II.3.2. La salinité :

L'augmentation de la salinité entraîne généralement la remobilisation des métaux associés aux particules en suspension et à la surface du sédiment en raison des phénomènes de compétition liés à la présence des ions magnésium et calcium [21]. Les métaux libérés vont généralement à former des chloro-complexes. Dans la phase dissoute cette complexation avec les ions chlorures aura tendance à diminuer la biodisponibilité du métal [22].

II.3.3. Le potentiel redox

Le potentiel redox (Eh) permet de caractériser les échanges d'électrons entre les espèces chimiques. Ainsi, les formes oxydées prédominent pour un potentiel redox élevé, alors que les faibles valeurs favorisent l'apparition d'espèces réduites. Les valeurs les plus courantes du potentiel redox dans les sols naturels sont comprises entre -200 et 400 mV, domaine de potentiel qui recouvre des degrés d'oxydation variés de nombreuses espèces en solution, influant ainsi directement ou indirectement sur la mobilité des métaux qui constituent ces espèces minérales. De plus, la modification du degré d'oxydation des ligands ou des éléments se liant avec le métal influence indirectement la solubilité des métaux lourds. En conditions réductrices, les sulfates sont réduits en sulfures qui piègent volontiers les éléments

Chapitre 1: Métaux lourds : problématique sanitaire/environnementale et moyens de détection

chalcophiles tels que Fe, Zn, Pb, Cd [23]. D'autre part, la dissolution des (hydro)oxydes est favorisée entraînant de manière opposée la solubilisation des métaux associés [24].

II.3.4. Les anions

Suivant du pH et du Eh du milieu, certains anions, tels que S^{2-} , CO_3^{2-} ou PO_4^{3-} forment des composés insolubles avec les métaux lourds, alors que, d'autres comme (Cl-, NO_3^- , CN^-) peuvent former des complexes solubles avec les métaux lourds. La complexation des métaux lourds varie en fonction de la concentration en ligand : par exemple les complexes MCl^+ , MCl_2 , MCl_3^- et MCl_4^{2-} (M = Cd, Hg, Pb, Zn) se forment en présence des concentrations croissantes de chlorure, selon la nature du métal et de son affinité pour le ligand [25]. La nouvelle spéciation du métal (charge négative) modifie sa réactivité chimique. En effet, l'ion métallique libre M^{2+} peut s'adsorber sur les constituants minéraux d'un sol. Mais en présence de chlorure, des complexes de charge négative se forment, provoquant une désorption du métal et une augmentation de sa biodisponibilité [26, 27].

II.3.4. La température

La température du sol dépend en premier lieu de la météorologie, et donc du climat, mais elle est également liée à l'activité biologique [28]. La température a un impact direct sur la mobilité des éléments métalliques en déplaçant les équilibres des réactions de dissolution - précipitation et co-précipitation, et un impact indirect, en modifiant la teneur du sol en eau.

II.5. Normes et réglementation

Les normes sont définies comme étant les concentrations maximales admises et qui sont donc des critères de qualité à respecter. Ils sont des valeurs limites fixées par la loi et établies en vertu de compromis entre demandes concurrentes.

Tableau I.2 : Paramètres de qualité de l'eau de consommation humaine et de rejets d'effluents liquide industriels

Elément toxique	Eaux potables [29]	Eaux de rejets industriels [30]
Mercure	6.0 µg/l	0.01 mg/l
plomb	10 µg/l	0.50 mg/l
cadmium	3.0 µg/l	0.20 mg/l
cuiivre	2.0 mg/l	0.50 mg/l
nickel	70 µg/l	0.50 mg/l
chrome	50 µg/l	0.50mg/l

Chapitre 1: Métaux lourds : problématique sanitaire/environnementale et moyens de détection

Comme indique le (tableau.I.2), il existe deux types de normes pour estimer la qualité des eaux: les normes qui définissent les caractéristiques que doit présenter une masse d'eau selon son utilisation principale (potabilité ou irrigation par exemple), et les normes concernant les effluents, qui fixent les charges polluantes limites qui peuvent être rejetées ponctuellement dans les eaux réceptrices

Quatre métaux lourds ont été choisis pour cet étude; le Hg(II), le Cd(II), le Pb(II) par ce qu'ils ont été classés par la DCE (Directive Cadre de l'Eau, niveau Européen) parmi les 30 substances prioritaires, d'un point de vue des contrôles environnementaux et sanitaires [31]. Le Cu(II) est choisi en tant qu'un des minéraux les plus employés à cause de ses propriétés physiques et particulièrement de sa conductibilité électrique et thermique. La biodisponibilité, la spéciation et le comportement dans l'environnement, de ces quatre éléments toxiques sont discutés dans les paragraphes suivants :

II.6. Généralités sur les métaux utilisés

II.6.1. Le mercure :

Le mercure (Hg) est l'élément chimique de numéro atomique 80 et de masse atomique 200.59 g/mol. Le mercure est un métal liquide à température ambiante connu depuis plus de quatre millénaires. Il est largement utilisé dans notre société moderne : industries, médecine, extraction minière, soins dentaires,... etc. [32, 33]. Il provient de gisements souterrains situés à des profondeurs comprises entre quelques mètres et 700 mètres. Les principales sources d'émissions naturelles de mercure sont le dégazage des croûtes terrestre ou océanique (30 000 à 150 000 tonnes par an) L'activité volcanique constitue aussi une source naturelle de mercure importante [33]. En termes de contamination, le mercure peut être inhalé ou ingéré. Son passage dans le sang et sa distribution sont très rapides (quelques minutes). Il est alors stocké dans les érythrocytes, les reins, le système nerveux et le foie. Paradoxalement, sa demi-vie d'élimination est de 3 à 30 jours en fonction de sa forme. Le pic d'élimination urinaire apparaît 2 à 3 semaines après l'exposition [34].

II.6.1.1. Biodisponibilité et comportement dans l'environnement

Le mercure possède une spéciation un peu complexe, car il peut exister sous trois formes différentes : le mercure élémentaire (Hg^0), le cation mercureux (Hg^+) et le cation mercurique (Hg^{2+}) [35]. Le mercure élémentaire, le seul métal liquide à température ambiante, peut

Chapitre 1: Métaux lourds : problématique sanitaire/environnementale et moyens de détection

facilement passer de l'état liquide à l'état gazeux. Ces diverses formes du mercure sont susceptibles d'évoluer dans l'environnement. L'une des principales particularités du mercure est de subir des réactions de méthylation / déméthylation [34]. Il possède un très fort facteur de bioconcentration qui reflète sa forte capacité à s'accumuler dans les organismes vivants, notamment aquatiques. Sa demi-vie biologique est de l'ordre de 3 mois [33].

a) Dans l'eau : Le mercure élémentaire est quasiment insoluble dans l'eau ($56,7 \cdot 10^{-3}$ mg/l à 20 °C) [36]. Les composés organiques sont solubles. La solubilité des composés du mercure inorganique est très variable : des composés comme le chlorure mercurique sont solubles (69 g/l à 20 °C pour HgCl_2 , 6 g/l à 25 °C pour CH_3HgCl) [37], alors que le sulfure mercurique est complètement insoluble. La solubilité des composés organiques est également variable mais tous sont plus ou moins solubles.

b) Dans les sols : Le mercure est faiblement mobile dans le sol et les sédiments. En effet, le mercure mis en contact avec le sol est rapidement immobilisé par les oxydes de fer, d'aluminium et le manganèse et surtout par la matière organique. Le monométhyl et le diméthylmercure (CH_3Hg^+ et $(\text{CH}_3)_2\text{Hg}$) sont formés à partir des sels de mercure inorganique par des bactéries aérobies ou anaérobies (ou parfois par voie chimique). Le mercure métallique peut aussi être méthylié après avoir été oxydé en Hg^{2+} [33]. Le mercure a tendance à rester dans les horizons de surface.

c) Dans l'air : Le mercure élémentaire et les composés organiques du mercure sont volatils, contrairement aux composés inorganiques. A l'état de vapeur, le mercure va pénétrer préférentiellement (80%) dans l'organisme par les voies respiratoires.

II.6.2. Plomb :

Le plomb (Pb) est l'élément chimique de numéro atomique 82 et masse atomique 207.2 g/mol. Le plomb, dont les premières formes d'utilisation remontent à 40 000 ans avant J.-C. est relativement abondant dans la croûte terrestre. Son extraction intensive a commencé durant l'antiquité. Son exploitation ainsi que son utilisation remontent donc à des millénaires, mais ont augmenté de façon spectaculaire durant la révolution industrielle. Cette exploitation intensive a entraîné la libération intense de ce métal indestructible et son accumulation massive dans l'environnement [38, 39].

Chapitre 1: Métaux lourds : problématique sanitaire/environnementale et moyens de détection

II.6.2.1. Biodisponibilité et comportement dans l'environnement

Le plomb peut se présenter sous de nombreuses formes chimiques, soit minérales comme le plomb élémentaire (Pb^0) soit sous forme ionisée cationique. L'espèce la plus courante étant le cation divalent (Pb^{2+}). D'autres états d'oxydation moins fréquents peuvent se rencontrer dans divers composés en particulier le cation trivalent (Pb^{3+}) et le cation tétravalent (Pb^{4+}) [34].

a) Dans l'eau : La plupart des composés inorganiques du plomb (II) sont peu solubles ou insolubles dans l'eau (c'est par exemple le cas de PbS , $PbCO_3$, $PbSO_4$), les composés halogénés du plomb (chlorure, bromure) ou les acétates de plomb étant plus solubles [40]. Dans le milieu aquatique, le plomb a tendance à être éliminé de la colonne d'eau en migrant vers les sédiments par adsorption sur la matière organique et les minéraux d'argile, précipitation comme sel insoluble et réaction avec les ions hydriques et les oxydes de manganèse, mais la quantité de plomb restant en solution sera fonction du pH [41], cette quantité sous forme dissoute peut former en eau douce des complexes avec des ligands tel que HCO_3^- , CO_3^{2-} , OH^- , $(OH)_3^{-3}$ et en eau de mer avec des anions tel que Cl^- , CO_3^{2-} , OH^- , Cl_2^{2-} , Cl_3^{3-} . Il peut également se complexer avec des sulfates [42].

b) Dans les sols : La mobilité du plomb dans le sol est très faible, il a ainsi tendance à s'accumuler dans les horizons de surface (et plus précisément dans les horizons riches en matière organique). Cela s'explique par la grande affinité de la matière organique vis à vis du plomb. Cela est valable pour le plomb naturel mais également pour le plomb anthropique, et spécialement pour des sols ayant au moins 5 % de matière organique et un pH supérieur à 5.

c) Dans l'air : Dans l'atmosphère, le plomb inorganique est principalement sous forme particulaire. Les principales formes du plomb (inorganique) dans l'air sont des carbonates, des oxycarbonates, des oxydes et des sulfates. ;;

II.6.3. Cadmium :

Le cadmium est l'élément chimique de numéro atomique 48 et de symbole Cd [43]. Il fut découvert en 1817 par l'Allemand Friedrich Stromeyer qç1d5ui le prépara pour la première fois. C'est un élément relativement rare qui est présent dans la croûte terrestre à des concentrations d'environ 1 à 2 ppm. Il est obtenu comme sous-produit de raffinage d'autres ETM comme le plomb, le zinc et le cuivre [44]. La bioaccumulation du cadmium se fait principalement au sein des espèces végétales. Sa demi-vie biologique dans le corps humain

Chapitre 1: Métaux lourds : problématique sanitaire/environnementale et moyens de détection

est de 10 à 30 ans, rendant la contamination chronique d'autant plus dangereuse que son évacuation est extrêmement longue [44, 45].

II.6.3.1. Biodisponibilité et comportement dans l'environnement

Les principales formes cristallines de cuivre sont : le greenockite et l'hawleyite (CdS), l'otavite (CdCO₃), le montéponite (CdO) et la cadmosélite (CdSe) [46]. Comparable aux autres ETM, la spéciation du cadmium est la plus simple car il ne possède qu'une seule forme ionique : le cation divalent : Cd²⁺ [43], qui peut former des composés organiques ou inorganiques insolubles par complexation avec des ligands minéraux et organiques [44, 47].

a) Dans l'eau : En milieu aquatique, l'érosion naturelle, le lessivage des sols, les effluents industriels et miniers ou les décharges industrielles sont les principales sources du cadmium [47]. Le cadmium à l'état métallique n'est pas soluble dans l'eau, les sels de cadmium sont plus ou moins solubles tous dépendent du contre ion et du pH. En milieu aquatique, le cadmium est relativement mobile et peut être transporté sous forme de cations hydratés ou de complexes organiques ou inorganiques [48].

b) Dans les sols : Sauf sous forme de CdCl₂ ou CdSO₄, le cadmium est insoluble dans les sols mais il est considéré comme assez mobile (grâce aux eaux de ruissellement), néanmoins il a tendance à s'accumuler dans les horizons supérieurs du sol, riches en matière organique. La mobilité du cadmium est essentiellement fonction du pH du sol, son adsorption par la phase solide pouvant être multipliée trois fois lorsque le pH augmente d'une unité dans la plage 4-8 [49].

c) Dans l'air : Les activités industrielles comme le raffinage des métaux non ferreux, la métallurgie, la combustion du charbon et des produits pétroliers, les incinérateurs d'ordures ménagères, constituent les principales sources de rejet atmosphérique [44]. Le cadmium et ses composés ne sont pas ou sont très peu volatils. Dans l'air, le cadmium est présent sous forme particulaire, la principale forme étant l'oxyde de cadmium (les autres formes étant des sels de cadmium).

II.6.4. Le cuivre

Le cuivre est un élément chimique métallique de transition, de couleur rouge-brun et de symbole Cu [49]. Sa concentration dans l'écorce terrestre est estimée à environ 70 ppm (30 à 100 ppm). Le milieu environnemental le plus exposé au cuivre est le sol : 97 % du cuivre libéré dans l'environnement [50] s'y retrouve contre seulement environ 3 % dans les eaux et 0,04 % dans l'air.

Chapitre 1: Métaux lourds : problématique sanitaire/environnementale et moyens de détection

Il est principalement produit par broyage de minerais sulfurés et enrichissement par flottation ou par lessivage acide des minerais oxydés suivi d'une fusion et d'un raffinage électrolytique ou thermique. Le cuivre est l'un des métaux les plus employés à cause de ses propriétés physiques et particulièrement de sa conductibilité électrique et thermique [51].

II.6.4.1. Biodisponibilité et comportement dans l'environnement

Dans la nature, on peut le trouver dans la chalcopirite (Cu_2S , Fe_2S_3), on le trouve également dans la malachite ($\text{Cu}_2\text{CO}_3(\text{OH})_2$), l'azurite ($2\text{CuCO}_3\text{Cu}(\text{OH})_2$), la chalcocite (Cu_2S) et la bornite (Cu_3FeS_4) [52]. Le cuivre peut porter deux états d'oxydation : Cu (+I) et Cu (+II). Il existe également une autre forme instable Cu (+III) [49]. L'ion Cu^{2+} forme de nombreux complexes stables avec des ligands organiques et des ligands minéraux, comme les chlorures ou l'ammonium.

a) Dans l'eau : Dans les milieux aqueux, le comportement du cuivre est influencé par de nombreux processus: complexation avec des ligands minéraux ou organiques (surtout sur les groupes $-\text{NH}_2$ et $-\text{SH}$, et dans une moindre mesure sur le groupe $-\text{OH}$), adsorption sur des oxydes métalliques, des argiles ou des matières organiques particulières, bioaccumulation, échange entre les sédiments et l'eau [53].

La spéciation de cuivre dans les eaux naturelles (Figure I.1) montre qu'il reste à l'état d'ion Cu^{+2} jusqu'à un pH égale à 6. Pour la plupart des eaux neutres $\text{Cu}(\text{CO}_3)_2^{2-}$ et CuCO_3 sont également importants, la seconde espèce est plus importante entre pH 7 et 8. Ensuite, à pH au-dessus de 8 le complexe $\text{Cu}(\text{OH})_2$ prédomine [54].

b) Dans les sols : Le comportement du cuivre dans le sol dépend de nombreux facteurs : le pH du sol, son potentiel redox, sa capacité d'échange cationique, le type et la distribution de matières organiques, la présence d'oxydes, la vitesse de décomposition de la matière organique, les proportions d'argiles, de limons et de sables, le climat, le type de végétation [53]. Dans le cycle sédimentaire il est associé aux minéraux argileux et spécialement associé au carbone et manganèse. En conditions acides le cuivre est plus soluble que dans les milieux tamponnés. La malachite précipite dès que le pH est supérieur à 7. Toutefois, dans un milieu réducteur la phase minérale prédominante est le sulfure cuivreux ou chalcosine (Cu_2S) [54].

Chapitre 1: Métaux lourds : problématique sanitaire/environnementale et moyens de détection

c) **Dans l'air** : Le cuivre est rejeté dans l'atmosphère sous forme particulaire d'oxyde ; de sulfate ou de carbonate ou adsorbé sur la matière particulaire suspendue en l'air [52, 53]. La vitesse et la distance de redéposition dépendent des caractéristiques de la source, de la taille des particules et de la vitesse du vent.

La figure suivante montre des diagrammes exemplaires de l'influence de pH sur la :

Spéciation du mercure dans l'eau distillée ($[\text{Hg}^{2+}] = 25 \text{ mg / L}$).

Spéciation du cuivre dans l'eau distillée ($[\text{Cu}^{2+}] = 1.0 \times 10^{-5} \text{ mol/ L}$).

Spéciation du plomb avec $[\text{Pb}^{2+}] = 4,826 \times 10^{-4} \text{ mol/ L}$ à 28°C .

Spéciation du cadmium avec $[\text{Cd}^{2+}] = 1.0 \times 10^{-6} \text{ mol/ L}$.

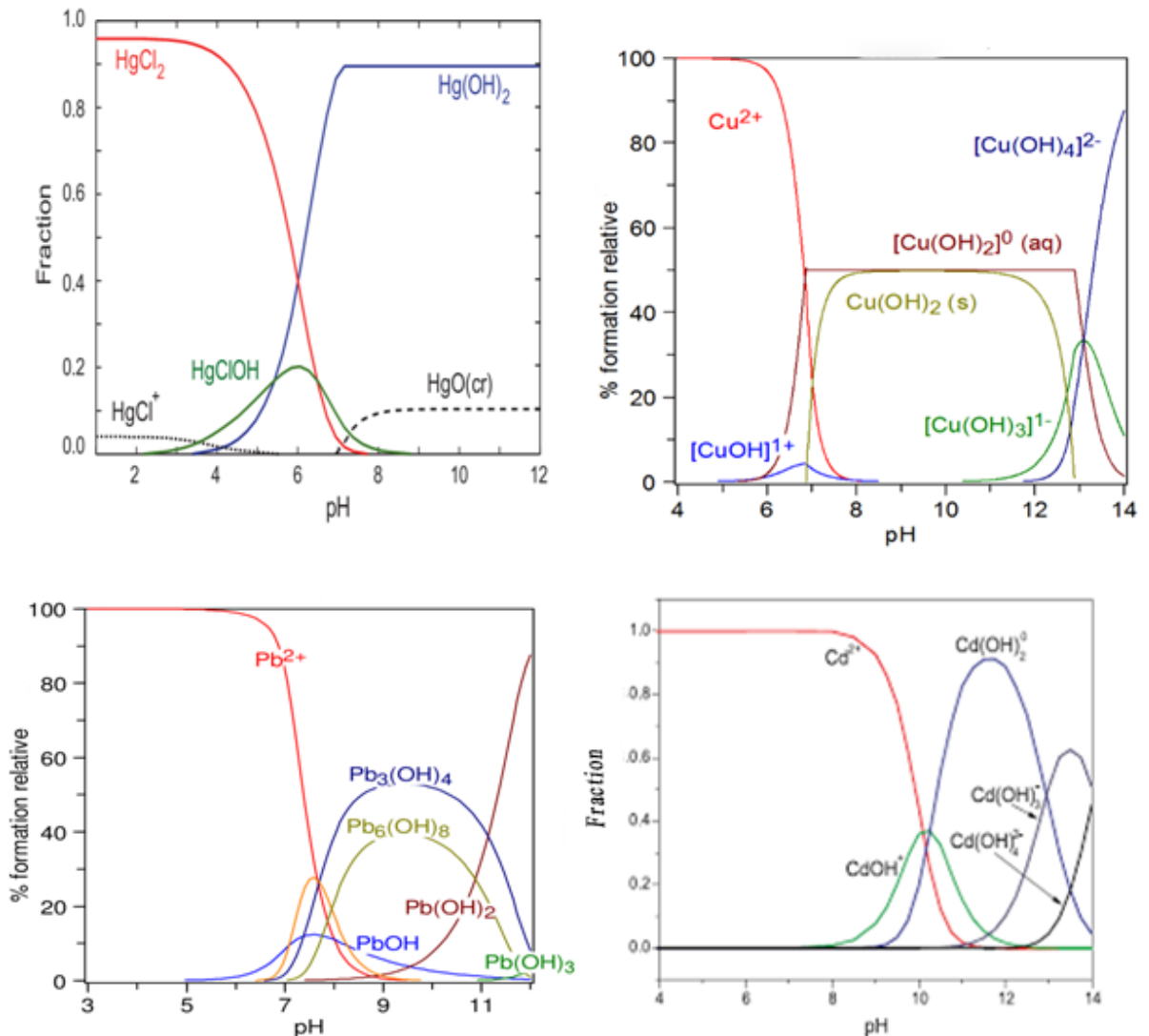


Figure 1.1 : Diagrammes de spéciation du mercure [55], cuivre [56], plomb [57], et cadmium [58].

III. Analyse électrochimiques des métaux lourds

Les informations recueillies et présentées sur les métaux lourds en termes de toxicologie, d'origine de contamination et de mécanismes de mobilité permettent d'une part de confirmer le grand danger sous-jacent à ce type de polluants, et de justifier d'autre part la nécessité de mise en place des directives pour maîtriser et contrôler cette problématique environnementale et par conséquent de développer des outils d'estimation et de mesure plus sensibles et sélectifs. Le dosage des métaux lourds est aujourd'hui réalisé essentiellement par des techniques spectrométriques. Ces techniques peuvent fournir des hautes sensibilités et sélectivités, mais elles restent onéreuses et inadaptées à la mesure sur site, par conséquent la réalisation d'un contrôle en continu basé sur les mesures dynamiques est en outre peu envisageable avec telles instruments lourds. Il est donc nécessaire de développer des outils transportables avec des protocoles opératoires moins compliqués, et qui garantissent la même précision des techniques utilisées en laboratoire. Dans ce but, l'électrochimie se pose comme une alternative intéressante. Afin d'avoir une idée sur les capteurs électrochimiques destinés à la détection des métaux lourds, le paragraphe suivant sera discuté des définitions et des classifications de tous ce qui concerne les électrodes disponibles, les matériaux et les méthodes fréquemment utilisés pour la modification électrochimiques des surface de ces électrodes.

III.1. Capteur électrochimiques

III.1.1. Définition

Par définition, un capteur chimique est un dispositif qui peut transformer une information chimique ou biologique en un signal analytiquement interprétable [59]. Un capteur comporte généralement deux composantes de base connectées en série : un système de reconnaissance et un système transducteur. Les principaux avantages des capteurs chimiques sont : leur faible encombrement, leur faible consommation énergétique, leur faible coût (achat et entretien), le temps de réponse relativement court. Tous ces avantages en font des instruments idéaux pour les mesures sur site et le contrôle de procédés en ligne.

III.1.2. Paramètres métrologiques d'un capteur

Les performances d'un capteur utilisé dans un environnement donné sont caractérisées par certain nombre de paramètres constituent les liens effectifs entre ce capteur et la grandeur qu'il mesure :

Chapitre 1: Métaux lourds : problématique sanitaire/environnementale et moyens de détection

III.1.2.1. Etalonnage

Permet d'ajuster et de déterminer la relation entre le mesurande m et la grandeur électrique de sortie S sous forme graphique $S = f(m)$, (figure I.2) [60]. A partir de cette courbe on peut définir :

a) **La saturation** : est la valeur la plus élevée S_{\max} qui peut être obtenue comme grandeur de sortie quelle que soit la valeur du mesurande. pour $m > m_{\max}$, $S = S_{\max}$. On ne peut donc pas effectuer de mesure pour des valeurs au dessus de m_{\max} . Ce phénomène peut être dû à des facteurs physiques (saturation de la couche sensible) ou électriques (limites de courant ou de tension, etc.). Cependant, il est possible d'atteindre la plage de dégradation du capteur sans atteindre la saturation.

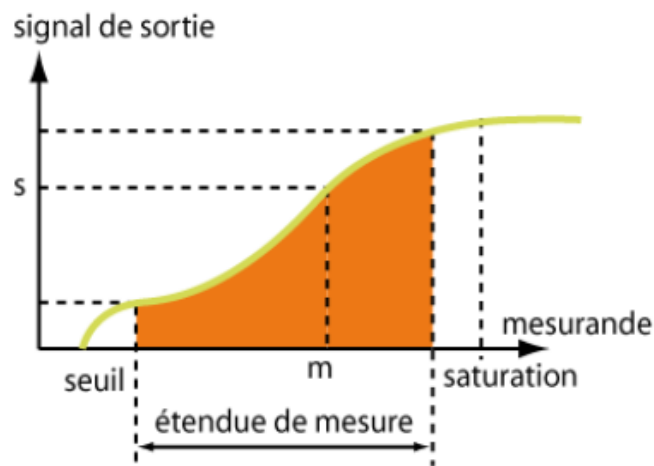


Figure I.2 : Courbe d'étalonnage du capteur

b) **Le seuil** : la valeur minimale du mesurande nécessaire pour obtenir une grandeur de sortie non nulle : pour $m < m_0$, $S = 0$. En résumé, on ne peut mesurer que des mesurandes comprises entre m_0 et m_{\max} .

c) **Limite de détection (LOD)**: la plus petite valeur de mesure détectable (activité ou concentration). Dans le cas des capteurs ampérométriques, le signal électrique au niveau des faibles valeurs est brouillé par du bruit électrique dont les sources sont diverses. On fixe généralement la limite de détection comme étant la valeur de concentration la plus petite qui génère un signal électrique au moins supérieur à trois fois l'amplitude du bruit. Elle décrites mathématiquement par plusieurs méthodes, comme celle correspond au bruit de fond de la mesure [60]. Si SD et p sont l'écart type de la réponse et la pente, LOD est donnée par :

$$LOD = 3 * SD / p$$

Eq.I.1

Chapitre 1: Métaux lourds : problématique sanitaire/environnementale et moyens de détection

d) Etendue de mesure : est définie sur la courbe d'étalonnage (figure I.2) comme la zone se trouve entre les valeurs extrêmes pouvant être prises par la grandeur à mesurer. Notons que le capteur peut généralement être exploité en dehors de cette étendue, mais dans ce cas il ne bénéficie plus de la garantie du constructeur quant à ses performances métrologiques.

e) Domaine de linéarité : Dans ce domaine de linéarité, la variation de la grandeur de sortie est proportionnelle à la variation de la mesurande.

III.1.2.2. Sensibilité

Elle est définie comme étant la variation du signal de sortie (S) par rapport à la variation de la mesurande (m) (pente de la portion linéaire de la courbe d'étalonnage) et s'écrit :

$$S = \Delta S / \Delta m \quad \text{Eq.I.2}$$

Dans le cas fréquent, où la courbe d'étalonnage n'est pas linéaire, cette notion sera donc elle-même variable selon l'endroit de la courbe d'étalonnage où l'on se place.

III.1.2.2. Résolution

C'est la plus petite variation de mesurande que peut détecter le capteur.

III.1.2.4. Répétabilité et reproductibilité

La répétabilité est l'étroitesse d'accord entre les résultats de mesures successives d'une même grandeur effectuée avec la même méthode, par le même expérimentateur, avec les mêmes instruments de mesure et à des intervalles de temps assez courts. La reproductibilité caractérise l'étroitesse d'accord entre les résultats de mesures successives d'une même grandeur dans le cas où les mesures sont effectuées dans des conditions différentes.

III.1.2. Principe des capteurs électrochimiques

Le principe de fonctionnement d'un capteur chimique couplé à un transducteur est schématisé ci-dessous (figure I.3) :

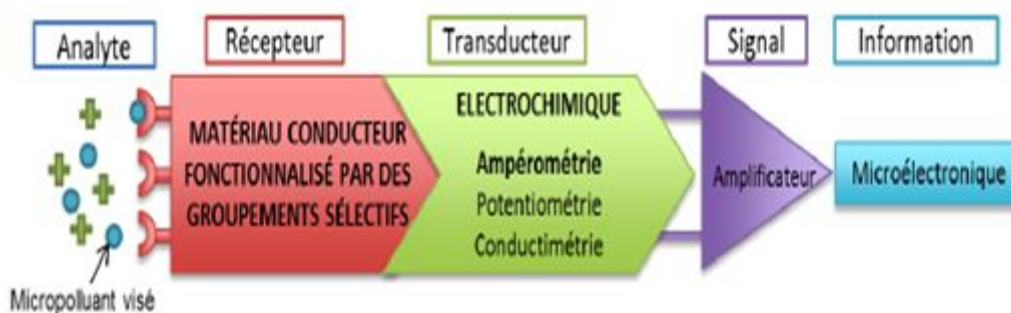


Figure I.3: Schéma du principe général d'un capteur chimique.

III.1.2.1. Système récepteur

L'élément clé du capteur électrochimique est le récepteur. Dans le cas des capteurs électrochimiques, il est généralement composé d'un matériau d'électrode et d'une couche fonctionnelle. Le matériau de l'électrode doit caractériser par : une conductivité élevée, un large domaine d'électro-activité, une bonne inertie chimique et une résistance mécanique suffisante qui lui permettra de conserver son intégrité pendant un séjour prolongé dans le milieu d'analyse [61]. La couche fonctionnelle peut être de nature organique, inorganique, hybride ou biologique. Elle permettant la pré-concentration de l'espèce avec laquelle elle interagit. Si elle est sélective, elle pourra aussi limiter les interférences. Il faut noter que les couches fonctionnelles doivent aussi être robustes et inertes vis-à-vis des milieux d'analyse.

III.1.2.1. Système transducteur

Le transducteur sert à transférer la réponse du système de reconnaissance, au signal électrique principalement. La transduction peut être reliée à des phénomènes de nature différente: piézoélectrique, optique, thermique ou électrochimique [62]. Il existe plusieurs modes de transduction pour les capteurs électrochimiques à savoir :

- (1) les techniques statiques : potentiométrie.
- (2) les techniques potentiostatiques impliquent l'utilisation d'un instrument potentiostat, comme l'ampérométrie, la chronocoulométrie et la voltamétrie / polarographie.
- (3) les techniques de mesure d'impédance [63].

III.1.2.1. Système analyseur :

Le signal obtenu du transducteur est transformé par amplification en signal exploitable par l'opérateur. La mesure, gérée par la microélectronique et les logiciels associés, est traduite en un message compréhensible.

III.2. Électrodes usuelles

Les électrodes de travail sont habituellement faites de matériaux conducteurs présentant des propriétés de polarisation particulières sur un large domaine de potentiel. Les principales classes de matériaux qui offrent a priori de telles qualités impliquent : (i) le mercure, (ii) certaines formes allotropiques du carbone (graphite, carbone vitreux, des fibres de carbone), et (iii) les métaux nobles, particulièrement l'or, le platine et l'argent. D'autres métaux tels que le nickel et le cuivre sont également utilisés pour certaines applications spécifiques [64]. Dans le tableau suivant, nous passons en revue les matériaux les plus importants utilisés dans la fabrication d'électrodes usuelles pour la détection de métaux lourds, selon leur classification :

Chapitre 1: Métaux lourds : problématique sanitaire/environnementale et moyens de détection

Tableau I.3 : Classification des différents types de matériaux d'électrodes

Nature de l'électrode		Avantages	Inconvénients	Domaine d'électroactivité (V)	
Electrodes métalliques	Goutte et film de mercure	-Grande reproductibilité et grande sensibilité -Large electroactivité cathodique)	- electroactivité anodique limitée -instabilité mécanique -Toxicité	[-1,25 ; +0.25] [65]	
	Bismuth (film)	-Large domaine d'électroactivité dans le domaine cathodique - Non sensible à l'oxygène dissout	-Domaine d'électroactivité limité dans le domaine anodique -Toxicité des sels de Bi	[-1,20 ; -0,20] [65]	
	Matériaux nobles	Or (massive, NPs, SPE)	-Inertie chimique -Cinétique de transfert de charge rapide.	-Domaine d'électroactivité limité dans le domaine cathodique - coût, courant résiduel	[-0,1 ; +1,30] dans 0.1M H ₂ SO ₄ [66] [-0,38 ; +1,44] dans 0.1M NaAc [66]
		Platine (massive, SPE)	-Inertie chimique - Cinétique de transfert de charge rapide	Domaine d'électroactivité limité dans le domaine cathodique - coût, courant résiduel	[-0,25 ; +1,25] dans 0.1 M HCl [67] [0.75 ; +0.75] (solution tampon de pH =7) [67]
Electrodes carbonées	Diamant Dopée au bore	-Large domaine d'électroactivité, dureté mécanique	-Cinétique de transfert de charge variable en fonction du niveau de dopage -Coût élevé	*[-1,25 ; +1,75] (dopage modéré) [-1,05 ; +1,47] (dopage élevé) en milieu HClO ₄ 0,1M [68]	
	Carbone Vitreux (massive)	- Bonne résistance mécanique -Régénération par polissage mécanique facile	-Cinétique de transfert de charge très dépendante de l'état de surface -Coût élevé	[-1,00 ; +2.0] en milieu HNO ₃ 0,1M [69] [0.76 ; +1.96] en 0.1M NaAc [66]	
	Graphite (CPE, massive , greffées , support pour des électrodes à film de mercure)	-Faible courant résiduel - faible coût -Regénération de surface facile	<i>Présence d'un liant pouvant recouvrir les particules de graphite et affecter la cinétique de transfert de charge</i>	[-1,2 ; +1,4] en milieu H ₂ SO ₄ 0,1M [70]	
	HOPG (CPE)	-Faible courant résiduel	-Sensibilité aux impuretés -Coût élevé	[-1.2 ; +1.8] en milieu HNO ₃ 0,1M [69] [1.03 ; +2.2] en 0.1M NaAc [66]	
	Graphène (incorporé dans CPE et SPE ou déposé sur GCE)	-conductivité importante - surface spécifique élevée (> 2000m ² .g ⁻¹)		[-1.8 ; +1.5] dans 50Mm STP (PBS) [71]	
	nanotubes et nanofibres de carbone (CPE, SPE)	-conductivité importante - surface spécifique élevée (> 2000m ² .g ⁻¹)	-Coût élevé	[-1.35 ; +1.15] dans 0.1M Na ₂ SO ₄ [72]	

III.3. Choix de matériau d'électrode

Avec les contraintes liées aux applications capteurs des ETM, il est indispensable de choisir un matériau d'électrode, non toxique, inerte chimiquement, résistant mécaniquement et conservant ses propriétés lors d'immersion prolongée dans des milieux aqueux naturels. De nombreux matériaux sont étudiés pour la détection électrochimique des cations métalliques. Grâce à leur grande sensibilité, les électrodes de mercure ont été considérées pendant longtemps comme des électrodes de choix. Cependant leur domaine d'électroactivité, restreint du côté anodique par l'oxydation du mercure, ne permet pas la détection dans le domaine des potentiels positifs, ce qui exclut la détection de quelques métaux comme le cuivre et l'arsenic. De plus, les électrodes de mercure souffrent, outre leur toxicité, de l'instabilité mécanique devant les forces de convection (agitation, ultrasons, etc.), notamment pour les analyses par voltampérométrie à redissolution [73].

Récemment, des électrodes à base de films de bismuth [74, 75], d'antimoine [76, 77], de plomb [78, 79], ont été proposées comme alternative de mercure. Toutefois, là aussi, subsistent des problèmes liés à la durabilité des matériaux ou/et à leur toxicité. Des études nombreuses concernent l'or [80–83]. Ainsi, plus récemment, les électrodes à nanoparticules d'or se sont développées afin de minimiser la quantité d'or et d'exalter la sensibilité des électrodes [84]. Toutefois, la durée de vie de ces électrodes est jusqu'à présent insuffisante pour envisager des applications capteurs. Bien qu'ils ont un coût élevé du fait des métaux utilisés. Des solutions passant par des matériaux non-métalliques comme les polymères conducteurs [85, 86] ou encore les argiles [87–89] existent mais leurs utilisations restent à ce jour limitées.

L'électroactivité de matériaux est un autre critère important dont dépend le choix du matériau. En milieu aqueux, la réduction des protons fixe la limite vers les potentiels négatifs (domaine cathodique). L'oxydation de l'eau ou du matériau d'électrode limite la fenêtre de potentiels vers les potentiels positifs (domaine anodique). Les domaines d'électroactivité de différents matériaux d'électrode ainsi que les potentiels standards de quelques métaux sont présentés dans la (figure I.4). Sur la base de toutes ces données, et si l'on prend également en compte les contraintes induites par un développement industriel, il est nécessaire d'inclure dans notre sélection la disponibilité du matériau et son coût. Ces conditions excluent un grand nombre de matériaux et nous ont conduits à choisir les matériaux carbonés.

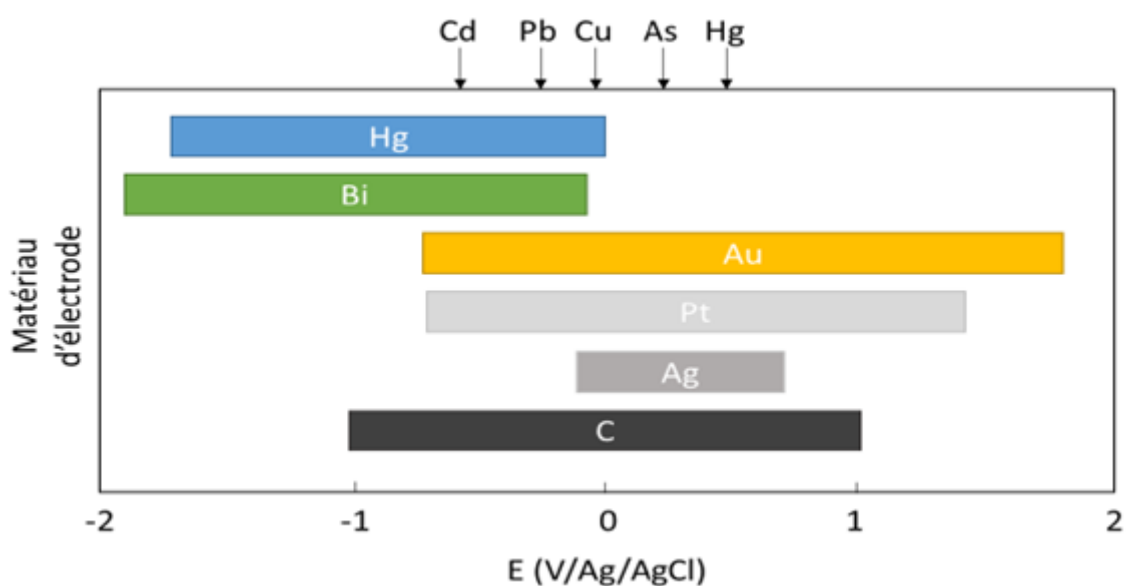


Figure I.4: Domaines d'électroactivité obtenus en milieu aqueux avec différents matériaux d'électrodes et potentiels standards de quelques métaux [90]

Les électrodes carbonées rassemblent une famille de matériaux constitués par les différentes formes allotropiques du carbone et rencontrées en électroanalyse. Compte tenu du polymorphisme du carbone, on trouve des électrodes en graphite, en graphite pyrolytique hautement orienté HOPG, en diamant dopé au bore, en carbone vitreux, en nanotubes de carbone, en graphène... ect. Les électrodes à base de carbone peuvent se trouver sous forme d'électrodes massives comme le carbone vitreux [91] et le graphite [92], ou peuvent être élaboré au niveau de laboratoire (les électrodes à pâte de carbone et les électrodes sérigraphiées, etc.). Comme ils peuvent être un film mince comme les électrodes de diamant dopées au bore (BDD). Parmi cette large gamme de choix, Les électrodes de carbone vitreux et à pâte de carbone ont été généralement les plus utilisées :

III.3.1. Carbone vitreux (GCE)

Cette forme de carbone est dite non-graphitane et combine des propriétés vitreuses et céramiques à celles du graphite conduisant à une résistance aux hautes températures, une bonne conductivité électrique, une inertie chimique ainsi qu'une très faible porosité (qui assure son imperméabilité aux gaz et aux liquides). Le carbone vitreux est utilisé sous forme massive depuis 1972 comme matériau d'électrode pour des applications électroanalytiques. Les GCE sont considérés comme un très bon substrat pour l'électrodéposition de films d'or, de platine ou de bismuth [93]. Ce type d'électrodes possède l'avantage d'être simple

d'utilisation. Un traitement par polissage est généralement requis afin d'améliorer ses performances [93]. Dans le domaine de la détection des éléments traces, le carbone vitreux nu (non fonctionnalisé) est très utilisé comme surface active d'électrodes tournantes, pour des analyses en systèmes dynamiques à écoulement [94]. Cependant, La cinétique de transfert de charge est souvent ralentie par un mauvais état de surface en termes de rugosité et de groupements de surface.... C'est pourquoi il est bien souvent nécessaire de travailler avec des GCE modifiées pour atteindre des sensibilités suffisamment élevées pour détecter des traces. Les GCE chimiquement modifiées s'agit d'un choix largement adoptée dans la détection de métaux traces [86, 91].

III.3.2. Électrodes à pâte de carbone (CPE)

Les électrodes à pâte de carbone ont été introduites par Adams en 1958 [95]. Ces électrodes sont constituées d'un mélange de poudre d'une ou plusieurs phases carbonées comme le graphite [96], les nanotubes de carbone [97] ou le graphène [98] et de différents liants organiques liquides tels que le Nujol [97], l'huile de paraffine [99], la graisse de silicone et le bromo-naphtalène. Ces électrodes composites ont été particulièrement appréciées pour leur simplicité d'élaboration, leur faible coût (graphite) et leur faible courant résiduel où aucune formation d'oxyde superficiel ne se décèle. Elles permettent par ailleurs d'introduire, d'une manière simple, une large gamme de modifiants chimiques (ligands sélectifs d'un analyte) sans avoir recours à un greffage covalent. Leur plus gros inconvénient provient du fait qu'une bonne homogénéité de la pâte est primordiale pour assurer une bonne reproductibilité des mesures. De plus, même si leur utilisation est particulièrement facile en laboratoire, elle s'avère être difficile sur site pour des applications en continu ou en semi-continu pour des raisons de robustesse liées à leur friabilité. Ces électrodes ont été largement étudiées pour la détection de micropolluants métalliques [96, 97, 98].

III. 3. Les électrodes chimiquement modifiées (ECM)

III.3.1. Définition

On désigne par le terme général d'électrode chimiquement modifiée toute électrode formée d'un matériau conducteur ou semi-conducteur ayant subi le dépôt d'une substance à leur surface. La substance immobilisée peuvent être une molécule simple ou assemblage moléculaire, un film de polymère, matériau macromoléculaire, matériau hybride organique-inorganique, ...etc. (Figure I.5).

Chapitre 1: Métaux lourds : problématique sanitaire/environnementale et moyens de détection

Cette substance confère à cette nouvelle électrode toutes ses propriétés chimiques, électrochimiques, électriques, catalytiques et photochimiques. Ces espèces sont soit adsorbées ou soit fixées à la surface des électrodes [100]. Le contrôle des propriétés physiques et chimiques de l'interface électrode/électrolyte permet d'améliorer, voire de contrôler la réactivité et la sélectivité d'une réaction électrochimique. La variété du choix des matériaux utilisés comme modificateurs et la mise en œuvre de nouvelles techniques de déposition et de moyens de caractérisation plus sophistiqués ont permis le développement de nouveaux capteurs électrochimiques plus adaptatives et mieux ciblées.

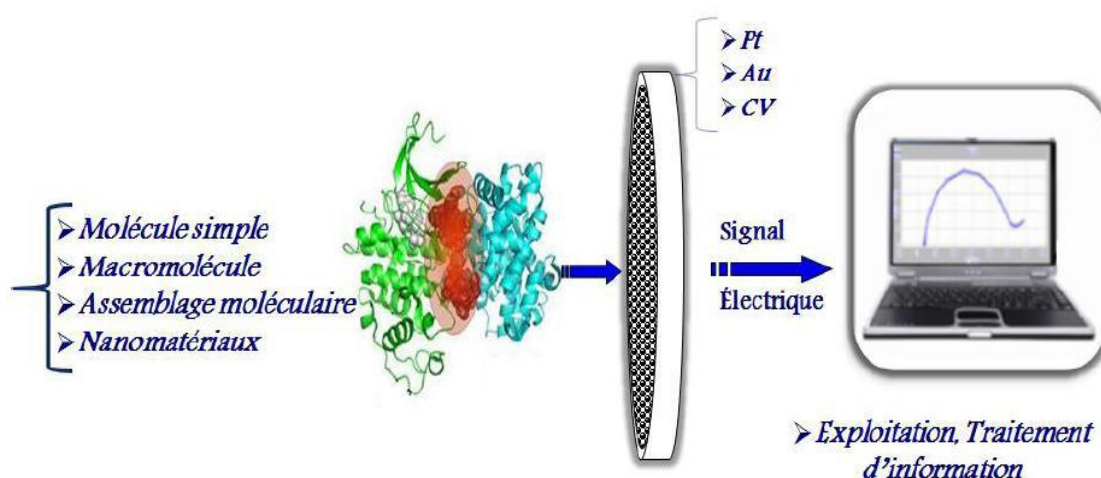


Figure I.5. Schéma d'une électrode modifiée pour application électrochimique

III.3.2. Modes de modification des électrodes en carbone vitreux (GCE) pour la détection des ETM

III.3.2.1. Fonctionnalisation par dépôt simple :

Une méthode assez simple pour fonctionnaliser les surfaces des électrodes consiste à déposer des ligands ayant une bonne affinité pour l'élément cible. Elle ne nécessite pas d'équipements complexes. La procédure consiste à disposer une solution ou une suspension de ligands sur un substrat suivi d'un séchage. Bien qu'il soit possible de préparer un film de qualité et épais (par alternance de phases de dépôt et de séchage), la technique souffre d'un manque de contrôle de l'épaisseur du film et souvent des effets de cadrage apparaissent sur les bords du film ou des précipitations pendant le séchage. D'autres méthodes sont également utilisées tel que le dépôt à la tournette (spin coating).

Chapitre 1: Métaux lourds : problématique sanitaire/environnementale et moyens de détection

Parmi les nombreux exemples décrits dans la littérature, on peut citer le groupe de Ngameni, E. et al. qui ont appliqué cette méthode pour déposer des suspension de plusieurs type d'argiles modifiées sur la surface des GCE pour détecter Pb(II) et Cd(II) [101] avec des limites de détection : 4.2×10^{-10} et 1.2×10^{-9} M respectivement, et pour déterminer le Hg(II) [102] avec 5×10^{-10} M comme limite de détection.

III.3.2.2. Fonctionnalisation par voies électrochimique

a) électrodéposition d'un film métallique : La modification d'une électrode en carbone par l'électroplacage d'un film de Bismuth ou de mercure sur la surface peut être réalisé par deux manières différentes (ex situ et in situ). Ex situ, l'électroplacage du film Bi / Hg est réalisée avant le transfert de l'électrode dans la solution dans laquelle l'ion à détecter est présent [103]. In situ, les ions Bi et Hg^{+2} sont ajoutés directement dans la solution à analyser, et l'analyte est incorporé au fur et à mesure de la formation du film métallique [104, 105].

b) Fonctionnalisation par électropolymérisation : Ce type de modification permet de former des multicouches d'espèces actives à la surface des électrodes. Typiquement, les polymères utilisés ont un groupement électrochimiquement ou chimiquement actif, comme par exemple des sites redox ou chélatants. Ce type de fonctionnalisation consiste souvent en l'électropolymérisation d'un film de polypyrrole ou de polyaniline dans lequel on incorpore des ligands complexants qui peuvent préconcentrer les ions métalliques tels que l'EDTA [106], le dithiocarbamate [107] l'acide malonique [108]. Au titre d'exemple, on peut citer Shim et al. qui ont modifié une GCE par électropolymérisation du polypyrrole fonctionnalisé par l'EDTA pour la détection de Pb(II) avec une limite de détection de $0,8 \mu\text{g.L}^{-1}$ [106].

c) Fonctionnalisation par électro-greffage : Le principe est de produire à partir du transfert d'électrons des espèces radicalaires, qui vont ensuite réagir pour former une liaison avec la surface. En général, l'espèce radicalaire est électrogénérée à potentiel imposé ou par voltammétrie cyclique, en variant le potentiel d'électrode. Le greffage est favorisé lorsque la cinétique de formation du radical est suffisamment rapide pour que ce dernier soit produit au voisinage de l'électrode et puisse réagir avec la surface. Les processus peuvent s'effectuer, soit par voie oxydante, soit par voie réductrice. Cette méthode peut se diviser en deux étapes, d'abord une étape de greffage puis une étape de croissance de la couche. Divers réactifs sont susceptibles d'être électro-greffés tels que les amines, les acides carboxyliques, et les alcools (électrogreffage par oxydation), ou aussi les composés halogénés, vinyliques et les sels de diazonium (électrogreffage par réduction) [109].

III.3.3. Modes de modification des électrodes en pâte de carbone [110].

La modification chimique nous permet de fabriquer des CPE de qualités souhaitées. La méthode la plus simple et la plus utilisable est la modification en masse qui implique le mélange mécanique de modificateur dans la masse de pâte de carbone, elle puisse être réalisée dans n'importe quel laboratoire sans sophistication. Le modificateur se disperse uniformément dans la majeure partie de la pâte de carbone. Habituellement, la concentration des modificateurs dans les pâtes de carbone varie de 10 à 20 % (m / m). La qualité et la reproductibilité des mesures seront affectées à moins qu'elles ne soient mélangées uniformément. D'autres méthodes de modification du CPE ont été employé à savoir ;

- la dissolution de certains modificateurs dans le liquide de collage,
- l'imprégnation par le trempage de poudre de graphite dans une solution contenant le modificateur dissous,
- l'introduction de groupes fonctionnels sur la poudre de graphite par prétraitement chimique,
- le collage de modificateur de surface d'un sort dans le quelle leur présence est limitée uniquement à la surface de l'électrode,
- Activation électrolytique (anodisation / cathodisation) et Électropolymérisation ; dans laquelle une molécule de monomère prise en solution se polymérisera sur la surface d'une électrode en appliquant des cycles voltamétriques entre deux valeurs de potentiel.

Dans ce travail les approches utilisées pour la modification de nos électrodes sont la modification en masse pour l'électrode en pâte de carbone et le dépôt simple pour l'électrode en carbone vitreux.

III.3.4. Classification des modificateurs

Plusieurs type de modificateurs des électrodes destinés a la détection des ETM sont discuter a littérature, ils peuvent être classés comme chimiques, biologiques et modificateurs de nouvelle génération.

III.3.4.1. Modificateurs chimiques

Les modificateurs chimiques peuvent être inorganiques ou organiques :

- _ **Films métalliques** : de mercure [104] et de bismuth [105]
- _ **Argiles** : comme les aluminosilicates, les smectites, montmorillonite, les bentonites et la zéolite X, la zéolite Y, etc. [111].

Chapitre 1: Métaux lourds : problématique sanitaire/environnementale et moyens de détection

_ **Oxydes métalliques** : certains oxydes métalliques, tels que ZnO, CuO, Fe₃O₄, SnO₂, ZrO₂, TiO₂, MgO et MnO₂, ont été largement appliqués dans l'identification et la détection des métaux lourds en raison de leurs propriétés non toxiques et catalytiques [112].

_ **Composés macrocycliques** : comme cyclodextrines [113], dérivés de calixarènes [114], éthers couronnes [115], ...etc.

_ **Complexes organométalliques** : ferrocène et ces dérivés [116] comme l'hydroxy- méthyl-ferrocène etc., complexes de phtalocyanine et dérivés de porphyrine [117] tels que la phtalocyanine de cobalt, complexes de base de Schiff tels que le salophène de cobalt, etc.

_ **Tensioactifs** : [118] modificateurs amphiphiles et lipophiles [119], Triton X-100, acide hexadécyl sulfonique, bromure de cétyltriméthylammonium, etc.

_ **Polymères organiques et macromolécules** : [103] résines chélatantes, échangeurs d'ions et polymères fonctionnant de manière similaire tels que le nafion [120], l'acide humique et les humates, la chitine, chitosane, poly (pyrrole), etc.

_ **Polymères conducteurs** : [121] poly (phénylènediamine), polyaniline, etc.

III.3.4.2. Modificateurs biologiques :

Les modificateurs biologiques populaires sont:

_ **Enzymes** : ou tissus contenant des enzymes [122] glucose oxydase, tyrosinase et polyphénol oxydases, etc.

_ **ADN** [123] acide désoxyribonucléique.

_ **Bactéries** [124] bactéries lactiques, bactéries Love-wave, bactéries Gram (+) du sol.

III.3.4.3. Modificateurs de nouvelle génération

Sont des nouveaux matériaux développés à l'aide des dernières technologies:

_ **Nanomatériaux** : [125] nouvelles formes de carbone comme les nanotubes de carbone (NTC), nanofibres, fullerènes, graphène, oxyde de graphène, matériaux mésoporeux ordonnés comme la silice mésoporeuse fonctionnalisée avec de l'acide carbamoylphosphonique, SBA-15, etc., nanoparticules et ses composites tels que les nano Au, Fe₂O₃, etc., les nanofils et les nanorods comme les nanofils Cu (OH)₂, les nanorods CdS, etc.

_ **Matériaux hybrides organiques-inorganiques** : [101] fragments organiques adsorbés sur des oxydes métalliques, des argiles modifiées par molécules organiques, des alkyle à longue chaîne greffée sur les gels de silice, etc.

_ **Polymère à empreinte ioniques** : sera discuté dans la partie suivante.

III.3.5. Technique de polymère à empreinte ionique :

III.3.5.1. Généralité

Le principe de polymère à empreinte ionique IIP est inspiré par celle moléculaire MIP. Le mécanisme de reconnaissance entre la molécule cible et le matériau à empreinte moléculaire est inspiré de leur tour du mécanisme de reconnaissance (antigène – anticorps), connu dans le domaine de l'immunologie. L'idée est originaire de Breinl et Haurowitz 1930 [126]. Le premier scientifique ayant traduit l'idée de l'immunologie à la chimie est Polyakov, qui étudiait en 1931 les gels de silice pour la reconnaissance du benzène, et plus tard utilisait le benzène, le xylène et le toluène comme molécules empreintes [127]. Les premiers IIP ont été décrits par Nishide et al. en 1976 [128]. Néanmoins, leur développement réel est plus récent, une augmentation considérable du nombre de publications traitant des IIP peut être observée sur les 10 dernières années [129, 130]. Les MIP interagissent généralement avec les molécules cibles via des monomères fonctionnels par des liaisons hydrogène ou des interactions de Van der Waals, alors que, lorsqu'il s'agit de IIP, il est recouru à la chimie de coordination. Où, la préparation de l'IIP nécessite généralement un ligand pour former un complexe avec l'ion métallique pour produire après la lixiviation du métal, des sites de liaison sélectifs ainsi disposés quant à faire correspondre la charge, le nombre de coordination, la géométrie de coordination et la taille du cation cible.

III.3.5.2. Différentes approches pour l'élaboration de l'IIP

Selon l'inclusion de ligand dans la matrice polymère, la synthèse des polymères à empreinte d'ions métalliques peut être grossièrement classée dans quatre approches (Figure I.6) à savoir :

a) Polymères à chaîne linéaire : Ce mode opératoire est principalement utilisé, en ce qui concerne les cations, avec des polymères linéaires naturels: la cellulose et le chitosane. Dans un tel cas, aucune polymérisation radicalaire n'est effectuée car les réactions de condensation avec l'épichlorhydrine ou le glutaraldéhyde fournissent l'étape de réticulation.

b) Immobilisation chimique : Lorsque le ligand utilisé pour induire la reconnaissance ionique possède un groupe fonctionnel polymérisable. par préparation de complexes binaires d'ions métalliques avec des ligands ayant des groupes vinyle, isolement puis polymérisation avec des monomères matriciels;

Chapitre 1: Métaux lourds : problématique sanitaire/environnementale et moyens de détection

c) **Piégeage** : Cette méthode implique l'utilisation d'un ligand chélatant non vinylé et un monomère fonctionnel pour former un complexe binaire / ternaire avec l'ion métallique. La polymérisation entraîne la liaison chimique du monomère vinylé, tandis que le ligand non vinylé est piégé à l'intérieur de la matrice polymère et non lié chimiquement à la matrice polymère. Il était donc nécessaire d'évaluer qu'il était (1) correctement incorporé dans la matrice polymère et (2) non lessivé du IIP lors de l'élimination de l'ion cible.

d) **Impression de surface** : effectuée sur l'interface aqueux-organique;

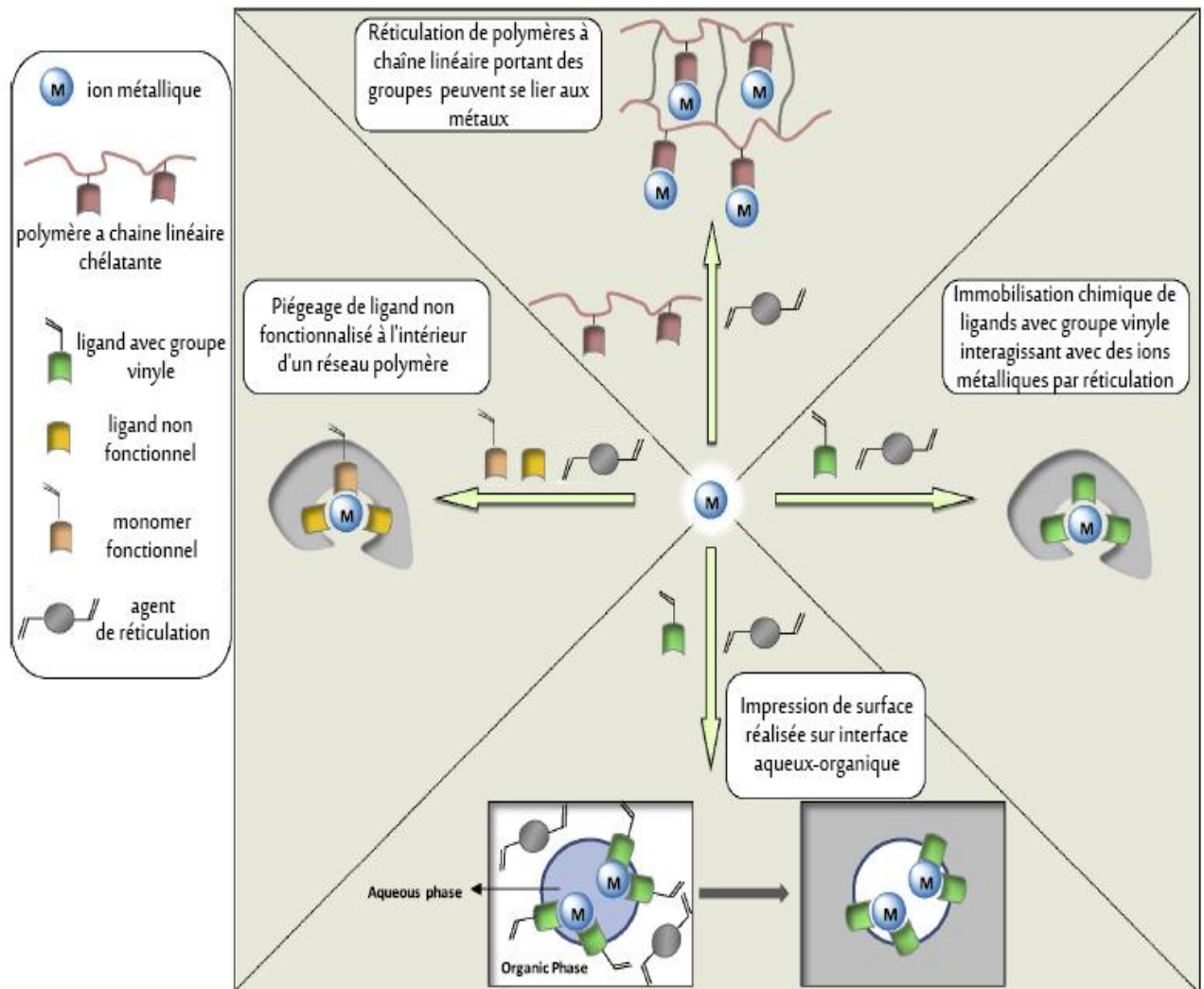


Figure 1.6 : Différentes approches pour l'élaboration de l'IIP [131]

IV. Substances naturelles de potentiel chélateur

Les chercheurs sont toujours à la quête de nouveaux matériaux encore plus sélectifs, sensibles et performants pour les utilisés comme modificateurs des électrodes destinés à la détection de ETM. Les biomolécules sont considérés parmi les meilleurs choix disponibles. Au cours de cette partie nous allons mettre l'accent sur les caractéristiques des deux biomatériaux choisis, les méthodes d'extraction et les mécanismes de complexation avec les ETM.

IV.1. Le choix de modificateur d'électrode

Le choix d'un ligand (naturel ou synthétisé) de potentiel chélateur nécessite la connaissance parfaite de leur sélectivité et de la stabilité du complexe métal-ligand [132]. La théorie HSAB (Hard and Soft Acids and Bases) développée par Pearson [133] permet de prévoir l'affinité d'un ligand pour le métal cible. Selon cette théorie, l'interaction entre deux entités est assimilée à un équilibre acide-base. Les ions ou les atomes aisément polarisables sont considérés comme mous, tandis que ceux qui possèdent une densité de charge plus élevée sont dits durs car leur nuage électronique est moins apte à se déformer. Dans le premier cas, les liaisons formées possèdent un caractère covalent contrairement au second, où la liaison est de type ionique. Les ions susceptibles d'être présents dans l'eau du robinet, ainsi que certains métaux toxiques, peuvent être ainsi répartis en trois catégories rappelées dans le tableau I.4.

Tableau I.4 : classification selon la théorie HSAB des cations métalliques susceptibles d'être contenus dans l'eau et de quelques groupes fonctionnels [133, 134].

Acides durs	Acides intermédiaires	Acides mous
Sn ²⁺ , Al ³⁺ , Sc ³⁺ , Ga ³⁺ , In ³⁺ , Cr ³⁺ , Fe ³⁺ , As ³⁺	Co ²⁺ , Ni ²⁺ , Cu ²⁺ , Zn ²⁺ , Pb ²⁺	Ag ⁺ , Hg ²⁺ , Cd ²⁺
Bases dures	Bases intermédiaires	Bases molles
H ₂ O, OH ⁻ , F ⁻ , CH ₃ CO ₂ ⁻ , PO ₄ ³⁻ , SO ₄ ²⁻ , Cl ⁻ , CO ₃ ²⁻ , NO ₃ ⁻ , ROH, RO ⁻ , R ₂ O, NH ₃ , RNH ₂ , N ₂ H ₄	C ₆ H ⁵⁻ , NH ²⁻ , C ₅ H ₅ N, N ³⁻ , Br ⁻ , NO ₂ ⁻ , SO ₃ ²⁻ , N ₂	R ₂ S, RSH, RS ⁻ , I ⁻ , SCN ⁻ , S ₂ O ₃ ²⁻ , R ₃ P, CN ⁻ , CO, C ₂ H ₄ , C ₆ H ₆ , H ⁻ , R ⁻

Chapitre 1: Métaux lourds : problématique sanitaire/environnementale et moyens de détection

L'affinité d'un ion métallique pour un atome donneur peut ainsi être prévue puisqu'un métal mou se lie préférentiellement à des ligands mous (groupes thiol ou thiolate par exemple). Il en va de même pour les partenaires durs (amines, groupements oxygénés...).

Dans cette optique, le chitosane avec ses groupes amines et les polyphénols des plantes riches en groupes hydroxyles sont classés parmi les meilleurs candidats pour l'utilisation comme des adsorbants ou pour l'activation des électrodes destinés à la détection des ions métalliques.

IV.2. Chitosane :

Le chitosane est un polysaccharide dérivé de la chitine, le polymère le plus abondant sur la planète avec la cellulose [135], et qui a une fonction similaire à celle du collagène chez les animaux supérieurs et de la cellulose chez les plantes. Les plantes produisent de la cellulose dans leurs parois cellulaires tandis que les invertébrés (insectes, crustacés, céphalopodes) produisent de la chitine dans leurs coquilles. La chitine est principalement présente dans le règne animal, notamment chez les invertébrés, de façon plus subsidiaire dans le règne végétal (parois cellulaires de certaines algues) ainsi que dans certains champignons (levure, penicillium, champignons de Paris) [136] (Tableau I.6). Elle s'y trouve sous forme de microfibrilles cristallines formant des composants structurels ou des parties rigides. Elle y est associée essentiellement à du carbonate de calcium, des protéines, des pigments et des lipides. La biosphère contient ainsi 10 Gt de chitine [136]. Pour la production industrielle, la chitine est principalement extraite de la carapace des crustacés (crabes, crevettes, homards) qui sont, en fait des déchets de l'industrie agro-alimentaire. Cela représente une dizaine de milliers de tonnes de chitine récoltées par an dans le monde [137].

Tableau I.5: Sources de la chitine et du chitosane [138].

Animaux de mer	Insectes	Microorganismes
Crustacés	Scorpions	Les algues vertes
Coelenterata	Brachiopodes	Levure (type b)
Annelida	Les cafards	Champignons (parois cellulaires)
Mollusque	Les araignées	Mycélie pénicillienne
Homard	Coléoptères	Algues brunes
Crevette	Fourmis	Chytridiacées
Crabe		Ascomydes
		Les spores

IV.2.1. Isolement de la chitine et extraction de chitosane

De nombreuses méthodes ont été développées afin de préparer la chitine à partir des exosquelettes. Ces méthodes consistent généralement à éliminer les protéines (déprotéinisation), séparer les carbonates de calcium et les phosphates de calcium (démminéralisation), enlever les pigments (blanchiment) lorsqu'une chitine décolorée est souhaitée et finalement supprimer les groupements d'acétamides (désacétylation) [139]. La (Figure I.7) peut expliquer en bref la méthode standard d'isolement de chitosane.

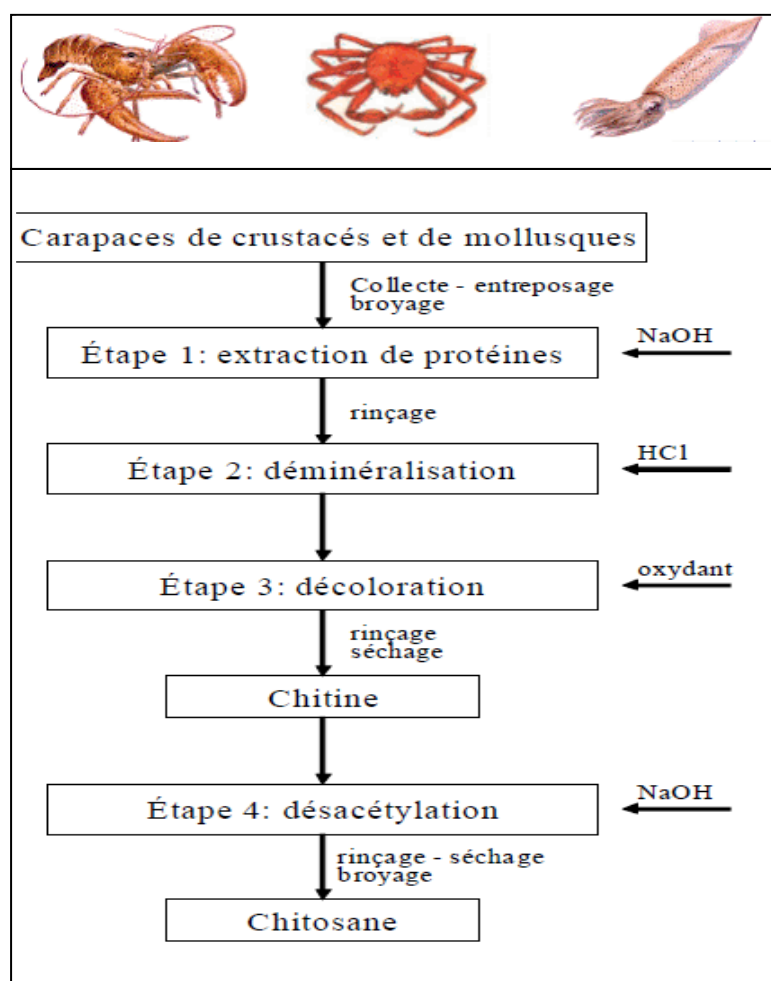


Figure I.7: Procédé de la fabrication de chitine et chitosane [140].

Les deux premières étapes peuvent également être conduites dans un ordre inverse, c'est-à-dire une déminéralisation, suivie d'une déprotéinisation. Cependant, si la récupération des protéines est un objectif recherché, son extraction avant la déminéralisation est préférable afin de maximiser le rendement et la qualité des protéines. Entre chaque étape et l'autre, le produit est rincé abondamment à l'eau déminéralisée.

IV.2.1.1. Déminéralisation

Le carbonate de calcium constitue le principal composant inorganique de la carapace. Pour éliminer les carbonates de calcium sans faire hydrolyser de la chitine, un acide dilué doit être utilisé seulement [139]. L'optimisation des conditions de déminéralisation est liée à la quantité de carbonate de calcium présente. Par exemple, lorsque l'extraction s'effectue à partir de crabes ou de homards, ([HCl]= 2M, temps = 5 à 48 h a température ambiante). Alors que l'extraction à partir les bouquets ou les calmars exige un acide moins concentré ([HCl]= 0,6M) et une durée du traitement limitée a 2 heures, de façon générale les concentrations en HCl sont comprises entre 0,5 et 11 N et le ratio substrat/solvant entre 1:10 et 1:40. La déminéralisation dure entre 15 min et 48 h, de la température ambiante à 50 °C [141]. La réaction avec le carbonate de sodium est achevée lorsque le dégagement de CO₂ cesse. La décalcification des carapaces se produit selon la réaction suivante (1) :



Le résidu est collecté par filtration et rincé à l'eau déminéralisée. Il est ensuite séché à l'étuve à 65 °C pendant 16 heures. Une telle décalcification de la chitine permet d'obtenir un produit final avec un pourcentage de matières minérales compris entre 0,6 et 0,7 %. Si l'étape de déminéralisation n'était pas réalisée, le chitosane renfermerait entre 31 et 34 % de matières minérales [142].

IV.2.1.2. Déprotéinisation

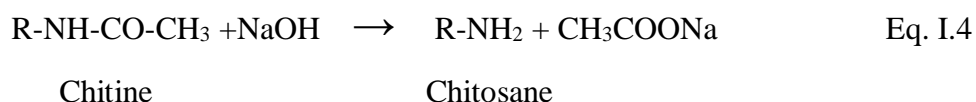
A l'état naturel, la chitine se présente en association avec les protéines (chitinoprotéine). Ceci implique des conditions drastiques pour les séparer. Un traitement basique permet d'éliminer les protéines par solubilisation. Les réactifs employés pour cette étape sont des bases fortes comme l'hydroxyde de potassium et de sodium. Le plus courant, pour des raisons économiques et techniques, est l'hydroxyde de sodium (NaOH). Les concentrations utilisées sont comprises entre 0,3 et 2,5 M suivant le ratio substrat/solvant qui peut varier entre 1:10 et 1:40. La température est comprise entre 50 et 110 °C et la durée peut varier d'un heure à plus de 24 h [142, 143]. L'augmentation de la concentration, de la durée et de la température de réaction, améliorent la déprotéinisation. Cependant, les conditions drastiques de la déprotéinisation modifient la structure native de la chitine (perte de poids moléculaire ou l'oxydation des extrémités réductrice). Par conséquent, le choix du couple temps-température est dicté par les caractéristiques de la chitine à obtenir [144].

IV.2.1.3. Blanchiment

Cette étape est optionnelle, sauf, dans les cas de certaines applications industrielles exigent une chitine décolorée [144]. Cependant, il est très difficile d'obtenir un produit pur à cause des fortes interactions entre la chitine, les pigments et les protéines. Le blanchiment est souvent réalisé par un traitement avec des agents oxydants (KMnO_4 , Na_2HSO_3 , $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ ou H_2O_2), ce qui implique le risque de dépolymérisation et/ou d'oxydation des unités situées aux extrémités de la chaîne polymérique [142]. Généralement, l'agent de blanchiment employé est le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), dont la concentration est comprise entre 0,1 et 33 %, il peut également être mélangé avec du HCl. La durée du traitement est souvent très courte, de l'ordre de quelques minutes [145].

IV.2.1.4. Désacétylation

La désacétylation consiste en l'hydrolyse des groupements acétyles de la chitine suivant la réaction I.4. La substitution des groupements acétyles peut entraîner une réduction excessive de longueur de chaîne du polymère. La désacétylation est généralement effectuée par le traitement avec l'hydroxyde de sodium (NaOH) ou de potassium (KOH) très concentré (40-50 %) à une température ≥ 100 °C, pendant au moins 30 minutes pour enlever certains ou tous les groupements acétyles de la chitine [142].



IV.2.2. Structure

Le chitosane est un aminopolysaccharide d'origine biologique. Il s'agit d'un copolymère linéaire composé d'unités monomériques de D-glucosamine (ou 2-amino-2-désoxy-D-glucopyranose) et de N-acétyl-D-glucosamine (ou 2-acétamido-2-désoxy-D-glucopyranose). Ces unités monomères sont reliées entre elles par des liaisons glycosidiques β -(1 \rightarrow 4). Bien que naturel, il est généralement préparé à partir de la chitine correspondant à un polymère constitué d'unités de N-acétyl-D-glucosamine [145]. La chitine, à l'état naturel, est elle-même désacétylée à 5 ou 15 % [146].

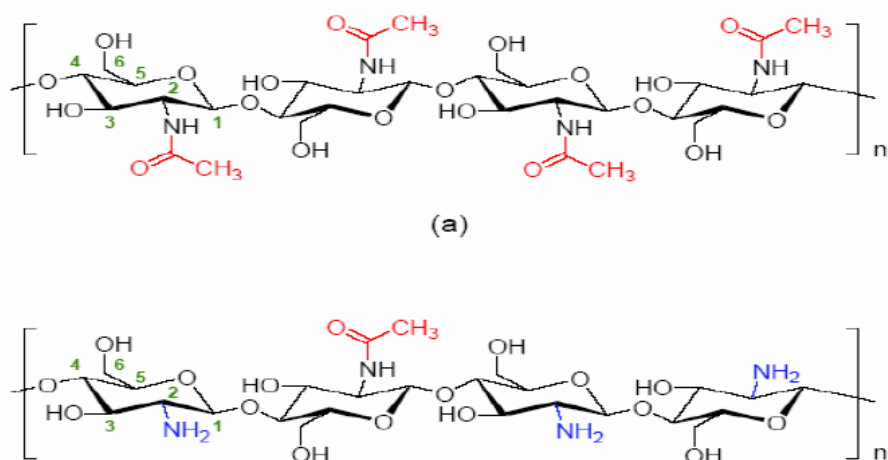


Figure 1.8 : structure chimique de la chitine (a), du chitosane (b) [147]

IV.2.3. Propriétés physico-chimiques du chitosane

IV.2.3.1. Degré d'acétylation

Le traitement alcalin de la chitine conduit généralement à une désacétylation partielle. Il est alors nécessaire d'introduire la notion de degré d'acétylation (DA), qui correspond à la fraction molaire d'unités *N*-acétyl-D-glucosamine (GlcNAc) sur l'ensemble des motifs.

$$DA(\%) = \frac{\text{nombre de moles de motifs GlcNAc}}{\text{nombre total de moles de motifs}} \quad \text{Eq. I.5}$$

Il est à noter que certains auteurs préfèrent l'utilisation du degré de désacétylation (DD) [147,148], simplement relié au DA par la relation $DD = 1 - DA$. Le degré de désacétylation (DD) du chitosane est extrêmement important car il influence les propriétés des chaînes macromoléculaires des polymères et leur comportement en solution [149]. La limite de DA entre chitine et chitosane varie selon les auteurs. On parle de chitosane lorsque le $DA < 50\%$ et de chitine lorsque le $DA > 50\%$ [150]. Généralement, on distingue la chitine du chitosane à partir de leurs propriétés de solubilité. La chitine ($DA > 50\%$) est insoluble en milieux aqueux et dans les solvants organiques courants. Tandis que le chitosane ($DA < 50\%$) est fortement soluble dans les acides dilués [151].

IV.2.3.2. Masse moléculaire

Les chitosanes obtenus industriellement ont une masse moléculaire (MM) de l'ordre de 100-500 kDa. La détermination de la MM peut se faire par des mesures viscosimétriques

Chapitre 1: Métaux lourds : problématique sanitaire/environnementale et moyens de détection

ou par chromatographie d'exclusion stérique (SEC) couplée à différentes techniques de détection (MALLS) (réfractométrie, microviscosimétrie, diffusion statique de la lumière multi-angle...) [152]. La détermination de la masse moléculaire moyenne par méthode viscosimétrique est consistée à déterminer la viscosité intrinsèque de la solution diluée de polymère qui est liée à sa masse molaire moyenne viscosimétrique par l'équation de Mark-Houwink-Sakurada [153]:

$$[\eta] = k M_v^a \quad \text{Eq. I.6}$$

M_v est la masse molaire moyenne viscosimétrique du polymère, k et a sont les coefficients de Mark Houwink- Sakurada. Selon plusieurs auteurs, le chitosane est parfaitement soluble dans des acides dilués tel que l'acide acétique, l'acide formique, l'acide lactique, l'acide citrique et l'acide chlorhydrique. Et pour déterminer sa masse viscosimétrique, les constantes reliées à l'équation de Mark-Houwink décrivant le système polymère-solvant-température, sont regroupées dans le tableau suivant :

Tableau I.6: les constantes reliées à l'équation de Mark-Houwink dans littérature.

<i>Solvant</i>	<i>K x10⁵ (dL/g)</i>	<i>a</i>	<i>pH</i>	<i>Température</i>	<i>Masse M(KDa)</i>	<i>Réf</i>
0.02M HAc/0.1M NaAc/0.1M NaCl	559.0	0.58	4.5	20 ±0,1°C	15–310	[154]
0.5M HAc/0.5M NaAc	199.0	0.59	4.7	25 ±0,1°C	115–1590	[155]
0.3M HAc/0.2M NaAc	76.0	0.76	4.6	25 ± 0,5°C	100–600	[152]
0.25M HAc/0.25M NaAc	15.7	0.79	4.7	25 ±0,1°C	35–2220	[156]
0.2M HAc/0.1M NaAc	16.8	0.81	4.4	30± 0,1°C	194–937	[157]
2% HAc/0.2M NaAc	13.8	0.85	4.5	25± 0,1°C	61–150	[158]
0.33M HAc/0.3M NaCl	3.41	1.02	4.7	21± 0,1°C	13–193	[159]
1% H Ac	4.74	0.72	2.8	30± 0,1°C	205–657	[160]

Chapitre 1: Métaux lourds : problématique sanitaire/environnementale et moyens de détection

IV.2.3.3. Viscosité

La viscosité d'un polymère en solution varie en fonction de sa concentration, et elle peut être déterminée, par la mesure du temps d'écoulement de la solution de polymère a concentration C dans un tube capillaire de type Ubbelohde. D'après la loi de poiseuille, le temps d'écoulement t d'une solution dans un tube capillaire est directement proportionnel à sa viscosité η selon l'équation suivante :

$$\Delta t = \frac{8\eta L}{\Pi \rho g R^4} \int \frac{dV}{h} \quad \text{Eq. I.7}$$

Avec :

L : longueur du capillaire Ubbelohde (mm ou cm), R : rayon du capillaire Ubbelohde (mm), V : volume de la solution (ml), Δp : différence de pression hydrostatique entre les extrémités du capillaire, η : viscosité intrinsèque.

La concentration étant exprimée en g/dl, la viscosité intrinsèque $[\eta]$ est exprimée en dl/g. Le tracé des valeurs η_{sp}/C en fonction de C permet de déterminer la viscosité intrinsèque $[\eta]$, qui coïncide avec l'ordonnée à l'origine. Les termes liés aux mesures de viscosité sont regroupés dans le tableau suivant:

Tableau I.7 : Les termes liés aux mesures de viscosité

Viscosité	Relative	Spécifique	Réduite	Inhérente	Intrinsèque
Expression	$\eta_r = \frac{t}{t_0}$	$\eta_{sp} = \frac{t-t_0}{t_0} = \eta_r - 1$	$\eta_{red} = \frac{\eta_{sp}}{C}$	$\eta_{inh} = \frac{\ln \eta_r}{C}$	$[\eta] = \left(\frac{\eta_{sp}}{C} \right)_{C \rightarrow 0}$ $= \left(\frac{\ln \eta_r}{C} \right)_{C \rightarrow 0}$

t : temps d'écoulement de polymère en solution.

t₀ : temps d'écoulement du solvant sans polymère.

IV.2.3.4. Solubilité

Le chitosane est l'un des rares polyélectrolytes naturels cationiques et il est une base faible présentant un pKa voisin de 6,3. Il se dissout en milieu acide par protonation des fonctions amine présentes sur la macromolécule [161], suivant l'équilibre I.5 :



$$K_a = \frac{[-NH_2] \times [H_3O^+]}{[-NH_3^+]}$$

En dessous de ce pKa, les groupements amines sont protonés et font du chitosane un polyélectrolyte cationique, soluble dans l'eau acidifiée. Au dessus du pKa, les groupements amines sont déprotonés et le chitosane est insoluble dans l'eau. Le pKa du chitosane dépend du degré de neutralisation des groupes NH_3^+ et du DD. Le pKa augmente quand le DD diminue [162]. Sorlier et coll. ont trouvé que le pKa augmente de 6,4 à 7,2 en fonction du degré d'acétylation; pour un chitosane faiblement acétylé le pKa est voisin de 6,4 [163].

En général, la solubilité du chitosane dépend de la valeur de DD (considérée comme parfaite si $\text{DD} > 75\%$), de la force ionique, du pH, de la nature de l'acide utilisé et de la distribution des groupes acétyles le long de la chaîne macromoléculaire [163]. De plus, la solubilité du chitosane augmente lorsque la masse molaire diminue [164]. L'acide le plus utilisé pour préparer une solution de chitosane est l'acide acétique dilué (0,1-1 %).

IV.2.3.5. Formation de films

Le chitosane est un polymère film-fiable. La filmification peut intervenir de deux façons. D'une part, des liaisons hydrogène (liaisons H) peuvent s'établir entre les chaînes de chitosane notamment entre les groupements hydroxyles et l'oxygène des groupements acétamides [165,166]. Cette propriété est largement utilisée pour faire des films comestibles en agroalimentaire et des membranes [163, 167]. D'autre part, la filmification peut s'établir grâce à des interactions ioniques entre les chaînes et leurs contre-ions lorsque le chitosane est sous sa forme polyélectrolyte. Cette seconde possibilité est utilisée dans le cas de la formation de film par le procédé LbL (*layer-by-layer*) où des couches de chitosane polycationique et de polymères anioniques (héparine, chitosane modifié, poly (sulfonate de styrène), polyphénol, soie ...) sont alternées [168]. Les films ainsi préparés ont des épaisseurs variables suivant le nombre de couches déposées entre 20 nm et 1000 nm. Grâce à ce caractère le chitosane est souvent utilisé pour fixer différents ligands sur les surfaces des électrodes solides [169].

IV.2.3.5. Réactivité

La présence de nombreux groupes hydroxyle confère au ce polymère un caractère hydrophile intéressant qui sera très utile pour des propriétés d'adsorption dans des solutions aqueuses et pour quelques réactions catalytiques [170]. Cependant, le groupe réactif le plus important pour la conception de catalyseurs supportés est le groupe amine porté par le chitosane. Ces groupes amine sont très réactifs pour la fixation des métaux et leur action peut passer par différents mécanismes. En général, en milieu acide, la plus part des groupes aminés

Chapitre 1: Métaux lourds : problématique sanitaire/environnementale et moyens de détection

sont protonés, ce caractère cationique est à l'origine de la fixation de différents anions tels que les colorants anioniques et les complexes d'anions métalliques [171, 172].

IV.2.4. Mécanismes d'adsorption des ions métalliques par chitosane

La capacité de chitosane à former des complexes avec des ions métalliques a suscité l'intérêt des chercheurs [171]. Plusieurs mécanismes de complexation sont proposés. L'interaction des ions métalliques avec le chitosane est loin d'être complètement expliquée du fait de la grande variabilité des conditions opératoires entre les différentes recherches, cependant, elle peut impliquer deux mécanismes différents : la chélation et l'échange ionique selon la composition de la solution, le type des ions métalliques et le pH [173]. Les groupes amines sont les groupes réactifs principaux pour les ions métalliques bien que les groupes hydroxyles, particulièrement en position C(3), peuvent contribuer à la complexation. La Figure I.9 montre l'adsorption de cation métallique M^{2+} sur le chitosane. Plusieurs situations pour la chélation intermoléculaire peuvent être considérées:

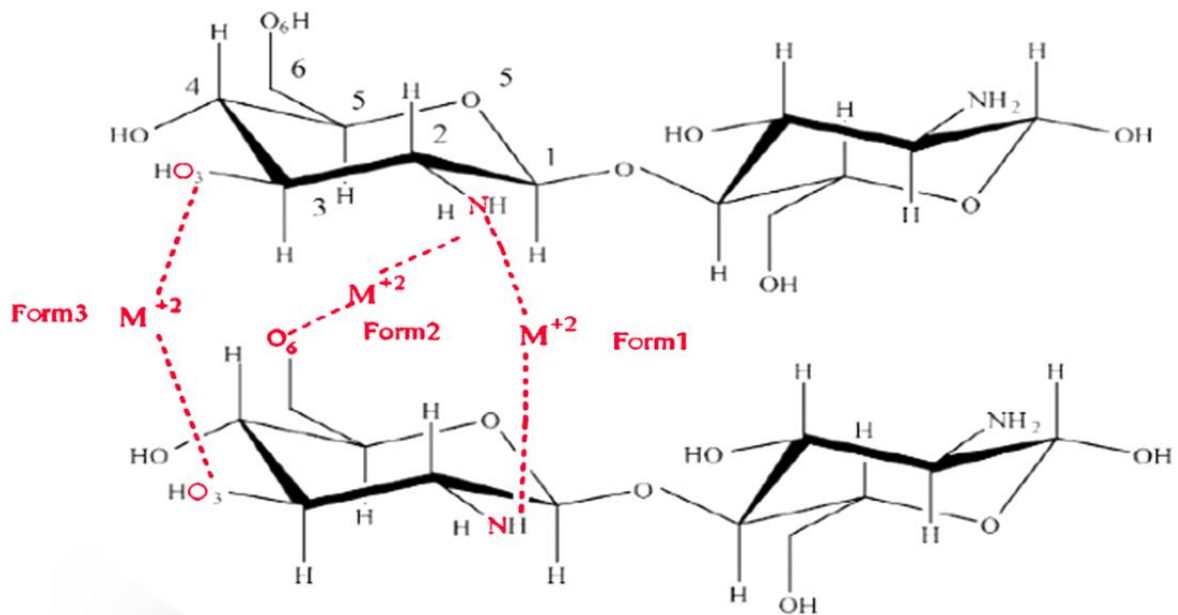


Figure I.9 : complexation intermoléculaire suivant les formes : 1, 2, 3.

- Forme 1 : le métal est attaché à deux groupes NH_2 de deux chaînes différentes de chitosane.
- Forme 2 : le métal est attaché à un groupe NH_2 et à l'oxygène de carbone 6 (O 6) d'une autre chaîne de chitosane.
- Forme 3 : le métal est lié à deux atomes d'oxygène de carbone 3 (O 3).

Chapitre 1: Métaux lourds : problématique sanitaire/environnementale et moyens de détection

La structure moléculaire du chitosane présente beaucoup de groupes amines (NH₂) et groupes hydroxyles (OH) sur sa chaîne moléculaire. Ces groupes contiennent des paires électroniques simples. Les groupes (NH₂, OH) peuvent offrir ses paires d'électrons pour la case (d) vide des ions métalliques, et ainsi on aura un composé complexe stable (N–M–O) par chélation [172]. Adlim et al. [174] ont dénombré dans une courte révision, plus de dix travaux entre 2011 et 2015 sur la détection du mercure dans l'eau par des électrodes modifiées à base de chitosane.

IV.3. Les polyphénols de Myrte

IV.3.1. Définition des polyphénols

Les composés phénoliques, communément dénommés polyphénols, sont les métabolites secondaires les plus abondants des plantes supérieures, distribués largement dans le règne végétal. On les trouve depuis les racines jusqu'aux fruits. Leurs fonctions ne sont pas strictement indispensables à la vie du végétal, cependant ces substances jouent un rôle majeur dans les interactions de la plante avec son environnement. Le terme « phénol » englobe approximativement 8000 composés naturels identifiés [175]. L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau phénolique à 6 carbones (Fig. I.10), auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle (OH) libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester ou hétéroside [176]. Un polyphénol possède plusieurs cycles aromatiques avec un ou plusieurs groupes hydroxyles allant de molécules phénoliques simples de 500 Dalton à des composés fortement polymérisés avec des poids moléculaires de plus de 30 000 Dalton [177].

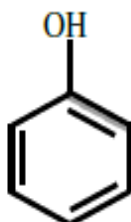


Figure I.10: Structure du noyau phénol

IV.3.2. Classification des polyphénols

Les polyphénols naturels vont de molécules simples, comme les acides phénoliques et les flavonoïdes à des composés hautement polymérisés comme les tanins :

IV.3.2.1. Polyphénols simples (figure I.11)

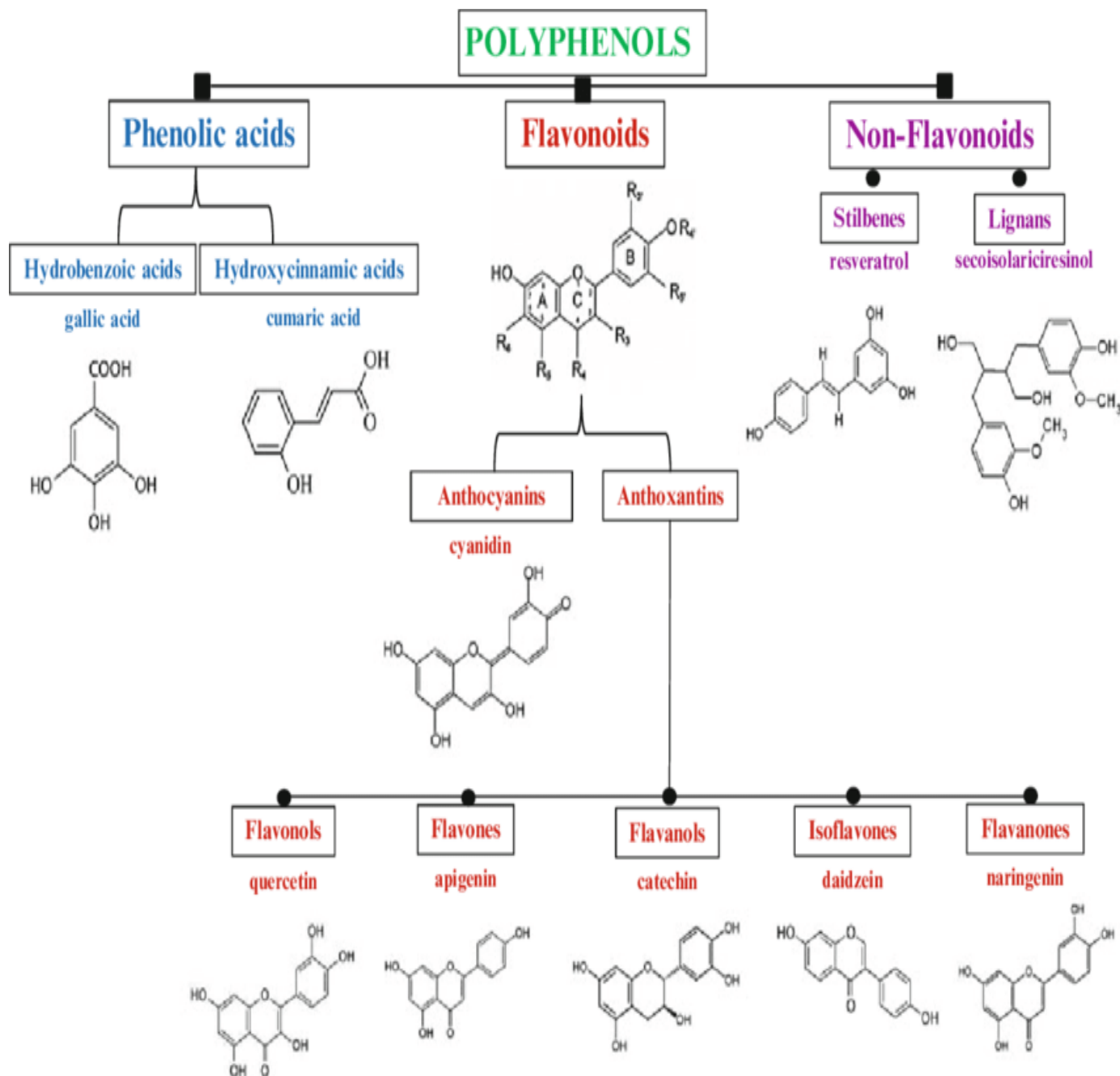


Figure I.11: classification des polyphénols simples [178]

IV.3.2.2. Polyphénols complexes (tanins) [179]

A côté des réactions classiques des phénols, les tanins présentent la propriété de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et d'autres protéines. Sur le plan structural, les tanins sont divisés en deux groupes :

Chapitre 1: Métaux lourds : problématique sanitaire/environnementale et moyens de détection

a) Les **proanthocyanidines (tanins condensés)** : sont des flavonoïdes polymères constitués d'unités flavane (Figure I.12.a) reliées par des liaisons entre les carbones C4 et C8 ou C4 et C6.

b) Les **tanins hydrolysables** : sont des dérivés de l'acide gallique (acide 3,4,5 trihydroxybenzoïque) (Figure I.12.b). Ces substances sont facilement hydrolysables par voie chimique ou enzymatique (tannase). L'acide gallique est estérifié en un polyol de base et les groupes galloyle peuvent être encore estérifiés ou réticulés par oxydation pour donner des tanins hydrolysables plus complexes.

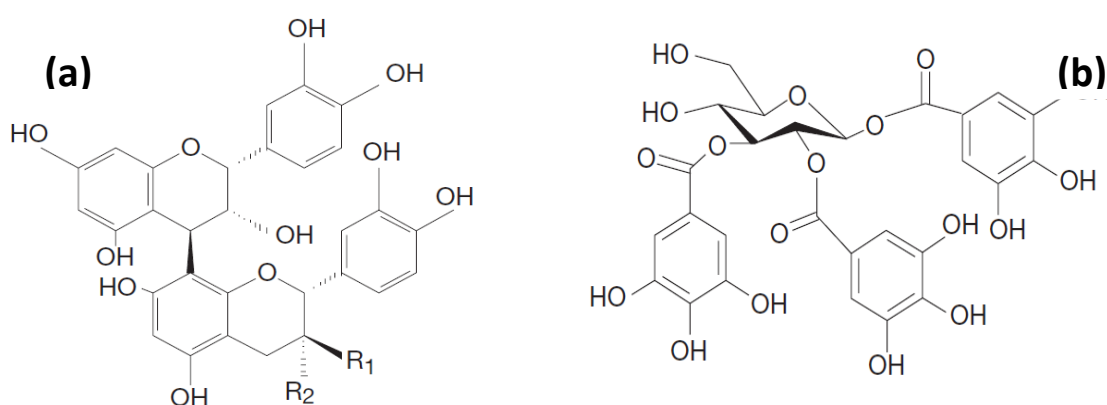


Figure I.12: Structure chimique (a) d'un tanin condensé (proanthocyanidine) et (b) d'un gallotanin (1,2,3-tri-O-galloyl-β-D-glucose) [180].

IV.3.3. *Myrtus communis* L.

IV.3.3.1. Description botanique, écologie et localisation

Le myrte (*Myrtus communis* L.) est un arbuste à feuilles persistantes appartenant à la famille des myrtacées. Il est répandu spontanément dans toute la région méditerranéenne et a été utilisé à des fins médicinales, alimentaires et épices [181]. Le myrte est un arbuste sempervirent de 1 à 3 mètres de haut, à tiges très ramifiées, dès la base. Ses buissons touffus et aromatiques portent des feuilles ovales lancéolées, luisantes, coriaces, opposées, par deux ou quelquefois par trois. Fleurs blanches odorantes solitaires à l'aisselle des feuilles, axillaires. Périante à cinq sépales et cinq pétales; nombreuses étamines et un stylé saillant ; baies ovoïdes de couleur bleu-noir, couronnées par le calice [182]. Le myrte commun pousse au niveau de la mer à 500-800 m d'altitude [183], il se développe au sein des matorrals thermophiles. En Algérie, l'espèce *Myrtus communis* L. est présente au Tell, sur les pentes des collines et sur les zones côtières, parfois dans des zones reculées.

Chapitre 1: Métaux lourds : problématique sanitaire/environnementale et moyens de détection

L'espèce du désert, *Myrtus nivellei* L. se trouve couramment dans le Hoggar et le Tassili. Ses feuilles sont très appréciées par les Touaregs en tant que médicament à base de plantes [184].



Figure I.13 : Feuilles et fruits de myrte

IV.3. 3.2. Position systématique

Le myrte commun appartient à la famille des myrtacées. Cette dernière doit son nom au genre *Myrtus*, elle regroupe environ 131 genres et 4620 espèces. Grêté, (1965) a proposé la Taxonomie suivante pour le *Myrtus communis* [185] :

Règne : Plantae	Embranchement : <i>Spermaphytae</i>
Classe : <i>Dicotylédonae</i>	Ordre : Myrtales
Famille : Mytaceae	Genre : <i>Myrtus</i>
Espèce : <i>communis</i> L.	Variétés : <i>M. communis var. italica</i> L. <i>M. communis var. baetica</i> L. <i>M. communis var. lusitanica</i> L.

IV.3.3.3. Extraction et compositions chimiques des polyphénols des feuilles de myrte

Les composés des feuilles de myrte ont été étudiés au cours des dernières décennies en se concentrant principalement sur l'extraction conventionnelle par solvant. Diverses techniques d'extraction efficaces et avancées sont développées. Le rendement et la composition des extraits dépend de la source, du type de solvant, de la durée d'extraction, de la température, du rapport solides / liquides et de la préparation de l'échantillon,

Chapitre 1: Métaux lourds : problématique sanitaire/environnementale et moyens de détection

qui est couramment broyé et utilisé à l'état frais, congelé ou séché. La procédure d'extraction doit être optimisée au cas par cas. Les techniques employées dans l'extraction des molécules bioactives de feuilles de myrte peuvent être classées en deux catégories ; (i) techniques conventionnelles se résument en extraction par macération et soxhlet, et des techniques avancées dites vertes :

a) Macération : La macération est le choix le plus fréquent des chercheurs vu la simplicité de la mise d'un système d'extraction par macération. L'inconvénient de la macération est la longue durée d'extraction réduite toutefois par agitation. Roumani a publié le premier rapport de l'existence de dérivés de galloyliques, de la catéchine et de la gallo-catéchine dans les feuilles de *Myrtus communis* L. en suivant la macération pour l'extraction et L'HPLC pour la caractérisation [186]

b) Extraction par soxhlet : Ce procédé consiste à chauffer une solution à ébullition puis à renvoyer les vapeurs condensées dans un ballon. Dans une comparaison de l'impact de différentes méthodes d'extraction sur les activités antioxydantes du myrte (*Myrtus communis* L.), Mozdastan et al. ont trouvé que le rendement d'extraction, la quantité de phénoliques et de flavonoïdes totaux, l'activité de piégeage des radicaux et l'activité chélatrice les plus élevés ont été atteints avec extraction assistée par soxhlet [187].

c) Extraction assistée par ultrasons (UAE) : Les expériences d'extraction assistée par ultrasons consistent à traiter sous ultrasons un solide, sec ou humide, en contact avec un solvant. Le phénomène des ultrasons consiste à créer des bulles de cavitation dans le solvant permettant de dénaturer la paroi de la cellule végétale. Les ultrasons permettent d'accélérer l'extraction et de réduire le ratio solvant/soluté ce qui conduit à un meilleur rendement d'extraction des composés bioactifs. L'extraction assistée par ultrasons s'est avérée être une technique assez efficace pour extraire une large gamme de polyphénols à partir d'une matrice de feuilles et de baies de myrte [188, 189]. Les principaux composés trouvés dans les feuilles étaient la myricétine-galactoside-gallate, la quercétine-galac-toside-gallate et la myricétine [190].

d) Extraction assistée par micro-ondes (MAE) : Avec une gamme de fréquences de 0,3 à 300 GHz, Les ondes électromagnétiques non ionisantes appelés « les micro-ondes » sont capables de pénétrer dans les biomatériaux et de générer de la chaleur en interagissant avec les molécules polaires comme l'eau. L'interaction entre les micro-ondes et les molécules polaires conduit à un surchauffage interne et une perturbation de la structure cellulaire facilitant la diffusion du composé bioactif à partir de la matrice végétale [191, 192].

Chapitre 1: Métaux lourds : problématique sanitaire/environnementale et moyens de détection

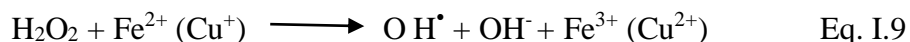
Suivant une étude réalisée par Dahmoune et al., ils ont constaté que le temps d'extraction des composés phénoliques des feuilles de *M. communis* à l'aide de micro-ondes (MAE) était environ 14 et 15 fois inférieur à celui d'extraction par ultrasons (UAE) et de la méthode d'extraction traditionnelle, respectivement [193].

IV.3.3.4. Compositions chimiques

En plus des métabolites primaires, des minéraux et de la matière azotée, le myrte communis contient des métabolites secondaires, dont on peut citer les huiles essentielles et les composés phénoliques [187]. Les feuilles et les fruits sont riches en tannins, flavonoïdes et anthocyanidines [190]. Selon Dahmoune et al. Les extraits de myrte par micro-ondes contiennent (32.65 ± 0.01 mg/g) des tanins, (5.02 ± 0.05 mg QE/g) des flavonoïdes totales et (38.20 ± 1.08 µg GAE/mL) d'activité antioxydante [193].

IV.3.3.5. Chélation des ions métalliques

Le pouvoir chélateur de polyphénols peut constater par le rôle important de ces molécules bioactives au niveau du corps humain. Les polyphénols contribuent à l'inhibition de la formation des radicaux libres par la chélation de métaux de transition tels que le fer (Fe^{2+}) et le cuivre (Cu^+), (Al^{+3}) qui peuvent être responsables de la production du radical OH^{\bullet} par la réduction de H_2O_2 lors de la réaction de Fenton [194, 195] :



En outre, l'autoxydation des ions Fe^{2+} et Cu^+ est une source de $O_2^{\bullet-}$ et de H_2O_2 . Ainsi, complexer les ions du fer et du cuivre sous une forme qui bloque leur activité redox est un mécanisme d'action antioxydante. Les polyphénols abondants dans l'alimentation séquestrent ces ions métalliques au niveau de différents sites. Selon leur structure, les polyphénols peuvent présenter des « pinces » capables de chélater ces métaux.

A l'échelle d'environnement, ces substances naturelles ont fait l'objet de plusieurs travaux scientifiques dans le domaine du traitement des eaux, par développement des nouveaux adsorbants à base de polyphénols pour l'élimination des métaux lourds [196, 197]. Bouraoui, Khdimallah et Zazoua ont utilisé des tanins extraits de la peau de *Punica granatum* L (grenade) et de l'écorce de *Quercus macrolepis* (gland) respectivement, comme des modificateurs des électrodes en or pour détecter des métaux lourds dans des milieux aqueux. Les auteurs ont justifié le choix de ces ionophores par la capacité des tanins à former des complexes avec les métaux lourds [198, 199, 200].

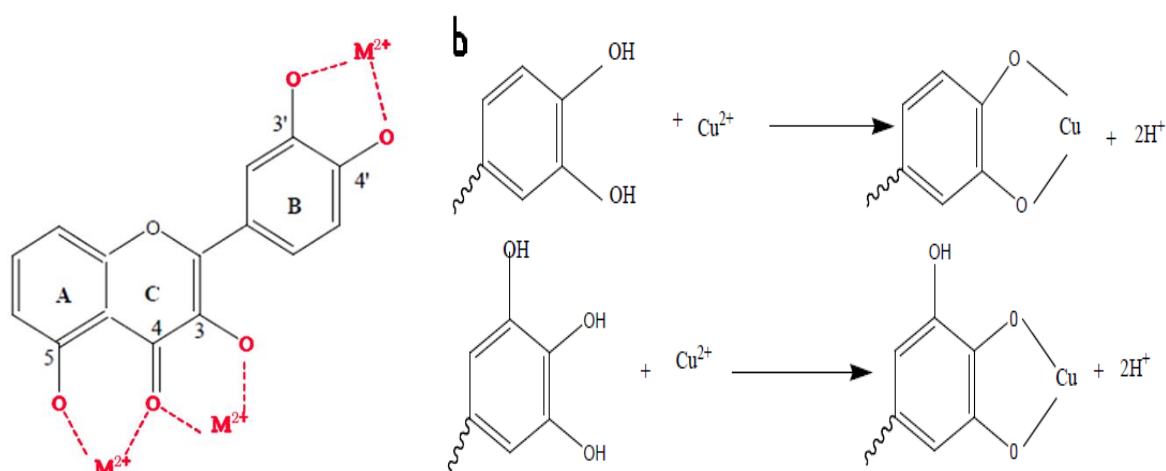


Figure 1.14 : les sites proposés pour la chélation des ions métalliques (M²⁺) (a) Les flavonoïdes [201], (b) Le mécanisme de réaction Tanins / Cu²⁺: (b1) échange d'ion groupe Catechol - Cu²⁺, (b2) échange d'ion groupe Pyrogallol - Cu²⁺. [198]

IV.3.3.6. Teste de la capacité de chélation du fer ferreux

Plusieurs auteurs ont proposé des méthodes pour estimer la capacité chélatrice des extraits des plantes [202, 203]. Le principe de toutes ces méthodes est basé sur l'inhibition de la formation du complexe Fe(II)-Ferrosine après le traitement des échantillons avec les ions Fe²⁺. L'activité chélatrice est caractérisée par la concentration effectrice (IC₅₀) définie comme la concentration de l'échantillon qui produit 50% d'effet chélateur ainsi exprimée en mg d'équivalent d'EDTA/g d'extrait.

Pour évaluer le pouvoir chélateur d'un extrait donné, le composé stabilisant le plus utilisé est la ferrozine. En effet, la ferrozine forme avec le fer libre, présent dans un milieu réactionnel, un complexe ferrozine-Fe⁺² de couleur violette intense. La quantification de ce complexe par spectrophotométrie à 562 nm dans un milieu de concentration connue en fer, renseigne sur la quantité de fer non chélaté et donc sur la capacité de l'extrait à chélater cet élément. Plus la coloration de la solution contenant l'extrait testé est claire, plus le pouvoir chélateur est important.

V. Méthodes de caractérisation électroanalytique

Les techniques électroanalytiques sont les outils utilisés en chimie électroanalytique pour identifier et quantifier l'analyte en se basant sur les signaux générés par les processus d'oxydation / réduction, d'adsorption / désorption et d'incorporation / exclusion ; réalisés sur l'interface électrode-solution.

V.1. Techniques voltamétriques :

La voltamétrie est le groupe de techniques électroanalytiques le plus largement utilisé. La voltampérométrie implique la mesure du courant (I) circulant sur une électrode en fonction du potentiel (E) et du temps (t). Par conséquent, la voltamétrie peut être considérée comme une fonction de E, I et de temps (t) [204]. Un graphique de I en fonction de E est appelé voltamogramme. Les techniques utilisées en voltampérométrie se distinguent les unes des autres par la fonction du potentiel appliqué à l'électrode de travail pour conduire la réaction électrochimique [205]. Les techniques voltampérométriques sont les suivants:

Voltampérométrie à balayage linéaire (LSV), voltampérométrie à onde carrée (SWV), voltampérométrie à redissolution anodique (ASV), voltampérométrie à redissolution cathodique (CSV), voltampérométrie à impulsion normale (NPV), Voltampérométrie à impulsions différentielle (DPV), voltampérométrie cyclique à balayage rapide (FSCV), voltampérométrie cyclique (CV). Nous présenterons ici les rapports théoriques nécessaires à la compréhension de différentes techniques voltamétriques utilisées dans ce travail :

V.1.1. Voltamétrie par impulsions (pulse voltammetry)

Les techniques voltampérométriques à impulsions ont été développées par Barker et Jenkin dans les années 1950 [206]. L'application d'une impulsion à une électrode maximise le flux en réduisant l'épaisseur de la couche de diffusion [207]. Cela entraîne une augmentation de la sensibilité. Il existe différentes techniques d'impulsion. Les techniques appliquées dans ce travail sont :

V.1.1.1. Voltamétrie à impulsions différentielles (*Differential Pulse Voltammetry*)

La voltamétrie à impulsions différentielles (DPV) consiste en impulsions de faible amplitude fixe superposées au potentiel linéaire. Un potentiel de rampe ou d'escalier est appliqué à l'électrode [208] (figure I.15). Le courant est mesuré immédiatement avant chaque changement de potentiel, et la différence de courant est tracée en fonction du potentiel. En échantillonnant le courant juste avant que le potentiel ne soit modifié. Le profil en forme de pic obtenu est appelé voltamogramme à impulsions différentielles (Fig.I.15). La DPV est 10 à

Chapitre 1: Métaux lourds : problématique sanitaire/environnementale et moyens de détection

100 fois plus sensible que le CV. Le courant de crête (I_p) est proportionnel à la concentration de l'analyte [209]. Les systèmes réversibles fournissent des pics étroits et symétriques, tandis que les systèmes irréversibles génèrent des pics plus larges avec une sensibilité moindre.

Technique	Forme d'onde d'Excitation	Forme de réponse de courant
Voltamétrie à impulsions différentielles (DPV)		
Voltamétrie à ondes carrées (SWV)		
Voltamétrie par stripage (SV)		

Figure I.15: Signaux d'excitation pour les techniques d'impulsions et les comportements (I-E) en sortie.

Chapitre 1: Métaux lourds : problématique sanitaire/environnementale et moyens de détection

V.1.1.2. Voltamétrie à ondes carrées (Square Wave Voltammetry)

La voltamétrie à onde carrée (SWV) est une technique d'impulsion de grande amplitude qui offre l'avantage d'une vitesse et d'une sensibilité élevées [208]. La forme d'onde d'excitation composée d'une onde carrée symétrique superposée à un potentiel de base d'escalier appliqué à l'électrode (Fig. 1.15). Le courant est échantillonné deux fois par chaque cycle d'onde carrée, à la fin des deux demi-cycle ; l'avant (I_{avant}) et l'inverse (I_{inverse}). La différence entre ces deux mesures (courant net, ΔI) est tracée en fonction du potentiel de base d'escalier. Le profil en forme de pic obtenu est appelé voltamogramme à onde carrée (Fig. I.15). I_p est proportionnelle à la concentration de l'analyte. Les voltamogrammes peuvent être enregistrés en quelques secondes, voire moins. Le taux de balayage effectif est donné par $f \Delta E$, où f est la fréquence de l'onde carrée et ΔE la hauteur du potentiel d'escalier.

V.1.1.3. Voltamétrie par redissolution (stripping voltammetry)

La voltamétrie par strippage (SV) est l'une des techniques voltamétriques les plus sensibles communément utilisées pour mesurer les traces de métaux et les molécules organiques [208]. L'analyse par (SV) est un processus en trois étapes. La première étape est celle de dépôt, dans laquelle les analytes dans la solution sont déposés ou préconcentrés sur la surface d'électrode dans des conditions d'agitation. La seconde est l'étape d'équilibration, et la troisième est le strippage ; qui implique la redissolution de l'analyte préposé sur l'électrode dans des conditions de repos (Fig. I.16).

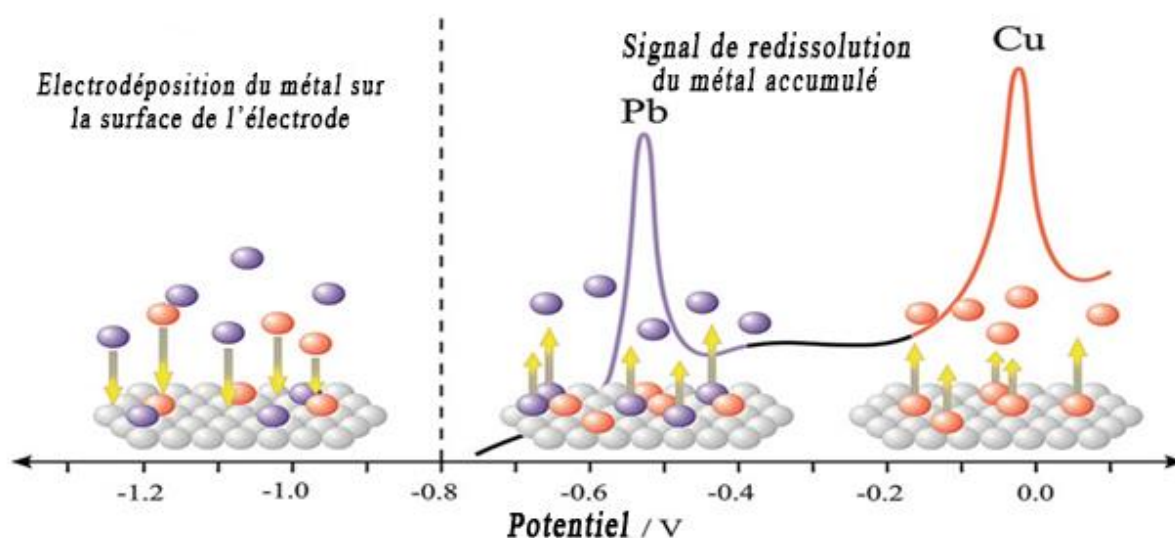


Figure I.16 : Une représentation schématique de la voltamétrie de strippage anodique illustrant les deux étapes clés: électrodéposition et redissolution (strippage)[210]

Chapitre 1: Métaux lourds : problématique sanitaire/environnementale et moyens de détection

La réaction faradique qui se produit pendant le stripping est mesurée à l'aide de l'une des techniques par impulsion telles que DPV ou SWV. Les voltamogrammes de stripping sont en forme de pic (Fig. I.15).

V.1.2. Voltamétrie cyclique (cycle voltammetry CV)

Le (CV) est la technique électroanalytique la plus polyvalente et la plus utilisée pour la caractérisation des espèces électroactives. Habituellement, le CV est la première expérience à mener dans une étude électrochimique. La popularité du CV réside dans sa capacité à fournir la thermodynamique et la cinétique des processus rédox sous une forme facile à obtenir et à interpréter [211, 212]. Le CV nous permet de localiser rapidement le potentiel rédox d'une espèce électroactive. Il a été rapporté pour la première fois en 1938 et décrit théoriquement par Randles et Ševčík [213, 214]. En CV, le potentiel de contrôle appliqué sur l'électrode de travail (ET) et l'électrode de référence (ER) s'appelle le signal d'excitation, est une forme d'onde triangulaire (E / t) (Fig. I.17.a) dans laquelle le potentiel de l'électrode a été balayé de E_{initiale} à E_{finale} , la direction de balayage a été inversée au potentiel de commutation (E_f) à une vitesse de balayage (v) constante. Les limites de potentiel doivent être choisies de telle manière qu'à E_i , il n'existe aucune activité électrochimique et qu'à E_f , la réaction soit contrôlée par le transport de masse. Le courant mesuré au cours de ce processus est tracé en fonction du potentiel appliqué et le résultat est appelé voltamogramme cyclique. La (Fig.I.17. b) montre un voltamogramme cyclique typique obtenu pour un système électrochimique réversible.

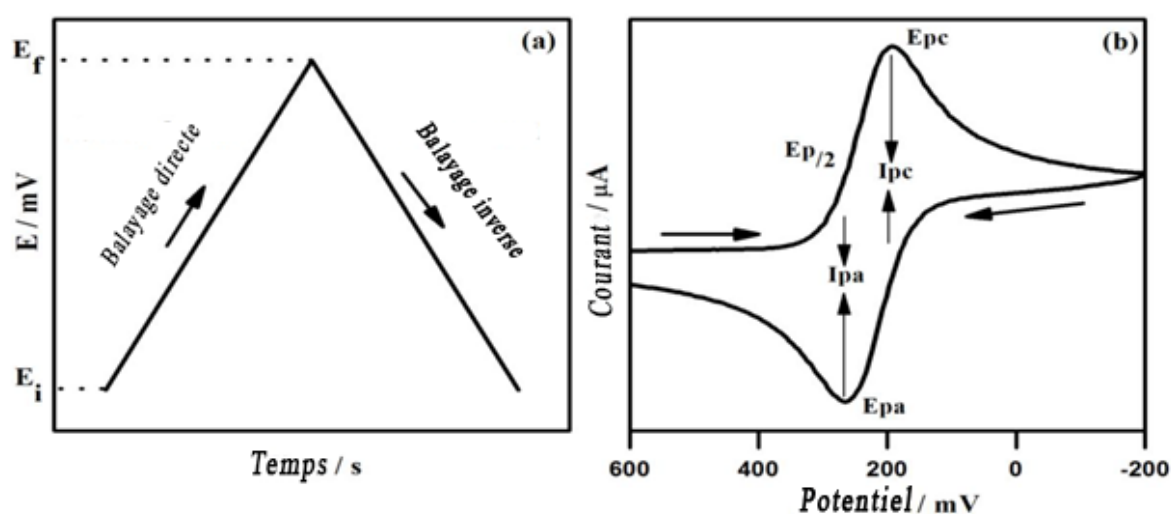


Figure I.17: (a) Signal de potentiel d'excitation utilisé pour CV (b) Réponse typique de CV pour un système électrochimiquement réversible.

Chapitre 1: Métaux lourds : problématique sanitaire/environnementale et moyens de détection

V.1.2.1. Les applications de la voltamétrie cyclique

La méthode CV a trouvé une application étendue pour l'évaluation des paramètres thermodynamiques et cinétiques. La puissance du CV résulte de sa capacité à fournir rapidement des informations sur:

1. Mécanisme de réaction, constantes de vitesse, coefficients de transfert et coefficients de diffusion des processus redox et cinétique des réactions de transfert d'électrons.
2. Détection des réactions chimiques couplées au processus de transfert d'électrons ou d'adsorption et identification de la réversibilité de la réaction d'électrode.
3. Nombre d'électrons impliqués dans chacun des processus redox observés.
4. Localisation rapide des potentiels redox des espèces électroactives.
5. Surface électroactive, rugosité et contamination de surface.
6. Que le processus redox soit cinétique ou contrôlé par diffusion.
7. Si le comportement redox est affecté par : une modification de la concentration de l'espèce électroactive, le système de solvant ou par la surface de l'électrode.
8. Identifier la présence des réactions intermédiaires et les produits formés lors de la réaction.

V.1.2.2. Modes de transport de masse en voltammétrie

La réaction qui se produit entre la surface de l'électrode et les espèces dans la solution peut passer par une série d'étapes qui provoquent la conversion des espèces oxydées dissoutes (O) en espèces réduites (R) en solution [204] (Fig.I.18).

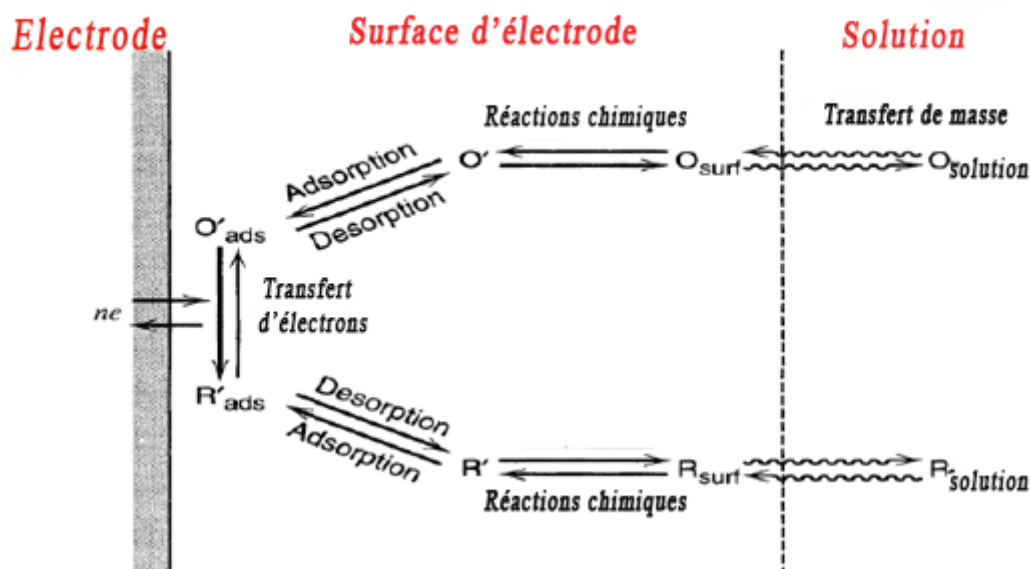


Figure I.18: Voie de réaction générale sur une électrode [210]

Chapitre 1: Métaux lourds : problématique sanitaire/environnementale et moyens de détection

Les vitesses individuelles de chaque processus affectent la vitesse globale de réaction. La réaction la plus simple implique uniquement le transfert de masse du réactif vers l'électrode, le transfert d'électrons hétérogène des espèces non adsorbées et le transfert de masse du produit vers la solution. Trois régions distinctes sont évidentes sur le (Fig.I.18). Ils comprennent l'électrode elle-même, la région très proche de la surface de l'électrode et la solution. Il existe trois modes de transport de masse différents (Fig.I.19) :

a) Diffusion : C'est le mouvement spontané d'une espèce dû au gradient de concentration. Lorsque un analyte est électrolysé sur la surface d'électrode de travail (ET), sa concentration à cette surface sera abaissée et par conséquent, plus d'analyte se déplace vers l'ET sous l'effet de la diffusion. Il s'agit le mode de transport de masse le plus courant en voltampérométrie.

b) Migration : C'est le mouvement d'une espèce chargée en raison du gradient potentiel. Les forces menant à la migration sont purement électrostatiques. La migration est éliminée en ajoutant un excès d'électrolyte support de sorte que les ions d'électrolytes migrent et non l'analyte.

c) Convection : C'est le mouvement des espèces dû aux forces mécaniques. La principale force motrice de la convection est une énergie mécanique externe associée à l'agitation, à l'écoulement de la solution, à la rotation ou à la vibration de l'électrode.

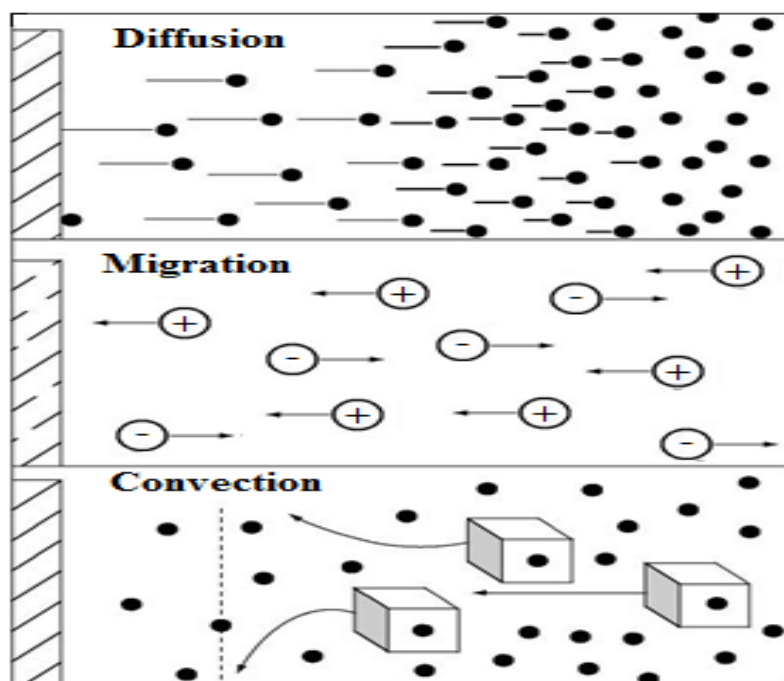


Figure I.19 : Modes de transport de masse en voltammétrie

V.1.2.3. Types de transfert d'électrons

Il existe trois types différents de transfert d'électrons, à savoir réversible, irréversible et quasi-réversible (Fig.I.21) [215]. Des expériences CV sont utilisées pour identifier ces processus.

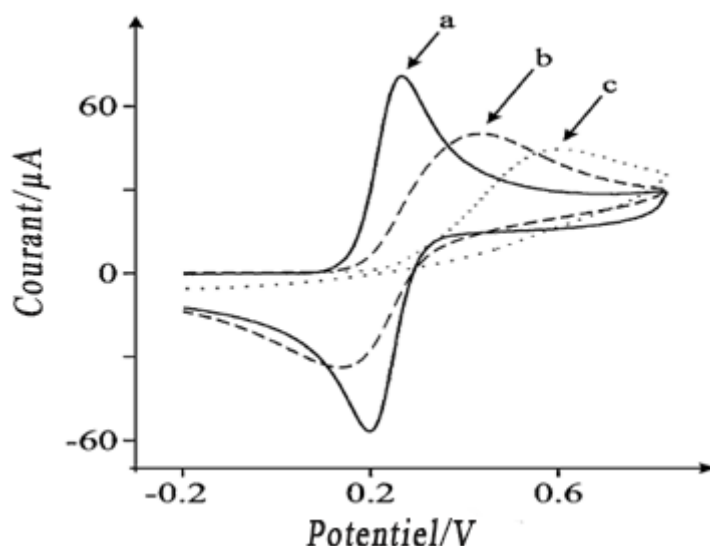


Figure I.20: Voltammogrammes cycliques pour le transfert d'électrons réversible (a), quasi-réversible (b) et irréversible (c) [210]

a) Transfert de charge réversible : On dit que la réaction est électrochimiquement réversible, si le transfert d'électrons est rapide par rapport au processus de transport de masse et que k^0 est beaucoup plus élevé que le coefficient de transport de masse (mT) [216]. Des pics avant et arrière sont observés pour les systèmes réversibles. Le courant de crête observé en CV pour les systèmes électrochimiquement réversibles est donné par l'équation de Randles-Ševčík [211] :

$$I_p = (2.69 \times 10^5) n^{3/2} A C D^{1/2} \nu^{1/2} \quad \text{Eq. I.10}$$

Où, n est le nombre stoechiométrique d'électrons impliqués dans la réaction de l'électrode, A est la surface active de l'électrode en cm^2 , D est le coefficient de diffusion de l'espèce O en cm^2s^{-1} , C est la concentration de l'espèce O en mol/cm^3 et ν est le taux de balayage dans Vs^{-1} . Les tests de diagnostic d'un voltammogramme cyclique réversible à 25°C [217] sont :

- 1) $\Delta E_p = E_{pa} - E_{pc} = 59/n \text{ mV}$, n est le nombre d'électrons transférés dans une réaction
- 2) $I_{pc} / I_{pa} = 1$
- 3) $I_p \propto \nu^{1/2}$
- 4) E_p est indépendant de ν

Chapitre 1: Métaux lourds : problématique sanitaire/environnementale et moyens de détection

b) Transfert de charge irréversible : On dit que la réaction est électrochimiquement irréversible, si le transfert d'électrons est lent, par rapport au processus de transport de masse et que k^0 est bien inférieur au coefficient de transport de masse (m_T) [216]. Les systèmes irréversibles sont caractérisés par la présence d'un seul pic, d'oxydation ou de réduction. Le courant de crête observé en CV pour les systèmes électrochimiquement irréversibles est donné par l'équation I.11 [211] :

$$I_p = (2.99 \times 10^5) n^{\frac{3}{2}} A C \alpha^{1/2} D^{1/2} \nu^{1/2} \quad \text{Eq. I.11}$$

Où α est le coefficient de transfert de charge et les autres notations ont leur signification habituelle. Les principaux critères de diagnostic pour les systèmes irréversibles sont:

- 1) Pas de pic inverse
- 2) $I_p \propto \nu^{1/2}$
- 3) E_p se déplace de $-30/\alpha n$ pour chaque augmentation de 10 fois en ν

c) Transfert de charges quasi réversible : La réaction serait électrochimiquement quasi-réversible si les taux de transfert d'électrons et de transport de masse sont comparables ou compétitifs. Les valeurs de k^0 et m_T sont comparables pour ces systèmes [216]. C'est le cas intermédiaire des systèmes réversibles et irréversibles. Des pics avant et arrière sont observés pour les systèmes quasi réversibles avec différence de potentiel de plus de $59,1/n$ mV. L'équation de Randle-Sevcik (1), pour un processus quasi réversible [210]:

$$I_p = (2.65 \times 10^5) A D^{1/2} n^{3/2} C \nu^{1/2} \quad \text{Eq. I.12}$$

Les notations utilisées dans l'équation 1.12 ont le sens habituel. Les tests de diagnostic d'un voltammogramme cyclique du système réversible à 25°C [217] sont :

- 1) I_p augmente avec $\nu^{1/2}$, mais pas toujours linéairement
- 2) $I_{pa}/I_{pc} = 1$, si $\alpha = 0,5$
- 3) $\Delta E_p \gg 59,1/n$, et augmente avec l'augmentation de ν
- 4) E_p se déplace avec l'augmentation de ν

V.1.2.4. Cinétique du transfert d'électrons et de transport de masse

La cinétique du transfert d'électrons à l'interface peut être analysée en utilisant l'équation Butler-Volmer I.13 [218]. Elle décrit comment le courant électrique net dans une électrode dépend du potentiel de l'électrode, étant donné que les réactions cathodiques et anodiques se produisent à la même électrode.

Chapitre 1: Métaux lourds : problématique sanitaire/environnementale et moyens de détection

$$I_{net} = I_0 \left[\exp\left(\frac{-\alpha n F \eta}{RT}\right) - \exp\left(\frac{(1-\alpha) n F \eta}{RT}\right) \right] \quad \text{Eq. I.13}$$

Où I_{net} est la densité de courant nette dans la cellule électrochimique, I_0 est la densité de courant d'échange (traversant le système au potentiel d'équilibre) et η est le surpotentiel.

D'autre part, le coefficient de transport de masse, mT est donnée par l'équation suivante [210] :

$$mT = [D/(RT/Fv)]^{1/2} \quad \text{Eq.I.14}$$

Le transfert d'électrons hétérogènes est l'acte central d'intérêt en chimie électroanalytique. Plusieurs méthodes ont été décrites dans la littérature pour estimer la constante de vitesse hétérogène standard du transfert d'électrons (k^0), l'une de ces méthodes, à savoir la méthode Nicholson, suppose un courant contrôlé par diffusion. Alors que l'autre, donnée par Laviron, suppose une adsorption à la surface de l'électrode [219].

a) Méthode de Nicholson : La constante de vitesse de transfert d'électrons hétérogène, k^0 , peut être calculée par la technique de Nicholson développée en 1965, en utilisant l'équation I. 15 [220] :

$$\Psi = K^0 [\pi D n v F / (RT)]^{-1/2} \quad \text{Eq. I. 15}$$

Ψ est un paramètre cinétique et ses valeurs peuvent être extraites de la courbe de travail de Nicholson. Étant donné que l'application de cette méthode est limitée à une plage de séparation des pics de $60 < \Delta E_p < 200$ mV, Lavagnini et al. [221] ont proposé une nouvelle approche qui peut compenser cette limitation et permet le calcul de la constante de vitesse standard k^0 quelles que soient les valeurs de $(\Delta E_p \times n)$ obtenu à partir des courbes CV. En combinant la méthode de Nicholson et celle de Klingler-Kochi conçu pour les systèmes irréversibles, une nouvelle formule a été donnée pour chaque approche; avec différentes plages de validation. La formule I.16 est l'équation empirique équivalente de la courbe de travail de Nicholson et elle a été utilisée pour calculer les grandes valeurs de Ψ , tandis que les petites valeurs ont été calculées par l'équation I. 17. Cette dernière est la forme réorganisée de la relation de Klingler et de Kochi [221]:

$$\Psi = (-0.6288 + 0.0021X) / (1 - 0.017X) \quad \text{Eq. I.16}$$

$$\Psi = 2.18 [\alpha/\pi]^{1/2} \exp[-(\alpha^2 F/RT) n \Delta E_p] \quad \text{Eq. I.17}$$

Chapitre 1: Métaux lourds : problématique sanitaire/environnementale et moyens de détection

Où X dans (Eq.I.16) indiquaient $(\Delta E_p \times n)$ exprimé en mV. Et α in (Eq.I.17) est le coefficient de transfert pour le processus d'électrode.

b) Méthode de Laviron : Pour les processus où le phénomène d'adsorption s'est avéré avoir un effet, (une dépendance linéaire entre la réponse redox et la vitesse de balayage), les constantes de vitesse ont été déterminées à l'aide d'une méthode développée par Laviron, qui prend en compte l'effet de l'adsorption. Les valeurs de k_s ont été calculées en utilisant l'équation de Laviron [222] :

$$\text{Log } k = \alpha \log (1-\alpha) + (1-\alpha) \log \alpha - \log (RT/nFv) - \frac{\alpha(1-\alpha)nF \Delta E_p}{2.3RT} \quad \text{Eq. I.18}$$

La valeur de coefficient de transfert de charge α a été déterminée à partir de la pente du graphique $E_p = f(\log v)$, pour les processus contrôlé par adsorption [222]:

$$E_{p_a} = E^0 + \frac{2.3RT}{(1-\alpha)nF} \log v \quad \text{Eq. I.19}$$

$$E_{p_c} = E^0 - \frac{2.3RT}{(\alpha)nF} \log v \quad \text{Eq. I.20}$$

V.2. Chrono-ampérométrie

Dans les analyses ampérométriques, le potentiel de l'électrode de travail est ajusté à une valeur constante à laquelle la réaction redox se produit et le courant est mesuré. Lorsque le courant est représenté graphiquement en fonction du temps, il est appelé chronoampérométrie (CA) [209]. La (CA) consiste à imposer un saut de potentiel à partir du potentiel d'équilibre (courant nul) jusqu'à une valeur fixe, à laquelle s'effectue la réaction à l'électrode, et à mesurer le courant en fonction du temps (Figure I.21). Sous ces conditions, le système a fait une transition d'aucune réaction à la réaction d'état stable, contrôlé par le taux de transfert de masse d'espèces électroactives vers la surface de l'électrode. Une telle transition est toujours suivie par la variation de courant jusqu'à ce que l'état stable soit accompli, comme décrit par l'équation de Cottrell [204].

$$I_p = nFACD^{1/2}\pi^{-1/2}t^{-1/2} \quad \text{Eq. I.21}$$

Où: I: la densité de courant ($A.cm^{-2}$), n: le nombre d'électrons échangés, F: la constante de Faraday 96500 (C/mole), D: coefficient de diffusion ($cm^2.s^{-1}$), C: la concentration ($mole.cm^{-3}$) et t: temps (s).

Le courant est fonction linéaire de $t^{-1/2}$, cette linéarité permet de déduire à partir la pente de la droite le coefficient de diffusion D.

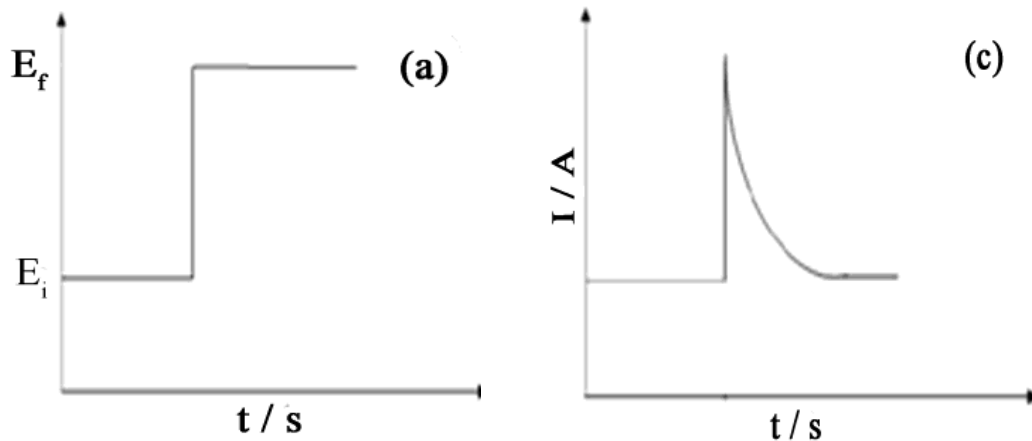


Figure : I.21. (a) Signal de potentiel d'excitation, (b) Courbe typique de chronoampérométrie [230]

V.3. Spectroscopie d'impédance électrochimique (EIS)

C'est une technique efficace pour déterminer les caractéristiques des électrodes chimiquement modifiées et pour comprendre les réactions électrochimiques à l'interface solide/liquide. L'impédance est la résistance totale complexe rencontrée lorsque le courant circule dans un circuit composé de combinaison de résistors, d'inducteurs et de condensateurs.

En principe, il y a deux méthodes différentes pour obtenir des spectres d'impédance: mesure en fonction de la fréquence ou bien en fonction du temps (figure I.22 a, b). Un potentiel sinusoïdalement variable $V(\omega,t)$ avec une amplitude typiquement dans la gamme de $V_0 = 5-50$ mV est appliqué au système électrochimique et on mesure le courant résultant $I(\omega,t)$ qui résulte de l'excitation électrique. Des spectres d'impédance sont obtenus par des mesures séquentielles de $V(\omega,t)$ et $I(\omega,t)$ pour chaque fréquence.

Elle est une généralisation de la loi d'Ohm et correspond au rapport entre le potentiel appliqué $E(t)$ et le courant $I(t)$ recueilli en sortie :

$$Z(t)=E(t)/ I(t) =Z'+iZ'' \quad \text{Eq. I.22}$$

L'impédance est une valeur complexe, car le courant peut différer non seulement en termes d'amplitude, mais il peut également montrer un déphasage ϕ par rapport à la fonction tension-temps. Ainsi, En plus, le signal alternatif d'impédance complexe peut être décrite soit par le module $|Z|$ et le déphasage ϕ ou encore par la partie réelle Z_R et la partie imaginaire Z_I de l'impédance [223], qui sont d'origine résistive et capacitive respectivement :

$$Z(\omega)=ZRe(\omega)+jZIm(\omega) \quad \text{Eq. I.23}$$

Chapitre 1: Métaux lourds : problématique sanitaire/environnementale et moyens de détection

La courbe de Nyquist (Figure I.22. c) comprend généralement une partie en demi-cercle se trouvant sur l'axe suivi par une ligne droite [224]. Le demi-cercle correspond au processus de transfert d'électrons limité et la ligne droite représente le processus de diffusion limitée.

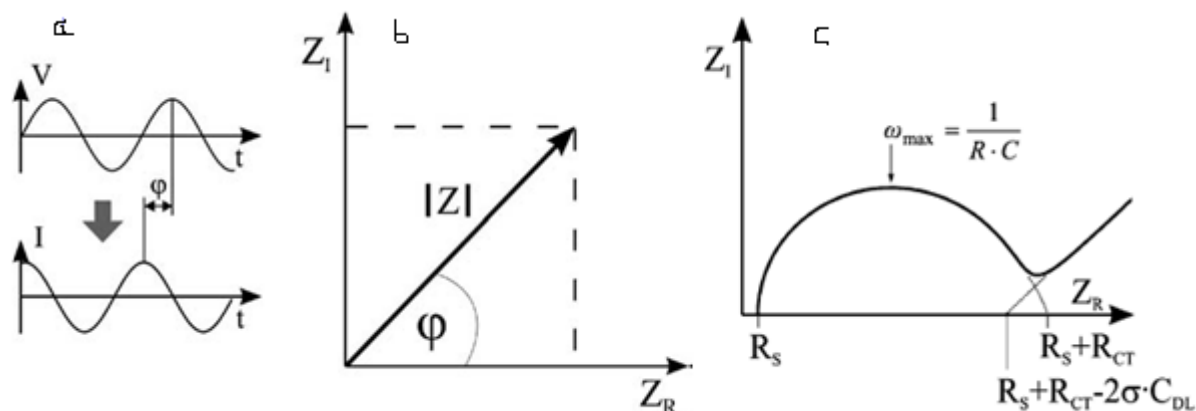


Figure I.22 : Schéma de signal d'entrée $V(t, \omega)$ et de signal de sortie $I(t, \omega)$ et qui montre le déphasage ϕ (a), schéma représentatif des coordonnées cartésiennes et polaires (b). Diagramme de Nyquist (c) [223]

V.3.1. Circuit électrique équivalent et ses éléments:

Les transformations électrochimiques qui se produisent à l'interface électrode-solution peuvent être modélisées en utilisant des composants électroniques de circuits équivalents qui correspondent à des spectres d'impédance expérimentale. Un circuit équivalent est un circuit électrique qui a le même spectre d'impédance que les résultats expérimentaux. Le circuit couramment utilisé pour modéliser les phénomènes d'interface est celui de Randles (Fig.I.23).

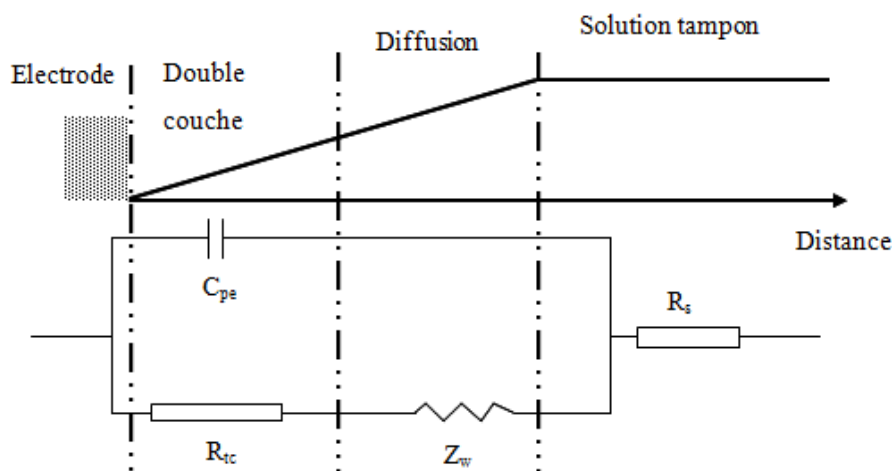


Figure I.23 : Modélisation des différentes couches d'un capteur constitué d'une électrode conductrice en contact avec une solution électrolytique par un circuit équivalent de Randle

Chapitre 1: Métaux lourds : problématique sanitaire/environnementale et moyens de détection

V.3.1.1. Résistance de l'électrolyte:

La résistance de l'électrolyte (R_s) dépend généralement de la concentration d'ions dans la solution, du type d'ions, de la température et de la forme de la cellule électrochimique. Elle est proportionnelle à la résistivité de l'électrolyte ρ . La résistance d'électrolyte est donnée par l'expression suivante :

$$R_s = \rho \frac{l}{A} \quad \text{Eq. I.24}$$

Avec l la distance entre l'électrode de travail et la contre électrode et A la surface active de l'électrode de travail.

V.3.1.2. Résistance de transfert de charge :

La résistance de transfert de charge est la résistance liée au mécanisme de transfert de charge pour des réactions redox à l'électrode [225].

$$R_{ct} = RT / nFI_0 \quad \text{Eq. I.25}$$

Avec R est la constante de gaz parfait, T la température, n le nombre d'électrons transférés, F la constante de Faraday et I_0 la densité de courant d'échange au potentiel d'équilibre.

V.3.1.3. Capacité de la double couche :

La capacité de la double couche (C_{dl}) résulte d'une double couche électrique qui se forme à l'interface entre l'électrode et l'électrolyte [225]. La valeur de cette capacité dépend de plusieurs variables comprenant la tension appliquée à l'électrode, la température, la concentration ionique, les types d'ions, les couches d'oxyde, la rugosité de l'électrode, l'adsorption d'impureté. L'expression de la capacité de la double couche est donnée par :

$$C_{dl} = (\partial Q / \partial V)_{P, T, \mu} \quad \text{Eq. I.26}$$

∂Q la variation de charge stockée dans une couche, ∂V la variation de potentiel à travers la double couche, T la température, P la pression et μ le potentiel chimique de l'espèce ionique. Pour éviter le problème de rugosité et de l'inhomogénéité, une alternative intéressante consiste à substituer cet élément idéal par une impédance généralisée dite aussi cpe (élément de phase constante) [226] qui traduisent la non-linéarité et la dépendance en fréquence des impédances.

V.3.1.4. Élément de phase constante (cpe) [225]:

L'impédance d'un élément de la constante de phase (cpe) est exprimée comme suit :

$$Z_{cpe} = A(\omega)^{-n} \quad \text{Eq. I.27}$$

Chapitre 1: Métaux lourds : problématique sanitaire/environnementale et moyens de détection

Où, A et n sont les paramètres du cpe.

La capacité double couche (C_{dl}) est généralement modélisées avec un cpe.

V.3.1.5. Impédance de Warburg [227] :

L'impédance de Warburg est l'impédance résultant de la diffusion d'une espèce à l'électrode. Cette impédance dépend de la fréquence de la perturbation, du potentiel appliqué et de la concentration des espèces qui diffusent. L'impédance de Warburg est donnée par :

$$Z_w = \sigma (1-i) \omega^{-0.5} \quad \text{Eq. I.28}$$

Avec σ le coefficient de Warburg.

VI. Conclusion

Après avoir examiné la dangerosité associée aux métaux lourds et leur grave impact sur la santé ainsi que sa dispersion de plus en plus importante dans l'environnement. Il est devenu clair l'intérêt de concevoir des récepteurs capables de détecter les traces des cations métalliques. Dans ce contexte, les électrodes chimiquement modifiées représentent une alternative prometteuse comparativement aux méthodes existantes souvent onéreuses et complexes. La combinaison de la transduction électrochimique avec la spécificité induite par la modification chimique permet de proposer des capteurs peu onéreux avec de bonnes sensibilités et sélectivités. Surtout qu'il y a un grand nombre des approches possibles pour la modification de surface ainsi que plusieurs matériaux d'électrode disponible, tout dépend l'application voulue. Différents matériaux conducteurs peuvent être utilisés comme électrode (or, platine, argent, carbone, etc.), mais dans un souci d'élaboration de capteurs peu coûteux, les électrodes de carbone se sont montrées être un très bon compromis propriétés/prix. Durant ces dernières années, les électrodes en carbone ont été largement développées car elles possèdent de nombreux avantages : intégration possible dans des systèmes automatisés, fiabilité, reproductibilité, bas coût, facilité de réalisation et d'utilisation, portabilité et surtout usage unique. L'association de méthodes d'analyse électrochimique très sensibles telles que la voltamétrie avec ces électrodes a permis de démontrer que l'analyse in-situ de nombreux analytes est ainsi possible.

Références bibliographiques

- [1] Rollin, C.; Quiot, F.; Burnol, A.; Duro, L.; Grive, M. *Eléments traces métalliques*: INERIS, 2006.
- [2] Kutrowska, A.; Szelag, M.;. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2014, 36, 1957-1968.
- [3] Adriano D.C. *Trace elements in the environment*. Springer Verlag, New York. (1986).
- [4] Diard, P., Thèse de Doctorat de l'INSA. Lyon, France, 1996.
- [5] Fergusson J. E.. *New Zetland journal of science*. vol 23, p2830, (1980).
- [6] F. Le Goff et V. Bonnomet, rapport technique. INERIS DRC-03-46822-FLg/JL-03.0693. 2004.
- [7] A. Burnol, L. Duro, et M. Grive, INERIS-DRC-06-66246/DESP-R01a, 2006.
- [8] Alloway, B.J. et Ayres, D.C., 1997. Blackie Academic and Profesional, an imprint of Chapman and Hall, London, 394 pp.
- [9] Hagège, A.; Boos, A.; *Techniques de l'ingénieur*, 2013, 3860, 1-20.
- [10] Tarras-Wahlberg, N H; Flachier, A; Lane, S N; Sangfors D.(2001). *Sci Total Environ* ; 278 : 239-261.
- [11] C.Christophoridis, D.Dedepsidis; *Hazardous Materials journal*; 168(2009)1082-1091.
- [12] Singh R, Gautam N, Mishra A, Gupta R (2011). *Indian J Pharmacol* 43:246–253
- [13] Malik, D., Singh, S., Thakur, J., Singh, R. K., Kaur, A., Nijhawan, S.,(2014). *Int. J. Curr. Microbiol Appl Sci*,3 (10): 856-863.
- [14] Barakat, M. A.,(2011), *Arabian J Chem.*,4 (4): 361-377.
- [15] F. U Wittmann; *j. basic microbial.*; 21(1981) 564.
- [16] Roane, T 'M., Pepper I., L. (2000,) Maier, R .M., Pepper I.,L., Gerba, C.P. (eds.) Academic press, London, 403_422.
- [17] Gaujous, D. *La pollution des milieux aquatiques : aide-mémoire. Technique et documentation*, Ed Lavoisier, Paris. (1993).
- [18] McLaughlin, M.J., Zarcinas, B.A., Stevens, D.P., Cook, N., 2000. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 31 (11-14), 1661-1700.
- [19] Blanchard, C., 2000. Thèse : Ecole Doctorale de Chimie. Université de Lyon.
- [20] Silveira, M. L. A., Alleoni, L. R. F., & Guilherme, L. R. G. (2003). *Scientia Agricola*, 60(4), 793–806.
- [21] Z. Li, Feng; Y. Chu, Y. Dong, X. Li, J. Liu, K. Yang, L. Tang ; *Ore Geology Reviews*; 74(2016) 52-62.
- [22] GD . Nielsen , U .Soderberg , PJ. Jorgensen , DM. Templeton , Rasmussen , SN. Andersen KE, P. Grandjean ; *Toxicol Appl Pharmacol* ; 164 (1999) 67-75.
- [23] Chaignon, V., 2001. Thèse : Ecole doctorale, Sciences de l'Environnement : Système Terre, Université d'Aix-Marseille
- [24] Lespagnol, G., 2003. Thèse : Ecole Nationale Supérieure des Mines de Saint-Etienne, Université Jean Monnet
- [25] Hahne, H.C.H., Kroontje, W. (1973). *J Environ. Qual.* 2(4) : 444.
- [26] Babich, H., Stotzki, G. (1977). *Appl. Env. Microbiol.* 33 : 681-695
- [27] Krenkel, P.A. (1974). *CRC Crit. Rev. Environ.Control* 4 :251-264
- [28] Deneux-Mustin, S., Roussel-Debet, S., Mustin, C., Henner, P., Munier-Lamy, C., Colle, C., Berthelin, J., Garnier-Laplace, J., Leyval, C., (2003). TEC & DOC, Paris.
- [29] Décret exécutif n°14-96 du 4 mars 2014 (*Journal Officiel de la république Algérienne* N° 13)
- [30] Décret exécutif n°06-141 du 23 avril 2006 (*Journal Officiel de la république Algérienne* N° 26)
- [31] Pujol, L. 2016. Thèse : Ecole doctorale, Université de Toulouse.

Chapitre 1: Métaux lourds : problématique sanitaire/environnementale et moyens de détection

- [32] Lombardi, G., Lanzirotti, A., Qualls, C., Socola, F., Ali, A.-M., & Appenzeller, O. (2012). *J. Biomed. Biotechnol.*, 1–10.
- [33] Rimjhim, J.; Kumar, S. S.; Uma, A.; Saurabh, K.; Neha, S.,(2013) *Inter. Research J. Pharm.*, 4, 38-41.
- [34] INERIS, 2010. Mercure et ses dérivés. Version N°4-septembre 2010
- [35] Sbarti, A.; 2014. Thèse en co-tutelle ; université Annaba et université Claude Bernard Lyon1.
- [36] Hepler L and Olofsson G.(1975). *chem Rev.*75(5) : 585-602.
- [37] Schroeder W., Yarwood G. and Niki H.(1991). *Water Air Soil Pollut*, 53 :653-666 .
- [38] Mohod, C. V.; Dhote, J.; (2013) . *Int. J. Inn. Res Sci.*, 2 : 2992-2996.
- [39] INSERM; Plomb dans l'environnement: quels risques pour la santé ? Synthèse et recommandations. 1999, 8, 7-39.
- [40] Bodek I, Lyman W, Reehl W and Rosenblah D. New-york, pergamon Press. B. Walton and R. Conway (1998).
- [41] INERIS (2003). Plomb et ses dérivés. Version N°2-1/2003.
- [42] HSDB (2000). Plomb. Hazardous substances Data Bank. National library of medicine.
- [43] Matías Miguel Salvarredy Aranguren . (2008.) Thèse de Doctorat de l'Université Toulouse III.
- [44] INERIS, 2014; Cadmium et ses dérivés. Version N°3.2-septembre 2011
- [45] Praveen Chakravarthi, V.; Pradeep Kiran, J. A.; Bhaskar, M.(2012). *Int. J. Pharm. Biolog. Sci.*, 2, 235-246.
- [46] Birke, M., Reimann, C., Oorts, K., Rauch, U., Demetriades, A., Dinelli, E., ... Jähne-Klingberg, F. (2016). *Applied Geochem*, 74:109–121.
- [47] Nazima, B.; Manoharan, V.; Prabu, S. M.:(2014). *J. Toxicol* ; 4: 14-31.
- [48] HSDB (2001) - Cadmium. Hazardous Substances Data Bank, National Library of Medicine.
- [49] V.Martyn, S.Micheal; (2001). *Applied Catalysis A: General*; 212: 161-174.
- [50] ATSDR (1990). Toxicological Profiles for copper. Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Atlanta, GA: U.S department of Health and Human Services, Public Health Services.
- [51] INERIS (2005). Cuivre et ses dérivés .Version N°1-5-2005.
- [52] L. Sahli ; (2012) ; thèse de Doctorat. Université de Constantine.
- [53] Zhang, C., et al., (2014). *Environ. Int.*, 73, 270–281.
- [54] M. M. S. Aranguren ; (2008), thèse de doctorat ; Université de Toulouse II
- [55] Anagnostopoulos, V. A., Manariotis, I. D., Karapanagioti, H. K., & Chrysikopoulos, C. V. (2012). *Chem. Eng. J.*, 213: 135–141.
- [56] K. J. Powell, P. L. Brown, R. H. Byrne, T. Gajda, G. T. Hefter, S. Sjöberg, H. Wanner. (2007), *Pure Appl.Chem.* 79: 895
- [57] O. L.CHUKWUDUMEBI; O. IFEANYI.(2017) *J. Appl. Sci. Environ. Manage.* 21 (1):186-199
- [58] K. J. Powell, P. L. Brown, R. H. Byrne, T. Gajda, G. Hefter, S. Sjöberg, H. Wanner.(2011). *Pure Appl. Chem.*, 83(5): 1163–1214,
- [59] A. Hulanicki, S. Geab, et F. Ingman. (1991) *Pure App. Chem. (IUPAC)*, 63(9): 1247-1250.
- [60]: I. Hafaiedh ; 2009. thèse de doctorat ; INSA Lyon
-
- [61] G. March, T. Nguyen, B. Piro,(2015), *Biosensors.* 5: 241–275.
- [62] Stradiotto, N. R., Yamanaka, H., & Zanoni, M. V. B. (2003). *J Braz Chem Soc*, 14(2): 159–173.
- [63] Bansod, B., Kumar, T., Thakur, R., Rana, S., & Singh, I. (2017). *Biosens. Bioelectron.*, 94, 443–455.

Chapitre 1: Métaux lourds : problématique sanitaire/environnementale et moyens de détection

- [64] A. Walcarius, M. Etienne, G. Herzog, V. Urbanova, N. Vilà. (2014), *Nan. Sci. Tec.* Springer. 403- 495.
- [65] J. Wang, J. Lu, S.B. Hocevar, P.A.M. Farias, B. Ogorevc, (2000), *Anal. Chem.* 72 : 3218–3222.
- [66] Benck, J. D., Pinaud, B. A., Gorlin, Y., & Jaramillo, T. F. (2014). *PLoS ONE*, 9(10).
- [67] Bard, A. J.; Faulkner, L. R. *Electrochemical Methods*, (1980); John Wiley & Sons: New York,.
- [68] R.L. McCreery, (2008); *Chem. Rev.* 108: 2646–2687
- [69] C.E. Banks, R.G. Compton, (2005), *Anal. Sci.* 2: 1263–1268.
- [70] I. Svancara, K. Kalcher, A. Walcarius, K. Vytras, *Electroanalysis with Carbon Paste Electrodes*, CRC Press, 2012.
- [71] Ambrosi, A. et al. (2016). *Chem. Soc. Rev.*, 45(9): 2458–2493.
- [72] Hu, C. G., Wang, W. L., Liao, K. J., Liu, G. B., & Wang, Y. T. (2004). *J Phys Chemi Solid*, 65(10): 1731–1736.
- [73] H. Gunasingham et R. R. Dalangin, (1991), *Analytica Chimica Acta*, 246(2): 309–313.
- [74] G. Kefala, A. Economou, M. Sofoniou, (2006), *Talanta*. 68: 1013–1019.
- [75] A. Mardegan, S. Dal Borgo, P. Scopece, L.M. Moretto, S.B. Hočevár, P. Ugo, (2012), *Electrochem. Commun.* 24: 28–31.
- [76] S.B. Hocevar, I. Švancara, B. Ogorevc, K. Vytrás, (2007), *Anal. Chem.* 79: 8639–8643.
- [77] B. Sebez, B. Ogorevc, S.B. Hocevar, M. Veber, (2013), *Anal. Chim. Acta.* 785: 43–49.
- [78] M. Korolczuk, K. Tyszczyk, M. Grabarczyk, (2005), *Electrochem. Commun.* 7: 1185–1189.
- [79] M. Korolczuk, K. Tyszczyk, (2006), *Anal. Chim. Acta.* 580: 231–235.
- [80] V. Adam, J. Zehnalek, J. Petrlova, D. Potesil, B. Sures, L. Trnkova, F. Jelen, J. Vitecek, R. Kizek, (2005), *Sensors.* 5: 70–84.
- [81] K.C. Honeychurch, J.P. Hart, (2003), *TrAC Trends Anal. Chem.* 22:456–469.
- [82] K.C. Honeychurch, (2012), *Insciencies J*, 1–51.
- [83] T.M. Florence, ((1972), *J. Electroanal. Chem. Interfacial Electrochem.* 35: 237–245.
- [84] J.-P. Jasmin, C. Cannizzo, E. Dumas, A. Chaussé, (2014), *Electrochimica Acta.* 133, 467–474.
- [85] N.G. Yasri, A.J. Halabi, G. Istamboulie, T. Noguier, (2011), *Talanta.* 85: 2528–2533.
- [86] Q. Liu, F. Wang, Y. Qiao, S. Zhang, B. Ye, (2010), *Electrochimica Acta.* 55, 1795–1800.
- [87] I.K. Tonle, E. Ngameni, A. Walcarius, (2005), *Sens. Actuators B Chem.* 110: 195–203.
- [88] I.K. Tonle, E. Ngameni, A. Walcarius, (2004), *Electrochimica Acta.* 49, 3435–3443.
- [89] C. Mousty, (2004), *Appl. Clay Sci.* 27 : 159–177.
- [90] S. B. Saban, R. B. Darling. (1999), *Sens. Actuators B Chem*, 61: 128-137.
- [91] C.L. Bentley, A.M. Bond, A.F. Hollenkamp, P.J. Mahon, J. Zhang, (2013), *Electrochim. Acta.* 109: 554–561.
- [92] M. Lu, K.E. Toghil, R.G. Compton, (2011), *Electroanalysis.* 23: 1089–1094.
- [93] W. E. Vander Linden, J. W. Dieker, (1980), *Anal. Chim. Acta.* , 119(1): 1–24.
- [94] Lund, W., Hannisdal, M., & Greibrokk, T. (1979). *J. Chromatography A*, 173(2): 249–261.
- [95] R. Adams, *Carbon paste electrodes*, (1958) *Anal. Chem.* 30: 1576–1576.
- [96] G. Achary, M.N. Kumaraswamy, R. Viswanatha, Y. Arthoba Nayaka, (2015), *Russ. J. Electrochem.* 51 679–685.
- [97] F.C. Vicentini, T.A. Silva, A. Pellatieri, B.C. Janegitz, O. Fatibello-Filho, R.C. Faria, (2014), *Microchem. J.* 116: 191–196.
- [98] W. Wonsawat, S. Chuanuwatanakul, W. Dungchai, E. Punrat, S. Motomizu, O. Chailapakul, (2012) *Talanta.* 100 282–289.

Chapitre 1: Métaux lourds : problématique sanitaire/environnementale et moyens de détection

- [99] Walcarius, A., Mariaulle, P., & Lamberts, L. (2003). *J Solid State Electr*, 7(10):671–677.
- [100] J. L. Anderson, L. A. Coury, J. Leddy. (2000), *Anal Chem*, 72: 4497-4520.
- [101] Ngassa Piegang, G. B., Tonle, I. K., Walcarius, A., & Ngameni, E. (2016). *C. R. Chim*, 19(7) : 789–797
- [102] Tchinda, A., Ngameni, E., & Walcarus, A. (2007). *Sens. Actuators B Chem*, 121(1): 113–123.
- [103] G.H. Hwang, W.K. Han, S.J. Hong, J.S. Park, S.G. Kang, (2009), *Talanta* 77: 1432
- [104] Florence, T. M. (1970). *J. Electroanal. Chem. Interf. Electrochem.*, 27(2): 273–281.
- [105] N. Wang, X. Dong, (2008), *Anal. Lett.* 41: 1267.
- [106] M. Aminur Rahman, M.-S. Won, et Y.-B. Shim, (2003), *Anal Chem*, 75: 1123-1129.
- [107] D.M.T. O'Riordan, G.G. Wallace, (1986), *Anal Chem*, 58 (1): 128-131.
- [108] J.-C. Moutet, A. Zouaoui, (2001). *Electrochimica Acta*, 46 (26):4035-4041.
- [109] M. Delamar, R. Hitmi, J. Pinson, et J.M. Saveant, (1992), *J. Am. Chem. Soc.*, 114 (14): 5883-5884.
- [110] I. Švancara, K. Vytřas, K. Kalcher, A. Walcarius, J. Wang, (2009), *Electroanalysis*, 21(1):7-28
- [111] A. Abdulla A. Issa, Y. S. Al-Degs, N. A. A. Al-Rabady, (2009), *Eurasian J. Anal. Chem.* 4(3): 245-256.
- [112] L. Cui, J. Wu, H. Ju, (2015), *Biosens. Bioelectron.* 63 : 276–286.
- [113] Ali, M. B., Kalfat, R., Sfihi, H., Chovelon, J. ., Ouada, H. B., & Jaffrezic-Renault, N. (2000). *Sens. Actuators B Chem*, 62(3): 233–237.
- [114] Eddaif, L., Shaban, A., & Telegdi, J. (2019). *Inter J Environm Anal Chem*, 99(9): 824-853
- [115] Maeda, H., Tierney, D. L., Mariano, P. S., Banerjee, M., Cho, D. W., & Yoon, U. C. (2008). *Tetrahedron*, 64(22): 5268–5278.
- [116] Lloris, J. M., Martínez-Mañez, R., Padilla-Tosta, M. E., Pardo, T., Soto, J., Beer, P. D., Smith, D. K. (1999). *J Chem Soc, Dalton Transactions*, (14):2359–2370.
- [117] Chaure, S., Paul, D., Vadagma, P., & Ray, A. K. (2010), *J. Hazard. Mater.*, 173(1-3): 253–257.
- [118] A Munir, A Shah, J Nisar, MN Ashiq, MS Akhter, A. H. Shah (2019). *Electrochim Acta*, 323: 134592.
- [119] Kar, C., Deb Adhikari, M., Ramesh, A., & Das, G. (2012). *RSC Advances*, 2(24): 9201.
- [120] P. Licata, G. Di Bella, A.G. Potortì, V. Lo Turco, A. Salvo, G.M. Dugo, (2012), *Surveillance*, 5 (4):268–271.
- [121] Deshmukh, M. A., Shirsat, M. D., Ramanaviciene, A., & Ramanavicius, A. (2018). *Crit Rev Anal Chem*, 48(4): 293–304.
- [122] Kuralay, F., H. Ozyoruk, and A. Yıldız. (2007). *Enzyme Microb. Technol.* 40: 1156–1159.
- [123] Saidur, M. R., Aziz, A. R. A., & Basirun, W. J. (2017). *Biosens. Bioelectron.*, 90: 125–139.
- [124] Gammoudi, I., Tarbague, H., Othmane, A., Moynet, D., Rebière, D., Kalfat, R., & Dejous, C. (2010). *Biosens. Bioelectron*, 26(4): 1723–1726.
- [125] Aragay, G., & Merkoçi, A. (2012). *Electrochim Acta*, 84: 49–61.
- [126] F. Breinl, F. Haurowitz, (1930), *Hoppe-Seyler's J Physiol Chem*; 192: 45-57.
- [127] M.V. Polyakov, Z. Khim, (1931), *Zhurnal Fizicheskoi Khimii*; 2: 799-805.
- [128] H. Nishide, J. Deguchi, E. Tsuchida, (1976), *Chem. Lett.* 169–174.
- [129] T.P. Rao, S. Daniel, J.M. Gladis, *TrAC*, (2004), *Trends Anal. Chem.* 23: 28–35.
- [130] T.P. Rao, R. Kala, S. Daniel, (2006), *Anal. Chim. Acta* 578: 105–116.
- [131] Branger, C., Meouche, W., & Margailan, A. (2013). *React. Funct. Polym*, 73(6): 859–875.
- [132] R. C. Hider, (2002), *Biochem. Soc. Trans.*, 30: 751-54.

Chapitre 1: Métaux lourds : problématique sanitaire/environnementale et moyens de détection

- [133] R. G. Pearson, (1963), *J. Am. Chem. Soc.*, 85(22): 3533–3539
- [134] R. G. Pearson, (1988), *Inorg. Chem.*, 27(4) : 734–740
- [135] Kumar, R. M. N. (2000). *React. Funct. Polym.* 46: 1–27.
- [136] Kumar, R. M. N. V, Muzzarelli, R. A. A., Sashiwa, H. & Domb, A. J. (2004). *Chem. Rev.* 104: 6017–6084
- [137] W., Arbia, L., Arbia, L., A., A., Amrane. (2013), *Food Technol. Biotechnol.* 51(1): 12–25
- [138] M. G Mahmoud, EM El Kady, M. S Asker. (2019), *World J Agri & Soil Sci.* 3(1).
- [139] No, H. K., & Meyers, S. P. (1995). *J. Aquat. Food Prod. Technol.*, 4(2): 27–52.
- [140] Cheung, R., Ng, T., Wong, J., & Chan, W. (2015). *Marine Drugs*, 13(8): 5156–5186
- [141] Rao MS., Nyein KA., Trung TS., Stevens WF, (2007), *J Appl Polym Sci*, 103(6):3694-3700,
- [142] Rinaudo, M., (2006), *Prog. Polym. Sci.* 31: 603–632
- [143] Abdulhadi ALJAWISH. (2013), Thèse doctorat. L'université de Lorraine.
- [144] Al Sagheer FA., Al-Sughayer MA., Muslim S. Elsabee MZ., (2009), *Carbohydr Polym*, 77(2):410-419,
- [145] Batista I, Roberts G.A.F., (1990), *Die Makromolekulare Chem*, 191(2): 429-434
- [146] Blair D E., Schuttelkopf AW., Shrestha B., Tokuyasu K., Withers SG., Et van Alten D M., (2006), *Biochemistry* 45: 9416-9426,.
- [147] Olteanu C.E. and Enescu D. (2007), *Rom Biotechnol Lett.* (12): 3217-3233.
- [148] Sorlier P, Deunuzière A, Vitron C, Domard A., (2001), *Biomacromolecules.* 2(3): 765-772.
- [149] Y.W.N. Cho, S.H. Chung, G. Yoo, S.W. Ko, (1999), *Biomaterials.* 20: 2139–2145.
- [150] X. Jiang, L. Chen, W. Zhong, (2003), *Carbohydr. Polym.* 54: 457–463.
- [151] Brugnerotto J., Lizardi J., Goycoolea F.M., Argaelles-Monal W., Desbriares J., Rinaudo M. (2001). *Polymer.* (42): 3569-3580.
- [152] Kasaai M.R., Arul J., Chin S.L., Charlet G. (1999), *J. Photochem. Photobiol. A*, 120: 201-205.
- [153] Rinaudo, M., Milas, M., & Dung, P. L. (1993). *Inter.J. Bio. Macromol.*, 15(5): 281–285.
- [154] Anthonsen, M. W., Varum, K. M., & Smidsrød, O. (1993). *Carbohydr Polym*, 22: 193–201.
- [155] Yomota, C., Miyazaki, T., & Okada, S. (1993). *Colloid polym Sci*, 271: 76–82.
- [156] Kasaai, M. R., Arul, J., & Charlet, G. (2000). *J. Polym. Sci. B Polym. Phys.*, 38: 2591–2598.
- [157] Wang, W., BO, S., Li, S., & Qin, W. (1991). *Inter J Biol Macromol*, 13: 281–285.
- [158] Gamzazade, A. I., Slimak, V. M., Skljjar, A. M., Stykova, E. V., Pavlova, S. S. A., & Rogozin, S. V. (1985). *Acta Polymerica*, 36(8): 420–424.
- [159] Podogina, N. V., Pavlov, G. M., Bushin, S. V., Melnikov, A. B., Lysenko, Y. B., Nudga, L. A., et al. (1986). *Polym Sci USSR*, 28(2): 251–259.
- [160] Rao, D. G. (1993). *Studies. Int. J. Food Sci.*, 30(1): 66–67.
- [161] Grabovac V., Guggi D., Bernkop-Schnurch A. (2005),. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 57: 1713- 1723.
- [162] Shepherd R., Reader S. and Falshaw A. (1997). *Glycoconj. J.*, 14:535-542.
- [163] Sorlier P, Deunuzière A, Vitron C, Domard A. *Biomacromolecules* 2 (2001)765-772
- [164] Younes, I. & Rinaudo, M., (2015), *Mar. Drugs* 13: 1133–1174
- [165] Kurita, K. (2006), *Mar. Biotechnol.* 8: 203–226
- [166] Bulwan, M., Zapotoczny, S. & Nowakowska, M. (2009), *Soft Matter* 5: 4726–4732
- [167] Caseli, L., dos Santos, D. S., Aroca, R. F., Oliveira, O. N., (2009), *Mater. Sci. Eng. C*, 29: 1687–1690
- [168] Ruan, Q. et al. (2009). *J. Colloid Interface Sci.* 333: 725–733
- [169] S Hu, X Xiong, S Huang, X Lai, (2016), *Anal Sci*, 39: 975-979.
- [170] Onsoyen E. Skaugrud O, *J. Chem. (1990), Technol. Biotechnol.*, 49(4):395-404

Chapitre 1: Métaux lourds : problématique sanitaire/environnementale et moyens de détection

- [171] Guibal E, Chassary P, Vincent T. (2004), *React Funct Polym* 60: 137-149
- [172] YY Cho, YG La, CS Kim, RD Park, (1995), *App. Biol. Chem.*, 38(5) : 452-454
- [173] E Guibal, C Milot, JM Tobin. (1998), *Ind. Eng. Chem. Res.*, 37(4): 1454–1463
- [174] Adlim M., Zarlaida F., (2015). *AACL Bioflux*, 8(5):656-666.
- [175] Tsao, R. (2010). *Nutrients*, 2: 1231-1246.
- [176] Bruneton J. (1999). *Phytochimie. Plantes médicinales. Pharmacognosie*. 3^{ème} éd, Paris, France.
- [177] Cheynier, V. (2012). *Phytochem. Rev.*, 11(2-3): 153–177.
- [178] Vassallo N, editor. *Natural Compounds as Therapeutic Agents for Amyloidogenic Diseases*. Switzerland: Springer International Publishing (2015).
- [179] Bravo, L. (2009). Polyphenols: Chemistry, Dietary Sources, Metabolism, and Nutritional Significance. *Nutr Revi*, 56(11): 317–333.
- [180] Derbel S., Ghedira K. (2005). *Phytothérapie*. 1: 28-34.
- [181] Bouaziz, A., khennouf, S., zarga, M. A., Abdalla, S., Baghiani, A., & Charef, N. (2015). *Asian Pac. J. Trop. Biomed*. 5(1): 19–28.
- [182] Quezel P., Santa S., 1963. *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales ; Tome II*, CNRS, Paris.
- [183] Migliore, J. (2011). *Empreintes des changements environnementaux sur la phylogéographie du genre Myrtus en méditerranée et au sahara*. Thèse de doctorat, Université paul cézanne d'Aix-Marseille III. Pp.66-117.
- [184] Kaddem, S-E. (1990). *Les plantes médicinales en Algérie*. Paris: Le monde pharmaciens. 113 p.
- [185] Grêté P., 1965. *Précis de botanique, Systématique des angiospermes Tome II ; 2ème édition révisée*, Faculté de Pharmacie de Paris – Masson, 429
- [186] Romani, A., Pinelli, P., Mulinacci, N., Vincieri, F. F., & Tattini, M. (1999). *Chromatographia*, 49(1-2), 17–20.
- [187] Mozdastan, Sh., Ebrahimzadeh, MA., Khalili, M., J Mazandaran. (2015), *Univ Med Sci*; 25(127):10-24
- [188] González de Peredo, A.V. et al. (2019). *Molecules*, 24(5) :882.
- [189] Bouaoudia-Madi, et al. (2019), *Pericarp. Antioxidants*, 8(7): 205.
- [190] Pereira, P., Cebola, M.-J., Oliveira, M. C., & Bernardo Gil, M. G. (2017). *J Food Sci Technol*, 54(13): 4362–4369.
- [191] Cheok, C. Y., Salman, H. A. K. & Sulaiman, R. (2014). *Food Resear Inter*, 59:16-40.
- [192] MAA Meireles, (2009). *Extracting bioactive compounds for food products*, CRC Press, 137-218.
- [193] Dahmoune, F., Nayak, B., Moussi, K., Remini, H., & Madani, K. (2015). *Food Chem*, 166: 585–595.
- [194] Pietta P.G. (2000). *J Natur Product*. 63: 1035- 1042.
- [195] Heim K.E., Tagliaferro A.R., Bobilya D.J. (2002). *J Nutr Biochem*. 13: 572- 584.
- [196] I. A. Sengil and M. Ozacar, (2009) *J. Hazardous Mater.*, 166: 1488–1494.
- [197] P. Ramakul, Y. Yanachawakul, N. Leepipatpiboon, and N. Sunsandee, (2012), *Chem. Eng. J.*, 193: 102–111.
- [198] Bouraoui, S., Zazoua, A., Braiek, M., & Jaffrezic-Renault, N. (2016). *J EnvirAnalytical Chem*, 96(8) : 739–751.
- [199] Khedimallah, N., Zazoua, A., Sbartai, A., & Jaffrezic-Renault, N. (2015). *IEEE T Nanobiosci*, 14(7): 694–699.
- [200] Zazoua, A., Khedimallah, N., & Jaffrezic-Renault, N. (2017). *Anal Lett*, 51(3): 336–347.

Chapitre 1: Métaux lourds : problématique sanitaire/environnementale et moyens de détection

- [201] Y.Zhen; Tea Bioactivity and therapeutic potential; (2002), CRC Press; 211-242.
- [202] Decker EA, Welch B., (1990), J Agr Food Chem.; 36: 674-677.
- [203] Yan LY, Teng LT, Jhi TJ. (2006); Sunway Acad J; 3: 9–20.
- [204] A.J. Bard, L.R. Faulkner, *Electrochemical Methods – Fundamentals and Applications*, 2nd ed., 2001, John Wiley & Sons, Inc,
- [205] J. Barek, A.C. Fogg, A. Muck, J. Zima, (2001), *Crit. Rev. Anal. Chem.*, 31: 291.
- [206] G.C. Barker, I.L. Jenkins, (1952), *Analyst*, 77: 685.
- [207] D.A. Skoog, F.J. Holler, S.R. Crouch, *Instrumental Analysis*, 6th ed., 2010; Cengage Learning India Pvt. Ltd., Chap 25.
- [208] R.G. Compton, C.E. Banks, *Understanding Voltammetry*, 2nd ed., 2011, World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd., Chap 9.
- [209] J. Wang, *Analytical Electrochemistry*, 3rd ed., 2010, Wiley-VCH, Chap 3.
- [210] Dale A. C. Brownson, and C. E. Banks, *The Handbook of Graphene Electrochemistry*, (2014). Verlag London Ltd: Springer; Chap 2.
- [211] W.R. Heineman, P.T. Kissinger, *Laboratory Techniques in Electroanalytical Chemistry*, 2nd ed., 1996; Marcel Dekker, Chap 3.
- [212] M. Noel, K.I. Vasu, *Cyclic Voltammetry and the Frontiers of Electrochemistry*, 1st ed., 1990, Oxford and IBH publishing Co. Pvt. Ltd., Chap 3.
- [213] J.E.B. Randles, (1948), *Trans. Faraday Soc.*, 44: 327.
- [214] A. Ševčík, *Coll. Czech.* (1948), *Chem. Commun.*, 13: 349.
- [215] R.S. Nicholson, I. Shain, (1965), *Anal. Chem.*, 37: 178.
- [216] R.G. Compton, C.E. Banks, *Understanding Voltammetry*, 2nd ed., (2011), World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd., Chap 4 .
- [217] R. Greef, R. Peat, L.M. Peter, D. Pletcher, J. Robinson, *Instrumental Methods in Electrochemistry*, 1st ed., (2010), Woodhead Publishing Ltd., Chap 6.
- [218] E. Gileadi, *Electrode Kinetics for Chemists, Chemical Engineers and Materials Scientists*, 1st ed., (1993), Wiley-VCH, Chapt 7.
- [219] Uçar, M., A. O. Solak, N. MENEK. (2002). *Anal. Sci.* 18, (9). 997-1002
- [220] Nicholson R. S. (1965), *J. Electroanal. Chem.*; 37: 1351-1355.
- [221] I. Lavagnini, R. Antiochia, and F. Magno. 2004. *Electroanalysis* 16: 505-506.
- [222] E. Laviron, *General*; (1979), *J. Electroanal. Chem.*, 101:19–28.
- [223] Lisdat, F., & Schäfer, D. (2008). *Anal Bioanal Chem*, 391(5):1555–1567.
- [224] W. Joseph, *Analytical electrochemistry, Canada*, 3rd ed, (2006), JOHN WILEY & SONS 1-272.
- [225] J. R. Macdonald. *Impedance spectroscopy*. 1987 , John Wiley and Son.
- [226] Bonora, P. L., Deflorian, F., & Fedrizzi, L. (1996). *Electrochimica Acta*, 41(7-8): 1073–1082.
- [227] Z. Stoynov, B. Grafov, B. Savova-Stoynova, V. Elkin, *Electrochemical impedance*, 1991; Publishing House Science, Moscow.

*Chapitre II : Extraction et caractérisation de
chitosane et de polyphénols de myrte*

I. Introduction

Ce chapitre est consacré à la présentation des techniques et des protocoles expérimentaux appliqués pour l'extraction de chitosane et des tanins du myrte.

L'extraction de la chitine est réalisée en trois étapes : 1) déprotéinisation, 2) déminéralisation et 3) Elimination des lipides et des pigments. La chitine peut être convertie en chitosane par différents procédés : enzymatique ou thermo-chimique. Dans ce travail nous avons opté pour la désacétylation alcaline homogène. Le produit obtenu est caractérisé par spectroscopie infra rouge (IR). L'isolement d'éléments actifs comme les polyphénols à partir de tissu végétal, est une étape très sensible aussi bien dans l'extraction que dans l'identification. La solubilité des composés phénoliques dépend d'un part, de leur nature chimique dans la plante, qui varie de composés simples comme acides phénoliques et flavonoïdes à fortement polymérisés comme anthocyanines et tanins, et d'autre part, elle est affectée par les conditions physico-chimiques comme la polarité du solvant utilisé. Par conséquent, il est très difficile de développer un procédé d'extraction approprié à l'extraction de tous les composés phénoliques et avec toutes les plantes. Notre choix est porté sur un protocole qui associe des ultrasons et de macération pendant 24h, a fin d'optimiser le rendement d'extraction des tanins à partir les feuilles de myrte. Avant de réaliser ce protocole, un criblage phytochimique est effectué pour l'identification qualitative des métabolites secondaires, suivi par une estimation des polyphénols totaux, des flavonoïdes et des tanins.

II. Extraction de chitosane

II.1. Matériaux utilisé

- Les carapaces des crevettes de types *Parapenaeus longirostris* récupérées à partir des restaurants au niveau de la ville de Skikda (Stora).
- L'hydroxyde de sodium NaOH de masse moléculaire $M = 40 \text{ g/mol}$
- Solution de chlorure d'hydrogène HCl $d=1,18, M=36,46\text{g/mol}$
- Acide acétique CH_3COOH
- Hypochlorite de sodium (NaClO)
- Chlorure de sodium (NaCl)
- viscosimètre capillaire Ubbelohde d'une constante $k=0.00334$

II.2. Extraction de la chitine

II.2.1. Prétraitement des carapaces

Les carapaces de crevettes sont décortiquées en premier lieu et débarrassés des antennes et des pattes. Ensuite ils sont lavées sous eau courante chaude du robinet pour éliminer les matières organiques solubles, les protéines adhérentes et autres impuretés, avant de les recueillies et bouillies dans de l'eau pendant 1 h pour retirer le tissu. Les carapaces sont séchées à l'étuve à 100°C, pendant 6 h afin de les rendre plus cassantes et permettre de briser facilement la structure cristalline de la chitine. À la fin, les coquilles séchées sont broyées en une poudre fine, en utilisant un broyeur standard. La masse des carapaces prétraitées est de 152,745g. Les valeurs des paramètres expérimentaux utilisées dans chaque étape sont ceux obtenus par l'optimisation faite par Benhebiles et al [2].

II.2.2. La déminéralisation

Une déminéralisation optimale est réalisée sous hotte par agitation de carapace de crevettes broyées avec 1.5 M HCl pendant 30 min dans un cristalliseur à température ambiante. Selon Benhebiles [2], l'effet du rapport solide/solvant est insignifiant, un ratio (m /V) de (1/15) est choisi dans ce travail. À la fin du traitement, le contenu du cristalliseur est filtré et lavé abandonment avec de l'eau distillée jusqu'à neutralisation, puis séché à 80°C pendant une nuit.

II.2.3. La Déprotéinisation

La déprotéinisation est réalisé en prenant comme valeurs optimales: (2 M) pour la concentration d'hydroxyde de sodium pendant 2 h comme temps de réaction à une température expérimentale de 45°C, avec un rapport solide/solvant allant jusqu'a (m/V)= 1/20. D'après l'étude de Benhebilas, ce dernier paramètre est le plus intéressant lors de cette étape. Ceci est dû au fait que, le rendement d'élimination des protéines passe de 30% pour un rapport de 1/10 (m/V) jusqu'a 96% pour un rapport de 1/20 (m/V). L'incapacité à atteindre 100% de déprotéinisation peut être expliquée par le fait que la protéine est liée de manière covalente à la chitine. A la fin de cette opération, le produit obtenu est filtré, lavé puis séché.

II.2.4. Décoloration et blanchissement

Ce traitement consiste à immerger le résidu de la chitine dans une solution d'hypochlorite de sodium(NaOCl) a 0,315% à une ration solide / solvant de 1:10 (m / V) pendant 5 min. La chitine décolorée est lavée et filtrée tel qu'il décrit précédemment. Une masse de 29 g de la chitine est obtenue.

II.3. La désacétylation de la chitine

Pour avoir une désacétylation maximale, la chitine est exposée à une solution de NaOH (45%) à 100°C pendant 3 h avec un ratio de 1:15 (m/V). Après filtration et lavage jusqu'à neutralisation, le produit obtenu est séché dans une étuve à 60°C pendant 24h, puis broyer pour obtenir chitosane sous forme d'une poudre. La masse de chitosane obtenue est 14.15g.



Figure II.1 : Carapace de crevettes après prétraitement et chitosane après deacétylation

II.4. Caractérisation du chitosane préparé

II.4.1. Test de solubilité

La solubilité du chitosane a lieu en milieu acide dilué par protonation des groupements aminés du chitosane à la forme NH_3^+ . Le test est réalisé en préparant des solutions de la chitine et du chitosane dans l'acide acétique de concentration 1%.

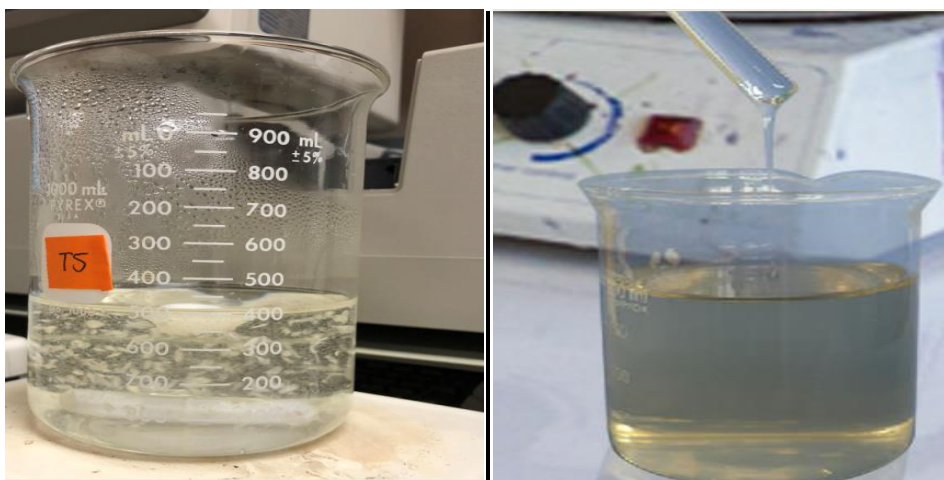


Figure II. 2: la solubilité de la chitine et du chitosane dans une solution d'acide acétique 1%.

Chapitre II: Extraction et caractérisation de chitosane et de polyphenols de myrte

Après 30 min d'agitation de deux extraits, on peut voir dans la deuxième photo de la figure I.2, la solubilité complète de chitosane dans l'acide acétique. La viscosité de la solution résultante est également claire, contrairement à la chitine qui reste insoluble, car il ne peut pas être protonisé à cause de l'absence pratiquement de groupes amine.

II.4. 2. Détermination de la masse moléculaire moyenne viscosimétrique

La masse moléculaire moyenne viscosimétrique du chitosane est déterminé en utilisant un viscosimètre capillaire de type Ubbelohde dans un Bain-marie à une température constante $T = 25 \pm 0.1$ °C. En déterminant la viscosité absolue de solutions de chitosan à différentes concentrations, puis calculer le poids moléculaire moyen viscosimétrique.

Le rôle du solvant utilisé est discuté par M. Rinaudo et al 1993 [2], où l'acide acétique 0,3 M / acétate de sodium 0.2M (pH = 4.5) est proposé comme le meilleur pour réduire la présence d'agrégats qui perturbe la détermination du poids moléculaire. Le chitosane est dissous dans cette solution avec des concentrations allant de 10^{-3} à 10^{-2} g/ml. Les solutions de chitosane sont maintenues sous agitation pendant environ 24 heures pour assurer une solubilisation complète des macromolécules dans le solvant utilisé, puis sont filtrée à travers le papier filtre de Whatman (8 μ m). En mesurant le temps d'écoulement des solutions de chitosane dans le viscosimètre capillaire; les paramètres viscosimétriques en fonction de la concentration sont résumés dans le tableau II.1

Tableau II.1 : Les valeurs calculées de paramètres viscosimétriques en fonction de la concentration.

C (g/ml)	0.001	0.002	0.004	0.006	0.008	0.01
$\eta_r = (t/t_0)$	1.4073	1.8422	2.7422	3.7721	4.8121	6.0544
$\eta_{sp} = \eta_r - 1$	0.4073	0.8422	1.7422	2.7721	3.8121	5.0544
$\eta_{red} = \eta_{sp} / C$	407.314	421.128	435.557	462.025	476.514	505.442
$\eta_{inh} = \frac{\ln \eta_r}{C}$	341.673	305.480	252.190	221.272	196.391	180.078

Les courbes ($\eta_{red} = \eta_{sp}/C$) et ($\eta_{inh} = \frac{\ln \eta_r}{C}$) en fonction de C permettent de déterminer la viscosité intrinsèque (η), qui coïncide avec leur intersection sur l'axe des ordonnées, selon la représentation sur les figures suivantes :

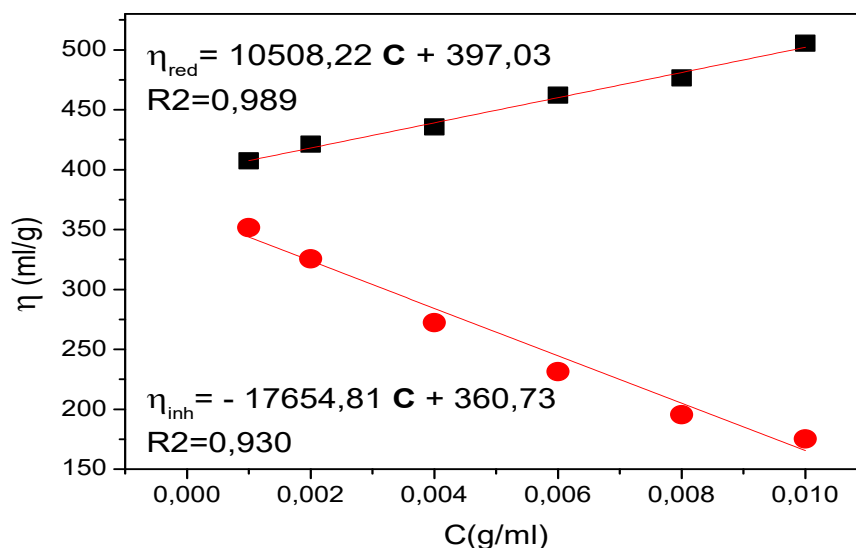


Figure II.3: Détermination de la viscosité intrinsèque η

Un tracé de η_{inh} et un autre de η_{red} par rapport à la concentration C doit être effectué afin d'obtenir la viscosité intrinsèque à 25°C. En étendant les deux courbes jusqu'à ce que la concentration s'annule; elles se croisent au même point sur l'axe des ordonnées, la valeur de ce point correspond à la viscosité intrinsèque [η].

Selon (Rinaudo et al 1993) [2] ; les valeurs des constantes empiriques viscosimétriques k et a de l'équation de Mark-Houwink, pour chitosane dissout dans l'acide acétique (0,3 M) / acétate de sodium (0.2M) sont k= 0.076 g/ml et a= 0.76.

La masse moyenne viscosimétrique du chitosane est calculé suivant l'équation I.6. page 34

$$Mv = 78000 \text{ g/mole} = 78\text{KDa.}$$

II.4.3. Détermination du degré de désacétylation par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)

La détermination du DD (%) a été décrite par plusieurs auteurs. Elle est fondée sur la comparaison entre l'absorbance d'une bande proportionnelle à la désacétylation (bande amide I des groupes acétyle du chitosane mesurée à 1658cm^{-1} , noté A_{1658}), et l'absorbance d'une autre bande qui est indépendante de la désacétylation, comme celle de groupes hydroxyle ($-\text{OH}^-$),

qui ne subit pas de modification chimique lors de la transformation de chitine en chitosane (bande de référence de $-\text{OH}^-$ à 3450 cm^{-1} , noté A_{3450}). Le degré d'acétylation est déterminé en utilisant l'équation de Sabnis et Block 1997 [3] :

$$\text{DD (\%)} = 97.67 - [26.486 (A_{1655}/A_{3450})] \quad \text{Eq. II.1}$$

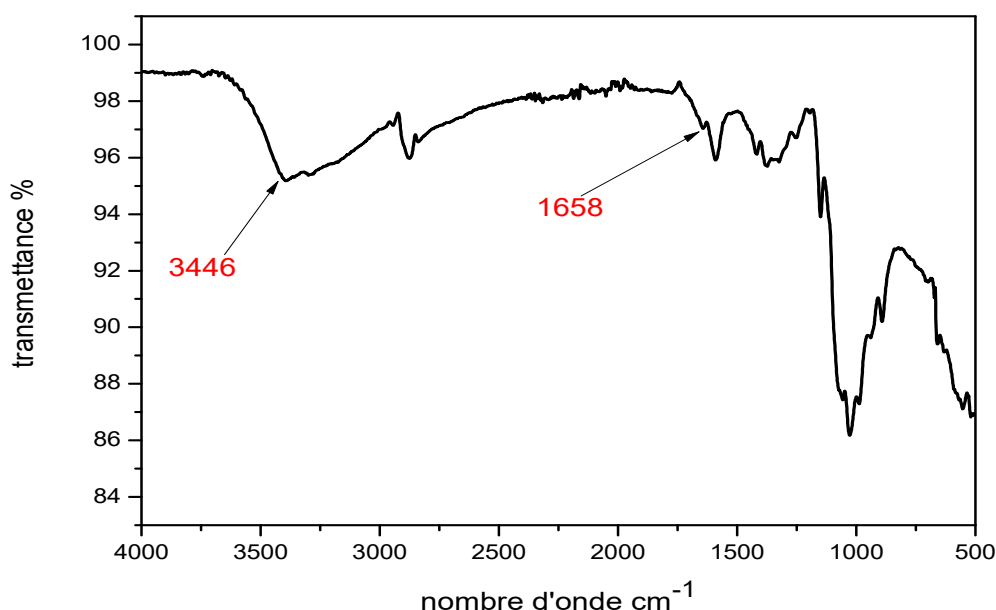


Figure II.4 : Spectre IR du chitosane extrait

A partir de la courbe FTIR de la figure II.5, les bandes caractéristiques de chitosane aux fréquences 1655 cm^{-1} et 3450 cm^{-1} sont apparus dans notre cas à 1658 et 3446 cm^{-1} respectivement. Ces écarts négligeables sont dus aux conditions expérimentales de préparation des échantillons, et probablement même aux différences des poids moléculaires. En utilisant l'équation II.1, le DD calculé est de **83 %**.

III. Extraction de polyphenol de Myrte

III.1. Matériaux utilisés

Matériel végétal : Le Myrte, est récolté de la région de Bni Bechir wilaya de Skikda (l'est de l'Algérie) en octobre 2018. Les feuilles sont séchées à température ambiante et à l'obscurité durant 15 jours puis finement broyées à l'aide d'un moulin à café.

Produits chimiques : méthanol, acétone, hexane. Vanilline, AlFe_3 , produit de Folin-Ciocalteu, Na_2CO_3 , AlCl_3 , H_2SO_4 , NaNO_2 , NaCl , HCl .

III.2. Préparation de l'extrait de feuille de myrte

Dix grammes de poudre de feuilles de Myrte sont mélangés deux fois successivement, avec 100 ml d'hexane dans une bouteille en verre ambré sous forte agitation pendant 15 minutes, puis filtrés. Les solvants contenant les composés non-phénoliques sont jetés, le résidu de filtration a été mis en suspension dans 300 ml d'acétone à 80% (v / v) dans une bouteille en verre de 500 ml. La suspension est exposée aux ultrasons pendant 20 min, la température est contrôlée et maintenue à environ 30 °C. Ensuite, une macération à l'obscurité pendant 24 h est réalisée. Le solvant est séparé par centrifugation à 4000 t/min, puis évaporé à sec dans un évaporateur rotatif à 40C°, pour éliminer la fraction acétone. L'extrait polyphénolique noté TM (tanin de Myrte) est conservé au réfrigérateur à 4C° dans un flacon en verre ambré bien fermé.

III.2.1. Rendement d'extraction

Le rendement d'extraction est calculé par la formule donnée par Falleh et *al.* [4] :

$$R (\%) = 100 M_{\text{ext}} / M_{\text{éch.}}$$

Où : R est le rendement en %;

$M_{\text{éch}}$ est la masse sèche de l'échantillon végétal en mg.

M_{ext} est la masse de l'extrait en mg après évaporation du solvant

$$M_{\text{ext}} = \text{Masse de ballon avec l'extrait} - \text{Masse de ballon Vide}$$

Notre rendement est : **R =13.56 %**

III.3. Tests phytochimiques sur l'extrait

Cette partie a porté sur l'identification nettement qualitative des différentes familles des métabolites secondaires existants dans les feuilles de myrte. Ces réactions sont basées sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactifs spécifiques à chaque famille de composés. Les résultats sont exprimés selon le type de réaction :

- Très positive : +++
- Moyennement positive : ++
- Positive : +
- Négative : –

III.3.1. Identification des tanins

La présence des tanins est mise en évidence en ajoutant, 1 ml de l'extrait aqueux avec 2 ml de l'eau et de 2 à 3 gouttes de solution aqueuse de FeCl_3 (1%). L'apparition d'une coloration verdâtre ou bleu-noirâtre indique la présence des tanins [5].

III.3.2. Recherche des tanins catéchiqes et galliques

La différenciation des tanins (cathéchiqes et galliques) est obtenue grâce au réactif de Stiasny (10 ml de formol (35%) + 5ml d'acide chlorhydrique) : Sur 30 ml d'extrait aqueux on ajoute 15ml de réactif de Stiasny, ensuite la solution est chauffée à reflux au bain marie pendant 15 à 30 minutes. L'apparition d'un précipité de couleur rose claire montre la présence des tanins catéchiqes. Après filtration, le filtrat est saturé avec 10 ml d'une solution d'acétate de sodium (1%) avant de l'ajout goutte à goutte, d'une solution de FeCl_3 à 1%. Le développement d'une teinte bleu-noirâtre indique la présence des tanins galliques non précipités par le réactif de Stiasny [6].

III.3.3. Identification des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des pigments quasiment universels des végétaux, Ils sont divisés en deux parties principales ; les Anthocyanes et les anthoxantines :

III.3.3.1. Les anthocyanes

Cinq ml d'acide sulfurique (H_2SO_4), et 5 ml d'hydroxyde d'ammonium (NH_4OH) sont ajouté successivement sur 5 ml d'extrait aqueux. Une coloration rouge en milieu acide et qui vire au bleu-violacé en milieu basique témoigne de la présence d'anthocyanes [6].

III.3.3.2. Réaction à la Cyanidine

Cinq ml d'éthanol chlorhydrique (éthanol à 95°, eau distillée et acide chlorhydrique) sont ajouté à 5ml d'extrait aqueux, ensuite quelques copeaux de magnésium et 1 ml d'alcool isoamylique sont ajoutés. L'apparition d'une coloration sur la couche surnageant d'alcool isoamylique indique la présence des flavonoïdes libres (génine) :

- Une coloration rose-orangée indique la présence des flavones.
- Une coloration rose-violacée indique la présence des flavanones.
- Une coloration rouge indique la présence des flavonols et des flavanonols [6].

Tableau II.2 : Résultats des tests phytochimique sur les feuilles de myrte.

Composé polyphénolique	Feuilles de Myrtus communus.L
Tanin	+++
Tanin catéchique	+++
Tanin gallique	++
anthocyanes	–
Flavonoïde libre (Génine)	flavonols et des flavanonols (rouge)

III.4. Détermination de la teneur en polyphénols

III.4.1. Polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux est effectué selon la méthode de Folin-Ciocalteu (FC) selon [7], qui est basée sur la réduction en milieu alcalin de la mixture phosphotungstique $(WO)_4^{-2}$ phosphomolybdique $(MoO)_4^{-2}$ de réactif de Folin par les groupements oxydables des composés phénoliques, conduisant à la formation de produits de réduction de couleur bleu. Ces produits présentent un maximum d'absorption à 765 nm dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans l'échantillon [8]. Brièvement, 1 ml de réactif de Folin (10 fois dilué) est ajouté à 200 μ l de l'extrait. Après 5 min, 800 μ l d'une solution de carbonate de sodium (75 mg/ml) sont additionnés au milieu réactionnel. Après 9 min d'incubation à température ambiante l'absorbance est mesurée.

Suivant le même protocole, la courbe d'étalonnage a été tracée en remplaçant l'extrait par l'acide gallique à différentes concentrations. La concentration des polyphénols totaux est calculée en utilisant l'équation de régression : $ABS = 7.10^{-4} C \text{ (mg/L)} + 0.0423$. La teneur en polyphénols totaux est exprimée en mg d'équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait (mg E.AG/mg d'extrait).

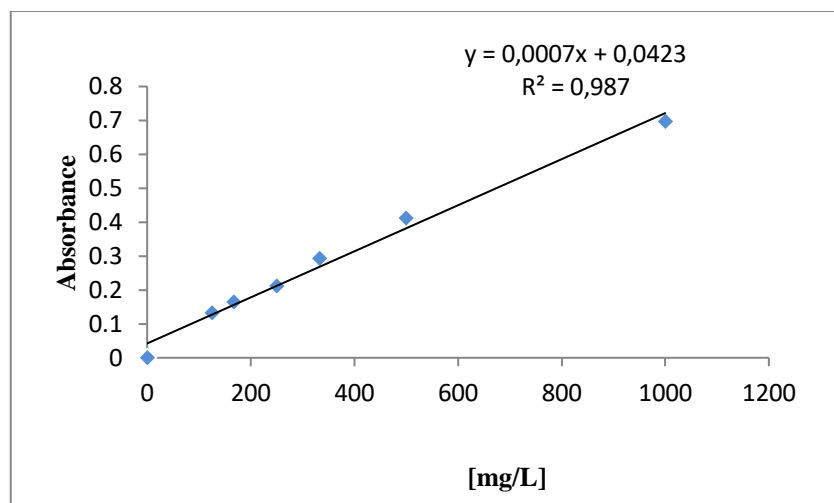


Figure II.5. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique suivant le protocole de détermination des polyphénols totaux

III.4.2. Flavonoïdes

La détermination des flavonoïdes totaux est effectuée selon la méthode décrite par Swain, T. et *al.* (1959) [9]. Le principe de cette méthode est basé sur l'oxydation des flavonoïdes par trichlorure d'aluminium (AlCl_3) et la soude (NaOH), entraînant ainsi la formation d'un complexe brunâtre détecté à 510 nm. La comparaison de l'absorbance observée à celle obtenue par un étalon de catéchine de concentration connue permet d'évaluer la teneur totale en flavonoïdes exprimé en (mg E.Cat/mg d'extrait).

En bref : 500 μl d'extrait hydro-alcoolique sont mélangés avec 1500 μl d'eau distillée et 150 μl de nitrate de sodium NaNO_2 à 5%, nous laissons reposer le mélange 5 min à température ambiante et à l'obscurité. Ce mélange est ensuite additionné à 150 μl de trichlorure d'aluminium à 10%; après un repos de 11 min à l'obscurité ; 500 μl de soude à 1 M est ajouté. Le mélange est soumis à une agitation au vortex, l'absorbance est lue au spectrophotomètre UV à une longueur d'onde (λ) de 510 nm.

Une courbe d'étalonnage est réalisée par la catéchine comme étalon standard à différentes concentrations et pratiquée dans les mêmes conditions opératoires que celles des échantillons serviront à la quantification des flavonoïdes ; $\text{ABS} = 10^{-3} C (\text{mg/L}) + 10^{-3}$.

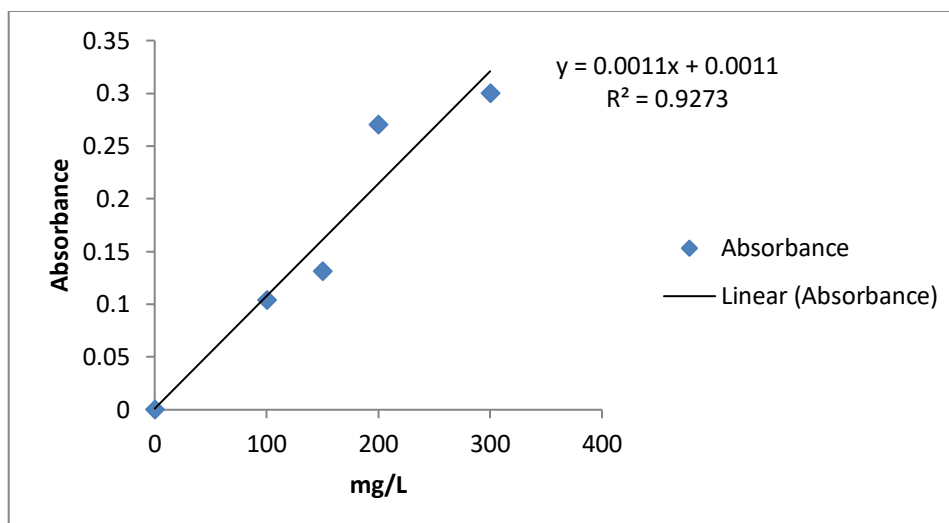


Figure II.6. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique suivant le protocole de détermination des flavonoïdes

III.4.3. Tanins totaux

Les tanins ont été déterminés par la méthode Folin et Ciocalteu [10]. 0,1 ml de l'extrait d'échantillon a été dilué par 7,5 ml d'eau distillée, 0,5 ml de réactif Folin Phénol puis 1 ml d'une solution de carbonate de sodium à 35% sont ajoutés. Le mélange dilué à 10 ml avec de l'eau distillée est bien agité et maintenu à température ambiante pendant 30 min et l'absorbance a été mesurée à 725 nm. Le blanc a été préparé avec de l'eau au lieu de l'échantillon. L'acide gallique est utilisé comme standard. Pour tracer la courbe d'étalonnage, un ensemble de solutions standard d'acide gallique avec différentes concentrations 100, 80, 60, 40 et 20 $\mu\text{g} / \text{ml}$, est traité de la même manière que décrit précédemment. Les résultats des tanins sont exprimés en termes d'acide gallique mg / g d'extrait.

La teneur moyenne en tanins totaux est exprimée en mg équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait brut (mg éq AG/g EB). Elle a été estimée grâce à l'équation de la courbe d'étalonnage linéaire $\text{ABS} = 9.10^{-4} \times C \text{ (mg/L)} + 0,017$.

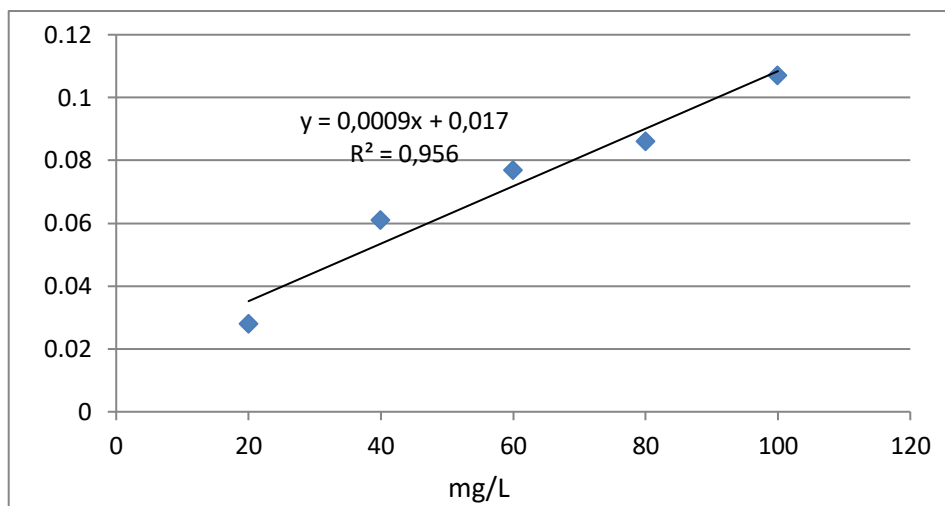


Figure II.7. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique suivant le protocole de détermination des tanins totaux

Tableau II.3 : Dosage des composés phénoliques.

Extrait	Polyphénols totaux (a)	Flavonoïdes totaux (b)	Tanins totaux (c)
Feuilles de Myrte	121.37±1.25	18.40 ± 0,86	85,92 ± 2,01

- (a) mg d'équivalent d'acide gallique par g d'extrait (mg éq AG/g d'extrait) ;
 (b) mg d'équivalent de catéchine par g d'extrait (mg éq Q/g d'extrait) ;
 (c) mg d'équivalent de l'acide gallique par g d'extrait (mg éq AG/g d'extrait) ;

III.5. Chélation des métaux

La capacité chélatrice des extraits est mesurée en suivant l'inhibition de la formation du complexe Fe(II)-Ferrozine après incubation des échantillons avec le fer divalent selon la méthode de Le et al. (2007) [11]. 500 µl des solutions diluées à différentes concentrations de l'extrait ou du chélateur standard EDTA (Éthylènediaminetétraacétique) sont additionnées à 100 µl de FeCl₂ (0.6 mM dans l'eau distillée) et 900 µl de méthanol. Après 5 min de complexation par chélation, 100 µl de Ferrozine (5 mM dans le méthanol) sont additionnés au milieu réactionnel, le mélange est bien agité puis laissé pour réagir pendant 10 min à température ambiante permettant ainsi la complexation du fer résiduelle et la formation d'un chromophore rouge violette (Fe (II)-Ferrozine) ayant un maximum d'absorption à 562 nm. Par ailleurs, le contrôle négatif (blanc) est préparé par les mêmes réactifs à l'exception de l'échantillon à tester qui est remplacé par un volume égal de méthanol. Le pourcentage de chélation est calculé selon l'équation suivante:

Chapitre II: Extraction et caractérisation de chitosane et de polyphenols de myrte

$$\% \text{Chélation} = [(Abs_{562} \text{ contrôle} - Abs_{562} \text{ échantillon}) / Abs_{562} \text{ contrôle}] \times 100 \quad \text{Eq. II.2}$$

Pour déterminer les valeurs de la concentration inhibitrice IC50, une courbe de % chélation en fonction de la concentration est tracée. L'IC 50 est définie comme la concentration efficace du matériau d'essai qui est nécessaire pour chélater 50% des ions fer.

Les solutions à analyser sont préparés à des concentrations allant de 0.1 à 1.5 mg/ml pour l'extrait de myrte, et de 0.1 à 50 µg/ml de L'EDTA comme chélateur de référence.

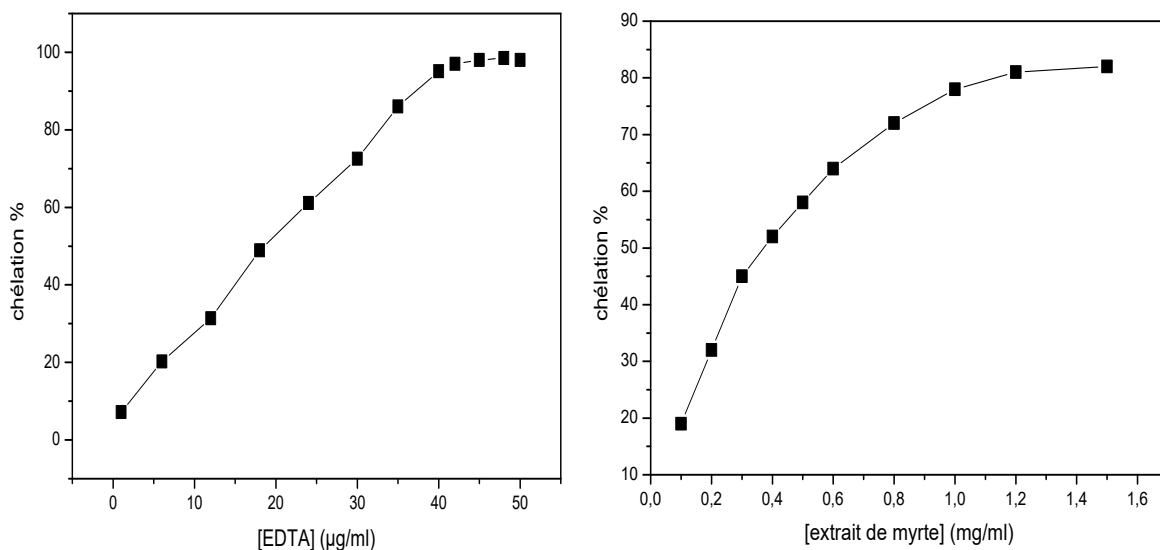


Figure II.8. Activité chélatrice de l'EDTA et de l'extrait de feuille de myrte

L'activité chélatrice estimée en mg/ml et en mg équivalent EDTA/g d'extrait sec est représentée dans le tableau suivant :

Tableau II.4 : l'activité chélatrice

	EDTA	Extrait de myrte
IC50 (mg/ml)	0.0189±0.004	0.302±0.03
IC50 (mg E.EDTA/g extrait)	—	62.58

III.6. Discussions des résultats :

Les tests phytochimiques réalisés sur les feuilles de myrtus communis L. ont révélé la richesse de cette plante en tanins catéchiques, les tanins galliques et flavonoïdes libres dans une moindre mesure et l'absence des anthocyanes (sous-classe des flavonoïdes). L'estimation quantitative et qualitative sont en accord, les teneurs en tanins sont considérables par contre la quantité de flavonoïdes ne dépasse pas 18.40 mg équivalent de catéchine par gramme

d'extrait. La teneur totale en polyphénol est 121.37 mg (eq.AG)/g d'extrait sec, cette valeur est considérée comme moyenne comparée aux résultats obtenus par d'autres équipes de recherche. Elle était assez proche de ceux déclarés par Benchikh et Dahmoune [12,13], inférieurs à ceux trouvés par Messaoud et Bouaziz [14, 15], et supérieurs à celle obtenue par Amensour [16].

Bien que la plupart de ces études proviennent de la même région ou d'une zone proche de notre site d'étude, les écarts enregistrés peuvent s'expliquer par la différence des protocoles suivis en quantification, degrés de polarité des solvants utilisés pour l'extraction, composition du sol, et saison de récolte. Comparé à d'autres plantes, l'extrait de myrte est considéré comme un excellent chélateur car la concentration efficace $IC_{50} = 62.58$, est beaucoup plus grande que 12.77 et 4.81 (mg EDTA /g d'extrait sec); les concentrations effectives correspondante aux extraits d'*Onosma* [17] et *Calamintha incana* [18] respectivement. Comparé a la même plante, notre extrait a montré une activité chélatrice modérée (62.58 mg E.EDTA/g extrait sec) par rapport à celles d'autres études [14, 15]; (91.74 et 47.69 mg E.EDTA/g extrait sec respectivement). Cependant, la remarque signalée dans tous ces travaux, est que l'activité de chélation est plus élevée dans les extraits contenant des teneurs importantes en tanins, quel que soit le taux des flavonoïdes. Ce qui peut s'expliquer par le fait que les polyphénols responsables de l'activité de chélation sont les tanins.

IV. Conclusion

La caractérisation de chitosane extraits à partir des carapaces de crevettes a montré des caractéristiques proches et comparables à ceux des chitosane commercial. Le chitosane extrait présente une solubilité totale dans l'acide acétique 1% ce qui n'est pas le cas pour la chitine. Dans la deuxième partie, nous avons confirmé la présence des composés phénoliques dans les feuilles de *Myrtus Communus L.* Le rendement d'extraction par acétone est de l'ordre de 13.5%. De plus, les valeurs des résultats montrent la contenance d'une grande quantité en polyphénols. Les analyses quantitatives effectuées ont montré la richesse de cette plante en tanins, et par conséquent une bonne activité chélatrice des ions de fer était enregistrée.

Références

- [1] Benhabiles M.S., R. Salah, H. Lounici, N. Drouiche, M.F.A. Goosen N. Mameri. (2012). *Food Hydrocolloids* 29: 48-56.
- [2] Rinaudo, M., Milas, M., & Dung, P. L. (1993). *Int. J. Biol. Macromol* 15(5): 281–285.
- [3] Sabnis, S., L. H. Block. (1997). *Polym. Bull.* 39(1): 67–71.
- [4] H. Falleh, R. Ksouri, K. Chaieb, N. Karray-Bourouai, N. Trabelsi, M. Boulaaba and C. Abdelly. (2008). *Compt. Rend. Biol.* 331: 372-379.
- [5] Trease, G.E. and Evans, W.C. (1989) *Pharmacognosy*. 13th Edition, Baillière Tindall, London.
- [6] N. Daira, M. C. Maazi, A. Cherchour.(2016), *Bull. Soc. r. sci. Liège*, 85 : 276 - 290
- [7] Li, H.B., Cheng, K.W., Wong, C.C., Fan, K.W., Chen, F., Jiang, Y. (2007). *Food chem.* 102: 771-776.
- [8] Georgé, S., Brat, P., Alter, P., Amiot, J.M. (2005). *J. Agric. Food Chem.* 53: 1370-1373.
- [9] Swain T, Hillis WE (1959). *J Sci Food Agric*, 10: 63–81
- [10] N. Tamilselvi, P. Krishnamoorthy, R. Dhamocharan, P. Arumugam, E. Sagadevan. (2012), *J. Chem. Pharm. Res.* 4(6): 3259-3262
- [11] Le, K., Chiu, F., Ng , K (2007). *Food Chem*, 105: 353-363
- [12] Fatima Benchikh, Smain Amira, Hassiba Benabdallah, (2018). *Annu Res Rev Biol.* 22(5): 1-14.
- [13] Dahmoune, F., Nayak, B., Moussi, K., Remini, H., & Madani, K. (2015). *Food Chem.*, 166: 585–595.
- [14] Messaoud, C., Laabidi, A., & Boussaid, M. (2012). *J. Food Sci*, 77(9): 941–947.
- [15] Bouaziz, A., khennouf, S., zarga, M. A., Abdalla, S., Baghiani, A., & Charef, N. (2015). *Asian Pac. J. Trop. Biomed.*, 5(1) : 19–28.
- [16] Amensour, M., Sendra, E., Abrini, J., Pérez-Alvarez, J. A., & Fernández-López, J. (2010). *CyTA. J.Food*, 8(2) : 95–101.
- [17] Saravanakumar, K., Sarikurkcü, C., Sarikurkcü, R. T., & Wang, M.-H. (2019). *Ind. Corp. prod.*, 142: 111878
- [18] Popović-Djordjević, J., Cengiz, M., Ozer, M. S., & Sarikurkcü, C. (2019). *Ind. Corp. prod.*, 128: 162–166.

*Chapitre III : Détection des ions de
Mercure (II) par Chitosane greffé à la
Thiourée*

I. Introduction

Ce chapitre traite la modification de surface d'une électrode en pâte de carbone (CPE) par une matrice à base de chitosane greffé à la thiourée. Cette électrode sera par la suite utilisée à la détermination de traces de mercure Hg(II). Pour confirmer le greffage, la résine préparée est caractérisée en premier lieu par FTIR, avant de passer à la modification d'électrode. En plus de la méthodologie suivie habituellement dans les études portant sur le sujet la détermination des métaux lourds, qui se limitent généralement à l'optimisation des conditions de travail avant de déterminer la limite de détection et de tester l'applicabilité analytique et l'effet des interférences, nous avons également abordé dans ce travail les réactions d'interface (électrode - solution), y compris la réversibilité des électrodes, le mécanisme de transport de masse et la cinétique des réactions de transfert des électrons.

Les mesures électrochimiques détaillées dans ce chapitre sont réalisées au niveau du laboratoire de génie chimique et environnement, université de Skikda.

II. Etat de l'art

Au cours des dernières décennies, le chitosane a attiré une grande attention dans le domaine d'adsorption et de détection de métaux lourds. En raison de la grande quantité de groupes amine et hydroxyle actifs, il présente une forte adhérence aux métaux lourds [1]. Le Cts et ses dérivés sont appliqués comme modificateur d'électrode de pour la détection électrochimique des métaux lourds [2, 3]. Qu'ils soient synthétiques comme les résines à base de polyvinylamine ou naturels comme les Cts, les polymères perdent leur capacité à absorber les ions métalliques à pH acide, en raison de la protonation des groupes amine [4]. Certains agents de réticulation tels que le glutaraldéhyde (gt) [5, 6], l'épichlorhydrine [7] et le tri-polyphosphate [8, 9] sont utilisés pour minimiser sa solubilité et stabiliser le Cts dans les solutions acides, cependant, ce processus diminuerait l'affinité de Cts pour les ions métalliques, notamment dans le cas de réactions chimiques nécessitant une amine [10]. Par conséquent, les efforts se sont concentrés sur le greffage de groupes fonctionnels chélatants en tant que réticulant et qui peuvent au même temps soutenir la capacité des Cts à adsorber les ions métalliques [11].

Chapitre III: Détection des ions de mercure(II) par Chitosane greffé à la thiourée

Selon le concept d'Irving-Williams sur la stabilité des complexes métalliques, les ions métalliques divalents comme le mercure (II) préfèrent de former des complexes avec des ligands contenant de l'oxygène, de l'azote et du soufre comme atomes donneurs [12].

Le greffage de composés soufrés et azotés sur Cts a fait l'objet de nombreuses études pour la conception de résines chélatantes [4, 13]. Grâce à l'atome S, la thiourée et le groupe thiol (-SH) sont connus pour former des complexes stables avec les métaux lourds mous de forte polarisabilité tels que le Hg(II) [14]. La thiourée (TU) est le composé amino-sulfuré le plus utilisé pour préparer les bases de Schiff à base de chitosane, grâce à son affinité connue pour les espèces d'ions métalliques en raison de leur groupe soufre et de leur fonction double amide [10, 15, 16]. De plus, il présente une bonne exécution et une bonne stabilité dans les milieux acides [17]. Le glutaraldéhyde est l'agent de réticulation le plus utilisé pour greffer les groupes amines des deux composés [11, 16].

De nombreux travaux suggèrent que les dérivés de chitosane contenant du soufre ont une bonne sélectivité pour les ions de mercure. Par exemple, mais sans s'y limiter, nous citons l'étude de Yoshinari BABA et al. (1998) [18], qui ont réussi à la synthèse de trois dérivés de chitosane. Parmi ces trois dérivés le N- [3- (méthylthio) propyle] de chitosan (MTPC) qui contient un groupe soufré a particulièrement montré une sélectivité élevée d'adsorption pour le mercure (II). Pour preuve aussi, une base de Schiff de chitosane greffées aux nanotubes de carbone à parois multiples (S-CS-MWCNT) est étudiée sur la préconcentration et la détermination de la trace de mercure [19]. De même une autre base de Schiff était synthétisée par greffage de la cystéine sur les perles de gel de chitosane et utilisé avec succès à l'adsorption sélective des ions de mercure [20]. Une autre modification par thiocarbamoylation de chitosane était réalisée en utilisant la thiourée et thiocyanate d'ammonium, les dérivés résultants ont permis d'étendre significativement la gamme de pH pour son application dans la récupération du mercure [21]. Il faut aussi mentionner les travaux de Ahmad M. D. et al qui ont éprouvé la séparation sélective du mercure (II) à l'aide des résines de chitosane modifiée avec amine et mercaptan en tant que groupes chélateurs (2005) et une base de Schiff dérivée de la thiourée et du glutaraldéhyde (2008) [22, 11]. Ce dernier composé est resynthétisé par Lin Wang et al. (2010) [23], en remplaçant chitosane par carboximéthyle de chitosan, la séparation sélectivité des ions Hg(II) a été gardée. Le travail de Nemati Y. et al. s'était concentré sur la production des nanoparticules (NPs) à base de chitosane fonctionnalisé par un thiol (-SH) en utilisant d'un dispositif microfluidique

capillaire (MF) combiné à une méthode de gélification ionique pour adsorber les ions mercuriques Hg (II) à partir des solutions aqueuses [24]. Un super adsorbant était élaboré par réticulation du chitosane par l'acide thiobarbiturique. La capacité d'adsorption du mercure élémentaire (Hg⁰), le mercure inorganique (Hg²⁺) et le méthylmercure (CH₃Hg⁺) a atteint 2500 mg/g [25]. Le greffage de chaînes de chitosane par les groupes soufrés et azotés semble alors une bonne solution pour la détection sélective des ions de mercure. Dans une autre étude, des nanocomposites multifonctionnels sont préparés à base de nanoparticules de magnétite, de nanoparticules de chitosane et de polythiophène. Les nanocomposites produits montrent non seulement une élimination complète des ions mercure (II) mais également une sélectivité très élevée était enregistrée en présence d'autres ions métalliques [26]. Sharma et al. (2018) ont rapportés une méthode simple pour la détection optique des ions toxiques de mercure (II) (Hg²⁺) dans l'eau, en utilisant des nanoparticules d'argent capsulées de chitosane à terminaison thiol. La solution aqueuse colorée en jaune de Ch-Ag NPs est instantanément (10 s) devenue incolore avec l'ajout d'ions Hg²⁺, alors que cette couleur n'a pas complètement disparu avec les autres cations métalliques [27].

A la lumière de cette littérature, nous constatons que les dérivés de chitosane, notamment les bases de schiff sont largement utilisés pour séparer ou détecter le mercure. A cet effet, nous proposons notre résine à base de chitosane, thiourée et glutaraldéhyde, comme modificateur d'électrode en pâte de carbone, pour la détection des traces de mercure dans les milieux aqueux.

III. Préparation et caractérisation des électrodes

III.1. Produits chimiques et appareils

Le chitosane (DD=83%, Mv=78KDa) obtenu par l'extraction abordées dans le chapitre précédent. Le glutaraldéhyde (gt) est fourni par sigma. L'huile de Nujol (réactif de qualité analytique) est achetée de Buck Scientific. La poudre de graphite de 325 mailles est fournie par Asbury Carbons. Une solution mère aqueuse 10⁻² M de Hg²⁺ est préparée en dissolvant du nitrate de mercure dans de l'eau ultra-pure. La thiourée et tous les autres produits chimiques étaient de grade analytique; achetés de Biochem chemopharma, et sont utilisés sans purification supplémentaire. Les échantillons de polymère modifié sont caractérisés par spectroscopie FT-IR à l'aide d'un spectromètre Perkin Elmer 1600 FTIR (400-4000cm⁻¹).

Les mesures voltampérométriques et l'impédance sont effectuées avec un VOLTALAB PGZ-301 (Radiomètre analytique), contrôlé par ordinateur à l'aide du logiciel VoltaMaster.4. Les résultats de mesure de l'impédance sont traités par logiciel EClab. La cellule électrochimique est assemblée avec un système classique à trois électrodes comprenant une électrode de travail en pâte de carbone (CPE), électrode de référence Ag / AgCl (3,0 M KCl) et une électrode auxiliaire en platine. Un pH-mètre WTW InoLab modèle 730 est également utilisé.

III.2. Préparation des modificateurs

III.2.1. Greffage de chitosane à la thiourée

L'effet de quantités de glutaraldéhyde et de la thiourée par rapport au chitosan est étudié et optimisé par Guibal et al. [28, 29]. Où la caractérisation par analyse élémentaire a démontré que la fraction maximale des éléments actifs des groupes chélateurs (N% = 7,6 et S% = 2,7) est déterminée à partir d'un échantillon préparé avec 3 g, 2 ml et 1 g de thiourée, glutaraldéhyde et Cts respectivement. Suivant ces résultats, Trois grammes de la thiourée sont introduits avec 20 ml d'eau déminéralisée dans un ballon de 50ml, 2 ml de solution de glutaraldéhyde (50% v / v dans l'eau) sont ajoutés. Le mélange est mis à réagir sous l'agitation magnétique pendant 24 h, pour garantir la formation de base de schiff. Ensuite, un gramme de chitosane est ajouté, tout en continuant l'agitation pendant encore 48 heures à température ambiante. Enfin, le chitosane modifié (TU-gt-Cts) est séparé par filtration, rincé plusieurs fois à l'eau déminéralisée, et séché à environ 50 ° C pendant une nuit. Le schéma descriptif de cette modification est représenté dans la figure III.1 :

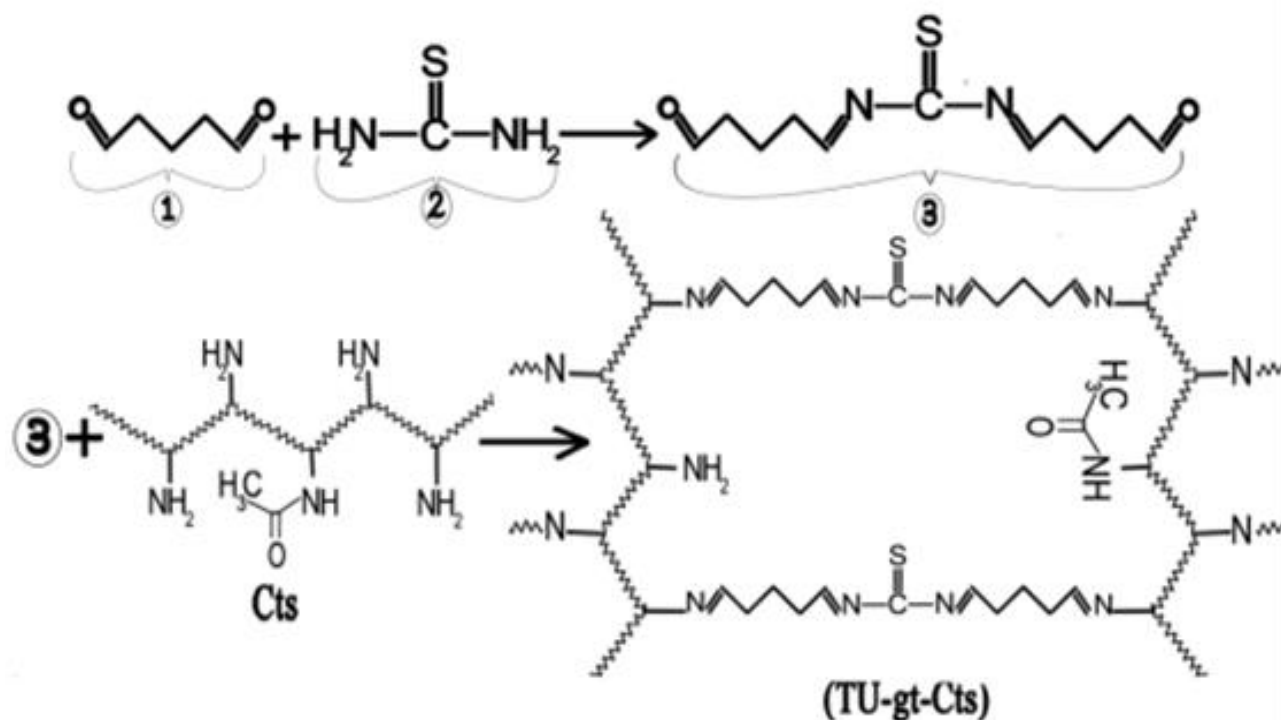


Figure III.1 : Schéma de l'étapes de modification, (1)glutaraldéhyde,(2)thiourée, (3) base de Schiff "thiourée / glutaraldéhyde.

III.2.2. Réticulation de chitosan par glutaraldéhyde

Chitosane réticulé (CCts) avec glutaraldéhyde; est préparé comme décrit par Janegitz et al. [30], avec une petite modification. En bref, dans un ballon de 50ml, 1 gramme de chitosane a été mis en suspension dans 20 ml d'eau déminéralisée contenant 1 ml de glutaraldéhyde (50% v / v), le mélange est placé sous agitation pendant 12 h a température ambiante. En suite, le solide est filtré, rincé plusieurs fois à l'eau pour enlever la fraction aldéhyde qui n'est pas réagir, avant d'être séché pendant une nuit à environ 40 ° C.

III.3. Caractérisation par spectroscopie FTIR

La réticulation de squelettes de chitosane par la base de Schiff "thiourée / glutaraldéhyde", au niveau des amines libres (-NH₂) peut être confirmée par la comparaison entre les pics caractéristiques de la poudre de chitosane pur et les pics des spectres correspondants le CCts et (TU-gt-Cts) (Figure III.2). Les trois spectres ont montré une large bande entre 3000 Cm⁻¹ et 3600 Cm⁻¹. Pour le spectre de Cts, la bande est plus intense et contient deux petits pics séparés à 3395 et 3360 Cm⁻¹, qui sont attribués à des vibrations

d'élongation typiques de groupes O–H et N–H sur le squelette de polymère non modifié. Les deux autres bandes dans la même gamme spectrale ont montré une intensité d'absorption nettement inférieure avec un petit décalage de pics vers 3360 Cm^{-1} pour CCTs et 3320 Cm^{-1} pour TU-gt-Cts, prouvant l'implication des groupes aminés de chitosane dans le procédé de réticulation par glutaraldéhyde pour les CCTs [31] et à la base de Schiff pour les TU-gt-Cts. La bande autour de 2875 Cm^{-1} représentant les vibrations d'élongation des groupes C–H est apparue dans les trois spectres. Le spectre de Cts montre également deux petits pics vers 1645 Cm^{-1} (C = O élongation de l'amide I) et 1325 Cm^{-1} (C–N élongation de l'amide III) caractérisés les groupes N-acétyle résiduels.

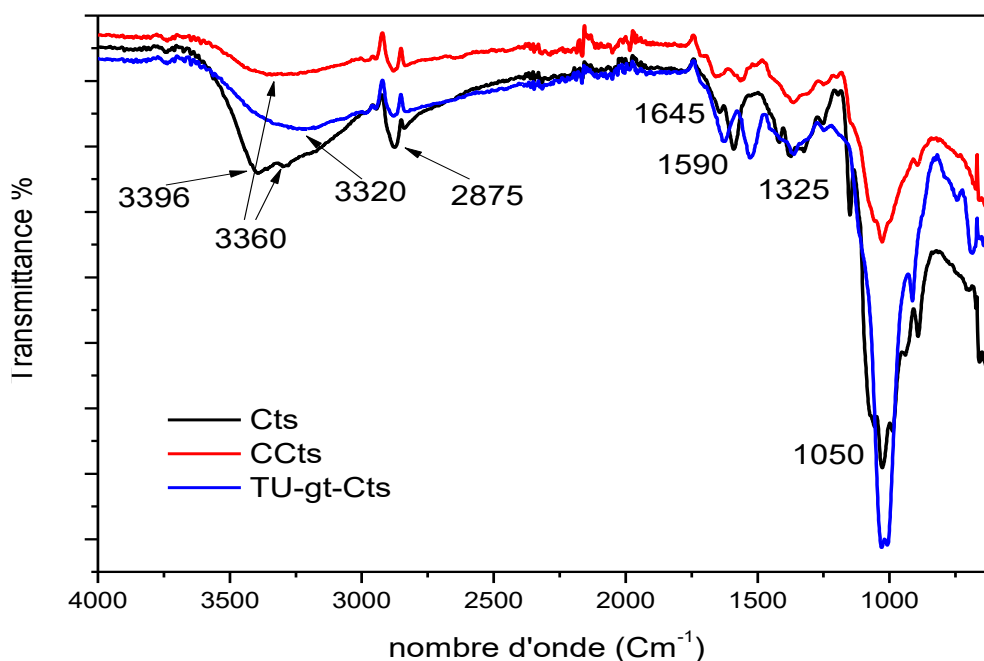


Figure III.2: Specters FT-IR de (Cts), (CCTs) and (TU-gt-Cts)

L'absorption à 1590 cm^{-1} a été attribuée à la vibration de déformation de la liaison N–H des amines primaires [32] sur la structure du chitosane. La bande claire à 1645 Cm^{-1} et 1565 Cm^{-1} en CCTs représentait le C = N du groupe imine qui s'est formé entre le carboxyle du glutaraldéhyde et l'amine du chitosane sous ce qu'on appelle la réaction de base de Schiff. En raison d'un grand nombre de liaisons C = N sur les TU-gt-Cts, les bandes à 1629 Cm^{-1} et 1530 Cm^{-1} apparaissent avec une intensité accrue, ce qui peut être attribué à des vibrations d'étirement de C = N du fragment de base de Schiff et CN de la fraction thiourée [10].

Une bande d'absorption dans la région générale d'élongation $-C = S$ ($1050-1300 \text{ Cm}^{-1}$) est souvent apparue dans les spectres des composés dans lesquels un atome d'azote est attaché au groupe $-C=S$ [28]. Cela explique l'augmentation apparente de l'intensité maximale des spectres TU-gt-Cts dans cette région par rapport aux CCTs, indiquant la réussite des étapes de greffage.

III.4. Construction des électrodes

Les électrodes en pâte de carbone chimiquement modifiée sont préparées en mélangeant (par ratio massique) 20% de TU-gt-Cts, CCTs ou Cts avec 65% de la poudre de graphite et 15% de l'huile de Nujol dans un mortier en pierre d'agate. Le mélange est homogénéisé manuellement pendant au moins 25 min. La pâte de carbone préparée est fermement introduite dans un tube en PVC. Un fil de cuivre est attaché à la pâte et étendu à l'extérieur du tube pour assurer le contact électrique. La surface de l'électrode composite est frottée sur un papier de polissage jusqu'à brillance. Afin de minimiser le courant de fond, plusieurs scans sont appliqués [33]. Le renouvellement de la surface du CPE est effectué en retirant 3 mm de la pâte de carbone tassée de la grotte de seringue. La pâte de carbone est ensuite remplie à nouveau pour donner une nouvelle surface CPE, et lissée sur un papier de polissage avant chaque mesure. Les étapes de préparation de l'électrode sont représentées dans la figure III.3 :

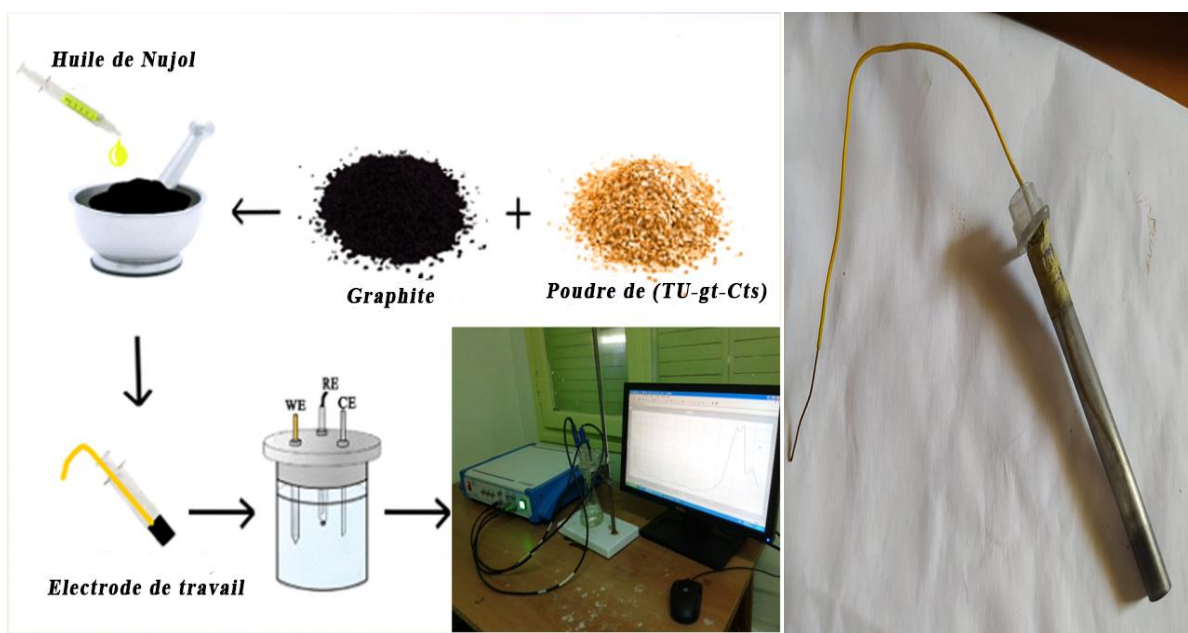


Figure III.3: Schéma des étapes de préparation de l'électrode, et photo d'une électrode en pâte de carbone.

III.5. Comparaison du comportement des électrodes dans une solution d' Hg^{+2}

Pour évaluer la performance de notre modificateur, la TU-gt-Cts /CPE est comparé dans des conditions identiques avec CPE nu, Cts / CPE et CCts / CPE par SWV dans 0.2 M d'HCl contient 5 μM de Hg^{+2} (Figure III.4). Le potentiel de crête pour tous les voltammogrammes est apparu entre -0,6 et -0,50 V. Le pic modeste enregistré avec Cts / CPE, peut être expliqué par la protonation des groupes amines de chitosane dans le pH acide de l'électrolyte support, ce qui conduit à l'augmentation des répulsions électrostatiques avec les ions Hg^{+2} [34]. La protonation s'est manifestée par l'érosion de la surface de l'électrode, ce qui empêche sa réutilisation plus d'une fois. En ce qui concerne la CCts / CPE, la réticulation de chitosane épuise les groupes $-\text{NH}_2$ et $-\text{OH}$ [35], la rétention des ions métalliques sera limitée aux groupes hydroxyle libres. La diminution du courant par rapport au CPE nue peut s'expliquer par l'inhibition du transfert des électrons par les particules de CCts dispersées dans la pâte de carbone. Le TU-g-Cts/CPE présente le pic le plus élevé par rapport aux autres électrodes. La différence évidente entre CCts / CPE et Tu-gt-Cts / CPE en faveur de cette dernière, peut être attribuée à la grande affinité de l'atome (S) comme base molle vers l'ion $\text{Hg}(\text{II})$ comme acide de Lewis doux; selon la théorie de Pearson [36]. Dans le cas des Cts réticulés, le métal a été fixé par des réactions d'échange d'ions, tandis que, pour la résine chélatante (TU-gt-Cts), la fixation peut résulter de plusieurs mécanismes de liaison y compris l'adsorption, l'attraction électrostatique, la chélation ainsi que l'échange d'ions [29].

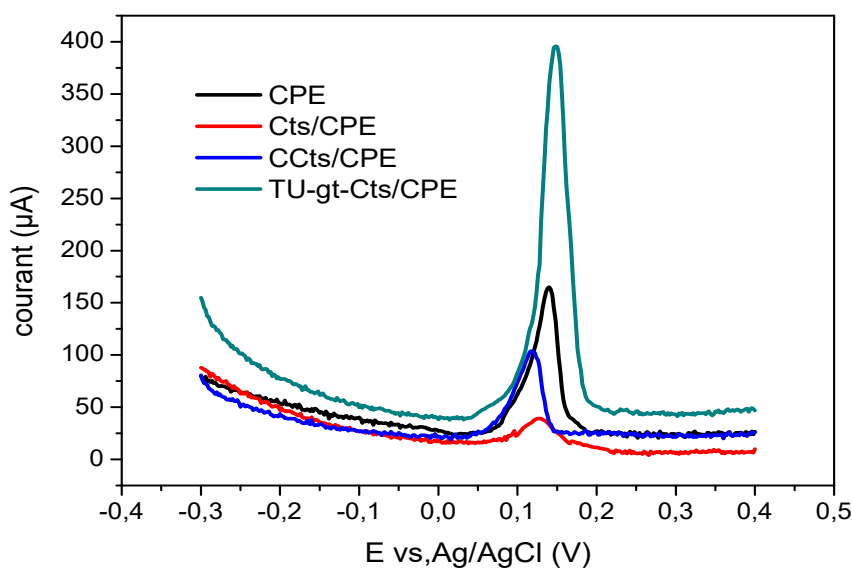


Figure III.4: Profil SWV de 5,0 μM de Hg^{+2} pour CPE, Cts / CPE, CCts / CPE et TU-gt-Cts / CPE.

Conditions: $v = 50 \text{ mV.s}^{-1}$, $[\text{HCl}] = 0,2 \text{ M}$, $\Delta E = 5\text{mV}$, $t_{acc} = 1\text{min}$.

III.6. Caractérisation électrochimique

III.6.1. Par voltammétrie cyclique

Le comportement chimique et électrochimique idéal du système (cyanure ferro / ferrique) l'a rendu éligible pour être utilisé comme marqueur redox pour caractériser les propriétés des surface modifiées, comprenant la cinétique de transfert d'électron et la détermination des surface actives des électrodes [37]. Pour 1 mM de $K_3 [Fe (CN) _6]$ dans 0,1 M de KCl comme électrolyte support, les voltammogrammes cycliques de CPE et TU-gt-Cts/CPE ont montré des pics redox bien définis; l'une attribuée à l'oxydation du $Fe (CN)_6^{4-}$ et l'autre à la réduction du $Fe(CN)_6^{3-}$ (Fig. III.5). Pour comprendre le comportement électrochimique de l'électrode après modification, on peut se baser sur la variation de la différence de potentiel (ΔE).

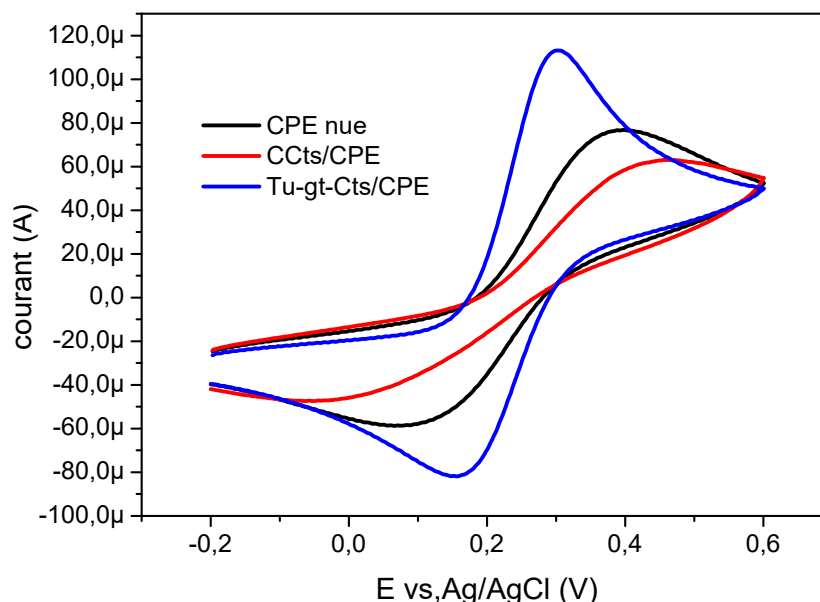


Figure III.5: Voltammogrammes cycliques pour 1 mM de $Fe(CN)_6^{3-/4-}$ dans une solution contenant 0,1M de KCl à la surface des électrodes préparées; Vitesse de balayage: 100 mV.s⁻¹

La modification de la CPE par (TU-gt-Cts) présente une excellente réaction avec les ions cyanure ferreux / ferrique par rapport à l'électrode nue, prouvant l'efficacité de la combinaison entre la Thiourée et le Cts. Alors que, le traitement de la pâte de carbone par chitosane réticulé a entraîné une diminution des performances de l'électrode; cette observation soutient l'interprétation proposée précédemment. La valeur de l'espacement potentiel maximal (ΔE_p) de TU-gt-Cts / CPE est inférieure à (ΔE_p) de CPE, ce qui a permis de vérifier que la résine TU-gt-Cts donne lieu à une amélioration du taux de transfert d'électrons.

Chapitre III: Détection des ions de mercure(II) par Chitosane greffé à la thiourée

La quasi-réversibilité de l'oxydoréduction du couple ($\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$) sur la surface de TU-gt-Cts/CPE est démontrée par; la valeur du rapport entre le pic anodique et cathodique de densités de courant (I_{pa} / I_{pc}) = 1.27, qui était proche de l'unité [38], et la séparation des potentiels de pics (ΔE_p)= 0.116 V qui était supérieure à 0,059 V.

Afin de comparer les surfaces électro-actives (A) des électrodes modifiées, Les voltammogrammes cycliques de trois électrodes ont été enregistrés à différentes vitesses de balayages avec la sonde redox (ferrocyanure) (Figures III.6).

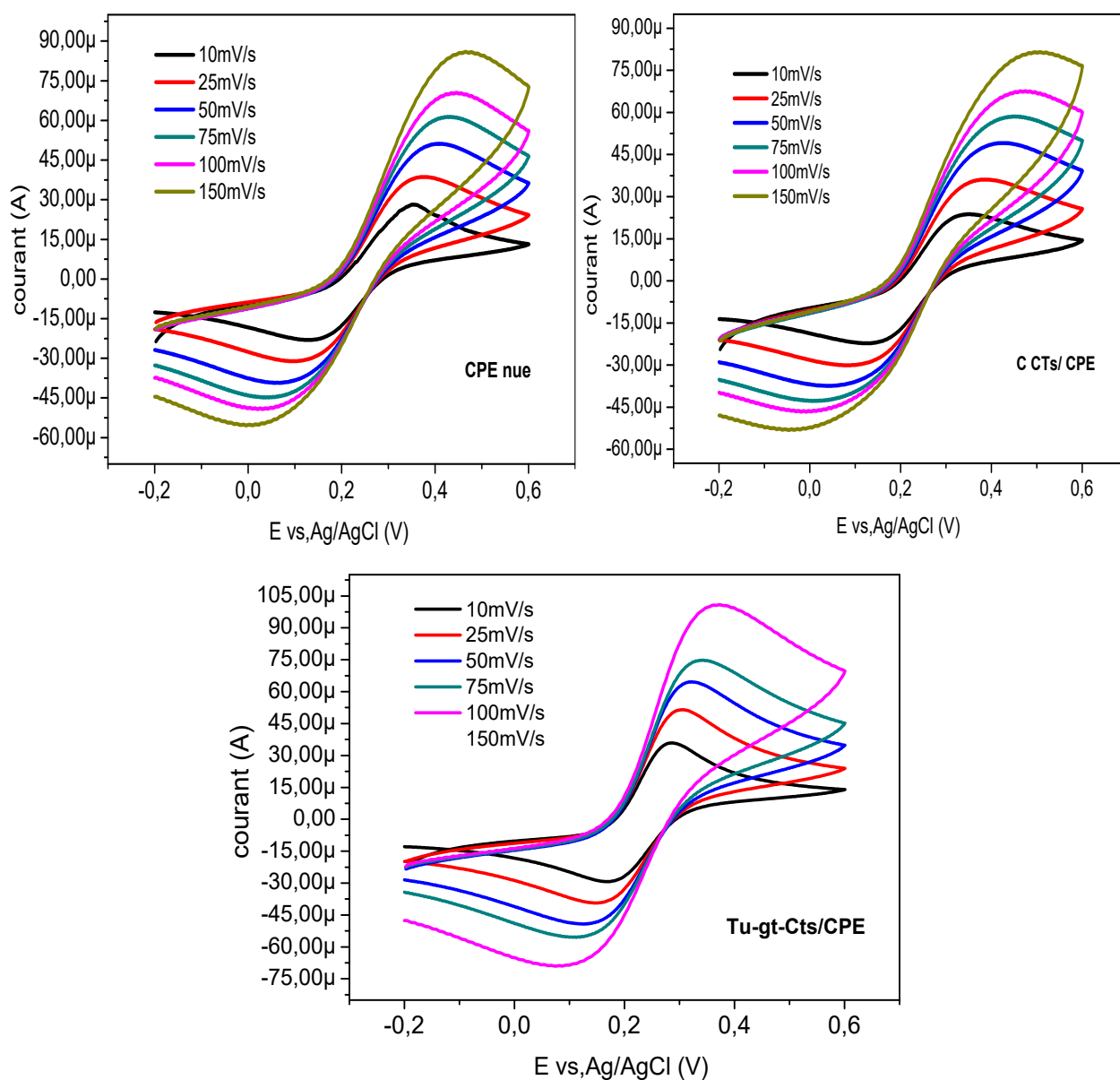


Figure III.6: CV des trois électrodes à différentes vitesses de balayage; CPE nue, C Cts/ CPE et Tu-gt-Cts/CPE dans une solution de 0,1M de KCl contenant 1mM de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$.

Chapitre III: Détection des ions de mercure(II) par Chitosane greffé à la thiourée

Ces voltammogrammes montrent que pour les trois électrodes, l'intensité de courant cathodique (I_{pc}) et de courant anodique (I_{pa}) augmentent avec l'augmentation de la vitesse de balayage de 10 à 150 mV/s. Pour appliquer l'équation de Randles-Sevcik, pour un système quasi-réversible (voir chapitre I, page 52, Eq.I.12), il faut d'abord tracer la courbe de variation de l'intensité du courant en fonction de la racine carrée de la vitesse de balayage. Les droites $I_{pa} = (v^{1/2})$ sont représentées dans la (fig. III.7).

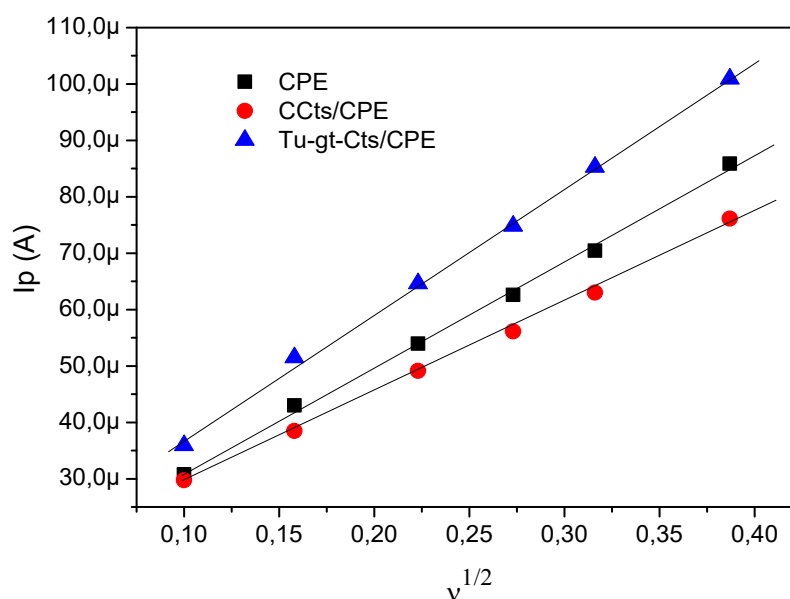


Figure III.7: Variation du courant en fonction de la racine carrée de la vitesse de balayage de l'électrode de carbone vitreux. (b) CCTs/CPE et (c) Tu-gt-Cts/CPE en présence du couple $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$ ($10^{-3}M$), KCl (0,1M).

Le coefficient de diffusion de $K_3 [Fe(CN)_6]$ dans une solution $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl est donné $D = 6,2 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$. Les valeurs des surfaces actives calculées en utilisant les pentes des courbes I_p vs. $v^{1/2}$ des trois électrodes modifiées sont regroupées dans le tableau III.1.

Tableau III.1: Variation des paramètres électrochimiques de l'électrode de CPE avant et après modification.

Type de surface	ΔE (mV)	I_{pc}/I_{pa}	Surface électro-active (cm^2)
CPE nue	0,332	1.30	0,287
CCTs/CPE	0.398	1.33	0,242
TU-gt-Cts/CPE	0,166 V	1.38	0,337

III.6.2. Par spectroscopie d'impédance

La spectroscopie d'impédance électrochimique (EIS) est fréquemment utilisée pour étudier la cinétique des interfaces électrode / solution en mesurant les propriétés de transfert de charge et de transport de masse. Ici, les valeurs de résistance au transfert de charge (R_{ct}) ont été mesurées en utilisant $[Fe(CN)_6^{3-/4-}]$ comme sonde électrochimique. (EIS) ont été enregistrées à des fréquences allant de 100 mHz à 100 KHz dans une solution de 0,1 M KCl contenant 1 mM de $K_3Fe(CN)_6$. (Fig.III.8).

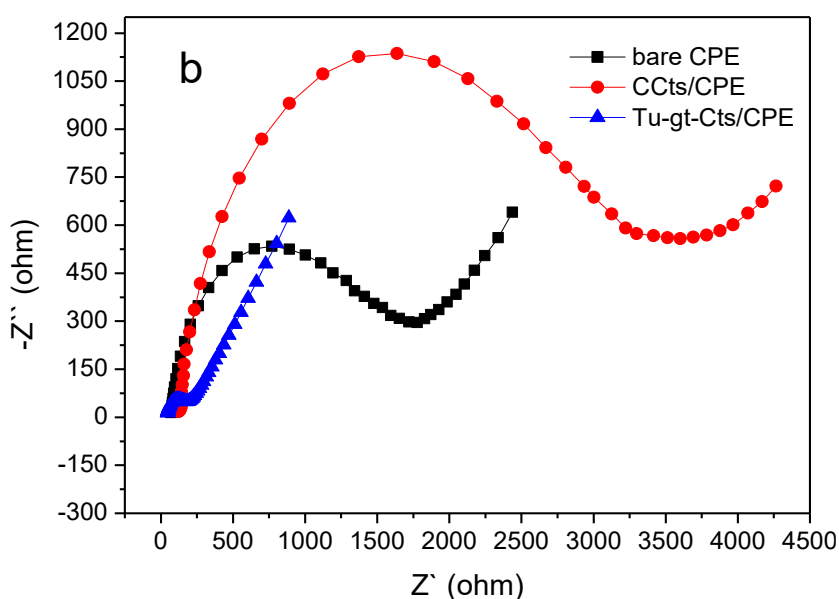


Figure III. 8 : Tracés de Nyquist pour 1 mM de $Fe(CN)_6^{3-/4-}$ dans une solution contenant 0,1 M de KCl à la surface des électrodes préparées; Condition EIS: plage de fréquences: 100 kHz à 0,1 Hz; amplitude de perturbation: 5 mV.

La valeur R_{ct} mesurée à CPE était de 1,5 K Ω , la modification de la pâte de carbone avec CCts a augmenté la résistance du transfert d'électrons ($R_{ct} = 3,05K\Omega$); car la plupart des groupes fonctionnels sont occupés en raison de la réticulation, la conductivité électrique de la surface d'électrode est devenue limitée. Alors que, le diamètre du demi-cercle a considérablement diminué avec (TU-gt-Cts), où la valeur de (R_{ct}) est devenue 170 Ω , ce qui est attribuée à l'amélioration de processus de transfert d'électrons.

Les transformations électrochimiques qui se produisent à l'interface électrode / électrolyte peuvent être modélisées en extrayant des composants des circuits électroniques équivalents correspondent aux spectres d'impédance expérimentaux (Figure III.9) :

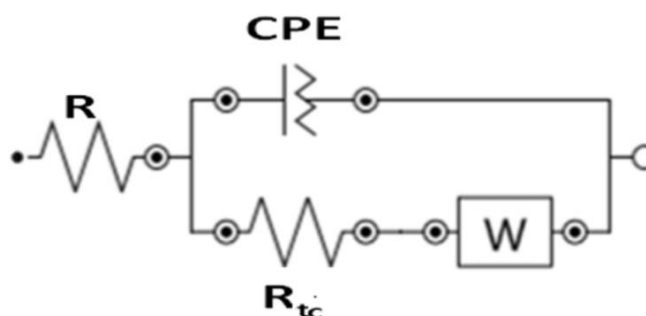


Figure III.9: Circuit électrique équivalent utilisé pour la modélisation des spectres d'impédance de l'électrode de carbone modifiée par TU-g-Cts.

IV. Propriétés électrochimiques et étude de réversibilité

IV.1. Effet de la vitesse de balayage sur le comportement voltamétrique

Des informations précieuses, y compris le mécanisme électrochimique, peuvent être obtenues à partir de la relation entre l'intensité de pic et la vitesse de balayage (v).

IV.1.1. Mécanisme de transfert d'électron et de transport de masse

L'étude de l'effet de la vitesse de balayage sur l'intensité de pic anodique (I_{pa}) et cathodique (I_{pc}) a été réalisée en utilisant la voltamétrie cyclique (CV), en prenant $10^2 \mu\text{M}$ $\text{Hg}^{+2}(\text{II})$ dans 0.2M d' HCl , dans la plage [10 à 150 mVs^{-1}], comme indiqué sur (Fig.III.10 a). On peut voir que les pics redox du courant ont montré une relation linéaire avec la racine carrée du taux de balayage potentiel (Fig.III.10.b), démontrant un processus à diffusion.

Les équations de régression linéaire ont été obtenues comme suit:

$$I_{pa} (\mu\text{A}) = 94,02 v^{1/2} (\text{mV s}^{-1}) - 99,56 (R^2 = 0,995) \text{ et}$$

$$I_{pc} (\mu\text{A}) = -63,90 v^{1/2} (\text{mV s}^{-1}) - 3,13 (R^2 = 0,998).$$

La réaction contrôlée par diffusion peut également être confirmée à partir de la courbe de variation de $[\log I_p (\text{A})]$ en fonction de $[\log (\text{vitesse de balayage}) (\text{V} / \text{s})]$ (Fig.III.10.c). Les courbes logarithmiques ont donné les pentes = $0,66$ avec $R^2 = 0,979$, et $0,50$ avec $R^2 = 0,994$ pour les pics anodiques et cathodiques respectivement, Les valeurs des pentes sont très proches à 0.5 ; la valeur théorique pour une réaction contrôlée par diffusion idéale [40]. D'autre part, la séparation entre les potentiels des pics (ΔE_p) est légèrement augmentée avec l'accroissance du taux de balayage, les ΔE_p sont passé de 63 mV à $169,5 \text{ mV}$ avec

l'augmentation de la vitesse de balayage de $0,010 \text{ Vs}^{-1}$ à $0,150 \text{ Vs}^{-1}$. Où; les pics anodiques déplacent progressivement vers des potentiels plus positifs et les pics cathodiques reculent progressivement vers des potentiels plus négatifs tel qu'il est montré par la (Fig.III.10.d). Le rapport entre l'intensité des pics inversés et pics directs (i_{pc} / i_{pa}) est inférieur à 1, indiquant des processus de transfert d'électrons hétérogènes lents [41]. Par conséquent, ces résultats révèlent que le processus électrochimique est quasi réversible.

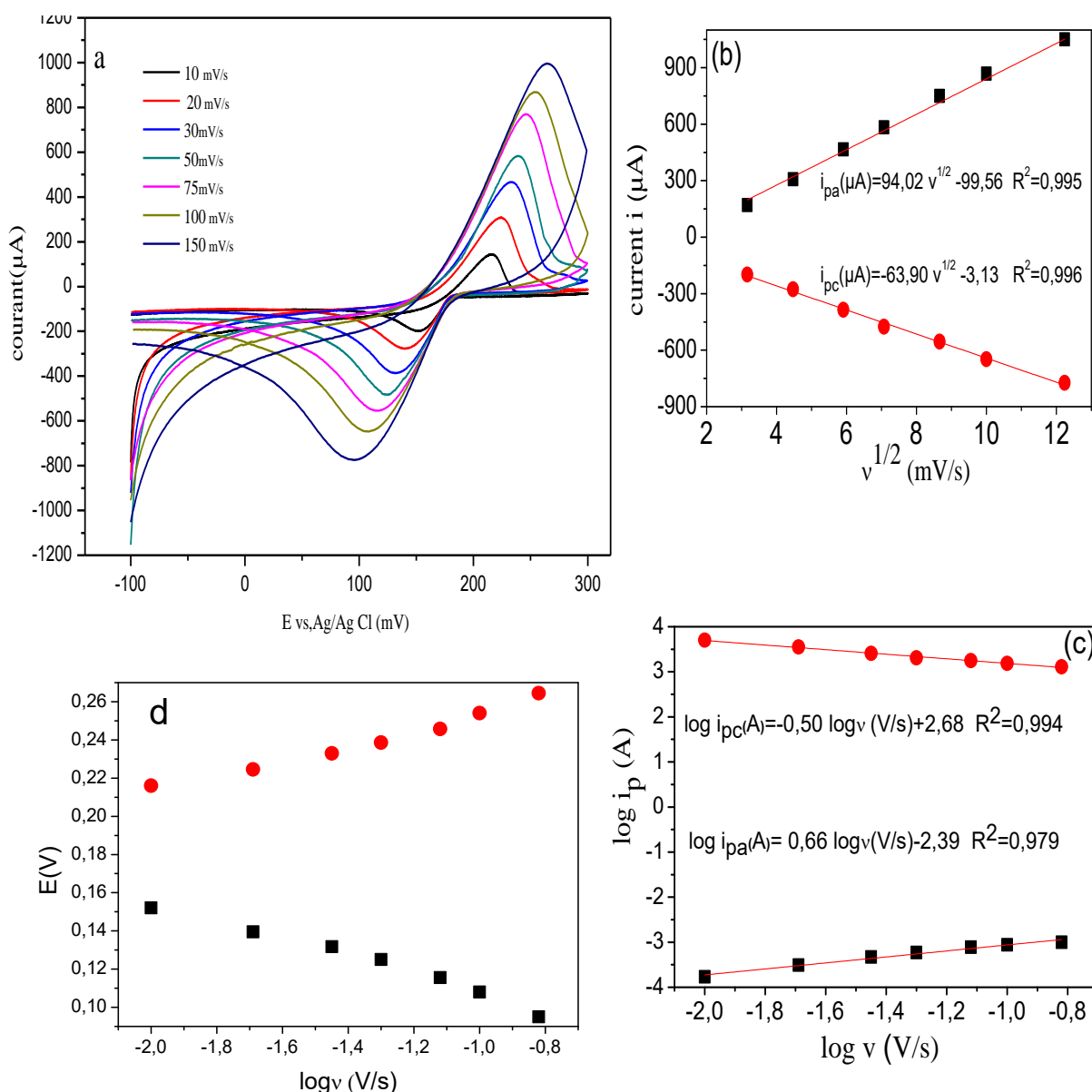


Figure III.10: a) Réponses CV de TU-gt-Cts / CPE dans 0,2 M HCl à des vitesses de balayage 10, 20, 35, 50, 75, 100, 150 mV.s^{-1} . (b) les tracés de courant de crête anodique et cathodique en fonction de la racine carrée du taux de balayage, (c) les tracés du logarithme du courant de crête anodique et cathodique en (A) en fonction du logarithme du vitesse de balayage (V / s), (d) variation du potentiel anodique et cathodique (V) en fonction du logarithme du taux de balayage (V / s).

IV.1.2. Coefficient de transfert des électrons

En se basant toujours sur les voltammogrammes de CV à différents taux de balayage, la valeur du coefficient de transfert anodique α peut également être déterminée à partir des données $I=f(E)$ de la partie montante de chaque voltammogramme cyclique, connue sous le nom de « la région de Tafel », qui est influencée par la cinétique de transfert d'électrons entre les ions métalliques (Hg^{+2}) et la surface de la TU-gt-Cts / CPE [42]. La (Fig. III.11) montre les tracés de Tafel ; $\log(I) = f(E)$ de la partie ascendante anodique des courbes enregistrés avec les vitesses de balayage : 20, 35, 75 et 100 mV/s .

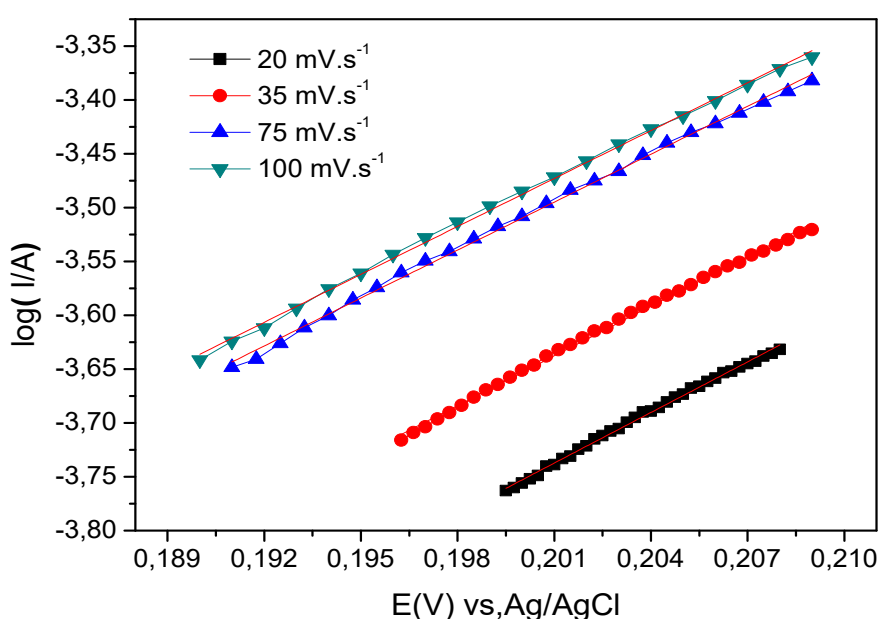


Figure III.11 : Tracés de Tafel dérivés de la partie montante des voltammogrammes enregistrés aux taux de balayage de 20, 35, 75 et 100 $mV.s^{-1}$

Le coefficient de transfert d'électrons ' α ' peut être estimé à partir de la pente ' b ' de la courbe de Tafel, en utilisant l'équation III.2, [43]:

$$b = 2,3RT / (1-\alpha) nF \quad \text{III. 2}$$

La pente moyenne des quatre parcelles de Tafel donne une valeur moyenne du coefficient de transfert égale à $\alpha = 0,55$.

IV.2. Chronoampérométrie

L'oxydoréduction de Mercure(II) par l'électrode modifiée est également étudiée par la chronoampérométrie. Les mesures de courant à la surface de (TU-gt-Cts/CPE) sont effectuées pour trois concentrations différentes d'ions de mercure : 6×10^{-5} , $1,3 \times 10^{-4}$ et $2,5 \times 10^{-4}$ M dans 0,2 M d'HCl comme solution support. La (Fig.III.12) représente les profils temps-courant obtenus. La chronoampérométrie est utilisée pour estimer le coefficient de diffusion.

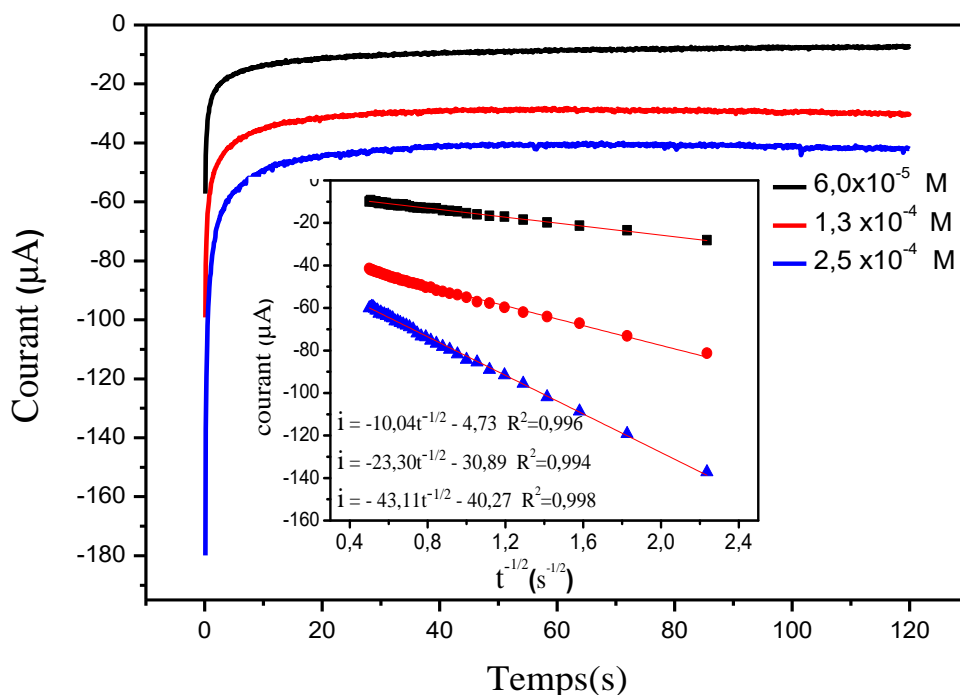


Figure III.12: Chronoampérogramme obtenu pour TU-gt-Cts / CPE en présence de $6,0 \times 10^{-5}$ M, $1,3 \times 10^{-4}$ M; et $2,5 \times 10^{-4}$ M de Hg (II) dans 0,2 M de HCl. Encart: courbes de Cottrell à différentes concentrations.

IV.2.1. Coefficient de diffusion

Pour un processus sous contrôle de diffusion, la réponse en courant d'un matériau électroactif avec coefficient de diffusion D est décrite par l'équation de Cottrell (voir chapitre I, page 54, Eq.I.21). À partir des courbes chronoampérométrique, les tracés linéaires de I par rapport à $t^{-1/2}$ à diverses concentrations sont construits (figure III.12, Encart), et le coefficient de diffusion D a été calculé par les pentes expérimentales de trois tracés. La valeur moyenne du D est $2,22 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$.

IV.2. 2. Constante de la vitesse de transfert hétérogène d'électron

Tableau III.2: variation de $n.\Delta E_p$ avec la vitesse de balayage.

v (V/s)	0.01	0.02	0.035	0.050	0.075	0.10	0.15
ΔE_p	63.12	82.5	100.5	114	128.25	146	169.5
$2x\Delta E_p$	126.24	165	201	228	256.5	292	339

D'après le tableau III.2, la valeur de $n.\Delta E_p$ est passé de 126.24 mV à 339 mV avec l'augmentation du taux de balayage de 0,010 V / s à 0,150 V / s. Pour les $n.\Delta E_p \leq 200$ mV. Ψ est calculé en appliquant l'équation I.16 chapitre I, page 53. À partir de la vitesse 35mV/s, $n.\Delta E_p$ devient supérieurs à 200 mV/s, Ψ est calculé en utilisant la forme réorganisée de la relation de Klingler et de Kochi (voir chapitre I, page 53, Eq.I.17).

Les valeurs de constante de vitesse de transfert d'électrons hétérogène, k^0 , sont calculées suivant l'équation de Nicholson (voir chapitre I, page 53, Eq.I.15) et la valeur moyenne s'est avérée être $k^0 = 1,15 \times 10^{-3} \text{cm.s}^{-1}$, ce qui confirme la quasi-réversibilité de ce processus électrochimique. Pour un processus quasi-réversible il doit que ($10^{-1} > k^0 > 10^{-5} \text{cm.s}^{-1}$) [47].

V. Application a la détection des ions Hg(II) par SWASV

V.1. Optimisation des paramètres analytiques

Les principaux paramètres affectant la valeur de courant de crête sont optimisés avec une solution de 7,0 μM d'Hg (II).

V.1.1. Paramètres électrochimique

V.1.1.1. Etude de l'effet de la concentration du HCl

L'influence de la concentration d'HCl comme solution support est étudiée dans la plage de 0,05 à 0,5 mol.L^{-1} (Fig. III.13). Dans cette étude, le meilleur résultat est enregistré avec 0,3 mole L^{-1} . Comme il est très proche de résultat obtenu avec 0,2 M, cette dernière a été choisie comme concentration optimale d'électrolyte support, afin d'éviter des consommations excessives d'acide concentré.

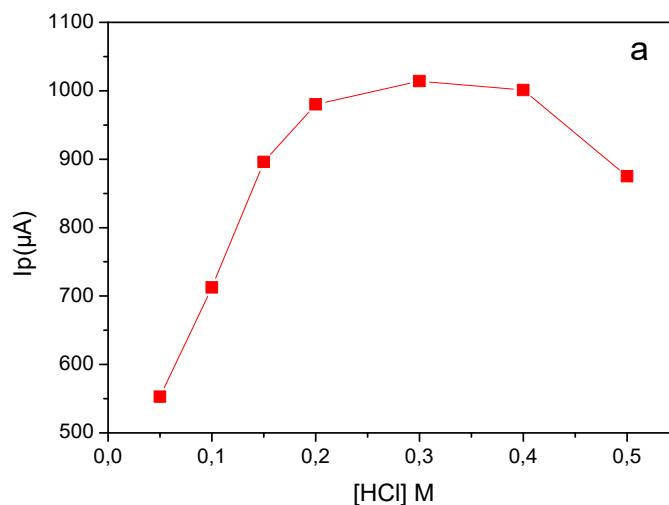


Figure III.13: Variation du courant de crête en fonction de la concentration [HCl].

V.1.1.2. Etude de l'effet de potentiel d'électro-accumulation

L'effet du potentiel d'électro-accumulation sur le courant de crête anodique est évalué dans la plage de 0,1 V à -1,0 V. La (Fig.III.14) montre que l'accumulation devient moins efficace lorsque le potentiel appliqué est proche du potentiel standard du couple ($\text{Hg}^{+2}/\text{Hg}^0$), car, à ce niveau les potentiels ne sont pas suffisamment négatifs pour la réduction électrochimique de Hg^{+2} en Hg^0 [48]; l'application de $E_{\text{red}} = +0,1$ V a à peine donné un signal. Un potentiel d'électro-réduction plus négatif que -0,8 V, n'affecte pas significativement la réponse. En se basant sur ces résultats, le potentiel $E = -0,8$ V est choisi comme suffisant.

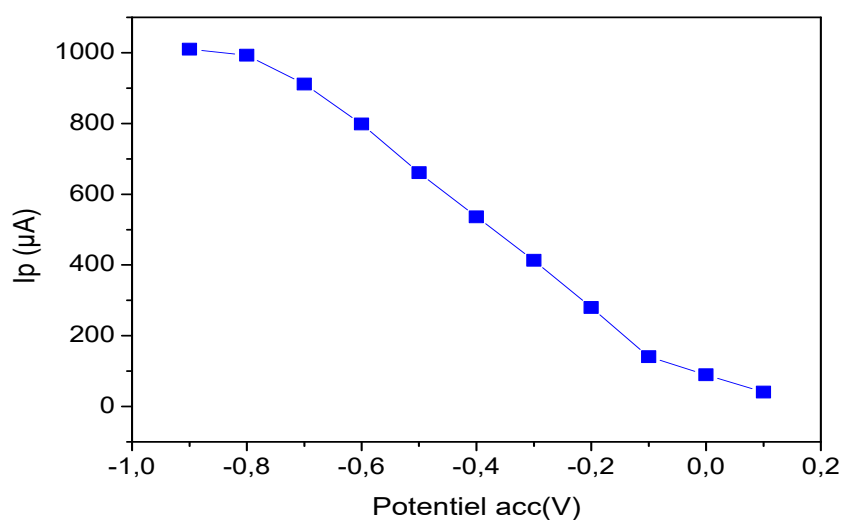


Figure III.14: Variation du courant de crête en fonction de potentiel d'électroréduction.

V.1.1.3. Etude de l'effet de temps d'électro-accumulation

L'influence du temps d'électro-réduction est également examinée (Fig.III.15). La réponse de l'électrode est restée proportionnelle au temps dans la plage de 30 s à 300 s, avec une nette diminution de la pente enregistrée à partir de la troisième minute, indiquant le début de la saturation des sites actifs sur la surface de l'électrode. En conséquence, 180 s est sélectionné comme temps suffisant pour les électro-accumulations d' Hg^{+2} .

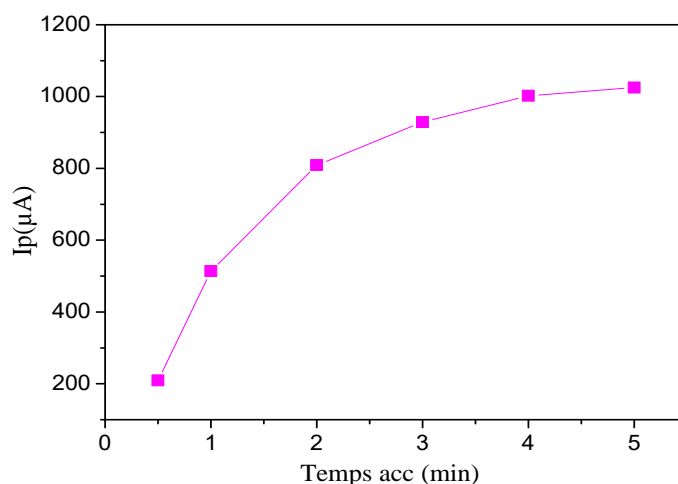


Figure III.15: Variation du courant de crête en fonction du temps d'électroréduction.

V.1.2. Paramètres instrumentaux

L'intensité de pic, le rapport signal / bruit et la forme de signal doivent être pris en compte dans l'optimisation des paramètres instrumentales de la voltampérométrie à ondes carrées.

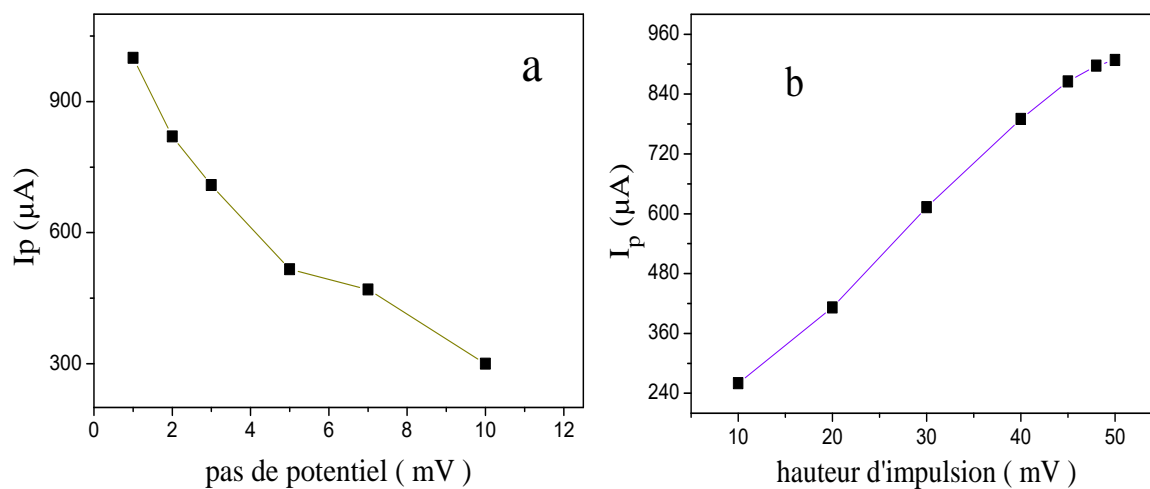


Figure III.16: Variation du courant de crête en fonction du (a) le pas de potentiel et (b) la hauteur d'impulsion.

Dans la plage de 30 mV / s à 500 mV / s, l'intensité de courant de crête était linéairement proportionnelle aux vitesses de balayage. Cependant, le pic a commencé à s'élargir et le signal a pris une forme sinueuse à partir de la vitesse 100mV / s. Par conséquent, cette valeur est choisie comme optimale. Concernant les autres conditions, les valeurs optimales sélectionnées selon la (Fig.III.16) sont : 2 mV pour le potentiel de pas (intervalle d'étude 1 à 15 mV) et 45 mV pour la hauteur d'impulsion (plage d'investigation 10 à 50 mV).

V.2. Courbe d'étalonnage et limite de détection

La voltamétrie de redissolution anodique à ondes carrées (SWASV) est utilisé pour étudier la réponse linéaire et la limite de détection d'Hg (II) à TU-g-Cts / CPE. L'effet de la concentration d'Hg (II) sur le courant de crête est étudié dans les conditions optimales mentionnées ci-dessus.

Une série de voltammogrammes de la redissolution de 5,0 nM à 5,0 μ M d'Hg (II) est représentée par la (Fig.III.17.a). A partir la Figure III.17.b, il est bien claire que la courbe d'étalonnage du courant de crête en fonction de la concentration comporte deux gammes dynamiques linéaires; de $5,0 \times 10^{-9}$ à $1,0 \times 10^{-6}$ mol. L⁻¹ et de $1,0 \times 10^{-6}$ à $5,0 \times 10^{-6}$ mol.L⁻¹.

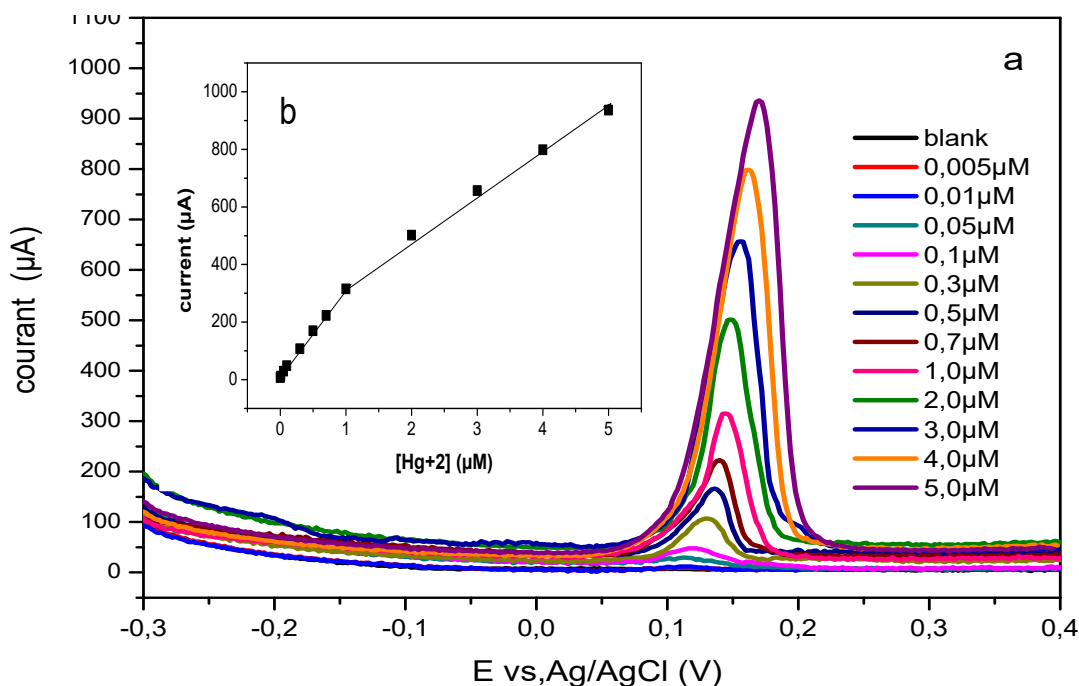


Figure III. 17: (a) Voltammogrammes à onde carrée pour différentes concentrations de Hg (II). Encart: (b) Courbe d'étalonnage linéaire correspondante du courant de crête en fonction de la concentration de Hg (II); de 5 nm à 5 μ M. Conditions optimisées: $v = 100 \text{ mV.s}^{-1}$, $[\text{HCl}] = 0,2 \text{ M}$, $\Delta E = 2 \text{ mV}$, $t_{\text{acc}} = 3 \text{ min}$.

Pour calculer la limite de détection nous avons utilisé la formule $LOD = \frac{3SD}{m}$, [49], où SD est l'écart type pour dix mesures répétées d'une solution à blanc et m est la pente de la courbe analytique correspondante aux faibles concentrations (Fig.III.18.a). Les équations de régression linéaire pour ces deux régions sont:

$$I_{pa} (\mu A) = 352,55 [Hg (II)] (\mu M) + 10,31 (R^2 = 0,998) \text{ et}$$

$$I_{pc} (\mu A) = 147,64 [Hg (II)] (\mu M) + 204,72 (R^2 = 0,998).$$

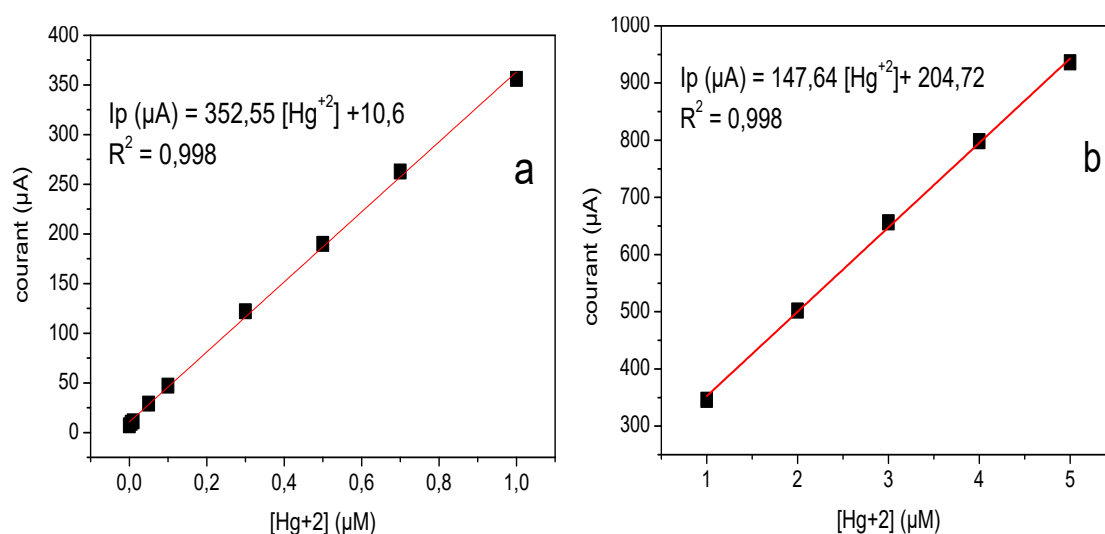


Figure III.18 : Courbe d'étalonnage linéaire correspondante du courant de crête en fonction de la concentration d'Hg (II); (a) de 5,0 nM à 1,0 μM et (b) de 1,0 μM à 5,0 μM .

La limite de détection d'Hg (II) était de 1,61 nM, cette LOD est inférieure aux valeurs rapportées, obtenues à partir de plusieurs méthodes électrochimiques utilisant des électrodes chimiquement modifiées (Tableau III.3). La TU-gt-Cts / CPE montre une limite de détermination beaucoup plus basse et une gamme de linéarité plus large.

Chapitre III: Détection des ions de mercure(II) par Chitosane greffé à la thiourée

Tableau III.3: Comparaison de l'efficacité de TU-gt-Cts / CPE avec diverses électrodes électrochimiques modifiées dans la littérature pour la détermination voltampérométrique de Hg (II).

Capteur	méthode	Gamme de linéarité (nM)	limite de détection (nM)	Refs.
Cts-SH/ MWCNTs/GCE	SWASV	10 to 140	3	[6]
OCM/CPE	DPASV	99.7 to 698	67.8	[50]
DNA functionalized Graphene /GCE	DPVs	8 to 100	5	[51]
TFSF/ GCE	DPASV	10 to 100	4	[52]
SWCNT-PhSH/AuE	SWASV	5 to 90	3	[53]
BTC/ CPE	SWV	50 to 200	39.9	[54]
DTTPSG/ CPE	SWASV	50 to 5000	9.97	[55]
PEDOT/GO	DPSV	10 to 3000	2.78	[56]
DPSG/ CPE	ASV	10 to 100	7.97	[57]
TU-g-Cts/CPE	SWASV	5 to 1000 and 1000 to 5000	1.61	Ce travail

V.3. Validation du capteur

V.3.1. Reproductibilité et stabilité du capteur

Pour examiner la stabilité de la réponse d'électrode par rapport aux changements possibles dans la forme de signal résultant de la différences en préparation des électrodes ou des interactions interfaciales de surface au cours du temps, les études de reproductibilité et de répétabilité des électrodes s'avèrent nécessaires. En utilisant les conditions optimales décrites précédemment, l'écart type relatif (RSD) ne dépasse pas 0,8% pour six électrodes construites à partir de la même pâte de carbone et testées pour la détermination de 0,1 μM d'Hg (II) par SWASV. Alors que pour six électrodes préparées à partir de différentes pâtes homogénéisées de la même manière, le RSD est légèrement plus grand (2,2%).

Chapitre III: Détection des ions de mercure(II) par Chitosane greffé à la thiourée

Pour six voltammogrammes de redissolution successifs avec la même TU-gt-Cts/CPE, le RSD en pics de courant est de 2,1%. La stabilité à long terme est étudiée également à l'aide d'une électrode modifiée; le (RSD) est estimé à 4,6% pour huit mesures consécutives pendant deux mois, avec une fréquence d'une mesure par semaine. Les résultats indiquent la bonne qualité de la surface d'électrode et la longue stabilité de notre modificateur TU-gt-Cts.

V.3.2. Effet des interférences

La capacité de notre capteur à faire la distinction entre le mercure et les espèces interférentes couramment présentes dans un environnement physiologique similaire est également examinée (voir tableau III.4). Le pourcentage de variation du courant est utilisé pour exprimer l'effet d'interférence. Quelle que soit la concentration en ions monovalents tels que K^+ , Na^+ , Cl^- , NO_3^- , aucune interférence évidente n'a pu être trouvée pour les déterminations d' Hg^{2+} à 10^{-6} M. La même remarque est faite pour certains cations bivalents, notamment Cd^{2+} , Cu^{2+} , Co^{2+} , Zn^{2+} et Ni^{2+} , tant que le rapport $[Mn^{+2}]/[Hg^{+2}]$ est inférieur à 10.

Tableau III.4: Influence des interférences sur la réponse en courant pour 10^{-6} M de Hg^{2+} .

Ions $Mn^{+1/2}$	Interference		
	$[Mn^{+1/2}] \leq 10^{-6}$ M	$[Mn^{+1/2}]/[Hg]=10$	$[Mn^{+1/2}]/[Hg]=20$
k^+ , Na^+ , Cl^- , NO_3^-	Pas d'interference	Pas d'interference	Effet négligeable
Cd^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Co^{2+} , Ag^{+2}	Pas d'interference	Effet négligeable	+4.7%
Pb^{+2}	Effet négligeable	-6.4%	-12.3%

A partir de ce rapport, l'effet de la compétition entre ces cations pour occuper les sites de liaison commence à apparaître. Jusqu'à $[Mn^{+2}]/[Hg^{+2}] \leq 20$, la variation voltampérométrique du signal n'a pas dépassé la limite de tolérance estimée à $\pm 5\%$ et définie comme l'erreur relative maximale dans le signal analytique, qui peut être causée par la présence d'espèces étrangères. Ces résultats peuvent se justifier par plusieurs raisons; (i) l'affinité plus élevée de la base de schiff comme modificateur de surface d'électrode pour les ions d' Hg (II) en comparaison avec d'autres cations, (ii) la différence entre le coefficient de diffusion de Hg (II)

Chapitre III: Détection des ions de mercure(II) par Chitosane greffé à la thiourée

et les coefficients des autres ions. Le plomb est la seule espèce qui interfère en réduisant le signal d'Hg (II). Cela signifie qu'il existe une convergence dans la cinétique de complexation entre ces deux cations, conduisant à une compétition dans l'accumulation à la surface de l'électrode.

V.3.3. Application avec échantillons réelles

Pour évaluer l'application pratique de l'électrode TU-gt-Cts /CP pour l'analyse des ions de mercure avec des échantillons réels, l'eau du robinet de laboratoire et l'eau de mer sont utilisées comme exemples. Sans traitement préalable, les échantillons sont mélangés avec 1 M d'HCl pour donner des solutions de 0.2M. Par la suite, ces échantillons sont contaminés par le mercure à différentes concentrations (Tableau. III.5). Dans les conditions optimales; le pic de courant pour une solution contaminée par 0.1 μM de mercure est observé autour de 0,15 V pour l'eau du robinet et 0,18 V pour l'eau de mer. En utilisant l'équation analytique de la courbe d'étalonnage, les pourcentages de récupération calculés sont donnés dans le Tableau III.5. Les taux de récupération des ions de mercure varient entre 96% et 107%.

Ces résultats satisfaisants démontrent l'adéquation de la matrice développée (TU-gt-Cts) pour l'identification précise des ions Hg (II), à des niveaux infimes dans la surveillance environnementale de l'eau du robinet et de l'eau de mer.

Tableau III.5: résultats de récupération de l' Hg^{+2} à des niveaux traces dans des échantillons réels d'eau du robinet et d'eau de mer.

Échantillon	Valeur ajoutée (μM)	Valeur déterminée (μM)	% Récupération
Eau de robinet	0.050	0.052 \pm 0.006	104%
	0.100	0.096 \pm 0.005	96%
	0.500	0.512 \pm 0.052	102.4%
Eau de mer	0.100	0.107 \pm 0.0057	107%
	0.500	0.532 \pm 0.011	106.4%
	1.000	1.061 \pm 0.032	106.1%

VI. Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons utilisé une électrode en pâte de carbone modifiée par chitosane greffé à la thiourée pour la détection des ions mercuriques. Une série de caractérisations électrochimiques de l'électrode modifiée était réalisée. Le comportement électrochimique d' Hg^{+2} sur la surface de l'électrode modifiée était soigneusement examiné avec détermination de différents paramètres électrochimiques et cinétiques. Une réaction de transfert d'électrons quasi réversible s'est produite en parallèle avec un processus contrôlé par diffusion. L'influence des paramètres expérimentaux impliqués dans la détermination d'Hg (II) a également été optimisée. En utilisant la SWV, notre capteur a montré une bonne sensibilité vis-à-vis des ions Hg(II) avec une limite de détection de 1.61 nM. D'autre part, les performances analytiques de ce capteur à savoir la sélectivité et la reproductibilité étaient étudiés. Nous avons aussi testé l'efficacité de notre capteur à la détection de ces ions dans des conditions réelles. Les résultats obtenus avec l'eau de mer et l'eau de robinet sont satisfaisants et prometteur pour une éventuelle utilisation de cette électrode avec d'autres échantillons réels plus complexes.

Références

- [1] Liu XW, Hu QY, Fang Z, Zhang XJ, Zhang BB (2009). *Langmuir* 25: 3-8,
- [2] Elmorsy K., H.N.A. Hassan, I.H.I. Habib, R. Metelka. 2010, *Int. J. electrochem. Sci.* 5: 158 – 167.
- [3] Zhenzhen, L., Y. Shanli, Y. Qiong, L. Shenglian, L. Chengbin, T. Yanhong. 2013. *Acta* 180: 555–562
- [4] Weltrowski, M., B. Martel, M. Morcellet.1996. *J. Appl. Polym. Sci.* 59: 647-654.
- [5] Lopez-Cervantes J., D.I. Sanchez-Machado, R.G. Sanchez-Duarte, M. A. Correa-Murrieta. 2018., *Adsorpt. Sci. Technol.* 36: 215–232.
- [6] Deng W., Y. Tan, Y. Li, Y. Wen, Z. Su, Z. Huang, S. Huang, Y. Meng, Q. Xie, Y. Luo, S. Yao. 2010. *Microchim. Acta* 169: 367–373.
- [7] Janegitz, B. C., L. C. S. Figueiredo-Filho, L. H. Marcolino-Junior, S. P. N. Souza, E. R. Pereira-Filho, O. Fatibello-Filho. 2011. *J. Electroanal. Chem*, 660: 209–216.
- [8] Wan Ngah, W. S., S. Fatinathan. 2010. *J. Environ. Manage.* 91: 958-969.
- [9] Lee S. T., F. L. Mi, Y. J. Shen, S. S. Shyu. 2001, *Polymer* 42: 1879–1892.
- [10] Wang L., R. Xing, S. Liu, Y. Qin, K. Li, H. Yu, R. Li, P. Li. 2010. *Carbohydr. Polym.* 8: 305–310.
- [11] Ahmed M., D., A. Asem A., E. Khalid Z. 2008. *J. Hazard. Mater.* 151: 372–379.
- [12] Sigel H., D. B. McCormick.1970. *Acc. Chem. Res.* 3: 201–208.
- [13] Baba Y., H. Noma, R. Nakayama, Y. Matsushita. 2002. *Anal. Sci.* 18(3): 359–361.
- [14] Ritchie SMC, Kissick KE, Bachas LG, Sikdar SK, Parikh C, Bhattacharyya D.,(2001), *Environ Sci Technol*;35:3252–8.
- [15] Zhou L., J. Liu, Z. Liu. 2009. *J. Hazard. Mater.* 172: 439– 446.
- [16] Zhang M., Y. Zhang, Robert Helleur. 2015. *Chem. Eng. J.* 264: 56–65.
- [17] Schiessl, W. C., et al., (2005). *Z. Anorg. Allg. Chem.* 631(13-14):2812–2819.
- [18] Baba, Y., Matsumura, N., Shiomori, K., & Kawano, Y. (1998). *Anal. Sci.*, 14(4):687–690.
- [19] A. Moghimi. (2012), *Afr. J. Pure. App. Chem.* 6(12): 195-203,
- [20] Merrifield, J. D., Davids, W. G., MacRae, J. D., & Amirbahman, A. (2004). *Water Research*, 38(13): 3132–3138.
- [21] Gavilan, K. C., Pestov, A. V., Garcia, H. M., Yatluk, Y., Roussy, J., & Guibal, E. (2009). 165(1-3):415–426.
- [22] A.A. Donia, A.A. Atia, K.Z. Elwakeel. (2005) *React. Funct. Polym.* 65:267–275.
- [23] Wang, L., Xing, R., Liu, S., Cai, S., Yu, H., Feng, J., ... Li, P. (2010). *Int. J. Bio. Macro*, 46(5):524–528.
- [24] Y. Nematia, P. Zahedia, , M. Baghdadib, S. Ramezania. (2019) *J. Envir. Manag.* 238,166–177.
- [25] Bhatt, R., Kushwaha, S., Bojja, S., & Padmaja, P. (2018). *ACS Omega*, 3(10): 13183–13194.
- [26] Morsi, R. E., Al-Sabagh, A. M., Moustafa, Y. M., ElKholly, S. G., & Sayed, M. S. (2018). *Egypt. J. Petrol.* 27(4): 1077-1085.
- [27] Sharma, P., et al., (2018).. *Sens Actuators B: Chemical*, 268: 310–318.
- [28] Guibal E., T. Vincent, R. Navarro Mendoza. 2000. *J. Appl. Polym. Sci.* 75: 119–134.
- [29] Guibal E., N. Von Offenber Sweeney, T. Vincenta, J.M. Tobin. 2002. *React. Funct. Polym.* 50: 149–163.
- [30] Janegitz B. C., L.H. Marcolino-Junior, S. P. Campana-Filho, R. C. Faria, O. Fatibello-Filho. 2009. *Sens. Actuators B* 142: 260–266.
- [31] Sutirman, Z. A., Sanagi, M. M., Abd Karim, K. J., & Wan Ibrahim, W. A. (2016). *Carboh. Polym.*, 151: 1091–1099.
- [32] J. B. Lambert, *Introduction to organic spectroscopy*, (1987)New York: Macmillan .
- [33] M. M. Abdel-Galeil, M. M. Ghoneim, H. S. El-Desoky, T. Hattori, and A. Matsuda, (2014) *J. Chem. Biochem.* 2 : 25.
- [34] Vieira R. S., M. M. Beppu. 2006., *Colloids. Surf., A* 279(1-3): 196–207.
- [35] Vicentini, F. C., Silva, T. A., Pellatieri, A., Janegitz, B. C., Fatibello-Filho, O., & Faria, R. C. (2014). *Microchem. J.*116 : 191–196.

- [36] Afkhami, A., H. Bagheri, H. Khoshsafar, M. Saber-Tehrani, M. Tabatabaee, A. Shirzadmehr. (2012). *Anal. Chim. Acta* 746: 98–106.
- [37] Van Benschoten J. J., J. Y. Lewis, W. R. Heineman, D. A. Roston, P. T. Kissinger. (1983). *J. Chem. Educ.* 60: 772-776.
- [38] Zinoubi K., H. Majdoub, H. Barhoumi, S. Boufi, N. Jaffrezic-Renault. (2017). *J. Electroanal. Chem.* 799: 70–77.
- [39] D. A. C. Brownson, and C. E. Banks. (2014), Verlag London Ltd: Springer (2014).
- [40] Muhammad H., I. Ahmad Tahiri, M. Muhammad, Z. Masood, M. Ali Versiani, O. Khaliq, M. Latif, M. Hanif. 2016. *J. Electroanal. Chem.* 775: 157-162.
- [41] A. J. Bard, and L. R. Faulkner, (2001), 2nd. ed. New York: John Wiley & Sons, Inc.
- [42] Soltani N., N. Tavakkoli, N. Ahmadi, F. Davar. (2015), *C. R. Chim.* 18: 438-448.
- [43] Ardakani M. M., H. Beitollahi, M. K. Amini, B. F. Mirjalili, F. Mirkhalaf. (2011). *J. Electroanal. Chem.* 65:1 243–249.
- [44] Uçar, M., A. O. Solak, N. MENEK. (2002). *Anal. Sci.* 18, (9). 997-1002
- [45] Nicholson R. S. (1965). *J. Electroanal. Chem.* 37: 1351-1355.
- [46] Lavagnini I., R. Antiochia, F. Magno. (2004). *Electroanalysis* 16: 505-506.
- [47] Wang J. 2006, *Anal. Electrochem.* 3th ed, Wiley Online Library,
- [48] Pinilla, J. M., Hernández, L., & Conesa, A. J. (1996). *Analy Chim Acta*, 319(1-2): 25–30 .
- [49] Rizk, M., M. M. Abou El-Alamin, H. A. M. Hendawy, M. I. Moawad. 2015. *Electroanalysis* 28(4): 770–777.
- [50] Tonle, I. K., Ngameni, E., & Walcarius, A. (2005). *Sens. Actuators, B* 110(2), 195–203.
- [51] Zhang, Y., H. Zhao, Z. Wu, Y. Xue, X. Zhang, Y. He, ... Z. Yuan. 2013. *Biosens. Bioelectron.* 48, 180–187.
- [52] Cesarino, I., & Cavalheiro, É. T. G. 2008. *Electroanalysis* 20(21): 2301–2309.
- [53] Wei, J., D. Yang, H. Chen, Y. Gao, H. Li. 2014. *Sens. Actuators, B* 190: 968–974.
- [54] Colilla, M., Mendiola, M. A., Procopio, J. R., & Sevilla, M. T. 2005. *Electroanalysis* 17(11) : 933–940.
- [55] Filho, N. L. D., & Ribeiro do Carmo, D. 2005. *Electroanalysis* 17(17) : 1540–1546.
- [56] Zuo, Y., et al. (2016). *Synth. Met.* 220: 14–19.
- [57] Javanbakht, M., et al., (2009). *Curr. Anal. Chem.* 5(1): 35–41.

*Chapitre IV : Elaboration des électrodes à
base d'un bioconjugué de chitosane-tanin
de myrte*

Partie A : Détection simultanée des traces d'ions de métaux lourds par DPASV à l'aide d'une électrode en carbone vitreux modifiée par chitosane - tanin de myrte

I. Introduction

Une détermination simultanée fiable de plus d'un métal à l'aide d'une voltamétrie de redissolution est difficile en raison de la possibilité de chevauchement de pics, qui peuvent se produire dans les plages de potentiel relativement étroites où les métaux sont réduits ou oxydés. Une des approches utilisées pour éliminer le problème des interférences consiste à faire recours aux électrodes chimiquement modifiées (ECM). Le mécanisme de ces derniers dépend des propriétés du modificateur utilisé qui affectent la sélectivité de l'électrode envers les espèces cibles. Ceci par la conservation d'une préconcentration réglable plus large sans interférences comparé aux techniques voltampérométriques conventionnelles [1].

Dans cette partie, une électrode en carbone vitreux modifiée par un biofilm à base de chitosane et polyphénole de *myrtus communis* L. est développée. La conjugaison entre les deux biopolymères est vérifiée par la spectroscopie UV-Vis. La structure morphologique est caractérisée par la microscopie électronique à balayage (MEB). L'adhérence et la stabilité de film sur l'électrode sont testées par la mesure de l'angle de contact avec l'eau. Les caractéristiques électrochimiques de la surface sont étudiées par la spectroscopie d'impédance électrochimique (EIS) et la voltamétrie cyclique avant l'application de la voltammétrie d'impulsion différentielle à redissolution anodique (DPASV) pour la détection simultanée des ions de Cd^{+2} , Pb^{+2} , Cu^{+2} et Hg^{+2} .

Les expériences reportées dans ce chapitre étaient faites au niveau du Laboratoire des Interfaces et des Matériaux Avancés (LIMA) de la faculté des sciences -Monastir en Tunisie.

II. Etat de l'art

Similaire au chitosane, qui est l'un des polymères les plus utilisés dans l'élaboration des nouveaux dérivés destinés aux applications prometteuses dans le traitement des eaux usées, notamment, l'adsorption des métaux lourds, les tanins sont également d'excellents candidats pour produire des biosorbants. Ces biopolymères naturels peu coûteux et riches en groupes hydroxyles phénoliques adjacents, ils sont faciles à extraire et à convertir en matrices insolubles comme gels de tanin [2, 3] et mousses de tanin [4], ou immobilisées sur des

Chapitre IV: Elaboration des électrodes à base d'un bioconjugué de chitosane-tanin de myrte

matrices insoluble tel que la collagène [5], la silice mésoporeuse [6], ...etc. Les adsorbants à base de tanin ont une affinité naturelle pour absorber les métaux lourds [7, 8], les colorants [2, 9] et les composés pharmaceutiques [10] des eaux contaminées, et pour accumuler sélectivement les métaux précieux et critiques des courants aqueux [11,12].

La combinaison entre les tanins et le chitosane connu par sa forte affinité pour les métaux lourds, donnera certainement un composé très efficace pour la détection de ce type de polluants. Le chitosane se lie aux tanins chargés négativement par les interactions électrostatiques, entraînés par ses groupes amino chargés positivement. Cette interaction permet de développer des biomatériaux stables [13].

Le bioconjugué chitosane-tanin peut être une nanoparticule, un film hydrogel, une biomousse ou un biogel, tout dépend de l'agent de réticulation [14].

Depuis les dernières décennies, les conjugués polyphénols-chitosane ont reçu une attention accrue de la part des scientifiques et deviennent à présent un sujet de recherche ardent dans l'industrie alimentaire et la biomédecine [13]. Cependant, l'application de ces nouveaux bioconjugués dans le domaine de l'adsorption des métaux lourds n'a attiré l'attention que récemment. Suivant Badawi et al. le chitosane est mis en réaction en utilisant l'acide tannique à différents rapports molaires pour obtenir trois biopolymères modifiés. Les expériences d'adsorption ont montré que les biosorbants préparés peuvent être utilisés comme adsorbants efficaces pour l'élimination des ions Pb(II) et Al(III) [15]. Dans un autre travail, Zhou et al. ont démontré la possibilité d'adsorbé le palladium (II) à partir d'une solution aqueuse en utilisant un bioconjugué produit par greffage de chitosane sur les tanins extraits à partir des fruits de kaki [16]. Cet adsorbant est aussi utilisé par le même groupe de recherche pour éliminer le Pb(II) des eaux usées, les résultats indiquent que le biopolymère chitosane-tanin de kaki est un excellent adsorbant [17]. De leur côté, Abdulsahib et al. ont publié une série d'articles présentant l'efficacité de quelques adsorbants à base de chitosane et de polyphénols. Le premier à base de chitosane-lignine est utilisé comme coagulant pour éliminer la bentonite de l'eau brute [18], ainsi comme adsorbant d'ions métalliques de Cd, Co, Pb et Zn [19]. Un autre à base de chitosane et des tanins de *Laurus nobilis* (feuilles) est synthétisé par le même groupe de recherche. La caractérisation du nouvel adsorbant a montré sa bonne stabilité chimique et thermique et fournit par conséquent une méthode excellente pour l'élimination de quelques éléments trace métalliques (Cd, Co, Pb et Zn) [20].

A notre connaissance, les bioconjugué chitosan- polyphénol de plantes n'était pas utilisé auparavant pour la détection de métaux lourds ou même pour la modification des électrodes.

III. Elaboration d'électrode

III.1. Réactifs et Appareillage

Le chitosane (DD =83%, Mv =78KDa) et les tanins de myrte (TM) extraits suivant les protocoles détaillés au chapitre II. L'électrolyte support est un tampon d'acétate de 0,1 M préparé en mélangeant X ml de solution d'acide acétique CH₃COOH (0,1 M) avec Y ml d'une solution d'acétate de sodium CH₃COONa (0,1 M) suivant le pH désiré. Trihydrate d'hexacyanoferrate (II) de potassium K₄[Fe(CN)₆].3H₂O, hexacyanoferrate de potassium (III) (K₃[Fe(CN)₆]), chlorure de potassium (KCl), nitrate de cadmium (Cd(NO₃)₂), chlorure de cuivre (II) (CuCl₂), nitrate de plomb (II) (Pb(NO₃)₂), chlorure de mercure (II) (HgCl₂) ont été achetés chez Biochem chemopharma.

Les spectres d'absorbance UV des solutions aqueuses sont enregistrés par un spectrophotomètre 67 série Modèles 6705 UV / Vis JENWAY.

L'angle de contact est mesuré suivant une méthode simple qui est basée sur la photographie d'une goutte de dimensions définies à l'aide d'un appareil de la société GBX (DIGIDROP) model MSE.

Des images par microscope électronique à balayage (MEB) de film déposé sur une électrode de carbone sérigraphiées sont obtenues avec un Thermo Scientific Q250, entièrement contrôlé à partir d'un poste de travail informatique.

Un pH-mètre 3505 JENWAY est utilisé pour l'ajustement de pH.

Les mesures de voltammétrie cyclique, voltammétrie à impulsions différentielles et les mesures de spectroscopie d'impédance sont réalisées à l'aide du montage de la (Figure IV.1,a)

L'appareil utilisé est un potentiostat de type Autolab PGSTAT320N qui est associé à un ordinateur comprenant un logiciel de simulation Nova 1.5 qui permet de traiter les données.

Les mesures électrochimiques sont réalisées dans une cellule électrochimique de capacité 30mL contenant trois électrodes (Figure IV.1.b) une électrode de référence de type Ag/AgCl/(KCl Saturé), une contre électrode en platine et une électrode de travail en carbone vitreux.

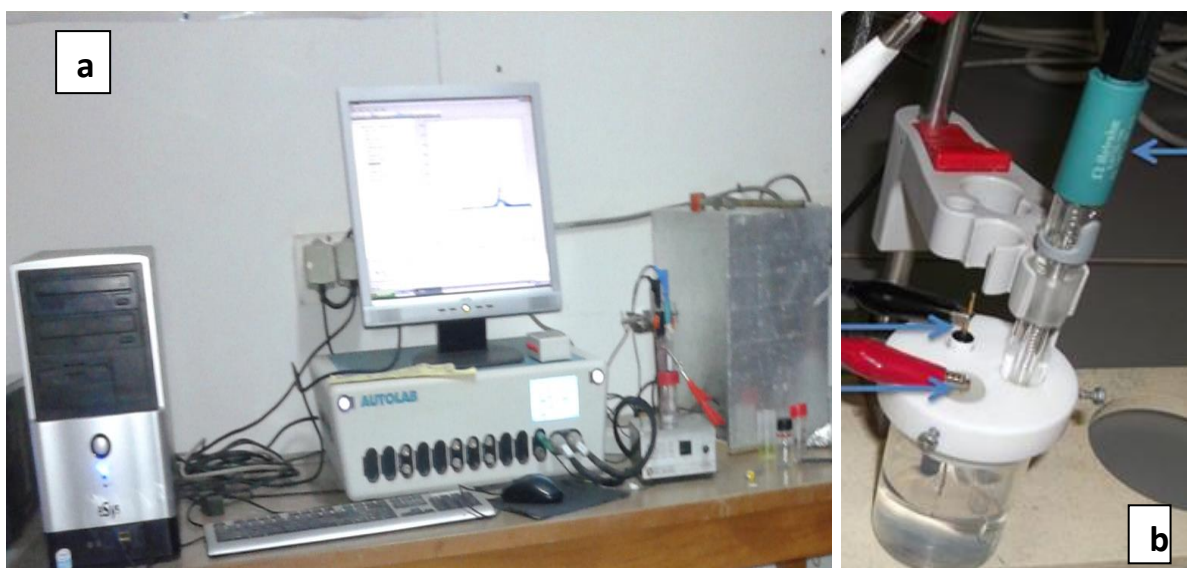


Figure IV.1: (a) Dispositif expérimental concernant les mesures voltamétriques et la spectroscopie d'impédance, (b) Cellule électrochimique.

III.2. Préparation du bioconjugué de chitosan et tanin de myrte

Pour préparer le bioconjugué chitosane-tanin de myrte, on a procédé comme suit : 0,1 g de chitosane est dissous dans 100 ml d'acide acétique (0,5% v/v) pendant deux heures, dont 20 min sous vibration ultrason. Ensuite, la fraction insoluble est éliminée via du papier Wattman de 0,7 μm . Par la suite, 2 ml de tanin de Myrte est ajoutés dans 10 ml de solution de chitosane; le mélange est laissé sous agitation à température ambiante pendant 2 heures.

III.3. Caractérisation par spectroscopie UV-visible

La spectroscopie ultraviolette / visible (UV-Vis) est utile comme technique analytique pour identifier certains groupes fonctionnels dans les molécules. Dans notre cas, l'UV-Vis a été utilisée pour confirmer toute conjugaison qui pourrait se produire entre le Cts et le tanin de myrte. Les spectres UV-vis (Fig.IV.2) sont enregistrés dans l'intervalle 200-900 nm avec un modèle de spectrophotomètre de faisceau simple utilisant des cuvettes (chemin optique de 1,0 cm) à température ambiante. Nous avons étudié les spectres UV d'une solution de chitosane, une solution de tanin et un mélange des deux biopolymers. L'absorption de la lumière ultraviolette /visible par les molécules organiques est limitée à certains groupes fonctionnels (chromophores) qui contiennent des électrons de valence de faible énergie d'excitation. Les spectres UV-Vis sont enregistrés contre un blanc d'acide acétique 0.5% (v/v). Le chitosane comprend deux groupes chromophoriques ultraviolets espacés, la N-acétylglucosamine

Chapitre IV: Elaboration des électrodes à base d'un bioconjugué de chitosane-tanin de myrte

(GlcNAc) et la glucosamine (GlcN); dont les coefficients d'extinction pour des longueurs d'onde inférieures à 225 nm sont non nuls [19]. Le spectre UV du chitosane présente un seul pic à $\lambda_{\max} = 220$ nm dans une solution de 0,5% HAc. Semblable à la plus part des extraits de tanins végétaux qui absorbent dans l'ultraviolet, l'analyse du spectre d'absorption des tanins de myrte présente deux bandes intenses caractéristiques à 215 et 275 nm respectivement. En raison de la forte conjugaison entre les électrons π du cycle benzénique et le groupe carbonyle à travers la double liaison carbone-carbone [20].

Ceci est également cohérent avec les profils de spectre d'absorption des quelque tanins hydrolysables mentionnés dans la littérature [21.22]. Le déplacement des spectres d'absorption du mélange Cts-TM à 210 et 270 nm avec une absorbance moins intense pour le premier spectre est plus intense pour le deuxième, peut prouver la formation d'un conjugué polysaccharide-polyphénol.

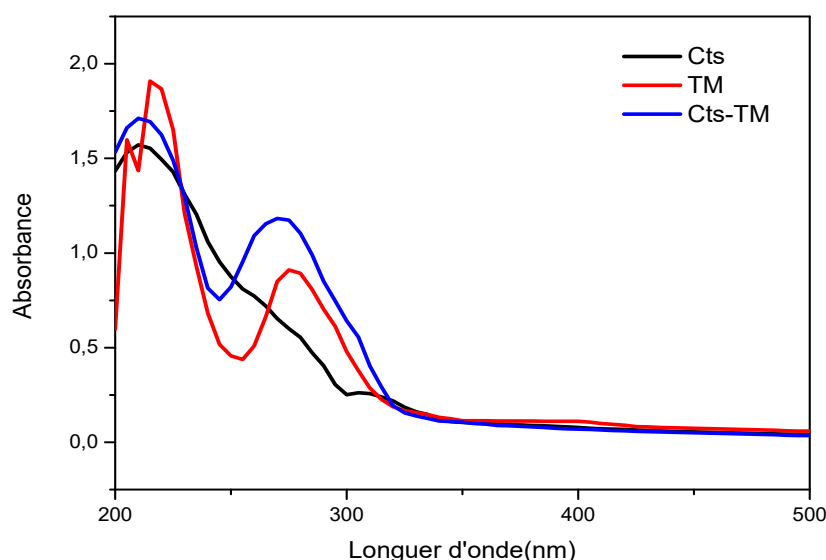


Figure IV.2: Spectres d'absorption UV-vis de (a) chitosan, (b) tanin de myrte, (c) bioconjugué de chitosan-tanin de myrte

III.4. Prétraitement de la surface de l'électrode de carbone vitreux

La présence des groupes fonctionnels à la surface du carbone affecte sa réponse électrochimique. Donc, avant toute manipulation électrochimique, les électrodes doivent être polies, rincées et activées afin d'assurer un meilleur contrôle de sa réactivité de surface.

III.4.1. Le polissage mécanique

La surface de l'électrode de carbone vitreux a été polie mécaniquement avec une suspension d'alumine Al_2O_3 (10 μ m)-eau à l'aide d'un kit de polissage, lavée puis traitée par ultrasons

Chapitre IV: Elaboration des électrodes à base d'un bioconjugué de chitosane-tanin de myrte

dans de l'eau désionisée pendant 5 minutes afin d'éliminer les particules d'alumine adsorbées à la surface de l'électrode.

III.4.2. Electro-polissage

Le traitement électrochimique est réalisé par voltammétrie cyclique dans 0,5 M de NaOH avec un taux de balayage de 50 mV/s entre les potentiels 0,6 et 1,2 V par rapport à une électrode de référence Ag/AgCl, suivie d'un rinçage avec de l'eau désionisée. L'électro-polissage de l'électrode est réalisé jusqu'à l'obtention de voltamogrammes superposables [23].

La Figure IV.3 présente les voltamogrammes obtenus avant et après nettoyage de l'électrode de carbone vitreux. Une amélioration de l'intensité des pics anodiques et cathodiques et une diminution de la différence de potentiel sont observées après nettoyage.

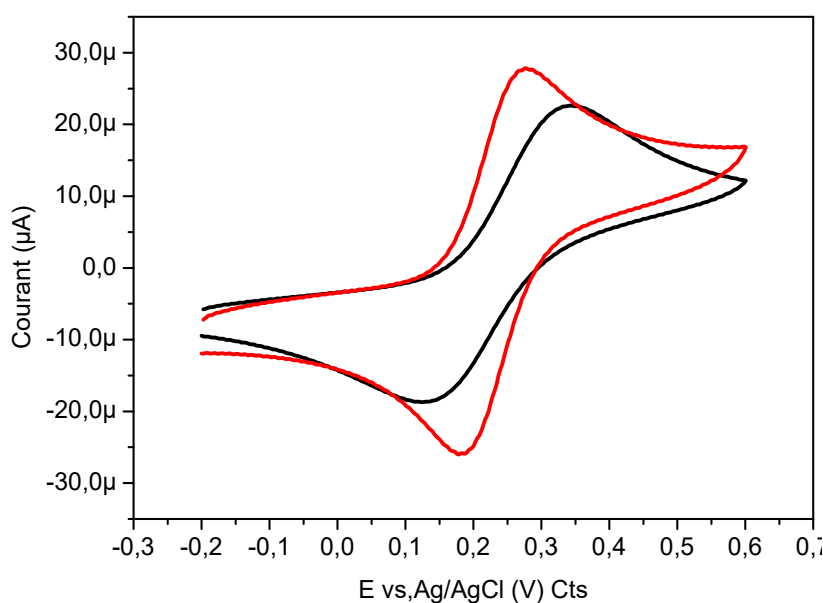


Figure IV.3 : Voltamogrammes cycliques d'une électrode de carbone vitreux nue. Mesures effectuées dans 1mM de $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$ dans 0.1M KCl; $v=100mV/s$.

III.5. Modification et caractérisation de la surface de l'électrode

Pour fonctionnaliser la surface de l'électrode, 5 µL de la solution (Cts-TM) sont déposés sur l'électrode. La surface modifiée est séchée à température ambiante pendant une nuit. Une bonne adhérence du biofilm est obtenue. La figure IV.4 présente un résumé des étapes suivies au cours de la modification de notre surface d'électrode en carbone vitreux.

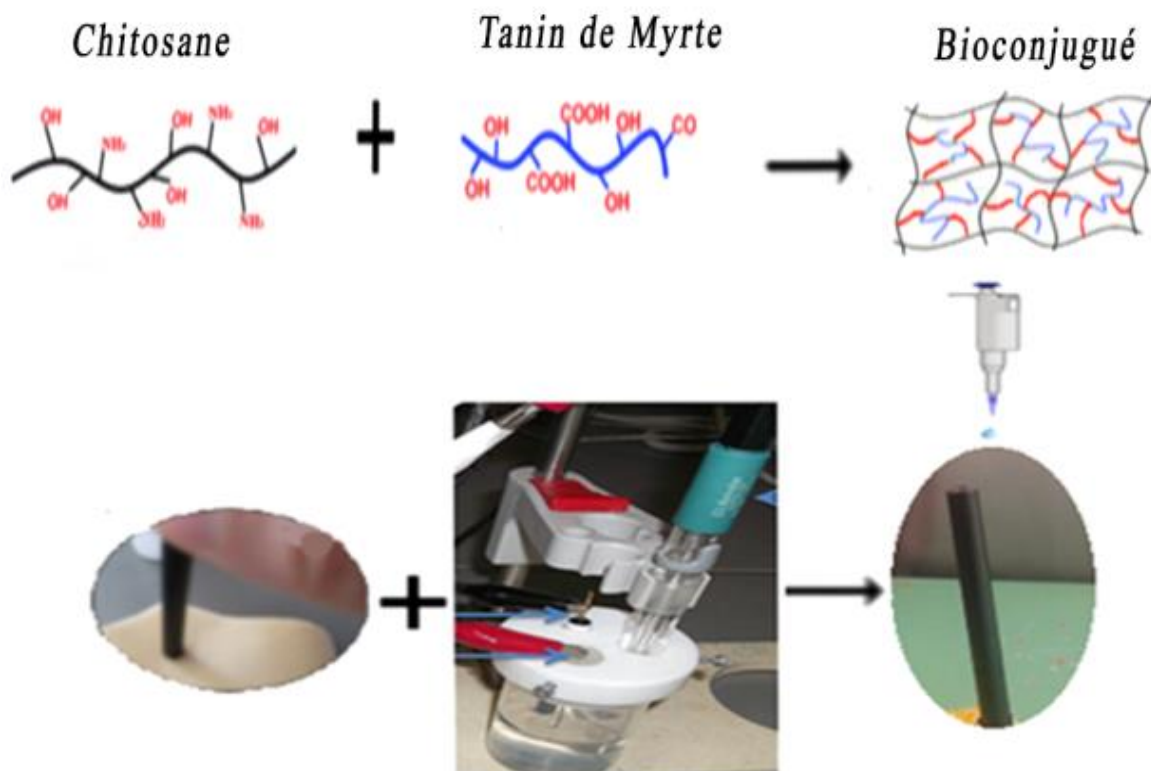


Figure IV.4 : Les étapes de fonctionnalisation de l'électrode.

III.5.1. Caractérisation par angle de contact

Afin de vérifier la stabilité et l'adhérence du film de Cts-TM déposé sur la surface de la GCE, nous avons comparé la mouillabilité de la surface avant et après modification, car la variation de la force de mouillage est extrêmement sensible aux modifications de surface. Les forces de mouillage reflètent les effets de tous les groupes fonctionnels présents sur la surface, qui sont en contact direct avec la phase liquide. Cette technique de caractérisation nous permet d'étudier l'hydrophobicité des surfaces. La valeur de l'angle de contact de l'électrode de carbone nue est de $87,5^\circ$, cette valeur reflète le caractère hydrophobe de sa surface. Après le dépôt de film, on observe une diminution de l'angle de contact à $65,0^\circ$ (Figure IV.5), montrant que la modification améliore le caractère hydrophile de cette surface. Cela peut s'expliquer par la possibilité de formation de liaisons hydrogène entre l'eau et certains groupes fonctionnels sur la couche Cts-TM. L'oxygène d'une molécule d'eau a deux paires d'électrons solitaires, chacune pouvant former une liaison hydrogène avec deux atomes d'hydrogène de groupes amino présents sur la surface Cts-TM / GCE [24].

Chapitre IV: Elaboration des électrodes à base d'un bioconjugué de chitosane-tanin de myrte

D'autre part, les atomes d'hydrogène de la même molécule d'eau se connectent aux groupes carboxyle de biofilm. Les interactions des atomes (oxygène et hydrogène) des molécules d'eau avec la surface modifiée de l'électrode ont provoqué des changements de tension superficielle et par conséquent l'angle de contact de la goutte de l'eau diminue par rapport à celui mesuré à la surface de l'électrode nue, ce qui facilite ultérieurement le processus d'échange de masse et de transfert de charge entre la solution contenant les ions cibles et le film Cts-TM. En revanche, la valeur 65° comme angle de contact est suffisamment grande pour éviter la dissolution de film dans l'électrolyte support.

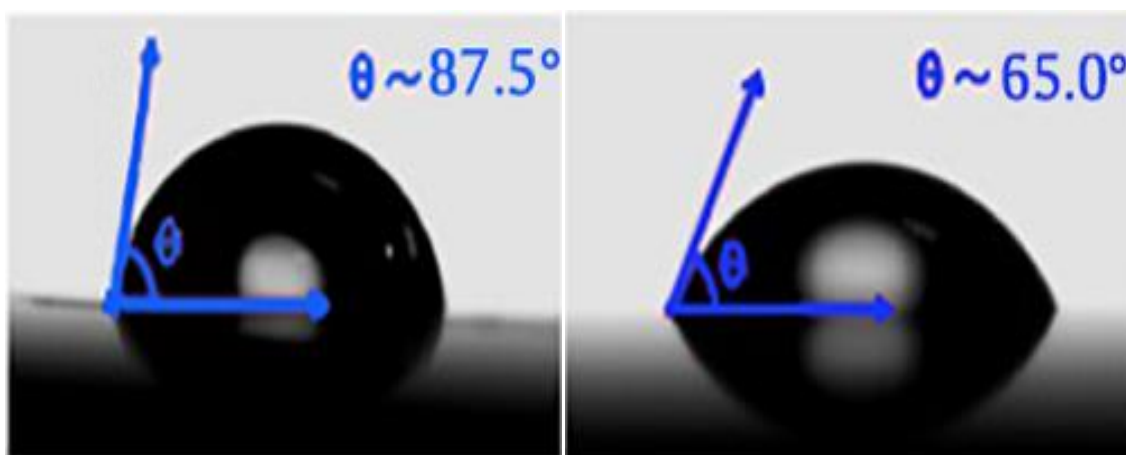


Figure IV.5: Images d'une goutte d'eau déposée sur la surface d'un substrat en carbone sérigraphique nu (gauche) et Cts-TM/SCE (droite)

III.5.2. Caractérisation par MEB

La Figure IV.6 montre l'image MEB du biofilm de chitosane et bioconjugué Cts-TM déposé sur la GCE. L'analyse MEB donne un aperçu général suffisant de la structure et de la morphologie de surface. On observe à partir des deux images que le film de chitosane est lisse et qu'il a des ondulations de grande taille en micron, tandis que, le film de bioconjugué présente une masse rugosité et amorphe d'une structure en forme de chips accumulés avec des bords frisés. Il n'est pas donc un matériau poreux, mais il a une structure de couches. C'est une structure très similaire à celle obtenue par l'image MEB d'un adsorbant à base de chitosane et tanin du plaqueminier (kaki) réalisé par Xiaojuan Li [17]. Ce résultat indique que les tanins sont interagis avec le chitosane.

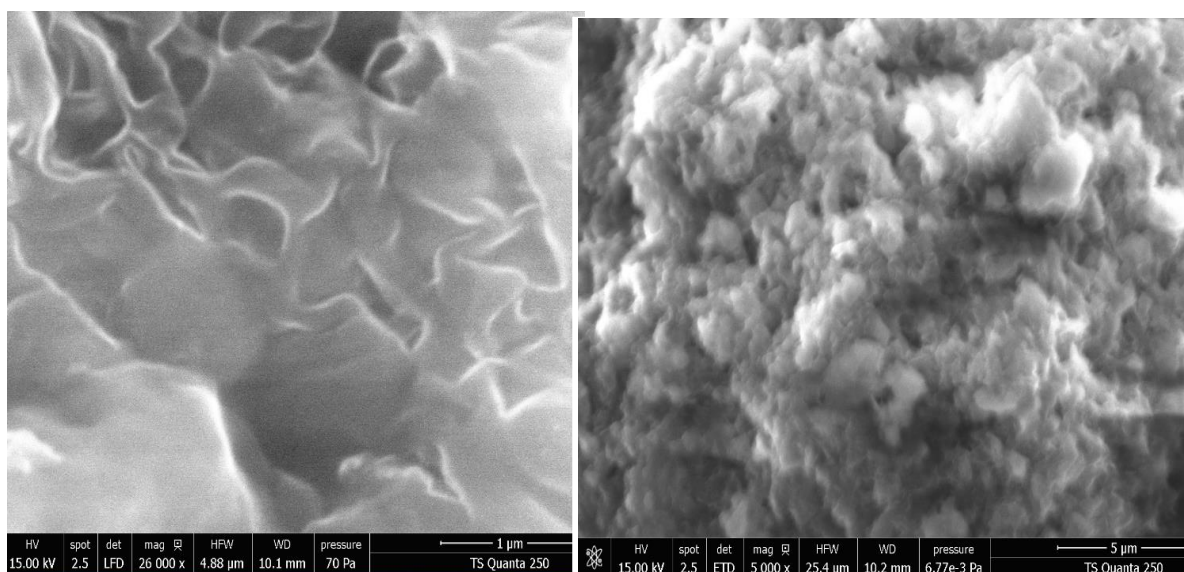


Figure IV.6: Clichés obtenus par Microscopie Electronique à Balayage de (a) biofilm de chitosane, (b) biofilm de Cts-TM.

III.5.3. Caractérisation par voltamétrie cyclique

L'électrode modifiée telle que représentée sur la figure IV.4, est caractérisée par une voltamétrie cyclique (CV) en présence de 1 mM de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ en tant que sonde redox.

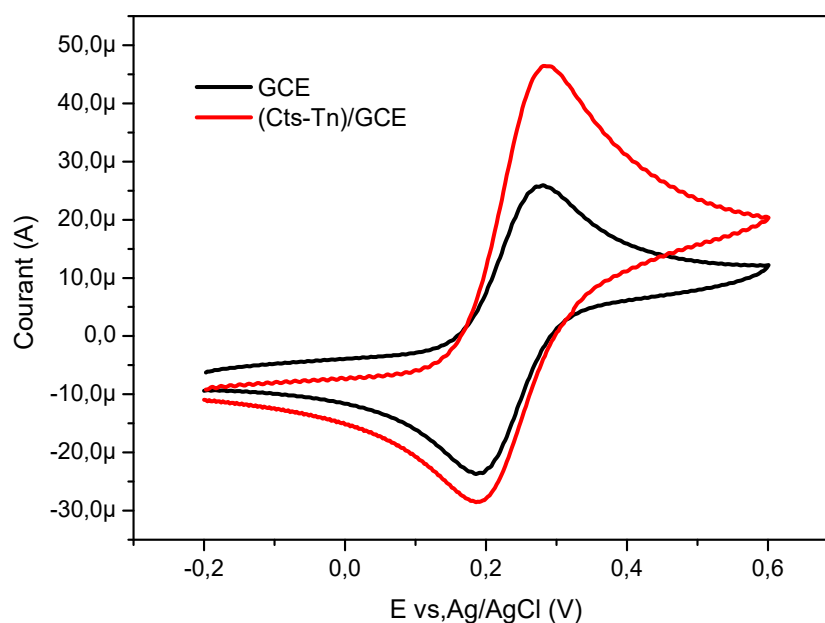


Figure IV. 7: Voltamogrammes obtenus avant et après modification de la surface de GCE. Par Cts-TM. Mesures effectuées dans 1mM de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ dans 0.1M de KCl.

Chapitre IV: Elaboration des électrodes à base d'un bioconjugué de chitosane-tanin de myrte

D'après la figure IV.7, nous remarquons que le voltamogramme du couple rédox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ présente une oxydoréduction typique, quasi-réversible avec une différence de potentiel ΔE_p de 95 mV à la GCE nue et un rapport de $\frac{i_a}{i_c} = 1.09$.

Les pics redox du courant ont augmenté après la modification de la surface de l'électrode par la couche de Cts-TM indiquant une amélioration significative de la cinétique de transfert d'électrons à la surface du Cts-TM / GCE. Cette amélioration est attribuée à la présence d'un grand nombre de défauts structuraux pouvant servir de sites électro-actifs pour les réactions électrochimiques [25].

III.5.4. Caractérisation par spectroscopie d'impédance

La capacité de transfert d'électrons sur la surface de Cts-TM/GCE est examinée par EIS avant et après le processus de modification. La figure IV.8 montre une diminution de la résistance de transfert de charge après déposition de film sur la surface de l'électrode de carbone vitreux. Cela peut signifier que le chitosane et tanin de myrte ont facilité le processus de transfert d'électrons sur la surface d'électrode. Cette amélioration en transfert de charge reflète l'activité électrocatalytique de notre film vis-à-vis de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$.

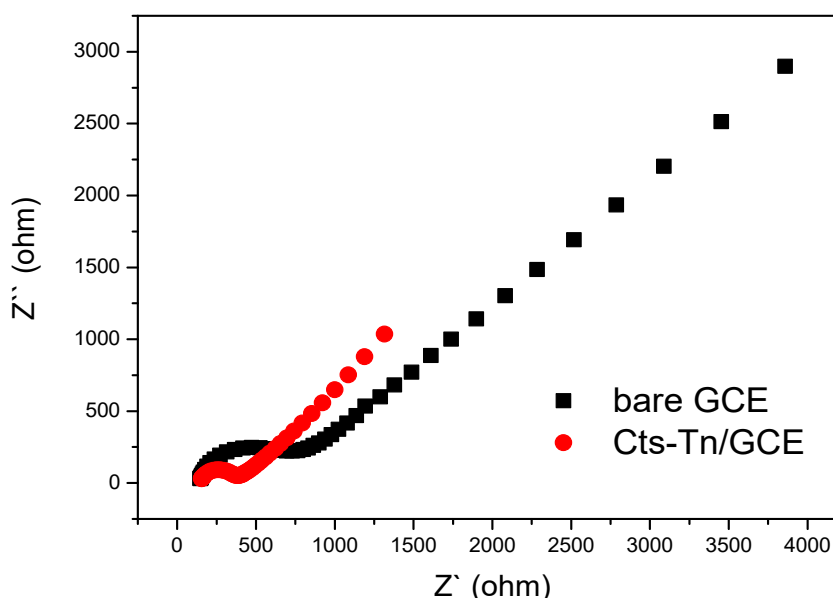


Figure IV. 8: Diagrammes de Nyquist correspondant aux GCE et Cts-TM/GCE. Les mesures ont été effectuées dans 0.1M de KCl en présence du couple redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$.

I. Application de l'électrode modifiée Cts-TM/GCE pour l'analyse des cations métalliques

La procédure analytique adoptée pour évaluer la sensibilité de notre membrane à la détection des cations cadmium (II), plomb(II), cuivre(II) et mercure(II) est la suivante :

- L'électrodéposition et la réduction simultanés des cations métalliques au sein de la membrane Cts-TM est réalisée à circuit fermé, dans une cellule électrochimique contenant une solution de tampon (acide acétique-acétate de sodium) à pH = 4.8 sous l'agitation en appliquant des valeurs pré-optimisés de potentiel et temps d'électro-dépôt.
- Après l'électrodéposition, l'agitation doit arrêter, un temps de repos (5 secondes) est pris automatiquement par le système avant de commencer la mesure par voltammétrie d'impulsion différentielle à redissolution anodique (DPASV) avec modulation d'amplitude (100 mV), potentiel de pas (2mV), temps de modulation (0.03s) et temps d'intervalle (0.2s). Pour éviter toutes pollutions qui pourraient fausser les résultats, la verrerie utilisée au cours de ces manipulations doit être lavée selon une procédure bien définie consistant à rincer à l'acide concentré afin de dissoudre toute trace d'ions métalliques, puis à rincer respectivement à l'acétone et à l'eau bidistillée.

IV.1. Optimisation des conditions analytiques de détection

Avant de construire les voltamogrammes de calibration, les conditions de mesure de la réponse de notre électrode dans la présence des quatre ions doit être optimisé en faisant varier le pH du tampon acétate 0,1 M, le potentiel d'électroréduction et le temps d'électroréduction.

IV.1.1. Effet de pH

L'optimisation du pH de la solution tampon est très intéressante du fait que les groupes complexants du biofilm utilisé ont des propriétés acido-basiques. On peut alors adapter le pH suivant la dureté ou la mollesse des cations métalliques cibles. Différentes mesures par DPASV à des valeurs de pH varient entre 3,0 et 5.8 sont réalisées afin d'étudier l'effet du pH sur le pic de courant comme indiqué la figure IV.9.

Une certaine stabilité en pic de courant est enregistrée entre 4,6 et 4,9. La diminution de la réponse vers les pH acides est probablement due à la protonation des groupes hydrophiles sur le plan de (Cts-TM). Après l'intervalle de stabilité, les valeurs de pic de courant de quatre cations ont diminué avec l'augmentation de la valeur du pH, grâce à l'hydrolyse des cations Cd^{2+} , Cu^{2+} , Pb^{2+} et Hg^{2+} . Ainsi, un pH de 4,8 était choisi comme optimal pour cette analyse.

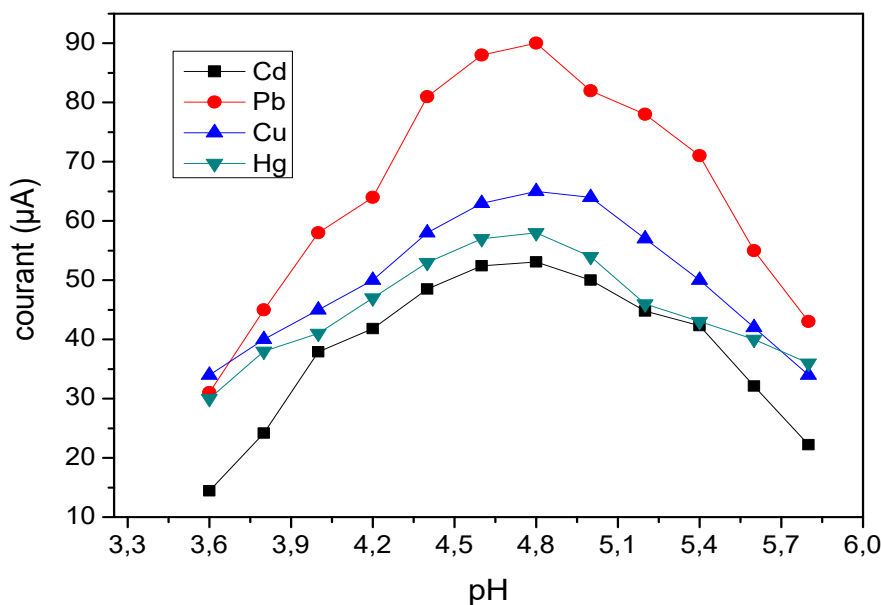


Figure IV.9 : Effet du pH sur la détection des métaux : cadmium, cuivre, plomb et le mercure.

IV.1.2. Effet de potentiel et de temps d'électroaccumulation

Le potentiel de déposition à un effet significatif sur la sensibilité, leur optimisation est très importante pour les techniques de redissolution anodique. L'influence du potentiel d'électro-réduction sur la réponse de stripage des ions Cd^{2+} , Cu^{2+} , Pb^{2+} et Hg^{2+} est étudiée entre $-0,8$ et $-1,3$ V dans les conditions de pH optimisé. D'après La figure (IV.10, a), nous remarquons que le courant de pic pour chaque ion métallique présente une dépendance remarquable vis-à-vis le potentiel de dépôt, de façon que l'intensité des courants de pic de redissolution augmentent progressivement lorsque le potentiel d'accumulation passe de $-0,8$ à $-1,2$ V, car les potentiels devient assez négatifs pour la réduction électrochimique du maximum des cations Mn^{+2} en Mn^0 . En revanche, lorsque le potentiel de dépôt devient plus négatif que $-1,2$ V, les courants de pointe diminuent en raison de la réduction d'autres produits chimiques à ces potentiels, qui interfèrent dans la détermination des ions Cd^{2+} , Cu^{2+} , Pb^{2+} et Hg^{2+} . De plus, lorsque $-1,3$ V est appliqué, la reproductibilité de stripage pour les quatre ions métalliques devenue faible, car l'évolution de l'hydrogène commençait à être significative. A ces niveaux réduits de potentiel les métaux déposés sur la surface de l'électrode pourraient être endommagés par les bulles d'hydrogène et entraîner une diminution des signaux [26, 27]. Par conséquent, dans toutes les études ultérieures, $-1,2$ V a été utilisé comme potentiel de dépôt optimal.

Chapitre IV: Elaboration des électrodes à base d'un bioconjugué de chitosane-tanin de myrte

L'effet du temps d'électroaccumulation est également étudié. La quantité d'ions métalliques accumulée sur la surface de l'électrode améliore significativement sa sensibilité. La figure (IV.10, b) montre les tracés du courant de crête en fonction du temps de dépôt pour les 4 cations dans la plage de 30 à 360 s. Jusqu'à 300 s, le courant de pointe de chaque ion augmente considérablement avec le temps de dépôt, ce qui pourrait être attribué à la préconcentration progressive d'ions métalliques à la surface de l'électrode. L'amélioration du courant de pointe est devenue moins sensible après 300s d'électrodéposition, pour s'est ensuite complètement stabilisée vers les valeurs du temps supérieures a six minutes en raison de la saturation de la surface ou de l'atteinte de l'équilibre entre les métaux complexés et les ions en solution [1, 26, 27].

Compte tenu de la sensibilité élevée dans un temps d'analyse relativement court, un temps de dépôt de 300 s est utilisé comme temps d'accumulation.

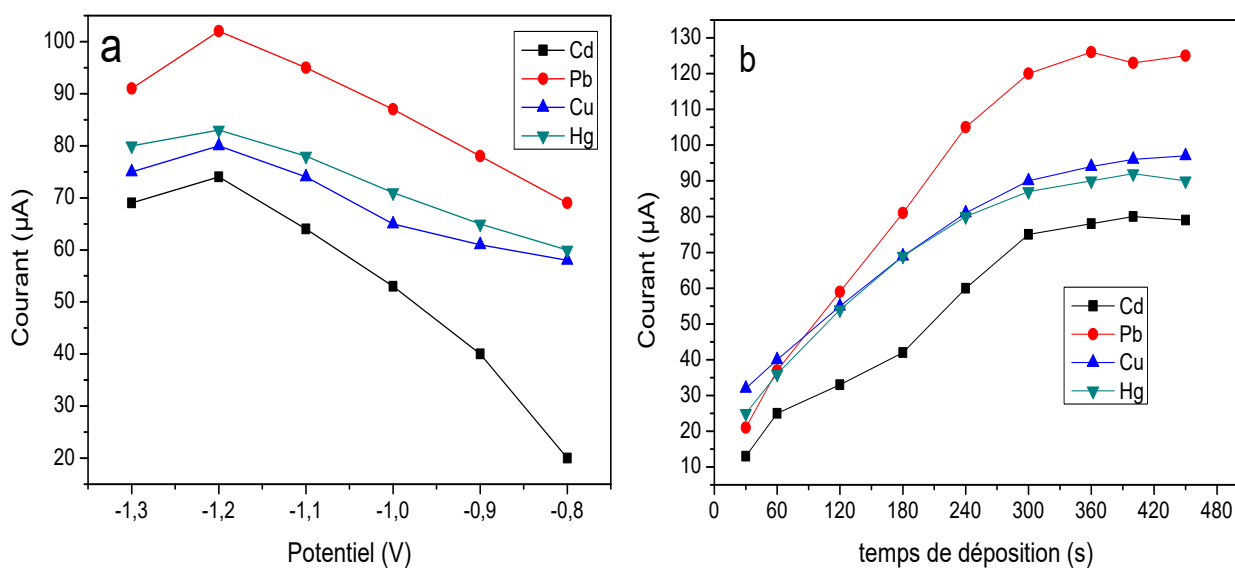


Figure IV.10 : Effet de potentiel d'accumulation (a) et du temps d'accumulation(b) sur la détection des métaux: cadmium, cuivre, plomb et le mercure.

IV.2. Détection individuelle de métaux lourds par DPASV:

L'étalonnage du système polysaccharide-polyphenol de chaque cation cible est effectué à partir d'une solution d'acétate tamponnée à pH = 4.8, dans une gamme de concentration de 5×10^{-10} à 5×10^{-6} mol/L. La variation de l'intensité de pic de stripping anodique en fonction de la concentration du cation Mn(II) ajouté individuellement dans la cellule électrochimique est représentée sur les figures ci-dessous.

IV.2.1. Analyse voltampérométrique de Cd(II):

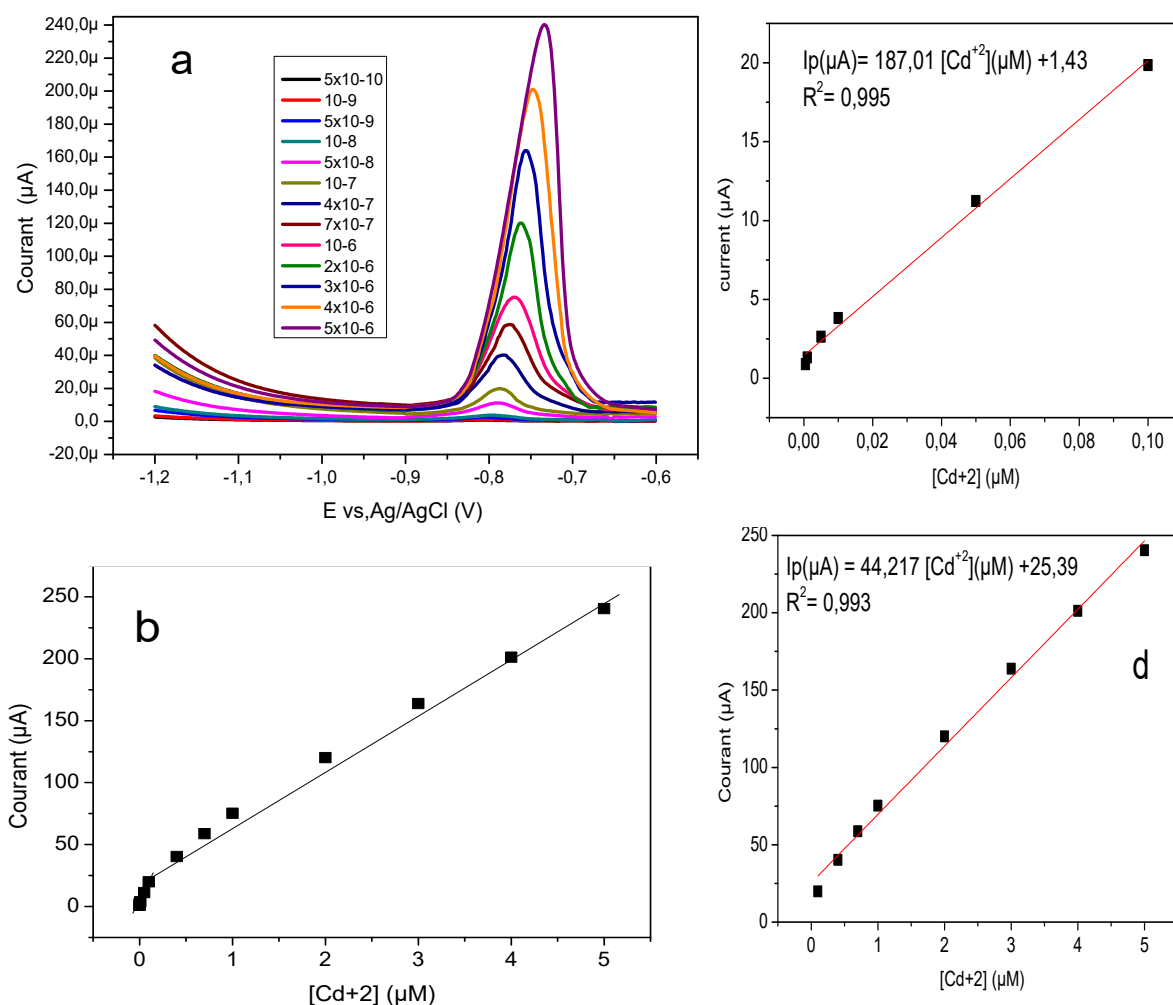


Figure IV.11 : (a) Voltammogrammes DPASV de différentes concentrations de Cd(II). Encarts: Courbes d'étalonnage linéaires correspondantes au pic de courant en fonction de la concentration de Cd (II); (b) de 0.5 nM à 5 μM, (c) de 0.5 nM à 0.1 μM et (d) de 0.1 μM à 5,0 μM. Conditions optimisées: $v = 0.1V.s^{-1}$, $[BAC] = 0,1 M$, $t_{acc} = 300s$. $E_{acc} = -1.2V$

Chapitre IV: Elaboration des électrodes à base d'un bioconjugué de chitosane-tanin de myrte

La droite d'étalonnage présente deux gammes linéaires l'une de 5×10^{-10} à 10^{-7} mol/L et l'autre de 4×10^{-7} à 5×10^{-6} . Les équations de régression linéaires pour ces deux régions sont respectivement:

$$I_p(\mu A) = 187.01 [Cd^{+2}](\mu M) + 1.43 \quad R^2 = 0,995$$

$$I_p(\mu A) = 44.217 [Cd^{+2}](\mu M) + 25.39 \quad R^2 = 0,993$$

IV.2.2. Analyse voltampérométrique de Pb(II):

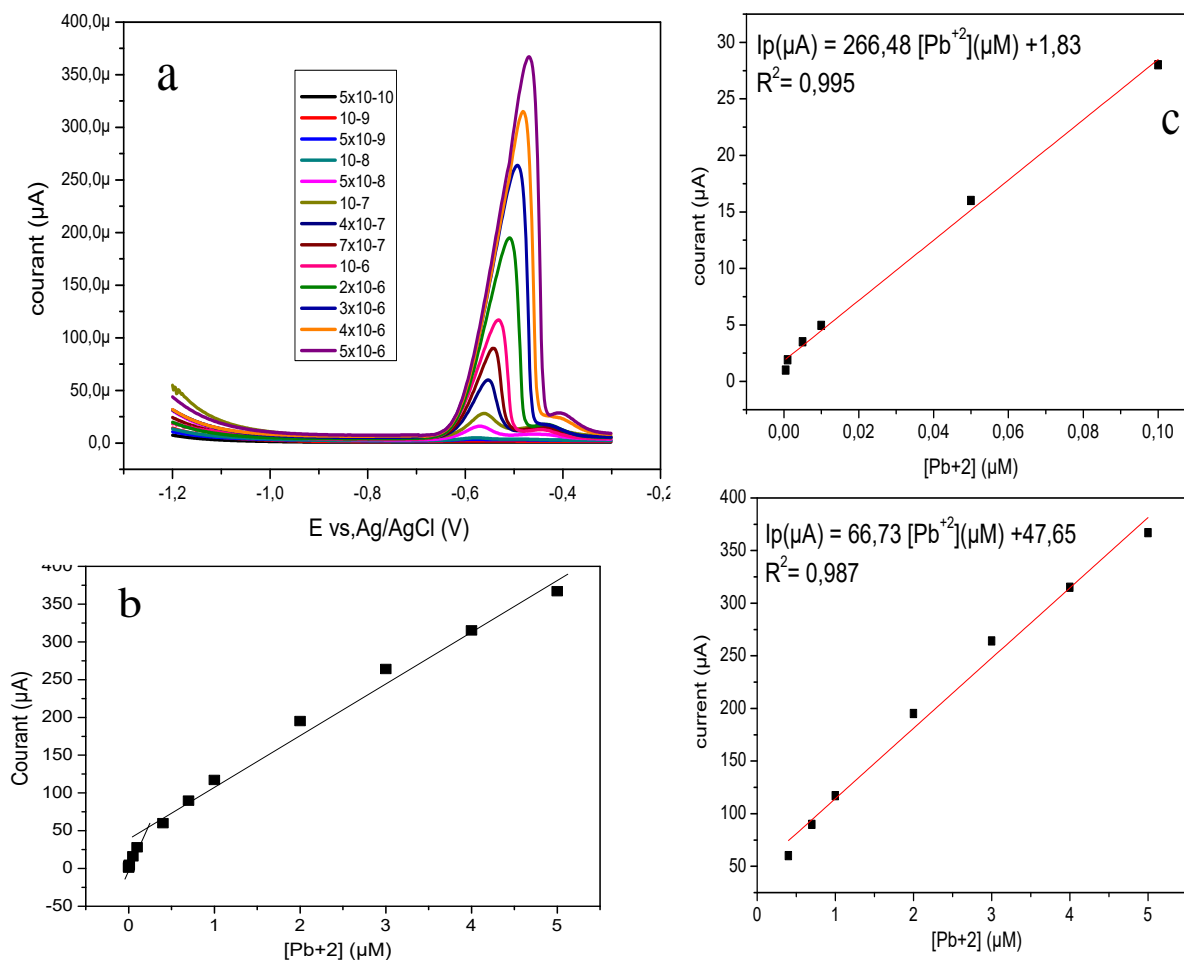


Figure IV.12 : (a) Voltammogrammes DPASV de différentes concentrations de Pb (II). Encarts: Courbes d'étalonnage linéaires correspondantes au pic de courant en fonction de la concentration de Pb (II); (b) de 0.5 nM à 5 μM, (c) de 0.5 nM à 0.1 μM et (d) de 0.1 μM à 5,0 μM. Conditions optimisées: $v = 0.1V.s^{-1}$, $[BAC] = 0,1 M$, $t_{acc} = 300s$. $E_{acc} = -1.2V$

La droite d'étalonnage présente deux gammes linéaires ; l'une de 5×10^{-10} à 10^{-7} mol/L et l'autre de 4×10^{-7} à 5×10^{-6} . Les équations de régression linéaires pour ces deux régions sont respectivement:

$$I_p(\mu A) = 266.48 [Pb^{+2}](\mu M) + 1.83 \quad R^2 = 0,995$$

$$I_p(\mu A) = 66.73 [Pb^{+2}](\mu M) + 47.65 \quad R^2 = 0,987$$

IV.2.3. Analyse voltampérométrique de Cu (II):

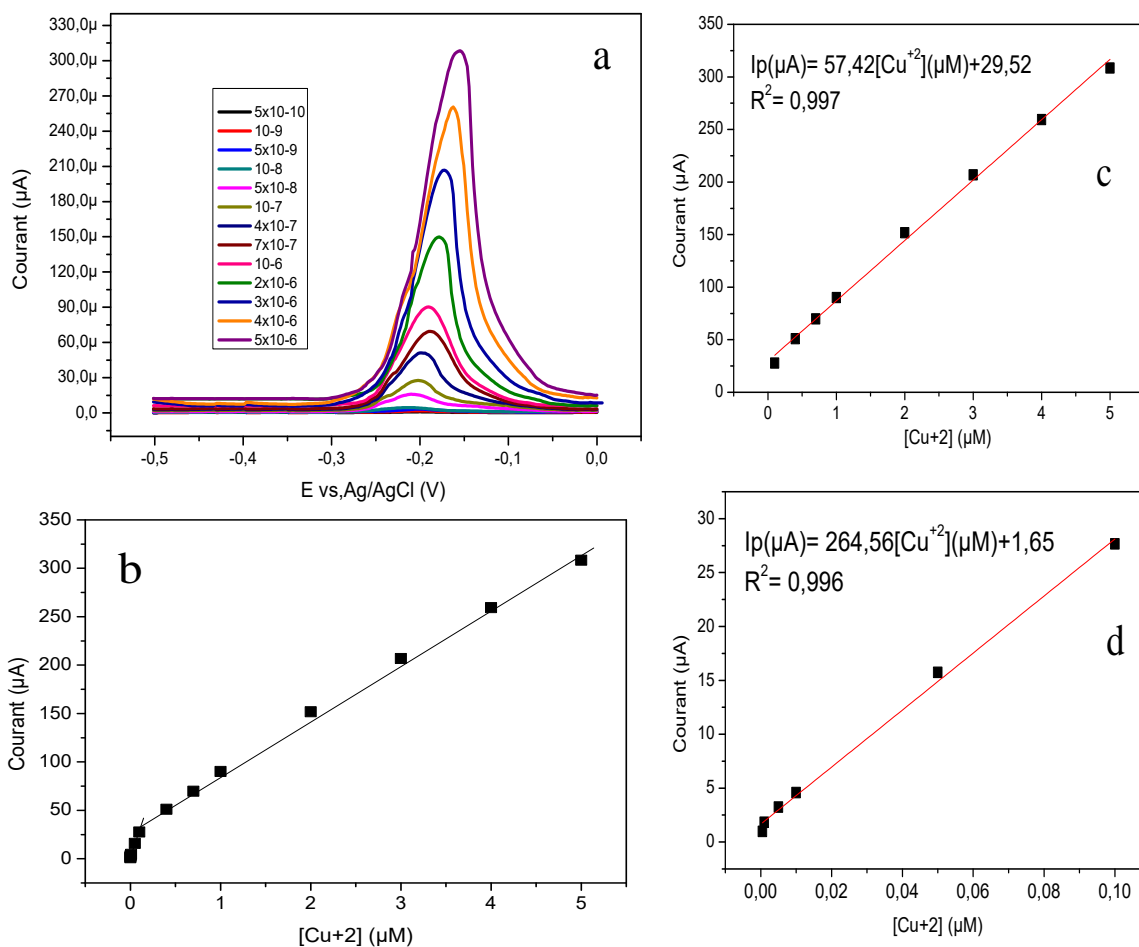


Figure IV.13: (a) Voltammogrammes DPASV de différentes concentrations de Cu(II). Encarts: Courbes d'étalonnage linéaires correspondantes au pic de courant en fonction de la concentration de Cu (II); (b) de 0.5 nM à 5 µM, (c) de 0.5 nM à 0.1 µM et (d) de 0.1 µM à 5,0 µM. Conditions optimisées: $v = 0.1V.s^{-1}$, $[BAC] = 0,1 M$, $t_{acc} = 300s$. $E_{acc} = -1.2V$

La droite d'étalonnage présente deux gammes linéaires ; l'une de 5x10⁻¹⁰ à 10⁻⁷ mol/L et l'autre de 4x10⁻⁷ à 5x10⁻⁶. Les équations de régression linéaire pour ces deux régions sont respectivement:

$$I_p(\mu A) = 264.56 [Cu^{+2}](\mu M) + 1.65 \quad R^2 = 0,996$$

$$I_p(\mu A) = 57.42 [Cu^{+2}](\mu M) + 29.52 \quad R^2 = 0,997$$

IV.2.4. Analyse voltampérométrique de de Hg (II):

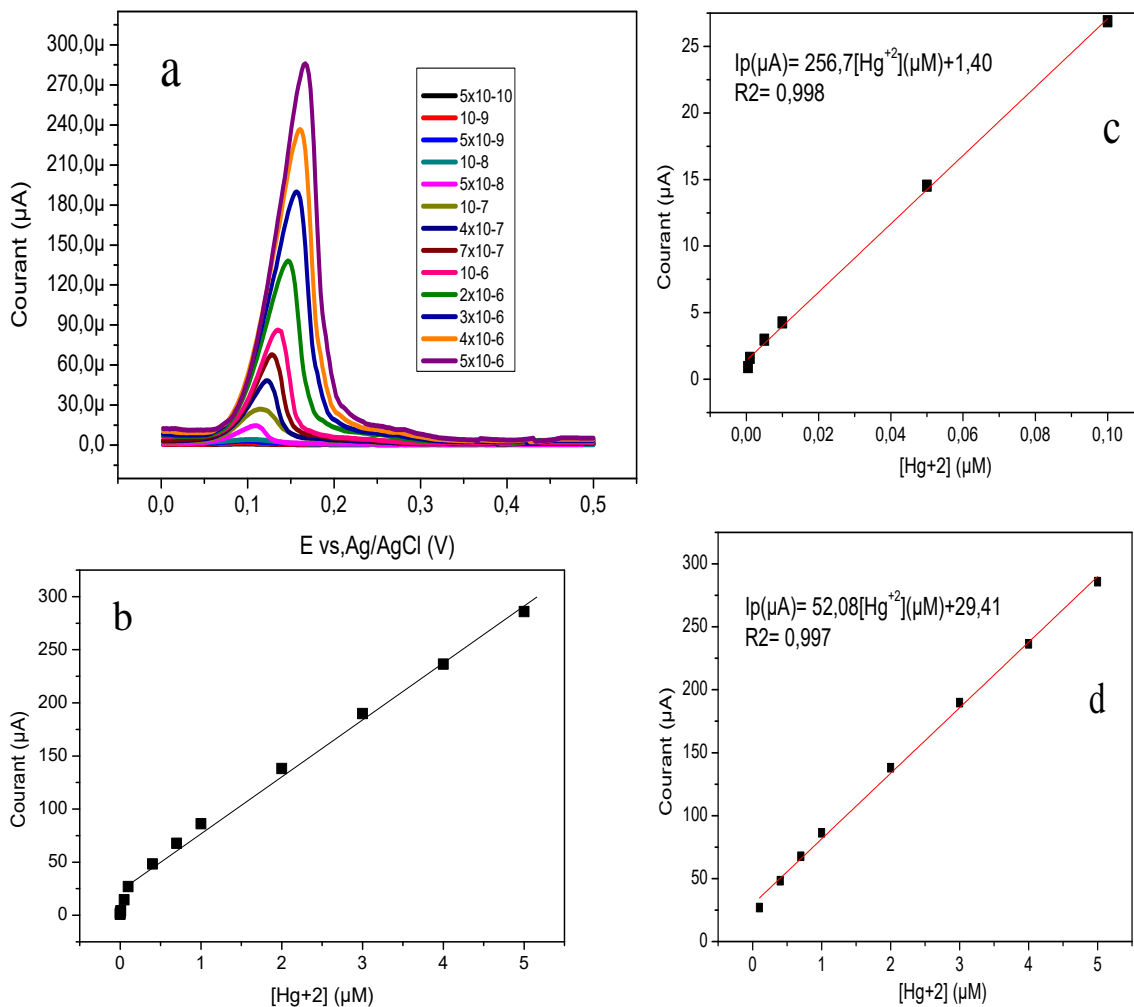


Figure IV.14 : (a) Voltammogrammes DPASV de différentes concentrations de Hg(II). Encarts: Courbes d'étalonnage linéaires correspondantes au pic de courant en fonction de la concentration de Hg (II); (b) de 0.5 nM à 5 μM, (c) de 0.5 nM à 0.1 μM et (d) de 0.1 μM à 5,0 μM. Conditions optimisées: $v = 0.1V.s^{-1}$, $[BAC] = 0,1 M$, $t_{acc} = 300s$. $E_{acc} = -1.2V$

La droite d'étalonnage présente deux gammes linéaires ; l'une de 5×10^{-10} à 10^{-7} mol/L et l'autre de 4×10^{-7} à 5×10^{-6} . Les équations de régression linéaire pour ces deux régions sont respectivement:

$$I_p(\mu A) = 256.7 [Hg^{+2}](\mu M) + 1.40 \quad R^2 = 0,998$$

$$I_p(\mu A) = 52.08 [Hg^{+2}](\mu M) + 29.41 \quad R^2 = 0,997$$

Chapitre IV: Elaboration des électrodes à base d'un bioconjugué de chitosane-tanin de myrte

La limite de détection de chaque cation par l'électrode modifiée est déterminée en appliquant la formule $LOD = \frac{3SD}{m}$, où $SD = 0.011$ est l'écart type pour dix mesures répétées d'une solution à blanc, alors que m est la pente de la courbe analytique de l'ion cible correspondante aux petites concentrations [28].

Les courbes d'étalonnage de Cd^{2+} , Pb^{2+} , Cu^{2+} et Hg^{2+} , ont montré une dépendance linéaire à la concentration. Le tableau IV.1 récapitule tous les résultats obtenus dans le cas de la détection individuelle des quatre cations métalliques sur l'électrode modifiée par le film de bioconjugué Cts-TM.

Tableau IV.1: Sensibilité et limite de détection analysés individuellement pour les cations $Cd(II)$, $Cu(II)$, $Pb(II)$ et $Hg(II)$ par la matrice Cts-TM

Cation	sensibilité ($\mu A/\mu M$)		limite de détection (M)
	$[Mn^{+2}] \leq 10^{-7}$	$[Mn^{+2}] > 10^{-7}$	
Cd^{+2}	205.51	45.63	1.76×10^{-10}
Pb^{+2}	266.48	66.73	1.23×10^{-10}
Cu^{+2}	264.56	57.42	1.25×10^{-10}
Hg^{+2}	256.70	52.08	1.28×10^{-10}

Le système polysaccharide-polyphénol semble donc sensible aux cations plomb, cuivre, mercure plus qu'aux cations cadmium(II). La sensibilité de l'électrode est diminuée avec l'augmentation de la concentration des métaux dans la solution supporte, ce qui peut s'expliquer par la saturation de la surface de l'électrode grâce à l'occupation des sites actifs du film de bioconjugué Cts-TM.

IV.3. Détection simultanée de quatre cations métalliques :

L'électrode modifiée par le nouveau bioconjugué (Cts-TM) est également utilisée pour l'analyse simultanée de $Cd(II)$, $Cu(II)$, $Pb(II)$ et $Hg(II)$. Les voltamogrammes DPASV typiques de la détection simultanée de quatre cations métalliques sous les conditions expérimentales optimales et dans une gamme de concentration allant de 5×10^{-9} à 5×10^{-6} mol/L sont affichés dans la Fig. IV.15.

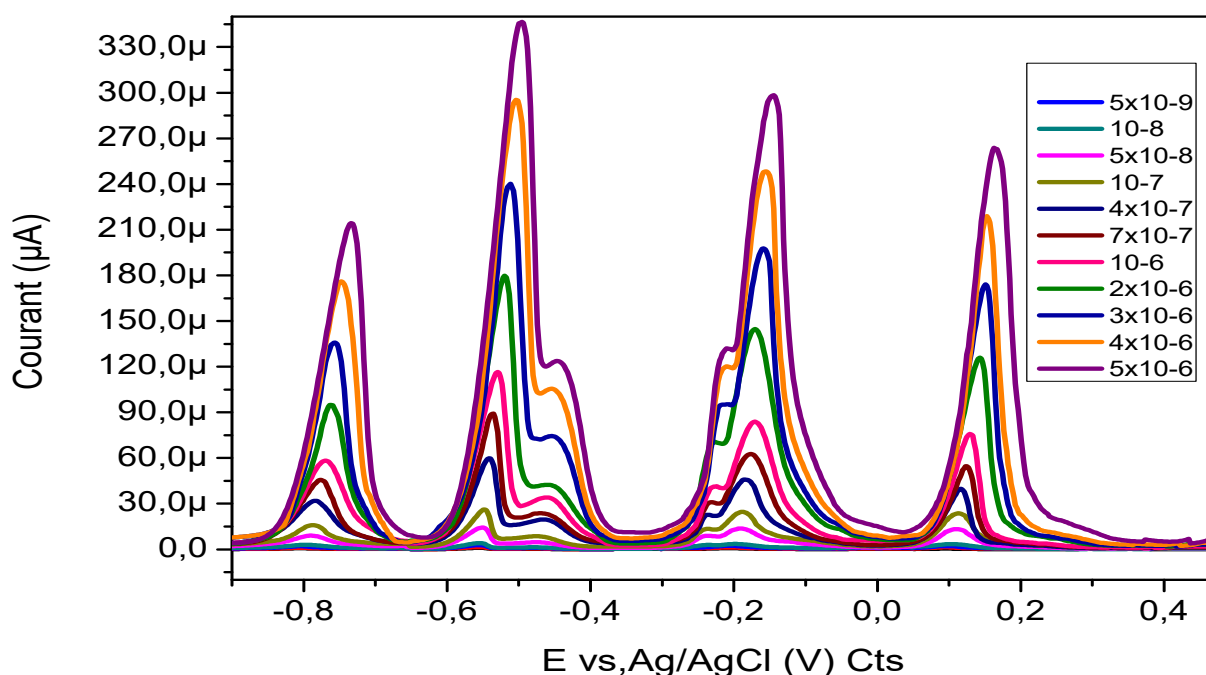


Figure 14.13: Courbes de détection simultanée par DPASV de différentes concentrations pour les quatre ions Cd^{2+} , Pb^{2+} , Cu^{2+} et Hg^{2+} par l'électrode Cts-TM / GCE, [tampon d'acétate] = 0,1 M pH 4,8, $E_{acc} = -1.2V$, $Temps_{acc} = 300s$.

Le film proposé est appliqué avec succès à la détermination simultanée des quatre cations métalliques cibles. Il montre des pics individuels pour le cadmium, le plomb, le cuivre et le mercure dans leur coexistence, sachant que la croissance des concentrations provoque une légère déplacement de potentiels des pics vers les valeurs positives ; de -0.80 à -0.73V pour Cd(II), de -0.55 à -0.495V pour Pb(II), de -0.206 à -0.144 V pour Cu(II), et de -0.09 à +0.163 V pour Hg(II). Il a été encore constaté que lorsque les concentrations des quatre ions cibles augmentent simultanément, les quatre espèces présentent des pics d'oxydation assez séparés, sans interférer les uns avec les autres. La séparation entre les pics voltampérométriques est suffisamment grande, pour considérer cette détection simultanée comme sélective. Cependant, une légère déformation pour les pics de stripping de Pb (II) et de Cu(II) a également été observée. Ce phénomène se produit généralement en raison de la présence de réactions parasites, qui attribué probablement à la formation d'un composé intermétallique Pb-Cu [29, 30]. En général, les valeurs de courant de crête sont similaires à ceux obtenus par analyse individuelle.

Chapitre IV: Elaboration des électrodes à base d'un bioconjugué de chitosane-tanin de myrte

Les courbes d'étalonnage correspondantes au chaque ion métallique lors de l'analyse simultanée des quatre ions sont représentés dans la figure IV.16.

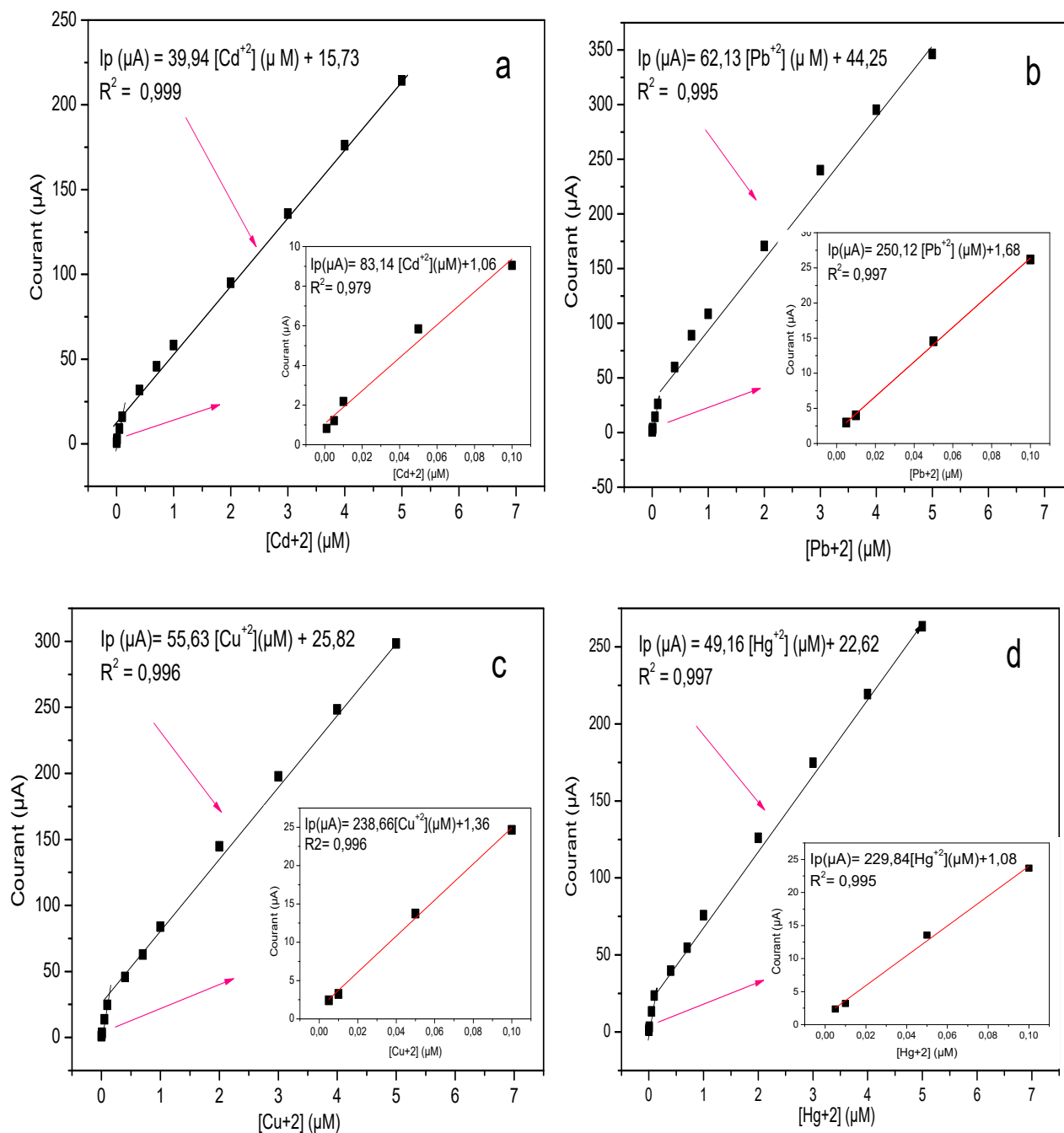


Figure IV.16: Courbes d'étalonnage linéaires correspondantes au chaque ion métallique lors de l'analyse simultanée des quatre ions dans la gamme de concentration 5×10^{-9} à 5×10^{-6} M. Encarts: Courbes d'étalonnage linéaires correspondantes à la gamme de concentration : 5 nM à 0.1 µM, utilisé pour calculer LODs. Conditions optimisées: $v = 100 \text{ mV.s}^{-1}$, $[BAC] = 0,1 \text{ M}$, $t_{acc} = 300 \text{ s}$. $E_{acc} = -1.2 \text{ V}$

Chapitre IV: Elaboration des électrodes à base d'un bioconjugué de chitosane-tanin de myrte

Tel qu'il est montré par la figure. IV.16 (a,b,c,d), Il est bien visible que les tracés d'étalonnage du courant de crête en fonction de la concentration montrent deux gammes dynamiques linéaires de 5.0×10^{-9} à 0.1×10^{-6} mol L⁻¹ et de 0.4×10^{-6} à $5,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹, pour les quatre ions métalliques. Il sont exactement similaires à ceux obtenus à partir des parcelles d'étalonnage individuelles avec des petites barres d'erreur.

Tableau IV.2: Sensibilité et limite de détection analysés simultanément pour les cations Cd(II), Cu(II), Pb(II) et Hg(II) par le système Cts-TM

Cation	Sensibilité ($\mu\text{A}/\mu\text{M}$)		Limite de détection (nM)
	$[\text{Mn}^{+2}] \leq 10^{-7}$	$[\text{Mn}^{+2}] > 10^{-7}$	
Cd⁺²	150.69	39.94	0.397
Pb⁺²	250.12	62.13	0.132
Cu⁺²	238.66	55.63	0.138
Hg⁺²	229.84	49.16	0.143

En comparant les valeurs de la sensibilité et de l'intensité des pics de courant avec celles obtenues par calibration individuelle, nous remarquons une très légère diminution attribuée à la formation de complexes intermétalliques. A notre connaissance, une telle détection simultanée de Cd²⁺, Pb²⁺, Cu²⁺, et Hg²⁺ sans compromettre la sensibilité n'a pas été rapportée dans la littérature. Ainsi, on peut conclure que le capteur proposé peut être appliqué avec succès pour la détermination simultanée de ces quatre ions même avec des échantillons réels.

La comparaison de Cts-TM / GCE avec d'autres électrodes modifiées pour la détermination de ces ions métalliques a été répertoriée dans le tableau IV.3. On pouvait voir que le capteur proposé était comparable et même meilleur aux rapports précédents. Ces résultats indiquent que le Cts-TM est une plateforme appropriée pour la détermination de ces ions métalliques simultanément.

Chapitre IV: Elaboration des électrodes à base d'un bioconjugué de chitosane-tanin de myrte

Tableau IV.3 : Comparaison analytique des performances de notre capteur avec quelques autres de la littérature.

Electrode	Méthode	Limite de détection (nM)				Réf
		Cd(II)	Pb(II)	Cu(II)	Hg(II)	
L-MWCNT-CPE	SWV	–	0.60	–	0.90	27
N-doped G/GCE	DPASV	50.00	5.000	5.00	50.00	29
Graphene-CeO2/GCE	DPASV	0.194	0.106	0.163	0.277	30
NFC/GCE	DPASV	5.000	0.500	5.000	0.500	31
SnO2 /r graphene oxide	SWASV	0.101	0.184	0.227	0.279	32
BTPSBA/CPE	DPASV	–	40.00	200.0	400.0	33
N-doped G/GCE	DPASV	50.00	5.000	5.000	50.00	34
Ag-bipy- CP/PMB/GCE	DPV	-	11.00	11.00	0.450	35
L-cys-rGO/GCE	DPASV	3.25	2.00	4.10	5.55	36
AgNps/RGO	ASV	254	141	178	–	37
RGO/Bi/CPE	DPASV	24.91	2.65	409.2	–	38
CB-18-crown-6-GEC	DPASV	21.35	7.24	23.60	–	39
CNT threads	ASV	1.900	1.500	0.270	–	40
Cts-TM/GCE	DPASV	0.397	0.132	0.138	0.143	Ce travail

II. Conclusion

Un nouveau bioconjugué Cts-TM est préparé avec succès par combinaison entre un polysaccharide et un polyphenol. Ce biomatériau s'est avéré efficace pour la modification d'une électrode GCE pour la détermination simultanée de Cd (II), Pb (II), Cu (II) et Hg (II). Les résultats obtenus suggèrent que le bioconjugué chitosane-tanin de myrte est un matériau prometteur qui possède l'avantage de stabilité dans les milieux aqueux légèrement acides, de plus, il combine l'affinité élevée des deux biopolymères vis-à-vis la détection électrochimique des ions de métaux lourds. Les limites de détection obtenues sont bien plus inférieures à la valeur guide donnée par l'Organisation mondiale de la santé (OMS), prouvent que l'électrode modifiée fournit une nouvelle stratégie alternative pour la quantification électrochimique des ions lourds. Parmi les ions testés, la sensibilité la plus élevée et la limite de détection la plus basse sont obtenues pour l'ion Pb (II), ce qui peut être attribué à la meilleure affinité du plomb pour la couche Cts-TM.

Partie B : Développement d'un capteur électrochimique a base d'une matrice a empreinte ionique pour la détection sélective des ions Pb(II)

I. Introduction

La sélectivité des capteurs électrochimiques est un autre critère important que les chercheurs tentent de développer. Parmi les solutions disponibles, l'approche des polymères à empreinte ionique est considérée comme un bon choix. D'après les résultats de la première partie de ce chapitre, le film à base de chitosane et le tanin de myrte présente une affinité aux ions de plomb plus au moins supérieure par rapport aux autres cations. Sur la base de cette remarque, nous abordons dans cette deuxième partie la possibilité d'élaborer une matrice à base de l'ensemble [chitosane--polyphénols de myrte] comme polymère dans lequel les ions de plomb sont imprimés. La faisabilité de l'utilisation des interactions coordonnées réversibles entre l'ion métallique Pb(II) et les groupes amino et hydroxyle de film pour former des sites de reconnaissance ionique est excellente pour la détection sélective des ions de Pb(II). L'électrode modifiée par cette nouvelle matrice est utilisée avec succès pour détecter la teneur en plomb dans l'eau. Les propriétés morphologiques, le comportement électrochimique, la sélectivité et la reproductivité de la membrane IIP comme modificateur d'électrode en carbone vitreux sont tous étudiés.

II. Etat de l'art

Semblable à l'approche des polymères à empreinte moléculaire (MIP), la technique du polymère à empreinte ionique (IIP) est une méthode intelligente ; considérée aujourd'hui, comme tendance dans le domaine des bio/chimio-capteur [41, 42]. Le principe de l'IIP est de créer une matrice avec des cavités spécifiques ayant la même forme et la même taille que l'ion cible appelé «sites imprimés» [43, 44]. La construction de la matrice à empreinte ionique peut être réalisée en suivant plusieurs approches. La réticulation de polymères à chaîne linéaire portant des groupes fonctionnels qui peuvent lier aux métaux est la technique la plus ancienne utilisée pour la préparation des IIP. Nishide et al. ont utilisé, pour la première fois, l'effet de la matrice ionique dans la synthèse de polymères chélateurs en 1976. Ils ont en effet copolymérisé du poly (4-vinylpyridine) avec du 1,4-dibromobutane en présence de Cu (II), Fe (III), Co (II), Zn (II), Ni (II) ou ion Hg (II) [45, 46]. Le comportement d'adsorption de six

Chapitre IV: Elaboration des électrodes à base d'un bioconjugué de chitosane-tanin de myrte

métaux a été étudié et les résines adsorbent préférentiellement l'ion métallique cible utilisé à chaque fois. Ce concept a été rapidement repris par Kabanov et al. en 1979. Ils ont réticulé un copolymère d'ester diéthylique d'acide vinylphosphonique et d'acide acrylique avec des ions métalliques [47, 48]. Néanmoins, l'application de cette procédure en ce qui concerne les cations est, aujourd'hui, concentrée sur l'utilisation des polymères linéaires naturels tels que la cellulose et le chitosane. Lin et al. ont utilisé la cellulose par dissoudre le linter de coton, dans un liquide ionique avant d'induire une copolymérisation greffée avec du MBA (N, N'-Méthylènebisacrylamid), comme réticulant, et un complexe d'acide acrylique-Pb (II) [49]. Ils ont obtenu des billes imprimées avec une bonne sélectivité pour Pb (II) dans la présence de Cu (II) et Ni (II). Le chitosane devient un adsorbant très populaire pour l'élimination des ions métalliques grâce à ses groupes complexants amino et hydroxyle. Cependant, la technologie de l'IIP peut l'aider d'améliorer sa stabilité par réticulation, et sa sélectivité par impression. Dans un tel cas, aucune polymérisation radicalaire n'est effectuée puisque les réactions de condensation avec l'épichlorhydrine ou le glutaraldéhyde fournissent l'étape de réticulation. Ohga et al. [50] ont développé une résine imprimée au cadmium par réticulation de chitosane avec de l'épichlorhydrine. La colonne de l'adsorption remplie de la résine imprimée a pu séparer le cadmium (II) du cuivre (II) et du mercure (II). De l'autre part, Chen et al. ont préparé des microparticules de chitosane imprimées avec une série d'ions métalliques cibles, a savoir : Cu(II), Zn(II), Ni (II) ou Pb(II) par réticulation soit avec de l'épichlorhydrine [51] soit du glutaraldéhyde [52]. Ils ont supposé qu'avant la réticulation, l'ion métallique a été formé un complexe avec deux chaînes polymères via les fonctions amino et hydroxyle. Dans un travail similaire, Nishad et al. [53] ont travaillé avec Co(II) comme matrice et l'épichlorhydrine comme agent de réticulation. Par une voie plus compliqué, Dhakal et al. [54] ont d'abord fonctionnalisé le chitosane désacétylé par formation de bases de Schiff dans une première étape, avant de procéder une réduction supplémentaire pour obtenir "chitosane N- (2 pyridylméthyl)". Les ions Ni(II) ou Cu(II), ont été complexés par les atomes d'azote d'un groupe pyridyle et d'une unité chitosane avant d'être réticulés par l'épichlorhydrine. Shawky [55] a préparé une membrane imprégnée d'ions Ag (I) en réticulant un mélange de chitosane et de PVA poly (- alcool vinylique) (un matériau de formation de membrane bien connu) avec du glutaraldéhyde. Cette procédure a également été appliquée par Wang et al. [56] qui ont amélioré la capacité d'adsorption membranaire par optimisation des proportions des différents composants de la membrane. Un autre biosorbant a été préparé également par Huo et al. [57], en utilisant le chitosane, le mycélium et de l'épichlorhydrine pour produire une matrice

Chapitre IV: Elaboration des électrodes à base d'un bioconjugué de chitosane-tanin de myrte

imprimé à l'Ag (I). De leur part, M. Monier et al. [41] ont appliqué la technique d'empreinte ionique dans la synthèse d'une base de Schiff en utilisant le chitosane et 2-aminobenzaldéhyde pour obtenir une résine sélective chélatrice des ions Pd (II). Dans un deuxième travail, la même base de Schiff 2-mercaptobenzaldéhyde-chitosane a été préparée tout d'abord puis interagie avec les ions Au (III). Le complexe polymère Au (III) obtenu a été réticulé ensuite par l'épichlorhydrine (ECH) avant d'extraire les ions cibles Au (III) hors de la matrice réticulée [58]. Un autre nouvel adsorbant à haute efficacité, imprégné d'ions plomb, a été développé par Yan Li et al. [59], un enchevêtrement de nanofibres de chitosane produit par électrofilage d'une solution de chitosane avec du plomb Pb (II), et du glutaraldéhyde comme réticulant. Tous les travaux mentionnés ont appliqué l'approche de la chaîne polymère linéaire réticulée par réactif bifonctionnel dans le domaine de l'adsorption. Cependant, l'application comme modificateurs de surfaces d'électrodes destinés à la détection de métaux lourds est limitée jusqu'à présent à quelques travaux isolés. Parmi eux, nous citons le travail de Shuping Wu et al.[42], ils ont suivi une électrodéposition d'un mélange nanocomposites de chitosane-graphène en présence de Cr(III) sur la surface d'un disque en or comme électrode, avant l'extraction du cation, une solution de 0.25% glutaraldehyde est utilisé pour la réticulation.

L'idée originale faisant l'objet de cette partie du chapitre IV, est l'application de l'impression des ions métalliques pendant la construction de bioconjugué chitosane_tanin de Myrte. Afin d'obtenir une matrice plus condensée, stable et résistante pendant la phase d'extraction du cation cible, le glutaraldehyde est utilisé comme agent de réticulation.

III. Elaboration d'électrodes

III.1. Appareillage

Toutes les mesures électrochimiques sont réalisées en utilisant une cellule à trois électrodes et un potentiostat/galvanostat Autolab, PGSTAT 320N interfacé avec un ordinateur contrôlé par de logiciel autolab NOVA 1.5 (figure IV.1. Partie A). Les images par microscope électronique à balayage (MEB) de film déposé sur une électrode sérigraphiée en carbone sont obtenues par un appareil 'Thermo Scientific Q250'. Un pH-mètre 3505 JENWAY est utilisé pour l'ajustement de pH.

Les essais liées au cette partie étaient également manipuler au niveau du laboratoire des interfaces et des matériaux avancés (LIMA) de la faculté de sciences de Monastir en Tunisie.

III.2. Modification de la GCE par l'IIP

La figure IV.17 résume le processus d'impression des polymères par les ions de Pb(II) et la modification des électrodes. Ce processus peut être divisé en trois étapes:

III.2.1. Préparation de la matrice polymérique

Une solution légèrement visqueuse de polymère est préparée par dissolution d'un 0,1 g de chitosane dans 100 ml d'acide acétique (0,5% v / v) pendant 2 heures, dont 20 min sous vibration ultrasonique. Ensuite, la fraction insoluble est éliminée via du papier wattman de 0,7 μm . 2 ml de l'extrait du tanin de Myrte et 1 ml de solution de nitrate de plomb (concentration initiale 10^{-2} M) sont ajoutés dans 10 ml de solution de chitosane; le mélange est laissé sous agitation à température ambiante pendant 4 heures.

III.2.2. Dépôt de la matrice préparée sur le GCE

L'électrode en carbone vitreux ($\Phi = 3$ mm) est polie à la main avec 0,05 μm d'alumine solide à l'aide d'un chiffon de polissage. Pour éliminer la trace d'alumine, le GCE est soigneusement rincé avant de traiter par vibrations d'ultrason respectivement dans une solution aqueuse de H_2SO_4 (1: 1) puis dans l'eau ultra pure pendant 5 min. Ensuite, 10 μl de mélange [chitosane-tanin-Pb(II)] sont déposés sur la surface propre de la GCE par micropipette (voir figure IV.18). Après quelques heures de séchage, la surface est soigneusement lavée avec de l'eau ultra pure pour éliminer la fraction de plomb libre avant de laisser sécher une autre fois. Le Cts-Pb-Tn / GCE est immergé dans une solution de glutaraldéhyde à 0,125% pendant 30 min, puis rincé abondamment avec de l'eau ultra pure et de l'acétone.

III.2.3. Extraction des ions du plomb

Après l'étape de réticulation, l'électrode est transférée au traitement avec HCl 0,1 M sous l'agitation magnétique jusqu'à l'extraction totale des ions de Pb(II) Ceci est testé par l'absence de tout courant dû à la redissolution des ions Pb(II). L'électrode modifiée (IIP/GCE) est finalement rincée par l'eau ultra-pure. Sans ajout des ions Pb(II), la même procédure a été suivie pour préparer le capteur NIP / GCE comme témoin.

Chapitre IV: Elaboration des électrodes à base d'un bioconjugué de chitosane-tanin de myrte

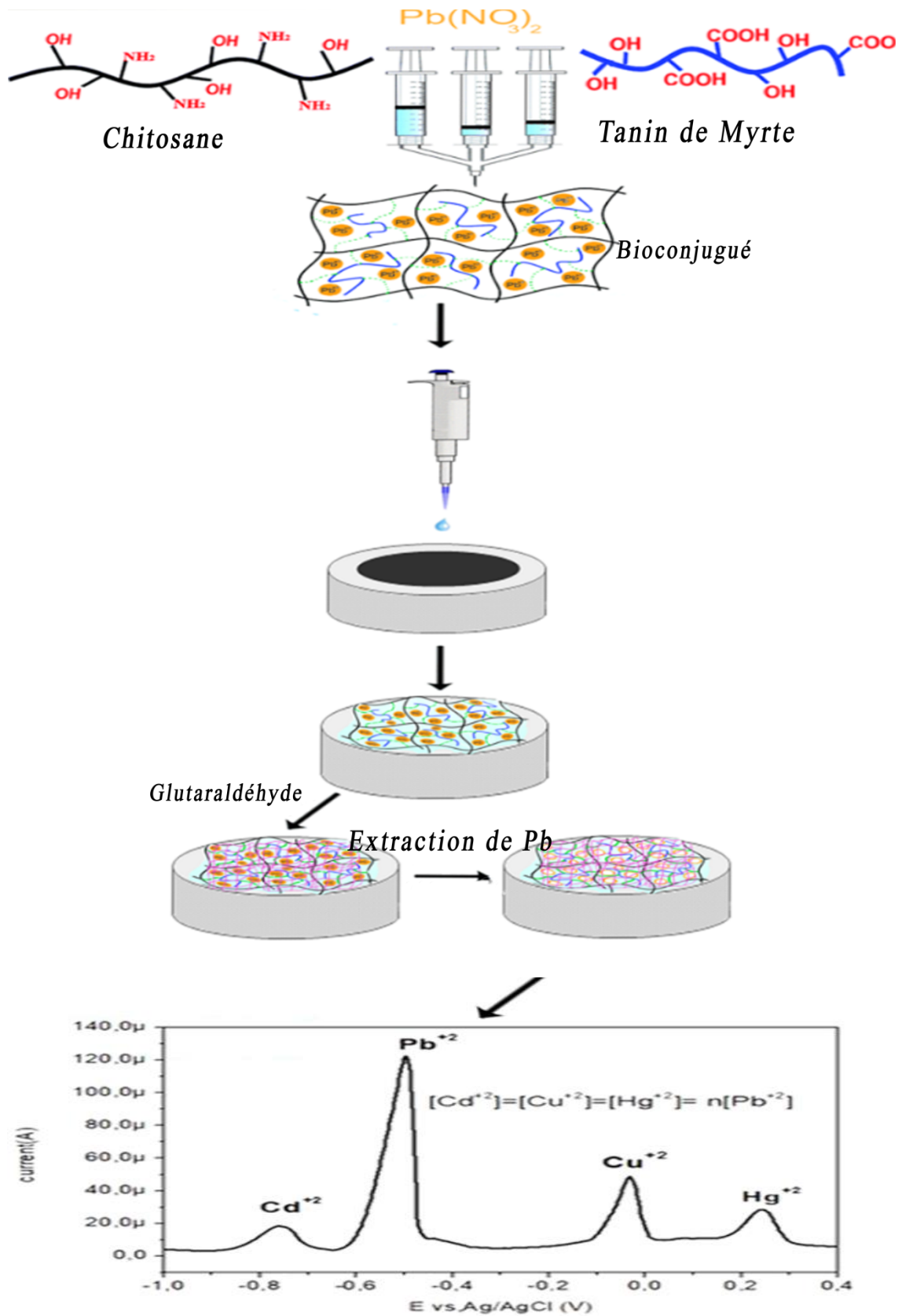


Figure IV.17 : Illustration schématique du processus d'impression des polymères et de modification des électrodes



Figure IV.18 : Le dépôt de la membrane sur la surface de GCE

III.3. Caractérisation de la surface modifiée

III.3.1. Caractérisation morphologique par MEB

L'image de microscopie électronique à balayage obtenue pour le film IIP déposé sur la surface d'électrode de carbone sérigraphiée est montrée sur la figure IV.19. Différentes tailles de particules peuvent être distinguées, leur diamètres variaient entre 200 nm à environ 400 nm, entrecoupées d'une structure poreuse tridimensionnelle de forme irrégulière. Sous certaines conditions de synthèse, des nanoparticules de la même gamme de taille ont été obtenus dans d'autres travaux [60, 61, 62].

Dans ce type de conjugaison, toute variation des conditions de synthèse, y compris la concentration initiale de chitosane et de polyphénol, l'agent de réticulation et la vitesse d'agitation peuvent affecter la taille des nanoparticules individuelles. Cependant, il n'y a aucun accord dans la littérature sur la façon dont ces facteurs affectent la morphologie des nanoparticules à base de chitosane- polyphénols.

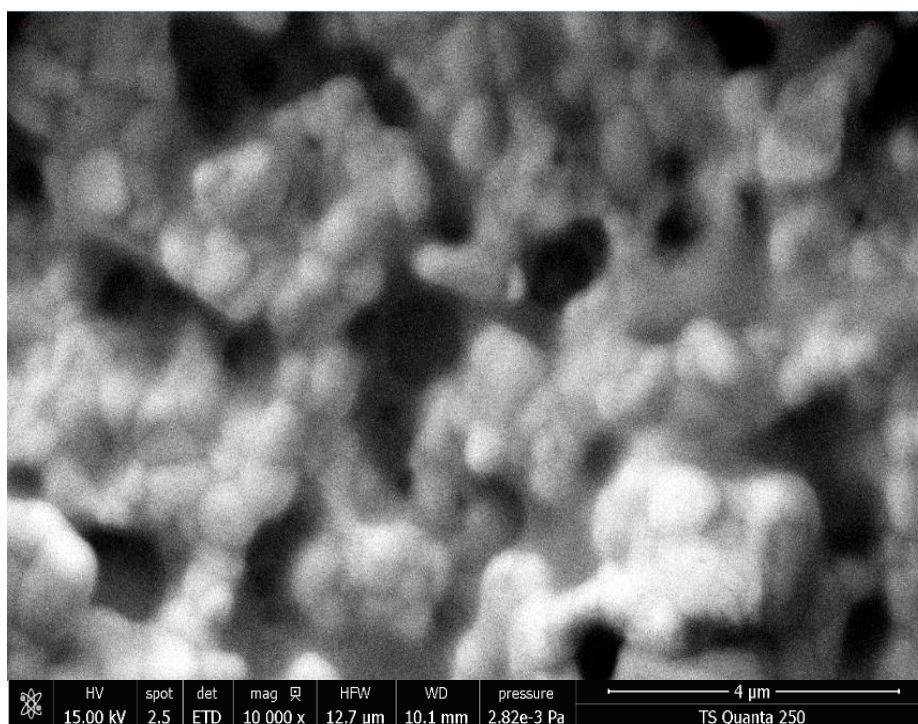


Figure IV.19: Image MEB de la matrice IIP après extraction du plomb

III.3.2. Caractérisation électrochimique par voltamétrie cyclique

Les voltammogrammes cycliques de 1 mM $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ comme sonde redox, dans une solution de 0,1 M KCl comme électrolyte support (voir Figure IV.20) ont présenté une claire différence d'une électrode à l'autre, en termes de la hauteur de pic, de l'espacement de potentiel de pics (ΔE_p) et du rapport entre les densités de courants de pic anodique et cathodique (I_{pa} / I_{pc}). Les valeurs de ces paramètres sont regroupées dans le (tableau IV.5). Ces différences peuvent prouver le revêtement de chaque matrice sur les surfaces des électrodes. L'électrode GCE nue (courbe noir) présentait des pics redox bien définis; l'une attribuée à l'oxydation du $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ et l'autre à la réduction du $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$. La quasi-réversibilité de la réaction redox ($\text{Fe}^{3+} / \text{Fe}^{2+}$) est démontrée par la valeur du rapport (I_{pa} / I_{pc}), qui était proche de l'unité [31], ainsi que par la séparation (ΔE_p), qui était supérieure à $(0,059 / n)$ V. L'ajout de (Cts-TM) comme modificateur présente une excellente réaction avec les ions cyanure ferreux / ferrique par rapport au GCE nue. Un courant de crête élevé est obtenu, prouvant l'efficacité de la combinaison entre Cts et tanin de myrte dans l'amélioration de la surface active, grâce aux sites de liaison dans les deux biopolymères.

Chapitre IV: Elaboration des électrodes à base d'un bioconjugué de chitosane-tanin de myrte

De plus, $I_{pa} / I_{pc} \gg 1$ indique que le couple (Fe^{3+} / Fe^{2+}) a présenté une réaction quasi-irréversible vers irréversible. La modification par le film NIP / GCE (courbe bleu) a considérablement réduit les pics anodiques et cathodiques par rapport au GCE nue, ce qui signifie que la réticulation par glutaraldéhyde diminuait le nombre de liaisons libres. Le IIP/GCE avant extraction (courbe vert) présentait des pics redox mal définis, car les ions $Pb(II)$ ont occupé la majorité des sites actifs libres, en plus de la réticulation par glutaraldéhyde, en tant qu'agent bifonctionnel, ce qui entraînait une grande condensation des liaisons et rendait la surface moins perméable à la sonde active pour aller au contact avec la surface GCE. La réponse de l'électrode s'est un peu améliorée après l'élimination du plomb (courbe rose) cela peut être dû à la diffusion de certains ions $Fe(CN)_6^{(3-/4-)}$ à travers les canaux qui sont créés [63]. Cependant, en raison du caractère perm-sélectif de ces cavités aux ions du plomb, le taux de transfert d'électrons du couple redox $Fe(CN)_6^{(3-/4-)}$ à travers le film (IIP / GCE) est un peu lent par rapport aux autres électrodes. Et cela peut confirmer par la comparaison des valeurs de la séparation entre les potentiels de pic redox $(\Delta E_p)_{IIP / GCE} \gg (\Delta E_p)_{GCE\ nue, (Cts-Tn) / GCE}$.

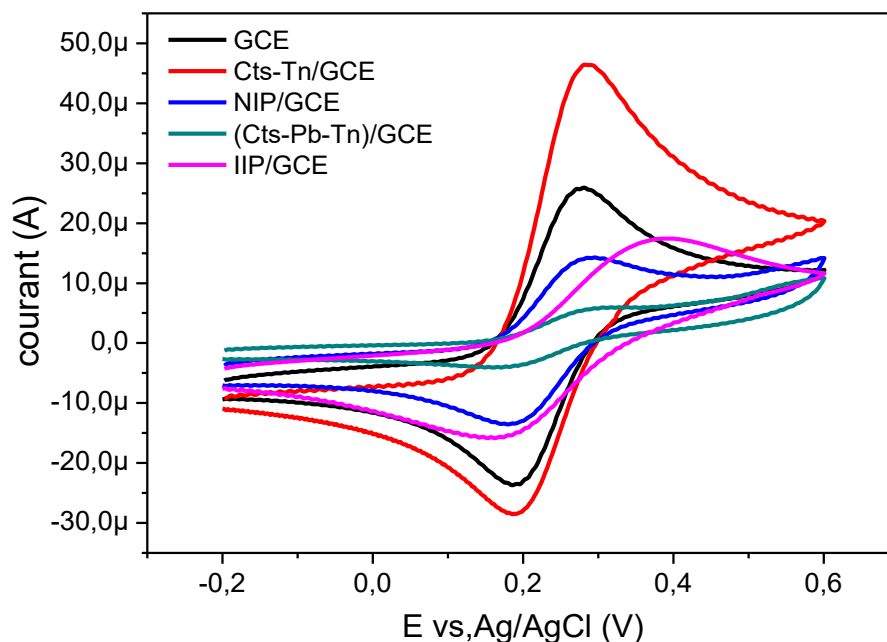


Figure IV.20: Voltammogrammes cycliques en présence du $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$ (1mM) dans KCl (0,1 M) d'une électrode nue (noire), Cts-TN/GCE (rouge), NIP/GCE (bleu), (Cts-Pb-TM)glt/GCE (vert), IIP/GCE (rose).

Chapitre IV: Elaboration des électrodes à base d'un bioconjugué de chitosane-tanin de myrte

Tableau IV.5: Variation des paramètres électrochimiques de courbes CV après chaque étape de modification.

surface	GCE nue	Cts-TN/GCE	NIP/GCE	(Cts-Pb-TM) gt/GCE	IIP/GCE
$\Delta E_p(\text{mV})$	94	94	105	166	227
I_{pa} / I_{pc}	1.09	1.62	1.05	1.46	1.10

III.3.3. Caractérisation électrochimique par spectroscopie d'impédance

Pour mieux interpréter et comprendre les informations obtenues à partir de la caractérisation CV, des tests de spectroscopie d'impédance électrochimique EIS sont réalisés. Les mesures sont enregistrées à des fréquences allant de 100 mHz à 100 KHz dans une solution de 1 mM de $K_3[Fe(CN)_6]^{3/4}$ et 0,1 M KCl au potentiel de travail de 0,250 mV. Au cours du processus de construction de l'IIP / GCE, le changement de la résistance de transfert d'électrons est suivi et comparé avec d'autres surfaces. La figure IV.21 représente les diagrammes de Nyquist avec un demi-cercle dans la région à haute fréquence et une ligne droite dans la région de basse fréquence pour chaque électrode. Le petit demi-cercle de la GCE nue est équivalent à une résistance de transfert de charge (R_{tc}) égale à 614 Ω (courbe noire). Le dépôt de film (Cts-TM) sur la surface propre de la GCE a réduit le diamètre du demi-cercle, où la valeur de (R_{tc}) a diminué jusqu'à 238 Ω (courbe rouge), cela peut justifier par le changement des caractéristiques de la surface de l'électrode, qui s'est répercuté positivement sur le processus de transfert d'électron. La (R_{tc}) de l'électrode (Cts-Pb-TM) gt /GCE a augmenté jusqu'à 3,81 K Ω , ce qui traduit la difficulté de la diffusion de la sonde redox à travers cette membrane. Car les sites de liaisons sont réservés par l'ion modèle via différents mécanismes (adsorption, chélation... etc.), et par l'agent de réticulation. L'extraction du plomb du film réticulé a conduit à une amélioration notable de transfert de charge ($R_{tc} = 2,1 \text{ K } \Omega$), cependant, cette résistance reste relativement élevée, ce qui peut s'expliquer par le passage limité des molécules d'hexacyanoferrate à travers les cavités de reconnaissance sélective qui sont formées sur la configuration tridimensionnelle de $Pb(NO_3)_2$, et qui diffèrent de la taille et de la forme de $K_3Fe(CN)_6^{3/4}$.

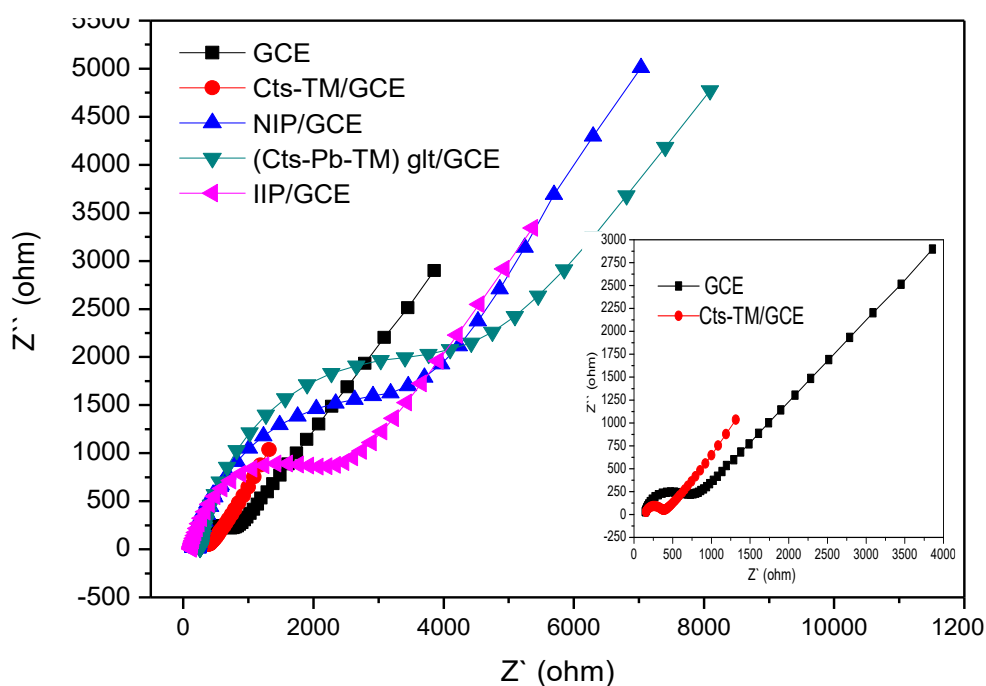


Figure IV.21: Diagrammes de Nyquist de l'électrode de carbone vitreux nue (noire), Cts-TN/GCE . (rouge), NIP/GCE (bleu), (Cts-Pb-TM)glt/GCE (vert), IIP/GCE (rose).

Les résultats de l'EIS étaient en bon accord avec la conclusion obtenue à partir du CV. Les valeurs des paramètres de chaque élément défini dans le circuit équivalent obtenues à partir de la simulation des spectres d'impédance (figure IV.22) sont collectées dans le Tableau IV.6.

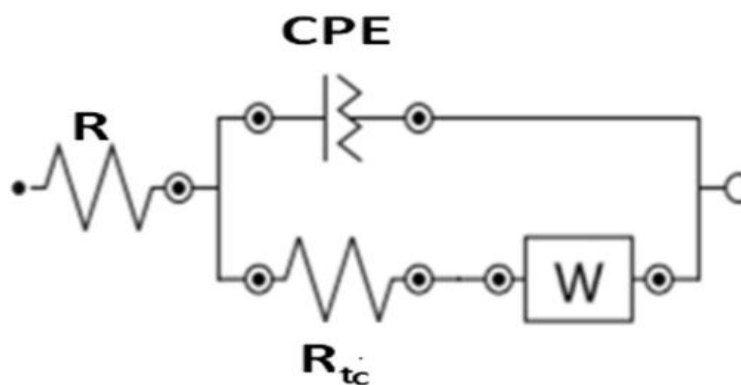


Figure IV.22: Circuit électrique équivalent utilisé pour la modélisation des spectres d'impédance de l'électrode de carbone vitreux modifiée.

Chapitre IV: Elaboration des électrodes à base d'un bioconjugué de chitosane-tanin de myrte

Tableau IV.6: Paramètres de simulation des différentes électrodes modifiées par Nova1.5, à partir des diagrammes de Nyquist. Le circuits utilisé est [(R(Q[RW])).

Electrode	Rs (Ω)	cpe (μF)	Rtc (Ω)	W (μF)
GCE nue	139.15	2.145	614	289
Cts-TM/ GCE	144	2.41	238	913
NIP/ GCE	220.75	11.9	2814	200
(Cts-Pb-TM)glt/ GCE	256.61	11.3	3814	199
IIP/ GCE	120	6.36	2100	269

III.3.4. Comportement des électrodes modifiées en présence des ions Pb(II)

Un seul pic, avec une intensité anodique différente d'une électrode à l'autre, est caractérisé le comportement de toutes les surfaces modifiées en présence de Pb(II) avec 10^{-4} M, dans une solution tampon d'acétate 0,1 M (pH = 5) (Fig. IV.23).

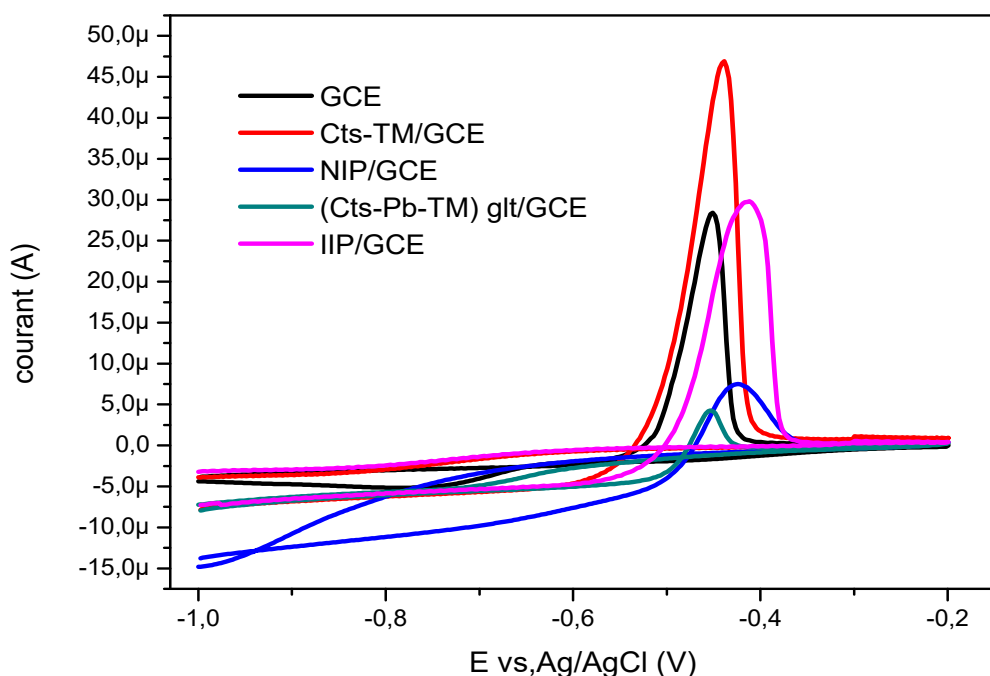


Figure IV.23: Voltammogrammes cycliques en présence ions cible Pb(II) dans une tampon d'acétate 0.1M d'une électrode nue (noire), Cts-TN/GCE (rouge), NIP/GCE (bleu), (Cts-Pb-TM)glt/GCE (vert), IIP/GCE (rose).

Chapitre IV: Elaboration des électrodes à base d'un bioconjugué de chitosane-tanin de myrte

Ce comportement exprime un processus d'oxydation irréversible. Le pic de (Cts-TM) / GCE reste plus intense que celui de l'IIP. Cela peut s'expliquer par comparaison du mécanisme de la réaction "film-ion" sur les deux surfaces (Cts-TM /GCE) et IIP/GCE. Dans la première surface, plusieurs processus (adsorption, attraction électrostatique, chélation...) peuvent se produire, tandis que la re-pénétration des ions Pb (II) à travers les cavités de reconnaissance peut prendre un temps plus lent, sur la deuxième surface. De plus, le petit décalage du potentiel de pic de l'IIP / GCE vers les potentiels plus positifs indique que l'oxydation du Pb (II) sur ce film est un peu difficile que sur le film (Cts-TM). Néanmoins, la sélectivité de l'ion cible reste un avantage pour l'IIP uniquement, alors que tout cation peut affecter facilement la réponse sur le film (Cts-TM). En comparant la réponse de courant de crête entre la GCE nue (courbe noire) et l'IIP / GCE (courbe rose), ce dernier montre un pic plus intense, indiquant la fiabilité du film imprimé.

La grande différence entre le pic de l'IIP/GCE et celui de NIP/GCE peut être justifiée par l'absence de l'empreinte Pb(II) lors de la construction de la matrice NIP, ce qui a aidé à obtenir un degré élevé de réticulation après le traitement par glutaraldéhyde, et par conséquent a diminué le nombre de sites de liaison libres dans le film NIP. Alors que l'empreinte ionique du polymère avant la réticulation par glutaraldéhyde protège les sites de liaison [64], qui deviennent des cavités de reconnaissance après extraction de l'ion modèle.

Après cette comparaison, on peut conclure que le système (cyanure ferreux/ferrique) ne fournit pas suffisamment d'informations dans le cas des électrodes modifiées par des matrices IIP, car les sites de reconnaissance portent la forme et les dimensions de l'ion cible. Il est donc nécessaire d'accompagner cette caractérisation avec une étude du comportement des surfaces modifiées en présence d'ions cibles.

IV. Application à la détection des ions du plomb Pb(II)

La complexation des ions Pb(II) à la surface de l'électrode fonctionnalisée par polymère à empreinte a pour effet des variations au niveau des voltammogrammes enregistrés dépendant de la concentration de ces ions dans la solution support. Cette variation à l'intensité des pics peut être exploitée afin de déterminer la sensibilité du capteur. Avant de construire les courbes d'étalonnage, il faut d'abord optimiser les conditions de mesure.

IV.1. Optimisation des conditions analytiques de détection

IV.1.1. Effet de pH

L'utilisation du polymère imprimé comme modificateur de la surface d'électrode est caractérisée par une certaine particularité par rapport à d'autres modificateurs. L'extraction de l'ion matrice libère les sites de liaison occupés ce qui les rend sensibles au changement de pH. Des études antérieures montrent que les matrices IIP à base de chitosane donnent la réponse optimale dans la plage de pH de 5 à 6 [65, 66]. Dans cette étude, l'effet du pH est examiné par voltamétrie impulsionnelle différentielle (DPV), en utilisant l'IIP / GCE dans des solutions tampons d'acétate contenant $5 \times 10^{-7} \text{ M}$ d'ions Pb^{+2} dans la gamme de pH de 3,6 à 5,6 (voir figure IV.24). Le courant maximal est obtenu avec le $\text{pH} = 5,2$. Au-delà de cette valeur, les pics de courant commencent à se baisser légèrement en raison de l'augmentation de la concentration d'hydroxyde de plomb aux dépens des espèces Pb^{+2} . Dans d'autres études, où la plage de pH de travail est plus large, l'efficacité de l'adsorption a fortement diminué au delà d'un $\text{pH}=6$ [67]. D'autre part, la protonation des groupes hydrophiles libres au niveau des cavités peut justifier la diminution du courant vers le $\text{pH} 3,6$.

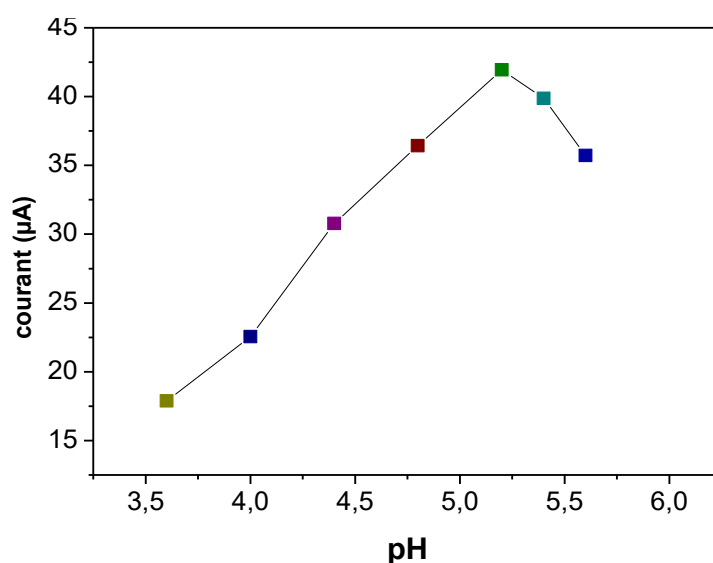


Figure IV.24: Effet du pH sur le pic de courant

IV.1.2. Effet de rapport massique optimal de Pb(II) /Cts

Afin de trouver le rapport massique optimal de l'ion cible (Pb^{+2}) par rapport au chitosane, diverses électrodes sont préparées en modifiant le volume de la solution de 10^{-2} M Pb(II) ajoutée aux 10 ml de chitosane, de manière à obtenir des rapports de masse $\text{Pb}^{+2}(\text{g}) / \text{Cts}(\text{g})$ entre : 1/48 et 1/2,4. Les six IIP / GCE sont utilisés respectivement pour détecter $5 \times 10^{-7} \text{ M}$ de

Chapitre IV: Elaboration des électrodes à base d'un bioconjugué de chitosane-tanin de myrte

nitrate de plomb. Lorsque le volume de la solution de Pb (II) est passé de 0,1 à 1 ml, le signal DPV a augmenté significativement, puis il a relativement baissé avec les volumes 1.5, 2 et 3ml. (Voir figure IV.25).

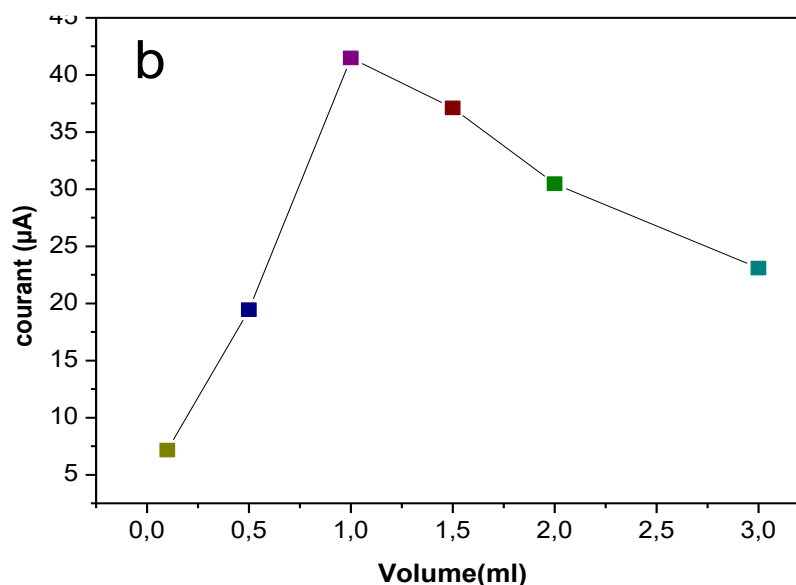


Figure IV.25: Effet du rapport massique de Pb(II)/Cts sur le pic de courant

En effet, si le nombre d'ions du plomb est inférieur à celui des sites de liaison disponibles, la réticulation par glutaraldehyde augmente la condensation de la matrice polymérique, ce qui limite le processus d'extraction du plomb et par conséquent réduit le nombre de cavités formées. Ainsi, le meilleur rapport massique Pb(II) / Cts est choisi 1 / 4,8 correspondant à 1 ml comme volume de Pb(NO₃)₂.

IV.1.3. Effet de potentiel d'électroréduction

L'effet du potentiel d'accumulation sur le courant de crête anodique est évalué dans la plage [-0,6 V à -1,2 V], car l'application de l'électro-réduction à un potentiel plus négatif que -1.2V peut diminuer et détériorer la ligne de la réponse du courant, en raison de la réduction d'autres produits chimiques [68]. La (Fig. IV.26) montre que l'accumulation devient moins efficace, plus le potentiel appliqué est proche de potentiel standard de (Pb⁺² / Pb⁰). D'autre part, l'électro-accumulation aux potentiels plus négatifs que -1.0V n'améliore pas significativement les pics de courant, le potentiel de -1,0 V est choisi donc comme optimale.

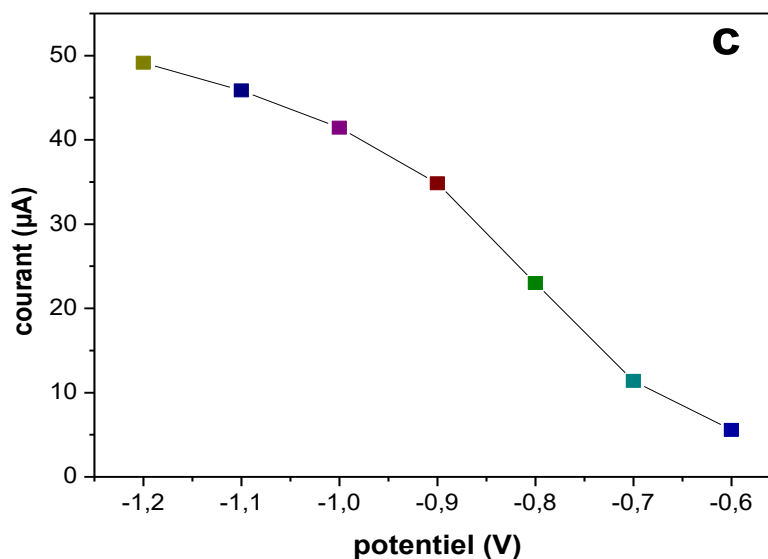


Figure IV.26: Effet du potentiel d'accumulation sur le pic de courant

IV.1.4. Effet de temps d'électro-réduction

L'influence de temps d'électro-réduction sur le courant est également étudié (figure IV. 27).

L'intensité du pic anodique a augmenté avec l'augmentation du temps d'électro-réduction dans la plage de 30 s à 300 s grâce à l'accumulation des ions Pb (II) qui ont effectivement réduire à la surface de l'électrode. Un temps plus lent que 200 s n'a pas entraîné d'une amélioration significative du courant de crête. Ainsi, 200 s étaient considérés comme suffisants pour la réduction du plomb.

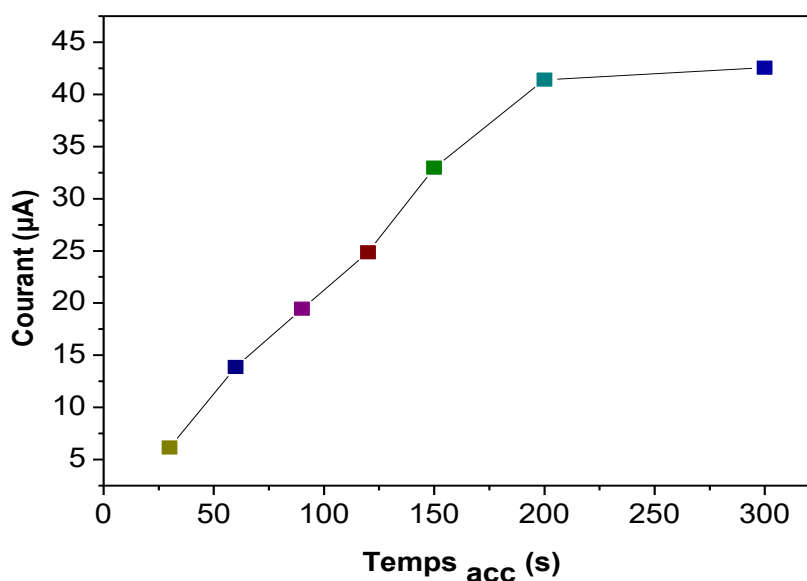


Figure IV.27: Effet du temps d'accumulation sur le pic de courant

IV.2. Courbe d'étalonnage et limite de détection

La (DPASV) est utilisé pour étudier la linéarité de la réponse et la limite de détection du Pb (II) sur l'électrode modifiée IIP / GCE. L'effet de la concentration de Pb (II) sur le courant de crête est dans les conditions optimales. Les voltammogrammes de redissolution de 10^{-9} à 10^{-5} M de Pb(II) ont montrée sur la figure.IV.28.

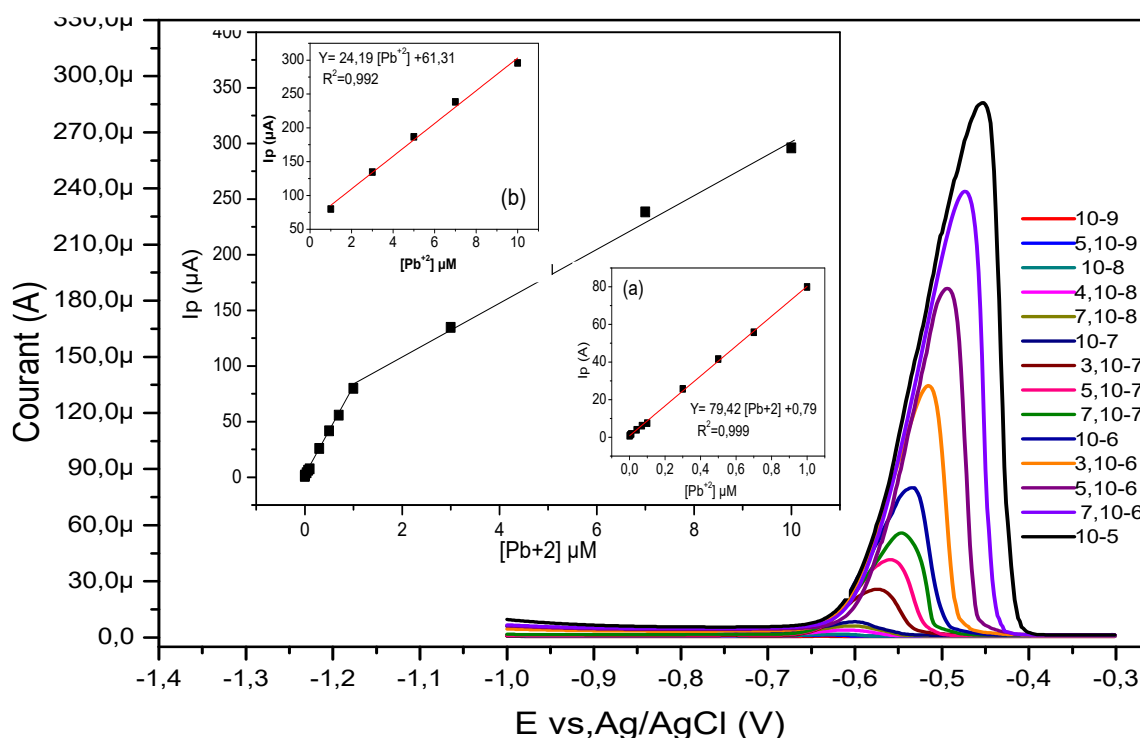


Figure IV.28: Voltammogrammes DPASV de diverses concentrations de Pb (II). Encart: Courbes d'étalonnage linéaires correspondantes du courant de crête en fonction de la concentration de Pb (II); (a) de 10^{-9} à 10^{-6} M et (b) de 10^{-6} à 10^{-5} M

On peut voir que les courbes d'étalonnage du courant de crête en fonction de la concentration montrent deux plages dynamiques linéaires de $1,0 \times 10^{-9}$ à $1,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ et de $1,0 \times 10^{-6}$ à $1,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹. Les équations de régression linéaire pour ces deux régions sont:

$$I_{pa} (\mu A) = 79,42 [Pb (II)] (\mu M) + 0,79 \quad (R^2 = 0,999) \text{ et}$$

$$I_{pc} (\mu A) = 24,188 [Pb (II)] (\mu M) + 61,31 \quad (R^2 = 0,992).$$

En utilisant la formule $LOD = \frac{3SD}{m}$, (où SD est l'écart type pour dix mesures répétées d'une solution à blanc et m est la pente de la courbe analytique correspondante aux faibles concentrations); la limite de détection est trouvée : $4,15 \times 10^{-10}$ mol L⁻¹, cette valeur est inférieure aux valeurs rapportées obtenues par d'autre méthodes électrochimiques utilisant des

Chapitre IV: Elaboration des électrodes à base d'un bioconjugué de chitosane-tanin de myrte

électrodes modifiées par la technique du polymère à empreinte ionique pour la détection du plomb (voir tableau IV.8). L'IIP / GCE basé sur (Cts-TM) montre une limite de détection beaucoup plus basse et une plage linéaire plus large. La sensibilité de ce capteur à concentration 10^{-6} M est de l'ordre de $80\mu\text{A}/\mu\text{M}$.

IV.3. Validation du capteur

IV.3.1. Sélectivité

La sélectivité est le principal avantage de la technique de polymère à empreinte ionique, elle permet d'examiner la capacité de notre capteur à distinguer entre le plomb et les espèces potentiellement interférentes. Le pourcentage de la variation en courant de crête est utilisé pour exprimer l'effet de plusieurs ions $[\text{Mn}^{2+}]$ susceptibles d'interférer, qui sont ajoutés à diverses concentrations à une solution de Pb^{2+} ($2,5 \mu\text{M}$). Quelle que soit la concentration en ions monovalents tels que K^+ , Na^+ , Cl^- , NO_3^- , la variation du signal voltampérométrique n'a pas dépassé la limite de tolérance définie par $\pm 5\%$. Pour des concentrations $[\text{Mn}^{2+}] < \frac{[\text{Pb}^{2+}]}{45}$ la présence des ions bivalents Co^{2+} , Zn^{2+} et Ni^{2+} n'a aucun effet significatif, après cette concentration, l'effet d'interférence a commencé à apparaître. Aucune interférence évidente ne peut être trouvée pour les déterminations de Pb^{2+} avec les ions Ag^+ et Fe^{2+} jusqu'à ce que $[\text{Mn}^{2+}] / [\text{Pb}^{2+}] = 40$. Au-dessus de ce rapport, la compétition entre ces ions pour occuper les cavités sélectives a commencé. L'effet d'interférence de Cd^{2+} , Cu^{2+} et Hg^{2+} a été étudié pour chacun séparément où les niveaux d'interférence sont résumés dans (Tableau IV.7).

Tableau IV.7 : Niveaux d'interférence de certains ions interférents sur la réponse de courant de crête de Pb (II).

Espèces	Niveau d'interférence
K^+ , Na^+ , Cl^- , NO_3^-	No
Co^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+}	≥ 45
Ag^{2+} , Fe^{2+}	≥ 40
Cd^{2+}	≥ 30
Cu^{2+} , Hg^{2+}	≥ 25

Chapitre IV: Elaboration des électrodes à base d'un bioconjugué de chitosane-tanin de myrte

L'effet simultané de trois cations sur la réponse de l'IIP/GCE dans une solution de Pb(II) à $2.5\mu\text{M}$ est représenté dans la figure IV.29. Pour $[\text{Cd}^{+2}] = [\text{Cu}^{+2}] = [\text{Hg}^{+2}] = 5$ ou 10 fois la $[\text{Pb}^{+2}]$, des effets négligeables sur l'intensité de signal sont enregistré; (+2,91%) et (-3,65%) respectivement. Par contre, un changement significatif au signal de l'électrode (-11,65%) est observé lorsque $[\text{Cd}^{+2}] = [\text{Cu}^{+2}] = [\text{Hg}^{+2}] = 15$ fois $[\text{Pb}^{+2}]$. En effet, la concentration totale des trois ions dans ce dernier cas est 45 fois supérieure à celle du plomb.

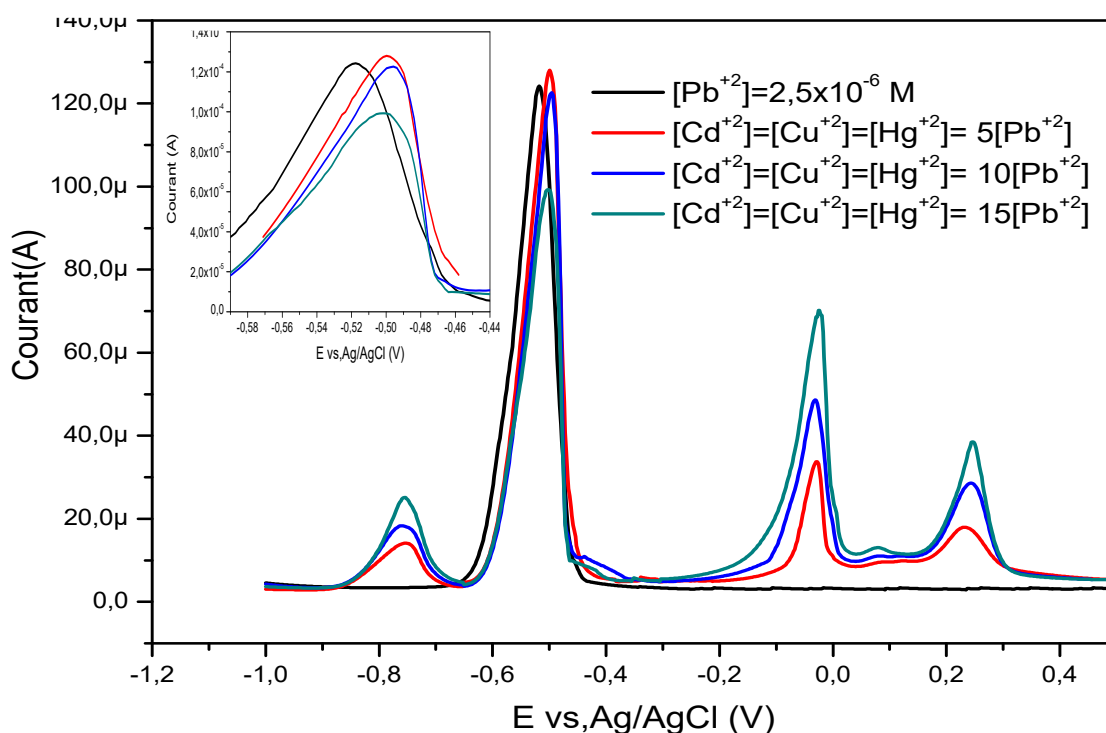


Figure IV.29: Comparaison de la sélectivité des électrodes pour $2,5 \times 10^{-6}$ d'ions Pb (II) en présence de Cd (II), Cu (II), Hg (II) à différents rapports molaires $[\text{Mn}^{2+}] / [\text{Pb}^{2+}] = 5, 10$ et 15 .

Bien que la méthode suivie dans la construction de la matrice IIP est celle de la réticulation de polymères à chaîne linéaire, où, aucune polymérisation n'a été effectuée, cependant, les niveaux d'interférence de ce film sont proches de celles obtenues par d'autres modificateurs de surfaces des électrodes (Tableau IV.8), qui sont réalisés par des approches IIP plus compliquées, comme l'immobilisation chimique, le piégeage et l'impression de surface.

Chapitre IV: Elaboration des électrodes à base d'un bioconjugué de chitosane-tanin de myrte

Tableau IV.8: Comparaison de l'efficacité du IIP / GCE avec les électrodes de la littérature basées sur la matrice Pb-IP pour la détermination voltampérométrique du Pb (II).

Capteur	Gamme de Linéarité x 10 ⁹ (mol/l)	LOD×10 ⁹ (mol/l)	Niveau d'interférence						Ref
			Cd ²⁺	Cu ²⁺	Hg ²⁺	Fe ³⁺	Ag ²⁺	Ni ²⁺	
IIP- nanobeads /CPE	0.3 – 1 + 10 – 10 ³	0.1	>45	>10	>25	>30	>10	>30	[69]
(MAA-8HQ) IIP/GCE	50– 6x10 ³	10	>100	>100	>60	No	–	–	[70]
Nano-sized IIP/CPE	1– 810	0.6	>50	>10	No	>10	No	No	[71]
CSA-IIP/Au electrode	300 –5x10 ⁴	200	–	>2.5	–	>2.5	–	–	[72]
(Cts-Tn)IIP/GCE	1–10 ³ + 10 ³ –10 ⁴	0.415	>30	>25	>25	>40	>40	>40	Ce travail

IV.3.2. Reproductibilité et stabilité du capteur

Pour examiner la stabilité de la réponse contre les réactions interfaciales, le test de changements possibles à l'intensité de signal avec la répétition de mesure étaient nécessaires. En utilisant les conditions optimales décrites précédemment, l'écart type relatif (RSD) du courant de crête pour 0.1 µM de Pb²⁺, ne dépasse pas 2,7% pour six mesures successives répétées avec une électrode IIP / GC fraîchement modifiée, et 1.1% pour trois électrodes préparées à trois jours différents ce qui démontré aussi la reproductibilité de ce capteur.

IV.3.3. Application avec des échantillons réels

Pour tester la performance de notre capteur avec des échantillons réels, l'eau de mer et l'eau du robinet du laboratoire sont utilisées comme exemples. Ils ont dilué avec une solution tampon d'acétate pour atteindre un pH= 5.2, ensuite, les échantillons sont contaminés par injection de différentes concentrations de Pb²⁺ et tester par DPV sous les conditions optimales. En utilisant l'équation analytique de la courbe d'étalonnage, le pourcentage de récupération est évalué par comparaison entre les valeurs injectées et celles calculées (Tableau VI.9). Les taux de récupération des ions de plomb variaient entre 101% et 107,2%. Ces bons résultats confirment, que notre capteur à base de cette nouvelle matrice IIP possède une applicabilité potentielle dans la surveillance de l'environnement.

Chapitre IV: Elaboration des électrodes à base d'un bioconjugué de chitosane-tanin de myrte

Tableau IV.9: résultats de récupération du Pb^{+2} à des niveaux traces dans des échantillons contaminés d'eau du robinet et d'eau de mer.

Echantillon	Valeur injectée (M)	Valeur déterminée (M)	% Récupération
<i>Eau de robinet</i>	5.00×10^{-9}	$(5.05 \pm 0.036) \times 10^{-9}$	101%
	1.00×10^{-8}	$(1.02 \pm 0.020) \times 10^{-8}$	102%
	5.00×10^{-8}	$(5.18 \pm 0.014) \times 10^{-8}$	103.6%
<i>Eau de mer</i>	1.00×10^{-8}	$(1.072 \pm 0.047) \times 10^{-8}$	107.2%
	5.00×10^{-8}	$(5.21 \pm 0.013) \times 10^{-8}$	104.2%
	1.00×10^{-7}	$(1.05 \pm 0.042) \times 10^{-7}$	105%

V. Conclusion

Loin des complications de la polymérisation des monomères et des ligands vinyliés, un biopolymère à empreinte ionique à base de chitosane et tanin de myrte a été facilement préparé suivant l'approche des polymères à chaîne linéaire, et appliqué avec succès à la détection sélective des ions de plomb(II). Ce procédé de construction simple, utilisant des biomatériaux disponibles, permet une production en série assurant une bonne reproductibilité. En plus de la sélectivité, le capteur proposé a démontré une sensibilité élevée avec une limite de détection très petite comparée à la littérature. Cela peut être attribué à l'effet synergique de la technique IIP et de la capacité chélatante élevée de chitosane et de tanin de myrte.

Références

- [1] Bagheri, H., Afkhami, A., Khoshshafar, H., Rezaei, M., & Shirzadmehr, A. (2013), *Sensor Actuat B-Chem*, 186: 451–460.
- [2] J. Sanchez-Martin, J. Beltran-Heredia, P. Gibello-Perez. (2011), *Chem. Eng. J.* 168 : 1241–1247.
- [3] Y. Nakano, K. Takeshita, T. Tsutsumi. (2001), *Water Res.* 35: 496–500
- [4] J. Sanchez-Martin, J. Beltran-Heredia, A. Delgado-Regana, M.A. Rodriguez- Gonzalez, F. Rubio-Alonso, (2013), *Chem. Eng. J.* 228: 575–582.
- [5] X. Huang, X.P. Liao, B. Shi. (2009) *J. Hazard. Mater.* 170: 1141–1148.
- [6] X. Huang, Y.P. Wang, X.P. Liao, B. Shi, (2010), *J. Hazard. Mater.* 183: 793–798.
- [7] X.M. Zhan, X. Zhao, (2003), *Water Res.* 37: 3905–3912.
- [8] I.A. Sengil, M. Ozacar, (2009), *J. Hazard. Mater.* 166: 1488–1494.
- [9] J. Sanchez-Martin, J. Beltran-Heredia, A. Delgado-Regana, M.A. Rodriguez- Gonzalez, F. Rubio-Alonso, (2013), *Ind. Crops Prod.* 49: 507–514.
- [10] J. Beltrán-Heredia, P. Palo, J. Sánchez-Martín, J.R. Domínguez, T. González, (2012) *Ind. Eng. Chem. Res.* 52: 50–57.
- [11] A. Nakajima, T. Sakaguchi, (1993), *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 57: 321–326.
- [12] M. Can, E. Bulut, A. Ornek, M. Ozacar, (2013), *Chem. Eng. J.*, 221: 146–158.
- [13] Hu, Q., & Luo, Y. (2016). *Carbohydr. Polym.* 151: 624–639.
- [14] JD Reed, CG Krueger, S Madrigal-Carballo - US20110059162, 2011
- [15] Badawi, M. A., Negm, N. A., Abou Kana, M. T. H., Hefni, H. H., & Abdel Moneem, M. M. (2017), *Int. J. Biol. Macromol.*, 99: 465–476.
- [16] Zhou, Z., Liu, F., Huang, Y., Wang, Z., & Li, G. (2015). *Int. J. Biol. Macromol.*, 77, 336–343.
- [17] Li, X., Wang, Z., Liang, H., Ning, J., Li, G., & Zhou, Z. (2017). *Environ. Technol.* 1–13.
- [18] H. T. Abdulsahib, A. H. Taobi, S. S. Hashim. (2016). *Adv. J. Sci. Res.*, 1- 1: 1-10
- [19] H. T. Abdulsahib, A. H. Taobi, S. S. Hashim. (2015). *Research J. Science and Tech.* 7(1); 35-46
- [20] H. T. Abdulsahib, A. H. Taobi, S. S. Hashim. (2016). *Adv. J. Sci. Res.*, 1-1: 14-24
- [21] Falcão, L., Araújo, M.E.M., (2013). *J.Cult. Herit.* 14: 499–508.
- [22] Grasel, F. dos S., Ferrão, M. F., & Wolf, C. R. (2016). *Ind. Crops Prod.*, 91: 279–285.
- [23] T.S. Mann, S.R. Mikkelsen, (2008), *Anal. Chem.* 80: 843–848.
- [24] Oztekin, Y., Tok, M., Nalvuran, H., Kiyak, S., Gover, T., Yazicigil, Z., Ramanavicius, A. (2010). *Electrochi. Acta*, 56(1): 387–395.
- [25] Mohammadi, N., Adeh, N. B., & Najafi, M. (2017). *Analytical Methods*, 9(1), 84–93.
- [26] J.F. Ping, J. Wu, Y.B. Ying, M.H. Wang, G. Liu, M. Zhang. J. (2011), *J. Agric. Food Chem.* 59: 4418–4423.
- [27] A. Afkhami, H. Bagheri, H. Khoshshafar, M. Saber-Tehrani, M. Tabatabaee, A. Shirzadmehr. (2012), *Anal. Chim. Acta.* 746: 98–106.
- [28] EL Bouabi, Y., Farahi, A., Labjar, N., El Hajjaji, S., Bakasse, M., & El Mhammedi, M. A. (2016). *Mat. Sci. Eng.: C*, 58 : 70–77.
- [29] Xing, H., Xu, J., Zhu, X., Duan, X., Lu, L., Wang, W., ... Yang, T. (2016). *J. Electroanal. Chem.* 760, 52–58.
- [30] Xie, Y.-L., Zhao, S.-Q., Ye, H.-L., Yuan, J., Song, P., & Hu, S.-Q. (2015). *J. Electroanal. Chem.*, 757: 235–242.
- [31] Zinoubi K., H. Majdoub, H. Barhoumi, S. Boufi, N. Jaffrezic-Renault. (2017), *J. Electroanal. Chem.* 799: 70–77.
- [32] Wei, Y., Gao, C., Meng, F.-L., Li, H.-H., Wang, L., Liu, J.-H., & Huang, X.-J. (2011). *J. Phys. Chem. C*, 116(1): 1034–1041.
- [33] CESARINO, I. (2008). *Talanta*, 75(1) : 15–21.
- [35] Chira, A., Bucur, B., Bucur, M. P., & Radu, G. L. (2014). *New J. Chem.*, 38(11): 5641–5646.
- [36] Muralikrishna, S., Sureshkumar, K., Varley, T. S., Nagaraju, D. H., & Ramakrishna, T. (2014). *Anal. Methods*, 6(21): 8698–8705.
- [37] Sang S, Li D, Zhang H, Sun Y, Jian A, Zhang Q, Zhang W (2017). *RSC Adv*, 7(35):21618–21624
- [38] Sahoo PK, Panigrahy B, Sahoo S, Satpati AK, Li D, Bahadur D (2013). *Biosens Bioelectron* 43:293–296.

Chapitre IV: Elaboration des électrodes à base d'un bioconjugué de chitosane-tanin de myrte

- [39] Serrano N, González-Calabuig A, del Valle M (2015), *Talanta* 138: 130–137.
- [40] Zhao, D., Guo, X., Wang, T., Alvarez, N., Shanov, V. N., & Heineman, W. R. (2014). *Electroanalysis*, 26(3): 488–496.
- [41] Monier, M., Abdel-Latif, D. A., & Abou El-Reash, Y. G. (2016). *J. Colloid Interface Sci.* 469: 344–354.
- [42] Wu, S., Dai, X., Cheng, T., & Li, S. (2018). *Carbohydr. Polym.* 195: 199–206.
- [43] Behnia, N., Asgari, M., & Feizbakhsh, A. (2015). *J. Environ. Chem. Eng.* 3(1): 271–276.
- [44] Roushani, M., Saedi, Z., Hamdi, F., & Dizajdizi, B. Z. (2017). *J. Electroanal. Chem.* 804: 1–6.
- [45] H. Nishide, E. Tsuchida, (1976), *Makromol. Chem.* 177: 2295.
- [46] H. Nishide, J. Deguchi, E. Tsuchida, *J. Polym. Sci. Polym. Chem. Ed.* 15 3023.
- [47] V.A. Kabanov, A.A. Efendiev, D.D. Orujev, (1977), *J. Appl. Polym. Sci.* 24: 259.
- [48] A.A. Efendiev, V.A. Kabanov, (1982), *Pure Appl. Chem.* 54: 2077.
- [49] C. Lin, M. Liu, H. Zhan, (2011), *Adv. Mater. Res.* 295–297 2045–2048.
- [50] K. Ohga, Y. Kurauchi, H. Yanase, (1987), *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 60: 444.
- [51] C.-Y. Chen, C.-Y. Yang, A.-H. Chen, (2011), *J. Environ. Manage.* 92: 796–802.
- [52] A.-H. Chen, C.-Y. Yang, C.-Y. Chen, C.-Y. Chen, C.-W. Chen, (2009), *J. Hazard. Mater.* 163: 1068–1075.
- [53] P.A. Nishad, A. Bhaskarapillai, S. Velmurugan, S.V. Narasimhan, (2012), *Carbohydr. Polym.* 87: 2690–2696.
- [54] R.P. Dhakal, T. Oshima, Y. Baba, (2008), *React. Func. Polym.* 68: 1549–1556.
- [55] H.A. Shawky, (2009) *J. Appl. Polym. Sci.* 114 : 2608–2615.
- [56] X. Wang, L. Zhang, C. Ma, R. Song, H. Hou, D. Li, (2009), *Hydrometallurgy* 100: 82–86.
- [57] H. Huo, H. Su, T. Tan, (2009), *Chem. Eng. J.* 150 : 139–144.
- [58] Monier, M., & Abdel-Latif, D. A. (2017), *Int. J. Biol. Macromol.* 105: 777–787.
- [59] Li, Yan., Qiu, T., & Xu, X. (2013), *Eur. Polym. J.* 49(6): 1487–1494.
- [60] Hosseini, S. F., Zandi, M., Rezaei, M., & Farahmandghavi, F. (2013), *Carbohydr. Polym.* 95(1): 50–56.
- [61] Zhang, H., Jung, J., & Zhao, Y. (2016), *Carbohydr. Polym.* 137: 82–91.
- [62] Zhang, H., & Zhao, Y. (2015), *Food Hydrocolloids*, 48: 260–273.
- [63] Torkashvand, M., Gholivand, M. B., & Azizi, R. (2017). *Sensor. Actuator B-Chem*, 243 : 283–291.
- [64] Zhang, M., Helleur, R., & Zhang, Y. (2015). *Carbohydr. Polym.* 130 : 206–212.
- [65] Li, C.; Gao, J.; Pan, J.; Zhang, Z.; Yan, Y. (2009), *J. Environ. Sci.* 2: 1722.
- [66] Liu, Y.; Liu, Z.; Gao, J.; Dai, J.; Han, J.; Wang, Y.; Xie, J.; Yan, Y. (2011), *J. Hazard. Mater.* 186: 197.
- [67] Hande, P. E., Kamble, S., Samui, A. B., & Kulkarni, P. S. (2016), *Ind. Eng. Chem. Res.* 55(12): 3668–3678.
- [68] J.M. Pinilla, L. Hernhdez, A.J. Conesa. (1996), *Anal. Chim. Acta*, 319: 25-30,
- [69] Bahrami, A., Besharati-Seidani, A., Abbaspour, A., & Shamsipur, M. (2014), *Electrochim. Acta*, 118: 92–99.
- [70] Hu, S., Xiong, X., Huang, S., & Lai, X. (2016), *Anal. Sci.* 32(9): 975–980.
- [71] Alizadeh, T., & Amjadi, S. (2011). *J. Hazard. Mater*, 190(1-3): 451–459.
- [72] Wang, Z., Qin, Y., Wang, C., Sun, L., Lu, X., & Lu, X. (2012), *Appl. Surf. Sci.* 258(6): 2017–2021.

Conclusion générale

Conclusion générale

Dans ce travail de thèse nous avons pour objectif le développement de nouveaux capteurs électrochimiques pour détecter des métaux lourds dans les milieux aqueux en utilisant des biomatériaux à haute affinité vis-à-vis des ions métalliques. Les efforts déployés s'inscrivent dans le cadre général de la recherche de solutions pour contrôler la qualité de l'eau sur site.

Nous avons tout d'abord réussi l'isolation et l'extraction de chitosane des les carapaces des crevettes avec un degré de déacétylation (83%) et une masse moléculaire (76kD) semblable à celle du chitosane commercial. Nous avons aussi confirmé la présence des composés phénoliques dans les feuilles de myrte communis L., les résultats obtenus montrent une grande contenance en polyphénols.

Par la suite, un capteur électrochimique était développé en utilisant une électrode en pâte de carbone modifiée par une résine chélatante à base de chitosane, thiourée et glutaraldéhyde pour la détection sélective des ions de mercure. La sensibilité du capteur développé est élevée grâce à l'effet synergique de la thiourée par ces atomes de soufre et du chitosane par les atomes de nitrogène et les groupes hydroxyles. Le système TU-g-Cts/CPE, que nous avons développé, présente de bonnes performances en termes de sensibilité, sélectivité et de limite de détection (1.61nM). Afin de comprendre la cinétique de réactions surface-interface entre TU-g-Cts/CPE et Hg(II), nous avons montré et prouvé qu'un processus de transfert d'électrons hétérogènes lents et quasi réversible se produite en parallèle avec un processus de transfert de masse contrôlé par diffusion.

D'autre part, nous avons développé deux capteurs à base d'un nouveau bioconjugué en polyphénols de myrte et chitosane, la bioconjugaison entre les deux biomolécule était confirmé en comparant les images obtenues par MEB de biofilms de chitosane et de Cts-TM. Le premier capteur est dédié à la détection simultanée de quatre ions métalliques à savoir; le cadmium (II) le mercure (II), le cuivre (II) et le plomb (II). Ce capteur est préparé simplement par application du biofilm Cts-TM sur une surface prétraité de GCE. La stabilité et l'adhérence du film sur le substrat de carbone sont démontrées suite à un test de mouillabilité. Les limites de détection des quatre cations obtenues simultanément sont comparées avec celles mesurées individuellement.

Conclusion générale

Nous avons constaté qu'il n'y a pas de différence significative dans l'efficacité du capteur en termes de sensibilité et limites de détection entre les deux cas de mesure, ce qui prouve que ce capteur fournissait une nouvelle stratégie alternative pour la quantification électrochimique simultanée de Cd (II), Cu (II), Pb (II) et Hg (II). Parmi ces ions testés, la meilleure sensibilité et la limite de détection la plus basse sont obtenues pour l'ion Pb(II), ce qui nous a conduits à le choisir comme ion modèle pour appliquer la technique à empreinte ionique sur le biofilm Cts-TM comme matrice polymère. Pour ce faire, nous avons adopté un protocole opératoire en trois étapes : l'application de la matrice Cts-Pb-TM sur une surface prétraitée de GCE, suivi d'une étape de réticulation par glutaraldehyde, et enfin l'extraction des ions plomb par l'HCl. La caractérisation morphologique par MEB a montré une structure poreuse associée aux cavités créées après l'extraction de Pb (II). Pour une meilleure détection, nous avons également optimisé les paramètres électrochimiques ainsi le rapport massique Pb(II)/Cts. Le bioconjugué polymérique imprimé par les ions de plomb a présenté une bonne sélectivité, où l'effet d'interférence n'a commencé qu'après $[Mn^{+2}] / [Pb^{+2}] = 25$ pour Hg(II) et Cu(II) et $[Mn^{+2}] / [Pb^{+2}] = 30$ pour le Cd(II).

En utilisant la méthode des ajouts dosés, les deux capteurs TU-g-Cts/CPE et IIP/GCE ont des taux de récupération des ions de mercure et de plomb respectivement variant entre 96% et 107% dans des échantillons de l'eau de robinet et l'eau de mer. Ces résultats satisfaisants démontrent l'adéquation des matrices développées pour l'identification précise des ions cibles dans des échantillons contaminés.

Enfin, grâce à ces nouveaux matériaux utilisés comme modificateurs d'électrodes, les capteurs proposés dans cette thèse offrent des alternatives compétitives en termes de réduction de coûts et de raccourcissement d'étapes de travaux en laboratoire (préparation, diagnostic, étude d'affinité, etc.). En particulier, le troisième capteur reposant sur la technique de polymère à empreinte ionique IIP, où une nouvelle approche était introduite pour simplifier la complexité et éviter la toxicité associée à cette application.

En perspective à ces travaux, la recherche laisse naturellement entrevoir d'autres prolongements en rapport avec des développements scientifiques. Plusieurs pistes nous paraissent intéressantes dans le domaine de développement de détecteur et de capteur à base de biomatériaux. Nous citons :

Conclusion générale

- L'étude de nouvelles conditions d'extraction et de synthèse de biomolécules et de biomatériaux.
- Le développement de nouvelles méthodes de dépôt sur les électrodes, afin d'améliorer d'une part, les performances du capteur (baisser les limites de détection, élargir la plage de linéarité, ...), et d'autre part, avoir la possibilité d'appliquer ces nouvelles matrices avec des échantillons contaminés plus compliqués (biologique, pharmaceutique, agroalimentaire, ...).
- La mise au point d'un dispositif de dosage des ETM, couplant une cellule de minéralisation des composés organiques en synergie avec la cellule de détection électrochimique des ions métalliques, pour résoudre le problème de spéciation liés à la présence de matières organiques. Cette minéralisation peut être réalisée par un procédé d'oxydation avancée.