

*République Algérienne Démocratique et Populaire*  
*Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique*  
*Université Mohammed Seddik Ben Yahia*  
*Jijel*



**FACULTE DES SCIENCES ET DE LA TECHNOLOGIE**  
**DEPARTEMENT DE GENIE DES PROCÉDES**  
**MEMOIRE DE FIN D'ETUDES**

**Présenté pour l'obtention du diplôme de Master II**

**Filière** : Sciences et Génie de l'Environnement

**Option** : Génie des Procédés de l'Environnement

**THEME**

***Fonctionnalisation de mini-électrodes imprimées pour la conception de nouveaux instruments analytiques innovants***

**Réalisé par :**

Yakoubi Imene

Douieb Ikram

Soutenu le 16/09/ 2021 devant le jury :

**Zazoua. A**

Professeur à l'université de Jijel

**Encadrant**

**Sfaksi. Z**

Maitre de conférences B Université de Jijel

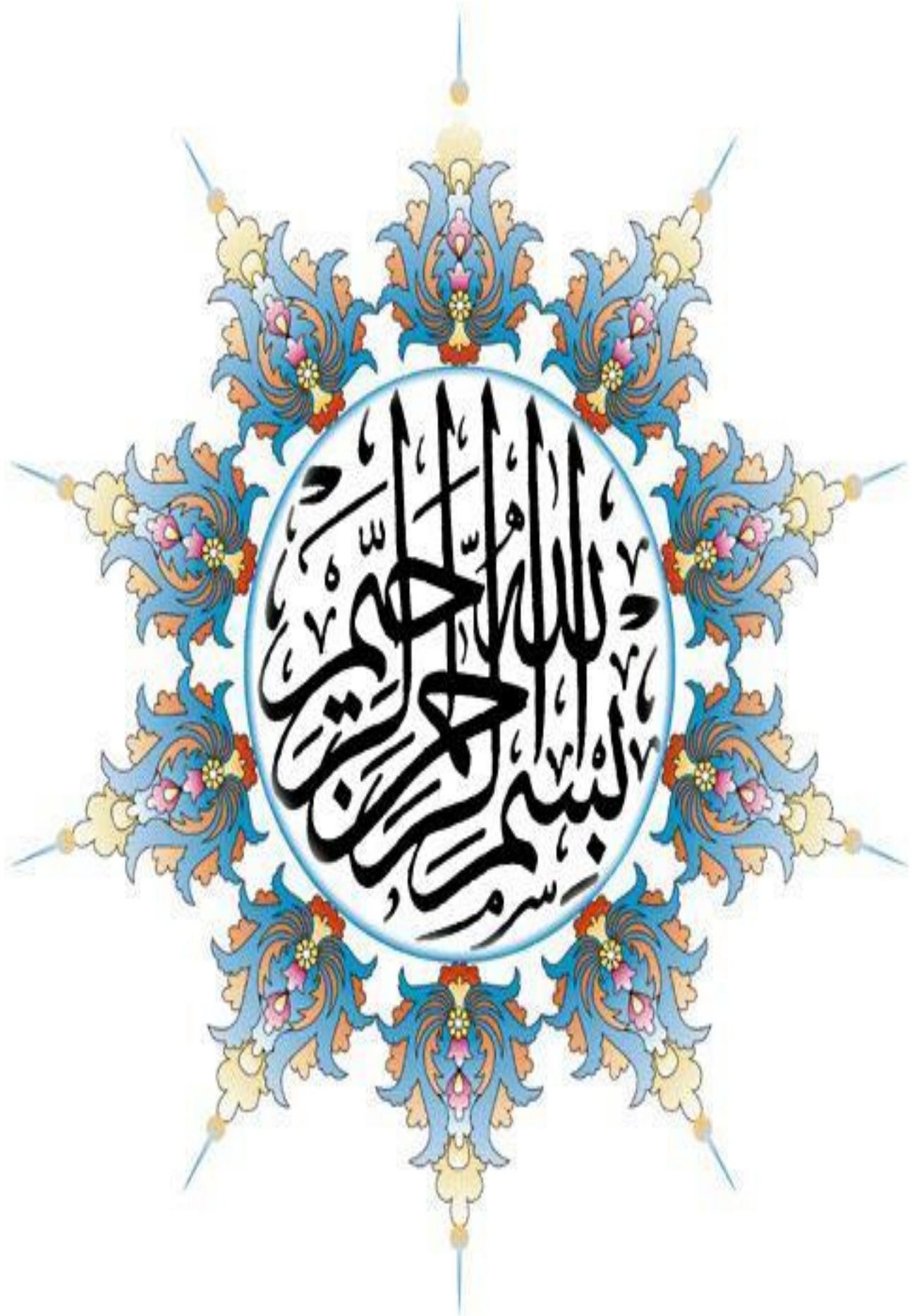
**Présidente**

**Belferdi. F**

Maitre de conférences A Université de Jijel

**Examinatrice**

**2020-2021**



## **Remerciements**

*Nous remercions tout d'abord le Bon DIEU « ALLAH » notre créateur de nous avoir données la force et la patience pour accomplir ce travail.*

*Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à l'encadreur monsieur le Professeur **Zazoua Ali** de l'université de Jijel pour avoir accepté d'encadrer et de diriger notre travail et d'avoir proposé le sujet à l'origine. Nous le remercions très sincèrement pour la confiance qu'il nous a accordée et pour sa patience inouïe qu'il nous a témoignée tout au long de ces mois d'encadrement.*

*Les membres du jury, nous avons l'honneur d'accepter et d'examiner notre travail. Veuillez trouver ici, le témoignage de nos reconnaissances et de nos profonds respects.*

*Nous remercions également **Sefari Wassila** doctorante en génie de l'environnement pour sa disponibilité, son aide, ses conseils et encouragements.*

*Pour l'ambiance générale et pour les discussions scientifiques (ou pas), nos remerciements vont également au doctorant du laboratoire avec qui nous étions proche. Un merci particulier à « **Hellim. R** », pour leur support technique et scientifique. Merci également à ceux qui tour à tour (et chacun à leur manière !) ont marqué leur passage au bureau 2.*

*Nous remercions tous les techniciens et les ingénieurs des laboratoires de la spécialité.*

*Merci...*

## *Dédicaces*



*« Louange à ALLAH, le seul et unique »*

*J'offre ce travail en témoignage de l'amour, de l'amitié et de la  
reconnaissance que je porte à :*

*Mes parents*

*Mes sœurs et mes frères*

*Ma famille et amis*

*À tous ceux qui me sont chers...*

*Zaki, Alaa, ILEF, Sidra et Meriem*

*A Moi-même.*

*Imene ...*

## *Dédicaces*



*Aucune dédicace ne pourrait exprimer ma gratitude ;*

*Je dédie ce modeste travail*

*A mes très chers parents ; deux personnes exceptionnelles qui,  
par leur amour, leur dévouement, leur patience et leur soutien  
inconditionnel m'ont permis d'arriver là où je suis.*

*A mes sœurs, mes frères,*

*Mon neveu et ma nièce Mounib et Ikhlâs.*

*A ceux que j'aime et qui m'aiment*

*A Moi-même.*

*Ikram*

*De l'air à l'eau, un nouvel étonnement !*

*« La Science consiste à  
passer d'un étonnement à  
un autre. »*

*Aristote (384-322 Av. J. C.)*

# Sommaire

<b>Introduction général.....</b>	<b>1</b>
----------------------------------	----------

## **Partie bibliographique**

<b>I. Pollution des milieux aquatiques .....</b>	<b>4</b>
<b>I.1 Introduction.....</b>	<b>4</b>
<b>I.2 Pollution du système aquatique .....</b>	<b>5</b>
<b>I.3 Causes de la pollution du milieu aquatique .....</b>	<b>5</b>
<b>I.4 Sources de la pollution du milieu aquatique .....</b>	<b>5</b>
<b>II. Les perturbateurs endocriniens .....</b>	<b>7</b>
<b>II.1 Introduction .....</b>	<b>7</b>
<b>II.2 Le système endocrinien.....</b>	<b>7</b>
<b>II.3 Historique des perturbateurs endocriniens .....</b>	<b>8</b>
<b>II.3.1 Evaluation des effets des PE .....</b>	<b>10</b>
<b>II.3.2 Sources des Perturbateurs endocriniens .....</b>	<b>10</b>
<b>II.3.3 Mode action.....</b>	<b>11</b>
<b>a. Par effets similaires à ceux des hormones.....</b>	<b>11</b>
<b>b. Par blocage de l'effet hormonal .....</b>	<b>11</b>
<b>c. Par influence sur la disponibilité des hormones .....</b>	<b>11</b>
<b>II.3.4 Les cibles des PE.....</b>	<b>11</b>
<b>III. Le bisphénol A ou BPA .....</b>	<b>13</b>
<b>III.1 Historique .....</b>	<b>13</b>
<b>III.2 Définition et structure .....</b>	<b>14</b>
<b>III.3 Fiche technique.....</b>	<b>14</b>

<b>III.4 Propriétés physicochimiques du Bisphénol A .....</b>	<b>15</b>
<b>III.5 Méthodes analytique pour la détection de BPA .....</b>	<b>16</b>
<b>IV. Le thé vert (Camellia Sinensis).....</b>	<b>18</b>
<b>IV.1 Introduction.....</b>	<b>18</b>
<b>IV.2 Thé vert .....</b>	<b>18</b>
<b>IV.3 Composition de thévert .....</b>	<b>19</b>
<b>IV.2.1 Structures de la catéchine du thé vert .....</b>	<b>21</b>
<b>IV.4 Propriétés bénéfiques du thé vert.....</b>	<b>21</b>
<b>IV.4.1 Propriété antioxydant .....</b>	<b>21</b>
<b>IV.4.2 Propriétés anticancéreuses .....</b>	<b>22</b>
<b>IV.4.3 Maladie cardiovasculaire .....</b>	<b>22</b>
<b>IV.4.4 Une peau saine .....</b>	<b>22</b>
<b>IV.4.5 Gestion du poids .....</b>	<b>22</b>
<b>V. Les tanins condensés .....</b>	<b>23</b>
<b>V.1 Définition.....</b>	<b>23</b>
<b>V.2 Types de tanins .....</b>	<b>23</b>
<b>V.2.1 Les tanins hydrolysables .....</b>	<b>23</b>
<b>V.2.2 Tannins condensés (poly flavonoïdes) .....</b>	<b>24</b>
<b>V.3 Origines des tanins œnologiques .....</b>	<b>25</b>
<b>V.4 Sources de tannins .....</b>	<b>25</b>
<b>V.4.1 Sources naturelles.....</b>	<b>25</b>
<b>V.4.2 Sources synthétiques de tanins .....</b>	<b>25</b>
<b>V.5 Propriétés physico-chimiques.....</b>	<b>26</b>



V.5.1 Solubilité .....	26
V.5.2 Précipitation.....	26
V.5.3 Dégradation .....	26
V.5.4 Extraction .....	26
VI. Les capteurs électrochimiques .....	27
VI.1 Introduction.....	27
VI.2 Capteurs électrochimiques .....	27
VI.2.1 Définition .....	27
VI.2.2 Type des capteurs électrochimiques .....	28
VI.2.2.1 Capteur Potentiométrique .....	28
VI.2.2.2 Capteurs ampérométriques .....	29
VI.2.2.3 Capteurs impédimétrique .....	29
VI.2.2.4 Capteurs conductimétriques. ....	30
VI.3 Techniques électrochimiques.....	31
VI.3.1 Spectroscopie d'impédance électrochimique (EIS).....	31
VI.3.2 La voltamétrie cyclique.....	32
• Système quasi-réversible .....	34
• Système quasi-réversible .....	34
• Système irréversible .....	34
VI.3.3 La voltamétrie à ondes carrées.....	35
<b>Etat de l'art sur le bisphénol A et le Catéchol .....</b>	<b>[37-40]</b>

## Références bibliographiques

## Partie expérimentale

I. Introduction.....	41
II. Matériel végétal.....	41
III. Préparation de l'extrait tanin condensé de thé vert Camélia Sinensis.....	41
III.1. Macération et extraction de thé vert .....	41
III.1. 1. Rendement d'extraction.....	44
III.2. Gélification et modification aminofonctionnalisé de tanin condensé.....	44
III.2.1. Gélification .....	44
III.2.2. Modification aminofonctionnalisé.....	45
IV. Caractérisation physico- chimiques de l'extrait par infrarouge FTIR .....	48
V. Conception du capteur.....	48
V.1. Préparation de l'électrode d'Or (Au).....	48
V.2. Nettoyage de la surface des électrodes .....	49
V.3. L'immobilisation du biorécepteur .....	49
V.4. Electrodes modifiées par des films de polymères .....	50
V.4.1. Les polymères bio-sourcés .....	50
V.4.2. L'agarose .....	50
➤ Gélification .....	51
V.5. Immobilisation de la matrice Agarose/tanin aminofonctionnalisé (ATG/Agarose) .....	52
VI. Dispositif électrochimique expérimental .....	52
VI.1. Cellule �lectrochimique .....	52
➤ Les électrodes de travail .....	53
➤ L'électrode de référence .....	53

➤ La contre-électrode .....	54
<b>VI.3.</b> Montage électrochimique .....	54
<b>VI.4.</b> Caractérisation électrochimique et détection .....	56

## Références bibliographiques

## Résultats et discussion

<b>I.</b> Introduction.....	57
<b>II.</b> Caractérisation des molécules bioactives extraites du thé vert .....	57
<b>II.1.</b> Rendement d'extraction .....	57
<b>II.2.</b> Caractérisation par spectroscopie infrarouges FT-IR .....	57
<b>II.3.</b> Performance électrochimique des différentes électrodes .....	58
<b>II.3.1.</b> Performance analytique de détection de Bisphénol A .....	59
<b>II.3.1.1.</b> la voltampérométrie cyclique .....	59-61
<b>II.3.1.2.</b> la voltampérométrie à ondes carrées .....	60
<b>II.3.1.3.</b> Répétabilité, reproductibilité, stabilité de Au/TCA-Agar .....	61-62
<b>II.3.1.4.</b> Analyse des échantillons réels et test de récupération .....	63
<b>II.3.2.</b> Détection électrochimique de catéchol .....	64
* Caractérisation de l'électrode ATG-agar/Au par la méthode CV et SWV après l'injection de différentes concentrations de catéchol	
<b>II.3.2.1.</b> voltamétrie cyclique .....	65
<b>II.3.2.3.</b> La courbe de calibration de la voltamétrie cyclique .....	65
<b>II.3.2.4.</b> Voltammétrie à ondes carrées SWV .....	66
<b>II.3.2.5.</b> Courbe de calibration de la voltammétrie à ondes carrées SWV.....	67
<b>II.4.</b> Réaction électrochimique interface électrode –solution .....	68

<b>II.4.1. Transfert de masse.....</b>	<b>68</b>
<b>II.4.2. Réactions chimiques.....</b>	<b>69</b>
<b>II.4.3. Réactions de surface.....</b>	<b>69</b>
<b>II.4.4. Transfert de charge.....</b>	<b>69</b>
<b>Référence bibliographie</b>	
<b>Conclusion général.....</b>	<b>70</b>
<b>Perspectives</b>	
<b>Résumé</b>	

## Liste des figures et des tableaux

### Table des figures

<b>Partie bibliographique</b>		
<b>Figure</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>Figure I.1</b>	Les voies de la pollution. Le rouge indique les sources d'émission, le violet la transformation et le transport des polluants en bleu le dépôt actuel, en noir le point final potentiel.	<b>04</b>
<b>Figure II.1</b>	Conservation au fil de l'évolution des glandes endocrines, comparaison entre le poisson et l'homme	<b>08</b>
<b>Figure II.2</b>	Perturbateurs endocriniens des sources multiples.	<b>10</b>
<b>Figure II.3</b>	Mécanismes d'action des PE.	<b>11</b>
<b>Figure III.1</b>	Structure moléculaire du BPA.	<b>14</b>
<b>Figure III.2</b>	Réaction de formation du Bisphénol A	<b>14</b>
<b>Figure III.3</b>	(a) Synthèse du polymère polycarbonate à partir du bisphénol-A et sa décomposition en bisphénol-A. (b) Hormones structurellement analogues au bisphénol-A.	<b>15</b>
<b>Figure IV.1</b>	La plante camellia sinensis.	<b>19</b>
<b>Figure IV.2</b>	Composition relative des catéchines du thé vert.	<b>21</b>
<b>Figure IV.3</b>	Structures de la catéchine du thé vert.	<b>21</b>
<b>Figure IV.4</b>	Structure des acides gallique (A) et ellagique (B)	<b>24</b>
<b>Figure IV.5</b>	Structure des tanins condensés	<b>24</b>
<b>Figure VI.1</b>	Schéma du principe général d'un capteur électrochimique.	<b>28</b>
<b>Figure VI.2</b>	Principe de mesure Potentiométrique : accumulation de charge électrique à la surface de l'électrode indicatrice.	<b>28</b>
<b>Figure VI.3</b>	Schéma de principe des mesures impédimétriques.	<b>30</b>
<b>Figure VI.4</b>	Schéma de principe des mesures conductimétriques.	<b>30</b>
<b>Figure VI.5</b>	Modélisation des différentes couches d'un capteur constitué d'une électrode conductrice en contact avec une solution électrolytique.	<b>31</b>
<b>Figure VI.6</b>	Séquence de balayage de potentiel utilisée en CV (A) et exemple de courbe courant-potentiel obtenue (B)	<b>32</b>
<b>Figure VI.7</b>	Voltamogramme cyclique d'un système rapide.	<b>33</b>
<b>Figure VI.8</b>	Voltamogramme cyclique d'un système quasi-réversible.	<b>34</b>
<b>Figure VI.9</b>	Voltamogramme cyclique d'un système irréversible.	<b>34</b>
<b>Figure VI.10</b>	Signal d'excitation de la voltamétrie à ondes carrées.	<b>35</b>
<b>Figure VI.11</b>	Réponse en courant typique d'un voltamogramme à vague carrée.	<b>36</b>

<b>Partie expérimental</b>		
<b>Figure II.1</b>	Les feuilles de thé vert ( <i>Camellia sinensis</i> )	<b>41</b>
<b>Figure III.1.1</b>	les étapes de séparation de l'extrait tanins condensés de thé vert.	<b>42</b>
<b>Figure III.1.2</b>	L'évaporateur rotatif (Rotavap)	<b>42</b>
<b>Figure III.1.3</b>	Protocole d'extraction des tanins condensés.	<b>43</b>
<b>Figure III.2.1.1</b>	Synthèse de l'adsorbant en gel de tanin (b) à partir du tanin condensé, de l'unité flavan-3-ol des tannins condensés (a), et de l'ATG contenant des groupes amine dans son réseau de gel (c).	<b>45</b>
<b>Figure III.2.1</b>	Modification du gel de tanin (TG) avec de l'ammoniac pour préparer un gel de tanin modifié par une amine (ATG).	<b>46</b>
<b>Figure III.2.1</b>	Réaction de la (-) -épigallocatechine avec de l'ammoniac pour produire de la 40-amino-40-désoxy- (-) -épigallocatechine modifiée par une amine.	<b>46</b>
<b>Figure III.2.2</b>	Protocole de gélification et modification aminofonctionnalisés.	<b>47</b>
<b>Figure IV.1</b>	Schéma de L'appareil utilisé le spectromètre FTIR-84005-SHIMADZU.	<b>48</b>
<b>Figure V.1.2</b>	Représentation schématique des différentes méthodes d'immobilisation du biorécepteur.	<b>50</b>
<b>Figure V.1.3</b>	Structure chimique de l'agarose, présentant l'unité de répétition de l'agarose avec ; D-Galactose et le L-Anhydro Galactose.	<b>51</b>
<b>Figure V.1.4</b>	Formation du gel d'agarose – Suspension d'agarose chauffée à une température supérieure à 85°C qui perturbe la liaison hydrogène des groupes – OH et O. Au refroidissement, les liaisons hydrogène s'interconnectent pour former un réseau hydraté.	<b>52</b>
<b>Figure V.1.5</b>	Construction du biocapteur.	<b>52</b>
<b>Figure VI.1.1</b>	Schéma de la cellule électrochimique à trois électrodes.	<b>53</b>
<b>Figure VI.3.1</b>	Dispositif expérimental concernant la CV et SWV.	<b>54</b>
<b>Résultat et discussion</b>		
<b>Figure II.2.1</b>	Spectres IR des TG de thé vert avant et après la modification.	<b>57</b>
<b>Figure II.3.1</b>	Voltamogrammes par des électrodes nues et modifiées dans 5 mM du $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$	<b>58</b>

<b>Figure II.3.1.1</b>	(A) réponse électrochimique par Au/TGA-Agar et Au/TG-Agar à [BPA]= $10^{-9}$ M dans une solution pbs de 0.1M avec une vitesse de balayage de 0.05 v.s <sup>-1</sup> ; (B) : Voltammogrammes CV obtenus par Au/TGA-Agar à différentes concentration de BPA.	<b>59</b>
<b>Figure II.3.1.2</b>	(A) Voltammogrammes SWV obtenus par TGA-Agar/Au à différentes concentration de Bpa dans la gamme de potentiel de -0.2 à +0.8 V avec un taux de balayage de 0.05 V.s <sup>-1</sup> ; amplitude de et une fréquence de 11Hz; (B) courbes de calibration du BPA obtenues.	<b>60</b>
<b>Figure II.3.2.1</b>	Voltammogrammes cycliques pour différentes concentrations en catéchol, dans 3ml de PBS (pH 7)	<b>62</b>
<b>Figure II.3.2.2</b>	Voltammogrammes cycliques pour différentes concentrations en catéchol, dans 3ml de PBS courant cathodique et anodique (pH 7).	<b>63</b>
<b>Figure II.3.2.3</b>	Réponse anodique et cathodique du capteur en fonction de log(C) catéchol.	<b>64</b>
<b>Figure II.3.2.4</b>	Voltammogrammes à ondes carrées pour différentes concentrations en catéchol,dans 3ml de PBS (pH 7)	<b>65</b>
<b>Figure II.3.2.5</b>	Réponse du capteur en fonction de la concentration de catéchol.	<b>66</b>
<b>Figure II.4.1</b>	Schéma d'une réaction électrochimique.	<b>67</b>
<b>Figure II.6.1</b>	Analyse par SWV du BPA dans un échantillon d'eau de robinet (gauche) et le tracé de la méthode des ajouts dosés sur TGA-Aar/Au (droite) pour la détermination de la concentration de BPA calculée.	<b>69</b>

## Liste des tableaux

<b>Tableau</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>Tableau I.1</b>	Origines et natures de différentes sources de pollution du milieu aquatique (source : les Dossiers scientifiques du CNRS : l'eau, Chouteau, 2004).	<b>06</b>
<b>Tableau II.1</b>	Les multiples cibles de l'activité perturbatrice endocrinienne	<b>12</b>
<b>Tableau III.1</b>	Caractéristiques du BPA et conséquences physiologiques.	<b>16</b>
<b>Tableau IV.1</b>	Classification botanique de <i>Camellia Sinensis</i>	<b>18</b>
<b>Tableau IV.2</b>	compositions chimiques de thé vert.	<b>20</b>
<b>Tableau 6</b>	Capteurs du Catéchol précédemment publiées.	<b>40</b>
<b>Tableau V.1.1</b>	Caractéristiques de l'électrode Au.	<b>48</b>
<b>Tableau II.1.1</b>	Rendement d'extraction	<b>56</b>
<b>Tableau II.5.1</b>	Comparaison des performances analytiques du capteur TGA-Agar/Au avec celles d'autres matériaux utilisés pour la détermination du PBA.	<b>68</b>



## Liste des abréviations

<b>Abréviations</b>	<b>Significations</b>
<b>BPA</b>	Le bisphénol A
<b>M.E.S</b>	Matières en suspension
<b>S = LOD</b>	La limite de détection d'un capteur
<b>PE</b>	Perturbateur endocrinienne
<b>OMS</b>	L'Organisation Mondiale de la Santé
<b>pH</b>	Le potentiel hydrogène
<b>mg</b>	Milligramme
<b>μ L</b>	Microlitre
<b>E</b>	Le potentiel
<b>R</b>	La constante des gaz parfaits
<b>n</b>	La charge de l'espèce déterminant le potentiel
<b>F</b>	Constante de Faraday
<b>OX</b>	Oxydant
<b>Red</b>	Réducteur
<b>G</b>	Conductance
<b>Γ</b>	Conductivité
<b>ADN</b>	Acide désoxyribonucléique
<b>I</b>	Le courant
<b>R<sub>s</sub></b>	La résistance de l'électrolyte
<b>T</b>	La température
<b>E°</b>	Le potentiel standard du couple O <sub>x</sub> /R <sub>ed</sub> .
<b>CV</b>	Voltammétrie cyclique
<b>V</b>	Vitesse de balayage des potentiels
<b>C</b>	Concentration des espèces électroactives
<b>SWV</b>	Voltammétrie à ondes carrées
<b>FTIR</b>	Spectroscopie à transformée de Fourier
<b>h</b>	Heures
<b>HCl</b>	Acide chloridrique
<b>nm</b>	Nanomètre

<b>mM</b>	Milli molaire
<b>nM</b>	Nano molaire
<b>AG</b>	Agarose.
<b>rpm</b>	Rotation par minute
<b>PBS</b>	Tampon Phosphate Salin
<b>mV</b>	Millivolts
<b>μA</b>	Microampère
<b>Log</b>	Logarithme
<b>LOD</b>	Limite de détection
<b>ATG</b>	Tanin Gélifie Amino fonctionnalisé

## **Introduction générale**

L'humanité n'a pas toujours pris en compte les implications écologiques de ses actions, mais la dégradation progressive de l'environnement et son impact sur la santé humaine sont des signaux d'alerte importants. La pollution de l'eau est l'une des menaces écologiques les plus graves auxquelles on est confronté aujourd'hui. L'industrie du plastique a complètement transformé la vie de la société moderne, elle l'a simplifiée et même améliorée. L'ère du plastique a permis la naissance et le succès de nombreuses industries. La production mondiale de plastique a atteint environ 320 millions de tonnes par an. Chaque année, une partie non négligeable de ce plastique est perdue et se retrouve dans l'environnement [1].

En 2025, les océans pourraient regorger d'environ 250 millions de tonnes de déchets plastiques. Les micro-plastiques sont des particules microscopiques de plastiques qui polluent l'environnement. Ils sont principalement retrouvés dans les océans et les mers, ensuite ils sédimentent ou sont réingérés par les animaux aquatiques. Les composés perturbateurs endocriniens comprennent les produits pharmaceutiques, la dioxine et les composés de type dioxine, les bi-phényles poly-chlorés, les pesticides et les plastifiants. Ils sont classés parmi les polluants émergents car ils sont capables d'affecter les activités hormonales humaines. Parmi plusieurs composés perturbateurs endocriniens, le bisphénol A (BPA) a attiré l'attention de la communauté scientifique en raison de sa toxicité et de sa présence dans l'environnement, car il est utilisé dans la production industrielle de résines époxy, de plastiques polycarbonates et de revêtements de laque, pour n'en citer que quelques-uns.

Plusieurs études ont démontré que le BPA possède des propriétés similaires à celles des œstrogènes et ont établi une corrélation entre l'exposition au BPA et le diabète, les maladies cardiaques, l'obésité, le cancer du sein et de la prostate, la baisse de la qualité du sperme, les problèmes de neurotoxicité et le syndrome des ovaires poly kystiques. Le BPA présente une perturbation endocrinienne en se liant aux récepteurs d'œstrogènes, comme des altérations de la synthèse des hormones endogènes, du métabolisme des hormones et des concentrations d'hormones dans le sang qui peuvent provoquer des tumeurs cancéreuses, des malformations congénitales et d'autres troubles du développement. Il a été démontré que de faibles doses, même à des niveaux inférieurs à la normale (0,23 ng/L), peuvent affecter la santé humaine [2]. Il est bien connu que l'exposition au BPA affecte les fonctions du cerveau, de la thyroïde, des ovaires et des organes reproducteurs. Les formes généralement conjuguées du BPA (par exemple, le BPA-glucuronide, BPA-disulfate et BPA-chlorures) sont trouvées dans les échantillons

biologiques. L'augmentation des niveaux de BPA dans l'urine des adultes a conduit à une incidence accrue de dysfonctionnement sexuel chez les hommes. Le BPA est associé aux maladies cardiovasculaires, à l'obésité, à la cancérogénicité, à la neurotoxicité et aux problèmes de développement. Il provoque également une respiration sifflante, de l'asthme et des troubles du comportement. Le BPA présente également des risques pour la santé des animaux [3].

Jusqu'à présent, différentes techniques analytiques ont été rapportées pour la détermination du BPA, et certains paramètres tels que des équipements coûteux, des opérateurs qualifiés et des procédures compliquées et longues ont limité leurs utilisations.

L'introduction des capteurs électrochimiques au siècle dernier a révolutionné en mieux notre manière de vie. Ce n'est pas surprenant étant donné qu'ils jouent un rôle crucial dans l'analyse médicale et clinique et dans le suivi environnemental et industriel. Les capteurs électrochimiques occupent un large champ d'action qui ne cesse d'évoluer. Les principes électrochimiques sous-jacents pour la détection des analytes sont très pertinents dans de nombreux domaines. A cet égard, le développement de nouvelles méthodes fiables, sensibles, sélectives et peu coûteuses pour la détection et le dosage de polluants émergents est souhaitable [4].

Les techniques électrochimiques utilisant des électrodes modifiées en tant que capteurs se sont révélées une alternative prometteuse aux méthodes conventionnelles pour l'analyse qualitative et quantitative des polluants polymères et d'une variété de molécules organiques. En effet, les systèmes de détection électrochimique offrent de nombreux avantages tels qu'une instrumentation simple, une haute sensibilité et sélectivité, une facilité d'utilisation, une miniaturisation possible de l'instrumentation, un prétraitement minimal de l'échantillon, un temps d'analyse court, une portabilité et une possibilité d'analyse sur terrain. L'utilisation de nouvelles méthodes encore plus sensibles et résistantes pour améliorer les performances analytiques des capteurs constitue une préoccupation majeure des scientifiques [5].

Dans ce travail nous avons développé un capteur électrochimique à base des tanins aminofonctionnalisés, issu de thé vert, emprisonnés dans un gel d'agarose destiné pour la détection du BPA et de catéchol à l'état de trace en solution aqueuse, dans une gamme des concentrations entre  $10^{-18}$ M et  $10^{-6}$ M. La matrice ATG/Agar a été déposée sur un transducteur en or afin de tester sa sensibilité, pour améliorer les limites de détections.

Nous avons réalisé, par conséquent, toute une étude d'améliorations et de caractérisations.

Ce manuscrit s'articule autour de trois parties :

- Le première partie introductive présente un recueil bibliographique de contexte scientifique de notre travail, une définition de la matière végétale utilisée thé vert, la composition des tanins et met en avant la problématique environnementale (pollution des milieux aquatiques, Bisphénol A et perturbateurs endocrinienne). Nous essayons de fournir un aperçu général sur les moyens de détection via les biocapteurs avec les techniques de caractérisations électrochimiques utilisées.

- Le deuxième partie englobe la partie expérimentale qui comprend :

Une description des divers protocoles d'extraction, gélification et modification aminofonctionalise utilisés tout au long de l'étude et la mise en place des conditions d'obtention des extraits de la plante suivis par des méthodes de caractérisations électrochimiques pour une analyse structural de l'ATG et un volet consacré au développement d'une partie sensible à base d'une matrice ATG/Agar.

-Le contenu de la troisième partie est la présentation des résultats expérimentaux obtenus par les différentes techniques et leurs interprétations.

Nous finirons ce manuscrit par une conclusion générale résumant l'essentiel des résultats et les perspectives.

**Référence bibliographie:**

[1] Wright SL, Kelly FJ. Plastic and Human Health: A Micro Issue? *Environ Sci Technol.* 2017 Jun 20;51(12):6634-6647.

[2] Fenichel P, Chevalier N, Bucker-Davis F. Bisphenol A: An endocrine and metabolic disruptor. *Ann Endocrinol.* juill 2013;74(3):211-20.

[3] Kataria A, Trasande L, Trachtman H. The effects of environmental chemicals on renal function. *Nat Rev Nephrol.* 23 juin 2015;11(10):610-25.

[4] Élaboration de capteurs nanostructurés pour la détection de polluants métalliques à l'état de traces. Jean-Philippe JASMIN 2015.

[5] N. R. Stradiotto, H. Yamanaka, et M. V. B. Zanoni, Electrochemical Sensors: A Powerful Tool in Analytical Chemistry. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 2003, 14, (2), 159-173.



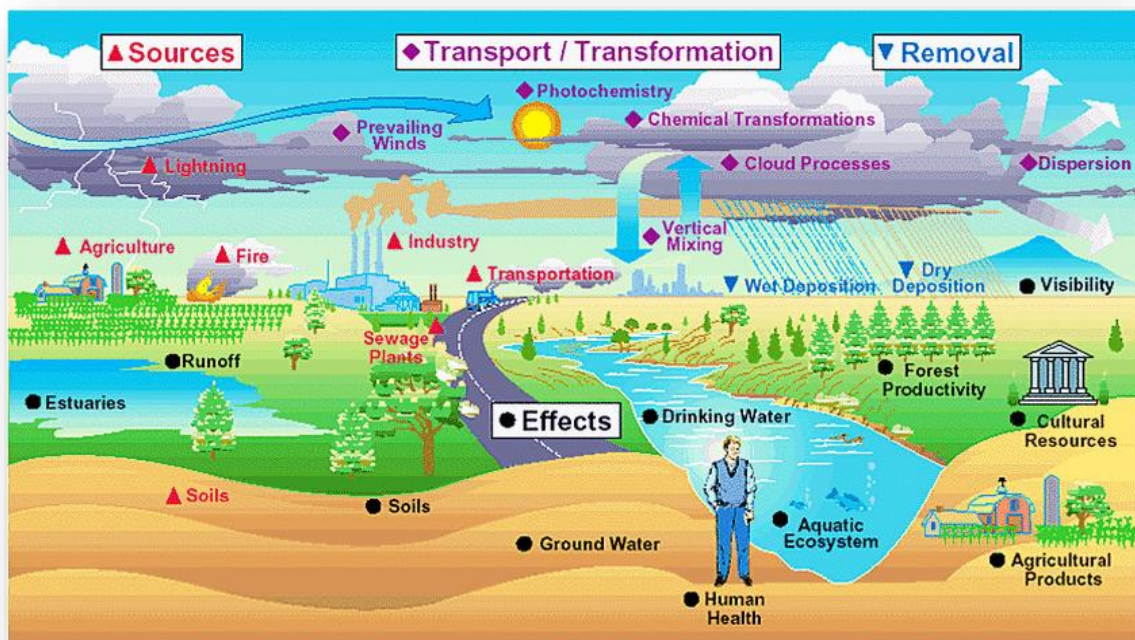
*Partie*

*Bibliographie*

## I. Pollution des milieux aquatiques

### I.1 Introduction

L'écosystème aquatique est reconnu comme un constituant indispensable à notre vie puisqu'il permet notre approvisionnement en eau et en nourriture. Pourtant, la protection de cet écosystème n'est pas assurée et les activités humaines sont nuisibles pour le maintien de sa qualité. De nombreuses études ont rapporté la contamination des eaux douces, des mers et des océans par différents types de contaminants : les éléments traces métalliques, les polluants organiques persistants, les déchets plastiques, produits chimiques et autres déchets etc. [1]. La présence des substances toxiques dans l'eau peut avoir des effets néfastes sur les organismes vivants à la suite d'une exposition directe ou indirecte des organismes à ces substances. Le bisphénol A (BPA) est un parmi les produits chimiques qui sont périodiquement déchargés dans les eaux usées. Ce produit est un précurseur industriel primaire dans la fabrication de polycarbonates et de résines époxy. Ce composé est déchargé dans l'environnement (eau, sol et air) par différentes voies lors des processus de fabrication (en particulier pendant le chauffage, la manipulation et le transport des produits) [2].



**Figure I.1 :** Les voies de la pollution. Le rouge indique les sources d'émission, le violet la transformation et le transport des polluants en bleu le dépôt actuel, en noir le point final potentiel.



## **I.2 Pollution du système aquatique**

La pollution constitue un sujet majeur de santé publique et de l'environnement. Le problème de la pollution des eaux représente sans aucun doute un des aspects les plus inquiétant de la dégradation du milieu naturel et donc de son équilibre.

Au cours de son cycle, l'eau peut donc se charger en éléments indésirables (polluants chimiques, organismes ...), qui contribuent à la dégradation des réserves d'eaux à travers les continents [3].

Les micropolluants présents dans l'environnement ont des origines très variées. Leur devenir environnemental ainsi que leur impact potentiel sur les différents écosystèmes sont très dépendant de leurs interactions avec le milieu environnant. Les principaux micropolluants impliqués dans les phénomènes de pollutions chimiques sont (exemple : bisphénol A et catéchol).

## **I.3 Causes de la pollution du milieu aquatique**

Le milieu aquatique, dans son ensemble, est un système très complexe qui est le siège d'un grand nombre de réactions chimiques, physiques et biologiques. Ce système est, de manière générale en étroite relation avec l'ensemble des autres systèmes ou compartiments constituant le milieu naturel et que l'on peut décomposer en trois grandes parties : l'atmosphère, l'eau et le sol (incluant les sédiments).

A cause du cycle de l'eau, les écosystèmes aquatiques sont susceptibles d'être contaminés par des pollutions accidentelles ou chroniques [4].

## **I.4 Sources de la pollution du milieu aquatique**

Le milieu aquatique est la cible de contamination par le rejet des effluents pollués (activités humaines, industrielles, urbaines ou agricoles), induisant différentes formes de pollution ; la pollution physique, chimique et biologique [5] :

**Tableau I.1** : Origines et natures de différentes sources de pollution du milieu aquatique (source : les Dossiers scientifiques du CNRS : l'eau, Chouteau, 2004).

Type de pollution	Nature	Origines
<b>Physique</b>	Rejets d'eau chaude	Centrales thermiques, nucléaires
	M.E.S. (matières en suspension)	Rejets urbains, érosion des sols
<b>Chimique</b>	Matière organique	Effluents domestiques, agricoles, agroalimentaires
	Fertilisants (nitrate, phosphate)	Agriculture, lessives
	Métaux (Cd, Pb, Hg, Al, As...)	Industrie, agriculture, déchets
	Pesticides (insecticides, herbicides, Fongicides)	Industrie, agriculture
	Organochlorés (PCB, solvants)	Industries
	Composés organiques de synthèse	Industries
	Détergents	Effluents domestiques
	Hydrocarbures	Industrie pétrolière, transports
<b>Biologique</b>	Bactérie, virus, champignons...	Effluents urbains, agricoles

## **II. Les perturbateurs endocriniens**

### **II.1 Introduction**

Les perturbateurs endocriniens sont, à l'heure d'aujourd'hui, au centre de nombreuses préoccupations. Il y a quelques années encore ce concept était totalement inconnu du grand public. Aujourd'hui, ce n'est plus le cas : on compte plusieurs milliers d'articles sur le sujet. A la télévision, dans les magazines destinés aux professionnels de santé comme au grand public et bien sûr, sur internet. Les articles sont partout. Et les inquiétudes autour du sujet aussi. On les associe aux mots « cancers », « maladies », « infertilité », « puberté précoce », « diabète », « disparition d'espèces animales » et bien d'autres encore [6].

### **II.2 Le système endocrinien**

Le système endocrinien est l'un des deux réseaux de communication de l'organisme. L'autre étant le système nerveux. Ces deux systèmes travaillent en synergie afin d'assurer la bonne activité cellulaire [7,8]. Le système nerveux s'adapte aux situations qui nécessitent des réponses rapides tandis que le système endocrinien est, lui, adapté aux situations nécessitant des réponses plus durables [8].

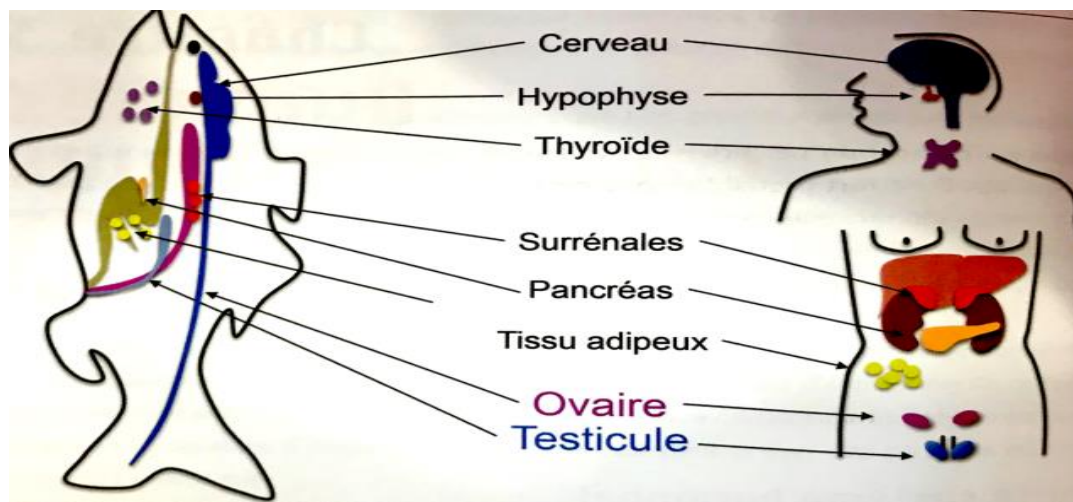
Le système endocrinien est essentiel car il permet une parfaite coordination et régulation des fonctions primordiales à l'homme telles que la croissance, le développement, le comportement, la reproduction, la production, l'utilisation et le stockage de l'énergie, l'homéostasie ou encore la réponse aux différents stimuli. Pour coordonner et réguler tous ces processus physiologiques, ce système est constitué d'un ensemble d'organes appelés « glandes endocrines ». Ces glandes ont la particularité de libérer dans la circulation sanguine des hormones ou « messagers chimiques ». Une fois larguées, ces hormones ont une action sur des cellules et/ou organes cibles de l'organisme via des récepteurs spécifiques. C'est alors cette action qui entraîne la réponse biologique.

Ces différentes glandes endocrines sont sous contrôle de l'hypothalamus qui sécrète des substances régulatrices et de l'hypophyse qui elle, sécrète des stimulines.

Les différentes particularités de ces hormones sont [7]:

- ✚ D'être active à de faibles concentrations,
- ✚ D'avoir une efficacité proportionnelle à la quantité sécrétée,

- ✚ D'être sécrétée par des cellules endocrines, regroupées en glandes endocrines richement vascularisées,
- ✚ De comporter une sécrétion de base associée à des pics selon le rythme de sécrétion
- ✚ D'être libérée dans le sang,
- ✚ D'avoir une action à distance sur des tissus ou organes cibles plus ou moins proches au niveau de leur anatomie.
- ✚ Le schéma suivant permet de visualiser les différentes glandes endocrines impliquées dans le système endocrinien (figure 2). Ces glandes endocrines sont : l'hypothalamus, la glande pinéale ou épiphyse, la glande pituitaire ou hypophyse, la parathyroïde, la thyroïde, le thymus, les glandes surrénales, le pancréas, les ovaires et les testicules [8].



**Figure II.1** : Conservation au fil de l'évolution des glandes endocrines, comparaison entre le poisson et l'homme [8].

### II.3 Historique des perturbateurs endocriniens

Le terme de perturbateur endocrinien a été pour la première fois utilisé en 1991 lors de la conférence de Wingspread : « Un grand nombre de produits chimiques de synthèse libérés dans la nature, ainsi que quelques composés naturels, sont capables de dérégler le système endocrinien des animaux, y compris l'homme. Il s'agit notamment des composés organochlorés, qui, du fait de leur persistance, s'accumulent dans les chaînes alimentaires.

Ceux-ci comprennent certains pesticides (fongicides, herbicides et insecticides) et produits chimiques, ainsi que d'autres produits synthétiques et certains métaux » [9].

La première réelle définition d'un perturbateur endocrinien est donnée lors du colloque de Weybridge en 1996 : « Une substance étrangère à l'organisme qui produit des effets délétères sur l'organisme ou sa descendance, à la suite d'une modification de la fonction hormonale. ». Etaient

représentés lors du colloque la Commission Européenne, l'OCDE (Organisation de Coopération et de Développement Économiques), l'OMS (Organisation mondiale de la Santé) et les grandes industries chimiques européennes [10].

L'agence américaine de protection de l'environnement (EPA) donne en 1996 une autre définition, basée sur le mode d'action des perturbateurs endocriniens : « un agent exogène qui interfère avec la production, la libération, le transport, le métabolisme, la liaison, l'action ou l'élimination des ligands naturels responsables du maintien de l'homéostasie et de la régulation du développement de l'organisme » (Kavlock et Ankley). Cette définition ne mentionne pas l'effet délétère sur l'organisme et sur sa descendance, elle fait cependant référence au mécanisme d'action de ces composés [11].

La même année, la Commission Européenne à l'environnement précisait la définition d'un perturbateur endocrinien comme « une substance ou un mélange exogène altérant les fonctions du système endocrinien et induisant ainsi des effets nocifs sur la santé d'un organisme ou de ses descendants ou des sous-populations. ». Cette définition fait à la fois mention du mécanisme et de l'existence d'un effet pathologique. Cependant, elle impose de connaître l'impact de la substance et de vérifier qu'il passe bien par le mécanisme d'altération des fonctions du système endocrinien. Or on ne connaît pas le mode d'action dans le tissu cible, on se réfère à un mode d'action prédit par des études [12].

La définition la plus utilisée aujourd'hui est celle de l'OMS datant de 2002 : « Les perturbateurs endocriniens sont des substances chimiques d'origine naturelle ou artificielle étrangères à l'organisme qui peuvent interférer avec le fonctionnement des systèmes endocriniens et induire ainsi des effets délétères sur cet organisme ou sur ses descendants. ». Cette définition limite l'identification d'un perturbateur endocrinien à un effet néfaste avéré qui interfère avec l'action hormonale. Or le lien de cause à effet est difficile à déterminer et exclut de fait de nombreuses substances [10].

En juillet 2017, la Commission Européenne a ajouté une notion importante, celle de perturbateur endocrinien présumé. La définition de l'OMS de 2002 a donc été complétée les pesticides. Selon ces critères, un perturbateur endocrinien doit répondre à trois conditions :

- Effet indésirable chez un organisme ou ses descendants.
- Mode d'action de type hormonal.
- Lien entre l'effet indésirable et le mode d'action hormonal [13,14].

### II.3.1 Evaluation des effets des PE

Face à la complexité de ces substances, il est nécessaire de pouvoir identifier les PE à l'aide de méthodes adaptées. Les PE sont des substances qui peuvent être dosées dans le sang, le tissu adipeux, le lait maternel, le liquide amniotique, le sang du cordon, ou encore les urines. Malgré cela, il reste difficile d'évaluer l'exposition aux PE et leurs effets sur la santé humaine. Les difficultés méthodologiques d'évaluation de l'exposition aux PE et de leurs effets sur la santé humaine sont entre autres une des raisons qui animent le débat sur la dangerosité des PE.

Les PE sont des substances qui sont présentes dans plusieurs milieux de l'environnement (air, eau, sol), qui peuvent provenir de différentes sources (alimentation, médicaments, produits ménagers, ameublement, peintures, cosmétiques...) et qui peuvent donc exposer l'individu via de multiples voies (ingestion, inhalation, contact cutané) [15].

### II.3.2 Sources des Perturbateurs endocriniens

Voici une illustration qui dévoile par exemple plusieurs **sources** d'exposition à différents exemples de substances qualifiées de PE. Certains impacts sur la santé qui peuvent leur être associés sont également décrits [15].



Figure II.2 : Perturbateurs endocriniens des sources multiples.

### II.3.3 Mode d'action

**a. Par effets similaires à ceux des hormones :** c'est-à-dire en mimant l'action de l'hormone naturelle. On parle alors d'effet agoniste. En effet, la substance se fixe sur le récepteur hormonal et l'active de la même façon que l'hormone naturelle. On obtient donc une réponse similaire à celle de l'hormone naturelle.

**b. Par blocage de l'effet hormonal :** c'est-à-dire en empêchant la transmission du signal hormonal. On parle alors d'effet antagoniste. En effet, la substance se fixe sur le récepteur hormonal mais cette fois-ci celle-ci bloque l'émission de la réponse hormonale.

**c. Par influence sur la disponibilité des hormones :** c'est-à-dire en interférant avec les processus physiologiques de production, de régulation, de transport ou encore de dégradation des hormones ou de leurs récepteurs ce qui entraîne des modifications des taux de concentrations des hormones de l'organisme.

- Il peut aussi y avoir un effet indirect lorsque la substance perturbe un mécanisme en lien avec le système hormonal. Par conséquent, la molécule agit indirectement sur les différents processus du système hormonal.

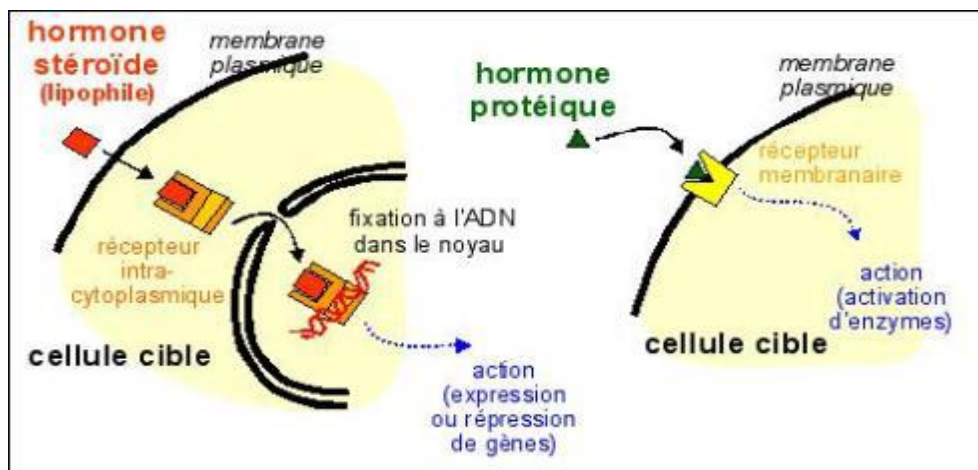


Figure II.3 : Mécanismes d'action des PE. [17]

En conséquence, la perturbation endocrinienne se caractérise par une modification du système hormonal susceptible d'entraîner un effet délétère et non par un effet toxique direct [16-19].

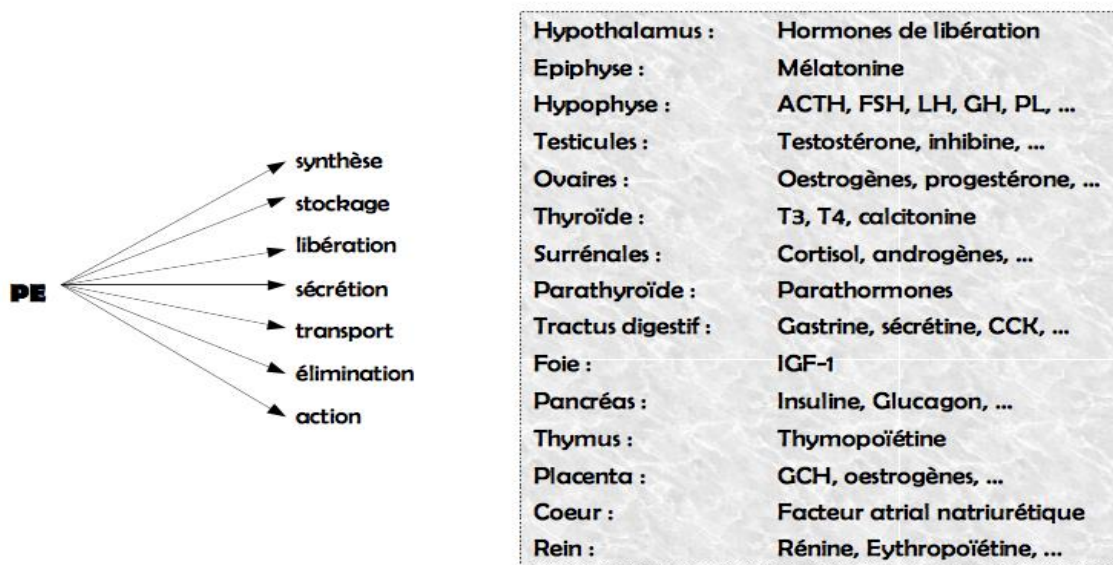
### II.3.4 Les cibles des PE

Les hormones naturelles et les produits de synthèse se retrouvent dans les rejets humains, animaux, végétaux ou industriels. Ils se déversent dans la nature sans véritable contrôle, créant un environnement saturé en substances ayant une action hormonale. Il devient désormais difficile de trouver des sujets sains (non exposés) pour les études expérimentales de toxicité. L'homme moderne baigne dans cet ensemble de substances, sans véritables connaissances sur sa situation,

les polluants se trouvant absolument partout. Il faut partir du principe que toute hormone semble pouvoir être affectée par des PE, pendant l'ensemble des processus qui l'entoure et pas uniquement lors de son action (tableau II.1). Le système endocrinien étant très similaire et conservé au fil de l'évolution, cela entraîne une susceptibilité d'affection pour l'ensemble de la faune.

**Tableau II.1 :** Les multiples cibles de l'activité perturbatrice endocrinienne

**LES CIBLES DES PERTURBATEURS ENDOCRINIENS**





### **III. Le bisphénol A ou BPA**

#### **III.1 Historique**

Le Bisphénol A (BPA) a été synthétisé pour la première fois par Dianin en 1891 et son potentiel oestrogénique fut découvert en 1936 [22]. C'est l'un des plus vieux composants synthétiques connu pour son activité endocrinienne mais il ne fut pas utilisé pour cela. En effet, rapidement, d'autres produits chimiques avec un potentiel oestrogénique bien plus fort ont été découverts. Par la suite, le BPA fut utilisé pour ses propriétés de réticulation dans l'industrie des plastiques polycarbonates et des résines époxy [21,22]. Les avantages qu'apporte le plastique en termes de coût de production, de facilité de mise en œuvre, de solidité, de poids, etc., en font un matériau très utilisé dès sa découverte. Il a largement servi à la démocratisation de nombreux produits et a permis la mise en place de la société de consommation telle que nous la connaissons, c'est pourquoi il est tant répandu de nos jours. Or le BPA, grâce à ses propriétés, a su s'imposer comme l'un des éléments principaux de la composition de ces matériaux plastiques et est donc omniprésent dans notre quotidien [21]. Les premiers effets néfastes du BPA ont été observés pour la première fois en 1987 par Anna Soto et Carlos Sonnenschein. Suite à une expérience sur des inhibiteurs de cellules cancéreuses, ils ont mis en lumière le probable rôle d'initiateur que jouait le BPA sur les cellules cancéreuses. Par la suite, David Feldman en 1993 et Patricia Hunt en 1998, se sont rendu compte de la contamination de leurs expériences par du bisphénol A présent dans le matériel de l'étude [23].

Les années 2000 ont vu fleurir un grand nombre d'études mettant en avant la possible toxicité du BPA. Le débat s'est animé jusqu'à devenir une vraie polémique quand le sujet a été médiatisé. Les gouvernements sont intervenus en mettant en place un certain nombre de réglementations et en commandant des analyses d'expert. L'histoire n'est pas terminée et aujourd'hui le BPA est encore surveillé de près.

Tout au long de l'histoire du BPA, de nombreuses preuves ont été accumulées sur ses effets toxiques sur la santé humaine. Le BPA est facilement libéré dans l'environnement, en particulier lorsqu'il est chauffé, ce qui ouvre une voie supplémentaire pour ses effets néfastes sur le corps humain. Le BPA a été détecté dans le milieu aquatique, le sol, l'air, aliments et dans le corps humain. Le BPA est l'un des perturbateurs endocriniens [24].

### III.2 Définition et structure

Le bisphénol A (BPA, 2,2-bis (4-hydroxyphényl) propane,  $C_{15}H_{16}O_2$ ) est un composé organique présentant deux groupements fonctionnels phénol, ce qui le classe dans la famille des aromatiques [25]. Est un produit chimique perturbateur endocrinien portant deux groupes fonctionnels phénoliques et considéré comme une substance hormonale environnementale [26]. Le bisphénol A (BPA) est un monomère organique important qui est largement utilisé comme additif dans la production de résines époxy et de polycarbonate [27].

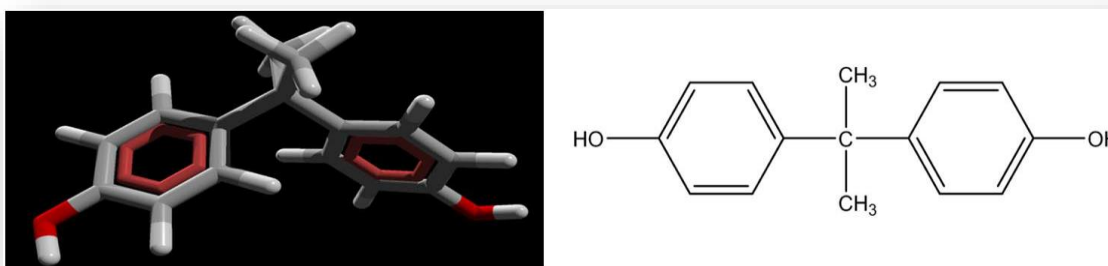


Figure III.1 : Structure moléculaire du BPA.

### III.3 Fiche technique

Le BPA est synthétisé par la condensation de phénols avec de l'acétone en présence d'un catalyseur. Il fait partie de la famille des Bisphénols qui font eux-mêmes partie de la famille des diphenylalcanes hydroxylés. Tous les bisphénols ont une structure similaire constituée de deux cycles aromatiques (phényles) liés par un pont carbone. Le pont carbone du BPA est associé à deux groupes méthyles (soit 4,4'-dihydroxy-2,2' diphenylpropane ou 4,4'-isopropylidenediphenol) [28,29].

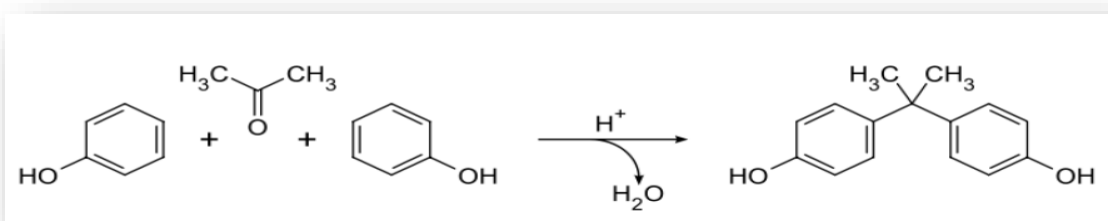


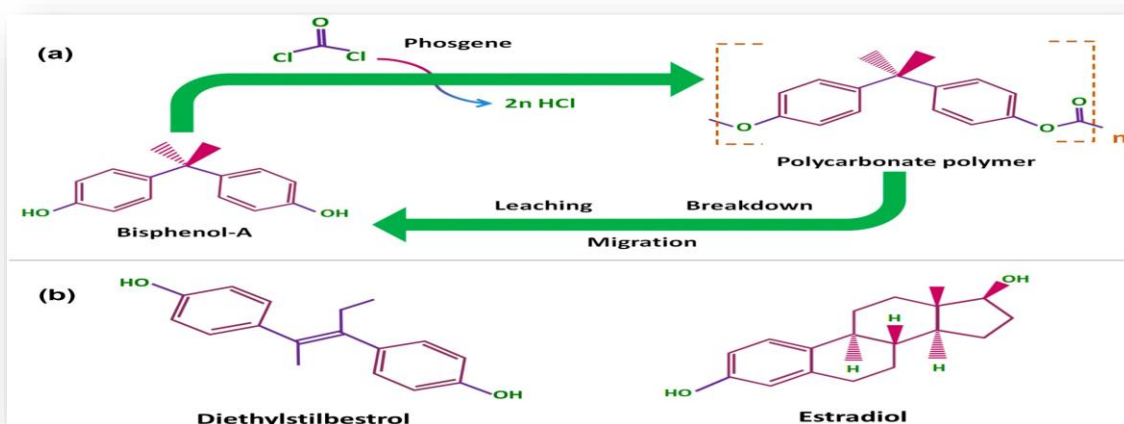
Figure III.2: Réaction de formation du Bisphénol A

### III.4 Propriétés physicochimiques du Bisphénol A

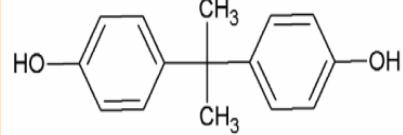
Le Bisphénol A (BPA) ou 2,2-bis (4-hydroxyphenyl) propane, composé chimique organique.

Il est issu d'une réaction de condensation catalysée par l'acide chlorhydrique ou par une résine de polystyrène faisant intervenir deux phénols et une cétone [30;31].

Les propriétés physicochimiques du BPA présentées dans le tableau 1 indiquent que le BPA est une molécule de petite taille, peu soluble dans l'eau, non ionisée dans l'intervalle des pH physiologiques et possédant un caractère relativement lipophile. Dans l'environnement, le BPA n'est pas un produit chimique persistant du fait de son caractère non volatil, de son temps de demi-vie très court dans l'atmosphère (dû à une réaction spontanée avec des radicaux hydroxyles et à une photo oxydation) et de sa biodégradation rapide en condition aérobie avec une demi-vie de 4,5 jours dans l'eau et le sol. Cependant, étant donné la quantité importante de sources de rejet du BPA, telles que les eaux usées et les résidus de lavage des installations de production et de transformation des produits dans lesquels il est utilisé ou les rejets involontaires liés à la manutention et au transport, il est omniprésent dans l'environnement et est fréquemment détecté dans des milieux très variés tels que l'eau, les sédiments ou le sol [32,33].



**Figure III.3 :** (a) Synthèse du polymère polycarbonate à partir du bisphénol-A et sa décomposition en bisphénol-A. (b) Hormones structurellement analogues au bisphénol-A.

Propriétés	Données concernant le BPA	Conséquences
Structure chimique		Molécule de petite taille
Formule chimique brute	C <sub>15</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub>	
Masse molaire	228.28 g/mol	
Coefficient de partage octanol/eau (log Kow)	3.4 (2.20-4.16)	Molécule hydrophobe et Relativement lipophile
Solubilité dans l'eau		
Constante d'ionisation (pKa)	9.73 (9.6-10.2)	Molécule non ionisée à pH physiologique
Coefficient de répartition (sang/plasma)	0.67-1.1	Molécule partiellement liée aux protéines plasmatiques

**Tableau III.1** : Caractéristiques du BPA et conséquences physiologiques.

### III.5 Méthodes analytique pour la détection de BPA

Jusqu'à présent, différentes techniques analytiques ont été rapportées pour la détermination du BPA, telles que la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS), la chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC-MS), le dosage immunosorbent (ELISA) et la chromatographie liquide à haute performance (HPLC). Bien que les méthodes susmentionnées soient sensibles pour la détection du BPA, certains paramètres tels que des équipements coûteux, des opérateurs qualifiés et des procédures compliquées et longues ont limité leurs utilisations [34].

Il existe diverses approches conventionnelles qui ont été employé dans le traitement du BPA au fil des ans. Par exemple, Bourgain et al. (2013) était capable de retirer les échantillons de BPA dans l'eau réelle (à 50 mg.L<sup>-1</sup>) en 10 min par l'hypochlorite de sodium (efficacité de 99%). Bien qu'il y ait une bonne efficacité dans l'élimination du BPA, il y a preuve que des métabolites chlorés se forment au cours de ce processus de poser certains effets secondaires. En plus de la chloration, d'autres méthodes telles que les procédés d'oxydation avancée à base d'agents oxydants forts (par exemple, O<sub>3</sub> et H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) dans la présence d'un fort rayonnement UV est également largement utilisée. Sharma et al. (2015) ont réalisé une étude dans laquelle les UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ont pu éliminer le BPA de 85% en 240min. Cependant, selon aux études, à l'irradiation UV et à d'autres dispositifs expérimentaux ont plus de responsabilité économique en plus de la formation des métabolites toxiques comme en cas de chloration. De plus, un niveau très élevé de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> est essentiel pour exécuter ce processus de suppression de BPA. La présence d'ions tels que les carbonates et bicarbonates pourraient contrecarrer l'efficacité des UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> du au piégeage des radicaux formés par ces ions. Contrairement aux méthodes susmentionnées, l'ozonation est certainement une bonne option car elle a amélioré l'efficacité d'élimination du BPA [35-37].

Cependant, il est extrêmement couteux car il nécessite un investissement élevé pour la génération d'ozone. Enfin, l'ozonation est suspectée pour former des intermédiaires qui pourraient être cancérogènes par naturelles.

## IV. Le thé vert (*Camellia Sinensis*)

### IV.1 Introduction

Le thé est une boisson populaire dans le monde entier. La culture du théier est économiquement importante dans de nombreux pays, et l'on sait que le théier, *Camellia Sinensis* est cultivé dans pas moins de 30 pays. Le *Camellia Sinensis* pousse mieux dans certaines régions tropicales et subtropicales [38]. Le thé vert (*Camellia Sinensis*) est après l'eau la boisson la plus consommée dans le monde entier depuis des milliers d'années. De nombreuses affirmations sur les bienfaits de sa consommation ont été formulées et étudiées. Comme ce dernier connaît un regain de popularité dans la culture occidentale et que des millions de personnes dans le monde en boivent chaque jour, il est pertinent de comprendre ses effets et les avantages sur les êtres humains et l'environnement [39].

### IV.2 Thé vert

A l'état naturel, le théier est un petit arbre très rameux, de 5 à 10 mètres de haut et pouvant atteindre 15 mètres. Mais dans la plupart des plantations, il est taillé à environ 1,20 m pour faciliter la cueillette des feuilles [40].

La classification AGP II (AngiospermPhylogeny Group) des Angiospermes, revue en 2003, sert aujourd'hui de référence :

**Tableau IV.1** : Classification botanique de *Camellia Sinensis*

<b>Embranchement</b>	<b>Spermatophytes</b>
<b>Division</b>	Angiospermes
<b>Classe</b>	Dicotylédones ou Magnoliopsidae
<b>Ordre</b>	Ericales
<b>Famille</b>	Theaceae
<b>Genre</b>	<i>Camellia</i>
<b>Espèce</b>	<i>Camellia sinensis</i> (L.) O. Kuntze, syn. <i>Thea sinensis</i> L.

Le thé vert, qui est produit à partir des feuilles de la plante *Camellia Sinensis*, est l'une des boissons les plus populaires au monde. Au cours des 30 dernières années ou plus. Le théier, *Camellia Sinensis*, est un membre de la famille des théacées. Ses feuilles servent à produire du thé noir, du thé Oolong et du thé vert.



**FigureIV.1** : la plante camellia Sinensins.

Le thé contient de la caféine, des huiles essentielles, des enzymes, des tanins et des composés phénoliques. Le thé vert est produit à partir de feuilles fraîches cuites à la vapeur à haute température, ce qui inactive les enzymes oxydantes et laisse intacte la teneur en poly phénols [40].

### **IV.3 Composition de thé vert**

Les composants du thé vert qui sont les plus pertinents du point de vue médical sont les poly phénols, les flavonoïdes étant les plus importants. Les flavonoïdes les plus pertinents sont les catéchines, qui représentent 80 à 90 % des flavonoïdes et environ 40 % des solides hydrosolubles du thé vert. La quantité de catéchines dans le thé peut être affectée par les feuilles récoltées, la façon dont elles sont traitées et la façon dont le thé est préparé. En outre, l'endroit où les feuilles sont cultivées (géographiquement) et les conditions de culture influent sur la quantité de catéchines. Les poly phénols sont rapidement oxydés après la récolte par l'enzyme poly phénol oxydase. Pour éviter la perte des poly phénols, les feuilles de thé vert sont chauffées rapidement (le plus souvent à la vapeur ou à la poêle) afin d'inactiver la poly phénol oxydase. Les feuilles de thé vert sont séchées, puis roulées et écrasées, ce qui favorise l'oxydation [41].

Tableau IV.2: compositions chimiques de thé vert.

Constituents	(% poids d'extrait sec)
Catéchines	30-42
Flavonols	5-10
Autres flavonoides	2-4
Autres depsides	01
Théogalline	2-3
Acide ascorbique	1-2
Acide gallique	0.5
Acide quinique	02
Autres acides organiques	4-5
Théanine	4-6
Autres acides aminés	4-6
Méthylxanthines	7-9
Les glucides	10-15
Minéraux	6-8
Volatiles	0.02

Les poly phénols présents dans le thé sont plus communément appelés flavanols ou catéchines et représentent 30 à 40 % des solides extractibles des feuilles de thé vert séchées. Les poly phénols du thé vert ont démontré des propriétés anti-oxydantes, anti-cancérigènes, anti-inflammatoires et antimicrobiennes significatives dans de nombreuses études humaines, animales et in vitro [42].

Les recherches ont montré que les principaux composants du thé vert associés aux bienfaits pour la santé sont les catéchines. Les quatre principales catéchines présentes dans le thé vert sont : - épi catéchine (**EC**), -épi catéchine-3-gallate (**ECG**),-épigallocatechine(**EGC**) et-épigallocatechine-3-gallate (**EGCG**). De ces quatre éléments, l'EGCG est présent en plus grande quantité [43].



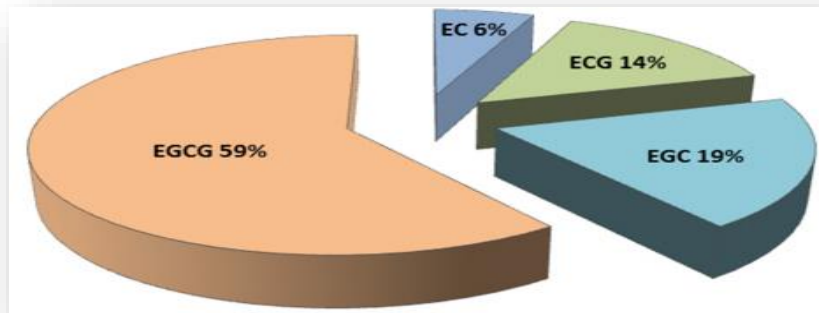


Figure IV.2: Composition relative des catéchines du thé vert.

#### IV.2.1 Structures de la catéchine du thé vert

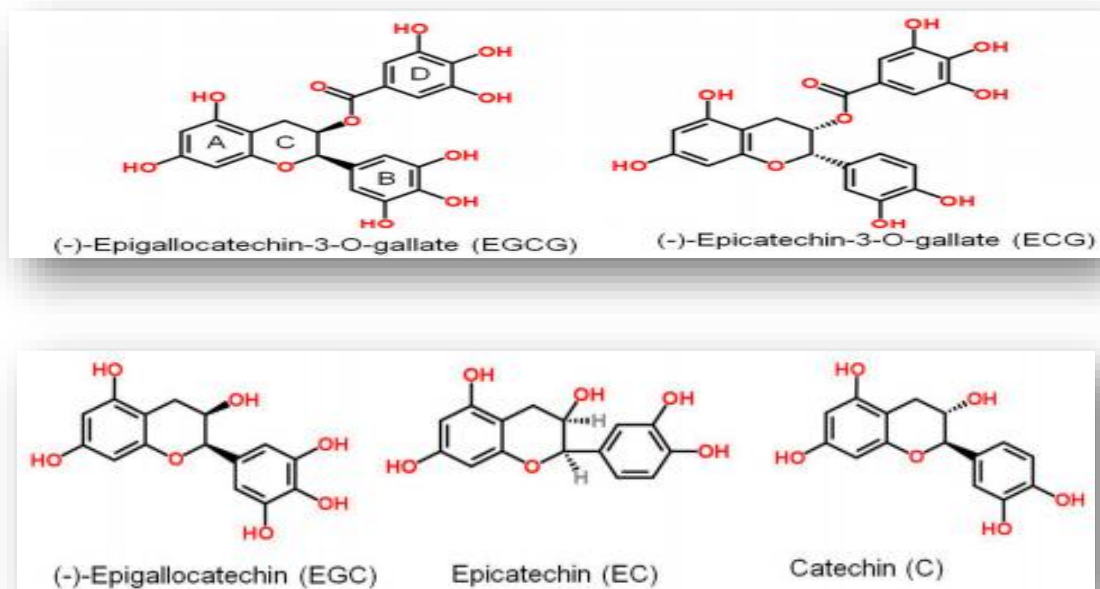


Figure IV.3 : Structures de la catéchine du thé vert.

#### IV.4 Propriétés bénéfiques du thé vert

##### IV.4.1 Propriété antioxydant

La catéchine, les poly phénols sont le secret du thé vert en particulier l'EGCG. L'EGCG est un puissant antioxydant qui aide à inhiber la croissance des cellules cancéreuses. Le thé vert renforce les immunités humorales et à médiation cellulaire, réduit le risque de certains cancers et de maladies cardiovasculaires. Le thé vert renforce les immunités humorales et à médiation cellulaire, réduit le risque de certains cancers et de maladies cardiovasculaires.

#### **IV.4.2 Propriétés anticancéreuses**

Les effets protecteurs du thé vert contre le cancer ont été rapportés dans plusieurs études de population. Par exemple, les taux de cancer ont tendance à être faibles dans des pays comme le Japon où le thé vert est régulièrement consommé (Fujiki et al. 2003) [41]. L'un des avantages de la consommation de thé vert est que l'ECGC inhibe la carcinogenèse dans le tube digestif, comme cela a été démontré dans des cellules (Okabe et al. 1999).

#### **IV.4.3 Maladie cardiovasculaire**

La capacité du thé vert à prévenir l'invasion cellulaire et la dégradation de la matrice pourrait contribuer à son effet protecteur sur l'athérosclérose et le cancer. Deux études japonaises portant sur près de 50 000 personnes ont révélé une diminution du taux de mortalité due aux MCV en fonction de la consommation de plusieurs tasses par jour. Une étude a montré une diminution de 28 % des décès dus aux MCV entre les personnes qui consommaient 3 tasses et celles qui consommaient 10 tasses. L'autre étude a montré une diminution de 14 % de la mortalité due aux MCV entre ceux qui consommaient <1 tasse et ceux qui consommaient 5 tasses.

#### **IV.4.4 Une peau saine**

Le thé vert est également devenu une partie de notre industrie cosmétique et il est utilisé dans de nombreux produits cosmétiques de soin de la peau en raison de ses propriétés anti oxydantes. Il a également des propriétés anti-âges et peut être utilisé pour le traitement de l'acné en raison de son efficacité à combattre l'acné. Même les déchets de thé utilisés sont utiles pour réduire les rougeurs et les inflammations de la peau. Également utiles pour réduire les cernes et les yeux gonflés.

#### **IV.4.5 Gestion du poids**

Plusieurs petits essais cliniques ont étudié l'effet du thé vert sur la perte de poids et la gestion du poids ont étudié pendant 12 semaines un essai contrôlé en double aveugle comparant les effets d'une boisson à base d'extrait de thé vert riche en catéchines avec une boisson placebo à faible teneur en catéchines chez 240 adultes japonais qui étaient obèses. Les résultats ont montré que le groupe de traitement actif présentait des réductions plus importantes du poids corporel, de l'indice de masse corporelle, du taux de graisse corporelle, de la masse grasse corporelle et du tour de taille et de hanches. [38,41].

## **V. Les tanins condensés**

Les tanins sont présents dans la plupart des espèces du règne végétal . En général, les tanins sont obtenus à partir de ressources naturelles renouvelables, c'est-à-dire Les tanins sont les principaux métabolites secondaires poly phénoliques. Largement distribués dans une proportion de 5 à 10 % de la matière végétale matières végétales vasculaires sèches l'écorce, les tiges, les graines, les racines, les bourgeons et les feuilles. Les tanins sont également disponibles dans les denrées alimentaires, à savoir le raisin, les mûres, les fraises, noix de cajou, noisettes, mangues et thé. Où leurs fonctions sont de protéger la plante contre la prédation et d'aider à réguler la croissance de la plante. Il existe deux grands groupes de tannins, à savoir les tannins hydrolysables et les tannins condensés. Les tanins sont utilisés comme produits chimiques importants et efficaces pour le tannage des peaux d'animaux. En outre, les tanins sont utilisés pour l'absorption des minéraux et la précipitation des protéines depuis les années 1960. Ils sont également utilisés pour la production chimique anticorrosive, la récupération de l'uranium dans l'eau de mer et l'élimination du mercure et du méthyle-mercure des solutions. Actuellement, les tanins sont considérés comme des composés bioactifs dans la science de la nutrition. [44].

### **V.1 Définition**

Les tanins sont des polyphénols d'origine végétale, astringents par nature, que l'on trouve dans différentes parties des herbes et des plantes consommées pour l'alimentation humaine et animale [45]. Ils sont des oligomères hydrosolubles, riches en groupes phénoliques, capables de se lier ou de précipiter des protéines solubles dans l'eau.

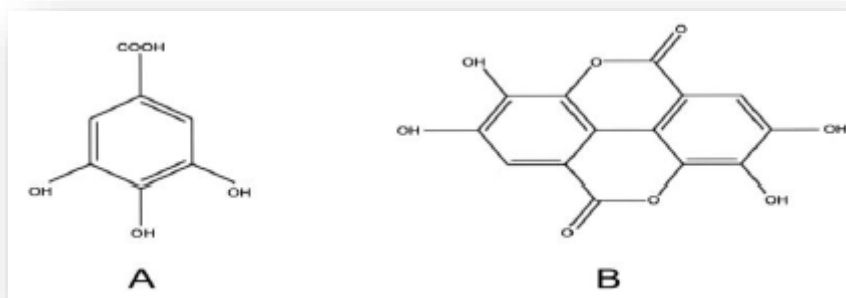
### **V.2 Types de tanins**

Ils sont principalement classés en deux groupes, à savoir les tannins condensés (non hydrolysables) et les tannins hydrolysables.

#### **V.2.1 Les tanins hydrolysables**

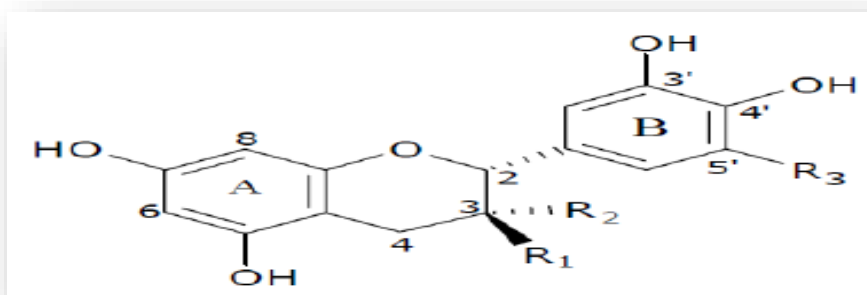
Les tanins hydrolysables, sont des dérivés de l'acide gallique et ils sont classés selon les produits obtenus à partir de leur hydrolyse. Ainsi, ils sont divisés en gallo-tanins (constitués d'acide gallique et glucose) et des ellagitanins (constitués principalement d'acides digallique et ellagique et de penta-galloyl-glucose).

Ils sont composés d'une grande variété de combinaisons dont les principaux composants sont oligomères de n-galloylglucose et de leurs dérivés de réarrangement tels que la vescaline et la vescalagine.



**Figure IV.4:** structure des acides gallique (A) et ellagique (B).

### V.2.2 Tannins condensés (poly flavonoïdes)



**Figure IV.5:** Structure des tanins condensés.

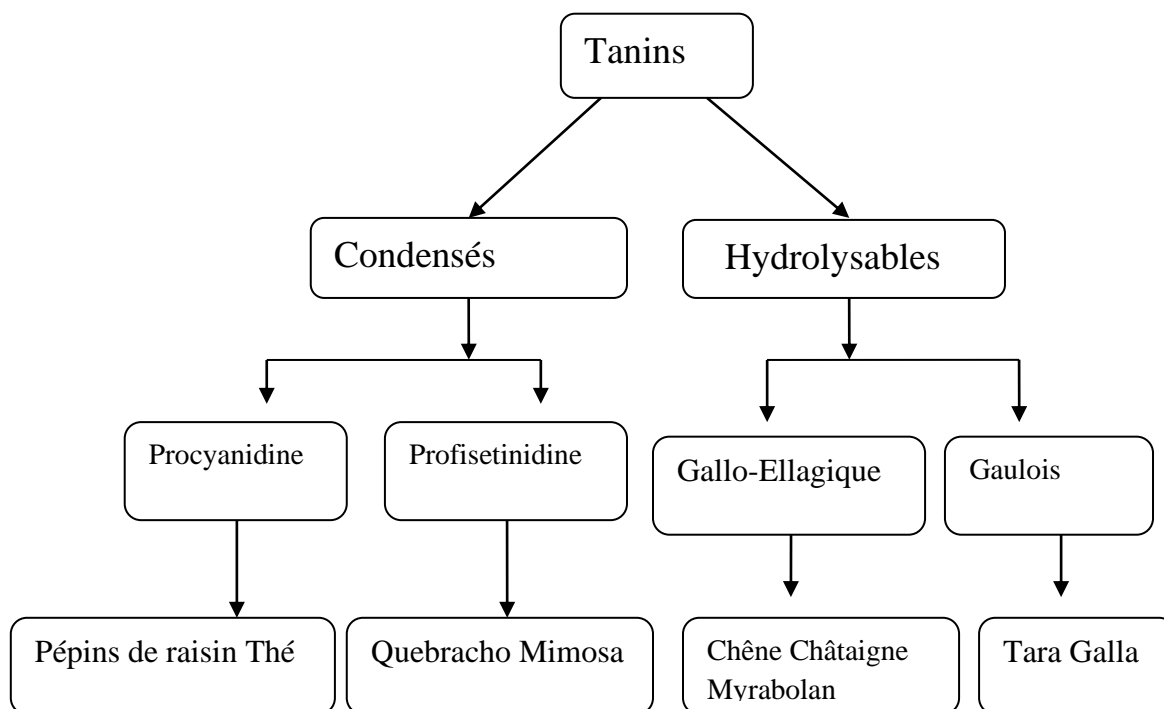
Les extraits de tanins condensés sont constitués d'unités flavonoïdes qui ont subi divers degrés de condensation. Ils sont invariablement associés à

Leurs précurseurs immédiats (flavan-3-ols, flavan-3,4- diols), d'autres analogues de flavonoïdes, des glucides et des traces d'acides aminés et imino.

Les mono flavonoïdes et les acides azotés sont présents à des concentrations trop faibles pour influencer les caractéristiques chimiques et physiques de l'extrait dans son ensemble.

Cependant, les glucides simples (hexoses, pentoses et disaccharides) et glucuronates complexes (gommes hydro colloïdes) ainsi que des oligomères dérivés d'hémicelluloses hydrolysées sont souvent présents en quantité suffisante. De même, les glucides des chaînes de différentes longueurs sont également parfois liés à des unités flavonoïdes dans le tanin. [46].

### V.3 Origine des tanins œnologiques :[49]



### V.4 Sources de tannins

Dans la nature, il existe deux sources principales de tanins, à savoir naturelles et synthétiques, qui jouent un rôle important dans l'évolution des plantes et de la santé humaine. En affectant les plantes ainsi que la santé humaine en termes positifs et négatifs.

#### V.4.1 Sources naturelles

Selon Hassanpour et al, en 2011 les principales sources de tanins sont la noix de kola (*Cola vera*), le guarana (*Paullinia cupana*), le thé (*Camellia sinensis*), le café (*Coffea spp.*), le cacao (*Theobroma cacao*). Divers fruits, légumes, céréales, légumineuses, herbes, fourrages, condiments et épices sont également connus pour être de bonnes sources de tanins. La localisation du tanin varie d'une culture à l'autre et peut se trouver dans les feuilles, les racines, la tige, les fruits ou la peau, les racines, les tiges, les fruits, la peau, les graines, la coquille ou l'écorce.

#### V.4.2 Sources synthétiques de tanins

Les tanins peuvent être synthétisés artificiellement en utilisant des naphthalènes, des crésols et d'autres hydrocarbures supérieurs comme ingrédients primaires. Les tanins végétaux tels que l'acide digallique, l'acide ellagique, l'acide métellagique, l'acide flavellagique, l'acide lutéique,

etc. sont synthétisés artificiellement, tandis que le Neradol D, Neradol N, Ordoval G et les acides tanniques (contenus dans les galles) sont les acides tanniques synthétiques [47].

## **V.5 Propriétés physico-chimiques**

### **V.5.1 Solubilité**

Les tanins sont difficilement solubles dans l'eau froide mais solubles dans l'eau chaude (Solutions colloïdales), ils sont solubles dans l'alcool et l'acétone, insoluble dans les solvants orge apolaires (éther). Leur solubilité varie selon leur degré de polymérisation.

### **V.5.2 Précipitation**

Les tanins sont précipités par de nombreux réactifs :

- ✚ Avec les métaux lourds : Fe, Pb, Zn, Cu
- ✚ Avec l'eau de chaux, la baryte, le tungstate de Na
- ✚ Avec les protéines (gélatine, albumine)
- ✚ Avec les sels d'alcaloïdes (contre poison)
- ✚ Avec le **réactif de Stiasnyou** formol chlorhydrique (uniquement les tanins catéchiques)

### **V.5.3 Dégradation**

En milieu acide à chaud les tanins hydrolysables et les tanins condensés réagissent différemment :

- ✚ Les tanins hydrolysables : libèrent les sucres, l'acide gallique et/ou l'acide ellagique.
- ✚ Les procyanidols: leurs liaisons interflavoniques sont rompues et en présence d'air le carbocation formé conduit à un anthocyanidol.

### **V.5.4 Extraction**

1. L'extraction des tanins (drogue fraîche) par un mélange d'eau et d'acétone.
2. distillation pour l'élimination de l'acétone.
3. Purification de la solution extractive par le dichloro-méthane (élimination des pigments et des lipides).
4. Extraction des proanthocyanidols dimères et des tanins galliques par l'acétate d'éthyle.

Dans ce scénario général, plusieurs *capteurs électrochimiques* ont été mis au point pour la détection du BPA à l'aide d'électrodes en carbone vitreux et d'électrodes sérigraphiques.

Parmi celles-ci, les (bio) capteurs électrochimiques présentent l'avantage d'être rentables et miniaturisées, adaptées à l'analyse in situ par du personnel non qualifié.

## VI. Les capteurs électrochimiques

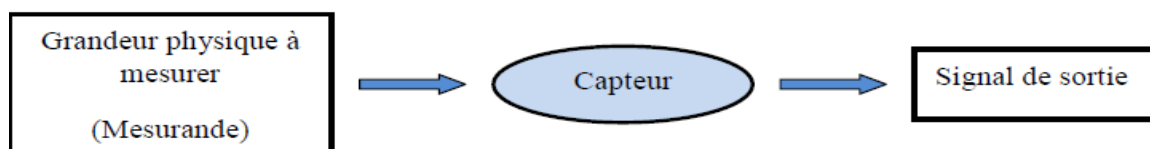
### VI.1 Introduction

Depuis le premier capteur développé par Schiller et al. 1978, plusieurs revues scientifiques ont décrit leur application pour la détection des polluants organiques comme le phénol [48]. Les capteurs sont largement appliqués dans divers domaines notamment dans l'analyse des aliments [49], dans le secteur médical [50], pour le diagnostic du cancer ou pour la détermination des pesticides ou des métaux lourds [51]. Des études récentes décrivent l'effet de différentes techniques électrochimiques sur la performance de ces outils analytiques [52]. L'étude de leurs caractéristiques analytiques offre des dispositifs prêts à l'emploi pour la détection des substances dangereuses en temps réel [53].

### VI.2 Capteurs électrochimiques

#### VI.2.1 Définition

Un capteur chimique est un dispositif simple qui transforme une information chimique (nature et concentration d'une espèce spécifique) en un signal facilement exploitable pour l'analyse [54].



Le principe de base d'une mesure d'un capteur électrochimique repose sur le fait que certaines substances électro actives en solution (molécules ou ions) peuvent échanger des électrons avec une électrode, ceci dans des conditions analytiques bien définies en particulier par le potentiel auquel cet échange a lieu. Les différents principes exigent toujours une conception spécifique de la cellule électrochimique.

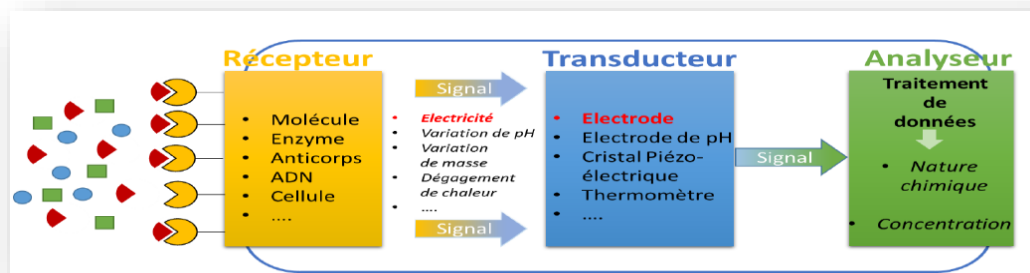


Figure VI.1 : Schéma du principe général d'un capteur électrochimique.

## VI.2.2 Type des capteurs électrochimiques

Les capteurs électrochimiques sont classés selon leur mode de transduction : Potentiométrique, ampérométrique, conductimétrique ou impédimétrique[55].

### VI.2.2.1 Capteur Potentiométrique

Dans le cas de ce type de capteurs électrochimiques, un équilibre local s'établit à l'interface électrode-électrolyte et l'information sur la concentration de l'échantillon en analyte est obtenue à partir de la différence de potentiel mesurée entre l'électrode de travail (récepteur) et l'électrode de référence [56].

Ce type de capteurs est basé sur la mesure des variations de potentiel entre une électrode de référence, dont le potentiel est constant et reproductible, et l'électrode indicatrice sur laquelle est déposé l'élément sensible. Dans ce type de système, un équilibre local s'établit à la surface du capteur et conduit à la génération d'un potentiel proportionnel au logarithme de la concentration (activité) des espèces générées ou consommées au cours du processus de reconnaissance. Dans le cas d'un capteur redox, cette relation est représentée par l'équation de Nernst :  $E = E^{\circ} + \frac{RT}{nF} \ln \left( \frac{a_{ox}}{a_{red}} \right)$  [57].

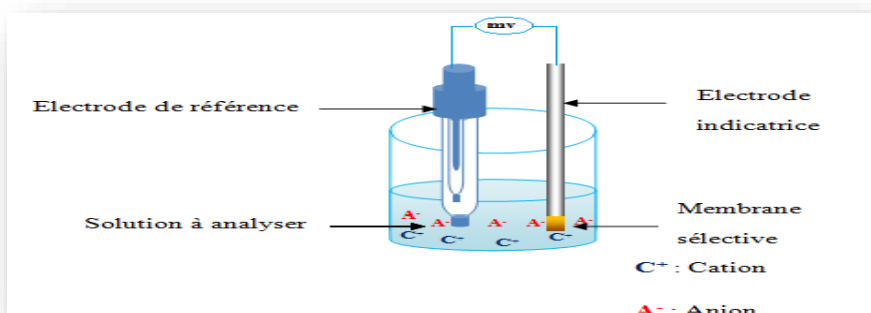


Figure VI.2: Principe de mesure Potentiométrique : accumulation de charge électrique à la surface de l'électrode indicatrice.



#### **IV.2.2.2 Capteurs ampérométriques**

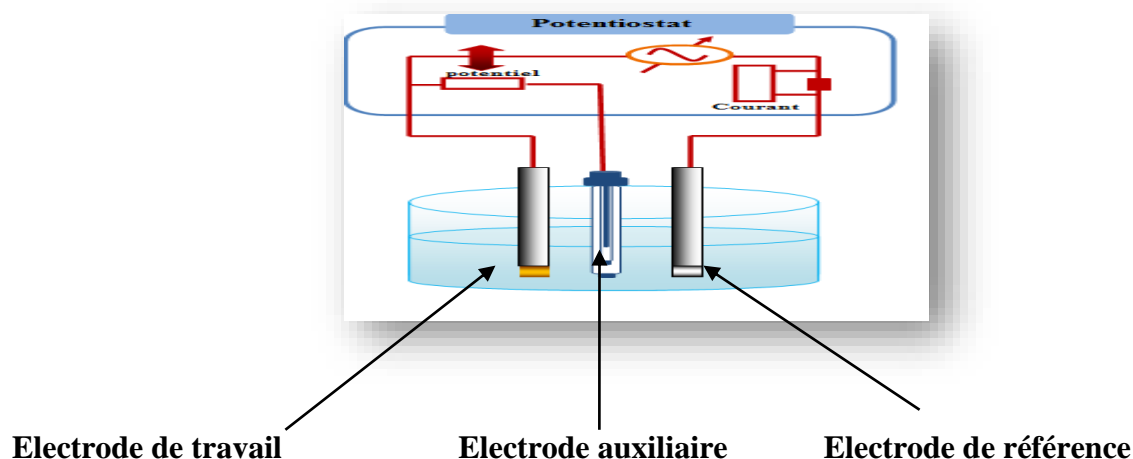
Dans le cas des capteurs ampérométriques, c'est une relation entre l'intensité du courant (en ampères) et la concentration de l'analyte en solution qui est exploitée [58].

Ces capteurs sont basés sur la mesure de l'intensité du courant issu d'une réaction d'oxydation ou de réduction des espèces électro actives sur la surface de l'électrode à un potentiel constant appliqué entre l'électrode de travail et une électrode auxiliaire. Le potentiel appliqué sert de force motrice au transfert d'électrons. Le courant résultant est une mesure directe du taux de transfert d'électrons et est fonction de la concentration de l'espèce électro active oxydée ou réduite à la surface de l'électrode. Les électrodes à base de carbone, telles que le carbone vitreux, l'électrode à pâte de carbone, le diamant dopé au bore, et plus récemment les nanotubes de carbone et le graphène, sont les matériaux les plus couramment utilisés pour développer ce type de capteurs [59].

L'utilisation de ces capteurs est associée à un protocole analytique reposant sur une technique électrochimique ampérométrique pour laquelle le traitement électrochimique imposé et le traitement du signal induit peuvent faire l'objet d'un certain nombre de variantes que le manipulateur pourra choisir [60].

#### **IV.2.2.3 Capteurs impédimétrique**

Le principe de ce type de capteurs repose sur la mesure de l'impédance électrochimique de l'électrode de travail qui est soumise à une perturbation sinusoïdale de faible amplitude à un potentiel (ou à un courant) donné. La réponse sinusoïdale mesurée, de faible amplitude également, est alors un courant (ou un potentiel) dans une zone où le système répond linéairement. Le rapport potentiel/courant définit alors l'impédance du système. Cette impédance peut être représentée par un circuit électrique équivalent (CEI) permettant d'exprimer les paramètres électriques qui définissent le phénomène de transfert de charge qui se produit à l'interface électrode/électrolyte. Les capteurs impédimétriques s'appliquent avantageusement aux réactions électrochimiques qui permettent un transfert de charges électriques entre l'électrode et l'électrolyte. Lorsque l'analyse est piégée dans la couche sensible du capteur, de faibles variations de conductance et de capacitance peuvent être décelées et l'impédance de l'électrode s'en trouve modifiée.



**Figure VI.3 :** Schéma de principe des mesures impédimétriques.

#### IV.2.2.4 Capteurs conductimétriques

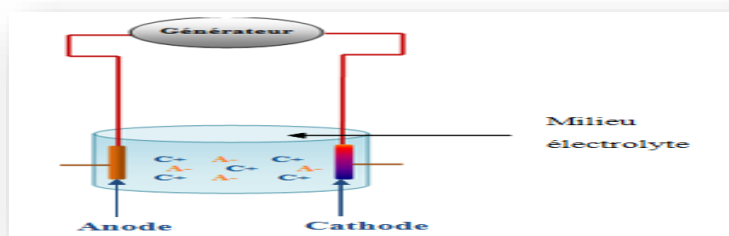
Ce type de capteurs est basé sur des variations de conductivité électrique d'un film ou d'un matériau, générées par la présence de l'analyte en solution [56, 58].

Le principe de ces capteurs est basé sur la mesure des changements de la conductance électrique d'une solution électrolytique résultant des variations (consommation ou production) d'espèces chargées générées au cours des processus électrochimiques à l'interface électrode/électrolyte.

Pratiquement, la mesure de la conductance  $G$  d'un électrolyte homogène de conductivité  $\gamma$  s'effectue en immergeant dans la solution une cellule de mesure comprenant deux électrodes dont la surface  $A$  et la longueur  $\lambda$  sont données. La conductance est donnée par l'équation :

$$G = \gamma \frac{A}{\lambda}$$

Les capteurs conductimétriques trouvent une application répandue dans les domaines médical et environnemental [61].



**Figure VI.4:** Schéma de principe des mesures conductimétriques.

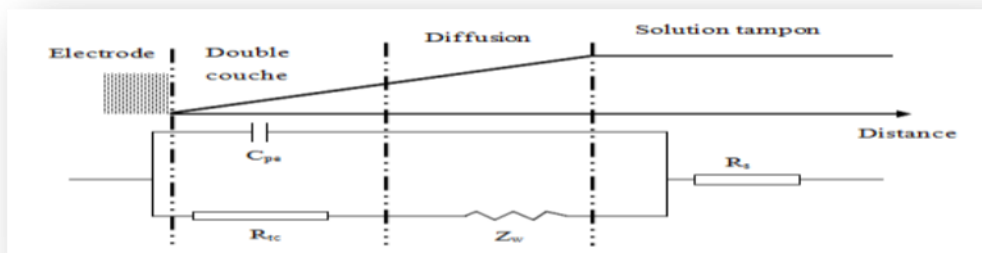
### IV.3 Techniques électrochimiques

#### IV.3.1 Spectroscopie d'impédance électrochimique (EIS)

La spectroscopie d'impédance électrochimique s'impose de nos jours comme un outil analytique fiable et puissant permettant de caractériser les propriétés électriques de nombreux systèmes. Elle permet l'analyse simultanée des propriétés résistives et capacitives des matériaux conducteurs ou semi-conducteurs. On l'applique à l'étude des mécanismes réactionnels, à la caractérisation de couches superficielles et minces, à l'étude des phénomènes de corrosion, à la caractérisation de la conductivité électrique de matériaux solides et à la cinétique des électrodes et des batteries [60 ,61]. Cette popularité est due à son aptitude à fournir un bon nombre d'information pour mieux compléter la compréhension d'un système électrochimique par rapport aux autres techniques [62].

L'objectif de l'analyse d'un spectre d'impédance est de convertir chacune des étapes observables sur les diagrammes de Nyquist et/ou de Bode en des grandeurs physiques représentatives. Ceci peut être réalisé par la modélisation du diagramme en proposant un Circuit Electrique Equivalent (CEE) composé d'un certain nombre d'éléments simples.

Un très grand nombre de circuits électriques sont proposés dans la littérature et ceux-ci dépendent principalement du transport des charges. Le circuit équivalent couramment utilisé est celui de Randles[64]. Il est présenté sur la figure16.



**Figure VI.5:** Modélisation des différentes couches d'un capteur constitué d'une électrode conductrice en contact avec une solution électrolytique.

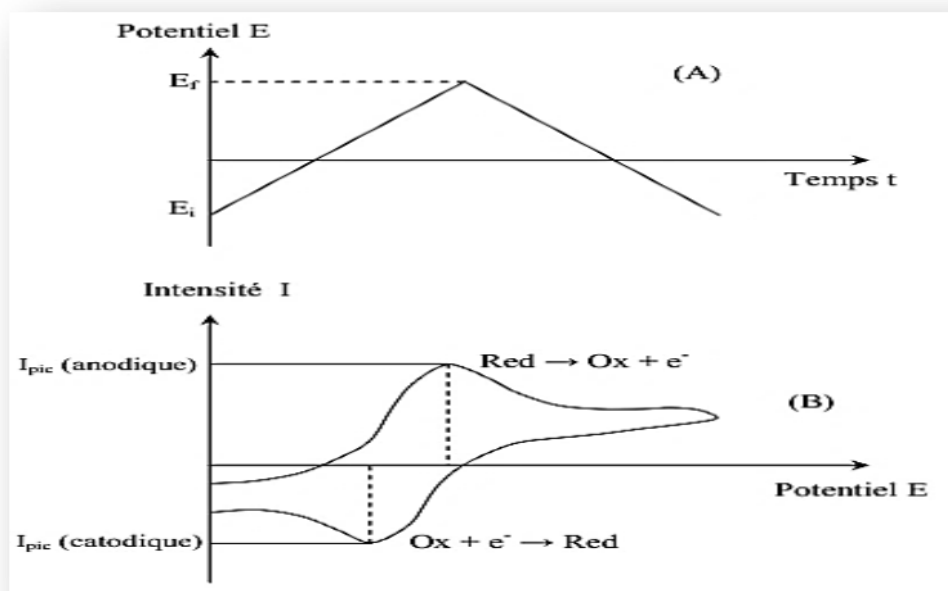
Les différents éléments constituant ce circuit sont [65,66]:

- La résistance de l'électrolyte  $R_s$ .
- La résistance de transfert de charge  $R_{tc}$ .
- La capacité de double couche  $C_{PE}$ .
- L'impédance de Warburg  $Z_w$ .

### IV.3.2 La voltamétrie cyclique

La voltamétrie cyclique est une méthode électrochimique très utilisée. Elle permet de donner des informations sur les réactions électrochimiques se produisant à l'interface solide/liquide. Cette technique est couramment utilisée, en raison de sa simplicité et de sa rapidité pour la caractérisation d'un système redox actif et elle permet aussi de fournir une estimation du potentiel redox des espèces électro-actives. Afin d'obtenir un voltamogramme cyclique, un montage expérimental à trois électrodes est utilisé [67].

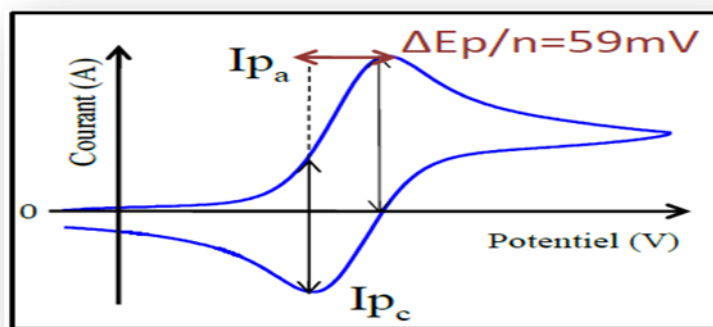
Cette méthode consiste à appliquer un potentiel linéaire à une électrode de travail en utilisant un signal triangulaire (**Figure**). Plusieurs cycles peuvent être employés. Durant le balayage, le potentiostat mesure le courant résultant du potentiel appliqué. Le diagramme résultant est le voltamogramme cyclique. Le voltamogramme cyclique est une fonction compliquée dépendant du temps et de plusieurs paramètres physiques et chimiques [68].



**Figure VI.6:** Séquence de balayage de potentiel utilisée en CV (A) et exemple de courbe courant-potentiel obtenue (B) [23].

La voltamétrie cyclique est utilisée pour connaître si un matériau est réellement conducteur. Elle peut également fournir des informations sur la stabilité du matériau ainsi que des informations sur le potentiel d'oxydation/réduction et sur la réversibilité du système électro-actif étudié. La voltamétrie cyclique est également une technique sensible et peut donc être utilisée pour évaluer l'électro-activité des matériaux ayant une faible conductivité [69]. Les voltamogrammes

cycliques sont interprétés en utilisant plusieurs paramètres dont les pics d'oxydation et de réduction.



**Figure VI.7:** Voltamogramme cyclique d'un système rapide.

Par réversibilité électrochimique, on sous-entend que le transfert d'électrons entre l'électrode et le substrat soit rapide pour pouvoir maintenir la concentration des espèces oxydées et réduites en équilibre, en fonction de l'équation de Nernst, à la surface de l'électrode à une vitesse de balayage particulière. En contraste, la réversibilité chimique implique qu'un composé peut à la fois être quantitativement oxydé, et le produit peut encore être quantitativement réduit pour avoir le matériau d'origine, mais il n'y a pas de limitation sur la façon dont cela doit se produire [70]. En utilisant la voltamétrie cyclique on peut définir si un système est électro chimiquement réversible ou non.

Un couple électro-chimiquement réversible qui n'est pas suivi d'une deuxième réaction chimique doit obéir à l'équation. L'équation de Randles-Sevcik montre que les mesures de courant des systèmes électro-chimiquement réversibles sont liées aux coefficients de diffusion ( $D$ ). Si la relation entre le courant  $I_p$  et la racine carrée de la vitesse de balayage ( $V \cdot s^{-1}$ ) est linéaire, alors l'espèce électro-active est plutôt en solution qu'à la surface. Le diagnostic  $\Delta E = 59 \text{ mV}$  pour un processus électrochimique de transfert d'électrons réversible est souvent difficile à réaliser. Ainsi, fréquemment les valeurs de  $\Delta E$  sont de  $90 \text{ mV}$  pour les processus électrochimiques parfaitement réversibles. Dans ces cas, une relation linéaire entre  $I_p$  et  $v^{1/2}$  est plus commode pour démontrer la réversibilité électrochimique que les valeurs de  $\Delta E$ .

- La relation entre le courant anodique et cathodique est donnée par cette expression :

$$I_{p_c}/I_{p_a}=1$$

- La relation de Randles-Sevcik, pour un système réversible s'exprime par :

$$I_p = 2,69 \times 10^5 \times S \times n^{3/2} \times D^{1/2} \times C \times v^{1/2}$$

Avec :

C : La concentration de l'espèce électro-active en solution (mol/cm<sup>3</sup>) ;

S : La surface de l'électrode (cm<sup>2</sup>) ;

D : Le coefficient de diffusion (cm<sup>2</sup>.s<sup>-1</sup>) ;

v : Vitesse de balayage (V/s) ;

n : Nombre total d'électrons transférés.

$$\Delta E_p = E_{pa} - E_{pc} = 59n \text{ (mV)}$$

- Le potentiel standard d'un couple réversible est donné par :

$$E^\circ = E_{pa} + E_{pc} / 2$$

Avec:

E<sub>pa</sub>: Potentiel du pic anodique ;

E<sub>pc</sub>: Potentiel du pic cathodique [71].

- *Système quasi-réversible :*

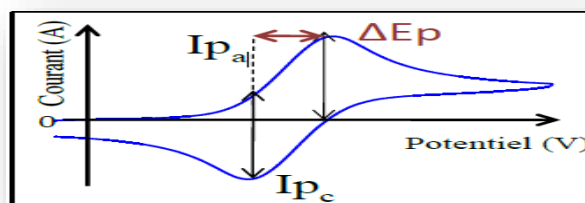


Figure VI.8: Voltamogramme cyclique d'un système quasi-réversible.

- $\Delta E_p n > 59 \text{ mV}$

La valeur de  $\Delta E$  est supérieure à celle d'un système réversible, les pics de courant sont plus séparés [72].

- *Système irréversible :*

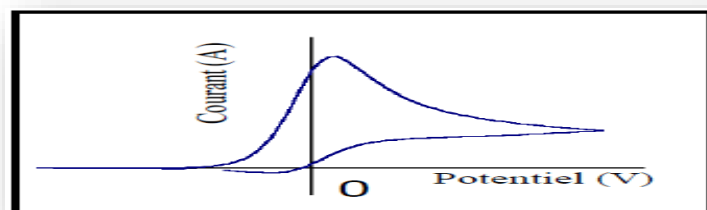


Figure VI.9: Voltamogramme cyclique d'un système irréversible.

La différence de potentiel est plus grande que celle d'un système quasi-réversible [72], on dit que c'est un système lent.

La surface des pics de courant peut être utilisée afin de calculer le taux de recouvrement selon l'équation suivante [72]:

$$T = Q/nFs$$

Avec :

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

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

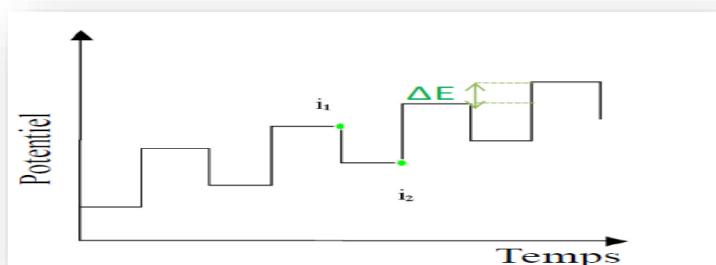
n : Le nombre d'électrons transférés par molécule adsorbée ;

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

S : L'aire de la surface électro-active ( $\text{cm}^2$ ).

### IV.3.3 La voltamétrie à ondes carrées

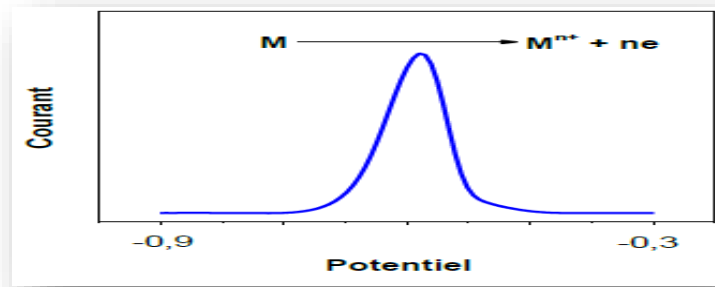
Cette technique est très utilisée pour la mesure de traces d'espèces organiques et inorganiques [73]. La voltamétrie à ondes carrées (SWV) a été développée en combinant les ondes carrées de haute amplitude et les hautes fréquences avec la forme d'onde rapide en escalier. La **Figure 21** montre la forme d'onde potentiel-temps de cette méthode.



**Figure VI.10** : Signal d'excitation de la voltamétrie à ondes carrées.

Le courant est mesuré à la fin de chaque impulsion et la différence entre les courants mesurés sur deux impulsions successives est enregistrée comme une réponse nette. Le courant est représenté en fonction du potentiel correspondant à l'escalier sous forme d'onde [73].

Le courant est mesuré au cours des dernières microsecondes de chaque impulsion, la différence entre le courant mesuré sur deux impulsions successives est enregistrée comme une réponse nette ( $\Delta I = I_1 - I_2$ ), il est tracé en fonction du potentiel de la « marche d'escalier ». La courbe intensité-potentiel obtenue a l'allure d'une gaussienne comme le montre la Figure 11.



**Figure VI.11 :** Réponse en courant typique d'un voltamogramme à vague carrée.

L'intensité de courant du pic ( $I_p$ ) est directement proportionnelle à la concentration des analytes correspondants, le potentiel de pic ( $E_p$ ) correspond au potentiel de demi-vague observé en voltampérométrie classique. Le pas de potentiel  $\Delta E_p$ , la période  $\tau$  et l'amplitude de l'impulsion  $|\Delta E_s|$  sont les trois paramètres susceptibles d'influencer la largeur et la hauteur du pic et par conséquent la résolution et la sensibilité de la méthode [67], [68].



## Etat de l'art

### Le bisphénol A

Depuis la découverte des phénols par le chimiste Russe Alexander Dianin en 1891, plusieurs études ont été menées sur cette classe de polluants ce qui permet la découverte d'un dérivé phénolique connu aujourd'hui sous le nom du Bisphénol A.

En 1960, son utilisation massive par l'industrie du plastique, notamment sous forme de polycarbonate, a conduit par la suite, que certaines agences sanitaires s'inquiètent peu à peu de son utilisation, ce qui a engendré le durcissement de la réglementation. En 2007, le bisphénol A est reconnu par l'Agence européenne des produits chimiques (AEPC) comme perturbateur endocrinien « *extrêmement préoccupant* » ; il est interdit en France dès 2015, malgré un recours au conseil constitutionnel puis à la cour de justice de l'Union Européenne du lobby du plastique [74,75,76]. Le BPA a un impact important sur le corps humain, notamment en ce qui concerne l'altération des fonctions reproductives et de la santé. [77,78]. En outre, son excrétion est difficile car il ne se dégrade pas facilement [79]. Bien que le niveau de BPA dans l'environnement soit extrêmement faible, il provoque tout de même un blocage du système nerveux, des malformations et des cancers des organes, des troubles fonctionnels du système endocrinien et immunitaire, et des interférences avec le système enzymatique [80]. Selon le service public de santé Food and Drug Administration (FDA), la valeur de la dose journalière admissible (DJA) est de 5 mg/kg pc/jour (23,126  $\mu\text{M}$ ) [81]. Ainsi, le développement de méthodes rapides, sensibles et simples pour déterminer et détecter les niveaux du BPA dans le milieu aquatique est urgent.

Plusieurs travaux ont été publiés dans ce contexte. En 2019, H. Ren et al, ont développé un capteur à base des aptamères. Le dispositif a présenté une limite de détection vers 600 pM, dans une gamme de linéaire de 20 à 600 pM et. Aussi Ye et al ont utilisé la même matrice pour la détection du BPA dans le lait et l'eau. Le dispositif est une électrode en Au, qui a atteint une gamme linéaire de 0,1 à 100 pM et une limite de détection LOD de 76 fM [82]. Toujours en utilisant les aptamères, Yu et al ont pu détecter le BPA dans des échantillons d'eau réelle dans un intervalle de 1 à 100 pM [83]. Des années plus tard, Kazane et al ont fabriqué un film de Poly (Pyrrole-Nitrilotriacetic Acide). Ce dispositif avait une gamme linéaire de 10 pM à 1  $\mu\text{M}$  avec un LOD de 10 pM [84].

D'autre part un grand nombre de polymères ont été utilisés pour construire des capteurs polymères à impression moléculaire (MIP). La spécificité des MIP contre le BPA dépend du choix des monomères et de la méthode de synthèse. Ils sont utilisés avec des nanoparticules (NPs) pour améliorer la sensibilité et la spécificité du test en raison de la grande surface des NPs. Kubo et al [85], ont synthétisé des MIPs en polymérisant de la 4-vinylpyridine (monomère fonctionnel) en utilisant du diméthacrylate d'éthylène glycol comme réticulant et les ont appliqués sur la surface d'une électrode en carbone vitreux (GCE) pulvérisée à l'acide. Le capteur s'est avéré être plus sélectif envers le BPA et la réponse électrochimique a été examinée par voltampérométrie cyclique. De même, Huang et al [86], ont utilisé une électrode en carbone vitreux (GCE) modifiée par des nanoparticules d'or (AuNP) pour greffer du 2-aminothiophenol avec du BPA comme modèle. La gamme de réponse linéaire du capteur était comprise entre  $8,0 \times 10^{-6}$  et  $6,0 \times 10^{-2}$  mol L<sup>-1</sup>, avec une limite de détection de  $1,38 \times 10^{-7}$  mol L<sup>-1</sup>. D'autre part, Kou et al [87], ont mis au point un capteur potentiométrique utilisant des polymères imprimés au BPA comme récepteurs appliqués sur la surface de l'électrode pour faciliter une détection spécifique et sensible. Cette électrode a présenté une réponse linéaire au potentiel anionique sur la plage de concentration de 0,1 à 1 μM avec une limite de détection de 0,02 μM avec une excellente sélectivité par rapport aux autres phénols.

D'après la littérature, Fan et al [88] ont utilisé des feuilles de graphène dopées à l'azote avec un capteur électrochimique à base de chitosane pour détecter le BPA dans des échantillons d'eau. Le capteur présente une réponse sensible dans la gamme de  $1,0 \times 10^{-8}$  à  $1,3 \times 10^{-6}$  mol L<sup>-1</sup> avec une faible limite de détection de  $5,0 \times 10^{-9}$  mol L<sup>-1</sup> dans les conditions optimales. Wang et al. [89] ont utilisé une méthode de chimiluminescence-inhibition par injection en flux pour détecter le BPA dans des échantillons d'eau à l'aide d'une méthode d'injection en flux, pour la détection du BPA dans les échantillons d'eau en utilisant luminol et de l'hexacyanoferrate de potassium. La concentration de BPA était dans la plage  $8,0 \times 10^{-7}$ ,  $1,2 \times 10^{-5}$  mol/l et la limite de détection était de  $3,1 \times 10^{-7}$  mol/L. En effet, Chen et al. [90] ont démontré que l'utilisation de NPs d'argent améliore la chimiluminescence des luminaires. Cette technique peut être utilisée avec succès pour la détection du BPA dans les aliments et dans des échantillons d'eau. La limite de détection était de 1 ng/L avec une plage de concentration allant de  $1,0 \times 10^{-8}$  à  $5,0 \times 10^{-5}$  g L<sup>-1</sup> et la méthode s'est avérée appropriée pour une analyse rapide in-situ.

D'autre part, Gierach et al [91], ont développé des biocapteurs bactériens pour la surveillance du BPA et des EDC connexes en utilisant des Escherichia coli modifiés avec des domaines de liaison de ligand du récepteur d'œstrogène. Le phénotype de croissance de la bactérie a été

modifié en raison de la liaison ligand-récepteur et les souches ont répondu à de faibles doses de BPA de l'ordre de IM. Ces biocapteurs sont capables d'accepter des domaines de liaison de diverses espèces, ce qui facilite l'identification exacte des EDC.

Les capteurs à puce basés sur des cellules électrochimiques constituent une nouvelle technique de détection dans laquelle la variation des propriétés électrodynamiques et redox des cellules est utilisée pour détecter les composés cibles. La réponse électrochimique du capteur a été mesurée par voltampérométrie cyclique ou par des techniques ampérométriques. Choi et al. [92] ont développé des capteurs électrochimiques à base de cellules cancéreuses neurales pour surveiller le BPA.

Dans un autre travail publié par Hegnerová et al [93], il c'est avéré que la détection du BPA dans les eaux usées (LOD 0,14 ng/mL) a été réalisée sur la base de l'inhibition de la liaison, dans laquelle une quantité connue d'anticorps a été mélangée à l'échantillon, puis laissée couler sur la surface du capteur. La détection du BPA dans le PBS et les eaux usées a été effectuée à des concentrations allant de 0,05 à 1 000 ng/ml. La limite de détection a été estimée à 0,08 et 0,14 ng/ml, respectivement. Les anticorps libres en solution se lient au BSA-BPA immobilisé sur la surface et les signaux obtenus sont proportionnels à la concentration de BPA. Un principe similaire au format de liaison-inhibition a été utilisé pour développer un capteur SPR avec une surface de puce fonctionnalisée par une monocouche auto-assemblée (composés thioliques organiques) - avec une LOD de 40 pg/mL[94].

## **Le Catéchol**

Le catéchol appartient à la famille des dihydroxybenzènes. Ce composé est couramment utilisé dans la préparation des plastiques, des peintures, des antioxydants, des cosmétiques, des raffineries de pétrole, du cuir, de l'acier, du charbon, le goudron de houille et les produits pharmaceutiques ...etc. C'est un produit non biodégradable qui est très toxiques même à de très faibles concentrations. Ce composé fait partie des polluants environnementaux majeurs. Par conséquent, leur détection qualitative et quantitative est très importante pour l'étude et le contrôle de l'environnement. Selon le Règlement de la santé et la sécurité du travail (RSST), la valeur d'exposition moyenne pondérée (VEMP) de catéchol est de 5 ppm.

Par conséquent, il est nécessaire d'établir une méthode analytique simple, rapide et fiable pour la détermination sensible et sélective de ce composé dihydroxybenzénique dans diverses matrices. Jusqu'à présent, diverses approches ont été exploitées pour répondre aux demandes croissantes de détermination.

Dans ce contexte, le tableau 6 regroupe quelques travaux publiés, dont le but été la détection du catéchol [95].

**Tableau06** : Capteurs du Catéchol précédemment publiés.

Matrices	Méthodes	LOD ( $\mu\text{M}$ )	Gamme linéaire ( $\mu\text{M}$ )	Références
<b>Graphène-chitosan/GCE</b>	DPV	0.75	1–400	[96]
<b>Nanoparticules d'Au/nano-fibres de carbone.</b>	DPV	0.36	5–350	[97]
<b>Electrode en pâte de carbone/poly (calmagite)</b>	DPV	2.55	20.6-80.6	[98]
<b>Electrodes intégrées de nanotubes de carbone</b>	DPV	0.6	1-1000	[99]
<b>Electrode en pâte de carbone/chlorure de 3-n-propyl-4 picoliniumsilsesquioxane</b>	DPV	10	10-300	[100]
<b>Nanotube de carbone/poly-vertmalachite</b>	CV	29.3	$0.36 \cdot 10^{-3}$ - $4.05 \cdot 10^3$	[101]
<b>Nanotubes de carbone CN<sub>x</sub>/GCE</b>	LSV	$2.71 \times 10^{-6}$	-	[102]
<b>graphite /poly (cristal violet) MGPE</b>	DPV	$27.76 \times 10^{-9}$	-	[103]

Après avoir présenté les capteurs et biocapteurs électrochimiques de BPA développés dans la section précédente, ce chapitre nous a permis de définir les différents types de techniques convenables avec lesquels nous avons développé nos capteurs électrochimiques. Nous avons choisi d'utiliser des bio complexant naturels en l'occurrence les tanins de thé vert plus précisément les tanins Aminofonctionnalisées dans la construction des bio récepteurs pour détecter les polluants BPA et le catéchol. En effet, nous avons développées une matrice ATG /agarose sur une électrode d'Or pour améliorer les limites de détections. La gamme de réponse linéaire du capteur est comprise entre  $10^{-6}$  et  $10^{-18}$  M.L'élaboration et la caractérisation de ces capteurs seront discutées dans le partie suivant.

## Références bibliographiques

- [1] Kaipainen, J. Gas chromatography-tandem mass spectrometry for environmental analysis of organic compounds in water and air particulate matrices. (2015).
- [2] Gassara, F., Brar, S. K., Tyagi, R. D., & Valero, J. R. Dégradation biologique du bisphénol A dans les eaux usées. *Environmental Reviews*, 19(NA), 32-54. (2011).
- [3] Zaimeche, Saida. "Contribution à l'étude de l'action d'agents polluants sur des végétaux bioindicateurs." (2017).
- [4] Leila, Dramnia Alima-Gaham, and Gheraibia Amina. "Histologie de la glande digestive de deux Mollusques Bivalves (*M. galloprovincialis* et *Donax trunculus*) colonisant le golfe d'Annaba-l'Est Algérien." (2019).
- [5] Les Dossiers scientifiques du CNRS : l'eau, Chouteau, 2004.
- Net-David, S. Contaminants organiques en milieux aquatiques : développements analytiques, techniques et applications (Doctoral dissertation, Université Lille1-Sciences et Technologies). (2016).
- [6] Rifai, Sinda. Les perturbateurs endocriniens dans les produits cosmétiques. Diss. 2018.
- [7] Ludwing S. Comportement d'un « perturbateur endocrinien » et d'un « non perturbateur endocrinien » vis-à-vis de la toxicité testiculaire chez le rat. Thèse de doctorat : Biologie cellulaire et moléculaire : Université Paris-Sud 11 ; 2011
- [8] Desmots S, Brulez C, Lemazurier E. Perturbateurs de la fonction endocrinienne et santé : un point non exhaustif sur les connaissances. *Environnement, Risques et Santé*. 2005 ; 4 (3) : 195-204.
- [9] Kah O, Cabaret M. Les perturbateurs endocriniens : ces produits qui en veulent à nos hormones. Rennes, France : Éditions Apogée, DL 2016 ; 2016. 205 p
- [10] Sénat. La naissance du concept de perturbateurs endocriniens. Sénat. [En ligne] [Citation : 6 Avril 2019.] <http://www.senat.fr/rap/r10-765/r10-76514.html>.
- [11] Sénat. Un concept en débat. Sénat. [En ligne] [Citation : 30 Mars 2019.] <https://www.senat.fr/rap/r10-765/r10-76515.html>.
- [12] Saint-Dizier, M. et Chastant-Maillard, S. La reproduction animale et humaine. Versailles :Quae, 2014.

- [13]. INSERM. Reproduction et environnement. INSERM. [En ligne] [Citation : 4 Mars 2019.] <http://www.ipubli.inserm.fr/bitstream/handle/10608/222/?sequence=22>.
- [14] Journal officiel de l'Union Européenne. Règlement délégué (UE) 2017/2100 de la Commission du 4 septembre 2017 définissant des critères scientifiques pour la détermination des propriétés perturbant le système endocrinien. Eur Lex. [En ligne] 17 Novembre 2017. [Citation : 5 Avril 2019.] <https://eur-lex.europa.eu/legalcontent/FR/TXT/PDF/?uri=CELEX:32017R2100&from=EN>.
- [15]. Loury, R. Perturbateurs endocriniens: les méthodes de caractérisation dévoilées. Journal de l'environnement. [En ligne] 11 Juin 2018. [Citation : 6 Mars 2019.] <http://www.journaldelenvironnement.net/article/perturbateurs-endocriniens-les-methodes-de-caracterisation-devoilees,92143>.
- [16] Perturbateurs endocriniens – PERTURBATEURS ENDOCRINIENS [Internet]. [cité 24 oct 2017]. Disponible sur: <https://perturbateursendocrinienssite.wordpress.com/category/perturbateurs-endocriniens/>
- [17] Desmots S, Brulez C, Lemazurier E. Perturbateurs de la fonction endocrinienne et santé : un point non exhaustif sur les connaissances. Environnement, Risques et Santé. 2005 ; 4 (3) : 195-204
- [18] ORS. Les perturbateurs endocriniens. N°10 : Les dossiers santé – environnement de l'ORS. 2013
- [19] ANSES. Perturbateurs endocriniens : présentation et travaux de l'ANSES. <https://www.anses.fr/fr/content/perturbateurs-endocriniens-1>, consulté le 13 janvier 2014.
- [20] Ministère de l'Ecologie et du Développement durable. Programme national de recherche : Perturbateurs endocriniens. Rapport de recherche. 2005.
- [21]. Rouiller-Fabre V, Guerquin MJ, Tumba-Byn T, Muczynski V, Moison D, Tourpin S, et al. Nuclear Receptors and Endocrine Disruptors in Fetal and Neonatal Testes: A Gapped Landscape. Front Endocrinol [Internet]. 7 mai 2015 ;6. Disponible sur: [http://www.frontiersin.org/Cellular\\_Endocrinology/10.3389/fendo.2015.00058/abstract](http://www.frontiersin.org/Cellular_Endocrinology/10.3389/fendo.2015.00058/abstract)
- [22]. Fenichel P, Chevalier N, Bucker-Davis F. Bisphenol A: An endocrine and metabolic disruptor. Ann Endocrinol. juill 2013;74(3):211-20.
- [23]. Kataria A, Trasande L, Trachtman H. The effects of environmental chemicals on renal function. Nat Rev Nephrol. 23 juin 2015 ;11(10) :610-25.

- [24]. Barbier G, Office Parlementaire d'Evaluation des Choix Scientifiques et Technologiques. (O.P.E.C.S.T.). Assemblée Nationale. Les perturbateurs endocriniens, le temps de la précaution. Paris: Sénat; 2011 juill p. 131p.
- [25] Olchowik-Grabarek, E., Makarova, K., Mavlyanov, S., Abdullajanova, N., & Zamaraeva, M. Comparative analysis of BPA and HQ toxic impacts on human erythrocytes, protective effect mechanism of tannins (Rhustyphina). *Environmental Science and Pollution Research*, 25(2), 1200-1209. (2018).
- [26] Wang, Z., Yan, R., Liao, S., Miao, Y., Zhang, B., Wang, F., & Yang, H. In situ reduced silver nanoparticles embedded molecularly imprinted reusable sensor for selective and sensitive SERS detection of Bisphenol A. *Applied Surface Science*, 457, 323-331. (2018).
- [27] Ren, H., An, Z., & Jang, C. H. (2019). Liquid crystal-based aptamer sensor for sensitive detection of bisphenol A. *Microchemical Journal*, 146, 1064-1071.
- [28] Rajabnejad, S. H., Badibostan, H., Verdian, A., Karimi, G. R., Fooladi, E., & Feizy, J. Aptasensors as promising new tools in bisphenol A detection-An invisible pollution in food and environment. *Microchemical Journal*, 155, 104722. (2020).
- [29]. Rousselle C, Rivière G, Pernellet\_Joly V. Bisphénols d'intérêt environnemental et alimentaire. Elsevier Masson SAS; 2015.
- [30]. Corrales J, Kristofco LA, Steele WB, Yates BS, Breed CS, Williams ES, et al. Global Assessment of Bisphenol A in the Environment: Review and Analysis of Its Occurrence and Bioaccumulation. *Dose-Response [Internet]*. 5 août 2015 [cité 18 janv 2016];13(3). Disponible sur: <http://dx.doi.org/10.1177/1559325815598308>
- [31]. Inserm. Effets sur la reproduction du Bisphénol A, rapport préliminaire. Juin 2010
- [32]. Shimizu K., Kontani S., Yamada S., Takahashi G., Nihisyama T. et Satsum A. Synthesis of bisphenol-A from phenol and acetone using organic– inorganic modified heteropoly acid catalyst. In: 18th Saudi Arabia–Japan Joint Symposium, Dhahran, Saudi Arabia. 2008.
- [33]. Oehlmann J., Schulte-Oehlmann U., Kloas W., Jagnytsch O., Lutz I., Kusk K. O., Wollenberger L., Santos E. M., Paull G. C., Van look K. J. W. et Tyler C. R. A critical analysis of the biological impacts of plasticizers on wildlife. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. Vol. 364, n° 1526, pp. 2047-2062. Juillet 2009.

- [34]. Environnement canada et sante canada. Évaluation préalable finale pour le Défi concernant le Phénol, 4,4' -(1-méthyléthylidène) bis (Bisphénol-A) Numéro de registre du Chemical Abstracts Service 80-05-7. 2008
- [35] Abnous, K., Danesh, N. M., Ramezani, M., Alibolandi, M., & Taghdisi, S. M. A novel electrochemical sensor for bisphenol A detection based on non-target-induced extension of aptamer length and formation of a physical barrier. *Biosensors and Bioelectronics*, 119, 204-208. (2018).
- [36] Yoann D, Zita Z, Emmanuelle B, Jean-Philippe A, Bruno le Bizec. Utilisation de la spectrométrie de masse pour le dosage du bisphénol A dans les matrices. *Laboratoire d'Étude des Résidus et Contaminants dans les Aliments*, France. 2013.
- [37] Reddy, P. V. L., Kim, K. H., Kavitha, B., Kumar, V., Raza, N., & Kalagara, S. Photocatalytic degradation of bisphenol A in aqueous media: A review. *Journal of environmental management*, 213, 189-205. (2018).
- [38] Reygaert, W. C. An update on the health benefits of green tea. *Beverages*, 3(1), 6. (2017).
- [39] Mancini, E., Beglinger, C., Drewe, J., Zanchi, D., Lang, U. E., & Borgwardt, S. (2017). Green tea effects on cognition, mood and human brain function: A systematic review. *Phytomedicine*, 34, 26-37.
- [40] Benmabrouk, H. Etude phytochimique d'extrait aqueux d'une plante médicinale "Camellia sinensis" (Doctoral dissertation, Université Mohamed BOUDIAF de M'Sila). (2017).
- [41] Win, K. H., Khaing, T., Naing, H. H., & Khaing, Y. K. Extraction of Tannin as a Natural Mordant from Tea Leaf for Dyeing of Cotton Cloth.
- [42] Kaur, J. Beneficial role of green tea to health: A review. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 8(2), 1413-1415. (2019).
- [43] REYGAERT, Wanda C. An update on the health benefits of green tea. *Beverages*, vol. 3, no 1, p. 6, 2017.
- [44] Kulkarni, S. S., Gokhale, A. V., Bodake, U. M., & Pathade, G. R. Cotton Dyeing with Natural Dye Extracted from Pomegranate (*Punicagranatum*) Peel. *Universal Journal of Environmental Research & Technology*, 1(2). (2011).
- [45] Reygaert, W. C. An update on the health benefits of green tea. *Beverages*, 3(1), 6. (2017).



- [46] Das, A. K., Islam, M. N., Faruk, M. O., Ashaduzzaman, M., &Dungani, R. Review on tannins: Extraction processes, applications and possibilities. *South African Journal of Botany*, 135, 58-70. (2020).
- [47] Sharma, K., Kumar, V., Kaur, J., Tanwar, B., Goyal, A., Sharma, R., ... & Kumar, A. Health effects, sources, utilization and safety of tannins: A critical review. *Toxin Reviews*, 1-13. (2019).
- [48] Pizzi, A. Tannin-based biofoams-A review. *Journal of Renewable Materials*, 7(5), 474-489. (2019).
- [49] Versari, A., Du Toit, W., &Parpinello, G. P. Oenological tannins: A review. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 19(1), 1-10. (2013).
- [50] J.G. Schiller, A.K. Chen, C.C. Liu, Determination of phenol concentrations by an electrochemical system with immobilized tyrosinase, *Analytical Biochemistry*. 85 (1978) 25–33.
- [51] L. Rotariu, F. Lagarde, N. Jaffrezic-Renault, C. Bala, Electrochemical biosensors for fast detection of food contaminants – trends and perspective, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 79 (2016) 80–87.
- [52] N. Sanvicens, I. Mannelli, J.-P. Salvador, E. Valera, M.-P. Marco, Biosensors for pharmaceuticals based on novel technology, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 30 (2011) 541–553.
- [53] J. Wang, Electrochemical biosensors: Towards point-of-care cancer diagnostics, *Biosensors and Bioelectronics*. 21 (2006) 1887–1892.
- [54] W. Jin, G. Maduraiveeran, Nanomaterial-based environmental sensing platforms using state-of-the-art electroanalytical strategies, *J Anal Sci Technol*. 9 (2018) 18.
- [55] C.-J. Yuan, C.-L. Wang, T.Y. Wu, K.-C. Hwang, W.-C. Chao, Fabrication of a carbon fiber paper as the electrode and its application toward developing a sensitive unmediated amperometric.
- [56] Élaboration de capteurs nanostructurés pour la détection de polluants métalliques à l'état de traces. Jean-Philippe JASMIN2015.
- [56] N.R. Stradiotto, H. Yamanaka, et M. V. B. Zanoni, Electrochemical Sensors: A Powerful Tool in Analytical Chemistry. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 2003, 14, (2), 159-173.
- [57] M. mehrvar, M. ABDI, Recent developments, characteristics, and potential applications of electrochemical biosensors, *Analytical Sciences*, 20(2004)1113 - 1126.

- [58] F. Sekli-Belaidi, Thèse de doctorat en Génie des Procédés et de l'Environnement, Université Paul Sabatier-Toulouse III, (2011).
- [58] J.í. Janata, Conductometric Sensors, in Principles of Chemical Sensors. 2009, Springer US. p. 241-266.
- [59] M. Bourourou, Thèse de doctorat en Matériaux, Mécanique, Génie Civil, Electrochimie, Université Grenoble Alpes, (2015).
- [59] Jasmin, J. P. Élaboration de capteurs nanostructurés pour la détection de polluants métalliques à l'état de traces (Doctoral dissertation, Université Paris-Saclay (ComUE)). (2015).
- [60] G. Korotcenkov. Chemical sensors: Fundamentals of sensing materials, volume 1, Momentum Press, (2010).
- [61] H. M. Walid ; thèse de doctorat ; Université Claude Bernard Lyon I ; 2009.
- [62] B. Pejic, R. Marco; Journal of Electrochimica acta; 51(2006) 6271-6229.
- [63] S.Hong, L. Tai-Chin; Electrochemical Impedance spectroscopy for battery Research and development; Rapport technique 31; Solartron; 1996.
- [64] R. Maalouf ; Thèse de doctorat ; Université Claude Bernard Lyon 1 ; 2006.
- [65] Randles, J.B.B; Kinetics of rapid electrode reactions. Discuss. Faraday Soc; 1(1947) 11-19.
- [66] L. Driver; A Primer; Gamry instruments INC, 2007.
- [67] Gabrielli; Techniques de l'Ingénieur ; traités Analyse et Caractérisation Mesures et Contrôle ; 1994.
- [68] N.K. Guimard, N. Gomez, C. E. Schmidt, conducting polymers in biomedical engineering, progress in polymer science 32 (2007) 876-921.
- [69] W. Joseph, Analytical electrochemistry, Canada, third edition, JOHN WILEY & SONS (2006) 1-272.
- [70] N.K. Guimard, N. Gomez, C. E. Schmidt, conducting polymers in biomedical engineering, progress in polymer science 32 (2007) 876-921.
- [71] H.J. Gericke, Solvent and electrolyte effects in enhancing the identification of intramolecular electronic communication in a multi redox-active diruthenium tetraferrocenoate complex, a triple-sandwiched dicadmium phthalocyanine and a ruthenocenecontaining b-diketone, Inorganica Chimica Acta 363 (2010) 2223- 2232.
- [72] E. Laborda, Reverse Pulse Voltammetry at spherical electrodes: Simultaneous determination of diffusion coefficients and formal potentials. Application to Room Temperature Ionic Liquids, Journal of Electroanalytical Chemistry 634 (2009) 1-10.

- [73] Z. Stojek, *Electroanalytical Methods, Guide to Experiments and Applications* 2nd edition, Germany, F. Scholz (ed.) (2009) 1-359.
- [74] Puthon, M. *Caractérisation de l'élimination du bisphénol A et de ses formes conjuguées par la fœtus ovin* (Doctoral dissertation). (2015).
- [75] Damien Coulomb .*L'agence européenne des produits chimiques classe le bisphénol A dans la catégorie des perturbateurs.* (2017).
- [76] Emeline Dufour, « Bisphénol A : l'Afssa préconise un étiquetage systématique », *Doctissimo*, 28 avril 2010.
- [77] Vom Saal, F. S., Akingbemi, B. T., Belcher, S. M., Birnbaum, L. S., Crain, D. A., Eriksen, M., ... & Zoeller, R. T. Chapel Hill bisphenol A expert panel consensus statement: integration of mechanisms, effects in animals and potential to impact human health at current levels of exposure. *Reproductive toxicology* (Elmsford, NY), 24(2), 131. (2007).
- [78] Mielke, H., & Gundert-Remy, U. Bisphenol A levels in blood depend on age and exposure. *Toxicology letters*, 190(1), 32-40. (2009).
- [79] R. Wang, D. Ren, S. Xia, Y. Zhang, JJJoHM Zhao, Photocatalytic Degradation of Bisphenol A (BPA) Using Immobilized TiO<sub>2</sub> and UV Illumination in a Horizontal Circulating Bed Photocatalytic Reactor (HCBPR), 169 (1–3) (2009), pp. 926–932, <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.04.036>.
- [80] J.A. Rogers, L. Metz, Yong VWJMi, *Endocrine Disrupting Chemicals and Immune Responses: A Focus on Bisphenol-A and Its Potential Mechanisms*, 53 (4) (2013), pp. 421–430, <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2012.09.013>.
- [81] <Final Report for the review of Literature and data on BPA.pdf>.
- [82] S. Ye, R. Ye, Y. Shi, B. Qiu, L. Guo, D. Huang, Z. Lin, G. Chen, Highly sensitive aptamer based on electrochemiluminescence biosensor for label-free detection of bisphenol A, *Anal. Bioanal. Chem.* 409 (30) (2017) 7145–7151, <https://doi.org/10.1007/s00216-017-0673-3>.
- [83] P. Yu, Y. Liu, X. Zhang, J. Zhou, E. Xiong, X. Li, J. Chen, A novel electrochemical aptasensor for bisphenol A assay based on triple-signaling strategy, *Biosens. Bioelectron.* 79 (2016) 22–28, <https://doi.org/10.1016/j.bios.2015.12.007>.
- [84] I. Kazane, K. Gorgy, C. Gondran, N. Spinelli, A. Zazoua, E. Defrancq, S. Cosnier,

Highly sensitive bisphenol-A electrochemical aptasensor based on poly (pyrrole-nitrilotriacetic acid)-aptamer film, *Anal. Chem.* 88 (14) (2016) 7268–7273, <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.6b01574>.

[85] Kubo, I., Yokota, N., Fuchiwaki, Y., & Nakane, Y. Characteristics of molecularly imprinted polymer thin layer for bisphenol A and response of the MIP-modified sensor. *International Scholarly Research Notices*, 2012. (2012).

[86] Huang, J., Zhang, X., Liu, S., Lin, Q., He, X., Xing, X., & Lian, W. Electrochemical sensor for bisphenol A detection based on molecularly imprinted polymers and gold nanoparticles. *Journal of Applied Electrochemistry*, 41(11), 1323. (2011).

[87] Kou, L. J., Liang, R. N., Wang, X. W., Chen, Y., & Qin, W. Potentiometric sensor for determination of neutral bisphenol A using a molecularly imprinted polymer as a receptor. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 405(14), 4931-4936. (2013).

[88] H. Fan, Y. Li, D. Wu, H. Ma, K. Mao, D. Fan, B. Du, H. Li, Q. Wei, Electrochemical bisphenol A sensor based on N-doped graphene sheets, *Anal. Chim. Acta* 711(2012) 24–28.

[89] Wang, S., Wei, X., Du, L., & Zhuang, H. Determination of bisphenol A using a flow injection inhibitory chemiluminescence method. *Luminescence: The journal of biological and chemical luminescence*, 20(1), 46-50. (2005).

[90] Chen, X., Wang, C., Tan, X., & Wang, J. Determination of bisphenol A in water via inhibition of silver nanoparticles-enhanced chemiluminescence. *Analytica chimica acta*, 689(1), 92-96. (2011).

[91] Gierach, I., Shapero, K., Eyster, T. W., & Wood, D. W. Bacterial biosensors for evaluating potential impacts of estrogenic endocrine disrupting compounds in multiple species. *Environmental toxicology*, 28(4), 179-189. (2013).

[92] Choi, J. W., Bhusal, R., Kim, T. H., An, J. H., & Kim, H. Electrochemical detection of bisphenol A-induced neuronal toxicity using RGD peptide modified ITO electrode cell chip. *Molecular Crystals and Liquid Crystals*, 519(1), 36-42. (2010).

[93] Hegnerová, K., Piliarik, M., Šteinbachová, M., Flegelová, Z., Černohorská, H., & Homola, J. Detection of bisphenol A using a novel surface plasmon resonance biosensor. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 398(5), 1963-1966. (2010).

[94] Hegnerová, K., & Homola, J. Surface plasmon resonance sensor for detection of bisphenol A in drinking water. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 151(1), 177-179. (2010).

- [95] GANESH, P. S., SWAMY, BE Kumara, FAYEMI, Omolola E., et al. Poly (crystal violet) modified pencil graphite electrode sensor for the electroanalysis of catechol in the presence of hydroquinone. *Sensing and bio-sensing research*, 2018, vol. 20, p. 47-54
- [96] H.S. Yin, Q.M. Zhang, Y.L. Zhou, Q. Ma, T. Liu, L.S. Zhou, S.Y. Ai, Electrochemical behavior of catechol, resorcinol and hydroquinone at graphene–chitosan composite film modified glassy carbon electrode and their simultaneous determination in water samples, *Electrochim. Acta* 56 (2011) 2748–2753.
- [97] Z.H. Huo, Y.L. Zhou, Q. Liu, X.L. He, Y. Liang, M.T. Xu, Sensitive simultaneous determination of catechol and hydroquinone using a gold electrode modified with carbon nanofibers and gold nanoparticles, *Microchim. Acta* 173 (2011) 119–125.
- [98] Ganesh, P. S., & Swamy, B. K. (2016). Rekha, “Electroanalysis of catechol in presence of hydroquinone at poly (calmagite) modified carbon paste electrode: a voltammetric study,”. *Science Letters Journal*, 5.
- [99] S.G. Wang, Y.Q. Li, X.J. Zhao, J.H. Wang, J.J. Han, T. Wang, Electrochemical detection of catechol at integrated carbon nanotubes electrodes, *Diam. Relat. Mater.* 16 (2007) 248–252.
- [100] Silva, P. S. D., Gasparini, B. C., Magosso, H. A., & Spinelli, A. Electrochemical behavior of hydroquinone and catechol at a silsesquioxane-modified carbon paste electrode. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 24, 695-699. (2013).
- [101] Umasankar, Y., Periasamy, A. P., & Chen, S. M. Electrocatalysis and simultaneous determination of catechol and quinol by poly (malachite green) coated multiwalled carbon nanotube film. *Analytical biochemistry*, 411(1), 71-79. (2011).
- [102] J. Dong., X. Qu., L. Wang., C. Zhao., J. Xu., Electrochemistry of Nitrogen-Doped Carbon Nanotubes (CNx) with Different Nitrogen Content and Its Application in Simultaneous Determination of Dihydroxybenzene Isomers., *Electroanal.*, 2008, 20(18) 1981-1986.
- [103] Ganesh, P. S., Swamy, B. K., Fayemi, O. E., Sherif, E. S. M., & Ebenso, E. E. Poly (crystal violet) modified pencil graphite electrode sensor for the electroanalysis of catechol in the presence of hydroquinone. *Sensing and bio-sensing research*, 20, 47-54. (2018).





*Matériel et Méthodes  
Expérimentaux*

## **I. Introduction**

Dans notre travail, nous avons utilisé une nouvelle méthode chimique qui est la modification aminofonctionnalisés d'un extrait naturel pour l'amélioration des performances des biocapteurs pour la détection de bisphénol A et le catéchol dans les milieux aquatiques.

Au cours de cette partie nous allons présenter le matériel et les méthodes expérimentales utilisés. Les méthodes expérimentales adoptées dans ce travail sont l'extraction, gélification et la modification aminofonctionnalisés pour préparer l'élément sensible (biorécepteur) ainsi que leur mise en œuvre pour le développement des capteurs électrochimiques pour la détection de bisphénol A et le catéchol dans les milieux aquatiques. Nous avons aussi utilisé des techniques de caractérisation de surface et de morphologie de l'électrode comme la voltammétrie cyclique, la spectroscopie d'infrarouge (FTIR) et la voltammétrie à ondes carrés. Ces techniques sont utilisées dans la prochaine partie pour déterminer les performances des capteurs électrochimiques élaborés.

La spécificité de cette étude repose sur l'immobilisation des tanins condensés aminofonctionnalisés extraits de thé vert, sur des électrodes en or. Ces deux parties formeront ainsi notre dispositif de détection.

## **II. Matériel végétal**

Nous avons utilisé le thé vert *Camélia sinensis* commercial comme source de polyphénols(tanin condensé).



**Figure II.1 :** les feuilles de thé vert (*Camellia sinensis*) [photo de laboratoire]

## **III. Préparation de l'extrait tanin condensé de thé vert *Camélia Sinensis***

### **III.1. Macération et extraction de thé vert**

Il n'existe pas de conditions universelles pour extraire les tanins de sources végétales. Les procédures doivent être optimisées au cas par cas, en fonction de la source, de la méthode d'extraction et de la nature requise des composés extractibles (polyphénols, tanins condensés ou hydrolysables)[1].



La macération est une opération qui consiste à laisser séjourner, à froid (température ambiante), la poudre du matériau végétal en contact prolongé avec un solvant organique pour en extraire les constituants solubles et les principes actifs [2,3].

L'extraction des tanins condensés de thé vert se fait par macération dans l'objectif est de réduire la dégradation des molécules présentes dans nos plantes.

Dans notre cas :

L'extraction des tanins à partir de 30 g de thé vert se fait avec un solvant acétone/eau (70/30 : V/V) de 100 mL, en trois macérations successives de 24h chacune.

On récupère la phase aqueuse pour chaque macération par une filtration sur un papier Wattman ou un coton.



**Macération**



**Filtration.**



**Séparation**

**Figure III.1.1** :les étapes de séparation de l'extrait tanins condensés de thé vert.

Les filtrats sont soumis à une extraction liquide-liquide par éther de pétrole et éther di éthylique. La phase organique supérieur est retirée et jetée. La phase aqueuse est séchée par évaporation rotative et l'extrait sec est broyé et conservé à 4°C jusqu'à l'utilisation.



**Figure III.1.2** : L'évaporateur rotatif (Rotavap)

L'extrait obtenu après élimination du solvant constituera la matière première pour la préparation gel de tanin et gel de tanin modifié par une amine (TG et ATG), dans la construction des biorécepteurs pour détecter les polluants BPA et catéchol.

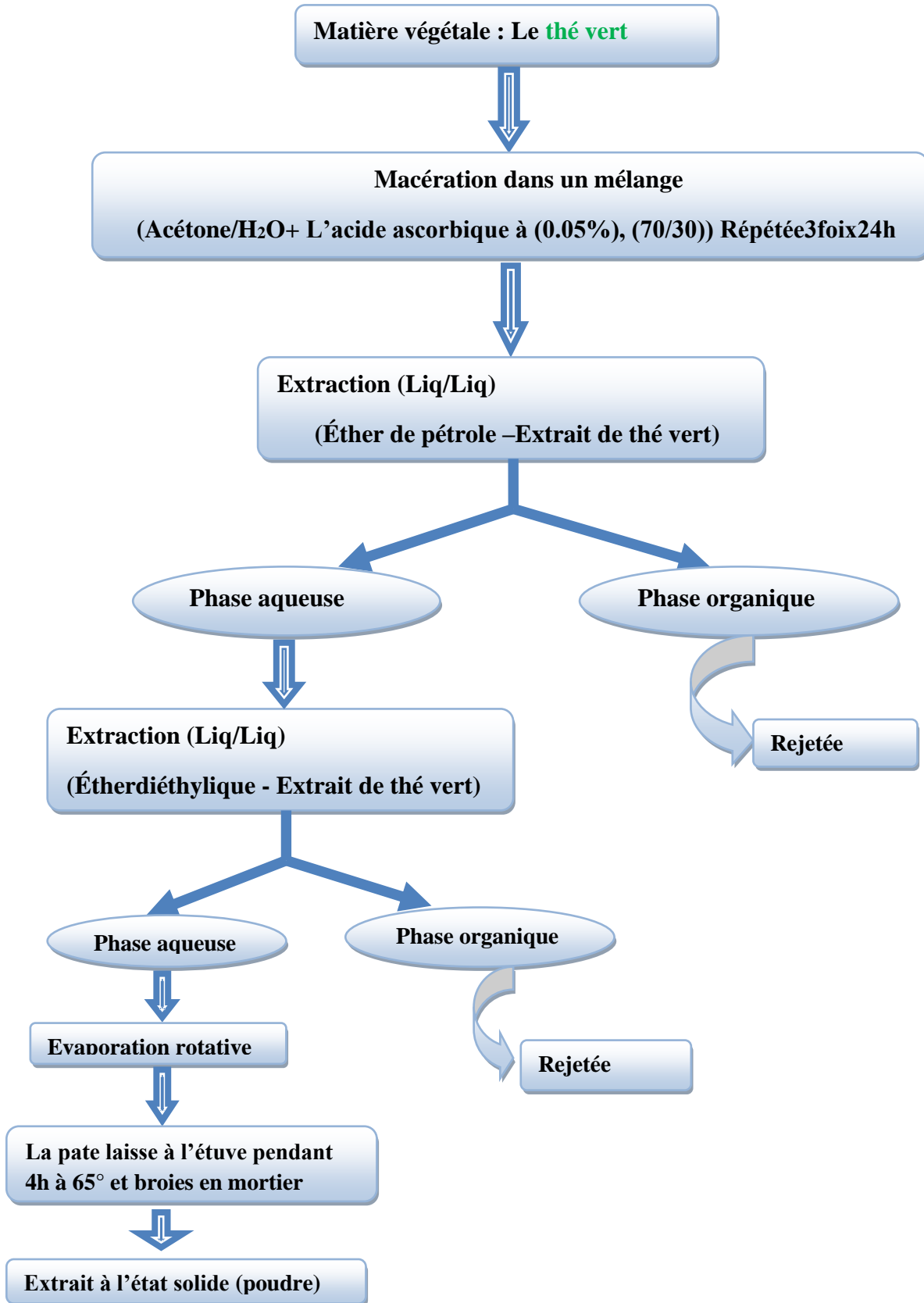


Figure III.1.3: Protocole d'extraction des tanins condensés.

### **III.1.1. Rendement d'extraction**

Le rendement d'extraction est déterminé à partir du poids de l'extrait sec par rapport au poids de la matière végétale sèche rendue en poudre utilisée pour l'extraction.

Le rendement est exprimé en pourcentage massique par rapport à la quantité de matière sèche selon la formule :

$$R(\%) = [M_1/M_0] \times 100$$

**R%** : Rendement en extrait exprimée en **g/100g** de matière ;

**M<sub>1</sub>** : Quantité d'extrait récupérée exprimée en **g** ;

**M<sub>0</sub>** : Quantité de la poudre végétale utilisée pour l'extraction exprimée en **g**.

### **III.2. Gélification et modification aminofonctionnalisés de tanin condensé**

#### **III.2.1. Gélification**

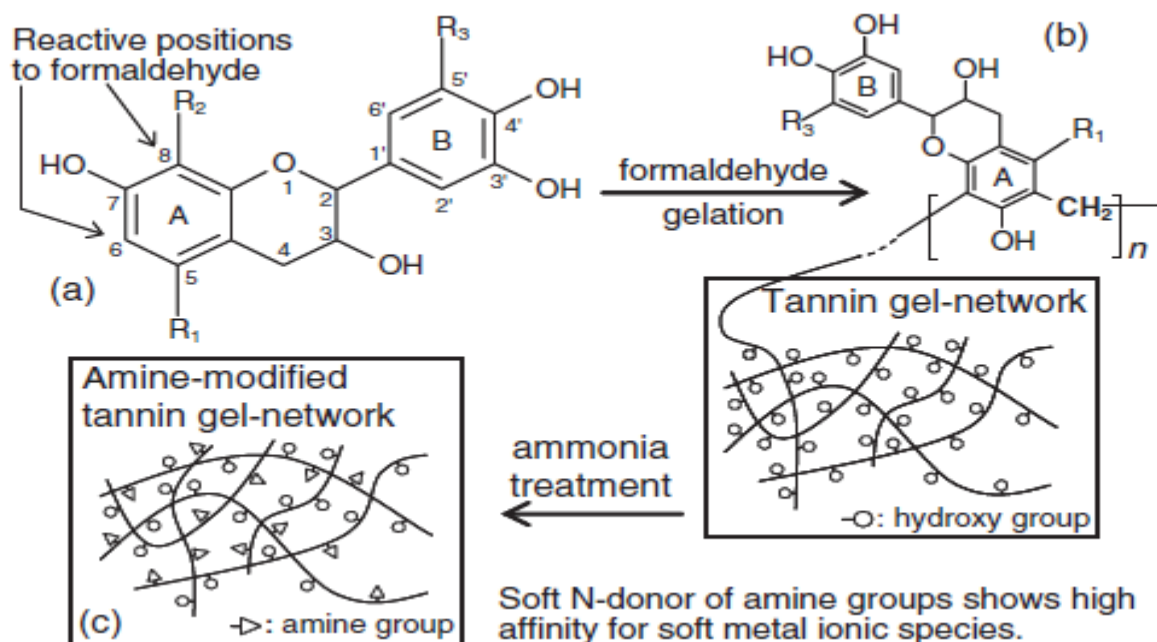
Un gel de tanin (TG) synthétisé à partir de molécules de tanin condensées a une capacité remarquable à adsorber divers ions métalliques et organiques dans des solutions aqueuses. Dans la présente étude, nous avons choisi d'utiliser des bio-complexants naturels, les tanins de thé vert, dans la construction des bio-récepteurs pour détecter les polluants BPA et catéchol. Nous avons préparé le gel de tanin (TG) et les tanins amino-fonctionnalisés (ATG) en suivant un protocole bien déterminé [4].

D'après la littérature, en 2001, Nakano et al, ont synthétisé les particules de TG en dissolvant 20 g de poudre de tanin condensé dans 37 ml de solution d'hydroxyde de sodium 0,25 M à température ambiante avec une agitation constante pendant 24 heures [5]. 37% de formaldéhyde (Formaline) a ensuite été ajouté comme agent de réticulation. La température a ensuite été portée à 80°C pendant 12 heures afin de compléter la formation du gel par polymérisation et par condensation. Le gel obtenu après la gélification a été broyé en petites particules et tamisé par des tamis mailles de 125-250 µm. Les particules de gel ont été ensuite lavées avec de l'eau distillée et une solution d'hydroxyde de sodium 0,05 M pour éliminer les produits chimiques résiduels et enfin rincées soigneusement avec de l'eau distillée à nouveau.

Dans un autre travail publié en 2007, Kim et al, ont développé une nouvelle méthode d'une capacité d'adsorption du bord de la TG et de l'ATG à faible concentration de bore était comparable ou assez bonne par rapport aux autres adsorbants. Ils ont préparé une poudre de tanin d'acacia (28 g) qui a été dissoute dans 45 ml d'une solution de NaOH 0,25M, et 6 ml d'une

solution de formaldéhyde à 37 % en poids ont été successivement ajoutés à la solution de formaldéhyde (ajoutés comme agent de réticulation).

Après gélification à 353 K pendant 12 h, le gel obtenu a été broyé en petites particules et lavées avec de l'eau distillée et une solution de HNO<sub>3</sub> 0,05 M pour éliminer les résidus chimiques et finalement rincées à nouveau avec de l'eau distillée [7, 8,9].



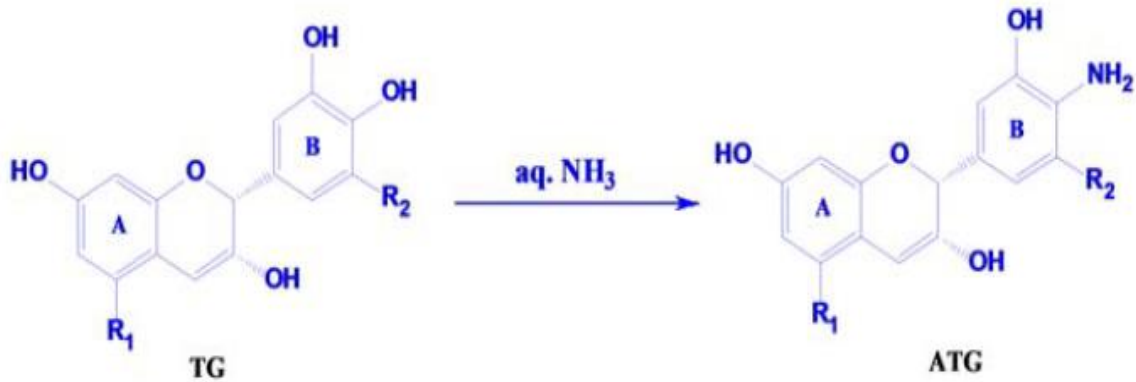
**Figure III.2.1.1:** Synthèse de l'adsorbant en gel de tanin (b) à partir du tanin condensé, de l'unité flavan-3-ol des tannins condensés (a), et de l'ATG contenant des groupes amine dans son réseau de gel (c).

### III.2.2. Modification aminofonctionnalisé

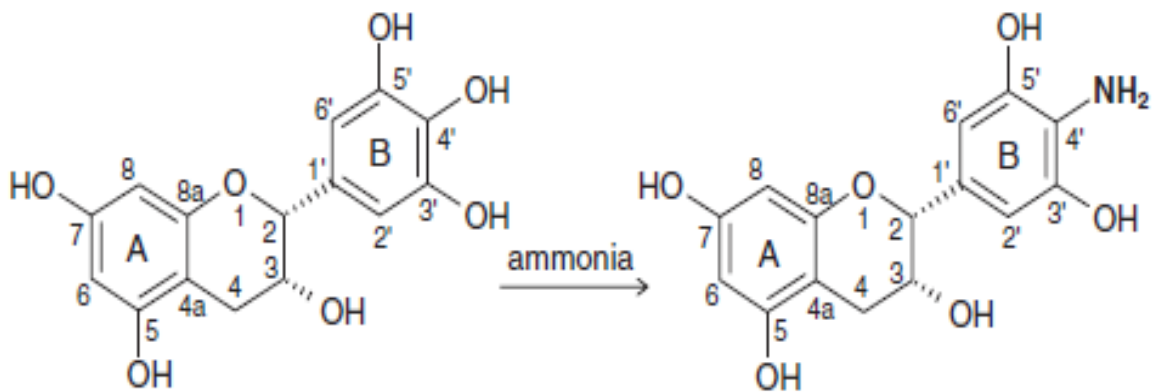
Le tannin gel modifié à la théamine (ATG) a été préparé selon les rapports précédents de Kim et al et Morisada et al. Le site particules de TG lyophilisées ont été ajoutées dans de l'ammoniac aqueux à 10 % en poids. La solution a été agitée dans un bain-marie à 333 K. Après 12 heures, les particules de TG ont été lavées avec une solution de HCl 1 M jusqu'à ce que les particules de gel ne contiennent plus aucun ion d'ammonium qui peut être retenu dans le gel par l'interaction électrostatique avec les groupes hydroxyles déprotonés du tanin.

D'autre part, L'ATG a été préparée en suivant la procédure rapportée précédemment [5,6]. Pour ce faire, les particules de TG lyophilisées ont été ajoutées dans de l'ammoniac aqueux à 10 % à raison de 50 g de gel/l. Après cela, la solution a été agitée pendant 12 heures pour une

incorporation maximale du groupe amino (-NH<sub>2</sub>). Enfin, le produit obtenu (particules de TG) a été lavé avec une solution d'acide chlorhydrique 1M jusqu'à ce que les particules de gel ne contiennent plus d'ions ammonium. Le schéma de réaction est illustré dans le schéma [7,8, 9].



**Figure III.2.1 :** Modification du gel de tanin (TG) avec de l'ammoniac pour préparer un gel de tanin modifié par une amine (ATG).



**Figure III.2.1 :** Réaction de la (-)-épigallocatéchine avec de l'ammoniac pour produire de la 40-amino-40-désoxy-(-)-épigallocatéchine modifiée par une amine.

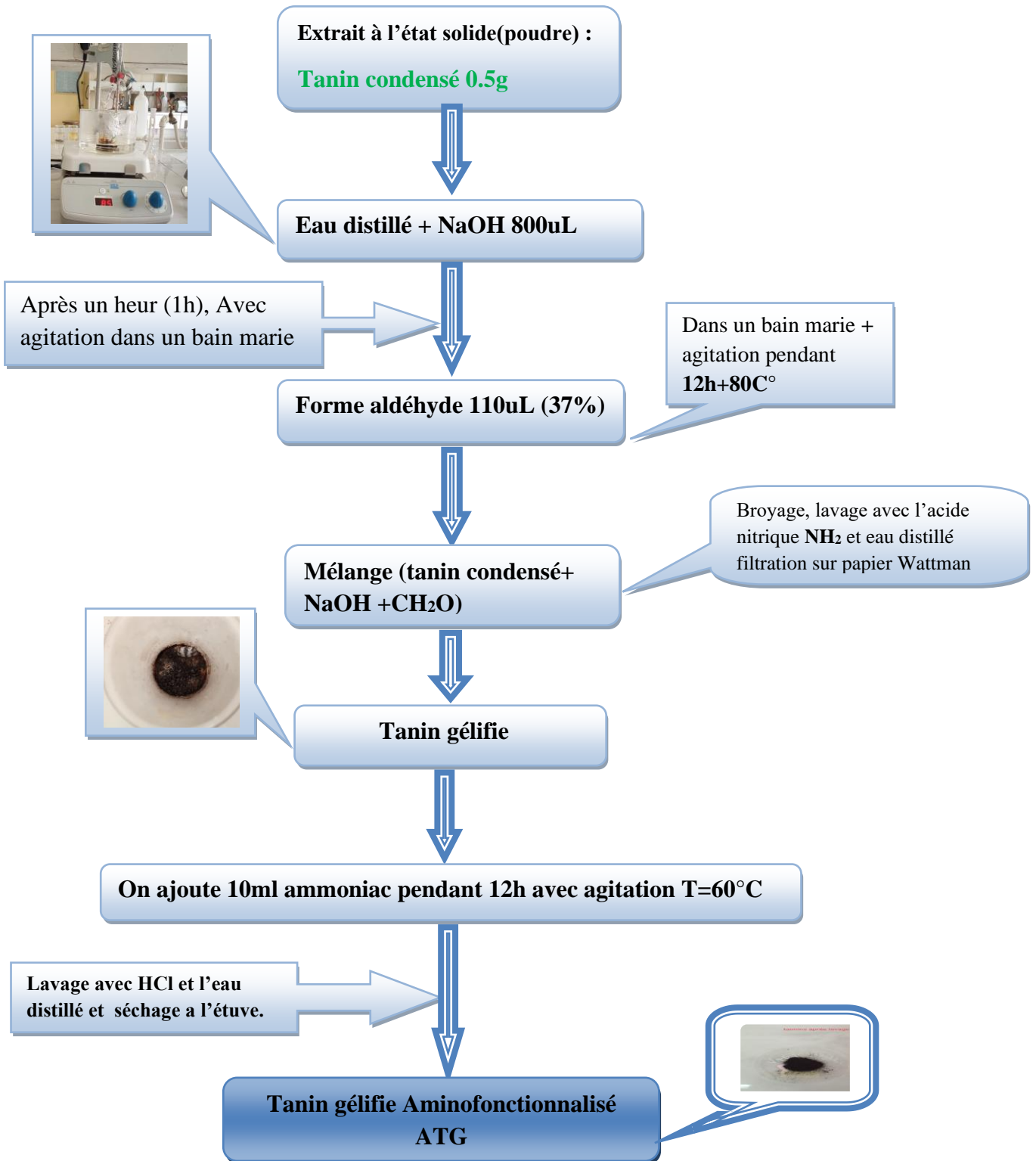


Figure III.2.2 : Protocole de gélification et modification aminofonctionnalis.

#### IV. Caractérisation physico- chimiques de l'extrait par infrarouge FTIR

La caractérisation de l'extrait tanin condensé de thé vert après et avant aminofonctionnalisé a été réalisée par la spectroscopie d'absorption infrarouge à transformée de Fourier (FTIR). L'appareil utilisé est le spectromètre FTIR-84005-SHIMADZU. Les mesures ont été réalisées au Laboratoire à l'université de Constantine.



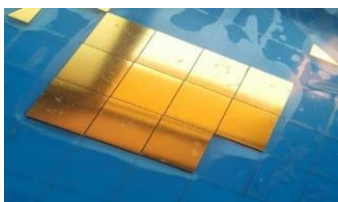
**Figure IV.1:** Schéma de L'appareil utilisé le spectromètre FTIR-84005-SHIMADZU.

La spectroscopie infrarouge est une technique basée sur les vibrations des atomes d'une molécule. Un spectre infrarouge est généralement obtenu en faisant passer un rayon infrarouge à travers un échantillon et en déterminant quelle fraction du rayon incident est absorbée à une énergie particulière. L'énergie à laquelle tout pic d'un spectre d'absorption apparaît correspond à la fréquence d'une vibration d'une partie des molécules contenues dans l'échantillon [10,11].

#### V. Conception du capteur

##### V.1. Préparation de l'électrode d'Or (Au)

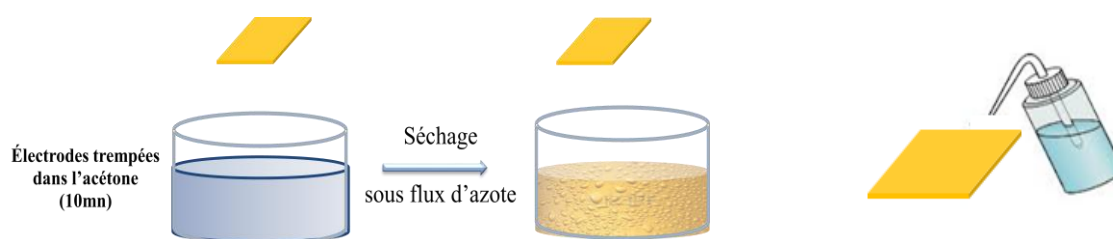
Dans cette partie de travail, nous avons utilisé des plaquettes ( $\text{Si}/\text{SiO}_2$ ) revêtues d'or, avec une épaisseur d'environ **300 nm**, comme des électrodes de travail. Une couche de résine est déposée sur la surface d'or afin de la protéger durant la découpe et le stockage [12]. Les caractéristiques des électrodes utilisées dans ce travail sont représentées dans le tableau ci-dessous :

Fournisseur	Surface active	Epaisseur	
Laboratoire (LAAS) Toulouse France	0.19 cm <sup>2</sup>	300 nm	

**Tableau V.1.1 :** Caractéristiques de l'électrode Au.

## V.2. Nettoyage de la surface des électrodes

Le premier nettoyage consiste à enlever la couche de résine déposée sur la surface des électrodes. L'électrode est mise ensuite dans un bac de l'acétone est alors trempée pendant **10 minutes** puis séchée sous flux d'azote ( $N_2$ ). Une attaque par une solution piranha (**3 mL de  $H_2O_2$ , 7 mL de  $H_2SO_4$** ) pendant une minute est réalisée afin d'activer la surface. Ce nettoyage est très exothermique. Les électrodes sont rincées à l'eau ultrapure puis à l'éthanol et séchées sous un flux d'azote.



**10 minutes : Acétone**

**1 minute : Piranha**

**Lavage :(Eau distillée/Ethanol)**

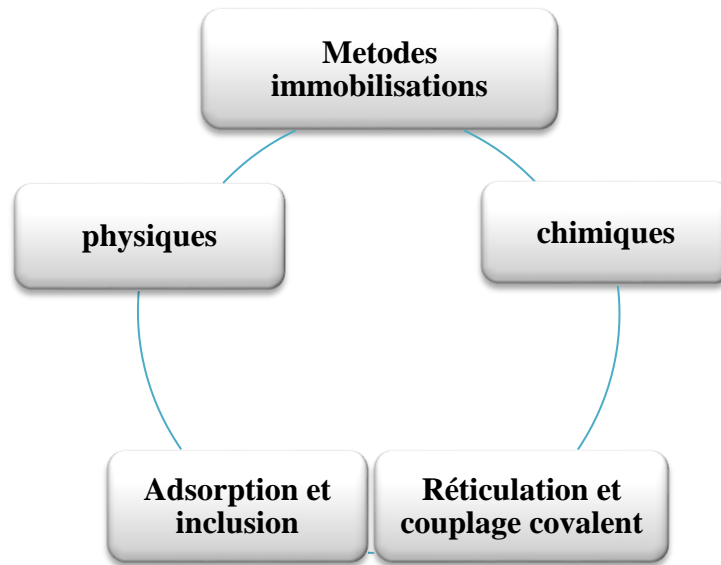
La procédure de prétraitement affecte considérablement les mesures électrochimiques, il est donc absolument essentiel d'obtenir une surface propre et non contaminée avant de commencer les modifications de surface [13].

## V.3. L'immobilisation du biorécepteur :

L'objectif est de fixer les biorécepteurs ATG sur le transducteur sans altérer leurs propriétés de réactivité vis-à-vis de l'analyte [14]. Les plus importantes considérations lors des créations des biocapteurs électrochimiques sont l'immobilisation. En effet, l'application d'une méthode électrochimique appropriée ainsi que l'établissement d'un transfert d'électron efficace nécessite de garder les propriétés de reconnaissance biologique de la matrice [15]. Les biomolécules immobilisées doivent conserver leurs structures et leurs fonctions biologiques et le choix de la technique la plus judicieuse dépend de la nature de la biomolécule, du transducteur et de la détection associée.

Les techniques d'immobilisation utilisées pour accrocher les bioéléments sur le biorécepteur peuvent être classées selon le mode de fixation en deux catégories : le mode de fixation direct (ne faisant pas intervenir une couche d'accroche intermédiaire entre le substrat et l'élément biologique) et le mode indirect [16,17].





**Figure V.1.2:** Représentation schématique des différentes méthodes d’immobilisation du biorécepteur.

#### **V.4. Electrodes modifiées par des films de polymères**

Les films de polymères présentent des avantages comme une meilleure reproductibilité de fabrication, une grande stabilité et un nombre beaucoup plus important de sites actifs accessibles. L'utilisation des films de polymères de conduction électronique est une voie prometteuse pour l'obtention de matériaux d'électrodes pour des dispositifs électroanalytiques.

##### **V.4.1. Les polymères bio-sourcés**

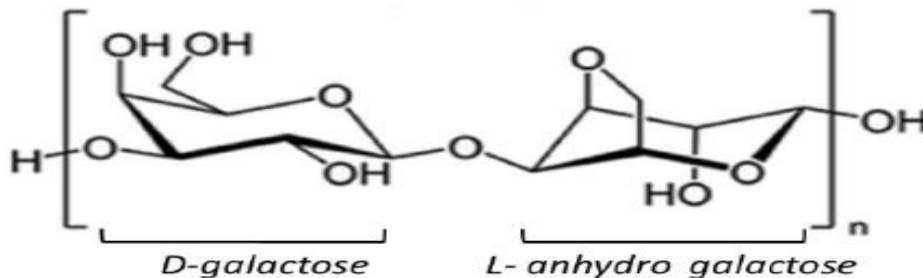
Une meilleure prise en compte des aspects environnementaux et la chimie « verte », qui nous pousse à faire évoluer les méthodes de fabrication actuellement utilisées [18]. Les appareils de diagnostic environnemental exigent le développement des matériaux conducteurs à partir des matériaux biologiquement inertes et souples. Ces biopolymères ayant de bonnes capacités de transfert d'électrons offrent une stratégie encourageante dans la biosurveillance environnementale [19]. Certains sont connus et ce même du grand public, comme l'alginate, l'agar-agar, l'amidon ou encore le chitosane.

##### **V.4.2. L'agarose :**

L'agar agar est un polygalactoside extrait de la paroi cellulaire de certaines algues rouges. Plus précisément, il s'agit d'espèces répondant aux noms de *Gélidium* et *Gracilaria* [20]. L'agar trouve son origine au Japon il y a 400 ans. Il était alors vendu sous forme de solution chaude ou de gel (froid). Son industrialisation en extrait sec a démarré au début du 18<sup>ème</sup> siècle et il est maintenant appelé Agar-agar. Le terme « *Agar* » est aujourd'hui le plus utilisé et l'agarose est en fait un polymère non ramifié issu d'agar purifié. L'agarose est largement utilisée

en biologie, notamment pour l'électrophorèse de l'ADN [77]. L'agarose, constituée majoritairement d'agarobiose contenant de nombreux radicaux hydrophobes comme CH<sub>2</sub>-O ainsi que des groupements OH et H responsables de la gélification de l'agar agar. L'agar comporte des caractéristiques très intéressantes en tant que biopolymère [18]:

- Il possède un grand pouvoir gélifiant.
- Aucun réactif n'est à ajouter pour produire le gel tel que le potassium ou le calcium ou tout autre cation divalent comme par exemple pour les alginates.
- Sa structure est stable dans un large domaine de pH ( $4 \leq \text{pH} \leq 8$ ).
- L'agarose est stable à une température même légèrement supérieure à 100°C.



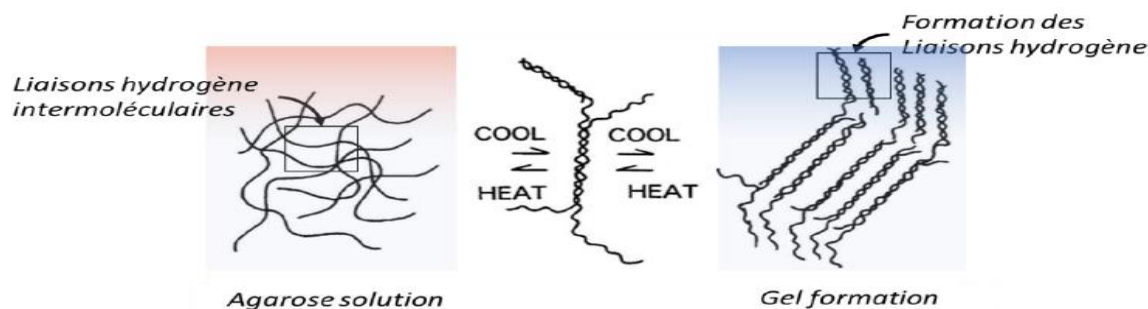
**FigureV.1.3:** Structure chimique de l'agarose, présentant l'unité de répétition de l'agarose avec ; D-Galactose et le L-Anydro Galactose.

### ➤ Gélification

La solubilisation du polymère en voie humide et en température permet aux chaînes de s'étendre. Les chaînes se distribuent ensuite de manière homogène sous forme d'hélices lors du refroidissement. Enfin, il apparaît l'agrégation entre les hélices lorsque le point de gélification de l'agarose est atteint [21]. Pour obtenir un gel, la solution comprenant l'agarose doit être portée à une température d'environ 87°C (Température de fusion  $T_f$ ) puis par la suite refroidie afin d'atteindre la gélification complète du système à environ 40°C [18].

Certaines études décrivent la fabrication d'un matériau (hydrogel) à base d'agarose dans le but d'obtenir un gel conducteur électronique et possédant également des propriétés d'autoréparation activées par la température [22] ou d'autres applications concernant la délivrance de molécules par l'encapsulation de protéines et peptides par des nanoparticules

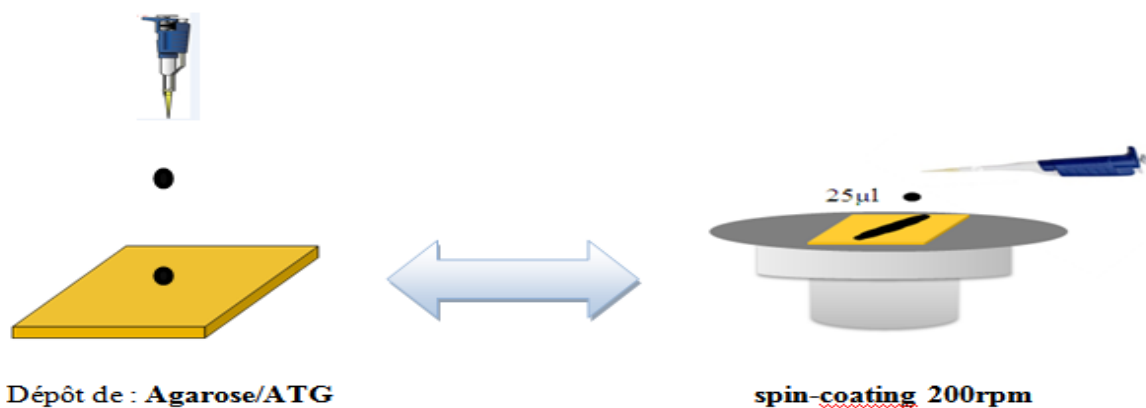
D'hydrogeld'agarose [23].



**Figure V.1.4 :** Formation du gel d'agarose – Suspension d'agarose chauffée à une température supérieure à 85°C qui perturbe la liaison hydrogène des groupes – OH et O. Au refroidissement, les liaisons hydrogène s'interconnectent pour former un réseau hydraté.

### V.5. Immobilisation de la matrice Agarose/taninaminofonctionnalisé (ATG/Agarose)

Notre matrice est préparée par la méthode « spin-coating ». Cette technique a l'avantage d'être facilement mise en œuvre, pour des investissements relativement modérés [24]. La fonctionnalisation de notre électrode est effectuée par la préparation d'une suspension constituée de l'agarose 0.5g dissout dans une solution tampon PBS (10ml, PH=7); on ajoute 0.1g de tanin(ATG) dans 1ml de solution et on mélange, une goutte de 25  $\mu$ L déposée par « spin-coating » à 200 rpm sur la surface d'électrode. La surface est ensuite séchée à l'air libre pendant 24 heures.



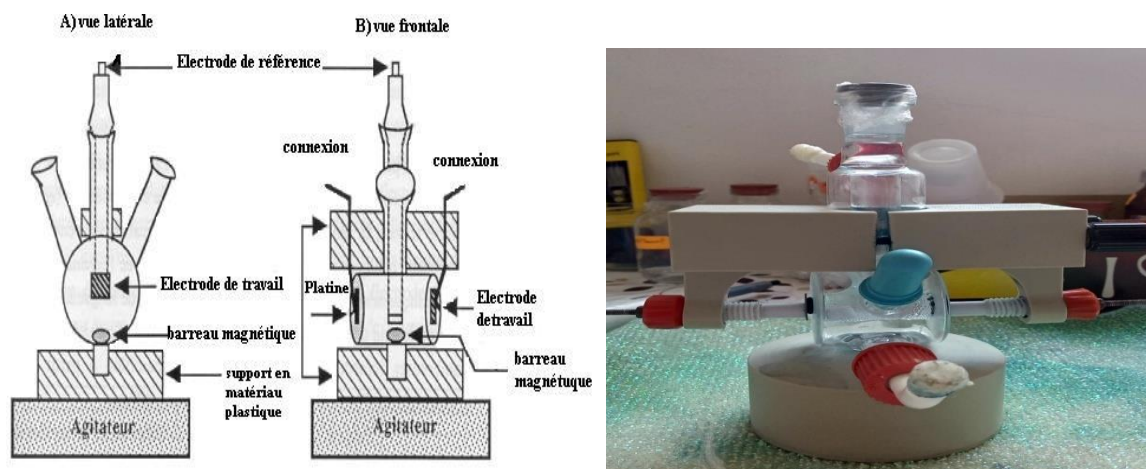
**Figure V.1.5 :** Construction du biocapteur.

## VI. Dispositif électrochimique expérimental

### VI.1. Cellule électrochimique

La plupart des expériences électrochimiques, l'impédance électrochimique, la voltamétrie cyclique et la voltamétrie à ondes carrés sont réalisées dans une cellule électrochimique en verre, de volume 5 ml, à trois électrodes : une électrode de travail (WE), une électrode de référence (RE) et une contre-électrode (figure VI.1.1). La géométrie de cette cellule permet une disposition

bien déterminée des trois électrodes. Il est important en effet, afin d'assurer une densité de courant homogène à l'électrode de travail et de minimiser le phénomène de la chute ohmique, de maintenir aussi proche que possible l'électrode de travail et l'électrode auxiliaire.



**Figure VI.1.1** : Schéma de la cellule électrochimique à trois électrodes.

Dans la partie inférieure de la cellule, on note, par ailleurs, l'existence de deux ouvertures de positions opposées destinées pour positionner l'électrode de travail et la contre électrode de platine alors que la partie supérieure de la cellule permet de positionner l'électrode de référence [12,25].

➤ **Les électrodes de travail**

Utilisées pour les expériences électrochimiques, ce sont des macros électrodes doré d'épaisseur 300 nm. Elles sont déposées par évaporation sur des substrats de Si/SiO<sub>2</sub> en utilisant une couche d'accrochage de 30 nm de Titane (Ti). Ces électrodes dorées sont fournies par le Laboratoire d'Analyse et d'Architecture des Systèmes (LAAS), Toulouse. Une couche de résine est déposée sur la surface d'or afin de protéger la surface d'or durant la découpe et le stockage. La surface active de ces électrodes lorsqu'elles sont fixées grâce à un joint torique sur la cellule électrochimique est de l'ordre de 0.19 cm<sup>2</sup>.

➤ **L'électrode de référence**

L'électrode de référence utilisée est une électrode d'Ag/AgCl contenant une solution saturée de KCl. Le potentiel de cette électrode est de 0,222 V par rapport à l'électrode normale à hydrogène.

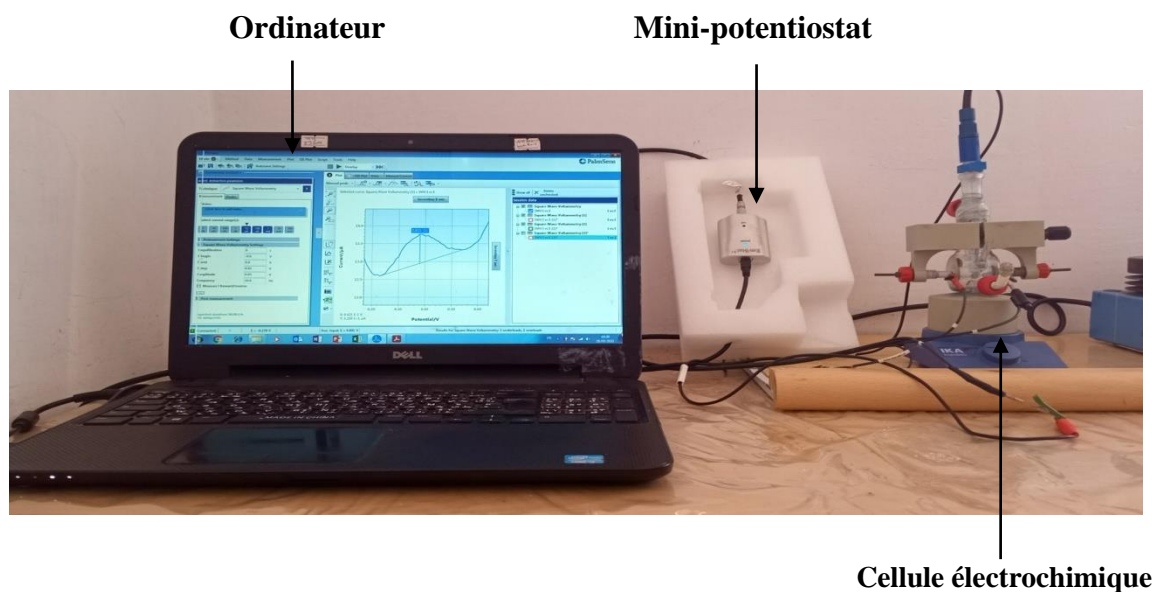
➤ **La contre-électrode**

C'est une électrode en platine dont la surface active, lorsqu'elle est fixée sur la cellule, grâce à un joint torique, est de l'ordre de  $0.52 \text{ cm}^2$ . La surface est plus grande que celle de l'électrode de travail pour négliger son impédance et pour que la contre-réaction puisse se dérouler sans perturber le système. Au cours de ce travail nous avons utilisé un fil de platine comme contre électrode. Son rôle est d'assurer le passage du courant dans la cellule électrochimique. [25, 26, 27,28].

**VI.3. Montage électrochimique :**

Concernant les mesures de voltammétrie cyclique et de voltammétrie à ondes carré le montage expérimental est celui de la Figure VI.3.1. Ces mesures ont été réalisées par un mini-potentiostat.

L'appareil utilisé est un potentiostat de type PalmSens EmStat3 qui est associé à un ordinateur comprenant un logiciel de simulation PStrace qui permet de traiter les données.



**Figure VI.3.1 :** Dispositif expérimental concernant la CV et SWV.

**VI.4. Caractérisation électrochimique et détection**

Afin de tester le PBS sur CV et SWV, nous avons détecté le BPA et le catéchol dans une solution avec une concentration de  $4.36 \times 10^{-4} \text{ mol/l}$  et  $9.08 \times 10^{-4} \text{ mol/l}$  successivement. Ils sont préparés avec des dilutions sur une gamme linéaire de  $10^{-5}$  jusqu'à  $10^{-16} \text{ mol/l}$ .



Dans cette partie, nous avons regroupé les résultats obtenus d'une part par voltammétrie cyclique et d'autre part par voltammétrie à onde carrée SWV.

Les paramètres fixés de notre étude sont :

Les mesures de voltammétrie cyclique qui sont effectuées en présence d'une solution support de PBS (à 3mL, pH=7, le potentiel varie entre -0.2 et +0.8 V et une vitesse de balayage de  $0.08V.s^{-1}$  et 50 $\mu$ l de PBA ou de catéchol).

Les mesures de voltammétrie à ondes carrées sont effectuées en présence d'une solution support de (PBS = 3ml, pH=7, l'amplitude= 0.06V et la fréquence=11Hz).

La gamme de réponse linéaire du capteur était comprise entre  $6 \times 10^{-6}$  et  $1.64 \times 10^{-8}$ .

L'élaboration et la caractérisation de ces capteurs et l'interprétation des résultats seront discutées dans la partie suivant.

## Référence bibliographique

- [1] R. Naima, M. Oumam, H. Hannache, A. Sesbou, B. Charrier, A. Pizzi, F. C. El Bouhtoury, *Ind. Crops Prod.* **2015**, 70, 245.
- [2] A. Yuko Yoshida, B. Masaaki Kiso, “ Efficiency of the extraction of catechins from green tea”, *Food Chemistry*, Vol 67, pp 429-433.1999.
- [3] Q. Huang, Lin. Mei-Zhen, “ Condensed tannins from longan bark as inhibitor of tyrosinase: structure, activity, and mechanism”, *J. Agric. Food Chem.*2019.
- [4] Morisada, S., Rin, T., Ogata, T., Kim, Y. H., & Nakano, Y. Adsorption removal of boron in aqueous solutions by amine-modified tannin gel. *Water research*, 45(13), 4028-4034. (2011).
- [5] Nakano, Y., Takeshita, K., & Tsutsumi, T. Adsorption mechanism of hexavalent chromium by redox within condensed-tannin gel. *Water Research*, 35(2), 496-500. (2001).
- [6] S. Morisada, T. Rin, T. Ogata, Y.H. Kim, Y. Nakano, Adsorption recovery of rhodium(III) in acidic chloride solutions by amine-modified tannin gel, *J. Appl. Poly. Sci.*126(2012) E34–E38.
- [7] Santos, S. C., Bacelo, H. A., Boaventura, R. A., & Botelho, C. M. Tannin-Adsorbents for Water Decontamination and for the Recovery of Critical Metals: Current State and Future Perspectives. *Biotechnology journal*, 14(12), 1900060. (2019).
- [8] Akter, N., Hossain, M. A., Hassan, M. J., Amin, M. K., Elias, M., Rahman, M. M., ... & Hasnat, M. A. Amine modified tannin gel for adsorptive removal of Brilliant Green dye. *Journal of environmental chemical engineering*, 4(1), 1231-1241. (2016).
- [9] Gurung, M., Adhikari, B. B., Khunathai, K., Kawakita, H., Ohto, K., Harada, H., & Inoue, K. (2011). Quaternary amine modified persimmon tannin gel: An efficient adsorbent for the recovery of precious metals from hydrochloric acid media. *Separation Science and Technology*, 46(14), 2250-2259.
- [10] M. A. Nolan, S. P. Kounaves, Microfabricated Array of Iridium Microdisks as a Substrate for Direct Determination of Cu<sup>2+</sup> or Hg<sup>2+</sup> Using Square-Wave Anodic Stripping Voltammetry, *Anal. Chem.* 71 (1999) 3567–3573.
- [11] B.H. Stuart, *Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications*, John Wiley & Sons (2005) 1-224.
- [12] Ghebghoub, K., & Zazoua, A. E. Conception et développement d’une nouvelle partie sensible d’un biocapteur basée sur un biomatériau composite pour la détection de divers polluants dans une phase liquide (Doctoral dissertation, Université de Jijel). (2020).

- [13] Khadka, R., Aydemir, N., Carraher, C., Hamiaux, C., Baek, P., Cheema, J., Kralicek, A., Travas-Sejdic, J. Investigating Electrochemical Stability and Reliability of Gold Electrode-Electrolyte Systems to Develop Bioelectronic Nose Using Insect Olfactory Receptor. *Electroanalysis*, 2019, 1-14p.
- [14] Rabih, K. Thèse de doctorat : Université Paris-Saclay, 2018.
- [15] Ramanavicius, A., Ramanavicien, A., Malinauskas, A. Electrochemical sensors based on conducting polymer—polypyrrole. *Electrochimica Acta*, 2006, 6025–6037p.
- [16] Anca-Stefana, F. Thèse de doctorat: Université Claude Bernard - Lyon I, 2015.
- [17] Rosine- Pélagie, K. Thèse de doctorat : Université de Yaounde, 2011.
- [18] Armisen, R , &Galatas, F. Production, properties and uses of agar. Production and utilization of products from commercial seaweeds. *FAO Fish. Tech. Pap*, 288, 1-57. (1987).
- [19] Guillet, J-F. Thèse de doctorat : Université de Toulouse-Paul Sabatier, 2017.
- [20] Scott, W.E., Fulmer, A., Arnott, S. The Agarose double Helix and Its function in Agarose gel structure. *J. Mol. Biol*, 1974, 269-284p.
- [21] Armisen, R. &Galatas, F. Production, properties and uses of agar. Production and utilization of products from commercial seaweeds **288**, 1–57 (1987).
- [22] Hur, J., Im, K., Kim, S. W., Kim, J., Chung, D. Y., Kim, T. H., Park, N. Polypyrrole/agarose-based electronically conductive and reversibly restorable hydrogel. *ACS Nano* **8**, 10066–10076 (2014).
- [23] Wang, N. & Wu, X. S. Preparation and characterization of agarose hydrogel nanoparticles for protein and peptide drug delivery. *Pharm. Dev. Technol.* **2**, 135–142 (1997).
- [24] Kazane, I. Thèse de doctorat : Université de Jijel, 2018.
- [25] Imen, H. Etudes physico-chimique de capteurs à base de nanomatériaux pour des applications biomédicales. Université Claude Bernard Lyon. (2009).
- [26] Bouraoui, S. Elaboration, étude et développement de capteurs (bio) chimiques à base de substances actives de plantes pour la détection sélective de quelques polluants dans les milieux hydriques (Doctoral dissertation, université Mohammed Sedik ben Yahia Jijel). (2017).
- [27] W.R. Heinemann, P.T. Kissinger, *Laboratory techniques in electroanalytical chemistry*, Marcek-Dekker N. Y. (1984).



[28] M.W. Shinwari, D. Zhitomirsky, I.A. Deen, P.R. Selvaganapathy, M.J. Deen, D.Landheer, Microfabricated reference electrodes and their biosensing applications, Sensors.10 (2010) 1679–1715.



*Résultats et*

*Discussions*

## **I. Introduction**

Notre objectif étant défini dans les parties antérieures, on présentera dans cette partie en premier lieu les résultats des caractérisations physico-chimiques des extraits tanin gélifié amine-fonctionnalisés (ATG), le mécanisme réactionnel entre les tanins modifiés (ATG) et le bisphénol A. Ces tanins seront utilisés pour développer des capteurs dans la détection et la quantification des polluants organiques dans les milieux hydriques. L'ensemble de ces résultats conduira à préciser l'utilité de nouvelles méthodes pour l'amélioration des performances des biocapteurs de bisphénol A et de catéchol.

## **II. Caractérisation des molécules bioactives extraites du thé vert**

### **II.1. Rendement d'extraction**

L'extraction de composés tanins présents dans l'échantillon a permis de calculer le rendement de chaque extrait, notamment les extraits bruts. Ce rendement est déterminé par rapport à 10 g de matière végétale sèche. Le résultat obtenu est représenté dans le tableau suivant :

**Tableau II.1.1** : Rendement d'extraction

<b>Plant</b>	<b>Masse de ballon avec l'extrait (g)</b>	<b>Masse de ballon vide (g)</b>	<b>Masse végétale de départ (g)</b>	<b>Rendement %</b>
Thé vert	82.1255g	78.219g	10g	39.08

Selon les résultats du tableau 1, on constate que l'acétone donne un rendement d'extraction de l'ordre de 39.08 %.

### **II.2. Caractérisation par spectroscopie infrarouges FT-IR**

Afin d'identifier les groupes fonctionnels de surface sur la poudre brute de TG et le produit modifié, des spectres FT-IR ont été enregistrés et représentés dans la figure II.2.1.

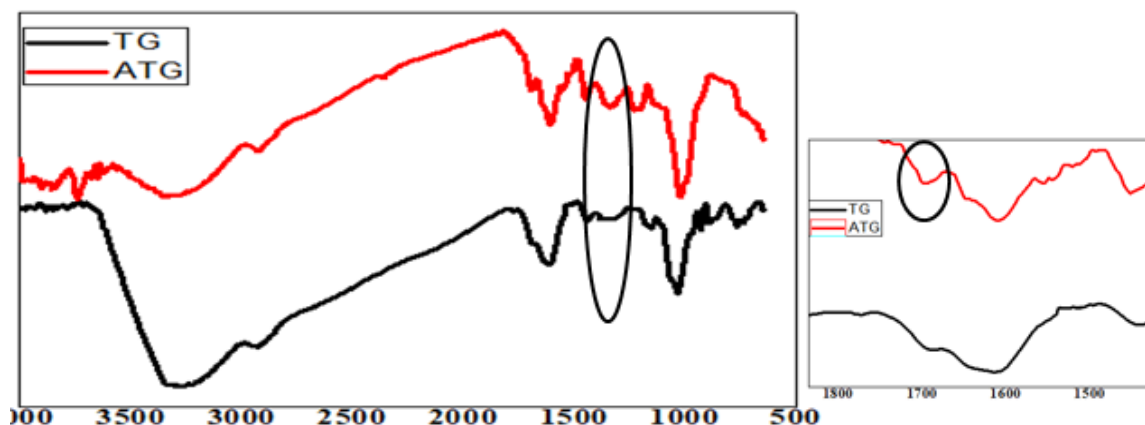


Figure II.2.1 : Spectres IR des TG de thé vert avant et après la modification.

La figure II.2.1 compare les spectres IR du TG brut avec ceux du gel préparé et fonctionnalisé par la création des fonctions amines. Plusieurs bandes IR caractéristiques des catéchines peuvent être distinguées :

La vibration d'étirement O-H liée à l'hydrogène du groupe phénolique sous la forme d'une large bande et intense à environ  $3300\text{ cm}^{-1}$  ;

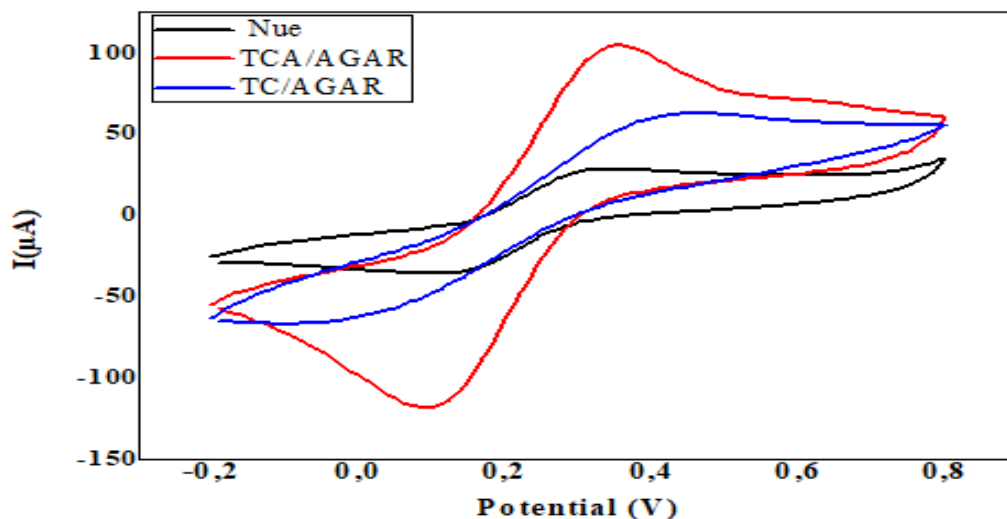
La vibration d'étirement C=O du groupe galloyle est observée environ  $1700\text{ cm}^{-1}$ . Aromatique C=C autour de  $1600\text{ cm}^{-1}$  ;

Les vibrations mixtes d'étirement C-O et de flexion O-H sont observées à  $1150\text{-}1350\text{ cm}^{-1}$ .

Pour le gel préparé ATG, des changements significatifs ont été observés dans les régions  $1250\text{-}1350\text{ cm}^{-1}$  du spectre IR du gel ATG qui sont représenté par l'étirement C-N respectivement ce qui confirme l'introduction du groupe amine sur la matrice TC. La bande d'étirement N-H n'est pas évidente dans le spectre car elle est superposée à de larges vibrations d'étirement O-H.

### II.3. Performance électrochimique des différentes électrodes

Le comportement voltampérométrique cyclique de capteur développé, non modifié et modifié a été étudié dans une plage de potentiel allant de  $-0,2$  à  $+0,8\text{ V}$  avec une vitesse de balayage de  $0,5\text{ V}\cdot\text{S}^{-1}$  dans une solution mixte de  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  et de  $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  à  $5\text{ mM}$  (Fig. II.3.1)



**Figure II.3.1:** Voltammogrammes par des électrodes nues et modifiées dans 5 mM du  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$

Une paire de pics redox a été observée sur les voltammogrammes présentés dans la figure II.3.1 pour l'électrode nue ainsi que pour toutes les deux autres électrodes Au/ TG-Agar, Au-TGA/Agar avec une différence remarquable du courant de crête ( $I_p$ ) qui est de 27  $\mu\text{A}$  pour l'électrode nue, 63  $\mu\text{A}$  pour TG/agar alors que pour l'électrode modifiée par l'amino fonctionnalisation, on observe que ( $I_p$ ) a augmenté à 103  $\mu\text{A}$  démontrant que la combinaison de l'agarose et de TGA présente une plus grande électro-conductivité. De plus, cette intensité importante indique que la création des groupements amine à la surface de l'extrait de tanins pourrait augmenter fortement le transfert d'électrons et évidemment, l'intensité maximale du signal électrochimique ce qui pourrait être un avantage pour le processus de l'électrooxydation de l'analyte étudié(BPA).

### II.3.1. Performance analytique de détection de Bisphénol A

#### II.3.1.1. La voltampérométrie cyclique

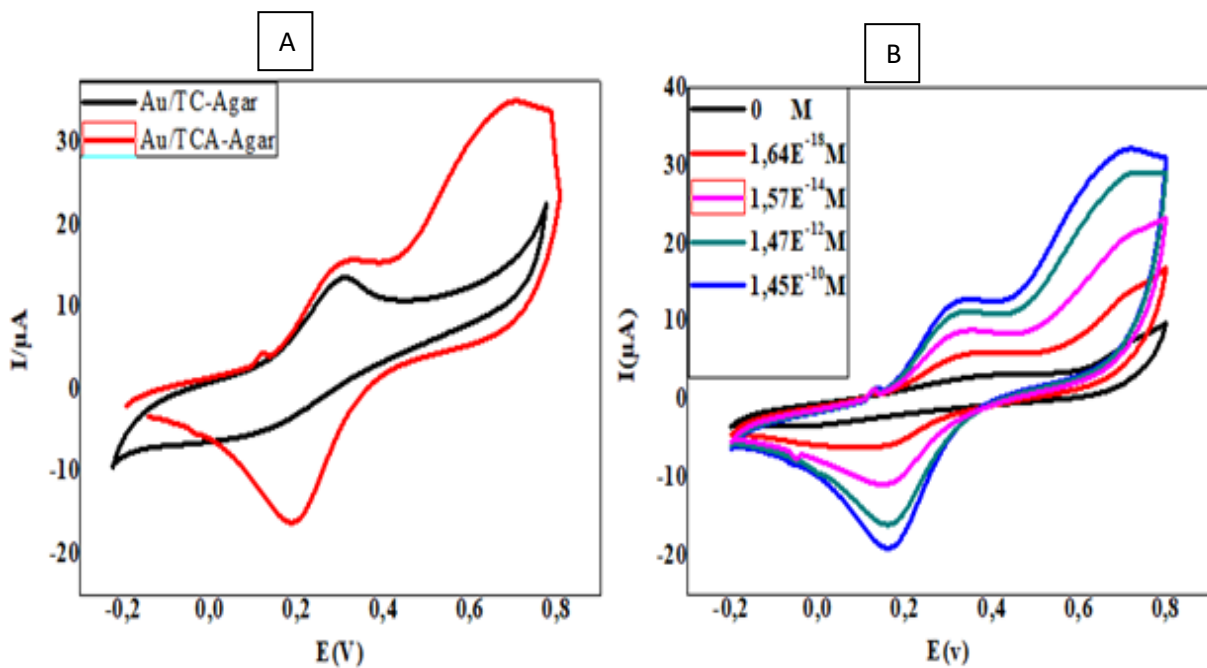
La voltammétrie cyclique est une des techniques électrochimiques les plus utilisées pour sa simplicité et la richesse des informations apportées sur la nature de la surface de l'électrode telles que la pureté, la stabilité, la reproductibilité et la répétabilité [1]. Cette technique consiste à faire varier le potentiel de travail linéairement avec le temps entre deux bornes de potentiel et de mesurer le courant qui en résulte, le balayage du potentiel se faisant dans les deux sens.

En l'absence d'agitation et à la surface d'une électrode immobile dans une solution électrolytique contenant une espèce redox, le balayage de potentiel entraîne la réduction et

l'oxydation de l'espèce. Le voltammogramme enregistré est alors une courbe intensité-potentiel qui représente deux pics en oxydation et un en réduction décrivant la capacité de l'espèce à s'oxyder et à se réduire à la surface de l'électrode. La différence des potentiels des pics d'oxydation et de réduction ( $\Delta E_p$ ) traduit le caractère réversible du système électrochimique.

Comme on l'a déjà mentionné, le BPA est un élément électroactif, et sa réaction d'oxydation est déroulée de manière irréversible, qui provoque la formation d'un encrassement de la surface des électrodes.

Donc afin d'évaluer la capacité du présent capteur à éliminer ce problème et à améliorer la performance de l'électrode pour la détection du BPA, les voltammogrammes de CV ont été enregistrés à la surface de différentes électrodes modifiées. Les résultats obtenus sont présentés dans la Fig. II. 3.1.1 (A, B).



**Figure II.3.1.1 :**(A) réponse électrochimique par Au/TGA-Agar et Au/TG-Agar à

[BPA]=  $10^{-9}$  M dans une solution pbs de 0.1M avec une vitesse de balayage de 0.05 v.s<sup>-1</sup>;

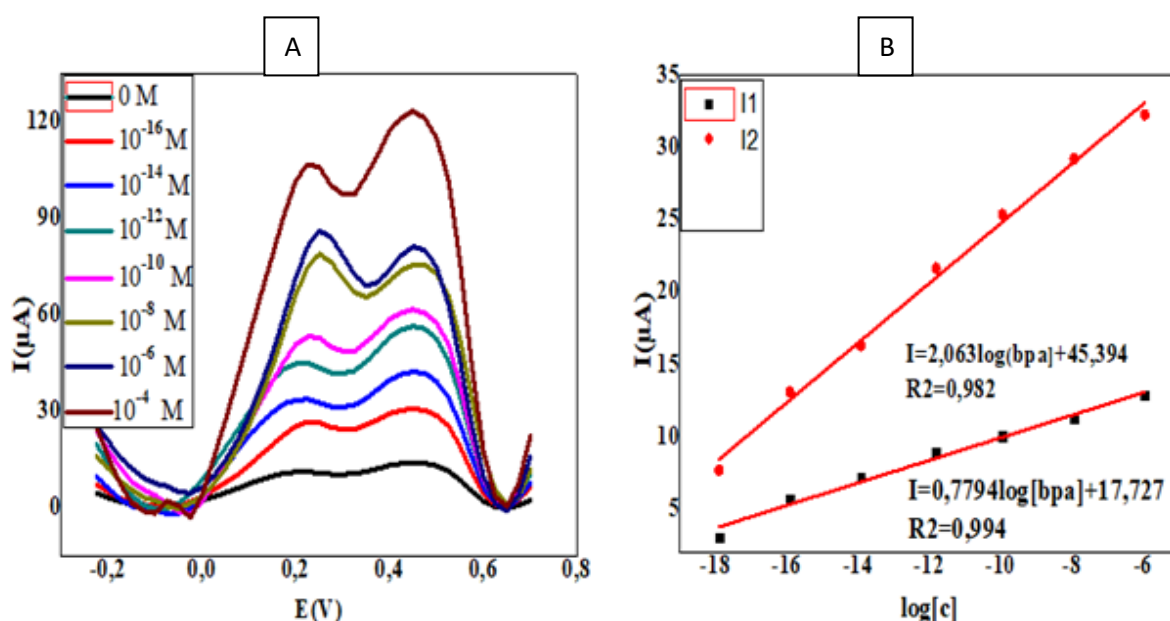
(B) : Voltammogrammes CV obtenus par Au/TGA-Agar à différentes concentrations de BPA.

La figure II.3.1.1 (A) représente la caractérisation par voltampérométrie cyclique de deux électrodes Au/TG-Agar et Au/TGA-Agar à la présence d'une concentration de  $10^{-9}$  mol/l de BPA.

Comme on peut constater, il est évident que la modification du tanin condensé fait augmenter le courant de pointe en vertu de l'augmentation de la surface de l'électrode et de l'accélération du transfert d'électrons.

Plus précisément, au niveau du premier capteur Au/TG-Agar, le signal redox consiste en un seul pic anodique à un potentiel d'environ de 0.19 V. En revanche, pour l'électrode modifiée, le courant de pointe électrochimique est traduit par deux pics d'oxydation, le premier à un potentiel environ de 0.2V et un deuxième caractérisé par une intensité plus élevée que le premier à 0.45 V successivement avec un pic de réduction à 0.2 V, démontrant ainsi la réversibilité du système étudié. Ce résultat peut être le fruit de l'impact synergétique et de la grande efficacité de l' amino fonctionnalisation des tanins condensés qui leur donne des nouvelles caractéristiques à savoir, la surface de contact élevée, la grande conductivité électrique et beaucoup plus des sites pour la formation d'ions.

### II.3.1.2. la voltampérométrie à ondes carrées



**Figure II.3.1.2 :**(A) Voltammogrammes SWV obtenus par TCA-Agar/Au à différentes concentrations de Bpa dans la gamme de potentiel de -0.2 à +0.8 V avec un taux de balayage de 0.05 V.s<sup>-1</sup> ; amplitude de et une fréquence de 11Hz; (B) courbes de calibration du BPA obtenues.

La figure II.3.1.2 représente la réponse de TGA-Agar/Au par la voltampérométrie à ondes carrées en présence des différentes concentrations de bisphénol A, les voltammogrammes obtenus révèlent que les résultats sont cohérents avec ceux de la CV.

Les pics d'oxydation ont augmenté linéairement avec l'augmentation de la concentration de BPA dans la gamme de  $10^{-16}$  M à  $10^{-4}$  M (figure 4a), avec deux régressions linéaires de

$I_1 [\mu\text{A}] = 0.7794 \log [\text{BPA}] + 17.727$  ( $R^2 = 0,994$ ),  $I_2 [\mu\text{A}] = 2.063 \log [\text{BPA}] + 45.394$  ( $R^2=0.982$ ) (figure 4b).

La limite de détection ( $3\sigma$ ) et la limite de quantification ( $10\sigma$ ) ont été calculées et nous donne des valeurs de 8.83fMet 0.026 pM respectivement.

### **II.3.1.3. Répétabilité, reproductibilité, stabilité de Au/TCA-Agar**

Dans le but d'étudier la reproductibilité du présent capteur, cinq électrodes ont été élaborées indépendamment selon la procédure recommandée pour la détection d'une concentration de  $10^{-9}$  M de BPA. Un écart-type relatif (RSD) résultant est de 3.76 % indique une reproductibilité acceptable de ce dispositif ; en outre, pour évaluer la précision (répétabilité), et l'impact du stockage à long terme du capteur préparé, une des électrodes précédentes a été utilisée pour la détermination électrochimique de certaine concentration de BPA pendant 14 jours successives. La RSD est approximativement de l'ordre de 2.8% ce qui prouve sa bonne répétabilité et qu'il a pu garder environ 80 % de sa réponse originelle après un stockage à 4°C pendant 2 semaines et ce qui démontre aussi la grande stabilité du composite sur la surface de l'électrode en or.

Le tableau suivant montre les performances analytiques de notre capteur ATG-Agar/Au qui sont comparables avec celles obtenues dans d'autres travaux récents reportés dans la littérature pour la détection du BPA :



**Tableau II.3.1.3 :** Comparaison des performances analytiques du capteur TGA-Agar/Au avec celles d'autres matériaux utilisés pour la détermination du PBA.

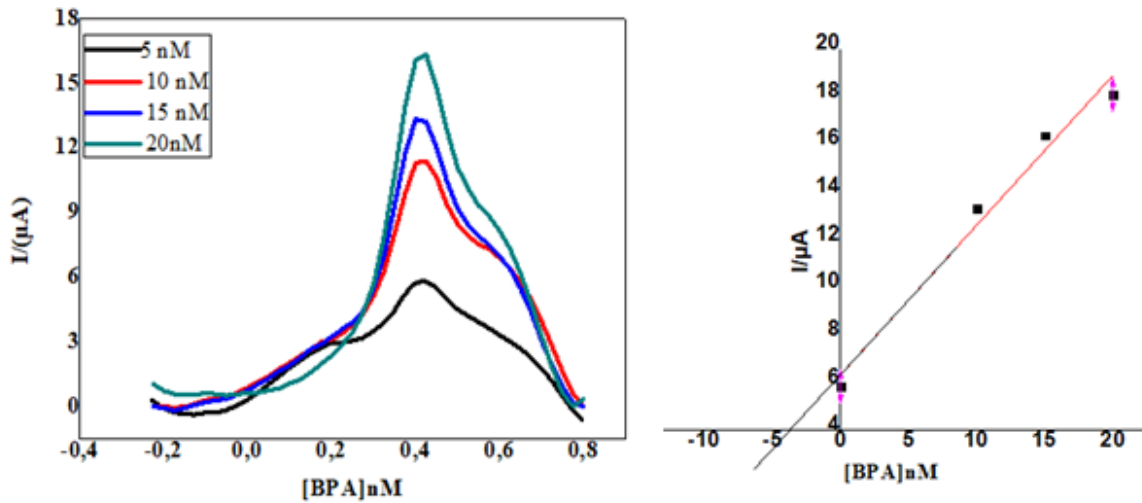
<b>Matériau d'électrode</b>	<b>Domaine de linéarité et Limite de détection (M)</b>	<b>Type d'échantillon réel</b>	<b>Réf</b>
Biocapteur d'enzyme Tyrosinase et SWCNTs	$0.1-12 \times 10^{-6}$ M $0.02 \times 10^{-6}$ M	Eaux de surface polluées	[3]
Capteurs à base de points quantiques QDsCoTe/PAMAM dendrimère	$1.3 \times 10^{-8} - 9.89 \times 10^{-6}$ M ( $1 \times 10^{-9}$ M)	Échantillons d'eau réels	[4]
Feuilles de graphène dopées à l'azote avec chitosane	$1.0 \times 10^{-8} - 1.3 \times 10^{-6}$ M	Échantillons d'eau	[5]
ATG-Agar/Au	$6 \times 10^{-6} - 1.64 \times 10^{-18}$	L'eau de robine	Ce
ATG-Agar/Au	8.83 fM	L'eau de robinet	travail

L'électrode modifiée avec les TGA donne une meilleure réponse vis-à-vis de l'analyte détectée en l'occurrence le BPA avec une sensibilité plus élevée. Par rapport à d'autres travaux réalisés et déjà publiés, notre électrode donne une claire meilleure sensibilité.

#### **II.II.3.1.4. Analyse des échantillons réels et test de récupération**

Pour évaluer l'adéquation du présent capteur à des applications pratiques, le capteur a été appliqué pour détecter le BPA dans l'eau du robinet. Nous avons procédé comme suit :

Les échantillons d'eau ont été dopés avec des concentrations de BPA en ajoutant séparément 5, 10, 15 et 20 nM à l'eau du robinet locale et ont été soumis à des mesures SWV par le dispositif développé.



**Figure II.3.1.4** : analyse par SWV du BPA dans un échantillon d'eau de robinet (gauche) et le tracé de la méthode des ajouts dosés sur TGA-Aar/Au (droite) pour la détermination de la concentration de BPA calculée.

Comme le montre la figure 5, le taux de récupération de BPA dans chaque échantillon a été calculé sur la base de concentration de BPA calculée et dopée, et il a été 87.6%.

D'après ces résultats nous pouvons dire que le capteur développé à base tanins condensés amino fonctionnalisés a une excellente applicabilité et une grande précision pour la détermination de BPA.

## II.3.2. Détection électrochimique de catéchol

### Caractérisation de l'électrode ATG-agar/Au par la méthode CV et SWV après l'injection de différentes concentrations de catéchol

La spectroscopie IR a été utilisée pour caractériser le tanin condensé avant et après la modification aminofonctionnalis. La caractérisation électrochimique s'est faite dans un milieu aqueux tamponné en utilisant la voltammétrie cyclique.

#### II.3.2.1. voltamétrie cyclique

La figure II.3.2.1 montre les voltampérogrammes cycliques de l'électrode modifiée dans un PBS 3ml (pH 7,0). Une paire de pics redox bien définis du catéchol a été observée. Le potentiel de pointe des pics d'oxydation de catéchol est de l'ordre de +0.13 V et celle de réduction est de -0.009 V. De plus, le balayage inverse confirme la stabilité du couple rédox ce qui indique la réversibilité des réactions électrochimiques du catéchol au niveau de l'électrode modifiée ATG-Agar/ Au.

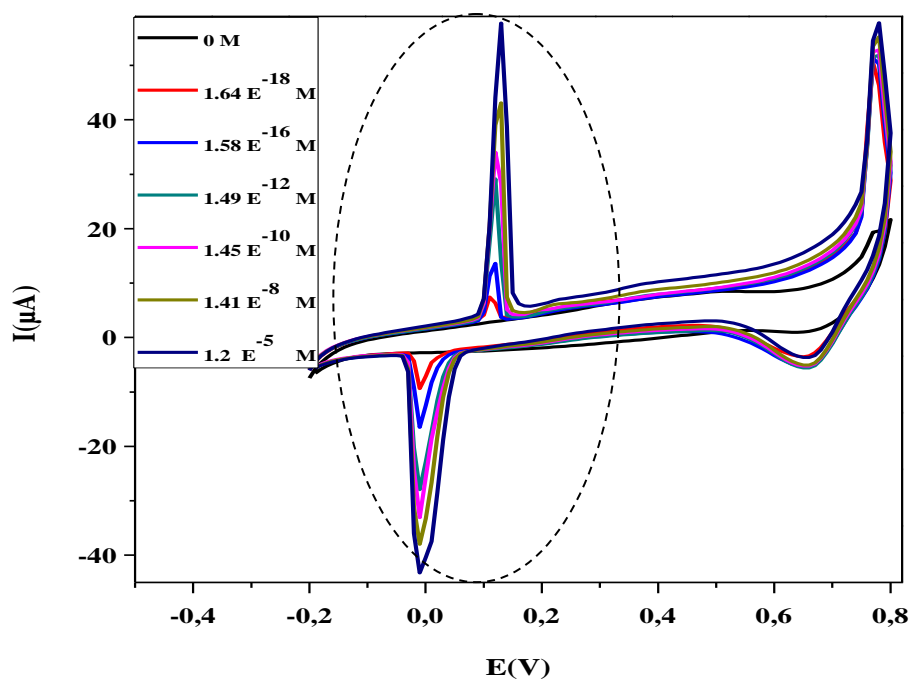


Figure II.3.2.1 : Voltammogrammes cycliques pour différentes concentrations en catéchol, dans 3ml de PBS (pH 7)

### II.3.2.2. Courant anodique et courant cathodique

Nous avons remarqué d'après les courbes de la voltamétrie cyclique de la figure II.3.2.2, la présence d'un pic anodique d'oxydation à +0.13 et un autre cathodique de réduction -0.009V. L'intensité du courant augmente avec l'augmentation des concentrations ajoutées du catéchol à chaque fois, ce qui explique que le phénomène est réversible et que le système est rapide.

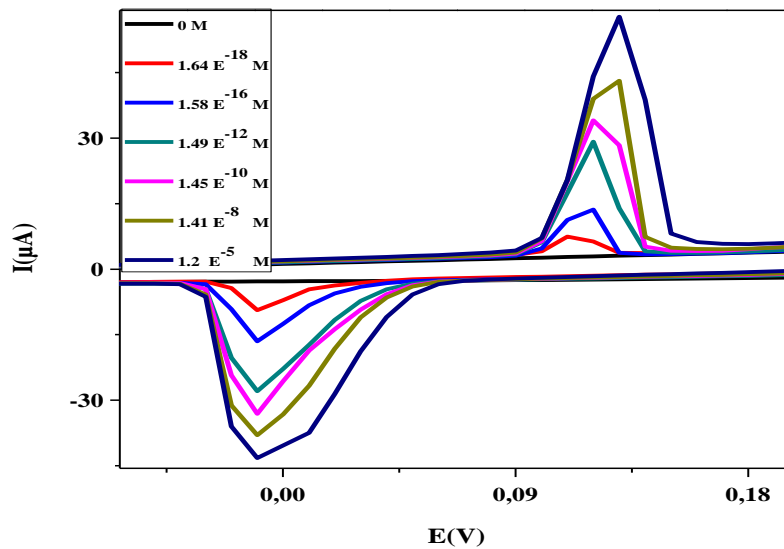


Figure II.3.2.2 : Voltammogrammes cycliques pour différentes concentrations en catéchol, dans 3l de PBS courant cathodique et anodique (pH 7)

### II.3.2.3. La courbe de calibration de la voltamétrie cyclique

D'après ces courbes de calibrations, on note une limite de détection très intéressante pour le catéchol. La comparaison entre la pente relative des courbes de calibration révèle des bonnes sensibilités 3.687 et -2.756 du capteur vis-à-vis du catéchol qui est presque identiques dans la gamme linéaire comprise entre  $10^{-18}$  et  $10^{-5}$  mM.

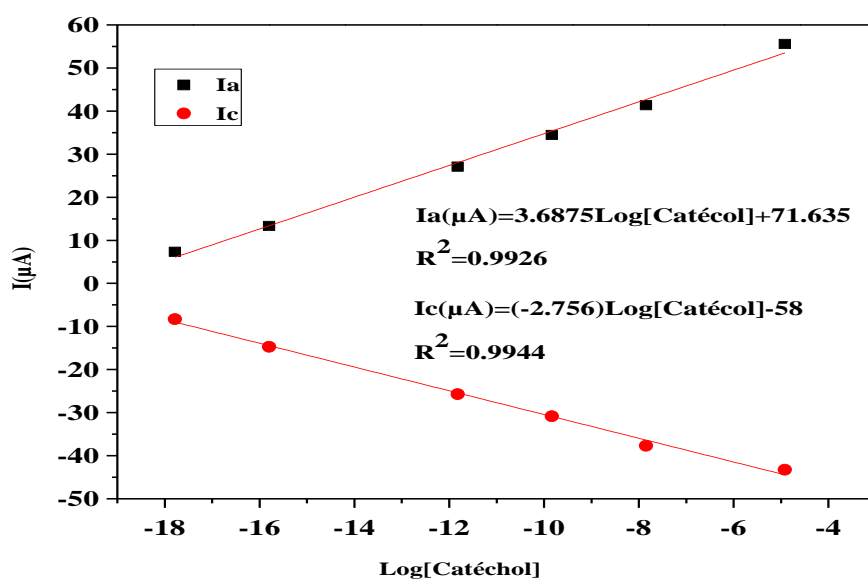
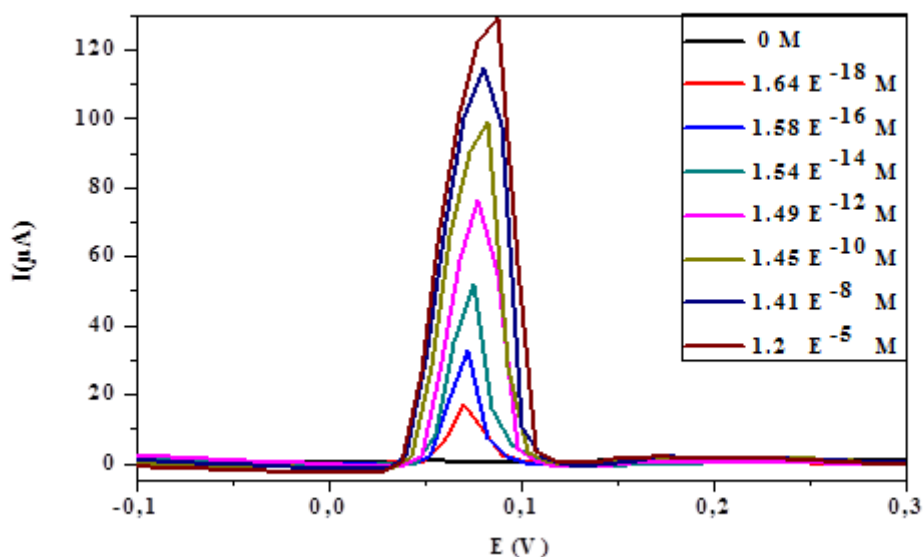


Figure II.3.2.3 : Réponse anodique et cathodique du capteur en fonction de log(C) catéchol.

#### II.3.2.4. Voltammétrie à ondes carrées SWV

La SWV a été utilisée pour la détermination de la sensibilité de la surface modifiée vis-à-vis des ions d'ATG. La **Figure 9** montre les voltamogrammes relatifs à la détection des ions de catéchol par l'électrode modifiée par la matrice **ATG-agar/Au** obtenus dans des solutions tamponnées à pH 7 réalisés à température ambiante. On remarque une augmentation de l'intensité des pics en fonction de la concentration croissante en ions CC.

Après traitement des voltamogrammes SWV obtenus pour les différentes électrodes modifiées nous avons tracé la courbe de sensibilité donnant la variation du courant en fonction du logarithme de la concentration des ions analysés. On obtient une dépendance linéaire ( $R_2 = 0,9935$ ) du courant anodique dans la plage de concentration de CC de  $10^{-6}$  à  $10^{-18}$ M pour l'électrode modifiée par ATG/Agar avec une limite de détection de l'ordre de  $10^{-9}$ nM. Il peut être également observé que l'électrode modifiée par ATG/Agar présente une plus grande sensibilité de  $9,6 \mu A.M^{-1}$  par rapport aux autres électrodes. Comme on peut le constater, l'électrode modifiée avec l'ATG et Agar donne une meilleure réponse vis-à-vis des ions catéchol avec une sensibilité plus élevée. Par rapport à d'autres travaux réalisés et déjà publiés, notre électrode donne une meilleure sensibilité.



**Figure II.3.2.4 :** Voltammogrammes à ondes carrées pour différentes concentrations en catéchol ,dans 3ml de PBS (pH 7)

Le balayage successif à cinq cycles ne montre aucune diminution du courant des pics redox ce qui signifie que les produits résultants de la réaction d'oxydoréduction de catéchol sont stables et ne forme aucun film passivant à la surface de l'électrode.

### II.3.2.5. Courbe de calibration de la voltammétrie à ondes carrées SWV

La courbe de calibration (**Figure II.3.2.5**) montre que le courant augmente linéairement en fonction de la concentration en catéchol de  $10^{-4}$  M à  $10^{-16}$  M avec une sensibilité de  $9.6 \mu\text{A} \cdot \text{M}^{-1}$  ( $R^2 = 0,9935$ ). La limite de détection pour le catéchol est de  $10^{-18}$  et  $10^{-5}$  M qui est supérieure aux valeurs rapportées pour des électrodes modifiées avec d'autres composés comme les résines échangeuses d'ions ou des composés inorganiques.

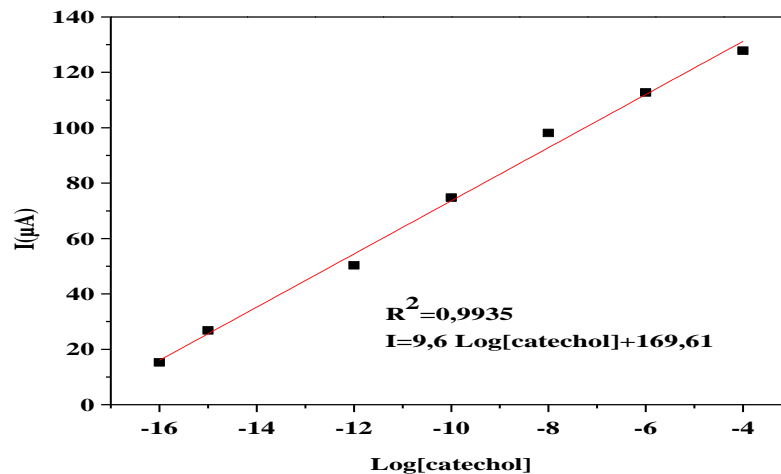


Figure II.3.2.5 : Réponse du capteur en fonction de la concentration de catéchol.

#### II.4. Réaction électrochimique interface électrode –solution

Une réaction électrochimique est constituée de plusieurs étapes :

**II.4.1. Transfert de masse :** C'est le transfert de la matière électroactive du sein de la solution à la surface de l'électrode et l'inverse. Cette étape peut être effectuée sous trois différentes formes :

- Le transport par migration des espèces chargées (ions) sous l'effet d'un gradient de potentiel électrique, c'est-à-dire sous l'effet d'un champ électrique E.
- Le transport par diffusion de la matière sous l'effet d'un gradient de potentiel chimique, c'est à-dire sous l'effet d'un gradient de concentration des milieux les plus concentrés vers les milieux les moins concentrés.
- Le transfert par convection sous l'effet d'un gradient de température ou de pression ou d'agitation mécanique.

**II.4.2. Réactions chimiques :** Il peut s'agir de réactions acido-basiques, de complexation, de déshydratation qui se déroule avant ou après les réactions d'électrode.

**II.4.3. Réactions de surface :** Il s'agit des phénomènes d'adsorption, de dés adsorption ou décroissance de germes cristallins. L'adsorption est le processus durant lequel un solide plongé dans une solution retient à sa surface des molécules ou des ions de la solution.

**II.4.4. Transfert de charge :** C'est le transfert des électrons à la surface de l'électrode et plus précisément dans la double couche. La vitesse d'une réaction électrochimique dépend de la vitesse des étapes réactionnelles. L'étape qui limite le courant par sa lenteur, et crée une polarisation de l'électrode est appelée "étape cinétiquement déterminante"; c'est elle qui impose la vitesse globale de la réaction (dans certains cas, plusieurs étapes participent à la limitation du

courant). Les différentes étapes de la réaction électrochimique sont illustrées [2] sur la figure II.4.1.

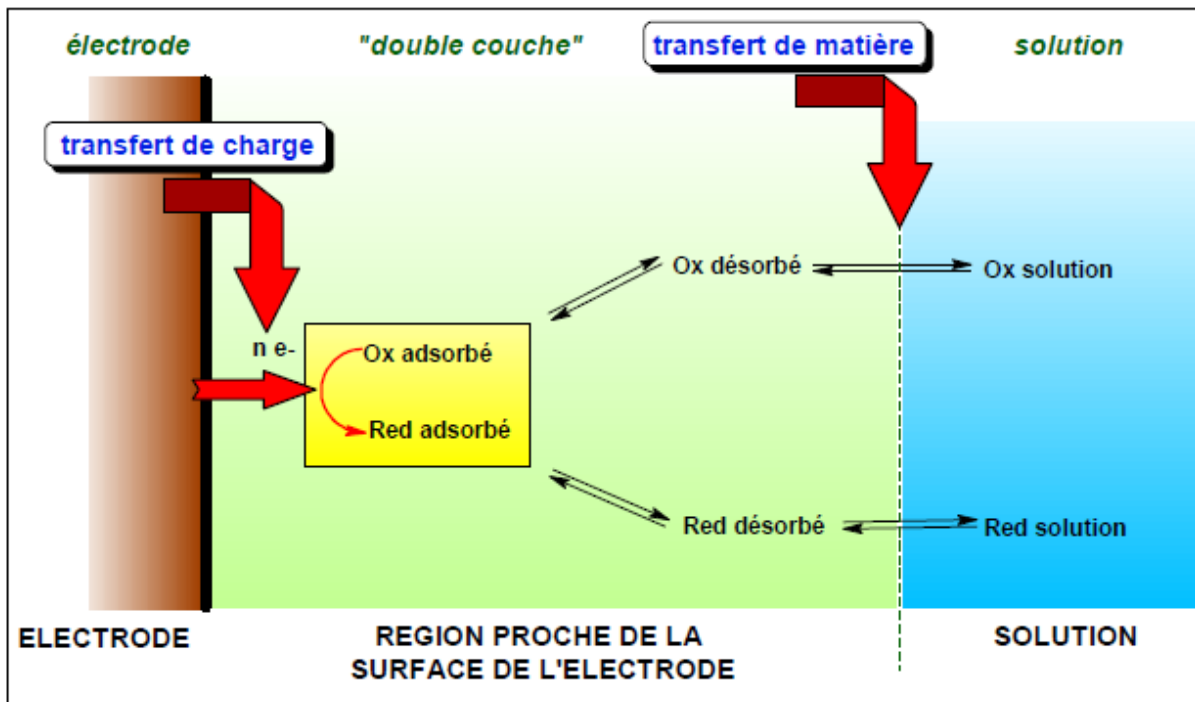


Figure II.4.1 : Schéma d'une réaction électrochimique.



## **Référence bibliographique**

[1] Montrose, A. (2013). Développement d'un immunocapteur impédimétrique pour la détection et la quantification d'une sous-population cellulaire : application au diagnostic précoce des infections (Doctoral dissertation, Université de Toulouse, Université Toulouse III-Paul Sabatier).

[2] Zeghad ep Bououden, N., Belkhiri, A., & Demeyer, K. (2018). Evaluation des propriétés biopharmacologiques, standardization chimique et valorisation des agroressources fonctionnelles cas de *Vitis vinifera*, *Punicagranatum*, *Citrus aurantium* et *Opuntia ficus-indica* (Doctoral dissertation, جامعة الإخوة منتوري قسنطينة).

[3] K.V. Ragavan, L.S. Selvakumar, M.S. Thakur, Functionalized aptamers as nanobioprobes for ultrasensitive detection of bisphenol-A, *Chem. Commun.* 49 (2013) 5960–5962.

[4] H. Yin, Y. Zhou, S. Ai, Q. Chen, X. Zhu, X. Liu, L. Zhu, Sensitivity and selectivity determination of BPA in real water samples using PAMAM dendrimer and CoTe quantum dots modified glassy carbon electrode, *J. Hazard. Mater.* 174 (2010) 236–243.

[5] H. Fan, Y. Li, D. Wu, H. Ma, K. Mao, D. Fan, B. Du, H. Li, Q. Wei, Electrochemical bisphenol A sensor based on N-doped graphene sheets, *Anal. Chim. Acta* 711(2012) 24–28.

## **Conclusion générale**

L'objectif de ce travail est la modification de surfaces d'électrodes pour la conception de capteurs utilisables dans le domaine analytique. Ce travail s'inscrit dans le cadre de l'élaboration de capteurs électrochimiques qui pourraient éventuellement être utilisés dans des milieux réels pour la détection d'espèces en solution.

En premier lieu une électrode à base de tanin condensé issu du thé vert gélifié et modifiée par une amine a été utilisée pour la détection d'ions organique de PBA. Une série de caractérisations a été réalisée avant et après la modification aminofonctionnalisés par l'infrarouge FTIR afin de garantir l'adhésion de la membrane à la surface de l'électrode et de déterminer sa morphologie.

La partie réceptrice a été réalisée en associant l'ATG avec un film polymérique mince d'agarose sous forme de gel jouant le rôle de matrice avec le traitement adéquat. En effet, l'utilisation d'ATG-Agar/Au a permis d'avoir de meilleures performances analytiques en augmentant la sensibilité et la limite de détection de l'électrode élaborée.

D'après les résultats, on peut conclure et estimer que le dispositif développé permet de faciliter, à un point très poussé, la détection et l'analyse d'une manière simple et efficace le BPA et le catéchol.

Cette étude ne doit pas s'arrêter là. Les dispositifs doivent être développés encore pour améliorer leur efficacité. De plus et dans un second temps, une amélioration du design est souhaitable pour une éventuelle commercialisation.

**Perspective :**

- Effectuer des mesures réelles sur les eaux.
- Réaliser d'autres caractérisations physico-chimiques pour mieux cerner les mécanismes réactionnels.

Réaliser des tests de répétabilité et de reproductibilité pour le dispositif développé et étudier l'effet de quelques interférents.

*« Le guerrier de la lumière doit toujours garder à l'esprit les cinq règles du combat écrites par Tchouang-tseu il y a plus de deux mille ans :*

- *La foi : avant d'entreprendre une bataille, il faut croire au motif de la lutte.*
- *Le compagnon : choisis tes alliés et apprends à combattre à leurs côtés, car personne ne gagne une guerre tout seul.*
- *Le temps : une bataille en hiver est différente d'une bataille en été ; un bon guerrier choisit le moment d'entreprendre le combat.*
- *L'espace : on ne lutte pas pareillement dans un défilé et dans une plaine. Considère l'espace qui t'entoure et la meilleure manière de t'y mouvoir.*
- *La stratégie : le meilleur guerrier est celui qui planifie son combat.»*

*Paulo Coelho, Manuel du guerrier de la lumière.*

*« Science de la lumière et des ténèbres de l'ignorance »*

## Résumé

Au cours des dernières décennies, les capteurs et les biocapteurs électrochimiques ont connu un développement considérable en raison de leur simplicité, fiabilité, rapidité et sélectivité. Ils ont constitué les alternatives les plus séduisantes pour les méthodes analytiques classiques dans des domaines aussi variés que l'agro-alimentaire, la médecine et la biologie clinique, ou le contrôle de la qualité de l'environnement. Dans ce travail de recherche, nous nous sommes intéressés à la conception d'un biocapteur électrochimique destiné à la détection de PBA et du catéchol classé parmi les perturbateurs endocriniens dans les milieux aqueux. Dans un premier volet, un gel de tannin (TG) et un gel de tanin modifié par une amine synthétisé à partir de molécules de tannins condensés de thé vert a révélé une capacité remarquable à adsorber divers ions organiques. La matrice réceptrice est immobilisée par la technique appropriée pour la fonctionnalisation des transducteurs. Cette matrice a démontré son efficacité de rétention de PBA et de CC avec des limites de détection très intéressantes de l'ordre de  $10^{-6}$  jusqu'à  $10^{-18}$  M.

**Mots clés :** biocapteur électrochimique, PBA, CC, TG, ATG, tannins condensés, thé vert.

## Abstract

Over the last decades, electrochemical sensors and biosensors have experienced a considerable development due to their simplicity, reliability, speed and selectivity. They have been the most attractive alternatives to classical analytical methods in fields as diverse as food processing, medicine and clinical biology, or environmental quality control. In this research work, we are interested in the design of an electrochemical biosensor for the detection of PBA and catechol, which is classified as an endocrine disruptor, in aqueous media. In the first part, a tannin gel (TG) and an amine-modified tannin gel synthesized from condensed green tea tannin molecules have a remarkable ability to adsorb various organic ions. Qualitative tests are established on the previously extracted products. The receptor matrix is immobilized by the appropriate technique for the functionalization of the transducers. This matrix has marked its retention efficiency of PBA and CC with very advantageous detection limits of the order of  $10^{-6}$  to  $10^{-18}$ .

**Keywords:** electrochemical biosensor, PBA, CC, TG, ATG, condensed tannins, green tea.

## تلخيص

في العقود الاخيرة، مرت اجهزة الاستشعار الكهروكيميائية واجهزة الاستشعار الحيوية بتطور كبير بسبب بساطتها وموثوقيتها وسرعتها وانتقائها. لقد كانت البدائل الاكثر جاذبية للطرق التحليلية الكلاسيكية في مجالات متنوعة مثل معالجة الاغذية والطب والبيولوجيا السريرية او مراقبة الجودة البيئية. في هذا العمل البحثي، نحن مهتمون بتصميم جهاز استشعار حيوي كهروكيميائي مخصص للكشف عن البيسفينول والكاتيكول المصنّف ضمن عوامل اختلال الغدد الصماء في الوسائط المائية. في الجزء الاول يمتلك جل التانينوهلام التانين المعدل بالامين مركب من جزيئات العفص المكثف من الشاي الاخضر الى قدرة ملحوظة على امتصاص الايونات العضوية المختلفة. يتم اجراء الاختبارات النوعية على المنتجات المستخرجة مسبقا. يتم تجميد مصفوفة المستقبلات بواسطة الكاتيكول مع حدود اكتشاف مفيدة للغاية التقنية المناسبة لتشغيل المحولات. تميزت هذه المصفوفة بكفاءتها في الاحتفاظ بالبيسفينول وتتراوح من  $10^{-18}$  الى  $10^{-6}$ .

**الكلمات المفتاحية:** جهاز الاستشعار البيولوجي الكهروكيميائي، الشاي الأخضر، العفص المكثف، البيسفينول، الكاتيكول، جل التانين المعدل بالامين، التانين