

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR

ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UNIVERSITE MOHAMED SEDDIK BENYAHIA JIJEL

Faculté des sciences et de la technologie

Département de Génie des procédés

N° :/2022

MEMOIRE DE MASTER

DOMAINE: Sciences et Technologies

FILIERE: Sciences et Génie de l'Environnement

SPECIALITE: Génie des Procédés de l'Environnement

Thème

**Nouveau concept de capteur à base d'un complexe
polyélectrolyte biocompatible pour application médicale.**

Présenté Par : CHERITI Cheima.

Encadré Par : Pr.ZAZOUA Ali.

MEHASSOUEL Mehdy.

Date de soutenance: 14/07/2022

Jury de Soutenance

Présidente : Dr.DERNANE Chalabia

Univ MSB jijel

Examinatrice : Dr.KHALED KHODJA Soumeya.

Univ MSB jijel

Promotion : 2021 /2022

Remerciements

En premier lieu nous tenons à remercier le bon DIEU de nous avoir donné le courage et la foi pour la réalisation de ce travail.

Nos remerciements les plus vifs s'adressent à notre encadrant Monsieur le professeur ZAZOUA.A pour sa disponibilité, son inestimable aide, ses orientations, et ses conseils précieux qu'il nous a prodigué tout au long de ce travail. Qu'il trouve ici nos sentiments de gratitude et de profonde reconnaissance.

Nous tenons à remercier Mme BOUHEBILA.F pour son soutien, ses conseils, et le partage de ses connaissances.

Nous tenons à remercier aussi Dr.DERNANE.Ch pour l'honneur qu'elle nous fait en présidant le jury de notre mémoire.

Nos remerciements vont également à Dr.KHALED KHODJA.S d'avoir accepté de se joindre à ce jury comme examinatrice.

Nous désirons aussi remercier tous le personnel du laboratoire de Génie des Procédés de l'université de Jijel, ainsi que le personnel de la plateforme technologique au sein de l'Ecole Nationale Polytechnique de Constantine, qui ont participé par leur disponibilité, leur gentillesse et leur aide dans ce travail.

Nous remercions également Mlle.FAFA.S et Mlle.HELIM.R pour les remarques objectives qu'elles nous ont apporté.

Dédicace

J'ai le plaisir de dédier ce modeste travail :

A mes chers parents, pour leur amour, leur encouragement, et pour leurs sacrifices infinis durant toutes mes années d'études. Que DIEU le tout puissant les garde pour moi.

A ma sœur et mes frères.

A mes amis Sarah, Khawla, Madjeda et Yousra.

A toute ma grande famille.

A mes collègues d'études et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce travail soit réalisé.

Cheima

Table des matières

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

Références bibliographiques

Chapitre I : Etude bibliographique

I. Introduction.....	03
I.1. Le système neuronal.....	03
I.1.1. La dopamine (DA)	04
I.1.1.1. Propriétés physico-chimiques.....	04
I.1.1.2. Rôle de la dopamine.....	05
I.2. Les capteurs (bio) chimiques.....	06
I.2.1. Définition d'un capteur (bio) chimique.....	06
I.2.2. Structure d'un biocapteur.....	06
I.2.2.1. La partie de reconnaissance.....	07
I.2.2.2. Le transducteur.....	07
I.2.3. Modes d'immobilisation.....	08
I.2.4. Caractéristiques d'un (bio) capteur.....	10
I.2.5. Les capteurs électrochimiques.....	11
I.2.5.1. Les biocapteurs impédimétriques.....	11
I.2.5.2. Les biocapteurs conductimétriques.....	12
I.2.5.3. Les biocapteurs potentiométriques.....	13
I.2.5.4. Les biocapteurs ampérométriques.....	13
I.2.5.5. Les biocapteurs voltammétriques.....	13

I.3. Les polysaccharides.....	14
I.3.1. Le chitosane (Cs).....	15
I.3.1.1. Définition du chitosane.....	15
I.3.1.2. Origine et structure.....	15
I.3.1.3. Propriétés du chitosane.....	17
a. Solubilité.....	17
b. Formation de films.....	17
I.3.2. La pectine (Pc).....	17
I.3.2.1. Structure chimique de pectine.....	18
I.3.2.2. Le degré de méthylation (DM).....	19
I.3.2.3. Les propriétés de la pectine.....	20
I.3.2.4. Origine de la pectine.....	20
I.3.2.5. Extraction de pectine.....	22
a. Hydrolyse en milieu acide.....	22
b. Extraction par micro-ondes.....	23
c. Extraction enzymatique.....	23
d. Extraction par chauffage assisté par ultrasons.....	23
e. Extraction avec des agents de chélation.....	24
I.4. Complexes polyélectrolytes.....	24
I.4.1. Utilisation des polysaccharides pour la fabrication des complexes polyélectrolytes.....	25
I.4.1.1. Complexe polyélectrolyte à base de pectine et chitosane.....	25

I.5. Etat de l'art sur la détection électrochimique de la dopamine.....	27
---	----

Références bibliographiques

Chapitre II : Partie expérimentale

II. Introduction.....	32
II.1. Matière végétale.....	32
II.1.1. Taux d'humidité.....	33
II.1.2. Protocole d'extraction des polysaccharides pariétaux.....	33
II.1.2.1. Extraction des polysaccharides hydrosoluble.....	34
II.1.2.2. Extraction des polysaccharides pectiques.....	35
II.1.3. Rendement d'extraction des polysaccharides pectiques.....	36
II.1.4. Caractérisation spectroscopique des extraits des polysaccharides pectiques	37
II.1.5. Détermination du degré de méthylation DM.....	38
II.2. Préparation du complexe polyélectrolyte.....	38
II.2.1. Effet de la valeur du pH.....	40
II.2.2. Caractérisation par spectroscopies FTIR.....	40
II.3. Développement du biocapteur.....	40
II.3.1. Transducteur.....	40
II.3.1.1. Nettoyage de la surface des électrodes.....	41
II.3.2. Fonctionnalisation de la surface d'électrode d'or avec le CPE.....	42
II.3.2.1. Dépôt du film polyélectrolyte.....	42
II.3.3. Caractérisation électrochimiques de l'électrode (Au/Pc/Cs).....	42
II.3.3.1. Techniques électrochimiques de caractérisation des biocapteurs.....	43

a. La voltammétrie cyclique (CV).....	43
b. La voltammétrie à ondes carrées (SWV).....	44
c. La voltammétrie différentielle (DPV).....	45

Références bibliographiques

Chapitre III : Résultats et discussions

III. Introduction.....	47
III.1. Etude du séchage.....	47
III.1.1. Détermination de la teneur en eau du matériel végétal.....	48
III.2. Rendement des extraits.....	48
III.3. Le degré de méthylation.....	49
III.4. Caractérisation par spectroscopie FTIR.....	50
III.5. Caractérisation électrochimique.....	54
III.5.1. Etude de l'activité électrochimique des électrodes.....	54
III.5.2. Optimisation des paramètres expérimentaux du complexe polyélectrolyte Pc-Cs.....	55
III.5.2.1. Effet de l'optimisation du pH de CPE sur la réponse du capteur.....	55
III.5.2.2. Optimisation de la concentration Pc-Cs sur la réponse du capteur...	56
III.5.3. Détection électrochimique de la dopamine.....	57
III.5.3.1. Evaluation de performances analytiques du capteur.....	59
III.5.3.2. Mécanisme d'oxydation de la dopamine.....	60

Références bibliographiques

Conclusion générale.....	62
--------------------------	----

LISTE DES FIGURES

Figure I.1. a) Schéma d'un neurone, b) Schéma d'une synapse entre deux neurone.....	04
Figure.I.2. Représentation schématique du principe de fonctionnement d'un biocapteur.....	06
Figure.I.3. Représentation schématique des différents biorécepteurs.....	07
Figure I.4. Représentation schématique des différents transducteurs.....	08
FigureI.5. Représentation schématique d'un biocapteur impédimétrique.....	12
FigureI.6. Représentation schématique d'un biocapteur conductimétrique.....	12
FigureI.7. Représentation schématique d'un biocapteur potentiométrique.....	13
FigureI.8. Représentation schématique d'un biocapteur ampérométrique/voltammétrique.....	14
Figure I.9. Extraction du chitosane à partir de la chitine.....	16
Figure I.10. Structure de la paroi cellulaire.....	18
Figure I.11. La structure de la pectine.....	18
Figure I.12. Structure du biopolymère de pectine.....	19
Figure I.13. Structure de la pectine hautement méthylée et la pectine faiblement méthylée.....	20
Figure I.14. Représentation schématique des interactions polyanion-polycation entraînant la formation d'un complexe de polyélectrolyte.....	25
Figure II.1. Etapes de récupération de la poudre à partir de l'écorce d'orange.....	32
Figure II.2. Schéma d'extraction des polysaccharides hydrosolubles.....	34
Figure II.3. Schéma d'extraction des pectines faiblement méthylées.....	35

Figure II.4. Schéma d'extraction des pectines hautement méthylées.....	36
Figure II.5. Spectromètre FTIR en mode ATR.....	37
Figure II.6. Préparation du CPE (pectine-chitosane).....	39
Figure II.7. Schéma du CPE Pectine-Chitosane.....	40
Figure II.8. Electrodes en or.....	41
Figure II.9. Schéma représentatif des étapes de nettoyage des électrodes.....	41
Figure II.10. Schéma représentatif de fonctionnalisation de l'électrode en or.....	42
Figure II.11. Représentation schématique de montage de mesures électrochimiques	43
Figure II.12. Voltammétrie cyclique (a) : forme du potentiel appliqué ($E= f(t)$), (b) : réponse en courant $I= f(E)$).....	44
Figure II.13. Voltammogramme cycliques: (a) cas d'un système réversible, (b) cas d'un système quasi-réversible, (c) cas d'un système irréversible.....	44
Figure II.14. Voltammétrie à ondes carrées (a) : forme du potentiel appliqué ($E= f(t)$), (b): réponse en courant $I= f(E)$).....	45
Figure II.15. Voltammétrie différentielle (a): forme du potentiel appliqué ($E= f(t)$), (b): réponse en courant.....	46
Figure III.1. Cinétique de séchage des écorces d'orange.....	47
Figure III.2. Graphique représentatif du taux d'humidité et la matière sèche (MS) d'écorce d'orange.....	48
Figure III.3. Comparaison entre les rendements d'extraction du PFM et du PHM...	49
Figure III.4. Spectre FTIR du chitosane.....	51
Figure III.5. Spectres FTIR des PHM (a) et PFM (b).....	52
Figure III.6. Spectres FTIR du (a) chitosane, (b) PFM et (c) CPE Pc/Cs.....	53
Figure III.7. Représentation d'interaction entre Pc et Cs.....	54

Figure III.8. voltammogramme cyclique pour l'électrode nue(courbe noire), et d'électrode fonctionnalisée(courbe rouge), en présence du $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ dans une solution PBS (0,1 M, pH 7), avec un potentiel qui varie de -0,7 V à 1,2 V, et une vitesse de balayage de 80 mV / s.....	55
Figure III.9. Le courant I_p obtenus pour différents valeurs du pH.....	56
Figure III.10. Le courant I_p obtenus pour différents ratio Pc : Cs.....	56
Figure III.11. Voltammogrammes SWV pour l'électrode Au/Pc/Cs en présence de concentrations croissantes de DA (de $2,34 \cdot 10^{-9}$ M à 10^{-6} M) dans un milieu PBS (0,1 M, pH 7,0).....	57
Figure III.12. Voltammogrammes DPV pour l'électrode Au/Pc/Cs en présence de concentrations croissantes de DA (de 10^{-9} M à 10^{-6} M) dans un milieu PBS (0,1 M, pH 7,0).....	58
Figure III.13. Courbe de calibration pour (a) SWV, (b) DPV.....	59
Figure III.14. Illustration schématique de mécanisme d'oxydation de la DA par la membrane Pc-Cs.....	60

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I.1. Les propriétés physico-chimiques de la dopamine.....	05
Tableau I.2. Les différentes méthodes d'immobilisation.....	09
Tableau I.3. Quelques exemples des polysaccharides les plus répandu.....	15
Tableau I.4. Variation de la teneur en pectine selon la source végétale.....	21
Tableau I.5. Composition chimique globale des écorces de différentes variétés d'agrumes.....	22
Tableau I.6. Comparaison des performances analytiques des biocapteurs électrochimiques de DA à base des nanomatériaux métalliques et des nanomatériaux d'oxydes métalliques.....	27
Tableau I.7. Comparaison des performances analytiques des biocapteurs électrochimiques de DA à base des matériaux en carbone.....	28
Tableau I.8. Comparaison des performances analytiques des biocapteurs électrochimiques de DA à base des aptamères.....	29
Tableau I.9. Comparaison des performances analytiques des biocapteurs électrochimiques de DA à base des polymères.....	30
Tableau I.10. Comparaison des performances analytiques des biocapteurs électrochimiques de DA à base des polymères à empreinte moléculaire.....	30
Tableau II.1. La variation de la composition du CPE.....	39
Tableau III.1. Rendement des différentes fractions extraites.....	48
Tableau III.2. Résultats de DM.....	50

Liste Des Abréviations

- ADN:** acide désoxyribonucléique.
- AgCl:** chlorure d'argent.
- ATR:** réflexion totale atténuée.
- Au:** or.
- Ca:** calcium.
- CDTA:** cyclohexanediamine tétraacétate.
- Cl:** chlore.
- Cs:** chitosane.
- CPE:** complexe polyélectrolyte.
- Cu:** cuivre.
- CV:** voltammétrie cyclique.
- DA:** dopamine.
- DM:** degré de méthylation.
- DPV:** voltammétrie différentielle.
- E:** potentiel.
- E°:** le potentiel standard du couple Ox/Red.
- EDTA :** Oxalate d'ammonium éthylène diamine Tétra-acétique.
- Ep:** intensité du pic.
- Fe:** fer.
- Fe₃O₄:** tétroxyde de trifer.
- FM:** faiblement méthylée.
- FTIR:** spectroscopie Infra-Rouge à transformée de Fourier.
- HCl:** acide chloridrique.
- HM:** hautement méthylée.
- H₂O₂:** peroxyde d'hydrogène.
- H₂SO₄:** acide sulfurique.
- I:** intensité du courant.
- I_c:** courant capacitif.
- I_f:** courant faradique.
- Ip:** intensité du pic.
- K:** potassium.
- LOD:** limite de détection.

Log: logarithme.

M: molarité.

MIP: polymère à empreinte moléculaire.

Mg: magnésium.

MoS₂: disulfure de molybdène.

MW: poids moléculaire.

Na: sodium.

Ni: nickel.

NiO: oxyde de nickel.

NPs: nanoparticules.

OX : oxydant.

PBS: solution tampon phosphate saline.

Pc: pectine.

Pd: palladium.

PE: polyélectrolyte.

PFM: pectine faiblement méthylée.

pH : potentiel Hydrogène.

PHM: pectine hautement méthylée.

Pt: platine.

Red: réducteur.

rpm: rotation par minute.

S: la pente de la courbe d'étalonnage.

SiO₂: dioxyde de silicium.

SWV: voltammétrie à ondes carrée.

UIPAC: Union Internationale de Chimie Pure et Appliquée.

V: volt.

Zn: zinc.

ZnFe₂O₄: ferrite de zinc.

ZnO: oxyde de zinc.

μA: microampère.

σ: l'écart-type de la réponse.

Introduction générale

Les neurotransmetteurs sont des molécules biochimiques servant à transmettre un signal d'un neurone à l'autre ou des neurones aux muscles. Ils sont essentiels au fonctionnement du système neuronal. La dopamine est l'un des neurotransmetteurs les plus importants, elle est impliquée dans de nombreuses fonctions du système nerveux central et périphérique. Par ailleurs, un déséquilibre en teneur de la dopamine dans le corps humain favorise l'apparition et la progression de troubles neurologiques nécessitant des traitements, et des soins, le plus souvent, à long terme.

Dans le but d'augmenter l'efficacité des traitements, un diagnostic rapide et précis à un stade plus précoce est important.

De ce fait, divers technologies ont été développées pour la détection de la dopamine dans les fluides biologiques tels que le sang, l'urine, et le liquide cébrospinal. Parmi les techniques conçues pour la détection de la dopamine ces dernières années, on peut citer : la chromatographie liquide à haute performance (HPLC) [1,2], l'électrophorèse capillaire [3,4], la spectroscopie de masse [5], la spectrophotométrie ultraviolet-visible [6], la spectrométrie de fluorescence [7], les techniques de micro-dialyse par chimioluminescence (CL) [8], la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) [9], l'injection de flux [10], les méthodes enzymatiques [11] et d'autres méthodes.

Chaque méthode a ses propres caractéristiques et inconvénients. Bien que leur sélectivité et leur sensibilité soient bonnes et leur limite de détection soit faible, la plupart d'entre elles présentent des inconvénients tels que le coût élevé, le temps d'analyse exorbitant, la nécessité des équipements de laboratoire spécifiques et des techniciens spécialisés, ce qui rend difficile leur mise en œuvre aux points de soins.

Toutes ces contraintes, ont orienté la communauté des chercheurs vers le développement d'autres méthodes alternatives pour surmonter les limitations rencontrées. Les capteurs et les biocapteurs y font partie et présentent une approche prometteuse car ils sont moins cher, plus rapide, miniaturisés, de faible consommation d'énergie, et surtout ne demandent pas de personnel qualifié.

Au cours de ces dernières décennies, plusieurs chercheurs se sont focalisés sur le développement des capteurs électrochimiques avec une sensibilité élevée et de bonne sélectivité, dédiés à la détection de la dopamine dans les échantillons biologiques.

Notre objectif, est d'élaborer un capteur électrochimique destiné à la détection de la dopamine, à base d'un complexe polyélectrolyte à deux polysaccharides, en l'occurrence le chitosane et la pectine. Ces derniers sont connus pour leur biocompatibilité et leur biodégradabilité.

La pectine est extraite à partir des déchets alimentaires, elle possède des groupes fonctionnels hydroxyles et carboxyles, ce qui nous a permis et encouragé à l'exploiter comme agent oxydant. Quant à le chitosane, elle sera utilisée comme un agent réticulant de la pectine sur une électrode d'or.

Ce manuscrit est subdivisé en trois chapitres :

- ✓ Le premier chapitre se focalise sur les caractéristiques et les différents types de capteurs. En sus, une représentation générale des polysaccharides et l'importance des complexes polyélectrolytes, y est détaillée.
- ✓ Le second chapitre est consacré à l'extraction des polysaccharides pectiques, la formation du complexe polyélectrolyte, les caractérisations physicochimiques, l'élaboration du capteur et la détection de la dopamine.
- ✓ Dans le dernier chapitre, les résultats obtenus sont présentés, discutés et interprétés.

Finalement, une conclusion générale est rédigée résumant l'ensemble des résultats obtenus et les perspectives envisagées pour la suite de ce travail.

Références bibliographiques

- [1] Yoshitake, T., Yoshitake, S., Fujino, K., Nohta, H., Yamaguchi, M., & Kehr, J. (2004). High-sensitive liquid chromatographic method for determination of neuronal release of serotonin, noradrenaline and dopamine monitored by microdialysis in the rat prefrontal cortex. *Journal of neuroscience methods*, 140(1-2), 163-168.
- [2] Carrera, V., Sabater, E., Vilanova, E., & Sogorb, M. A. (2007). A simple and rapid HPLC–MS method for the simultaneous determination of epinephrine, norepinephrine, dopamine and 5-hydroxytryptamine: Application to the secretion of bovine chromaffin cell cultures. *Journal of Chromatography B*, 847(2), 88-94.
- [3] Woolley, A. T., Lao, K., Glazer, A. N., & Mathies, R. A. (1998). Capillary electrophoresis chips with integrated electrochemical detection. *Analytical Chemistry*, 70(4), 684-688.
- [4] Wang, L., Liu, Y., Xie, H., & Fu, Z. (2012). Trivalent copper chelate-luminol chemiluminescence system for highly sensitive CE detection of dopamine in biological sample after clean-up using SPE. *Electrophoresis*, 33(11), 1589-1594.
- [5] Hows, M. E., Lacroix, L., Heidbreder, C., Organ, A. J., & Shah, A. J. (2004). High-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometric assay for the simultaneous measurement of dopamine, norepinephrine, 5-hydroxytryptamine and cocaine in biological samples. *Journal of neuroscience methods*, 138(1-2), 123-132.
- [6] Barreto, W. J., Barreto, S. R., Ando, R. A., Santos, P. S., DiMauro, E., & Jorge, T. (2008). Raman, IR, UV–vis and EPR characterization of two copper dioxolene complexes derived from L-DOPA and dopamine. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 71(4), 1419-1424.
- [7] Khattar, R., & Mathur, P. (2013). 1-(Pyridin-2-ylmethyl)-2-(3-(1-(pyridin-2-ylmethyl) benzimidazol-2-yl) propyl) benzimidazole and its copper (II) complex as a new fluorescent sensor for dopamine (4-(2-aminoethyl) benzene-1, 2-diol). *Inorganic Chemistry Communications*, 31, 37-43.
- [8] Jamal, M., Ameno, K., Miki, T., Tanaka, N., Ito, A., Ono, J., ... & Kinoshita, H. (2016). Ethanol and acetaldehyde differentially alter extracellular dopamine and serotonin in Aldh2-

knockout mouse dorsal striatum: A reverse microdialysis study. *Neurotoxicology*, 52, 204-209.

[9] Wang, X., Jin, B., & Lin, X. (2002). In-situ FTIR spectroelectrochemical study of dopamine at a glassy carbon electrode in a neutral solution. *Analytical sciences*, 18(8), 931-933.

[10] Wabaidur, S. M., Alothman, Z. A., Alam, S. M., & Lee, S. H. (2012). Flow injection–chemiluminescence determination of dopamine using potassium permanganate and formaldehyde system. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 96, 221-225.

[11] Fritzen-Garcia, M. B., Monteiro, F. F., Cristofolini, T., Acuña, J. J. S., Zanetti-Ramos, B. G., Oliveira, I. R. W., ... & Creczynski-Pasa, T. B. (2013). Characterization of horseradish peroxidase immobilized on PEGylated polyurethane nanoparticles and its application for dopamine detection. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 182, 264-272.

Chapitre I

Etude bibliographique

I. Introduction

Cette étude bibliographique a pour objectif de présenter le contexte général dans lequel s'inscrit le développement d'un capteur électrochimique pour la détection de la dopamine.

Dans un premier temps, un aperçu général sur les neurotransmetteurs notamment sur la dopamine est donné, suivi par une description des notions de bases sur les (bio) capteur, leurs caractéristiques et leurs types, en se focalisant sur les capteurs électrochimiques.

La deuxième partie concerne la description des polysaccharides, à savoir le chitosane et la pectine, et leur utilisation pour former un complexe polyélectrolyte. Enfin, un état de l'art sur les capteurs électrochimiques développés pour la détection de la dopamine est exposé.

I.1. Le système neuronal

Le système neuronal contrôle le corps humain et peut être considéré comme le système informatique le plus complexe et le plus organisé. Il est capable d'effectuer un grand nombre de calculs très rapides et de commander les muscles du corps. Pour que le système neuronal fonctionne correctement, les neurones doivent communiquer entre eux [1].

Un neurone est constitué d'un corps cellulaire et de deux types de prolongement : les axones et les dendrites. (Figure I.1(a)). Le signal neuronal est transmis par l'axone d'un neurone d'une cellule à d'autres cellules. À la fin de l'axone, il existe de nombreuses branches qui se terminent par des terminaisons pré-synaptiques. Ces terminaisons sont très proches des autres dendrites post-synaptiques des neurones d'autres cellules, qui forment une synapse permettant la communication entre les différentes cellules ou les organes cibles.

Après la stimulation d'un neurone, la cellule reçoit une réponse électrique qui peut être locale ou se propage à travers les différents neurones et leurs axones. Les impulsions électriques propagées sont appelées potentiel d'action, ce qui constitue la base de la communication neuronale via les synapses qui séparent deux cellules sans avoir un contact physique entre eux [1-3].

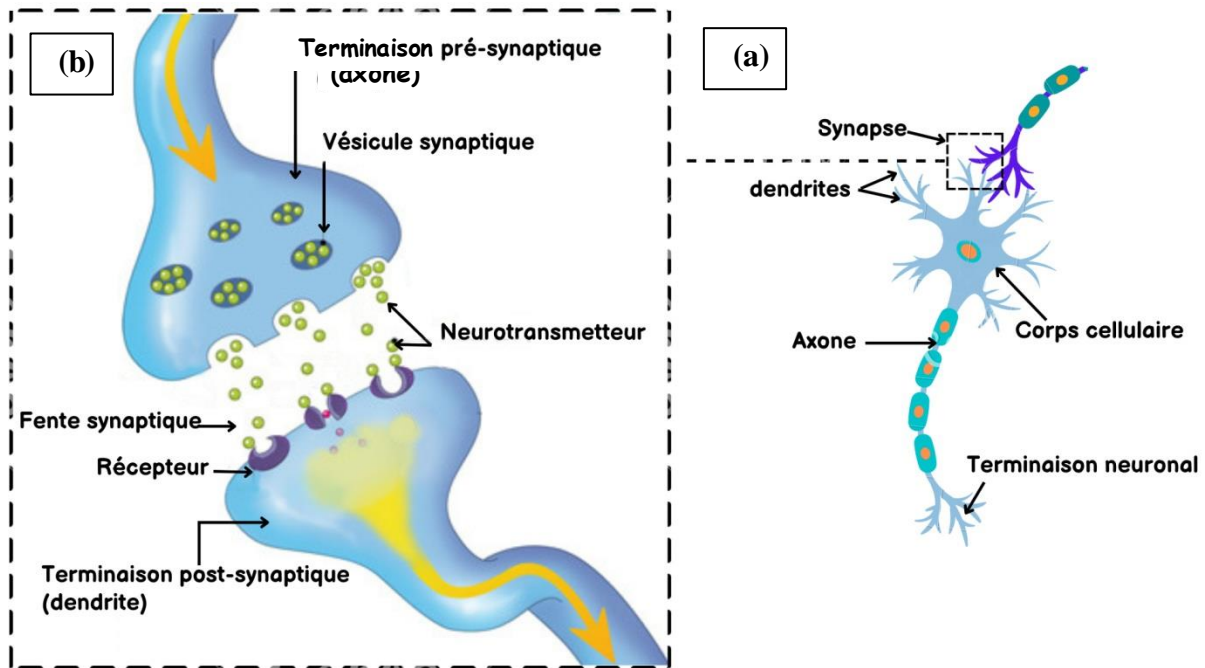


Figure I.1. (a) Schéma d'un neurone, (b) schéma d'une synapse entre deux neurones [2].

La communication entre ces neurones est donc possible via des molécules messagères trouvées au niveau de la terminaison de l'axone dans des vésicules synaptique, il s'agit des neurotransmetteurs, ils assurent la transmission d'information d'une cellule à l'autre au niveau de la synapse [1-3].

I.1.1. La dopamine (DA)

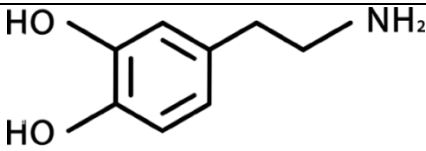
La dopamine est un neurotransmetteur de type catécholamine le plus abondant, elle est produite dans certaines région du cerveau, principalement dans la substance noire et dans l'aire tegmentale ventrale. Ce neurotransmetteur joue un rôle essentiel dans le système nerveux, il agit comme un messenger chimique permet la communication entre les cellules nerveuses du cerveau, et entre le cerveau et le reste du corps [4,5].

La dopamine agit aussi en tant que neurohormone produite par l'hypothalamus dans le cerveau, et comme une hormone lorsqu'elle est produite dans la glande surrénale [5,6].

I.1.1.1. Propriétés physico-chimiques

La dopamine est une molécule biochimique de faible poids moléculaire. A pH 7,0, elle est chargée positivement et peut être facilement oxydée [7]. Les propriétés physico-chimiques de la dopamine sont résumées dans le tableau suivant :

Tableau I.1. Les propriétés physico-chimiques de la dopamine [8].

Structure	
Formule moléculaire	$C_8H_{11}NO_2$
Nom UIPAC	4-(2-aminoéthyl) benzène-1,2-diol
pKa	8,9
Poids moléculaire	153,18 g/mol
Densité	1,26 g/cm ³
Solubilité	60 g/100ml
Point d'ébullition	128 °C

I.1.1.2. Rôle de la dopamine

Dans le système nerveux central, la dopamine en tant que neurotransmetteur est impliquée dans le contrôle de nombreuses fonctions cérébrales telles que l'humeur, la motricité, la conscience, le flux d'informations, la capacité d'attention, l'apprentissage, le cycle veille-sommeil, la formation de la mémoire, la motivation et le mouvement. En d'autres termes, la dopamine contrôle l'intégration cerveau-corps [9,10]. Lorsqu'elle est sécrétée par l'hypothalamus, la dopamine inhibe la libération de la prolactine [6].

Son rôle ne se limite pas à cela, dans le système nerveux périphérique, la dopamine contrôle le sodium (Na^+) dans les reins, le flux sanguin rénal, le système cardiovasculaire ainsi que le système gastro-intestinal [1,11].

Dans les conditions physiologiques des fluides nerveux et corporels, la concentration normale de la dopamine est comprise entre 10 et 1000 nM. Des anomalies extrêmes des niveaux de la DA dans l'organisme peuvent entraîner de nombreux troubles physiologiques [7].

Un indicateur de niveaux élevés de la DA est la cardiotoxicité, entraînant une accélération du rythme cardiaque, une hypertension, ainsi qu'une insuffisance cardiaque [12]. A l'inverse, une faible concentration de la DA peut entraîner certaines maladies neurologiques telles que la maladie de Parkinson [13], la schizophrénie [14,15], la maladie d'Alzheimer [16], et la dépression [17].

Pour un diagnostic précoce, rapide et fiable des troubles de la dopamine, il est impératif de mettre au point des tests spécifiques, très sensibles et peu onéreux. Ce qui permettra un suivi plus facile des maladies. Les biocapteurs représentent une approche émergente et moderne répondant à ces exigences.

I.2. Les capteurs (bio) chimiques

I.2.1. Définition d'un capteur (bio) chimique

Un capteur (bio) chimique est un dispositif analytique, mettant en jeu des interactions chimiques ou biologiques pour détecter spécifiquement un composé à analyser [18]. Il est constitué d'une couche biosélective couplée à un transducteur qui délivre, à partir de l'événement de reconnaissance entre le biorécepteur et la substance cible, un signal électrique mesurable issu d'une réaction électrochimique. Ce signal est proportionnel à la concentration de la molécule cible avec laquelle réagit le biorécepteur [19].

Un conditionneur doit être lié au transducteur pour assurer des rôles d'amplification, acquisition et traitement du signal, pour le transformer en une information appropriée pour l'utilisation [20].

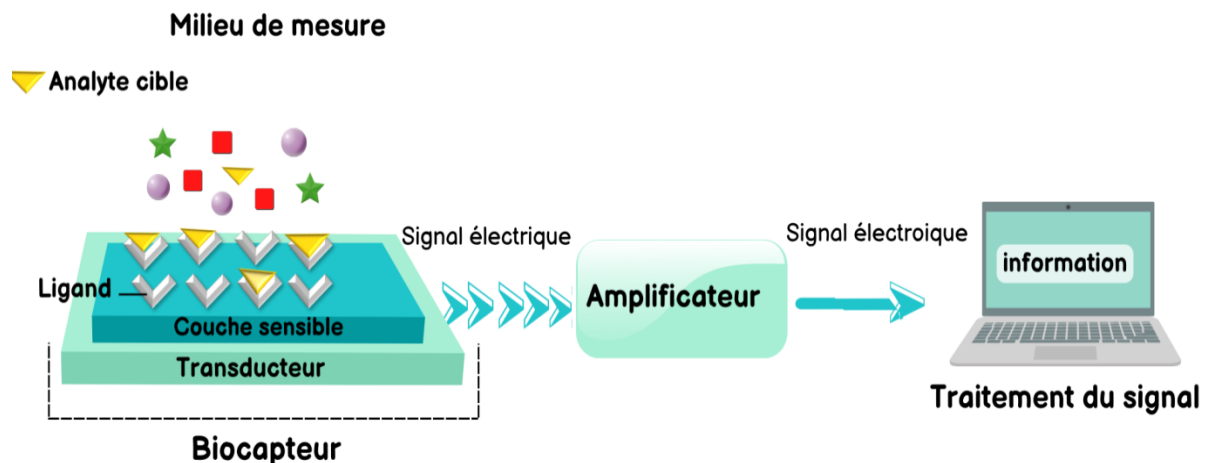


Figure.I.2. Représentation schématique du principe de fonctionnement d'un biocapteur.

I.2.2. Structure d'un biocapteur

Le (bio) capteur se compose d'une partie sensible à la réaction biochimique, et d'un système de transduction qui assure le transfert de charge.

I.2.2.1. La partie de reconnaissance

La partie de reconnaissance est l'élément du biocapteur qui assure la reconnaissance moléculaire de l'analyte d'intérêt. Il doit présenter, par rapport à cette espèce cible, une bonne affinité, sensibilité et une bonne sélectivité ou spécificité, ainsi qu'une réponse rapide [20].

Plusieurs entités biologiques sont utilisées pour l'élaboration des capteurs biologiques. On trouve les enzymes, les cellules, les anticorps, les chémorécepteurs, l'ADN et les polymères à empreinte moléculaire [21]. Ces biorécepteurs se classent selon le type d'activité réalisée en: biorécepteur d'affinité, biorécepteur catalytique, biorécepteur d'hybridation et récepteur biomimétique [22]. Ces catégories sont présentées dans la figure(I.3).

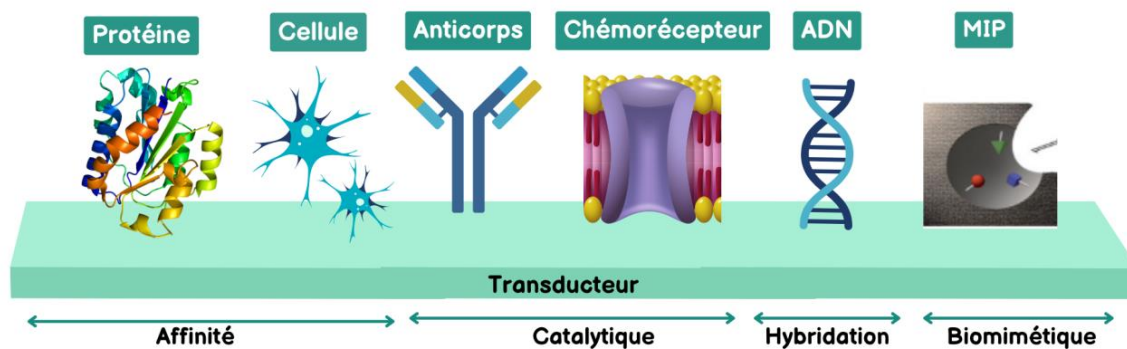


Figure.I.3. Représentation schématique des différents biorécepteurs.

La reconnaissance moléculaire catalytique concerne particulièrement les enzymes, les tissus cellulaires et les organes, où la détection est basée sur le fait que le contact entre le biorécepteur et l'analyte cible produit une troisième entité. A la différence de la biocatalyse, les biorécepteurs d'affinité n'impliquent pas de consommation de substrat ou de formation de produits de réaction [22].

I.2.2.2. Le transducteur

Le transducteur est le composant de conversion de capteur qui détecte les modifications physico-chimiques engendrées par le biorécepteur qui est en contact avec l'analyte, et il transforme ces modifications en un signal électrique mesurable qui peut être amplifié et traité par la suite [23].

Les transducteurs peuvent être classés selon la nature du signal exploité, il existe les transducteurs: mécaniques, thermiques, optiques, magnétiques, électrochimiques, électronique et acoustiques [23] (figure I.4).

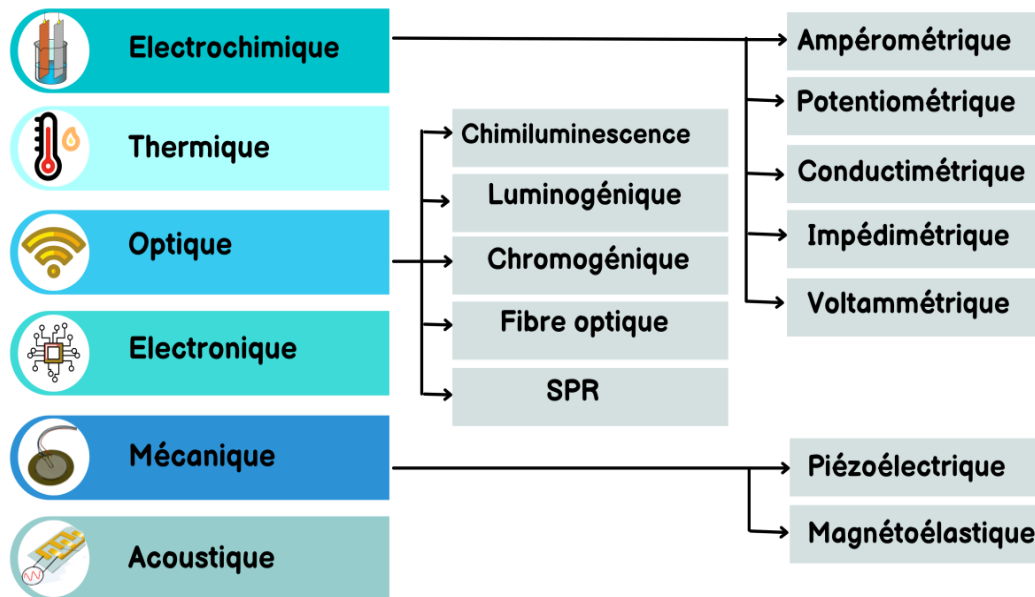


Figure I.4. Représentation schématique des différents transducteurs.

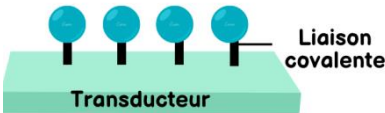
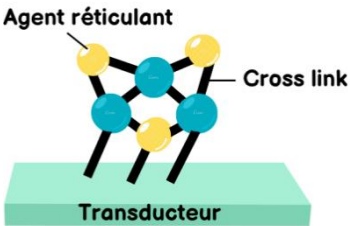
I.2.3. Modes d'immobilisation

L'immobilisation des biorécepteurs est une étape particulièrement importante dans la conception de la partie biorecognition du biocapteur. C'est elle qui va permettre d'exploiter pleinement les potentialités du biorécepteur et du transducteur choisis.

Cette immobilisation a pour but de préserver les propriétés de reconnaissance des biomolécules vis-à-vis de l'analyte d'intérêt, ainsi que pour assurer l'accessibilité, une meilleure stabilité et une réactivité maximale des éléments biologiques. Les diverses stratégies envisageables d'immobilisation de biomolécules actives à la surface du transducteur peuvent être subdivisées en processus physiques et chimiques [22], comme le montre le tableau (I.2).

Tableau I.2. Les différentes méthodes d'immobilisation [19,21].

	Principe	Avantages et inconvénients	Schéma
	Méthodes physiques		
Adsorption	Elle est basée sur la fixation de l'élément sensible à la surface de transducteur par des interactions électrostatiques faibles de type de Van der Waals, hydrophobe, liaison hydrogène...	<p>Avantages: simple, biomolécule non modifiée, matrice réutilisable.</p> <p>Inconvénients: peu stable, sensible au pH, force ionique et température (phénomène de désorption).</p>	<p>Elément sensible</p> <p>Liaison faible</p> <p>Transducteur</p>
Encapsulation	Consiste à confiner la biomolécule dans un espace délimité par une membrane semi-perméable qui permet sa diffusion et lui isoler partiellement de milieu extérieur afin de la protéger.	<p>Avantages: le biorécepteur est en solution, son activité reste maximale.</p> <p>Inconvénients: biorécepteur non directement en contact avec le transducteur, technique complexe.</p>	<p>Membrane semi-perméable</p> <p>Transducteur</p>
Inclusion	Il s'agit de piéger les biomolécules dans un gel insoluble ou dans une matrice polymérique poreuse qui sert à les maintenir dans le réseau tout en permettant la diffusion des substrats et des produits.	<p>Avantages: application à des cellules entières ou des organelles, l'environnement peut préserver une bonne activité enzymatique.</p> <p>Inconvénients: membrane épaisse: effet de la diffusion des espèces.</p>	<p>Matrice poreuse</p> <p>Transducteur</p>

Méthodes chimiques			
Couplage covalent	<p>Repose sur la formation des liaisons fortes entre la biomolécule et la surface de transducteur préactivé par des groupements (COOH, NH₂, OH ou SH).</p>	<p>Avantages: grande stabilité, peut conserver l'accessibilité des sites induisant des temps de réponse très courts.</p> <p>Inconvénients: nécessite une surface de transducteur.</p>	
Réticulation	<p>Cette méthode utilise des agents réticulant (tels que le glutaraldéhyde, le chitosane et le nafion) pour former des pontages intermoléculaires entre les groupements fonctionnels des biomolécules et l'agent réticulant bifonctionnel.</p>	<p>Avantages: facile, peut être utilisé pour augmenter la stabilité des édifices obtenus par les méthodes.</p> <p>Inconvénients: perte d'activité due à la réaction chimique, problème de diffusion, difficulté de contrôler le degré de réticulation.</p>	

I.2.4. Caractéristiques d'un (bio) capteur

Pour développer un système biocapteur hautement efficace et performant, certain nombre de critères sont nécessaires:

La sensibilité: elle représente la capacité du biocapteur à détecter la variation la plus infime de la grandeur à mesurer, elle est définie par le rapport entre le signal enregistré et la concentration mesurée, c'est la pente de la partie linéaire de la courbe d'étalonnage.

Le temps de réponse: c'est le temps pris pour obtenir 95 % des résultats.

Le domaine de linéarité: la linéarité contribue à l'exactitude des résultats mesurés. Plus la linéarité est élevée (ligne droite), plus la détection de la concentration de l'analyte est élevée.

La sélectivité: c'est l'aptitude du biocapteur à détecter uniquement l'analyte d'intérêt. Cela est d'autant plus vrai lorsque l'analyte se trouve dans un milieu complexe (plasma sanguin, eau...) contenant plusieurs molécules différentes.

La reproductibilité: c'est la capacité du biocapteur à produire des résultats identiques à chaque fois que le même échantillon est mesuré.

La limite de détection: c'est la plus petite concentration de substrat pouvant être détectée par le biocapteur.

La stabilité: c'est la capacité du biocapteur à offrir la même réponse au cours de son utilisation sur une longue durée.

La précision: c'est l'écart entre la valeur du paramètre mesuré et l'information délivrée.

La réversibilité: elle définit la capacité du matériau à revenir à son état initial lorsqu'on supprime l'excitation.

I.2.5. Les capteurs électrochimiques

Les capteurs électrochimiques sont les plus étudiés et utilisés et dont les principes de fonctionnement reposent sur les propriétés électrochimiques de l'analyte et des transducteurs. Les capteurs électrochimiques présentent une sensibilité, une sélectivité et une capacité de détection [24].

Dans ces capteurs, les réactions électrochimiques se produisent sur la surface du transducteur entre le biorécepteur et l'analyte, produisant des signaux électrochimiques détectables en termes de tension, courant, impédance et capacité. Les capteurs électrochimiques peuvent être divisés selon le principe de transduction en: impédimétriques, conductimétriques, potentiométriques, ampérométriques et voltammétriques [24].

I.2.5.1. Les biocapteurs impédimétriques

Les biocapteurs impédimétriques mesurent l'impédance électrique produite à l'interface électrode/électrolyte, lorsqu'un petit signal d'excitation sinusoïdal est appliqué. Elle implique l'application d'une tension alternative de faible amplitude entre l'électrode de travail et l'électrode de référence, le courant généré est mesuré en fonction de la fréquence à l'aide d'un analyseur d'impédance [25].

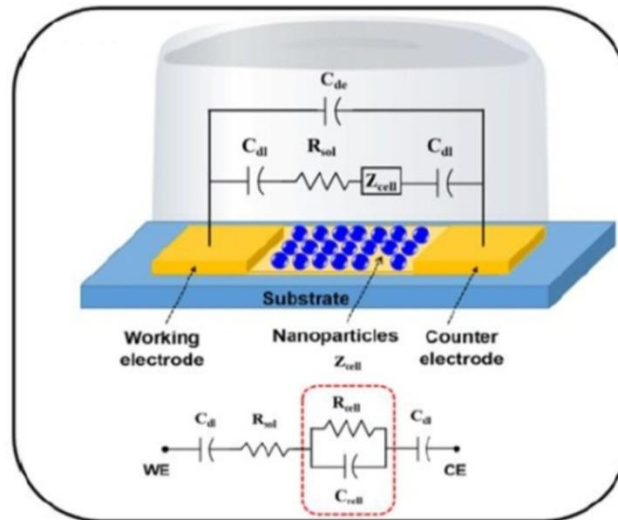


Figure I.5. Représentation schématique d'un biocapteur impédimétrique [26].

I.2.5.2. Les biocapteurs conductimétriques

Les biocapteurs conductimétriques servent à quantifier le changement en conductance entre deux électrodes dû à une réaction électrochimique (modification des propriétés conductimétriques de l'analyte).

Les biocapteurs conductimétriques et impédimétriques sont couramment utilisés pour surveiller les processus métaboliques dans les systèmes biologiques vivants [27].

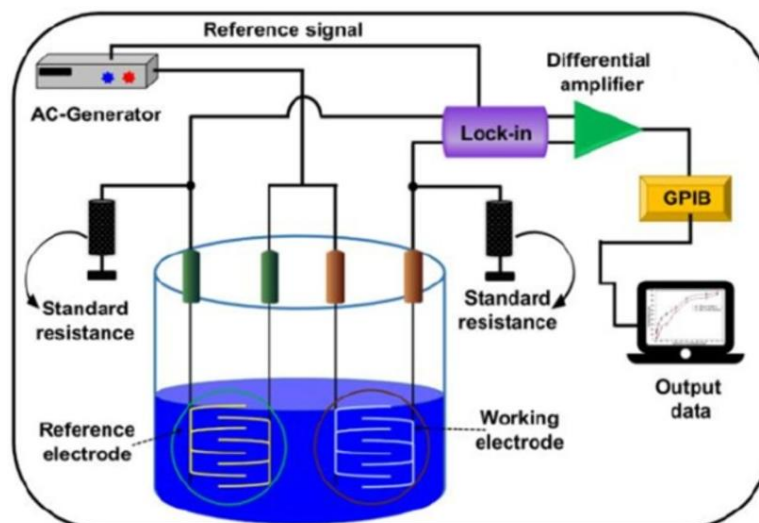


Figure I.6. Représentation schématique d'un biocapteur conductimétrique [26].

I.2.5.3. Les biocapteurs potentiométriques

Ce type repose sur la mesure de la différence du potentiel entre l'électrode de mesure et l'électrode de référence sous courant nul grâce à la loi de Nernst. Il est alors possible de connaître la concentration de l'espèce à doser, où le signal est directement proportionnel au logarithme de la concentration [28].

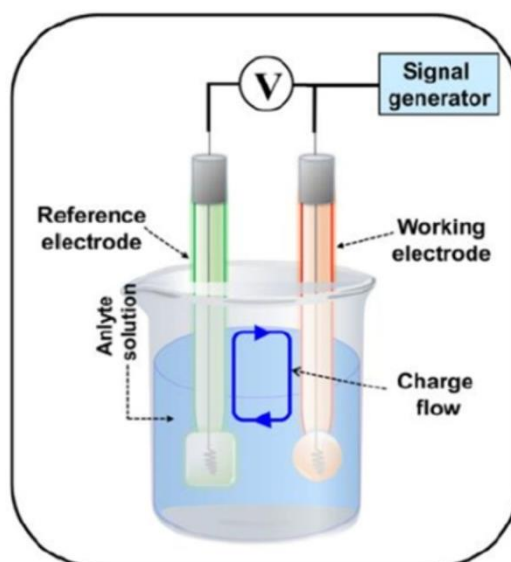


Figure I.7. Représentation schématique d'un biocapteur potentiométrique [26].

I.2.5.4. Les biocapteurs ampérométriques

Les biocapteurs ampérométriques fonctionnent à deux ou trois électrodes. Ces biocapteurs mesurent le courant produit par l'oxydation électrochimique ou bien la réduction des espèces électroactives au niveau de l'électrode de travail lorsqu'un potentiel fixe est appliqué à l'électrode de travail par rapport à une électrode de référence. Le courant produit à la surface de l'électrode de travail est proportionnel à la concentration de l'analyte présent dans la solution [29].

En comparant aux biocapteurs potentiométriques, cette méthode offre une réponse sensible, rapide, précise et linéaire. Cependant, la faible sélectivité et l'interférence d'autres substances électroactives sont les inconvénients de ces capteurs [29].

I.2.5.5. Les biocapteurs voltammétriques

Le principe des biocapteurs voltammétriques est basé sur la détection de l'analyte en mesurant le courant lors de la variation contrôlée du potentiel appliqué. Ces biocapteurs présentent une mesure très sensible et une détection simultanée de divers analytes [30].

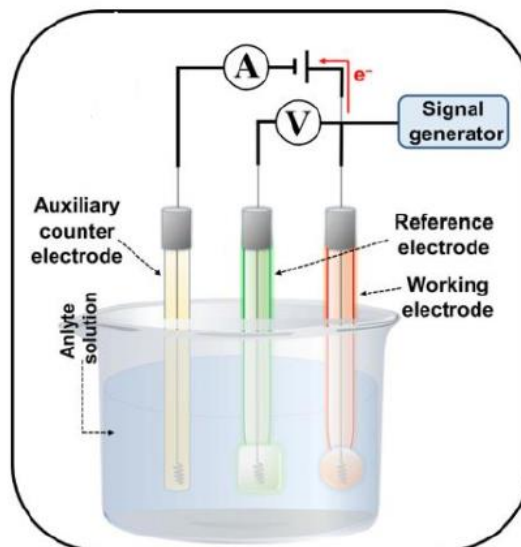


Figure I.8. Représentation schématique d'un biocapteur ampérométrique/ voltammétrique [26].

I.3. Les polysaccharides

Les polysaccharides sont des polymères biologiques de la famille des glucides, composés d'une succession de monosaccharides (oses) reliés entre eux par des liaisons osidiques (ou glycosidiques). Ce sont les macromolécules les plus abondantes dans la nature, ils se trouvent dans les plantes, les algues, et dans l'exosquelette de certain types des mollusques et crustacés. Les différentes molécules de monosaccharides les plus simples peuvent s'interconnecter à l'aide de liaisons glycosidiques en plusieurs points pour former une grande variété de structures ramifiées ou linéaires [31,32].

On distingue deux catégories de polysaccharides: les homopolysaccharides constitués du même monosaccharide, et les hétéropolysaccharides formés de différents monosaccharides [33].

Les polysaccharides peuvent aussi être classés selon leur type de charge en neutre, poly-anion et poly-cation, Quelques exemples des polysaccharides les plus répandus sont illustrés dans le tableau (I.3).

Tableau I.3: Quelques exemples des polysaccharides les plus répandus [34].

Polysaccharide	Type de charge	Groupe fonctionnel actif
Agarose	Neutre	OH
Amidon	Neutre	OH
Cellulose	Neutre	OH
Dextran	Neutre	OH
Acide hyaluronique	Polyanion	OH
Alginates	Polyanion	OH, COO ⁻
Carraghénane	Polyanion	OH, SO ₃ ⁻
Pectine	Polyanion	OH, COO ⁻
Chitosane	Polycation	OH, NH ₃ ⁺
Dextrine	Polycation	OH, NH ₃ ⁺

Les polysaccharides naturels sont parmi les matériaux prometteurs pour des applications biomédicales et biologiques telles que l'ingénierie tissulaire, la cicatrisation des plaies, les systèmes de libération contrôlée de médicaments, et les biocapteurs [35].

En regard de leur coût relativement faible, leur durabilité, leur disponibilité, leur biocompatibilité, leur modification facile (grand potentiel de variabilité structurale) et l'absence de toxicité, les polysaccharides offrent une grande capacité de transmission de l'information biologique par rapport aux autres biopolymères [36].

I.3.1. Le chitosane (Cs)

I.3.1.1. Définition du chitosane

Le chitosane est un aminopolysaccharide d'origine biologique. Il s'agit d'un copolymère linéaire composé d'unités monomériques de D-glucosamine et de N-acétyl-D-glucosamine, reliées entre elles par des liaisons glycosidiques β -(1→4) [37].

I.3.1.2. Origine et structure

Bien que naturel, le chitosane est généralement préparé par désacétylation chimique (en milieu alcalin) ou enzymatique de la chitine. Il est le deuxième biopolymère naturel le plus abondant après la cellulose [38].

Le chitosane est présent dans l'exosquelette des arthropodes (crustacés), ou dans l'endosquelette des céphalopodes (calmars...), ou encore dans la paroi des champignons. Cette matière première est déminéralisée par traitement à l'acide chlorhydrique, puis déprotéinée en présence de la soude ou de la potasse et enfin décolorée grâce à un agent oxydant [38].

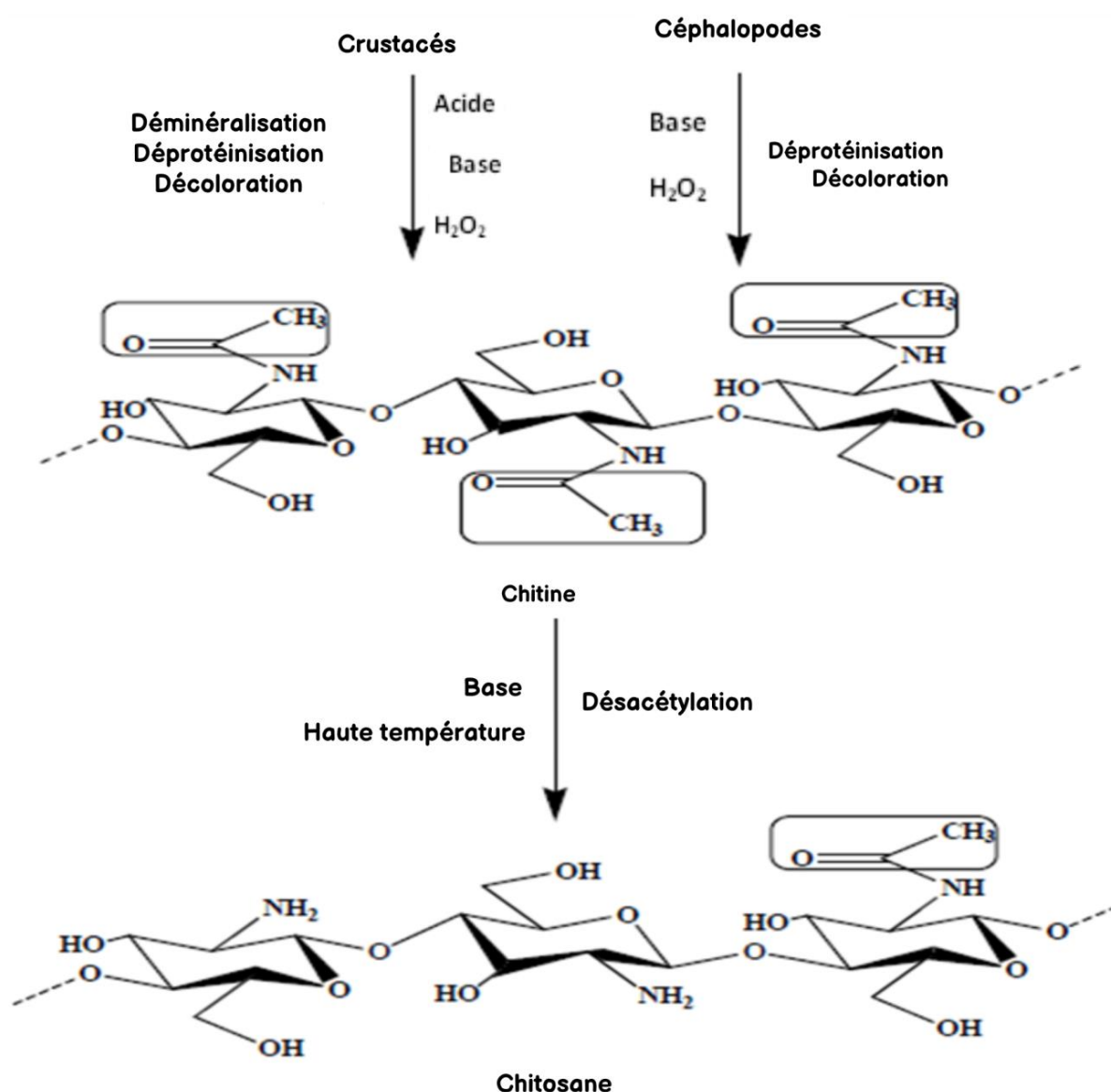


Figure I.9: Extraction du chitosane à partir de la chitine [38].

I.3.1.3. Propriétés du chitosane

a. Solubilité

Le chitosane, l'un des rares polyélectrolytes naturels cationiques, est une base faible, présente un pKa voisin de 6,3. En dessous de ce pKa, les groupements amines sont protonés et font du chitosane un polyélectrolyte cationique soluble dans l'eau acidifiée. En revanche, au-dessus du pKa, les groupements amines sont déprotonés, il est donc insoluble dans des solutions aqueuses neutres et alcalines [39].

b. Formation de films

Le chitosane est un polymère filmifiable. La formation de film peut se produire de deux manières. D'une part, des liaisons hydrogène peuvent s'établir entre les chaînes du chitosane, notamment entre les groupements hydroxyles et entre les groupements hydroxyles et l'oxygène des groupements acétamides. Cette propriété est largement utilisée dans la fabrication des films comestibles en agroalimentaire et des membranes. D'autre part, lorsque le chitosane est sous sa forme polyélectrolyte, la filmification peut s'établir grâce à des interactions ioniques entre les chaînes et leurs contre-ions [37].

I.3.2. La pectine (Pc)

Dans le monde végétal, les pectines sont des biopolymères indispensables, présentent dans tous les végétaux et localisée au niveau de la paroi cellulaire, principalement dans la lamelle moyenne, et dans et la paroi primaire en association avec des microfibrilles de cellulose, d'hémicellulose et de glycoprotéines structurales (figure I.10), la pectine joue un rôle structurel important; elle assure la cohésion, l'adhésion cellulaire et la rigidité du tissu végétal [40].

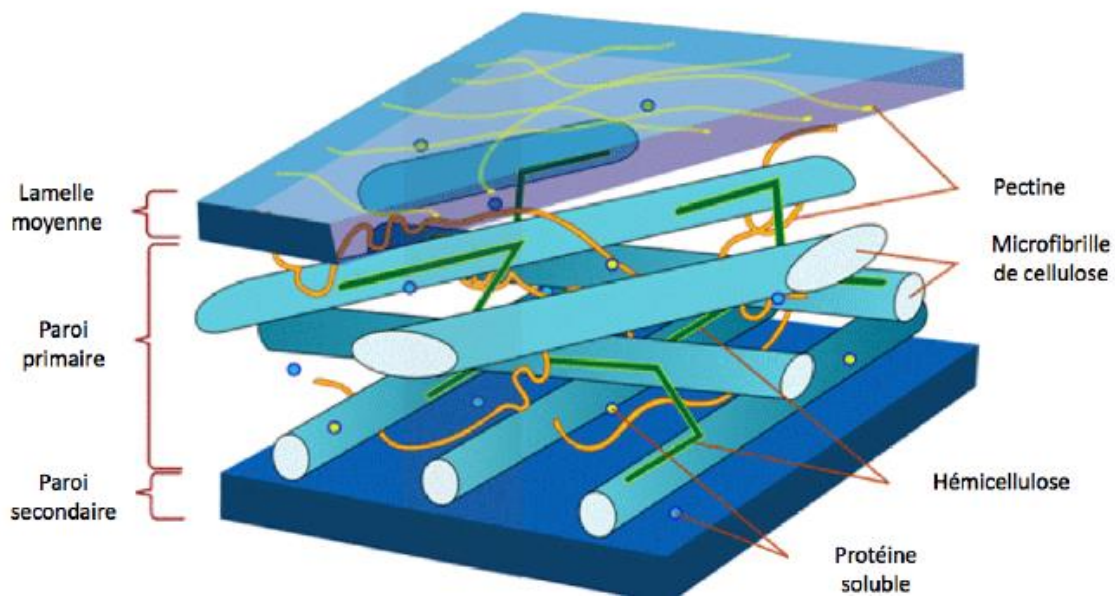


Figure I.10: Structure de la paroi cellulaire [40].

I.3.2.1. Structure chimique de pectine

La pectine est un hétéropolysaccharide composé principalement d'un enchainement de monomères d'acide galacturonique (au moins 65%), qui se polymérisent par des liaisons glycosidiques de type α 1-4 pour former des chaînes principales de pectine, dites région homogalacturonique. La liaison glycosidique ou osidique, met en jeu les fonctions hydroxyles du monomère en position C1 et C4 [41].

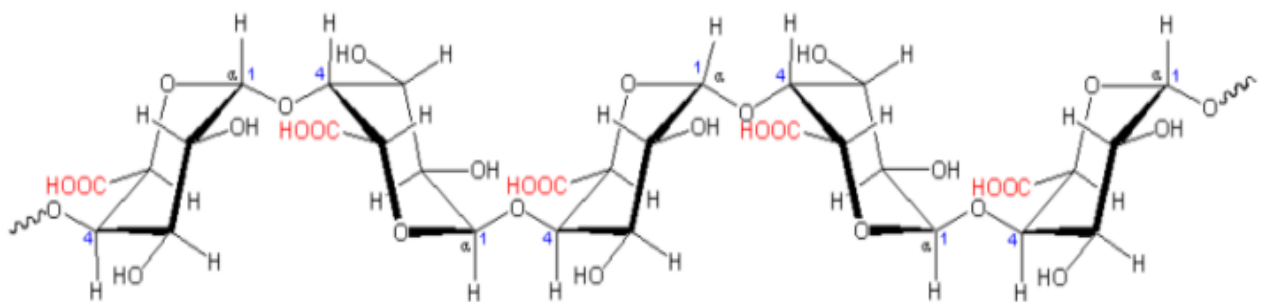


Figure I.11: La structure de la pectine [42].

Plus de 17 autres monosaccharides peuvent entrer dans la composition de la pectine dans différentes proportions en fonction de l'origine de celle-ci. Ces monomères sont principalement : le rhamnose, l'arabinose, le galactose et le xylose [43].

En fonction de la répartition de ces sucres, deux autres types de régions sont identifiés sur la pectine (Figure I.12). La première, appelée rhamnogalacturonique I, correspond à une succession de 100, ou plus, unités de disaccharide de α -1,2-L-rhamnose- α -1,4-D-acide galacturonique. La liaison osidique de ce dimère intervient sur les fonctions hydroxyles en position C1 et C2 du rhamnose, et C1 et C4 de l'acide galacturonique. Dans la plupart des cas, l'hydroxyle en C4 du rhamnose sert d'un point d'ancrage des chaînes latérales, qui sont principalement constituées de sucres neutres comme le galactose, xylose, mannose, ...etc [44].

La dernière zone est appelée région rhamnogalacturonique II. Elle se différencie de la précédente par son squelette formé de monomères d'acide galacturonique, contenant des chaînes latérales différentes [44].

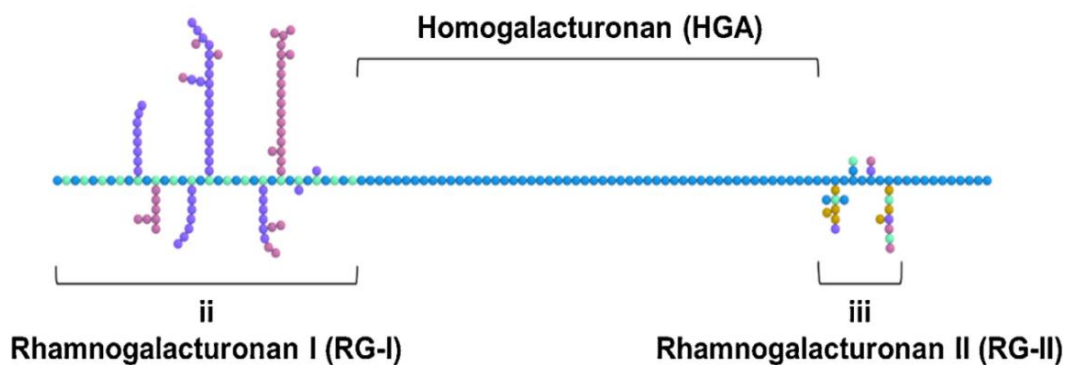


Figure I.12: Structure du biopolymère de pectine [44].

I.3.2.2. Le degré de méthylation (DM)

Sur les chaînes linéaires de pectine, les fonctions acides carboxyliques des monomères galacturoniques peuvent subir une méthylation. Ceci représente le degré de méthylation (DM) qui correspond à la proportion des fonctions acides méthylées.

Deux types de pectines sont alors identifiées, les pectines hautement méthylées (HM), correspondant à plus 50% de méthylation des fonctions acides, et les pectines faiblement méthylées (FM), correspondant à moins de 50% de méthylation des fonctions acides [43].

Le DM de la pectine dépend de son origine végétale, du type de tissu et de la maturité de celui-ci. A l'état naturel, on trouve essentiellement de la pectine HM avec un DM qui varie

entre 60 et 90%. Celui-ci a un rôle important dans la structure de la plante et dans les propriétés physiques de la pectine [41].

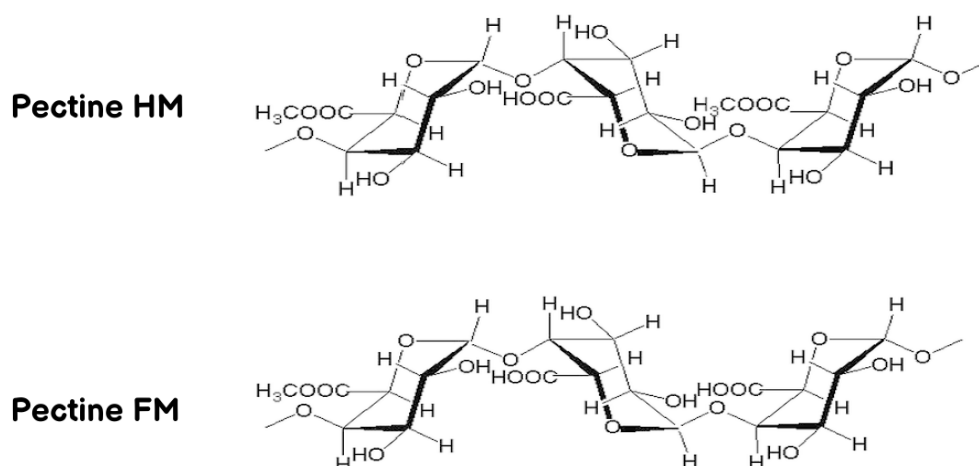


Figure I.13: Structure de la pectine hautement méthylée et la pectine faiblement méthylée [45].

I.3.2.3. Les propriétés de la pectine

Les propriétés physico-chimiques et fonctionnelles des pectines sont fortement liées à leurs structures, y compris le poids moléculaire (MW), le degré de méthylation (DM), la teneur en acide galacturonique et d'autres composants du sucre qui dépendent de la source végétale et de la méthode d'extraction [46].

- **La solubilité**

La structure de la pectine la rend insoluble dans les solvants organiques et soluble dans l'eau. La solubilité dans l'eau est généralement en fonction de DM. Elle augmente avec la diminution du DM due à la présence de groupements chargés sur le polymère, ce qui entraîne des répulsions électrostatiques entre ces groupements chargés, et diminue la formation d'agrégats et donc facilite sa solubilité [47].

L'ionisation de ces groupements se réalise lorsque la pectine est dans une solution au pH supérieur au pKa des fonctions carboxyliques de la pectine ($pK_a \approx 3,5$). Ainsi, un pH supérieur à 5,5 favorise la solubilisation de la pectine [48].

I.3.2.4. Origine de la pectine

Les pectines sont abondantes dans les épiluchures des pommes, des agrumes et des pêches. C'est dans l'écorce des agrumes (citron, orange...etc.) que les pectines se trouvent le plus. La teneur en pectine diffère selon leurs sources végétales [49]. Le tableau (I.4) présente la teneur en pectine en fonction de leur origine.

Tableau I.4: Variation de la teneur en pectine selon la source végétale [50].

Source végétale	Rendement de récupération de pectine (%)	
Agrume	Zeste d'orange	24,2
	Zeste de mandarine	22
	Zeste de citron	13,4-26,3
Pomme	Golden	18,8
	Royal	16,5
	Granny	4,2
Pulpe de betterave	23-24,9	
Peau de pastèque	19-21	
Epluchures de mangue	17,1	
Peau de fruits de la passion	10-12,7	
Epluchure de banane	9	
Marc de tomate	7,5	
Déchets de citrouille	7,4	

- **La composition chimique des écorces d'agrumes**

Les écorces d'agrumes constituent une source riche en ingrédients nutritionnels: eau, protéines, sucres, minéraux majeurs (Ca, Mg, K, Na) et quelques minéraux mineurs (Zn, Fe,

Cu). Elles présentent aussi une source importante en ingrédients fonctionnels: huiles essentielles, essences odorantes, fibres, caroténoïdes, vitamine C, composés phénoliques, et fibres, principalement les fibres hydrosolubles (pectines), et contiennent aussi des fibres insolubles (l'hémicellulose, la cellulose et la lignine). Cette composition chimique des écorces d'agrumes varie sous l'influence de divers facteurs environnementaux et climatiques [51].

La composition chimique globale des écorces de différentes variétés d'agrumes est mentionnée dans le tableau (I.5).

Tableau I.5: Composition chimique globale des écorces de différentes variétés d'agrumes [51].

Variété des agrumes	Orange	Citron	Mandarine
Eau	2,97 - 3,14	3,01	3,79
Lipides	0,95- 4,00	0,48- 1,89	1,57 - 2,97
Protéines	1,79- 9,06	5,87- 7,88	2,16 - 8,55
Glucides	15,01 - 47,81	6,52- 14,89	8,50 - 18,27
Minéraux	2,56 - 4,24	2,52 - 4,68	3,96- 10,03
Fibres	6,30 - 42,13	14,00	7,14 - 27,89
Caroténoïdes totaux	0,04	0,01	0,20
Phénols totaux	0,67 - 19,62	2,45- 13,01	0,78 - 17,21
Huiles essentielles	0,6-1	-	-
Vitamine C	0,145-1,15	0,109	0,280

I.3.2.5. Extraction de pectine

Il existe de nombreuses méthodes pour isoler et purifier la pectine. Il peut s'agir des méthodes chimiques, physiques ou enzymatiques.

a. Hydrolyse en milieu acide

Le procédé d'extraction en milieu acide de la pectine consiste à hydrolyser le polymère dans une solution chaude acide qui va transformer la propectine en acide pectinique. Il en résulte une fraction insoluble, comprenant l'acide pectinique, et une fraction soluble. La fraction insoluble est séparée, puis concentrée. Elle est ensuite mélangée avec de l'isopropanol pour faire précipiter la pectine et former un coagulum. Celui-ci est lavé, séché et broyé pour obtenir une poudre. La pectine obtenue est généralement HM, elle devra subir une seconde étape de désestérification chimique pour devenir FM [42].

b. Extraction par micro-ondes

Dans cette méthode, lors du chauffage par micro-ondes, la pression s'accumule dans le matériau à extraire. Cette pression modifie la structure cellulaire du résidu et permet une meilleure pénétration des solvants d'extraction (acide citrique, acide chlorhydrique, acide nitrique) [52].

L'extraction par micro-ondes limiterait les phénomènes de dépolymérisation de la pectine qui peuvent être observés lors de l'extraction acide, et réduit considérablement le temps et les coûts d'extraction par rapport à l'hydrolyse en milieu acide [52].

c. Extraction enzymatique

L'extraction enzymatique de la pectine est effectuée par la pectinase, qui est une enzyme extraite de micro-organismes et de champignons. Le traitement enzymatique intervient sur les liaisons osidiques de la pectine et assure leurs coupures. Cette action diminue la viscosité de la solution, facilitant la filtration et la centrifugation [53].

Cette méthode d'extraction a l'avantage d'être moins polluante que les précédentes. De plus, les pectinases ont une réactivité spécifique à la pectine. Cependant, la production enzymatique reste coûteuse et la réaction est difficile à contrôler [53].

d. Extraction par chauffage assisté par ultrasons

En milieu liquide, lors l'extraction à chaud assistée par ultrasons, un phénomène de cavitation apparaît, cela entraîne la formation de bulles microscopiques instables qui vont imploser. Ce phénomène fait varier la température et la pression à proximité des bulles. Ces conditions modifient la structure du résidu mis en solution, ce qui permet une meilleure pénétration des solvants d'extraction [54].

Ce type d'extraction permet de diminuer le temps d'extraction et augmenter le rendement par rapport aux méthodes classiques (hydrolyse en milieu acide) sans que la texture du gel obtenue ne soit altérée [54].

e. Extraction avec des agents de chélation

Il a été mentionné précédemment que la pectine est très répandue dans la lamelle moyenne. Dans cette zone, elle forme des liaisons avec des ions calcium, formant des pectates de calcium. Ainsi, cette caractéristique est utilisée pour l'extraction par les agents chélateurs [53].

Ces agents chélateurs, comme l'éthylène diamine tétraacétate (EDTA), le cyclohexanediamine tétraacétate (CDTA) ou encore les tampons imidazole, vont capter le cation Ca^{2+} pour former un complexe. Cette capture entraîne une désorganisation de la structure formée avec le cation et permet l'extraction de la pectine désolidarisée de la matrice. Cette extraction a l'avantage de ne pas endommager les chaînes de pectine. Cependant, la purification des chélateurs est difficile. Et leur présence dans le produit final affecte les propriétés de gélification de la pectine [53].

I.4. Complexes polyélectrolytes

Les polyélectrolytes sont des macromolécules (protéines, l'ADN, certains dérivés de polymères de cellulose et des polysaccharides...) possédant plusieurs groupes ionisables qui se dissocient dans des solvants polaires, tels que l'eau qui les dissocie facilement et solvate bien les charges. Par conséquent, presque tous les polyélectrolytes sont fortement solubles dans l'eau [55].

Les polyélectrolytes sont des polycations si leurs charges sont positives, et peuvent être des polybases, s'ils contiennent des groupes basiques dans leurs motifs de répétition, tels que les groupes amines. Ils sont des polyanions si leurs charges sont négatives, et peuvent être des polyacides, s'ils contiennent des groupes acides dans leurs motifs de répétition, tels que les groupes $-\text{COOH}$, $-\text{SO}_3\text{H}$ et $-\text{PO}_3\text{H}_2$ [55].

Les polyélectrolytes ionisés en solution de charges différents peuvent former un complexe polyélectrolyte (CPE) à partir des interactions ioniques entre les polyanions et les polycations, ceci évite l'utilisation d'agents de réticulation chimiques, réduisant ainsi la toxicité éventuelle et d'autres effets indésirables des réactifs. Les différentes interactions qui peuvent se produire

entre les différents groupes des complexes polymère-polymère sont de type van der Waals, électrostatique, des liaisons hydrophobes et hydrogène [56].

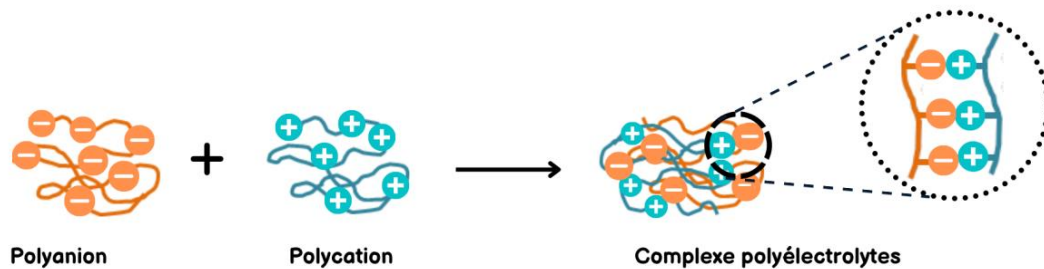


Figure I.14: Représentation schématique des interactions polyanion-polycation entraînant la formation d'un complexe de polyélectrolyte.

En outre, le complexe polyélectrolyte produit, combine les propriétés physico-chimiques uniques de différents polymères avec l'avantage de conserver une biocompatibilité élevée. Il possède des propriétés uniques, qui sont significativement différentes de celles des composants initiaux. La stabilité de ces complexes dépend de pH, température, densité de charge et la force ionique [56].

I.4.1. Utilisation des polysaccharides pour la fabrication des complexes polyélectrolytes

Ces dernières années, Les complexe polyélectrolytes à base des polysaccharides naturels sont devenus les plus investis à cause de leur biocompatibilité, non toxicité, ainsi que leurs grande variétés structurelles ce qui les rend apte pour plusieurs applications.

Ces CPE peuvent être utilisés comme membranes [57], pour recouvrir des films et des fibres [58], pour isoler et fractionner des protéines [59], pour isoler un acide nucléique [60], pour lier des produits pharmaceutiques [61], en tant que support de catalyseur [62] et pour la préparation de microcapsules pour l'administration de médicaments afin d'améliorer leur libération contrôlée et prolongée [63]. Ils ont aussi utilisé pour le développement de nouveaux types de pansements pour le traitement des plaies et des brûlures [64].

I.4.1.1. Complexe polyélectrolyte à base de pectine et chitosane

La pectine a un grand potentiel pour former un composite polymère et le rendre un film flexible, et solide. En raison de sa propriété anionique, la pectine peut facilement former

des PE stables avec des molécules de biopolymères et de protéines chargées positivement [35].

D'autre part, le chitosane présente un caractère cationique dans les milieux acides qui facilite leur dissolution, et lui permet d'interagir électrostatiquement avec divers caractères anioniques (généralement des groupes d'acide carboxylique) pour former des complexes polyélectrolytes [64], tandis que les groupes amino non protonés dans les milieux neutres accélèrent la complexation des ions métalliques et des molécules organiques [35].

Ce qui a permis l'utilisation de La pectine et le chitosane pour former un complexe polyélectrolyte pectine-chitosane à partir des interactions électrostatiques entre les groupes amino ionisés du chitosane (NH_3^+) et les groupes acide carboxylique ionisés (COO^-) de la pectine [56].

Ces dernières années, Le complexes polyélectrolytes Pc-Cs ont fait l'objet de nombreuses études à cause de leurs applications potentielles dans le domaine médical, biomédicale et en électrochimie [56]. Ils sont également utilisés comme un bioadsorbant pour les métaux et les colorants cationiques [65,66]. Les complexes polyélectrolytes pectine-chitosane ont été aussi utilisés comme matériaux pour la construction des capteurs électrochimiques tels que les capteurs non-enzymatiques pour la détection de médicaments et d'herbicides dans les milieux hydriques [35].

I.5 Etat de l'art sur la détection électrochimique de la dopamine

Parmi les approches proposées dans la littérature pour la détection de la dopamine, il existe de nombreux travaux qui portent sur la détection électrochimique en raison de sa simplicité, rapidité et faible coût. Les différents nanomatériaux et les ligands d'affinité utilisés pour modifier la surface des électrodes afin d'augmenter la sensibilité et la sélectivité seront discutés dans ce qui suit :

- **Les nanoparticules métalliques et les nanomatériaux d'oxyde métallique**

Les nanoparticules métalliques (NPs) sont des matériaux avantageux pour la détection électrochimique de la dopamine en raison de leur excellente conductivité, leur rôle en amplification du signal, et la facilité du transfert d'électrons entre le milieu d'oxydoréduction de l'analyte et la surface de l'électrode [67].

Les nanoparticules d'oxyde métallique ont été également utilisées pour la détection de la DA grâce à leurs surfaces spécifiques élevées [68]. Le tableau I.6, présente quelques caractéristiques des capteurs à base des nanomatériaux métalliques et d'oxydes métalliques.

Tableau I.6 : Comparaison des performances analytiques des capteurs électrochimiques de DA à base des nanomatériaux métalliques et des nanomatériaux d'oxydes métalliques.

La surface active	Domaine de linéarité	Limite de détection	Références
Nanomatériaux métalliques			
Au nanostructures	1–10 μM	0,57 μM	[69]
Pd NPs	0,5–160 μM	0,2 μM	[70]
Au–Pt NPs	1 μM –1 mM	6 nM	[71]
Au nanopillars	1–100 μM	5,83 μM	[72]
Nanomatériaux d'oxydes métalliques			
NiO	0,5–5 μM	85 nM	[73]
MoS ₂	0,006–181 μM	2 nM	[74]
Fe ₃ O ₄	2–600 nM	0,8 nM	[75]
ZnFe ₂ O ₄	2–600 nM	0,4 nM	[76]

- **Matériaux en carbone**

Les matériaux en carbone tels que les nanotubes de carbone, le graphène et ses dérivés sont très utilisés pour la conception des capteurs électrochimiques pour la détection de la DA en raison de leur conductivité électrique élevée, leur bonne stabilité mécanique et chimique, leur possibilité d'être fonctionnalisés, et leur grande surface spécifique qui peut supporter les processus d'adsorption et de diffusion [77,78].

L'oxyde de graphène et l'oxyde de graphène réduit présentent des groupes contenant de l'oxygène sur leurs surfaces qui servent à accélérer le transfert d'électrons et conduit généralement à une meilleure sélectivité et sensibilité [78].

Tableau I.7 : Comparaison des performances analytiques des capteurs électrochimiques de la DA à base des matériaux en carbone.

La surface active	Domaine de linéarité	Limite de détection	Références
Nanotubes de carbone			
Ionic liquid–SWCNT	0,5–30 μM	0,16 μM	[79]
AgAu–MWCNT	3 nM–2,3 μM	0,23 nM	[80]
Graphene–MWCNT	5 nM–100 μM	0,87 nM	[81]
MWCNTs–CHT/GCE	1,0 –210 μM	1,9 μM	[82]
Graphène et ses dérivés			
Reduced graphene	1–80 μM	0,46 μM	[83]
PEDOT–Graphene	0,02–130 μM	0,33 μM	[84]
Fe ₃ O ₄ –Graphene	0,02–130 μM	7 nM	[85]
Pt NPs–Graphene oxide	87 nM–100 μM	5 nM	[86]

- **Les aptamères**

Les électrodes fonctionnalisées par les nanomatériaux mentionnés précédemment présentent de nombreux avantages, néanmoins, un ligand d'affinité est nécessaire pour augmenter la sélectivité. Les biocapteurs électrochimiques à base d'aptamères sont généralement constitués de trois parties, à savoir un aptamère d'ADN pour la dopamine, une

électrode de travail en or ou en carbone vitreux (GCE), et un nanomatériau ou un nanocomposite pour améliorer la sensibilité et la conductivité. Le rôle des aptamères est d'apporter sélectivement la dopamine à la surface de l'électrode, alors que le signal provient toujours de la réaction d'oxydoréduction de la dopamine [87].

Tableau I.8 : Comparaison des performances analytiques des biocapteurs électrochimiques de la DA à base des aptamères.

La surface active	Domaine de linéarité	Limite de détection	Références
DNA aptamer-PEDOT/rGO	1 pM–0,16 μ M	$78 \cdot 10^{-6}$ nM	[88]
DNA aptamer-Gold	5 pM – 0,5 nM	2 pM	[89]
DNA aptamer-GO/nile blue/GCE	0,01–200 μ M	1 nM	[90]
DNA aptamer-collagen/GO	1nM–1 μ M	0,75 nM	[91]

- **Les polymères**

Récemment, les électrodes modifiées par les polymères ont retenu une attention particulièrement croissante, et ils sont devenus un axe de recherche intéressant sur lequel s'inscrit le développement des nouveaux polymères conducteurs qui sont combinés avec les nanomatériaux et le graphène. Cela a permis l'élaboration des électrodes hybrides avec des propriétés remarquables pour de la détection de la DA, en raison de leur stabilité environnementale à long terme, leur forte adhérence à la surface de l'électrode, leur conductivité électrique élevée et leur bonne sélectivité et biocompatibilité [92].

- **Les polymères conducteurs**

Les polymères conducteurs peuvent atteindre une excellente conductivité électrique comparable à celle des métaux. Ils présentent d'autres avantages pour leur utilisation dans la détection électrochimique, tels que la possibilité d'être facilement modifiés par des groupes fonctionnels ou par des nanoparticules, la formation d'une couche protectrice pour éviter l'encrassement de la surface, la possibilité d'être sélectifs envers l'analyte en évitant les espèces perturbatrices par des interactions hydrophobes, hydrophiles, d'échange d'ions ou

électrostatiques . Pour toutes ces raisons, les polymères conducteurs et leurs nanocomposites sont largement utilisés pour la détection électrochimique de DA [93].

Tableau I.9 : Comparaison des performances analytiques des capteurs électrochimiques de la DA à base des polymères.

La surface active	Domaine de linéarité	Limite de détection	Références
Polypyrrole	1–1000 μM	7 nM	[94]
Poly(pyrrole-3-carboxylic acid)	0,025–7,5 μM	2,5 nM	[95]
Polypyrrole–Graphene	0,8–10 μM	4 nM	[96]
3-carboxylate polypyrrole–Pt NPs	0,1 pM–1 nM	0,1 pM	[97]

- **Polymères à empreinte moléculaire (MIPs)**

Les MIPs sont également une technique très prometteuse pour la détection électrochimique d'hormones et de neurotransmetteurs notamment la dopamine. Par rapport aux anticorps et aux aptamères, les MIP sont beaucoup moins coûteux et plus stables, bien que l'affinité et la spécificité de liaison des MIP soient plus faibles lorsqu'elles manquent de conductivité et d'activité électrocatalytique. Pour cette raison, de nombreux MIPs utilisés dans la détection sont des conducteurs, ou ils sont combinés avec des nanomatériaux conducteurs [98].

Tableau I.10 : Comparaison des performances analytiques des capteurs électrochimiques de la DA à base des polymères à empreinte moléculaire.

La surface active	Domaine de linéarité	Limite de détection	Références
Polypyrrole–SiO ₂	2 μM –0,23 mM	0,9 μM	[99]
Phenylenediamine–Ni	0,05–50 pM	0,017 pM	[100]

Polypyrrole/phenylenediamine	50 nM–100 μ M	33 nM	[101]
Polypyrrole–ZnO	0,02–800 μ M	1 nM	[102]

Cette étude nous a permis d'analyser les différents méthodes et matériaux utilisés pour la modification des électrodes conçues pour la détection de la dopamine. De ce fait, nous avons élaboré une nouvelle électrode modifiée par une membrane à base des polymères naturels, pour la détection de la dopamine.

Les polymères choisis (la pectine et le chitosane) sont des polysaccharides biosourcés ayant les avantages de biodégradabilité, biocompatibilité, non toxicité et disponibilité. La pectine issue d'écorce d'orange est considérée comme l'élément récepteur du capteur, elle contient des groupes fonctionnels hydroxyles et carboxyles capables d'oxyder la dopamine chargée positivement à pH 7, tandis que le chitosane sert à immobiliser la pectine sur la surface de l'électrode dû à sa capacité de former un film insoluble dans l'eau à pH neutre.

Références bibliographiques

- [1] Ghodsevali, E. (2017). *Conception et fabrication d'un biocapteur à haute sensibilité pour la détection des neurotransmetteurs*. (Thèse de doctorat, Université de Laval).
- [2] Meunier, A. (2011). *Méthodes analytiques pour la détection de phénomènes biologiques de sécrétion à l'échelle de la cellule unique*. (Thèse de doctorat, Université Pierre et Marie Curie-Paris VI).
- [3] Snell, R. S. (2010). *Clinical neuroanatomy*. Lippincott Williams & Wilkins.
- [4] Salvatore, M. F., Pruett, B. S., Dempsey, C., & Fields, V. (2012). Comprehensive profiling of dopamine regulation in substantia nigra and ventral tegmental area. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*, (66), e4171.
- [5] Eddin, F. B. K., & Fen, Y. W. (2020). Recent advances in electrochemical and optical sensing of dopamine. *Sensors (Basel, Switzerland)*, 20(4).
- [6] Stagkourakis, S., Kim, H., Lyons, D. J., & Broberger, C. (2016). Dopamine autoreceptor regulation of a hypothalamic dopaminergic network. *Cell reports*, 15(4), 735-747.
- [7] Liu, X., & Liu, J. (2021). Biosensors and sensors for dopamine detection. *View*, 2(1), 20200102.
- [8] <https://www.worldofchemicals.com/chemicals/chemical-properties/dopamine.html>.
- [9] Mora, F., Segovia, G., Del Arco, A., de Blas, M., & Garrido, P. (2012). Stress, neurotransmitters, corticosterone and body-brain integration. *Brain research*, 1476, 71-85.
- [10] Robinson, D. L., Hermans, A., Seipel, A. T., & Wightman, R. M. (2008). Monitoring rapid chemical communication in the brain. *Chemical reviews*, 108(7), 2554-2584.
- [11] Missale, C., Nash, S. R., Robinson, S. W., Jaber, M., & Caron, M. G. (1998). Dopamine receptors: from structure to function. *Physiological reviews*, 78(1), 189-225.
- [12] Dong, Y. M., Chen, X. F., Li, C. L., & Chen, X. G. (2009). MEEKC with laser induced fluorescence detection of epinephrine and dopamine in TCM and in plasma of patients with rheumatic heart disease. *J. Lanzhou Univ. (Nat. Sci.)*, 45, 77-81.

- [13] Elsworth, J. D., & Roth, R. H. (1997). Dopamine synthesis, uptake, metabolism, and receptors: relevance to gene therapy of Parkinson's disease. *Experimental neurology*, 144(1), 4-9.
- [14] Grace, A. A. (1991). Phasic versus tonic dopamine release and the modulation of dopamine system responsivity: a hypothesis for the etiology of schizophrenia. *Neuroscience*, 41(1), 1-24.
- [15] Kesby, J. P., Eyles, D. W., McGrath, J. J., & Scott, J. G. (2018). Dopamine, psychosis and schizophrenia: the widening gap between basic and clinical neuroscience. *Translational psychiatry*, 8(1), 1-12.
- [16] Hyman, B. T., Van Hoesen, G. W., Damasio, A. R., & Barnes, C. L. (1984). Alzheimer's disease: cell-specific pathology isolates the hippocampal formation. *Science*, 225(4667), 1168-1170.
- [17] Willner, P. (1983). Dopamine and depression: a review of recent evidence. I. Empirical studies. *Brain Research Reviews*, 6(3), 211-224.
- [18] Khoder, R. (2018). *Elaboration de biocapteurs électrochimiques d'ADN à base de nano-structure de polypyrrole pour le diagnostic de la tuberculose*. (Thèse de doctorat, Université Paris Saclay (COMUE)).
- [19] Wan, K. (1999). *Etude de différentes méthodes de biofonctionnalisation pour la réalisation de biocapteurs. Application à la détection de pesticides*. (Thèse de doctorat, Ecully, Ecole centrale de Lyon).
- [20] Dejous, C. (2005). *Contribution à l'étude de microcapteurs à ondes acoustiques visant la biodétection rapide sur site*. (Thèse de doctorat, Université Sciences et Technologies-Bordeaux I).
- [21] Sboui, D. (2016). *Développement et évaluation d'un micro-biocapteur électrochimique pour l'immuno-détection en temps réel de Legionella pneumophila dans les échantillons environnementaux*. (Thèse de doctorat, Université de Lyon 1).
- [22] Chakroun, H. (2020). *Préparation, étude du matériau Chitosane et son application dans le domaine des biocapteurs*. (Thèse de doctorat, Université de Lyon1).

- [23] Naresh, V., & Lee, N. (2021). A review on biosensors and recent development of nanostructured materials-enabled biosensors. *Sensors*, 21(4), 1109.
- [24] Samani, S. S., Khojastehnezhad, A., Ramezani, M., Alibolandi, M., Yazdi, F. T., Mortazavi, S. A., ... & Taghdisi, S. M. (2021). Ultrasensitive detection of micrococcal nuclease activity and *Staphylococcus aureus* contamination using optical biosensor technology-A review. *Talanta*, 226, 122168.
- [25] Radhakrishnan, R., Suni, I. I., Bever, C. S., & Hammock, B. D. (2014). Impedance biosensors: Applications to sustainability and remaining technical challenges. *ACS sustainable chemistry & engineering*, 2(7), 1649-1655.
- [26] Curulli, A. (2021). Electrochemical biosensors in food safety: challenges and perspectives. *Molecules*, 26(10), 2940.
- [27] Dzyadevych, S., & Jaffrezic-Renault, N. (2014). Conductometric biosensors. In *Biological Identification*. Woodhead Publishing, 153-193.
- [28] Pisoschi, A. M. (2016). Potentiometric biosensors: concept and analytical applications-an editorial. *Biochem Anal Biochem*, 5(3), 19-20.
- [29] Chaubey, A., & Malhotra, B. (2002). Mediated biosensors. *Biosensors and bioelectronics*, 17(6-7), 441-456.
- [30] Grieshaber, D., MacKenzie, R., Vörös, J., & Reimhult, E. (2008). Electrochemical biosensors-sensor principles and architectures. *Sensors*, 8(3), 1400-1458.
- [31] Aspinnall, G. O. (1983). Classification of polysaccharides. *The polysaccharides*, 1-9.
- [32] Abhilash, M., & Thomas, D. (2017). Biopolymers for biocomposites and chemical sensor applications. In *Biopolymer composites in electronics*, 405-435.
- [33] Béraud, J. (2001). *Le technicien d'analyses biologiques*. Edition Technique et Documentation, Lavoisier, Paris, 961-996.
- [34] Boubezari, I. (2021). *Conception et développement de nouveaux capteurs chimiques et de (bio) capteurs à transduction électrochimique*. (Thèse de doctorat, Université de Lyon; Université de Jijel).

- [35] Ranganathan, P., Mutharani, B., Chen, S. M., & Sireesha, P. (2019). Biocompatible chitosan-pectin polyelectrolyte complex for simultaneous electrochemical determination of metronidazole and metribuzin. *Carbohydrate polymers*, 214, 317-327.
- [36] Wasser, S. P. (2002). Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides. *Applied microbiology and biotechnology*, 60(3), 258-274.
- [37] Caillau, M. (2017). *Nanotechnologie verte: des polymères de la biomasse comme résines éco-efficientes pour la lithographie*. (Thèse de doctorat, Université de Lyon).
- [38] Chetouani, A. (2018). *Élaboration et bio évaluation de nouvelles classes d'hydrogels à base de pectine avant et après son oxydation par le periodate et/ou par le chlore actif et étude de leurs effets sur les comportements physico-chimiques et biologiques de la gélatine et du chitosane*. (Thèse de doctorat, Université de Setif I).
- [39] Chauveau, R. (2014). *Modélisation multiparamètre du phénomène d'adsorption: détermination du temps de percée des cartouches de masques à gaz*. (Thèse de doctorat, Université de Lorraine).
- [40] Mahé, J. (2018). *La pectine : Applications d'un polymère biodégradable dans le domaine de la santé*. (Thèse de doctorat, Université d'Angers).
- [41] Taylor, S. (2012). *The chemistry and technology of pectin*. Academic Press.
- [42] TILLY, G. (2010). *Pectines*. Techniques de l'Ingénieur.
- [43] Novosel'skaya, I. L., Voropaeva, N. L., Semenova, L. N., & Rashidova, S. S. (2000). Trends in the science and applications of pectins. *Chemistry of Natural Compounds*, 36(1), 1-10.
- [44] Chan, S. Y., Choo, W. S., Young, D. J., & Loh, X. J. (2017). Pectin as a rheology modifier: Origin, structure, commercial production and rheology. *Carbohydrate polymers*, 161, 118-139.
- [45] Tkalec, G., Knez, Ž., & Novak, Z. (2015). Formation of polysaccharide aerogels in ethanol. *RSC advances*, 5(94), 77362-77371.

- [46] Voragen, A. G., Coenen, G. J., Verhoef, R. P., & Schols, H. A. (2009). Pectin, a versatile polysaccharide present in plant cell walls. *Structural Chemistry*, 20(2), 263-275.
- [47] Chen, J., Liu, W., Liu, C. M., Li, T., Liang, R. H., & Luo, S. J. (2015). Pectin modifications: a review. *Critical reviews in food science and nutrition*, 55(12), 1684-1698.
- [48] BeMiller, J. N. (1986). *An introduction to pectins: structure and properties*.
- [49] Sebaoui, O. (2018). *Modélisation et optimisation de l'extraction de la pectine à partir du zeste de citron et de son utilisation dans l'encapsulation des composés phénoliques des margines de l'industrie oléicole*. (Thèse de doctorat, Université de Tizi Ouzou).
- [50] Dranca, F., & Oroian, M. (2018). Extraction, purification and characterization of pectin from alternative sources with potential technological applications. *Food Research International*, 113, 327-350.
- [51] M'Hiri, N. (2015). *Étude comparative de l'effet des méthodes d'extraction sur les phénols et l'activité antioxydante des extraits des écorces de l'orange «Maltaise demi sanguine» et exploration de l'effet inhibiteur de la corrosion de l'acier au carbone*. (Thèse de doctorat, Université de Lorraine).
- [52] Srivastava, P., & Malviya, R. (2011). Sources of pectin, extraction and its applications in pharmaceutical industry—An overview. *Indian Journal of Natural Products and Resources*.
- [53] Munarin, F., Tanzi, M. C., & Petrini, P. A. O. L. A. (2012). Advances in biomedical applications of pectin gels. *International journal of biological macromolecules*, 51(4), 681-689.
- [54] Wang, W., Ma, X., Xu, Y., Cao, Y., Jiang, Z., Ding, T., ... & Liu, D. (2015). Ultrasound-assisted heating extraction of pectin from grapefruit peel: Optimization and comparison with the conventional method. *Food chemistry*, 178, 106-114.
- [55] Bradai, M. (2018). *Synthèse et Etude physico-chimique de nouveaux polyélectrolytes*. (Thèse de doctorat, Université d'Oran1-Ahmed Ben Bella).
- [56] Maciel, V. B. V., Yoshida, C. M., & Franco, T. T. (2015). Chitosan/pectin polyelectrolyte complex as a pH indicator. *Carbohydrate polymers*, 132, 537-545.

- [57] Angal, S., & Harris, E. L. V. (Eds.). (1990). *Protein Purification Applications: A Practical Approach*. IRL Press at Oxford University Press.
- [58] Yamamoto, H., & Senoo, Y. (2000). Polyion complex fiber and capsule formed by self-assembly of chitosan and gellan at solution interfaces. *Macromolecular Chemistry and Physics*, 201(1), 84-92.
- [59] Dubin, P. L., Gao, J., & Mattison, K. (1994). Protein purification by selective phase separation with polyelectrolytes. *Separation and Purification Methods*, 23(1), 1-16.
- [60] Jervis, L., & Pierpoint, W. S. (1989). Purification technologies for plant proteins. *Journal of Biotechnology*, 11(2-3), 161-198.
- [61] Chen, J., Jo, S., & Park, K. (1995). Polysaccharide hydrogels for protein drug delivery. *Carbohydrate Polymers*, 28(1), 69-76.
- [62] H. Dautzenberg, J. Kotz, K.J. Linow, B. Philipp, G. Rother, P. Dubin, J. Bock, R. Davis, D.N. Schulz, C. (1994). *Macromolecular complexes in chemistry and biology*. Springer Verlag, 119-33.
- [63] Lankalapalli, S., & Kolapalli, V. R. M. (2009). Polyelectrolyte complexes: A review of their applicability in drug delivery technology. *Indian journal of pharmaceutical sciences*, 71(5), 481.
- [64] Mustafa, A. (2019). Polyelectrolyte complexes based on chitosan and natural polymers. *European Journal of Medicine and Natural Sciences*, 2(1), 22-28.
- [65] Silitonga, F. S. (2019). Fabrication of Complex Polyelectrolyte Membrane of Chitosan-Pectin Crosslinked as Bioadsorbent. *Journal of Chemical Natural Resources*, 1(2), 52-59.
- [66] Kong, D., Kusrini, E., & Wilson, L. D. (2021). Binary pectin-chitosan composites for the uptake of lanthanum and yttrium species in aqueous media. *Micromachines*, 12(5), 478.
- [67] Angeline, N., Suhito, I. R., Kim, C. H., Hong, G. P., Park, C. G., Bhang, S. H., ... & Kim, T. H. (2020). A fibronectin-coated gold nanostructure composite for electrochemical detection of effectsof curcumin-carrying nanoliposomes on human stomach cancer cells. *Analyst*, 145(2), 675-684.

- [68] Pillarisetti, S., Uthaman, S., Huh, K. M., Koh, Y. S., Lee, S., & Park, I. K. (2019). Multimodal composite iron oxide nanoparticles for biomedical applications. *Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, 16(5), 451-465.
- [69] Cevallos-Morillo, C. A., Hernández-Vargas, S. G., & Aguilar-Cordero, J. C. (2018). Electrochemical formation of nanostructured gold surfaces on glassy carbon for the determination of dopamine. *Electroanalysis*, 30(8), 1627-1633.
- [70] Huang, J., Liu, Y., Hou, H., & You, T. (2008). Simultaneous electrochemical determination of dopamine, uric acid and ascorbic acid using palladium nanoparticle-loaded carbon nanofibers modified electrode. *Biosensors and Bioelectronics*, 24(4), 632-637.
- [71] Zhang, K., Chen, X., Li, Z., Wang, Y., Sun, S., Guo, T., ... & Lu, X. (2018). Au-Pt bimetallic nanoparticles decorated on sulfonated nitrogen sulfur co-doped graphene for simultaneous determination of dopamine and uric acid. *Talanta*, 178, 315-323.
- [72] Kim, D. S., Kang, E. S., Baek, S., Choo, S. S., Chung, Y. H., Lee, D., ... & Kim, T. H. (2018). Electrochemical detection of dopamine using periodic cylindrical gold nanoelectrode arrays. *Scientific reports*, 8(1), 1-10.
- [73] Emran, M. Y., Shenashen, M. A., Mekawy, M., Azzam, A. M., Akhtar, N., Gomaa, H., ... & El-Safty, S. A. (2018). Ultrasensitive in-vitro monitoring of monoamine neurotransmitters from dopaminergic cells. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 259, 114-124.
- [74] Sakthivel, R., Dhanalakshmi, S., Chen, S. M., Chen, T. W., Selvam, V., Ramaraj, S. K., ... & Leung, W. H. (2017). A novel flakes-like structure of molybdenum disulphide modified glassy carbon electrode for the efficient electrochemical detection of dopamine. *Int. J. Electrochem. Sci*, 12, 9288-9300.
- [75] Huang, Y., Zhang, Y., Liu, D., Li, M., Yu, Y., Yang, W., & Li, H. (2019). Facile synthesis of highly ordered mesoporous Fe₃O₄ with ultrasensitive detection of dopamine. *Talanta*, 201, 511-518.
- [76] Huang, Y., Tang, Y., Xu, S., Feng, M., Yu, Y., Yang, W., & Li, H. (2020). A highly sensitive sensor based on ordered mesoporous ZnFe₂O₄ for electrochemical detection of dopamine. *Analytica Chimica Acta*, 1096, 26-33.

- [77] Wang, L., & Pumera, M. (2016). Electrochemical catalysis at low dimensional carbons: graphene, carbon nanotubes and beyond—a review. *Applied Materials Today*, 5, 134-141.
- [78] Pumera, M., Ambrosi, A., Bonanni, A., Chng, E. L. K., & Poh, H. L. (2010). Graphene for electrochemical sensing and biosensing. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 29(9), 954-965.
- [79] Nagles, E., García-Beltrán, O., & Calderón, J. A. (2017). Evaluation of the usefulness of a novel electrochemical sensor in detecting uric acid and dopamine in the presence of ascorbic acid using a screen-printed carbon electrode modified with single walled carbon nanotubes and ionic liquids. *Electrochimica Acta*, 258, 512-523.
- [80] Balasubramanian, P., He, S. B., Jansirani, A., Peng, H. P., Huang, L. L., Deng, H. H., & Chen, W. (2020). Bimetallic AgAu decorated MWCNTs enable robust nonenzyme electrochemical sensors for in-situ quantification of dopamine and H₂O₂ biomarkers expelled from PC-12 cells. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 878, 114554.
- [81] Huang, Q., Lin, X., Tong, L., & Tong, Q. X. (2020). Graphene quantum dots/multiwalled carbon nanotubes composite-based electrochemical sensor for detecting dopamine release from living cells. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 8(3), 1644-1650.
- [82] Babaei, A., Babazadeh, M., & Momeni, H. R. (2011). A sensor for simultaneous determination of dopamine and morphine in biological samples using a multi-walled carbon nanotube/chitosan composite modified glassy carbon electrode. *Int J Electrochem Sci*, 6, 1382-1395.
- [83] Yu, J., & Kim, T. H. (2017). A facile electrochemical fabrication of reduced graphene oxide-modified glassy carbon electrode for simultaneous detection of dopamine, ascorbic acid, and uric acid. *Journal of Electrochemical Science and Technology*, 8(4), 274-281.
- [84] Xu, G., Jarjes, Z. A., Desprez, V., Kilmartin, P. A., & Travas-Sejdic, J. (2018). Sensitive, selective, disposable electrochemical dopamine sensor based on PEDOT-modified laser scribed graphene. *Biosensors and Bioelectronics*, 107, 184-191.
- [85] Zhang, W., Zheng, J., Shi, J., Lin, Z., Huang, Q., Zhang, H., ... & Hao, A. (2015). Nafion covered core-shell structured Fe₃O₄@ graphene nanospheres modified electrode for highly selective detection of dopamine. *Analytica Chimica Acta*, 853, 285-290.

- [86] Zan, X., Bai, H., Wang, C., Zhao, F., & Duan, H. (2016). Graphene paper decorated with a 2D array of dendritic platinum nanoparticles for ultrasensitive electrochemical detection of dopamine secreted by live cells. *Chemistry—A European Journal*, 22(15), 5204-5210.
- [87] Jin, H., Zhao, C., Gui, R., Gao, X., & Wang, Z. (2018). Reduced graphene oxide/nile blue/gold nanoparticles complex-modified glassy carbon electrode used as a sensitive and label-free aptasensor for ratiometric electrochemical sensing of dopamine. *Analytica Chimica Acta*, 1025, 154-162.
- [88] Wang, W., Wang, W., Davis, J. J., & Luo, X. (2015). Ultrasensitive and selective voltammetric aptasensor for dopamine based on a conducting polymer nanocomposite doped with graphene oxide. *Microchimica Acta*, 182(5), 1123-1129.
- [89] Margiana, R., Hammid, A. T., Ahmad, I., Alsaikhan, F., Turki Jalil, A., Tursunbaev, F., ... & Fakri Mustafa, Y. (2022). Current Progress in Aptasensor for Ultra-Low Level Monitoring of Parkinson's Disease Biomarkers. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 1-16.
- [90] Jin, H., Zhao, C., Gui, R., Gao, X., & Wang, Z. (2018). Reduced graphene oxide/nile blue/gold nanoparticles complex-modified glassy carbon electrode used as a sensitive and label-free aptasensor for ratiometric electrochemical sensing of dopamine. *Analytica Chimica Acta*, 1025, 154-162.
- [91] Han, X., Xu, K., Taratula, O., & Farsad, K. (2019). Applications of nanoparticles in biomedical imaging. *Nanoscale*, 11(3), 799-819.
- [92] Dakshayini, B. S., Reddy, K. R., Mishra, A., Shetti, N. P., Malode, S. J., Basu, S., ... & Raghu, A. V. (2019). Role of conducting polymer and metal oxide-based hybrids for applications in amperometric sensors and biosensors. *Microchemical Journal*, 147, 7-24.
- [93] Sajid, M., Nazal, M. K., Mansha, M., Alsharaa, A., Jillani, S. M. S., & Basheer, C. (2016). Chemically modified electrodes for electrochemical detection of dopamine in the presence of uric acid and ascorbic acid: a review. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 76, 15-29.
- [94] Koyun, O., Gursu, H., Gorduk, S., & Sahin, Y. (2017). Highly sensitive electrochemical determination of dopamine with an overoxidized polypyrrole nanofiber pencil graphite electrode. *Int. J. Electrochem. Sci*, 12, 6428-6444.

- [95] Özcan, A., İlkbaş, S., & Özcan, A. A. (2017). Development of a disposable and low-cost electrochemical sensor for dopamine detection based on poly (pyrrole-3-carboxylic acid)-modified electrochemically over-oxidized pencil graphite electrode. *Talanta*, 165, 489-495.
- [96] Wang, L., Xu, H., Song, Y., Luo, J., Wei, W., Xu, S., & Cai, X. (2015). Highly sensitive detection of quantal dopamine secretion from pheochromocytoma cells using neural microelectrode array electrodeposited with polypyrrole graphene. *ACS applied materials & interfaces*, 7(14), 7619-7626.
- [97] Lee, J. S., Oh, J., Kim, S. G., & Jang, J. (2015). Highly Sensitive and Selective Field-Effect-Transistor NonEnzyme Dopamine Sensors Based on Pt/Conducting Polymer Hybrid Nanoparticles. *Small*, 11(20), 2399-2406.
- [98] Lakard, S., Pavel, I. A., & Lakard, B. (2021). Electrochemical biosensing of dopamine neurotransmitter: A review. *Biosensors*, 11(6), 179.
- [99] Kan, X., Li, C., Zhou, H., Zhu, A., Xing, Z., Zhao, Z., & Xu, G. (2012). Three dimensional ordered macroporous electrochemical sensor for dopamine recognition and detection. *Am. J. Biomed. Sci*, 4(3), 184-193.
- [100] Liu, Y., Liu, J., Liu, J., Gan, W., Ye, B. C., & Li, Y. (2017). Highly sensitive and selective voltammetric determination of dopamine using a gold electrode modified with a molecularly imprinted polymeric film immobilized on flaked hollow nickel nanospheres. *Microchimica Acta*, 184(5), 1285-1294.
- [101] Teng, Y., Liu, F., & Kan, X. (2017). Voltammetric dopamine sensor based on three-dimensional electrosynthesized molecularly imprinted polymers and polypyrrole nanowires. *Microchimica Acta*, 184(8), 2515-2522.
- [102] Wang, H. H., Chen, X. J., Li, W. T., Zhou, W. H., Guo, X. C., Kang, W. Y., ... & Wu, S. X. (2018). ZnO nanotubes supported molecularly imprinted polymers arrays as sensing materials for electrochemical detection of dopamine. *Talanta*, 176, 573-581.

Chapitre II

Matériels et méthodes

II. Introduction

Dans ce chapitre, nous nous focalisons sur les méthodes que nous avons exploitées et les dispositifs utilisés dans le cadre du développement d'un capteur électrochimique dédié à la détection de la dopamine, dont la partie sensible est à base d'un film polysaccharidique.

La démarche consiste d'abord en la récupération des polysaccharides pectiques à partir des écorces d'oranges et la caractérisation des extraits. Par la suite, nous décrivons la méthode utilisée pour former un complexe polyélectrolyte à base de deux polysaccharides, puis nous caractérisons les différents films élaborés par la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR). Enfin une application pour la détection de la dopamine sera effectuée en étudiant les performances analytiques du capteur développé.

II.1. Matière végétale

La matière végétale utilisée dans cette étude est bien l'écorce d'orange. Cette dernière a été récupérée à partir de l'épluchage des oranges, suivi d'un lavage abondant à l'eau, puis d'un séchage dans une étuve ventilée à 55°C jusqu'à un poids stable. L'écorce séchée a été broyée par la suite et conservée à l'abri de la lumière et de l'humidité.

Matière première

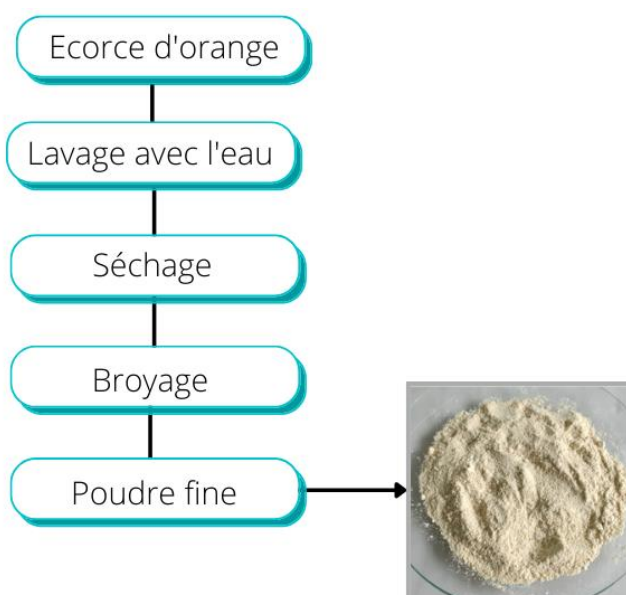


Figure II.1. Etapes de récupération de la poudre à partir de l'écorce d'orange.

II.1.1. Taux d'humidité

Le taux d'humidité est calculé selon la formule suivante [1] :

$$H \% = ((P_1 - P_2) / P_1) \times 100$$

H% : taux d'humidité exprimé en pourcentage.

P₁ : poids de l'écorce fraîche (g).

P₂ : poids de l'écorce après séchage (g).

II.1.2. Protocole d'extraction des polysaccharides pariétaux

Il existe dans la littérature plusieurs protocoles d'extraction des polysaccharides pariétaux issus de diverses parois végétales. Dans notre étude, nous avons adopté le protocole de « Habibi » pour l'extraction des polysaccharides de l'écorce d'orange [2]. Ce protocole correspond à une extraction chimique résumée en trois grandes étapes distinctes :

1. Extraction des polysaccharides hydrosolubles.
2. Extraction des polysaccharides pectiques.
3. Extraction d'hémicellulose et de cellulose.

Nous visons principalement, l'extraction des polysaccharides pectiques, à savoir la pectine hautement méthylée et la pectine faiblement méthylée, en passant par l'extraction des polysaccharides hydrosolubles.

L'étape d'extraction des polysaccharides à partir d'une paroi végétale est précédée d'une étape de purification des parois cellulaires. Elle consiste à éliminer par des étapes d'extraction, les substances qui incrustent les polysaccharides pariétaux. Les méthodes proposées ainsi que le choix de solvant d'extraction tiennent compte de la nature chimique de ces substances ainsi que de la morphologie de la paroi végétale.

Tous d'abord, une macération dans l'éther de pétrole de 10g de poudre d'écorce d'orange est réalisée pendant 24h sous agitation douce à température ambiante, suivie d'une filtration à l'aide d'une passoire, puis la poudre est récupérée pour une 2^{ème} macération dans l'éthanol pendant 24h, la poudre est récupérée encore une fois.

Les substances pectiques sont par ailleurs insolubles dans les solvants organiques, de cette façon les impuretés restent dans la solution. Cette étape préliminaire a pour but d'éliminer les substances de nature lipidiques ou phénoliques (cires, tanins, polyphénols) de la paroi végétale qui peuvent altérer les extraits polysaccharidiques par la suite.

Le résidu dégraissé est séché à l'air libre et à l'abri de la lumière pendant 24h à température ambiante.

II.1.2.1. Extraction des polysaccharides hydrosoluble

Le résidu dégraissé de l'étape précédente est soumis à une extraction par l'eau (Résidu : Eau 1 :15) au cours de deux cycles de 2 heures sous agitation douce à 60°C. Cette étape est importante pour éliminer les polysaccharides hydrosolubles, et le résidu I, insoluble, est séparé donc de l'extrait pour l'étape prochaine.

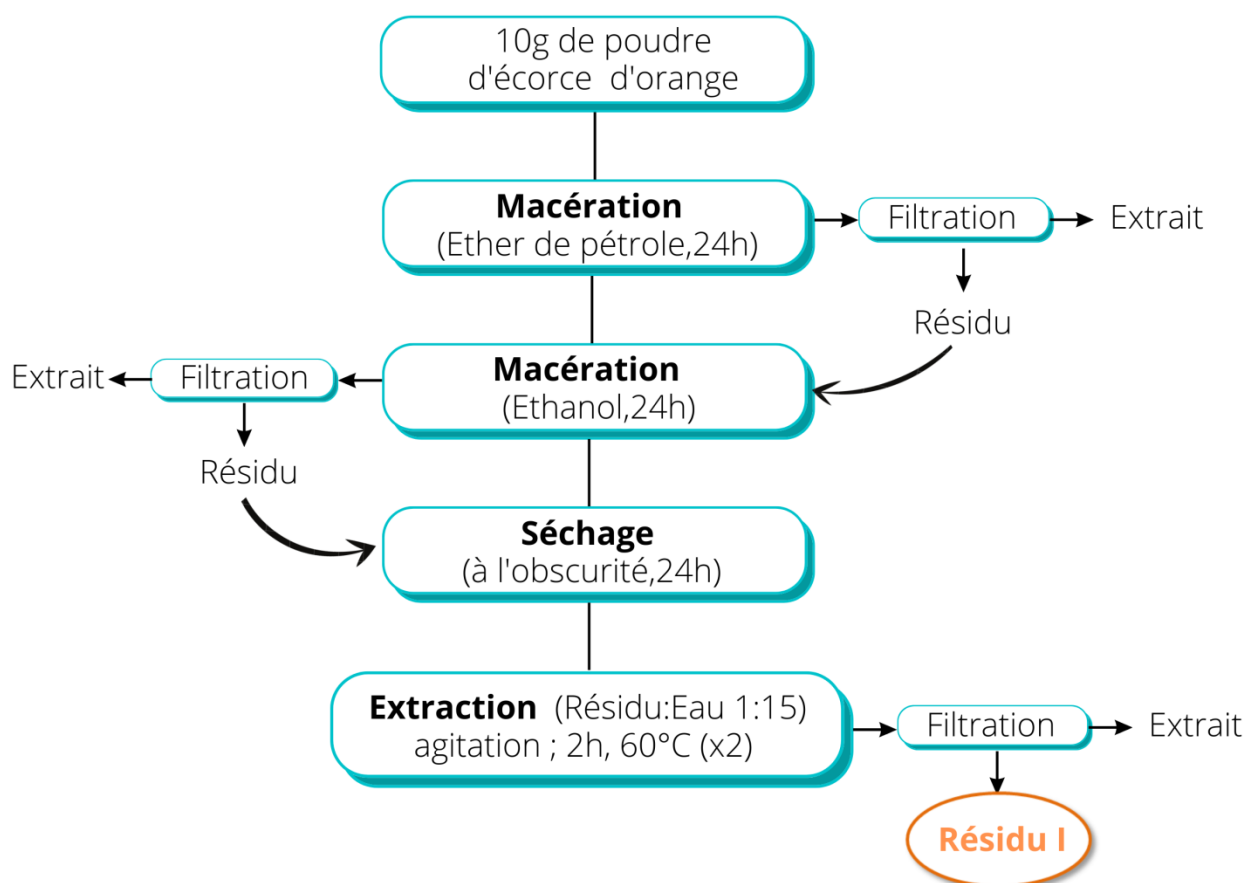


Figure II.2. Schéma d'extraction des polysaccharides hydrosolubles.

II.1.2.2. Extraction des polysaccharides pectiques

L'extraction des pectines se réalise sur plusieurs étapes permettant l'extraction des différents groupes de polysaccharides pectiques.

Les pectines faiblement méthylées, sont présentes dans la paroi complexées par des ions calcium, elles sont donc extractibles par un agent chélatant du calcium, qui forme avec les pectines des pectates aisément solubles dans l'eau à chaud.

Le résidu I séparé de l'étape précédente est ensuite traité par une solution d'EDTA 0.7% à 60°C pendant deux cycles de 2 heures sous agitation. Chaque extraction est suivie d'une filtration et d'un lavage à l'eau chaude. Les extraits I sont séparés du résidu II, puis ils seront concentrés jusqu'à 1/3 du volume initial, et après ils seront traités par trois volumes d'isopropanol en vue de faire précipiter les extraits des pectines faiblement méthylées.

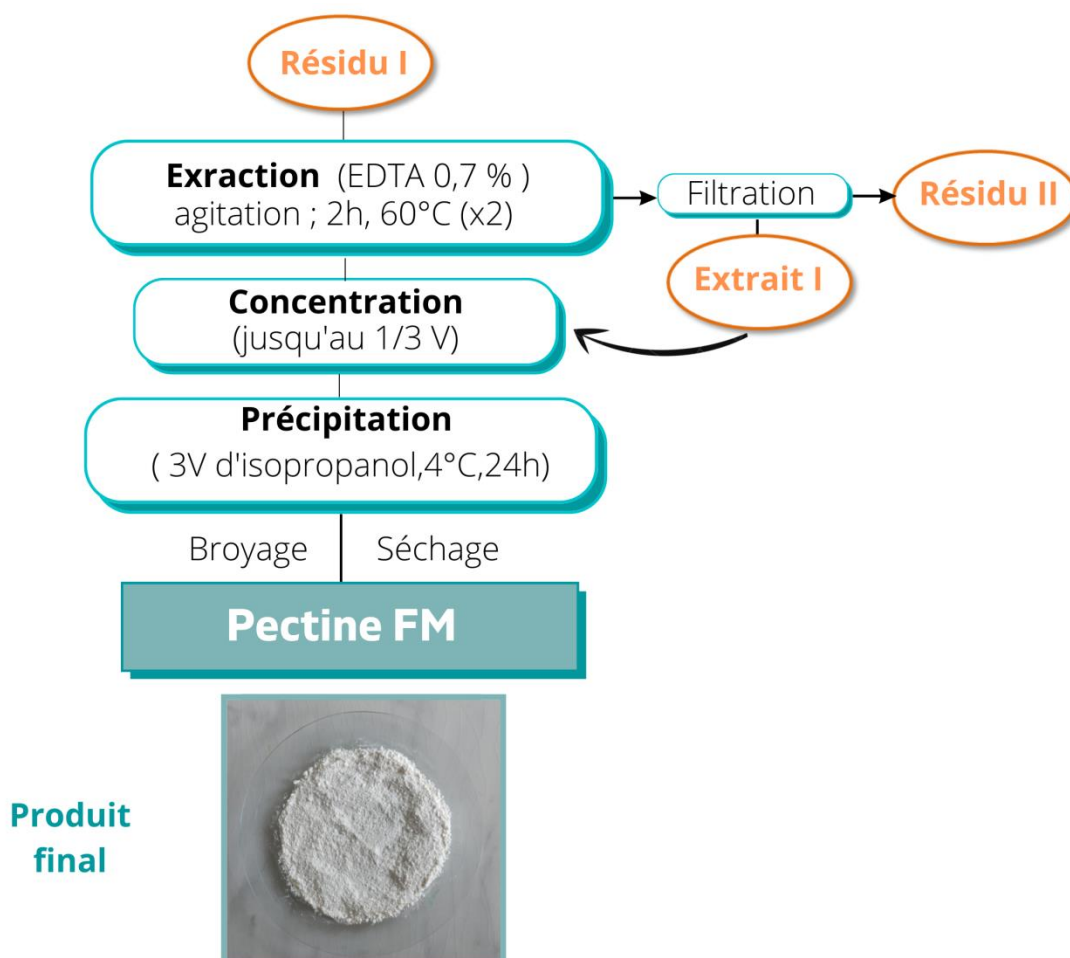


Figure II.3. Schéma d'extraction des pectines faiblement méthylées.

Les pectines hautement méthylées sont extractibles par l'eau à chaud, elles sont extraites à partir du résidu II de l'étape précédente par une solution d'acide chlorhydrique (HCl, 0,05M, pH=2), pendant deux cycles d'une heure chacun à 80°C. L'extrait est concentré jusqu'à 1/3 du volume initial, puis précipité par trois volumes d'isopropanol. Le précipité est ensuite séché dans l'étuve à 55°C, puis broyé en poudre fine pour obtenir des pectines hautement méthylées.

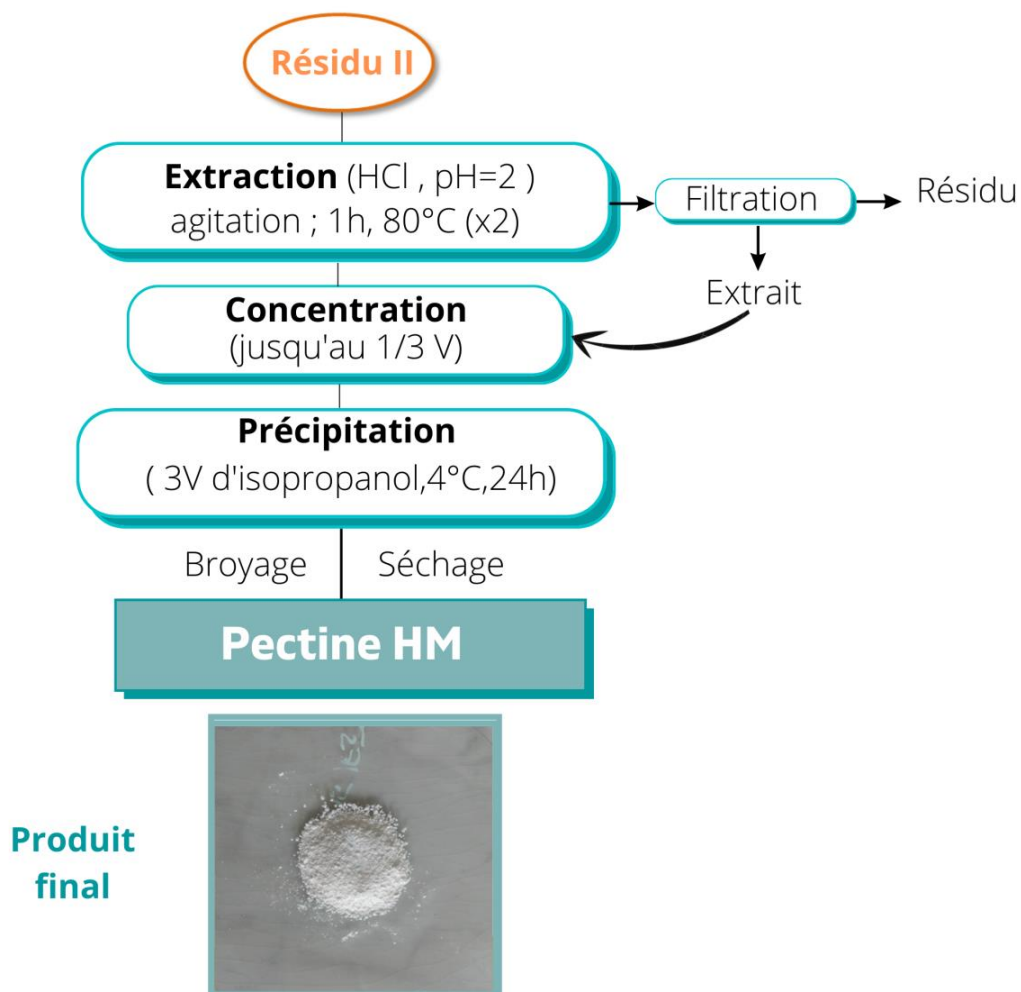


Figure II.4. Schéma d'extraction des pectines hautement méthylées.

II.1.3. Rendement d'extraction des polysaccharides pectiques

Le rendement de la pectine issue de l'écorce d'orange a été déterminé en gramme de produit obtenu par 10g de poudre d'écorce d'orange utilisée:

$$\text{Rendement de la pectine (\%)} = \frac{\text{masse de pectine récupérée (g)}}{\text{masse de poudre d'écorce d'orange (10g)}} \times 100$$

II.1.4. Caractérisation spectroscopique des extraits des polysaccharides pectiques

- **Analyse par spectroscopie FTIR**

La spectroscopie IR à transformée de Fourier est une méthode d'analyse physique rapide, simple à mettre en œuvre et qui permet de déterminer la présence de groupements fonctionnels dans les molécules organiques, et les structures de certaines molécules simples. Leur principe repose sur l'absorption du rayonnement infrarouge lorsque la longueur d'onde du faisceau est égale à l'énergie de vibration de la molécule [3].

Le mode ATR (Attenuated Total Reflectance) est la technique la plus couramment utilisée en spectroscopies infrarouge. Elle possède une manipulation simple et ne nécessite pas une préparation ou une dilution d'échantillons, et permet de mesurer les solides, les liquides et les gels [3].

- **Mode opératoire**

Les analyses des extraits de pectine FM et HM ont été réalisés au sein de l'Ecole Nationale Polytechnique (Constantine), avec un spectromètre infrarouge à transformée de Fourier en mode ATR (FTIR-ATR) de type Bruker dans une gamme de nombres d'ondes allant de 400 à 4000 cm^{-1} .



Figure II.5. Spectromètre FTIR en mode ATR.

II.1.5. Détermination du degré de méthylation DM

Le degré de méthylation des extraits de pectine a été déterminé par la méthode titrimétrique [4].

Une quantité de 250mg d'extrait sec de la pectine a été humidifiée avec 2,5ml d'éthanol pour éliminer les impuretés d'acide organique, puis dissous dans 25ml d'eau distillé à 40°C. Six gouttes de phénolphthaléine ont été ajoutées après la dissolution complète de la pectine, la solution est ensuite titrée avec NaOH (0,25M) afin de neutraliser les acides carboxyliques libres d'acide galacturonique jusqu'au changement de la couleur en rose. Le volume récupéré dans cette opération noté comme V_1 .

Ensuite, 10ml de NaOH (0,25M) ont été ajoutés avec agitation pendant 30min pour l'hydrolyse, suivi par l'ajout de 10 ml de HCl (0,25M) avec agitation jusqu'à la disparition complète de la couleur rose. L'excès de HCl a été titré avec du NaOH (0,5M). Le volume de NaOH dépensé pour le titrage est noté V_2 .

Le degré de méthylation de pectine est calculé selon la formule suivante:

$$DM(\%) = \frac{V_2}{V_2 + V_1}$$

II.2. Préparation du complexe polyélectrolyte

Pour former un complexe polyélectrolyte (CPE), les deux polymères doivent être ionisés et portés des charges opposées. Pour réussir cela, il faut le faire délicatement à plusieurs étapes [5].

Tout d'abord, la solution de pectine a été préparée en dissolvant 50 mg de poudre de pectine faiblement méthylée dans 5ml d'eau distillé, avec l'agitation jusqu'à l'homogénéisation.

Pour la solution de chitosane, 50 mg de poudre de chitosane a été dissoute dans 5ml d'eau distillée, et en ajoutant 29 μ l d'acide acétique (0,1M) avec agitation jusqu'à l'homogénéisation. Le chitosane grâce à sa propriété de former un film insoluble dans des conditions neutres et alcalines, va servir à immobiliser la pectine et la garder stable et active.

Le chitosane reste toutefois perméable à la diffusion des substances, qui prend tout son intérêt dans l'immobilisation des biomolécules [6].

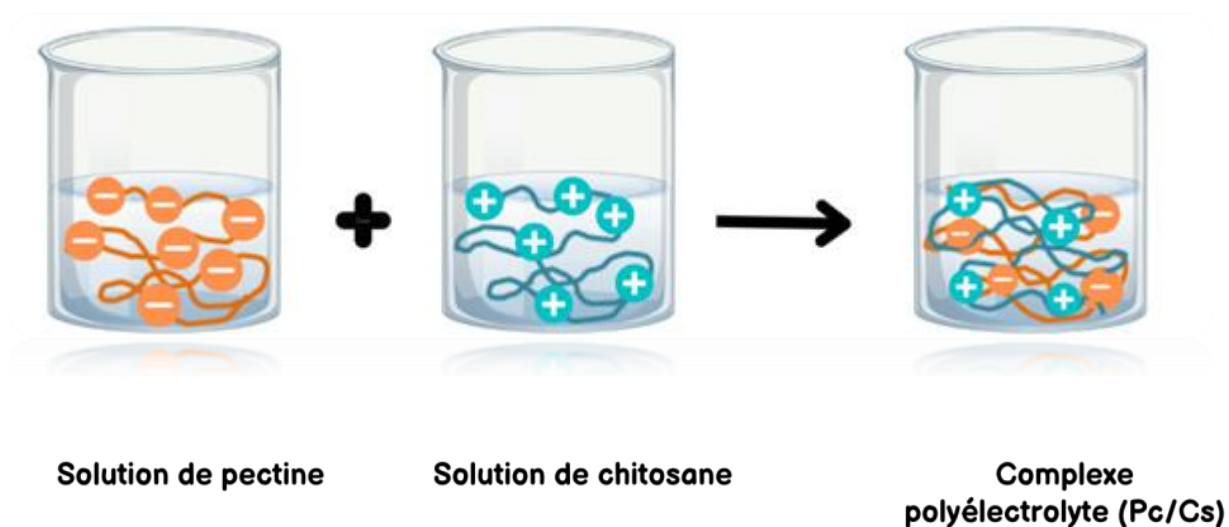


Figure II.6. Préparation du CPE (pectine-chitosane).

Plusieurs CPE pectine-chitosane ont été préparés en variant la composition en Pc et Cs à chaque fois (Pc : Cs 1 :1, 2 :1, 1 :2). Les autres conditions ont été fixées.

Tableau II.1. La variation de la composition du CPE.

Complexe Pc : Cs	Solution de pectine	Solution de chitosane
1 :1	1ml	1ml
2 :1	2ml	1ml
1 :2	1ml	2ml

II.2.1. Effet de la valeur du pH

Le pH est l'un des facteurs les plus importants qui affecte directement la formation du CPE. Un complexe polyélectrolyte entre une polybase faible comme le chitosan et un polyacide faible comme la pectine se produit le plus souvent dans la plage du pH comprise entre les pKa des deux polymères [7]. Autrement dit, la plage du pH dans laquelle plus de la moitié des groupes ioniques des deux polymères sont ionisés.

Pour le complexe pectine-chitosane, cela correspond à des valeurs du pH comprises entre 3,5 (pKa de la pectine) et 6 ± 1 (pKa du chitosan) ($3,5 < \text{pH} < 6$).

De ce fait, un ajustement du pH de chaque mélange des CPE a été effectué dans cette intervalle afin d'obtenir une meilleur stabilité. La figure II.7 illustre une représentation schématique de la formation du CPE entre la pectine et le chitosane.

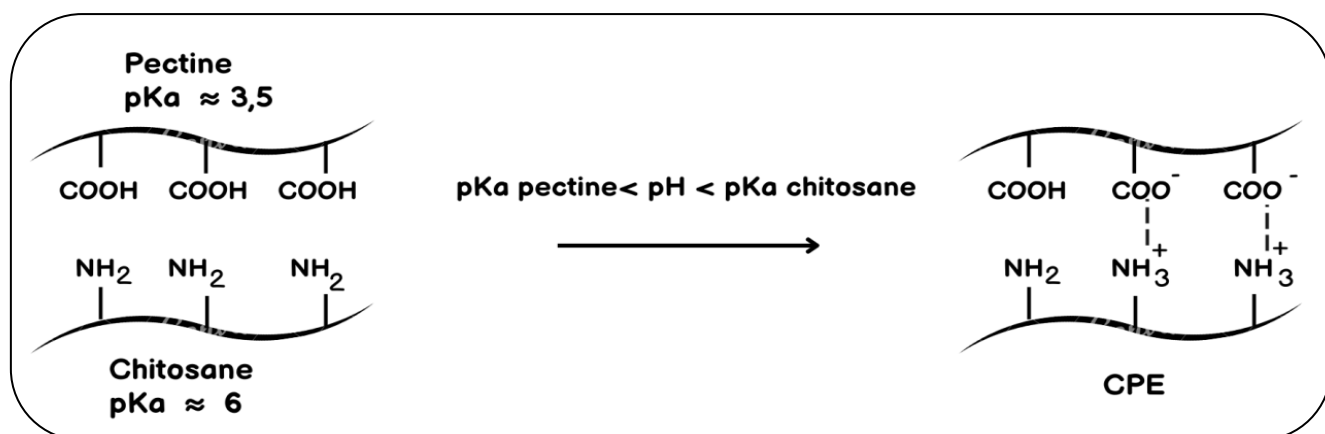


Figure II.7. Schéma du CPE Pectine-Chitosane.

II.2.2. Caractérisation par spectroscopies FTIR

Les différents complexes polyélectrolytes Pc-Cs ont été ensuite caractérisés par la spectroscopie FTIR pour vérifier la formation de l'interaction entre le groupe (-NH₃⁺) du chitosane et le groupe carboxyle (-COO⁻) de la pectine, dans une gamme de nombres d'ondes allant de 400 à 4000 cm⁻¹. La caractérisation a été réalisée au sein de l'Ecole Nationale Polytechnique (Constantine).

II.3. Développement du capteur

II.3.1. Transducteur

Les transducteurs en or utilisés ont une épaisseur de 300nm, ils ont été fournis par le Laboratoire d'Analyse et d'Architecture des Systèmes (LAAS, CNRS TOULOUSE, FRANCE). Une couche de résine est déposée sur la surface d'or afin de la protéger 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 cm².

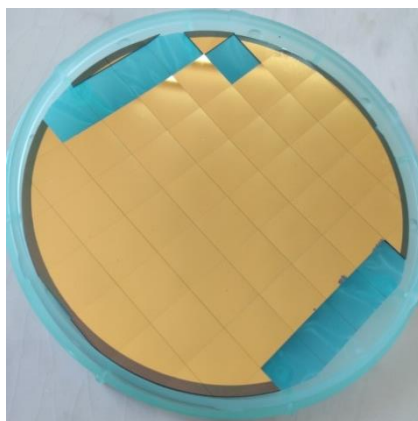


Figure II.8. Electrodes en or.

II.3.1.1. Nettoyage de la surface des électrodes

La surface de l'électrode a été nettoyée à l'acétone pendant 10min, puis séchée à l'air libre et incubée par la suite dans une solution de piranha (H_2SO_4 : H_2O_2 7ml : 3ml) pendant 1 minute, cela va engendrer une réaction fortement exothermique et qui va permettre de nettoyer les résidus organiques sur le substrat et d'activer la surface. L'électrode est rincée abondamment à l'eau distillée, puis à l'éthanol [8].

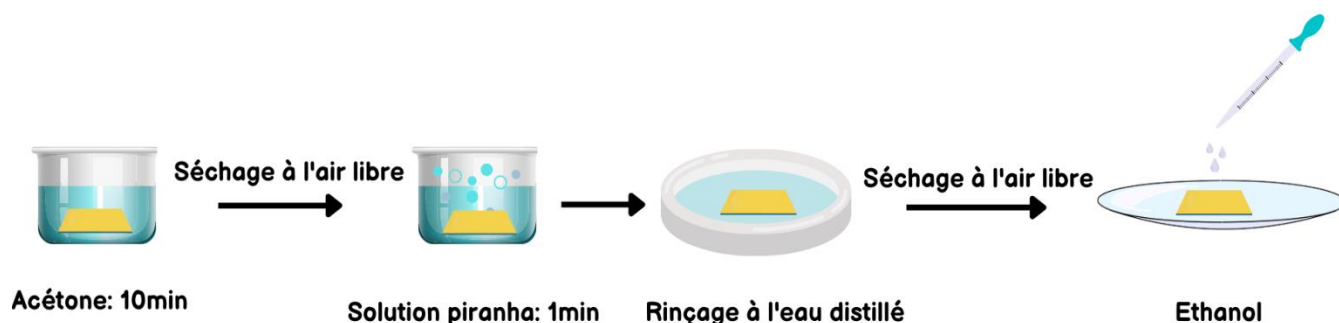


Figure II.9. Schéma représentatif des étapes de nettoyage des électrodes.

II.3.2. Fonctionnalisation de la surface d'électrode d'or avec le CPE

II.3.2.1. Dépôt du film polyélectrolyte

Un volume de 20 μ l du complexe polyélectrolyte (Pc-Cs) est prélevé pour le déposer par « spin-coating » à 2000 rpm à la surface de l'électrode en Or. La surface est laissée sécher à l'air libre. A la fin de ces différentes étapes, notre substrat est prêt pour la détection de la dopamine.

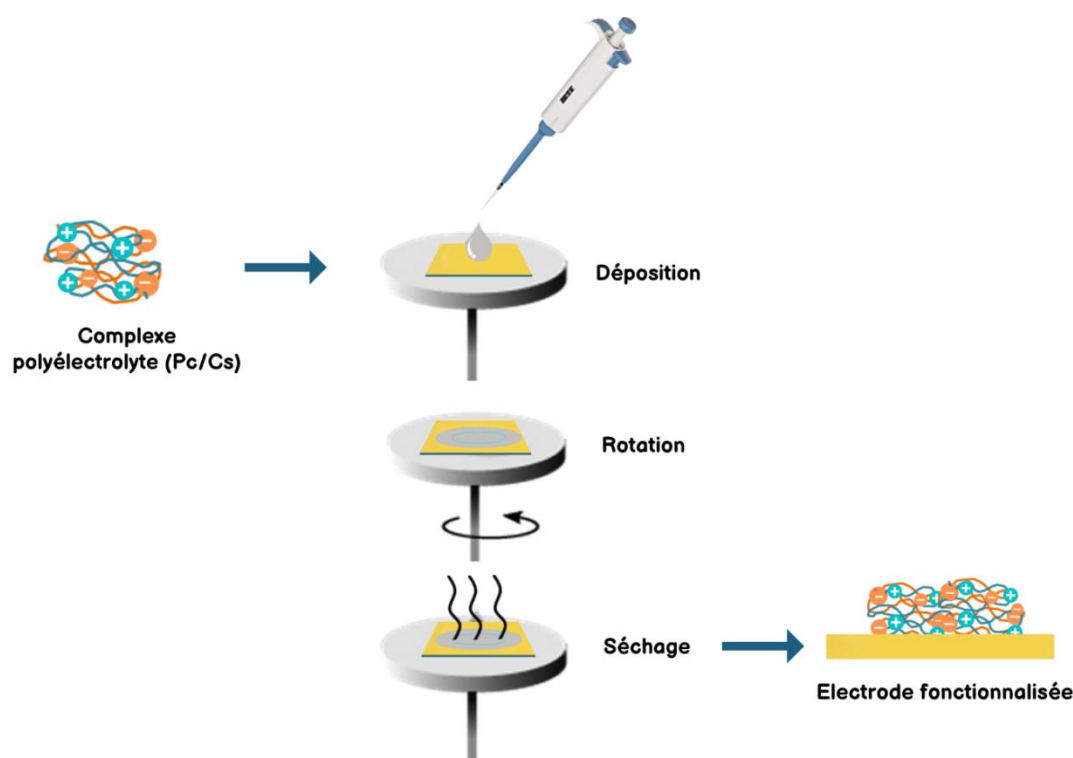


Figure II.10. Schéma représentatif de fonctionnalisation de l'électrode en or.

II.3.3. Caractérisation électrochimiques de l'électrode (Au/Pc/Cs)

La technique électrochimique utilisée pour la détection, est la voltammétrie qui se base sur le potentiel d'oxydation des espèces chimiques.

Toutes les études voltammétriques ont été effectuées dans une cellule électrochimique thermostatée de contenance interne de 3mL, avec un montage à trois électrodes:

- **Electrode de travail :** dans notre cas, il s'agit d'une électrode en or modifiée par la membrane du CPE (Pc-Cs), sur laquelle se déroule la réaction électrochimique.
- **Electrode de référence :** c'est une électrode au calomel saturé (Ag/AgCl).

- **Electrode auxiliaire (contre électrode) :** c'est une plaque en platine qui fonctionne comme un conducteur fournissant le courant nécessaire pour la réaction électrochimique sur l'électrode de travail.

La cellule est liée à un potentiostat «PalmSens4», piloté par le logiciel «PsTrace» permettant de choisir la méthode d'analyse et le traitement des données. Par ailleurs, ce potentiostat permet de détecter le courant d'oxydo-réduction des espèces électroactives dans la solution.

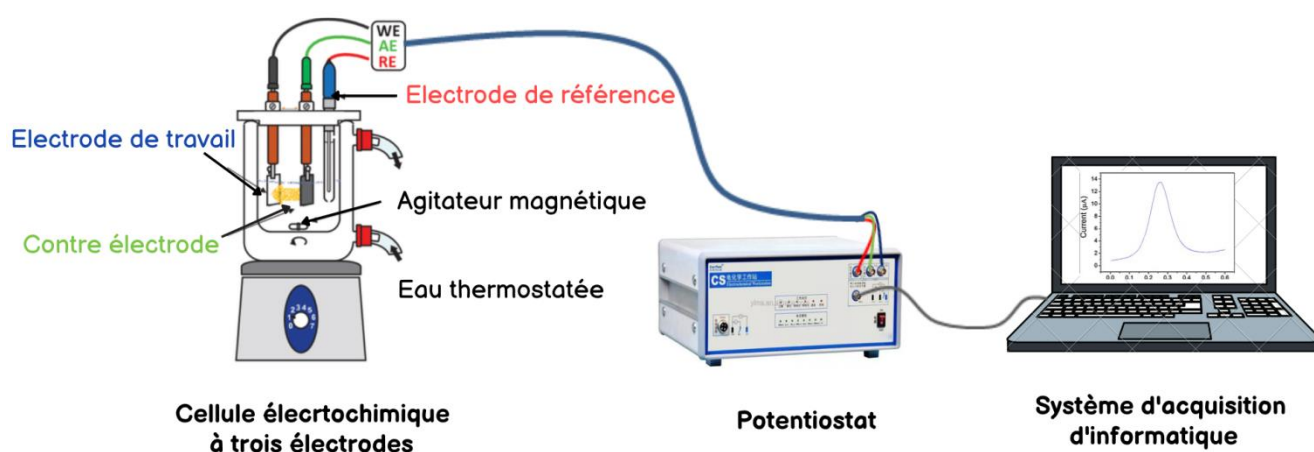


Figure II.11. Représentation schématique de montage de mesures électrochimiques.

Les mesures électrochimiques sont effectuées en présence des différentes concentrations de la dopamine dans une solution tampon phosphate (PBS) (0.1M, pH=7) dans une gamme de potentiel comprise entre -1 V et 1 V avec une vitesse de balayage de 80 mV/s.

II.3.3.1. Techniques de caractérisation électrochimique

a. La voltammétrie cyclique (CV)

La voltammétrie cyclique est la technique électro-analytique la plus polyvalente pour l'étude des espèces électroactives [9]. Elle repose sur l'application d'une différence de potentiel électrique variable et contrôlée entre l'électrode de référence et l'électrode de travail. Le potentiel est appliqué sous la forme de balayage triangulaire (balayage aller et balayage retour) en fonction du temps. (Figure II.12.a) [10].

Cette technique consiste à étudier les propriétés de la réaction d'oxydoréduction qui se produit à l'interface de l'électrode de travail, suite au transport des ions de l'espèce électroactive vers

l'électrode de travail. La réponse du système se présente par une courbe de courant mesurée entre la contre électrode et l'électrode de travail, en fonction du potentiel appliqué $I=f(E)$ (Figure II.12.b). Le courant "I" représente la somme de deux courants distincts: courant faradique, I_f et le courant capacitif I_C ($I = I_f + I_C$) [10].

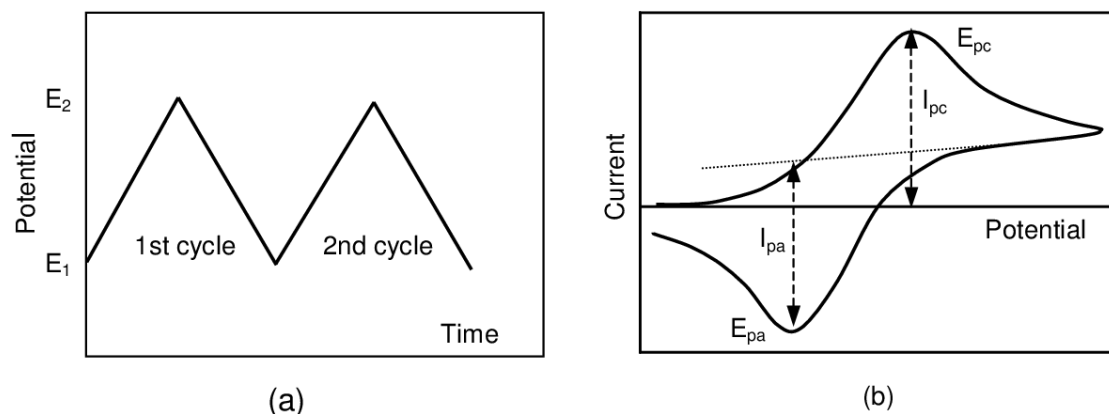


Figure II.12. Voltammétrie cyclique. (a) : forme du potentiel appliqué ($E=f(t)$), (b) : réponse en courant $I=f(E)$) [11].

Le balayage retour offre des informations sur la réversibilité du système électrochimique selon la valeur de ΔE_p ($\Delta E_p = E_{pa} - E_{pc}$), ce dernier peut être réversible, irréversible ou quasi-réversible comme le montre la figure (II.13) [12].

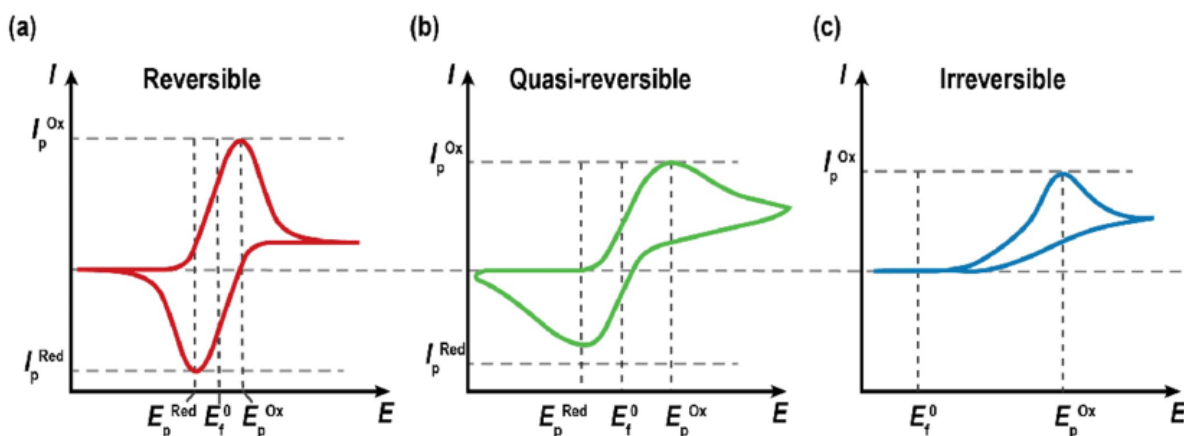


Figure II.13. Voltammogramme cycliques: (a) cas d'un système réversible, (b) cas d'un système quasi-réversible, (c) cas d'un système irréversible [12].

b. La voltammétrie à ondes carrées (SWV)

Le signal d'excitation en SWV consiste en une impulsion d'onde carrée symétrique d'amplitude E_{sw} superposée à une onde d'escalier de hauteur ΔE et de période t .

Dans un cycle de SWV, le courant est mesuré à la fin de l'oxydation allant dans la direction positive (impulsion directe, I_{fwd}) et la direction négative vers la réduction (impulsion inverse, I_{rev}) générant un pic pour chacun des processus [13].

Cette double mesure minimise la contribution du courant capacitif sur la lecture totale du courant. La différence entre ces deux courants ($\Delta I = I_{fwd} - I_{rev}$) est tracée en fonction du potentiel de balayage pour obtenir un affichage du voltammogramme en forme de pic (Figure II.14.a) où la hauteur de pic dans ce tracé est proportionnelle à la concentration des espèces électroactives. Etant donné que la technique SWV supprime le courant capacitif des mesures, elle permet une analyse rapide avec une large gamme dynamique d'espèces électroactives, résultant ainsi en une sensibilité plus élevée par rapport à la technique CV [13].

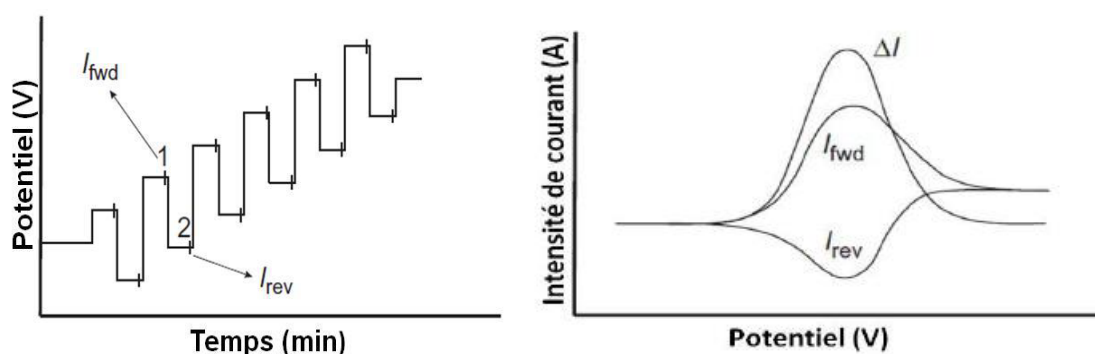


Figure II.14. Voltammétrie à ondes carrées (a) : forme du potentiel appliqué ($E = f(t)$), (b) : réponse en courant $I = f(E)$ [13].

c. La voltammétrie différentielle (DPV)

La voltammétrie différentielle (DPV) est une technique qui consiste à appliquer des impulsions de potentiel d'amplitude sur une rampe linéaire de potentiel. En DPV, on choisit une valeur potentielle de base à laquelle il n'y a pas de réaction faradique et on l'applique à l'électrode. Le potentiel de base est augmenté entre les impulsions avec des incréments égaux. Le courant est immédiatement mesuré avant et après l'impulsion, et la différence entre eux est enregistrée. La figure II.15 montre la forme de l'impulsion en DPV [14].

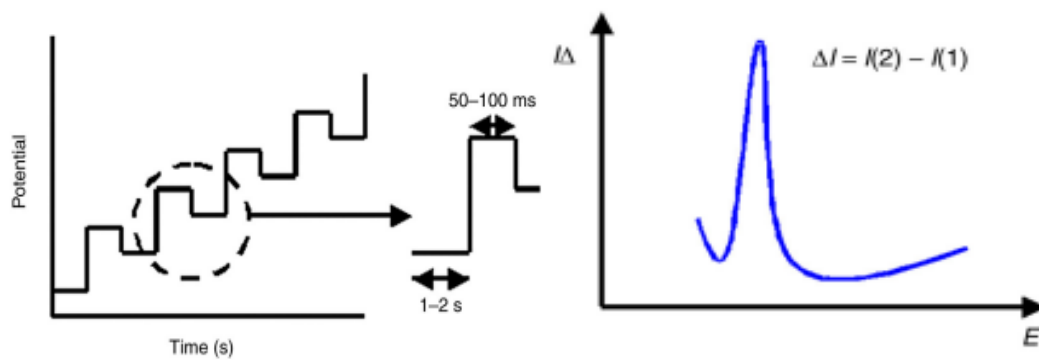


Figure II.15. Voltammétrie différentielle (a): forme du potentiel appliqué ($E = f(t)$), (b): réponse en courant [14].

Références bibliographiques

- [1] AFNOR (1986) : association française de normalisation. *recueil de normes françaises des fruits et produits dérivés*, 3 ed., paris.
- [2] Habibi, Y. (2004). *Contribution à l'étude morphologique, ultrastructurale et chimique de la figue de barbarie. Les polysaccharides pariétaux: caractérisation et modification chimique*. (Thèse de doctorat, Université de Grenoble I).
- [3] Sakhraoui, H.Y. (2021). *Synthèse, caractérisation des polymères à empreintes moléculaires et leurs applications en environnement*. (Thèse de doctorat, Université de Setif I).
- [4] Sayah, M. Y., Chabir, R., Benyahia, H., Rodi Kandri, Y., Ouazzani Chahdi, F., Touzani, H., & Errachidi, F. (2016). Yield, esterification degree and molecular weight evaluation of pectins isolated from orange and grapefruit peels under different conditions. *PloS one*, 11(9), e0161751.
- [5] Chakroun, H., Rassas, I., Namour, P., Bonhomme, A., Raimondi, G., Besbes Hentati, S., & Jaffrezic-Renault, N. (2020). A Laccase/Chitosan-Lambda-Carrageenan Based Voltammetric Biosensor for Phenolic Compound Detection. *Electroanalysis*, 32(4), 732-740.
- [6] Barthes, J. (2014). *Revêtements surfaciques à base de polymères et de composants naturels: applications à la mise au point de surfaces mécano-sensibles et de substrats cellulaires nourriciers*. (Thèse de doctorat, Université de Strasbourg).
- [7] Coimbra, P., Ferreira, P., De Sousa, H. C., Batista, P., Rodrigues, M. A., Correia, I. J., & Gil, M. H. (2011). Preparation and chemical and biological characterization of a pectin/chitosan polyelectrolyte complex scaffold for possible bone tissue engineering applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 48(1), 112-118.
- [8] Bouraoui, S. (2018). *Elaboration, étude et développement de capteurs biochimiques à base de substances actives de plantes pour la détection sélective de quelques polluants dans les milieux hydriques*. (Thèse de doctorat, Université de Jijel).
- [9] Kissinger, P. T., & Heineman, W. R. (1983). Cyclic voltammetry. *Journal of chemical education*, 60(9), 702.

- [10] Sboui, D. (2016). *Développement et évaluation d'un micro-biocapteur électrochimique pour l'immuno-détection en temps réel de Legionella pneumophila dans les échantillons environnementaux*. (Thèse de doctorat, Université de Lyon1).
- [11] Xie, X. (2005). *Assessment of an ultramicroelectrode array (UMEA) sensor for the determination of trace concentrations of heavy metals in water*. Univ.-Verlag Karlsruhe.
- [12] Wijeratne, K. (2019). *Conducting Polymer Electrodes for Thermogalvanic Cells* (Vol. 1971). Linköping University Electronic Press.
- [13] Chakroun, H. (2020) .*Préparation, étude du matériau Chitosane et son application dans le domaine des biocapteurs*. (Thèse de doctorat, Université de Lyon1).
- [14] Brett, C. M., Brett, O., & Electrochemistry, A. M. (1993). *Principles, methods, and applications*. Oxford University Press, New York.

Chapitre III

Résultats et discussions.

III. Introduction

Dans ce chapitre, nous exposons en premier lieu, les différents résultats obtenus lors l'extraction et les caractérisations physicochimiques des polysaccharides pectiques issues de l'écorce d'orange, ainsi que du complexe polyélectrolyte élaboré.

En deuxième lieu, nous rapportons et nous interprétons les résultats de l'optimisation du pH et de la composition des complexes polyélectrolytes, nous présentons ainsi les résultats de la caractérisation électrochimique lors de la détection de la dopamine dans une solution tampon. Enfin, un mécanisme réactionnel de la dopamine avec la surface d'électrode fonctionnalisée sera proposé.

III.1. Etude du séchage

La courbe de cinétique du séchage des écorces d'orange est présentée sur la figure III.1.

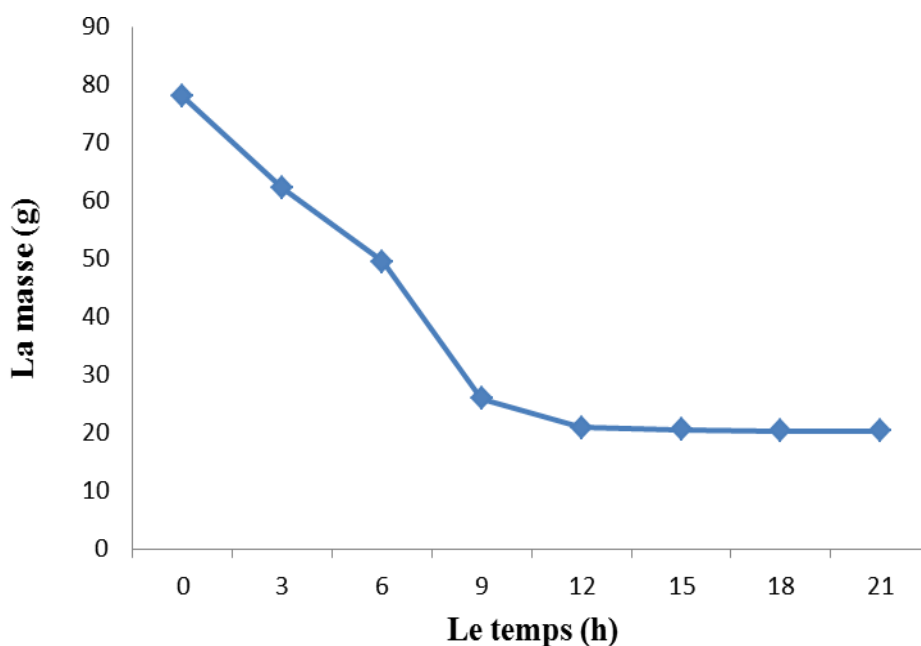


Figure III.1. Cinétique de séchage des écorces d'orange.

On constate que le temps pris pour le séchage des écorces d'orange à 55°C a été approximativement 15h.

III.1.1. Détermination de la teneur en eau du matériel végétal

Notre écorce d'orange a montré un taux d'humidité important correspond à environ 73,16 %. Cela signifie plus de la moitié du poids de l'écorce fraîche est constituée d'eau et le reste du poids de l'écorce 26,84 % c'est la matière sèche. Les résultats sont représentés dans la figure III.2.

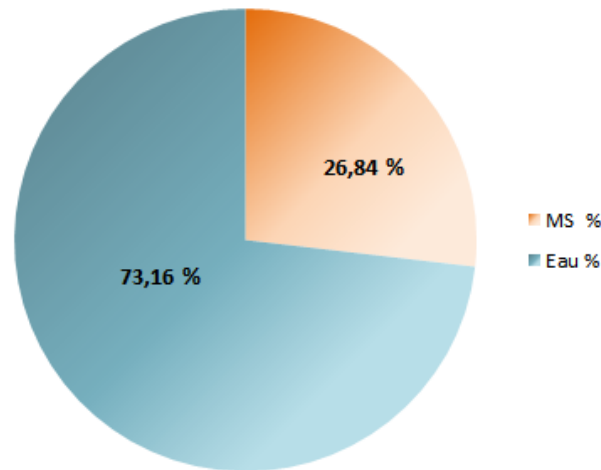


Figure III.2. Graphique représentatif du taux d'humidité et la matière sèche (MS) d'écorce d'orange.

III.2. Rendement des extraits

Le rendement obtenu est déterminé par rapport à 10g de matière végétale sèche. Les valeurs du rendement des pectines hautement méthylées (PHM) et des pectines faiblement méthylées (PFM) sont représentés dans le tableau (III.1).

Tableau III.1. Rendement des différentes fractions extraites.

Fraction	M_0 (g)	M_1 (g)	Rendement
PFM	10	3,73	37,3 %
PHM	10	0,42	4,2 %

M_0 : La masse de la matière végétale sèche (g).

M_1 : La masse de la pectine extraite (g).

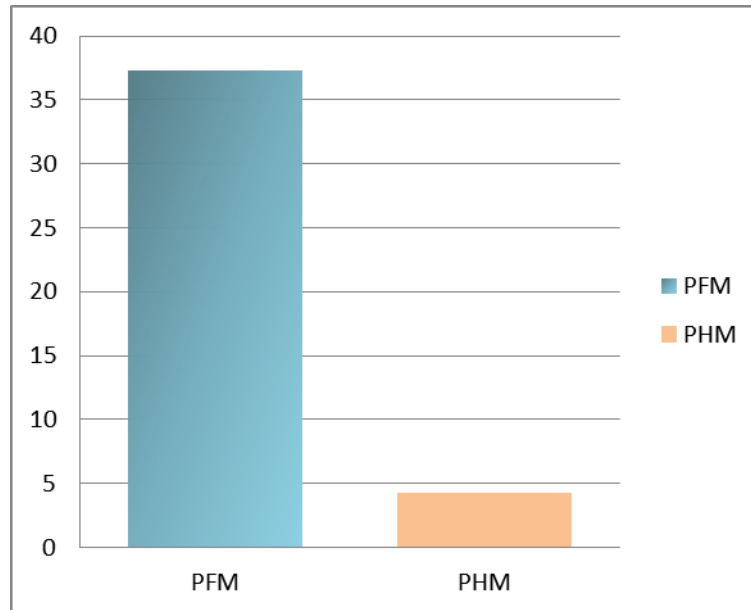


Figure III.3. Comparaison entre les rendements d'extraction du PFM et du PHM.

Les résultats représentés sur la figure III.3, montrent que les rendements du PFM et du PHM à partir des écorces d'orange, ont des valeurs de 37,3% et 4,2%, respectivement.

Notre rendement d'extraction du PFM (37,3%) est inférieur à celui de Tiwari et al qui ont trouvé 52,9%, et supérieur au celle de Mota et al qui ont trouvé 15,71% [1,2].

Le rendement rapporté par Mota et al concernant l'extraction de la pectine HM est de 14,64%, ce qui est supérieur à ce que nous avons trouvé dans cette étude (4,2%) [2].

Cependant, ces différences en teneur en pectine peuvent être liées à l'origine du végétal, à leur composition chimique et aux conditions environnementales, ainsi qu'aux méthodes d'extraction appliquées, aux conditions expérimentales, et à la nature des solvants utilisés dans l'extraction.

III.3. Le degré de méthylation

La détermination du degré de méthylation des pectines par la méthode de titrage a révélé les résultats illustrés dans le tableau suivant :

Tableau III.2. Résultats de DM.

Extrait	V ₁ (ml)	V ₂ (ml)	DM
PFM	3,6 ml	1,1 ml	23,4 %
PHM	2,2 ml	7,3 ml	76,8 %

Le DM de la pectine est l'un des facteurs importants qui doit être pris en considération pour l'obtention d'un CPE stable. Ses caractéristiques sont liées aux charges libres disponibles pour la pectine, influençant directement sa capacité de formation des complexes avec d'autres polysaccharides. En effet, plus la pectine est faiblement méthylée, plus les groupes carboxyles sont libres, ce qui facilite son ionisation et donc la formation d'un CPE avec des groupes positivement chargés

III.4. Caractérisation par spectroscopie FTIR

- **Spectre FTIR du Chitosane**

Le spectre IR du chitosane (figIII.4) révèle une large bande de longueur 3670 cm^{-1} à 3000 cm^{-1} qui correspond aux vibrations de valences des groupements hydroxyles O-H et aux vibrations d'étirement N-H des groupes amine et amide [3].

Les bandes observées à 2924 cm^{-1} et 2867 cm^{-1} correspondent à l'étirement symétrique et asymétrique des liaisons C-H respectivement [4].

La présence de groupe N-acétyl a été confirmé par la présence des bandes carbonyle (C=O) de l'amide I à 1633 cm^{-1} [4]. Les bandes d'absorption à 1530 cm^{-1} et 1360 cm^{-1} correspondent respectivement à la bande de l'amide II (déformation N-H) et d'amide III (étirement C-N) [5]. Tandis que les bandes à 1082 cm^{-1} et 1019 cm^{-1} correspondent l'étirement C-O [4].

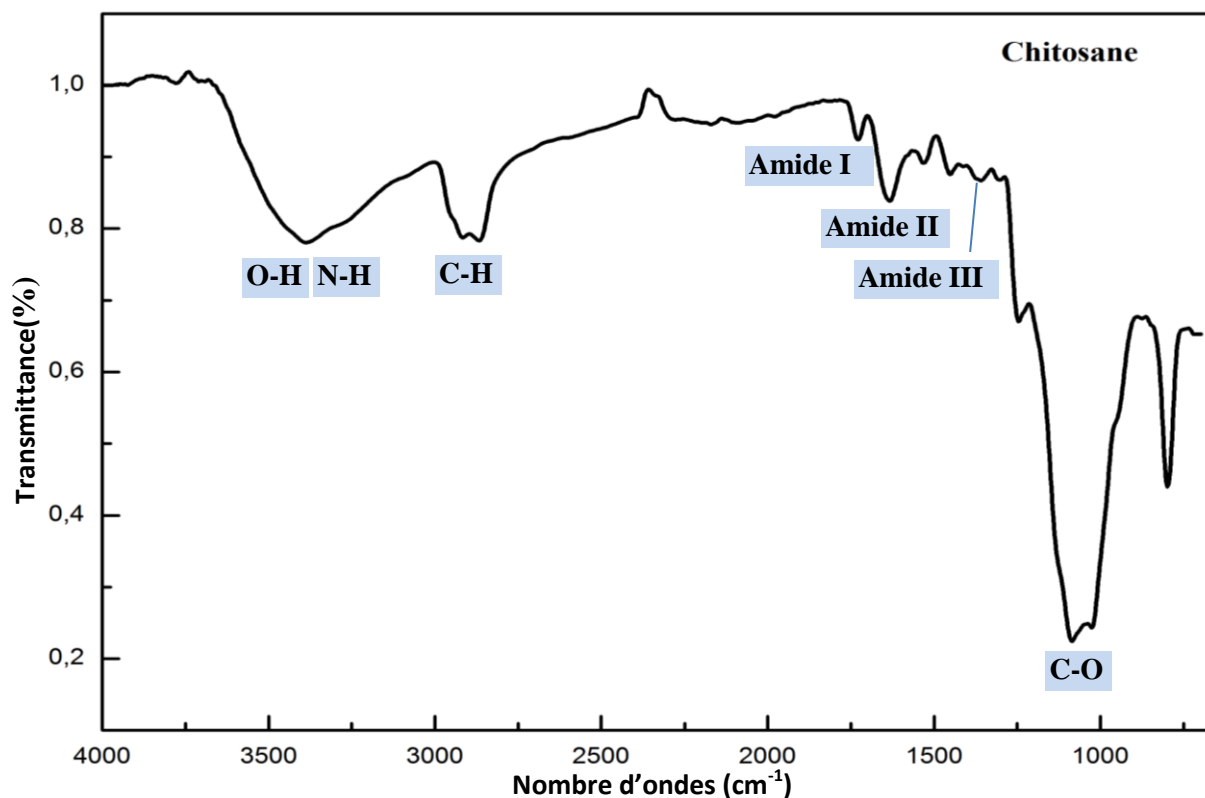


Figure III.4. Spectre FTIR du chitosane.

- **Spectre FTIR des PHM et PFM**

Une bande entre 3600cm^{-1} - 3100cm^{-1} possédant plusieurs pics montrant qu'il y a plusieurs groupes hydroxyles O-H dans la molécule de pectine HM et FM [6].

La région entre 3100 cm^{-1} et 2810 cm^{-1} correspond à l'étirement C-H qui reflète la composition monosaccharidique de la pectine [6]. Les pics en 1741cm^{-1} pour la PHM et en 1763cm^{-1} pour la PFM, sont attribués à la vibration d'élongation de groupement carboxyle d'ester, ainsi que les bandes à environ 1662cm^{-1} et à 1675cm^{-1} pour la PHM et PFM respectivement, sont attribuées aux fonctions carbonyles des acides. Ces spectres montrent que l'intensité de la bande de C=O d'ester est plus élevée à celle d'acide ce qui est le cas de PHM, contrairement à la PFM qui montre une bande de groupe C=O d'ester moins intense que celle des acides, cela peut être justifié par la différence en degré de méthylation (DM) [7-9]. Enfin, Le domaine compris entre 1100cm^{-1} - 1000cm^{-1} correspond à la vibration d'élongation des groupements latéraux C-OH et à la vibration glycosidique C-O-C [10].

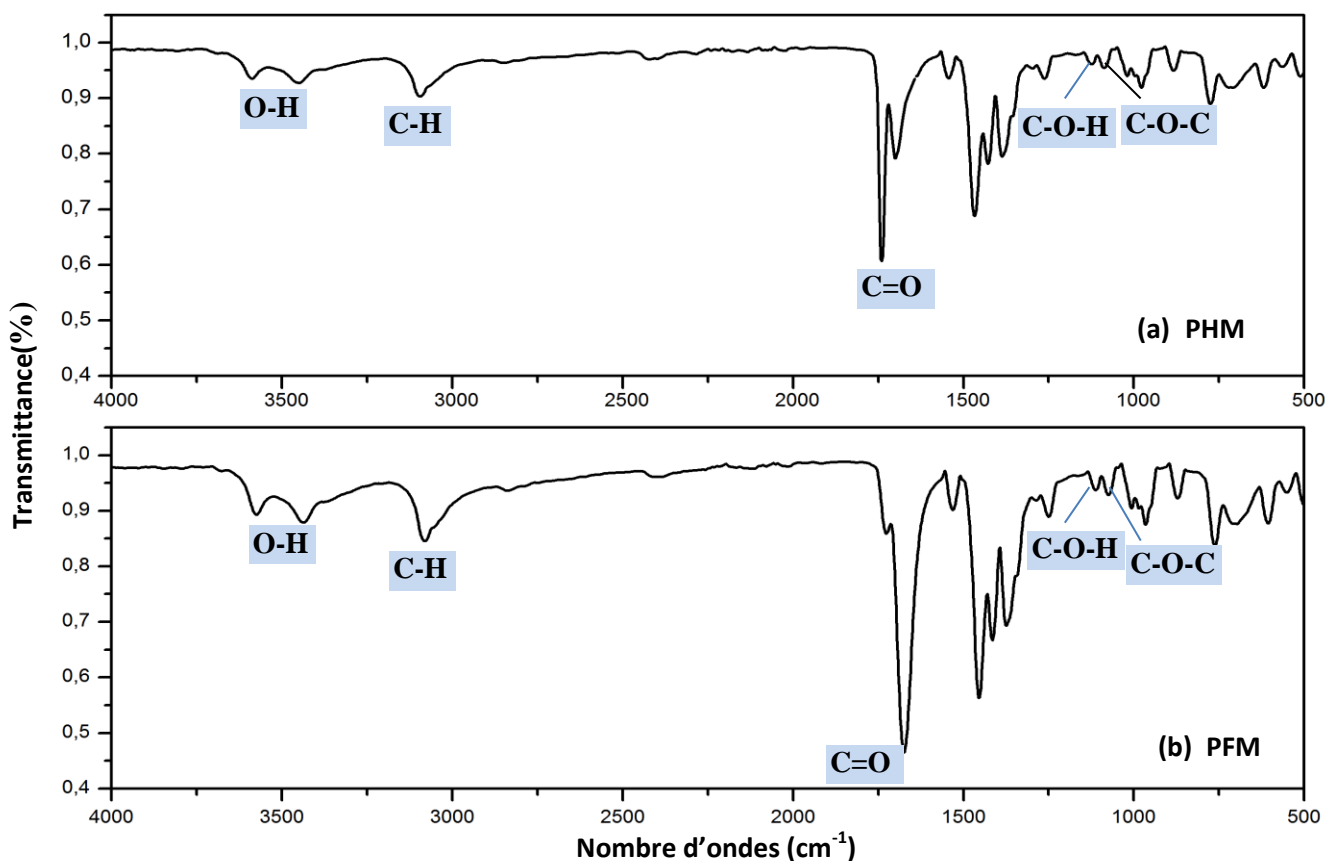


Figure III.5. Spectres FTIR des PHM (a) et PFM (b).

- **Spectre FTIR du CPE**

La comparaison entre le spectre du chitosane (a) et de la pectine FM (b) et celui du film Pc-Cs obtenu (Figure III.6.c), révèle des différences importantes pour les bandes caractéristiques de ces polysaccharides. On note une association et une croissance importante de l'intensité des bandes N-H, O-H et C-H dans la plage de 3700 cm⁻¹ à 2700 cm⁻¹. Par ailleurs, les changements principaux concernent l'interaction des groupes carboxyle et amine dans le CPE Pc-Cs qui sont illustrés dans la gamme de 1500-1800 cm⁻¹, les bandes de groupe d'amide I et d'amide II et celle de groupe carboxyle sont devenues indiscernables, représentées par la bande à 1609 cm⁻¹, ce qui indique la formation d'interaction entre le groupe -NH₃⁺ du chitosane et le groupe -COO⁻ de la pectine, et donc la formation du complexe polyélectrolyte [9,11].

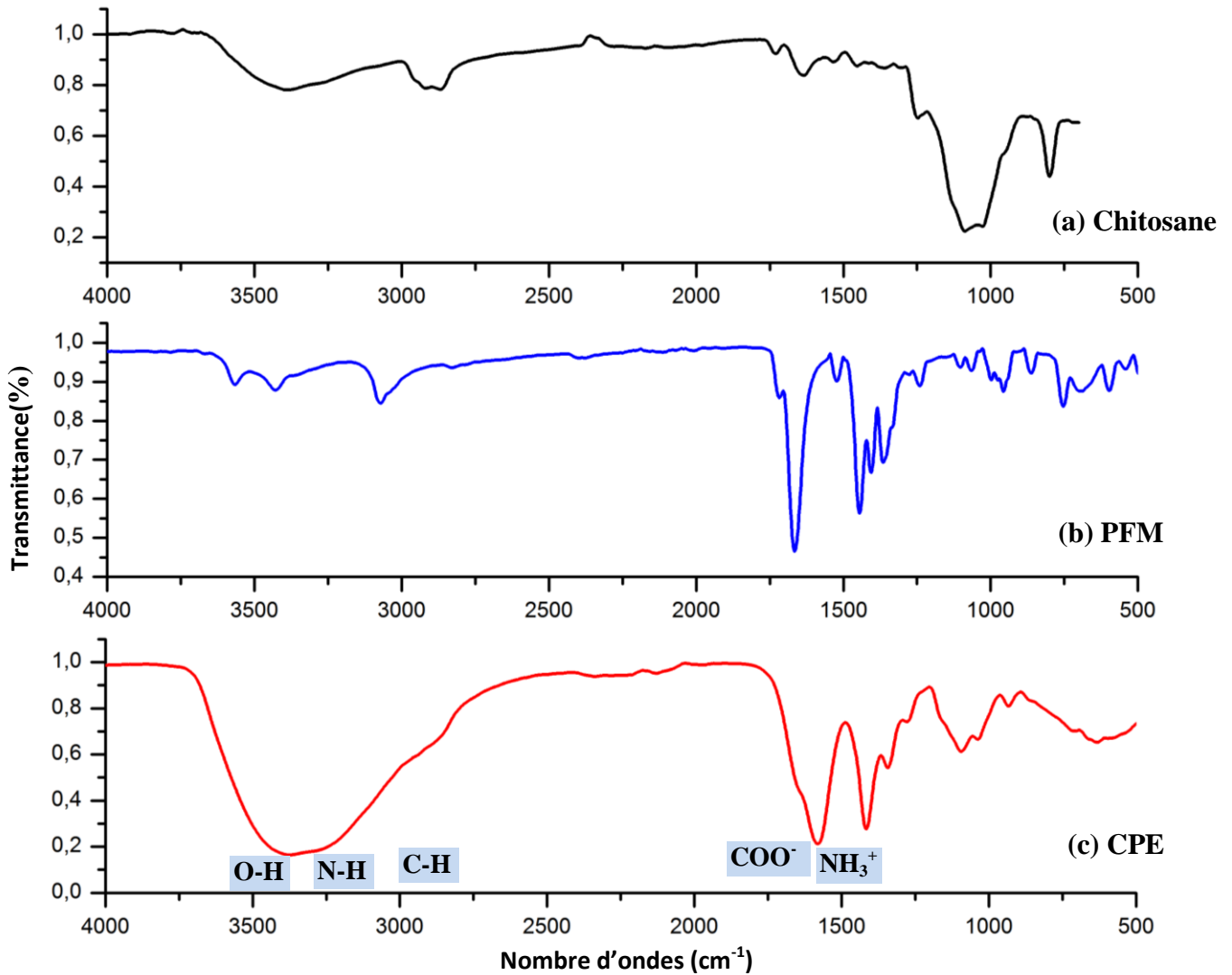


Figure III.6. Spectres FTIR du (a) Chitosane, (b) PFM, (c) CPE Pc-Cs.

- ✚ La caractérisation spectroscopique par FTIR a bien indiqué les bandes caractéristiques des pectines et de chitosane, et a également prouvé la richesse de pectine FM surtout en fonctions hydroxyles et carboxyles des acides non estérifiés, ce qui justifie leur utilisation comme partie sensible du capteur à développer. La caractérisation des CPEs a aussi bien confirmé la formation d'interaction électrostatique entre les deux biopolymères (Pc-Cs) selon le schéma illustré dans la figure III.6.

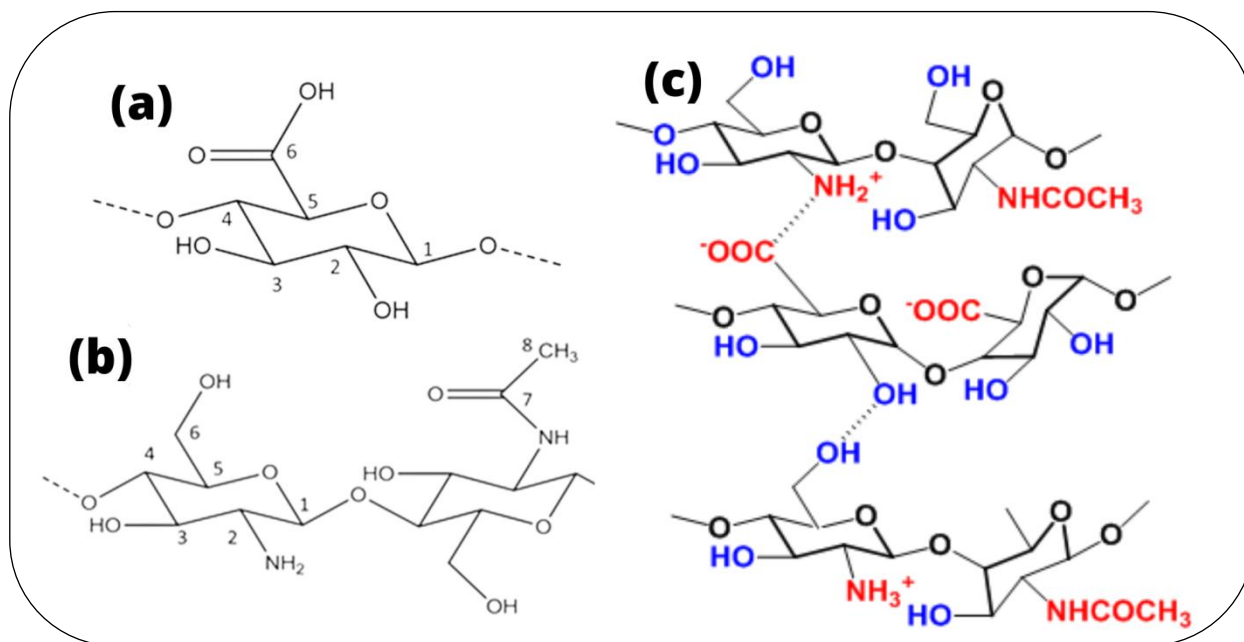
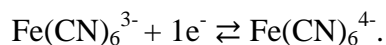


Figure III.7. Représentation de (a)pectine, (b)chitosane, (c)interaction entre Pc et Cs.

III.5. Caractérisation électrochimique

III.5.1. Etude de l'activité électrochimique des électrodes

Afin d'évaluer l'activité électrochimique des électrodes en or après le nettoyage, une caractérisation de l'électrode est étudiée par voltammétrie cyclique, en présence du couple ferrocyanure $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3/-4}$, qui est un système redox anionique monoélectronique :



Le voltammogramme d'électrode nue (courbe noire) présente la variation du courant en fonction du potentiel, il correspond à un système réversible, et indique des pics bien définis, d'oxydation I_a à 0,4V et de réduction I_c à -0,1V.

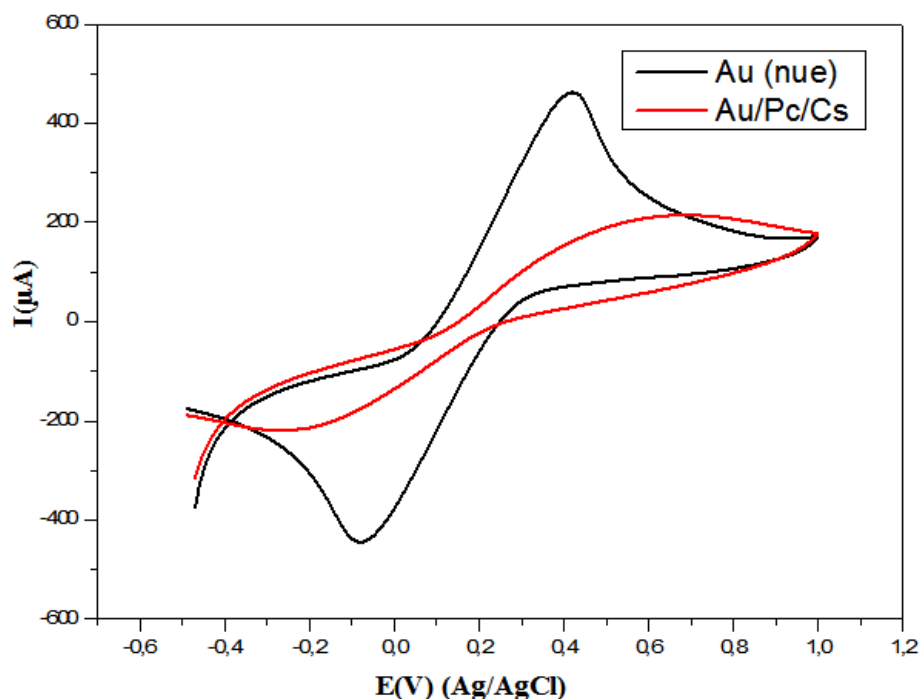


Figure III.8. voltammogramme cyclique pour l'électrode nue(courbe noire), et d'électrode fonctionnalisée(courbe rouge), en présence du $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ dans une solution PBS (0,1 M, pH 7), avec un potentiel qui varie de -0,7 V à 1,2 V, et une vitesse de balayage de 80 mV / s.

Pour évaluer le comportement électrochimique de l'électrode après la modification, une caractérisation d'électrode fonctionnalisée par la membrane polymérique a été réalisée dans les mêmes conditions, et a indiqué un déplacement du potentiel d'oxydo-réduction, ainsi qu'une diminution des pics d'oxydo-réduction est observée pour l'électrode fonctionnalisée (Au/Pc/Cs), par rapport à ceux de l'électrode nue. Cependant, le voltammogramme indique que cette membrane polymérique reste capable d'assurer le transfert de charge entre la solution et la surface d'électrode.

III.5.2. Optimisation des paramètres expérimentaux du complexe polyélectrolyte Pc-Cs

III.5.2.1. Effet du pH de CPE sur la réponse du capteur

Pour étudier l'effet de la valeur du pH de CPE sur la réponse du capteur, une série de CPE à concentration constante (Pc : Cs 1 :1) et à différents valeurs du pH (4, 4.5, 5, 5.5 et 6) a été préparée et déposée sur des électrodes en Or. On a réalisé par la suite, pour chaque

électrode, une caractérisation électrochimique avec une concentration constante du DA ($3,98.10^{-8}$ M).

Les résultats obtenus sont représentés sur courbe III.9.

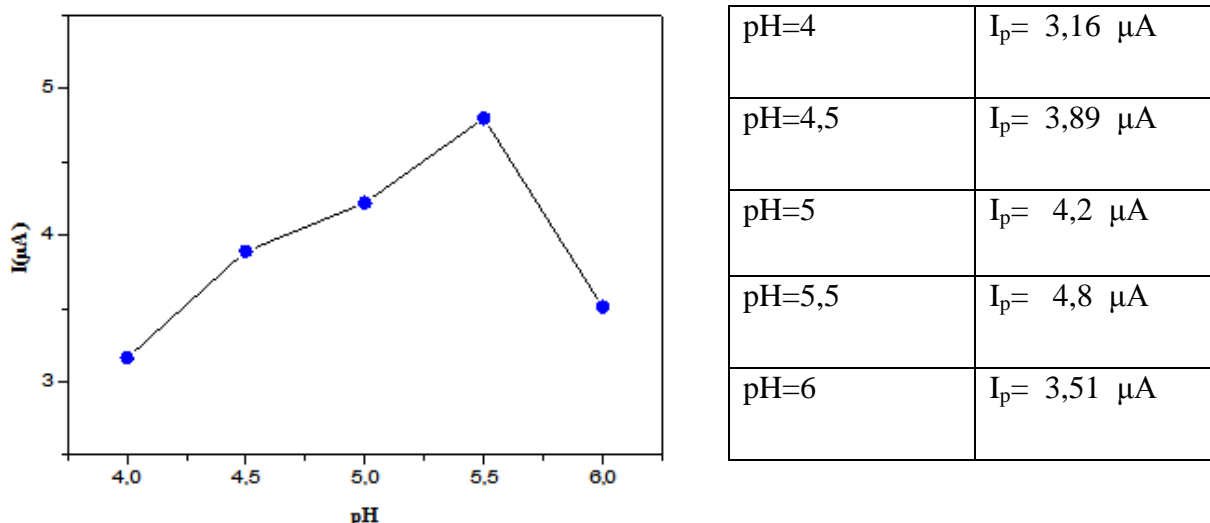


Figure III.9. Le courant I_p obtenus pour différents valeurs du pH.

L'électrode modifiée par le CPE à pH 5,5 présente une meilleure réponse (I_{max}).

III.5.2.2. Effet de la concentration Pc-Cs sur la réponse du capteur

Le ratio en Pc : Cs a été varié en fixant les autres conditions (pH 5,5). La caractérisation électrochimique des électrodes est réalisée avec la même concentration de DA ($3,98.10^{-8}$ M), Les résultats obtenus sont représentés sur courbe III.10.

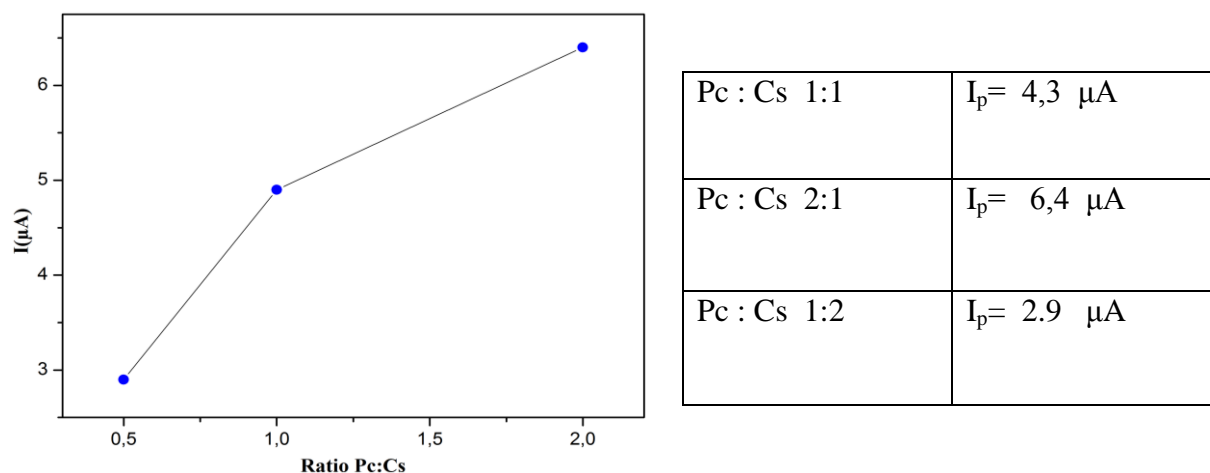


Figure III.10. Le courant I_p obtenus pour différents ratio Pc : Cs.

Le rapport (2 :1 Pc : Cs) a présenté une meilleure réponse en terme d'intensité du courant. Cela est dû à la présence d'un excès en groupements carboxyles libre de la pectine, qu'ils ne sont pas attachés aux groupes NH_3^+ du chitosane.

III.5.3. Détection électrochimique de la dopamine

Après l'optimisation des conditions liées à la membrane déposée sur l'électrode, des caractérisations électrochimiques par voltammétrie à ondes carrées (SWV) ont été effectuées, pour des concentrations connues de la dopamine varient de $2,34 \cdot 10^{-9} \text{ M}$ à 10^{-6} M .

Les voltammogrammes illustrés dans la figure III.11 présentent une réponse remarquable à chaque addition de concentration de DA, et montrent que l'intensité du courant augmente de manière proportionnelle avec la concentration de la dopamine. Le potentiel d'oxydation de la dopamine a été observé vers 0,35 V.

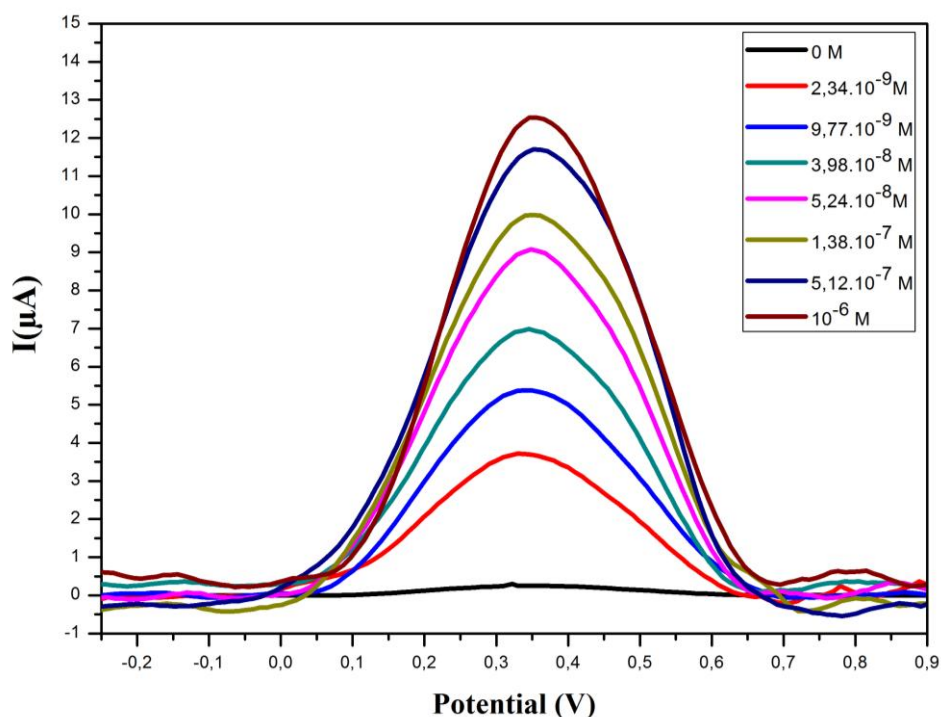


Figure III.11. Voltammogrammes SWV pour l'électrode Au/Pc/Cs en présence de concentrations croissantes de DA (de $2,34 \cdot 10^{-9} \text{ M}$ à 10^{-6} M) dans un milieu PBS (0,1 M, pH 7,0).

Une caractérisation électrochimique par la voltammétrie à impulsion différentielle a été réalisée pour évaluer l'électrode fonctionnalisée dans les mêmes conditions.

Les voltammogrammes DPV montrent le même comportement que ceux observés précédemment en utilisant des mesures par SWV. Les pics d'oxydation augmentent avec l'augmentation de la concentration en dopamine, Le potentiel d'oxydation de la dopamine a été obtenu à environ 0,2V et il reste constant montrant la stabilité d'électrode modifiée.

Par conséquent, les majeures différences observées, sont l'augmentation de l'intensité du courant par rapport aux mesures par SWV, ainsi qu'une déviation du potentiel d'oxydation de la dopamine vers une valeur plus basse, de 0,35 V pour la SWV à 0,2 V pour la DPV.

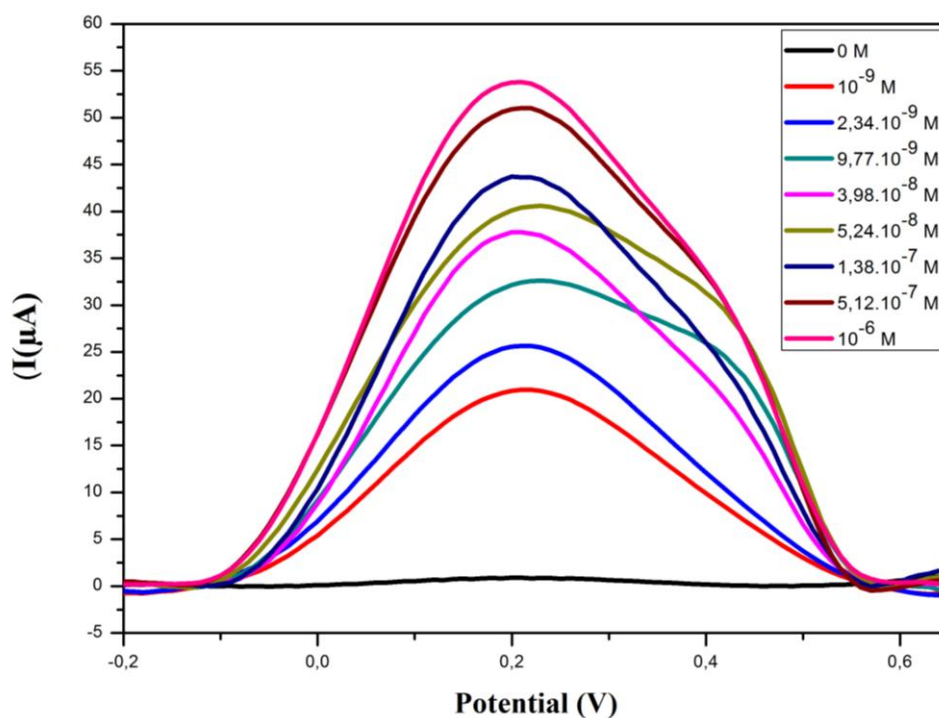


Figure III.12. Voltammogrammes DPV pour l'électrode Au/Pc/Cs en présence de concentrations croissantes de DA (de 10^{-9} M à 10^{-6} M) dans un milieu PBS (0,1 M, pH 7,0).

III.5.3.1. Evaluation de performances analytiques du biocapteur

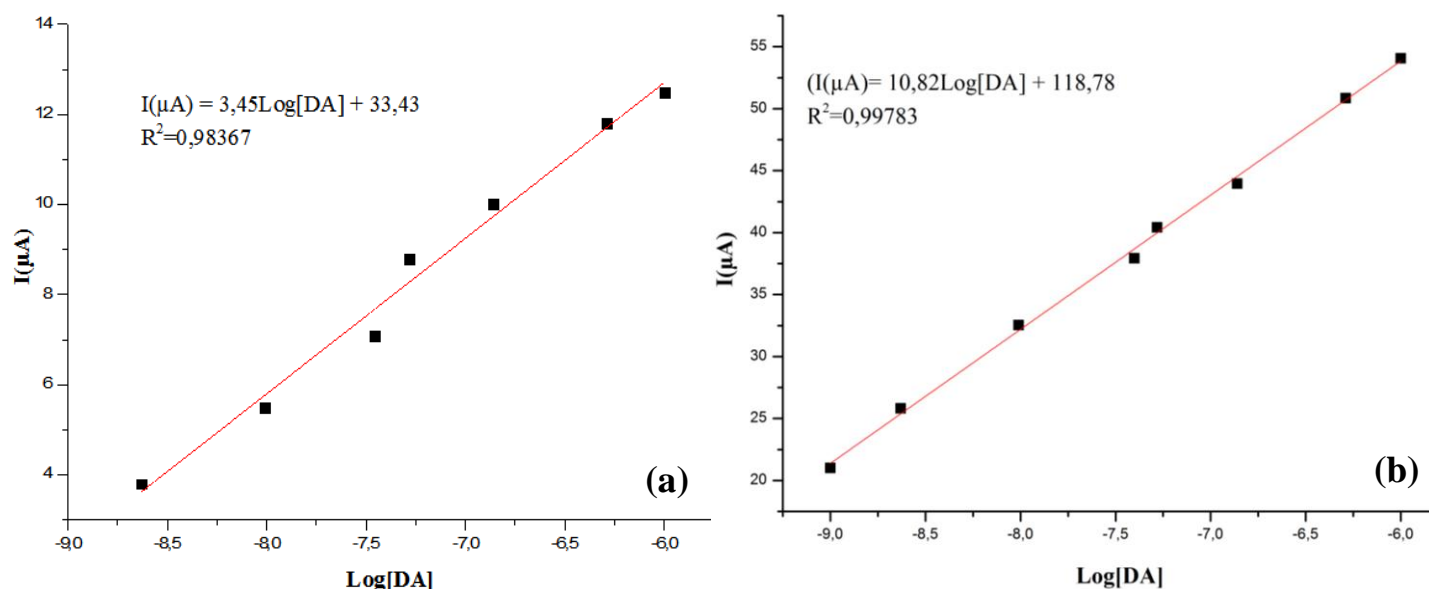


Figure III.13. Courbe de calibration pour (a) SWV, (b) DPV.

Pour évaluer les performances analytiques du capteur (Au/Pc/Cs) conçue pour détecter la dopamine, les courbes de calibrations ont été tracées. Il est bien claire que la courbe qui possède une meilleure linéarité est celle obtenue par DPV (Fig.III.13,b), donnant la relation entre le logarithme de concentrations de la dopamine et le courant des pics d'oxydation par l'équation linéaire : $I(\mu A)=10,82\text{Log}[DA]+118,78$. Le capteur (Au/Pc/Cs) a montré une excellente capacité de détection de la dopamine, avec une réponse de linéaire dans la plage de détection de 10^{-9} M à 10^{-6} M, avec une sensibilité de $10,82 \mu A/M$, et un coefficient de corrélation $R^2=0,99$. La limite de détection (LOD) est égale à $0,43 \cdot 10^{-9}$ M, elle a été calculée selon l'expression III.1 [12]:

$$\text{LOD} = \frac{3,3 \times \sigma}{S}$$

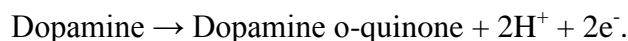
Où : σ : C'est l'erreur sur le bruit de fond du blanc. L'écart type relatif (1,42 %).

S: La pente de la courbe d'étalonnage.

III.5.3.2. Mécanisme d'oxydation de la dopamine

La dopamine est une molécule électroactive, qui pourrait être oxydée à des potentiels électriques spécifiques connus, cette propriété électrique pourrait être utilisée comme indicateur pour détecter la présence de la dopamine.

Lors de son oxydation, la dopamine perd deux électrons, et il en résulte la formation de la dopamine ortho-quinone, soit la forme oxydée de la dopamine, selon la réaction suivante :



La présence des groupes contenant de l'oxygène à la surface d'électrode modifiée (Au/Pc/Cs), lui a donné une densité de charge négative élevée, et une réactivité chimique, ce qui peut provoquer la réaction d'oxydation de la dopamine dans la solution d'électrolyte PBS, qui sert à assurer le transfert d'électrons entre l'analyte dans la solution et la surface d'électrode fonctionnalisée.

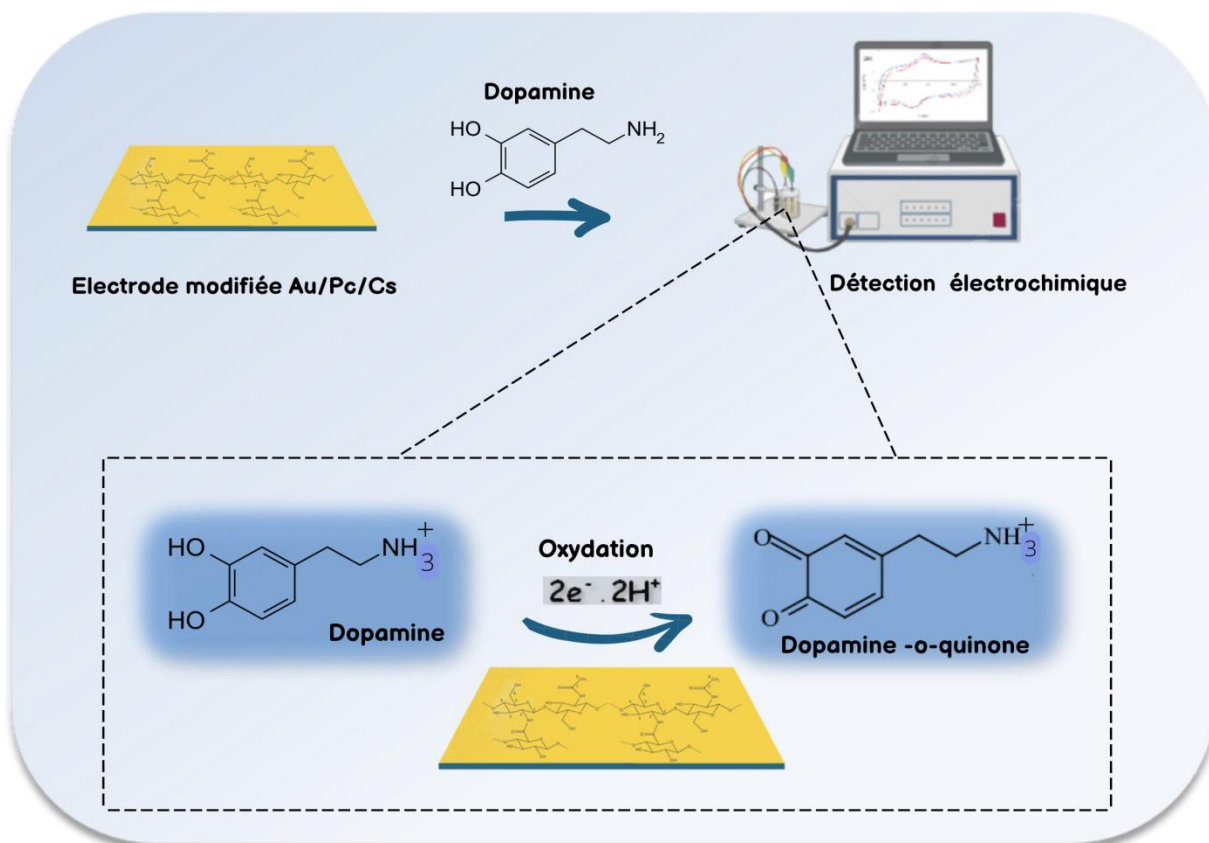


Figure III.14. Illustration schématique de mécanisme d'oxydation de la DA par la membrane Pc-Cs.

La fonctionnalisation de la surface d'électrode peut donc améliorer l'interaction électrostatique entre la surface d'électrode chargée négativement et la dopamine chargée positivement dans la solution PBS (pH 7), et par conséquent l'oxydation de la dopamine.

Références bibliographiques

- [1] Tiwari, A. K., Saha, S. N., Yadav, V. P., Upadhyay, U. K., Katiyar, D., & Mishra, T. (2017). Extraction and characterization of pectin from orange peels. *International Journal of Biotechnology and Biochemistry*, 13(1), 39-47.
- [2] Mota, J., Muro, C., Illescas, J., Hernández, O. A., Tecante, A., & Rivera, E. (2020). Extraction and Characterization of Pectin from the Fruit Peel of *Opuntia robusta*. *ChemistrySelect*, 5(37), 11446-11452.
- [3] Coimbra, P., Ferreira, P., De Sousa, H. C., Batista, P., Rodrigues, M. A., Correia, I. J., & Gil, M. H. (2011). Preparation and chemical and biological characterization of a pectin/chitosan polyelectrolyte complex scaffold for possible bone tissue engineering applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 48(1), 112-118.
- [4] Queiroz, M. F., Teodosio Melo, K. R., Sabry, D. A., Sasaki, G. L., & Rocha, H. A. O. (2014). Does the use of chitosan contribute to oxalate kidney stone formation?. *Marine drugs*, 13(1), 141-158.
- [5] Chakroun, H. (2020) *.Préparation, étude du matériau Chitosane et son application dans le domaine des biocapteurs*. (Thèse de doctorat, Université de Lyon1).
- [6] Açıkgöz, Ç., & Poyraz, Z. (2006). Extraction and characterization of pectin obtained from quince (*Cydonia vulgaris pers.*). *Journal of Science and Technology of Dumlupınar University*, (012), 27-34.
- [7] Urias-Orona, V., Rascón-Chu, A., Lizardi-Mendoza, J., Carvajal-Millán, E., Gardea, A. A., & Ramírez-Wong, B. (2010). A novel pectin material: extraction, characterization and gelling properties. *International journal of molecular sciences*, 11(10), 3686-3695.
- [8] Wandee, Y., Uttapap, D., & Mischnick, P. (2019). Yield and structural composition of pomelo peel pectins extracted under acidic and alkaline conditions. *Food Hydrocolloids*, 87, 237-244.
- [9] Wang, H., Sun, H., & He, J. (2017). Formation of polyelectrolyte complex colloid particles between chitosan and pectin with different degree of esterification. In *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 275, (1), 012012.

[10] Sebaoui, O. (2018). *Modélisation et optimisation de l'extraction de la pectine à partir du zeste de citron et de son utilisation dans l'encapsulation des composés phénoliques des margines de l'industrie oléicole*. (Thèse de doctorat, Université de Tizi Ouzou).

[11] Ranganathan, P., Mutharani, B., Chen, S. M., & Sireesha, P. (2019). Biocompatible chitosan-pectin polyelectrolyte complex for simultaneous electrochemical determination of metronidazole and metribuzin. *Carbohydrate polymers*, 214, 317-327.

[12] Bouraoui, S. (2018). *Elaboration, étude et développement de capteurs biochimiques à base de substances actives de plantes pour la détection sélective de quelques polluants dans les milieux hydriques*. (Thèse de doctorat, Université de Jijel).

Conclusion générale

L'objectif principal de ce travail concerne le développement et la conception d'un capteur électrochimique basé sur un complexe des polysaccharides, dédiés à la détection de la dopamine dans les milieux biologiques.

En premier lieu, nous avons réalisé une extraction de la pectine à partir des écorces d'oranges. Cette extraction est suivie par une étude et une confirmation par FTIR de la nature et de la structure des pectines hautement et faiblement méthyle extraites. Tout cela a servi à la constitution d'un complexe polyélectrolyte (chitosane-pectine FM) en optimisant quelques paramètres essentiels tels que le pH et la concentration des biopolymères.

Les caractérisations physicochimiques par FTIR ont révélé la formation des interactions entre les groupes (COO^-) de la pectine et les groupes (NH_3^+) du chitosane.

Le travail d'élaboration du capteur est réalisé en déposant, sur l'électrode en or, notre complexe polyélectrolyte (chitosane-pectine).

Les caractérisations électrochimiques ont été effectuées par deux techniques : la voltammétrie à ondes carrées (SWV) et la voltammétrie à impulsions différentiels (DPV). Après analyse, nous avons adopté la DPV, car c'est la technique qui nous a offert la meilleur linéarité dans la plage de détection variant de 10^{-9} M à 10^{-6} M, avec une sensibilité de $10,82 \mu\text{A/M}$, et une limite de détection de $0,43 \cdot 10^{-9}$ M.

À travers les résultats obtenus dans ce mémoire et pour améliorer le comportement de notre capteur, plusieurs perspectives naissent et peuvent être le début d'une bonne recherche scientifique. Dans cette optique, nous proposons :

- ✓ D'adopter toujours des méthodes d'extraction vertes, qui sont plus respectueuses de l'environnement.
- ✓ De réaliser la détection de quelques interférents de la dopamine, à savoir l'acide urique et l'acide ascorbique, afin d'étudier la sélectivité du notre capteur.
- ✓ D'optimiser d'autres conditions opératoires, tel que la masse du complexe déposé sur l'électrode, le temps d'incubation ...etc.
- ✓ Réaliser d'autres caractérisations physicochimiques pour mieux comprendre les phénomènes mis en jeux.

- ✓ Effectuer des mesures en milieux réels : les fluides nerveux et corporels.
- ✓ Appliquer d'autres techniques électrochimiques afin d'obtenir plus d'informations sur les propriétés électrochimiques de notre transducteur modifié.

Résumé

La pectine est un polysaccharide anionique non-toxique, biodégradable, biocompatible et abondamment trouvée dans les parois cellulaires des arbres et des plantes terrestres. Toutes ces propriétés avantageuses nous ont suscité, dans cette étude, à choisir d'isoler la pectine des écorces d'orange et de l'utiliser pour développer et concevoir un capteur électrochimique sensible, rapide et peu coûteux, destiné à la détection de la dopamine.

Pour la partie sensible du capteur, composé de deux parties étroitement liées à savoir le récepteur et le transducteur, un complexe polyélectrolyte chitosane-pectine a été soigneusement préparé et testé pour but d'étudier le comportement électrochimique de la dopamine sur une électrode d'or modifiée par ce biocomposite, tout en considérant et en optimisant les effets et les conditions de détection. Le capteur développé, présente une sensibilité satisfaisante avec une limite de détection de l'ordre de $0,43.10^{-9}$ M, et une large plage de détection allant de 10^{-9} à 10^{-6} M.

Mots clés: Capteur électrochimique, pectine, chitosane, complexe polyélectrolyte, dopamine.

Abstract

Pectin is a non-toxic, biodegradable, biocompatible anionic polysaccharide that is abundantly found in the cell walls of trees and land plants. All these advantageous properties led us, in this study, to choose to isolate pectin from orange peels and to use it to develop and design a sensitive, fast and inexpensive electrochemical sensor for the detection of dopamine.

For the sensitive part of the sensor, composed of two closely related parts, namely the receptor and the transducer, a chitosan-pectin polyelectrolyte complex was carefully prepared and tested with the aim of studying the electrochemical behavior of dopamine on a gold electrode modified with this biocomposite, while optimizing the detection conditions. The developed sensor, presents a satisfactory sensitivity with a detection limit of the order of $0,43.10^{-9}$ M and a wide detection range from 10^{-9} to 10^{-6} M.

Keywords: electrochemical sensor, pectin, chitosan, polyelectrolyte complex, dopamine.

ملخص

البكتين هو متعدد السكريد الانيونى غير السام، القابل للتحلل، المتوافق حيويًا والذي يوجد بكثرة في جدران خلايا الأشجار و النباتات ، كل هذه الخصائص المفيدة دفعتنا في هذه الدراسة الى اختيار عزل البكتين عن قشور البرتقال و استخدامه لتطوير و تصميم مستشعر كهروكيميائي حساس و سريع و غير مكلف للكشف عن الدوبامين.

بالنسبة للجزء الحساس من المستشعر، و المكون من جزأين وثيقي الصلة و هما المستقبل و محول الطاقة، تم اعداد مركب الشيتوزان-البكتين متعدد الإلكتروليت بعناية و اختباره لغرض دراسة السلوك الكهروكيميائي. للدوبامين على قطب ذهبي معدل بواسطة هذا المركب الحيوي، مع النظر في آثار و ظروف الكشف و تحسينها. المستشعر الذي تم تطويره ، لديه حساسية مرضية مع حد كشف يبلغ $0,43.10^{-9}$ مول و نطاق كشف واسع من 10^{-9} الى 10^{-6} مول.

كلمات دلالية: مستشعر كهروكيميائي، البكتين، الشيتوزان، مركب متعدد الإلكتروليت، الدوبامين.