

Université de Jijel

Faculté des Sciences et de la Technologie

Département de Génie des procédés



## **MEMOIRE DE FIN D'ETUDES**

En vue de l'obtention du diplôme de **Master**

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

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

### **Thème**

Conception et développement d'une nouvelle partie sensible d'un biocapteur basée sur un biomatériau composite pour la détection de divers polluants dans une phase liquide.

*Réalisé par*

GHEBGHOUB Kaoutar

*Directeur de Mémoire*

Professeur : ZAZOUA Ali

Soutenue le 22/10/2020 devant le Jury d'examen composé de :

- Dr Rouibah.K      Université de Jijel      Présidente
- Dr Benguadouar.L      Université de Jijel      Examinatrice

**Année : 2019-2020**

## ***Remerciements***

Mes premiers remerciements vont naturellement à mon encadrant Monsieur le professeur « *ZAZOUA Ali* » de m'avoir donné l'opportunité de travailler sur un sujet multidisciplinaire et rempli de défis, ou il m'a permis d'évoluer dans un environnement professionnel sain et propice à la réussite, sans oublier son support technique et scientifique continu.

Je tiens à remercier chaleureusement « *Hellim. R* » avec qui j'ai beaucoup aimé travailler et échanger des idées. Votre présence et votre amitié ont rendu ces mois beaucoup plus courts qu'attendus.

Mes remerciements s'adressent ensuite au membre de « **jury** » pour avoir accepté de faire partie du jury d'examen de mon mémoire et qui vont pleinement consacrer leur temps et leur attention... espérons le sera à la hauteur de leur attente.

À ma « **petite famille** » qui m'a toujours soutenue, toujours encouragée à aller plus loin, qui a toujours cru en moi, aucun mot n'exprime l'immense reconnaissance qui m'anime. Vous êtes les personnes qui ont impacté positivement sur mes travaux.

Sans toi papa ce travail n'aurait jamais vu le jour !

## *Epigraphe*

*« Quand le dernier arbre aura été abattu, Quand la dernière rivière  
aura été empoisonnée Quand le dernier poisson aura été pêché Alors  
l'homme s'apercevra que l'argent ne se mange pas. »*

*Indiens Cree*

# Sommaire

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

## **Chapitre I : Synthèse bibliographique**

I. Introduction .....	3
I.1 La problématique environnementale .....	3
I.1.1 Les éléments traces métalliques (ETM) .....	3
I.1.2 Les ETM dans l'environnement .....	4
I.1.2.1 ETM et le milieu biologique .....	4
I.2 Biocapteurs .....	5
I.2.1 Généralités sur les biocapteurs .....	5
I.2.2 Définition.....	6
I.2.3 Principe général .....	6
I.2.4 Description du biocapteur.....	6
I.2.4.1 Plates -formes de détection .....	7
I.2.4.1.1 Transducteur .....	7
I.2.4.1.2 Biorécepteur.....	7
I.2.5 Les performances des biocapteurs.....	8
I.2.6 Biocapteurs électrochimiques.....	8
I.2.6.1 Biocapteurs électrochimiques et le Monitoring .....	9
I.3 Méthodes d'analyses électrochimiques .....	9
I.3.1 Techniques voltamétriques.....	9
I.3.1.1 La voltammétrie cyclique (CV) .....	9
I.3.1.2 Principe de la voltammétrie à ondes carrées (SWV) .....	13
I.4 Généralités sur la figue de barbarie .....	14
I.4.1 Cactées.....	14

I.4.1.1 Définition .....	14
I.4.2 Figue de Barbarie .....	14
I.4.2.1 Nomenclature et appellation .....	14
I.4.2.2 Description botanique .....	14
I.4.2.3 Classification.....	15
I.4.3 La raquette .....	16
I.4.3.1 Composition chimique des cladodes .....	16
I.4.4 Aperçu sur les polysaccharides et la paroi végétale .....	17
I.4.4.1 La paroi végétale .....	17
I.4.4.2 Classification des polysaccharides .....	17
1.4.4.2.1 Selon la composition en monomères.....	17
I.4.4.2.2 Selon l'origine.....	18
I.4.4.2.3 Selon leur fonction biologique.....	18
I.4.5 Interactions entre les polymères de la paroi cellulaire .....	21
I.5 Etat de l'art sur les biocapteurs des ions métalliques .....	22

## **Références bibliographiques**

### **Chapitre II : Partie expérimentale**

II. Introduction.....	25
II.1 Étude phytochimique et extraction .....	25
II.1.1 Matériel végétal.....	25
II.1.1.1 Récolte et préparation de la poudre .....	25
II.1.1.2 Analyses.....	26
II.1.2 Protocole d'extraction sélective et séquentielle des polysaccharides pariétaux ...	26
II.1.3 Expression des rendements d'extraction .....	32
II.1.4 Caractérisation de la poudre des polysaccharides du cactus .....	32
II.2 Mise en œuvre du biocapteur .....	33
II.2.1 Construction du biocapteur .....	33

II.2.1.1 Choix du transducteur.....	33
II.2.1.2 Préparation de l'électrode d'Or (Au).....	34
II.2.1.3 Nettoyage des électrodes .....	34
II.2.2 L'immobilisation du biorécepteur.....	35
II.2.2.1 Adsorption .....	36
II.2.2.2 Inclusion .....	36
II.2.2.3 Réticulation.....	36
II.2.2.4 Couplage covalent .....	36
II.2.3 Electrodes modifiées par des films de polymères .....	36
II.2.3.1 Polymères conducteurs bio-sourcés.....	37
II.2.3.2 L'agarose .....	37
II.2.3.3 Immobilisation de la matrice Agarose/Hémicellulose (AG/HEM) .....	38
II.2.4 Application de l'électrode modifiée (AG/HEM/Au) .....	40
II.2.4.1 Pré-concentration électrochimique .....	40
II.2.4.2 Détection.....	40

## Références bibliographiques

### Chapitre III : Résultats et discussions

III. Introduction .....	41
III.1 Résultats et discussion.....	41
III.1.1 Caractérisation physico-chimiques .....	41
III.1.1.1 Test d'humidité .....	41
III.1.1.2 Rendement en extraits secs.....	42
III.1.1.3 Interprétation des spectres infrarouges FT-IR.....	44
III.1.2 Réponses biocapteur .....	49
III.1.2.1 Efficacité de nettoyage des électrodes.....	49
III.1.2.2 Performance d'électrolyte support .....	50
III.1.2.3 Application de l'électrode AG/HEM/Au.....	51

III.1.2.3.1 Etape de préconcentration électrochimique .....	51
III.1.2.3.1.1 Modélisation du transfert des ETM dans le milieu réactionnel .....	51
III.1.2.3.2 Détection électrochimique .....	53
III.1.2.3.3 Comparaison avec les normes.....	60

## **Références bibliographiques**

<b>Conclusion générale.....</b>	<b>61</b>
---------------------------------	-----------

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure I.1 :</b> Représentation schématique d'un biocapteur.....	6
<b>Figure I.2 :</b> Schéma d'une architecture de système de biocapteur typique.....	7
<b>Figure I.3 :</b> Représentation des différents types de biorécepteurs.....	8
<b>Figure I.4 :</b> Séquence de balayage de potentiel utilisée en CV.....	10
<b>Figure I.5 :</b> Allure des voltammogrammes cycliques selon la réversibilité des systèmes..	11
<b>Figure I.6 :</b> Profil d'un voltammogramme cyclique pour un système rapide.....	11
<b>Figure I.7:</b> Profil d'un voltammogramme cyclique pour un système lent.....	12
<b>Figure I.8 :</b> Profil d'un voltampérogramme cyclique pour un système quasi-rapide.....	13
<b>Figure I.9 :</b> La voltampérométrie à ondes carrées SWV.....	13
<b>Figure I.10 :</b> Photographie de figuier de barbarie.....	15
<b>Figure I.11 :</b> Raquettes de figue de barbarie.....	16
<b>Figure I.12 :</b> Structure d'une biomasse ligno-cellulosique.....	20
<b>Figure I.13 :</b> structure moléculaire de la cellulose.....	20
<b>Figure I.14 :</b> Liaisons covalentes dans la paroi cellulaire végétale.....	21
<b>Figure II.1 :</b> étapes d'obtention de la poudre à partir des cladodes.....	26
<b>Figure II.2 :</b> Schéma d'extraction des mucilages.....	27
<b>Figure II.3 :</b> Schéma d'extraction des polysaccharides hydrosolubles.....	28
<b>Figure II.4 :</b> Schéma d'extraction des pectines.....	30
<b>Figure II.5 :</b> Schéma d'extraction des hémicelluloses.....	31
<b>Figure II.6 :</b> Schéma de l'étape de blanchiment du résidu final.....	32



<b>Figure II.7 :</b> Domaines d'électroactivité obtenus en milieu aqueux avec différents matériaux d'électrodes et potentiels standards de quelques métaux.....	33
<b>Figure II.8 :</b> Schéma récapitulatif de nettoyage des électrodes.....	35
<b>Figure II.9 :</b> Représentation schématique des différentes méthodes d'immobilisation du biorécepteur.....	35
<b>Figure II.10 :</b> Structure chimique de l'agarose, présentant l'unité de répétition de l'agarose avec : D-Galactose et le L-Anhydro Galactose.....	37
<b>Figure II.11 :</b> Formation du gel d'agarose.....	38
<b>Figure II.12 :</b> Technique de dépôt de la matrice AG/HEM.....	38
<b>Figure II.13 :</b> Cellule électrochimique à trois électrodes.....	39
<b>Figure III.1 :</b> Teneur en humidité et en matière sèche.....	41
<b>Figure III.2 :</b> Rendements des différentes fractions.....	43
<b>Figure III.3 :</b> Spectres FT-IR de mucilage.....	45
<b>Figure III.4 :</b> Spectres FT-IR des polysaccharides hydrosolubles.....	46
<b>Figure III.5 :</b> Spectres FT-IR des PH M et PFM.....	47
<b>Figure III.6 :</b> Spectres FT-IR d'Hémicellulose.....	48
<b>Figure III.7</b> Voltammogrammes des mesures de la CV sur : électrode nue (courbe rouge), électrode modifiée par membrane polymérique (courbe noire) dans PBS contenant [Fe (CN) 6] 4-/3-, Avec un potentiel varié de -1.0 +1.0 et une vitesse de balayage de 50mV.s-1.....	49
<b>Figure III.8 :</b> Voltammogrammes des mesures de la CV sur : [électrode nue (courbe rouge), électrode modifiée par membrane polymérique (courbe noire) dans PBS contenant [Fe (CN) 6] 4-/3-, électrode modifiée dans PBS sans [Fe (CN) 6] 4-/3- (courbe bleue). Avec un potentiel varié de -1.0 +1.0 et une vitesse de balayage de 50mV.s-1.....	50

<b>Figure III.9 :</b> Schématisation du mécanisme d'adsorption d'un cation métallique bivalent sur une surface organique négativement chargée en solution.....	52
<b>Figure III.10 :</b> Voltammogramme réalisé par CV à la suite de nombreux balayages de potentiel (jusqu'à obtention d'un signal stable), relatif à l'analyse de plomb $Pb^{2+}$ dans un milieu PBS (0.5M) à (pH= 4).....	53
<b>Figure III.11 :</b> Voltammogramme à vague carré SWV du plomb $Pb^{2+}$ dans un milieu PBS (0.5M) à (pH= 4).....	53
<b>Figure III.12 :</b> Voltammogramme réalisé par CV à la suite de nombreux balayages de potentiel relatif à l'analyse du nickel $Ni^{2+}$ dans un milieu PBS (0.5M) à (pH= 4).....	54
<b>Figure III.13 :</b> Voltammogramme à vague carré SWV du Nickel $Ni^{2+}$ dans un milieu PBS (0.5M) à (pH= 4).....	54
<b>Figure III.14 :</b> Voltammogramme réalisé par CV à la suite de nombreux balayages de potentiel relatif à l'analyse du Mercure $Hg^{2+}$ un milieu PBS (0.5M) à (pH= 4).....	55
<b>Figure III.15 :</b> Voltammogramme à vague carré SWV du Mercure $Hg^{2+}$ dans un milieu PBS (0.5M) à (pH= 4).....	55
<b>Figure III.16 :</b> Voltammogramme réalisé par CV à la suite de nombreux balayages de potentiel relatif à l'analyse de mercure $Cu^{2+}$ un milieu PBS (0.5M) à (pH= 4).....	56
<b>Figure III.17 :</b> Voltammogramme à vague carré SWV du Mercure $Cu^{2+}$ dans un milieu PBS (0.5M) à (pH= 4).....	56
<b>Figure III.18 :</b> Courbes de calibrations des ions métalliques cibles.....	57
<b>Figure III.19 :</b> Détection simultanée des ions métalliques.....	59

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau I.1 :</b> Tableau périodique des éléments avec les métaux et métalloïdes importants pour les organismes.....	05
<b>Tableau I.2 :</b> Position systématique du figuier de barbarie.....	16
<b>Tableau II.1 :</b> Caractéristiques de l'électrode Au.....	34
<b>Tableau III.1 :</b> Teneurs en humidité et en matière sèche.....	41
<b>Tableau III.2 :</b> Rendement des différentes fractions extraites.....	42
<b>Tableau III.3 :</b> Limites de détection des différents ions métalliques.....	58
<b>Tableau III.4 :</b> Paramètres de qualité de l'eau de consommation humaine et de rejets d'effluents liquides industriels en Algérie.....	60

## Liste Des Abréviations

**ETM** : élément à trace métallique.

**OX** : oxydant.

**Red** : réducteur.

**I** : intensité du courant.

**I<sub>p</sub>** : intensité du pic.

**E** : potentiel.

**E°** : le potentiel standard du couple Ox/Red.

**n** : le nombre d'électrons mis en jeu.

**CV** : voltammétrie cyclique.

**A** : surface d'électrode.

**n** : le nombre d'électrons mis en jeu.

**D** : coefficient de diffusion.

**V** : vitesse de balayage des potentiels.

**C** : concentration des espèces électroactives.

**SWV** : voltammétrie à ondes carrées.

**HM** : hautement méthylées.

**FM** : faiblement méthylées.

**LCC** : Lignine-Carbone complexe.

**OFI** : Opuntia-Ficus-Indica.

**FTIR** : spectroscopie à transformée de Fourier.

**N<sup>0</sup>** : numéro.

**h** : heures.

**min** : minutes.

**EDTA** : Oxalate d'ammonium éthylène diamine Tétracétique.

**HCl** : acide chlorhydrique.

**pH** : potentiel Hydrogène.

**ATR** : réflexion totale atténuée.

**nm** : nanomètre.

**AG** : Agarose.

**HEM** : Hémicellulose.

**rpm** : rotation par minute.

**PBS** : Tampon Phosphate Salin.

**mV** : millivolts.

**Me<sup>2+</sup>** : métal bivalent.

**PHM** : pectines hautement méthylées.

**PFM** : pectines faiblement méthylées

**μA** : microampère.

**Log** : logarithme.

**LOD** : limite de détection.

**σ** : l'écart-type de la réponse.

**S** : la pente de la courbe d'étalonnage.

## **Introduction générale**

**L**a troisième loi de Newton stipule que "toute action a une réaction égale et opposée" et cela montre clairement que l'urbanisation et l'industrialisation rapides ont provoqué l'un des problèmes les plus répandus en termes de pollution.

Il existe des méthodes standards, robustes et sensibles permettant la détermination d'une multitude de composés telles que : l'analyse par spectrométrie d'émission atomique, la spectrométrie de masse avec plasma à couplage inductif (ICP-MS), les méthodes colorimétriques etc... Cependant, la plupart de ces techniques sont coûteuses et nécessitent un personnel spécialisé. Elles fournissent une information très fine et complète, mais elles présentent des contraintes importantes en termes de complexité et de durée d'analyse.

Aujourd'hui, les biocapteurs causent une métamorphose dans la bibliothèque scientifique. Ils font partie des filières technologiques les plus prometteuses du fait de leurs nombreuses applications ainsi que de l'intérêt grandissant porté durant ces dernières années traduisant leurs rôles dans la science actuelle.

Plusieurs tentatives sont faites pour explorer leurs potentialités pour détecter les contaminants, notamment les métaux lourds même à l'état de trace, visant la réduction de ces composés dangereux pour un environnement loin de toute menace toxique et pour gérer rationnellement la pollution des eaux.

Dans le but de développer un dispositif de « **Monitoring environnemental** », et pour surmonter le problème de ces déchets toxiques, des méthodes plus écologiques et plus respectueuses de l'environnement sont proposées. Les ressources biologiques telles que les extraits de plantes peuvent être associée aux biocapteurs comme parties sensibles pour détecter les ions métalliques souhaitées rendant ainsi le processus éco-compatible à l'environnement. Parmi ces dérivés végétaux les polysaccharides. C'est des biopolymères représentant une source intéressante d'adsorbants en raison de leur structure particulière, stabilité chimique, grande réactivité et excellente sélectivité envers les métaux. Parmi les plantes possédant ce réseau polysaccharidique sophistiqué pour la rétention des ions métalliques, le figuier de barbarie semble très prometteur. En effet, c'est une plante de la

famille des cactées, avec une matrice de polysaccharides qui peuvent éventuellement être destinés à plusieurs usages environnementaux.

Ce manuscrit s'articule autour de trois chapitres :

- ✓ Le premier chapitre introductif présente le contexte scientifique de notre travail et met en avant la problématique environnementale due à la présence des éléments à traces métalliques. Nous essayons de fournir un aperçu général sur les moyens de détection via les biocapteurs avec les techniques de caractérisations électrochimiques utilisées. Dans la deuxième partie l'accent sera mis sur la définition de figuier de barbarie plus particulièrement les polysaccharides au niveau des raquettes.
- ✓ Le chapitre II englobe la partie expérimentale qui comprend deux volets : le premier sert à décrire les divers protocoles d'extractions utilisés tout au long de l'étude et la mise en place des conditions d'obtention des extraits de la plante suivis par des méthodes de caractérisations pour ces fractions polysaccharidiques. Le deuxième volet est consacré pour le développement d'une partie sensible à base d'un polysaccharide hémicellulosique.
- ✓ Le contenu du troisième chapitre est présenté en deux parties : la première partie est réservée à l'interprétation quantitative et qualitative des résultats obtenus. Le développement et la caractérisation du biocapteur électrochimique feront l'objet de la deuxième partie.

Ce travail se termine par une conclusion générale résumant l'essentiel des résultats et les perspectives à entreprendre pour approfondir cette étude.

# **Chapitre I :**

## **Synthèse bibliographique**



## **I. Introduction**

Le premier chapitre comprend deux grandes parties :

La première est dédiée à la présentation de la problématique environnementale liée à la présence des ions métalliques. Dans ce contexte, deux facteurs particulièrement importants sont examinés en détails. En premier lieu les éléments traces métalliques, notamment les métaux lourds, potentiellement indésirables et nuisibles associés aux notions de pollution et de toxicité. Leurs définitions et leurs comportements dans l'environnement ont été soulignés dans cette partie. En deuxième lieu, nous avons posé les principales notions utiles à la compréhension du domaine des biocapteurs comme moyen d'analyse dans la surveillance et le monitoring de la pollution avec la présentation de façon presque exhaustive les différents types en matière de biocapteurs électrochimiques, leur définition et les paramètres qui les caractérisent. Cette partie est consacrée aussi pour un aperçu général des principales méthodes usuelles de détection y compris les techniques électrochimiques est présenté à travers quelques exemples d'application et les éléments théoriques utiles à la compréhension de la suite du travail.

Dans la seconde partie, nous nous sommes penchés sur l'élément principal qui compose la partie sensible de notre instrument en l'occurrence l'Opuntia de la famille des cactacées. Nous nous sommes intéressés plus exactement à l'espèce ficus-indica. L'objectif scientifique de notre travail est de mettre en évidence les composés bioactifs de ce cactus algérien afin de déterminer sa composition chimique et les structures de chaque fraction polysaccharidique issue des raquettes d'opuntia. Enfin, un état de l'art sera présenté sur nombreuses études menées depuis plusieurs années pour la détection des ions métalliques.

### **I.1 La problématique environnementale**

#### **I.1.1 Les éléments traces métalliques (ETM)**

- **Considération sur l'utilisation des termes « ETM »**

Au cours de ce travail, nous avons préféré utiliser l'expression « **éléments traces métalliques** » pour ne pas altérer la définition des « **Métaux lourds** ».

En effet, l'utilisation des termes « métaux lourds » ne fait pas référence à une gamme de concentration donnée, mais à une propriété intrinsèque des éléments : la densité [1].

Les métaux lourds sont ceux dont la densité est supérieure à 5. De plus, il concerne tout métal ayant un numéro atomique élevé, en général supérieur à celui du sodium ( $Z=11$ ). Ce terme générique désigne donc indistinctement des métaux et métalloïdes réputés toxiques.

Les éléments traces métalliques (ETM) correspondent aux éléments métalliques qui sont présents dans la croûte terrestre à des concentrations inférieures à 0,1% soit 1000  $\text{mg.kg}^{-1}$ . La plupart des ETM ne sont que très faiblement volatils et ne sont pas biodégradables. Ces deux principales caractéristiques confèrent aux ETM un grand pouvoir d'accumulation dans tous les compartiments de la biosphère [2].

### **I.1.2 Les ETM dans l'environnement**

Depuis quelques décennies, l'accroissement des activités humaines s'est accompagné de la dispersion dans l'environnement de quantités considérables de polluants comme les éléments traces, l'accumulation de ces derniers dans les écosystèmes a conduit au fil des années à la détérioration de la qualité de l'environnement, au déclin des forêts et à la diminution de la productivité agricole [3].

Certains éléments et plus particulièrement ceux que l'on regroupe sous le vocable "traces métalliques", constituent une préoccupation majeure dans le domaine de la protection de l'environnement et de la santé. Ces éléments tels que le cadmium, le mercure ou le plomb sont non seulement toxiques à très faibles concentrations mais ont aussi tendance à s'accumuler dans les organismes vivants [4]. Une fois libérés dans l'environnement, ces éléments continuent d'exister pendant des décennies, voire des siècles, car ils sont très stables. Ces éléments présentent à la fois une persistance dans le milieu naturel et une toxicité avérée pour les êtres vivants par bioaccumulation dans les organismes [5].

#### **I.1.2.1 ETM et le milieu biologique**

De nombreux éléments métalliques jouent un rôle essentiel dans le fonctionnement des organismes vivants ; ils constituent un besoin nutritionnel et remplissent un rôle physiologique. Cependant, la surabondance des oligo-éléments essentiels et notamment leur substitution par des éléments non essentiels, comme c'est le cas pour le cadmium, le nickel ou le plomb, peut provoquer des symptômes de toxicité ou la mort [6].

Une concentration insuffisante ou trop élevée d'un métal donné sous sa forme biodisponible peut nuire aux écosystèmes et à la santé des êtres vivants. En effet, certains métaux font partie des éléments traces essentiels et sont en faibles quantités, indispensables au développement des organismes. En revanche, d'autres métaux n'ont pas de fonction biologique connue et sont directement toxiques pour les organismes (Tableau I.1). De plus, les métaux essentiels peuvent également être toxiques à des concentrations élevées [7].

**Tableau I.1 :** Tableau périodique des éléments avec les métaux et métalloïdes importants pour les organismes [7].

Li	Be											B	C	N	O
Na	Mg											<i>Al</i>	<i>Si</i>	<i>P</i>	<i>S</i>
K	<b>Ca</b>	Sc	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	Ge	As	Se
Rb	Sr	Y	Zr	Nb	Mo	Tc	Ru	Rh	Pd	Ag	Cd	In	<i>Sn</i>	<i>Sb</i>	<i>Te</i>
Cs	Ba	La	Hf	Ta	W	Re	Os	Ir	Pt	Au	<i>Hg</i>	Tl	<i>Pb</i>	Bi	Po

« Les métaux et métalloïdes essentiels sont présentés en gras ; les métaux et métalloïdes toxiques connus sont en italique. Les groupes des gaz rares et des halogènes, les lanthanides et les périodes I et VII sont omis. »

- ✓ Le cercle indique les futurs éléments traces métalliques étudiés dans le dernier chapitre.

## I.2 Biocapteurs

### I.2.1 Généralités sur les biocapteurs

Les biocapteurs constituent des matériaux de choix pour l'application de la protection de l'environnement et la détection des polluants. Dans ce type d'outil, un élément sensible de nature biologique (anticorps, enzyme, microorganisme, ADN...) doté d'un pouvoir de reconnaissance pour un analyte ou un groupe d'analytes est associé à un transducteur pouvant être de type électrochimique, optique ou thermique. Le grand avantage des biocapteurs réside dans leur concept original autorisant la réalisation de systèmes de mesure intégrés, autofonctionnels, miniaturisables, aisés à mettre en œuvre et ne nécessitant que peu ou pas de traitement de l'échantillon à analyser [8].

Dans ce contexte, les biocapteurs apparaissent comme des alternatives technologiques susceptibles de répondre à ces limitations en permettant de renseigner des informations non disponibles via les approches physicochimiques (toxicité, biodisponibilité, biodégradabilité).

### I.2.2 Définition

Un biocapteur est défini par l'IUPAC (Union internationale de chimie pure et appliquée) comme un dispositif intégré capable de fournir des informations spécifiques quantitatives ou semiquantitatives grâce à un élément de reconnaissance d'origine biologique en contact direct avec un élément de transduction [9].

Un biocapteur est un analyseur biologique conçu pour fonctionner en continu ou semi-continu et donner une réponse en temps réel sur la qualité des flux au sein desquels il est placé [10]. C'est un outil ou un système analytique constitué d'un composé biologique immobilisé, appelé « ligand », relié à un transducteur qui transforme le signal biochimique en un signal physique quantifiable [11].

### I.2.3 Principe général

En terme instrumental, le biocapteur est soumis à l'action d'un phénomène non électrique, présente une caractéristique de nature électrique (charge, tension, courant). Suivant cette optique, le biocapteur est conçu pour transformer un phénomène ou une propriété biochimique d'un système en un signal électrique (Figure I.1) [12].

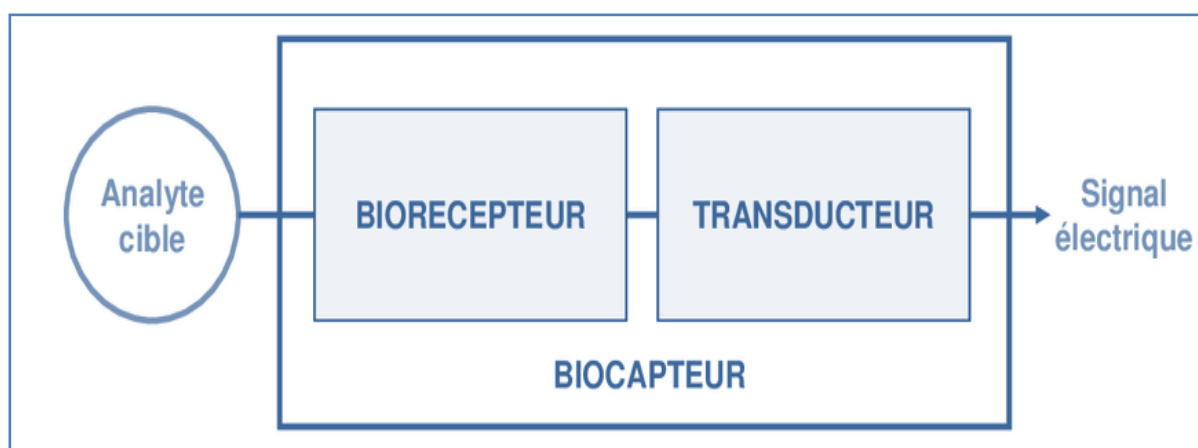


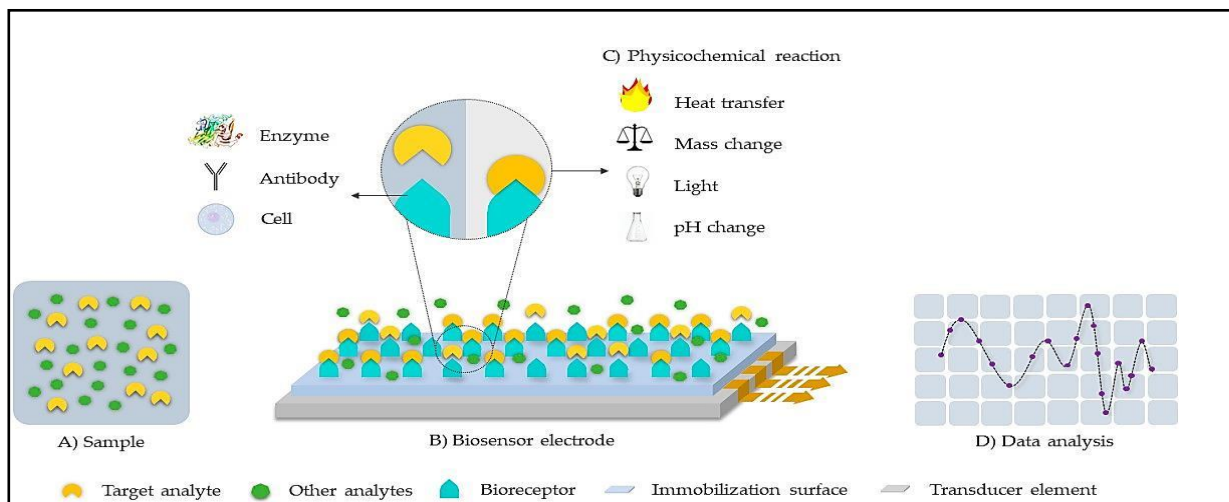
Figure I.1 : Représentation schématique d'un biocapteur.

### I.2.4 Description du biocapteur

#### I.2.4.1 Plates -formes de détection

Les plates-formes de détection sont généralement composées d'un élément de reconnaissance et d'un dispositif de transduction comme la montre la (Figure I.2). Dans le cas particulier des biocapteurs, l'élément de reconnaissance est une biomolécule avec des

capacités de réponse aux stimuli. Le dispositif de transduction convertit donc une réponse biologique ou changement physico-chimique en un signal électrique. Parmi les molécules de reconnaissance les plus courantes : les enzymes, les anticorps, l'ADN ... [13].



**Figure I.2 :** Schéma d'une architecture de système de biocapteur typique [13].

« L'analyte cible est détecté par le biorécepteur et traduit en un signal pour analyse à l'aide d'un transducteur. (A) Échantillon. (B) Électrode du biocapteur : composée du biorécepteur, de la surface d'immobilisation et de l'élément transducteur. (C) Réaction physico-chimique. (D) Analyse des données ».

#### I.2.4.1.1 Transducteur

Le transducteur est l'élément physique qui sert à exploiter la modification biochimique issue d'une interaction entre un analyte et le biorécepteur pour la transformer en signal électrique. Le type de transducteur sera choisi en fonction des modifications biochimiques se produisant au niveau du biorécepteur. Cette adéquation entre le transducteur et l'élément biologique permettra d'obtenir un signal sensible, facilement exploitable et avec un minimum de bruit de fond [14].

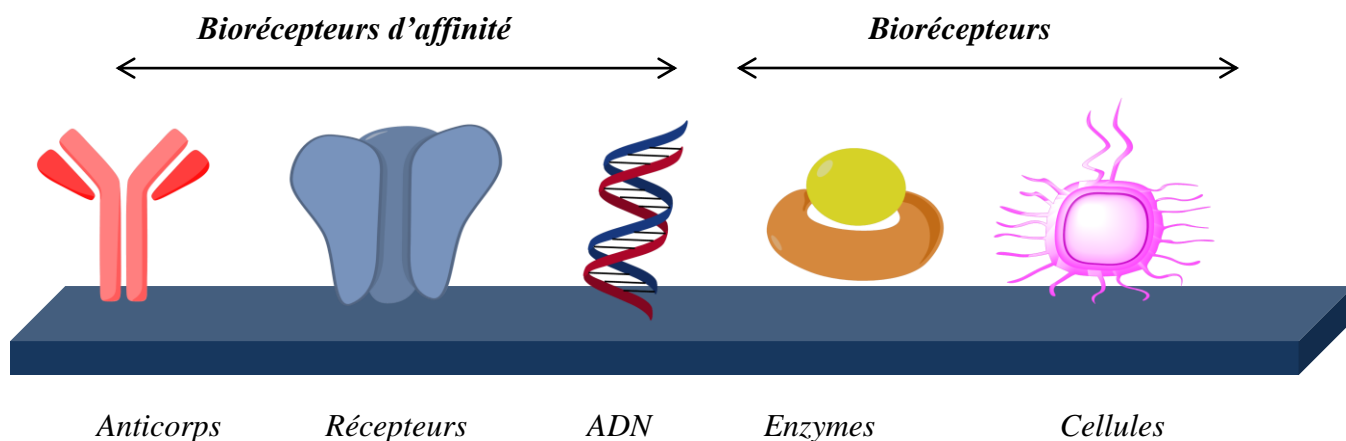
Un système transducteur transforme l'interaction chimique en un signal électrique. La transduction peut être reliée à des phénomènes de nature différente : piézoélectrique, optique, thermique ou électrochimique [15].

#### I.2.4.1.2 Biorécepteur

Le biorécepteur correspond à tout composé biologique immobilisé sur un substrat qui reconnaît de manière spécifique l'analyte recherché. Les composés biologiques fixés peuvent être séparés en deux catégories (Figure I.3) : ceux fixant simplement l'analyte sans modification et ceux ayant une activité catalytique. L'étape de reconnaissance peut alors

révéler soit un événement statique grâce aux biorécepteurs d'affinité soit un événement dynamique au travers des biorécepteurs métaboliques [16].

Le biorécepteur reconnaît spécifiquement une molécule du milieu et l'information biochimique qui en résulte est convertie par le transducteur en un signal analytiquement utile [17].



**Figure I.3 :** Représentation des différents types de biorécepteurs

### I.2.5 Les performances des biocapteurs

Ils sont caractérisés par différents paramètres. Les principaux sont les suivants :

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

### I.2.6 Biocapteurs électrochimiques

Au cours des 20 dernières années, la recherche et le développement dans le domaine des biocapteurs ont augmenté de façon exponentielle que ce soit en termes d'investissements ou de nombre de publications scientifiques [18].

L'électrochimie a pour but d'étudier les changements chimiques causés par le passage d'un courant électrique. De façon générale, un capteur électrochimique est un récepteur dont la réponse dépend de la composition chimique de l'échantillon et d'un transducteur

qui transforme une énergie en signal électrique mesurable [19]. Les biocapteurs ont investi un autre vaste champ, celui de l'électrochimie. Les biocapteurs électrochimiques sont des capteurs d'espèces ioniques en solution, ils opèrent donc dans les milieux liquides de manière continue, c'est-à-dire qu'ils se classent dans la catégorie des biocapteurs métaboliques [20].

#### **I.2.6.1 Biocapteurs électrochimiques et le Monitoring**

Les biocapteurs sont développés pour différentes applications, notamment le contrôle de l'environnement et des bioprocédés. En conséquence, la plupart des travaux de recherche et de développement ont été consacrés à ce domaine [21].

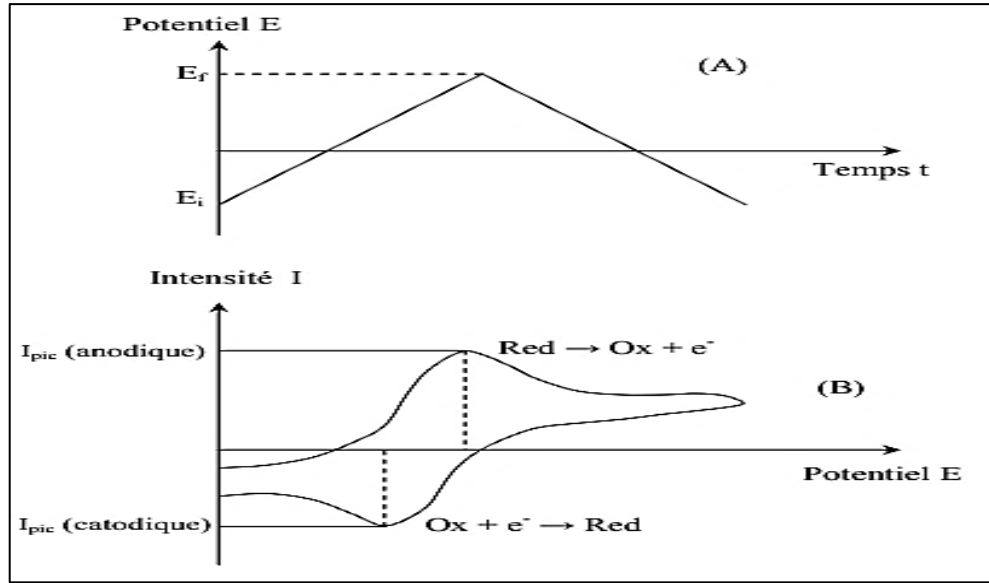
La surveillance de l'environnement pour les contaminants est aujourd'hui étroitement liée à notre planète entière et la santé humaine. En raison de la grande diversité des polluants et des analyses environnementales, la nécessité d'une analyse rapide, sensible et décentralisée est en constante augmentation. Les biocapteurs électrochimiques pourraient être bien adaptés à cet effet mais pourrait également compléter les techniques d'analyse standard validées pour une certaine analyse environnementale [22].

### **I.3 Méthodes d'analyses électrochimiques**

#### **I.3.1 Techniques voltammétriques**

##### **I.3.1.1 La voltammétrie cyclique (CV)**

La voltammétrie consiste à appliquer une différence de potentiel variable, deux balayages linéaires (« aller » / « retour ») du potentiel en fonction du temps entre une électrode de référence et une électrode indicatrice au contact de laquelle va se produire une réaction d'oxydo-réduction ( $Ox + ne \leftrightarrow Red$ ). La réponse du système est l'enregistrement du courant, en fonction de la tension appliquée. Cette réponse se présente sous la forme de la courbe ( $I = f(E)$ ), appelée voltammogramme, qui est une caractéristique de l'espèce électroactive (Figure I.4) [23].



**Figure I.4** : Séquence de balayage de potentiel utilisée en CV (A) et exemple de courbe courant-potentiel obtenue (B) [23].

Les deux caractéristiques d'un voltammogramme sont le courant ( $i_p$ ) et le potentiel ( $E_p$ ), le courant de pic est donné par la relation de Randles-Sevick :

$$I_p = K \cdot A \cdot n^{3/2} \cdot D^{1/2} \cdot V^{1/2} \cdot C$$

**K** : constante numérique.

**A** : surface d'électrode.

**n** : le nombre d'électrons mis en jeu.

**D** : coefficient de diffusion.

**V** : vitesse de balayage des potentiels.

**C** : concentration des espèces électroactives.

- **Voltampérométrie en régime de diffusion pure**

Les trois cas réversible, irréversible et quasi-réversible, sont représentés dans la (Figure I.5) :



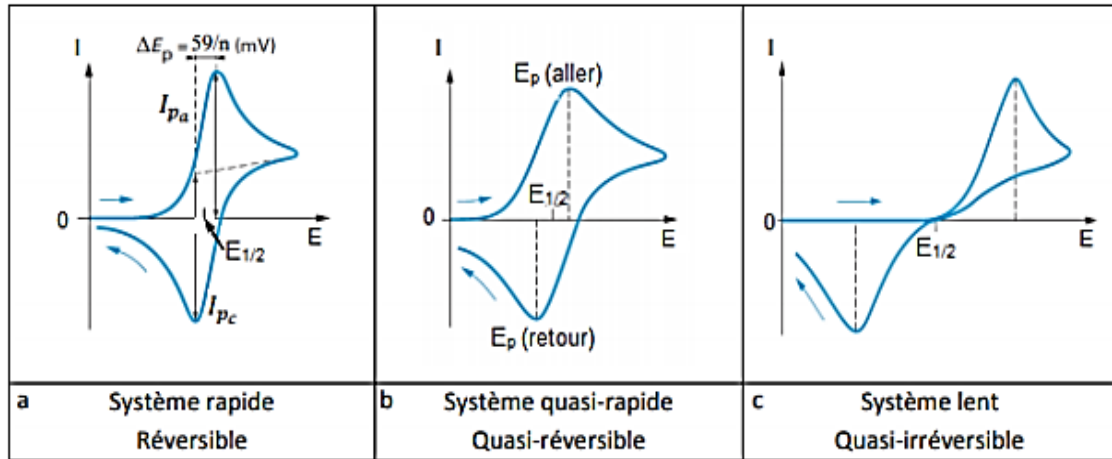


Figure I.5 : Allure des voltammogrammes cycliques selon la réversibilité des systèmes [23].

#### ❖ Cas d'un système rapide (réversible).

Un système rapide est défini comme étant un système dans lequel le processus de transfert de charge entre l'électrode et les espèces électroactives est beaucoup plus rapide que le processus de transport des espèces du sein de la solution vers la surface de l'électrode (Figure I.6).

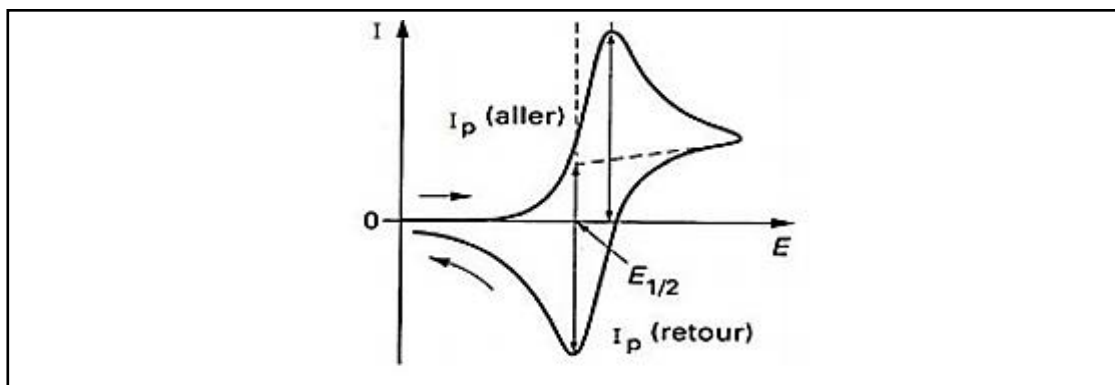


Figure I.6 : Profil d'un voltammogramme cyclique pour un système rapide [24].

La voltammétrie cyclique est la méthode de choix pour l'étude de la réversibilité d'un transfert électronique puisque on trace sur le même voltammogramme les courbes d'oxydation et de réduction. En électrochimie, on utilise souvent l'équation de Nernst [24,25] :

$$E = E^\circ + \frac{RT}{nF} \ln \frac{[Ox]}{[Red]}$$

Avec :

$E^\circ$  : le potentiel standard du couple Ox/Red.

**R** : la constante des gaz parfaits.

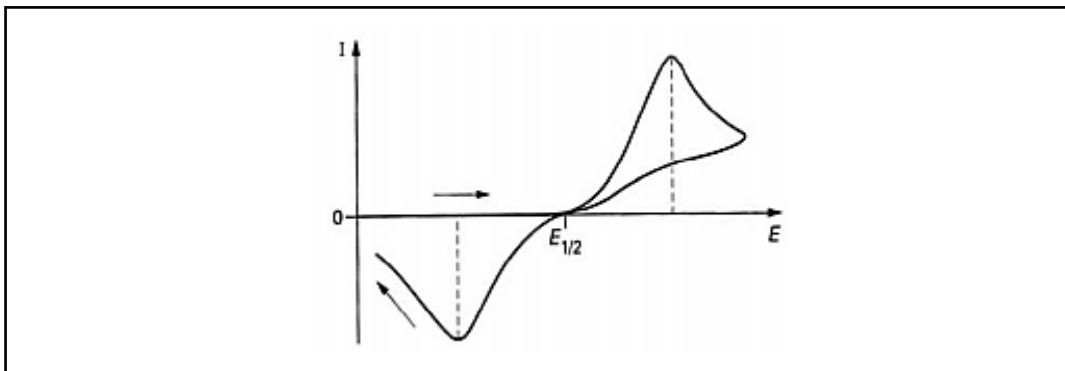
**T** : la température en Kelvin.

**n** : le nombre d'électrons mis en jeu.

**F** : la constante de Faraday.

#### ❖ Cas d'un système lent (irréversible)

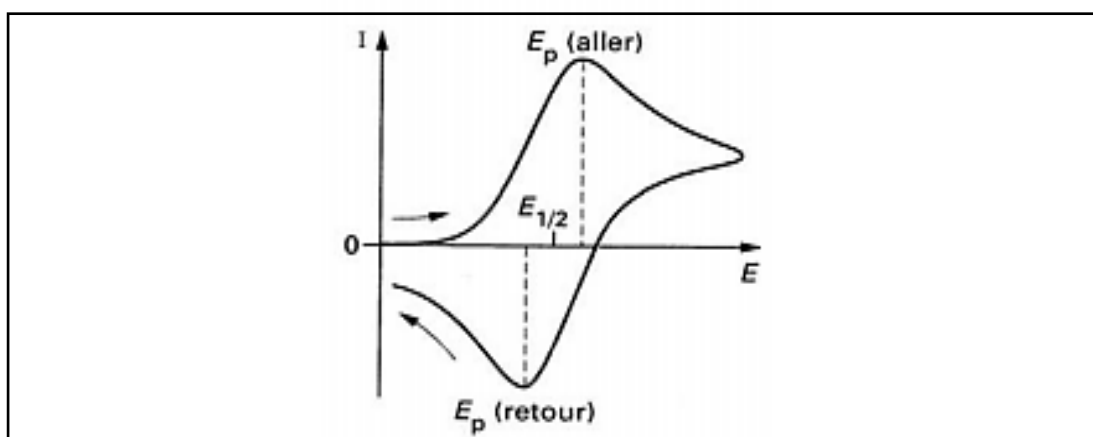
Lorsque la vitesse de transfert de charge devient plus faible comparée à la vitesse de transfert de matière, le système est dit irréversible. Le courant reste proportionnel à la concentration et à la racine carrée de la vitesse de balayage, mais il est plus faible en raison de la teneur de la cinétique du transfert électronique.



**Figure I.7:** Profil d'un voltammogramme cyclique pour un système lent [24].

#### ❖ Cas d'un système quasi-rapide (quasi-réversible)

L'étude de ce type de système a été réalisée par H. Matsuda et Y. Ayabe [26] qui ont qualifié de quasi-réversibles les réactions correspondant à un transfert de charge lent et pour lequel, la réaction inverse doit être prise en considération dont l'intensité du courant n'est plus strictement linéaire, la Figure.I.8 présente le profil du voltammogramme cyclique obtenu.



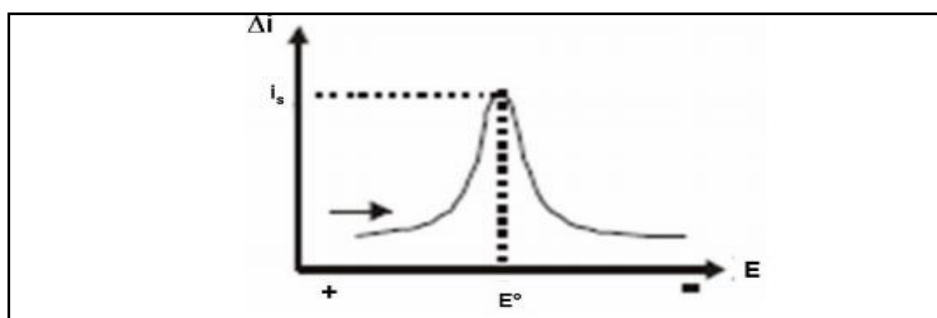
**Figure I.8 :** Profil d'un voltampérogramme cyclique pour un système quasi-rapide [25].

### I.3.1.2 Principe de la voltammétrie à ondes carrées (SWV)

La voltammétrie à ondes carrées est une technique électrochimique puissante qui peut être appliquée dans les deux mesures, électrocinétiques et analytique. Elle est beaucoup plus sensible et peut fournir une meilleure résolution que la voltammétrie cyclique ou la voltammétrie d'impulsion normale. Pour ces raisons, la SWV peut être la méthode de choix pour les systèmes à faibles concentrations de matériel électroactive ou à des signaux interférés [27].

La voltammétrie à onde carrée est une technique de large amplitude différentielle dans laquelle la forme d'onde est composée d'une onde carrée symétrique, superposée à un potentiel avec une rampe en escalier, est appliquée à l'électrode de travail.

Le courant est échantillonné à deux reprises durant chaque cycle d'onde carrée, une fois à la fin de chaque pulse montant (à l'instant  $t_1$ ) et une fois à la fin de l'impulsion inverse (à  $t_2$ ). Le signal mesuré, qui est la différence entre les courants mesurés de deux impulsions successives est enregistrée comme une réponse nette et il est tracé en fonction du potentiel correspondant de la forme d'onde escalier [27].



**Figure I.9 :** la voltampérométrie à ondes carrées SWV [27].

## **I.4 Généralités sur la figue de barbarie**

### **I.4.1 Cactées**

#### **I.4.1.1 Définition**

La famille des cactées appartient aux plantes grasses. Elles ont la capacité de survivre sur leurs réserves durant une période de sécheresse temporaire grâce à un système de stockage de l'eau. Dans une situation similaire, la plupart des autres plantes dépériraient et mourraient par manque d'eau [28].

Les cactus ont une capacité photosynthétique particulière, qui n'est pas très éloignée des plantes européennes est courante. Cela les rend très résistants à la sécheresse, ils tolèrent un certain degré de salinité du sol, ont une grande efficacité d'utilisation de l'eau et se développent très rapidement [29].

### **I.4.2 Figue de Barbarie**

#### **I.4.2.1 Nomenclature et appellation**

Il existe plusieurs appellations selon les différentes régions dont le Nopal est le nom mexicain de la plante, vient du mot Nochtli en Nahuatl, langue classique des Aztèques [30]. L'espèce peut porter un nom différent selon l'idiome local. En Espagne, Nopal, est appelé familièrement Tuna. Dans les pays francophones du bassin méditerranéen, l'Opuntia est surnommé figuier de barbarie ; en Angleterre : Prickly pear (poire à épines) [31].

#### **I.4.2.2 Description botanique**

C'est une plante tropicale et subtropicale, dicotylédone caractérisée par ces feuilles réduites en épines, qui présente une grande capacité d'adaptation aux conditions les plus hostiles et produit une biomasse importante d'une manière très efficace. Le genre Opuntia est intégré à la famille des Cactacées [32] dont certaines espèces de cactus ont fait l'objet de plusieurs travaux scientifiques. Il s'agit du figuier de barbarie, cactus appartenant au genre Opuntia, qui renferme de multiples propriétés médicinales.

Dans les pays du Maghreb, les espèces du cactus les plus largement répandues sont Opuntia dillenil, Opuntia vulgarie, Opuntia compressa et Opuntia ficus indica. Cette dernière est la principale espèce qui produit les fruits comestibles (figue de barbarie) [33].

D'un point de vue morphologique, le cactus peut être divisé en racine, la partie végétative, le fruit et la fleur. La partie végétative ou végétale, fréquemment abordés comme des tampons, des joints ou des cladodes sont des tiges modifiées qui remplacent les feuilles dans leur fonction photosynthétique. Ils sont succulents et portent les organes de forme ovoïde ou allongée de 18-25 cm longueurs [34].

Le figuier de barbarie est une plante robuste qui peut mesurer jusqu'à 5 mètres de hauteur, avec un tronc épais et ligneux. Ses articles aplatis en forme de raquettes (cladodes) de couleur vert mat, ayant une longueur de 30 à 50 cm et une largeur de 15 à 30 cm, sont couverts de petites aréoles, d'épines et de glochides blancs [35].



**Figure I.10 :** Photographie de figuier de barbarie.

#### **I.4.2.3 Classification**

De nombreux auteurs ont élaboré des classifications du genre *Opuntia*. **Guzman et al** ont rapporté celle qui suit [36] :

**Tableau I.2** : position systématique du figuier de barbarie.

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Caryophyllidae
Ordre	Caryophyllales
Famille	Cactaceae
Sous- famille	Opuntioideae
Tribu	Opuntieae
Genre	Opuntia
Sous-genre	Platyopuntia
Espèce	Opuntia ficus indica

### I.4.3 La raquette

#### I.4.3.1 Composition chimique des cladodes

Les raquettes du figuier de barbarie sont caractérisées par un déséquilibre nutritionnel bien qu'il soit une source d'énergie et d'eau. Les raquettes sont réputées être riches en minéraux essentiellement le calcium et les oxalates et en mucilage, les polysaccharides de structure chimique parfois très complexe retrouvés dans plusieurs plantes supérieures [37,38].

**Figure I.11** : Raquettes de figue de barbarie.

## **I.4.4 Aperçu sur les polysaccharides et la paroi végétale**

### **I.4.4.1 La paroi végétale**

La paroi cellulaire végétale est une structure organisée et complexe, semi rigide et dynamique, qui entoure le lumen constituant le cœur de la cellule. Elle joue un rôle essentiel dans les propriétés mécaniques des organes, participe à la croissance des tissus et assure un rôle de barrière qui permet aux cellules de résister à la pression osmotique et aux attaques des pathogènes [35].

La paroi cellulaire végétale est essentiellement constituée de polysaccharides (celluloses, hémicelluloses, pectines) et de polyphénols (90 % de la matière sèche). La lamelle moyenne est composée essentiellement de pectines et de lignines. La paroi primaire est en majorité constituée de micro-fibrilles de cellulose, d'hémicelluloses et de pectines. Elle peut également contenir de la lignine [35].

### **I.4.4.2 Classification des polysaccharides**

#### **1.4.4.2.1 Selon la composition en monomères**

##### **a) Homopolysaccharides**

Ne comportent qu'un seul type de monosaccharides (homogène) :

- Les glucanes sont des monomères de D-glucose.
- Les galactanes sont des monomères de D-galactose.
- Les xylanes sont des monomères de D-xylose.
- Les chitosanes sont des monomères de D-glucosamine [39].

##### **b) Hétéropolysaccharides**

Les polysaccharides hétérogènes sont un groupe de composés mal défini car, d'une part, certains polysaccharides mixtes ne sont sans doute que des mélanges de polysaccharides homogènes non séparés et d'autre part, il fait transition avec les mucopolysaccharides par association à des fractions protéiques. Ces substances essentiellement végétales entrent dans la composition des gommés et des mucilages et participent à la constitution des enveloppes cellulaires bactériennes et des capsules [39].

- Galactose + arabinose = galactoarabane.
- Xylose + arabinose = hémicellulose.

#### **I.4.4.2.2 Selon l'origine**

- **Les polysaccharides végétaux**

Les polysaccharides se trouvent principalement dans des plantes et des algues qui produisent plus de 90 % des polysaccharides totaux existant sur la terre. Sur la base de leur rôle biologique, ils peuvent être classés en polysaccharides structuraux et en polysaccharides de réserves d'énergie [40].

#### **I.4.4.2.3 Selon leur fonction biologique**

##### **a) Polysaccharides de réserve**

Les polysaccharides de réserve sont des ressources caloriques. Le plus connu d'entre eux est l'amidon (aussi appelé dans certains cas féculé), qui n'est synthétisé que par les plantes [40].

##### **b) Polysaccharides de structure**

Les polysaccharides de structure constituent la paroi des cellules végétales. Ils sont très stables et très rigides et ne sont pas assimilables par l'être humain. Ils jouent cependant un rôle important dans l'alimentation humaine : ce sont les fibres alimentaires, dont les plus connues sont la cellulose et la pectine [39,40].

##### **b.1. Pectines**

Les pectines sont des biopolymères de structure chimique très complexe constitués d'unités d'acide galacturonique, rhamnose, arabinose et galactose. Il peut également exister de nombreuses ramifications sur ces différentes unités [41]. Les pectines sont des hétéropolysaccharides caractérisés par une forte teneur en acide galacturonique (GalA), monomères liés entre eux par des liaisons  $\alpha$ -(1-4) et partiellement acétylés ou estérifiés par des groupements méthyles.

- **Description des pectines**

Généralement, les pectines sont caractérisées par leur degré de méthylation (DM) défini comme étant le pourcentage de groupements carboxyles estérifiés par le méthanol, contrairement à l'acétylestérification, la méthylestérification est en proportion considérable dans les pectines natives. Ainsi, en fonction du DM, on distingue :

- Les pectines HM (hautement méthylées) : ce sont les pectines dont le degré d'estérification est supérieur à 50 % ;



- Les pectines FM (faiblement méthylées) : ce sont les pectines dont le degré d'estérification est inférieur à 50 %.

## **b.2 Les hémicelluloses**

Les hémicelluloses regroupent l'ensemble des polymères glucidiques non cellulotiques et non pectiques. Elles permettent de renforcer la cohésion de la paroi cellulaire en formant des réseaux entre la cellulose et la lignine. Elles sont, après la cellulose, les polysaccharides les plus abondants de la paroi cellulaire (Figure I.12). Les hémicelluloses sont souvent constituées d'un axe osidique principal linéaire substitué par des chaînes latérales variables. Leur degré de polymérisation dépasse rarement 200 unités mono-saccharidiques. Le suffixe -ane désignera la nature de la chaîne principale [35].

Ainsi, la définition la plus adoptée à ce jour pour définir les hémicelluloses est celle qui considère « l'ensemble des polysaccharides, autres que la cellulose et les substances pectiques, présents dans les parois cellulaires des plantes terrestres, solubles dans l'eau et pouvant être extraits de la paroi des cellules végétales par des solutions alcalines ». La variabilité de ces composés selon l'origine, le tissu ou le type cellulaire et selon le stade de maturité des tissus, génère une grande polydiversité structurale. On les classe alors en [42] :

- homopolysaccharides : glucanes, xylanes, mannanes.
- hétéropolysaccharides : xyloglucanes, arabinoxylanes, glucomannanes, glucuronoxylanes, glucuronoarabinoxylanes...

Les hémicelluloses comptent jusqu'à 50 % de la biomasse des plantes annuelles et pérennes. Elles ont émergé comme immense ressource renouvelable des biopolymères. Il y a une grande variété de types structuraux d'hémicelluloses, elles sont divisées en quatre groupes : xylanes, mannanes,  $\beta$ -glucanes mixtes et xyloglucanes. Les xylanes sont les principaux composés hémicellulosiques de la paroi secondaire [43].

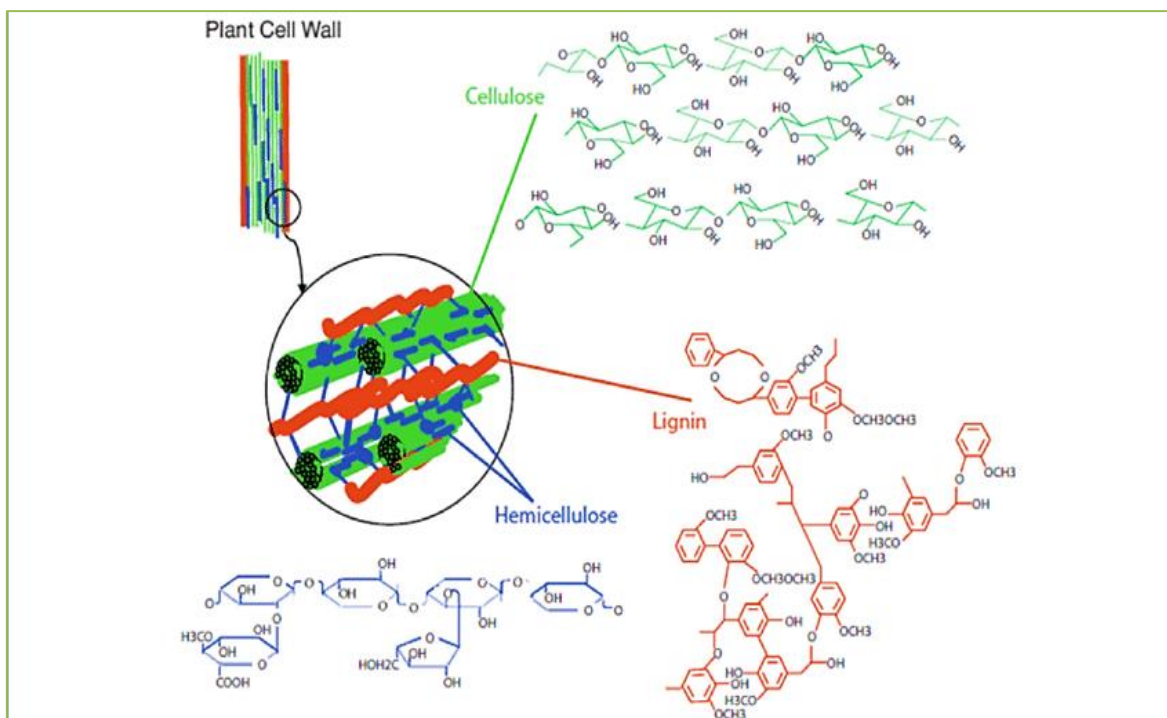


Figure I.12 : Structure d'une biomasse ligno-cellulosique [43].

### b.3 La cellulose

- Structure moléculaire

La cellulose est la molécule organique la plus abondante, Elle constitue le principal constituant des parois cellulaires des végétaux où elle joue le rôle de maintien. La cellulose est le biopolymère le plus abondant à la surface de la terre. C'est un homopolymère dont le motif monomérique est le glucose dans la configuration D. Les molécules de glucose sont liées de façon linéaire par des liaisons osidiques  $\beta$ -1-4, le motif dimérique constitutif de la cellulose étant le cellobiose (Figure I.13).

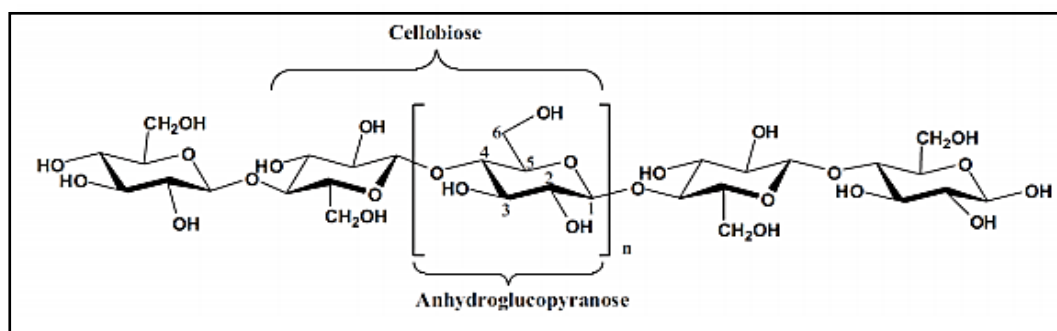
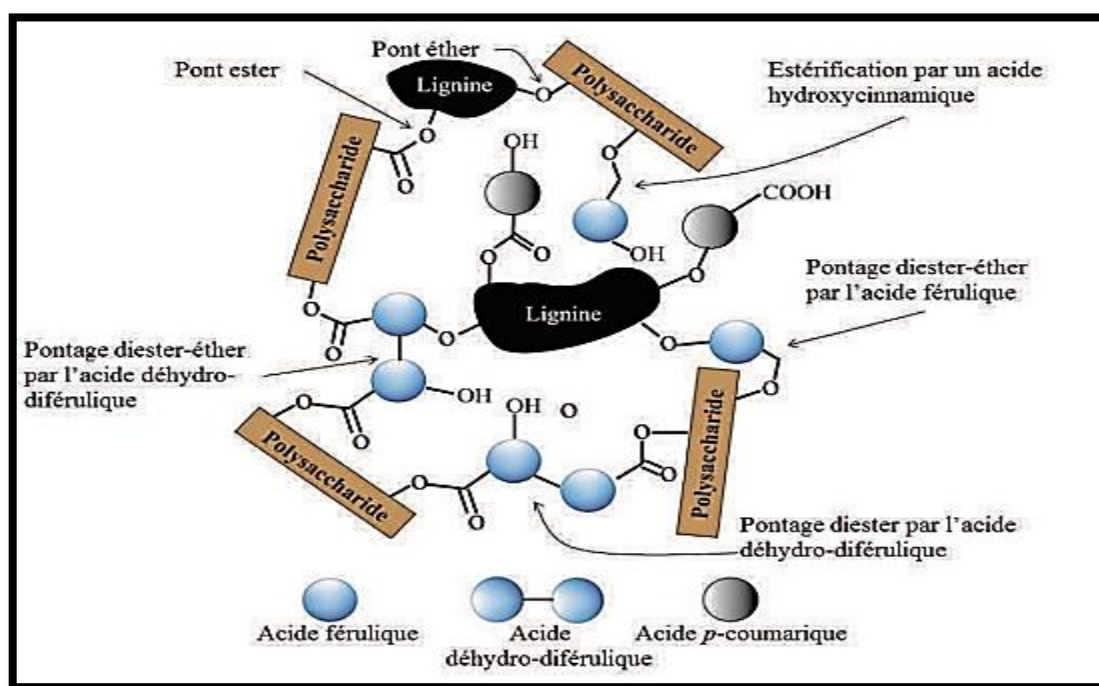


Figure I.13 : structure moléculaire de la cellulose.

### I.4.5 Interactions entre les polymères de la paroi cellulaire

Les différents constituants de la paroi cellulaire végétale sont reliés entre eux par des liaisons covalentes, hydrogènes ou ioniques. Les liaisons entre polysaccharides (hémicelluloses  $\pm$  cellulose) sont aujourd'hui bien connues. Il s'agit principalement de liaisons hydrogènes multiples qui permettent de former un complexe cellulosique extrêmement stable. Il s'agit également de très nombreuses liaisons hydrogène qui stabilisent fortement le complexe lignines-sucres (LCC, Lignins-Carbohydrates Complex), mais également d'un certain nombre de liaisons covalentes, principalement de type ester ou éther [43]. En plus de ces liaisons, des phénomènes de couplage des acides phénoliques peuvent intervenir par dimérisation en formant un pont éther. Ils peuvent ainsi relier des hétéroxylanes à la lignine, ou des hétéroxylanes entre eux, par des liaisons covalentes peu labiles [44].



**Figure I.14** : Liaisons covalentes dans la paroi cellulaire végétale [44].

## **I.5 Etat de l'art sur les biocapteurs des ions métalliques**

Les progrès de miniaturisation et la microfabrication ont conduit au développement de produits sensibles dont les biocapteurs, qui font partie de ces nouvelles méthodes analytiques sélectives et automatisées, développées grâce à des matrices complexes, pour la surveillance de l'environnement à travers la quantification qualitative et quantitative in-situ d'éventuels polluants dans la nature.

En 1962, Clark et al ont proposé l'idée de la biologie et du capteur à partir de laquelle est née un nouveau système d'analyse "électrode enzymatique"[45]. Cette technologie de « biodétection » a motivé l'intégration des composants biologiques en utilisant des enzymes, protéines, ADN ou peptides pour construire des parties sensibles liées intimement à des transducteurs physiques et formant ainsi le capteur. En effet, diverses enzymes ont été développées par Neelam et al, Fragoso et al et Chey et al comme étant sensibles à des ions métalliques spécifiques, telles que l'oxydase, la peroxydase, l'uréase, lactate déshydrogénase et phosphatase alcaline [46,47,48]. Domínguez et al et Ejeiana et al ont remarqué aussi que les enzymes sont les bioéléments largement utilisés. Ils ont ainsi affirmé que les biocapteurs électrochimiques à base d'enzymes offrent une spécificité élevée dans la surveillance des métaux lourds [49,50]. Néanmoins, Cui et al ont constaté à travers leurs études que ces enzymes souffrent de la rigueur des conditions de fabrications et de la faible stabilité et reproductibilité qui limitent leurs applications [51].

Autres types de biocapteurs cités par la littérature et dont la partie réceptrice est cellulaire, comme : *Saccharomyces cerevisiae*, *Staphylococcus aureus*, *Burkholderia* sp, *Alcaligenes eutrophus* et l'*Escherichia coli*, ont été la base du développement d'un certain type de biocapteurs électrochimiques destinés à la détection des ions métalliques. Ces biorécepteurs ont donné de bonnes limites de détection avec une grande sensibilité [46,52,53]. Cependant, selon Graziella et al, ce mode de réception présente un manque flagrant de stabilité génétique et une courte durée de vie [54].

Les biocapteurs à ADN sont les premiers à faire l'objet du système miniaturisé, sous l'appellation courante de biopuce. Des biocapteurs électrochimiques à ADN ont été élaborés tels que : ADN oligonucléotides [55], ADNzyme [56], ADN db multicouche [57] pour l'évaluation des ions métalliques. Ces systèmes sont classés parmi les plus sensibles et sélectifs mais la préparation difficile de la couche de la sonde, la nécessité du traitement

biochimique pour l'échantillon cible et le signal de fond élevé peut limiter leurs utilisations.

D'autre part un grand nombre des polymères ont été utilisés pour construire des capteurs d'ions dont les plus couramment rencontrés sont les polymères conducteurs comme: polyacétylène (PAC), la polyaniline(PANI), polypyrrole (PPy), poly(p-phénylène) (PPP), polythiophène (PTh), et le poly(3,4-éthylènedioxythiophène) (PEDOT) [58,59,60]. Cependant, ces polymères présentent quelques inconvénients comme l'instabilité, le problème de résistance et la toxicité générée, ce qui favorise l'utilisation d'autres matériaux synthétisés par voie verte.

D'après la littérature, plusieurs auteurs ont révélé que les applications des biopolymères et plus particulièrement les polysaccharides pour l'élimination des ions métalliques n'ont fait l'objet que d'une attention très limitée [61]. En effet, plusieurs travaux récents ont pu examiner la capacité d'adsorption de la chitosane pour la rétention des ions métalliques dans des milieux aqueux [62, 63,64]. Ce biopolymère a montré une bonne sélectivité avec ses groupements amines pour les ions métalliques. L'étude qui a été réalisé par Grégorio et al sur l'élimination des polluants dans l'eau, en utilisant la chitosane, a révélée quelques points très importants en l'occurrence, l'excellente capacité de fixation des métaux par le biopolymère. Néanmoins, la dépendance au pH de la solution et la nécessité d'une modification chimique reste des problèmes et des inconvénients qui peuvent générer des difficultés lors de la conception [65]. Dix ans après, en 2015, le travail de Eunkyoun et al a montré que ce polysaccharide (chitosane) possède un ensemble unique de propriétés qui lui permettent de servir de matériau d'interface pour l'assemblage de composants biologiques (en particulier les protéines) dans des appareils électroniques. La conclusion de cette étude a révélé que la chitosane reste un biopolymère intrigant avec beaucoup de questions sans réponses qui consiste à une compréhension plus approfondie surtout des mécanismes d'interactions et sa sensibilité aux conditions environnementales (pH, sels..). L'utilisation d'autres polymères naturels et d'autres matrices de biopolymères sensibles tels que : l'agarose, la gélatine, ou l'alginate... semble la solution adéquate pour remédier à toutes ces lacunes rencontrées [65,64].

Pour un biocapteur multi-analytes performant, une nouvelle électrode modifiée à base d'un biomatériau, issu directement de la nature, est développée pour la détection des métaux à l'état de trace en solution aqueuse.

En effet, nous avons immobilisé un polysaccharide hémicellulosique issu de figuier de barbarie sur la surface d'un transducteur pour former un instrument analytique simple. La conception de la partie sensible est une étape très importante dans le développement des capteurs chimiques et des biocapteurs dans le sens où cette dernière doit être conditionnée par de la stabilité dans le temps et dans le milieu réactionnel. A cet effet, nous avons intégré l'hémicellulose qui engendre un biosorbant résistant, doté de plusieurs groupements hydrophobes et un degré de substitution important. Ainsi, sa facilité de mise au point favorise son utilisation comme partie sensible dans un biocapteur destiné à usage environnemental.

## **Références bibliographiques**

- [1] Callender, E. Heavy Metals in the Environment-Historical Trends. *Elsevier-Pergamon*, 2003, 67-105p.
- [2] Lamprea, k. Thèse de doctorat : Ecole Centrale de Nantes (ECN), 2009.
- [3] Chappelka, A.H., Samuelson, L.J. Ambient ozone effects on forest trees of the eastern United States. *New Phytol*, 1998, 91-108p.
- [4] Morakchi, K., Hamel, A., Benjama, A., Kherrat, R. Elaboration d'un capteur électrochimique destiné à la détection des ions cadmium (II). *International Congress on Renewable Energy and the Environment*, 2013.
- [5] Mesnoua, M. Thèse de doctorat : Université de Mostaganem, 2016.
- [6] Wang, K., Paul.Chen, J., Nazih. K., Hung, Y. Heavy Metals in the Environment. *Taylor & Francis Group*, 2009,1-13p.
- [7] Riether, K.B. Thèse de doctorat : Université Paul Verlaine - Metz, 2001.
- [8] Gammoudi, I. Thèse de doctorat : Université de Bordeaux I, 2012.
- [9] Jouanneau, S., Thouand, G. Biocapteurs pour la surveillance des polluants dans l'environnement. *Bioprocédés*, 2019, 2-4p.
- [10] Osbild, D., Babut, M., Vasseur, P. Les biocapteurs appliqués au contrôle des eaux. *Rev. Sel. Eau*, 1995, 505-538p.
- [11] Dupont, D. Applications des biocapteurs dans l'industrie agroalimentaire, 2-5p.
- [12] Canh, T.M. Les biocapteurs principe, construction et application : Mesures physiques, Paris: Masson, 1991,1-5 p, ISBN 2-225-82451-7.
- [13] Campaña, A.L., Sergio, L.F., Mabel, J.N., Olga, P.F., Paola, R.P., Juan, C.C. Enzyme-Based Electrochemical Biosensors for Microfluidic Platforms to Detect Pharmaceutical Residues in Wastewater. *Biosensors*, 2019, 2-21p.
- [14] Touati, A. Thèse de doctorat : Université de Annaba, 2017.

- [15] Jean-Philippe, J. Thèse de doctorat : Université de Paris-Saclay, 2015.
- [16] Montrose, A. Thèse de doctorat : Université Toulouse III - Paul Sabatier, 2013.
- [17] Thevenot, D., Toth, K., Durst, R., Wilson, W. Electrochemical biosensors: recommended definitions and classification. *Biosensors and Bioelectronics*, 2001,121 – 131p.
- [18] Marrakchi, M. Thèse de doctorat : Université de Lyon, 2006.
- [19] Mazerie, I. Thèse de doctorat: Université Rennes 1, 2016.
- [20] Guirardel, M. Thèse de doctorat : Université Paul Sabatier - Toulouse III, 2003.
- [21] Masson, M., Lestremau, F. Veille bibliographique sur les capteurs en développement pour la mesure in situ et en continu des substances réglementées. *AQUAREF*, 2017.
- [22] Moretto, L., kalcher, K. Environmental Analysis by Electrochemical Sensors and Biosensors. *Fundamentals*, ISBN 978-1-4939-0676-5.
- [23] Kazane, I. Thèse de doctorat : Université de Jijel, 2018.
- [24] Moutcine, A. Mémoire: Université de Fès, 2015.
- [25] Dehane, A. Mémoire : Université d'Ouargla, 2015.
- [26] Matsuda, H., Ayabe, Y. Zur Theorie der Randles-Sevčikschen Kathodenstrahl-Polarographie.494-503p.
- [27] Djouadi, A. Mémoire : Université D'EL-OUED, 2012.
- [28] Mace, T., Mace, S. Cactées et succulentes. *Hachette livre*, 2003, 12-20p.
- [29] Briha, O. Thèse de doctorat: Université Mohamed-Rabat, 2012.
- [30] Montserrat, V. Eine stachelige Angelegenheit, 2015,58-59p.
- [31] Schweizer, M. Docteur Nopal. (France), 1997, 81p.
- [32] El Kharrassi, Y. Thèse de doctorat : Université de Bourgogne, 2015.
- [33] Araba, M., EL Aich, A., Sarti, B., Belbahri, L.L., Boubkraoui, A., it Hammou, A., Zemmouri, A., Sbaa, H. Valorisation du figuier de barbarie en élevage, 2000 ,1-4p.



- [34] Feugang, J. M., Konarski, P., Zou, D., Stintzing, F. C., Zou, C. Nutritional and medicinal use of cactus pear. *Frontiers in Bioscience*, 2006, 2574-2587p.
- [35] Habibi, Y. Thèse de doctorat : Université Grenoble I, 2004.
- [36] Guzman, U., Arias, S., Dávila, P., Reyes-Aguero, J.A., Aguirre, J.R., Valiente-Banuet, A. Reproductive biology of Opuntia. *Journal of Arid Environments*, 2006, 549- 589p.
- [37] Stintzing, F.C., Carle, R.2005. Cactus stems, *Molecular nutrition & food research* .175-194p.
- [38] Kouadri, I., Satha, H. Extraction and characterization of cellulose and cellulose nanofibers from Citrullus colocynthis seeds. *Industrial Crops & Products*, 2018, 787-796p.
- [39] Djabali, I., Ababsa, H., Kaibi, F. Mémoire: Université de Constanine, 2016.
- [40] Zoribi, O., Hamaiti, M. Mémoire: Université -El OUED, 2019.
- [41] Renault, E. Thèse de doctorat : Université de Limoges, 2014.
- [42] Joseleau, J.P. Les hémicelluloses, 1980, 87-121p
- [43] Angone, S., Nguema-Ona, E., Driouich, A. La thérapie par les plantes en Afrique. *Phytothérapie*, 2010, 2-4p.
- [44] Liyama, K., Lam, T.B., Stone, B.A. Covalent Cross-Links in the Cell Wall. *Plant Physiology*, 1994, 315-320p.
- [45] Clark, L.C., Lyons, C. Electrode systems for continuous monitoring in cardiovascular surgery. *Ann. N. Y Acad. Sci*, 1962, 29-45p.
- [46] Neelam, V., Minni, S. Biosensors for heavy metals. *BioMetals*, 2005, 121-129p.
- [47] Fragoso, A., Sanromà, B., Ortiz, M., O'Sullivan, C.K. Layer-by-layer self-assembly of peroxidase on gold electrodes based on complementary cyclodextrin–adamantane supramolecular interactions. *Soft Matter*, 2009, 400-406p.
- [48] Chey, O.C., Zafar, H.I., Kimleang, K., Omer, N., Magnus, W. Indirect Determination of Mercury Ion by Inhibition of a Glucose Biosensor Based on ZnO Nanorods. *Sensors*, 2012, 15063-15077p.

- [49] Domínguez-Renedo, O., Alonso-Lomillo, A., Arcos-Martínez, J. Critical Reviews in Environmental Science and Technology. *Biosensors*, 2013,1043-1076p.
- [50] Ejeiana, F., Parisa, E., Hajar-Alsadat, M.T., Soozanipoura, A., Ze-Xian, L., Asadnaci, M., Asghar, T.K., Razmjoua, A. Biosensors for wastewater monitoring. *Biosensors and Bioelectronics*, 2018, 66-79p.
- [51] Lin, C., Jie, W., Huangxian, J. Electrochemical sensing of heavy metal ions with inorganic, organic and bio-materials. *Biosensors and Bioelectronics*, 2015, 276-286.
- [52] Shinichi, K., Yusuke, F., Tomoka, M., Tetsuya, O., Ikuo, S. Biological determination of Ag(I) ion and arginine by using the composite film of electroinactive polypyrrole and polyion complex. *Sensors and Actuators*, 1998, 78-83p.
- [53] Souiria, M., Gammoudi, I., Ben Ouada, H., Mora, L., Jouenne, T., Jaffrezic-Renault, N., Dejous, C., Othmane, A., Duncan, A.C. Escherichia coli-functionalized magnetic nanobeads as an ultrasensitive biosensor for heavy metals. *Procedia. Chemistry*, 2009, 1027-1030p.
- [54] Graziella, L. Design and Development of Biosensors for the Detection of Heavy Metal Toxicity. *International Journal of Electrochemistry*, 2011, 2-5p.
- [55] Bhargavi-Gumpua, M., Swaminathan-Sethuramanb, c., Maheswari-Krishnanb, c., Bosco- Balaguru, R. Detection of heavy metal ions in water – An electrochemical approach. *Sensors and Actuators*, 2015, 515-535p.
- [56] Ocana, C., Malashikhina, N., Del Valle, M., Pavlov,V. Label-free selective impedimetric detection of Cu<sup>2+</sup> ions using catalytic DNA. *Analyst*, 2013, 1995-1999p.
- [57] Oliveira, O., Corduneanu, A.M., Oliveira, B. In situ evaluation of heavy metal–DNA interactions using an electrochemical DNA biosensor. *Bioelectrochemistry*, 2008, 53-58p.
- [58] Kumar, P., Joseph, A., Ramamurthy, P.C., Subramanian, S. Lead ion sensor with electrodes modified by imidazole-functionalized polyaniline. *Mirochim*, 2012, 317-323p.
- [59] Manisankar, P., Chinnapiyan, V., Selvanathan, G., Arumugam, P. Differential pulse stripping voltammetric determination of heavy metals simultaneously using new polymer modified glassy carbon electrodes. *Microchim*, 2008, 289-295p.

- [60] Yasri, N.G., Halabi, A.J., Georges, I., Noguer, T. Chronoamperometric determination of lead ions using PEDOT, *Talanta*, 2011, 2528-2533p.
- [61] Muhammad, R. Mas–Rosemal, H. Application of biopolymer composites in arsenic removal from aqueous medium, *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, 2015,1-9p.
- [62] Chihpin, H., Ying-Chien, C., Ming-Ren, L. Adsorption of Cu (I) and Ni (II) by pelletized biopolymer. *Journal of hazardous materials*, 1996, 265-277p.
- [63] Bong-Chul, S., Kyungmoon, P., Seung- Hoon, S., Young-Je, Y. Selective Biosorption of Mixed Heavy Metal Ions using Polysaccharides. *Korean J. Chem. Eng*, 2004, 1168-1172p.
- [64] Grégorio,C. Recent developments in polysaccharide-based materials used as adsorbents in wastewater treatment. *Prog. Polym*, 2005, 38–70p.
- [65] Eunkyong, K., Yuan, X., Yi-Cheng., Hsuan-Chen, W. Chitosan to Connect Biology to Electronics. *Polymers*, 2015, 7, 1-46p.

## **Chapitre II :**

### **Matériels et méthodes**

## **II. Introduction**

Dans ce chapitre, nous nous sommes intéressés à l'élaboration d'un biocapteur dont la partie réceptrice est à base d'un polysaccharide hémicellulosique dérivé des raquettes d'OFI sur des microélectrodes. Le travail expérimental réalisé est subdivisé en deux parties :

La première est consacrée à l'étude phytochimique qui comprend l'extraction des polysaccharides pariétaux solubles et insolubles dans l'eau. Les paramètres retenus pour les méthodes d'analyses de nos échantillons finaux sont l'humidité, le rendement et l'étude spectroscopique par FTIR.

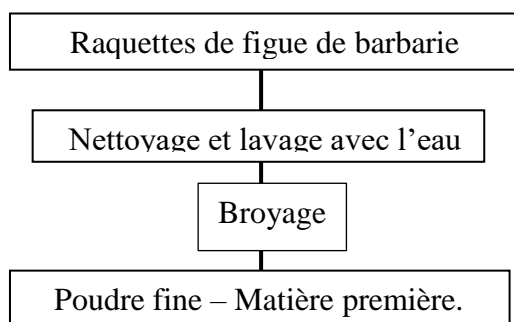
La conception du biocapteur fait l'objet de la deuxième partie. Nous proposons dans le cadre de ce travail l'association du transducteur et le biomatériau polysaccharidique préalablement extrait, en décrivant la préparation de chaque accessoire plus particulièrement le nettoyage, modification et la fonctionnalisation de la surface du transducteur.

### **II.1 Étude phytochimique et extraction**

#### **II.1.1 Matériel végétal**

##### **II.1.1.1 Récolte et préparation de la poudre**

Le matériel végétal utilisé dans cette étude est la partie aérienne (raquettes) de figuier de barbarie de la région de Mila. Après la récolte, les cladodes ont été rincés abondamment à l'eau courante (Figure II.1) ensuite le matériel végétal est séché à l'air libre et à l'abri de la lumière pendant trois mois. Il est broyé par la suite jusqu'à l'obtention d'une poudre fine. Sous cette forme (broyée), la plante présentera une plus grande surface de contact avec les solvants extracteurs, permettant ainsi d'améliorer le rendement des d'extractions [1,2]. Cette dernière a été conservée dans des bocaux à l'abri de la lumière et de d'humidité jusqu'à utilisation.



**Figure II.1** : étapes d'obtention de la poudre à partir des cladodes.

- **Test d'humidité**

Le taux d'humidité dans la poudre de chaque variété est déterminé selon le procédé de séchage à l'étuve ; il consiste à sécher la poudre à 103-105°C jusqu'à un poids stable. Le taux d'humidité est calculé par la formule suivante [3].

$$\text{Taux d'humidité (\%)} = (P_f - P_s) / P_f \times 100$$

$P_f$  : poids de l'échantillon frais (g).

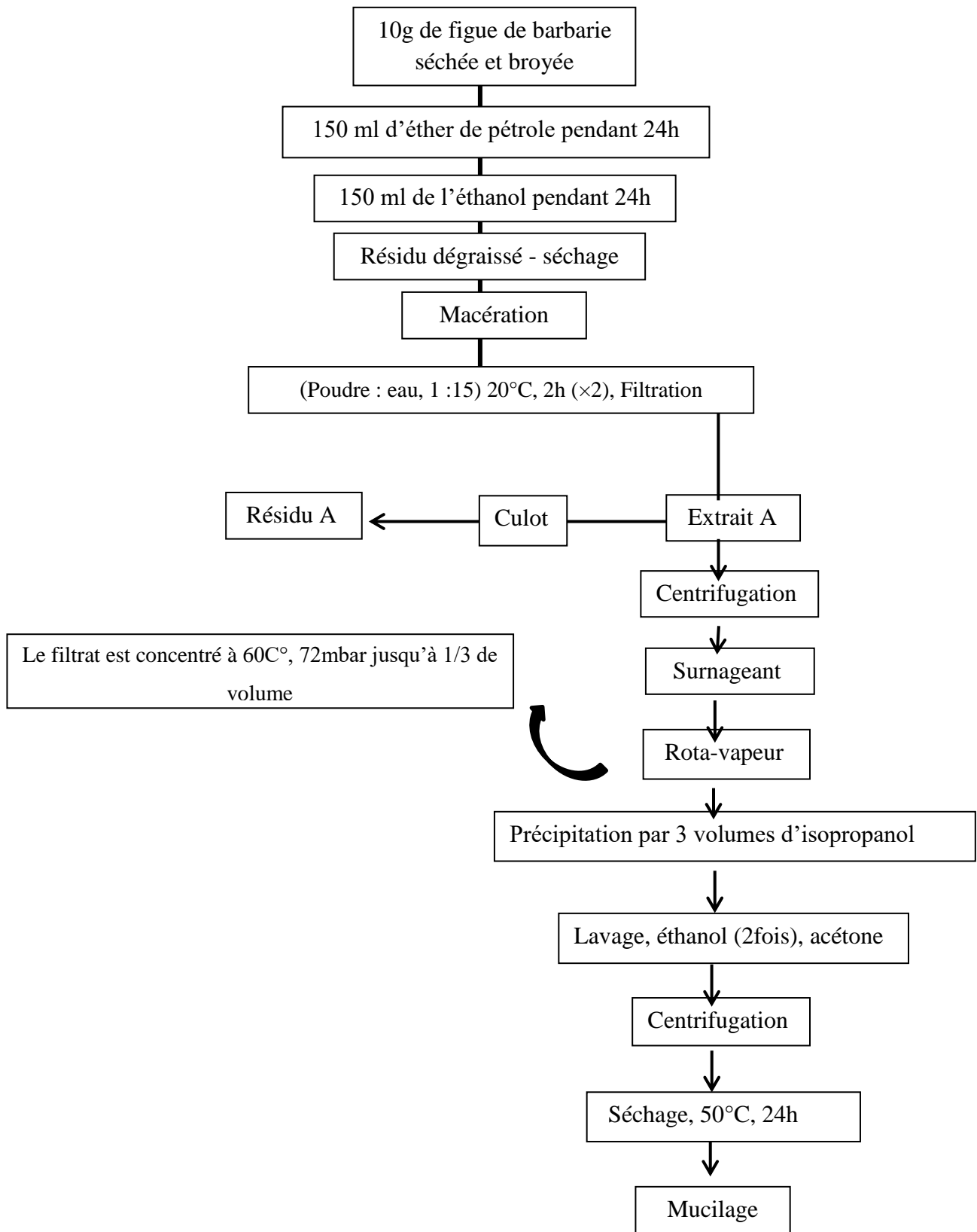
$P_s$  : poids de l'échantillon sec (g).

### II.1.2 Protocole d'extraction sélective et séquentielle des polysaccharides pariétaux

L'extraction séquentielle et sélective des polysaccharides pariétaux des raquettes de figue de barbarie est effectuée selon le protocole de **Habibi, 2004** [4].

- **Extraction des mucilages**

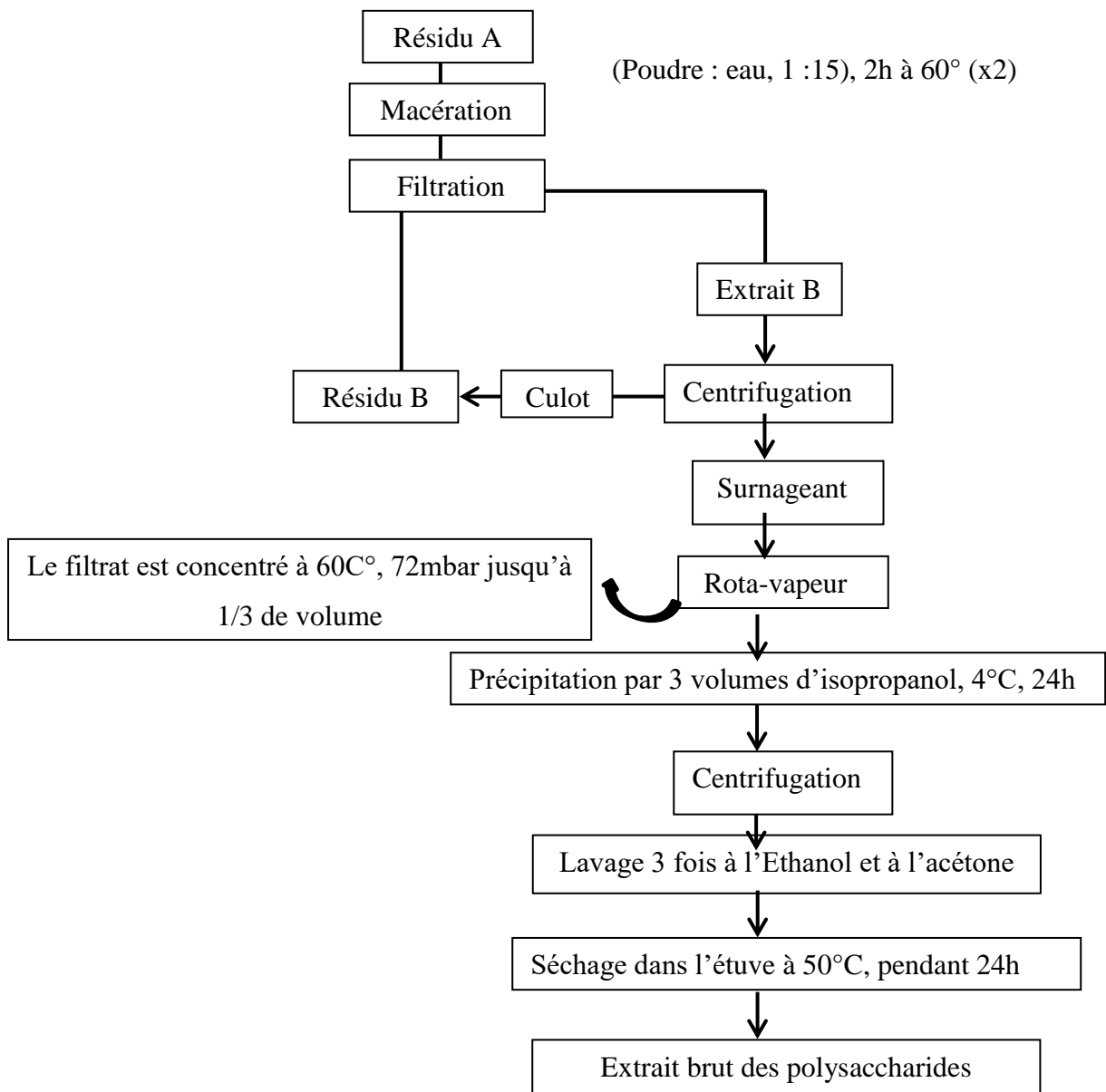
Pour réaliser l'extraction, les raquettes séchées sont prétraitées par l'éther de pétrole pendant 24 heures à température ambiante et sous agitation douce, puis filtrées à travers un tamis en papier Whatman N°1, afin d'éliminer les composés solubles tels que les polyphénols, les oses simples et les acides aminés, la poudre est trempée dans l'éthanol. Le résidu prétraité est séché une seconde fois à l'abri de la lumière, sous ventilation à l'air libre et à température ambiante pendant 24 heures. Le mucilage est extrait à partir d'un résidu dégraissé par l'eau à température ambiante et purifié par précipitation dans l'isopropanol.



**Figure II.2 :** Schéma d'extraction des mucilages.

- **Extraction des polysaccharides hydrosolubles**

Le résidu A de l'étape précédente est soumis à une extraction par l'eau à 60°C au cours de deux cycles de 2 heures et sous agitation douce. Le filtrat est centrifugé puis concentré à 60° C sous pression jusqu'à l'obtention du 1/3 du volume initial. Les polysaccharides du concentrât sont précipités à l'aide de trois volume d'isopropanol pendant 24 heures à une température de 4°C. Après centrifugation le culot est récupéré puis lavé 2 fois à l'éthanol à 75% et une fois par l'acétone, avant d'être séché dans l'étuve à 50°C. La fraction finale obtenue représente l'extrait brut des polysaccharides hydrosolubles [4].



**Figure II.3 :** Schéma d'extraction des polysaccharides hydrosolubles



- **Extraction des polysaccharides pectiques**

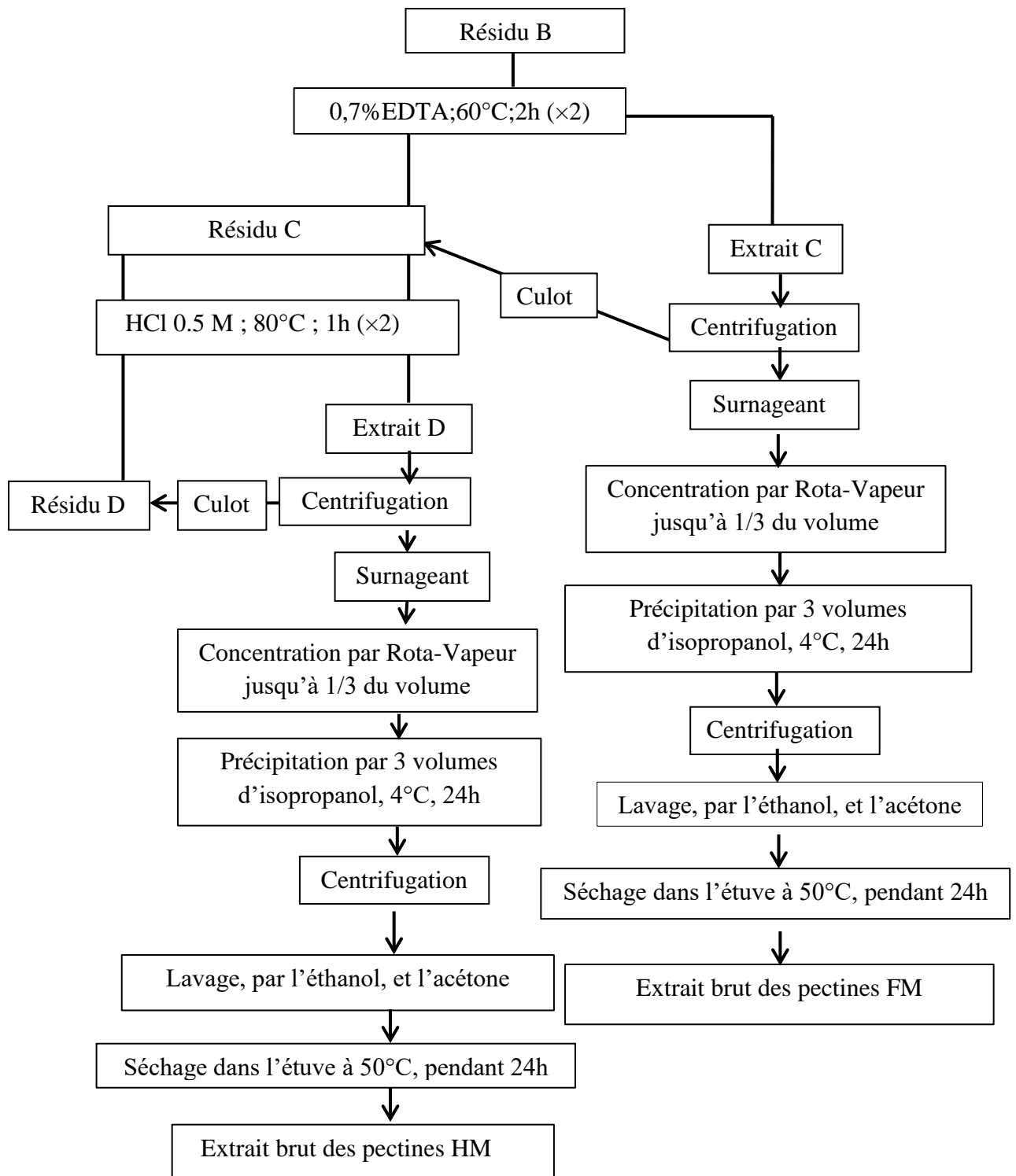
Il s'agit d'extractions successives de manière à épuiser le matériau de tous les polysaccharides pectiques. De ce fait, les pectines sont extraites à chaud séquentiellement avec de l'eau, un agent chélatant du  $\text{Ca}^{+2}$  et l'acide chlorhydrique, comme indiqué sur la (Figure II.4).

Les pectines fortement méthylées (PHM), acides pectiniques ou pectinates ont une grande affinité à l'eau, elles sont donc extractibles par l'eau chaude généralement à des températures inférieures à 80°C. Des milieux tamponnés sont également utilisés.

Les pectines faiblement méthylées (PFM), qui sont présentes dans la paroi complexées par des ions calcium, sont extractibles par un agent chélatant du calcium (oxalate d'ammonium, éthylène diamine tétra-acétique (EDTA) [5].

Le résidu B de l'étape précédente est soumis à une extraction par une solution d'EDTA à 0.7% à 60°C pendant deux cycles de 2 heures. Chaque extraction est suivie d'une filtration et d'une centrifugation. Le filtrat est concentré à 60°C sous pression jusqu'à l'obtention du 1/3 du volume initial, puis sont traités par l'isopropanol en vue de précipiter les extraits. Les précipités récupérés sont dialysés et séchés à 50°C pendant 24 heures. Ils constituent la fraction des pectines faiblement méthylées.

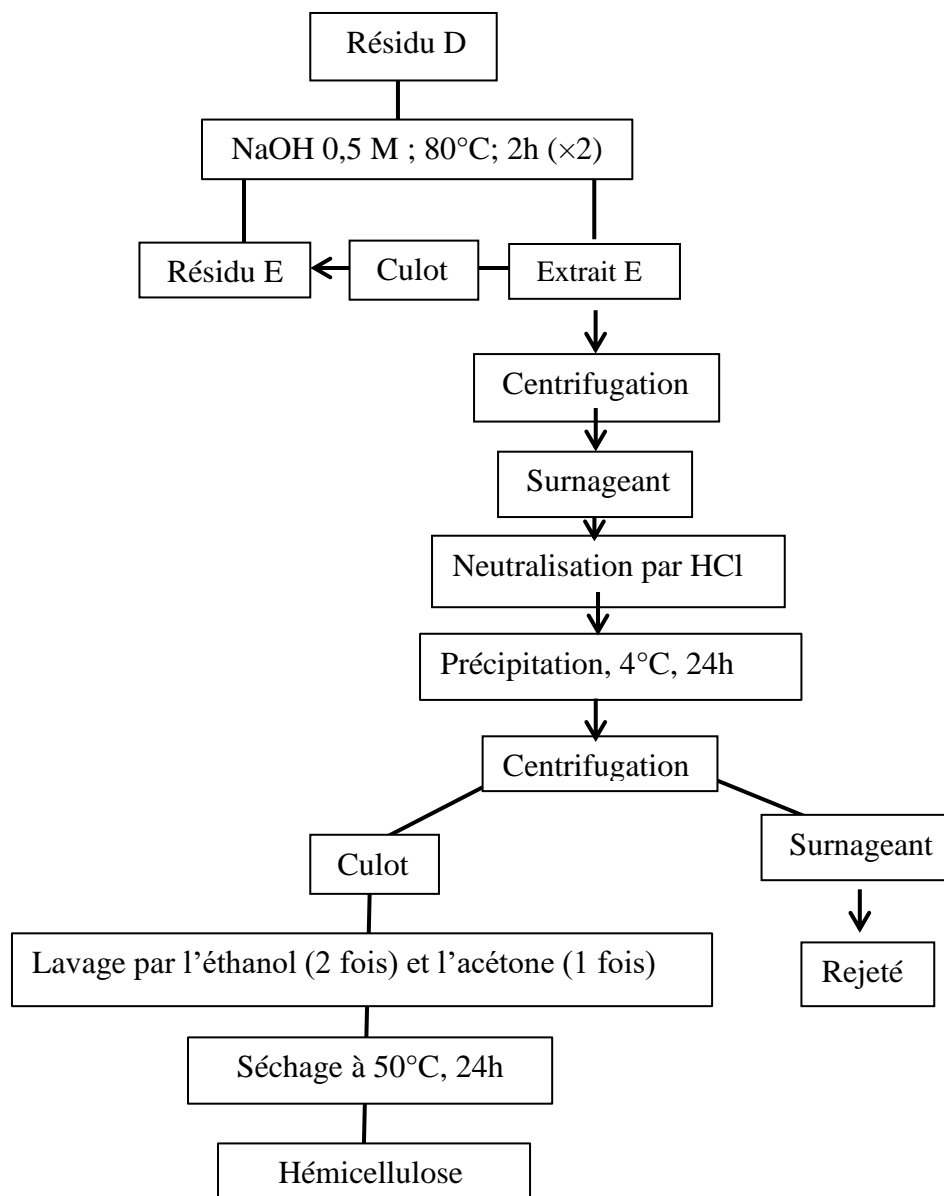
Le résidu C est soumis à une autre extraction par une solution d'acide chlorhydrique (HCl, 0.5M) pour ajuster le pH à 2, pendant 2 cycles d'une heure chacun à 80°C. La fraction extraite à l'acide est précipitée par trois volumes d'isopropanol. Après séchage à l'étuve à 50°C la fraction obtenue représente les pectines hautement méthylées [4].



**Figure II.4 :** Schéma d'extraction des pectines.

- **Extraction des hémicelluloses**

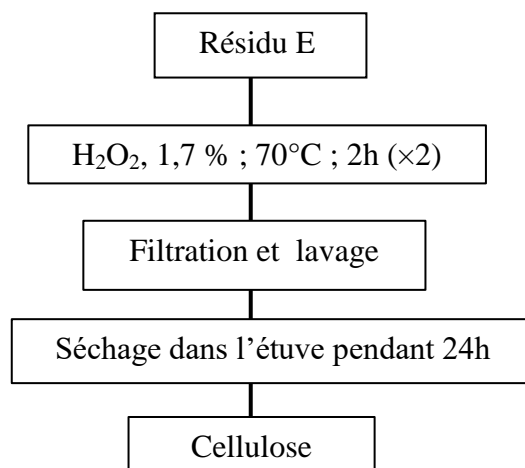
On a adopté le même protocole [4] pour l'extraction des hémicellulose. D'une manière générale, l'extraction des hémicelluloses est réalisée par des solutions alcalines. On peut utiliser des solutions de soude ou de potasse de concentrations croissantes, mais la soude permet de mieux solubiliser les hémicelluloses que la potasse, d'où son choix dans notre schéma d'extraction (Figure II.5).



**Figure II.5 :** Schéma d'extraction des hémicelluloses.

- **Blanchiment de la paroi cellulaire**

Dans la littérature, on parle rarement de l'extraction de la cellulose mais plutôt de purification de la cellulose ou encore d'une façon plus explicite, de l'enrichissement en cellulose. Cet enrichissement résulte de l'élimination de tous les contaminants qui peuvent exister, cette purification est réalisée par les méthodes décrites ci- dessous [4] :



**Figure II.6 :** Schéma de l'étape de blanchiment du résidu final.

### II.1.3 Expression des rendements d'extraction

Les rendements en polysaccharides pariétaux des raquettes de figues de barbarie sont l'expression mathématique des poids secs des polysaccharides pariétaux par rapport à 10 g de poudre des raquettes de figues de barbarie. Ils ont été calculés selon la formule suivante [23] :

$$\text{Rendement (g/ 10g de poudre)(\%)} = \frac{\text{masse des fractions récupérées}}{\text{masse de poudre de figue (g)}} \times 100$$

### II.1.4 Caractérisation de la poudre des polysaccharides du cactus

L'extraction des différents polysaccharides pariétaux a été caractérisée par spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (FTIR) des différents extraits obtenus. Des spectres infrarouges (4000 à 600 cm<sup>-1</sup>) ont été enregistrés sur un spectromètre Bruker Tensor 27 (Ettlingen, Allemagne) à une résolution nominale de 4 cm<sup>-1</sup> en utilisant un accessoire à réflexion totale atténuée (ATR) avec un cristal de diamant.

## II.2 Mise en œuvre du biocapteur

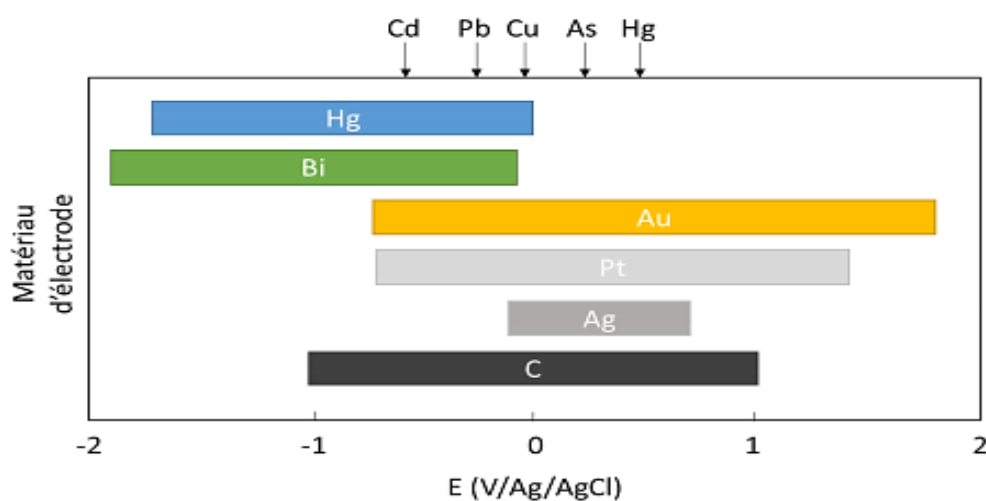
### II.2.1 Construction du biocapteur

#### II.2.1.1 Choix du transducteur

La combinaison d'un biorécepteur et d'un transducteur devrait déboucher sur un grand nombre de biocapteurs. En réalité, il faut qu'il y ait compatibilité entre le transducteur et le biorécepteur pour l'obtention d'un signal électrique [6]. Le signal ainsi obtenu doit avoir un bruit de fond minimal pour assurer un seuil de détection bas et améliorer les performances du biocapteur [7]. Le choix du transducteur est lié aux points très importants et qui dépend alors :

- ✓ Du type de réaction et des substances libérées ou consommées : modification de charge, de pH.
- ✓ De l'application du biocapteur : un biocapteur pour l'usage biomédical peut être à usage unique tandis qu'un biocapteur pour le contrôle de l'environnement doit être robuste.
- ✓ Le domaine d'électroactivité c'est-à-dire la fenêtre de potentiels dans laquelle la réduction ou l'oxydation de l'espèce [8].

Les électrodes d'or occupent actuellement une place importante dans le domaine électroanalytique pour leurs performances électrochimiques [8]. L'autre avantage des surfaces d'or, c'est qu'elles se caractérisent aisément par des méthodes optiques notamment (ellipsométrie, spectroscopie infrarouge, mesure d'angle de contact...) [9].

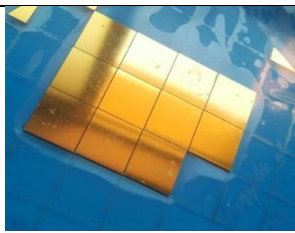


**Figure II.7 :** Domaines d'électroactivité obtenus en milieu aqueux avec différents matériaux d'électrodes et potentiels standards de quelques métaux [8].

### II.2.1.2 Préparation de l'électrode d'Or (Au)

Dans cette partie de travail, nous avons utilisé des plaquettes (Si/SiO<sub>2</sub>) revêtues d'or, avec une épaisseur d'environ 300 nm, comme des électrodes de travail. Une couche de résine est déposée sur la surface d'or afin de la protéger durant la découpe et le stockage [9]. Les caractéristiques des électrodes utilisées dans ce travail sont représentées dans le tableau ci-dessous :

**Tableau II.1** : Caractéristiques de l'électrode Au.

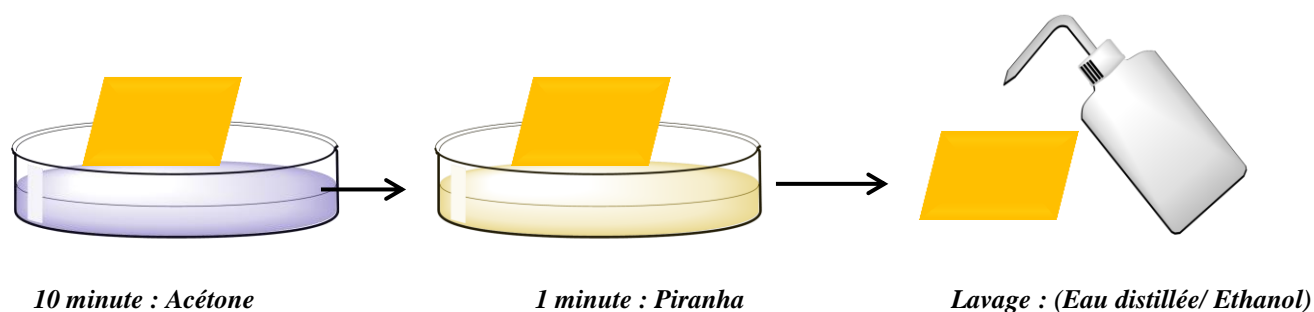
Fournisseur	Surface active	Epaisseur	
Laboratoire : (LAAS) Toulouse France	0.19 cm <sup>2</sup>	300 nm	

### II.2.1.3 Nettoyage des électrodes

Avant d'explorer le processus électrochimique, les électrodes en or ont besoin d'un prétraitement afin d'obtenir une bonne réponse électrochimique [10]. Le nettoyage se fait en deux étapes ; une première étape qui consiste à enlever la couche de résine sur la surface d'or, l'électrode est alors trempée dans l'acétone pendant 10 min. Dans une deuxième étape, l'électrode est nettoyée par un mélange "piranha". Cette solution est composée de (2/3) volumes d'acide sulfurique concentré (96%), H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, avec 3 volumes de l'eau oxygénée, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. L'échantillon est laissé 1 minute dans la solution. Après ce traitement, l'électrode est rincée abondamment à l'eau distillée puis l'éthanol et séchée à l'air libre [9].

Le mélange du Piranha est très dangereux (réaction très exothermique). Étant à la fois fortement acide et un oxydant puissant, il est extrêmement énergétique et explosif s'il n'est pas manipulé avec une extrême prudence. Ce mélange est préparé au préalable, en mettant de l'acide sulfurique en premier, suivi par le peroxyde d'hydrogène [11].

La procédure de prétraitement affecte considérablement les mesures électrochimiques, il est donc absolument essentiel d'obtenir une surface propre et non contaminée avant de commencer les modifications de surface [12].

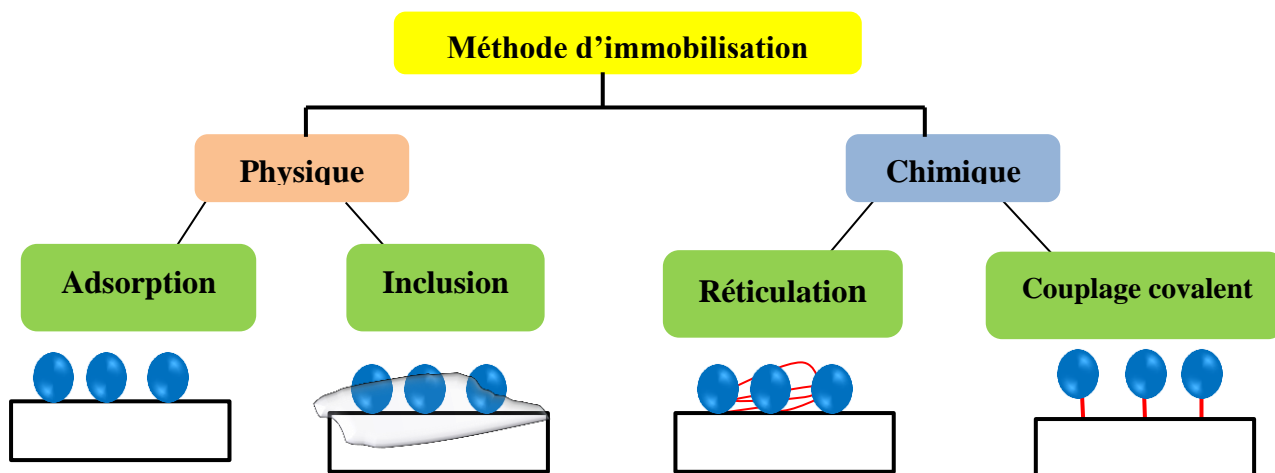


**Figure II.8 :** Schéma récapitulatif de nettoyage des électrodes.

### II.2.2 L'immobilisation du biorécepteur

L'objectif est de fixer les biorécepteurs biologiques sur le transducteur sans altérer leurs propriétés de réactivité vis-à-vis de l'analyte [13]. Les plus importantes considérations lors des créations des biocapteurs électrochimiques sont l'immobilisation. En effet, l'application d'une méthode électrochimique appropriée ainsi que l'établissement d'un transfert d'électron efficace nécessite de garder les propriétés de reconnaissance biologique du biomatériau [14]. Les biomolécules immobilisées doivent conserver leurs structures et leurs fonctions biologiques et le choix de la technique la plus judicieuse dépend de la nature de la biomolécule, du transducteur et de la détection associée.

Les techniques d'immobilisation utilisées pour accrocher les bioéléments sur le biorécepteur peuvent être classées selon le mode de fixation en deux catégories : le mode de fixation direct (ne faisant pas intervenir une couche d'accroche intermédiaire entre le substrat et l'élément biologique) et le mode indirect [15,16].



**Figure II.9 :** Représentation schématique des différentes méthodes d'immobilisation du biorécepteur.

Différentes méthodes sont décrites dans la littérature pour attacher les biomolécules à la surface du transducteur. Les quatre méthodes principalement utilisées sont l'adsorption, l'inclusion, la réticulation et le couplage covalent. Elles sont présentées sur la (Figure II.9) :

#### **II.2.2.1 Adsorption**

L'adsorption repose sur la capacité de certains corps minéraux ou organiques à fixer une molécule donnée à leur surface. L'immobilisation est alors due à des interactions faibles de type Van der Waals.

#### **II.2.2.2 Inclusion**

La méthode d'inclusion consiste à incorporer le biorécepteur dans un gel insoluble. La matrice doit permettre la diffusion uniquement des petites molécules afin que les biorécepteurs ne puissent pas s'en échapper.

#### **II.2.2.3 Réticulation**

La réticulation repose sur l'utilisation d'agents dits réticulants qui vont permettre de lier les biorécepteurs entre eux par des liaisons chimiques.

#### **II.2.2.4 Couplage covalent**

Le couplage covalent de molécules biologiques sur un transducteur nécessite la présence d'un groupement fonctionnel. Ces groupements présents à la surface, sont des fonctions carboxyliques, des thiols, des alcools ou encore des amines.

Pour avoir une bio-reconnaissance favorable, il est nécessaire de contrôler les critères d'immobilisation des biorécepteurs [17] :

- ✓ Les biorécepteurs doivent maintenir leurs activités biologiques une fois immobilisés sur la surface de l'électrode de travail.
- ✓ Une fois immobilisé, le matériel biologique ne doit pas se détacher, non seulement pendant l'activité de bio-reconnaissance, mais aussi doit résister aux changements des conditions de milieux (température, pH...).
- ✓ Les biorécepteurs immobilisés doivent avoir une stabilité et une durabilité au cours du temps.

### **II.2.3 Electrodes modifiées par des films de polymères**

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



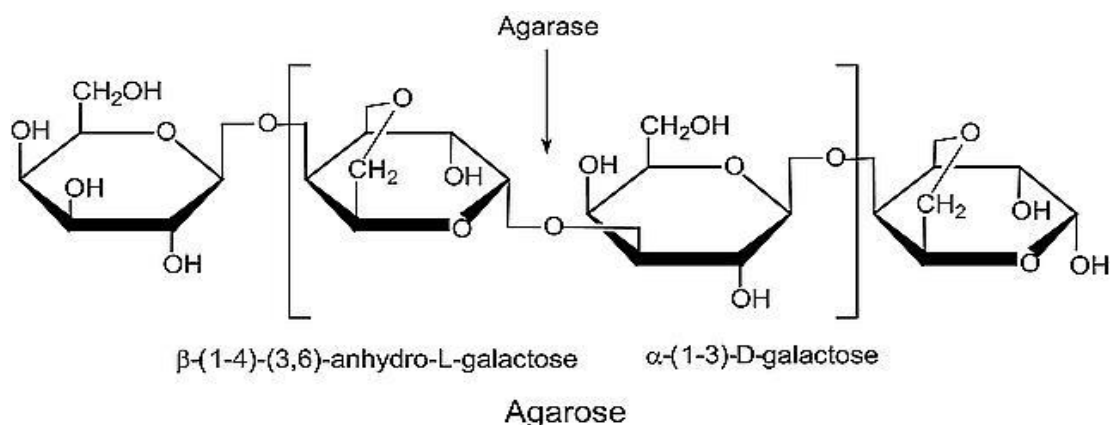
### II.2.3.1 Polymères conducteurs bio-sourcés

Les appareils de diagnostic environnemental exigent le développement des matériaux conducteurs à partir des matériaux biologiquement inertes et souples. Ces biopolymères ayant de bonnes capacités de transfert d'électrons offrent une stratégie encourageante dans la biosurveillance environnementale [18].

### II.2.3.2 L'agarose

L'agarose est parmi les biopolymères candidats pour le transfert d'ions et le développement de dispositifs électroniques. C'est un polysaccharide, hydrogel biodégradable extrait d'algues marines [19]. Son industrialisation en extrait sec a démarré au début du 18ème siècle et il est maintenant appelé Agar-agar. Le terme « Agar » est aujourd'hui le plus utilisé et l'agarose est en fait un polymère non ramifié issu d'agar purifié. L'agarose, constituée majoritairement d'agarobiose contenant de nombreux radicaux hydrophobes comme  $\text{CH}_2\text{-O}$  ainsi que des groupements OH et H responsables de la gélification de l'agar agar. L'agar comporte des caractéristiques très intéressantes en tant que biopolymère [18] :

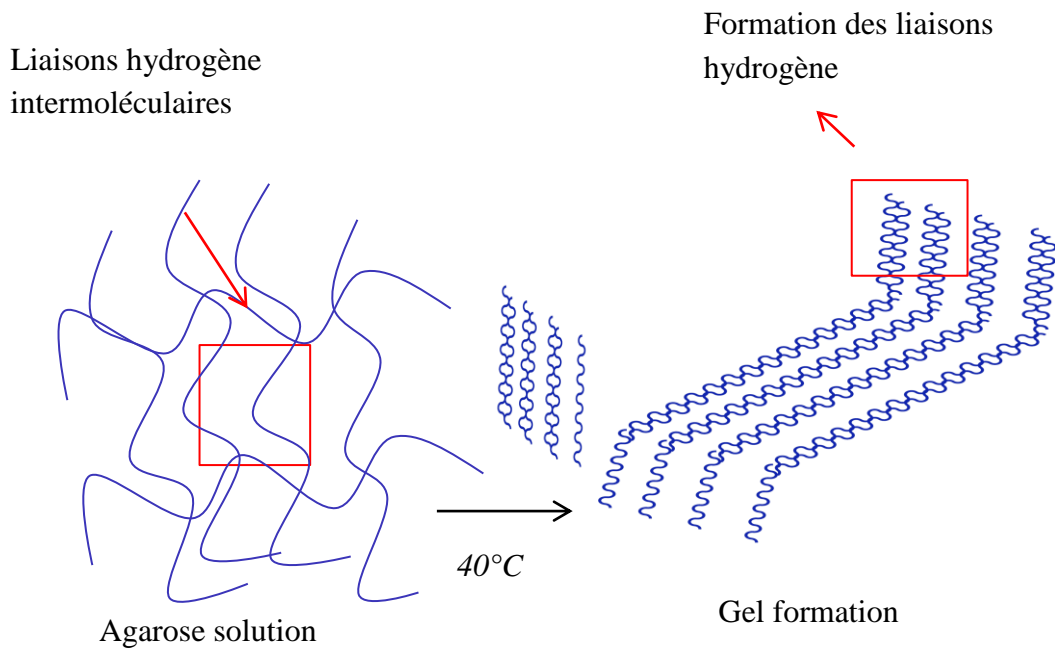
- Il possède un grand pouvoir gélifiant.
- Aucun réactif n'est à ajouter pour produire le gel tel que le potassium ou le calcium ou tout autre cation divalent comme par exemple pour les alginates.
- Sa structure est stable dans un large domaine de pH ( $4 \leq \text{pH} \leq 8$ ).
- L'agarose est stable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



**Figure II.10** : Structure chimique de l'agarose, présentant l'unité de répétition de l'agarose avec : D-Galactose et le L-Anydro Galactose [18].

- **Gélification**

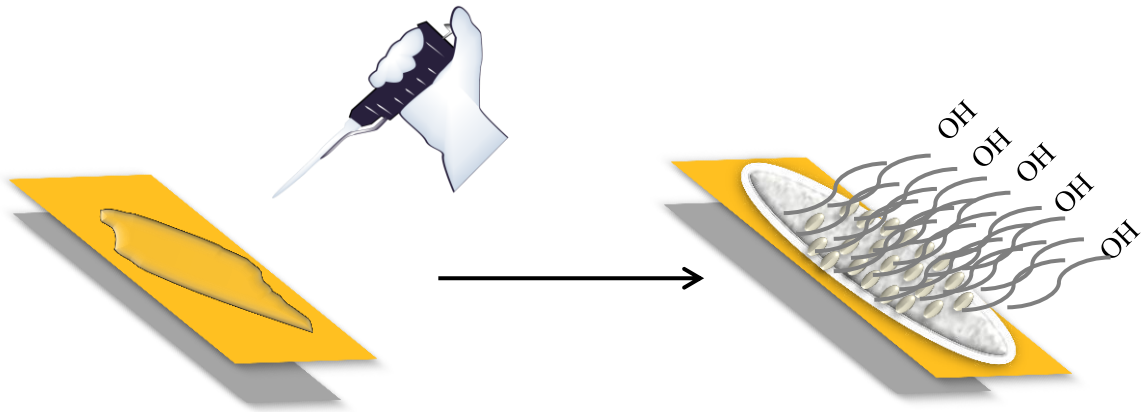
La solubilisation du polymère en voie humide et en température permet aux chaînes de s'étendre. Les chaînes se distribuent ensuite de manière homogène sous forme d'hélices lors du refroidissement. Enfin, il apparaît l'agrégation entre les hélices lorsque le point de gélification de l'agarose est atteint [20]. Pour obtenir un gel, la solution contenant l'agarose doit être portée à une température d'environ 87°C (Température de fusion  $T_f$ ) puis par la suite refroidie afin d'atteindre la gélification complète du système à environ 40°C [18].



**Figure II.11** : Formation du gel d'agarose

### II.2.3.3 Immobilisation de la matrice Agarose/Hémicellulose (AG/HEM)

Notre matrice est préparée par la méthode « spin-coating ». Cette technique a l'avantage d'être facilement mise en œuvre, pour des investissements relativement modérés [21]. La fonctionnalisation de notre électrode est effectuée par la préparation d'une suspension constituée de l'agarose dissout dans une solution tampon PBS ; une goutte de 15  $\mu\text{L}$  déposée par « spin-coating » à 2000 rpm sur la surface d'électrode. La surface est ensuite séchée à l'air libre pendant 24 heures.



**Figure II.12** : Technique de déposition de la matrice AG/HEM.

#### II.2.3.3.1 Caractérisation électrochimique de l'électrode AG/HEM

Les caractérisations électrochimiques sont réalisées avec un PalmSens (Emstat3). Une cellule électrochimique est placée dans une cage de Faraday afin de réduire l'influence des ondes électromagnétiques. L'analyseur est piloté par un ordinateur à l'aide du logiciel «Ps Trace».

- Une électrode de travail en or modifiée par la membrane polymérique, sur laquelle on examine les différents processus électrochimiques à explorer.
- Une électrode de référence (Ag/AgCl) dont le potentiel est constant et connu, ce qui permet ainsi de contrôler le potentiel à l'électrode de travail.
- Une électrode auxiliaire en platine appelée aussi contre-électrode qui permet de boucler le circuit électrique dans la cellule électrochimique.

Le passage du courant dans la cellule se fait à travers la contre électrode. Celle-ci a souvent une surface active, lorsqu'elle est fixée sur la cellule, grâce à un joint torique qui est dans notre cas de l'ordre de  $0,52 \text{ cm}^2$  [22].

Dans la partie inférieure de la cellule, on note, par ailleurs, l'existence de deux ouvertures de positions opposées destinées pour positionner l'électrode de travail et la contre électrode de platine alors que la partie supérieure de la cellule permet de positionner l'électrode de référence [9].

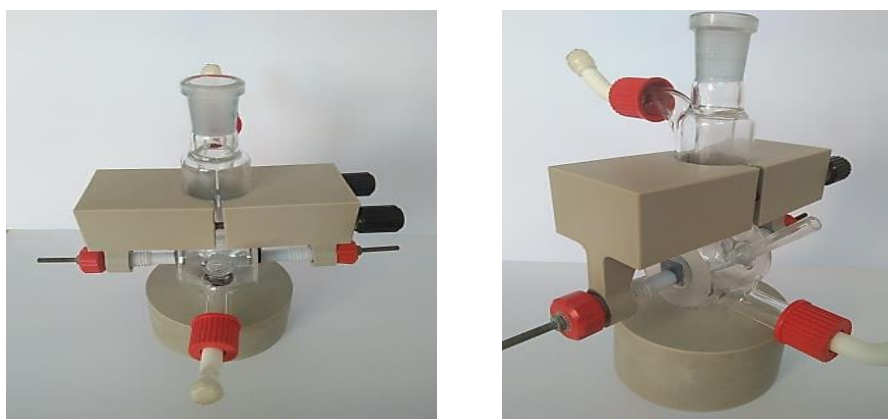


Figure II.13 : Cellule électrochimique à trois électrodes.

#### II.2.4 Application de l'électrode modifiée (AG/HEM/Au)

Les ions métalliques ont été caractérisés séparément par voltammétrie cyclique CV et voltammétrie à ondes carrées SWV respectivement à température ambiante et à la vitesse de balayage  $50\text{mV}\cdot\text{s}^{-1}$  dans un milieu PBS (0.5M). Des cycles répétitifs [8-10] ont été effectués sur l'électrode de travail modifiée. Cette caractérisation électrochimique est réalisée en deux grandes parties :

##### II.2.4.1 Pré-concentration électrochimique

Après la mise en place des outils nécessaires dans la cellule électrochimique, on initie nos ajouts (introduction du métal  $\text{Me}^{2+}$ ) réalisés séparément dans un intervalle de temps bien défini. Cette étape consiste à peupler le milieu électrolytique par les espèces oxydables qui s'accumulent au voisinage d'électrode, l'agitation est parallèlement déclenchée pendant 5 minutes pour assurer un apport contrôlé des cations métallique à la surface de l'électrode.

##### II.2.4.2 Détection

Un potentiel suffisamment négatif est appliqué à la AG/HEM/Au (électrode de travail) pour permettre la réduction des cations accumulés en surface ensuite, les cations réduits sont réoxydés en effectuant un balayage du potentiel vers des valeurs plus positives en mode CV et SWV.

## **Références bibliographiques**

- [1] Ouotmani, D., Mertousse, F. Mémoire : Université de Bejaia, 2017.
- [2] El Kharrassi, Y. Thèse de doctorat : Université de Bourgogne, 2015.
- [3] Boudjellaba, S., Yassa, A. Mémoire de fin de cycle : Université de Bejaia, 2012.
- [4] Habibi, Y. Thèse de doctorat : Université Joseph-Fourier - Grenoble I, 2004.
- [5] Bokhari, H., Brahimi, T. Thèse de doctorat : Université d'Oran, 2016.
- [6] Gammoudi, I. Thèse de doctorat : Université de Bordeaux I, 2012.
- [7] Claire, S. Thèse de doctorat : Université de Bordeaux, 2014.
- [8] Jean-Philippe, J. Thèse de doctorat : Université de Paris-Saclay, 2015.
- [9] Zehani, N. Thèse de doctorat : Université-Lyon, 2015.
- [10] Mazerie, I. Thèse de doctorat : Université- Rennes 1, 2016.
- [11] Sbartaï, A. Thèse de doctorat: Université -Lyon, 2014.
- [12] Khadka, R., Aydemir, N., Carraher, C., Hamiaux, C., Baek, P., Cheema, J., Kralicek, A., Travas-Sejdic, J. Investigating Electrochemical Stability and Reliability of Gold Electrode-Electrolyte Systems to Develop Bioelectronic Nose Using Insect Olfactory Receptor. *Electroanalysis*, 2019, 1-14p.
- [13] Rabih, K. Thèse de doctorat : Université Paris-Saclay, 2018.
- [14] Ramanavicius, A., Ramanaviciene, A., Malinauskas, A. Electrochemical sensors based on conducting polymer—polypyrrole. *Electrochimica Acta*, 2006, 6025–6037p.
- [15] Anca-Stefana, F. Thèse de doctorat: Université Claude Bernard - Lyon I, 2015.
- [16] Rosine- Pélagie, K. Thèse de doctorat : Université de Yaounde, 2011.
- [17] Sboui, D. Thèse de doctorat : Université de Lyon, 2016.

[18] Guillet, J-F. Thèse de doctorat : Université de Toulouse-Paul Sabatier, 2017.

[19] Jong, S.K., Ju-Hyung, K., Younghyun, C., Tae- Soup, S. Agarose/Spherical Activated Carbon Composite Gels for Recyclable and Shape-Configurable Electrodes. *Polymers*, 2019, 1-10p.

[20] Scott, W.E., Fulmer, A., Arnott, S. The Agarose double Helix and Its function in Agarose gel structure. *J. Mol. Biol*, 1974, 269-284p.

[21] Kazane, I. Thèse de doctorat : Université de Jijel, 2018.

# **Chapitre III :**

# **Résultats et discussions**

### III. Introduction

Notre objectif étant défini dans les parties antérieures, dans ce chapitre on présentera en premier lieu les résultats des caractérisations physico-chimiques des extraits polysaccharidiques. On adaptera ensuite le biocapteur à une utilisation en milieu liquide en validant son fonctionnement vis-à-vis des ions métalliques  $Pb^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$ ,  $Hg^{2+}$  et  $Cu^{2+}$  respectivement avec des seuils de détection intéressants.

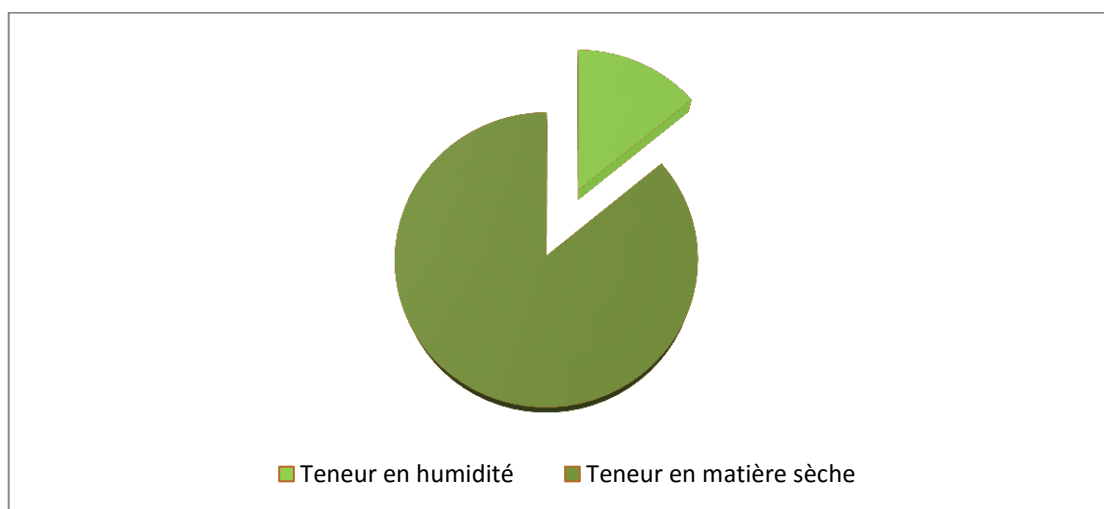
### III.1 Résultats et discussion

#### III.1.1 Caractérisation physico-chimiques

##### III.1.1.1 Test d'humidité

**Tableau III.1** : Teneurs en humidité et en matière sèche.

Test	Humidité(%)	Matière sèche (%)
2g de la matière végétale	9.4	90.6



**Figure III.1** : Teneur en humidité et en matière sèche.

Le figuier de barbarie se développe normalement sous les climats des zones arides et semi-arides du nord et de l'est de l'Afrique où l'humidité moyenne est supérieure à 60 % [1]. La détermination de la teneur en matière sèche de la poudre des raquettes d'*Opuntia ficus-indica* révèle un taux d'humidité de 9.4 % et le taux en matière sèche est estimé à 90.6%.



Le taux d'humidité a une importance majeure car l'eau est une source de dégradation des antioxydants et sur lequel une activité enzymatique, en particulier des polyphénols-oxydases, peut rapidement entraîner des changements irréversibles après collecte du matériel végétal [2]. En effet, ce paramètre est attribué généralement à la fraction majoritaire du mucilage du figuier de barbarie parce qu'il a la capacité d'absorber des grandes quantités d'eau [3]. Ces résultats sont quelque peu différents de ceux rapportés par d'autres auteurs. Par exemple Nebbache et al ont obtenu 18.05%, alors que Habibi et al ont enregistré des valeurs plus faibles allant de 5 à 6% [4,5]. Cette différence est probablement due au degré de séchage, l'origine géographique, caractéristiques pédoclimatiques, composition du sol, conditions de stockage et au degré de maturité.

### III.1.1.2 Rendement en extraits secs

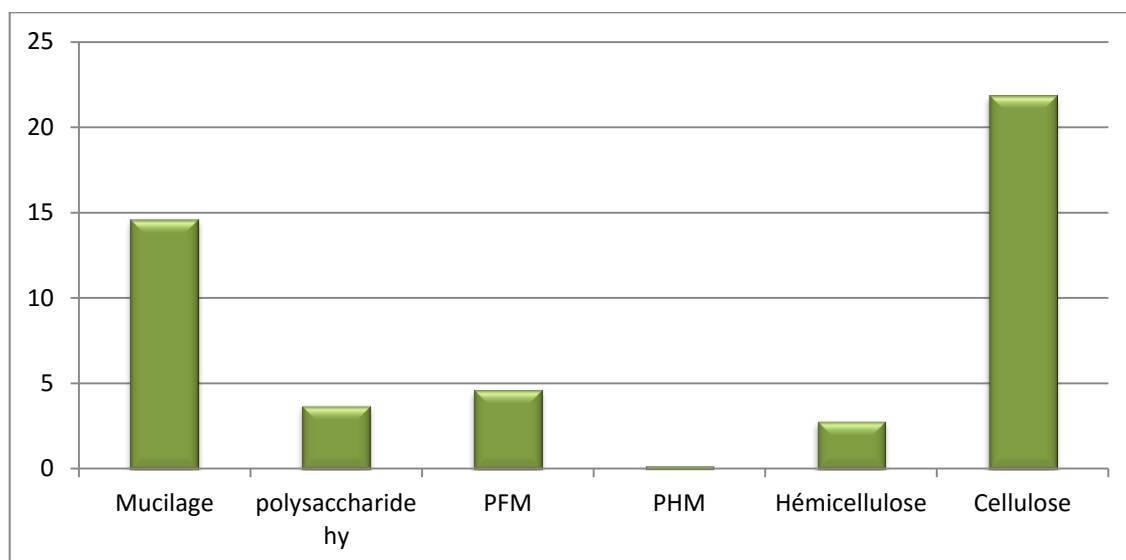
La séquence de traitement adoptée pour l'extraction des polysaccharides des raquettes de l'opuntia ficus-indica nous a permis de les fractionner en cinq principaux groupes à savoir : mucilage, polysaccharides hydrosolubles, pectines, hémicellulose et cellulose. En plus, les extractions des différents composés présents dans les échantillons ont permis de calculer le rendement de chaque extrait, notamment les extraits bruts. Ce rendement est déterminé par rapport à 10 g de matière végétale sèche. Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau suivant :

**Tableau III .2 :** Rendement des différentes fractions extraites.

Fraction	Masse <sub>0</sub> (g)	Masse <sub>1</sub> (g)	Rendement (%)
<b>Mucilage</b>	10	1.460	14.60
<b>Polysaccharides hydrosolubles</b>	10	0.373	3.73
<b>PFM</b>	10	0.465	4.65
<b>PHM</b>	10	0.021	0.21
<b>Hémicellulose</b>	10	0.282	2.82
<b>Cellulose</b>	10	2.184	21.8

M<sub>0</sub> : poids de la matière première avant l'extraction.

M<sub>1</sub> : poids de l'extrait obtenu après l'extraction.



**Figure III.2 :** Rendements des différentes fractions.

On remarque que les cladodes d'OFI sont mieux pourvus en cellulose dans ses tissus par rapport à la matière sèche. Notre rendement de 21.8% (Figure III.2) traduit sa prépondérance et ce qu'on trouve aussi dans la littérature chez Habibi et al, Ben-Thlija et al, Touré et al et Malainine et al qui ont validé des rendements de cellulose avec 25%, 11%, 15% et 17.5% respectivement de la matière première de départ [5-8].

D'autre part, les raquettes sont réputées être mucilagineuses, ce qui font d'elle les substances visqueuses responsables de la rétention d'eau. De plus, les mucilages assurent plusieurs fonctions pour le végétal : ils interviennent dans les réponses aux blessures, le transport de l'eau et dans la réponse aux stress abiotiques. Cela, pourrait expliquer la richesse des raquettes en mucilages [3]. Notre rendement est 3 fois supérieur à celui de Habibi et al qui ont trouvé un rendement de 4.5% par rapport à la matière sèche [5]. Le pourcentage de l'hémicellulose de 2.82% est estimé faible par rapport à la cellulose 21.8%, mucilage 14.60% et polysaccharides hydrosolubles 3.73% mais il se trouve en moindre proportion aussi pour Habibi et al avec 5.8% [5].

Cependant, il est difficile de comparer ces résultats avec ceux de la bibliographie, car le rendement n'est que relatif et semble être lié aux propriétés génétiques [9,10] ainsi qu'à la durée de stockage de la récolte et aussi aux méthodes d'extraction appliquées. Parmi les conditions expérimentales, la température d'extraction a une très grande importance dans le processus d'extraction sans oublier que l'élévation de la température permet l'accroissement de la solubilité, la diffusivité du soluté et la diminution de la viscosité,

donc elle doit être limitée pour éviter les risques d'extraction des composés nuisibles et la dégradation thermique du soluté [11].

### III.1.1.3 Interprétation des spectres infrarouges FT-IR

#### • Spectres FT-IR de mucilage

Le spectre IR (Figure III.3) de l'extrait de mucilage montre en premier lieu une large bande de  $3213\text{cm}^{-1}$  qui semble correspondre à la vibration d'élongation du groupement hydroxyle (O-H). Le spectre laisse apparaître aussi une bande d'absorption à  $2919\text{ cm}^{-1}$  et  $2843\text{ cm}^{-1}$  attribuées à la vibration asymétrique des liaisons (C-H) du groupe polysaccharidique carboxylique [12]. Une autre bande d'absorption à  $1582\text{ cm}^{-1}$  est due à l'étirement des groupes d'anions carboxyliques ( $\text{COO}^-$ ) et peut être attribué aussi à la lignine résiduelle [13]. Deux pics sont obtenus entre  $1416\text{cm}^{-1}$  et  $1254\text{ cm}^{-1}$  et correspondent à des vibrations de liaisons (C-H), (O-H). Les derniers pics avec  $1086\text{ cm}^{-1}$  et  $890\text{cm}^{-1}$  correspondent respectivement des liaisons (C-O) des esters ou hydroxyles, (C-H) glycosidique [14]. Chaque extrait de polysaccharides a des bandes spécifiques dans la région  $(1200-800)\text{ cm}^{-1}$  plus particulièrement  $1086\text{ cm}^{-1}$ . En effet, cette région est caractérisée par le chevauchement des pics de vibration et de rotation du groupement (C-OH) des oses et de vibration de la liaison osidique (C-O-C) comme pyranose squelettique [15]. Enfin, une bande caractéristique est située au voisinage de  $890\text{ cm}^{-1}$ . Elle correspond aux sucres de configuration comme (C<sub>1</sub>-H) xylose [13]. Ces configurations sont de type  $\beta$  qui se situe autour de  $890\text{ cm}^{-1}$  [16].

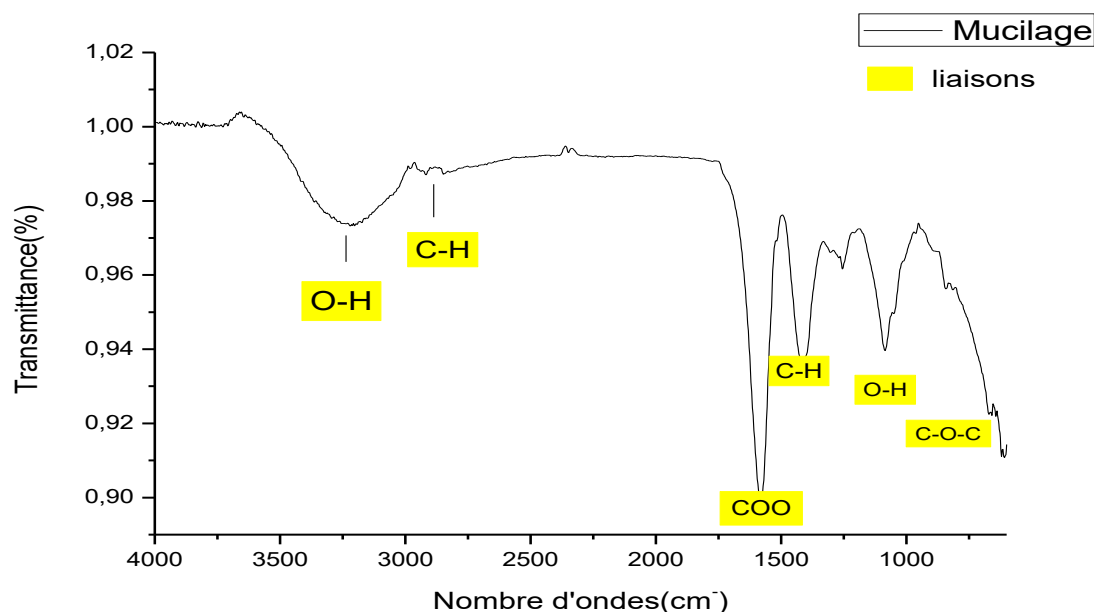


Figure III.3 : Spectres FT-IR de mucilage.

#### • Spectres FT-IR des polysaccharides hydrosolubles

Les spectres IR des polysaccharides hydrosolubles extraits sont représentés dans la Figure III.4. Ces spectres font apparaître une bande d'absorption autour de  $3245\text{ cm}^{-1}$  qui peut être attribuée à la vibration d'élongation (O-H) (groupements hydroxyles). Le spectre affiche également des vibrations de valence des liaisons (C-H) et (CH<sub>2</sub>) des polysaccharides correspondent aux fractions aliphatiques sous forme des faibles bandes de vibrations asymétriques, à environ  $2943\text{ cm}^{-1}$ ,  $2879\text{ cm}^{-1}$  et  $2831\text{ cm}^{-1}$ [17]. Une absorption observée à  $1585\text{ cm}^{-1}$  correspond spécifiquement à la vibration d'élongation de la fonction (C=O) du groupe carboxylique (COOH) de l'acide galacturonique. Le signal à  $1251\text{ cm}^{-1}$  présente les groupements acétyles. Enfin, la vibration à environ  $1083\text{ cm}^{-1}$  est attribuée aux liaisons (C-O-C) et (C-O-H) dans l'empreinte digitale spectrale qui convient aux bandes caractéristiques des polysaccharides.

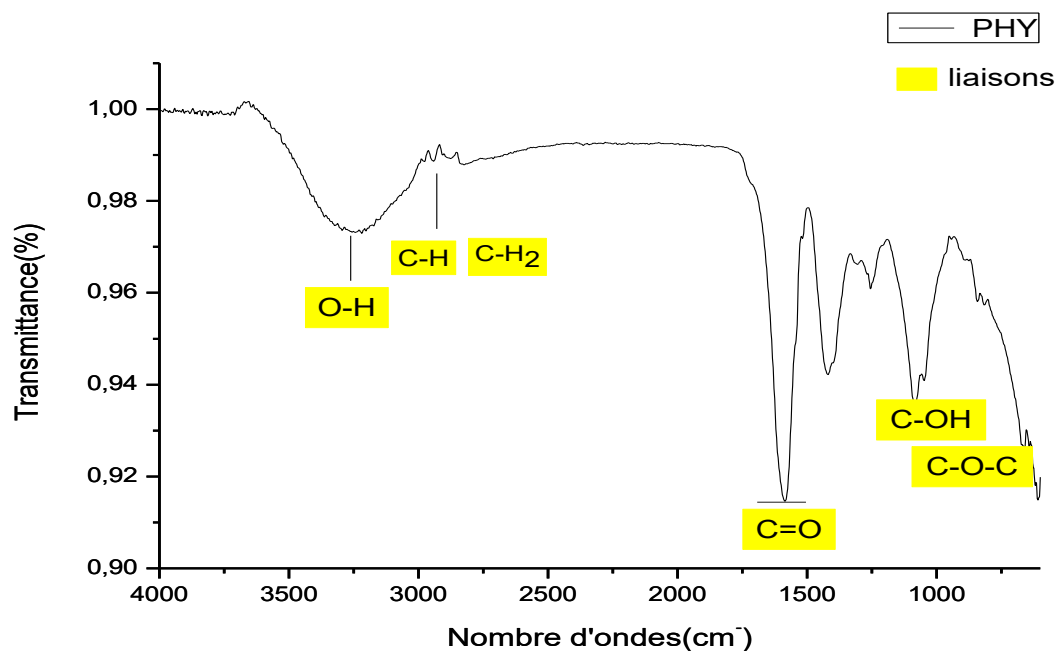


Figure III.4 : Spectres FT-IR des polysaccharides hydrosolubles.

#### • Spectres FT-IR des PHM et PFM

Deux larges et fortes bandes  $3366\text{cm}^{-1}$   $3332\text{cm}^{-1}$  pourraient être attribuée à l'étirement des groupes (O-H) des PHM et PFM respectivement, liés aux liaisons hydrogène intra- et intermoléculaires du polymère d'acide galacturonique [18]. Les vibrations asymétriques, à environ  $2927\text{cm}^{-1}$  et  $2845\text{cm}^{-1}$  pour les PHM,  $2942\text{cm}^{-1}$  pour les PFM correspondent à la liaison (C-H). Ces bandes observées correspondent aux deux types de vibrations d'élongation et de déformation de groupement méthyle (C-H) de l'acide galacturonique [19]. En théorie, les bandes d'étirement (O-CH<sub>3</sub>) dans cette région pourraient être utilisé pour différencier les pectines.

Les pics à  $1596\text{cm}^{-1}$  et  $1603\text{cm}^{-1}$ , caractéristiques des fonctions carboxyles des pectines constituant la lamelle mitoyenne, sont également impactés par l'absorption d'eau, elle correspond à la bande d'élongation des liaisons (C=O) des esters et des acides [5]. Cette bande peut être attribuée aux oses acides estérifiées ou non que l'on retrouve surtout dans les pectines et a moindre proportion dans les hémicelluloses. Les signaux à  $1254\text{cm}^{-1}$ ,  $1254\text{cm}^{-1}$ , désignent la présence de groupe acétyles issus des résidus pectiques. Les intervalles  $(1045-1094)\text{cm}^{-1}$ ,  $(1080-1052)\text{cm}^{-1}$  pour PHM et PFM respectivement reflètent les liaisons (COC) (fonction éther) [20]. Ces spectres présentent des bandes d'absorption caractéristiques de l'arabinose, de faibles intensités dues aux liaisons (C-O-C) glycosidique

et (C-C) polysaccharidique [21,13]. Enfin, les pics compris entre  $(800-1200) \text{ cm}^{-1}$  sont caractéristiques de la nature polysaccharidique de la fibre.

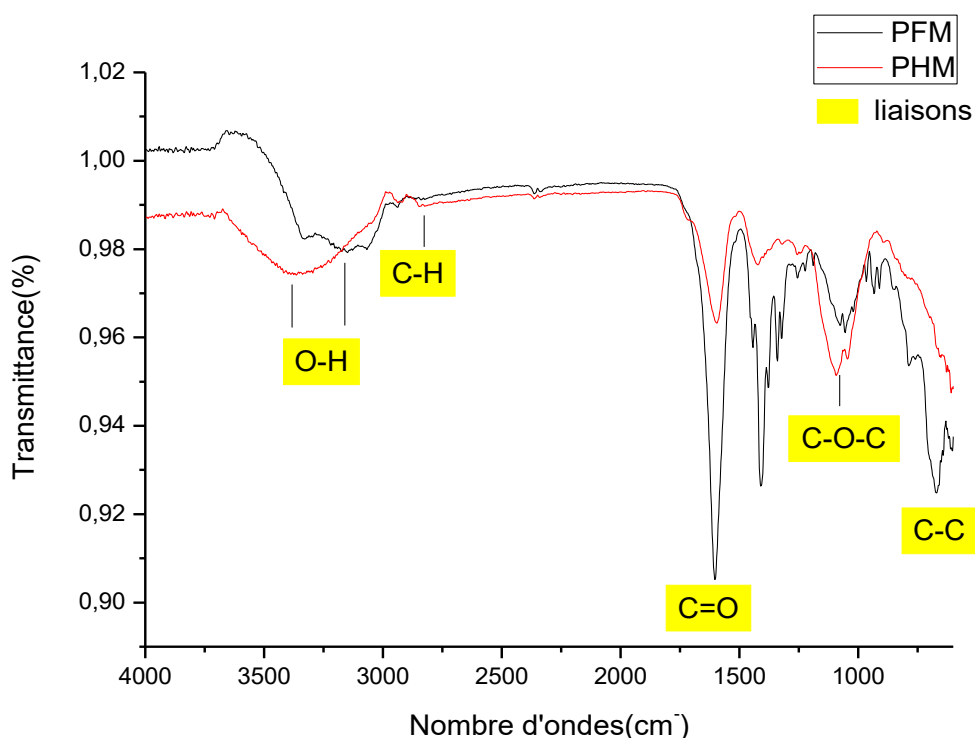
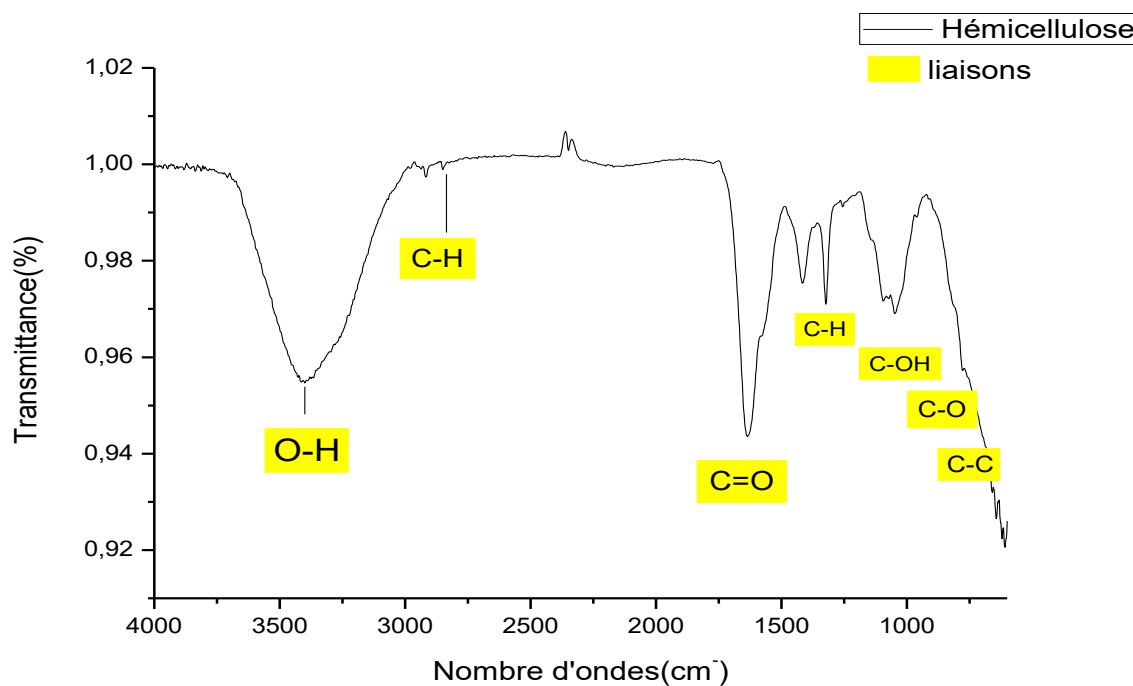


Figure III.5 : Spectres FT-IR des PH M et PFM.

#### • Spectres FT-IR de l'hémicellulose

La région du spectre la plus impactée par la présence d'eau dans la fibre est la large bande d'absorbance comprise dans la région  $3400 \text{ cm}^{-1}$  [22]. C'est une vibration d'allongement (stretching) de valence des groupements hydroxyles (O-H) notant que cette bande est significative pour le polysaccharide hémicellulosique et l'hydratation qu'il a subie, ainsi la bande de déformation (bending) quant à elle apparaît entre  $1200 \text{ cm}^{-1}$  et  $1416 \text{ cm}^{-1}$ .

On peut extraire aussi une intensité observée avec  $2917 \text{ cm}^{-1}$  qui témoigne la présence d'une vibration d'étirement des liaisons (C-H) plus stable liée à l'hémicellulose. L'analyse des différentes bandes caractéristiques souligne aussi le caractère acide du polymère avec une fine bande intense de vibration d'allongement de liaison (C=O) de l'acide galacturonique vers  $1635 \text{ cm}^{-1}$  vérifie une présence des sels d'acide, vibration antisymétrique ; Au-dessous de  $1000 \text{ cm}^{-1}$  c'est la zone des bandes de combinaisons (C-C), fonctions d'hydrates de carbone (C-O) et Pyranose squelettique (C-O-C) et déformation hors plan des liaisons d'eau (O-H) et au liaisons glucosidiques [13,14].

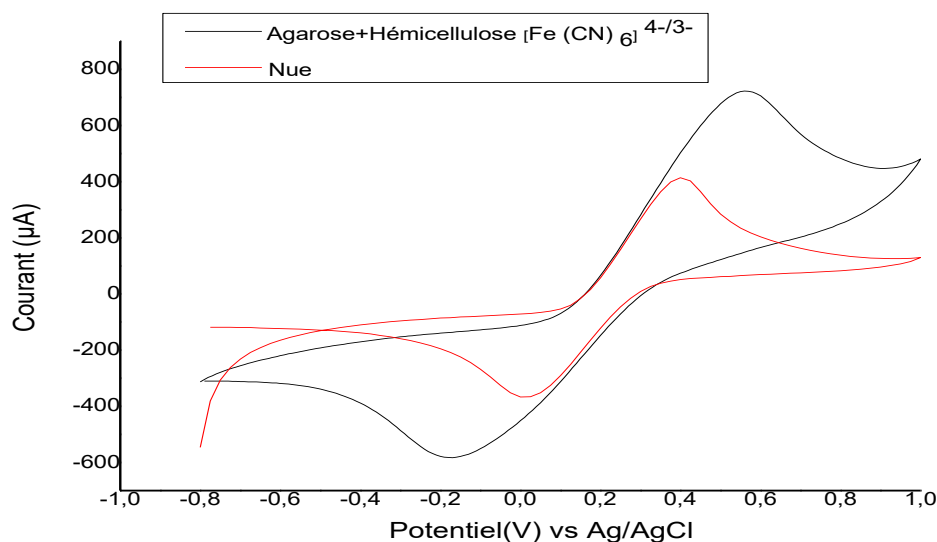


**Figure III.6 :** Spectres FT-IR d'Hémicellulose.

✚ L'examen des extraits de différentes parties d'*Opuntia ficus-indica* est envisagé dans la partie précédente par l'exploitation des profils des spectres FTIR considérés comme marqueurs de certaines catégories de polysaccharides. D'après les caractérisations réalisées, on peut confirmer que nos extraits sont riches en fonctions carboxylique et hydroxylique et plus particulièrement l'hémicellulose (Figure II.6), ce qui justifie son utilisation comme partie sensible et ligand coordinateur à la conception du capteur pour la rétention des ions métalliques.

### III.1.2 Réponses biocapteur

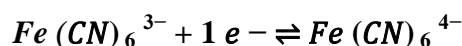
#### III.1.2.1 Efficacité de nettoyage des électrodes



**Figure III.7** voltammogrammes des mesures de la CV sur : électrode nue (courbe rouge), électrode modifiée par membrane polymérique (courbe noire) dans PBS contenant  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ , Avec un potentiel varié de -1.0 +1.0 V et une vitesse de balayage de 50mV.s-1.

Pour tester la barrière cinétique à l'interface, deux voltammogrammes sont enregistrés par voltamétrie cyclique afin d'étudier le comportement d'oxydoréduction des espèces électroactives  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$  en limitant l'excursion de potentiel dans la plage [-1 +1] V et une vitesse de balayage constante 50mV.s-1.

Lors de la variation du courant en fonction du potentiel appliqué, et comme il est clair sur le voltammogramme (rouge), les pics d'oxydation et de réduction sont visibles en notant que la première vague d'oxydation est localisée vers 0.56 V suivi par une réduction à -0.18V selon la réaction :



L'électrolyte support témoigne d'une bonne conductivité au voisinage de l'électrode d'or nue en raison du fort taux d'échange d'ions avec un signal réversible (loi de Nernst). Lors de ce transfert, seule la substance (ion) transportée par diffusion peut s'oxyder et se réduire à l'électrode : loi de **Randles-Sevick** (voir chapitre I). Pour une microélectrode plane, les effets de bord sont négligeables, et la diffusion est unidirectionnelle, perpendiculaire à l'électrode ce qui explique ce taux d'échange important [23].

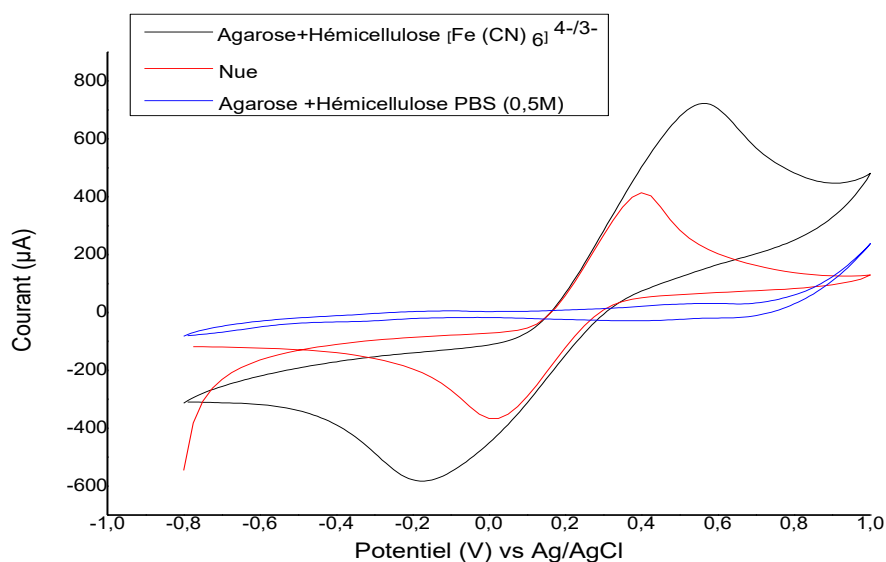


Une fois cette caractérisation achevée, on procède à la fonctionnalisation (immobilisation) de notre transducteur. Après la fixation de la matrice AG/HEM, l'électrode est prête pour la seconde caractérisation. Le voltammogramme obtenu (courbe noire) indique une différence de potentiel ce qui confirme que la couche est correctement fixée. Cette réponse est attribuée aussi au phénomène de diffusion vu que l'intensité des pics est contrôlée par ce flux.

Un point très important aussi ou l'intégration de l'agarose comme polymère conducteur donne une grande conductivité agissant comme fil conducteur pour améliorer le transfert d'électrons entre les centres redox à la surface d'électrodes dans le milieu d'analyse (phosphate buffer solution PBS dans notre cas) ce qui est validé par Jong et al [24].

### III.1.2.2 Performance d'électrolyte support

L'immersion de la membrane polymérique dans un milieu PBS exempt du couple Redox  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$  donne une forte diminution de l'intensité de courant caractérisée par la disparition des pics d'oxydoréduction (courbe bleue) avec un  $\Delta I_{Pa}$  anodique a environ 700  $\mu\text{A}$ , cette baisse est due à l'absence du pouvoir amplifiant des espèces électroactives  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ .

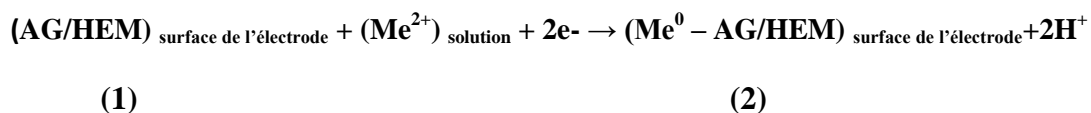


**Figure III.8 :** voltammogrammes des mesures de la CV sur : [électrode nue (courbe rouge), électrode modifiée par membrane polymérique (courbe noire) dans PBS contenant  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ , électrode modifiée dans PBS sans  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$  (courbe bleue). Avec un potentiel varié de -1.0 +1.0 et une vitesse de balayage de 50mV.s<sup>-1</sup>.

### III.1.2.3 Application de l'électrode AG/HEM/Au

#### III.1.2.3.1 Etape de pré-concentration électrochimique

Le mécanisme de la pré-concentration des ions  $\text{Me}^{2+}$  en utilisant AG/HEM/Au peut s'écrire comme suit :

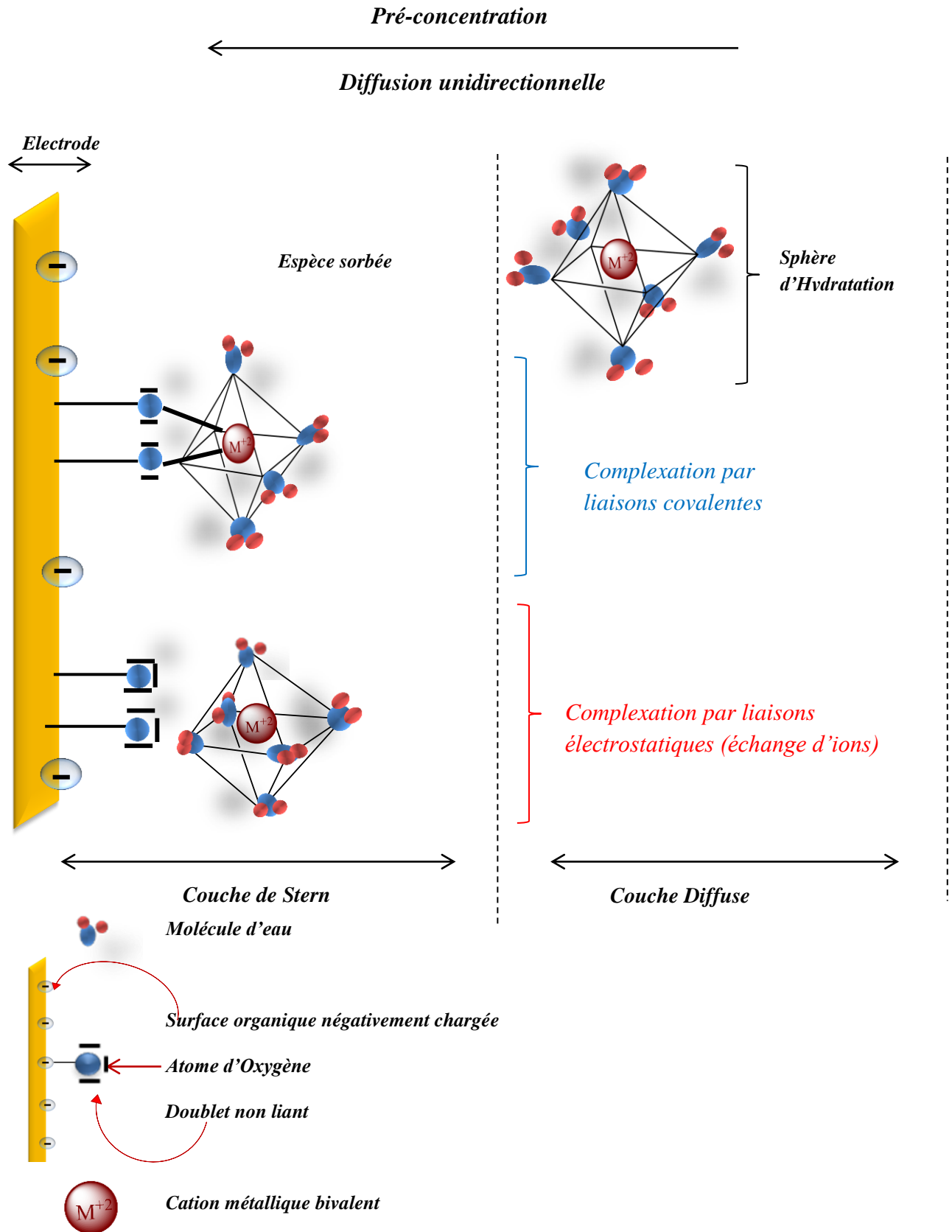


#### III.1.2.3.1.1 Modélisation du transfert des ETM dans le milieu réactionnel

La migration des ions métalliques dans un milieu aqueux est affectée par plusieurs mécanismes d'adsorptions dans l'interface solide-liquide (complexation, échange d'ions...). Dans l'optique de considérer l'adsorption par complexation comme processus susceptible d'avoir lieu soit avec formation d'une liaison chimique (ionique, covalente) établie via un partage basé sur la mise en commun d'électrons présents dans les orbitales les plus externes ou d'une liaison électrostatique entre la surface et le cation métallique. Notant que la liaison doit être suffisamment forte pour empêcher que d'autres composés s'imposent en compétiteur vis-à-vis de la molécule organique mais également suffisamment faible pour pouvoir être rompue quand cela sera nécessaire. Par conséquent, ce débat théorique ne permet pas d'affirmer qu'il s'agisse d'une liaison forte ou faible entre le métal et les groupements O-H terminaux du complexe(2) c'est à-dire il ne précise pas la nature de réaction entre le métal adsorbé et la surface réactive.

Plusieurs approches permettent éventuellement de décrire en détail cette liaison « métal-ligand » dans les composés de coordination comme le facteur d'électronégativité qui paraît intéressant pour définir l'affinité de notre complexe en se basant sur d'autres paramètres comme l'énergie libre de liaison  $\Delta G$ , la constante de réaction thermodynamique intrinsèque, ainsi que l'utilisation des techniques spectroscopiques de pointe peut valider l'un ou l'autre des hypothèses.

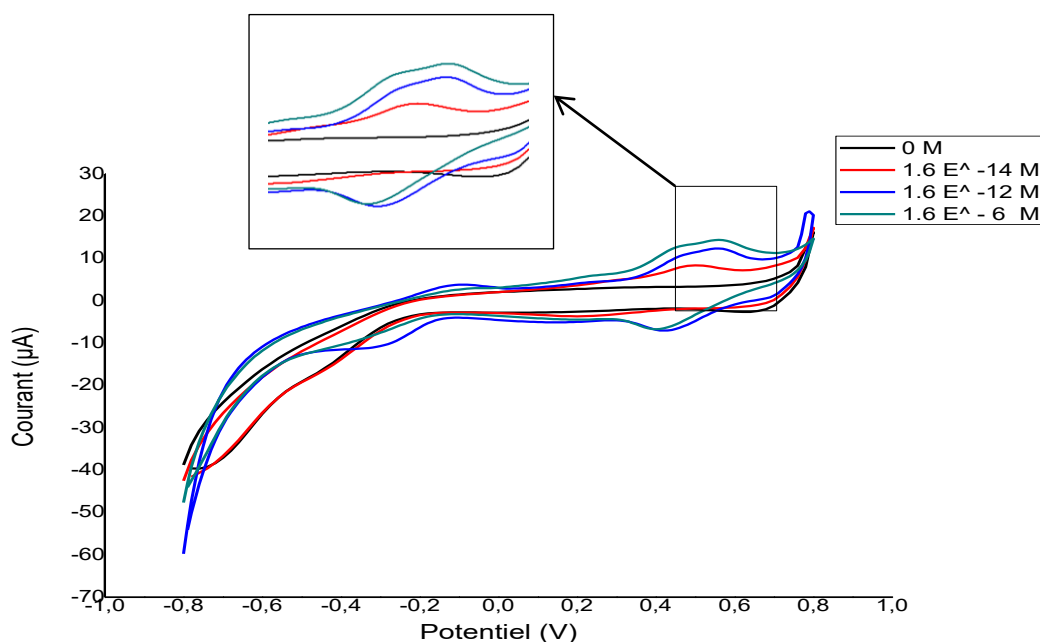
La suggestion de départ nous a permis de retracer une nouvelle modélisation pour notre cas [25-28] alors nous nous appuierons simplement sur le modèle d'adsorption par complexation par formation de liaison chimique dont le schéma représenté dans la Figure III.9 illustre les deux mécanismes distingués :



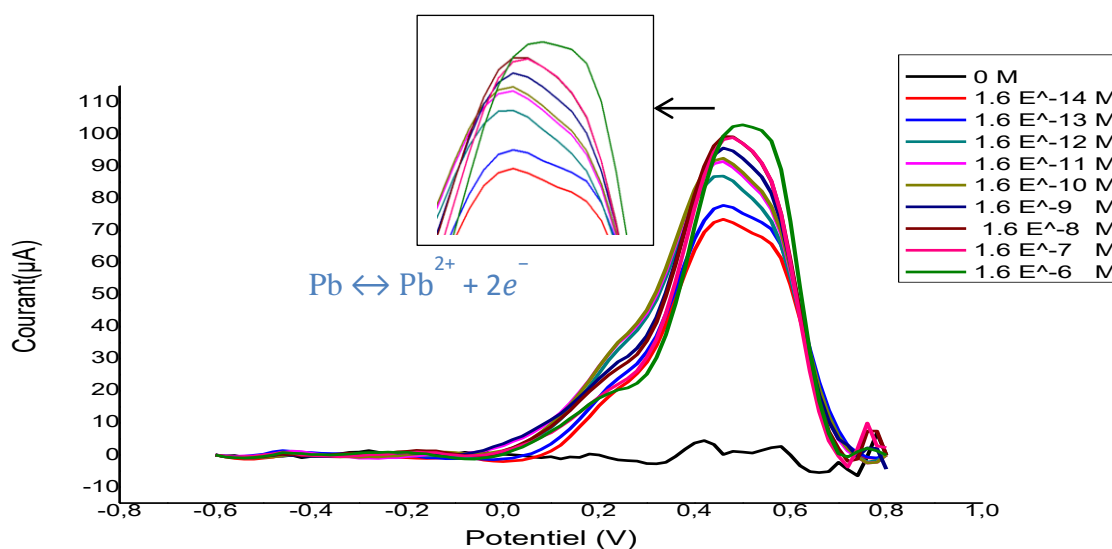
**Figure III.9 :** Schématisation du mécanisme d'adsorption d'un cation métallique bivalent sur une surface organique négativement chargée en solution [27].

### III.1.2.3.2 Détection électrochimique

#### • Détection du plomb $Pb^{2+}$



**Figure III.10 :** Voltammogramme réalisé par CV à la suite de nombreux balayages de potentiel (jusqu'à obtention d'un signal stable), relatif à l'analyse de plomb  $Pb^{2+}$  dans un milieu PBS (0.5M) à (pH= 4).

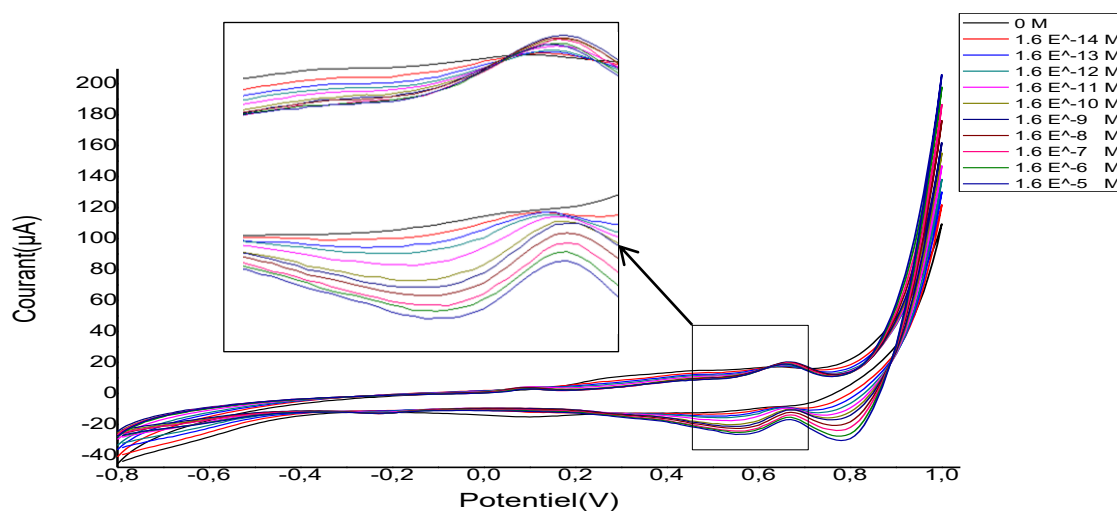


**Figure III.11 :** Voltammogramme à vague carré SWV du plomb  $Pb^{2+}$  dans un milieu PBS (0.5M) à (pH= 4).

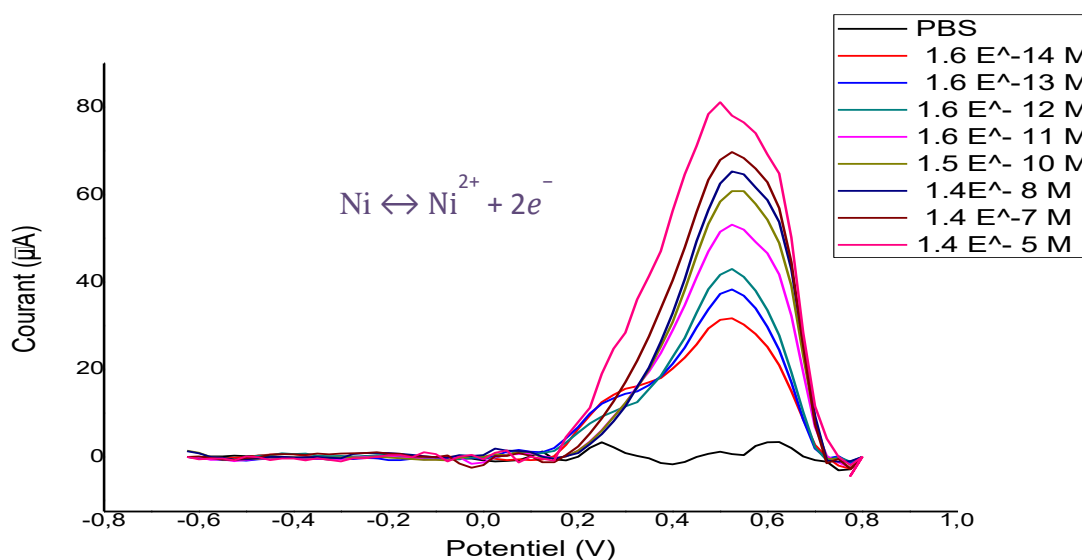
La Figure III.11 illustre un pic de réoxydation des ions plomb vers 0.52 V, le même pic anodique est observé dans la SWV. Lors du balayage retour un pic cathodique est détecté vers le potentiel 0.42 V révélant une réduction des ions plomb au cœur de la solution. On peut observer que l'intensité des pics dans la SWV croît avec le nombre de cycles effectués

sans montrer aucune saturation de la surface de l'électrode. Cette augmentation peut être attribuée à l'accumulation croissante du cation  $\text{Pb}^{2+}$  dans l'étape de préconcentration car le temps d'accumulation est également un paramètre crucial pour les analyses par SWV.

#### • Détection Nickel $\text{Ni}^{2+}$



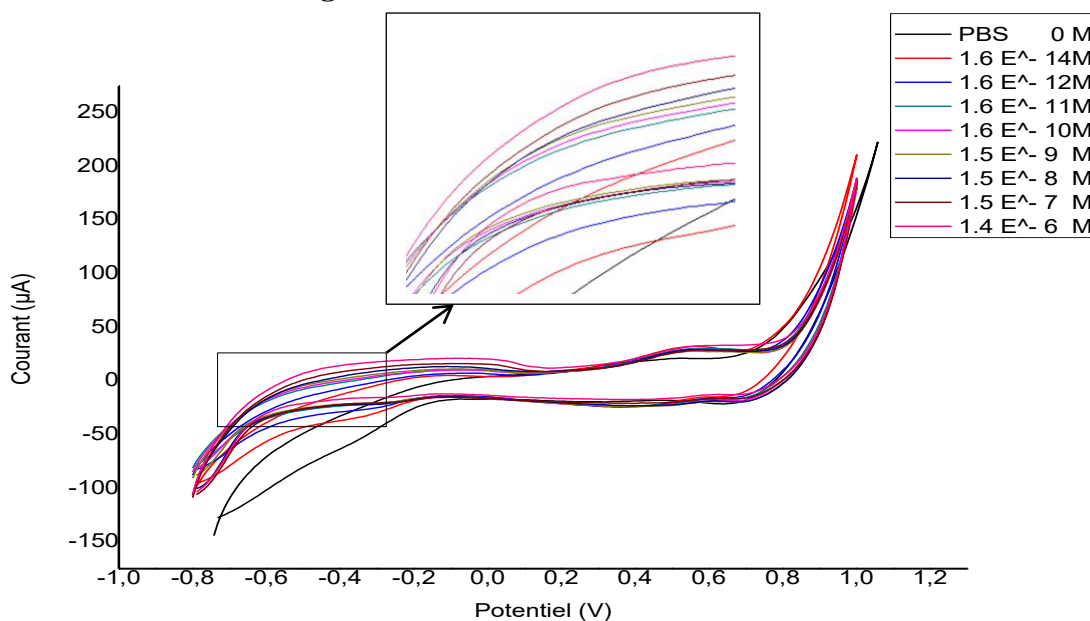
**Figure III.12 :** Voltammogramme réalisé par CV à la suite de nombreux balayages de potentiel relatif à l'analyse du nickel  $\text{Ni}^{2+}$  dans un milieu PBS (0.5M) à (pH= 4).



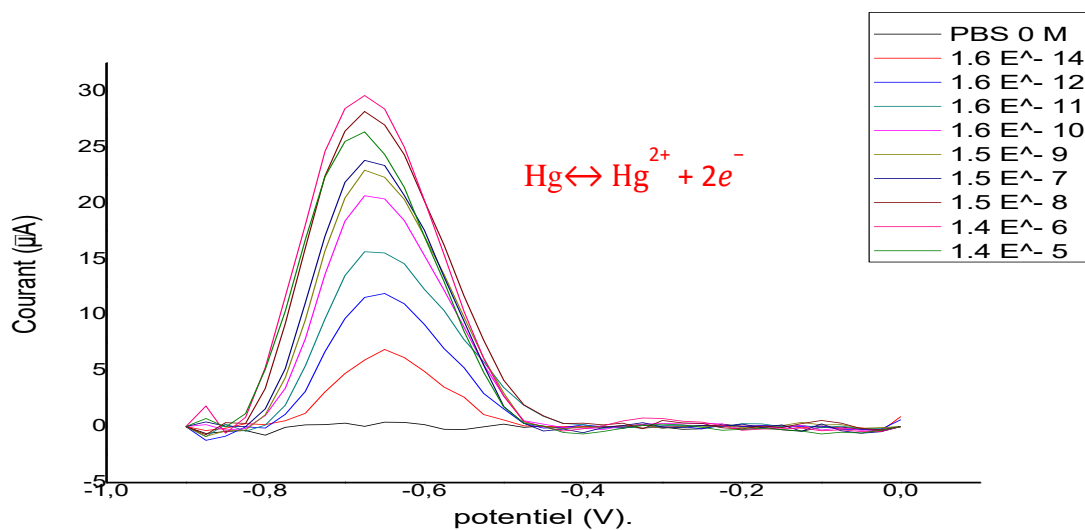
**Figure III.13 :** Voltammogramme à vague carré SWV du Nickel  $\text{Ni}^{2+}$  dans un milieu PBS (0.5M) à (pH= 4).

Les voltammogrammes en mode CV et SWV montrent un pic de réoxydation des  $\text{Ni}^{2+}$  à 0.67 V dans le sens anodique et un pic de réduction dans la CV à environ 0.55 V.

### • Détection du mercure $\text{Hg}^{2+}$



**Figure III.14 :** Voltammogramme réalisé par CV à la suite de nombreux balayages de potentiel relatif à l'analyse du Mercure  $\text{Hg}^{2+}$  un milieu PBS (0.5M) à (pH= 4).

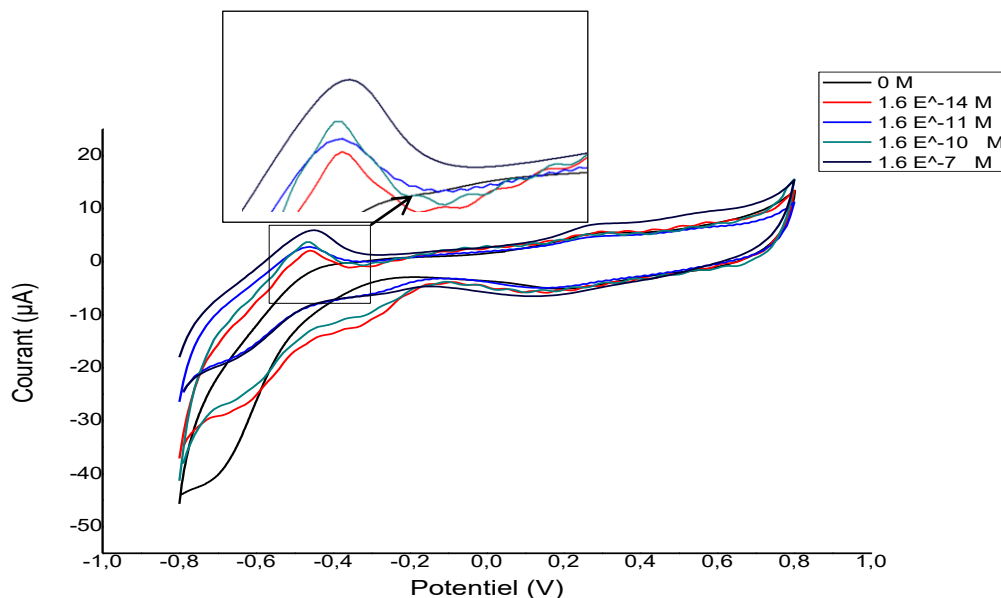


**Figure III.15 :** Voltammogramme à vague carré SWV du Mercure  $\text{Hg}^{2+}$  dans un milieu PBS (0.5M) à (pH= 4).

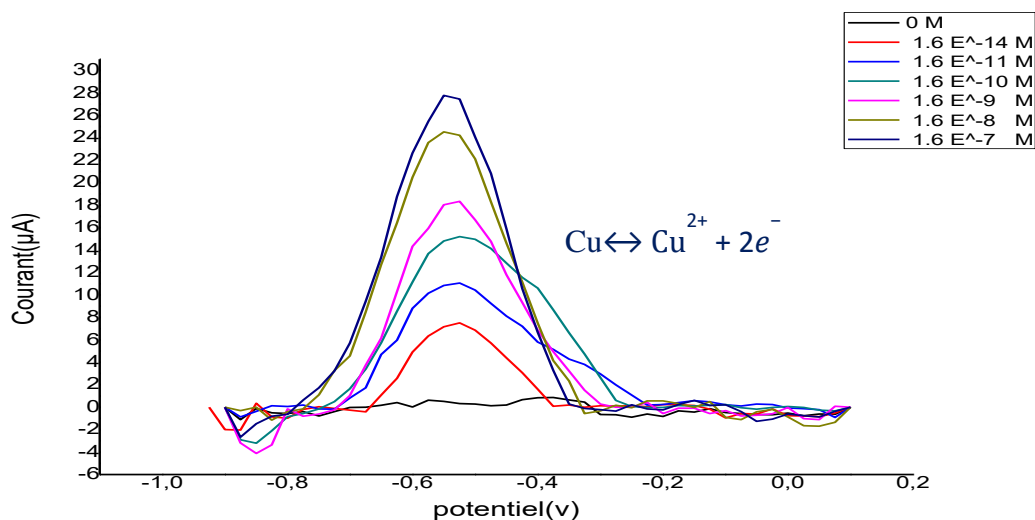
Ce voltampérogramme montre un système quasi-réversible avec une vague de réoxydation des ions  $\text{Hg}^{2+}$  observée dans les graphiques CV et SWV vers -0.66 V. Lors du balayage retour, aucun pic de réduction n'est observé. L'intensité du courant du  $\text{Hg}^{2+}$  diminue dans la CV. Le phénomène peut être expliqué par l'augmentation du courant capacitif par rapport au courant faradique ce qui donne un avantage à la méthode de détection de la SWV. Le choix de cette méthode réside dans le fait de sa haute sensibilité avec un courant

résiduel très faible. Elle mesure uniquement le courant faradique qui résulte des réactions électrochimiques.

### • Détection du cuivre $\text{Cu}^{2+}$



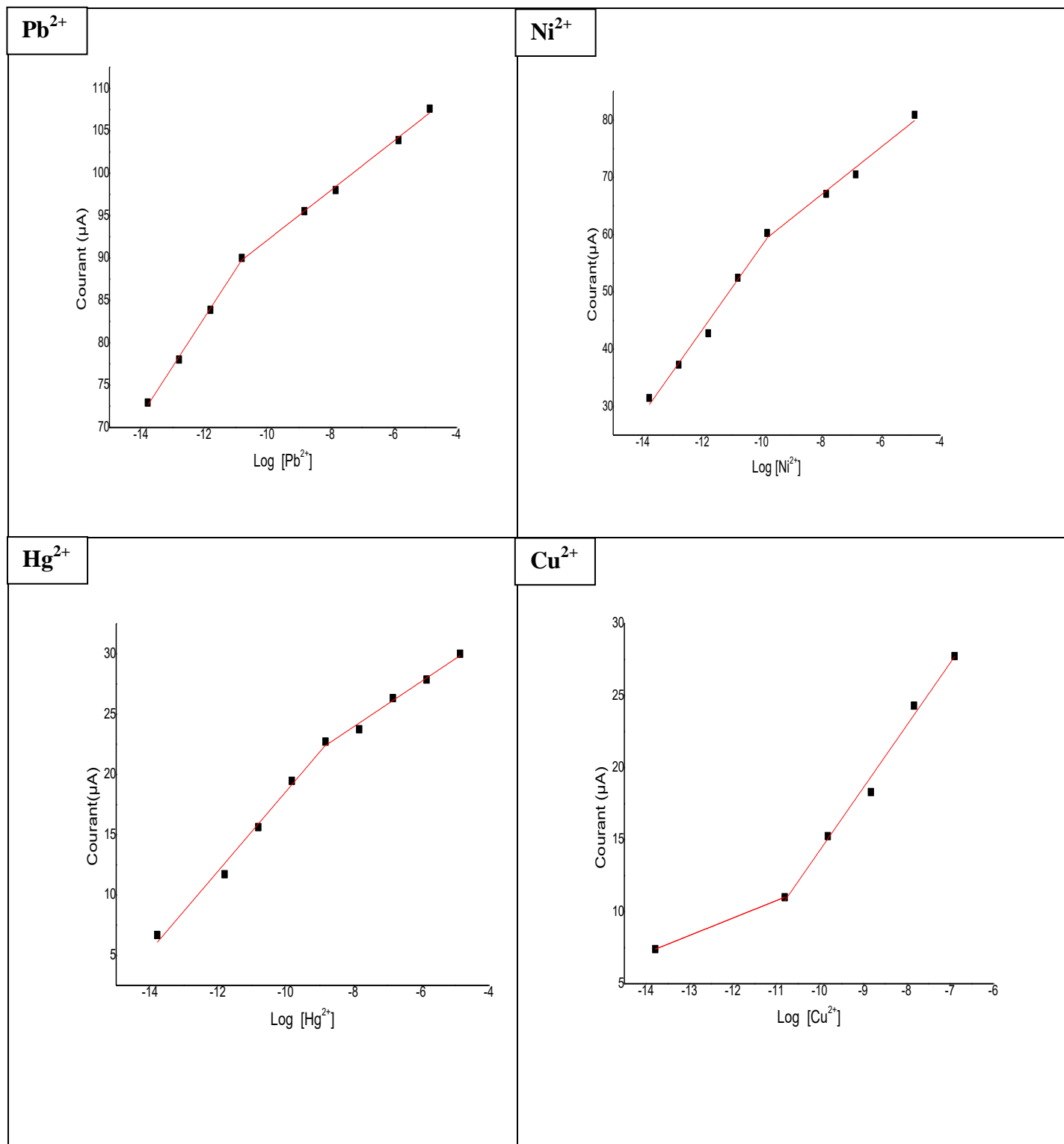
**Figure III.16** : Voltammogramme réalisé par CV à la suite de nombreux balayages de potentiel relatif à l'analyse de cuivre  $\text{Cu}^{2+}$  un milieu PBS (0.5M) à (pH= 4).



**Figure III.17** : Voltammogramme à vague carré SWV du cuivre  $\text{Cu}^{2+}$  dans un milieu PBS (0.5M) à (pH= 4)

Les voltammogrammes réalisés par les deux méthodes de caractérisation CV et SWV à la suite de nombreux balayages de potentiel relatif indiquent un pic de réoxydation vers - 0.54 V des  $\text{Cu}^{2+}$ . Aucun pic cathodique n'est observé dans la CV à cause de la gamme de

potentiel cathodique restreinte attribuée au matériau d'électrode utilisé (Au) ce qui exclut à notre avis, les pics de réductions dans le palier retour.



**Figure III.18 :** Courbes de calibrations des ions métalliques.



Les tracés de l'intensité des pics d'oxydation en fonction de la concentration des ions métalliques (Figure III.18) varient linéairement et montrent deux domaines de linéarité pour allant de  $10^{-14}$  jusqu'à  $10^{-6}$  M. Sachant qu'une sensibilité plus élevée se traduira par une limite de détection LOD inférieure. Pour son calcul, nous avons adopté la méthode basée sur l'écart type de la droite de régression et de la pente selon les recommandations de (CPMP/ICH/381/95) [29] :

$$LOD = \frac{3.3. \sigma}{S}$$

Où

$\sigma$  = l'écart-type de la réponse.

S = la pente de la courbe d'étalonnage.

L'application de la relation précédente donne des limites de détection mentionnées ci-dessous (Tableau III.3) :

**Tableau III.3** : Limites de détection des différents cations métalliques.

<b>Me<sup>2+</sup></b>	<b>Pb<sup>2+</sup></b>	<b>Ni<sup>2+</sup></b>	<b>Hg<sup>2+</sup></b>	<b>Cu<sup>2+</sup></b>
<b>LOD (M)</b>	$1.16.10^{-11}$	$1.9.10^{-10}$	$1.22.10^{-8}$	$1.95.10^{-7}$

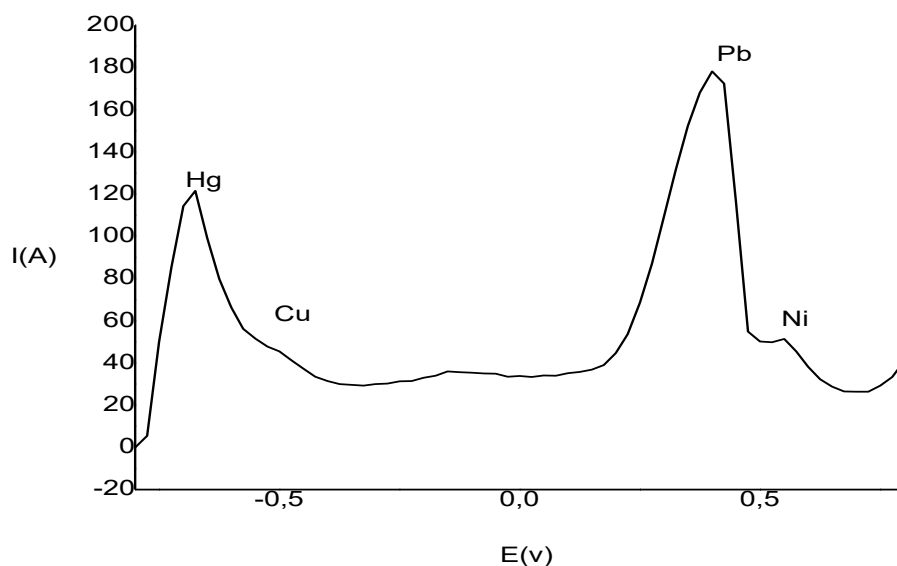
$$LOD_{Pb^{2+}} < LOD_{Ni^{2+}} < LOD_{Hg^{2+}} < LOD_{Cu^{2+}} \dots (1)$$

D'après les LOD calculées pour chaque métal on constate que notre biocapteur est sensible pour tous les ions métalliques cibles avec une très faible limite de détection. D'après ces résultats (1), on remarque clairement que l'ion plomb est détecté mieux. Notre partie sensible déterminée par le biomatériau AG/HEM est par conséquent plus sensible aux ions Pb<sup>2+</sup>. Ce résultat peut être expliqué par la haute affinité de l'ion métallique envers ses groupements hydroxyles et carboxyliques, sachant que l'affinité relative de la surface d'un solide pour les cations métalliques augmente avec la tendance du cation à former des liaisons fortes (polaires) avec l'oxygène de la matrice AG/HEM. En d'autres termes, l'atome d'oxygène va chercher à partager ses doublets non liants d'électrons avec les cations métalliques où le plomb est prioritaire.

Il est à noter que cette sélectivité dépend de la taille relative, la charge et l'affinité qui prend le même sens que l'électronégativité entre le métal et les atomes d'oxygène du

support AG/HEM. Aussi, le choix de l'électrode de travail (matériau, géométrie) joue un rôle primordial pour la pertinence et la sensibilité des résultats obtenus et surtout pour la fenêtre de potentiel.

#### • Détection simultanée multi ETM



**Figure III.19 :** Détection simultanée des ions métalliques.

Pour évaluer la sensibilité du biocapteur, un voltampérogramme d'ondes carrées en solution contenant des ions  $Pb^{2+}$ ,  $Hg^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$  et  $Ni^{2+}$  est réalisé (Figure III.19). Nous avons remarqué l'apparition de quatre sommets à différents potentiels. Comparant ces résultats avec ceux obtenus individuellement nous avons pu identifier à chaque métal un potentiel correspondant. Dans la plage de potentiel négatif, l'apparition des pics d'oxydations du  $Hg^{2+}$  à  $-0,67 V$  suivi par un pic d'oxydation de  $Cu^{2+}$  à  $-0,51 V$  mais dès que nous dépassons légèrement le potentiel de champ négatif, nous sommes face aux pics de réoxydations du  $Pb^{2+}$  exactement à  $0,45 V$  et  $Ni^{2+}$  à  $0,54 V$ . L'apparition de ces pics d'une façon binaire est attribuée aux électronégativités voisines des cations (Pb-Ni) (Hg-Cu) indiqués dans l'échelle de Pauling (Annexe III.1).

Les pics d'oxydations des cations métalliques restent relativement constants avec seulement un changement marginal de potentiel du  $Pb^{2+}$  qui pourrait être attribué à la formation des composés intermétalliques du Pb-Hg et/ou du Pb-Cu et Pb-Ni à la surface de l'électrode pendant l'étape de la pré-concentration. Le pic attribué au Pb est très intense par rapport aux pics des autres métaux (Cu, Ni, Hg.). Le ligand AG/HEM de la partie sensible

de notre système d'analyse développé capte préférentiellement le  $\text{Pb}^{2+}$  en donnant une meilleure réponse en termes d'intensité.

### III.1.2.3.3 Comparaison avec les normes

Le Tableau III.4 présente les normes de l'eau potable et de rejets d'effluents liquides, à titre indicatif, par rapport aux métaux lourds en Algérie

**Tableau III.4** : Paramètres de qualité de l'eau de consommation humaine et de rejets d'effluents liquides industriels en Algérie.

Métal	Eaux potables [30]	Eaux de rejets industriels [31]	LOD Calculées
<b>Pb</b>	10 µg/l	0.50 mg/l	0.002 µg/l
<b>Ni</b>	70 µg/l	0.50 mg/l	0.01 µg/l
<b>Hg</b>	6.0 µg/l	0.01 mg/l	2.44 µg/l
<b>Cu</b>	2.0µg/l	0.50 mg/l	12 µg/l

D'après les valeurs recommandées pour les effluents liquides et les eaux potables représentées dans le Tableau III.4 et à partir des limites de détection calculées, on peut constater clairement que notre biocapteur est capable de détecter ces « éléments traces » avec succès et avec des valeurs inférieurs aux normes exigées pour chaque polluant dans le cas des rejets industriels et parait intéressant dans l'analyse des eaux potables en donnant des valeurs très encourageantes surtout pour les éléments réellement redoutables et faciles à se répandre partout (Pb, Hg, Ni).

### **Références bibliographiques**

- [1] Lallouche, B. Mémoire : Université de Blida, 2008.
- [2] Boudjellaba, S., Yassa, A. Mémoire : Université de Bejaia, 2012.
- [3] Benattia, F.K. Thèse de doctorat : Université de Tlemcen, 2017.
- [4] Nebbache, S., Chibani, A., Chadli, R., and Bouznad, A. Chemical composition of *Opuntia ficus-indica* . *African Journal of Biotechnology*, 2010, 1623-1624p.
- [5] Habibi, Y. Thèse de doctorat: Université - Grenoble I, 2004.
- [6] Ben-Thlija, A. Nutritional value of several *Opuntia* species, 1987, 199-210p.
- [7] Touré, H.A., Bouatia, M., Idrissi, M.O.B., Draoui, M. Phytochemical screening and antioxidant activity of aqueous-ethanolic extracts of *Opuntia ficus indica*. *Journal of chemical and pharmaceutical research*, 2015,73-79p.
- [8] Malainine, M.E., Dufresne, A., Dupeyre, D., Mahrouz, M., Vuong, R., Vignon, M.R. Structure et morphologie des raquettes et des épines du figuier de barbarie. *Phys. Chem. News*, 2004, 126-130p.
- [9] Delmi, M.S. Effet antimicrobien d'extrait d'*Opuntia ficus-indica* sur certain bactérie pathogène. Mémoire de fin d'étude : Université de Mostaganem, 2018.
- [10] Stintzing, F.C., Carle, R. Cactus stems (*Opuntia* spp). *Food Res*, 2005, 49, 175-194p.
- [11] Bousbia, N. Thèse de doctorat : Université d'Avignon, 2011.
- [12] Garon, L. Thèse de doctorat : Université de Bretagne Occidentale, 2004.
- [13] Bokhari, H., Brahimi,T. Thèse de doctorat : Université d'Oran, 2016.
- [14] Samarthya, B., Yunqiao, P., Barbara, R-E., Brian, H-D., Arthur, J-R. Hemicellulose characterization of deuterated switchgrass.. *Bioresource Technology*, 2018.
- [15] Chadel, A., Bahlouli, Y-T. Mémoire: Université de Tlemcen, 2018.
- [16] Chouana,T. Thèse de doctorat : Université Clermont Auvergne, 2017.

- [17] Bousba-Bazid, S. Thèse de doctorat : Université de Sétif, 2015
- [18] Emylle-Emediato, S., Rodrigo-Chaves, A., Constanza-Catarina, C., Milton-Hercules, A., Liliane-Catone, S., Roberta-Eliane, S. Extraction of pectin from agroindustrial residue with an ecofriendly solvent. *Food Hydrocolloids*, 2020.
- [19] Sebaoui, O. Thèse de doctorat : Université de Tizi Ouzou, 2018.
- [20] Soriano, L. Aloe Vera. Monographie, 2016.
- [21] Amandine, C., Olivier, G., Frédéric, J., Sylvain, F. Utilisation de la spectrométrie infrarouge pour une quantification rapide du taux d'humidité dans des fibres végétales. *Lavoisier*, 2014, 81-95p.
- [22] Zouambia, Y., Ettoumi, K., Krea, M., Moulai-Mostef, N. A new approach for pectin extraction. *Arabian Journal of Chemistry*, 2014, 3-6p.
- [23] Mignano, L. Analyses ultramicroélectrochimiques des réactions dans l'acétonitrile et le dichlorométhane en absence d'électrolyte, 1995.
- [24] Jong, S.K., Ju-Hyung, K., Younhyun, C., Tae- Soup, S. Agarose/Spherical Activated Carbon Composite Gels for Recyclable and Shape-Configurable Electrodes. *Polymers*, 2019, 1-10p.
- [25] Burnol, A., Duro, M. *INERIS-DRC-06-66246/DESP-R01a*.
- [26] Sebei, H. Thèse de doctorat : Université de Toulouse, 2013.
- [27] Causee, B. Thèse de doctorat : Université - Grenoble I, 2009.
- [28] Lenoir, T. Thèse de doctorat : Université de Grenoble I, 2011.
- [29] European Medicines Agency, ICH Topic (R1) Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology. *CPMP/ICH/381/95*.
- [30] Décret exécutif n°14-96 du 4 Mars 2014 (Journal officiel de la république Algérienne N°13).
- [31] Décret exécutif n°06-141 du 23 Avril 2006 (Journal officiel de la république Algérienne N° 26)

## **Conclusion générale**

L'objectif général de ce travail est la conception et le développement d'un biocapteur pour la détection des éléments à traces métalliques dans le milieu aqueux. Il est clairement mentionné dans le premier chapitre que le problème principal posé par ces métaux dans l'environnement est leur persistance dans l'environnement. Aussi, les biocapteurs semblent avoir toute leur place dans le grand domaine des méthodes d'analyse capables de détecter ces espèces avec une forte résolution temporelle et spatiale.

Le travail s'appuie sur le choix d'un biomatériau polysaccharidique, à savoir, l'hémicellulose issu des raquettes de figuier de barbarie. Ils sont utilisés dans la matrice qui compose la partie sensible du biocapteur. Les caractérisations par FTIR des extraits polysaccharidiques ont révélé leur richesse en groupements hydroxyliques et carboxyliques indiqués par des bandes très intenses.

La partie réceptrice a été réalisée en associant les hémicelluloses avec un film polymérique mince d'agarose sous forme de gel jouant le rôle de matrice avec le traitement adéquat.

Les performances de ces biocapteurs sont caractérisées par deux techniques électrochimiques, à savoir, la technique de voltammétrie cyclique et la voltammétrie à ondes carrées. Lors de l'analyse, les solutions doivent contenir un électrolyte support afin d'assurer le transfert des électrons quelle que soit la concentration de l'espèce à détecter.

La migration des ions métalliques dans le milieu aqueux est affectée par plusieurs mécanismes réactionnels à l'interface solide-liquide. Lors de ce transfert, seule la substance (ion) transportée par diffusion peut s'oxyder et se réduire à l'électrode

La méthode électrochimique SWV est une technique de choix pour l'électroanalyse car elle permet de minimiser le courant capacitif au profit du courant faradique qui est directement lié à une réaction redox conduisant ainsi à l'analyse de concentrations très faibles de la molécule cible.

L'électrode modifiée a montré de bonnes performances pour la détection des métaux à l'état de traces  $Pb^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$ ,  $Hg^{2+}$  et  $Cu^{2+}$  avec une très faible limite de détection ( $10^{-11}$ ,  $10^{-10}$ ,  $10^{-8}$  et  $10^{-7}$ ) et une sélectivité satisfaisante. Ces résultats originaux sont très encourageants dans le domaine des biocapteurs électrochimiques.

Les performances et applications analytiques de la matrice AG/HEM développée peuvent être améliorées et complétées par :

Des méthodes de caractérisation EDS (spectroscopie de rayons X à dispersion d'énergie), MEB (microscopie électronique à balayage) avant et après la fonctionnalisation afin de vérifier la morphologie des électrodes utilisées.

La détection de cations de métaux à des potentiels différents pour des métaux plus légers (Zn) et d'autres espèces metalloïdes (As).

La maîtrise de la granulométrie de la poudre d' hémicellulose utilisée en vue d'augmenter sa surface de contact et donc la surface active de l'électrode.

La détection des éléments métalliques dans les échantillons réels et l'étude des interférences possibles ainsi que la comparaison des résultats obtenus par cette électrode développée avec d'autres méthodes analytiques comme, la spectroscopie d'absorption atomique, sur un même échantillon.

# Annexe

## Annexe III.1

L'échelle d'électronégativité de Pauling donne les valeurs d'électronégativité  $\chi$  (Figure III.1) :

<b>H</b> 2.1																	<b>He</b>
<b>Li</b> 1.0	<b>Be</b> 1.5											<b>B</b> 1.9	<b>C</b> 2.5	<b>N</b> 3.0	<b>O</b> 3.5	<b>F</b> 4.0	<b>Ne</b>
<b>Na</b> 0.9	<b>Mg</b> 1.2											<b>Al</b> 1.5	<b>Si</b> 1.8	<b>P</b> 2.1	<b>S</b> 2.5	<b>Cl</b> 3.0	<b>Ar</b>
<b>K</b> 0.8	<b>Ca</b> 1.0	<b>Sc</b> 1.3	<b>Ti</b> 1.5	<b>V</b> 1.6	<b>Cr</b> 1.6	<b>Mn</b> 1.5	<b>Fe</b> 1.8	<b>Co</b> 1.8	<b>Ni</b> 1.8	<b>Cu</b> 1.9	<b>Zn</b> 1.5	<b>Ga</b> 1.6	<b>Ge</b> 1.8	<b>As</b> 2.0	<b>Se</b> 2.4	<b>Br</b> 2.8	<b>Kr</b>
<b>Rb</b> 0.8	<b>Sr</b> 1.0	<b>Y</b> 1.2	<b>Zr</b> 1.4	<b>Nb</b> 1.6	<b>Mo</b> 1.8	<b>Tc</b> 1.9	<b>Ru</b> 2.2	<b>Rh</b> 2.2	<b>Pd</b> 2.2	<b>Ag</b> 1.7	<b>Cd</b> 1.4	<b>In</b> 1.7	<b>Sn</b> 1.8	<b>Sb</b> 1.9	<b>Te</b> 2.1	<b>I</b> 2.5	<b>Xe</b>
<b>Cs</b> 0.7	<b>Ba</b> 0.9	<b>Ln</b> 1.1-1.2	<b>Hf</b> 1.3	<b>Ta</b> 1.5	<b>W</b> 1.7	<b>Re</b> 1.9	<b>Os</b> 2.2	<b>Ir</b> 2.2	<b>Pt</b> 2.2	<b>Au</b> 2.4	<b>Hg</b> 1.9	<b>Tl</b> 1.8	<b>Pb</b> 1.8	<b>Bi</b> 1.8	<b>Po</b> 2.0	<b>At</b> 2.2	<b>Rn</b>
<b>Fr</b> 0.7	<b>Ra</b> 0.9	<b>Ac</b> 1.1	<b>Th</b> 1.3	<b>Pa</b> 1.5	<b>U</b> 1.7	<b>Np-Lr</b> 1.3											

**Figure III.1** : Echelle de Pauling d'électronégativité des éléments



## Résumé

L'application de la biotechnologie dans différents domaines a permis de développer et de proposer des solutions prometteuses, efficaces et souvent inattendues en particulier dans le domaine des capteurs. Dans ce travail, l'accent est mis sur la conception d'un biocapteur électrochimique destiné à la détection des éléments à traces métalliques (ETM) dans un milieu aqueux. Pour se faire, nous avons choisi une plante de l'espèce *Opuntia* communément appelées « Figue de barbarie » qui représente une source inépuisable de substances bioactives au niveau des cladodes. Nous avons extrait les polysaccharides hémicellulosiques pour les utiliser dans la partie sensible du biocapteur développé. Des tests qualitatifs sont établis sur les produits préalablement extraits. La matrice réceptrice est immobilisée par la technique appropriée pour la fonctionnalisation des transducteurs. Cette matrice a marqué son efficacité de rétention des cations métalliques  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Hg}^{2+}$  et  $\text{Cu}^{2+}$  avec des limites de détection très avantageuse de l'ordre de  $10^{-11}$ ,  $10^{-10}$ ,  $10^{-8}$  et  $10^{-7}$  M respectivement.

**Mots clés :** Biocapteur, *Opuntia*, Figue de barbarie, ETM, polysaccharides, Hémicellulose.