



HAL
open science

Élaboration d'un capteur électrochimique basé sur une interface mixte film de diazonium / nanoparticules d'or pour la détection des traces de mercure(II) dans les eaux naturelles

Fatma Fezai

► **To cite this version:**

Fatma Fezai. Élaboration d'un capteur électrochimique basé sur une interface mixte film de diazonium / nanoparticules d'or pour la détection des traces de mercure(II) dans les eaux naturelles. Génie chimique. Université Paul Sabatier - Toulouse III, 2019. Français. NNT : 2019TOU30223 . tel-02936254

HAL Id: tel-02936254

<https://theses.hal.science/tel-02936254>

Submitted on 11 Sep 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



THÈSE

En vue de l'obtention du DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

Délivré par l'Université Toulouse 3 - Paul Sabatier

Présentée et soutenue par

Fatma FEZAI

Le 17 décembre 2019

Élaboration d'un capteur électrochimique basé sur une interface mixte film de diazonium / nanoparticules d'or pour la détection des traces de mercure(II) dans les eaux naturelles

Ecole doctorale : **MEGEP - Mécanique, Energétique, Génie civil, Procédés**

Spécialité : **Génie des Procédés et de l'Environnement**

Unité de recherche :

Laboratoire de Génie Chimique

Thèse dirigée par :

David EVRARD et Martine MEIRELES

Jury :

M. Alexander KUHN, Rapporteur

Mme Ciara O'SULLIVAN, Rapporteur

M. Philippe HAPIOT, Examineur

Mme Catherine AMIENS, Examinatrice

M. David EVRARD, Directeur de thèse

Mme Martine MEIRELES, Co-directrice de thèse

*C'est une fille irréductible qui
n'en fait et n'en fera jamais qu'à sa
tête, non pas par caprice, mais par
nature.*

Françoise Giroud

*A ma famille, ma moitié et mes
grands-parents...*

Remerciements

J'aimerais à travers ces remerciements, exprimer ma gratitude envers toutes les personnes ayant contribué à la réussite de cette thèse, même si j'estime que cela nécessite beaucoup plus que ces quelques lignes et je me rends compte que c'est la partie la plus dure à écrire...

Tout d'abord, je tiens à remercier Ciara O'SULLIVAN et Alexander KUHN d'avoir accepté de rapporter ces travaux, Philippe HAPIOT pour avoir participé au jury en tant qu'examineur et Catherine AMIENS pour avoir évalué cette thèse et présidé le jury. Je vous remercie pour les discussions très intéressantes qu'on a pu avoir, les remarques et les critiques plus que constructives.

Je remercie particulièrement David EVRARD, mon directeur de thèse. Comme je te l'avais déjà (enfin je crois, je perds un peu la mémoire depuis le 17/12...), je trouve que la réussite d'une thèse nécessite en premier lieu un bon encadrement. J'estime que j'ai eu la chance d'avoir bénéficié d'un excellent encadrement de ta part, depuis mon premier jour dans l'équipe. Tu as toujours été à l'écoute et tu as toujours apporté des réponses à mes questions scientifiques et non scientifiques aussi concernant le monde animal, les dates de sorties des chansons de Michel Sardou (toutes), le compteur électrique pour les nuls... Tu m'as fait confiance (même au Mexique) et c'est ce qui m'a poussé à me surpasser même dans les moments les plus durs. Tu m'as toujours encouragée et tu m'as toujours poussée vers l'avant, jusqu'à ce que j'aie pu parcourir 6 pays et 4 continents en quelques mois...

Tu as toujours été disponible malgré toutes tes responsabilités, pour discuter, pour résoudre un problème de manip, ou pour donner ton avis sur une 4587895^{ème} correction sur une slide que je ne trouvais pas très jolie, c'est ce qui m'a permis d'avancer en toute sérénité. Nous avons toujours eu une communication facile et aisée et c'est ce qui a rendu ces 3 années passées dans l'équipes plus qu'agréables. Je te remercie surtout d'avoir su et pu me remonter le moral dans les moments de doutes, et d'avoir été là quand ça n'allait pas. Ça n'a pas été facile ces derniers moi, mais tu as fait en sorte que ça se termine parfaitement bien. Je t'en suis vraiment reconnaissante, et je suis sûre que dans le futur, tu ne pourras avoir que des remerciements de la part de tes futurs doctorants...

Je souhaite évidemment remercier Martine MEIRELES, pas que pour ces 3 années de ma thèse mais pour les 5 dernières années passées au LGC. Depuis mon premier jour de stagiaire au

LGC, tu as toujours été bienveillante avec moi. Tu as toujours su apporter un regard extérieur et une vision globale du projet. Je te remercie pour toutes les discussions qu'on a pu avoir pendant ces années et toutes les remarques et critiques que tu m'as faites qui n'ont fait qu'avancer le projet. Tu m'as appris à toujours établir un cahier de charge et à prendre du recul par rapport à l'aboutissement du projet et à la réalisation des objectifs fixés au départ, je pense que je vais commencer à appliquer ça de plus en plus dans ma vie post-thèse. Je te remercie énormément pour tes encouragements et ton soutien moral tout au long de mon parcours au LGC.

Je tiens aussi à remercier **Pierre GROS** pour sa grande implication dans le projet. Comme je l'ai déjà dit, votre nom ne figure pas officiellement dans la page de couverture mais vous avez tellement apporté à ce projet que je tiens à le mettre ici en rouge et gras (trop voyant je sais mais c'est le but !). Nous avons eu plein de discussions animées (scientifiques et pas scientifiques) dont une qui vous a particulièrement choquée (petit indice : la cuisine de jean), je tiens à vous dire que j'essaierai de réfléchir avant la prochaine fois, mais je ne suis pas sûre de changer d'avis...

Je vous remercie pour tout le temps que vous avez consacré à cette thèse, malgré votre emploi plus que chargé : entre l'HCERES, les enseignements, l'encadrement de 2 thèses, les cours de golf et les visites chez le vétérinaire, vous avez toujours trouvé le temps pour relire mes chapitres, même pendant les vols Paris-Toulouse. Vous avez toujours fait les bonnes remarques, quand il le fallait et là où il le fallait. Votre contribution au projet a été inestimable...

Je remercie également Laure LATAPIE et Sandrine DESCLAUX pour toute l'aide technique qu'elles m'ont fournie pendant ces 3 années et surtout pour leur gentillesse. Vous avez toujours été disponibles quand j'en avais besoin et vous avez toujours fait de votre mieux pour m'aider ou me dépanner avec une bouteille d'azote... Je remercie particulièrement Laure pour sa présence pendant les réunions et ses remarques toujours constructives.

Je remercie aussi Brigitte DUSTOU, qui a fait partie du projet et qui a toujours été disponible et fait son maximum pour aider à faire avancer ces travaux, même quand elle était accompagnée de son petit bout de chou encore sur la route...

Je remercie également Childerick SEVERAC de l'ITAV, pour son acharnement à réussir les mesures AFM et pour avoir insisté jusqu'à ce qu'on ait pu avoir les résultats qu'on voulait même si cela impliquait de ne pas manger, de refaire toute une installation, ou de passer des longues journées

en face de l'écran. J'adresse aussi mes remerciements à François Guérin de l'AIME pour m'avoir formée sur le MEB-FEG et pour m'avoir aidée à obtenir de super belles photos de mes AuNPs.

Je remercie aussi Professeur Thomas Pishler ainsi que Cornelius Brombach pour leur accueil très chaleureux à Brême ainsi que pour leur contribution dans le projet avec leur capacité de prélever des échantillons au 4 coins de la planète.

Je tiens également à remercier tous mes collègues au LGC : Emelyne, Vincent, Cécilia, Lisa, Christophe, Julien, Julien (le nouveau), Yin, et Lisa, pour les moments agréables qu'on a pu passer ensemble.

Je remercie aussi Nabiil (mon super collègue de bureau) et Charaf pour toutes les pauses café qu'on a pris ensemble quand les neurones s'arrêtaient de fonctionner et surtout Charaf pour tous les Princes que je t'ai piqués (ça m'a fait 2 kg de plus je crois). Ces pauses étaient évidemment l'occasion d'avoir des conversations PAS SCIENTIFIQUES, DU TOUT, mais très intéressantes... Nabiil tu vas enfin avoir le bureau de mecs que tu voulais, tu peux être content maintenant !

Je remercie également les stagiaires qui ont fait partie de l'équipe : Claire, Sabah, Yassine, Dunya, Younes pour la bonne ambiance au bureau. Je remercie particulièrement Yassine et Dunya pour avoir participé à la production de certains résultats de ces travaux, et Sabah ainsi que Claire d'avoir apporté un peu de solidarité féminine dans ce bureau...

Je remercie évidemment les filles : Chams, Melissa, Ranine et Dihia pour tous les moments qu'on a pu passer ensemble, j'en garde que des bons souvenirs : les gâteaux libanais, les barres céréales de Chams, et le gâteau au citron colombien. D'ailleurs Chams, jamais 2 sans 3 tu disais ! Nous voilà au 3, une idée pour la suite ??

Je remercie également les filles (encore une fois mais ce n'est pas les mêmes) : Lea, Marina, Kemie et Adèle : vous avez été mes toutes premières copines à Toulouse, nous avons partagé tellement de moments ensemble que porterais toujours dans mon cœur !

Je remercie aussi Fatine et Omar pour tous les souvenirs que je garde de leur bureau : les pauses café, les pauses shopping etc... Vous êtes des voisins formidables !

Je tiens aussi à remercier Olivier MASBERNAT, à l'origine de mon « petit » séjour à Toulouse qui a commencé en Janvier 2015, et Kevin ROGER. Merci vraiment pour tout, je vous en suis tellement reconnaissante.

Je remercie aussi Yolande PERES, Emilie et Amaury. Vous avez été ma deuxième famille à Toulouse et je vous en serais toujours reconnaissante.

Je remercie aussi ma super amie Ines que j'appelle ma motivation speaker, pour tout le support moral et les coups de fil à 8h du matin, et évidemment d'avoir assisté à ma soutenance en avant-première...

Je ne peux évidemment pas passer sans remercier, ma famille ! Aujourd'hui je suis docteur, c'est grâce à vous ! Je vous remercie pour tout, tous les efforts que vous avez fournis pour que jamais je ne manque de rien, il y a 5 ans vous m'avez donné la force de prendre mon envol, à chaque retour vers l'aéroport, je laissais une partie de moi à la maison, pour emporter une partie de vous avec moi. Maman Bchira BARBOUCHE, Papa Khaled FEZAI, aujourd'hui je vous en suis reconnaissante, vous m'avez appris à être forte, libre et indépendante et vous avez accompli votre mission avec succès. Je suis fière d'avoir des parents comme vous, dans une autre vie, si c'était à choisir, je ne pourrais rêver de parents plus formidables que vous.

Ma sœur et ma confidente Yasmine FEZAI, je te remercie d'avoir toujours été là à être une sœur, une amie, une deuxième petite maman. Je te remercie aussi d'avoir fait de moi la plus heureuse des tatas en me faisant cadeau de ma petite dose de bonheur Kenza...

Enfin, je remercie Montassar, ma moitié et mon âme sœur. Nous avons parcouru un sacré bout de chemin ensemble, je te remercie pour tout, et surtout pour m'avoir soutenue depuis le premier jour jusqu'au dernier (malgré la grève SNCF...), d'avoir été présent pendant les moments les plus durs et supporté mes sauts d'humeur pendant ces derniers mois. Tu as toujours été là malgré la distance, à m'écouter quand j'en avais le plus besoin. Je te remercie pour ton support téléphonique pendant les longues soirées de rédaction et les jours où rien ne marchait : J'imagine que ça n'a pas été évident de comprendre et d'essayer même de trouver une solution à mes problèmes de manip, en 30 secondes, par téléphone, mais tu l'as fait parce que c'est toi et je peux toujours compter sur toi... Je te remercie de faire partie de ma vie...

Table des matières

Chapitre I : Mercure : Contamination environnementale et méthodes de détection

I.	Introduction	25
II.	Généralités.....	25
III.	Contamination environnementale.....	27
III.1	Sources d'émission du mercure dans l'environnement	27
III.2	Dispersion du mercure dans l'air	30
III.3	Dispersion dans les sols	31
III.4	Dispersion dans les milieux aquatiques	32
III.5	Contamination de la faune	35
III.6	Intoxication humaine	39
III.7	Réglementation	40
IV.	Méthodes d'analyse du mercure dans l'eau	41
IV.1	Méthodes classiques.....	41
IV.1.1	CV-AFS / CV-AAS	41
IV.1.2	ICP-MS / ICP-OES	42
IV.2.	Comparaison des techniques.....	44
IV.3.	Méthodes de détection alternatives	48
IV.3.1.	Capteurs Fluorimétriques.....	48
IV.3.2.	Capteurs colorimétriques	49
IV.3.3.	Capteurs électrochimiques	50
V.	Problématique.....	60

Chapitre II : Modification de surface pour la détection de Hg(II)

I.	Introduction	65
II.	Réactifs et appareillage	65
II.1	Produits chimiques.....	65
II.2	Appareillage.....	65
II.3	Préparation de la surface de l'électrode.....	66
III.	Modification de surfaces par les sels de diazonium.....	68
III.1	Généralités sur les sels de diazonium	68
III.2	Mécanisme de greffage par réduction des sels de diazonium	69
III.3	Protocole de fonctionnalisation d'électrode par deux types de sels de diazonium : NBD et TPD.....	72
III.4	Caractérisation de la couche organique par Microscopie à Force Atomique.....	75
IV.	Modification d'électrode par les AuNPs.....	79
IV.1.	Introduction : généralités sur les nanoparticules d'or et méthodes de synthèse.....	79
IV.2.	Electrodépôt des nanoparticules d'or.....	81
IV.3.	Protocole de l'électrodépôt des AuNPs sur les surfaces fonctionnalisées CV/TPD et CV/NBD	88
V.	Suivi la fonctionnalisation et caractérisation de la surface : Sondes redox et Microscopie Electronique à Balayage.....	92
V.1.	Interface CV/TPD/AuNPs	93
V.2.	Interfaces CV/NBD/AuNPs	99
VI.	Activation de l'électrode modifiée : CV/TPD/AuNPs	106

VI.1.	Activation électrochimique.....	106
VI.2.	Protocole d'activation de l'électrode fonctionnalisée.....	109
VII.	Conclusion	112

Chapitre III : Application : détection de Hg(II) et évaluation des performances analytiques du capteur

I.	Introduction	117
II.	Réactifs et appareillage	117
II.1	Produits chimiques et manipulation des solutions.....	117
II.2	Appareillage.....	118
III.	Méthode de détection	119
IV.	Performances analytiques du capteur	124
IV.1.	Sensibilité, reproductibilité et répétabilité.....	124
IV.2.	Sélectivité de l'interface	134
IV.3.	Stabilité au stockage	139
V.	Application : Analyse d'échantillons naturels	144
VI.	Conclusion	149

Liste des abréviations

ACN	Acétonitrile
AFM	Atomic Force Microscopy – Microscopie à force atomique
AuNPs	Nanoparticules d’or
CV	Carbone vitreux
CV-AAS	Cold Vapour Atomic Absorption Spectroscopy – Spectrométrie d’absorption atomique à vapeur froide
CV-AFS	Cold Vapour Atomic fluorescence Spectroscopy – Spectrométrie à fluorescence atomique à vapeur froide
CV/AuNPs	Interface fonctionnalisée carbone vitreux + dépôts d’AuNPs
CV/NBD	Interface fonctionnalisée carbone vitreux + couche organique obtenue par greffage de diazonium NBD
CV/NBD/AuNPs	Interface fonctionnalisée carbone vitreux + couche organique obtenue par greffage de diazonium NBD + dépôts d’AuNPs
CV/TPD	Interface fonctionnalisée carbone vitreux + couche organique obtenue par greffage de diazonium TPD
CV/TPD/AuNPs	Interface fonctionnalisée carbone vitreux + couche organique obtenue par greffage de diazonium TPD + dépôts d’AuNPs
DMeHg	Diméthylmercure
DPASV	Voltammétrie à redissolution anodique à impulsion différentielle Differential Pulse Anodic Stripping Voltammetry
DPV	Voltammétrie à impulsions différentielles Differential Pulse Voltammetry
ECS	Electrode au calomel saturée
GC	Chromatographie en phase gazeuse - Gas Chromatography
HOPG	Highly Oriented Pyrolic Graphite - Graphite pyrolytique hautement orienté
HPLC	Chromatographie en phase liquid à haute performance High Performance Liquid Chromatography
HSAB	Théorie des acides et des bases durs et mous Hard and Soft Acid and Bases theory

ICP-MS	Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry - Spectrométrie de masse à plasma à couplage inductif
ICP-OES	Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry Spectrométrie d'émission atomique à plasma à couplage inductif
IHg	Mercure inorganique
LOD	Limite de detection
MEB	Microscopie Electronique à Balayage
MeHg	Méthylmercure
MWCNTs	Multi Walled Carbon Nanotubes – nanotubes de carbone multiparois
NBD	4-nitrobenzène diazonium
NPs	Nanoparticules
PPF	Pyrolyzed Photoresist Film
PTFE	Polytétrafluoroéthylène
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
SAM	Self-Assembled Monolayer – Monocouche auto-assemblée
SEA	Surface électroactive
SWASV	Square Wave Anodic Stripping Voltammetry – redissolution anodique à vague carrée
THg	Mercure total
TPD	4-thiophénol diazonium
UE	Union Européenne
USEPA	United States Environmental Protection Agency
ACN	Acétonitrile

Liste des figures

Figure I.1. Cycle biogéochimique du mercure.

Figure I.2. Répartition par secteur d'activité des émissions atmosphériques de mercure provenant de sources anthropogéniques en 2015. Global Mercury Assessment 2018, UNEP.

Figure I.3. Répartition par région des émissions atmosphériques de mercure provenant de sources anthropogéniques en 2015. Global Mercury Assessment 2018, UNEP.

Figure I.4. Répartition géographique des rejets anthropogéniques de mercure dans les milieux aquatiques pour l'année 2015.

Figure I.5. Concentrations en mercure total (THg) et en méthylmercure MeHg dans des échantillons de muscle prélevés sur des spécimens de daurade collectés dans plusieurs sites européens.

Figure I.6. Schéma du principe de l'ICP-MS.

Figure I.7. Schéma description du système utilisé pour l'ICP-OES.

Figure I.8. Structure d'une phase LDH.

Figure I.9. Intercalation de l'acide thioglycolique (TGA) dans une structure d'HDL.

Figure I.10. Structure de l'interface fonctionnalisée par l'oxyde de graphène modifié avec l'imidazole.

Figure I.11. Stratégie de fonctionnalisation de surface et de détection du Hg^{2+} .

Figure I.12. Structure d'une interface fonctionnalisée avec deux brins d'ADN et principe de détection du Hg^{2+} basé sur le changement de structure du brin S1.

Figure I.13. Structure de l'électrode modifiée avec des couches organiques et des AuNPs.

Figure II.1. Structure d'un sel de diazonium avec un cycle aromatique portant un groupement R.

Figure II.2. Mécanisme de greffage de sels de diazonium sur un substrat carboné, adapté de la bibliographie.

Figure II.3. Formation de multicouches par attaque radicalaire.

Figure II.4. Formation de multicouches contenant des liaisons azo.

Figure II.5. Structure de 4-nitrobenzène diazonium NBD et du 4-thiophénol diazonium.

Figure II.6. Voltammogrammes cycliques tracés sur une électrode de CV dans HCl contenant du NBD et du SH à $1,5 \text{ mmol.l}^{-1}$.

Figure II.7. Profils d'épaisseur enregistrés sur CV/NBD (a) et CV/TPD et micrographes AFM obtenus sur CV/NBD et CV/TPD.

Figure II.8. Electrodeposition of AuNPs on a glassy carbon electrode in NaNO_3 containing HAuCl_4 at $2,5 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$

Figure II.9. Cyclic voltammograms recorded on CV/NBD and on CV/TPD in a solution of NaNO_3 containing HAuCl_4 at $0,25 \cdot 10^{-3} \text{ mol.l}^{-1}$.

Figure II.10. Mechanisms of electron transfer by internal and external sphere.

Figure II.11. Cyclic voltammograms recorded on different types of electrodes, in a solution of KNO_3 containing Fe(CN)_6^{3-} at 5 mmol.l^{-1} .

Figure II.12. Cyclic voltammograms recorded on different types of electrodes, in a solution of KNO_3 containing $\text{Ru(NH}_3)_6^{3+}$ at 5 mmol.l^{-1} .

Figure II.13. SEM photographs of AuNPs electrodeposited by electrolysis at constant potential on CV/TPD at $0,05 \text{ V}$ for 300 sec and 600 sec .

Figure II.14. Cyclic voltammograms recorded on different types of electrodes, in a solution of KNO_3 containing $\text{Fe(CN)}_6^{3-/4-}$ at 5 mmol.l^{-1} .

Figure II.15. Cyclic voltammograms recorded on different types of electrodes, in a solution of KNO_3 containing $\text{Ru(NH}_3)_6^{3+/2+}$ at 5 mmol.l^{-1} , $v = 0,1 \text{ V.s}^{-1}$

Figure II.16. SEM image of AuNPs electrodeposited by electrolysis at constant potential on CV/NBD at $-0,07 \text{ V}$ for 300 sec .

Figure II.17. Cyclic voltammogram recorded on a polycrystalline gold electrode in HClO_4 ($10^{-3} \text{ mol.l}^{-1}$);

Figure II.18. Cyclic voltammograms recorded on CV/TPD/AuNPs (300 s) in H_2SO_4 ($0,5 \text{ mol.l}^{-1}$).

Figure II.19. Cyclic voltammograms recorded in H_2SO_4 ($0,5 \text{ mol.l}^{-1}$), on CV and on CV/AuNPs adapted from the bibliography

Figure III.1. Principle of anodic dissolution

Figure III.2. Potential ramp with square wave

Figure III.3. SWASV recorded on a CV/TPD/AuNPs (300 s) electrode with preconcentration times of 300 s and 30 s and final signal obtained by the blank analytical method.

Figure III.4. Evolution of the intensity of the oxidation peak of Hg as a function of the desorption time

Figure III.5. Evolution of the intensity of the oxidation peak of Hg obtained by SWASV as a function of the cleaning time: $t = 15 \text{ S}$, $t = 30 \text{ s}$ and $t = 60 \text{ s}$ (c)

Figure III.6. Courbes de SWASV tracées avec CV/TPD/AuNPs (300s) dans HCl contenant des concentrations croissantes de Hg^{2+} avec un temps de préconcentration de 300 s pour le signal analytique et 30 s pour le blanc

Figure III.7. Evolution de l'intensité du pic du pic d'oxydation de Cl^- obtenue par SWASV sur la même électrode CV/TPD/AuNPs, dans HCl après ajout de concentrations graduelles de Hg^{2+}

Figure III.8. Evolution de l'intensité du pic du pic d'oxydation de Hg obtenue par SWASV sur la même électrode CV/TPD/AuNPs, dans HCl contenant Hg^{2+} à 4 nM en fonction du nombre de mesures effectuées

Figure III.9. Courbes de calibration obtenues sur deux électrodes CV/TPD/AuNPs (300s) différentes préparées selon le même protocole de fonctionnalisation.

Figure III.10. Courbes de SWASV tracées avec CV/TPD/AuNPs (300s) dans HCl contenant des concentrations croissantes de Hg^{2+} avec un temps de préconcentration de 300 s pour le signal analytique et 30 s pour le blanc.

Figure III.11. Calibration obtenue sur CV/TPD/AuNPs(300s)

Figure III.12. Influence de la durée de préconcentration sur l'intensité du pic d'oxydation de Hg obtenue par SWASV sur CV/TPD/AuNPs, dans une solution de 20 pM en Hg^{2+} .

Figure III.13. Courbes de SWASV tracée avec CV/TPD/AuNPs (300s) dans HCl contenant Hg^{2+} à 20 pM avec un temps de préconcentration de 40 min pour le signal analytique et 4 min pour le blanc.

Figure III.14. Influence de la présence de cations métalliques à différentes concentrations : 40 nM, 200 nM et 400 nM, sur la réponse électrochimique obtenue sur CV/TPD/AuNPs en présence de 4 nM de Hg^{2+} .

Figure III.15. Courbes SWASV obtenues sur l'interface CV/TPD/AuNPs dans une solution HCl contenant 4 nmol.l^{-1} en Hg^{2+} après chaque ajout de cation métallique à une concentration de 40 nmol.l^{-1} .

Figure III.16. Evolution du pourcentage du signal restant obtenu sur CV/TPD/AuNPs en présence de 4 nmol.l^{-1} en Hg^{2+} , après ajout de 40 nmol.l^{-1} de chaque cation métallique.

Figure III.17. Pourcentages des intensités du pic de mercure restantes et des SEA restantes calculées à partir du 10^{ème} balayage dans H_2SO_4 obtenus sur les 2 types d'électrodes dans les 3 milieux de stockage.

Figure III.18. Voltammogrammes obtenus par SWASV sur CV/TPD/AuNPs(300s) pour l'échantillon naturel ES pour une durée de préconcentration de 40 minutes.

Figure III.19. Voltammogrammes obtenus par SWASV sur CV/TPD/AuNPs(300s) dans l'échantillon naturel ES, pour une durée de préconcentration de 50 min.

Figure III.20. Evolution de l'intensité du pic du mercure dans l'échantillon ES au cours des ajouts dosés de Hg^{2+} .

Figure III.21. Voltammogrammes obtenus par SWASV sur CV/TPD/AuNPs(300s) dans l'échantillon naturel EU, pour une durée de préconcentration de 50 min.

Liste des tableaux

Tableau I.1. Teneurs du mercure dans l'eau dans différentes régions selon quelques études. THg désigne le mercure total.

Tableau I.2. Concentrations de mercure dans le muscle pour différentes espèces.

Tableau I.2. Concentrations de mercure imposées par les normes ou les recommandations de l'OMS, l'USEPA et l'UE.

Tableau I.4. Limites de détection des différentes techniques analytiques.

Tableau I.5. Résultats de détection de Hg^{2+} sur plusieurs types d'interfaces fonctionnalisées citées dans la littérature.

Tableau I.3. Liste de l'appareillage utilisé

Tableau II.2. Paramètres de la procédure de greffage de diazonium par voltammétrie cyclique

Tableau II.3. Tailles des AuNPs obtenues par voltammétrie cyclique en fonction des paramètres du dépôt.

Tableau II.4. Tailles des AuNPs obtenues par électrolyse à potentiel imposé en fonction des paramètres du dépôt.

Tableau II.5. Tailles des AuNPs obtenues par voltammétrie linéaire en fonction des paramètres du dépôt

Tableau II.6. Paramètres de l'électrodépôt par voltammétrie cyclique

Tableau II.7. Paramètres opératoires de la réalisation du dépôt des AuNPs par électrolyse à potentiel constant

Tableau II.8. Valeurs de ΔE_p et i_{pic} des pics des interfaces obtenues

Tableau II.9. Valeurs de ΔE_p et i_{pic} des pics des interfaces obtenues

Tableau II.10. Caractéristiques physiques des AuNPs

Tableau II.11. Valeurs de ΔE_p et i_{pic} des pics des interfaces obtenues

Tableau II.12. Charges consommées durant l'électrodépôt

Tableau II.13. Valeurs de ΔE_p et i_{pic} des pics des interfaces obtenues

Tableau II.13. ASA obtenues pour les deux types de dépôt

Tableau II.14. Rapports des surfaces actives et des intensités des pics

Tableau II.15. Paramètres de la procédure d'activation

Tableau II.16. Caractéristiques du pic de réduction des oxydes d'or

Tableau III.1. Paramètres de travail utilisés pour la redissolution anodique à vague carrée.

Tableau III.2. Tableau comparatif des sensibilités normalisées obtenues dans le cadre de cette étude et au cours des études précédentes avec différents types d'électrodes fonctionnalisées avec des AuNPs.

Introduction générale

« Les femmes ont pour hantise ce que les démocraties ont pour orgueil : vieillir. Mais toutes ont la même illusion : se conserver. »

Au-delà de la profondeur philosophique et du côté quelque peu misogyne – sans doute assumé par l’auteur – de cette citation de Victor Hugo, on relève une subtile distinction, quasi dichotomique, qui est faite entre l’inéluctable – vieillir – et le désir somme toute compréhensible de *bien* vieillir – la conservation. Clôturant avec brio le thème romantique de l’*ubi sunt*, cette distinction n’a pas recueilli une grande postérité littéraire jusqu’à nos jours. À quelques exceptions notables près – les matériaux pour l’architecture, par exemple – il en a été de même dans le domaine de la science : il n’y a pas si longtemps que les études démographiques distinguent « espérance de vie » et « espérance de vie en bonne santé » ... Ainsi, bien souvent la science crée de nouveaux objets, dispositifs, principes actifs, elle sait qu’ils vieillissent – forcément – mais ne se préoccupe pas de savoir s’ils se conservent. En d’autres termes, la problématique de la *durée de vie* est négligée, passée sous silence. Qu’en est-il pour ce qui concerne les capteurs ?

Dans son éditorial du mois d’août 2018 de la revue *ACS Sensors*, intitulé « So, you have a great new sensor. How will you validate it? », Eric Bakker nous donne sa vision de la qualification d’un nouveau capteur. En-dehors des paramètres classiques et évidents d’évaluation que sont la sélectivité, la sensibilité, la gamme de mesure et la limite de détection, il insiste sur le fait que pour être pertinent, un capteur doit nécessairement être confronté au milieu réel. En ce sens, il a entièrement raison : un capteur qui ne marche qu’en milieu contrôlé ne sert à rien. En revanche, il ne dit mot de la durée de vie du capteur, sans doute parce que ce point constitue l’étape de validation suivante : en effet, un capteur, fonctionnât-il en milieu réel, ne sert toujours à rien s’il ne dure pas un tant soit peu. Cette problématique de la durée de vie du capteur peut être éludée dans certains cas bien précis : par exemple, dans le domaine de la santé et de l’analyse biomédicale. Pour d’évidentes raisons d’éthique notamment, un capteur qu’on aurait « trempé » dans le sang d’un premier patient n’ira pas dans le sang d’un second patient. On passe alors dans le domaine des capteurs jetables, à usage unique. Mais d’autres domaines d’applications requièrent au contraire des capteurs qui durent longtemps, et que l’on va donc pouvoir laisser en place pendant un temps appréciable. C’est le cas notamment de l’analyse environnementale : le capteur idéal dans ce domaine est un capteur sensible et qui possède une durée de vie opérationnelle importante, qui autorise un déploiement de plusieurs semaines ou plusieurs mois, pour mesurer de manière

autonome la cible d'intérêt sur de longues périodes. Pourtant, on ne peut que s'étonner du nombre très faibles de publications traitant de cette question de la durée de vie : comme l'indique Eric Bakker, bien souvent les nouveaux capteurs sont seulement décrits en termes de sensibilité, domaine de linéarité et limite de détection. Seule une certaine fraction des publications aborde les tests en milieu réel. Et seules une poignée d'entre elles s'intéressent à la problématique de la durée de vie du capteur. C'est dans ce contexte que s'inscrit ce travail de thèse, afin de répondre à cette dernière problématique dans le cadre d'un dispositif dédié au dosage des traces de mercure dans les eaux naturelles.

On le sait depuis 1949 et la catastrophe de Minamata, au Japon, le mercure est un des éléments-traces métalliques¹ les plus toxiques qui soient, aussi bien pour la nature que pour les êtres vivants, au premier lieu desquels se trouve l'homme. Pire : le mercure est omniprésent dans notre environnement, et dangereux dès les très faibles concentrations, en dessous du micromole par litre. Rejeté le plus souvent sous sa forme inorganique Hg(II) par les gaz d'échappement automobiles, la combustion du charbon, les incinérateurs de déchets, les procédés d'extraction minière ou les industries lourdes telles que fonderies ou usines pétrochimiques, ce Hg(II) subit dans la nature des transformations et devient organomercurien – son plus célèbre représentant étant le méthylmercure qui a sévi à Minamata. S'enclenche alors un processus appelé *bioaccumulation* : les organomercuriens sont d'abord absorbés par les plantes, les algues ou le plancton. Ces derniers sont ensuite consommés par des petits poissons, qui eux-mêmes en nourriront de plus gros, et ainsi les dérivés du mercure se concentrent tout au long de la chaîne alimentaire, et atterrissent à des concentrations non négligeables dans nos assiettes. De ce fait, le mercure représente un problème environnemental et sanitaire majeur et ce, dès les teneurs les plus faibles.

Dans ce contexte, l'équipe « Capteurs Electrochimiques et Procédés » du Laboratoire de Génie Chimique développe depuis 2009 un capteur pour le dosage des traces de Hg(II) basé sur une électrode de carbone vitreux fonctionnalisée par des nanoparticules d'or. L'étape de fonctionnalisation de l'électrode est primordiale, car c'est elle qui doit assurer la sélectivité et la sensibilité du capteur, étant entendu que ces propriétés ne peuvent être obtenues avec une électrode non-fonctionnalisée telle qu'une électrode métallique ou en carbone vitreux. Dans le cas du capteur à mercure, les nanoparticules d'or ont été choisies pour tirer parti à la fois des nombreuses

¹ On ne dit plus « métaux lourds » depuis John H. Duffus et son « Heavy metals – A meaningless term? » (Pure and Applied Chemistry 2002, 74(5), 793-807).

propriétés des nano-objets, telles que l'augmentation de la surface active et l'amplification du transport de matière, et de l'affinité particulière qu'ont l'or et le mercure entre eux, et qui doit permettre d'améliorer la sensibilité. Les premiers travaux, réalisés avec des nanoparticules électrodéposées sur le carbone vitreux, ont permis de montrer que la sensibilité et la limite de détection du capteur sont corrélées à la morphologie des dépôts, c'est-à-dire à la densité et au diamètre moyen des nanoparticules. L'électrodépôt s'est par ailleurs révélé un moyen relativement efficace de contrôler cette morphologie. En optimisant la procédure de détection, il a été possible de détecter une concentration en Hg(II) de 19 pmol.L^{-1} dans une eau naturelle du sud de la France. Cependant, le capteur a montré ses limites en termes de stabilité, les dépôts de nanoparticules évoluant rapidement au cours du temps et ne permettant plus aucune détection après trois jours.

Afin de pallier ce défaut majeur, il a été envisagé d'associer aux nanoparticules des couches organiques préparées à partir de sels de diazonium, en espérant bénéficier d'une interaction entre l'or et les groupements fonctionnels des composés aromatiques qui stabiliserait les nanoparticules. Cependant, les sels de diazoniums sont connus pour générer sur la surface de l'électrode des films auto-inhibiteurs, donc isolants, ce qui condamne *de facto* l'électrodépôt des nanoparticules d'or après greffage des couches organiques. Aussi les nanoparticules ont-elles été préparées par voie colloïdale avant d'être déposées par une méthode physico-chimique sur les films organiques préalablement greffés sur les électrodes de carbone vitreux. Ce travail, qui a fait l'objet d'une thèse soutenue en 2017, a permis de montrer que les nanoparticules préparées par voie colloïdale sont beaucoup plus réactives et sensibles que celles électrogénérées, mais n'a malheureusement pas apporté d'amélioration significative en termes de stabilité des interfaces, et donc de durée de vie du capteur.

Le travail de thèse présenté dans ce manuscrit s'inscrit dans la continuité de l'ensemble de ces travaux, avec pour but d'apporter une réponse au problème de la stabilité. Il fait partie d'un projet de recherche collaboratif international (ANR PRCI) intitulé « MERcury Electrochemical SENSOR for in situ trace determination » (MERESENS), et mené en collaboration avec le groupe du Pr. Thomas Pichler de l'université de Brême en Allemagne. La stratégie retenue a consisté à envisager l'électrodépôt des nanoparticules d'or sur des films épais de diazonium en dépit du caractère isolant de ces derniers.

Ce manuscrit est divisé en trois chapitres :

- Le premier chapitre est l'occasion d'un point bibliographique sur le mercure, son omniprésence dans l'environnement et les diverses conséquences sur la santé humaine qui peuvent en découler, ainsi que d'un état de l'art comparatif des différentes méthodes de détection et d'analyse de référence. Cet état de l'art – non-exhaustif – est complété par une présentation des méthodes d'analyse alternatives, avec une emphase sur les méthodes électrochimiques. Le chapitre se termine par une mise en contexte plus détaillée que ci-dessus des travaux de l'équipe sur le dosage des traces de mercure.

- Le deuxième chapitre est quant à lui dévolu à l'élaboration des interfaces mixtes diazoniums/nanoparticules d'or, ainsi qu'à leur caractérisation par voies microscopiques et électrochimiques. Le greffage des sels de diazonium et l'électrodépôt des nanoparticules seront présentés, et l'évolution de la réponse ampérométrique des interfaces au cours des différentes étapes de la fonctionnalisation sera décrite et discutée. L'activation des interfaces, au préalable de la détection du mercure, sera également examinée.

- Le troisième et dernier chapitre aborde la détection du mercure à l'état de traces et les performances analytiques du capteur élaboré. Ces performances sont présentées, discutées et comparées aux travaux antérieurs de l'équipe et aux données de la littérature. L'influence d'interférents métalliques potentiels est également examinée, ainsi que la stabilité au stockage des interfaces. Enfin, les premiers tests de mesures sur des échantillons d'eaux naturelles prélevées par nos collègues allemands sont présentés.

Chapitre I

Le Mercure : dispersion dans
l'environnement, toxicité, et méthodes de
détection

I. Introduction

L'objectif de ce chapitre est d'exposer le contexte des travaux. Une première partie est consacrée à la présentation du mercure, élément clé de ce manuscrit, sa propagation dans l'environnement et ses effets toxiques sur l'homme, justifiant les normes imposées par la législation internationale en ce qui concerne les concentrations du mercure dans l'eau, l'air et l'alimentation. Ensuite, les méthodes d'analyses utilisées actuellement pour la détection du mercure dans l'eau seront décrites, avec leurs principaux avantages et inconvénients. Puis les méthodes alternatives aux techniques classiques sont présentées. Enfin, les méthodes électrochimiques sont abordées, suivies des travaux précédemment réalisés dans l'équipe sur le développement de capteurs électrochimiques pour l'analyse du mercure dans les eaux naturelles.

II. Généralités

Le mercure est un élément chimique connu depuis l'antiquité¹ et appartenant à la famille des Éléments Traces Métalliques (ETM)^{2,3}. C'est aussi un élément de transition dont les propriétés physico-chimiques sont les suivantes :

- Masse molaire : 200,59 g.mol⁻¹
- Numéro atomique : 80
- Densité à 20°C : 13,5 g.cm⁻³
- Configuration électronique : [Xe] 4f¹⁴ 5d¹⁰ 6s²
- Pression de vapeur saturante à 20°C : 0,16 Pa

Il est également connu pour sa capacité à former des amalgames avec les métaux nobles^{2,3}, d'où son utilisation pour la préparation d'amalgames dentaires et pour l'extraction de métaux précieux^{2,4,5}. Par ailleurs, on le retrouve dans plusieurs autres domaines d'application : fabrication de lampes fluorescentes, piles et batteries, production de chlore et de soude caustique^{4,6-8}, etc...

Le mercure est présent dans l'environnement sous trois formes :

² Le terme Eléments Traces Métalliques est utilisé pour remplacer le terme « métaux lourds » et désigne les métaux à haute toxicité : Arsenic, Mercure, Cadmium, Chrome, Cuivre, Nickel, Plomb, Sélénium, Zinc.

³ On ne dit plus « métaux lourds » depuis John H. Duffus et son « Heavy metals – A meaningless term? » (Pure and Applied Chemistry 2002, 74(5), 793-807).

• **Mercur e élémentaire** : Cette forme correspond au degré d'oxydation 0 du mercure. Elle se présente sous la forme d'un métal de couleur argent brillant, ayant la particularité unique de se retrouver à l'état liquide à température ambiante^{4,9}. C'est la forme majoritaire du mercure dans l'atmosphère : très volatile et très mobile¹⁰, elle peut être transportée sur des grandes distances. L'intoxication par le mercure élémentaire se fait souvent par inhalation de vapeurs de mercure. Une fois dans l'organisme, il est liposoluble, peut diffuser dans le sang ainsi qu'à travers les membranes cellulaires et s'accumule dans le foie et le cerveau : sa demi-vie dans le cerveau peut atteindre 20 ans^{9,11,12}. Le mercure s'oxyde dans les globules rouges pour donner une autre forme de mercure : le Hg^{2+} .

• **Mercur e inorganique (IHg)** : Cette forme correspond aux degrés d'oxydation +I et +II du mercure et a une demi-vie de 60 jours dans l'organisme. La forme la plus répandue dans l'environnement est le Hg(II) : elle est soluble dans l'eau et peut former des complexes avec différents ligands organiques et inorganiques en fonction de la composition du milieu^{10,13}. L'intoxication par cette forme survient par ingestion, par voie cutanée, et plus rarement par inhalation¹². Contrairement au mercure élémentaire, le mercure inorganique n'est pas liposoluble et ne peut pas diffuser dans le sang. Toutefois, il est présent à 50 -90 % dans les reins¹⁴.

• **Mercur e organique** : Cette forme résulte de l'association du mercure avec les différentes structures carbonées⁷, pour former différents types de composés dits organomercuriels (R-Hg), dont les plus connus sont le méthylmercure (MeHg) et le diméthylmercure DMeHg présent à moindre proportion^{2,9,15}. Le MeHg constitue la forme prédominante et est formé par une réaction de méthylation entre l'ion Hg^{2+} et d'autres composés contenant un groupe méthyle, par l'action de microorganismes^{2,15-19}. Il représente la forme la plus toxique du mercure car il bioaccumule tout au long de la chaîne alimentaire, en commençant par les mammifères marins, pour atteindre des concentrations très élevées chez le consommateur final, notamment l'homme^{2,4,16,20}. L'intoxication se fait alors par ingestion directe du mercure à travers la chaîne alimentaire⁶. Par ailleurs, la consommation de poissons est considérée comme première source d'intoxication^{6,9}. La contamination peut également survenir par inhalation ou par voie cutanée⁴. Le MeHg est liposoluble et s'accumule dans le cerveau. De même, il peut passer à travers le sang et le placenta et se concentrer dans le cerveau du

fœtus^{4,19}. En revanche, son élimination de l'organisme est très lente¹⁹. Sa demi-vie dans le corps humain est comprise entre 35 et 189 jours⁴.

III. Contamination environnementale

III.1 Sources d'émission du mercure dans l'environnement

Le mercure est un élément présent naturellement dans l'environnement, mais provient majoritairement de rejets anthropogéniques. Une fois rejeté, son cycle comporte des échanges entre l'air, l'eau et le sol, comme le montre la figure I.1.

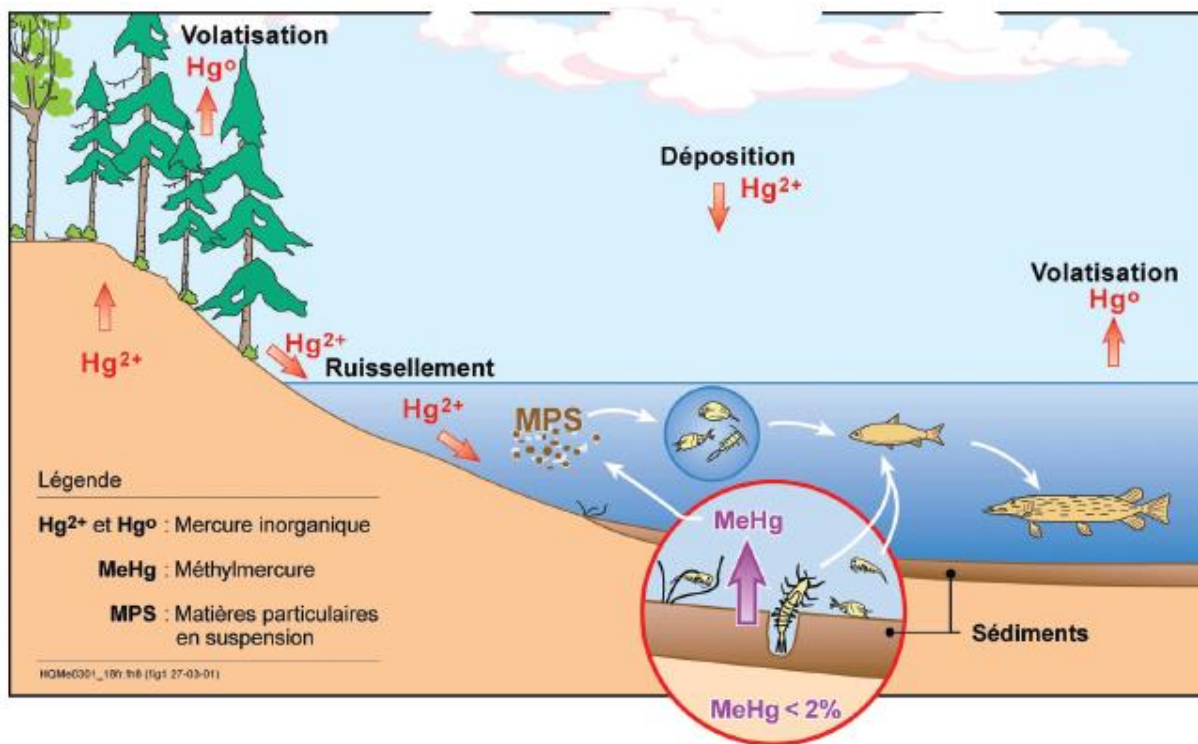


Figure I.1. Cycle biogéochimique du mercure⁴.

Les principales sources d'émission du mercure sont les suivantes :

- **Sources naturelles** : Le mercure est naturellement présent dans la croûte terrestre à une teneur moyenne de $0,05 \text{ mg.kg}^{-1}$. Il est libéré dans le milieu naturel, principalement sous sa forme

⁴ Source : Université Virtuelle Environnement et Développement Durable (UVED).
https://real.ehesp.fr/pluginfile.php/4701/mod_resource/content/14/moduleenc/co/edc_canada_3_3.html.
Dernière consultation le 07 Novembre 2019.

élémentaire, par l'action de processus géologiques comme les éruptions volcaniques et les fissures géologiques. Il peut également provenir des feux de forêts et de l'érosion naturelle des sols et des roches²¹. Il peut aussi être réémis dans l'atmosphère suite au dégazage des sols et l'évaporation des surfaces des eaux contaminées^{10,13,20-23}. Les émissions naturelles de mercure sont caractérisées par leur dispersion à très grande échelle et sont difficiles à contrôler. Ainsi, l'estimation des quantités de mercure rejetées par les sources naturelles peut s'avérer délicate, car elle doit prendre en considération les quantités déjà déposées dans l'environnement par d'autres sources, et réémises par la suite²⁴.

- **Sources anthropogéniques :** Ces rejets sont continus et contribuent d'une manière non négligeable à la persistance du mercure dans l'environnement. En effet, les récentes estimations publiées par l'UNEP (United Nations Environment Program) dans le cadre du Global Mercury Assessment 2018, montrent que la quantité de mercure émise dans l'atmosphère pour l'année 2015 est comprise entre 2000 et 2820 tonnes⁶, soit une quantité 20% plus importante que celle rapportée pour l'année 2010⁶. Cette estimation prend en considération les principaux secteurs d'activité responsables de l'émission de mercure atmosphérique, représentés dans la figure I.2. Les rejets de mercure proviennent majoritairement des installations d'orpaillage qui compte pour environ 38% des émissions totales, et de la combustion de charbon (environ 21%)⁶.

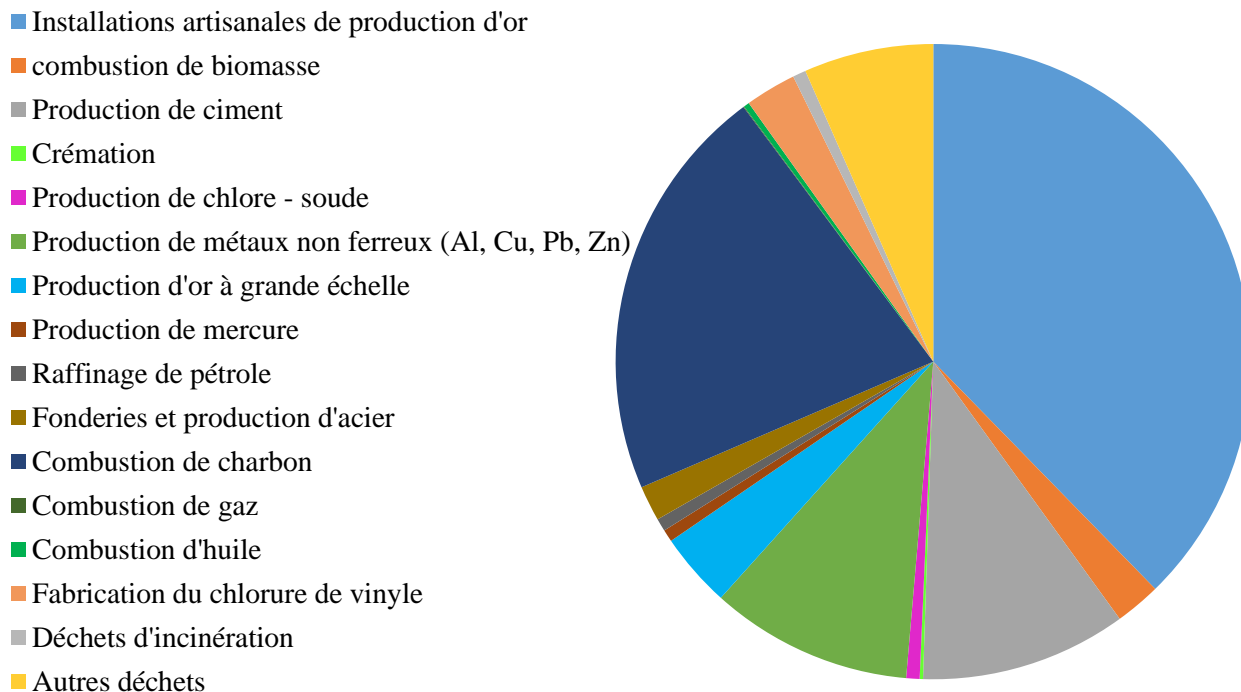


Figure 1.2. Répartition par secteur d'activité des émissions atmosphériques de mercure provenant de sources anthropogéniques en 2015. *Global Mercury Assessment 2018, UNEP* ⁶.

Le mercure peut être réémis dans l'atmosphère après avoir été déposé dans l'eau ou le sol. Cette réémission est le résultat de la conversion des formes organique et inorganique en mercure élémentaire gazeux très volatil et capable d'être réintroduit dans l'air. Ainsi, les sources naturelles et anthropogéniques sont considérées comme sources primaires car elles contribuent à introduire le mercure dans l'écosystème. La réémission contribue à la redistribuer, et est considérée comme source secondaire²⁵.

D'un point de vue global, les émissions de mercure se répartissent comme suit ⁶ :

- Émissions naturelles : 10%
- Émissions anthropogéniques : 30%
- Réémission : 60%

En outre, les émissions atmosphériques provenant des rejets industriels varient d'une région à une autre en raison du développement de l'industrie. Ainsi, l'Asie se positionne en première place avec 48,7% des émissions atmosphériques, suivie par l'Amérique du sud (18,4%) puis l'Afrique Subsaharienne (16,2%). La contribution du reste des régions est présentée à la figure I.3.

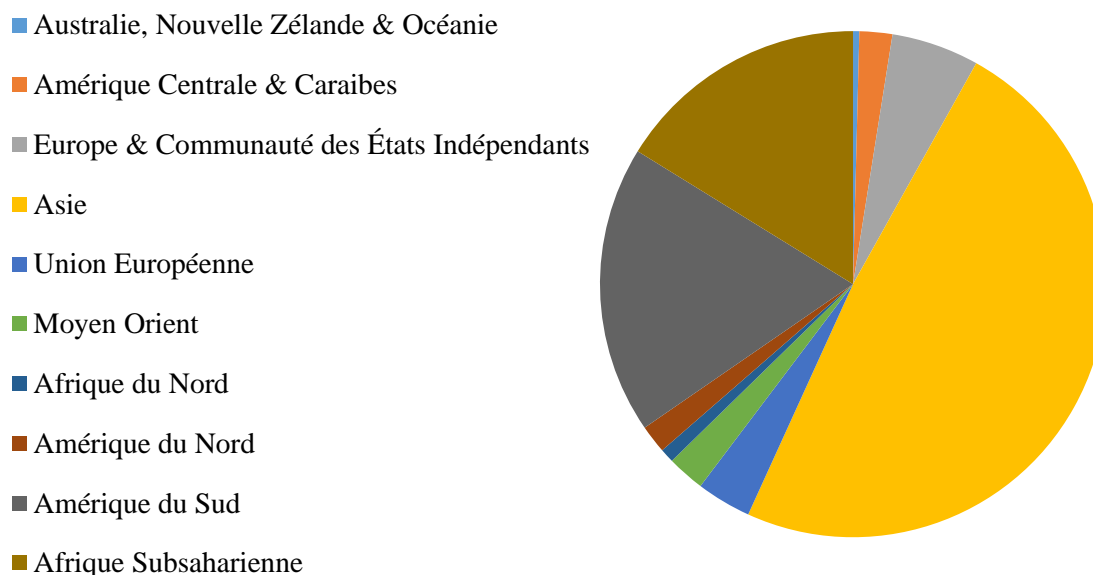


Figure I.3. Répartition par région des émissions atmosphériques de mercure provenant de sources anthropogéniques en 2015. *Global Mercury Assessment 2018, UNEP* ⁶.

En France, les émissions anthropogéniques de mercure dans l’atmosphère ont enregistré une baisse considérable au cours des 20 dernières années : de 21,1 tonnes en 1995 à 3,8 tonnes en 2017. La majorité des émissions proviennent de l’industrie manufacturière (44%), suivie par les rejets issus du traitement de déchets (26%) et de la transformation d’énergie (15%)²⁶.

D’une manière générale, la dispersion du mercure dans l’environnement est globale à l’échelle planétaire, étant donné sa capacité à être transporté sur de très longues distances¹³. Afin de limiter les rejets provenant des sources anthropogéniques, certains procédés de récupération de mercure et de dépollution sont utilisés. Toutefois ces procédés engendrent des déchets contaminés, considérés eux-mêmes comme sources d’émission. Ainsi, la présence du mercure dans les sols et les eaux est inévitable et est à l’origine de l’intoxication de la faune et des humains.

III.2 Dispersion du mercure dans l’air

Le mercure présent dans l’air se trouve principalement sous sa forme élémentaire Hg(0). La présence d’une faible quantité de MeHg a aussi été rapportée^{27,28}. Le mercure élémentaire étant très peu soluble dans l’eau, il ne peut pas être éliminé par les précipitations et possède donc un temps de séjour dans l’atmosphère qui s’étend de quelques mois à une année ^{25,29}. Ainsi, il peut

être dispersé à très grande échelle (régionale et mondiale) avant d'être redéposé dans l'eau ou le sol, dans le cadre de son cycle biogéochimique²⁵. Le taux de mercure présent dans l'air dépend donc non seulement de la localisation des sources d'émission mais aussi de leur cycle de transport. En effet, d'après le dernier rapport de l'Agence Européenne de l'Environnement, 50% du mercure atmosphérique présent en Europe provient de sources externes, dont 30% de l'Asie³⁰. Le suivi de la distribution atmosphérique du mercure a montré des taux plus importants dans l'hémisphère nord que dans l'hémisphère sud^{25,31}. En outre, la concentration globale estimée du mercure dans l'atmosphère est d'environ 8 fmol.l⁻¹.

III.3 Dispersion dans les sols

En plus du mercure naturellement présent dans la croûte terrestre, des quantités supplémentaires sont introduites dans les sols sous forme de mercure atmosphérique redéposé et à travers les émissions anthropogéniques. Ces émissions proviennent en grande partie des exploitations minières artisanales d'or et d'autres métaux. L'extraction étant basée sur le procédé d'amalgamation, elle génère une quantité importante de déchets contenant du mercure. Ainsi, les régions proches de ce type d'industries présentent des taux de mercure plus élevés, même après l'arrêt de l'exploitation. Aux Etats Unis, le taux de pollution enregistré en 2001 sur un ancien site minier inactif est encore plus important que les taux enregistrés dans des régions avoisinantes³². En Alaska, bien que la majorité des exploitations minières remontent aux années 1900-1970, des mesures réalisées en 2000 ont montré que les concentrations de mercure total dans des sédiments fluviaux étaient de l'ordre de 1000 µg/g, une concentration 1000 fois plus élevée que le niveau naturel³³. En République Tchèque, une étude a été réalisée à Pibram, une région connue pour l'exploitation minière d'argent et de plomb : les concentrations de mercure dans des échantillons de terre arable prélevés sur toute la région, sont de l'ordre de 0,36 µg/g. Cette concentration est 7 fois plus importante que les concentrations naturelles. L'analyse d'échantillons collectés dans la zone minière a montré des concentrations de 2 µg/g, soit 40 fois les concentrations naturelles³⁴. En Chine, des prélèvements effectués dans une région minière ont présenté des concentrations de mercure total dans le sol allant de 1,53 à 1054,97 mg/kg, avec une concentration maximale atteinte au voisinage de l'atelier de concentration du minerai. La présence du MeHg a aussi été rapportée, à des concentrations comprises entre 0,88 µg/kg et 46,52 µg/kg¹⁶. En Espagne, des taux de mercure de 6 à 8889 µg/g ont été mesurés dans la région d'Almadén, où se situe le plus grand gisement de mercure dans le monde³⁵.

La contamination des sols par le mercure peut aussi survenir suite à l'utilisation des déchets des stations d'épuration urbaines pour la fertilisation des sols agricoles. En France, une étude récente réalisée dans la région Ile de France, sur des sols ayant été le siège d'épandage de boues d'épuration par le passé, a révélé des taux de mercure de $1,57 \pm 0,70$ mg/kg, largement supérieurs au taux autorisé pour cette région (0,32 mg/kg)³⁶.

III.4 Dispersion dans les milieux aquatiques

La contamination des milieux aquatiques provient principalement des exploitations minières artisanales, pour l'extraction de l'or. Les rejets générés par ces structures et déversés directement dans le sol et les milieux aquatiques ont été estimés à 1220 tonnes en 2015. La répartition de ces rejets par région se présente comme suit : Amérique du Sud : 53 %, Asie : 36 %, Afrique Subsaharienne : 8% ⁶.

Les autres sources de contamination proviennent de 3 activités principales : les procédés de traitement des eaux, l'extraction de minerais, et la production de l'énergie. La quantité de mercure générée par ces activités a été estimée à 580 tonnes en 2015⁶ et répartie suivant les sources de pollution. La figure I.4 présente la contribution des différentes régions aux rejets de mercure dans l'eau, sans prendre en considération les rejets des exploitations minières. La plus grande quantité de rejets provient de l'Asie. Ceci est dû au développement industriel qu'a connu ce continent, impliquant un taux de pollution très élevé par rapport aux autres régions.

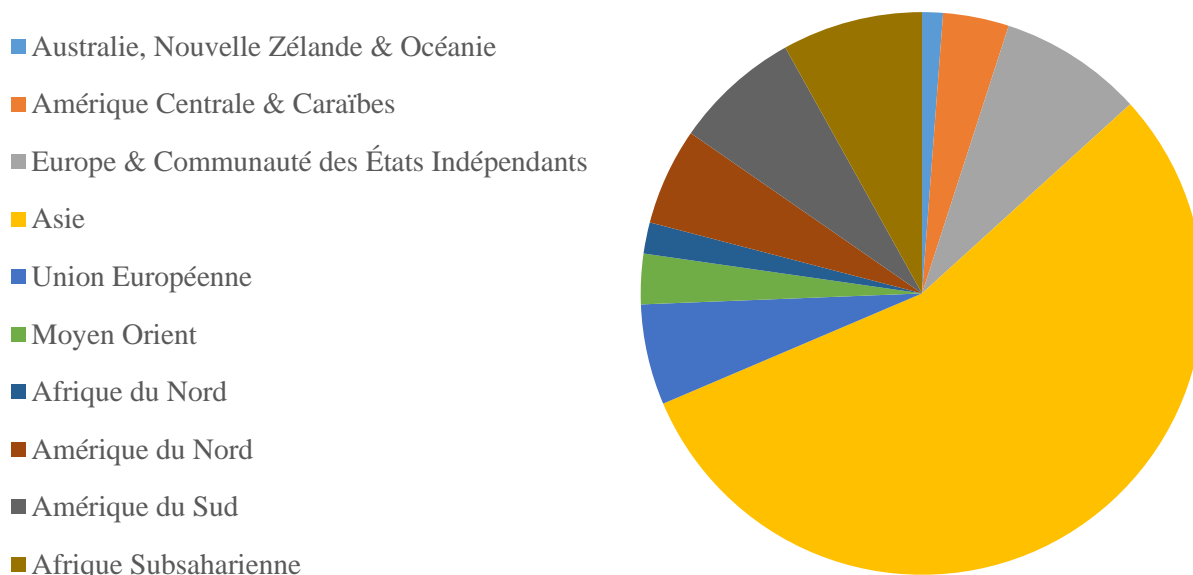


Figure I.4. Répartition géographique des rejets anthropogéniques de mercure dans les milieux aquatiques pour l'année 2015⁶.

En plus des sources anthropogéniques, le mercure est aussi réintroduit dans le milieu aquatique à travers les interactions continues entre l'air et les sols.

Une fois dans l'eau, le mercure est présent sous ses 3 formes : élémentaire Hg^0 , inorganique $Hg(II)$ et organique (MeHg et DMeHg), à des pourcentages variables, en fonction des propriétés du milieu aquatique concerné (pH, teneurs en composés organiques et inorganiques etc)^{13,17}.

En Méditerranée par exemple, la teneur en mercure total est comprise entre 0,41 et 2,65 pM, avec des fractions de MeHg de l'ordre de 43 %³⁷. Dans l'Antarctique, l'analyse de la distribution du mercure dans des lacs et des cours d'eau glaciaires a montré des teneurs en mercure total allant de 2,7 à 6,8 pM et des teneurs en MeHg pouvant atteindre 1,2 pM³⁸.

En Guyane française, l'extraction d'or à petite échelle est très répandue et représente une menace sanitaire et environnementale. Des prélèvements réalisés dans des rivières situées en amont et en aval d'un barrage avoisinant un site d'orpaillage sont de 0,02 ng/L et 0,5 ng/L, respectivement².

Le tableau I.1 résume les résultats de quelques études sur l'analyse des teneurs de mercure dans différents types de milieux aquatiques dans le monde.

Matrice et localisation	Espèce	Technique	Concentration	Référence
Eau de surface (Bassin versant), Mississippi	THg	CPG	5 nM	39
Eau de surface (Rivière) Mississippi	THg	CV-AAS	10,7 nM	40
Eau de surface (Ruisseau) Alaska	MeHg Hg(II)	CV-AAS	< 7 pM 0,1 nM	33
Eau de surface (Rivière, lagon) Australie	THg	FIM-AAS	0,5 – 5 nM	41
Eau de pluie Californie	THg MeHg	CV-AFS GC-CVAFS	10 – 88 pM 0,2 – 2,3 pM	42
Eau de surface Chine	THg MeHg	CV-AFS	4,43 – 90 pM 0,35 – 2,3 pM	43
Eau de surface Chine	THg	CV-AFS	0,0 – 25 nM	44
Eau de surface Chine	THg	CV-AFS	1,2 – 3,6 nM	45
Eau de surface Vietnam	THg	CV-AAS	0,24 – 0,54 nM	46
Eau de mer Océan Atlantique	THg	AFS	2,36 ± 1,6 pM	47
Eau de mer Océan Pacifique	THg	CV-AFS	1,10 ± 0,31 pM	48
Eau de mer Mer Noire	THg MeHg	AFS	1,8 – 11,8 pM 30 – 1043 fM	49

Tableau I.1. Teneurs du mercure dans l'eau dans différentes régions selon quelques études. THg désigne le mercure total.

III.5 Contamination de la faune

Le mercure a la propriété d'être bioaccumulé dans les organismes vivants tout au long de la chaîne alimentaire. Ainsi, les poissons qui se trouvent en bas de la chaîne contiennent des petites quantités de mercure, tandis que les poissons prédateurs sont susceptibles de présenter des taux de mercure beaucoup plus élevés. Certaines de ces espèces étant consommées par l'homme, la présence de mercure à de fortes concentrations peut être à l'origine d'une intoxication et présente donc un risque sanitaire majeur. D'une manière plus générale, la concentration de mercure varie en fonction de l'espèce et de l'océan. Les espèces en contenant les plus grandes quantités sont la baleine, le requin, le thon et l'espadon, où la concentration de mercure total dans le muscle peut dépasser 12 mg.kg^{-1} , $2,5 \text{ mg.kg}^{-1}$, $0,8 \text{ mg.kg}^{-1}$ et $0,5 \text{ mg.kg}^{-1}$, respectivement⁶. Par ailleurs, la consommation du thon est considérée comme la source majeure d'exposition⁶. Les espèces marines entrant dans l'alimentation humaine doivent donc être régulièrement surveillées. Dans ce contexte, la législation européenne est particulièrement stricte : l'ESFA (European Food Safety Authority) a émis une valeur limite pour la concentration du mercure dans les poissons égale à $0,5 \text{ mg.kg}^{-1}$. Pour certaines espèces prédatrices comme le thon et l'espadon la législation impose une valeur limite de 1 mg.kg^{-1} . De même, l'USEPA (United States Environmental Protection Agency) a imposé une concentration limite en MeHg de 1 mg.kg^{-1} .

Cependant, certaines études ont montré des concentrations dépassant les taux autorisés par la législation. Une étude réalisée sur différentes espèces de poissons marins prélevés en Italie (limande, sole et poissons scorpions) a montré que la concentration en mercure total dans celles-ci est largement au-dessus de la valeur limite définie par l'ESFA ($0,5 \text{ mg.kg}^{-1}$). Ceci est dû à la proximité du site de prélèvement du bassin d'une rivière figurant parmi les plus contaminées de l'Europe (Sarno River) car elle reçoit les effluents de plusieurs sites industriels. De plus, la teneur en mercure retrouvée dans les poissons marins est plus importante que celle retrouvée dans les poissons élevés en eaux douces. Au cours de la même étude, l'analyse réalisée sur des poissons récoltés dans un marché en Autriche a révélé que pour 2 des 3 spécimens de la même espèce (escolier), la teneur de mercure est plus élevée que la valeur limite émise pour cette espèce (1 mg.kg^{-1}), ce qui représente une menace sanitaire⁵⁰ et l'ensemble de ces éléments met en évidence l'importance du suivi en continu des taux de mercure dans les poissons destinés à la consommation humaine⁵⁰.

Une autre étude a été réalisée sur des poissons (daurades) prélevés dans 6 fleuves européens de différents pays : Pays-Bas, France, Suède, Royaume-Uni et Allemagne. Le suivi des concentrations de mercure dans le muscle de ces poissons a été effectué entre 2007 et 2013. Comme le montre la figure I.5, les taux de mercure dans le muscle des poissons varient d'un site à un autre. Les taux les plus élevés ont été observés dans l'Escault, le Rhône et le Gota Alv, situés à proximité de sites industriels. Ces taux sont donc représentatifs des niveaux de pollutions dans les zones étudiées. Par ailleurs, dans la majorité des cas, les concentrations de mercure dépassent la norme de qualité environnementale (NQE) fixée à 20 µg de mercure/kg de poissons frais⁵¹.

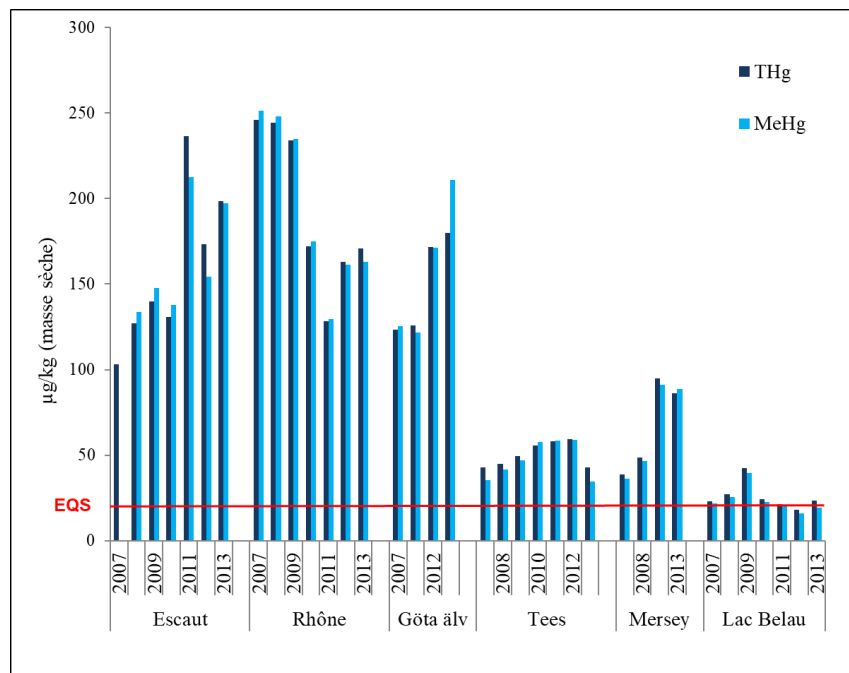


Figure I.5. Concentrations en mercure total (THg) et en méthylmercure MeHg dans des échantillons de muscle prélevés sur des spécimens de daurade collectés dans plusieurs sites européens⁵¹.

En France, une étude réalisée en 2011 sur des échantillons de poissons provenant d'un lac situé dans la région de Nouvelle Aquitaine a montré des concentrations en mercure total de 1 à 1,4 mg Hg / kg de masse sèche, pour des spécimens de brochets et de sandre, respectivement. Ces concentrations dépassent les recommandations émises par l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation (ANSES) qui sont de 1 mg THg.kg⁻¹ pour le brochet et 0,5 mg THg.kg⁻¹ pour le sandre. La consommation de cette dernière espèce et en provenance du lac concerné a donc été interdite depuis 2012⁵².

Au Kenya, une récente étude a été menée sur des échantillons de l'espèce *Tilapia* du Nil prélevés dans la région de Migori, connue pour ses sites d'orpaillage. Pour 78% des échantillons analysés, les taux de mercure total dans les poissons dépassent la limite de $0,5 \text{ mg.kg}^{-1}$. Pour 31% des cas, le taux de mercure dans le muscle dépasse également la limite, et peut atteindre $0,917 \pm 0,099 \text{ mg.kg}^{-1}$. Ceci présente un risque de contamination considérable pour la population.

Bien que les espèces marines soient les plus exposées à la contamination au mercure, d'autres espèces sont également touchées. Au Bénin par exemple, l'analyse des taux de mercure dans des échantillons de lait de vaches élevées dans différentes zones a montré des valeurs allant de 0,4 à $8,7 \mu\text{g.L}^{-1}$ ⁵³.

Plusieurs autres études ont été conduites sur différentes espèces d'animaux, dont une partie est résumée dans le tableau I.2. La gamme des concentrations correspond aux concentrations minimales et maximales mesurées dans le muscle des espèces étudiées⁵⁴.

Matrice et localisation	Espèce	Technique	Gamme de concentrations	Référence
Crevettes Chine	THg	CV-AFS	0,016 – 0,023 µg/g	44
Poisson Chine	THg	CV-AFS	0,11 – 0,33 µg/g	
Poisson (pisciculture) Chine	THg MeHg	CV-AFS (ng/g)	De 13 ± 1,7 à 235 ± 24 De 16 ± 2,3 à 836 ± 83	55
Poisson Inde	THg	AAS	0,01 – 0,07 µg/g	56
Poisson Serbie	THg	CV-OES	De 0,89 ± 0,22 à 1,63 ± 0,51 µg/g	57
Poissons Russie	THg	CV-AAS	De 0,014 ± 0,001 à 0,337 ± 0,085 µg/g	58
Baleine Groenland	THg	CV-AAS	0,01 – 0,09 µg/g	59
Phoque Pologne	THg	CV-AAS	0,38 – 5,07 µg/g	60
Oiseaux de mer France	THg	CV-AAS	1,3 – 7,2 µg/g	61
Canard Canada	THg	CV-AAS	0,11 – 0,42 µg/g	62
Mouton Australie	THg	ICP-MS	0,0034 à 0,0061 µg/g	63
Poule	THg	CV-AAS	0,0001 – 0,0016 µg/g	64

Tableau I.2. Concentrations de mercure dans le muscle pour différentes espèces.

III.6 Intoxication humaine

La contamination de l'homme par le mercure peut survenir suite à l'ingestion directe à travers l'alimentation, l'inhalation ou encore le contact cutané. L'exposition se fait généralement d'une manière chronique et à long terme. Toutefois, l'empoisonnement aigu à forte dose peut avoir lieu en cas d'accident industriel par exemple, ou par ingestion volontaire⁶⁵. L'intoxication au mercure peut avoir des effets dramatiques sur la santé humaine, étant donné que la majorité des organes sont concernés :

- Système nerveux : le MeHg est capable de traverser la barrière hémato-encéphalique pour s'accumuler dans le cerveau. Ceci peut entraîner des troubles du comportement (perte de mémoire, dépression, hallucinations...) et peut endommager les voies optiques et auditives^{9,66-69}. Les capacités motrices sont également touchées⁴.
- Système cardio-vasculaire : troubles cardio-vasculaires, hypertension artérielle, tachycardie, défaillance cardiaque^{4,67}
- Système respiratoire : irritation des voies respiratoires, œdème pulmonaire, pneumonies, bronchiolites⁷⁰.
- Système immunitaire : troubles immunologiques^{71,72}.
- Système gastro-intestinal : vomissements, diarrhée, constipation et gastrites peuvent être constatés suite à l'exposition au MeHg à faibles doses⁷³.
- Système endocrinien : troubles de fonctionnement de la thyroïde et du pancréas et dérèglement de la sécrétion de certaines hormones (insuline, œstrogène, testostérone, adrénaline⁷².
- Reins : lésions², syndrome néphrotique, insuffisance rénale^{20,30},
- Foie : troubles des fonctions hépatiques⁷⁰, insuffisance hépatique⁷⁴

Par ailleurs, l'exposition chronique au mercure peut avoir des symptômes plus classiques tels que la salivation excessive, la perte de poids et l'anorexie, la fatigue, la paranoïa^{9,20}. L'exposition au mercure a également un effet reprotoxique car ses formes élémentaire et organique peuvent traverser la barrière placentaire et se concentrer dans le cerveau fœtal^{67,70,72}. Sa concentration peut alors dépasser la concentration du mercure dans le sang maternel. Ainsi, l'exposition prénatale peut avoir des conséquences graves sur le développement du fœtus : inhibition de la croissance cérébrale, retards mentaux, perturbation du développement moteur...

III.7 Réglementation

En raison de sa toxicité aigüe et de ses effets sur l'environnement et la santé humaine, la législation internationale a émis des valeurs seuil pour la concentration du mercure dans les différents compartiments de l'écosystème : les sols, l'eau, l'air et également dans les poissons ou d'une manière générale, les produits de la mer pouvant entrer dans la consommation humaine. Ces valeurs seuil tendent à limiter la pollution universelle au mercure, du moins par les sources anthropogéniques, et à réduire le risque d'exposition humaine. Le tableau I.3 présente les valeurs des concentrations en mercure émises par l'UE, l'OMS et l'USEPA.

Matrice	OMS^{75,76}	USEPA⁷⁷⁻⁷⁹	UE⁵
Air ($\mu\text{g.m}^{-3}$)	1	/	/
Sols (mg.kg^{-1})	/	/	1 – 1,5
Eau ($\mu\text{g.l}^{-1}$)	6	2	0,07
Produits de la mer (mg.kg^{-1})	/	0,3 (MeHg)	0,3

Tableau I.3. Concentrations de mercure imposées par les normes ou les recommandations de l'OMS, l'USEPA et l'UE.

Les valeurs émises par l'OMS et l'USEPA sont considérées comme valeurs de référence dans le monde. Cependant, la norme imposée par l'UE est plus stricte.

⁵ Union Européenne : Directive 2004/107/CE du Parlement Européen et du Conseil du 15 décembre 2004 concernant l'arsenic, le cadmium, le mercure, le nickel et les hydrocarbures aromatiques polycycliques dans l'air ambiant. Journal officiel de l'Union Européenne, 23, 3-16, 2005.

Union Européenne : Règlement (CE) N° 1881/2006 de la Commission du 19 décembre 2006 portant fixation de teneurs pour certains contaminants dans les denrées alimentaires. Journal officiel de l'Union Européenne, 364, 5-24, 2006.

Union Européenne : Directive 86/278/CEE du Conseil du 12 Juin 1986 relative à la protection de l'environnement et notamment des sols, lors de l'utilisation des boues d'épuration en agriculture. Journal Officiel de l'Union Européenne, 181, 6-12, 1986.

Union Européenne : Directive 2013/39/UE du parlement européen du Conseil du 12 août 2013 modifiant les directives 2000/60/CE et 2008/105/CE en ce qui concerne les substances prioritaires pour la politique de l'eau. Journal officiel de l'Union Européenne, 226, 1-17, 2013.

IV. Méthodes d'analyse du mercure dans l'eau

IV.1 Méthodes classiques

La détection du mercure dans l'eau est principalement réalisée par les techniques spectroscopiques suivantes, considérées comme des techniques de référence :

- CV-AFS
- CV-AAS
- ICP-SM
- ICP-OES

Cette partie est donc consacrée à la présentation du principe de chacune de ces méthodes, ses avantages, ses inconvénients et les limites de détection qu'elle permet d'atteindre.

IV.1.1 CV-AFS / CV-AAS

- **CV-AFS : Spectroscopie à fluorescence atomique à vapeur froide – Cold Vapour Atomic Fluorescence Spectroscopy**

Le principe de cette technique consiste en l'excitation des atomes de l'échantillon à analyser par l'envoi d'une raie lumineuse à une longueur d'onde donnée, qui correspond à leur longueur d'onde d'absorption (253,7 nm). Lors du retour à leur état fondamental, les atomes de l'élément émettent un rayonnement dont l'intensité est mesurée. Cette intensité permet de quantifier l'élément étudié car elle est directement proportionnelle à sa concentration. L'utilisation de cette technique pour la détection de mercure est due à sa grande volatilité, qui fait que sa forme élémentaire puisse exister à température ambiante.

- **CV-AAS : Spectrométrie d'absorption atomique à vapeur froide – Cold Vapour Atomic Absorption Spectrometry**

Cette technique est basée sur le même principe que la CV-AFS, toutefois, l'intensité, mesurée à 254 nm, correspond à l'intensité restante après l'absorption de la raie lumineuse envoyée sur l'échantillon. Ainsi, plus la concentration de l'échantillon est importante, plus l'absorption est importante et plus l'intensité restante mesurée est faible.

La détection de mercure par ces deux méthodes suit le même schéma général. En premier lieu, une étape de préconcentration est nécessaire afin de transformer toutes les formes de mercure

présentes dans l'échantillon, notamment le mercure organique (MeHg, DMeHg), en Hg^{2+} . Cette étape est réalisée par ajout d'un oxydant fort tel que l'ion permanganate ou une solution chlorure de brome. Ensuite, les ions Hg^{2+} obtenus sont réduits en mercure élémentaire $\text{Hg}(0)$ en utilisant du chlorure d'étain SnCl_2 ou du borohydrure de sodium NaBH_4 . Le $\text{Hg}(0)$ ainsi obtenu est alors purgé de la solution par l'air ou par un gaz inerte tel que l'argon, puis transporté vers la cellule de détection. Afin d'améliorer la limite de détection de la technique, une deuxième étape de préconcentration peut être intégrée au procédé. Cette étape consiste à préconcentrer le mercure sur un piège d'or pour former un amalgame qui sera chauffé par la suite pour libérer le mercure élémentaire. Enfin, l'intensité lumineuse (émise dans le cas de la CV-AFS, et restante dans le cas de la CV-AAS) est mesurée à une longueur d'onde de 253.7 nm, caractéristique du Hg.

Les systèmes utilisés dans le cas du spectrophotomètre AAS et du spectrophotomètre AFS sont similaires, à l'exception de la source lumineuse qui est positionnée à 90° par rapport à l'échantillon dans le cas de la CV-AFS.

IV.1.2 ICP-MS / ICP-OES

- **ICP-MS : Spectrométrie de masse à plasma à couplage inductif – Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry**

Le principe de cette technique, décrit sur la figure I.6, est basé sur la détection des éléments en fonction de leur rapport masse atomique/charge. L'échantillon est d'abord introduit dans le système sous forme liquide, puis transformé en aérosol liquide à l'aide d'un nébuliseur. Cet aérosol est ensuite injecté au niveau de la chambre de la torche à plasma. Le plasma est généré dans une torche à partir d'un gaz plasmagène : l'hélium, le néon ou l'argon. Ce dernier est le plus souvent utilisé pour des raisons pratiques : c'est un gaz rare monoatomique qui ne se recombine pas avec les espèces chimiques d'une manière stable ; il possède une énergie d'ionisation élevée permettant une ionisation efficace et totale de la majorité des éléments ; il est abondant et moins coûteux que l'hélium. Les températures du plasma obtenu avec ce gaz peuvent alors atteindre des valeurs suffisamment élevées pour vaporiser et dissocier complètement l'échantillon (entre 5000 à 10000 K).

Une fois en contact avec le plasma, les gouttelettes de l'aérosol sont converties en atomes, puis en ions. Par la suite, le plasma, contenant des électrons et des ions, est transféré vers une chambre sous vide, compatible avec le spectromètre de masse. Avant d'orienter les ions vers l'analyseur de masse, un système de lentilles est mis en place pour stopper les photons et les empêcher d'atteindre

le détecteur. Les ions sont ensuite séparés par l'analyseur de masse sous forme de quadripôle, en fonction de leur rapport m/z .

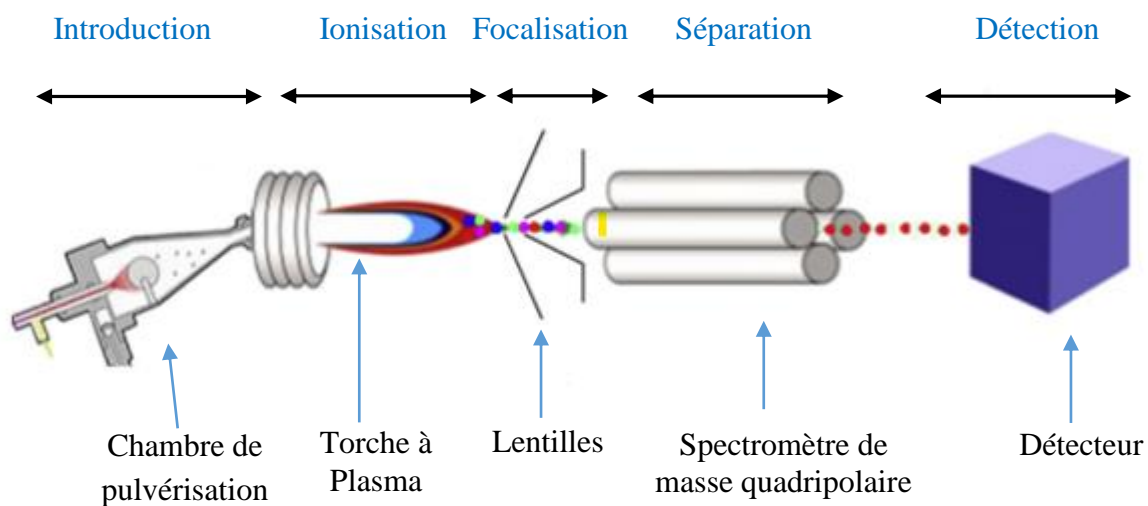


Figure I.6. Schéma du principe de l'ICP-MS⁸⁰.

- **ICP-OES : Spectrométrie d'émission atomique à plasma à couplage inductif – Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry**

Les mesures réalisées par ICP-OES impliquent les mêmes étapes que celles effectuées lors d'une mesure par ICP-MS : introduction de l'échantillon, nébulisation, atomisation et ionisation. La différence entre les deux techniques se situe au niveau de la méthode de séparation. En ICP-OES, les atomes de l'élément à analyser sont excités par l'effet du plasma. Lors de leur retour à leur état stable, des raies à des longueurs d'ondes caractéristiques de chaque élément sont émises.

L'intensité de ces raies est alors mesurée par le détecteur et est utilisée pour identifier et quantifier l'élément en question. La figure I.7 présente le principe et le montage utilisé dans l'ICP-OES.

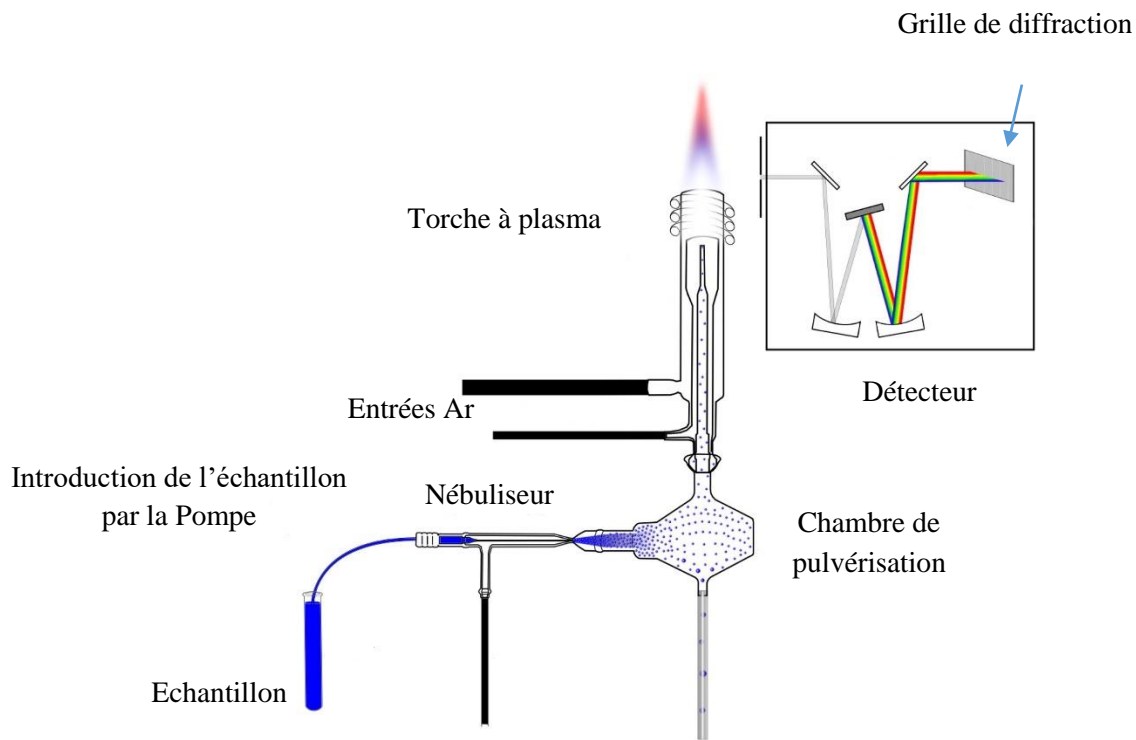


Figure I.7. Schéma description du système utilisé pour l'ICP-OES⁸¹.

Ces techniques peuvent être couplées à d'autres techniques de séparation telles que la chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC) et la chromatographie en phase gazeuse (GC). L'intégration de ces techniques en amont de l'analyse spectrométrique permet la spéciation des différentes formes de l'élément avant leur quantification.

IV.2. Comparaison des techniques

Le tableau I.4 présente les limites de détection des différentes techniques citées. Parmi ces méthodes, l'ICP-MS et la CV-AFS sont les plus souvent utilisées actuellement pour la détection du mercure à l'état de traces dans différentes matrices (liquides et solides). D'une part, l'ICP-MS permet l'ionisation totale de l'échantillon et nécessite un gaz de coût modéré. D'autre part, la CV-AFS implique une instrumentation moins coûteuse à l'achat et à la maintenance. Elle est donc préférable à l'ICP-MS pour les analyses qui visent un seul élément. Par ailleurs, c'est la méthode de référence

recommandée par l'USEPA dans le cadre de la norme EPA 1631 (Mercury in Water by Oxidation, Purge and Trap, and Cold Vapour Atomic Fluorescence Spectrometry) pour la détection de mercure dans l'eau⁸². En ce qui concerne la CV-AAS, cette technique est souvent utilisée pour les analyses de routine ; elle est moins sensible que la CV-AFS et l'ICP-MS.

Enfin, l'ICP-OES est la moins utilisée car elle est plus sujette aux effets d'interférences. En effet, si l'échantillon à analyser contient deux éléments émettant à des longueurs d'ondes proches, les pics se chevauchent et l'exploitation du spectre devient plus compliquée.

Technique de détection	LOD Hg(II) (ng.L⁻¹)	Référence
CV-AFS	0,04	83
CV-AAS	50	13,75
ICP-MS	5	13
ICP-OES	1000 ⁶	/

Tableau I.4. Limites de détection des différentes techniques analytiques.

Pour résumer, l'ICP-MS et la CV-AFS sont considérées comme les méthodes de choix pour l'analyse du mercure à l'état de traces étant donné qu'elles permettent d'atteindre les limites de détection les plus faibles, en ayant des spectres plus facile à exploiter et un résultat plus précis. Toutefois, la CV-AFS présente l'avantage d'être moins coûteuse et la possibilité d'être transportée sur site. Cependant, toutes ces méthodes possèdent plusieurs inconvénients communs :

- Nécessité de prélèvement et de transport de l'échantillon du site vers le laboratoire.
- Etape de préparation, prétraitement et dilution impliquant l'utilisation de plusieurs réactifs. Ces étapes augmentent le risque de contamination des échantillons et compromettent la précision du résultat de l'analyse.
- Destruction systématique et totale de l'échantillon à analyser.

⁶ Perkin Elmer : Atomic Spectroscopy : A Guide to selecting the Appropriate Technique and System https://www.perkinelmer.com/PDFs/Downloads/BRO_WorldLeaderAAICPMSICPMS.pdf

- Instrumentation coûteuse mettant en œuvre des procédures complexes.

Par conséquent, plusieurs travaux ont été réalisés dans le but d'optimiser les performances analytiques de ces techniques.

Dans un souci de miniaturisation de l'équipement, Yuan et al⁸⁴. ont mis au point un système basé sur la détection du mercure par CV-AES (Cold Vapour Generation Atomic Emission Spectrometry). Dans ce système, le plasma est remplacé par un microplasma généré à pression atmosphérique, dans une microcellule aux dimensions suivantes : 1,9 mm × 9 mm × 20 mm, à l'aide d'une alimentation en courant continu pulsé. La préconcentration du mercure est réalisée à l'aide d'un piège à mercure sous forme d'une microcolonne constituée d'un filament d'or enroulé et placé dans un tube en quartz, lui-même chauffé à l'aide d'un fil composé d'un alliage chrome-nickel. Après l'étape de préconcentration et de désorption thermique, le mercure est transféré vers le microplasma, puis la mesure est réalisée par un spectrophotomètre à fibres optiques. Ce système a permis d'obtenir une limite de détection de 0,08 pg.L⁻¹.

D'autres techniques ont été développées afin d'améliorer la spéciation des différents composés du mercure. Jia et al⁸⁵. ont utilisé une méthode de détection basée sur la micro-extraction dispersive liquide-liquide (DLLME). Le MeHg et le Hg²⁺ sont complexés avec le diéthylthiocarbamate (DDTC), utilisé comme agent chélatant, dans du méthanol contenant du tétrachlorométhane (solvant d'extraction). Après réaction du Hg²⁺ et du MeHg avec le DDTC, le mélange réactionnel se présente sous la forme d'une solution trouble. A ce stade, les deux composés mercurés sont extraits dans les gouttelettes de tétrachlorométhane. Après centrifugation du mélange, ces gouttelettes sont récupérées, pour être analysées ensuite par HPLC-ICP-MS. Cette technique a permis d'obtenir des limites de détection de 7,6 pg.L⁻¹ et 1,4 pg.L⁻¹ pour le MeHg et le Hg²⁺, respectivement.

Une autre méthode d'extraction en phase solide a été utilisée pour déterminer les teneurs en THg et MeHg dans l'eau⁸⁶. Le principe de cette méthode consiste en l'adsorption de MeHg et Hg²⁺ sur des nanoparticules magnétiques (MNPs) sous forme de Fe₂O₃@SiO₂@γ-MPTS, obtenues par modification de nanoparticules de Fe₂O₃ avec le γ- mercaptopropyltriméthoxysilane (γ-MPTS), connu pour son affinité avec le mercure. L'adsorption des deux formes de mercure (Hg²⁺ et MeHg) sur les MNPs est suivie du relargage magnétique de l'agent adsorbant à partir de la solution contenant l'échantillon. Ensuite, le thiocarbamide est utilisé pour la désorption du MeHg et du THg, de l'agent adsorbant, qui sera à son tour magnétiquement séparé de la solution. Enfin, le

mélange final ainsi obtenu est analysé par ICP-MS. Les limites de détection rapportées dans cette étude sont de 1,6 ng.L⁻¹ pour MeHg et 1,9 ng.L⁻¹ pour THg.

Plusieurs études se sont également penchées sur le développement de nouvelles techniques pour l'étape de préconcentration, étape clé du processus de détection. La plupart des procédés développés dans ce contexte mettent en œuvre des composés ayant une affinité connue pour le mercure. Ainsi, des nanoparticules d'or et d'argent ont été incorporées à des filtres membranaires. Lorsque la solution contenant l'échantillon à analyser est passée à travers ces filtres, le mercure réduit en Hg(0) avec du NaBH₄ est préconcentré sur les nanoparticules. L'analyse du mercure total est ensuite réalisée par spectrométrie d'absorption atomique, après la désorption thermique du mercure par chauffage des échantillons à des températures allant de 300°C à 700°C⁸⁷.

Jia et al⁸⁸. ont mis en place une méthode d'analyse permettant la spéciation et la quantification de Hg²⁺, MeHg et EtHg par HPLC-ICP-MS. La préconcentration simultanée des 3 éléments a été réalisée par chromatographie à échange d'ions et intégrée au système pour obtenir un dispositif de mesure en ligne, permettant la préconcentration de l'échantillon directement suivie de la mesure par HPLC-ICP-MS. La colonne utilisée contient une résine échangeuse de cations à base d'acide sulfonique et utilise la L-cystéine comme éluant. Cette technique permet d'adsorber et de concentrer le Hg²⁺, MeHg et EtHg par l'effet des interactions électrostatiques, puis de les entraîner vers l'unité de mesure par HPLC-ICP-MS. Les limites de détection obtenues pour Hg²⁺, MeHg et EtHg sont de 0,042 ng.L⁻¹, 0,016 ng.L⁻¹ et 0,008 ng.L⁻¹, respectivement.

Le même principe a été utilisé par Cheng et al⁸⁹. pour l'analyse de Hg²⁺, MeHg et EtHg. Dans cette étude la préconcentration en ligne a été effectuée dans une colonne échangeuse d'anions forts SAX (Strong Anions Exchange Column), et couplée à l'HPLC-ICP-MS. La préconcentration est basée sur la complexation des espèces à analyser avec le 3-mercaptopropanesulfonate de sodium contenu dans la colonne, suivie de leur élution vers l'HPLC-ICP-MS avec le 2-mercaptopropanol. Cette technique a permis d'obtenir des limites de détection de 0,016 ng.L⁻¹, 0,010 ng.L⁻¹, 0,009 ng.L⁻¹ pour le Hg²⁺, MeHg et EtHg, respectivement.

Cette méthode de préconcentration a aussi été employée en couplage avec l'HPLC-CV-AFS pour la détection du MeHg⁸³. La colonne utilisée était constituée de silice modifiée avec des ligands soufrés et la phase mobile utilisée était sous forme d'un mélange de méthanol et d'ammonium pyrrolidine dithiocarbamate (APDC). La limite de détection rapportée pour cette méthode est de 40 pg.L⁻¹.

Les techniques utilisées actuellement pour la détection de mercure à l'état de traces permettent des mesures fiables avec des limites de détection très faibles, adéquates aux concentrations imposées par les normes internationales. Cependant, ces techniques présentent toutes quelques inconvénients majeurs. Elles impliquent une instrumentation coûteuse à l'achat, l'installation et l'entretien (matériel, gaz utilisé) et nécessitent un personnel qualifié. Ceci peut représenter un frein pour le choix d'une technique par rapport à une autre. En plus, l'appareillage est volumineux et non transportable, ce qui limite son utilisation pour les mesures sur site et en temps réel. L'échantillon doit alors être collecté en amont et transporté vers le laboratoire, où il sera stocké en attendant son analyse. Ceci implique l'utilisation d'un matériel supplémentaire, tout au long du processus, de l'échantillonnage jusqu'à l'analyse par spectrométrie. Or, le mercure est connu pour sa grande volatilité. Ainsi, en raison du temps de manipulation relativement long, les échantillons peuvent être contaminés, ce qui peut induire des erreurs de mesure non négligeables. Ceci implique une procédure d'entretien supplémentaire pour tout le matériel utilisé lors de la collecte, du transport et du stockage des prélèvements. Enfin, le résultat obtenu par les différentes techniques est souvent sous forme de spectres, dont l'interprétation peut parfois s'avérer complexe et nécessite un personnel formé.

Par conséquent, le développement d'autres techniques d'analyses permettant de s'affranchir de ces limites pourrait constituer une alternative intéressante pour la détection de mercure à l'état de traces.

IV.3. Méthodes de détection alternatives

Depuis quelques années, le développement de méthodes d'analyse du mercure dans l'eau s'est orienté vers l'élaboration d'outils plus simples et plus faciles à utiliser, moins coûteux et transportables. Ces outils doivent être compatibles avec les mesures *in situ*, et permettre d'effectuer un suivi des niveaux de pollution en temps réel. Le défi consiste alors à établir un compromis entre l'aspect pratique et les performances analytiques adaptées au dosage du mercure à l'état de traces. Pour cela plusieurs types de capteurs ont été étudiés.

IV.3.1. Capteurs Fluorimétriques

Le principe des capteurs fluorimétriques repose sur leur capacité à émettre de la lumière en fluorescence grâce à des molécules qui possèdent un système de conjugaison électronique comme les cycles aromatiques et les conjugaisons π . Ces molécules sont appelées fluorophores et ont la

capacité de se complexer avec le mercure à travers des atomes donneurs (azote ou soufre)⁹⁰. Cette propriété permet la quantification directe du mercure dans l'échantillon à analyser : plus la concentration du mercure augmente, plus sa complexation avec le fluorophore est importante et plus l'intensité du signal émis augmente. Cette technique permet donc d'obtenir une bonne sélectivité, car la lumière émise est propre et caractéristique du complexe fluorophore-mercure. Plusieurs composés ont été utilisés pour élaborer ce type de capteurs et sont cités dans la littérature : nanomatériaux à base de métaux nobles tels que l'or⁹¹, les nanoparticules de conversion ascendante (Upconversion Nanoparticles - UCNPS)⁹², nanoparticules semi-conductrices, matériaux carbonés (graphène⁹³, nanotubes de carbone⁹⁴, points quantiques de carbone^{95,96}). Les teintures organiques sont également utilisées mais sont limitées par leur faible sensibilité^{90,97}. Les capteurs fluorimétriques permettent d'obtenir des limites de détection de l'ordre du nM.

IV.3.2. Capteurs colorimétriques

Les capteurs colorimétriques sont basés sur le changement de couleur observé en présence de l'élément à doser dans la solution⁹⁸. Ce changement de couleur se produit immédiatement après le contact avec l'analyte et est visible à l'œil nu. L'intensité du signal est mesurée avec un spectrophotomètre UV-Visible et est directement liée à la concentration du mercure dans l'échantillon. Cette technique est donc compatible avec les mesures sur site et en temps réel^{65,99,100}. L'utilisation des nanoparticules d'or pour l'élaboration de ce type de capteurs est alors très répandue¹⁰⁰⁻¹⁰³. En solutions colloïdales, elles ont une couleur rose pouvant virer vers le rouge, tandis que lorsqu'elles sont agrégées, la couleur devient plus foncée et vire vers le pourpre voire même le bleu ; c'est cette propriété qui est exploitée pour la mise au point de capteurs colorimétriques^{101,104,105}. Les AuNPs peuvent être conjuguées avec plusieurs types de molécules afin d'améliorer la sensibilité et la sélectivité du capteur (ADN, L-Cystéine, glutathion)⁹⁸. Parmi ces molécules, l'ADN est la plus utilisée, attachée aux AuNPs via une liaison Au-S. La détection du mercure est basée sur la liaison entre la Thymine présente dans l'ADN et le Hg^{2+} , qui conduit à la formation d'un complexe Thymine- Hg^{2+} -Thymine (T- Hg^{2+} -T) rapprochant les AuNPs avec formation d'agrégats, responsables du changement de couleur^{98,101}. Les nanoparticules d'argent sont aussi citées pour l'élaboration de capteurs colorimétriques^{98,106-108}, couplées avec différents types de composés (acide polyacrilique¹⁰⁹, oligonucleotides¹¹⁰, riboflavin¹¹¹).

IV.3.3. Capteurs électrochimiques

Les travaux de recherche consacrés actuellement au développement de capteurs pour la détection de mercure dans l'eau s'orientent vers la transduction électrochimique en tant qu'excellente alternative. L'électrochimie permet en effet de concevoir des capteurs simples à utiliser, moins coûteux et permettant des analyses sur site et en temps réel avec des résultats facilement exploitables. De plus, la fonctionnalisation de surface d'électrode permet de modifier leur structure et de leur attribuer de nouvelles propriétés. D'une part, l'immobilisation de composés ayant une affinité pour l'élément à doser leur permet de doser sélectivement cet élément ; d'autre part, elle permet d'augmenter la surface active et donc améliore la sensibilité du capteur. Parmi les matériaux utilisés pour la détection de mercure, les électrodes en or sont particulièrement répandues, modifiées ou à l'état massif, grâce à l'affinité connue entre l'or et le mercure. Les électrodes en carbone vitreux sont également largement utilisées, modifiées avec une large panoplie de composés.

Dans cette partie, nous allons présenter quelques études portant sur le développement de capteurs électrochimiques par fonctionnalisation de surface, pour la détection de mercure dans l'eau. L'objectif n'est pas de présenter une liste exhaustive et détaillée de ces études, mais de donner une idée globale sur les orientations de la recherche dans ce domaine. En premier lieu, nous allons présenter quelques travaux ayant opté pour les fonctionnalisations sans AuNPs. Une deuxième partie sera ensuite consacrée aux travaux ayant utilisé les AuNPs seules, ou associées à d'autres composés, afin de donner une brève description des avancées sur l'utilisation des AuNPs pour la détection de Hg^{2+} .

- **Capteurs électrochimiques conçus sans nanoparticules d'or**

Dans la littérature, plusieurs processus de fonctionnalisation sont cités pour la modification de surface. Ces processus impliquent un large panel d'objets et de molécules dont le point commun est leur affinité avec le mercure : matériaux nano structurés, matériaux carbonés tels que les nanofibres de carbone et les nanotubes de carbone, polymères conducteurs ou encore du matériel biologique. Par ailleurs, en plus des électrodes de carbone largement répandues, d'autres types d'électrodes sont aussi employées : électrodes en or massif, acier, et électrode à pâte de carbone. Dans cette partie, nous avons choisi de nous focaliser sur quelques exemples d'études récentes ayant utilisé différents protocoles de fonctionnalisation impliquant les divers types de composés et ayant montré des performances analytiques intéressantes, notamment des limites de détections

convenables pour le dosage de traces de Hg^{2+} , en respect aux valeurs émises par la législation internationale.

Kempegowda *et al*¹¹². ont mis au point une méthode de modification d'une électrode de carbone vitreux par des sphères de carbone vitreux attachées à du benzamide, obtenues par broyage (ball milling). La modification de la surface de l'électrode se fait alors par simple dépôt d'une suspension colloïdale aqueuse contenant les sphères de carbone modifiées. L'interaction entre l'interface ainsi obtenue et le mercure se fait via la fonction amide, qui agit comme groupement donneur. La détection de Hg^{2+} a été réalisée par voltammétrie à redissolution anodique à impulsions différentielle (Differential Pulse Anodic Stripping Voltammetry – DPASV) et a permis d'atteindre une limite de détection de 1 nM.

Dans une autre étude, l'acide thioglycolique (TGA) a été utilisé, combiné avec des hydroxydes doubles lamellaires (Layered Double Hydroxide LDHs)¹¹³. Ces derniers sont considérés comme une classe d'argiles anioniques, dont la formule générale est $[\text{M}^{\text{II}}_{1-x}\text{M}^{\text{III}}_x(\text{OH})_2]^{x+}[\text{A}^{n-}_{x/n} \cdot m\text{H}_2\text{O}]^x$ et possèdent la structure représentée dans la figure I.8. M^{II} et M^{III} représentent des cations métalliques et A est un ion échangeable se trouvant dans l'interface entre 2 feuillets.

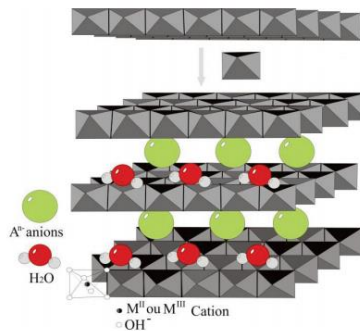


Figure I.8. Structure d'une phase LDH¹¹⁴.

La modification de l'électrode se fait en deux étapes : l'intercalation de l'acide thioglycolique dans les HDLs par échange d'anions pour l'obtention des structures représentées par la figure I.9, qui seront déposées par la suite à la surface de l'électrode de carbone.

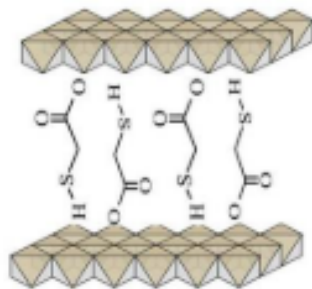


Figure I.9. Intercalation de l'acide thioglycolique (TGA) dans une structure d'HDL¹¹³.

La détection de Hg^{2+} est réalisée par redissolution anodique à vague carrée, au cours de laquelle la préconcentration du mercure est favorisée l'affinité entre Hg^{2+} et les groupements thiols présents à la surface de l'électrode. La limite de détection atteinte par cette interface est de 0,8 nM, après une préconcentration de 400 s.

Liao *et al*¹¹⁵. ont rapporté une autre approche pour la modification d'une électrode de carbone vitreux à partir de 3 composés : le bis-indolylméthane (BIM) comme agent complexant pour son affinité avec Hg^{2+} , des nanofibres de carbone mésoporeux (MCNF) pour leurs propriétés électrocatalytiques et leur stabilité, et enfin un film de nafion pour améliorer la stabilité de l'électrode modifiée. La détection a aussi été réalisée par DPASV et a montré une limite de détection de 0,3 nM et une gamme de linéarité allant de 5 à 500 nM.

Shah *et al*¹¹⁶. ont également rapporté une limite de détection proche (0,1 nM) après modification d'une électrode de carbone vitreux avec du PPE (1-phényle-N-(pyridine-2-ylméthyl)éthanamine), utilisé pour préconcentrer le mercure. La fonctionnalisation est réalisée par dépôt sous vide d'une couche de PPE à la surface de l'électrode. L'interface ainsi obtenue a permis le dosage sélectif des ions Hg^{2+} et Cd^{2+} par spectroscopie d'impédance électrochimique et par redissolution anodique à vague carrée. Cette dernière technique a permis d'obtenir une limite de détection de 0,1 nM pour un temps de préconcentration de 60s.

La modification des électrodes par le graphène est aussi très répandue en raison de ses propriétés électrocatalytiques. Xing *et al*¹¹⁷. ont développé un capteur pour la détection de Hg^{2+} et de Pb^{2+} par modification d'une électrode de carbone vitreux avec de l'oxyde de graphène réduit (Reduced graphene oxide – RGO) fonctionnalisé avec de l'imidazole. L'interface obtenue, représentée sur la figure I.10, a été testée pour le dosage de Hg^{2+} par DPASV et a permis d'obtenir une limite de détection de 0,2 nM.

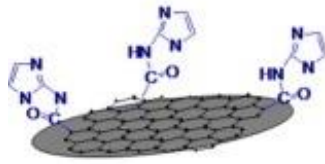


Figure I.10. Structure de l'interface fonctionnalisée par l'oxyde de graphène modifié avec l'imidazole¹¹⁷.

L'utilisation de matériel biologique permet également d'obtenir une interface avec de meilleures performances analytiques, et des limites de détection nettement plus faibles que celle obtenues par les autres processus de modification dont ceux cités précédemment. Par exemple, Peng *et al*¹¹⁸. ont utilisé l'oxyde de graphène réduit 3D (3D-RGO) pour la fabrication de nano composites fonctionnalisés avec la propargylamine et de l'ADN, pour la détection de Hg^{2+} . La conception du capteur se déroule en 2 étapes : en premier lieu, le fil de propargylamine est déposé à la surface de 3D-RGO par polymérisation plasma. Ensuite, les molécule d'ADN sont immobilisées à la surface obtenue 3D-RGO@PdPG, par l'effet des interactions électrostatiques entre les groupements amines présents à la surface et les brins d'ADN. La détection du mercure se fait alors via la formation du complexe entre l'ADN et le Hg^{2+} [$\text{T-Hg}^{2+-\text{T}}$] et en utilisant la voltammétrie impulsionnelle différentielle (DPV). Les étapes de fonctionnalisation de la surface et le mode de détection sont décrits dans la figure I.11. La limite de détection obtenue avec ce capteur est de 0,02 nM, avec un domaine de linéarité de 0,1 à 200 nM.

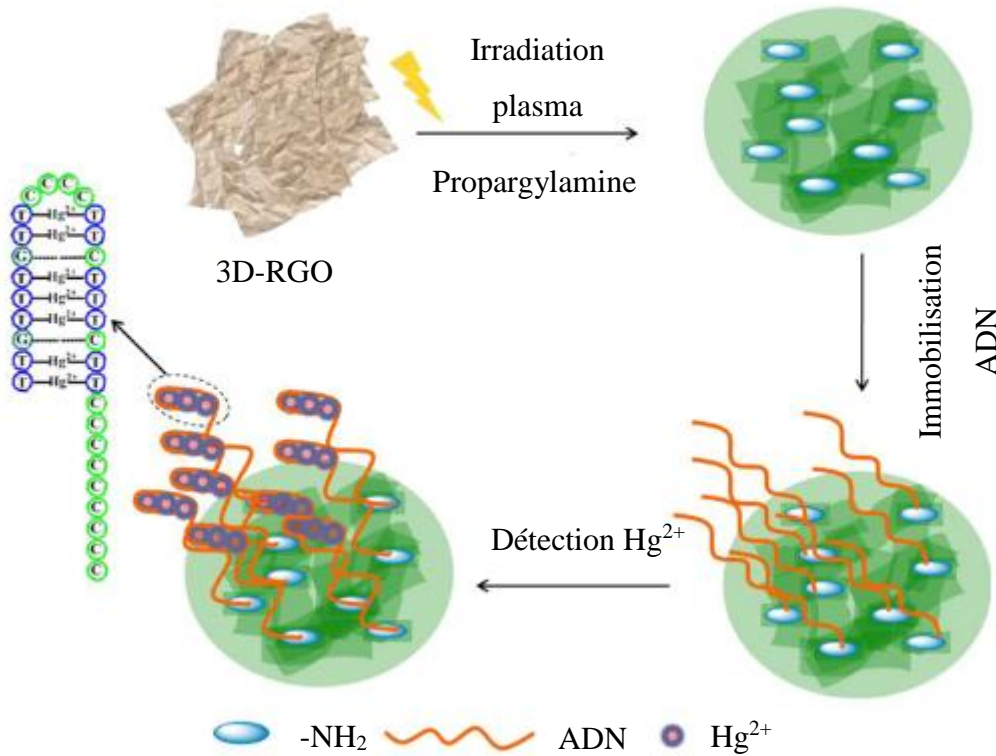


Figure I.11. Stratégie de fonctionnalisation de surface et de détection du Hg^{2+} .¹¹⁸

La modification avec l'ADN a aussi été utilisée par Wu *et al*¹¹⁹. pour la modification d'une électrode en or massif en vue de l'élaboration d'un capteur basé sur le changement de structure des brins d'ADN en présence du Hg^{2+} . Comme le montre la figure I.12, le capteur est constitué de deux brins d'ADN S1 et S2, immobilisés sur une électrode en or massif. Le greffage de ces brins se fait en deux temps. En premier lieu, l'électrode est mise en contact avec S1, pour former une monocouche auto-assemblée (Self-Assembly Monolayer – SAM) d'oligonucléotides attachés à la surface de l'électrode à travers une fonction thiol. En deuxième lieu, la surface obtenue est plongée dans une solution tampon contenant S2 conjugué avec du ferrocène pour hybrider le brin S2 avec le brin S1. En présence de Hg^{2+} , le complexe $[T-Hg^{2+}-T]$ est formé, et induit un changement de structure du brin S1, qui prend la forme d'épingle. Ce changement est accompagné du relargage du brin S2, responsable d'une diminution de l'intensité des pics attribués au système redox associé au ferrocène. La réponse électrochimique de ce système à l'égard de plusieurs concentrations de Hg^{2+} a atteint une limite de détection de 60 pM.

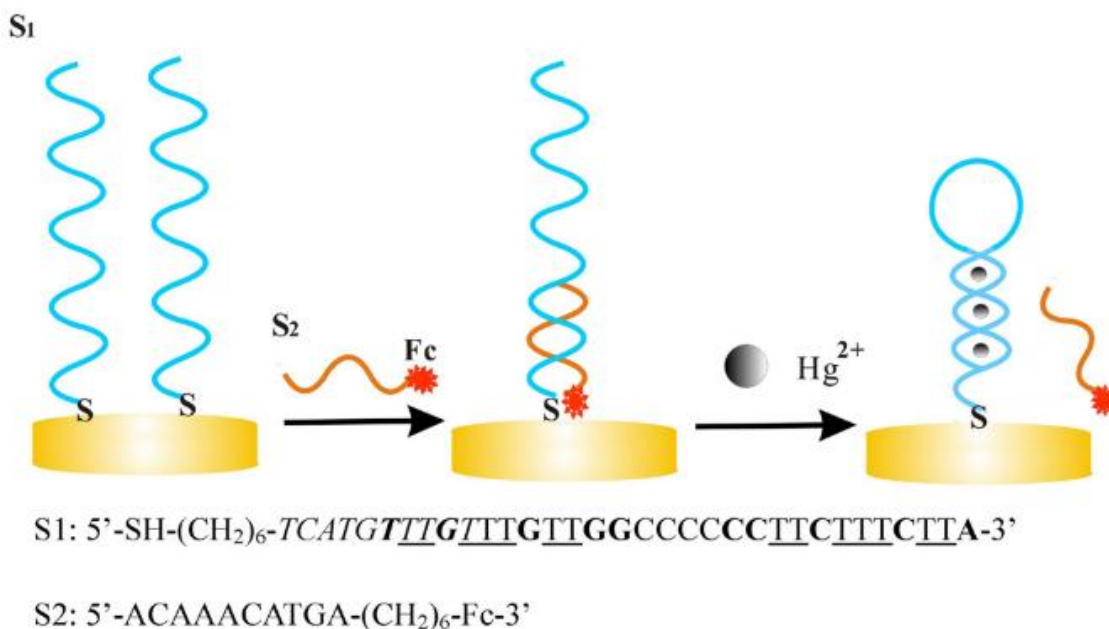


Figure I.12. Structure d'une interface fonctionnalisée avec deux brins d'ADN et principe de détection du Hg²⁺ basé sur le changement de structure du brin S1¹¹⁹.

L'usage des électrodes en or massif modifiées avec d'autres types de composés est également possible. Zhang *et al.*¹²⁰ ont rapporté la fonctionnalisation d'une électrode en or en utilisant le graphène. Le protocole consiste en le greffage *in situ* d'un sel de diazonium à partir du 4-phénylènediamine, suivi de l'attachement de l'oxyde de graphène à la surface obtenue à travers une liaison covalente C-C, par électrolyse à potentiel constant. La surface finale obtenue Au-Ph-GO est testée pour la détection simultanée de Pb²⁺, Cu²⁺ et Hg²⁺. D'après les auteurs, la complexation entre les métaux et la surface se fait à travers les atomes d'oxygène. Les limites de détections respectives sont de 1 nM, 10 nM et 5 nM.

Une autre étude récente a porté sur la fonctionnalisation d'une électrode d'or sous forme de microfils d'or nanoporeux, par des nanoparticules de FeOOH déposées par électrolyse à potentiel constant, à partir du sulfate d'ammonium et de fer(II) ((NH₄)₂Fe(SO₄)₂·6H₂O). Les microfils d'or nanoporeux se présentent comme une structure sous forme de réseau 3D avec une grande surface active, tandis que les nanoparticules de FeOOH possèdent une capacité d'adsorption pouvant améliorer l'accumulation du mercure à la surface. La détection est alors réalisée par voltammétrie à vague carrée (SWV) et est basée sur l'adsorption des ions Hg²⁺ à la surface des nanoparticules de FeOOH, puis leur diffusion vers la surface du microfil d'or où ils sont préconcentrés sous forme de Hg(0). La limite de détection atteinte est de 7,81 nM¹²¹.

En plus des électrodes en carbone et en or, d'autres types d'électrodes ont aussi été employés afin d'obtenir des interfaces sensibles et sélectives envers le mercure, telles que les électrodes en acier inoxydable. Deshmukh *et al*¹²². ont mis au point un système pour l'analyse de Hg^{2+} , Pb^{2+} et Cu^{2+} à partir d'une électrode en acier inoxydable fonctionnalisée avec des nanotubes de carbone mono feuillet SWCNTs (Single Walled Carbon Nanotubes) modifiés avec un polymère conducteur : la polyaniline (PANI). Après électrodépôt de la structure PANI/SWCNTs à la surface de l'électrode, l'acide éthylènediaminetétraacétique (EDTA) utilisé comme agent chélatant pour les éléments à doser est déposé par dip coating sur la surface finale. La détection des métaux se fait ensuite par DPV et la limite de détection obtenue pour Hg^{2+} est de 0,68 μM .

La fonctionnalisation d'une électrode à pâte de carbone est aussi rapportée par Moutcine *et al*¹²³. La modification est réalisée *situ* par simple immersion dans une solution contenant l'EDTA. Ici, la voltammétrie à vague carrée (SWV) a été utilisée et la limite de détection est de 16,6 nM.

La modification de surface par les différentes classes de composés permet d'obtenir des capteurs sensibles, capables de doser le Hg^{2+} à des concentrations très faibles, pouvant aller jusqu'à 0,02 nM¹¹⁸. Toutefois, l'utilisation des AuNPs constitue aussi une voie très intéressante étant donné l'affinité connue entre l'or et le mercure. Cette voie sera explorée dans la partie qui suit.

- **Capteurs électrochimiques basés sur des AuNPs :**

L'utilisation des AuNPs pour la conception de capteurs électrochimiques pour la détection du mercure constitue une solution de choix pour obtenir des interfaces sensibles avec une bonne sélectivité, grâce à l'affinité entre l'or et le mercure. Ceci dit, les études portant sur ce type de capteurs ne sont pas aussi nombreuses. Les méthodes de fonctionnalisation souvent rapportées sont le dépôt physico-chimique et l'électrodépôt. Le but de cette partie est de donner une vue d'ensemble sur les travaux réalisés dans ce contexte, et les performances analytiques des capteurs développés. Il ne s'agit pas d'exposer toutes les études citées dans la bibliographie, mais de présenter les résultats de quelques travaux récents et des travaux ayant montré des résultats particulièrement intéressants.

Parmi les travaux ayant montré de très bonnes performances, figurent les études menées par Abollino *et al.*¹²⁴ qui ont opté pour l'électrodépôt des AuNPs comme méthode de fonctionnalisation de surface. Les AuNPs sont alors directement électrodéposées sur une électrode de carbone vitreux à partir d'une solution contenant un précurseur d'or ($\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$). Le dosage

du mercure par ce capteur est réalisé par voltammétrie à redissolution anodique (ASV), avec un temps de préconcentration de 120 s. L'électrode ainsi obtenue a montré une bonne répétabilité, avec 3 domaines de linéarité différents : 0,01 – 0,5 $\mu\text{g.l}^{-1}$, 1 – 5 $\mu\text{g.l}^{-1}$ et 5 – 50 $\mu\text{g.l}^{-1}$, et une limite de détection de 0,74 nM. Ce capteur a permis l'analyse d'échantillons naturels et a donné des résultats en accord avec ceux obtenus par les méthodes de référence.

Une autre approche a été rapportée par Gao et al pour la détection simultanée de Hg^{2+} , Pb^{2+} et Cu^{2+} . Une électrode en or massif est modifiée par électrodépôt de nanoparticules d'or à partir de HAuCl_4 , puis immergée dans une solution d'acide perchlorique contenant du 2-mercaptoéthanesulfonate (MES). L'interface finale contient alors un film nanoporeux de MES auto assemblé sur les AuNPs. Cette structure permet d'empêcher la pénétration de contaminants tels que les protéines ou les surfactants dans le film, tout en laissant passer les ions métalliques ciblés. La limite de détection obtenue pour Hg^{2+} avec cette interface est de 0,7 nM, comparable avec celle obtenue par Abollino *et al*¹²⁴. L'analyse d'un échantillon naturel a également donné un résultat comparable à celui obtenu par Spectrométrie d'absorption atomique SAA¹²⁵.

Gong *et al*¹²⁶. ont développé une interface en combinant les AuNPs a des nanofibres composées de platine et de 3,3',5,5'-tétraméthylbenzidine (TMB). Les nanofibres sont formées par synthèse chimique à partir d'un mélange (TMB + H_2PtCl_6) puis déposées à la surface d'une électrode en carbone vitreux. Les AuNPs sont par la suite électrodéposées sur CV-NFs par voltammétrie cyclique, et donnent lieu à une interface finale CV-NFs-AuPtNPs, qui se caractérise par une structure en réseau 3D poreux, avec grande surface active et une activité catalytique élevée, permettant de doser sélectivement les ions Hg^{2+} . La limite de détection atteinte avec ce capteur est de 0,03 nM.

N. Bui *et al.*¹²⁷ ont développé un capteur pour la détection simultanée de mercure et d'ions nitrates dans des eaux naturelle, susceptibles de contenir des déchets agricoles. Des nanoparticules d'or synthétisées par la méthode de Turkevich, et des particules sélénium (SePs) sont déposées par drop casting sur une électrode de carbone préalablement fonctionnalisée avec du mercaptopolyéthylène glycol (PEG-SH). Cette méthode combine la forte adsorption des SePs et les propriétés des AuNPs permettant d'améliorer l'accumulation du mercure sur l'électrode, qui se déroule à la surface des AuNPs. La détection est réalisée par voltammétrie à redissolution anodique et a montré une limite de détection de 8,6 μM pour le Hg^{2+} .

L'ADN a aussi été associé aux nanoparticules d'or pour la conception de capteurs électrochimiques pour la détection de Hg^{2+} . Li *et al.*¹²⁸ ont ainsi mis au point une stratégie de

modification d'une électrode de carbone vitreux en utilisant l'ADN, le graphène et des nanoparticules cœur-coquille Ag@Au. Brièvement, un film de graphène – nafion synthétisé au préalable, est déposé à la surface de l'électrode afin d'augmenter sa surface active. Ensuite, les AuNPs sont électrodéposées à la surface modifiée. Une première sonde oligonucléotide thiolée CP (Capture Probe) est alors immobilisée sur ces dernières. En parallèle, une deuxième sonde oligonucléotide thiolée DP (Detection probe) est attachée à des AuNPs synthétisées par voie chimique. Lors de la détection, l'électrode modifiée est immergée dans la suspension d'AuNPs-DP contenant du Hg^{2+} puis dans une solution contenant une troisième sonde H1 et H2 liées à du ferrocène. En présence de Hg^{2+} , le complexe $[\text{T}-\text{Hg}^{2+}-\text{T}]$ se forme, conduisant à un double brin d'ADN dépareillé entre DP et H1. Les nanoparticules cœur coquille Au@Ag sont alors déposées à la surface par drop casting, afin d'amplifier le signal électrochimique et la détection électrochimique est effectuée par DPV. La limite de détection obtenue avec ce capteur est de 3,6 pM, très prometteuse pour l'analyse d'échantillons naturels.

En plus de ces études, plusieurs autres travaux ont été menés pour le développement de systèmes de détection électrochimique de Hg^{2+} en utilisant différents types de matériaux pour la modification des électrodes. Ces travaux ont également permis d'obtenir des interfaces sensibles, et adéquates pour la détection de traces de mercure. Une partie de ces études est résumée dans le tableau I.5.

Nature de la surface fonctionnalisée	Technique de détection de Hg ²⁺	Domaine de linéarité (nM)	LOD (nM)
CV/PEDOT/AuNPs ¹²⁹	DPASV	2,4 – 54,8	4,13
CV/CNT/AuNPs ¹³⁰	DPASV	0,5 – 1250	0,3
CV/SWCNTs/AuNPs/PMBT ¹³¹	DPASV	0,4 - 96	0,08
CV/GO-IL/AuNPs ¹³²	DPASV	0,1 - 100	0,03
CV/Nafion/AuNPs ¹³³	LSV / CA	0 – 2,5 ⁷	19
CILE/AuNPs/Cys ¹³⁴	SWASV	2 - 20000	2,3
ITO/AuNPs ^{135, 8}	LA-ASV	0 – 100	1
SPE/AuNPs ¹³⁶	SWASV	5 – 500	5

Tableau I.5. Résultats de détection de Hg²⁺ sur plusieurs types d'interfaces fonctionnalisées citées dans la littérature.

L'équipe « Capteurs Electrochimiques et Procédés » du Laboratoire de Génie Chimique travaille depuis 2009 sur l'élaboration de capteurs électrochimiques pour la détection de traces de mercure dans l'eau. L'approche utilisée consiste à électrodéposer des nanoparticules d'or à la surface d'une électrode de carbone vitreux. Les premiers résultats obtenus ont été publiés en 2012. L'électrodépôt des AuNPs a été réalisé par voltammétrie cyclique et par électrolyse à potentiel constant. Les meilleurs résultats ont été obtenus pour un électrodépôt fait par voltammétrie cyclique, après 4 balayages. La détection de Hg²⁺ était faite par redissolution anodique à vague carrée et la limite de détection atteinte était de 0,42 nM, pour un temps de préconcentration de 300s¹³⁷. Ensuite, une étude d'optimisation de la méthode de détection a été menée, au cours de laquelle une étape de désorption des ions Cl⁻ a été intégrée à la procédure électrochimique utilisée. Cette modification a permis d'abaisser la limite de détection jusqu'à 80 pM et d'obtenir un domaine de linéarité de 0,80 à 9,9 nM¹³⁸, en utilisant la même durée de préconcentration. Cette électrode a été utilisée pour analyser un échantillon d'eau naturelle

⁷ La concentration donnée ici est en μM

⁸ Les concentrations données ici sont en μM.

PEDOT : poly(3,4-éthylènedioxythiophène)

CNT : Nanotubes de carbone

PBMT : 2-mercaptobenzothiazole

GO-IL : film mixte oxyde de graphène-liquide ionique

CILE : Carbon ionic liquid electrode

ITO : Oxyde d'indium étain

SPE : Electrode sérigraphiée (Screen Printed Electrode)

provenant d'une source sous-marine en France (Font Estramar), et a donné une concentration de 19 pM, conforme avec la concentration obtenue par CV-AFS pour le même échantillon.

Ensuite, une autre approche a été utilisée afin d'améliorer les performances analytiques du capteur : la modification de l'électrode par dépôt physico chimique des AuNPs en utilisant la technique du drop casting. Cette méthode a montré que les AuNPs synthétisées chimiquement ont des propriétés différentes de celles électrodéposées, notamment au niveau de la détection de Hg^{2+} . En effet, cette interface a permis d'abaisser la limite de détection. Ainsi, une concentration de 1 pM a pu être mesurée après une préconcentration de 300s, avec un domaine de linéarité allant de 2 à 12 pM.

V. Problématique

Les capteurs développés au cours des travaux réalisés précédemment ont montré une bonne sensibilité et ont permis le dosage sélectif du mercure dans un échantillon naturel. En revanche, la stabilité des AuNPs à la surface de l'électrode est très limitée, car les dépôts évoluent sur une durée de quelques jours. Ceci réduit considérablement leur durée de vie. Or, la durée de vie est un paramètre primordial à prendre en considération étant donné que le capteur est destiné à être utilisé en milieu naturel, pour effectuer un suivi *in situ* et continu des taux de mercure dans l'eau. Le déploiement de ce type de dispositif dans les zones d'intérêt se fait généralement sur des durées prolongées (de quelques jours à quelques semaines). Le capteur doit alors être capable de fournir des mesures ponctuelles. Dans ce contexte, l'objectif de ces travaux est d'augmenter la durée de vie des capteur en mettant en place une approche pour améliorer la stabilité des AuNPs à la surface de l'électrode. La stratégie envisagée consiste à greffer une couche organique intermédiaire à la surface de l'électrode, sur laquelle les AuNPs sont déposées. Cette couche a pour rôle de lier ces AuNPs à la surface du capteur via une liaison stable et forte. Pour ce faire, les sels de diazonium ont été sélectionnés pour la modification de la surface de l'électrode. Ces composés sont capables de former des liaisons covalentes et stables avec les substrats carbonés. De plus, il est possible d'utiliser des sels de diazonium portant un groupement fonctionnel R ayant une affinité avec l'or, qui permet d'améliorer la stabilité des AuNPs à la surface. Toutefois, les couches organiques greffées à partir de ces sels sont connues pour être isolantes. Une première étude a donc été réalisée dans ce sens, au cours de laquelle le greffage des couches organiques a été fait par électrolyse à potentiel constant en utilisant un sel de diazonium portant un groupement SH, suivi du dépôt physico chimique des AuNPs, préalablement synthétisées, par drop-casting. Ces AuNPs ont été préparées en utilisant le citrate de sodium comme agent réducteur et présentent une taille moyenne de 15 à 20 nm.

Les interfaces développées ont permis d'obtenir un domaine de linéarité de 1 à 10 nM, avec une durée de préconcentration réduite de 300 à 30s¹³⁹. En revanche, aucune amélioration de la stabilité n'a été constatée. De plus, les dépôts étaient difficilement reproductibles. Nous nous sommes donc réorientés vers l'électrodépôt comme méthode de modification de surface.

Dans ces travaux, la conception du capteur est donc envisagée par électrodépôt des AuNPs à la surface de l'électrode de carbone vitreux, préalablement modifiée avec une couche organique obtenue par le greffage des sels de diazonium. L'interface finale obtenue aurait la structure représentée par la figure I.14.

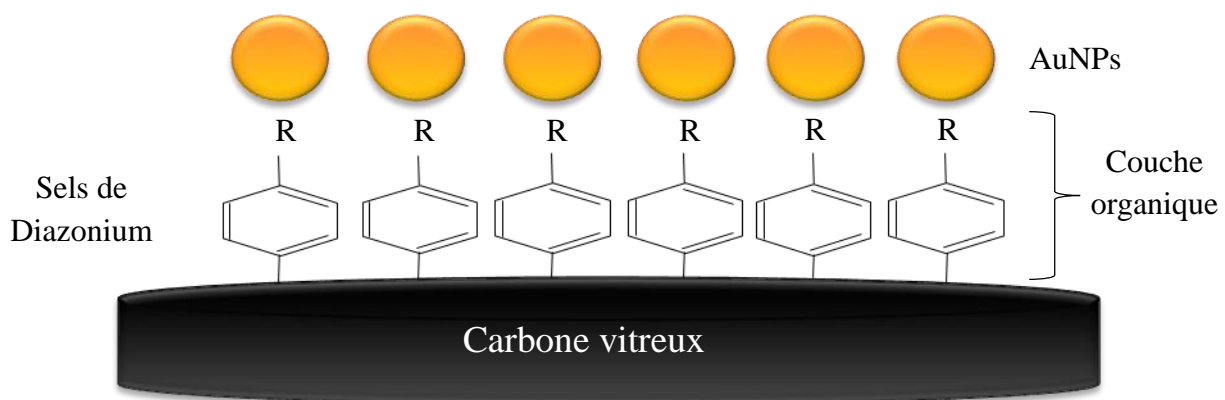


Figure I.13. Structure de l'électrode modifiée avec des couches organiques et des AuNPs

Ces travaux sont réalisés en collaboration avec l'Université de Brême, et financés par l'ANR dans le cadre du projet « MERESSENS ». Au niveau de l'Université de Brême, des échantillons d'eaux naturelles collectés à différentes sources de prélèvement, et analysés par CV-AFS, seront utilisés pour évaluer les performances des capteurs développés.

Chapitre II

Modification de surface pour
la détection de Hg(II)

I. Introduction

Ce chapitre est consacré à la mise au point d'un capteur pour la détection de traces de mercure dans l'eau. Pour ce faire, une interface mixte couche organique – nanoparticules d'or est élaborée par modification d'une électrode de carbone vitreux, suivant une procédure à deux étapes : dans un premier temps, une couche organique est greffée à la surface de l'électrode par réduction électrochimique de deux types de sels de diazonium. Cette couche sera caractérisée par microscopie à force atomique. Dans un second temps, l'électrodépôt de nanoparticules d'or sera réalisé à la surface de l'électrode modifiée. La surface finale sera caractérisée par microscopie électronique à balayage (MEB-FEG) afin d'étudier l'influence de la couche organique sur la morphologie des AuNPs. Dans ce travail, la couche organique est utilisée afin d'améliorer la stabilité des AuNPs. Le suivi de la fonctionnalisation est effectué au fur et à mesure du processus, en utilisant deux sondes électrochimiques : $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$, $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{2+/3+}$. Enfin, les interfaces finales sont soumises à une étape d'activation électrochimique, avant toute utilisation pour la détection de mercure.

II. Réactifs et appareillage

II.1 Produits chimiques

Toutes les solutions mentionnées dans ce chapitre ont été préparées avec de l'eau ultra pure (Milli-Q, Millipore, 18.2 M Ω cm). L'acide tétrachloraurique HAuCl_4 (99.99%), l'aniline 4-aminothiophénol $\text{NH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{SH}$ (97%), le sel de diazonium 4-nitrobenzène diazonium tétrafluoroborate $\text{C}_6\text{H}_4\text{N}_3\text{O}_2\text{BF}_4$ (97%) ainsi que le nitrite de Sodium NaNO_2 (99.5%) sont fournis par Sigma Aldrich. L'acide chlorhydrique (37% w/w) et le nitrate de sodium NaNO_3 sont fournis par Fisher Scientific. L'acide sulfurique (95% w/w) est fourni par VWR. L'hexacyanoferrate(III) de potassium $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ est fourni par Acros Organics. Le trichlorure d'hexaamineruthénium $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6\text{Cl}_3$ est fourni par Alfa Aesar. Les suspensions diamantées utilisées pour le polissage ainsi que les tapis de polissage proviennent de Presi.

II.2 Appareillage

Toutes les expériences électrochimiques mentionnées dans ce chapitre ont été conduites avec un montage à trois électrodes. Un embout en carbone vitreux de 3 mm de diamètre est utilisé comme

électrode de travail. Tous les potentiels sont donnés par rapport à une électrode de référence au calomel saturée (ECS) séparée de la solution par une allonge en verre avec un embout en verre fritté contenant une solution d'électrolyte support. L'électrode auxiliaire est une tige de carbone vitreux ou une électrode en platine. Une cellule électrochimique à double paroi, reliée à un bain thermostaté est utilisée afin de maintenir constante la température de la solution électrolytique. L'ensemble est relié à un potentiostat PGSTAT 128N (Metrohm Autolab) piloté par un ordinateur équipé du logiciel NOVA 2.2. Avant toute mesure, la solution électrolytique est désaérée par barbotage d'azote pendant 10 minutes.

II.3 Préparation de la surface de l'électrode

Avant toute utilisation, les embouts et les plaques de carbone vitreux doivent être polies puis rincées car la reproductibilité de la fonctionnalisation dépend fortement de l'état de la surface. Le polissage mécanique sert donc à nettoyer et à renouveler complètement la surface afin d'obtenir une surface moins rugueuse, homogène, plane et lisse avec un effet miroir.

La première étape consiste à poncer les électrodes avec du papier abrasif de carbure de silicium (SiC) pour enlever les couches organiques déjà greffées à la surface lors des fonctionnalisations précédentes. Ensuite, 4 étapes de polissage successives sont effectuées à l'aide de suspensions diamantées de granulométrie décroissante : 9 μ m, 3 μ m, 1 μ m et 0,25 μ m sur les tapis correspondants. Chaque étape du polissage est réalisée pendant 1 minute, avec une vitesse de rotation du plateau de polissage de 200 rotations par minute, et est suivie d'un rinçage à l'eau ultra pure. Enfin, les électrodes sont rincées 2 fois à l'éthanol, dans un bain à ultrasons pendant 10 minutes afin d'enlever toutes les impuretés et les résidus. Toutefois, le polissage étant réalisé manuellement, la surface finale obtenue est susceptible de présenter une rugosité légèrement différente d'une électrode à une autre, malgré l'utilisation systématique du même protocole.

Tout le matériel utilisé est recensé dans le tableau II.1.

Appareil	Photo	Fournisseur
Polisseuse mécanique avec tapis de polissage		Mecatech 234 (Presi)
Potentiostat piloté par NOVA 2.1		μAutolab Metrohm
Thermostat		Isotemp Circulator Fisher scientific
Cellule électrochimique à double paroi		Metrohm
Corps d'électrode de travail tournante		Radiometer
Electrode de travail : embout de carbone vitreux		Metrohm D = 3mm Support : TEFLON
Electrode de référence + embout en verre fritté		Metrohm
Electrode auxiliaire : tige de carbone vitreux électrode en platine		Metrohm
Electrode de travail : plaque de carbone vitreux utilisée pour la microscopie		Metrohm

Tableau II.1. Liste de l'appareillage utilisé

III. Modification de surfaces par les sels de diazonium

III.1 Généralités sur les sels de diazonium

Les sels de diazonium ont été découverts en 1858 par le chimiste allemand Johann Peter Griess¹⁴⁰. Ce sont des composés organiques portant un groupement N_2^+ , et dont la nature alkyle ou aryle influence la stabilité du sel : les alkyles diazoniums sont majoritairement instables et de ce fait rarement utilisés, tandis que les aryles diazonium sont beaucoup plus stables grâce à la conjugaison entre le cycle aromatique et le groupement diazoté. Ils sont donc les plus utilisés. Ces composés se présentent sous la forme d'un cycle aromatique phényl portant un groupement R (figure II.1). La nature de ce groupement peut être modulée en fonction de l'utilisation désirée du diazonium.

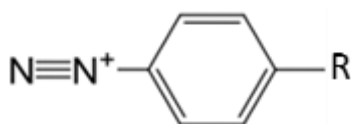
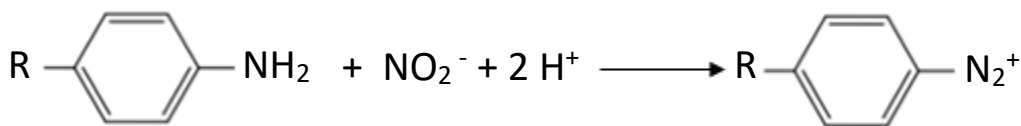


Figure II.1. Structure d'un sel de diazonium avec un cycle aromatique portant un groupement R.

Outre ceux disponibles dans le commerce tels que le nitrobenzène diazonium, le formylbenzène diazonium, le méthoxybenzène diazonium et le bromobenzène diazonium, plusieurs sels de diazonium peuvent également être synthétisés de différentes manières. La méthode la plus utilisée est une variante de la réaction de Sandmeyer (réaction 1). Elle consiste en la diazotation directe de l'aniline correspondante en présence d'un composé nitrite, éventuellement en présence d'un électrolyte support : on parle dans ce cas de la méthode de génération *in situ*. Cette réaction peut être conduite en milieu aqueux à pH acide ($pH < 3$) et en utilisant le nitrite de sodium ($NaNO_2$). Elle est généralement réalisée à basse température, afin de mieux contrôler la cinétique.



Réaction 1. Réaction de synthèse de sel de diazonium

Cette synthèse est également possible en milieu organique (acétonitrile) pour les amines insolubles en milieux aqueux, en remplaçant le nitrite de sodium par des alkylnitrites^{141,142}. Dans ce

dernier cas, la réaction est très rapide, et atteint un rendement maximal en moins d'une minute. Cependant, une réaction parasite entre l'amine et le diazonium peut avoir lieu pour former du triazène¹⁴¹. Ainsi, le rendement réel de la synthèse ne peut généralement pas atteindre 100%. Ceci induit des incertitudes non négligeables sur les concentrations finales de diazonium, calculées sur la base d'un rendement théorique de 100%. Afin d'y remédier, la synthèse peut être réalisée avec un excès de nitrite. Cette réaction parasite ne peut pas avoir lieu en milieu aqueux acide car l'amine est protonée. Connus pour leur caractère instable, voire explosif, à température ambiante, la purification et l'isolement de sels purs est très contraignante car elle implique plusieurs précautions et des mesures de sécurités particulières. D'autre part, il a été démontré que les propriétés des couches organiques formées à partir de sels de diazonium générés *in situ* sont très similaires à celles des couches obtenues par des sels pré-synthétisés et isolés¹⁴³. Il est donc préférable de travailler directement avec des sels synthétisés *in situ* immédiatement avant leur utilisation.

Plusieurs techniques sont employées pour la modification de surface par les sels de diazonium: réduction électrochimique, greffage induit par rayonnements UV^{144,145}, micro-ondes^{146,147}, ultrasons^{148,149}, traitement thermique¹⁵⁰. Le greffage peut également avoir lieu d'une manière spontanée¹⁵¹⁻¹⁵⁴, ou en utilisant un agent réducteur. Dans ce dernier cas, les radicaux sont produits dans la solution, où ils vont réagir avec le substrat¹⁵⁴. Dans ce travail la modification des surfaces d'électrodes sera réalisée par réduction électrochimique des sels de diazonium. Cette méthode est également utilisée pour modifier plusieurs autres types de surfaces carbonées : carbone vitreux¹⁵⁵⁻¹⁶⁰, graphite¹⁶¹, HOPG (Highly Oriented Pyrolytic Graphite)^{156,157,159}, PPF (Pyrolyzed Photoresist Film)^{162,163}, électrodes de carbone sérigraphiées (Screen Printed Electrodes SPE)¹⁶⁴, feutres et poudres de carbone¹⁶⁵⁻¹⁶⁷, nanotubes de carbone¹⁶⁸, fibres de carbone¹⁶⁹ et diamant¹⁷⁰. D'autres matériaux sont également cités dans la littérature tels que l'or¹⁷¹, le platine¹⁷², le cuivre, le nickel, le zinc et le fer^{151,173}. En parallèle, plusieurs types de solvants ont été utilisés : solvants aqueux, organiques et ioniques¹⁷⁴⁻¹⁷⁶. Bien que les propriétés des couches résultantes soient très similaires, le milieu aqueux semble le mieux adapté au niveau du laboratoire.

III.2 Mécanisme de greffage par réduction des sels de diazonium

La modification de surface d'électrode de carbone par les sels de diazonium est un procédé d'intérêt qui permet de conférer à la surface de nouvelles propriétés spécifiques via l'immobilisation de nouveaux groupements fonctionnels. De ce fait, les propriétés de plusieurs groupements

fonctionnels peuvent être cumulées par greffage simultané de plusieurs types de diazonium présents dans une même solution analytique pour former des couches mixtes^{143,177,178}. Cette méthode donne l'accès à un large panel d'applications : élaboration de capteurs électrochimiques, électrocatalyse, électroanalyse, protection contre la corrosion et stockage d'énergie¹⁷⁹⁻¹⁸³. La modification peut être réalisée par voie chimique ou électrochimique^{165,183}. Cette dernière a été mise en évidence en 1992 par Pinson *et al.*¹⁵⁶ et son mécanisme a été bien documenté. Il consiste en la réduction des cations diazonium synthétisés *in situ*, en un radical phényle très réactif qui, après élimination de N₂, réagira à son tour avec le substrat carboné pour former une liaison covalente (figure II.2). Le caractère fort de cette liaison a d'abord été démontré par sa stabilité et sa résistance aux ultrasons^{154,156}. Ensuite cette liaison a été caractérisée par des techniques spectroscopiques : XPS (spectrométrie photoélectronique X), ToF-SIMS (Time-of-flight Secondary Ion Mass Spectroscopy) et Raman^{156,153,154}.

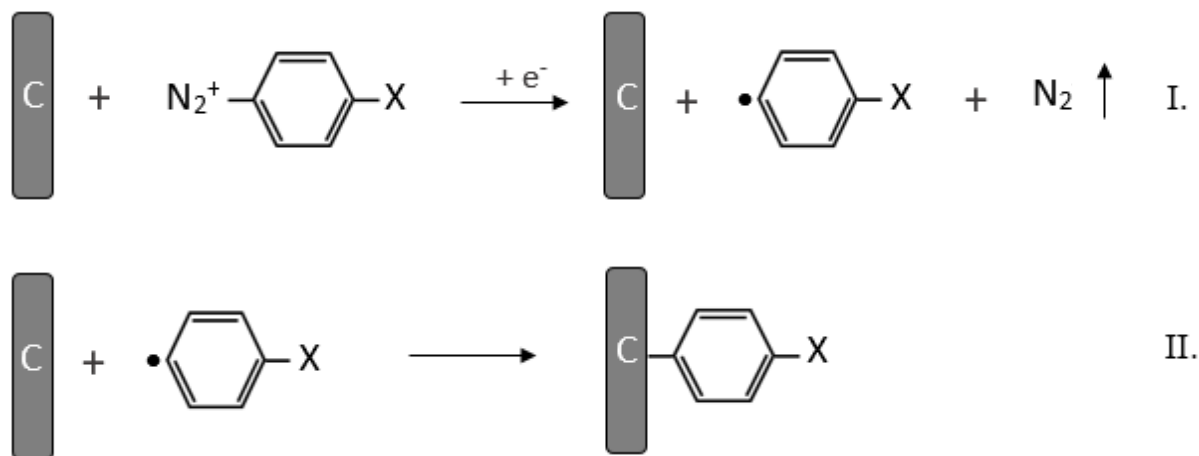


Figure II.2. Mécanisme de greffage de sels de diazonium sur un substrat carboné, adapté de la bibliographie^{184,185}

L'intérêt de la modification par réduction électrochimique de sels de diazonium repose sur le fait qu'il s'agit d'une réaction très rapide qui se fait généralement en moins d'une minute. Il en résulte des couches denses et robustes car elles sont attachées d'une manière covalente irréversible à la surface. Elles sont stables dans le temps et à des températures pouvant atteindre 250°C¹⁴². En effet, il a été démontré que les couches greffées sur le CV sont stables pour une durée allant jusqu'à six mois. Ces couches sont également résistantes au rinçage aux ultrasons dans plusieurs solvants

tels que l'ACN, le DMF, le DMSO, le benzonitrile, le dichlorométhane, le chloroforme, l'acétone, l'éthanol et le méthanol¹⁵⁷. Ainsi, le seul moyen efficace pour les retirer afin de renouveler la surface est de procéder à une abrasion mécanique de la surface ou de soumettre les films organiques à des attaques radicalaires¹⁸⁶.

La structure du film organique obtenu est influencée par plusieurs facteurs : la durée de l'électrolyse ou le nombre de scans si le greffage est fait par voltammétrie cyclique, le potentiel appliqué, la nature du substrat utilisé, le substituant porté par le diazonium et sa concentration. Ainsi, en tenant compte de la grande réactivité des radicaux formés au cours de la réaction, le contrôle de la croissance du film peut s'avérer très compliqué suite à la formation de multicouches épaisses mises en évidence par AFM (Atomic Force Microscopy – Microscopie à Force Atomique), STM (Scanning Tunneling Microscopy – Microscopie à effet tunnel), ou XPS¹⁸⁷⁻¹⁹². Ceci est dû à l'attaque radicalaire continue des cycles aromatiques des couches déjà greffées par les radicaux phényles selon la réaction de substitution aromatique homolytique (figure II.3)^{153,191}.

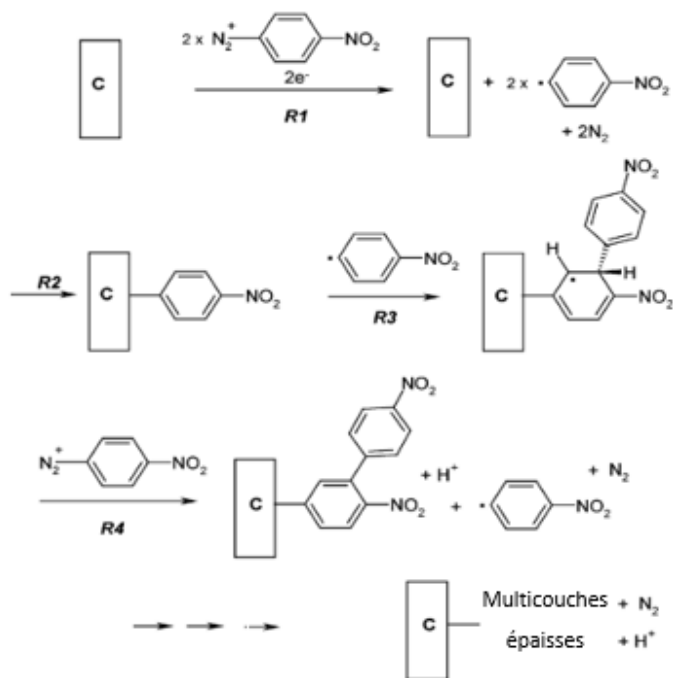


Figure II.3. Formation de multicouches par attaque radicalaire¹⁵³

D'autres études ont évoqué la formation d'une liaison azo N = N dans la couche organique, mise en évidence par XPS^{155,173,190}. En effet, le mécanisme proposé par Doppelt *et al*¹⁹⁰ et représenté à la figure II.4 attribue la présence de cette liaison à l'attaque d'un diazonium sur le radical

cyclohexadiène résultant, lui-même, de l'attaque des radicaux diazonium, suivant la réaction 6. Les transferts d'électrons successifs qui ont lieu par la suite mènent à la formation des multicouches décrites précédemment.

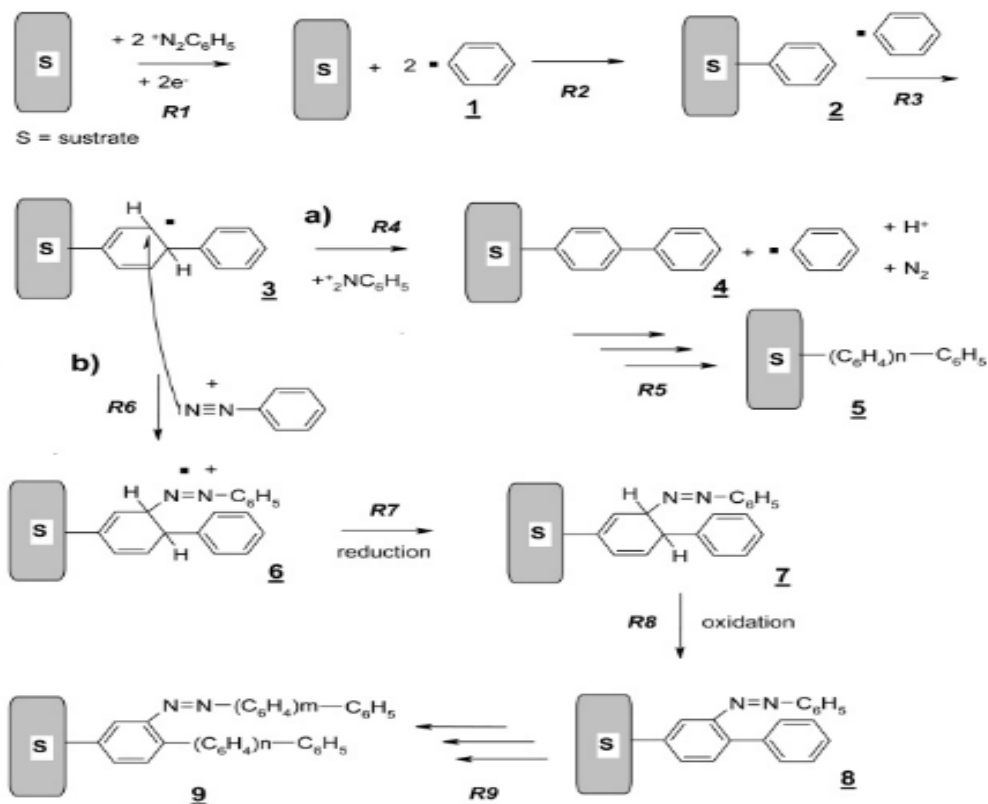


Figure II.4. Formation de multicouches contenant des liaisons azo¹⁹⁰

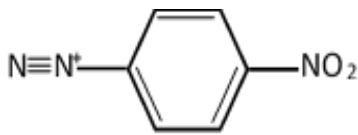
III.3 Protocole de fonctionnalisation d'électrode par deux types de sels de diazonium : NBD et TPD

La réduction électrochimique des sels de diazonium peut être réalisée par voltammétrie cyclique ou par électrolyse à potentiel constant, en milieu aqueux acide ou dans l'acétonitrile (ACN). La voltammétrie cyclique permet de suivre de plus près les phénomènes mis en jeu au cours de la fonctionnalisation, et l'électrolyse à potentiel constant permet quant à elle, un meilleur contrôle de l'énergie apportée au greffage. Il est donc possible de contrôler l'épaisseur des couches générées en variant le potentiel et la durée de l'électrolyse ainsi que la concentration du diazonium utilisé. Quelle que soit la méthode utilisée, le caractère isolant de la couche organique dépend fortement de

la nature du solvant. En effet, plusieurs études ont démontré que les films préparés dans des solvants non aqueux sont plus compacts et moins perméables que ceux obtenus en milieux aqueux ^{193,194}.

Au cours de cette étude, nous avons choisi d'utiliser deux sels de diazonium portant chacun un groupement fonctionnel différent, dans le but d'étudier l'influence de ce dernier sur la stabilité des AuNPs déposées. Le premier est le 4-nitrobenzène diazonium (NBD), portant un groupement nitro (NO₂) (figure II.5.a). C'est un diazonium commercialisé, largement utilisé et étudié dans la bibliographie ^{152,158,195-200}. Sa fonction nitro participe au transfert électronique dans la couche organique, ce qui facilite sa réduction sur le substrat et, par conséquent, la croissance de multicouches contenant des défauts ²⁰¹. Le deuxième diazonium est le 4-thiophénol diazonium (TPD) (figure II.5.b), choisi pour le groupement thiol qu'il porte, en raison de l'affinité de l'or pour le soufre qui pourrait influencer les interactions entre ce diazonium et les AuNPs, qui pourrait améliorer la stabilité des dépôts d'AuNPs.

(a)



(b)

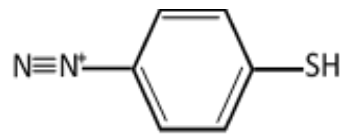


Figure II.5. Structure de 4-nitrobenzène diazonium NBD (a) et du 4-thiophénol diazonium SH (b).

Contrairement au diazonium NBD, le TPD n'est pas commercialisé et doit être synthétisé, *in situ*, avant chaque fonctionnalisation. La synthèse est réalisée à partir d'une solution aqueuse de NaNO₂ et d'une solution d'HCl contenant le 4-aminothiophénol, avec un rapport molaire n(NaNO₂) / n(amine) de 1,2 afin de garantir la conversion totale de l'amine en diazonium. Ce rapport est obtenu en ajoutant, goutte à goutte, 120 µl d'une solution de NaNO₂ à 0,1 mol.l⁻¹, à une solution d'HCl à 0,1 mol.l⁻¹ contenant 0,01 mmol de 4-aminothiophénol. Cette réaction doit être conduite à 4°C pour une durée de 10 min et le diazonium est ensuite utilisé directement dans son milieu de synthèse : aucune étape de purification ou de séparation n'est requise.

Les greffages des sels de diazonium sont d'abord réalisés par voltammétrie cyclique dans une solution d'HCl utilisée comme électrolyte support dans le but de déterminer le potentiel de réduction de chacun. Les paramètres du protocole opératoire sont détaillés dans le tableau II.2.

[Diazonium]	$1,5 \cdot 10^{-3} \text{ mol.l}^{-1}$
[HCl]	$0,1 \text{ mol. l}^{-1}$
Bornes de potentiel	De 0,5 V/ECS à -0,8 V/ECS
Vitesse de balayage	$0,1 \text{ V.s}^{-1}$
Nombre de scans	2
Pas de potentiel	$0,00244 \text{ V.s}^{-1}$
Température	$T = 4^{\circ}\text{C}$

Tableau II.2. Paramètres de la procédure de greffage de diazonium par voltammétrie cyclique

La figure II.6 présente les scans enregistrés en voltammétrie cyclique dans le cas du NBD (figure II.6.a) et du TPD (figure II.6.b). Au premier balayage, un pic de réduction est observé sur les deux courbes, à -0,3 V pour le TPD et 0,02 V pour le NBD. Ce pic, bien documenté dans la littérature, met en évidence la réduction électrochimique des deux diazonium par la réduction de N_2^+ en N_2^{\bullet} , suivie du greffage de la couche organique à la surface de l'électrode de CV. Comme le montre la figure, les potentiels des pics de réduction dépendent fortement de la nature du groupement porté par le diazonium. Contrairement au TPD portant un groupement électrodonneur, le NBD porte un groupement NO_2 électroattracteur, ce qui rend la densité électronique du cycle aromatique moins stabilisante pour le groupement N_2^+ , et explique sa réduction à un potentiel plus élevé. Au deuxième balayage, les pics de réduction disparaissent totalement, pour les deux diazoniums. Ce comportement met en évidence la présence de la couche organique à la surface car il est typique du phénomène d'auto-inhibition de la couche greffée au premier balayage. Ce phénomène est dû à son caractère isolant, bloquant l'accès à la surface de l'électrode, empêchant la poursuite de la réduction électrochimique.

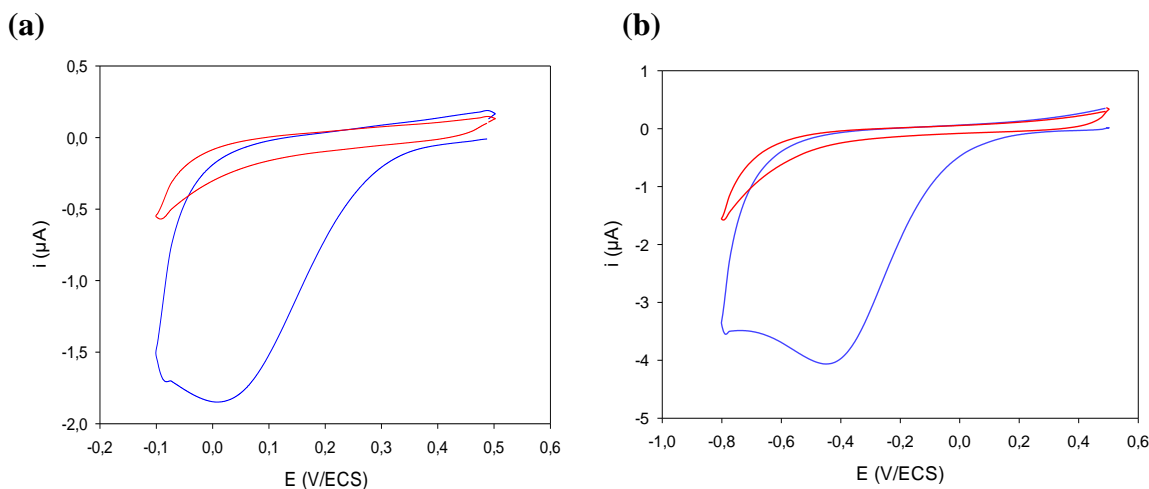


Figure II.3. Voltammogrammes cycliques tracés sur une électrode de CV dans HCl $0,1 \text{ mol.l}^{-1}$ contenant du NBD (a) et du SH (b) à $1,5 \text{ mmol.l}^{-1}$. 1er scan en bleu, 2ème scan en rouge.

Afin de mieux contrôler le processus afin d'obtenir des multicouches épaisses et plus homogènes, le greffage sera réalisé pour toute la suite des travaux par électrolyse à potentiel constant à $E_{\text{app}} = E_{\text{p}}^{\text{red}} - 200 \text{ mV}$, donc à $E = -0,18 \text{ V}$ pour le diazonium NBD, et $E = -0,5 \text{ V}$ pour le TPD, pour une durée $t = 300 \text{ s}$, estimée suffisante pour générer des multicouches^{163,202,203}. Après l'électrolyse, les électrodes sont rincées, aux ultra-sons dans un bain d'éthanol pendant 5 min afin de nettoyer la surface et d'enlever les résidus de diazonium non greffés et faiblement adsorbés. Dans la suite de ces travaux on appellera CV/TPD ou CV/NBD, la surface de carbone obtenue après la modification avec les couches organiques par électrolyse à potentiel constant pendant 300 s, en fonction du diazonium utilisé.

III.4 Caractérisation de la couche organique par Microscopie à Force Atomique

La microscopie à force atomique AFM est une technique d'imagerie à très haute résolution utilisée pour observer et caractériser les surfaces de matériaux, de l'échelle micrométrique à nanométrique. Son principe est fondé sur le balayage de la surface d'un échantillon avec une pointe très fine fixée à l'extrémité d'un micro-levier flexible. Au cours de ce balayage. Il existe 3 modes de fonctionnement de l'AFM : le mode contact intermittent ou « tapping », le mode non contact, et le mode contact, qui sera utilisé dans cette étude. Quand la pointe est en contact direct avec la surface de l'échantillon, le levier subit une déviation qui est utilisée pour reconstruire une image de la surface modifiée et mesurer l'épaisseur du film organique greffé. L'AFM utilisé dans cette étude est un Bruker Bioscope Catalyst en mode contact, avec une pointe MSNL. Le montage est piloté

par le logiciel JPK NanoWizard II. L'exploitation de toutes ces données permet par la suite de dresser la topographie de la surface étudiée. La caractérisation par AFM de couches organiques obtenues par greffage de NBD sur différents substrats carbonés est bien documentée dans la littérature :

- Brooksby *et al.*¹⁶³ ont rapporté des épaisseurs d'environ 2 et 3 nm pour des couches greffées sur du PPF en milieu aqueux et acétonitrile, respectivement. Les greffages étaient réalisés par électrolyse à potentiel constant, pour une durée de 300 s et à des potentiels autour de -0,15 V et -0,35 V respectivement.

- González *et al.*²⁰⁴ ont effectué des mesures AFM sur des multicouches formées avec du NBD greffé par 3 voltammogrammes suivis par une électrolyse à potentiel constant pendant 300 s sur du HOPG, pour déterminer une épaisseur de couche de $6 \pm 1,8$ nm. Lorsque le greffage est réalisé en présence de 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle DPPH, utilisé pour limiter la croissance des multicouches, l'épaisseur mesurée est d'environ 0,8 – 1,3 nm, correspondant à l'épaisseur d'une monocouche.

- Breton *et al.*¹⁹⁸ ont également rapporté des épaisseurs de $5,5 \pm 0,5$ nm pour des multicouches obtenues par la réduction du NBD sur du PPF (Pyrolyzed Photoresist Film) en effectuant 2 voltammétries cycliques. Dans cette étude, la croissance des couches a aussi été contrôlée par ajout de DPPH pendant la modification, L'épaisseur des monocouches générées est alors réduite à $0,9 \pm 0,5$ nm.

- Yu *et al.*¹⁹⁵ ont étudié le greffage du NBD sur le CV par électrolyse à potentiel constant. Les mesures AFM ont été réalisées sur des plaques de PPF et ont révélé des épaisseurs de couches de 1,5 à 4,3 nm en fonction de la concentration du diazonium et de la durée de l'électrolyse.

Contrairement au NBD, aucune étude n'a rapporté de mesure d'épaisseur de couches de TPD à ce jour.

Dans le cadre de nos travaux, nous avons en premier lieu, mesuré, par AFM, la rugosité du CV avant fonctionnalisation. Celle-ci est estimée à 3 nm : valeur comparable à celle rapportée dans la littérature¹⁹⁸. Cette valeur de rugosité, étant comparable à l'épaisseur des couches organiques, limite l'utilisation du CV pour étudier l'épaisseur de couches nanométriques par AFM. Nous avons donc choisi dans cette étude de remplacer le CV par un matériau à très faible rugosité : une surface de PPF dont la rugosité est connue pour être inférieure à 0,5 nm^{162,195,198,205}. Par ailleurs, le mécanisme de réduction électrochimique des sels de diazonium sur ce matériau est similaire à celui obtenu sur le carbone vitreux^{159,195,206}. Les plaques de PPF seront uniquement utilisées pour les

mesures AFM afin d'obtenir des observations claires et exploitables de la couche organique. La mesure de l'épaisseur est réalisée par la technique de l'AFM « scratching » qui consiste à effectuer une rayure mécanique sur la surface du PPF fonctionnalisée, sans endommager le support PPF. Le profil de cette rayure représente alors la différence de hauteur entre la surface de PPF et celle du film.

La figure II.7 regroupe les résultats obtenus par AFM pour des plaques PPF, sur lesquelles les greffages de NBD et de TPD ont été réalisés par électrolyse à potentiel constant, dans des conditions identiques à celles utilisées pour le greffage sur CV, aux potentiels déterminés précédemment, et pour une durée de 300 s. Comme le montre les profils d'épaisseur obtenus sur CV/NBD et CV/TPD présentés sur les figures II.7.a et II.7.b, respectivement, la technique de l'AFM « scratching » a permis de mesurer une épaisseur de 4 nm pour les deux types de couches. Cette épaisseur est similaire à celles déterminées lors des travaux précédents dans notre équipe, après greffage de NBD par électrolyse à potentiel constant à 0 V et 0,3 V, pour une temps d'électrolyse de 300 s^{139,207}, et également du même ordre de grandeur que les épaisseurs rapportées par d'autres groupes^{196,198,201,208,209}.

Les figures II.7.c et II.7.d montre les images AFM obtenues pour les surfaces CV/NBD et CV/TPD respectivement. Les surfaces fonctionnalisées présentent des structures sous forme d'îlots, caractéristiques de ce type de couches^{201,209,210}. Cette morphologie s'explique par la nucléation et la croissance des couches selon le mécanisme de formation de multicouches évoqué dans la section I.2. Selon ce mécanisme, les premiers diazoniums réduits à la surface du substrat jouent le rôle de nucléis. L'attaque radicalaire des diazoniums sur les cycles aromatiques déjà greffés conduit à la croissance des multicouches et à la formation de structures sous forme de clusters. Cependant, ces structures sont moins homogènes, et plus rugueuses pour le diazonium NBD. Quand le TPD est utilisé (figure II.7.d), l'AFM « scratching » met en évidence la présence de deux zones distinctes : la surface de PPF à gauche, et la surface PPF/TPD (modifiée avec le TPD) à droite. Des films plus homogènes sont observés.

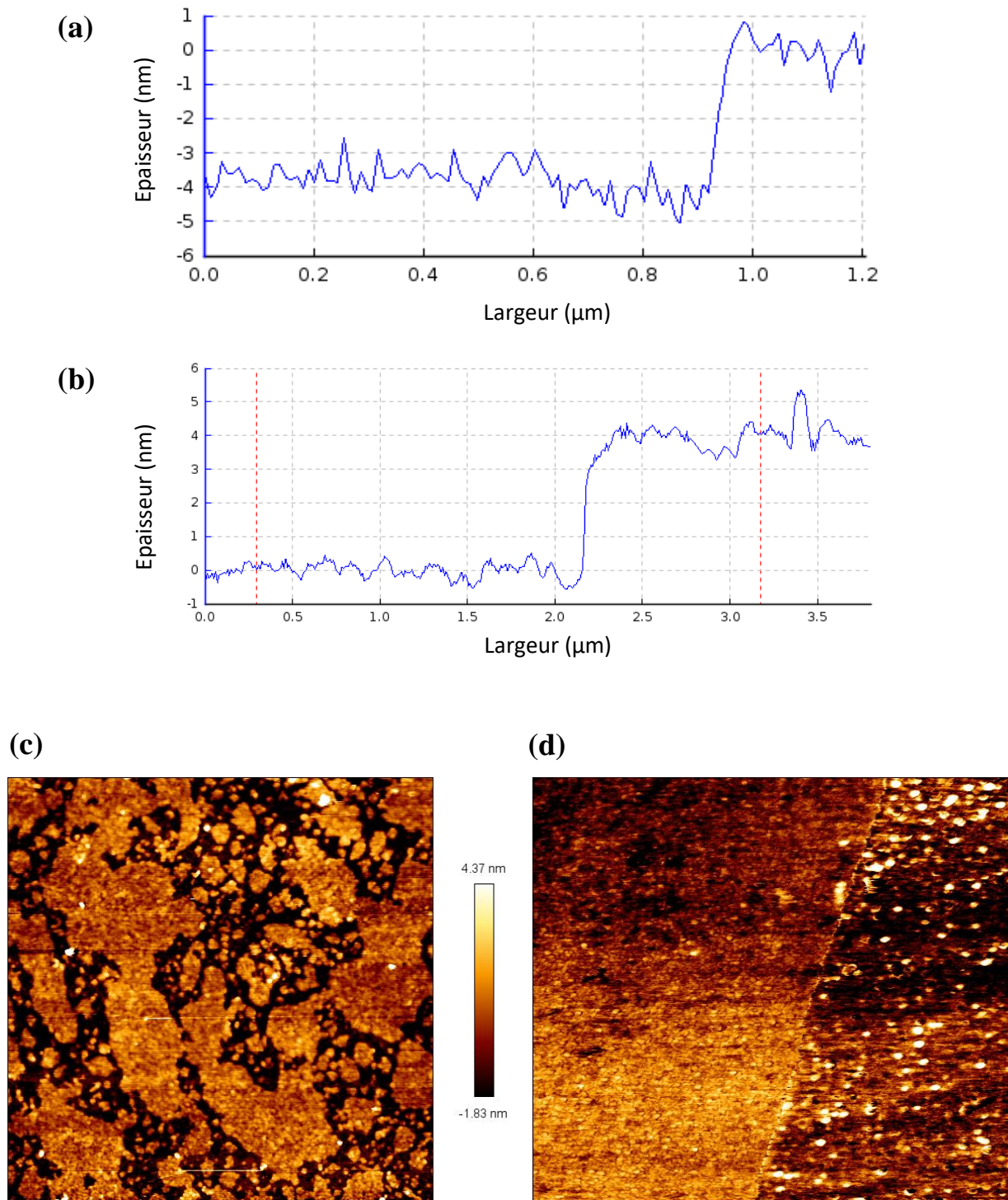


Figure II.7. Profils d'épaisseur enregistrés sur CV/NBD (a) et CV/TPD (b), et micrographes AFM obtenus sur CV/NBD (c) et CV/TPD (d)

IV. Modification d'électrode par les AuNPs

IV.1. Introduction : généralités sur les nanoparticules d'or et méthodes de synthèse

Les nanoparticules d'or sont des assemblages d'atomes d'or de tailles nanométriques comprises entre 1 et 150 nm, en fonction de la méthode de synthèse²¹¹. Les particules les plus petites ont souvent des tailles inférieures à 3 nm et sont ~~larges (100 nm)~~ sous le nom de « clusters »^{212,213}. Elles possèdent des caractéristiques uniques et bien différentes de celles de l'or massif telles que le rapport surface/volume, leurs propriétés catalytiques, optiques, électroniques et biologiques, en plus de leur toxicité très faible^{105,211,214}. Leur utilisation dans plusieurs domaines d'applications a donc connu un réel essor. Elles sont largement utilisées dans le domaine de la catalyse. Elles ont démontré leur capacité à catalyser la réduction électrochimique de O₂, la formation du peroxyde d'hydrogène, l'oxydation des alcools en acides ou en aldéhydes et l'hydrogénation sélective des liaisons C-C et N-O²¹⁵⁻²¹⁷. De plus, grâce à leur biocompatibilité et leur simplicité de manipulation, elles ont émergé dans le domaine de la médecine. Elles sont employées pour le diagnostic et le traitement de certaines maladies comme le cancer, car elles permettent une meilleure vectorisation ciblée des substances thérapeutiques que celle assurée par les médicaments traditionnels^{211,218,219}. D'autre part, leurs propriétés optiques sont également sollicitées pour l'imagerie comme étant des agents de contraste^{214,220}. Les nanoparticules d'or servent aussi à l'élaboration de plusieurs types de capteurs (électrochimiques, colorimétriques, biocapteurs...) pour la détection de différents composés : protéines, toxines, ions métalliques^{100,105,221}.

Plusieurs méthodes de synthèse des AuNPs sont décrites dans la littérature. Dans cette section, nous allons nous intéresser aux approches les plus conventionnelles : l'approche « top-down » et l'approche « bottom-up ».

- **Voie « Top-down »**

Cette approche permet d'élaborer des nanoparticules par la fragmentation du matériau massif par ablation laser^{105,222,223}. Le principe consiste à irradier le matériau cible, placé dans un liquide, avec un faisceau laser pour former un plasma à la surface du substrat. Le contact de ce plasma chaud avec la phase liquide va générer une bulle de cavitation. Ensuite, l'expansion du plasma confiné dans cette bulle va permettre de former des nanoparticules qui, après écrasement et

l'éclatement de la bulle de cavitation, vont être éjectées dans le liquide²²⁴. Cette méthode présente l'avantage de produire des nanoparticules pures sans contamination de surface par des ligands pouvant limiter leur utilisation. Ces nanoparticules sont stables en milieux aqueux, sans avoir recours aux agents stabilisants, contrairement aux AuNPs obtenues par la méthode chimique. De plus, la synthèse étant fortement conditionnée par les conditions expérimentales et la nature du liquide, il est possible de varier la distribution de taille et la forme des AuNPs obtenues²²⁵.

- **Voie « Bottom-up »**

L'approche « Bottom-up » permet d'obtenir des nanoparticules d'or à partir d'un précurseur d'or. Elle est basée sur l'assemblage d'atomes isolés pour former des nanostructures. Cette approche regroupe plusieurs méthodes : la méthode chimique, biologique et électrochimique.

- **Méthode chimique**

La méthode chimique est la méthode conventionnelle la plus utilisée pour la synthèse de solutions colloïdales de nanoparticules d'or. Son principe repose sur la réduction chimique d'un sel d'or. La première étude mettant en évidence cette méthode a été réalisée en 1857 par Michael Faraday, par réduction du chlorure d'or par du phosphore blanc²²⁶. Cette méthode a été reprise par Turkevich en 1951 qui a réalisé la synthèse par réduction de l'acide tétrachloraurique HAuCl_4 , en utilisant le citrate de sodium en milieu aqueux, à la fois comme agent réducteur et comme ligand : les ions citrates s'adsorbant à la surface des AuNPs empêchent leur agrégation par effet de répulsion électrostatique entre les différentes particules²²⁷. Cette technique a permis de synthétiser des AuNPs de différentes tailles, en fonction de la nature de l'agent réducteur et de l'agent stabilisant utilisés^{228,229}. Par ailleurs, différents types de stabilisants sont cités dans la littérature : des polymères (polyvinyle alcool, acide polyacrylique)^{217,230}, des tensioactifs (bromure de cetyl triméthyl ammonium CTAB, Polyéthylène glycol PEG, dodécylsulfate de sodium SDS)^{217,231,232}, des acides aminés (cystéine)²³³, ou encore des dérivés soufrés (thiols). Ces derniers sont particulièrement utilisés en raison de l'affinité de l'or pour le soufre. En effet, en 1993, Mulvaney et Giersig ont mis en évidence, pour la première fois, la possibilité de stabiliser des AuNPs par des thiols, à travers l'attachement covalent de ces derniers à la surface métallique²³⁴.

- **Méthode biologique**

La biosynthèse offre la possibilité d'obtenir des nanoparticules d'or en milieu aqueux en utilisant plusieurs matériaux biologiques : les bactéries, les champignons²³⁵, l'ADN^{236,237}, les

protéines²³⁸, et les enzymes²³⁹. Certaines plantes ont même été rapportées dans la bibliographie telles que les feuilles de thé²⁴⁰. Ces méthodes de synthèse ont l'avantage d'être propres et économiques, en plus de produire des nanoparticules ayant des tailles et des formes très variées.

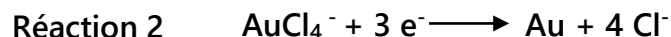
La modification d'électrodes par les nanoparticules d'or synthétisées sous forme de solutions colloïdales peut se faire par dépôt physico – chimique sur la surface à modifier. Il existe différentes méthodes de dépôt : le dépôt électrophorétique, le dépôt *in situ*, le dépôt de Langmuir, le spin coating, le dip coating et le drop casting. Ce dernier a déjà fait l'objet d'une étude dans notre groupe¹³⁹.

Dans cette étude, nous allons donc nous intéresser à une autre méthode de dépôt : le dépôt par voie électrochimique. Cette méthode consiste en la formation de nanoparticules d'or via par réduction directe d'un sel d'or sur un substrat conducteur, jouant le rôle d'une électrode dans un montage électrochimique.

IV.2. Electrodépôt des nanoparticules d'or

- Principe de base

La réduction permet de générer des AuNPs directement sur l'électrode modifiée. Elle est basée sur la réduction d'Au(III) en Au(0) formé à la surface, selon la réaction 2. Au(III) est obtenu sous forme de $[\text{AuCl}_4^-]$ par solubilisation d'un précurseur d'or, l'acide tétrachloraurique HAuCl_4 , dans un électrolyte support.



Cette méthode présente de nombreux avantages. Simple et rapide, elle permet de générer les AuNPs sur le substrat en une seule étape, sans avoir recours à une étape de synthèse ni à des agents stabilisants²⁴¹. En revanche, les AuNPs étant liées à la surface par des interactions faibles, il est nécessaire d'utiliser la couche organique intermédiaire pour améliorer leur stabilité. Il est également possible de contrôler les caractéristiques des AuNPs obtenues, notamment la distribution, la taille et la morphologie par la variation des paramètres utilisés : technique d'électrodépôt, nature du substrat, électrolyte support, concentration en sel d'or^{242–244}.

Plusieurs techniques électrochimiques ont été utilisées dans la littérature telles que la voltammétrie linéaire²⁴⁵, l'électrolyse à potentiel constant^{124,138,246–250}, la double impulsion

potentiostatique^{138,251} et la voltammétrie cyclique^{137,138,201,252-254}. Les tableaux II.3, II.4 et II.5 présentent quelques résultats de dépôt d'AuNPs obtenues par différentes techniques électrochimiques citées dans la bibliographie. Parmi ces techniques, la voltammétrie cyclique a largement été utilisée afin d'avoir des informations sur le mécanisme de l'électrodépôt. Lors des travaux précédents réalisés dans l'équipe, la voltammétrie cyclique, représentée dans la figure III.7, montre un pic de réduction situé autour de 0,5 V, au balayage aller (sens décroissant). Ce pic a été attribué à la réduction du AuCl_4^- , suivant la réaction 2¹³⁸, induisant la formation d'Au(0) à la surface de l'électrode. Au balayage retour (sens croissant), un « cross over » est observé vers 0,6 V : le courant enregistré devient supérieur à celui enregistré au cours du balayage aller. Ce comportement met en évidence le phénomène de nucléation-croissance^{255,256}. En effet, au début de l'expérience, l'or se dépose sur le carbone vitreux. Ensuite, pendant le balayage retour, la réduction se fait sur le CV mais aussi sur les AuNPs formées au cours du 1^{er} balayage. Ainsi, la réduction se poursuit à des potentiels supérieurs à ceux observés au balayage aller, car le dépôt de l'or sur l'or est favorisé par rapport à celui sur le carbone. Ainsi, la croissance des AuNPs déjà formées est plus facile que la formation de nouvelles AuNPs. Ce comportement a également été observé par Komsiyiska *et al.*²⁵² pour un dépôt réalisé sur du carbone vitreux, dans des conditions expérimentales différentes (Electrolyte support : HClO_4 à $0,1 \text{ mol.l}^{-1}$, $[\text{AuCl}_4^-] = 1 \text{ mmol.l}^{-1}$, vitesse de balayage = 1 mV.s^{-1}). O'Mullane *et al.*²⁵⁷ ont rapporté un résultat similaire avec des concentrations en AuCl_4^- supérieures. Au deuxième balayage, le pic de réduction est observé à 0,78 V, indiquant que la réduction a lieu à des potentiels plus élevés, sur les AuNPs déjà présentes. Ceci confirme que le dépôt d'or est plus facile sur l'or que sur un autre matériau^{258,259}, car la croissance des AuNPs requiert moins d'énergie que la nucléation de nouvelles AuNPs.

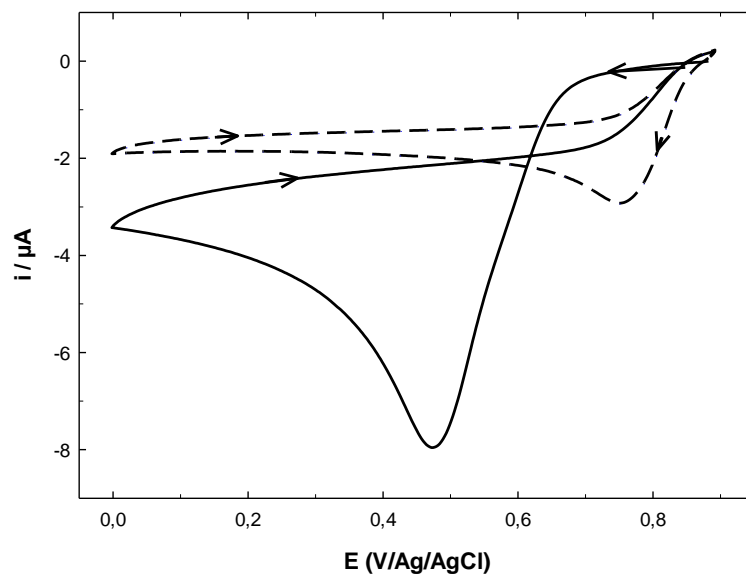


Figure II.8. Electrodeposition of AuNPs on a glassy carbon electrode in NaNO_3 at $0,1 \text{ mol.l}^{-1}$ containing HAuCl_4 at $2,5 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$; $v = 50 \text{ mV.s}^{-1}$;
 trait plein : 1^{er} scan, tirets : 2^{ème} scan¹³⁸

Electrolyte support	Précurseur	Paramètres opératoires	Substrat	Taille AuNPs (nm)	Référence
Tampon phosphate (0,05 mol.l ⁻¹)	KAu(CN) ₂ (0,1 mmol.l ⁻¹)	Balayage de -0,2 V/ECS à -1,3 V/ECS N = 20 ; v = 50 mV.s ⁻¹	ITO	20 - 35	254
Tampon phosphate (0,05 mol.l ⁻¹)	KAu(CN) ₂ (0,12 mmol.l ⁻¹)	Balayage de -0,3 V/ECS à -1,15 V/ECS N = 20 , v = 50 mV.s ⁻¹	ITO	20 - 30	253
		Balayage de -0,3 V/ECS à -1,2 V/ECS N = 20 , v = 50 mV.s ⁻¹		35 - 45	
		Balayage de -0,3 V/ECS à -1,25 V/ECS N = 20 , v = 50 mV.s ⁻¹		50 - 60	
NaNO ₃ (0,1 mol.l ⁻¹)	HAuCl ₄ (0,25 mmol.l ⁻¹)	Balayage de 0,9 V/Ag/AgCl à 0 V/Ag/AgCl N = 1, v = 50 mV.s ⁻¹	Carbone vitreux	27 ± 16	137
		Balayage de 0,9 V/Ag/AgCl à 0 V/Ag/AgCl N = 2, v = 50 mV.s ⁻¹		36 ± 14	
		Balayage de 0,9 V/Ag/AgCl à 0 V/Ag/AgCl N = 3, v = 50 mV.s ⁻¹		37 ± 15	
		Balayage de 0,9 V/Ag/AgCl à 0 V/Ag/AgCl N = 4, v = 50 mV.s ⁻¹		36 ± 13	
		Balayage de 0,9 V/Ag/AgCl à 0 V/Ag/AgCl N = 8, v = 50 mV.s ⁻¹		41 ± 15	
		Balayage de 0,9 V/Ag/AgCl à 0 V/Ag/AgCl N = 12, v = 50 mV.s ⁻¹		63 ± 18	
		Balayage de 0,9 V/Ag/AgCl à 0 V/Ag/AgCl N = 16, v = 50 mV.s ⁻¹		64 ± 19	
		VC : de 0,9 V/Ag/AgCl à 0 V/Ag/AgCl N = 20, v = 50 mV.s ⁻¹		71 ± 20	

Tableau II.3. Tailles des AuNPs obtenues par voltammétrie cyclique en fonction des paramètres du dépôt.

Electrolyte support	Précurseur	Paramètres opératoires	Substrat	Taille AuNPs (nm)	Référence
NaNO ₃ (0,1 mol.l ⁻¹)	HAuCl ₄ (0,25 mmol.l ⁻¹)	E = 0,7 V/ ESH, t = 10 s	Carbone Vitreux	86 ± 20	248
		E = 0,7 V/ ESH, t = 1800 s		315 ± 89	
		E = - 0,3 V/ ESH, t = 10 s		10 ± 3	
		E = - 0,3 V/ ESH, t = 1800 s		25 ± 12	
H ₂ SO ₄ (0,5 mol.l ⁻¹)	HAuCl ₄ (0,1 mmol.l ⁻¹)	E = 0,18 V/Ag/AgCl, t = 15 s	Carbone Vitreux	30 ± 13	249
		E = 0,18 V/Ag/AgCl, t = 120 s		166 ± 16	
NaNO ₃ (0,1 mol.l ⁻¹)	HAuCl ₄ (0,25 mmol.l ⁻¹)	E = 0 V / Ag/AgCl, t = 1 s	Carbone Vitreux	15 ± 3	138
		E = 0 V / Ag/AgCl, t = 3 s		16 ± 4	
		E = 0 V / Ag/AgCl, t = 15 s		17 ± 4	
		E = 0 V / Ag/AgCl, t = 30 s		20 ± 4	
		E = 0 V / Ag/AgCl, t = 300 s		31 ± 7	
		E = 0 V / Ag/AgCl, t = 600 s		47 ± 16	

Tableau II.4. Tailles des AuNPs obtenues par electrolyse à potentiel imposé en fonction des paramètres du dépôt.

Electrolyte support	Précurseur	Paramètres opératoires	Substrat	Taille AuNPs (nm)	Référence
H ₂ SO ₄ (0,5 mol.l ⁻¹)	KAuCl ₄ (10 ⁻⁵ mol.l ⁻¹)	de 1,1 V/Ag/AgCl à 0 V/ Ag / AgCl t = 5 s	Carbone Vitreux	10 ± 3	245
	KAuCl ₄ (5.10 ⁻⁵ mol.l ⁻¹)			13 ± 3	
	KAuCl ₄ (10 ⁻⁴ mol.l ⁻¹)			18 ± 4	
	KAuCl ₄ (2.10 ⁻⁴ mol.l ⁻¹)			20 ± 5	
H ₂ SO ₄ (0,5 mol.l ⁻¹)	KAuCl ₄ (10 ⁻⁴ mol.l ⁻¹)	de 1,1 V/Ag/AgCl à 0,7 V/ Ag / AgCl t = 5 s	Carbone Vitreux	34 ± 24	
		de 1,1 V/Ag/AgCl à 0,5 V/ Ag / AgCl t = 5 s		25 ± 5	
		de 1,1 V/Ag/AgCl à 0,3 V/ Ag / AgCl t = 5 s		18 ± 6	
		de 1,1 V/Ag/AgCl à 0,1 V/ Ag / AgCl t = 5 s		17 ± 4	
H ₂ SO ₄ (0,5 mol.l ⁻¹)	NaAuCl ₄ (1 mmol.l ⁻¹)	de 1,1 V/Ag/AgCl à 0 V/Ag/AgCl t = 5 s	Carbone Vitreux	5 – 20	260
		de 1,1 V/Ag/AgCl à 0 V/Ag/AgCl t = 10 s		10 – 50	
		de 1,1 V/Ag/AgCl à 0 V/Ag/AgCl t = 30 s		15 - 60	
		de 1,1 V/Ag/AgCl à 0 V/Ag/AgCl t = 60 s		20 – 80	
		de 1,1 V/Ag/AgCl à 0 V/Ag/AgCl t = 120 s		50 - 120	
		VL : de 1,1 V/Ag/AgCl à 0 V/Ag/AgCl t = 300 s		50 – 200	
		VL : de 1,1 V/Ag/AgCl à 0 V/Ag/AgCl t = 900 s		100 - 500	

Tableau II.5. Tailles des AuNPs obtenues par voltammétrie linéaire en fonction des paramètres du dépôt

- Electrodeposition des AuNPs sur des substrats modifiés par des couches organiques :

Le dépôt de nanoparticules métalliques peut aussi être réalisé sur des surfaces fonctionnalisées, dans le but de leur apporter de nouvelles propriétés et fonctionnalités adaptées à l'application souhaitée. Mirkhalaf *et al.*²⁴³ ont rapporté l'électrodépôt d'AuNPs sur une électrode de carbone vitreux modifiée par une monocouche organique obtenue par greffage de NBD, par voltammétrie cyclique suivie d'une électrolyse à potentiel constant, dans le but d'étudier les propriétés électrocatalytiques de l'électrode modifiée vis-à-vis de la réaction de réduction d'oxygène. La voltammétrie cyclique a permis d'observer le phénomène de nucléation-croissance, similaire à celui observé sur le carbone nu, indiquant que la surface modifiée présente un support adapté pour l'électrodépôt d'AuNPs. La même méthode a été utilisée par González *et al.*²⁰⁴ afin d'améliorer l'adsorption de nanoparticules électrodéposées sur du HOPG, limitée par la réactivité de la surface plane de ce matériau. Ainsi, une monocouche organique, d'environ 0,8 à 1,3 nm d'épaisseur, a été greffée par réduction du NBD par voltammétrie cyclique en présence d'un piège à radicaux (2,2-diphénylpicrilhydrazyle), suivie par le dépôt d'AuNPs par voltammétrie cyclique. L'AFM a montré que la nucléation et la croissance des nanoparticules se fait uniquement sur la couche organique, et pas sur la surface de HOPG. Ceci s'explique par l'interaction entre la couche organique et l'or. En effet, à l'issue du processus de modification de la surface de HOPG par le NBD, tous les groupements NO₂ sont réduits en groupements NH₂, avec lesquels interagissent les ions AuCl₄⁻²⁰¹. Clukay *et al.*²⁴⁴ ont proposé 3 types d'interactions : l'appariement d'ions entre AuCl₄⁻ et les groupements amine, le remplacement de Cl⁻ par un groupement amine accompagné de l'élimination de HCl et de la formation d'une liaison covalente, ou encore la réduction de Au(III) en Au(I) et la formation d'un complexe Au(I)-amine. A ce jour, l'électrodépôt des AuNPs a été fait uniquement sur des films organiques dont l'épaisseur correspond à celle d'une monocouche. Lorsque des multicouches d'environ 6 ± 1,8 nm ont été greffées, l'électrodépôt a été fortement inhibé et aucun pic de réduction n'a été observé²⁰¹. Dans ce travail, nous allons étudier l'électrodépôt des AuNPs sur des multicouches organiques de 4 nm d'épaisseur, dans le but d'améliorer leur stabilité via la liaison covalente qui s'établit entre ces couches et la surface de l'électrode.

IV.3. Protocole de l'électrodépôt des AuNPs sur les surfaces fonctionnalisées CV/TPD et CV/NBD

Parmi les techniques électrochimiques citées précédemment, nous avons choisi de réaliser l'électrodépôt des AuNPs par voltammétrie cyclique et par électrolyse à potentiel constant. La voltammétrie cyclique a d'abord été utilisée afin d'observer les phénomènes mis en jeu lors de l'électrodépôt des AuNPs sur les surfaces CV/NBD et CV/TPD et de déterminer les paramètres du dépôt. A des fins de comparaison, un électrodépôt est aussi réalisé dans les mêmes conditions sur une électrode de carbone vitreux, n'ayant subi aucune modification, et dont la surface a été préparée selon le même protocole de polissage décrit dans la section II.3.2.1. Le dépôt a été réalisé en utilisant HAuCl_4 comme précurseur d'or et NaNO_3 comme électrolyte support, afin d'éviter les phénomènes de coalescence²⁶¹. L'ensemble des paramètres de la procédure utilisée est décrit dans le tableau 6. Avant toute mesure, la solution est désaérée par barbotage d'azote pendant 10 min.

[HAuCl_4^-]	$0,25 \cdot 10^{-3} \text{ mol.l}^{-1}$
[NaNO_3]	$0,1 \text{ mol.l}^{-1}$
Bornes de potentiel	De 0,9 V/ECS à -0,5 V/ECS
Vitesse de balayage	$0,1 \text{ V.s}^{-1}$
Nombre de scans	2
Pas de potentiel	$0,00244 \text{ V.s}^{-1}$
Température	$T = 25^\circ\text{C}$

Tableau II.6. Paramètres de l'électrodépôt par voltammétrie cyclique.

Les voltammogrammes obtenus sur les 3 types de surfaces : CV, CV/TPD et CV/NBD sont représentés sur la figure II.9. Lorsque l'électrodépôt est réalisé sur les surfaces modifiées par les couches organiques, la voltammétrie cyclique a révélé un comportement similaire à celui observé sur le CV non modifié (figure II.9.c). En effet, au balayage aller du premier scan (courbe noire), un pic de réduction est observé à 0 V pour CV/NBD (figure II.9.a) et 0,12 V pour CV/TPD (figure II.9.b). Ce pic est attribué à la réduction des ions AuCl_4^- , mettant en évidence le dépôt des AuNPs à la surface de l'électrode fonctionnalisée par les couches organiques épaisses, par la réduction de Au(III) en Au(0). Au cours du balayage retour, le cross-over, caractéristique du phénomène de

nucléation croissance, apparaît à 0,35 V pour les deux surfaces modifiées. La présence de ce cross over au même potentiel, quel que soit le diazonium utilisé, confirme le dépôt effectif des AuNPs à la surface, et indique que la réduction de Au(III) ne se fait plus sur la surface modifiée, mais sur les AuNPs déjà déposées lors du balayage aller.

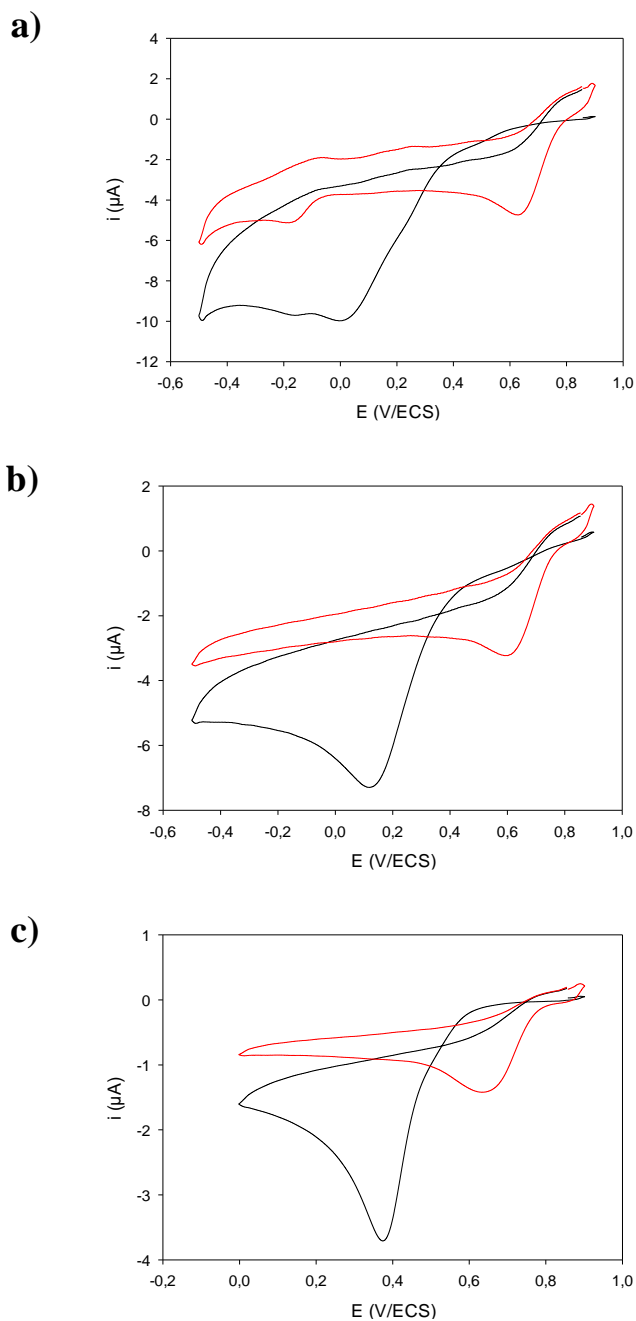


Figure II.9. Voltammogrammes cycliques tracés dans une solution de NaNO_3 à $0,1 \text{ mol.l}^{-1}$ contenant HAuCl_4 à $0,25 \cdot 10^{-3} \text{ mol.l}^{-1}$, sur CV/NBD (a), CV/TPD (b), et sur une électrode en CV non modifiée (c) ; 1^{er} balayage en noir, 2^{ème} balayage en rouge.

Au cours du deuxième scan (courbe rouge), un pic de réduction apparaît au même potentiel pour CV/NBD et CV/TPD, à 0,6 V. Ce pic correspond à la réduction de Au(III) sur les AuNPs déjà déposées à la surface au cours du premier scan. A ce stade, la nature des groupements fonctionnels portés par chaque diazonium n'a plus d'influence sur l'électrodépôt, d'où la même valeur de E_p . Ceci confirme, une fois de plus, l'efficacité de l'électrodépôt malgré la présence de couches organiques épaisses, et la présence des AuNPs à la surface, contrairement à ce qui a été rapporté dans la littérature²⁰¹.

Ce comportement inattendu peut s'expliquer par la nature du mécanisme de réduction des ions Au(III). En effet, cette réaction se déroule via un mécanisme à sphère externe (voir section IV.1) : le transfert électronique se fait à travers la couche de solvatation. Ainsi, après greffage des couches organiques, il est fortement ralenti, sans être complètement bloqué. Ceci peut être vérifié en comparant les voltammogrammes d'électrodépôt sur CV/NBD et CV/TPD, à celui sur CV non modifié (figure II.9.c). Sur le CV non modifié, le pic de réduction de Au(III) est situé à 0,37 V, tandis que sur CV/NBD (figure II.9.a) et sur CV/TPD (figure II.9.b), il apparaît à des potentiels inférieurs : 0 V et 0,12 V, respectivement. La réduction est donc plus facile lorsque le CV n'est pas fonctionnalisé.

L'influence du type de diazonium utilisé sur l'électrodépôt est également mise en évidence. Comme le montrent les figures II.9.a et II.9.b, le potentiel du pic de réduction de Au(III) sur CV/TPD (0,12 V) est supérieur à celui enregistré sur CV/NBD (0 V). Ceci montre que la réduction est plus facile sur CV/TPD que sur CV/NBD. Ce phénomène peut s'expliquer en prenant en considération les interactions entre l'or et les groupements nitro et thiol. D'après la théorie HSAB (Hard and Soft Acids and Bases), les acides mous réagissent préférentiellement avec des bases molles. L'or faisant partie des acides mous, a donc plutôt tendance à réagir avec le soufre, car ce dernier est considéré comme une base plus molle que l'azote²⁶²⁻²⁶⁴. D'autre part, en présence des groupements NO₂, des interactions électrostatiques répulsives sont mises en jeu²⁶⁵. En prenant compte des 2 phénomènes, on peut déduire que l'interaction Au-S est plus favorisée à l'interaction Au-NO₂.

Les voltammogrammes montrent également une différence remarquable entre les allures des pics de réduction. Sur CV/TPD (figure 10.b), le pic de réduction observé est bien défini et très semblable à celui observé sur CV nu, tandis que sur CV/NBD (figure II.9.a), le pic de réduction est plus large et moins bien défini. Un deuxième pic est également observé à -0,18 V, indiquant un deuxième processus de réduction à ce potentiel. Pour CV/NBD, ce phénomène est cohérent avec

les mesures obtenues par AFM (figure II.7.a) sur CV/NBD, où des structures granulaires avec une surface irrégulière avaient été observées. Pour ce diazonium, l'épaisseur des couches greffées par peut alors varier et engendrer un comportement différent en fonction de la zone. La réactivité du substrat à l'égard de la réduction de AuCl_4^- n'est pas homogène sur toute la surface.

En conclusion, l'électrodépôt par voltammétrie cyclique montre des résultats différents pour les deux surfaces fonctionnalisées, en fonction du diazonium utilisé. Sur la surface CV/TPD, la réduction de Au(III) est plus facile, et l'allure des voltammogrammes indique un dépôt plus homogène. Cependant, une caractérisation des deux types de dépôts est nécessaire afin de le vérifier.

Afin d'avoir des dépôts de AuNPs plus homogènes et une meilleure reproductibilité, il est nécessaire de mieux contrôler le processus d'électrodépôt. Dans ce but, nous avons utilisé l'électrolyse à potentiel constant. Les potentiels de réduction déterminés par voltammétrie cycliques étant 0 V pour CV/NBD et 0,12 V pour CV/TPD, l'électrodépôt sera réalisé à des potentiels inférieurs : -0,07 V pour CV/NBD et 0,05 V pour CV/TPD. Afin d'optimiser l'électrodépôt, plusieurs durées d'électrolyse ont été testées, et un suivi de la fonctionnalisation a été réalisé au fur à et mesure. L'ensemble des paramètres opératoires est décrit dans le tableau II.6.

[HAuCl_4^-]	0,25.10 ⁻³ mol.l ⁻¹
[NaNO_3]	0,1 mol.l ⁻¹
Potentiel	CV/NBD : -0,07 V/ECS CV/TPD : 0,05 V/ECS
Durée	1 s, 3 s, 15 s, 30 s, 300 s et 600 s
Température	T = 25°C

Tableau II.7. Paramètres opératoires de la réalisation du dépôt des AuNPs par électrolyse à potentiel constant

Les dépôts ont d'abord été réalisés sur CV/TPD puis sur CV/NBD. Par la suite, les interfaces obtenues par électrolyse à potentiel constant seront nommées CV/NBD/AuNPs et CV/TPD/AuNPs, pour les dépôts réalisés sur CV/NBD et CV/TPD, respectivement.

V. Suivi la fonctionnalisation et caractérisation de la surface : Sondes redox et Microscopie Electronique à Balayage

Après chaque étape du processus de fonctionnalisation, les interfaces obtenues ont été caractérisées par des sondes électrochimiques et par Microscopie Electronique à Balayage (MEB-FEG) afin de vérifier, l'efficacité de l'électrodépôt ainsi que l'influence de la couche organique sur la morphologie et la distribution des AuNPs à la surface.

• Suivi par les sondes redox

Comme elles sont très sensibles à la structure de la surface du matériau étudié, les sondes électrochimiques permettent de caractériser l'état de surface de l'électrode après chaque modification. Plusieurs sondes électrochimiques sont citées dans la littérature dans des études portant sur la modification d'électrodes de carbone vitreux : $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$, $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{2+/3+}$, FcMeOH , IrCl_6^{2-} ^{185,266-271}. Chaque sonde est caractérisée par sa cinétique de transfert électronique. Dans cette étude, nous avons choisi d'utiliser $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ et $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{2+/3+}$ qui réagissent selon deux mécanismes différents :

- $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$: l'hexacyanoferrate (III) réagit selon un mécanisme de sphère interne^{269,270}. Le transfert électronique se fait à travers les ligands présents autour du centre métallique et adsorbés à la surface (figure II.10.a)²⁶⁷. Cette sonde est donc très sensible aux modifications de surface et permet d'évaluer le caractère bloquant des couches organiques greffées ainsi que les propriétés de la surface apportées par les AuNPs.

- $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+/2+}$: l'hexaamine ruthénium réagit suivant un mécanisme de sphère externe (figure II.10.b)²⁷⁰. Dans ce cas, le transfert électronique se fait à travers la couche de solvation, ce qui rend cette sonde moins sensible aux modifications de surface.

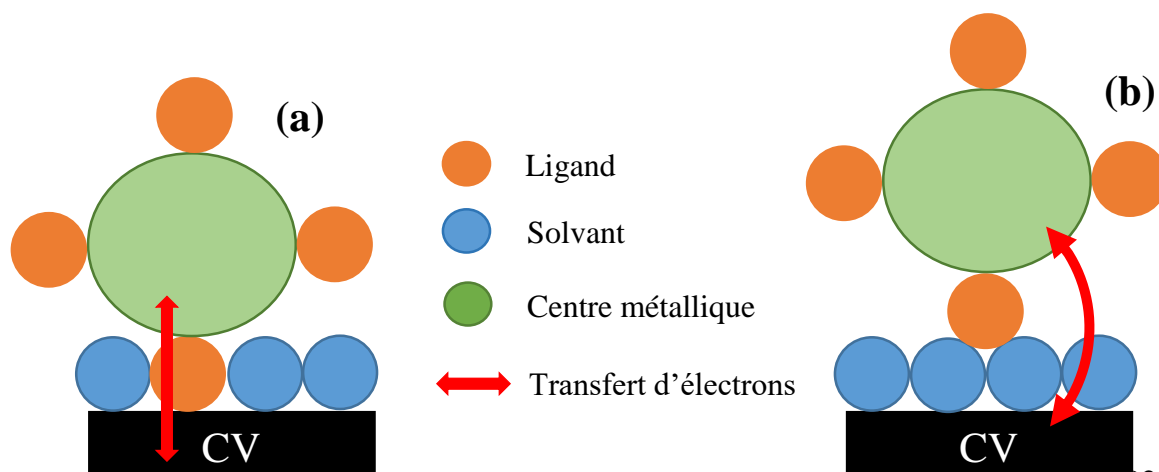


Figure II.10. Mécanismes de transfert électronique par sphère interne (a) et externe (b)

• **Caractérisation des AuNPs : Microscopie Electronique à Balayage MEB**

La microscopie électronique à balayage MEB est une technique permettant l'acquisition d'images, en haute résolution, d'échantillons disposés sur un support solide. Dans notre étude, elle a été utilisée pour visualiser et caractériser les dépôts d'AuNPs sur CV/NBD et CV/TPD. Les images obtenues avec cette technique sont d'abord traitées avec ImageJ pour obtenir des images binaires, puis analysées avec un programme de calcul Matlab développé dans notre laboratoire (Annexe I), pour déterminer le diamètre et la densité de surface des AuNPs. Les observations ont été conduites avec un microscope JEOL JEM 7800, à l'Atelier Interuniversitaire de Micro-Nano Electronique de Toulouse (AIME). Le suivi a d'abord été fait sur les interfaces CV/TPD/AuNPs afin d'étudier l'influence de la durée de l'électrolyse sur les propriétés de la surface à chaque étape du processus de la fonctionnalisation.

V.1. Interface CV/TPD/AuNPs

- **Suivi par la sonde $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$**

. La figure II.11 représente les voltammogrammes cycliques obtenus dans une solution de KNO_3 ($0,1 \text{ mol.l}^{-1}$) contenant $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ (5 mmol.l^{-1}) pour les électrodes CV, CV/TPD et CV/TPD/AuNPs préparées en faisant varier le temps d'électrodépôt des AuNPs. Les valeurs de ΔE_p , $i_{\text{pic, ox}}$ et $i_{\text{pic, red}}$ extraits de ces voltammogrammes sont récapitulés dans le tableau II.7. ΔE_p représente la différence de potentiel entre les pics d'oxydation et de réduction, et $i_{\text{pic, ox}}$ et $i_{\text{pic, red}}$ représentent les intensités des pics d'oxydation et de réduction, respectivement.

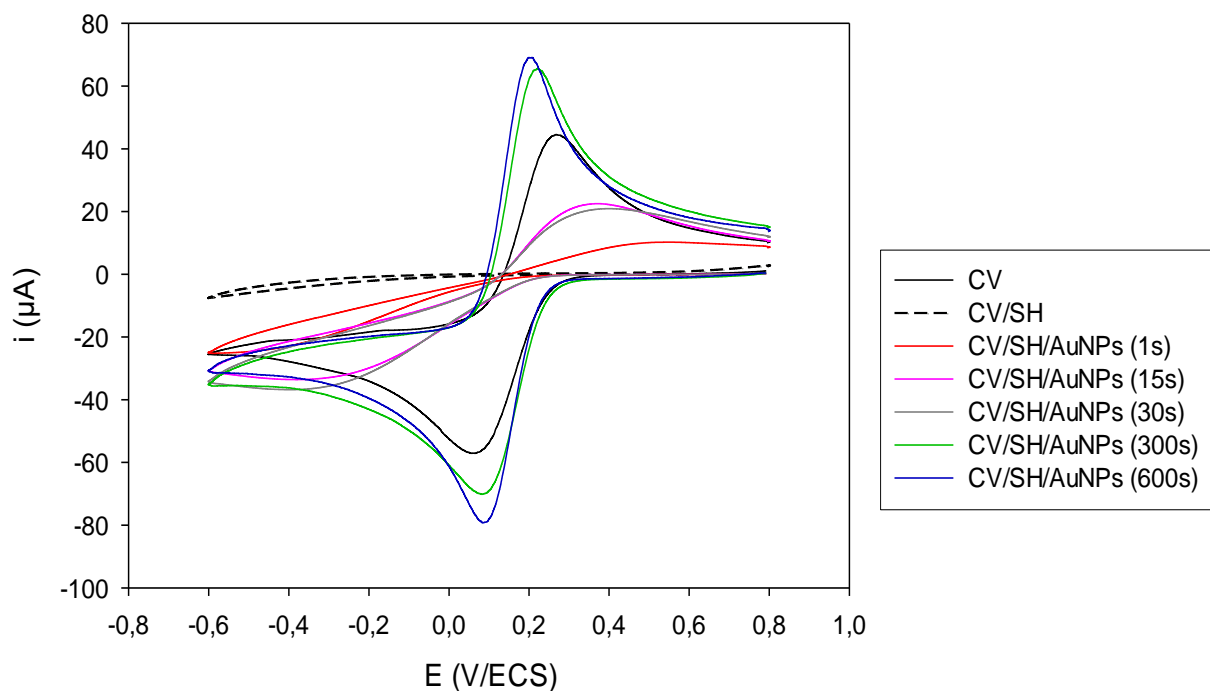


Figure II.11. Voltammogrammes cycliques tracés dans une solution KNO_3 à $0,1 \text{ mol.l}^{-1}$ contenant du $Fe(CN)_6^{3-}$ à 5 mmol.l^{-1} , $v = 0,1 \text{ V.s}^{-1}$ sur les différents types d'électrodes

Interface	ΔE_p (mV)	$ i_{pic, ox} $ (μA)	$ i_{pic, red} $ (μA)
CV	198	51	49
CV/TPD	/	/	/
CV/TPD/AuNPs (1s)	804	6	4
CV/TPD/AuNPs (15s)	573	23	13
CV/TPD/AuNPs (30s)	592	20	13
CV/TPD/AuNPs (300s)	131	72	59
CV/TPD/AuNPs (600s)	109	78	70

Tableau II.8. Valeurs de ΔE_p et i_{pic} des pics des interfaces obtenues

Le voltammogramme tracé sur CV non modifié (courbe noire) montre un système quasi réversible, similaire à celui rapporté dans la littérature avec ce type de sondes^{160,269}. Sur CV/TPD (courbe en tirets), le système observé précédemment disparaît et le signal est bloqué. Ceci s'explique par l'effet barrière de la couche organique : $Fe(CN)_6^{3-}$ suit un mécanisme de sphère

interne, il est donc très sensible aux modifications de surface^{151,195}. Ainsi, la présence de la couche organique bloque le transfert électronique. Cette tendance a déjà été observée dans les précédents travaux de notre équipe avec le même type de diazonium¹³⁹. Après dépôt des AuNPs par électrolyse à potentiel constant, le signal est restauré. Pour une durée de dépôt de 1s (courbe rouge), une restauration partielle est d'abord constatée : les valeurs de $i_{\text{pic, ox}}$ et $i_{\text{pic, red}}$ restent très faibles comparées à celle obtenues sur CV non fonctionnalisé. Lorsque la durée de l'électrolyse augmente, les pics d'oxydation et de réduction deviennent de mieux en mieux définis et leur intensité augmente, signe d'une augmentation de la surface active. Pour des durées d'électrolyse de 300s et de 600s, l'intensité des pics d'oxydation et de réduction obtenus sur CV/TPD/AuNPs(300s) et AuNPs(600s), dépassent celle mesurée sur CV nu, comme le montrent le tableau II.7 et les courbes verte et bleue de la figure II.11. Par ailleurs ΔE_p diminue progressivement de 804 mV sur CV non modifié (courbe noire de la figure II.11) à 109 mV pour CV/TPD/AuNPs(600s) (courbe bleue de la figure II.11). Cette diminution de ΔE_p est significative d'une cinétique de transfert plus rapide et est due à l'effet électrocatalytique des AuNPs. Lorsque l'électrodépôt est réalisé à 300 s et 600 s, le signal est entièrement restauré et même amélioré : les intensités des pics d'oxydation et de réductions sont supérieures à celles enregistrées sur le CV nu. Ce comportement s'explique par l'augmentation de la surface active de l'électrode grâce à la présence des AuNPs à la surface. Ce phénomène a déjà été rapporté dans la littérature, pour des nanoparticules métalliques déposées sur des substrats organiques. Chalzalviel *et al.*²⁷² a d'abord rapporté le dépôt d'AuNPs sur une électrode modifiée par une couche organique constituée de SAM (Self-Assembled Monolayers). Dans cette étude, la restauration du transfert électronique dépend de deux systèmes : le système électrode / SAM, avec une densité électronique J_0 et le système électrode / SAM / NPs, avec la densité électronique J_1 . Si J_1 est largement supérieure à J_0 , l'effet de la couche organique est considéré comme négligeable et le transfert électronique peut avoir lieu. Dans le cas contraire, et à partir d'une certaine épaisseur de la couche et d'une certaine taille des nanoparticules, le transfert est considéré comme dépendant de l'épaisseur de la couche organique. Dans notre cas, l'épaisseur des couches obtenues ne semble pas affecter le transfert électronique.

- **Suivi par la sonde $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+/2+}$:**

La figure II.12 représente les voltammogrammes cycliques obtenus dans une solution de KNO_3 (0,1 mol.l⁻¹) contenant $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+/2+}$ (5 mmol.l⁻¹) pour les électrodes CV, CV/TPD et

CV/TPD/AuNPs. Les valeurs de ΔE_p , $i_{pic, ox}$ et $i_{pic, red}$ extraits de ces voltammogrammes extraits à partir de ces voltammogrammes sont résumés dans le tableau II.8.

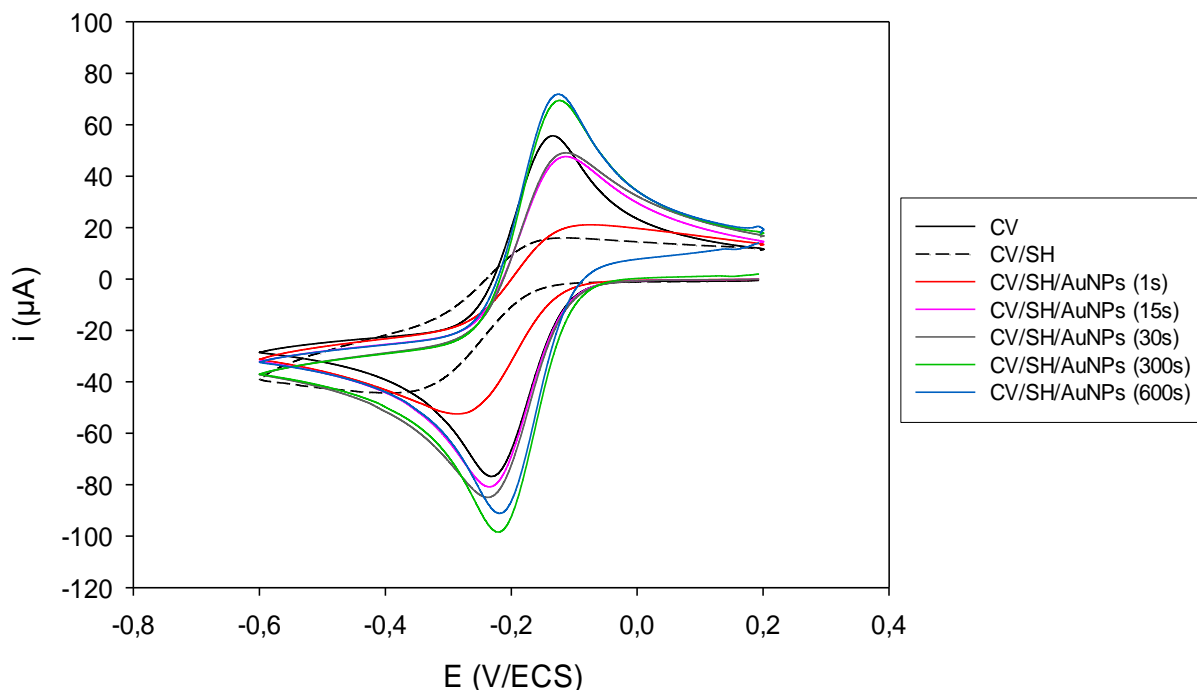


Figure II.12. Voltammogrammes cycliques tracés dans une solution de KNO_3 à $0,1 \text{ mol.l}^{-1}$ contenant du $Ru(NH_3)_6^{3+}$ à 5 mmol.l^{-1} , $v = 0,1 \text{ V.s}^{-1}$ sur les différents types d'électrodes.

Interface	ΔE_p (mV)	$ i_{pic, ox} $ (μA)	$ i_{pic, red} $ (μA)
CV	92	62	65
CV/TPD	190	23	24
CV/TPD/AuNPs (1s)	161	26	39
CV/TPD/AuNPs (15s)	111	56	69
CV/TPD/AuNPs (30s)	111	58	70
CV/TPD/AuNPs (300 s)	90	79	86
CV/TPD/AuNPs (600s)	83	79	85

Tableau II.9. Valeurs de ΔE_p et i_{pic} des pics des interfaces obtenues

La courbe noire obtenue sur le CV non modifié, montre un système redox réversible semblable à celui obtenu avec $Fe(CN)_6^{3-}$. Cependant, après greffage de la couche organique, la

sonde révèle un comportement différent : la cinétique est fortement ralentie mais le système réversible (courbe en tirets) ne disparaît pas totalement. Ainsi, des pics sont toujours observés avec un ΔE_p beaucoup plus important que celui enregistré sur CV nu ($\Delta E_p = 190$ mV), et des intensités de pics inférieures. Contrairement au $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$, $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+/2+}$ réagit selon un mécanisme à sphère externe : il est moins sensible aux modifications de surface, ce qui explique que le signal n'est pas totalement bloqué dans ce cas. Lorsque les AuNPs sont déposées à la surface, un comportement analogue à celui de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ est observé : l'électrodépôt des AuNPs pendant une seconde (courbe rouge) engendre une amélioration du transfert électronique qui se traduit par la diminution de ΔE_p (de 190 mV à 161 mV), accompagnée de l'augmentation des intensités de pics d'oxydation et de réduction. Cette amélioration est de plus en plus prononcée quand l'électrodépôt est réalisé à des durées plus longues : ΔE_p passe de 190 mV à 111 mV pour 30s (courbe grise). Enfin, le transfert est totalement restauré et amélioré par rapport au CV non modifié pour des durées d'électrolyse de 300 s et 600 s, représentées par les courbes vertes et bleues, respectivement. Les différences de potentiels des pics d'oxydation et de réduction ΔE_p enregistrées (90 mV et 83 mV pour 300 s et 600s respectivement) sont inférieures au ΔE_p enregistré pour CV nu (91 mV). D'autre part, les intensités des pics d'oxydation et de réduction sont nettement supérieures à celles mesurées pour CV nu, illustrant là encore une augmentation de surface active.

Le suivi de la fonctionnalisation par les sondes redox montre que pour des électrolyses conduites à 1s, 15 s et 30 s, le transfert électronique est toujours impacté par la présence de la couche organique à la surface. Pour des durées d'électrolyse de 300 s et 600s, la couche organique n'a plus d'influence sur le transfert électronique. Ces durées d'électrolyse semblent être les plus favorables pour un dépôt optimal.

- **Microscopie Electronique à Balayage (MEB-FEG)**

En prenant en considération les résultats du suivi de la fonctionnalisation, seules les interfaces CV/TPD/AuNPs (300 s) et CV/TPD/AuNPs (600s) sont caractérisées par MEB. La figure II.13 représente les clichés obtenus pour les deux types de dépôts, réalisés à $E = 0,05$ V. Pour des raisons pratiques, l'électrodépôt a été réalisé sur des plaques de carbone vitreux de 2 mm d'épaisseur et 3mm de diamètre. Les diamètres moyens ainsi que les densités surfaciques des AuNPs sont déterminées par un programme Matlab et présentés dans le tableau II.9. Afin de calculer les incertitudes sur le diamètre moyen, plusieurs photos (35 pour CV/TPD/AuNPs et 30

pour CV/NBD/AuNPs) ont été prises, sur différentes zones des plaques de carbone, afin d'avoir des échantillons représentatifs.

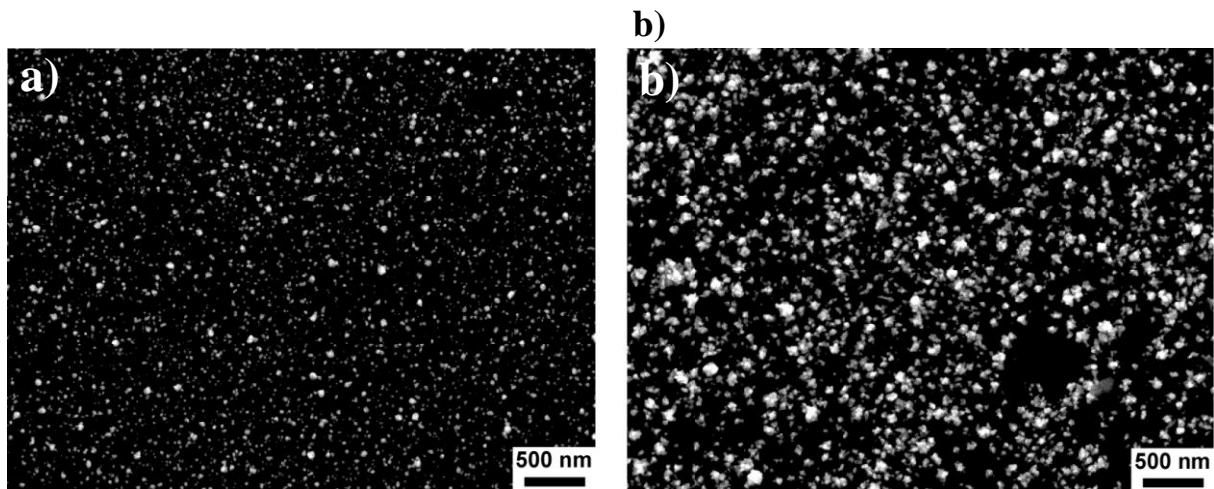


Figure II.13. Photographies MEB des AuNPs électrodéposées par électrolyse à potentiel constant sur CV/TPD à 0,05 V pendant (a) 300 sec et (b) 600 sec.

Interface	Diamètre moyen (nm)	Densité de surface (NPs/ μm^2)
CV/TPD/AuNPs (300s)	27 ± 3	158
CV/TPD/AuNPs (600s)	63 ± 6	63

Tableau II.10. Caractéristiques physiques des AuNPs.

Les clichés MEB obtenus mettent en évidence la présence des AuNPs sur les deux types de surface. Ceci confirme encore l'efficacité de l'électrodépôt des AuNPs sur les électrodes modifiées avec des films organiques relativement épais, en cohérence avec les résultats du suivi de la fonctionnalisation par les sondes redox. Cependant, en fonction de la durée de l'électrolyse, les dépôts présentent des caractéristiques différentes. Lorsque l'électrolyse est réalisée pendant 300 s (figure II.13.a), les AuNPs ont une taille moyenne égale à 27 ± 3 nm et une densité de surface de 158 NPs/ μm^2 sont obtenues. Ces dépôts sont comparables à ceux obtenus dans une étude précédente, pour des dépôts réalisés sur des électrodes de carbone non modifiées et pour la même durée d'électrolyse ; le diamètre moyen calculé était de 31 ± 3 nm¹³⁸. Lorsque la durée de l'électrolyse augmente (figure II.13.b), le dépôt montre une morphologie très différente : des

agrégats de plus grande taille sont observés dont le diamètre moyen calculé à partir des agrégats sphériques est de 63 ± 6 nm. Cette augmentation de la taille est accompagnée d'une diminution de leur nombre, la densité de surface est alors nettement inférieure à celle obtenue pour une électrolyse de 300 s : elle est égale à $63 \text{ NPs}/\mu\text{m}^2$. Ainsi, pour le même potentiel d'électrolyse, la taille des AuNPs augmente avec la durée de l'électrolyse, tandis que leur densité de surface diminue. Cette tendance s'explique par des phénomènes d'agrégation et de coalescence étant donné que le dépôt de l'or sur l'or est favorisé par rapport à celui sur le substrat modifié. Cette tendance a aussi été rapportée, lors de précédents travaux, pour des dépôts effectués à $E = 0 \text{ V}$ et $E = 0,5 \text{ V}$ sur des électrodes de carbone nu^{138,273}. Cette comparaison montre que, une fois la nucléation des AuNPs effectuée, la croissance suit globalement le même mécanisme que sur le CV, même en présence des couches organiques.

Pour conclure, en prenant en considération les résultats de la caractérisation par les sondes redox, seuls les dépôts obtenus pour des durées d'électrolyse de 300 s et 600 s permettent d'apporter à la surface un effet électrocatalytique se traduisant par un transfert de charge plus rapide que sur CV nu, accompagné d'une augmentation de la surface active. D'autre part, les observations MEB montrent des dépôts plus homogènes et plus denses pour une durée d'électrolyse de 300 s. Cette durée d'électrolyse a donc été retenue pour les dépôts réalisés sur CV/NBD, afin de comparer les dépôts obtenus sur les deux types de substrats (CV/TPD et CV/NBD).

V.2. Interfaces CV/NBD/AuNPs

Les interfaces CV/NBD/AuNPs (300 s) ont été caractérisées suivant le même protocole que celui utilisé pour les interfaces CV/TPD/AuNPs.

- **Suivi par la sonde $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$**

La figure II.14 présente les voltammogrammes cycliques obtenus dans une solution de KNO_3 ($0,1 \text{ mol.l}^{-1}$) contenant $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ (5 mmol.l^{-1}) pour les électrodes CV, CV/NBD et CV/NBD/AuNPs. Les résultats extraits de ces voltammogrammes (ΔE_p et i_{pic}) sont résumés dans le tableau II.10.

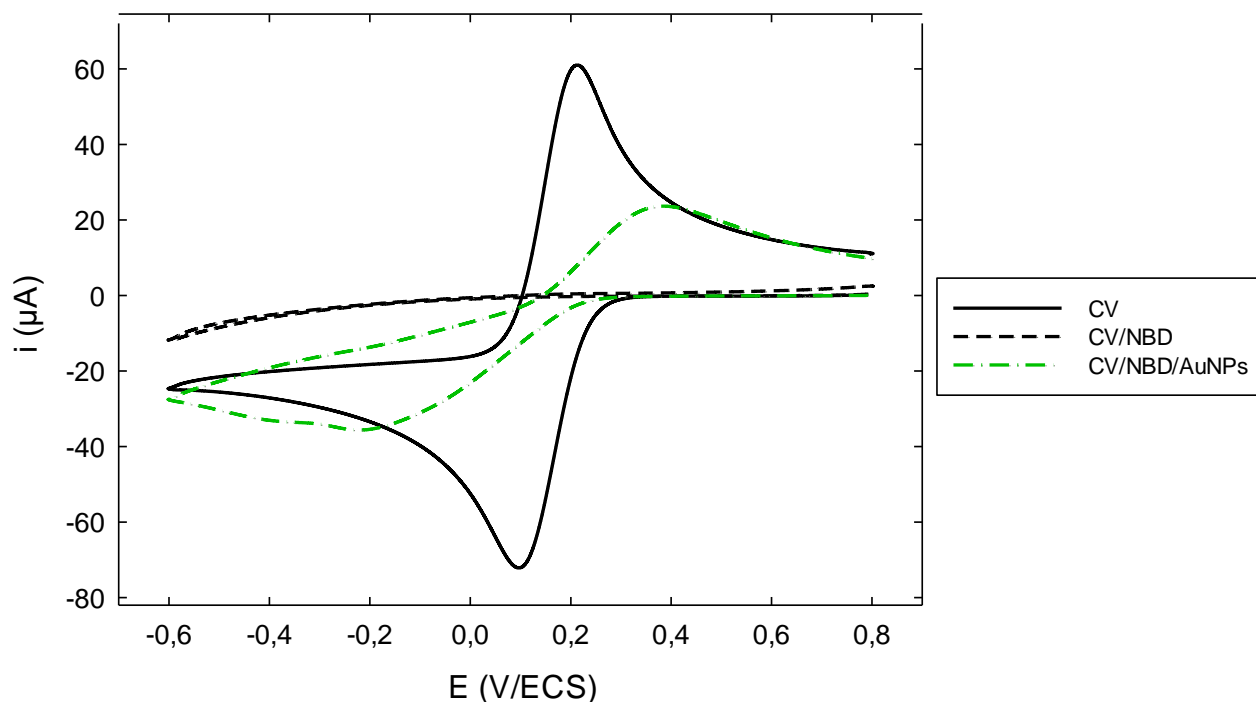


Figure II.14. Voltammogrammes cycliques tracés dans une solution KNO_3 à $0,1 \text{ mol.l}^{-1}$ contenant du $Fe(CN)_6^{3-/4-}$ à 5 mmol.l^{-1} , $v = 0,1 \text{ V.s}^{-1}$ sur les différents types d'électrodes

Interface	ΔE_p (mV)	$ i_{pic, ox} $ (μA)	$ i_{pic, red} $ (μA)
CV	121	69	65
CV/NBD	/	/	/
CV/NBD/AuNPs (300 s)	184	23	20

Tableau II.11. Valeurs de ΔE_p et i_{pic} des pics des interfaces obtenues

Sur CV nu (courbe noire) et sur CV/NBD (courbe en tirets), le comportement observé est identique à celui observé pour CV/TPD : le système quasi réversible observé sur le CV non modifié disparaît après greffage de la couche organique. Ceci montre que, quelle que soit la nature du diazonium utilisé, la couche organique inhibe fortement le transfert d'électrons. Ce phénomène s'explique par « l'effet barrière » exercé par la couche organique¹⁸⁵. En revanche, contrairement à ce qui a été observé sur CV/TPD, après l'électrodépôt des AuNPs, le signal n'est pas entièrement restauré (courbe verte). Un système plus lent, en comparaison avec CV nu, est observé avec un

$\Delta E_p = 184$ mV et des intensités nettement inférieures à celles enregistrées sur le CV seul. Afin d'expliquer ce comportement, il faut d'abord prendre en considération la difficulté d'approche de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$, due à la présence de NO_2 ²⁶⁵, et ce malgré la présence des AuNPs. Ceci pourrait être dû d'une part, à la répulsion électrostatique entre la sonde et les groupements NO_2 , et d'autre part à la nature hydrophobe des couches organiques, contrairement à $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$, qui est plutôt de nature hydrophile^{185,265}. Deux hypothèses peuvent également être envisagées :

- Hypothèse 1 : Les AuNPs sont moins accessibles sur CV/NBD que sur CV/TPD : ceci pourrait s'expliquer par la diffusion des AuNPs dans la couche organique. Cette hypothèse reste à vérifier par la caractérisation microscopique des AuNPs obtenues sur ce type de diazonium, qui permettra de déterminer leur taille.

- Hypothèse 2 : La surface active conférée par les AuNPs déposées sur CV/NBD est inférieure à celle qui résulte des AuNPs déposées sur CV/TPD. Ce résultat est en accord avec les résultats de l'électrodépôt des AuNPs par voltammétrie cyclique (section IV.3) qui ont montré que l'électrodépôt est plus favorisé sur le CV/TPD que sur CV/NBD. Le calcul de l'aire de la surface active, à partir des tailles des AuNPs obtenues constitue un moyen de valider cette hypothèse.

Afin de compléter ces observations, les charges électriques (Q) consommées lors de l'électrodépôt des AuNPs sur CV/NBD et sur CV/TPD ont été déterminées à partir de l'Équation I : la charge est représentée par l'aire sous la courbe $i = f(t)$ obtenue au cours de l'électrolyse à potentiel constant (loi de Faraday), et directement liée à la quantité de matière présente à la surface de l'électrode. Les résultats obtenus pour les deux interfaces sont consignés dans le Tableau II.11.

$$\text{Equation I. } Q(t) = \int_0^t i(t) dt$$

Interface	Q (μC)
CV/TPD/AuNPs (300 s)	2100
CV/NBD/AuNPs (300 s)	1200

Tableau II.12. Charges consommées durant l'électrodépôt.

En admettant que la totalité de la charge consommée est utilisée pour la réduction d'Au(III), on constate que la charge consommée est plus élevée lors de l'électrodépôt des AuNPs sur

CV/TPD. On peut en déduire que la quantité de nanoparticules déposée sur CV/TPD est plus importante que celle déposée sur CV/NBD. Ceci est en cohérence avec la théorie HSAB indiquant une interaction Au-SH plus forte que Au-NO₂. Ce résultat confirme également la différence de comportement des deux interfaces CV/TPD/AuNPs et CV/NBD/AuNPs lors du suivi par la sonde Fe(CN)₆^{3-/4-}, plus sensible aux modifications de surface, montrant un effet électrocatalytique amélioré et une surface active plus importante pour CV/TPD/AuNPs.

- **Suivi par la sonde Ru(NH₃)₆^{3+/2+} :**

La figure II.15 représente les voltammogrammes cycliques obtenus dans une solution de KNO₃ (0,1 mol.l⁻¹) contenant Ru(NH₃)₆^{3+/2+} (5 mmol.l⁻¹) pour les électrodes CV, CV/NBD et CV/NBD/AuNPs. Les données issues de ces courbes sont présentées dans le tableau II.12.

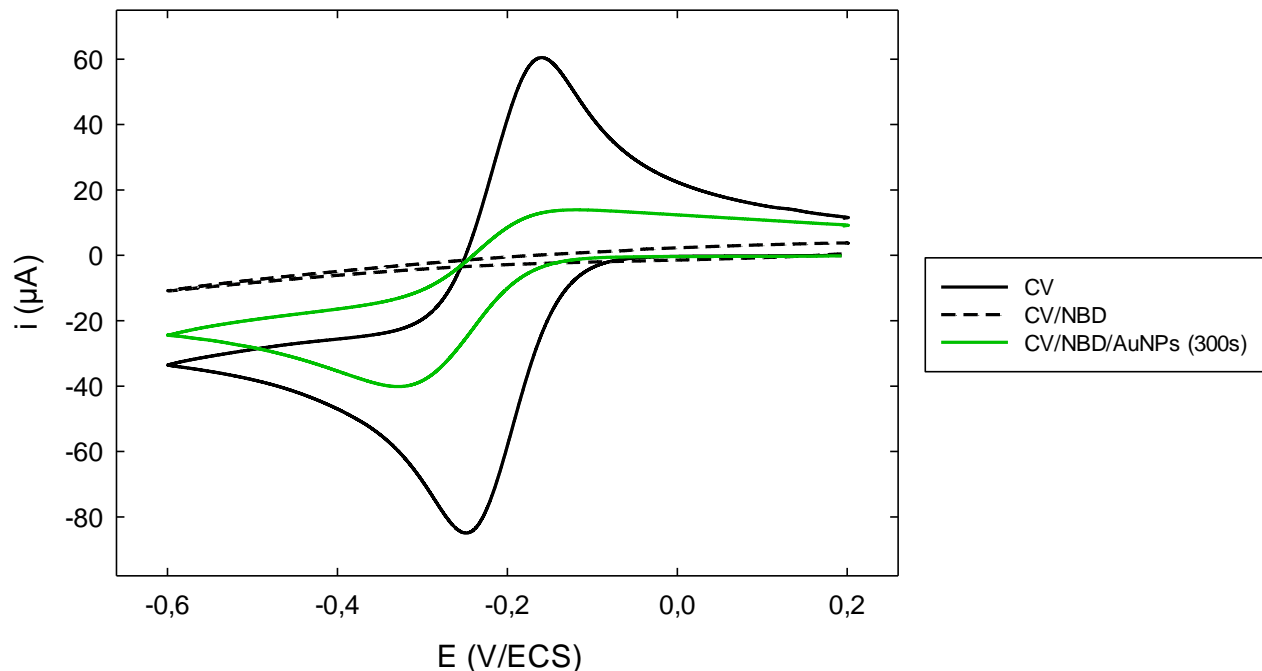


Figure II.15. Voltammogrammes cycliques tracés dans une solution de KNO₃ à 0,1 mol.l⁻¹ contenant du Ru(NH₃)₆^{3+/2+} à 5 mmol.l⁻¹, $\nu = 0,1$ V.s⁻¹ sur les différents types d'électrodes.

Sur CV nu et CV/NBD, la sonde Ru(NH₃)₆^{3+/2+} montre un comportement différent de celui observé pour CV/TPD. Après greffage de la couche organique, le transfert d'électrons est totalement bloqué. Ceci est certainement dû à la morphologie de la couche organique, son épaisseur et sa compacité, précédemment démontrées par les mesures AFM.

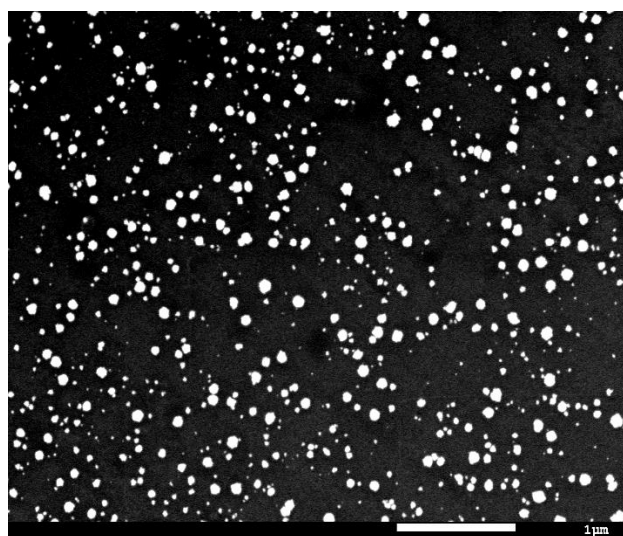
Interface	ΔE_p (mV)	$ i_{pic, ox} $ (μA)	$ i_{pic, red} $ (μA)
CV	83	72	72
CV/NBD	/	/	/
CV/NBD/AuNPs (300 s)	164	19	29

Tableau II.13. Valeurs de ΔE_p et i_{pic} des pics des interfaces obtenues.

Suite à l'électrodépôt des AuNPs, le même comportement que pour $Fe(CN)_6^{3-/4-}$ est observé : le signal est partiellement restauré, avec un ΔE_p supérieur à celui enregistré sur CV seul et des intensités des pics d'oxydation et de réduction inférieures. Contrairement à ce qui a été observé pour CV/TPD, aucune amélioration de la cinétique du transfert électronique par rapport au CV n'a été constatée lorsque les AuNPs sont déposées sur le CV/NBD.

- **Microscopie Electronique à Balayage (MEB)**

La figure II.16 représente une image MEB de l'interface CV/NBD/AuNPs. Le dépôt des AuNPs a été réalisé à $E = -0,07$ V, avec une durée de 300 secondes.



Caractéristiques du dépôt :

Diamètre moyen : 55 ± 11 nm

Densité de surface : 21 NPs/ μm^2

Figure II.16. Image MEB des AuNPs électrodéposées par électrolyse à potentiel constant sur CV/NBD à $-0,07$ V pendant 300 sec.

Les images MEB montrent clairement que les dépôts réalisés sur CV/NBD sont beaucoup moins denses (21 NPs/ μm^2 pour CV/NBD/AuNPs contre 158 NPs/ μm^2 pour CV/TPD/AuNPs) que ceux réalisés sur CV/TPD, pour la même durée d'électrolyse. Ceci est cohérent avec la différence

des charges consommées durant l'électrolyse pour les deux interfaces ainsi qu'avec les résultats du suivi par les sondes redox ayant suggéré une surface active plus faible et un transfert électronique plus faible pour CV/NBD/AuNPs. La surface étant moins couverte par les AuNPs, la présence de la couche organique exerce encore un effet gênant sur le transfert électronique pour les deux types de sondes, contrairement au cas où les AuNPs sont déposées sur CV/TPD, où l'effet de la présence de la couche devient négligeable après l'ajout des AuNPs à la surface.

En ce qui concerne la distribution des dépôts, deux types de populations peuvent être observées : des nanoparticules d'environ 90 nm de diamètre, et des nanoparticules beaucoup plus petites, dont le diamètre moyen est de 55 ± 11 nm. Cette distribution s'explique par le phénomène de coalescence des nanoparticules, plus important sur CV/NBD, étant donné que pour la même durée d'électrolyse, les AuNPs déposées sur CV/TPD avaient des tailles plus petites (27 ± 3). La morphologie de la surface CV/NBD est également à prendre en considération. En effet, les images AFM ont montré une surface irrégulière avec des structures globulaires, dont l'influence a été constatée lorsque l'électrodépôt a été réalisé par voltammétrie cyclique. Dans ce dernier cas, les voltammogrammes mettaient en évidence deux pics de réduction, attribués à deux processus de réduction ayant lieu dans deux régions différentes de la surface.

Il est maintenant possible de discuter les hypothèses émises précédemment, afin d'expliquer le comportement des sondes électrochimiques. Tout d'abord, étant donné que le diamètre moyen des AuNPs est largement supérieur à l'épaisseur des couches organiques (55 ± 11 nm contre 4 nm), l'hypothèse de diffusion de ces dernières à l'intérieur des couches ne peut être retenue. En ce qui concerne la deuxième hypothèse suggérant que la surface active disponible sur CV/TPD/AuNPs (300 s) est supérieure à celle disponible sur CV/NBD/AuNPs (300 s), le calcul de l'aire de la surface active pour chaque dépôt est réalisé à partir de l'équation suivante :

$$\text{Equation II} \quad ASA = \frac{A(\text{AuNPs}) * d * A(\text{électrode})}{2}$$

Avec :

ASA : Aire de la surface active

d : densité surfacique

A (AuNPs) : aire d'une nanoparticule d'or

A (électrode) : aire de l'électrode

Dans ce calcul, nous supposons que les AuNPs sont des demi-sphères. Comme le montre le tableau II.12, la surface active théorique calculée pour CV/TPD/AuNPs est supérieure à celle calculée pour CV/NBD/AuNPs (300s).

Interface	ASA (cm ²)
CV/TPD/AuNPs (300 s)	0,012
CV/NBD/AuNPs (300 s)	0,007

Tableau II.13. ASA obtenues pour les deux types de dépôt.

Ceci est cohérent avec les quantités de charges calculées précédemment et avec la différence de comportement observée lors de la caractérisation par les sondes électrochimiques, qui a montré qu'une restauration totale du transfert électronique est constatée sur CV/TPD/AuNPs(300s), contrairement au CV/NBD/AuNPs (300s) où la cinétique est ralentie par rapport à celle sur CV seul et sur CV/TPD/AuNPs (300 s) et le transfert est partiellement restauré malgré la présence des AuNPs à la surface. La deuxième hypothèse est donc vérifiée.

En outre, le calcul du rapport des surfaces actives obtenues pour CV/NBD/AuNPs (300s) et CV/TPD/AuNPs (300s), et la corrélation avec les rapports des intensités des pics d'oxydation et de réduction observés pour Fe(CN)₆^{3-/4-} (tableau 15) pourrait fournir une indication sur la disponibilité de la surface active, et l'accessibilité des AuNPs :

$\frac{ASA (CV/NBD/AuNPs (300s))}{ASA (CV/TPD/AuNPs (300s))}$	0,56
$\frac{ipic,ox (CV/NBD/AuNPs (300s))}{ipic,ox(CV/TPD/AuNPs (300s))} : Fe(CN)_6^{3-/4-}$	0,31
$\frac{ipic,red (CV/NBD/AuNPs (300s))}{ipic,red(CV/TPD/AuNPs (300s))} : Fe(CN)_6^{3-/4-}$	0,33

Tableau II.14. Rapports des surfaces actives et des intensités des pics.

Comme le montre le tableau II.13, le rapport des surfaces actives obtenues pour les deux interfaces est supérieur au rapport des intensités des pics d'oxydation et de réduction enregistrés. Donc, dans le cas du Fe(CN)₆^{3-/4-} la restauration du transfert électronique ne dépend pas uniquement de la surface active apportée par les AuNPs. Ceci confirme que la nature de la couche organique a un effet sur la cinétique du transfert : comme mentionné précédemment, la présence d'interactions électrostatiques répulsives entre les groupements NO₂ et Fe(CN)₆^{3-/4-}, l'hydrophobicité de la

couche organique et la nature hydrophile de la sonde constituent des facteurs qui pourraient réduire le transfert électronique.

Pour conclure, contrairement à ce qui a été observé pour CV/TPD, aucune amélioration du transfert électronique par rapport au CV n'a été constatée lorsque les AuNPs sont déposées sur le CV/NBD. En parallèle, la caractérisation des dépôts montre des dépôts plus denses, plus homogènes avec des AuNPs plus petites pour CV/TPD/AuNPs. Enfin, les calculs de charge et de surface active montrent clairement que la quantité de nanoparticules déposées est plus importante sur CV/TPD que sur CV/AuNPs, ce qui implique une surface active plus élevée sur CV/TPD/AuNPs (300s).

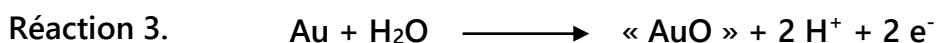
Au vu de ces observations, la surface CV/TPD semble la plus adaptée pour un dépôt optimal des AuNPs. Le choix s'est donc porté vers l'interface CV/TPD/AuNPs pour l'application à la détection du mercure.

VI. Activation de l'électrode modifiée : CV/TPD/AuNPs

Avant toute utilisation, la surface doit être activée. Cette activation a pour but de réorganiser les plans cristallographiques des atomes d'or afin d'homogénéiser la surface de l'électrode. Ces derniers possèdent différentes configurations cristallographiques, et par conséquent, différentes réactivités. L'activation sert également à éliminer les impuretés ayant pu s'adsorber au cours de l'étape de fonctionnalisation. Elle permet d'obtenir une surface avec une réactivité homogène reproductible. D'autre part, la procédure d'activation permet de déterminer la surface électroactive de l'électrode (SEA) modifiée qui peut être différente de la surface géométrique. Dans la littérature, 3 méthodes d'activation sont rapportées : thermique, chimique et électrochimique. Dans cette étude, la méthode électrochimique sera utilisée.

VI.1. Activation électrochimique

La procédure d'activation peut être réalisée par voltammétrie cyclique en milieu acide (H_2SO_4 ^{137,138,243,246,248,250,274}, HNO_3 ²⁷⁵, HClO_4 ²⁷⁶,) ou en milieu basique (NaOH ^{277,278}). Elle consiste à effectuer plusieurs balayages successifs de potentiel dans un électrolyte support, jusqu'à ce que l'allure des voltammogrammes soit stable d'un cycle à un autre. Deux phénomènes ont lieu au cours de ce processus : la formation de plusieurs types d'oxydes d'or (Réaction 3) lors du balayage aller, et la réduction de ces oxydes lors du balayage retour^{243,274–276,279}.



Ce comportement a été rapporté par plusieurs études ayant proposé des mécanismes plus détaillés expliquant les réactions mises en jeu^{257,276}. Angerstein-Kozłowska²⁷⁶ *et al.* a étudié l'électrooxydation de l'or sur une électrode d'or polycristalline par voltammétrie cyclique, comme le montre la figure II.17.

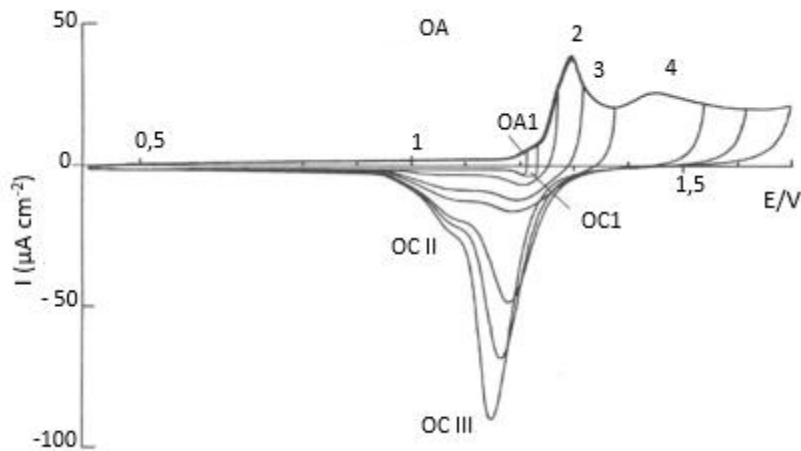
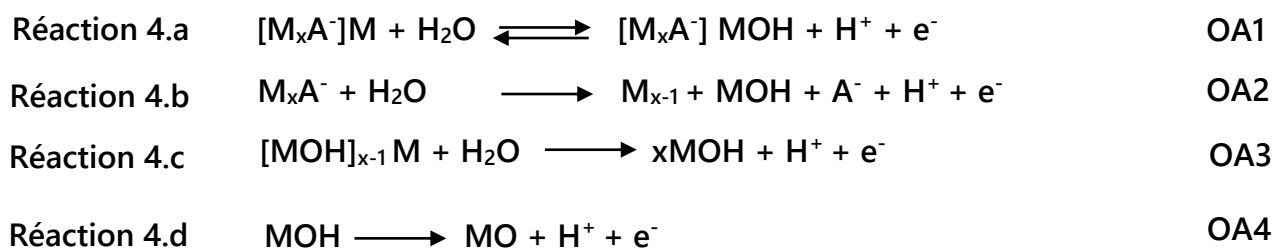


Figure II.17. Voltammogramme cyclique tracé sur une électrode d'or polycristalline dans $HClO_4$ (10^{-3} mol.l $^{-1}$), $v = 20$ mV.s $^{-1}$.²⁷⁶

Cette étude a permis d'identifier les pics observés au cours de deux balayages. Le mécanisme envisagé propose la formation d'une monocouche d'oxydes MO à partir de l'ensemble de 3 sous-réseaux d'oxydes OH, suivi de l'oxydation des fonctions hydroxydes pour donner des espèces oxydes MO selon les réactions suivantes :



Le pic OC1 observé lors du balayage retour, a été attribué à la réaction inverse à celle de OA1, tandis que les autres pics ont été attribués à la réduction des espèces formées au cours du balayage aller. Wang *et al*²⁷⁴. ont également rapporté un mécanisme à trois étapes, en milieu acide, constitué de la formation de la monocouche d'oxydes Au-OH, suivi de l'oxydation des espèces A(II) et Au(III) pour former un mélange d'oxydes. La réduction de ces oxydes permettrait de "rafraîchir" et

de nettoyer la surface en effectuant des voltammétries successives. Cette procédure est également valable pour des nanoparticules d'or, étant donné que ces dernières adoptent un comportement proche de celui de l'or massif. Ainsi, l'activation des électrodes fonctionnalisées avec des nanoparticules d'or par voltammétrie cyclique en milieu acide a largement été utilisée^{248,274,280,281}.

En plus de la formation des oxydes d'or à la surface de l'électrode, un phénomène de dissolution de l'or peut également être observé. Cadle *et al.* a étudié le comportement d'une électrode en or par voltammétrie cyclique en milieu acide (H₂SO₄), et montré que la dissolution de l'or avait lieu à des potentiels supérieurs à 1,3 V et conduirait à la diffusion de Au(III) dans la solution. Pour des potentiels supérieurs à 1,45 V, la présence de Au(I) dans la solution est également observée. Le phénomène de dissolution est aussi observé sur des électrodes modifiées par des nanoparticules d'or. Dans une étude récente menée dans notre équipe portant sur la fonctionnalisation d'une électrode de carbone vitreux par drop-casting de nanoparticules d'or synthétisées chimiquement, il a été établi que les nanoparticules ayant les tailles les plus petites se dissolvent et diffusent dans la solution au cours du 1^{er} balayage. Les espèces formées se redéposent, en partie, par la suite, au cours du 2^{ème} balayage, sur les AuNPs présentes à la surface pour former des AuNPs de plus grande taille. Il en résulte alors une diminution de la surface active de l'électrode¹³⁹. Cette tendance a aussi été mise en évidence par Cruickshank *et al*²⁸², dans une étude réalisée sur la stabilité des électrodes modifiées par des nanoparticules d'or et des films d'éthylènediamine. Dans cette étude, la dissolution de l'or a lieu à des potentiels supérieurs à 1,50 V lors du balayage anodique, suivie du redépôt de l'or dissous au cours du balayage de retour. Steven *et al*²⁸³, ont également mis en évidence ce phénomène à travers l'étude du comportement des nanoparticules d'or lors de voltammétries cycliques successives dans H₂SO₄, couplées à des observations microscopiques. Ainsi, la stabilité de la surface électroactive s'est révélée dépendante de la taille des nanoparticules. Pour les AuNPs les plus petites (3nm), une perte de surface active a été observée au cours de 100 balayages successifs.

•Calcul de la surface électroactive SEA

L'activation de l'électrode par voltammétrie cyclique permet d'accéder à la surface électroactive réelle, différente de la surface géométrique du matériau. Le calcul de la surface électroactive se fait à partir de la quantité d'électricité consommée lors de la réduction des oxydes d'or, selon l'équation suivante :

$$SEA = \frac{Q_{pic}}{Q_{oxydes}} = \frac{A_{pic}}{v Q_{oxydes}}$$

Avec :

Q_{pic} : charge calculée par l'intégration du pic de réduction des oxydes d'or.

Q_{oxydes} : charge associée à la réduction d'une monocouche d'oxydes sur 1 cm^2 . Dans le cas de l'or, cette charge est égale à $386 \mu\text{C.cm}^{-2}$

A_{pic} : Aire sous le pic de réduction des oxydes d'or.

v : Vitesse du balayage

Pour le calcul de la SEA, l'intégration est réalisée sur l'ensemble des pics de réduction apparus au cours du balayage cathodique (OCII et OCIII, voir figure 19).

VI.2. Protocole d'activation de l'électrode fonctionnalisée

L'activation de l'interface CV/TPD/AuNPs est réalisée par voltammétrie cyclique dans H_2SO_4 . L'ensemble des paramètres de la procédure est précisé dans le tableau II.14.

[H₂SO₄]	$0,5 \cdot 10^{-3} \text{ mol.l}^{-1}$
Bornes de potentiel	De 0,2 V/ECS à 1,4 V/ECS
Vitesse de balayage	$0,1 \text{ V.s}^{-1}$
Nombre de scans	10
Pas de potentiel	$0,00244 \text{ V.s}^{-1}$
Température	$T = 25^\circ\text{C}$

Tableau II.15. Paramètres de la procédure d'activation

La figure II.17 présente les voltammogrammes cycliques obtenus pour l'interface CV/TPD/AuNPs, lors du 1^{er} et du 10^{ème} scan. La courbe d'activation de l'interface CV/TPD/AuNPs met clairement en évidence les mécanismes d'oxydation et de réduction rapportés dans la littérature. De même, les voltammogrammes obtenus sont très similaires à ceux obtenus précédemment pour des interfaces CV/AuNPs, préparées par électrodépôt de nanoparticules d'or sur CV nu, par électrolyse à potentiel constant^{138,248}, dont un exemple est présenté sur la figure II.18. Au 1^{er} scan, un pic large correspondant à la formation des différents oxydes d'or est observé entre 1 V et 1,35 V. L'évolution de l'allure de ce pic du 1^{er} au 10^{ème} scan indique un changement

au niveau des ratios des plans cristallographiques situés à la surface, suite aux mécanismes d'oxydation évoqués précédemment.

La réduction des oxydes d'or formés est mise en évidence par un unique pic de réduction bien défini et situé à 0,817 V. Les caractéristiques de ce pic au 1^{er} et au 10^{ème} scan sont résumées dans le tableau II.15.

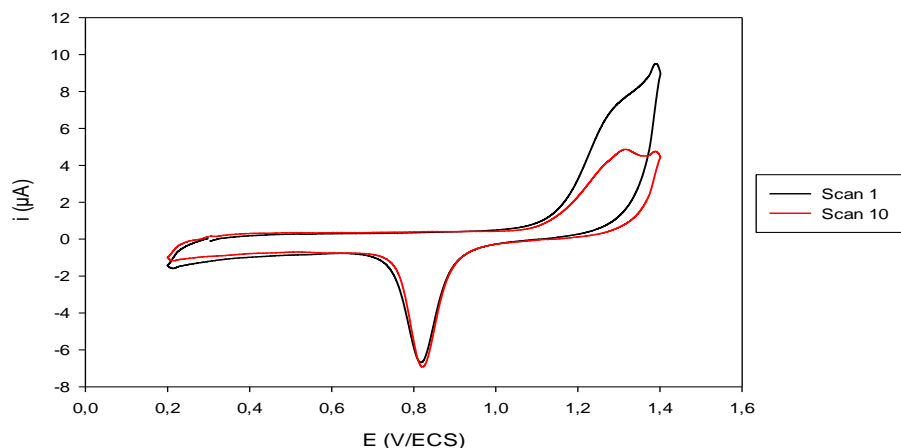


Figure II.18. Voltammogrammes cycliques tracés sur CV/TPD/AuNPs (300 s) dans H₂SO₄ (0,5 mol.l⁻¹), $v = 0,1 \text{ V.s}^{-1}$

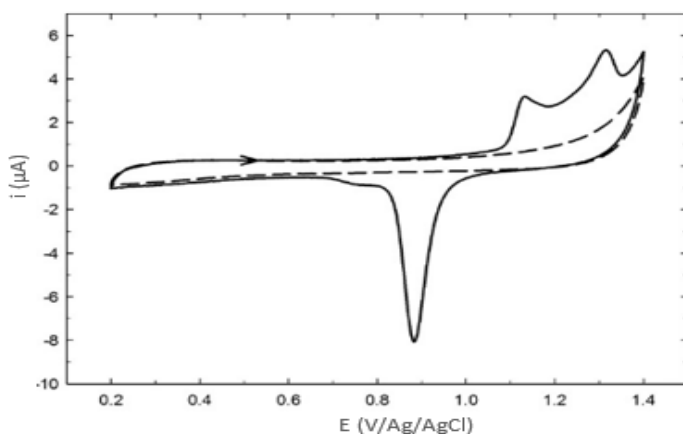


Figure II.18. Voltammogrammes cycliques tracés dans H₂SO₄ (0,5 mol.l⁻¹), $v = 0,1 \text{ mV.s}^{-1}$, sur CV nu (tirets) et CV/AuNPs (trait plein), adaptée de la bibliographie¹³⁸

	1^{er} cycle	10^{ème} cycle
E (V/ECS)	0,817	0,822
i (μC)	- 6,25	- 6,58
SEA (cm²)	0,016	0,017

Tableau II.16. Caractéristiques du pic de réduction des oxydes d'or

On constate que l'intensité du pic de réduction des oxydes d'or augmente légèrement du 1^{er} au 10^{ème} scan. Le même comportement a été observé lorsque l'électrodépôt des AuNPs a été réalisé sur une électrode de carbone non modifiée par des couches organiques¹³⁸. En revanche, lorsque les AuNPs sont synthétisées chimiquement et déposées par drop-casting sur une surface CV/TPD, une diminution progressive de l'intensité du pic de réduction est rapportée¹³⁹. Ceci pourrait suggérer que la méthode de fonctionnalisation de l'électrode, ou de préparation des AuNPs a une influence sur la stabilité des AuNPs, et que les AuNPs électrodéposées sont plus stables. De même, la stabilité des AuNPs pourrait aussi être liée à leur taille. En effet, les AuNPs synthétisées chimiquement ont une taille moyenne de 18 nm, tandis que les AuNPs électrodéposées sur CV et CV/TPD ont des tailles moyennes de 31 nm et 27 nm, respectivement. Or, les AuNPs de plus grande taille sont plus stables.

Cependant, la légère augmentation de la SEA représentée sur la figure 16 n'est pas systématiquement observée lors de l'activation des électrodes modifiées : une faible perte de SEA (de 2 à 4%) est parfois observée sur certaines interfaces CV/TPD/AuNPs fonctionnalisées suivant le même protocole. Cette perte de surface, dont l'origine est le phénomène de dissolution et du redépôt de l'or évoqué dans la littérature^{282,283}, pourrait indiquer une réactivité différente des AuNPs obtenues par le même protocole de fonctionnalisation. Cette différence de réactivité peut avoir pour origine la reproductibilité du protocole d'électrodépôt, ou bien la reproductibilité de la méthode d'activation. D'autre part, une augmentation du potentiel du pic de réduction est constatée, confirmant le réarrangement des atomes à la surface.

Le calcul de la surface électroactive SEA montre qu'après le premier balayage, celle-ci est légèrement supérieure à la surface théorique calculée dans la section V.2 (0,012 cm²), ce qui n'est pas tout à fait aberrant, en prenant en considération les incertitudes au niveau du calcul des diamètres moyens des AuNPs sur les différentes zones du dépôt.

Pour conclure, l'activation par voltammétrie acide permet de réorganiser les plans cristallographiques de l'or à la surface de l'électrode et de l'homogénéiser, malgré une possible légère perte de surface électroactive. Par manque de temps, l'utilisation d'une autre méthode d'activation afin de vérifier l'origine de cette perte de SEA n'a pas été réalisée.

VII. Conclusion

Dans ce chapitre, deux interfaces CV/TPD/AuNPs, et CV/NBD/AuNPs ont été mises au point par greffage d'une couche organique, suivi de l'électrodépôt de nanoparticules d'or.

En premier lieu, le greffage des couches organique a été réalisé par réduction électrochimique de deux types de sels de diazonium : le 4-nitrobenzène diazonium et le 4-thiophénol diazonium. La caractérisation des deux types de couches organiques par microscopie à force atomique a permis de déterminer une épaisseur de 4 nm, correspondant à celle de multicouches.

En second lieu, les AuNPs ont été électrodéposées sur les surfaces CV/TPD et CV/NBD. La voltammétrie cyclique a d'abord été employée pour étudier le mécanisme d'électrodépôt sur chaque surface et pour déterminer les potentiels de dépôt correspondants. Ensuite, l'électrodépôt a été réalisé par électrolyse à potentiel constant, afin d'avoir des dépôts reproductibles et plus homogènes.

Le suivi de la fonctionnalisation des deux surfaces CV/TPD/AuNPs et CV/NBD/AuNPs a été effectué par les sondes électrochimiques $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ et $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{2+/3+}$. Pour CV/TPD/AuNPs, la sonde $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ a montré un blocage total du signal après greffage de la couche organique dû à l'effet barrière exercé par cette dernière, tandis que la sonde $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{2+/3+}$ a montré un blocage partiel étant moins sensible aux modifications de surfaces. Après électrodépôt des AuNPs à des durées d'électrolyse de 300 s et 600 s, les deux sondes ont mis en évidence la restauration totale du transfert électronique et son amélioration par rapport à celui observé sur CV non modifié. Ceci est dû à l'effet électrocatalytique apporté par les AuNPs. Pour CV/NBD/AuNPs, le même comportement a été observé après greffage de la couche organique. En revanche, aucune amélioration du transfert électronique n'a été constatée après électrodépôt des AuNPs, contrairement à ce qui a été observé sur CV/TPD/AuNPs.

Ainsi, le suivi de la fonctionnalisation par les sondes redox a permis de confirmer la présence de la couche organique à la surface de l'électrode et de mettre en évidence l'influence du type de diazonium sur l'électrodépôt des AuNPs. De même, ce suivi a également mis en évidence le dépôt effectif des AuNPs sur des couches organiques épaisses.

Afin de compléter ces résultats, des observations par microscopie électronique à balayage ont été menées sur les deux surfaces CV/TPD/AuNPs et CV/NBD/AuNPs. Pour la même durée d'électrolyse (300 s), le dépôt est plus dense et plus homogène sur CV/TPD/AuNPs que sur CV/NBD/AuNPs. De plus, la taille des AuNPs obtenues est plus petite sur CV/TPD/AuNPs. La caractérisation des dépôts d'AuNPs a permis de calculer l'aire de la surface active pour les deux surfaces. Cette dernière est plus élevée sur CV/TPD/AuNPs que sur CV/NBD/AuNPs. Ces observations sont en accord avec les quantités de charges calculées lors de l'électrodépôt par électrolyse à potentiel constant, ayant montré que la charge consommée est plus élevée lorsque l'électrodépôt des AuNPs est réalisé sur CV/TPD, indiquant une quantité d'AuNPs plus importante sur cette surface.

Au vu de ces résultats, la surface CV/TPD semble la plus favorable pour l'électrodépôt des AuNPs. Par conséquent, le choix s'est porté vers l'interface CV/TPD/AuNPs pour les détections de mercure. L'électrode a alors été soumise à une activation électrochimique par voltammétrie cyclique en milieu acide. D'une manière générale, l'interface a montré une bonne stabilité au cours des cycles d'activation successifs : dans la majorité des cas une légère hausse de la surface active était observée. Toutefois, dans certains cas, une légère perte de surface active était aussi observée, conséquence du phénomène de dissolution et de redépôt de l'or. Une autre méthode d'activation pourrait alors être envisagée afin d'étudier l'influence de la méthode sur la stabilité des AuNPs. Cela n'a pas été possible dans le cadre de cette étude, où seule l'activation par voltammétrie cyclique dans H₂SO₄ a été utilisée.

L'interface finale CV/TPD/AuNPs ainsi obtenue sera mise en application pour la détection de traces de Hg²⁺.

Chapitre III

Application : détection de Hg(II) et
évaluation des performances analytiques du
capteur

I. Introduction

L'objectif principal de ces travaux est de développer des interfaces plus stables par rapport à celles élaborées sans couches organiques. Ces capteurs étant destinés à la détection du mercure en milieu naturel, ils devraient permettre d'atteindre une limite de détection compatible avec les taux de mercure autorisés par la législation internationale, et pouvoir doser sélectivement le mercure dans des milieu naturels complexes.

Ce chapitre a donc pour but d'évaluer les performances analytiques du capteur élaboré à partir de l'interface CV/TPD/AuNPs(300s), dont le protocole de fonctionnalisation a été établi dans le chapitre II, pour la détection de Hg(II). En premier lieu, nous allons présenter la méthode de détection utilisée après optimisation des différents paramètres pouvant influencer la réponse électrochimique de l'interface. Ensuite, la sensibilité du capteur sera étudiée en réalisant des tests de détection dans différentes gammes de concentrations, de l'ordre du nM puis du pM. Par la suite, la sélectivité du capteur à l'égard du mercure, sera évaluée en présence de plusieurs cations métalliques. Cette étape permet de prédire le comportement du capteur en milieu naturel. Enfin, nous allons suivre la stabilité des capteurs au stockage dans différentes conditions de stockage.

Après étude des performances analytiques du capteur en milieu synthétique, des tests de détection seront conduits dans des échantillons naturels, afin de déterminer la concentration de mercure dans ces échantillons et de la comparer à celle déterminée par CV-AFS.

II. Réactifs et appareillage

II.1 Produits chimiques et manipulation des solutions

Toutes les solutions mentionnées dans ce chapitre ont été préparées avec de l'eau ultrapure (Milli-Q, Millipore, 18.2 MΩ cm). L'acide chlorhydrique HCl (30% w/w) de grade Suprapur, utilisé pour préparer les solutions étalon de Hg²⁺ et la solution électrolytique HCl (0,01 mol.l⁻¹), et la solution standard de Hg(NO₃)₂ (1 g.l⁻¹ dans HNO₃), utilisée pour la préparation des solutions étalon de Hg²⁺, sont fournis par Merck. Les solutions standard utilisées lors de l'étude des interférences ont été préparées à partir des solutions suivantes :

- Vanadium, chrome, argent et cuivre (1 g.l⁻¹ dans HNO₃) : SCP Science.
- Zinc, cadmium, nickel (1 g.l⁻¹ dans HNO₃): SPEX CertiPrep.
- Cobalt (1 g.l⁻¹ dans HNO₃): Sigma Aldrich

- Plomb ($10 \mu\text{g.l}^{-1}$ dans HNO_3) : Alfa Aesar

L'analyse d'échantillons contenant du mercure à très faible concentration est une opération très délicate. La manipulation du matériel et des réactifs utilisés implique donc plusieurs mesures de précaution spécifiques afin de limiter la contamination des échantillons lors de la préparation, le stockage ou l'analyse, pouvant induire des erreurs non négligeables^{13,284}. Cette contamination peut avoir pour origine le matériel utilisé, les produits chimiques ou encore l'atmosphère et la qualité de l'eau. Dans cette étude, les précautions suivantes sont prises afin d'assurer un environnement de travail convenable pour ce type d'expérience. Les flacons contenant la solution standard de $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ et la solution commerciale d' HCl doivent être bien fermés avec un bouchon et enveloppés par la suite avec du parafilm pour assurer la protection des solutions des impuretés et pour éviter toute contamination. Les solutions étalons analysées sont préparées quotidiennement, avant chaque mesure, et conservées dans des vials en verre fermés avec des bouchons en PTFE (Polytétrafluoroéthylène), à usage unique, et du parafilm, puis enveloppés dans deux sacs plastiques en polyéthylène, à l'écart de la solution commerciale $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$. De même, les solutions les plus concentrées sont toujours stockées à l'écart des solutions les moins concentrées. Les vials doivent toujours être en position verticale pour éviter tout contact entre la solution et les bouchons. La solution électrolytique HCl ($0,01 \text{ mol.l}^{-1}$) est préparée à l'avance ou le jour même de l'analyse et stockée dans une bouteille en verre dans les mêmes conditions que les solutions commerciales et les solutions étalons.

Afin de limiter la contamination des solutions par le matériel, l'ensemble de la verrerie utilisée pour la préparation et le stockage des différentes solutions analysées (vials, bouteilles de stockage de la solution d' HCl ($0,01 \text{ mol.l}^{-1}$) et fioles jaugées) ainsi que les cellules électrochimiques et les allonges en verre utilisées pour l'électrode de référence sont systématiquement nettoyées avec de l'eau ultrapure puis par calcination à 540°C pendant 2h, avant chaque utilisation. Des gants nitrile et sans poudre doivent être utilisés et changés aussi souvent que possible pendant la manipulation des échantillons.

II.2 Appareillage

Les mesures électrochimiques réalisées dans ce chapitre utilisent un montage à trois électrodes, identique à celui mentionné dans le chapitre 2, avec une tige de carbone vitreux comme électrode auxiliaire. Les concentrations mesurées étant très faibles, le montage est placé dans une

cage de faraday, pour éviter toute interférence électrique pouvant impacter la mesure. L'ensemble est relié à un potentiostat PGSTAT 128N (Metrohm Autolab) piloté par un ordinateur équipé du logiciel NOVA 2.2. La rotation de l'électrode de travail est pilotée par une unité de contrôle de rotation Radiometer, liée au potentiostat. Avant toute mesure, la solution électrolytique est désaérée par barbotage d'azote pendant 10 minutes. Toutes les mesures sont réalisées à température ambiante afin de se rapprocher des conditions de mesure en milieu réel.

III. Méthode de détection

Dans ce travail, nous avons choisi comme méthode de détection la redissolution anodique à vague carrée SWASV (Square Wave Anodic Stripping Voltammetry), largement utilisée pour la détection d'éléments traces métalliques Hg^{2+} ^{98,116,121,126,139,285-295}. Le principe général de cette technique consiste en le dépôt du métal étudié à la surface de l'électrode suivi de sa redissolution, au cours de laquelle un signal proportionnel à la concentration est mesuré. En plus d'être compatible avec les mesures *in situ*, cette méthode permet d'obtenir une bonne sensibilité et sélectivité envers l'élément étudié²⁹³. Concrètement, la procédure de détection se compose de 3 étapes, représentées sur la figure III.1 :

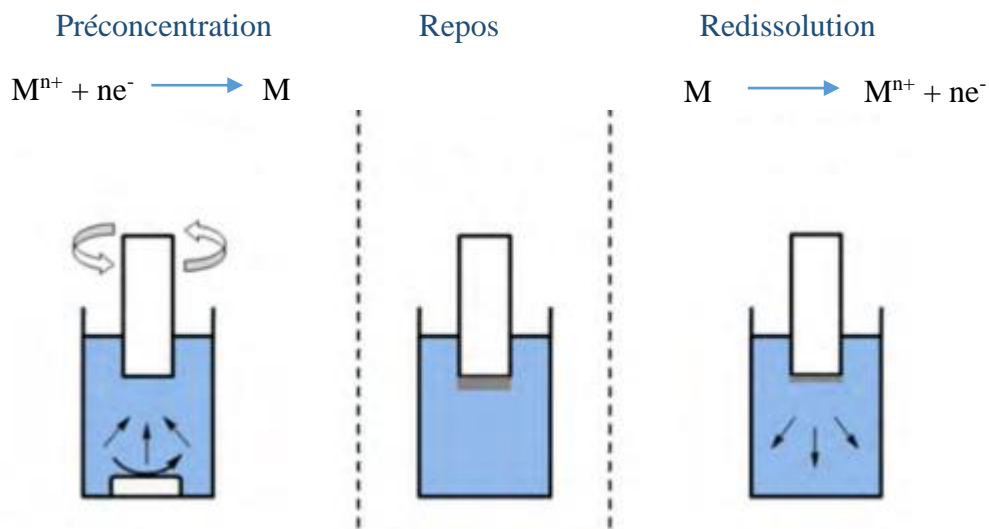


Figure III.1. Principe de la redissolution anodique

- **Etape de préconcentration :** au cours de cette étape, un potentiel est imposé pendant une durée précise, quelques minutes en général²⁹⁶, afin de réduire les cations métalliques M^{n+}

présents dans la solution, à la surface de l'électrode. La rotation de l'électrode est nécessaire afin de favoriser le transport de matière vers la surface de l'électrode. La concentration du métal accumulé à la surface de l'électrode est donc largement supérieure à celle dans la solution, d'où la possibilité de détecter des concentrations très faibles, allant jusqu'à 100 pM²⁹⁶.

- **Étape de repos** : cette étape sert à l'arrêt de la convection dans la solution et à homogénéiser le milieu après arrêt de la rotation de l'électrode et de l'électrolyse à potentiel constant.
- **Étape de redissolution** : au cours de cette étape, une rampe de potentiel est appliquée et le métal accumulé à la surface de l'électrode se réoxyde et se redissout dans la solution, en générant un pic permettant la quantification de l'espèce en solution. La rampe appliquée peut être linéaire ou à vague carrée. Cette dernière est utilisée dans ce travail car elle permet d'améliorer la sensibilité du capteur en réduisant la composante capacitive sur le signal obtenu. Elle est représentée par la figure III.2, où les points rouges correspondent aux points de mesure du courant

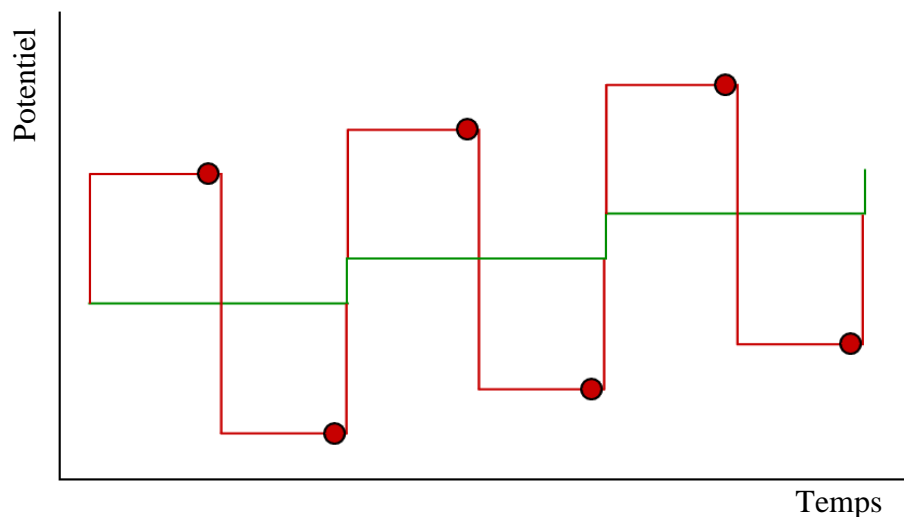


Figure III.2. Rampe de potentiel à vague carrée

Pour toutes les détections, la technique du « blanc analytique » a été utilisée. Cette technique consiste à effectuer deux mesures successives, avec des temps de préconcentration différents (Figure III.3.a).

- Une première mesure avec un temps de préconcentration donné ($t = 300$ s dans le cadre de cette étude) : le signal résultant est appelé « signal analytique » et représenté par la courbe noire, sur laquelle apparaît le pic attribué à l'oxydation du mercure, à 0,48 V.
- Une deuxième mesure avec un temps de préconcentration plus court, correspondant à 10% du temps de préconcentration de la mesure précédente (ici $t = 30$ s) : le signal résultant est appelé « blanc » et représenté par la courbe rouge.

La soustraction du « signal blanc » du « signal analytique » permet d'obtenir le signal final résultant de la redissolution du Hg^{2+} , présenté sur la figure III.3.b. L'usage de cette technique est très répandu dans la détection de mercure avec des électrodes en or, ou des électrodes modifiées avec des nanoparticules d'or, afin d'éliminer les bruits de fond et la large ligne de base, résultant de la présence des ions Cl^- dans le milieu^{124,138,250,295,297,298}. Ainsi elle permet d'obtenir une meilleure résolution et une exploitation plus précise du pic correspondant à l'oxydation du mercure préconcentré.

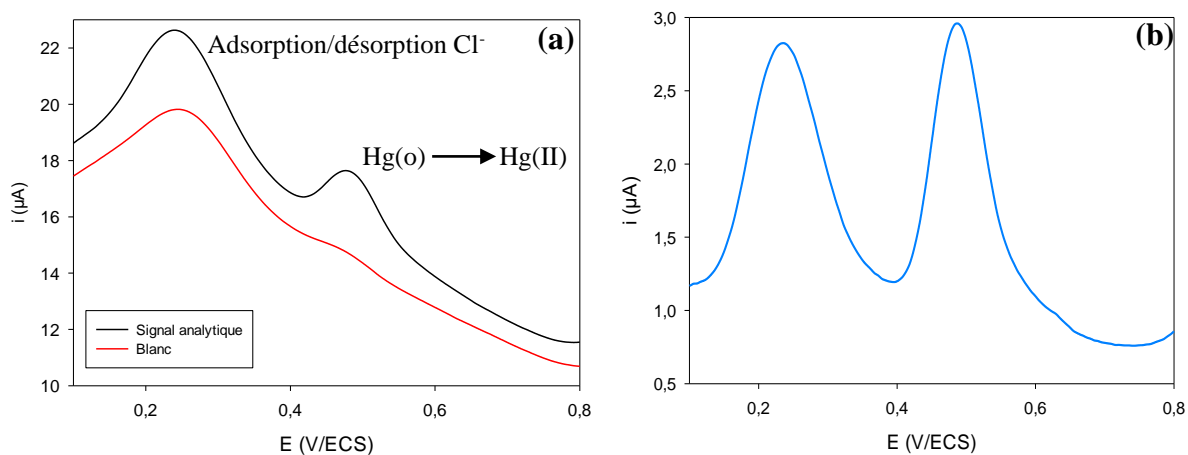


Figure III.3. SWASV enregistrées sur une électrode CV/TPD/AuNPs (300s) avec des temps de préconcentration de 300 s (courbe noire) et 30 s (courbe rouge) (a) et signal final obtenu par la méthode du blanc analytique (b).

Le voltammogramme obtenu par cette méthode et représenté par la courbe en bleu sur la figure 3.b, montre deux pics distincts : le premier est situé entre 0,15 et 0,4 V et correspond à la désorption des ions Cl^- , comme démontré lors des études précédentes²⁹⁵. Le deuxième pic, situé entre 0,4 et 0,6 V correspond à la réoxydation du mercure. Afin d'améliorer la limite de détection du capteur et en se basant sur les études précédentes menées dans notre équipe sur la détection de

Hg^{2+} par des électrodes modifiées par des AuNPs²⁵⁰, une étape de désorption des ions chlorures a été intégrée dans la procédure de détection, avant l'étape de redissolution. Cette étape est réalisée à potentiel constant ($E = -0,8 \text{ V/ECS}$), mais en maintenant la rotation de l'électrode. Plusieurs durées de désorption sont testées : 60 s, 120 s, 180 s, 240 s, 300 s.

Comme le montre la figure III.4, l'intensité du pic d'oxydation du mercure atteint un maximum lorsque la désorption est réalisée pour une durée de 120 s puis diminue drastiquement, probablement à cause d'une perte de surface active. Une durée de 120 s est donc choisie pour la suite de l'étude.

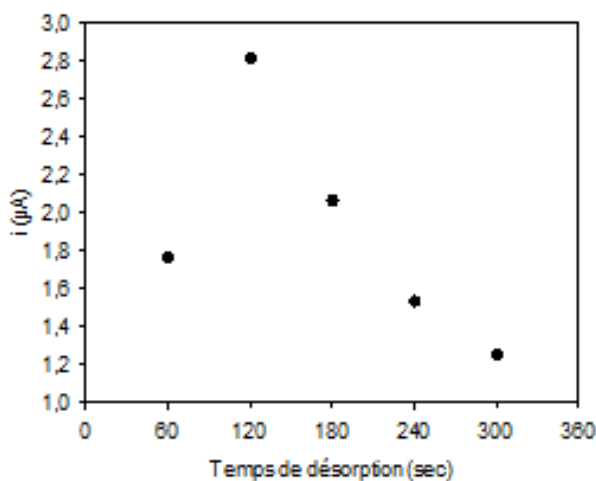


Figure III.4. Evolution de l'intensité du pic d'oxydation de Hg en fonction du temps de désorption

Par ailleurs, l'utilisation répétitive de la même électrode pour des détections successives de Hg^{2+} nécessite l'ajout, dans la procédure, d'une étape de nettoyage après chaque mesure afin de renouveler la surface et d'enlever la totalité du mercure déposé, avant d'entamer une deuxième mesure²⁹⁹. Dans cette étude, cette étape a été rajoutée à la fin de chaque mesure, à potentiel constant ($E = 0,8 \text{ V/ECS}$) et sans rotation de l'électrode. Afin de déterminer la durée de nettoyage optimale pour la gamme de concentrations à étudier, des détections successives ont été réalisées sur la même électrode, avec des durées de nettoyage différentes. Comme le montre la figure III.5.a, pour une durée de nettoyage de 15 s, l'intensité du pic d'oxydation du mercure augmente d'une mesure à une autre, pour devenir stable à partir de la 3^{ème} mesure. Pour des durées de nettoyage plus longues : 30 s et 60 s, l'intensité du pic, présentée sur les figures III.5.b et III.5.c, diminue à partir de la 2^{ème}

mesure. La prolongation de l'étape de nettoyage peut donc s'avérer agressive pour la surface : le potentiel de nettoyage $E = 0,8 \text{ V}$ pourrait être suffisamment élevé pour oxyder les AuNPs les plus petites à la surface de l'électrode. De ce fait, maintenir l'électrolyse à potentiel constant pendant une durée prolongée pourrait causer la dissolution des AuNPs. Ceci pourrait engendrer une perte de surface active. Ainsi, la durée de 15 s semble être optimale pour éviter d'endommager les AuNPs.

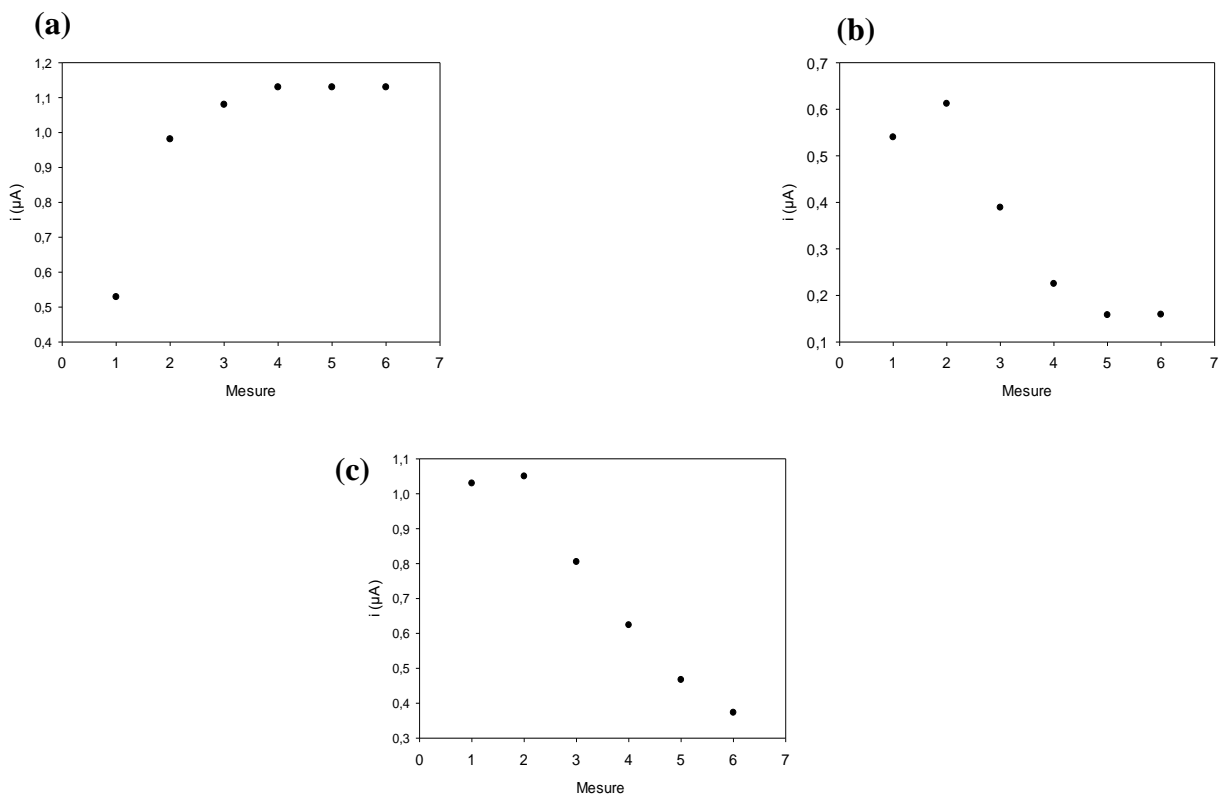


Figure III.5. Evolution de l'intensité du pic d'oxydation de Hg obtenu par SWASV en fonction de la durée de nettoyage : $t = 15 \text{ s}$ (a), $t = 30 \text{ s}$ (b) et $t = 60 \text{ s}$ (c)

L'ensemble des paramètres fixés après optimisation de la procédure et utilisés pour toutes les détections de Hg^{2+} mentionnées dans ces travaux, est détaillé dans le tableau III.1. Au cours de la procédure utilisée, les deux mesures du « signal analytique » et du « signal blanc » sont réalisées successivement, suivie d'une commande de calcul du signal final.

Potentiel de préconcentration	0 V/ECS
Temps de préconcentration	300 s, 10 min, 20 min, 30 min, 40 min, 50 min
Vitesse de rotation de l'électrode tournante	2000 rpm
Potentiel de désorption de Cl⁻	-0,8 V/ECS
Temps de désorption de Cl⁻	120 s
Temps de repos	30 s
Amplitude d'impulsion	25 mV
Pas d'impulsion	5 mV
Fréquence	200 Hz
Potentiel de nettoyage	0,8 V/ECS
Temps de nettoyage	15 s

Tableau III.1. Paramètres de travail utilisés pour la redissolution anodique à vague carrée.

IV. Performances analytiques du capteur

Après la mise au point de la procédure de détection de Hg²⁺, les performances analytiques du capteur sont étudiées. En premier lieu, la reproductibilité et la répétabilité des mesures seront évaluées, ainsi que la sensibilité de l'interface à l'égard de différentes concentrations en Hg²⁺ de l'ordre du nM. Ensuite, la sélectivité du capteur sera testée en présence de différents éléments interférents, afin d'évaluer la possibilité de son utilisation en milieu réel. Enfin, le suivi de la stabilité des interfaces est réalisé, sur une durée de stockage de plusieurs jours.

IV.1. Sensibilité, reproductibilité et répétabilité

- **Sensibilité**

En premier lieu, les mesures sont faites avec un temps de préconcentration de 300 s pour le signal analytique et 30 s pour le blanc. Ces temps de préconcentration ont été choisis afin d'établir une comparaison avec les travaux précédents réalisés dans notre équipe, sur des AuNPs électrodéposées sur CV non modifié. Les analyses sont réalisées dans des solutions modèles, avant de tester le capteur dans des échantillons réels. La figure III.6 représente les voltammogrammes

tracés par redissolution anodique à vague carrée sur CV/TPD/AuNPs(300s) pour des concentrations de Hg^{2+} comprises entre 0 à 9.99 nmol.l^{-1} , obtenues par ajouts successifs de $30 \mu\text{l}$ d'une solution étalon contenant $1 \mu\text{mol.l}^{-1}$ de Hg^{2+} , à 30 ml d'une solution d' HCl à $0,01 \text{ mol.l}^{-1}$. Après l'ajout, la solution est désaérée par bullage d'azote pendant 10 min avant d'entamer la séquence de mesure. Sur les courbes correspondant aux différentes concentrations, 2 pics peuvent être distingués :

– Le premier pic correspond à la réoxydation du mercure et apparaît à $E = 0,5 \text{ V/ECS}$. Son intensité augmente avec l'augmentation de la concentration de Hg^{2+} . Ce pic est observé même lorsque la solution d' HCl contient 0 nmol.l^{-1} de Hg^{2+} ajouté. Son intensité est très faible, mais elle indique la présence d'une très faible quantité de mercure dans la solution ou dans l'environnement de travail, malgré le nettoyage rigoureux de la verrerie utilisée et toutes les précautions prises pendant la préparation des solutions et au cours de l'analyse. Cependant, l'intensité du pic étant très faible, est difficile à déterminer à partir des courbes. La présence de ce pic a également été rapportée pour des AuNPs synthétisées chimiquement et déposées sur CV/TPD par drop-casting¹³⁹. Dans ce cas, son intensité était plus élevée que celle observée dans le cadre de ce travail, témoignant une fois encore de la grande réactivité des AuNPs synthétisées chimiquement

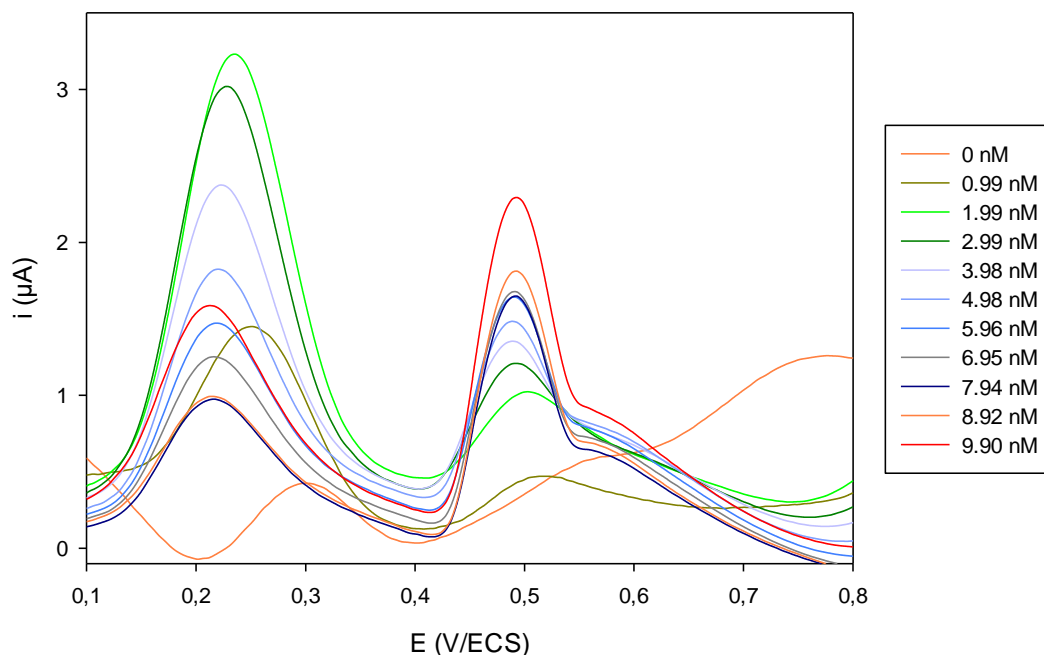


Figure III.6. Courbes de SWASV tracées avec CV/TPD/AuNPs (300s) dans HCl ($0,01 \text{ mol.l}^{-1}$) contenant des concentrations croissantes de Hg^{2+} avec un temps de préconcentration de 300 s pour le signal analytique et 30 s pour le blanc

– Le deuxième pic est situé entre 0,15 et 0,25 V et correspond à la désorption des ions Cl^- . Comme le montre la figure III.7, l'intensité de ce pic augmente au cours des 3 premières mesures, ensuite, à partir du 2^{ème} ajout correspondant à une concentration en Hg^{2+} de 2 nmol.l^{-1} , elle diminue au fur et à mesure des détéctions. Elle suit donc une évolution inverse à celle du pic de mercure. Ceci peut s'expliquer par le fait que plus la quantité de mercure augmente, plus la surface des AuNPs est couverte, et donc moins il y a de surface d'or "libre" pour l'adsorption des Cl^- .

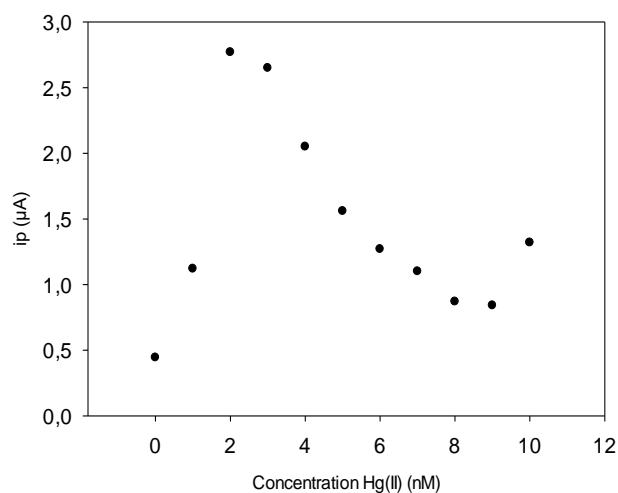


Figure III.7. Evolution de l'intensité du pic d'oxydation de Cl^- obtenue par SWASV sur la même électrode CV/TPD/AuNPs, dans HCl ($0,01 \text{ mol.l}^{-1}$) après ajout de concentrations graduelles de Hg^{2+} .

En outre, les courbes enregistrées montrent un épaulement situé entre 0,55 et 0,7 V, dont la présence n'est pas systématique. Ce type d'épaulement a été observé lors des travaux précédents³⁰⁰, pour des SWASV enregistrées dans les mêmes conditions avec des AuNPs synthétisées chimiquement et déposées par drop-casting sur CV/TPD. Sa présence peut s'expliquer par les interactions ayant lieu entre Hg et Au, pouvant induire une modification de la surface de l'électrode tout au long des mesures. En effet, le dépôt du mercure sur les AuNPs lors de l'étape de redissolution peut induire la formation de deux structures : une structure cœur-coquille où le mercure forme une couche enveloppant les AuNPs³⁰¹, ou un amalgame Au(Hg) formé suite au dépôt du mercure à la surface des AuNPs suivi par sa diffusion à l'intérieur de ces dernières^{302,303}. Toutefois, les deux structures peuvent se former simultanément. Si le mercure n'est pas entièrement réoxydé pendant

l'étape de redissolution, ni éliminé en totalité lors de l'étape de nettoyage, une quantité de mercure demeure à la surface ou à l'intérieur des AuNPs. Ceci peut induire une modification de la structure des AuNPs, pouvant être responsable de l'apparition de l'épaulement. De plus, étant donné le nombre d'analyses successives réalisées, la quantité de mercure est susceptible d'augmenter au fur et à mesure de l'expérience. Ainsi, l'épaulement observé persiste sur toutes les courbes enregistrées, à partir de l'ajout de 1 nmol.l^{-1} de Hg^{2+} . Dans les travaux précédents, cet épaulement a pu être éliminé par la diminution de la durée de préconcentration de 300 à 30 s pour le signal analytique, et de 30 à 3 s pour le blanc. Dans ces travaux, nous avons choisi de garder la durée de préconcentration de 300 s étant donné que la surface électroactive (SEA) du capteur est inférieure à celle obtenue par drop-casting³⁰⁰.

- **Répétabilité**

Par ailleurs, la répétabilité des mesures sur une même électrode a aussi été évaluée, en réalisant 10 mesures successives sur la même électrode, avec un temps de préconcentration de 300 s pour le signal analytique et 30 s pour le blanc, pour une concentration en Hg^{2+} de 4 nmol.l^{-1} .

Les intensités du pic d'oxydation de Hg relevées au cours de ces mesures sont représentées sur la figure III.8.

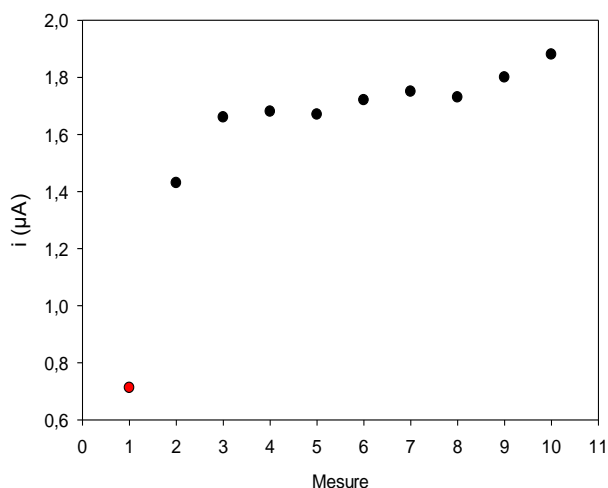


Figure III.8. Evolution de l'intensité du pic du pic d'oxydation de Hg obtenue par SWASV sur la même électrode CV/TPD/AuNPs, dans HCl ($0,01 \text{ mol.l}^{-1}$) contenant Hg^{2+} à 4 nM en fonction du nombre de mesures effectuées

L'intensité du pic de mercure augmente aux 3 premières mesures. Ceci pourrait être dû à une modification de la structure de la surface de l'électrode lors des premières détections suite à l'accumulation d'une quantité de mercure selon les mécanismes cités précédemment : formation d'un amalgame Au(Hg), d'une structure cœur-coquille ou encore des deux structures en même temps. A partir de la 3^{ème} mesure, l'intensité semble se stabiliser jusqu'à la 10^{ème} mesure. Ainsi, l'électrode ne présente pas de saturation, ou de perte de surface active pour une séquence de 10 mesures successives. Le coefficient de variation (CV) calculé en prenant en compte les valeurs d'intensité de toutes les mesure (de 1 à 10) est de 20%. Lorsque la valeur de l'intensité enregistrée à la 1^{ère} mesure (point rouge) n'est pas prise en compte, le coefficient de variation devient égal à 7%, considéré comme acceptable. Par ailleurs, la technique de référence utilisée pour l'analyse de échantillons naturels (CV-AFS) suivant la méthode US EPA 1631 (Mercury in Water by Oxidation, Purge and Trap, and Cold Vapor Atomic Fluorescence Spectrometry)⁸² a montré des coefficients de variation allant de 5 à 18%, sur toute la gamme de concentration testée [0 – 10 nM] . Bien que le CV obtenu par l'électrode CV/TPD/AuNPs (300s) soit supérieur au CV obtenu par CV-AFS, il reste toutefois acceptable à ce stade de l'étude. Une étude de validation de la méthode devrait être réalisée par la suite, pour chaque point dans toute la gamme de concentration concernée [0 – 10 nM].

- **Reproductibilité :**

Par ailleurs, L'exploitation des courbes SWASV permet d'établir les droites d'étalonnage du mercure dans les solutions modèles. La figure III.9 représente deux courbes d'étalonnage obtenues sur 2 électrodes CV/TPD/AuNPs (300s) différentes, préparées selon le même protocole (vert et rouge). Les droites de calibration obtenues sur les deux électrodes montrent un domaine de linéarité allant de 0,99 nmol.l⁻¹ à 9.90 nmol.l⁻¹. La proximité de ces droites indique une reproductibilité satisfaisante des détections de Hg²⁺ effectuées par deux électrodes différentes.

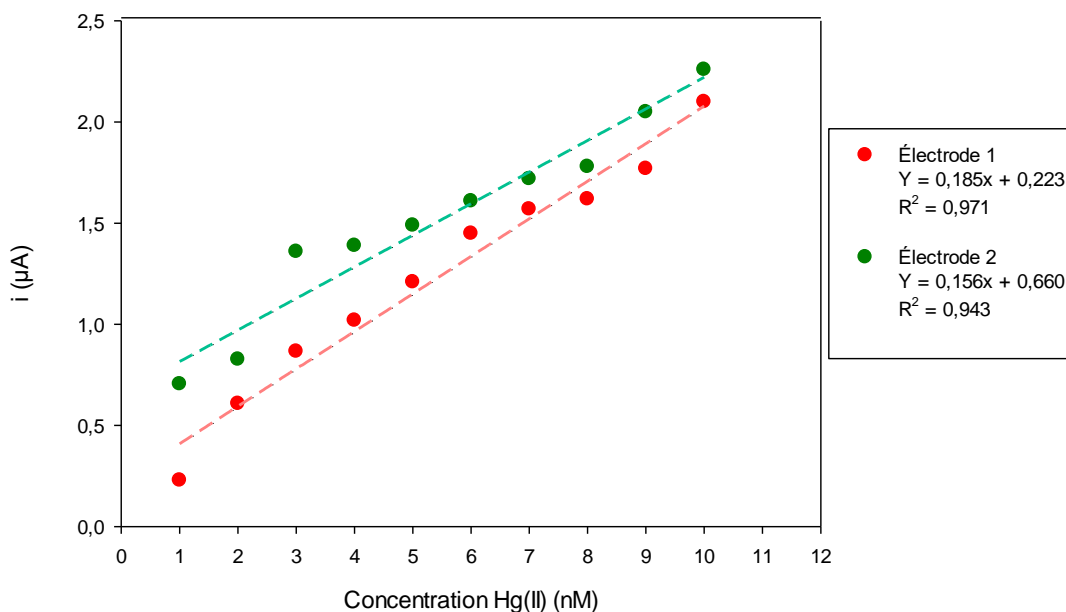


Figure III.9. Courbes de calibration obtenues sur deux électrodes CV/TPD/AuNPs (300s) différentes préparées selon le même protocole de fonctionnalisation (rouge et vert).

La sensibilité du capteur peut alors être déterminée à partir de la pente des équations des droites de régression obtenues pour chaque électrode. Ainsi, la sensibilité obtenue est de $0,185 \mu\text{A}\cdot\text{nmol}^{-1}$ pour l'électrode 1 et $0,156 \mu\text{A}\cdot\text{nmol}^{-1}$ pour l'électrode 2. Une sensibilité moyenne de $0,177 \mu\text{A}\cdot\text{nmol}^{-1}$ peut ainsi être calculée. Afin de pouvoir établir une comparaison entre ces travaux et les travaux précédents au cours desquels des durées de préconcentration différentes ont été utilisées, une sensibilité normalisée par rapport à la durée de préconcentration est calculée. Le tableau III.2 regroupe les différents résultats obtenus lors de ces études.

Interface et méthode de fonctionnalisation	Sensibilité normalisée ($\mu\text{A.nM}^{-1}.\text{min}^{-1}$)	Référence
CV/TPD/AuNPs Electrodépôt des AuNPs sur CV/TPD	0,03	Présente étude
CV/AuNPs Electrodépôt des AuNPs sur CV nu	0,23	138
	0,274	137
	0,60	250
CV/AuNPs drop-casting des AuNPs synthétisées chimiquement sur CV Nu	2,36	139
CV/TPD/AuNPs drop-casting des AuNPs synthétisées chimiquement sur CV/TPD	3,94	139

Tableau III.2. Tableau comparatif des sensibilités normalisées obtenues dans le cadre de cette étude et au cours des études précédentes avec différents types d'électrodes fonctionnalisées avec des AuNPs.

La comparaison des différentes interfaces montre que les capteurs élaborés dans le cadre de ces travaux possèdent une sensibilité nettement inférieure à celles obtenues au cours des travaux précédents. Ceci montre que l'interface modifiée par des AuNPs électrodéposées sur CV/TPD est moins réactive que celle modifiée par des AuNPs synthétisées chimiquement et déposées par drop-casting sur le même type de surface. Ceci est en accord avec la différence entre les deux types de dépôts : la surface électroactive SEA et la densité de surface sont plus importantes lorsque les AuNPs sont déposées par drop casting :

	SEA (10 ^{ème} scan)	Densité de surface
CV/TPD/AuNPs(300s)	0,017 cm ²	158 NPs/ μm^2
CV/TPD/AuNPs(drop casting) ^{139,300}	0,22 cm ²	361 NPs/ μm^2

La comparaison montre également que la sensibilité est meilleure lorsque les AuNPs sont électrodéposées sur du CV non modifié. Ceci suggère que la présence de la couche organique peut avoir une influence sur la réduction de Hg²⁺ à la surface des AuNPs.

La comparaison des différentes interfaces montre que les capteurs élaborés dans le cadre de ces travaux possèdent une sensibilité nettement inférieure à celles obtenues au cours des travaux précédents. Ceci montre que les AuNPs électrodéposées sur CV/TPD sont moins réactives que les celles synthétisées chimiquement et déposées par drop-casting sur le même type de surface. Ceci est en accord avec la différence entre les deux types de dépôts : la surface électroactive SEA et la densité de surface sont plus importantes lorsque les AuNPs sont déposées par drop casting. La comparaison montre également que la sensibilité est meilleure lorsque les AuNPs sont électrodéposées sur du CV non modifié. Ceci suggère que la présence de la couche organique peut avoir une influence sur la réduction de Hg^{2+} à la surface des AuNPs.

- **Limite de détection :**

Des concentrations de l'ordre de 0,1 nM sont également atteintes, avec la même durée de préconcentration : 300 s pour le signal analytique et 30 s pour le blanc. La figure III.10 présente les voltammogrammes obtenus sur l'interface CV/TPD/AuNPs pour des concentrations de 99,9 pM à 990,09 nmol.l⁻¹. Ici encore, le pic d'oxydation du mercure est observé autour de 0,46 V.

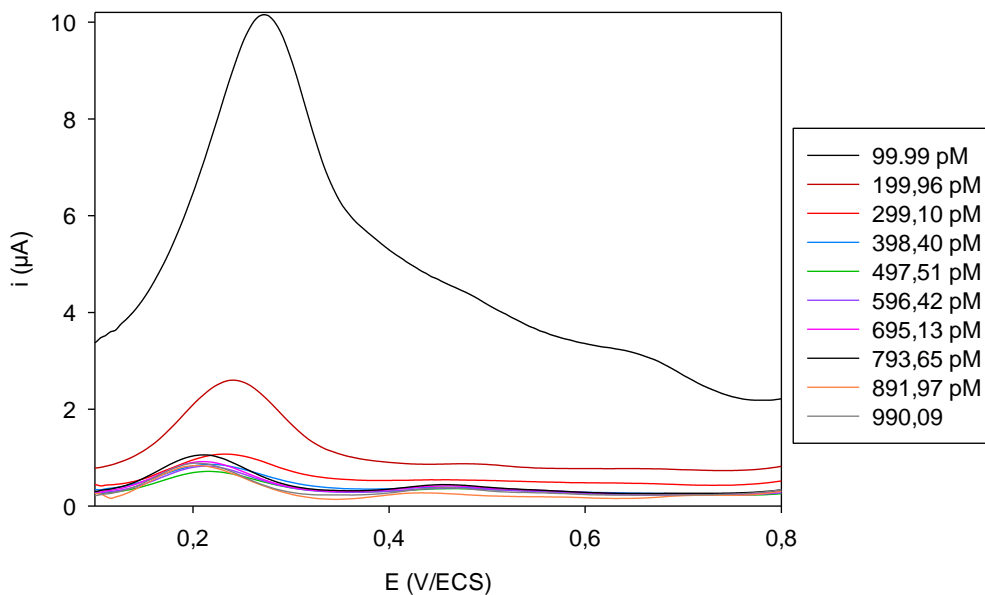


Figure III.10. Courbes de SWASV tracées avec CV/TPD/AuNPs (300s) dans HCl (0,01 mol.l⁻¹) contenant des concentrations croissantes de Hg^{2+} avec un temps de préconcentration de 300 s pour le signal analytique et 30 s pour le blanc.

Ces voltammogrammes ont permis de tracer une gamme de concentrations présentée sur la figure III.11. La calibration montre un domaine de linéarité entre 600 pM et 1000 pM. Pour les concentrations les moins élevées, les intensités ne suivent pas une tendance linéaire, étant donné les intensités enregistrées pour 300 pM et 500 pM, représentées en rouge. Cette calibration représente des résultats préliminaires. Il est donc nécessaire de reproduire les mesures afin d'avoir une droite de calibration exploitable, dans cette gamme de concentrations. Toutefois, l'objectif étant d'utiliser le capteur pour doser le mercure dans des échantillons naturels, les calibrations seront faites dans les matrices étudiées.

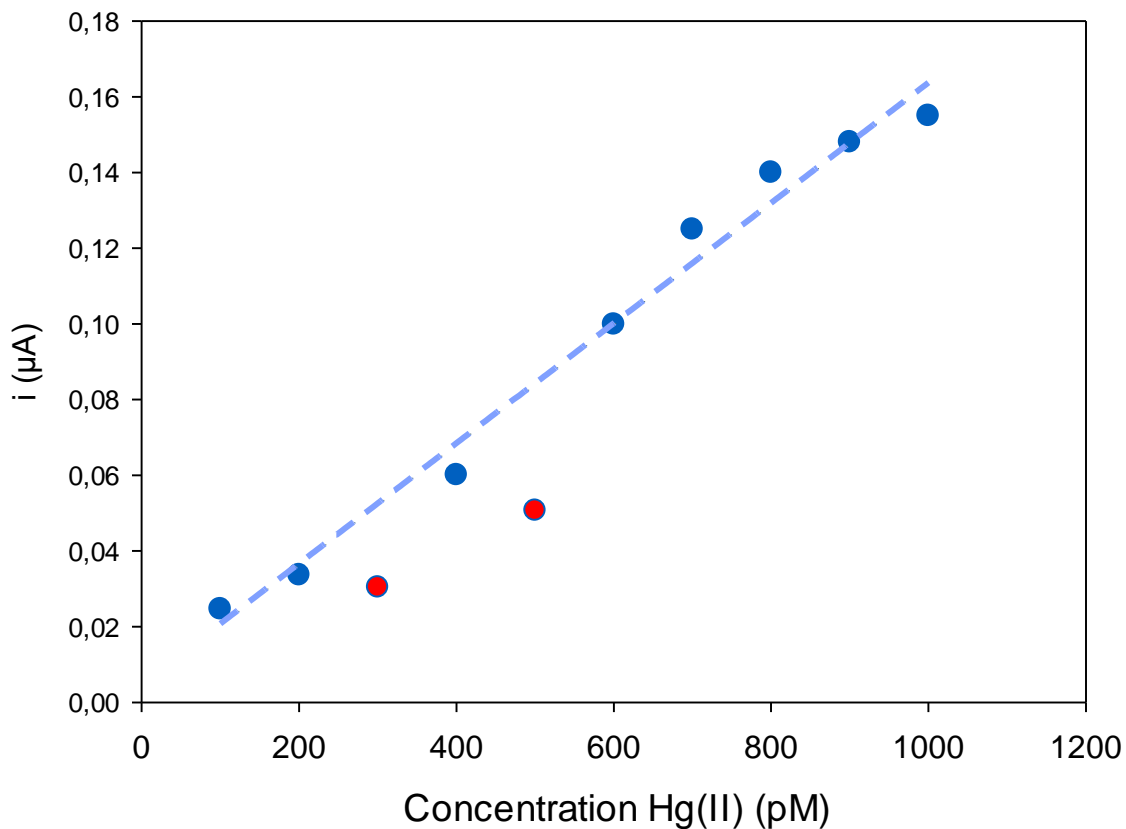


Figure III.11. Calibration obtenue sur CV/TPD/AuNPs (300s)

Par ailleurs, l'intensité du pic d'oxydation du mercure enregistré pour une concentration en Hg^{2+} de 100 pM étant très faible, une optimisation de la procédure de détection a été envisagée. Pour ce faire, des durées de préconcentration de 20 à 60 minutes sont utilisées pour l'analyse d'une solution modèle à 20 pM de Hg^{2+} . En parallèle, la durée de préconcentration utilisée pour le blanc

a été variée. L'évolution de l'intensité du pic d'oxydation du mercure en fonction de la durée de préconcentration appliquée est présentée sur la figure III.12.

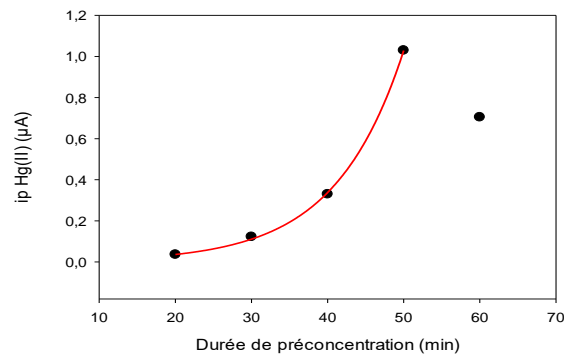


Figure III.12. Influence de la durée de préconcentration sur l'intensité du pic d'oxydation de Hg obtenue par SWASV sur CV/TPD/AuNPs, dans une solution de 20 pM en Hg^{2+}

Comme le montre la figure, l'intensité du pic d'oxydation du mercure augmente avec la durée de préconcentration. Lorsque celle-ci atteint 60 min, l'intensité décroît, probablement à cause d'une saturation de l'électrode, conséquence de la prolongation de la durée de l'analyse. Afin d'éviter ce phénomène, il est préférable de ne pas dépasser une durée de préconcentration de 40 min. Cette durée de préconcentration permet d'obtenir un pic d'oxydation du mercure exploitable, comme le montre la figure III.13. Ainsi, la nouvelle limite de détection obtenue avec ce capteur est de 20 pM, pour une durée de préconcentration de 40 min pour le signal analytique et 4 min pour le blanc. Cette limite de détection est compatible avec les valeurs seuil délivrées par l'OMS (30 nM), l'UE (0,3 nM) et l'USEPA (10 nM), et avec les teneurs en Hg^{2+} des échantillons naturels à analyser.

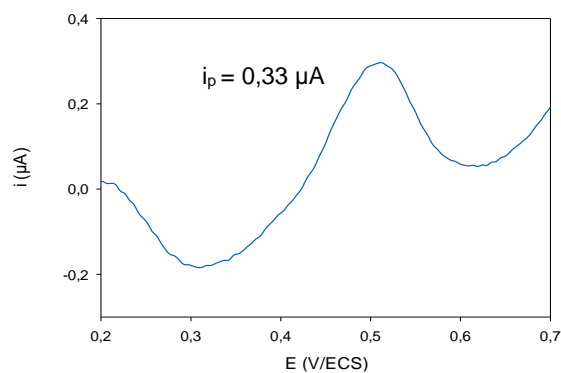


Figure III.13. Courbes de SWASV tracées avec CV/TPD/AuNPs (300s) dans HCl (0,01 mol.l⁻¹) contenant Hg^{2+} à 20 pM avec un temps de préconcentration de 40 min pour le signal analytique et 4 min pour le blanc.

IV.2. Sélectivité de l'interface

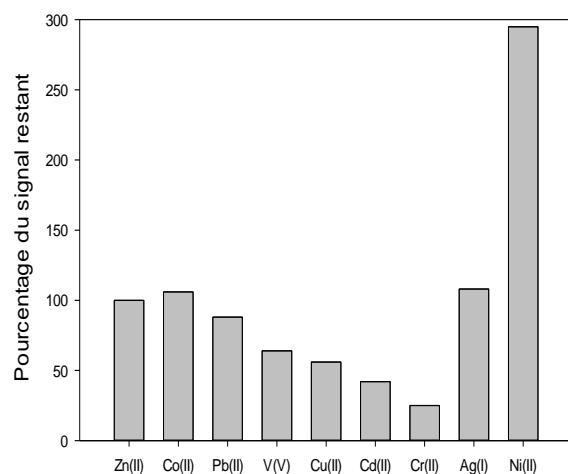
L'objectif de ces travaux étant de développer une interface capable de détecter le mercure dans des eaux naturelles, il est nécessaire d'évaluer la sélectivité du capteur en présence d'autres cations métalliques susceptibles de se retrouver en milieu naturel. Cette étude permet de vérifier l'influence de la présence de ces cations sur la réponse électrochimique de l'interface CV/TPD/AuNPs(300s) à l'égard de Hg^{2+} . Pour ce faire, plusieurs cations métalliques sont testés : Zn^{2+} , Co^{2+} , Pb^{2+} , V^{5+} , Cu^{2+} , Cd^{2+} , Cr^{2+} , Ag^+ et Ni^{2+} . Le choix s'est porté vers ces cations en particulier, car l'analyse par ICP-OES a révélé leur présence dans les échantillons d'eaux naturelles, collectés à différents points de prélèvement, qui vont être utilisés dans le cadre de ce projet (voir section V de ce chapitre et tableau en annexe). La sélectivité est d'abord étudiée en présence d'un excès de chaque élément séparément, puis lorsque tous les cations sont présents simultanément dans la solution.

En premier lieu, les mesures sont réalisées dans HCl ($0,01 \text{ mol.l}^{-1}$) pour une concentration en Hg^{2+} de 4 nmol.l^{-1} en présence de 40 nmol.l^{-1} , 200 nmol.l^{-1} , et 400 nmol.l^{-1} de chaque élément. Ces rapports de concentration ont été choisis afin se rapprocher des gammes de concentrations réelles dans les échantillons naturels testés dans le cadre de ce projet (voir tableau en annexe). La durée de préconcentration utilisée est de 300 s pour le signal analytique et 30 s pour le blanc. Sur toutes les SWASV obtenues, et dans la zone de potentiel étudiée, seul le pic d'oxydation du mercure et le pic de désorption de Cl^- sont observés. Ceci pourrait suggérer que dans ces conditions de mesure, l'électrode ne permet pas d'observer ces éléments, ou que le pic correspondant à l'un de ces cations apparaît au même potentiel que les pics correspondants à la désorption des chlorures ou à la réoxydation du mercure. Les résultats extraits des courbes sont représentés sous forme du pourcentage de l'intensité restante après ajout de l'excès du métal, par rapport à l'intensité initiale enregistrée en absence de l'interfèrent. Les figures III.14.a, III.14.b et III.14.c regroupent les résultats obtenus pour les différentes concentrations des interférents utilisées : 40 nmol.l^{-1} , 200 nmol.l^{-1} , et 400 nmol.l^{-1} , respectivement. Ces dernières nous apportent 3 informations essentielles :

- Parmi les cations métalliques utilisés, Zn^{2+} est celui qui influence le moins la mesure : pour des concentrations de 40 nmol.l^{-1} , 200 nmol.l^{-1} , l'intensité du pic du mercure reste presque inchangée. En présence de 400 nmol.l^{-1} de Zn^{2+} , une perte d'intensité est constatée mais le signal mesuré correspond à 72% du signal initial.

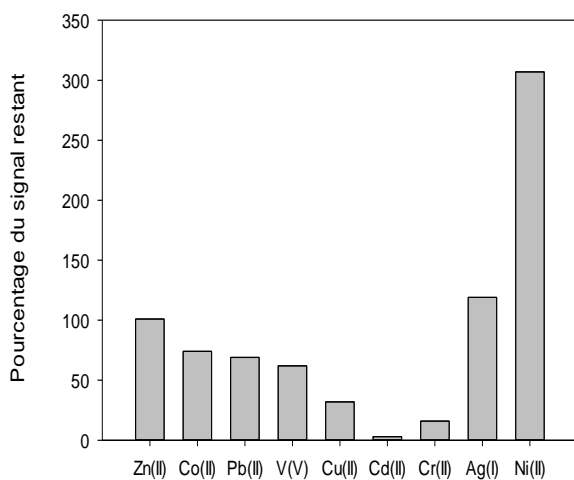
- La présence des cations Cu^{2+} , Pb^{2+} , V^{5+} , Co^{2+} , Cd^{2+} et Cr^{2+} engendre une diminution du signal. Le cation Cd^{2+} semble être le plus influent sur la mesure étant donné que 3% seulement du signal est mesuré en présence d'une concentration de 200 nmol.l^{-1} en cation métallique, tandis qu'aucune intensité n'a pu être mesurée pour une concentration de 400 nmol.l^{-1} . En outre, l'ajout de 40 nmol.l^{-1} des cations Cu^{2+} et Cr^{2+} induit une perte de 44% et 75% respectivement. En présence de 400 nmol.l^{-1} de chacun de ces cations, les intensités mesurées correspondent à 11% de l'intensité initiale pour Cu^{2+} et 16% pour Cr^{2+} .
Les cations Co^{2+} , Pb^{2+} et V^{5+} semblent avoir une moindre influence sur la mesure : les intensités mesurées représentent respectivement 47%, 64% et 47% de l'intensité initiale lorsque la concentration en cation métallique est de 400 nmol.l^{-1} . La diminution de l'intensité du pic de mercure en présence de ces éléments peut s'expliquer par la diminution de la quantité de mercure préconcentré à la surface de l'électrode. La présence de ces cations dans le milieu pourrait en effet gêner et inhiber l'étape de préconcentration, probablement en raison d'interactions s'établissant entre ces éléments et la surfaces des AuNPs. La préconcentration serait alors moins efficace en milieu complexe qu'en présence de Hg^{2+} .
- Les cations Ag^+ et Ni^{2+} apportent une augmentation, parfois importante, de l'intensité du signal. Ce comportement peut être attribué à la préconcentration simultanée de ces deux cations lors de la préconcentration du Hg^{2+} et leur réoxydation à des potentiels voisins, ce qui pourrait expliquer une augmentation de l'intensité du pic d'oxydation du mercure. Cependant, il faudrait prendre en considération que les concentrations utilisées dans cette étude ne correspondent pas aux concentrations réelles de ces cations dans les échantillons d'eaux naturelles prélevées dans le cadre de ce travail, qui sont plus faibles, dans le cas de Ag^+ (voir tableau 1 en annexe). Pour Ni^+ , la concentration réelle peut atteindre 260 nM. Toutefois, l'interférence par cet élément est constatée même à partir de 40 nM, et semble similaire à 200 nM et 400 nM.

a)



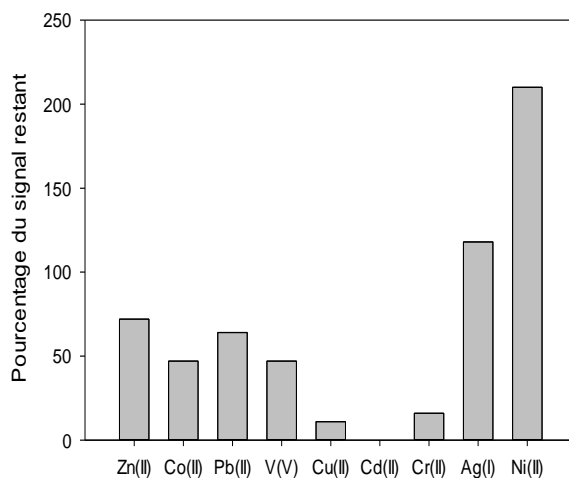
[Hg(II)] = 4 nM
[Métal] = 40 nM

b)



[Hg(II)] = 4 nM
[Métal] = 200 nM

c)



[Hg(II)] = 4 nM
[Métal] = 400 nM

Figure III.14. Influence de la présence de cations métalliques à différentes concentrations : (a) 40 nM, (b) 200 nM et (c) 400 nM, sur la réponse électrochimique obtenue sur CV/TPD/AuNPs en présence de 4 nM de Hg^{2+}

La sélectivité du capteur a ensuite été étudiée même dans un échantillon contenant tous les cations métalliques interférant, afin de se rapprocher plus des conditions réelles. Les mesures sont réalisées dans une solution contenant 4 nmol.l^{-1} en Hg^{2+} , à laquelle les cations sont ajoutés un par un, successivement à une concentration de 40 nmol.l^{-1} chacun. Après chaque ajout, une mesure SWASV est effectuée. Les courbes SWASV obtenues sont regroupées dans la figure III.15. Les cations métalliques sont ajoutés dans l'ordre figurant sur la légende de la courbe. Le dernier signal mesuré correspond donc à celui du pic observée en présence de 4 nmol.l^{-1} de Hg^{2+} , et 40 nmol.l^{-1} de chacun des éléments suivants : Zn^{2+} , Co^{2+} , Pb^{2+} , V^{5+} , Cu^{2+} , Cd^{2+} , Cr^{2+} , Ag^+ et Ni^{2+} .

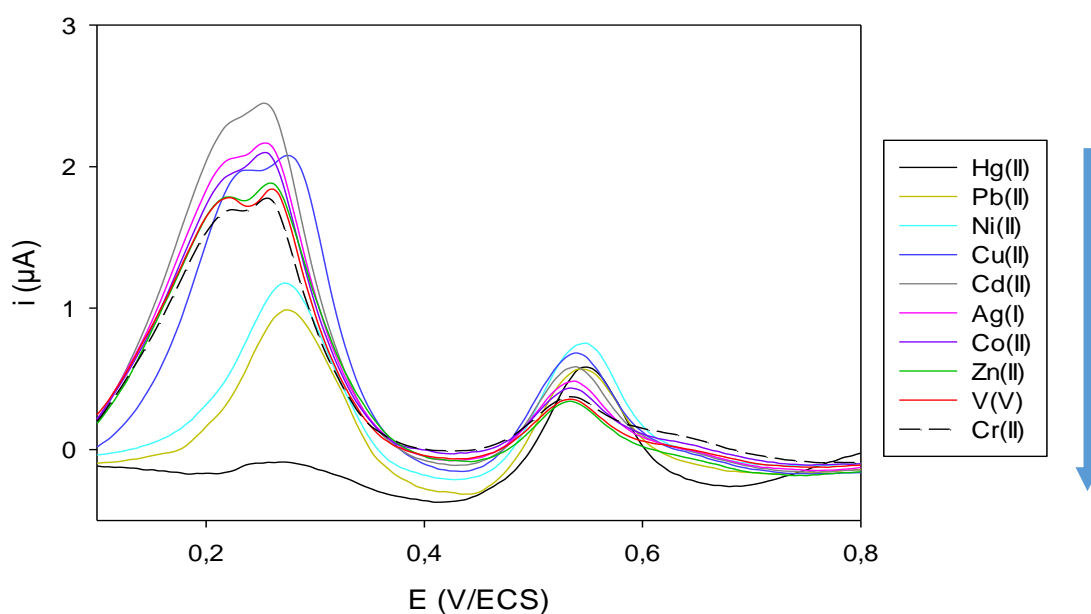


Figure III.15. Courbes SWASV obtenues sur l'interface CV/TPD/AuNPs dans une solution HCl ($0,0 \text{ mol.l}^{-1}$) contenant 4 nmol.l^{-1} en Hg^{2+} après chaque ajout de cation métallique à une concentration de 40 nmol.l^{-1} .

La SWASV enregistrée après l'ajout du Cu^{2+} montre un épaulement du pic observé à $0,3 \text{ V}$ et correspondant à la désorption des Cl^- . Cet épaulement n'a pas été observé lorsque la solution contient uniquement le Hg^{2+} , ni après l'addition de Pb^{2+} et Ni^{2+} . Cet épaulement pourrait indiquer une préconcentration du cuivre à la surface de l'électrode et sa réoxydation à une valeur de potentiel proche du potentiel du pic de désorption des Cl^- . Les courbes obtenues après l'ajout des autres cations ne montrent aucun autre pic. De plus, la SWASV enregistrée après le dernier ajout (courbe en tirets) et correspondant à la présence simultanée du Hg^{2+} et de tous les cations métalliques, met

clairement en évidence le pic d'oxydation du mercure. Le pourcentage de l'intensité restante après chaque ajout du cation métallique est représenté par la figure III.16. Les histogrammes sont présentés dans le même ordre que l'ajout successif des cations.

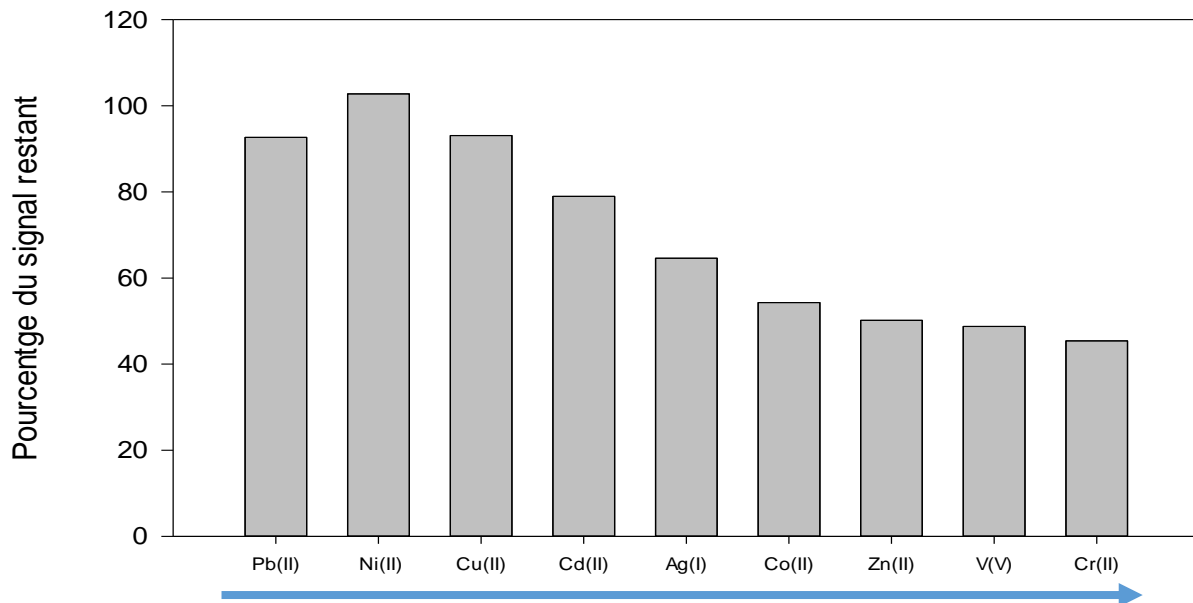


Figure III.16. Evolution du pourcentage du signal restant obtenu sur CV/TPD/AuNPs en présence de 4 nmol.l^{-1} en Hg^{2+} , après ajout de 40 nmol.l^{-1} de chaque cation métallique.

En présence de tous les cations testés, l'intensité du pic mesurée est de $0,4 \mu\text{A}$, correspondant à environ 45% du signal initial. Cette diminution ne peut être attribuée qu'à la présence des interférents et non pas à un éventuel effet mémoire, suite aux mesures successives. En effet, lorsque le même nombre de mesures a été réalisé sur une même électrode, et en présence de Hg^{2+} uniquement, à la même concentration (4 nmol.l^{-1}), aucune diminution significative de l'intensité du pic de réoxydation du mercure n'a été constatée. Il est aussi à rappeler qu'il faut prendre en considération que les concentrations réelles de ces cations métalliques en milieu naturel sont inférieures à celles utilisées dans cette étude, pour la majorité des cations utilisés. La mesure réalisée ici peut ainsi être vue comme une mesure réalisée dans le cas le plus défavorable pour l'eau naturelle qui contiendrait l'ensemble de ces cations métalliques, à des concentrations plus importantes que celle de Hg(II) . Ceci laisse donc augurer une bonne sélectivité, prometteuse pour l'analyse d'échantillons d'eaux naturelles, qui sera réalisée à la fin de ce chapitre.

IV.3. Stabilité au stockage

La durée de vie est un paramètre déterminant quant à l'utilisation envisagée du capteur. Ce dernier est destiné à doser le mercure en milieu naturel, d'une manière ponctuelle et sur une durée pouvant aller de quelques jours à quelques semaines ou plus. La stabilité des interfaces est alors évaluée sur plusieurs jours, afin d'étudier l'influence de la présence des couches organiques sur la stabilité des AuNPs à la surface de l'électrode. Pour ce faire, la stabilité au stockage des interfaces CV/TPD/AuNPs(300s) a été testée dans différents milieux :

- **Air** : ici, aucune précaution particulière n'a été prise lors de la conservation des électrodes.
- **Acide** : les électrodes sont placées, chacune, dans un flacon contenant du HCl à la même concentration utilisée pour les détections de Hg^{2+} ($0,01 \text{ mol.l}^{-1}$)
- **Tampon phosphate** : les électrodes sont placées dans des flacons contenant du tampon phosphate à $0,05 \text{ mol.l}^{-1}$ à $\text{pH} = 7$.

Afin d'établir une comparaison avec des interfaces sans couche organique et mettre en évidence un éventuel effet des films de diazonium, des électrodes témoins CV/AuNPs(300s) sont stockées dans les mêmes conditions que les flacons contenant les électrodes CV/TPD/AuNPs. Tous les flacons sont conservés dans une étuve à 20°C tout au long de l'étude.

Une fois par semaine pendant 4 semaines, les électrodes sont activées selon le même protocole décrit dans VI.1 du chapitre 2 : activation par voltammétrie cyclique dans H_2SO_4 . Par la suite, une détection de mercure est réalisée pour une concentration en Hg^{2+} de 4 nmol.l^{-1} . Les résultats de cette expérience sont exprimés sous forme de pourcentage de l'intensité du pic du mercure obtenue à chaque mesure par rapport à celle obtenue le jour de la préparation des électrodes, désigné comme jour 0. Les pourcentages obtenus pour les surfaces CV/TPD/AuNPs(300s) et CV/AuNPs(300s) stockées dans les 3 différents milieux ainsi que les surfaces électroactives (SEA) restantes à la fin de chaque processus d'activation sur les 2 types d'électrodes sont alors représentés par la figure III.17. Pour rappel, la SEA est calculée à partir de l'intégration du pic de réduction des oxydes d'or du 10^{ème} balayage dans H_2SO_4 entre 0,2 V et 1,4 V (Voir section VI.1).

D'une manière générale, les figures montrent une tendance similaire des interfaces CV/TPD/AuNPs dans les 3 conditions de stockage : l'intensité du pic diminue au cours des premiers jours de stockage puis tend à se stabiliser. Cependant, au dernier jour de l'expérience, le pourcentage d'intensité obtenu avec CV/TPD/AuNPs est généralement supérieur à celui obtenu lors des mesures

précédentes. En prenant en considération la tendance globale de l'évolution de l'intensité, les valeurs d'intensité mesurées au jour 28 sont alors considérées comme aberrantes.

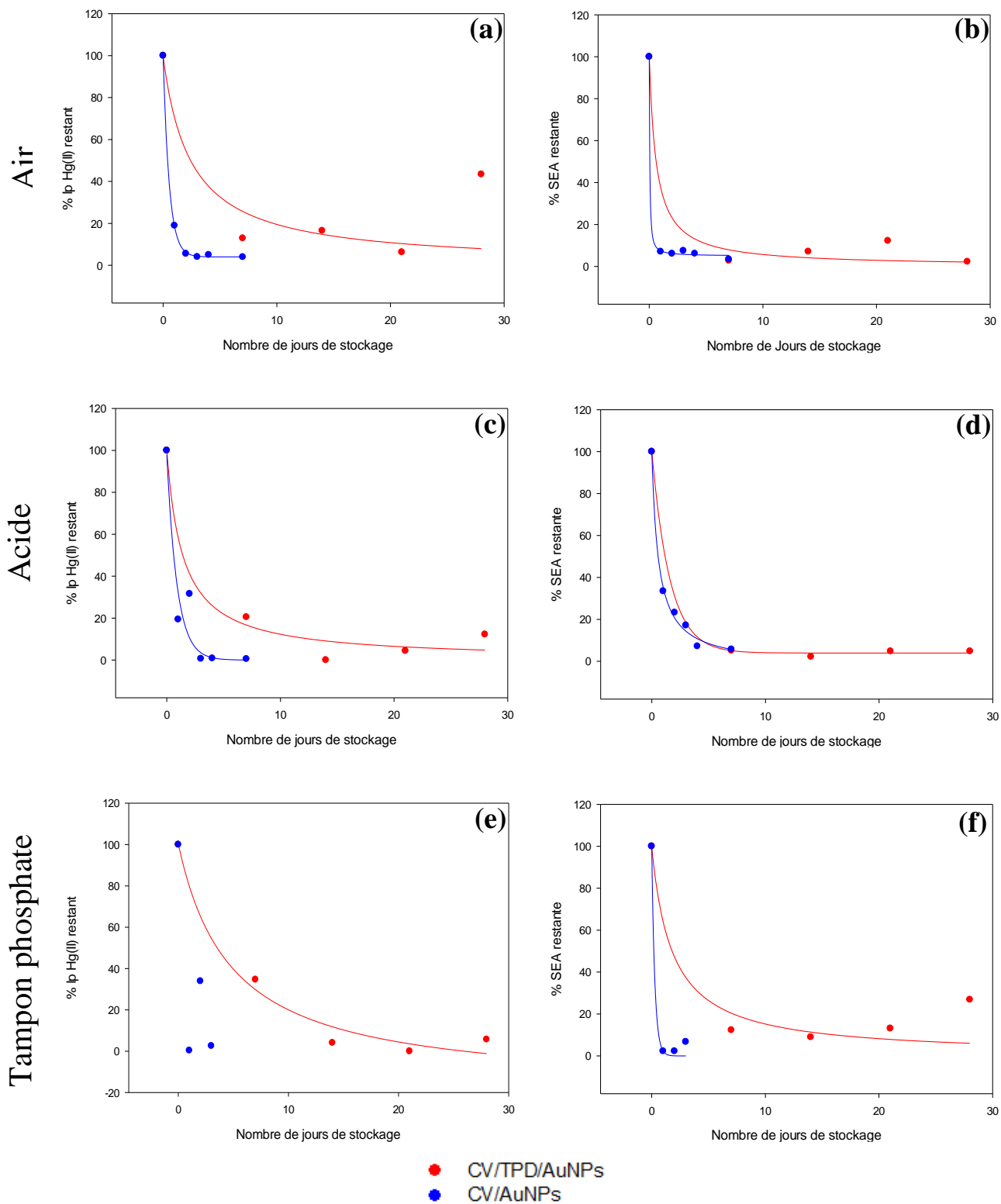


Figure III.17. Pourcentages des intensités du pic de mercure restantes (a), (c) et (e) et des SEA restantes calculées à partir du 10^{ème} balayage dans H₂SO₄ (b) et (d), obtenus sur les 2 types d'électrodes dans les 3 milieux de stockage

- **Stabilité au stockage dans l'air :**

Les graphes de la figure III.17.a montrent l'évolution du pourcentage du signal obtenu sur CV/TPD/AuNPs(300s) et CV/AuNPs(300s) représentées respectivement par la courbe rouge et la courbe bleue, sur une durée de 28 jours. Ici, le jour 0 correspond au jour de la préparation des interfaces. La courbe rouge attribuée à la surface CV/TPD/AuNPs(300s) montre une chute de l'intensité du pic du mercure enregistrée au cours des 7 premiers jours de stockage : l'intensité mesurée au jour 7 correspond à environ 13% de l'intensité mesurée au jour 0. En parallèle, la courbe bleue montre que sur l'électrode témoin CV/AuNPs, l'intensité restante est d'environ 4% seulement, après la même durée de stockage que l'électrode CV/TPD/AuNPs (7 jours). Aucun signal n'a pu être enregistré au-delà de cette période pour l'interface CV/AuNPs. En revanche, l'étude de la stabilité de l'interface CV/TPD/AuNPs a été poursuivie pour une durée de 28 jours. L'intensité du pic de mercure continue à diminuer lentement : l'intensité mesurée correspond à environ 6% de l'intensité initiale après 21 jours de stockage. Par ailleurs, la figure III.17.b montre que l'évolution de l'intensité est en accord avec celle de la SEA restante après chaque cycle d'activation, au cours de la même durée de stockage pour les deux interfaces. Sur la surface CV/TPD/AuNPs(300s) représentée par la courbe rouge, le pourcentage de SEA restante chute au cours des 5 premiers jours puis continue à diminuer lentement, pour atteindre 7% au 14^{ème} jour de stockage puis, environ 2% au 28^{ème} jour. La surface CV/AuNPs (courbe bleue) montre une perte de SEA nettement plus rapide que sur CV/TPD/AuNPs(300s) : la SEA restante correspond à 7% de la SEA initiale après 1 jour de stockage seulement.

Le suivi de l'intensité du pic du mercure obtenue pour les 2 interfaces montre que l'électrode CV/TPD/AuNPs (300s) peut être utilisée après une durée de stockage de 21 jours dans l'air, à température ambiante, contrairement à l'électrode CV/AuNPs, où aucun pic n'a pu être observé à partir de 7 jours de stockage. De même, la comparaison des pourcentages de SEA restante montre que la perte de SEA, est plus rapide et plus importante sur CV/AuNPs que sur CV/TPD/AuNPs(300s). L'interface CV/TPD/AuNPs (300s) est donc plus stable que CV/AuNPs dans ces conditions de stockage.

- **Stabilité au stockage dans l'acide**

En milieu acide, l'évolution de l'intensité du pic du mercure obtenue sur CV/TPD/AuNPs (300s), représentée par la courbe rouge de la figure III.17.c montre qu'au 7^{ème} jour de stockage, l'intensité enregistrée correspond à 20% de l'intensité initiale obtenue le jour 0. La diminution se

poursuit plus lentement pour atteindre 4% après 21 jours de stockage. Sur l'électrode témoin CV/AuNPs (courbe bleue), l'intensité du pic du mercure chute dès le premier de stockage pour atteindre 20% de celle mesurée au jour 0, puis continue à décroître tout au long de l'expérience. Après 7 jours de stockage, le signal enregistré est d'environ 0,5% par rapport au signal initial et le pic correspondant est devenu difficilement exploitable. En ce qui concerne la SEA, la figure III.17.d montre que la SEA restante obtenue pour CV/TPD/AuNPs(300s), représentée par la courbe rouge, baisse et atteint un palier à partir du 7^{ème} jour de stockage : la SEA restante correspond alors à 5% de la SEA initiale, et reste stable jusqu'à la fin de l'expérience. En revanche, l'électrode témoin CV/AuNPs montre une baisse continue de la SEA : une perte de SEA d'environ 67% est observée après 1 seul jour de stockage. Lorsque la durée du stockage atteint 7 jours, la SEA restante est autour de 5%.

Ainsi, le suivi de l'évolution de la réponse électrochimique des 2 électrodes lors de la détection de Hg^{2+} sur une période de stockage de 28 jours, montre une baisse d'intensité d'environ 80% sur une durée de 7 jours pour l'interface CV/TPD/AuNPs, tandis que sur l'interface CV/AuNPs, la même perte est observée dès le premier jour de stockage. La réponse électrochimique des AuNPs est donc plus stable sur CV/TPD/AuNPs. De même, la SEA de l'interface CV/TPD/AuNPs semble être stable à partir du 7^{ème} jour de stockage, jusqu'à une durée de stockage totale de 28 jours. En revanche, la surface CV/AuNPs montre une perte de SEA d'environ 95% sur une durée de stockage de 7 jours.

- **Stabilité au stockage dans le tampon phosphate**

Lorsque les électrodes sont stockées dans le milieu tampon phosphate, les interfaces montrent une tendance similaire à celles observées en milieu acide et dans l'air. Les figures III.17.e et III.17.f représentent l'évolution de l'intensité du pic du mercure et de la SEA au fur et à mesure du stockage pour les 2 interfaces. L'intensité mesurée avec CV/TPD/AuNPs(300s) (courbe rouge de la figure III.17.e) correspond à 33% de l'intensité initiale après 7 jours de stockage, puis à 4% après une durée de 14 jours. La comparaison avec l'interface CV/AuNPs (courbe bleue) montre que cette dernière permet d'obtenir un résultat similaire (environ 3%), après une durée de 4 jours seulement. Ces observations sont cohérentes avec le suivi de la SEA des deux interfaces au cours du stockage : une perte de SEA de 88% est constatée sur CV/TPD/AuNPs(300s) après 7 jours de stockage, tandis que pour CV/AuNPs, une perte de SEA plus importante (93%) survient après 4 jours de stockage.

En conclusion, le suivi de l'intensité du pic d'oxydation du mercure obtenu sur les deux électrodes au cours du stockage dans les 3 milieux montre que la réponse électrochimique du capteur vis-à-vis de la même concentration en Hg^{2+} (4 nmol.l^{-1}) diminue au fur et à mesure, pour les deux interfaces. Après une durée de stockage de 4 jours, cette diminution est plus importante et plus rapide sur l'interface CV/AuNPs que l'interface CV/TPD/AuNPs(300s). De même, le suivi de la SEA met en évidence une perte de surface, plus importante sur CV/AuNPs que sur CV/TPD/AuNPs(300s), sur une durée de stockage plus courte. La perte de SEA, et par conséquent la diminution de l'intensité du pic du mercure, peuvent avoir 2 explications :

- Le phénomène de dissolution et de redépôt de l'or suite aux cycles d'activation successifs effectués avant chaque détection de Hg^{2+} et mis en évidence dans la section VI.1 du chapitre 2.

- L'accumulation du mercure à la surface des AuNPs au fur et à mesure des détectations de Hg^{2+}

Par ailleurs, l'interface CV/TPD/AuNPs(300s) permet ainsi d'effectuer des détectations de Hg^{2+} jusqu'à 21 jours après sa fabrication. La comparaison des réponses électrochimiques obtenues avec les 2 électrodes CV/TPD/AuNPs(300s) et CV/AuNPs, ainsi que leurs SEA respectives, indique que l'interface CV/TPD/AuNPs(300s) possède une durée de vie plus longue. Ceci met en évidence la contribution de la couche organique à la stabilisation des AuNPs à la surface de l'électrode CV/TPD.

V. Application : Analyse d'échantillons naturels

L'interface CV/TPD/AuNPs(300s) a été utilisée pour réaliser des tests de détection dans des échantillons naturels, collectés et fournis par l'équipe du professeur Thomas Pichler à Université de Brême.

Les échantillons proviennent de 2 points de prélèvement : eaux souterraines (ES) et eaux usées (EU) et possèdent les compositions décrites dans le tableau en annexe. Après le prélèvement, les échantillons sont d'abord filtrés, puis acidifiés avec HCl pour enfin être conservés à 4°C , dans des flacons en PTFE.

La procédure utilisée est la même que celle décrite dans la section III de ce chapitre. La méthode des ajouts dosés sera utilisée pour la détermination de la concentration du mercure dans les échantillons.

- **Analyse échantillon eau souterraine (ES)**

La concentration en mercure dans cet échantillon naturel, mesurée par CV-AFS est de $14,21 \text{ ng.l}^{-1}$ ($70,84 \text{ pM}$). En premier lieu, l'échantillon est acidifié avec une solution d'acide nitrique HNO_3 à $0,01 \text{ M}$. La figure III.18 présente les voltammogrammes obtenus par SWASV sur cet échantillon, pour une durée de préconcentration de 40 minutes.

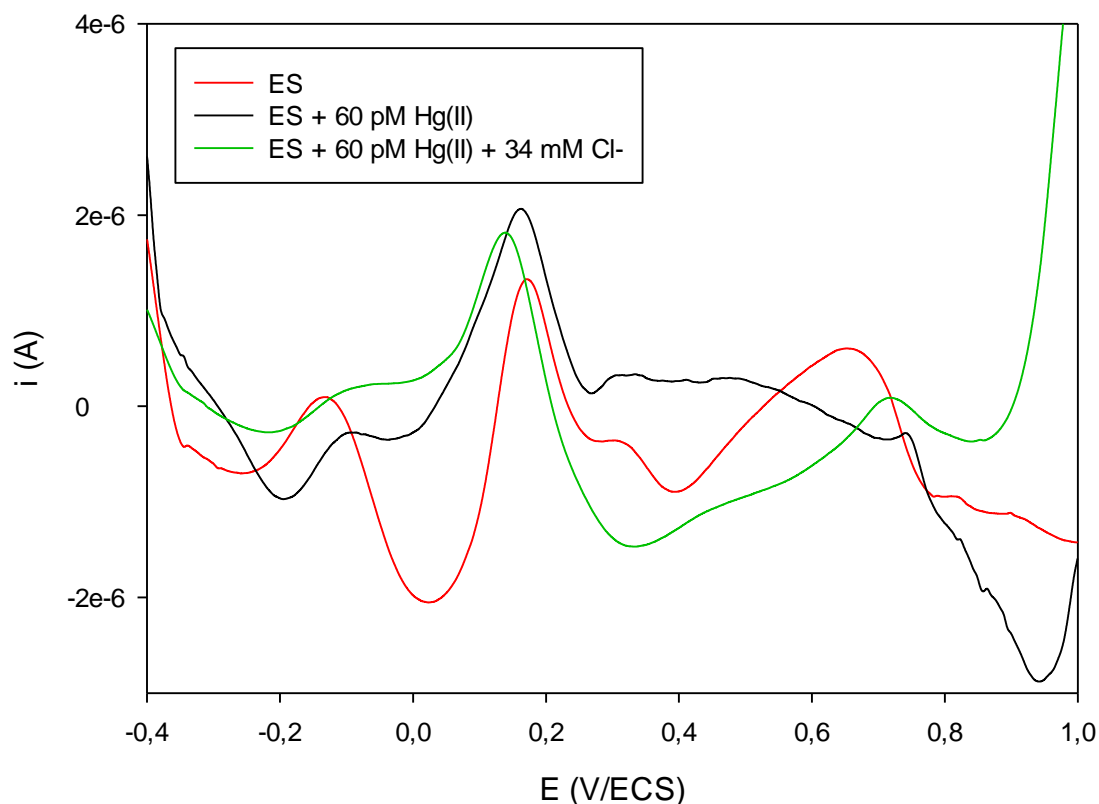


Figure III.18. Voltammogrammes obtenus par SWASV sur CV/TPD/AuNPs(300s) pour l'échantillon naturel ES pour une durée de préconcentration de 40 minutes.

Comme le montre la courbe rouge, pour une durée de préconcentration de 40 min, aucun pic pouvant être attribué à la réoxydation du mercure n'est observé dans la gamme de potentiel entre $0,4 \text{ V}$ et $0,6 \text{ V}$ et seul le pic correspondant à la désorption des Cl^- apparaît. Un ajout de 60 pM de Hg^{2+} a alors été réalisé à partir d'une solution synthétique, mais n'a pas permis d'observer un pic. En dernier lieu, une quantité correspondant à 34 mM de Cl^- est additionnée à l'échantillon. L'ajout des chlorures est une étape nécessaire afin de pouvoir observer le pic correspondant à la réoxydation du

mercure³⁰⁴. Cette concentration a été choisie en se basant sur une étude précédente réalisée dans notre équipe sur l'influence de la concentration des Cl^- sur la détection²⁵⁰, et a permis d'atteindre une limite de détection de 80 pM, proche de celle de l'échantillon dosé ici. Toutefois, comme le montre la courbe verte, l'ajout de cette quantité a permis d'observer un signal dans la zone de potentiel correspondant à la réoxydation du mercure, mais ce signal n'est pas exploitable.

Nous avons alors envisagé d'augmenter le temps de préconcentration utilisé. Des mesures SWASV sont alors réalisées sur le même échantillon avec une durée de préconcentration de 50 minutes, après ajout de 34 mM de Cl^- .

Comme le montre la courbe rouge de la figure III.19, en présence de 34 mM de Cl^- et après une durée de préconcentration de 50 minutes, un pic situé à $E = 0,481$ V/ECS est observé. Ce pic est attribué à la réoxydation de Hg.

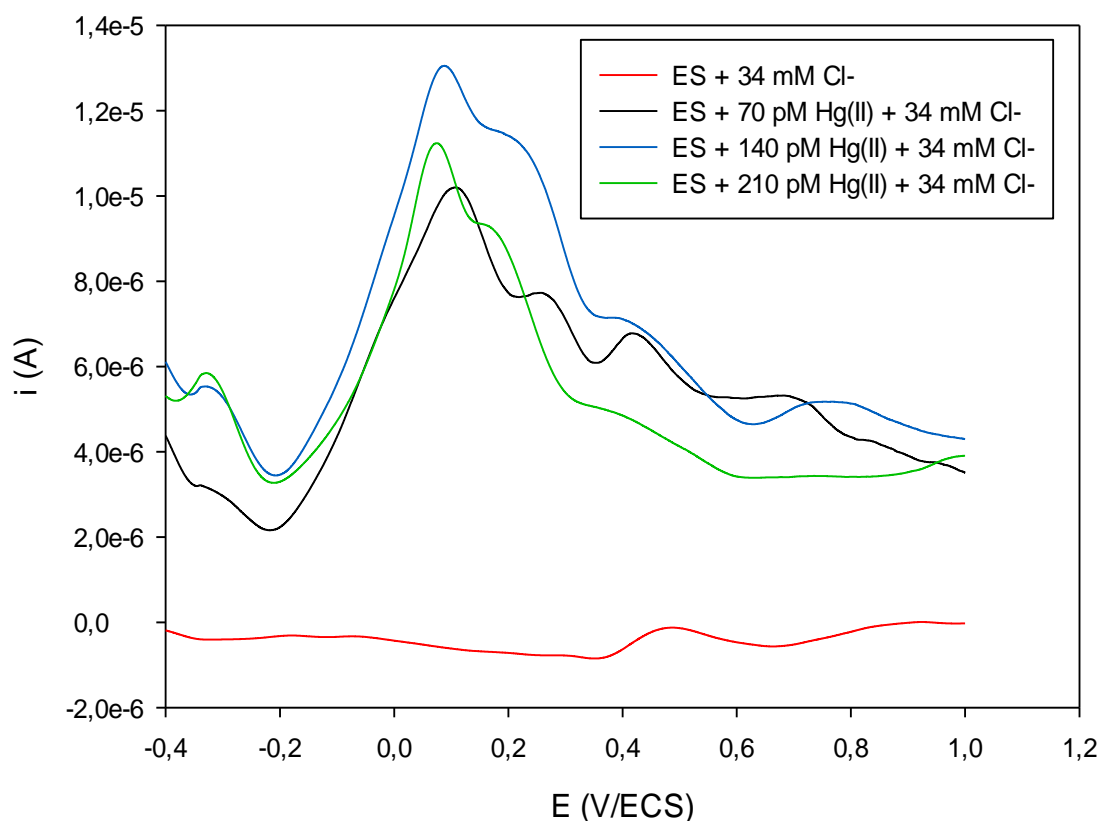


Figure III.19. Voltammogrammes obtenus par SWASV sur CV/TPD/AuNPs(300s) dans l'échantillon naturel ES, pour une durée de préconcentration de 50 min.

Des ajouts successifs d'une concentration de 70 pM de Hg^{2+} ont alors été effectués, à partir d'une solution étalon. Les courbes noire, bleue et verte de la figure III.19 présentent respectivement les voltammogrammes obtenu après le 1^{er}, le 2^{ème} et le 3^{ème} ajout. L'évolution de l'intensité du pic du mercure est présentée sur la figure III.20.

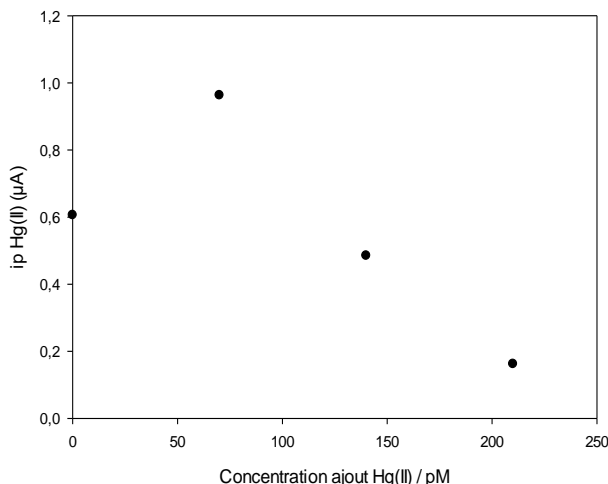


Figure III.20. Evolution de l'intensité du pic du mercure dans l'échantillon ES au cours des ajouts dosés de Hg^{2+}

Comme le montre la figure, l'intensité du pic augmente après le 1^{er} ajout correspondant à une concentration de 70 pM en Hg^{2+} , puis diminue après le 2^{ème} et le 3^{ème} ajout. L'expérience est alors arrêtée car à partir du dernier ajout le pic observé est difficilement exploitable. La diminution de l'intensité du pic est probablement due à un phénomène de saturation à la surface des AuNPs après chaque ajout, ou à un éventuel effet des autres éléments présents dans le milieu. La répétition de l'expérience avec des ajouts dosés plus faibles pourrait alors être envisagée.

Toutefois, des détections ont été réalisées dans le deuxième échantillon afin d'évaluer l'influence du milieu sur l'analyse.

- **Analyse échantillon eau usée (EU) :**

La concentration en mercure dans cet échantillon est de 7,72 ng.l^{-1} (38,8 pM). Nous avons donc opté pour une concentration en Cl^- de 60 mM étant donné qu'avec cette concentration une limite de détection de 60 pM a été obtenue²⁵⁰. La durée de préconcentration utilisée est de 50 min. La figure III.21 présente les voltammogrammes obtenus dans l'échantillon EU, enregistrés après des ajouts successifs de 20 pM de Hg^{2+} à partir d'une solution étalon.

La courbe noire, enregistrée dans l'échantillon avant d'effectuer les ajouts de Hg^{2+} montre clairement un pic situé entre 0,5 V et 0,6 V, attribué à la réoxydation du mercure. Toutefois, la même tendance a été observée : l'intensité du pic diminue à partir du 1^{er} ajout.

Cette diminution d'intensité pourrait également être attribuée à un effet de la composition de l'échantillon, ou encore à la saturation de l'interface due à la durée de préconcentration prolongée.

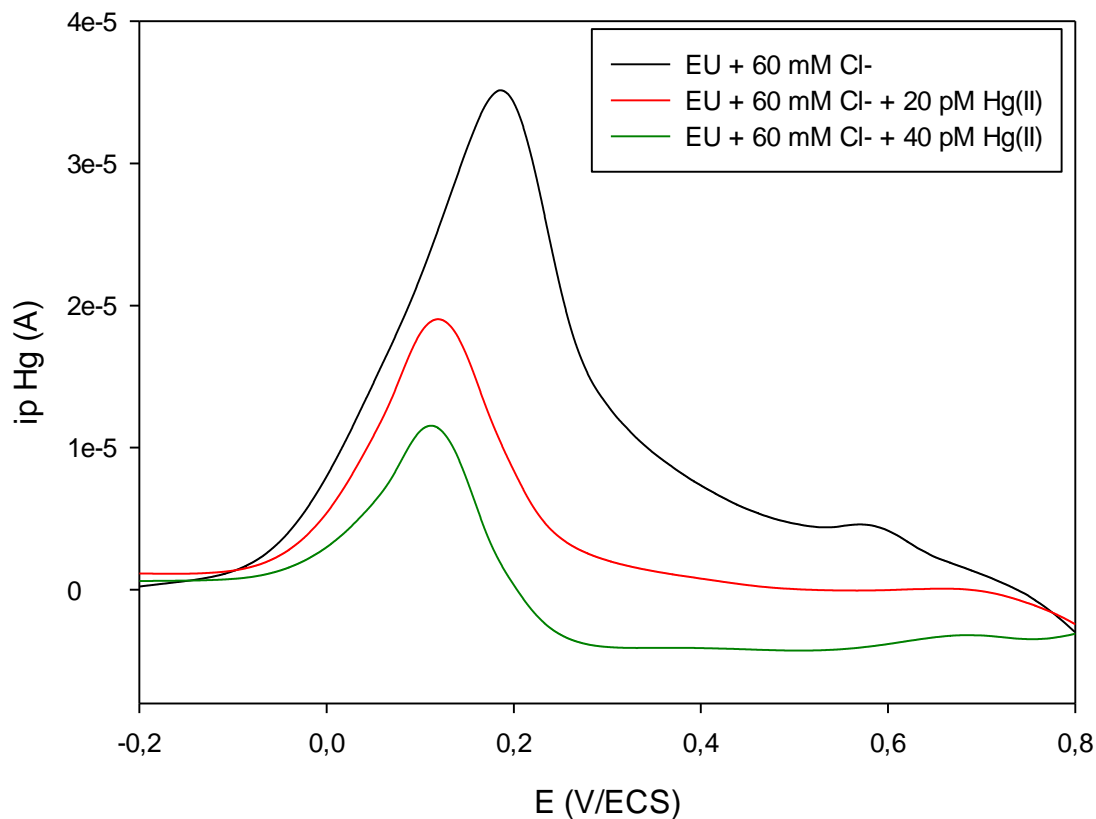


Figure III.21. Voltammogrammes obtenus par SWASV sur CV/TPD/AuNPs(300s) dans l'échantillon naturel EU, pour une durée de préconcentration de 50 min.

En conclusion, l'analyse des échantillons naturels avec l'interface CV/TPD/AuNPs par la méthode des ajouts dosés n'a pas permis de déterminer une concentration en Hg^{2+} suite à la diminution de l'intensité des pic au cours des ajouts. Toutefois, ces expériences ont permis de mettre en évidence la possibilité d'observer un pic correspondant à la réoxydation du mercure dans une matrice complexe, après acidification du milieu et ajout de Cl^- . Les essais en milieux naturels doivent donc être reconduits avec une optimisation de la durée de préconcentration, de la concentration des ions Cl^- et des ajouts dosés afin d'éviter la saturation de l'électrode.

VI. Conclusion

Dans ce chapitre, les interfaces élaborées ont été mises en application pour la détection du mercure en milieu aqueux en utilisant la redissolution anodique à vagues carrées comme méthode d'analyse. Ainsi, les performances analytiques du capteur ont pu être évaluées dans des solutions modèle. Les courbes de SWASV ont d'abord mis en évidence un pic correspondant au Hg, d'une faible intensité pour les solutions ne contenant pas de mercure, signe d'une grande sensibilité des interfaces. Dans un premier temps, des courbes de calibration ont été réalisées, en utilisant un temps de préconcentration de 300 secondes, dans une gamme de concentration entre 0,99 et 9,99 nM avec l'interface CV/TPD/AuNPs(300s). Ces courbes ont montré une bonne reproductibilité de cette interface et ont permis de déterminer la sensibilité normalisée : $0,03 \mu\text{A}\cdot\text{nmol}\cdot\text{l}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$. La réponse électrochimique du capteur a ensuite été testée pour des concentrations en Hg^{2+} plus faibles. Une calibration a été effectuée pour des concentrations allant de 100 à 1000 pM. Dans cette gamme de concentration, deux valeurs de sélectivité normalisée ont été obtenues en fonction du domaine de linéarité : $0,02 \mu\text{A}\cdot\text{nM}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ et $0,04 \mu\text{A}\cdot\text{nM}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$. Ces sensibilités sont proches de celle obtenue pour des concentrations entre . Dans un second temps, la durée de préconcentration a été optimisée, et une concentration en Hg^{2+} de 20 pM a pu être mesurée.

La réponse électrochimique du capteur a été ensuite étudiée dans un milieu contenant plusieurs cation métalliques, à des concentrations jusqu'à 100 fois plus importantes que la concentration en Hg^{2+} . Les résultats ont montré une sélectivité prometteuse, pour l'analyse d'échantillons naturels, en tenant compte des concentrations réelles des interférents utilisées. Cependant, des mesures complémentaires doivent être faites, en utilisant une composition se rapprochant le plus de celle d'un échantillon naturel.

La stabilité de l'interface CV/TPD/AuNPs(300s) a été étudiée dans 3 milieux de stockage différents : air, acide et tampon phosphate, et comparée à celle d'une interface CV/AuNPs. Les résultats préliminaires présentés dans cette étude ont montré une perte de SEA due à la dissolution de l'or d'une part, et à la quantité de mercure restante à la surface des AuNPs après chaque mesure. Cette perte a engendré une baisse de la réponse électrochimique des interfaces tout au long de la durée du stockage. Cependant, il s'est avéré que l'interface CV/TPD/AuNPs(300s), est plus stable que CV/AuNPs, permettant de poursuivre les détections jusqu'à 3 semaines après sa fabrication. Cette amélioration de stabilité est attribuée à la présence des couches organiques.

Toutefois, une étude complémentaire doit être menée afin d'identifier les autres sources de perte de SEA éventuelles. Des observations microscopiques pourraient être réalisées pour suivre

l'évolution de la morphologie des AuNPs, et de leur distribution au cours du stockage. D'autre part, une autre procédure pourrait être envisagée : l'activation serait réalisée une seule fois après la fonctionnalisation de l'électrode, et pas avant chaque mesure. Ceci pourrait limiter la perte de SEA due à la dissolution de l'or.

Enfin, des tests de détection ont été réalisés dans deux types d'échantillons naturels : eaux souterraines et eaux usées, par la méthode des ajouts dosés. Une durée de préconcentration de 50 min a permis d'observer un pic correspondant à la réoxydation de Hg. Toutefois, l'intensité de ce pic diminue au cours des ajouts dosés. Ceci pourrait être attribué à une saturation de la surface de l'électrode. Ainsi, la mise en place d'une procédure de dosage spécifiquement dédiée aux échantillons doit être envisagée. Cependant, l'interface reste prometteuse pour le dosage de Hg²⁺.

Conclusion générale et perspectives

Les travaux présentés dans ce manuscrit avaient pour but de proposer un capteur pour le dosage des traces de Hg(II) dans les eaux qui soit à la fois suffisamment sensible et stable dans le temps, afin de pouvoir envisager son déploiement sur plusieurs semaines ou mois dans le milieu naturel. Pour ce faire, nous nous sommes appuyés sur les travaux antérieurs réalisés dans l'équipe « Capteurs électrochimiques et procédés » du Laboratoire de Génie Chimique. Ces travaux ont fait appel à des nanoparticules d'or préparées par synthèse chimique, puis déposées par drop-casting sur des électrodes de carbone vitreux préalablement fonctionnalisées par des films organiques à base de sels de diazonium. Dans cette interface mixte diazonium/nanoparticules, les nanoparticules d'or devaient conférer au capteur une sensibilité suffisante vis-à-vis des traces de Hg(II), tandis que les diazoniums étaient censés offrir une stabilisation des nanoparticules sur l'interface par le biais d'une interaction forte entre leur groupement fonctionnel et le métal. Les résultats offerts par cette interface en terme de stabilité dans le temps ayant été décevants, une nouvelle stratégie a été élaborée afin de pallier ce défaut majeur, et a été développée dans le cadre de ce travail de thèse : il s'est agi de conserver les films épais de diazonium, mais d'y associer cette fois des nanoparticules d'or électrodéposées, et ce malgré le caractère isolant des films organiques. L'idée sous-jacente était d'avoir un meilleur contrôle des dépôts d'or formés, d'une part, et d'autre part de produire des nanoparticules « nues », c'est-à-dire sans ligand, afin qu'elles soient plus à même d'interagir avec les groupements fonctionnels des diazoniums.

Clairement, d'un point de vue fondamental, le pari s'est révélé gagnant : nous avons en effet démontré que l'électrodépôt de nanoparticules d'or sur une électrode de carbone vitreux recouverte d'un film épais de diazonium est possible. Les caractérisations réalisées sur les interfaces après greffage des diazoniums et réduction électrochimique d'un sel d'or(III) ont montré sans ambiguïté la présence de nanoparticules d'or sur les électrodes : celles-ci sont bien visibles sur les micrographies réalisées par MEB-FEG, et les données recueillies par voltammétrie cyclique, que ce soit avec des sondes redox ou en milieu acide dans le cadre d'une procédure d'activation, ont elles aussi mis en évidence un comportement qui ne peut s'expliquer que par la présence de nanoparticules d'or à la surface des électrodes. L'utilisation de deux sels de diazonium portant des groupements fonctionnels différents (NO_2 et SH) a permis d'éclairer le mécanisme de réduction et de dépôt de l'or sur les couches organiques, et de souligner l'influence du substituant porté par celles-ci sur l'électrodépôt. Ainsi, les diazoniums portant un groupement thiol permettent-il un dépôt d'or plus facile, mieux contrôlé et donc plus reproductible. Au final, seules les interfaces

basées sur ces diazoniums porteurs de la fonction SH ont été utilisées pour l'application analytique visée.

Concernant les performances analytiques des interfaces CV/TPD/AuNPs(300s) étudiées, nos travaux ont permis de montrer que la sensibilité vis-à-vis de la détection des traces de Hg(II) est suffisante pour doser cette cible dans la gamme de concentration du nM avec une bonne répétabilité et une bonne reproductibilité. Moyennant une optimisation des paramètres de la méthode d'analyse et plus précisément du temps de préconcentration, il est même possible de doser les traces de Hg(II) dans la gamme du pM, ce qui est un résultat encourageant en prévision des tests en milieux réels. On a toutefois pu remarquer que la présence du film organique de diazoniums n'est pas anodine vis-à-vis de la sensibilité du capteur : celle-ci est en effet nettement moins bonne que celle obtenue dans le cadre des travaux précédents de l'équipe avec des nanoparticules d'or électrodéposées directement sur du carbone vitreux (i.e. sans le film organique). Pour mémoire, nous avons obtenu au cours de ce travail une sensibilité de $0,03 \mu\text{A.nM}^{-1}.\text{min}^{-1}$, contre $0,60 \mu\text{A.nM}^{-1}.\text{min}^{-1}$ dans les études antérieures. L'examen de la sélectivité du capteur en présence de différents cations métalliques interférents a aussi donné des résultats de bon augure pour la suite, puisque le capteur continue à délivrer une réponse exploitable, bien que diminuée, lorsque Hg(II) est dosé en présence de larges excès (jusqu'à 100 fois la concentration en Hg(II)) de ces cations, et même lorsque l'ensemble de ces cations sont présents en même temps dans le milieu d'analyse. Enfin, ce travail a permis de mettre en évidence une très nette amélioration de la stabilité de l'interface mixte diazoniums/nanoparticules, que ce soit par rapport aux résultats obtenus avec des interfaces CV/AuNPs (sans diazoniums) ou avec CV/diazonium/AuNPs avec des nanoparticules préparées par voie chimique et déposées par drop-casting. En effet, là où plus aucun signal n'était obtenu après quelques jours de conservation des électrodes, l'interface CV/TPD/AuNPs(300s) permet d'enregistrer des signaux exploitables jusqu'à la troisième semaine de conservation des électrodes. La durée de vie au stockage du capteur est donc passée d'une échelle de quelques jours à celle de quelques semaines, ce qui constitue un grand pas en avant au niveau de la stabilité des interfaces.

Pour terminer, les tests de mesure de Hg(II) à l'état de traces dans des eaux naturelles ont donné des résultats quelque peu décevants, mais toutefois très encourageants. En effet, s'il n'a pas été possible de quantifier le Hg(II) contenu dans les échantillons naturels testés, en raison d'une diminution progressive du signal lorsqu'on réalise des ajouts dosés – diminution dont les causes ne sont pas encore clairement établies –, les mesures réalisées montrent clairement que Hg(II) peut être détecté, puisqu'un signal lui correspondant a pu être observé avant de procéder aux ajouts dosés. Ce

point est particulièrement important et rassurant, au regard de la sensibilité amoindrie de l'interface CV/TPD/AuNPs(300s) comparativement à l'interface CV/AuNPs qui avait permis de mesurer une concentration de 19 pM dans une eau naturelle en 2015.

Les perspectives qui peuvent être données à ce travail sont nombreuses, tant au point de vue fondamental qu'appliqué.

Tout d'abord, il serait intéressant de poursuivre l'étude de la réponse de sondes redox avec des électrodes CV/TPD/AuNPs, afin de bien comprendre les mécanismes qui président au transfert d'électrons à travers cette couche mixte organique/inorganique. De telles études pourraient être couplées avec des simulations (DIGISIM ou COMSOL, par exemple) pour modéliser ce transfert d'électrons.

Toujours sur un plan fondamental, mais avec en point de mire l'amélioration de la stabilisation des AuNPs sur les films organiques, il apparaît nécessaire de mieux comprendre les interactions entre les nanoparticules et les groupements fonctionnels SH portés par les diazoniums. Ces interactions sont certainement un point clé dans la structuration de l'interface, et ce faisant, dans la durée de vie du capteur. Des mesures de microscopie à balayage électronique à effet de champ en faisant varier l'angle de vue pourraient donner une vision tridimensionnelle des dépôts particulièrement informative. L'utilisation du GISAXS (mesure aux rayons X à incidence rasante) pourrait également fournir de précieuses informations, de même que la microscopie électrochimique à balayage (SECM) et la spectroscopie SFG (Sum Frequency Generation, soit « génération de fréquences sommes »). Une meilleure compréhension des interactions Au/S et de la structuration des interfaces pourrait notamment améliorer la stabilité du capteur en optimisant la préparation des films organiques et/ou des nanoparticules, mais aussi d'envisager d'autres groupements fonctionnels qui amélioreraient encore la stabilisation des AuNPs. Par exemple, des diazoniums porteurs de groupement fonctionnels plus complexes qu'un simple thiol pourraient être envisagés : on pense notamment au thiophénylbenzène diazonium, dans le cadre d'une approche similaire à celle utilisée par l'équipe « Capteurs électrochimiques et procédés » dans le cadre de sa thématique de recherche relative au stress oxydatif. Les nanoparticules pourraient être électrodéposées sur les diazoniums porteurs d'un groupement thiophène, puis seraient ensuite enserrées dans un film formé par polymérisation du 3,4-éthylènedioxythiophène. Il resterait toutefois à vérifier si le polymère ne serait pas gênant pour l'accès des ions Hg(II) aux nanoparticules lors de l'étape de préconcentration.

Pour ce qui concerne la partie détection des traces en milieu naturel, un processus systématique d'optimisation de la procédure d'analyse doit être mis en œuvre. La détection du Hg(II) est en effet possible, il reste maintenant à rendre les signaux obtenus quantifiables. Une étude plus approfondie doit également être conduite pour identifier et, si possible, contrer, les phénomènes qui mènent à une diminution du signal enregistré lors des ajouts dosés de Hg(II). Probablement ici faudra-t-il reconstituer progressivement les conditions réunies dans les échantillons naturels (cations métalliques, anions, matières organiques) pour voir si certaines d'entre elles sont responsables de cette diminution du signal. Il conviendrait également de vérifier si les temps de préconcentration assez long (plusieurs dizaines de minutes) ne portent pas d'une manière ou d'une autre préjudice aux interfaces, par exemple en conduisant à un réarrangement ou à un « décrochage » des AuNPs. Ce dernier point est facile à vérifier, mais n'a pas été réalisé dans le cadre de ces travaux par manque de temps : il suffirait de procéder à l'activation d'une électrode après avoir réalisé une séquence de détection en eau naturelle avec des ajouts dosés, pour vérifier l'évolution de la quantité d'or présente sur l'électrode.

D'une manière plus générale, nos travaux ont montré que l'électrodépôt de nanoparticules est possible sur des films de diazoniums épais : les interfaces mixtes organiques/inorganiques obtenues, et les avantages qu'elles confèrent notamment en terme de durée de vie des capteurs, pourraient être utilisées dans de nombreuses applications autres que le dosage des éléments-traces métalliques dans les eaux.

Références

1. Berthelot, M., La Chimie dans l'antiquité et au moyen âge.-I.-Les Grecs, les Latins, les Syriens. *Rev. des Deux Mondes*. **119**, 315–336 (1893).
2. Boudou, A., Dominique, Y., Cordier, S., Frery, N., Les chercheurs d'or et la pollution par le mercure en Guyane française : conséquences environnementales et sanitaires. *Environnement, Risques & Santé*. **5**, 167–179 (2006).
3. Kumar, V., Tate, B., Chemical of the Month - Mercury. *J. Chem. Educ.* **59**, 971–972 (1982).
4. Bensefa-Colas, L., Andujar, P., Descatha, A., Intoxication par le mercure. *Rev. Med. Interne*. **32**, 416–424 (2011).
5. Eisler, R., Health risk of gold miners : A synoptic review. *Env. Geochem Heal.* **25**, 325–345 (2003).
6. UN Environment., Global Mercury Assessment 2018. *UN Environ. Program. Chem. Heal. Branch Geneva*, (2019).
7. World Health Organization., Methylmercury in Environmental Health Criteria 101. *Environ. Heal. Criteria*, (1990).
8. Pandey, S. K., Kim, K.-H., Brown, R. J. C., Measurement techniques for mercury species in ambient air. *TrAC Trends Anal. Chem.* **30**, 899–917 (2011).
9. Sharma, P., Singh, G., Mercury toxicity and its management: need of the hour. *Pharma Innov.* **5**, 96–99 (2016).
10. Wang, Q., Kim, D., Dionysiou, D. D., Sorial, G. A., Timberlake, D., Sources and remediation for mercury contamination in aquatic systems - A literature review. *Environ. Pollut.* **131**, 323–336 (2004).
11. Friberg, L., Mottet, N. K., Accumulation of methylmercury and inorganic mercury in the brain. *Biol. Trace Elem. Res.* **21**, 201–206 (1989).
12. Park, J. D., Zheng, W., Human exposure and health effects of inorganic and elemental mercury. *J. Prev. Med. Public Heal.* **45**, 344–352 (2012).
13. Leopold, K., Foulkes, M., Worsfold, P., Methods for the determination and speciation of mercury in natural waters-A review. *Anal. Chim. Acta.* **663**, 127–138 (2010).
14. Poupon, J., L'exposition au mercure en 2007: Toxicité et prise en charge. *Rev. Francoph. des Lab.* **2007**, 51–56 (2007).

15. Loux, N. T., An assessment of mercury-species-dependent binding with natural organic carbon. *Chem. Speciat. Bioavailab.* **10**, 127–136 (1998).
16. Jia, Q. Zhu, X., Hao, Y., Yang, Z., Wang, Q., Fu, H., Yu, H., Mercury in soil, vegetable and human hair in a typical mining area in China: Implication for human exposure. *J. Environ. Sci.* **68**, 73–82 (2018).
17. Ullrich, S. M., Tanton, T. W., Abdrashitova, S. A., Mercury in the Aquatic Environment: A Review of Factors Affecting Methylation. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* **31**, 241–293 (2001).
18. Gochfeld, M., Cases of mercury exposure, bioavailability, and absorption. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **56**, 174–179 (2003).
19. Lindqvist, O., Rhode, H., Atmospheric mercury—a review. *Tellus B.* **37 B**, 136–159 (1985).
20. Langford, N. J., Ferner, R. E., Toxicity of mercury. *J. Hum. Hypertens.* **13**, 651–656 (1999).
21. Camargo, J. A., Contribution of Spanish-American silver mines (1570-1820) to the present high mercury concentrations in the global environment: A review. *Chemosphere.* **48**, 51–57 (2002).
22. Marliere, F., Métrologie Benzène-HAP-métaux Bilan des mesures et perspectives pour la surveillance du mercure dans l’air ambiant en France au titre de la Directive Européenne. Document technique de l'INERIS (2010).
23. Kallithrakas-Kontos, N., Foteinis, S., Recent Advances in the Analysis of Mercury in Water - Review. *Curr. Anal. Chem.* **12**, 22–36 (2015).
24. Lee, D. S., Dollard, G. J., Pepler, S., Gas-phase mercury in the atmosphere of the United Kingdom. *Atmos. Environ.* **32**, 855–864 (1998).
25. C. Driscoll, R. Mason, H.M, Chan, D. Jacob, N. P., Mercury as a Global Pollutant : Source, Pathways, and Effects. *Environmental Science and Technology.* **47**, 4967-4983, (2013)
26. CITEPA., Gaz à effet de serre et polluants atmosphériques - Bilan des émissions en France de 1990 à 2017, *Extrait.* **46**, (2019).
27. Lindqvist, O., Johansson, K., Aastrup, M., Andersson, A., Bringmark, L., Hovsenius, G., Håkanson, L., Iverfeldt, Å., Meili, M., Timm, B., Mercury in the Swedish environment - Recent research on causes, consequences and corrective methods. *Water, Air, Soil Pollut.* **55**, (1991).
28. Bloom, N., Fitzgerald, W. F., *Anal. Chim. Acta.* **208**, 151–161 (1988).

29. Selin, N. E., Jacob, D.J., Park, J.K., Yantosca, R.M., Strode, S., Jaeglé, L., Jaffe, D., Chemical cycling and deposition of atmospheric mercury: Global constraints from observations. *J. Geophys. Res. Atmos.* **112**, 1–14 (2007).
30. European Environment Agency., *Mercury in Europe's Environment*. (2018).
31. Selin, N. E., Global Biogeochemical Cycling of Mercury: A Review. *Annu. Rev. Environ. Resour.* **34**, 43–63 (2009).
32. Hygelund, B. N., Ambers, R. K. R., Ambers, C. P., Sánchez-Hernández, J.C., Molina, J.A., Esbri, J.M., Lorenzo, S., Tracing the source of mercury contamination in the Dorena Lake watershed, Western Oregon. *Environ. Geol.* **40**, 853–859 (2001).
33. Gray, J. E., Theodorakos, P. M., Bailey, E. A., Turner, R. R., Distribution, speciation, and transport of mercury in stream-sediment, stream-water, and fish collected near abandoned mercury mines in southwestern Alaska, USA. *Sci. Total Environ.* **260**, 21–33 (2000).
34. Rieuwerts, J. S., Farago, M., Mercury concentrations in a historic lead mining and smelting town in the Czech Republic: A pilot study. *Sci. Total Environ.* **188**, 167–171 (1996).
35. Higuera, P., Oyarzun, R., Lillo, J., Sánchez-Hernández, J.C., Molina, J.A., Esbri, J.M., Lorenzo, S., The Almadén district (Spain): Anatomy of one of the world's largest Hg-contaminated sites. *Sci. Total Environ.* **356**, 112–124 (2006).
36. Barbillon, A., Aubry, C., Nold, F., Besancon, S., Manouchehri, N., Health Risks Assessment in Three Urban Farms of Paris Region for Different Scenarios of Urban Agricultural Users: A Case of Soil Trace Metals Contamination. *Agric. Sci.* **10**, 352–370 (2019).
37. Kotnik, J., Horvat, M., Tessier, E., Orginc, N., Monperrus, M., Amouroux, D., Fajon, V., Gibičar, D., Žižek, S., Sprovieri, F., Pirrone, N., Mercury speciation in surface and deep waters of the Mediterranean Sea. *Mar. Chem.* **107**, 13–30 (2007).
38. Vandal, G. M., Mason, R. P., McKnight, D., Fitzgerald, W., Mercury speciation and distribution in a polar desert lake (Lake Hoare, Antarctica) and two glacial meltwater streams. *Sci. Total Environ.* **213**, 229–237 (1998).
39. Knight, S. S., Cooper, C. M., Insecticide and metal contamination of a mixed cover agricultural watershed. *Water Sci. Technol.* **33**, 227–234 (1996).
40. Cooper, C. M., Gillespie, W. B., Arsenic and mercury concentrations in major landscape components of an intensively cultivated watershed. *Environ. Pollut.* **111**, 67–74 (2001).

41. Jardine, T. D., Halliday, I. A., Howley, C., Sinnamon, V., Bunn, S. E., Large scale surveys suggest limited mercury availability in tropical north Queensland (Australia). *Sci. Total Environ.* **416**, 385–393 (2012).
42. Conaway, C. H., Black, F. J., Weiss-Penzias, P., Gault-Ringold, M., Flegal, A. R., Mercury speciation in Pacific coastal rainwater, Monterey Bay, California. *Atmos. Environ.* **44**, 1788–1797 (2010).
43. Rothenberg, S. E. Feng, X., Dong, B., Shang, L., Yin, R., Yuan, X., Characterization of mercury species in brown and white rice (*Oryza sativa* L.) grown in water-saving paddies. *Environ. Pollut.* **159**, 1283–1289 (2011).
44. Fang, T. Lu, W., Cui, K., Li, J., Yang, K., Zhao, X., Liang, Y., Li, H., Distribution, bioaccumulation and trophic transfer of trace metals in the food web of Chaohu Lake, Anhui, China. *Chemosphere.* **218**, 1122–1130 (2019).
45. Li, G., Liu, G., Zhou, C., Chou, C.L., Zheng, L., Wang, J., Spatial distribution and multiple sources of heavy metals in the water of Chaohu Lake, Anhui, China. *Environ. Monit. Assess.* **184**, 2763–2773 (2012).
46. Nguyen, N. T. T., Volkova, I. V., Egorova, V. I. Distribution of Mercury in Water and Bottom Sediments of the Estuary Area of the Red River (Vietnam). *IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci.* **224**, (2019).
47. Nguetseng, R., Fliedner, A., Knopf, B., Lebreton, B., Quack, M., Rüdell, H., Retrospective monitoring of mercury in fish from selected European freshwater and estuary sites. *Chemosphere.* **134**, 427–434 (2015).
48. Mason, R. P., Rolffhus, K. R., Fitzgerald, W. F., Methylated and elemental mercury cycling in surface and deep ocean waters of the North Atlantic. *Water, Air, Soil Pollut.* **80**, 665–677 (1995).
49. Laurier, F. J. G., Mason, R. P., Gill, G. A., Whalin, L., Mercury distributions in the North Pacific Ocean - 20 Years of observations. *Mar. Chem.* **90**, 3–19 (2004).
50. Lamborg, C. H., Yiğiterhan, Oğuz., Fitzgerald, W.F, Balcom, P.H., Hammerschmidt, C.R., Murray, J., Vertical distribution of mercury species at two sites in the Western Black Sea. *Mar. Chem.* **111**, 77–89 (2008).
51. Zupo, V. Graber, G., Kamel, S., Plitcha, V., Granitzer, C., Wittmann, K.J., Mercury accumulation in freshwater and marine fish from the wild and from aquaculture ponds. *Environ. Pollut.* **255**, 112975 (2019).

52. Gilfriche, P., André, J.M., Gentes, S., Maury Brachet, R., Lgeay, A., Feurtet-Mazel, A., Lespinet-Najib, V., Risk perception and specific behaviors of anglers concerning mercury contamination of fish. *Hum. Ecol. Risk Assess.* **25**, 1–14 (2019).
53. Youssao Abdou Karim, A., Sources and Distribution of Mercury Residues in Environmental and Food Matrices of the Mekrou River Watershed in Kèrou, Kouandé and Péhunco in Republic of Benin. *Am. J. Appl. Chem.* **6**, 57 (2018).
54. Kola, S., Kanja, L. W., Mbaria, J. M., Maina, J. G., Okumu, M. O., Levels of mercury in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), water, and sediment in the Migori gold mining belt, Kenya, and the potential ramifications to human health. *F1000 Research.* **8**, 1244 (2019).
55. Xu, X., Wang, W. X., Mercury exposure and source tracking in distinct marine-caged fish farm in southern China. *Environ. Pollut.* **220**, 1138–1146 (2017).
56. Marriott, A. L., Kelly, T.J., Sarkar, S.K., Chenery, S.R.N., Rakshit, D., Bhattacharya, B.D., Watts, M.J., Elemental composition of aquaculture fish from West Bengal, India: nutrition versus food safety. *Environ. Geochem. Health.* **8**, (2019).
57. Subotić, S. Spasić, S., Višnjić-Jeftić, Ž., Hegediš, A., Krpo-Ćetković, J., Mićković, B., Skorić, S., Lenhardt, M., Heavy metal and trace element bioaccumulation in target tissues of four edible fish species from the Danube River (Serbia). *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **98**, 196–202 (2013).
58. Moiseenko, T. I., Gashkina, N. A., Bioaccumulation of mercury in fish as indicator of water pollution. *Geochemistry Int.* **54**, 485–493 (2016).
59. Johansen, P., Muir, D., Asmund, G., Riget, F., Human exposure to contaminants in the traditional Greenland diet. *Sci. Total Environ.* **331**, 189–206 (2004).
60. Bełdowska, M., Falkowska, L., Mercury in marine fish, mammals, seabirds, and human hair in the coastal zone of the southern Baltic. *Water. Air. Soil Pollut.* **227**, 1–11 (2016).
61. Fort, J. Lacoue-Labarthe, T., Nguyen, H.L., Boué, A., Spitz, J., Bustamante, P., Mercury in wintering seabirds, an aggravating factor to winter wrecks? *Sci. Total Environ.* **527–528**, 448–454 (2015).
62. Mallory, M. L. Provencher, J.F., Robertson, G.J., Braune, B.M., Holland, E.R., Klapstein, S., Stevens, K., O'Driscoll, N.J., Mercury concentrations in blood, brain and muscle tissues of coastal and pelagic birds from northeastern Canada. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **157**, 424–430 (2018).

63. MacLachlan, D. J., Budd, K., Connolly, J., Derrick, J., Penrose, L., Tobin, T., Arsenic, cadmium, cobalt, copper, lead, mercury, molybdenum, selenium and zinc concentrations in liver, kidney and muscle in Australian sheep. *J. Food Compos. Anal.* **50**, 97–107 (2016).
64. Dobrzański, Z., Kołacz, R., Czaban, S., Bubel, F., Malczewski, M., Kupczyński, R., Opaliński, S., Assessing mercury content in plant and animal raw materials in an area impacted by the copper industry. *Polish J. Environ. Stud.* **26**, 577–583 (2017).
65. Risher, J. F., Concise International Chemical Assessment Document 50: Elemental mercury and inorganic mercury compounds: Human health aspects. *IPCS Concise Int. Chem. Assess. Doc.* (2003).
66. Mergler, D., Lebel, J., Les effets de l'exposition au méthylmercure chez les adultes. (1985).
67. Jaishankar, M., Tseten, T., Anbalagan, N., Mathew, B. B., Beeregowda, K. N., Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals. *Interdiscip. Toxicol.* **7**, 60–72 (2014).
68. Bosch, A. C., O'Neill, B., Sigge, G. O., Kerwath, S. E., Hoffman, L. C., Heavy metals in marine fish meat and consumer health: A review. *J. Sci. Food Agric.* **96**, 32–48 (2016).
69. Lohren, H. Blagojevic, L., Fitkau, R., Ebert, F., Schildknecht, S., Leist, M., Schwerdtle, T., Toxicity of organic and inorganic mercury species in differentiated human neurons and human astrocytes. *J. Trace Elem. Med. Biol.* **32**, 200–208 (2015).
70. Asano, S., Eto, K., Kurisaki, E., Gunji, H., Hiraiwa, K., Sato, M., Sato, H., Hasuike, M., Hagiwara, N., Acute inorganic mercury vapor inhalation poisoning. *Pathol. Int.* **50**, 169–174 (2000).
71. Falcy, M., Jargot, D., La Rocca, B., Pillière, F., Robert, S., Serre, P., Simonnard, A., Mercure et composés minéraux, *Base de données fiches toxicologiques (INRS)*. (2014).
72. Rice, K. M., Walker, E. M., Wu, M., Gillette, C., Blough, E. R., Environmental mercury and its toxic effects. *J. Prev. Med. Public Heal.* **47**, 74–83 (2014).
73. Mudgal, V., Madaan, N., Mudgal, A., Singh, R. B., Mishra, S., Effect of Toxic Metals on Human Health. *Open Nutraceuticals J.* **3**, 94–99 (2014).
74. Al-Sinani, S., Al-Rawas, A., Dhawan, A., Mercury as a cause of fulminant hepatic failure in a child: Case report and literature review. *Clin. Res. Hepatol. Gastroenterol.* **35**, 580–582 (2011).
75. World Health Organization., Guidelines for Drinking-water Quality, *4th Edition*, (2011) .
76. World Health Organization Regional Office for Europe., Air quality guidelines. *Air Qual. Guidel.* **3**, 1–25 (2001).

77. United States Environmental Protection Agency. Guidance For Implementing the January 2001 Methylmercury Water Quality Criterion. *EPA 823-R-10-001* (2010).
78. Agency, U. S. E. P. National Primary Drinking Water Regulations. **1**, (2009).
79. United States Environmental Protection Agency. 2018 Edition of the Drinking Water Standards and Health Advisories. *EPA 822-F-18-001* 2–6 (2018) doi:EPA 822-S-12-001.
80. Aceto, M., The Use of ICP-MS in Food Traceability. *Advances in Food Traceability Techniques and Technologies: Improving Quality Throughout the Food Chain*. 137-164. (2016).
81. Caruso, F., Mantellato, S., Palacios, M., Flatt, R. J. ICP-OES method for the characterization of cement pore solutions and their modification by polycarboxylate-based superplasticizers. *Cem. Concr. Res.* **91**, 52–60 (2017).
82. United States Environmental Protection Agency., Method 1631, Revision E: Mercury in Water by Oxidation, Purge and Trap, and Cold Vapor Atomic Fluorescence Spectrometry. (2002).
83. Yuan, X. Yang, G., Ding, Y., Li, X., Zhan, X., Zhao, Z., Duan, Y., An effective analytical system based on a pulsed direct current microplasma source for ultra-trace mercury determination using gold amalgamation cold vapor atomic emission spectrometry. *Spectrochim. Acta - Part B At. Spectrosc.* **93**, 1–7 (2014).
84. Jia, X., Han, Y., Wei, C., Duan, T., Chen, H., Speciation of mercury in liquid cosmetic samples by ionic liquid based dispersive liquid-liquid microextraction combined with high-performance liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry. *J. Anal. At. Spectrom.* **26**, 1380–1386 (2011).
85. Ma, S. He, M., Chen, B., Deng, W., Zheng, Q., Hu, B., Magnetic solid phase extraction coupled with inductively coupled plasma mass spectrometry for the speciation of mercury in environmental water and human hair samples. *Talanta.* **146**, 93–99 (2016).
86. Panichev, N., Kalumba, M. M., Mandiwana, K. L., Solid phase extraction of trace amount of mercury from natural waters on silver and gold nanoparticles., *Anal. Chim. Acta.* **813**, 56–62 (2014).
87. Jia, X. Y., Gong, D.R., Han, Y., Wei, C., Duan, T.C., Chen, H.T, Fast speciation of mercury in seawater by short-column high-performance liquid chromatography hyphenated to inductively coupled plasma spectrometry after on-line cation exchange column preconcentration. *Talanta.* **88**, 724–729 (2012).

88. Cheng, H., Wu, C., Shen, L., Liu, J., Xu, Z., Online anion exchange column preconcentration and high performance liquid chromatographic separation with inductively coupled plasma mass spectrometry detection for mercury speciation analysis. *Anal. Chim. Acta.* **828**, 9–16 (2014).
89. Brombach, C. C., Chen, B., Corns, W. T., Feldmann, J., Krupp, E. M., Methylmercury in water samples at the pg/L level by online preconcentration liquid chromatography cold vapor-atomic fluorescence spectrometry. *Spectrochim. Acta - Part B At. Spectrosc.* **105**, 103–108 (2015).
90. Carter, K. P., Young, A. M., Palmer, A. E., Fluorescent sensors for measuring metal ions in living systems. *Chem. Rev.* **114**, 4564–4601 (2014).
91. Kaewtong, C., Niamsa, N., Wannoo, B., Morakot, N., Pulpoka, B., Tuntulani, T., Optical chemosensors for Hg²⁺ from terthiophene appended rhodamine derivatives: FRET based molecular and in situ hybrid gold nanoparticle sensors. *New J. Chem.* **38**, 3831–3839 (2014).
92. Kumar, M., Zhang, P., Highly sensitive and selective label-free optical detection of mercuric ions using photon upconverting nanoparticles. *Biosens. Bioelectron.* **25**, 2431–2435 (2010).
93. Li, M., Zhou, X., Ding, W., Guo, S., Wu, N., Fluorescent aptamer-functionalized graphene oxide biosensor for label-free detection of mercury(II). *Biosens. Bioelectron.* **41**, 889–893 (2013).
94. Wang, S. E., Si, S., Aptamer biosensing platform based on carbon nanotube long-range energy transfer for sensitive, selective and multicolor fluorescent heavy metal ion analysis. *Anal. Methods.* **5**, 2947–2953 (2013).
95. Tabaraki, R., Sadeghinejad, N., Microwave assisted synthesis of doped carbon dots and their application as green and simple turn off–on fluorescent sensor for mercury (II) and iodide in environmental samples. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **153**, 101–106 (2018).
96. Liu, Z., Jin, W., Wang, F., Li, T., Nie, J., Xiao, W., Zhang, Q., Zhang, Y., Ratiometric fluorescent sensing of Pb²⁺ and Hg²⁺ with two types of carbon dot nanohybrids synthesized from the same biomass. *Sensors Actuators, B Chem.* **296**, 126698 (2019).
97. Zhang, J. J., Cheng, F. F., Li, J. J., Zhu, J. J., Lu, Y., Fluorescent nanoprobe for sensing and imaging of metal ions: Recent advances and future perspectives. *Nano Today.* **11**, 309–329 (2016).
98. Li, Y., Chen, Y., Yu, H., Tian, L., Wang, Z., Portable and smart devices for monitoring heavy metal ions integrated with nanomaterials. *TrAC - Trends Anal. Chem.* **98**, 190–200 (2018).

99. Christus, A. A. B., Ravikumar, A., Panneerselvam, P., Radhakrishnan, K., A novel Hg(II) sensor based on Fe₃O₄@ZnO nanocomposite as peroxidase mimics. *Appl. Surf. Sci.* **449**, 669–676 (2018).
100. Priyadarshini, E., Pradhan, N., Gold nanoparticles as efficient sensors in colorimetric detection of toxic metal ions: A review. *Sensors Actuators, B Chem.* **238**, 888–902 (2017).
101. Chen, G., Guo, Z., Zeng, G., Tang, L., Fluorescent and colorimetric sensors for environmental mercury detection. *Analyst.* **140**, 5400–5443 (2015).
102. Tian, K., Siegel, G., Tiwari, A., A simple and selective colorimetric mercury (II) sensing system based on chitosan stabilized gold nanoparticles and 2,6-pyridinedicarboxylic acid. *Mater. Sci. Eng. C* **71**, 195–199 (2017).
103. Chao, C. H., Wu, C.S., Huang, C.C., Liang, J.C., Wang, H.T., Tang, P.T., Lin, Y.L., Ko, F.H., A rapid and portable sensor based on protein-modified gold nanoparticle probes and lateral flow assay for naked eye detection of mercury ion. *Microelectron. Eng.* **97**, 294–296 (2012).
104. Liu, Y., Su, G., Zhang, B., Jiang, G., Yan, B., Nanoparticle-based strategies for detection and remediation of environmental pollutants. *Analyst.* **136**, 872–877 (2011).
105. Elahi, N., Kamali, M., Baghersad, M. H., Recent biomedical applications of gold nanoparticles: A review. *Talanta.* **184**, 537–556 (2018).
106. Devadiga, A., Vidya Shetty, K., Saidutta, M. B., Highly stable silver nanoparticles synthesized using Terminalia catappa leaves as antibacterial agent and colorimetric mercury sensor. *Mater. Lett.* **207**, 66–71 (2017).
107. Jeevika, A., Shankaran, D. R., Functionalized silver nanoparticles probe for visual colorimetric sensing of mercury. *Mater. Res. Bull.* **83**, 48–55 (2016).
108. Yan, Z., Yuen, M. F., Hu, L., Sun, P., Lee, C. S., Advances for the colorimetric detection of Hg²⁺ in aqueous solution. *RSC Adv.* **4**, 48373–48388 (2014).
109. Tao, Y., Lin, Y., Huang, Z., Ren, J., Qu, X., Poly(acrylic acid)-templated silver nanoclusters as a platform for dual fluorometric turn-on and colorimetric detection of mercury (II) ions. *Talanta.* **88**, 290–294 (2012).
110. Wang, Y., Yang, F., Yang, X., Colorimetric detection of mercury(II) ion using unmodified silver nanoparticles and mercury-specific oligonucleotides. *ACS Appl. Mater. Interfaces.* **2**, 339–342 (2010).

111. Roy, B., Bairi, P., Nandi, A. K., Selective colorimetric sensing of mercury(ii) using turn off-turn on mechanism from riboflavin stabilized silver nanoparticles in aqueous medium. *Analyst*. **136**, 3605–3607 (2011).
112. Kempegowda, R. G., Malingappa, P., Covalent modification of glassy carbon spheres through ball milling under solvent free conditions: A novel electrochemical interface for mercury(II) quantification. *Talanta*. **126**, 54–60 (2014).
113. Asadpour-Zeynali, K., Amini, R., A novel voltammetric sensor for mercury(II) based on mercaptocarboxylic acid intercalated layered double hydroxide nanoparticles modified electrode. *Sensors Actuators, B Chem*. **246**, 961–968 (2017).
114. Djebbi, M. A., Les Hydroxydes Doubles Lamellaires au coeur de la biotechnologie : évaluation des applications médicales et environnementales. Thèse de doctorat, Université de Lyon, Université Claude Bernand, Université de Carthage, Faculté des Sciences de Bizerte. (2017).
115. Liao, Y., Li, Q., Wang, N., Shao, S., Development of a new electrochemical sensor for determination of Hg(II) based on Bis(indolyl)methane/Mesoporous carbon nanofiber/Nafion/glassy carbon electrode. *Sensors Actuators, B Chem*. **215**, 592–597 (2015).
116. Shah, A., Sultan, S., Zahid, A., Aftab, S., Nisar, J., Nayab, S., Qureshi, R., Khan, G.S., Hussain, H., Ozkan, S.A., Highly sensitive and selective electrochemical sensor for the trace level detection of mercury and cadmium. *Electrochim. Acta*. **258**, 1397–1403 (2017).
117. Xing, H., Xu, J., Zhu, X., Duan, X., Lu, L., Zuo, Y., Zhang, Y., Wang, W., A new electrochemical sensor based on carboimidazole grafted reduced graphene oxide for simultaneous detection of Hg²⁺ and Pb²⁺. *J. Electroanal. Chem*. **782**, 250–255 (2016).
118. Peng, D. L., Ji, H.F., Dong, X.D., Tian, J.F., Wang, M.H., He, L.H., Zhang, Z.Z., Fang, S.M., Highly Sensitive Electrochemical Bioassay for Hg(II) Detection Based on Plasma-Polymerized Propargylamine and Three-Dimensional Reduced Graphene Oxide Nanocomposite. *Plasma Chem. Plasma Process*. **36**, 1051–1065 (2016).
119. Wu, D., Zhang, Q, Chu, X., Wang, H., Shen, G., Yu, R., Ultrasensitive electrochemical sensor for mercury (II) based on target-induced structure-switching DNA. *Biosens. Bioelectron*. **25**, 1025–1031 (2010).
120. Zhang, Y., Qi, M., Liu, G., C-C Bonding of Graphene Oxide on 4-Aminophenyl Modified Gold Electrodes towards Simultaneous Detection of Heavy Metal Ions. *Electroanalysis*. **27**, 1110–1118 (2015).

121. Liu, Z., Puumala, E., Chen, A., Sensitive electrochemical detection of Hg(II) via a FeOOH modified nanoporous gold microelectrode. *Sensors Actuators, B Chem.* **287**, 517–525 (2019).
122. Deshmukh, M. A., Celiesiute, R., Ramanaviciene, A., Shirsat, M. D., Ramanavicius, A., EDTA_PANI/SWCNTs nanocomposite modified electrode for electrochemical determination of copper (II), lead (II) and mercury (II) ions. *Electrochim. Acta.* **259**, 930–938 (2018).
123. Moutcine, A., Chtaini, A., Electrochemical determination of trace mercury in water sample using EDTA-CPE modified electrode. *Sens. Bio-Sensing Res.* **17**, 30–35 (2018).
124. Abollino, O., Giacomino, A., Malandrino, M., Piscionieri, G., Mentasti, E., Determination of mercury by anodic stripping voltammetry with a gold nanoparticle-modified glassy carbon electrode. *Electroanalysis.* **20**, 75–83 (2008).
125. Gao, X. H., Wei, W. Z., Yang, L., Yin, T. J., Wang, Y., Simultaneous determination of lead, copper, and mercury free from macromolecule contaminants by square wave stripping voltammetry. *Anal. Lett.* **38**, 2327–2343 (2005).
126. Gong, T. Z. J., Song, D., Zhang, L., Hu, X., Stripping Voltammetric Detection of Mercury(II) Based on a Bimetallic Au–Pt Inorganic–Organic Hybrid Nanocomposite Modified Glassy Carbon Electrode. *Anal. Chem.* **82**, 567–573 (2010).
127. Bui, M. P. N., Brockgreitens, J., Ahmed, S., Abbas, A., Dual detection of nitrate and mercury in water using disposable electrochemical sensors. *Biosens. Bioelectron.* **85**, 280–286 (2016).
128. Li, Z. Miao, X., Xing, K., Peng, X., Zhu, A., Ling, L., Ultrasensitive electrochemical sensor for Hg²⁺ by using hybridization chain reaction coupled with Ag at Au core-shell nanoparticles. *Biosens. Bioelectron.* **80**, 339–343 (2016).
129. Giannetto, M., Mori, G., Terzi, F., Zanardi, C., Seeber, R., Composite PEDOT/Au Nanoparticles Modified Electrodes for Determination of Mercury at Trace Levels by Anodic Stripping Voltammetry. *Electroanalysis.* **23**, 456–462 (2011).
130. Xu, H., Zeng, L., Xing, S., Shi, G., Xian, Y., Jin, L., Microwave-radiated synthesis of gold nanoparticles/carbon nanotubes composites and its application to voltammetric detection of trace mercury(II). *Electrochem. commun.* **10**, 1839–1843 (2008).
131. Fu, X. C., Wu, J., Nie, L., Xie, C.G., Liu, J.H., Huang, X.J., Electropolymerized surface ion imprinting films on a gold nanoparticles/single-wall carbon nanotube nanohybrids modified glassy carbon electrode for electrochemical detection of trace mercury(II) in water. *Anal. Chim. Acta.* **720**, 29–37 (2012).

132. Zhou, N., Li, J., Chen, H., Liao, C., Chen, L. A functional graphene oxide-ionic liquid composites-gold nanoparticle sensing platform for ultrasensitive electrochemical detection of Hg²⁺. *Analyst*. **138**, 1091–1097 (2013).
133. Bhanjana, G., Dilbaghi, N., Bhalla, V., Kim, K. H., Kumar, S., Direct ultrasensitive redox sensing of mercury using a nanogold platform. *J. Mol. Liq.* **225**, 598–605 (2017).
134. Safavi, A., Farjami, E., Construction of a carbon nanocomposite electrode based on amino acids functionalized gold nanoparticles for trace electrochemical detection of mercury. *Anal. Chim. Acta.* **688**, 43–48 (2011).
135. Ratner, N., Mandler, D., Electrochemical detection of low concentrations of mercury in water using gold nanoparticles. *Anal. Chem.* **87**, 5148–5155 (2015).
136. Somé, I. T., Sakira, A. K., Mertens, D., Ronkart, S. N., Kauffmann, J. M., Determination of groundwater mercury (II) content using a disposable gold modified screen printed carbon electrode. *Talanta*. **152**, 335–340 (2016).
137. Hezard, T. *et al.* Gold nanoparticles electrodeposited on glassy carbon using cyclic voltammetry: Application to Hg(II) trace analysis. *J. Electroanal. Chem.* **664**, 46–52 (2012).
138. Hezard, T. Fajerweg, K., Evrard, D., Collière, V., Behra, P., Gros, P., Influence of the gold nanoparticles electrodeposition method on Hg(II) trace electrochemical detection. *Electrochim. Acta.* **73**, 15–22 (2012).
139. Gervais, E., Aceta, Y., Gros, P., Evrard, D., Study of an AuNPs functionalized electrode using different diazonium salts for the ultra-fast detection of Hg(II) traces in water. *Electrochim. Acta.* **261**, 346–355 (2018).
140. Le Callonnec, F., Nouveaux, C. Nouveaux développements dans la chimie des sels de diazonium en catalyse organométallique : catalyse hétérogène en milieux aqueux. Thèse de Doctorat, Université de Bordeaux (2014).
141. Baranton, S., Bélanger, D., In situ generation of diazonium cations in organic electrolyte for electrochemical modification of electrode surface. *Electrochim. Acta.* **53**, 6961–6967 (2008).
142. Lagrost, C., Mattiuzzi, A., Hapiot, P., Reinaud, O. Fonctionnalisation moléculaire des surfaces par réduction de sels d'aryldiazonium. **33**, (2016).
143. Liu, G., Chockalingham, M., Khor, S. M., Gui, A. L., Justin Gooding, J., A comparative study of the modification of gold and glassy carbon surfaces with mixed layers of in situ generated

- aryl diazonium compounds. *Electroanalysis*. **22**, 918–926 (2010).
144. Bouriga, M., Chehimi, M.M., Combellas, C., Decorse, P., Kanoufi, F., Deronzier, A., Pinson, J., Sensitized photografting of diazonium salts by visible light. *Chem. Mater.* **25**, 90–97 (2013).
 145. Pan, Y., Tong, B., Shi, J., Zhao, W., Shen, J., Zhi, J., Dong, Y., Fabrication, characterization, and optoelectronic properties of layer-by-layer films based on terpyridine-modified MWCNTs and ruthenium(III) ions. *J. Phys. Chem. C*. **114**, 8040–8047 (2010).
 146. Karousis, N.; Economopoulos, S. P.; Lizumi, Y.; Okazaki, T.; Liu, Z.; Suenaga, K.; Tagmatarchis, N. Microwave Assisted Covalent Functionalization of C60@ SWCNT Peapods. *Chem. Commun.* **46**, 9110–9112 (2010).
 147. Liu, J., I Zubiri, M.R., Vigolo, B., Dossot, M., Humbert, B., Fort, Y., McRae, E., Microwave-Assisted Functionalization of Single-Wall Carbon Nanotubes Through Diazonium. *J. Nanosci. Nanotechnol.* **7**, 3519–3523 (2007).
 148. Dahoumane, S. A., Nguyen, M.N., Thorel, A., Boudou, J.P., Chehimi, M.M., Mngeney, C., Protein-functionalized hairy diamond nanoparticles. *Langmuir*. **25**, 9633–9638 (2009).
 149. Mangeney, C. Qin, Z., Dahoumane, S. A., Adenier, A., Herbst, Boudou, J.P., Pinson, Chehimi, M.M., Electroless ultrasonic functionalization of diamond nanoparticles using aryl diazonium salts. *Diam. Relat. Mater.* **17**, 1881–1887 (2008).
 150. Bahr, J. L., Tour, J. M., Highly functionalized carbon nanotubes using in situ generated diazonium compounds. *Chem. Mater.* **13**, 3823–3824 (2001).
 151. Adenier, A. Barré, N., Cabet-Dliry, E., Chaussé, A., Griveau, S., Mercier, F., Pinson, J., Vautrin-UI, C., Study of the spontaneous formation of organic layers on carbon and metal surfaces from diazonium salts. *Surf. Sci.* **600**, 4801–4812 (2006).
 152. Adenier, A. Cabet-Dliry, E., Chaussé, Griveau, S., Mercier, F., Pinson, J., Vautrin-UI, C., Grafting of Nitrophenyl Groups on Carbon and Metallic Surfaces without Electrochemical Induction. *Chem. Matter.* **3**. 491–501 (2005)
 153. Combellas, C., Kanoufi, F., Pinson, J., Podvorica, F. I. Time-of-flight secondary ion mass spectroscopy characterization of the covalent bonding between a carbon surface and aryl groups. *Langmuir*. **21**, 280–286 (2005).
 154. Bélanger, D., Pinson, J. Electrografting: A powerful method for surface modification. *Chem. Soc. Rev.* **40**, 3995–4048 (2011).

155. Gui, A. L., Liu, G., Chockalingam, M., Le Saux, G., Luais, E., Harper, J.B., Gooding, J., A Comparative Study of Electrochemical Reduction of 4-Nitrophenyl Covalently Grafted on Gold and Carbon. *Electroanalysis*. **16**. 1824–1830 (2010).
156. Delamar, M., Hitmi, R., Pinson, J., Saveant, J. M., Covalent Modification of Carbon Surfaces by Grafting of Functionalized Aryl Radicals Produced from Electrochemical Reduction of Diazonium Salts. *J. Am. Chem. Soc.* **114**, 5883–5884 (1992).
157. Allongue, P. Delamar, P., Desbat, B., Fagebaume, O. Hitmi, R., Pinson, J., Savéant, J.M., Covalent modification of carbon surfaces by aryl radicals generated from the electrochemical reduction of diazonium salts. *J. Am. Chem. Soc.* **119**, 201–207 (1992).
158. Ortiz, B., Saby, C., Champagne, G. Y. Y., Bélanger, D. Electrochemical modification of a carbon electrode using aromatic diazonium salts. 2. Electrochemistry of 4-nitrophenyl modified glassy carbon electrodes in aqueous media. *J. Electroanal. Chem.* **455**, 75–81 (1998).
159. Henry De Villeneuve, C., Pinson, J., Bernard, M. C., Allongue, P. Electrochemical formation of close-packed phenyl layers on Si(111). *J. Phys. Chem. B.* **101**, 2415–2420 (1997).
160. Raicopol, M. V. Brânzoi, L. Necula, M. Ionita, L. P., Comparative studies on the redox reaction of $\text{Fe}(\text{CN}_6)^{4-/3-}$ at modified glassy carbon electrodes. *Rev. Roum. Chim.* **57**, 807–814 (2012).
161. Abiman, P., Wildgoose, G. G., Compton, R. G. A mechanistic investigation into the covalent chemical derivatisation of graphite and glassy carbon surfaces using aryldiazonium salts. *J. Phy. Org. Chem.* **21**. 433-439 (2008).
162. Ranganathan, S., McCreery, R. L. Electroanalytical Performance of Carbon Films with Near-Atomic Flatness. *Anal. Chem.* **73**, 893–900 (2001).
163. Brooksby, P. A., Downard, A. J. Electrochemical and atomic force microscopy study of carbon surface modification via diazonium reduction in aqueous and acetonitrile solutions. *Langmuir.* **20**, 5038–5045 (2004).
164. Alonso-Iomillo, M. A., Domínguez-Renedo, O., Hernández-Martín, A., Arcos-Martínez, M. J. Horseradish peroxidase covalent grafting onto screen-printed carbon electrodes for levetiracetam chronoamperometric determination. *Anal. Biochem.* **395**, 86–90 (2009).
165. Grondein, A., Bélanger, D. Chemical modification of carbon powders with aminophenyl and aryl-aliphatic amine groups by reduction of in situ generated diazonium cations :

- Applicability of the grafted powder towards CO₂ capture. *Fuel*. **90**, 2684–2693 (2011).
166. Coulon, E., Pinson, J., Bourzat, J. D., Commerçon, A., Pulicani, J. P. Electrochemical attachment of organic groups to carbon felt surfaces. *Langmuir*. **17**, 7102–7106 (2001).
167. Urchaga, P., Weissmann, M., Girardeau, T., Coutanceau., Improvement of the Platinum Nanoparticles - Carbon Substrate Interaction by Insertion of a Thiophenol Molecular Bridge. *Langmuir*. **25**, 6543–6550 (2009).
168. Bahr, J. L., Yang, J., Kosynkin, D.V., Bronikowski, M.J., Smalley, .R.E., Tour, J.M., Functionalization of Carbon Nanotubes by Electrochemical Reduction of Aryl Diazonium Salts : A Bucky Paper Electrode. *J. Am. Chem. Soc.* **123**. 6536–6542 (2001)
169. Delamar, M., Désarmot. G., Fagebaume, O., Hitmi, R., Pinson, J., Savéant, J.M., Modification of carbon fiber surfaces by electrochemical reduction of aryl diazonium salts: Application to carbon epoxy composites. *Carbon*. **35**, 801–807 (1997).
170. Wang, J., Firestone, M. A., Auciello, O., Carlisle, J. A. Surface Functionalization of Ultrananocrystalline Diamond Films by Electrochemical Reduction of Aryldiazonium Salts. *Langmuir*. **20**. 11450–11456 (2004).
171. Haccoun, J., Vautrin-UI, C., Chaussé, A., Adenier, A. Electrochemical grafting of organic coating onto gold surfaces: Influence of the electrochemical conditions on the grafting of nitrobenzene diazonium salt. *Prog. Org. Coatings*. **63**, 18–24 (2008).
172. E. Ahlberg, B. Helgée, V. D. P., The Reaction of Aryl Radicals with Metallic Electrodes. *Acta Chemica Scandinavica*. **34b**. 181–186 (1980).
173. Hurley, B. L., McCreery, R. L., Covalent Bonding of Organic Molecules to Cu and Al Alloy 2024 T3 Surfaces via Diazonium Ion Reduction. *J. Electrochem. Soc.* **151**. 252–259 (2004)
174. Actis, P., Caulliez, G., Shul, G, Opallo, M., Mermoux, M., Marcus, B., Boukherroub, R., Szunerits, S., Functionalization of Glassy Carbon with Diazonium Salts in Ionic Liquids. *Langmuir*. **29**. 6327–6333 (2008).
175. Ghilane, J., Martin, P., Fontaine, O., Lacroix, J., Randriamahazaka, H. Electrochemistry Communications Modification of carbon electrode in ionic liquid through the reduction of phenyl diazonium salt . *Electrochemistry Communications*. **10**, 1060–1063 (2008).
176. Price, B. K., Hudson, J. L., Tour, J. M. Green Chemical Functionalization of Single-Walled Carbon Nanotubes in Ionic Liquids. *J. Am. Chem. Soc.* **127**. 14867–14870 (2005).
177. Liu, G., Liu, J., Böcking, T., Eggers, P. K., Gooding, J. J. The modification of glassy carbon and gold electrodes with aryl diazonium salt: The impact of the electrode materials on the

- rate of heterogeneous electron transfer. *Chem. Phys.* **319**, 136–146 (2005).
178. Louault, C., D'Amours, M., Bélanger, D., The electrochemical grafting of a mixture of substituted phenyl groups at a glassy carbon electrode surface. *ChemPhysChem.* **9**, 1164–1170 (2008).
179. Desalegn, B., Brousse, T., Be, D., Advances on the use of diazonium chemistry for functionalization of materials used in energy storage systems. *Carbon.* **92**, 362-381 (2015).
180. Chausse, A., Chehimi, M.M., Karsi, N., Pinson, J., Pdvorica, F., Vautrin-UI, C., The Electrochemical Reduction of Diazonium Salts on Iron Electrodes . The Formation of Covalently Bonded Organic Layers and Their Effect on Corrosion. *Chem. Mater.* **14**. 392–400 (2002).
181. Bourdillon, C., Delamar, M., Immobilization of glucose oxidase on a carbon surface derivatized by electrochemical reduction of diazonium salts. *J. Electroanal. Chem.* **336**, 113–123 (1992).
182. Corlu, A., Guguen-guillouzo, C., Covalent immobilization of antibodies on electrochemically functionalized carbon surfaces. *New. J. Chemistry*, **7**, 1228–1234 (2008)
183. Chergui, S. M., Ledebt, A., Mammeri, F., Herbst, F., Carbonnier, B., Ben Romdhane, H., Delamar, M., Chehimi, M.M., Hairy Carbon Nanotube @ Nano-Pd Heterostructures : Design , Characterization , and Application in Suzuki C - C Coupling Reaction. *Langmuir.* **26**, 16115–16121 (2010).
184. Andrieux, C. P., Pinson, J., The Standard Redox Potential of the Phenyl Radical/Anion Couple. *J. Am. Chem. Soc.* **125**, 14801–14806 (2003).
185. Downard, A. J., Prince, M. J., Barrier properties of organic monolayers on glassy carbon electrodes. *Langmuir* **17**, 5581–5586 (2001).
186. Noël, J. M., Latus, A., Lagrost, C., Volanschi, E., Hapiot, P., Evidence for OH radical production during electrocatalysis of oxygen reduction on pt surfaces: Consequences and application. *J. Am. Chem. Soc.* **134**, 2835–2841 (2012).
187. Yu, S. S. C., Tan, E. S. Q., Jane, R. T., Downard, A. J., An electrochemical and XPS study of reduction of nitrophenyl films covalently grafted to planar carbon surfaces. *Langmuir.* **23**, 11074–11082 (2007).
188. Combellas, C., Delamar, M., Kanoufi, F., Pinson, J., Podvorica, F. I., Spontaneous grafting of iron surfaces by reduction of aryldiazonium salts in acidic or neutral aqueous solution. Application to the protection of iron against corrosion. *Chem. Mater.* **17**, 3968–3975 (2005).

189. D'Amours, M., Bélanger, D., Stability of Substituted Phenyl Groups Electrochemically Grafted at Carbon Electrode Surface. *J. Phys. Chem. B* **107**, 4811–4817 (2003).
190. Doppelt, P., Hallais, G., Pinson, J., Podvorica, F., Verneyre, S., Surface modification of conducting substrates. Existence of azo bonds in the structure of organic layers obtained from diazonium salts. *Chem. Mater.* **19**, 4570–4575 (2007).
191. Kariuki, J. K., McDermott, M. T., Formation of multilayers on glassy carbon electrodes via the reduction of diazonium salts. *Langmuir* **17**, 5947–5951 (2001).
192. Kiema, G. K., Fitzpatrick, G., McDermott, M. T., Probing morphological and compositional variations of anodized carbon electrodes with tapping-mode scanning force microscopy. *Anal. Chem.* **71**, 4306–4312 (1999).
193. Saby, C., Ortiz, B., Champagne, G. Y., Bélanger, D., Electrochemical Modification of Glassy Carbon Electrode Using Aromatic Diazonium Salts. 1. Blocking Effect of 4-Nitrophenyl and 4-Carboxyphenyl Groups. *Langmuir* **13**, 6805–6813 (2002).
194. Khoshroo, M., Rostami, A. A., EIS study of the redox reaction of $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ at glassy carbon electrode via diazonium reduction in aqueous and acetonitrile solutions. *J. Electroanal. Chem.* **624**, 205–210 (2008).
195. Yu, S. S. C., Downard, A. J., Dynamic Behavior of Organic Thin Films Attached to Carbon Surfaces. *e-Journal Surf. Sci. Nanotechnol.* **3**, 294–298 (2005).
196. Brooksby, P. A. Downard, A.J., Electrochemical and atomic force microscopy study of carbon surface modification via diazonium reduction in aqueous and acetonitrile solutions. *Langmuir* **20**, 5038–5045 (2004).
197. Leroux, Y. R., Hui, F., Noël, J.M., Roux, C., Downard, A.J., Hapiot, P., Design of robust binary film onto carbon surface using diazonium electrochemistry. *Langmuir* **27**, 11222–11228 (2011).
198. Menanteau, T., Levillain, E., Downard, A. J., Breton, T., Evidence of monolayer formation via diazonium grafting with a radical scavenger : electrochemical, AFM and XPS monitoring. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **17**, 13137–13142 (2015).
199. Downard, A. J., Potential-dependence of self-limited films formed by reduction of aryldiazonium salts at glassy carbon electrodes. *Langmuir* **16**, 9680–9682 (2000).
200. Mesnage, A., Lefèvre, X., Jégou, P., Deniau, G., Palacin, S., Spontaneous grafting of diazonium salts: chemical mechanism on metallic surfaces. *Langmuir* **28**, 11767–78 (2012).

201. González, M. C. R. R., Orive, A. G., Salvarezza, R. C., Creus, A. H., Electrodeposition of gold nanoparticles on aryl diazonium monolayer functionalized HOPG surfaces. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **18**, 1953–1960 (2016).
202. Noël, J. M., Sjöberg, B., Marsac, R., Zigah, D., Bergamini, J.F., Wang, A., Rigaut, S., Hapiot, P., Lagrost, C., Flexible strategy for immobilizing redox-active compounds using in situ generation of diazonium salts. investigations of the blocking and catalytic properties of the layers. *Langmuir* **25**, 12742–12749 (2009).
203. Noël, J. M., Zigah, D., Simonet, J., Hapiot, P. Synthesis and immobilization of Ag0 nanoparticles on diazonium modified electrodes: SECM and cyclic voltammetry studies of the modified interfaces. *Langmuir* **26**, 7638–7643 (2010).
204. González, M. C. R., Orive, A. G., Salvarezza, R. C., Creus, A. H. Electrodeposition of gold nanoparticles on aryl diazonium monolayer functionalized HOPG surfaces. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **18**, 1953–1960 (2016).
205. McCreery, R. L., Advanced carbon electrode materials for molecular electrochemistry. *Chem. Rev.* **108**, 2646–2687 (2008).
206. Anariba, F., Duvall, S. H. & McCreery, R. L. Mono- and Multilayer Formation by Diazonium Reduction on Carbon Surfaces Monitored with Atomic Force Microscopy “Scratching”. *Anal. Chem.* **75**, 3837–3844 (2003).
207. Richard, W., Evrard, D., Busson, B., Humbert, C., Dalstein, L., Tadjeddine, A., Gros, P., The reduction of 4-nitrobenzene diazonium electrografted layer: An electrochemical study coupled to in situ sum-frequency generation spectroscopy. *Electrochim. Acta* **283**, 1640–1648 (2018).
208. Ma, H., Lee, L., Brooksby, P.A., Brown, S.A., Fraser, S.J., Gordon, K.C., Leroux, Y.R., Hapiot, P., Downard, A.J., Scanning tunneling and atomic force microscopy evidence for covalent and noncovalent interactions between aryl films and highly ordered pyrolytic graphite. *J. Phys. Chem. C* **118**, 5820–5826 (2014).
209. Greenwood, J., Phan, T.H., Fujita, Y., Li, Z., Ivasenko, O., Vanderlinden, W., Van Gorp, H., Frederickx, W., Lu, G., Tahara, G., Tobe, Y., Uji-I, H., Mertens, S.FL., De Feyter, S., Covalent modification of graphene and graphite using diazonium chemistry: Tunable grafting and nanomanipulation. *ACS Nano* **9**, 5520–5535 (2015).

210. Lyskawa, J., Bélanger, D., Direct modification of a gold electrode with aminophenyl groups by electrochemical reduction of in situ generated aminophenyl monodiazonium cations. *Chem. Mater.* **18**, 4755–4763 (2006).
211. Ghosh, P., Han, G., De, M., Kim, C. K., Rotello, V. M., Gold nanoparticles in delivery applications. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **60**, 1307–1315 (2008).
212. Yau, S. H., Varnavski, O., Goodson, T. An ultrafast look at Au nanoclusters. *Acc. Chem. Res.* **46**, 1506–1516 (2013).
213. Yau, S. H. Varnavski, O., Gilbertson, J.D., Chandler, B., Ramakrishna, G., Goodson, T., Ultrafast optical study of small gold monolayer protected clusters: A closer look at emission. *J. Phys. Chem. C* **114**, 15979–15985 (2010).
214. Yeh, Y. C., Creran, B., Rotello, V. M., Gold nanoparticles: Preparation, properties, and applications in bionanotechnology. *Nanoscale.* **4**, 1871–1880 (2012).
215. M.C. Daniel, D. A., Gold nanoparticles: assembly, supramolecular chemistry, quantum-size-related properties, and applications toward. *Chem. Rev.* **104**, 293– 346 (2004).
216. El- Deab, M. S., Ohsaka, T., An extraordinary electrocatalytic reduction of oxygen on gold nanoparticles-electrodeposited gold electrodes. *Electrochem. commun.* **4**, 288–292 (2002).
217. O. Pluchery, M. C., Nanoparticules D 'or Fonctionnalisées. *Innov. / Nanosci. nanotechnologies.* 1–22 (2011).
218. Mesbahi, A., A review on gold nanoparticles radiosensitization effect in radiation therapy of cancer. *Reports Pract. Oncol. Radiother.* **15**, 176–180 (2010).
219. Calugaru, V. Magné, N., Héroult, J., Bonvalot, S., Le Tourneau, C., Nanoparticles and radiation therapy. *Bull. Cancer.* **102**, 105–112 (2015).
220. Mezni, A., Synthèse et caractérisation de nanoparticules métalliques vers la nanomédecine. These de Doctorat. Université de Toulouse, Université Toulouse III-Paul Sabatier (2013).
221. Welch, C. M., Compton, R. G., The use of nanoparticles in electroanalysis: a review. *Anal. Bioanal. Chem.* **384**, 601–619 (2006).
222. Neddersen, J., Chumanov, G., Cotton, T. M., Laser ablation of metals: A new method for preparing SERS active colloids. *Appl. Spectrosc.* **47**, 1959–1964 (1993).
223. Mafuné, F., Kohno, J. Y., Takeda, Y., Kondow, T., Full physical preparation of size-selected gold nanoparticles in solution: Laser ablation and laser-induced size control. *J. Phys. Chem. B.* **106**, 7575–7577 (2002).

224. Scaramuzza, S., Zerbetto, M., Amendola, V., Synthesis of gold nanoparticles in liquid environment by laser ablation with geometrically confined configurations: Insights to improve size control and productivity. *J. Phys. Chem. C.* **120**, 9453–9463 (2016).
225. Yu, J., Nan, J., Zeng, H., Size control of nanoparticles by multiple-pulse laser ablation. *Appl. Surf. Sci.* **402**, 330–335 (2017).
226. Faraday, M. LIX. Experimental relations of gold (and other metals) to light.—The bakerian lecture . *London, Edinburgh, Dublin Philos. Mag. J. Sci.* **14**, 512–539 (1857).
227. J.Turkevich, P.C. Stevenson, J. H., A study of the nucleation and growth processes in the synthesis of colloidal gold. *Discuss. Faraday Soc.* **11**, 55–75 (1957).
228. Frens. G., Controlled nucleation for the regulation of the particle size in monodisperse gold suspensions. *Nat. Phys. Sci.* **241**, 20 (1973).
229. Douglas, F., Yañez. R., Ros, J., Marín, De la Escosura-Muñiz, A., Alegret, S., Silver , gold and the corresponding core shell nanoparticles : synthesis and characterization. *J. Nanopart. Res.* 97–106 (2008).
230. Pimpang, P., Choopun, S., Monodispersity and stability of Gold nanoparticles stabilized by using polyvinyl alcohol. *Chiang Mai J. Sci.* **38**, 31–38 (2011).
231. Niidome, T., Yamagata, M., Okamoto, Y., Akiyama, Y., Takahashi, H., Kawano, T., Katayama, Y., Niidome, Y., PEG-modified gold nanorods with a stealth character for in vivo applications. *J. Control. Release.* **114**, 343–347 (2006).
232. Chen, F., Xu, G. Q., Hor, T. S. A., Preparation and assembly of colloidal gold nanoparticles in CTAB-stabilized reverse microemulsion. *Mater. Lett.* **57**, 3282–3286 (2003).
233. Aryal, S., Remant, R. B., Bhattarai, N., Kim, C. K., Kim, H. Y., Study of electrolyte induced aggregation of gold nanoparticles capped by amino acids. *J. Colloid Interface Sci.* **299**, 191–197 (2006).
234. Giersig, M., Mulvaney, P., Preparation of Ordered Colloid Monolayers by Electrophoretic Deposition. *Langmuir.* **9**, 3408–3413 (1993).
235. Shedbalkar, U., Singh, R., Wadhwani, S., Gaidhani, S., Chopade, B. A., Microbial synthesis of gold nanoparticles: Current status and future prospects. *Adv. Colloid Interface Sci.* **209**, 40–48 (2014).
236. Braun, E., Eichen, Y., Sivan, U., Ben-Yoseph, G., DNA-templated assembly and electrode attachment of a conducting silver wire. *Nature.* **391**, 775–778 (1998).

237. Sohn, J. S., Kwon, Y. W., Jin, J. Il, Jo, B. W., DNA-templated preparation of gold nanoparticles. *Molecules*. **16**, 8143–8151 (2011).
238. Ravindra, P., Protein-mediated synthesis of gold nanoparticles. *Mater. Sci. Eng. B Solid-State Mater. Adv. Technol.* **163**, 93–98 (2009).
239. Bharde, A., Kulkarni, A., Rao, M., Prabhune, A., Sastry, M., Bacterial enzyme mediated biosynthesis of gold nanoparticles. *J. Nanosci. Nanotechnol.* **7**, 4369–4377 (2007).
240. Gupta, N., Singh, H. P., Sharma, R. K., Single-pot synthesis: Plant mediated gold nanoparticles catalyzed reduction of methylene blue in presence of stannous chloride. *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* **367**, 102–107 (2010).
241. Kleijn, S. E. F., Lai, S. C. S., Koper, M. T. M., Unwin, P. R., Electrochemistry of nanoparticles. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **53**, 3558–3586 (2014).
242. Mohanty, U. S., Electrodeposition: A versatile and inexpensive tool for the synthesis of nanoparticles, nanorods, nanowires, and nanoclusters of metals. *J. Appl. Electrochem.* **41**, 257–270 (2011).
243. Mirkhalaf, F., Tammeveski, K., Schiffrin, D. J., Electrochemical reduction of oxygen on nanoparticulate gold electrodeposited on a molecular template. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **11**, 3463–3471 (2009).
244. Clukay, C. J. Grabill, C.N., Hettinger, M.A., Dutta, A., Freppon, D.J., Robledo, A., Heinrich, H., Bhattacharya, A., Kuebler, S.N., Controlling formation of gold nanoparticles generated in situ at a polymeric surface. *Appl. Surf. Sci.* **292**, 128–136 (2014).
245. Finot, M. O., Braybrook, G. D., Mcdermott, M. T., Characterization of electrochemically deposited gold nanocrystals on glassy carbon electrodes. *J. Electroanal. Chem.* **466**, 234–241 (1999).
246. Welch, C. M., Nekrassova, O., Dai, X., Hyde, M. E., Compton, R. G., Fabrication, characterisation and voltammetric studies of gold amalgam nanoparticle modified electrodes. *ChemPhysChem.* **5**, 1405–1410 (2004).
247. Agüí, L., Manso, J., Yáñez-Sedeño, P., Pingarrón, J. M., Amperometric biosensor for hypoxanthine based on immobilized xanthine oxidase on nanocrystal gold-carbon paste electrodes. *Sensors Actuators, B Chem.* **113**, 272–280 (2006).
248. Gotti, G., Fajerweg, K., Evrard, D., Gros, P., Electrodeposited gold nanoparticles on glassy carbon: Correlation between nanoparticles characteristics and oxygen reduction kinetics in neutral media. *Electrochim. Acta.* **128**, 412–419 (2014).

249. Majid, E., Hrapovic, S., Liu, Y., Male, K. B., Luong, J. H. T., Electrochemical determination of arsenite using a gold nanoparticle modified glassy carbon electrode and flow analysis. *Anal. Chem.* **78**, 762–769 (2006).
250. Laffont, L., Hezard, T., Gros, P., Heimbürger, L.E., Sonke, J.E., Behra, P., Evrard, D., Mercury(II) trace detection by a gold nanoparticle-modified glassy carbon electrode using square-wave anodic stripping voltammetry including a chloride desorption step. *Talanta*. **141**, 26–32 (2015).
251. Liu, H., Penner, R. M., Size-Selective Electrodeposition of Mesoscale Metal Particles in the Uncoupled Limit. *J. Phys. Chem. B.* **104**, 9131–9139 (2000).
252. Komsiyiska, L., Staikov, G., Electrocrystallization of Au nanoparticles on glassy carbon from HClO₄ solution containing [AuCl₄]⁻. *Electrochim. Acta* **54**, 168–172 (2008).
253. Ma, Y., Di, J., Yan, X., Zhao, M., Lu, Z., T., Y., Direct electrodeposition of gold nanoparticles on indium tin oxide surface and its application. *Biosens. Bioelectron.* **24**, 1480–1483 (2009).
254. Wang, L., Mao, W., Ni, D., Di, J., Wu, Y., Tu, Y., Direct electrodeposition of gold nanoparticles onto indium/tin oxide film coated glass and its application for electrochemical biosensor. *Electrochem. commun.* **10**, 673–676 (2008).
255. Gunawardena, G., Hills, G., Montenegro, I., Scharifker, B., Electrochemical nucleation. Part I. General considerations. *J. Electroanal. Chem.* **138**, 225–239 (1982).
256. Gunawardena, G., Hills, G., Montenegro, I., Electrochemical nucleation. Part II. The Electrodeposition of Silver on Vitreous Carbon. *J. Electroanal. Chem.* **138**, 241–254 (1982).
257. O’Mullane, A. P., Ippolito, S. J., Sabri, Y. M., Bansal, V., Bhargava, S. K., Premonolayer oxidation of nanostructured gold: An important factor influencing electrocatalytic activity. *Langmuir*. **25**, 3845–3852 (2009).
258. Sheridan, E., Hjelm, J., Forster, R. J., Electrodeposition of gold nanoparticles on fluorine-doped tin oxide: Control of particle density and size distribution. *Journal of Electroanalytical Chemistry.* **608**, 1–7 (2007).
259. Hu, Y., Song, Y., Wang, Y., Di, J., Electrochemical synthesis of gold nanoparticles onto indium tin oxide glass and application in biosensors. *Thin Solid Film.s* **519**, 6605–6609 (2011).
260. El-Deab, M. S., On the preferential crystallographic orientation of Au nanoparticles: Effect

- of electrodeposition time. *Electrochim. Acta.* **54**, 3720–3725 (2009).
261. Wang, Y., Deng, J., Di, J., Tu, Y., Electrodeposition of large size gold nanoparticles on indium tin oxide glass and application as refractive index sensor. *Electrochem. commun.* **11**, 1034–1037 (2009).
262. Pearson, R. G. Hard and Soft Acids and Bases. *J. Am. Chem. Soc.* **85**, 3533–3539 (1963).
263. Pearson, R. G., Hard and soft acids and bases, HSAB, part 1: Fundamental principles. *J. Chem. Educ.* **45**, 581 (1968).
264. Williams-Jones, A. E., Howell, R. J., Migdisov, A. A., Gold in solution. *Elements.* **5**, 281–287 (2009).
265. Richard, W., Evrard, D., Gros, P., Kinetic study of redox probes on glassy carbon electrode functionalized by 4-nitrobenzene diazonium. *Int. J. Electrochem. Sci.* **14**, 453–469 (2019).
266. Barfidokht, A., Ciampi, S., Luais, E., Darwish, N., Gooding, J. J., The Influence of Organic-Film Morphology on the Efficient Electron Transfer at Passivated Polymer-Modified Electrodes to which Nanoparticles are Attached. *Chem. Phys. Chem.* **14**, 2190–2197 (2013).
267. Tanimoto, S., Ichimura, A., Discrimination of inner- and outer-sphere electrode reactions by cyclic voltammetry experiments. *J. Chem. Educ.* **90**, 778–781 (2013).
268. Barfidokht, A., Ciampi, S., Luais, E., Darwish, N., Gooding, J. J., Distance-dependent electron transfer at passivated electrodes decorated by gold nanoparticles. *Anal. Chem.* **85**, 1073–1080 (2013).
269. Schauff, S., Ciorca, M., Laforgue, A., Bélanger, D., Electron transfer processes at aryl-modified glassy carbon electrode. *Electroanalysis.* **21**, 1499–1504 (2009).
270. Chen, P., McCreery, R. L., Control of Electron Transfer Kinetics at Glassy Carbon Electrodes by Specific Surface Modification. *Anal. Chem.* **68**, 3958–3965 (1996).
271. Baranton, S., Cations, D., Electrochemical Derivatization of Carbon Surface by Reduction of in Situ Generated. *J. Phys. Chem.B.* **109**, 24401–24410 (2005).
272. Chazalviel, J. N., Allongue, P., On the origin of the efficient nanoparticle mediated electron transfer across a self-assembled monolayer. *J. Am. Chem. Soc.* **133**, 762–764 (2011).
273. Gotti, G., Modification De Surfaces Électrochimiques Par Des Nanoparticules D'or Pour La Détection De Molécules Impliquées Dans Le Stress Oxydant. Thèse de Doctorat. Université de Toulouse, Université Toulouse III-Paul Sabatier (2013).
274. Wang, Y., Laborda, E., Crossley, A., Compton, R. G., Surface oxidation of gold nanoparticles

supported on a glassy carbon electrode in sulphuric acid medium: Contrasts with the behaviour of 'macro' gold. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **15**, 3133–3136 (2013).

275. Shackleford, S. G. D., Boxall, C., Port, S. N., Taylor, R. J., An in situ electrochemical quartz crystal microbalance study of polycrystalline gold electrodes in nitric acid solution. *J. Electroanal. Chem.* **538–539**, 109–119 (2002).
276. Angerstein-Kozłowska, H., Conway, B. E., Hamelin, A., Stoicoviciu, L., Elementary steps of electrochemical oxidation of single-crystal planes of Au-I. Chemical basis of processes involving geometry of anions and the electrode surfaces. *Electrochim. Acta.* **31**, 1051–1061 (1986).
277. Kotnik, D., Novič, M., Lacourse, W. R., Pihlar, B., Cathodic re-activation of the gold electrode in pulsed electrochemical detection of carbohydrates. *J. Electroanal. Chem.* **663**, 30–35 (2011).
278. Rodriguez, P., Garcia-Araez, N., Koverga, A., Frank, S., Koper, M. T. M., Co electrooxidation on gold in alkaline media: A combined electrochemical, spectroscopic, and DFT study. *Langmuir.* **26**, 12425–12432 (2010).
279. Hung, D. Q., Nekrassova, O., Compton, R. G., Analytical methods for inorganic arsenic in water: A review. *Talanta.* **64**, 269–277 (2004).
280. El-Deab, M. S., Sotomura, T., Ohsaka, T., Oxygen reduction at electrochemically deposited crystallographically oriented Au(1 0 0)-like gold nanoparticles. *Electrochem. commun.* **7**, 29–34 (2005).
281. El-Deab, M. S., Sotomura, T., Ohsaka, T., Oxygen reduction at Au nanoparticles electrodeposited on different carbon substrates. *Electrochim. Acta.* **52**, 1792–1798 (2006).
282. Cruickshank, A. C., Downard, A. J., Electrochemical stability of citrate-capped gold nanoparticles electrostatically assembled on amine-modified glassy carbon. *Electrochim. Acta.* **54**, 5566–5570 (2009).
283. Steven, J. T., Golovko, V. B., Johannessen, B., Marshall, A. T., Electrochemical stability of carbon-supported gold nanoparticles in acidic electrolyte during cyclic voltammetry. *Electrochim. Acta.* **187**, 593–604 (2016).
284. Zierhut, A., Leopold, K., Harwardt, L., Worsfold, P., Schuster, M., Activated gold surfaces for the direct preconcentration of mercury species from natural waters. *J. Anal. At. Spectrom.* **24**, 767–774 (2009).

285. Granado, E., Gervais, E., Gotti, G., Desclaux, S., Meireles, M., Gros, P., Evrard, D., Mercury(II) Trace Detection Using a Glassy Carbon Electrode Functionalized by Chemically Prepared Gold Nanoparticles. Influence of Coating Process on Surface Reactivity and Analytical Performances. *Int. J. Electrochem. Sci.* **12**, 6092–6107 (2017).
286. Garnier, C., Lesven, L., Billon, G., Magnier, A., Mikkelsen, O., Pižeta, I., Voltammetric procedure for trace metal analysis in polluted natural waters using homemade bare gold-disk microelectrodes. *Anal. Bioanal. Chem.* **386**, 313–323 (2006).
287. Daniele, S., Bragato, C., Baldo, M. A., Wang, J., Lu, J. M., The use of a remote stripping sensor for the determination of copper and mercury in the Lagoon of Venice. *Anal. (Cambridge, UK)*. **125**, 731–735 (2000).
288. Ariño, C., Serrano, N., Díaz-Cruz, J. M., Esteban, M., Voltammetric determination of metal ions beyond mercury electrodes. A review. *Anal. Chim. Acta.* **990**, 11–53 (2017).
289. Lu, Y., Liang, X., Niyungeko, C., Zhou, J., Xu, J., Tian, G., A review of the identification and detection of heavy metal ions in the environment by voltammetry. *Talanta.* **178**, 324–338 (2018).
290. Widmann, A., Van Den Berg, C. M. G., Mercury detection in seawater using a mercaptoacetic acid modified gold microwire electrode. *Electroanalysis.* **17**, 825–831 (2005).
291. Khadro, B., Sikora, A., Loir, A.S, Errachid, A., Garrelie, F., Donnet, C., Jaffrezic-Renault, N., Electrochemical performances of B doped and undoped diamond-like carbon (DLC) films deposited by femtosecond pulsed laser ablation for heavy metal detection using square wave anodic stripping voltammetric (SWASV) technique. *Sensors Actuators, B Chem.* **155**, 120–125 (2011).
292. Salaiün, P., Van Den Berg, C. M. G., Voltammetric detection of mercury and copper in seawater using a gold microwire electrode. *Anal. Chem.* **78**, 5052–5060 (2006).
293. Petovar, B., Khanari, K., Finšgar, M., A detailed electrochemical impedance spectroscopy study of a bismuth-film glassy carbon electrode for trace metal analysis. *Anal. Chim. Acta.* **1004**, 10–21 (2017).
294. Baig, N., Sajid, M., Applications of layered double hydroxides based electrochemical sensors for determination of environmental pollutants: A review. *Trends Environ. Anal. Chem.* **16**,

1–15 (2017).

295. Hezard, T., Laffont, L., Gros, P., Behra, P., Evrard, D., Hg(II) trace electrochemical detection on gold electrode: Evidence for chloride adsorption as the responsible for the broad baseline. *J. Electroanal. Chem.* **697**, 28–31 (2013).
296. Barón-Jaimez, J., Joya, M.R., Barba Ortega, J., Barrios, A.D., González, J.D., Ondarza-Rovira, R., Boyd, T.J.M., Quintro, J.H., Mariño, A., Arango, P.J., Anodic stripping voltammetry – ASV for determination of heavy metals. *J. Phys. Conf. Ser.* **466**, 012023 (2013).
297. Bonfil, Y., Brand, M., Kirowa-Eisner, E., Trace determination of mercury by anodic stripping voltammetry at the rotating gold electrode. *Anal. Chim. Acta.* **424**, 65–76 (2000).
298. Sipos, L., the Reliable Determination of Mercury Traces in Sea. *Anal. Chim. Acta.* **115**, 25–42 (1980).
299. Watson, C. M., Dwyer, D. J., Andle, J. C., Bruce, A. E., Bruce, M. R. M., Stripping analyses of mercury using gold electrodes: Irreversible adsorption of mercury. *Anal. Chem.* **71**, 3181–3186 (1999).
300. Gervais, Design et optimisation d'une interface fonctionnalisée par des nanoparticules métalliques et de couches organiques électroformées pour la détection de métaux lourds à l'état de traces dans les eaux. Thèse de Doctorat. Université de Toulouse, Université Toulouse III-Paul Sabatier (2017).
301. Schopf, C., Wahl, A., Martín, A., O'Riordan, A., Iacopino, D., Direct Observation of Mercury Amalgamation on Individual Gold Nanorods Using Spectroelectrochemistry. *J. Phys. Chem. C.* **120**, 19295–19301 (2016).
302. Schopf, C., Martín, A., Schmidt, M., Iacopino, D., Investigation of Au-Hg amalgam formation on substrate-immobilized individual Au nanorods. *J. Mater. Chem. C.* **3**, 8865–8872 (2015).
303. Mertens, S. F. L., Gara, M., Sologubenko, A.S., Mayer, J., Szidat, S., Krämer, K.W., Jacob., Schiffrin, D.J., Wandlowski, T., Au@Hg nanoalloy formation through direct amalgamation: Structural, spectroscopic, and computational evidence for slow nanoscale diffusion. *Adv. Funct. Mater.* **21**, 3259–3267 (2011).

304. Pinilla Gil, E., Ostapczuk, P., Potentiometric stripping determination of mercury(II), Selenium(IV), copper(II) and lead(II) at a gold film electrode in water samples. *Anal. Chim. Acta.* **293**, 55-65 (1994).

Annexes

Annexe I. Composition des échantillons naturels testés.

Elément	Concentration	
	ES	EU
THg / pM	70,8	38
Pb / nM	7,75	6,27
Ni / nM	84,51	267,5
Cu / nM	203,49	251,33
Cd / nM	0,96	7,84
Ag / nM	0,23	< 4,63
Co / nM	18,14	< 10,71
Zn / nM	289,53	1573,87
Cr / nM	21,69	6,73
V / nM	2,12	102,08
As / nM	4	580,63
Mo / nM	0,28	120,37
Al / mg.l ⁻¹	0,24	/
Na / mg.l ⁻¹	8,69	21454,25
K / mg.l ⁻¹	1,35	1635,32
Mg / mg.l ⁻¹	0,95	2210,32
Fe / mg.l ⁻¹	0,116	0,0116
Mn / mg.l ⁻¹	0,009	0,364
S / mg.l ⁻¹	13,71	870,52
Ba / mg.l ⁻¹	16,41	0,416
Ca / mg.l ⁻¹	16,41	158,22

Elément	Concentration (mg.l ⁻¹)	
	ES	EU
F ⁻	0,19	< 50
Cl ⁻	9,4	41514,5
NO ₂ ⁻	< 0,2	< 50
NO ₃ ⁻	3,73	< 50
Br ⁻	< 0,2	124
SO ₄ ²⁻	39,5	3323,5
PO ₄ ³⁻	< 0,2	< 50

Annexe II. Programme Matlab utilisé pour la caractérisation des nanoparticules d'or observés par MEB

```
%%
clear all
nom_image = 'A-025.bmp';
echelle = 1/264;
im_tmp = imread(nom_image);
%figure
%imshow(im_tmp)
[ ni nj ]=size(im_tmp);
im = im_tmp(1:ni-119,:);
%figure
%imshow(im)
im = medfilt2(im)
%figure
%imshow(im)
level = graythresh(im)
subplot(2,2,1)
imshow(im)
im = im2bw(im,level)
subplot(2,2,2)
imshow(im)
graindata = regionprops(im, 'basic');
idx=find([graindata.Area] > 1);
cc1=bwlabel(im);
cc2 = ismember(cc1,idx); aire = [graindata.Area];
subplot (2,2,3)
imshow(cc2)
[L l] = size(cc2);
fraction_surfacique = sum(aire) / (L*l)
diam = sqrt(4*aire/pi) * echelle;
subplot(2,2,4)
```

```

[n xout] = hist(diam); % 100 est le nombre de barres histo
bar(xout,n)
title('Histo des diamètres en nm')
somme_poids_statistique=sum(n.*xout);
nombre_total = sum(n)
surface_image=(L.*l.*echelle*echelle).*10^-6
desnite=(nombre_total/(L.*l.*echelle*echelle)).*10^6
dia_mean = somme_poids_statistique./nombre_total
ecartype=(sum(n.*(xout-dia_mean).^2)./nombre_total).^0.5
CV=(ecartype./dia_mean).*100
%fid = fopen('output.csv','w');
%for i=1:length(xout)
%str = [num2str(xout(i)) ';' num2str(n(i))];
%fprintf(fid, '%s\n',str);
%end
%fclose(fid);

```


Elaboration d'un capteur électrochimique basé sur une interface mixte film de diazonium / nanoparticules d'or pour la détection des traces de mercure(II) dans les eaux naturelles.

Le mercure est un métal toxique provenant des rejets industriels et des émissions naturelles. Ayant la propriété de s'accumuler dans les organismes vivants, il est présent dans tous les éléments de la chaîne alimentaire. Il est à l'origine de nombreuses maladies et peut même entraîner la mort à hautes doses. Il est donc nécessaire d'assurer un suivi continu du niveau de pollution dans les eaux naturelles. Les techniques spectroscopiques classiques utilisées actuellement permettent de détecter le Hg(II) à des faibles concentrations mais elles sont souvent coûteuses et complexes, d'où le besoin de développer d'autres techniques plus simples pour un suivi en temps réel. Dans ce contexte, les capteurs électrochimiques se distinguent comme une excellente alternative, simple et peu coûteuse, pour les mesures *in situ*. L'objectif de ces travaux est le développement d'un capteur électrochimique basé sur la fonctionnalisation d'une électrode de carbone vitreux par des nanoparticules d'or (AuNPs) utilisées pour améliorer la sensibilité et la sélectivité du capteur. Les AuNPs ont été électrodéposées sur une électrode de carbone vitreux modifiée avec des couches organiques. Les interfaces mixtes ainsi obtenues ont été caractérisées par diverses méthodes électrochimiques et microscopiques. Après une étape d'activation électrochimique, les performances analytiques du capteur (stabilité, sensibilité, sélectivité) ont été évaluées par la détection de différentes concentrations de Hg(II).

Mots clefs : Nanoparticules d'or, Mercure, Sels de diazoniums, électrodépôt, activation, stabilité, sensibilité, sélectivité

Mercury (Hg) is highly toxic metal originating from natural sources and mainly from anthropogenic processes. It can bioaccumulate all along the food chain and causes severe diseases being thus lethal. Thus, it is of critical importance to ensure continuous Hg(II) monitoring for health and environmental protection. Classical Spectroscopic techniques are routinely used for Hg(II) determination. Although they offer good sensitivity and selectivity, they involve complex procedures and expensive material, which limit their use for on-site analysis. In this context, electrochemical sensors present excellent candidates for *in situ* Hg(II) trace analysis, taking in account their numerous advantages compared to spectroscopic techniques: easier handling, simple procedure, low energy consuming, low cost material and portability. This work presents a new electrochemical approach aiming to conceive and optimize an electrochemical Hg(II) sensor based on the functionalization of a glassy carbon electrode with gold nanoparticles (AuNPs) and diazonium salts in order to enhance the sensor lifetime. The gold nanoparticles were directly electrodeposited on the glassy carbon electrode, previously functionalized by diazonium salts. The mixed interfaces were then characterized using different electrochemical and spectroscopic techniques. An activation step was finally performed prior to mercury detection. The analytical performances of the sensor (stability, sensitivity, selectivity) towards mercury detection were evaluated using different amounts of Hg(II).

Key words: Gold nanoparticles, Mercury, Diazonium salts, electrodeposition, activation, stability, sensitivity, selectivity