



HAL
open science

Modélisation et optimisation des biocapteurs utilisés dans l'analyse environnementale

Fares Zouaoui

► **To cite this version:**

Fares Zouaoui. Modélisation et optimisation des biocapteurs utilisés dans l'analyse environnementale. Chimie analytique. Université de Lyon, 2020. Français. NNT : 2020LYSE1233 . tel-03293419

HAL Id: tel-03293419

<https://theses.hal.science/tel-03293419v1>

Submitted on 21 Jul 2021

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.

N°d'ordre NNT : xxx



THESE de DOCTORAT DE L'UNIVERSITE DE LYON

opérée au sein de
l'Université Claude Bernard Lyon 1

Ecole Doctorale ED 206
Ecole doctorale de chimie de LYON

Spécialité de doctorat : Chimie

Discipline : Chimie analytique

Soutenue publiquement le 12/11/2020, par :

Fares ZOUAOUI

Modélisation et optimisation des biocapteurs utilisés dans l'analyse environnementale

Devant le jury composé de :

LEONARD Didier
AZIOUNE Ammar
KORRI-YOUSSOUFI Hafsa
AITOUT Razika
BOUROUINA-BACHA Saliha
ERRACHID EL-SALHI Abdelhamid
AZIZ Amine
KANOUN Olfa
ZINE LOUKILI Nadia

Professeur des universités, UCBL-France
Directeur de recherche, CRBt-Algérie
Directrice de recherche ICMMO-France
Professeur, UAMB-Algérie
Professeur, UAMB-Algérie
Professeur des universités, UCBL-France
Professeur, UHII-Maroc
Professeur Univ. Chemnitz-Allemagne
Maitre de conférences, UCBL-France

Président
Rapporteur
Rapporteur
Examinatrice
Co-Directrice de thèse
Directeur de thèse
Invité
Invitée
Invitée

Université Claude Bernard – LYON 1

Administrateur provisoire de l'Université	M. Frédéric FLEURY
Président du Conseil Académique	M. Hamda BEN HADID
Vice-Président du Conseil d'Administration	M. Didier REVEL
Vice-Président du Conseil des Etudes et de la Vie Universitaire	M. Philippe CHEVALLIER
Vice-Président de la Commission de Recherche	M. Jean-François MORNEX
Directeur Général des Services	M. Pierre ROLLAND

COMPOSANTES SANTE

Département de Formation et Centre de Recherche en Biologie Humaine	Directrice : Mme Anne-Marie SCHOTT
Faculté d'Odontologie	Doyenne : Mme Dominique SEUX
Faculté de Médecine et Maïeutique Lyon Sud - Charles Mérieux	Doyenne : Mme Carole BURILLON
Faculté de Médecine Lyon-Est	Doyen : M. Gilles RODE
Institut des Sciences et Techniques de la Réadaptation (ISTR)	Directeur : M. Xavier PERROT
Institut des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques (ISBP)	Directrice : Mme Christine VINCIGUERRA

COMPOSANTES & DEPARTEMENTS DE SCIENCES & TECHNOLOGIE

Département Génie Electrique et des Procédés (GEP)	Directrice : Mme Rosaria FERRIGNO
Département Informatique	Directeur : M. Behzad SHARIAT
Département Mécanique	Directeur M. Marc BUFFAT
Ecole Supérieure de Chimie, Physique, Electronique (CPE Lyon)	Directeur : Gérard PIGNAULT
Institut de Science Financière et d'Assurances (ISFA)	Directeur : M. Nicolas LEBOISNE
Institut National du Professorat et de l'Education	Administrateur Provisoire : M. Pierre CHAREYRON
Institut Universitaire de Technologie de Lyon 1	Directeur : M. Christophe VITON
Observatoire de Lyon	Directrice : Mme Isabelle DANIEL
Polytechnique Lyon	Directeur : Emmanuel PERRIN
UFR Biosciences	Administratrice provisoire : Mme Kathrin GIESELER
UFR des Sciences et Techniques des Activités Physiques et Sportives (STAPS)	Directeur : M. Yannick VANPOULLE
UFR Faculté des Sciences	Directeur : M. Bruno ANDRIOLETTI

Liste des publications et communications

Publications:

1. **Zouaoui, F.**; Bourouina-Bacha, S.; Bourouina, M.; Abroa-Nemeir, I.; Ben Halima, H.; Gallardo-Gonzalez, J.; El Alami El Hassani, N.; Alcacer, A.; Bausells, J.; Jaffrezic-Renault, N.; et al. Electrochemical impedance spectroscopy determination of glyphosate using a molecularly imprinted chitosan. *Sens. Actuators B Chem.* 2020, 309, 127753.
2. **Zouaoui, F.**; Bourouina-Bacha, S.; Bourouina, M.; Jaffrezic-Renault, N.; Zine, N.; Errachid, A. Electrochemical sensors based on molecularly imprinted chitosan: A review. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 2020, 115982, doi:10.1016/j.trac.2020.115982. (IF=9.8)
3. **Zouaoui, F.**; Bourouina-Bacha, S.; Bourouina, M.; Alcacer, A.; Bausells, J.; Jaffrezic-Renault, N.; Zine, N.; Errachid, A. Experimental Study and Mathematical Modeling of a Glyphosate Impedimetric Microsensor Based on Molecularly Imprinted Chitosan Film. *Chemosensors* 2020, 8, 104.
4. **Zouaoui, F.**; Bourouina-Bacha, S.; Bourouina, M.; Alcacer, A.; Bausells, J.; Jaffrezic-Renault, N.; Zine, N.; Errachid, A. Electrochemical impedance spectroscopy microsensor based on molecularly imprinted chitosan film grafted on a 4-aminophenylacetic acid (CMA) modified gold electrode, for the sensitive detection of glyphosate. *Frontiers in Chemistry*, 2020. **En cours de publication.**
5. Jalia, I; **Zouaoui, F.**; Chabbah, T; Chatti, S; Saint-Martin, P; Casabianca, H; Minot, S; Bessueille, F; Marestin, C; Mercier, R; Errachid, A; Jaffrezic-Renault, N. Adsorption characteristics of WFD heavy metal ions on new biosourced polyimide films determined by electrochemical impedance spectroscopy. *Journal of inorganic and organometallic polymers and materials*, 2020. **En cours de publication.**

Articles soumis:

1. Analytical performance of a lysozyme impedimetric microsensor based on a molecularly imprinted chitosan film.
2. A novel Immuno-Field-Effect Transistor based on silicon nitride and impedance spectroscopy to detect salivary cortisol for heart failure monitoring

Communications

1. Electrochemical impedance spectroscopy determination of glyphosate using a molecularly imprinted chitosan. **F. Zouaoui**, S. Bourouina-Bacha, M. Bourouina, I. Abroa-Nemeir, H. Ben Halima, J. Gallardo-Gonzalez, N. El Alami El Hassani, M. Hangouet, N. Jaffrezic-Renault, N. Zine, A. Errachid. The ninth international workshop on biosensors, 09/11 October 2019, Merzouga, Morocco.
2. Communication accepted: Experimental Study and Mathematical Modeling of a Glyphosate Impedimetric Microsensor Based on Molecularly Imprinted Chitosan Film. **F. Zouaoui**, S. Bourouina-Bacha, M. Bourouina, A. Alcacer, J. Bausells, N. Zine, A. Errachid, N. Jaffrezic-Renault. 3rd International Workshop of the IEEE Sensors France Chapter, 26-27 November 2020, Lille, France.
3. Communication accepted: Electrochemical impedance spectroscopy microsensor based on CS-MIPs/PPy[3,3-Co(1,2-C₂B₉H₁₁)₂]/Au for the sensitive detection of GLY. **F. Zouaoui**, S. Bourouina-Bacha, M. Bourouina, H. BEN HALIMA, N. Jaffrezic-Renault, N. Zine, A. Errachid. World congress on materials science and nanotechnology, 14-15 June 2021, Barcelona, Spain.
4. Communication accepted: Novel ImmunoFET based on impedance spectroscopy for Salivary TNF- α detection: Application for heart failure. H. Ben Halima, F. Brunon, F. G. Bellagambi, **F. Zouaoui**, M. Hangouët, M. Sigaud, N. Pfeiffer, N. Zine,
5. Numerical simulation of the adsorption processes in fluidized bed reactor based on surface diffusion model, Khaled G, Abdelkrim K, **Zouaoui F**, Bourouina-Bacha S, Bourouina M. 10th world congress on chemical engineering, 1st-5th October 2017, Barcelone, Espagne.
6. Simplified model for adsorption method on activated carbon in fluidized bed reactor, Khaled G, Abdelkrim K, **Zouaoui F**, Bourouina-Bacha S, EMCEI-22-25 Novembre 2017, Sousse, Tunisie (acceptée).

REMERCIEMENTS

Ce travail est réalisé à l'Institut des Sciences Analytiques de Lyon (ISA, UMR 5280) avec l'équipe de recherche Micro et Nano-biotechnologie. Je suis reconnaissant envers le soutien financier du programme de recherche et d'innovation de l'UE H2020 intitulé Kardia Tool # 768686 ainsi que du programme campus France dans le cadre de la subvention PROFAS B+.

Je tiens à remercier mes directeurs de thèse **Pr BOUROUINA-BACHA Saliha**, **Pr ERRACHID EL-SALHI Abdelhamid** et **Dr ZINE Nadia** pour m'avoir fait confiance dans la conduite de ce projet et pour m'avoir permis de travailler en toute liberté. Je vous remercie pour votre disponibilité, votre soutien, votre patience et votre bonne humeur. Je vous remercie également d'avoir rendu possible mon insertion dans le monde de la recherche et de m'avoir donné des repères pour bien y évoluer.

Je souhaite exprimer ma profonde gratitude pour le **Pr JAFFREZIC-RENAULT Nicole** et le **Pr BOUROUINA Mustapha** qui ont été associés à cet encadrement. Je vous remercie pour vos qualités humaines et vos précieux conseils. Merci pour tout le temps que vous m'avez accordé durant cette période. Vos commentaires et suggestions ainsi que les différents échanges m'ont été d'une grande aide dans la finalisation de ce travail.

Je tiens également à exprimer mes remerciements aux membres du jury qui ont accepté d'évaluer ce travail de thèse et d'avoir consacré du temps à la lecture de ce manuscrit. Je remercie le **Pr LEONARD Didier** d'avoir accepté de présider le jury de ma thèse. Merci aux **Pr AZZIOUNE Ammar** et le **Pr KORRI YOUSOUFI Hafsa** d'avoir accepté d'être rapporteurs de ma thèse. Je remercie aussi **Pr AITOUT Razika** pour m'avoir fait l'honneur d'examiner ce travail. Mes remerciements vont également aux **Pr AZIZ Amine** et **Pr KANOUN Oifa** pour avoir accepté de participer à ce jury de thèse et d'assister à la présentation de ce travail.

Je tiens à remercier tous les membres de l'équipe **Micro et Nano-biotechnologie** avec qui j'ai noué des liens d'amitié forts. Merci à toutes et tous pour votre aide, votre soutien, vos rires, votre bonne humeur et tout le reste. Vous m'avez accompagné pendant ce projet de thèse et je vous en suis reconnaissant. Encore une fois, je suis très reconnaissant envers **le chef de l'équipe, Pr ERRACHID EL-SALHI Abdelhamid**, pour m'avoir accueilli dans un

environnement favorable au laboratoire et de m'avoir offert toutes les conditions nécessaires pour le bon déroulement de la partie expérimentale.

Par la même occasion, j'exprime mes sentiments les plus sincères à toutes les **personnes de l'ISA** qui ont participé de près ou de loin à ce projet. Je remercie également l'association **ISATOPE** pour avoir fait de l'ISA un endroit plus convivial

Pour finir, je tiens à remercier **mes parents, ma famille** et **mes amis** qui m'ont toujours soutenu, qui n'ont épargné aucun effort pour me venir en aide et pour les encouragements qu'ils m'ont apportés.

TABLE DES MATIERES

LISTE DES ABREVIATIONS.....	vi
LISTE DES SYMBOLES.....	viii
LISTE DES FIGURES	x
LISTE DES TABLEAUX	xv
INTRODUCTION GENERALE	1
CHAPITRE 1 : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	6
I Glyphosate	7
I.1 Généralités.....	7
I.2 Mécanisme d'action.....	8
I.3 Contamination des eaux naturelles par le glyphosate.....	9
I.4 Dangers et risques du glyphosate	11
I.4.1 Impacts du glyphosate sur les plantes	11
I.4.2 Impacts du glyphosate sur les animaux et les micro-organismes	11
I.4.3 Impacts du glyphosate sur l'être humain.....	12
I.5 Techniques d'analyses	13
Conclusion	17
II Polymère à empreintes moléculaires (MIPs).....	18
II.1 Principes fondamentaux de la synthèse et de la caractérisation des polymères à empreintes moléculaires.....	18
II.1.1 Principe général des MIPs	18
II.1.2 Paramètres de synthèse des MIPs	19
b. Template.....	19
c. Monomère fonctionnel.....	20
d. Agent de réticulation.....	20
e. Solvant porogène	21
II.1.3 Modes de polymérisation.....	21
a. Polycondensation.....	22
b. Polymérisation en chaîne	22
II.1.4 Extraction du template.....	22
II.1.5 Différentes approches pour développer les MIPs	23
a. Approche non covalente.....	23
b. Approche covalente	24
c. Approche semi-covalente.....	25

II.1.6	Optimisation des rapports template/monomère fonctionnel et réticulant/monomère fonctionnel	25
a.	Rapport réticulant/monomère fonctionnel	25
b.	Rapport template/monomère fonctionnel.....	25
II.1.7	Formes physiques des MIPs	26
II.1.8	Avantages des MIPs	27
II.1.9	Principales applications des MIPs.....	27
II.2	Chitosane à empreintes moléculaires (CS-MIPs).....	29
II.2.1	Chitine	29
II.2.1.1	Structure et sources	29
II.2.1.2	Extraction de la chitine.....	30
II.2.1.3	Désacétylation de la chitine	31
a.	Désacétylation chimique.....	31
b.	Désacétylation enzymatique.....	31
II.2.2	Chitosane	33
II.2.2.1	Structure.....	33
II.2.2.2	Poids moléculaire (M_w), viscosité et cristallinité du chitosane.....	33
II.2.2.3	Propriétés du chitosane.....	34
II.2.2.4	Solubilité du chitosane	37
II.2.2.5	Stabilité du chitosane.....	38
a.	Facteurs affectant le comportement du chitosane.....	38
b.	Modification chimique du chitosane.....	40
II.3	Les MIPs comme élément de reconnaissance dans les capteurs électrochimiques ..	42
II.3.1	Réponse du capteur électrochimique MIPs	42
II.3.2	Capteurs électrochimiques CS-MIPs.....	43
II.3.3	Principe de l'électrodéposition de chitosane	48
Conclusion	50
III	Généralités sur la spectroscopie d'impédance électrochimique	52
III.1	Electrochimie et les phénomènes à l'interface métal/électrolyte	52
III.2	Principe de la spectroscopie d'impédance électrochimique	53
III.3	Représentation graphique de l'impédance.....	55
III.4	Décomposition de l'impédance en éléments électriques simples	56
III.4.1	La résistance de la solution R_s	56
III.4.2	Impédance faradique	57

III.4.2.1	La résistance de transfert de charge R_{ct}	57
III.4.2.2	Impédance de Warburg Z_w	58
a.	Couche de diffusion semi-infinie	59
b.	Couche de diffusion finie	59
III.4.3	Impédance capacitive	60
III.4.4	Effet inductif.....	61
III.5	Impédance globale Z	61
III.6	Circuit équivalent associé à un système électrochimique	61
Conclusion	63
Objectif de la thèse	64
CHAPITRE 2 : DEVELOPPEMENT DES MICRO-CAPTEURS IMPEDANCE-		
METRIQUES SENSIBLES AU GLYPHOSATE		
		65
Introduction.....		66
I Matériels et méthodes.....		66
I.1 Matériaux et réactifs		66
I.2 Appareils et dispositifs.....		67
I.3 Mesures électrochimiques		67
II Développement d'une membrane de chitosane à empreintes moléculaires sensible au glyphosate.....		68
II.1 Préparation du CS-MIPs/Au et CS-NIP/Au		68
II.2 Caractérisation électrochimique de CS-MIPs/Au et de CS-NIP/Au.....		72
II.3 Le taux de recouvrement du CS-MIPs/Au		75
II.4 Morphologie de surface.....		75
II.5 Caractérisation de l'extraction du GLY		75
II.6 Réponses électrochimiques du CS-MIPs/Au.....		76
II.7 Effet de l'impression.....		79
II.8 Sélectivité du CS-MIPs/Au.....		80
II.9 Reproductibilité et régénération.....		81
II.10 Analyse d'échantillons réels		82
III Micro-capteur impédimétrique basé sur le chitosane à empreintes moléculaires et une couche conductrice de polypyrrole pour la détection du glyphosate.		84
III.1 PPy dopé avec les ions Cobaltabis $[3,3-Co(1,2-C_2B_9H_{11})_2]^-$		84
III.2 Préparation de CS-MIPs/PPy $[3,3-Co(1,2-C_2B_9H_{11})_2]^-$ /Au.....		85
a. Préparation des électrodes.....		85

b.	Electrodéposition de PPy[3,3-Co(1,2-C ₂ B ₉ H ₁₁) ₂]	85
c.	Electrodéposition du CS-MIPs	86
d.	La réticulation et l'extraction du GLY	86
III.3	Caractérisation électrochimique du CS-MIPs/PPy[3,3-Co(1,2-C ₂ B ₉ H ₁₁) ₂]/Au	87
III.4	Morphologie de surface	91
III.5	Réponses impédance-métrique du CS-MIPs/PPy[3,3-Co(1,2-C ₂ B ₉ H ₁₁) ₂]/Au	91
III.6	Effet de PPy [3,3-Co(1,2-C ₂ B ₉ H ₁₁) ₂] sur la sensibilité du micro-capteur	93
III.7	Effet de l'impression et de la sélectivité du capteur	94
III.8	Reproductibilité et régénération	95
III.9	Analyse d'échantillons réels	95
IV	Micro-capteur conçu sur un film du chitosane à empreinte moléculaire greffé sur l'acide 4-aminophénylacétique (CMA)	99
IV.1	Principe du CMA	99
IV.2	Préparation de CS-MIPs/CMA/Au	100
IV.2.1	Electrodépositin du CMA sur des micro-électrodes en or	100
a.	Préparation du sel de diazonium (CMA)	100
b.	Electrodéposition du CMA	100
c.	Activation de la fonction carboxylique	100
IV.2.2	Greffage du CS sur le CMA	101
a.	Préparation du mélange GLY/CS	101
b.	Dépôt de CS-MIPs	101
IV.3	Caractérisation électrochimique des modifications de la surface des électrodes ...	102
IV.4	Morphologie de la surface	104
IV.5	Réponses électrochimiques du CS-MIPs/CMA/Au	105
IV.6	Effet du CMA sur la sensibilité du capteur	108
IV.7	Etude d'interférence	108
IV.8	Reproductibilité et régénération	109
IV.9	Analyse des échantillons réels	110
Conclusion	113
CHAPITRE 3 : MODELISATION DE LA REponse IMPEDANCE-METRIQUE DES MICRO-CAPTEURS.		114
Introduction		115
I	Modélisation du micro-capteur CS-MIPs/Au	115
I.1	Le modèle physique	115

I.2	Simulation numérique	119
I.3	Validation du modèle	121
I.4	Effets de différents paramètres sur la réponse impédance-métrique de CS-MIPs/Au	124
I.4.1	Effet du coefficient n.....	124
I.4.2	Effet de la constante de vitesse de transfert d'électrons k°	125
I.4.3	Effet du coefficient de CPE (Q).....	125
I.4.4	Effets de l'épaisseur et de la surface de la membrane CS-MIPs	126
I.4.5	Effets de la température et de la concentration de la solution ferri/ferrocyanure	127
I.5	Effet du polypyrrole sur la réponse du micro-capteur	128
I.5.1	Analyse spectrale	128
I.5.2	Modélisation de microcapteur CS-MIPs/PPy/Au	129
I.5.3	Analyse des résultats théoriques	130
I.5.4	Comparaison entre les résultats théoriques de deux capteurs.....	131
II	Modélisation du micro-capteur CS-MIPs/CMA/Au	133
II.1	Modèle Physique.....	133
II.2	Simulation numérique	134
II.3	Validation du modèle	135
II.4	Analyse des résultats théoriques	136
II.5	Effets de différents paramètres sur la réponse impédancemétrique de CS-MIPs/CMA/Au	141
II.5.1	Effet du coefficient n.....	141
II.5.2	Effet de la constante de vitesse standard k°	141
II.5.3	Effet du coefficient de CPE (Q).....	143
	Conclusion	144
	CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES	145
	REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	150

LISTE DES ABREVIATIONS

Au : Electrode en or.

CA : Ampérométrie.

CE : Contre électrode.

CHL : Chlorpyrifos.

CIRC : Le Centre International de Recherche sur le Cancer.

CMA : Acide 4-aminophénylacétique.

CS : Chitosane.

CV: Voltampérométrie cyclique.

DBO : La demande biochimique en oxygène.

DCO : La demande chimique en oxygène.

DD : Degré de Désacétylation.

DCE : La Directive-Cadre Européenne.

EDC : 1-éthyl-3- (3 diméthylaminopropyl) carbodiimide.

EIS : Spectroscopie d'Impédance Electrochimique (Electrochemical Impedance Spectroscopy).

FAO : L'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (The Food and Agriculture Organization)

GLY : Le glyphosate.

GLU : Gluphosinate-ammonium.

LOD : La limites de détection (Limit of Detection).

M : Monomère fonctionnel.

MEB : Microscopie Electronique à Balayage.

MIPs : Les polymères à empreintes moléculaires (Molecularly Imprinted Polymers).

M_w : Le poids moléculaire.

NHS : N-Hydroxysuccinimide.

NIP : Polymère non imprimé.

OMS : L'Organisation Mondiale de la Santé.

Ox : oxydant.

PHO : Phosmet.

PPy: Polypyrrole.

RE : Electrodes de référence.

Red : réducteur.

T : Template.

WE : Electrodes de travail.

X : Réticulant.

LISTE DES SYMBOLES

A : Surface de l'électrode (cm²).

A_w : Coefficient de Warburg.

C_{dl} : Capacitance (F cm⁻²).

C_{Ox} : Concentration de l'oxydant (mol/cm³).

CPE : Eléments à phases constantes (Constant Phase Element).

C_{Red} : Concentration de réducteur (mol/cm³).

D_{Red/Ox} : Coefficient de diffusion moléculaire réducteur/oxydant (cm²/s).

D_s : Coefficient de diffusion global (cm²/s).

E : Tension sinusoïdale (V)

E_a : Potentiel anodique (V).

E_c : Potentiel cathodique (V).

E_{eq} : Tension d'équilibre (V).

E⁰_{Ox/Red} : Potentiel standard du couple redox (V).

F : Constante de Faraday (C.mol⁻¹).

f : Fréquence (Hz).

I : courant sinusoïdale (A)

I_a : Courant anodique (A).

I_c : Courant cathodique (A).

i₀ : Courant d'échange à l'équilibre (A).

k⁰ : Constante de vitesse standard de transfert d'électrons (cm/s).

K_{Ox} : Constante de vitesse d'oxydation (cm/s).

K_{Red} : Constante de vitesse de réduction (cm/s).

L : Inductance (Ω s cm²).

l : l'épaisseur de revêtement (cm).

n : Facteur de correction de CPE.

n : Nombre d'électrons.

Q : Coefficient de CPE ($s^n \Omega^{-1}$) ou ($F s^{(n-1)}$).

q_i : Nombre de charges de l'ion.

R : Constante des gaz parfaits ($J.mol^{-1}.K^{-1}$).

R_{ct} : Résistance de transfert de charge (Ω).

R_d : Résistance de diffusion (Ω).

R_s : Résistance de la solution (Ω).

T : Température (K).

t : Temps (s)

Z : Impédance.

Z' , $Re(Z)$: Partie réelle de l'impédance.

Z'' , $-Im(Z)$: Partie imaginaire de l'impédance.

Z_w : Impédance de Warburg.

φ : Déphasage

ω : Pulsation (rad/s).

ρ : Résistivité de la solution (Ωcm).

σ : conductivité de la solution (s/m).

λ_i : Conductivité molaire ionique équivalente ($ms.m^2/mol$).

α : Coefficient de transfert de charge cathodique.

$1-\alpha$: coefficient de transfert de charge anodique.

τ : Temps de diffusion (s).

δ : Epaisseur de la couche de diffusion (cm^2).

ϵ_0 : Constante diélectrique du vide (F/cm).

ϵ : Constante diélectrique effective de l'électrolyte (F/cm).

LISTE DES FIGURES

Figure 1: structure chimique du glyphosate.....	7
Figure 2 : <i>Modes de transfert du glyphosate du sol à l'eau</i> [37]	9
Figure 3 : Schéma de MIPs pour deux templates différents.	18
Figure 4 : Types d'allomorphes de la chitine.....	29
Figure 5 : Préparation de la chitine et de chitosane à partir de matières premières.	32
Figure 6 : Structure de la D-glucosamine	33
Figure 7 : Différentes approches pour complexer le chitosane.....	35
Figure 8 : Comportement du chitosane en fonction du pH de la solution.	38
Figure 9 : Formation de ponts hydrogène par réaction entre des molécules d'eau et des groupes amine du chitosane [25].....	40
Figure 10 : Différents types d'agents de réticulation pour le chitosane.....	42
Figure 11 : Réponse électrochimique du capteur MIPs.....	42
Figure 12 : mécanisme d'électrodéposition de chitosane.....	49
Figure 13 : Différents processus électrochimiques à l'interface métal/électrolyte [208].....	53
Figure 14 : Schéma d'un système électrochimique non linéaire soumis à une perturbation sinusoïdale.....	54
Figure 15 : Circuit équivalent de Randles (a) et le diagramme d'impédance équivalent (b) de l'interface électrode/électrolyte en présence d'une réaction électrochimique.	62
Figure 16 : a) Transducteur contenant un réseau de quatre microélectrodes de travail en or nu (WE) $s = 0,64 \text{ mm}^2$, une contre-microélectrode (CE) $s = 0,13 \text{ mm}^2$ et deux microélectrodes de référence Ag / AgCl (RE) $s = 1,37 \text{ mm}^2$. b) Potentiostat multicanal (Biologic-EC-Lab VMP3).	67
Figure 17 : Voltammogramme d'électrodéposition de chitosane.	69
Figure 18 : Mécanisme de réticulation du chitosane avec l'acide sulfurique.	69
Figure 19 : Voltammogrammes de CS-MIPs/Au pour différents temps de réticulation.	70
Figure 20 : Voltammogrammes de CS-MIPs/Au pour différents temps d'extraction de GLY.	71
Figure 21 : Préparation de CS-MIPs/Au et sa reconnaissance pour le GLY.	71
Figure 22 : Schéma du circuit de Randles.	72
Figure 23 : EIS d'Au nu (a) , NIPs/Au (b) , MIPs/Au avant l'extraction du GLY (c) , MIPs/Au après l'extraction du GLY (d) . dans le PBS à 5 mM $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$, potentiel initial $E = 0,2 \text{ V}$. Freq = 100 khz à 1 Hz.	73
Figure 24 : CV de Au nu (a) , NIP/Au (b) , MIPs/Au avant l'extraction du GLY (c) , MIPs/Au après extraction du GLY (d) . Dans le PBS à 5 mM $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$, de 0 à 0,35 V à une vitesse de balayage de 80 mV/s.	74
Figure 25 : Les images de MEB. a) Au nu, b) CS-MIPs/Au, c) CS-NIP/Au.....	75
Figure 26 : Spectres UV de la solution méthanol/acide acétique avant et après l'extraction du GLY.	76
Figure 27 : EIS de CS-MIPs/Au dans PBS à 5 mM $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ avant la pré-concentration et après incubation dans différentes concentrations de GLY.	77
Figure 28 : EIS de CS-NIP/Au dans le PBS à 5 mM $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ avant la pré-concentration et après incubation dans différentes concentrations de GLY.....	79

Figure 29 : Sensibilité de la détection GLY et des interférences, --- réponse de CS-MIPs/Au pour le GLY ($y=0.087x+0.673$; $R^2=0.991$), --- réponse de CS-NIP/Au pour le GLY ($y=0.006x+0.087$; $R^2=0.488$), --- réponse de CS-MIPs/Au pour le GLU ($y=0.011x+0.093$; $R^2=0.962$), --- réponse de CS-MIPs/Au pour le CHL ($y=0.002x+0.072$; $R^2=0.024$), --- réponse de CS-MIPs/Au pour le PHO ($y=0.006x+0.087$; $R^2=0.176$).....	80
Figure 30 : Structure chimique du glyphosate, du gluphosinate-ammonium, du chlorpyrifos et du phosmet.	81
Figure 31 : EIS de CS-MIPs/Au dans PBS à 5 mM $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ après l'extraction et la réextraction de GLY.	81
Figure 32 : Régénération du capteur CS-MIPs/Au.	82
Figure 33 : EIE de CS-MIPs/Au avant et après incubation dans l'eau de rivière.	82
Figure 34 : Détection de GLY dans l'eau du Rhône en utilisant la méthode des ajouts dosés avec les concentrations suivantes (0,031 pg/ml, 6,25 pg/ml, 125 pg/ml, 2,5 ng/ml et 50 ng/ml) ($\Delta R/R = 0,090 \log [\text{GLY}]$; $R^2 = 0,983$).	83
Figure 35 : Voltammogramme d'électrodéposition de PPy [3,3-Co(1,2-C ₂ B ₉ H ₁₁) ₂] sur la surface d'une microélectrode en or.	85
Figure 36 : CV d'électrodéposition de CS-MIPs sur le film du PPy.	86
Figure 37 : Préparation de CS-MIPs/PPy[3,3-Co(1,2-C ₂ B ₉ H ₁₁) ₂]/Au et sa reconnaissance pour le GLY.	87
Figure 38 : EIS de Au nu (a), PPy[3,3-Co (1,2-C ₂ B ₉ H ₁₁) ₂]/Au (b), CS-MIPs / PPy[3,3-Co (1,2-C ₂ B ₉ H ₁₁) ₂]/Au avant extraction de GLY (c), CS-MIPs/PPy[3,3-Co (1,2-C ₂ B ₉ H ₁₁) ₂]/Au après extraction de GLY (d), CS-NIP/PPy[3,3-Co (1,2-C ₂ B ₉ H ₁₁) ₂]/Au (e). Dans le PBS à 5 mM $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$, potentiel initial E = 0,2 V. Freq supérieur = 100 khz, Freq inférieur = 1 Hz.	88
Figure 39 : CV de Au nu (a), PPy[3,3-Co (1,2-C ₂ B ₉ H ₁₁) ₂]/Au (b), CS-MIPs / PPy[3,3-Co (1,2-C ₂ B ₉ H ₁₁) ₂]/Au avant extraction de GLY (c), CS-MIPs/PPy[3,3-Co (1,2-C ₂ B ₉ H ₁₁) ₂]/Au après extraction de GLY (d), CS-NIP/PPy[3,3-Co (1,2-C ₂ B ₉ H ₁₁) ₂]/Au (e). Dans le PBS à 5 mM $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$, de 0 à 0,45 V à une vitesse de balayage de 80 mV/s.	90
Figure 40 : Images MEB. a) Or nu, b) PPy[3,3-Co(1,2-C ₂ B ₉ H ₁₁) ₂]/Au, c) CS-MIPs/PPy[3,3-Co(1,2-C ₂ B ₉ H ₁₁) ₂]/Au, d) CS-NIP/PPy[3,3-Co(1,2-C ₂ B ₉ H ₁₁) ₂]/Au.	91
Figure 41 : EIS des CS-MIPs/PPy[3,3-Co(1,2-C ₂ B ₉ H ₁₁) ₂]/Au dans le PBS à 5 mM $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$. Avant la pré-concentration et après incubation dans différentes concentrations de GLY.	92
Figure 42 : Sensibilité de CS-MIPs/PPy[3,3-Co(1,2-C ₂ B ₉ H ₁₁) ₂]/Au ($\Delta R/R = 0.332 \log [\text{GLY}] - 0.237$; $R^2 = 0.991$) (---) et CS-MIPs/Au ($\Delta R/R = 0.087 \log [\text{GLY}] + 0.673$; $R^2 = 0.991$) (---).	93
Figure 43 : Sélectivité des microcapteurs CS-MIPs/PPy [3,3-Co (1,2-C ₂ B ₉ H ₁₁) ₂]/Au. noir) réponse de CS-MIPs/PPy [3,3-Co (1,2-C ₂ B ₉ H ₁₁) ₂]/Au Au au GLY, rouge) réponse des CS-NIP/PPy [3,3-Co (1,2-C ₂ B ₉ H ₁₁) ₂]/Au au GLY, bleu) réponse de CS-MIPs/PPy [3,3-Co (1,2-C ₂ B ₉ H ₁₁) ₂]/Au au GLU, rose) réponse de CS-MIPs/PPy [3,3-Co (1,2-C ₂ B ₉ H ₁₁) ₂]/Au au CHL, vert) réponse de CS-MIPs/PPy [3,3-Co (1,2-C ₂ B ₉ H ₁₁) ₂]/Au au PHO.	94
Figure 44 : Régénération de CS-MIPs/PPy [3,3-Co (1,2-C ₂ B ₉ H ₁₁) ₂]/Au.	95
Figure 45 : EIE de CS-MIPs/PPy [3,3-Co (1,2-C ₂ B ₉ H ₁₁) ₂]/Au avant et après incubation dans l'eau de rivière.	96

Figure 46 : EIS de CS-MIPs/PPy[3,3-Co(1,2-C ₂ B ₉ H ₁₁) ₂]/Au dans le PBS à 5 mM [Fe(CN) ₆] ^{3-/4-} avant préconcentration et après incubation dans l'eau de rivière avec différentes concentrations de GLY.....	97
Figure 47 : Détection de GLY dans l'eau de rivière en utilisant la méthode d'addition standard avec les concentrations suivantes (0,031 pg/ml, 6,25 pg/ml, 125 pg/ml, 2,5 ng/ml et 50 ng/ml) ($\Delta R/R = 0,316 \log [GLY]$; $R^2 = 0,986$).	98
Figure 48 : CV d'électrodéposition du CMA sur la surface de la microélectrode en or.	100
Figure 49 : Préparation de CS-MIPs/CMA/Au et sa reconnaissance pour le GLY.	102
Figure 50 : EIS d'au nu (a), CS-NIP/CMA/Au (b), CMA/Au (c), CS-MIPs/CMA/Au avant l'extraction du GLY (d), CS-MIPs/CMA/Au après l'extraction du GLY (e). Dans le PBS à 5 mM [Fe(CN) ₆] ^{3-/4-} , E = 0,2 V. Freq = 100 khz-100 mHz.	103
Figure 51 : CV d'au nu (a), CS-NIP/CMA/Au (b), CMA/Au (c), CS-MIPs/CMA/Au avant l'extraction du GLY (d), CS-MIPs/CMA/Au après l'extraction du GLY (e). Dans le PBS à 5 mM [Fe(CN) ₆] ^{3-/4-} , de 0 à 0,45 V avec une vitesse de balayage de 80 mV / s.....	104
Figure 52 : Images de MEB. a) Au nu, b) CMA/Au, c) CS-MIPs/CMA/Au, d) CS-NIPs/CMA/Au.....	105
Figure 53 : Circuit électrique équivalent ($R_s + CPE1/R_{ct1} + CPE2/R_{ct2}$)	106
Figure 54 : EIS de CS-MIPs/CMA/Au dans le PBS à 5 mM [Fe(CN) ₆] ^{3-/4-} avant la préconcentration et après incubation dans différentes concentrations du GLY dans le PBS à 5 mM [Fe(CN) ₆] ^{3-/4-} , E = 0,2 V. Freq = 100 khz-100 mHz.	107
Figure 55 : Sensibilité de CS-MIPs/CMA/Au ($\Delta R / R = 0,206 \log [GLY] - 0,188$, $R^2 = 0,999$) et CS-MIPs/Au ($\Delta R / R = 0,087 \log [GLY] + 0,673$; $R^2 = 0,991$).....	108
Figure 56 : Sélectivité de microcapteurs CS-MIPs/CMA/Au. noir) réponse de CS-MIPs/CMA/Au pour le GLY, rouge) réponse de CS-NIP/CMA/Au pour le GLY, bleu) réponse de CS-MIPs/CMA/Au pour le GLU, rose) réponse de CS-MIPs/CMA/Au pour le CHL, vert) réponse de CS-MIPs/CMA/Au pour le PHO. C1=0,031 pg/mL, C2=6,25 pg/ml, C3=125 pg/ml, C4=2,5 ng/ml et C5=50 ng/ml.	109
Figure 57 : Régénération du microcapteur CS-MIPs/CMA/Au.....	110
Figure 58 : EIE de CS-MIPs/CMA/Au avant et après incubation dans l'eau du Rhône.	111
Figure 59 : EIS de CS-MIPs/CMA/Au dans le PBS à 5 mM [Fe(CN) ₆] ^{3-/4-} pour la détection du GLY en utilisant la méthode des ajouts dosés à différentes concentrations du GLY (0,031 pg/mL, 6,25 pg/ml, 125 pg/ml, 2,5 ng/ml et 50 ng/ml.	111
Figure 60 : Courbe de calibration ($\Delta R/R = 0,20 \log [GLY]$; $R^2 = 0,997$).	112
Figure 61 : a) Diagramme de Nyquist du modèle global d'impédance électrochimique. b) circuit électrique équivalent ($R_s + CPE/(R_{ct} + Z_w)$)	116
Figure 62 : Circuit électrique équivalent composé de deux résistances et des éléments à phase constante ($R_s + CPE/R_{ct}$).....	117
Figure 63 : Schéma de l'algorithme général de programmation.....	120
Figure 64 : EIS expérimentales et théoriques de CS-MIPs/Au dans 5 mM [Fe(CN) ₆] ^{3-/4-} potentiel initial E = 0,2 V. f = 100 khz - 10 Hz. Pour différentes concentrations de GLY (0.31pg/ml, 6.25 pg/ml, 125pg/ml, 2.5ng/ml et 50ng/ml).	121
Figure 65 : Courbes de calibrations CS-MIPs. a) $k^\circ = f(R_{ct})$ pour différentes [GLY], b) $k^\circ = f(\log[GLY])$, c) $R_{ct} = f(\log[GLY])$, d) $Q = f(\log[GLY])$. ([GLU]=0, 0.31pg/ml, 6.25pg/ml, 125pg/ml, 2.5ng/ml, 50ng/ml)	123

Figure 66 : Effet du coefficient n sur la variation de la réponse impédancemétrique du CS-MIPs. a) $-\text{Im}(Z)=f(\text{Re}(Z))$, b) $-\text{Im}(Z)=\log(f)$, c) $\text{Re}(Z)=\log(f)$. Dans 5 mM $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$. $f=100\text{ kHz}-10\text{ Hz}$. $k^\circ=0.001\text{cm/s}$, $A=0.0064\text{cm}^2$, $Q=7*10^{-7}\text{ s}^n\Omega^{-1}$, $T=298\text{K}$, $l=60\mu\text{m}$	124
Figure 67 : Effet de la constante de vitesse k° sur la réponse impédancemétrique du CS-MIPs pour $T=298\text{K}$, $A=0.0064\text{cm}^2$, $Q=7*10^{-7}\text{ s}^n\Omega^{-1}$, $l=60\mu\text{m}$, $n=0.8$ dans 5 mM $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$. $f=100\text{ KHz}-10\text{ Hz}$	125
Figure 68 : Effet du coefficient Q sur la réponse impédancemétrique du CS-MIPs pour $T=298\text{K}$, $A=0.0064\text{cm}^2$, $k^\circ=0.001\text{cm/s}$, $l=60\mu\text{m}$, $n=0.8$ dans 5 mM $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$. $f=100\text{ KHz}-10\text{ Hz}$	126
Figure 69 : Variation de la réponse impédancemétrique du CS-MIPs. a) en fonction de l pour $k^\circ=0.001\text{cm/s}$, $A=0.0064\text{cm}^2$, $Q=7*10^{-7}\text{ s}^n\Omega^{-1}$, $T=298\text{K}$, $n=0.8$, b) en fonction de A pour $k^\circ=0.001\text{cm/s}$, $Q=7*10^{-7}\text{ s}^n\Omega^{-1}$, $T=298\text{K}$, $l=60\mu\text{m}$, $n=0.8$. Dans 5 mM $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$. $f=100\text{ kHz}-10\text{ Hz}$	127
Figure 70 : Variation de la réponse impédance-métrique du CS-MIPs. a) en fonction de la température pour $k^\circ=0.001\text{cm/s}$, $A=0.0064\text{cm}^2$, $Q=7*10^{-7}\text{ s}^n\Omega^{-1}$, $l=60\mu\text{m}$, $n=0.8$, b) en fonction de la concentration du couple $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ pour $k^\circ=0.001\text{cm/s}$, $A=0.0064\text{cm}^2$, $Q=7*10^{-7}\text{ s}^n\Omega^{-1}$, $T=298\text{K}$, $l=60\mu\text{m}$, $n=0.8$. $f=100\text{ kHz}-10\text{ Hz}$	128
Figure 71 : EIS expérimentales de CS-MIPs/Au et de CS-MIPs/PPy/Au.....	129
Figure 72 : EIS expérimentales et théoriques de CS-MIPs/PPy/Au dans 5 mM $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ potentiel initial $E=0,2\text{ V}$. $f=100\text{ kHz}-150\text{ Hz}$. Pour différentes concentrations du GLY (0.31pg/ml, 6.25 pg/ml, 125pg/ml, 2.5ng/ml et 50ng/ml).	130
Figure 73 : Courbes de calibrations CS-MIPs/PPy/Au et CS-MIPs/Au. a) $k^\circ=f(R_{ct})$ pour différentes [GLY]. --- ($k^\circ=-0.014R_{ct}+70.72$; $R^2=0.981$), --- ($k^\circ=-8.14*10^{-4}R_{tc}+16.55$; $R^2=0.995$), b) $k^\circ=f(\log[\text{GLY}])$. --- ($k^\circ=-4.69\log[\text{GLY}]+57.5$; $R^2=0.96$), --- ($k^\circ=-0.446\log[\text{GLY}]+10.5$; $R^2=0.991$), c) $R_{ct}=f(\log[\text{GLY}])$. --- ($R_{ct}=330.6\log[\text{GLY}]+942$; $R^2=0.996$), --- ($R_{tc}=550.27\log[\text{GLY}]+7419.4$; $R^2=0.999$), d) $Q=f(\log[\text{GLY}])$. --- ($Q=-2.029*10^{-7}\log[\text{GLY}]+6.59*10^{-7}$, $R^2=0.979$), --- ($Q=-0.2*10^{-7}\log[\text{GLY}]+6.56*10^{-7}$; $R^2=0.979$). ([GLU]=0, 0.31pg/ml, 6.25pg/ml, 125pg/ml, 2.5ng/ml, 50ng/ml).....	132
Figure 74 : a) EIS du CS-MIPs/CMA/Au. b) circuit électrique équivalent ($R_s+CPE1/R_{ct1}+CPE2/R_{ct2}$).....	133
Figure 75 : EIS expérimentales et théoriques de CS-MIPs/CMA/Au dans 5 mM $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ potentiel initial $E=0,2\text{ V}$. $f=100\text{ kHz}-100\text{ mHz}$. Pour différentes concentrations de GLY (0.31pg/ml, 6.25 pg/ml, 125pg/ml, 2.5ng/ml et 50ng/ml).	136
Figure 76 : Courbes de calibrations CS-MIPs/CMA/Au. a) $k_1^\circ=f(\log[\text{GLY}])$, b) $k_1^\circ=f(R_{ct1})$ pour différentes [GLY], c) $R_{ct1}=f(\log[\text{GLY}])$, d) $Q_1=f(\log[\text{GLY}])$. ([GLY]= 0.31pg/ml, 6.25pg/ml, 125pg/ml, 2.5ng/ml, 50ng/ml).	137
Figure 77 : Courbes de calibrations CS-MIPs/CMA/Au. a) $k_2^\circ=f(\log[\text{GLY}])$, b) $k_2^\circ=f(R_{ct2})$ pour différentes [GLY], c) $R_{ct2}=f(\log[\text{GLY}])$, d) $Q_2=f(\log[\text{GLY}])$. ([GLY]= 0.31pg/ml, 6.25pg/ml, 125pg/ml, 2.5ng/ml, 50ng/ml).	138
Figure 78 : a) Effet du coefficient n_1 sur la variation de la réponse impédancemétrique du CS-MIPs/CMA/Au pour $n_2=0.95$. b) Effet du coefficient n_2 sur la variation de la réponse impédancemétrique du CS-MIPs/CMA/Au pour $n_1=0.8$. Dans 5 mM $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$. $f=100\text{ kHz}-100\text{ mHz}$. $A=0.0064\text{cm}^2$, $T=298\text{K}$, $l=36\mu\text{m}$, $k_1^\circ=5\mu\text{m/s}$, $Q_1=5*10^{-7}\text{ s}^n\Omega^{-1}$, $k_2^\circ=2\mu\text{m/s}$, $Q_2=10^{-5}\text{ s}^n\Omega^{-1}$	141

Figure 79 : Effet de la constante de vitesse k_1° sur la réponse impédancemétrique du CS-MIPs/CMA/Au. Pour $T=298K$, $A=0.0064cm^2$, $l= 60\mu m$, $Q_1=5*10^{-7} s^n \Omega^{-1}$, $n_1= 0.8$, $k_2^\circ=2\mu m/s$, $Q_2=10^{-5} s^n \Omega^{-1}$, $n_2= 0.95$. $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}=5 mM$. $f= 100 KHz -100 mHz$142

Figure 80 : Effet de la constante de vitesse k_2° sur la réponse impédancemétrique du CS-MIPs/CMA/Au. Pour $T=298K$, $A=0.0064cm^2$, $l= 60\mu m$, $k_1^\circ=5\mu m/s$, $Q_1=5*10^{-7}$, $n_1= 0.8s^n \Omega^{-1}$, $Q_2=10^{-5} s^n \Omega^{-1}$, $n_2= 0.95$. $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}=5 mM$. $f= 100 KHz -100 mHz$143

Figure 81 : a) Effet de la constante de vitesse Q_1 sur la réponse impédancemétrique du CS-MIPs/CMA/Au. Pour $Q_2=10^{-5} s^n \Omega^{-1}$. **b)** Effet de la constante de vitesse Q_2 sur la réponse impédancemétrique du CS-MIPs/CMA/Au. Pour $Q_1=5*10^{-7}$. $T=298K$, $A=0.0064cm^2$, $l= 60\mu m$, $k_1^\circ=5\mu m/s$, $n_1= 0.8s^n \Omega^{-1}$, $n_2= 0.95$. $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}=5 mM$. $f= 100 KHz -100 mHz$. 144

Figure 82 : Sensibilité de CS-MIPs/Au ($\Delta R/R = 0.068 \log [GLY] -0.07$; $R^2 = 0.999$) (---), CS-MIPs/PPy/Au ($\Delta R/R = 0.297 \log [GLY] -0.15$; $R^2 = 0.998$) (---) **et de** CS-MIPs/CMA/Au ($\Delta R/R = 0.22 \log [GLY] -0.04$; $R^2 = 0.991$) (---).....148

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Principales caractéristiques physico-chimiques du glyphosate.....	7
Tableau 2 : LOD de GLY avec les techniques d'analyses classiques.....	13
Tableau 3 : Capteurs électrochimiques pour la détection de GLY dans l'eau.....	15
Tableau 4 : Capteurs électrochimiques à base de MIPs pour la détection de GLY dans l'eau	16
Tableau 5 : Principales sources de la chitine.	30
Tableau 6 : Propriétés du chitosane.	36
Tableau 7 : Quelques solutions utilisées pour la solubilisation du chitosane.....	37
Tableau 8 : <i>Capteurs électrochimiques basés sur CS-MIPs</i>	45
Tableau 9 : Paramètres d'ajustement obtenus à partir du circuit équivalent $R_s+CPE/(R_{ct}+Z_w)$ pour les différentes étapes de la modification de l'électrode.	73
Tableau 10 : Valeurs des paramètres des voltammogrammes pour les différentes étapes de la modification de l'électrode.....	74
Tableau 11 : Paramètres d'ajustement de la réponse impédancemétrique du CS-MIPs obtenus à partir du circuit équivalent $R_s+CPE/(R_{ct}+Z_w)$	77
Tableau 12 : comparaison des paramètres analytiques du microcapteur proposé avec d'autres capteurs de la littérature.....	78
Tableau 13 : Paramètres d'ajustement obtenus à partir du circuit équivalent $R_s+CPE/(R_{ct}+Z_w)$ pour les différentes étapes de la modification de l'électrode.	89
Tableau 14 : Valeurs des paramètres des voltammogrammes pour les différentes étapes de la modification de l'électrode.....	90
Tableau 15 : Paramètres d'ajustement obtenus à partir du circuit équivalent $R_s+CPE/(R_{ct}+Z_w)$	92
Tableau 16 : Paramètres de fitting obtenus à partir du circuit équivalent $R_s+CPE1/R_{ct1}+$ $CPE2/R_{ct2}$	107
Tableau 17 : Paramètres et variables utilisés dans la simulation numérique.....	119
Tableau 18 : Différents paramètres du CS-MIPs/Au estimés par le modèle pour différentes concentrations du GLY.....	122
Tableau 19 : Différents paramètres du CS-MIP/PPy/Au estimés par le modèle pour différentes concentrations du GLY.	131
Tableau 20 : Intervalle de variation de différents paramètres.	135
Tableau 21 : Différents paramètres du CS-MIPs/CMA/Au estimés par le modèle pour différentes concentrations du GLY.	140
Tableau 22 : Les performances analytiques de différents micro-capteurs.	147
Tableau 23 : Les paramètres de différents micro-capteurs.....	147

INTRODUCTION GENERALE

Les techniques analytiques conventionnelles (chromatographie, résonance magnétique nucléaire (RMN), spectrométrie de masse (MS), etc.) utilisées pour la surveillance dans différents domaines tels que la médecine, la biologie clinique, l'industrie alimentaire et le contrôle qualité de notre environnement (surveillance industrielle ou rejets domestiques) sont généralement complexes, coûteuses, difficiles et longues à mettre en œuvre et elles nécessitent un personnel hautement qualifié. De plus, ces techniques consistent à prélever des échantillons dans les environnements surveillés et à les analyser en laboratoire. Les étapes de préparation des échantillons, d'incubation et de traitement des résultats augmentent souvent considérablement le temps d'analyse total [1]. Pour réaliser ces analyses, il apparaît nécessaire de mettre en place des techniques sélectives rapides, simples, peu coûteuses et de concevoir des outils de surveillance compacts in situ et en temps réel.

Parmi les dispositifs capables de répondre à cette demande, différents capteurs sont utilisés pour la détection voire la quantification d'un phénomène physique, biologique ou même chimique dans un signal mesurable et directement utilisable par l'homme. Les capteurs électrochimiques sont une alternative prometteuse de par leur simplicité, leur sensibilité, leur facilité de mise en œuvre et leurs coûts de mesure généralement faibles. Mais, aussi pour leurs applications variées dans le domaine de la santé, de l'environnement ou du contrôle qualité des produits alimentaires. Les capteurs électrochimiques sont basés sur différentes techniques électrochimiques: potentiométrie, voltampérométrie, ampérométrie, impédimétrie [2].

La spectroscopie d'impédance électrochimique (EIS) s'est révélée être l'un des outils les plus puissants pour étudier les mécanismes de réactions interfaciales [3]. Les capteurs EIS mesurent la réponse (le courant et sa phase) d'un système électrochimique à un potentiel oscillant en fonction de la fréquence. Cette approche a été utilisée pour étudier une variété de phénomènes électrochimiques sur une large gamme de fréquences [3]. Il est prouvé que la spectroscopie d'impédance permet d'analyser les changements interfaciaux provenant d'événements de reconnaissance à la surface des électrodes [4]. Cette technique offre plusieurs avantages par rapport à la chronoampérométrie et à la voltampérométrie cyclique car les effets de la résistance de la solution, de la charge en double couche et des courants dus à la diffusion ou à d'autres processus se produisant à l'interface peuvent être observés plus explicitement. De plus, la mesure d'impédance ne nécessite pas de réactifs spéciaux [5]. L'EIS permet de mesurer plusieurs réactions électrochimiques qui ont lieu à des taux très différents et fournit une compréhension plus approfondie d'un système électrochimique que toute autre technique électrochimique [6].

Les éléments biologiques (anticorps, enzyme, micro-organisme, ADN, etc.) sont généralement utilisés pour la reconnaissance afin d'augmenter la sensibilité et la spécificité, qui font généralement défaut dans les capteurs chimiques. Cependant, comme ce sont des biomolécules, leur utilisation est limitée à des conditions douces de pH, de température et de nature du milieu afin d'éviter la dénaturation de la protéine. De plus, l'utilisation de ces éléments biologiques n'est pas si simple. Leur approvisionnement et leur immobilisation à la surface des électrodes sont complexes [7,8].

En raison de la nécessité de surmonter ces limitations, une alternative a été développée qui consiste à utiliser des polymères à empreinte moléculaire (MIPs). Les MIPs ont été utilisés comme matériau de reconnaissance spécifique ayant des sites de liaison de taille et de forme complémentaires aux molécules cibles (template). Cette approche a été établie en 1972 par Wulff et Sarhan [9]. Pour générer des MIPs à cavités sélectives, un monomère est simplement polymérisé en présence de la molécule cible et d'un agent de réticulation conduisant à la formation d'un complexe template/monomère hautement réticulé. La formation du complexe a été théoriquement étudiée [10,11]. Ensuite, des cavités spécifiques à la molécule cible ont été obtenues après l'extraction de la matrice du polymère. Les rapports template/monomère et réticulant/monomère jouent un rôle important dans la synthèse des MIPs pour obtenir une meilleure efficacité [12,13]. Les MIPs se caractérisent par des propriétés très intéressantes telles que la résistance physique, la robustesse, la résistance aux hautes pressions et températures et une forte inertie vis-à-vis de divers produits chimiques [14]. De plus, les MIPs ont une affinité et une sélectivité élevées envers les molécules cibles; ils sont comparables aux récepteurs naturels [15]. Les MIPs sont largement utilisés dans divers domaines, tels que la chromatographie liquide, l'électrochromatographie capillaire, l'extraction en phase solide, la thérapie, la préparation d'anticorps et d'enzymes artificiels, les catalyseurs et les capteurs [16,17].

Le choix du monomère fonctionnel dans la synthèse des MIPs est une étape primordiale compte tenu de sa capacité à fournir des interactions complémentaires avec les molécules cibles [18]. Le chitosane (CS) est un polysaccharide naturel obtenu par désacétylation de la chitine qui est le polysaccharide aminé naturel non toxique, biodégradable et biocompatible le plus abondant [19]. Le chitosane a trois types de groupes fonctionnels réactifs, un groupe amine et deux groupes hydroxyle primaires et secondaires. Ainsi, cette structure permet de nombreuses modifications chimiques, et elle peut enchaîner de nombreuses réactions chimiques telles que la réaction avec des aldéhydes et des acétones, le greffage, la liaison H

avec des atomes polaires, la réticulation, etc. Les propriétés fonctionnelles des films de chitosane peuvent être améliorées lorsqu'elles sont combinées avec d'autres matériaux [20]. En raison des charges positives sur ses groupes amine, le biopolymère cationique peut interagir avec des molécules anioniques. Ces propriétés uniques rendent le CS adapté à un large éventail d'applications dans les domaines alimentaire, cosmétique et pharmaceutique, capteurs et biocapteurs [21,22]. La présence de groupes fonctionnels réactifs sur la chaîne polysaccharidique du CS lui confère une flexibilité, excellente capacité filmogène, bonne adhérence, biocompatibilité, haute résistance mécanique, possibilité de subir des modifications structurales, ce qui le rend adapté à la préparation des MIPs et à la construction de capteurs électrochimiques [23,24]. Il est bien connu que le comportement du chitosane peut être affecté par plusieurs paramètres tels que le pH et l'humidité [25,26]. Le traitement du chitosane avec des agents de réticulation ou par modification chimique sont des stratégies courantes pour améliorer ses caractéristiques physico-chimiques [27]. Les propriétés du chitosane ont donc été utilisées pour fabriquer des membranes, des films minces et des structures tridimensionnelles. Ces formes sont obtenues par différentes méthodes telles que l'électrodéposition [28] et le drop-coating [29]. L'électrodéposition est très pratique car c'est une technique simple, rapide et peu coûteuse, mais elle permet également d'obtenir des films contrôlés [30].

L'objectif de cette thèse est la mise en œuvre d'une étude expérimentale et théorique de capteurs pour l'analyse de la pollution aquatique par le glyphosate. Les recherches sont axées sur le développement des capteurs électrochimiques à base du chitosane à empreintes moléculaires pour une détection spécifique et sensible du GLY. Nos travaux explorent ainsi l'objet de recherche à travers trois chapitres.

Dans le premier chapitre, nous exposons brièvement l'état d'art. Premièrement nous parlerons du glyphosate, ses caractéristiques, ses effets sur les êtres vivants et sur l'environnement et les méthodes utilisées pour sa détection. La deuxième partie de ce chapitre décrit le principe des MIPs et les approches utilisées pour les synthétiser en mettant l'accent sur les différents critères de choix des réactifs et les limites de cette technique. De plus, il explique l'avantage d'utiliser le chitosane comme monomère fonctionnel en mettant en évidence ses applications dans les capteurs électrochimiques. Enfin nous donnerons des généralités sur la spectroscopie d'impédance électrochimique et l'intérêt d'utiliser cette technique dans le développement des capteurs électrochimiques.

Le deuxième chapitre consistera à présenter les matériaux, les méthodes et les techniques expérimentales employés tout au long de la thèse. Par la suite, les travaux expérimentaux réalisés sur le développement de trois micro-capteurs impédance-métriques pour la détection du glyphosate dans l'eau seront évoqués.

- Le premier micro-capteur est basé sur l'électrodéposition du chitosane à empreintes moléculaires sur la surface de la microélectrode en or (CS-MIPs/Au).
- Dans le deuxième micro-capteur, un polypyrrole fonctionnel dopé avec de l'anion cobalt bis [3,3-Co(1,2-C₂B₉H₁₁)₂] est utilisé comme une couche de contact conductrice entre la surface de la microélectrode et le chitosane à empreintes moléculaires (CS-MIPs/PPy[3,3-Co(1,2-C₂B₉H₁₁)₂] /Au).
- Le troisième micro-capteur porte sur l'immobilisation covalente du chitosane à empreintes moléculaires sur l'acide 4-aminophénylacétique, plus communément appelé CMA (CS-MIPs/CMA/Au).

Le troisième chapitre est consacré à la présentation de la procédure de modélisation des réponses expérimentales des différents capteurs. Les modèles développés sont ensuite exploités afin de déterminer les corrélations entre les paramètres des spectres d'impédance ainsi que l'effet de chaque paramètre sur le signal de la réponse.

Pour finir, une conclusion générale établit un bilan quant à la problématique initiale. Enfin, d'autres perspectives, issues de ces travaux, sont également présentées.

CHAPITRE 1 : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I Glyphosate

I.1 Généralités

Le glyphosate ou N-(phosphonométhyl) glycine (GLY) est un acide polyprotique. Il appartient à la famille des aminophosphonates. GLY est une molécule qui se distingue par la présence de deux groupements acides, l'un carboxylique ($pK_{a1} = 2,23$), l'autre phosphonique ($pK_{a2} = 5,46$) et un groupe amine ($pK_{a3} = 10,14$) (Fig.1). À un pH inférieur à 2,23, le glyphosate a une charge nette nulle, car le groupe amine porte une charge positive et le groupe phosphonate a déjà une charge négative; dans la gamme de pH 2,23–5,46, le groupe carboxyle se dissocie et la molécule porte une charge négative nette de un. Au-dessus de pH 5,46, le groupe phosphonate perd son deuxième proton, la molécule a alors une charge négative nette de deux. Au-dessus de pH 10,14, l'amine perd son proton et la molécule de glyphosate a alors une charge négative nette de trois [31]. Les caractéristiques physico-chimiques du glyphosate sont présentées dans le tableau 1.

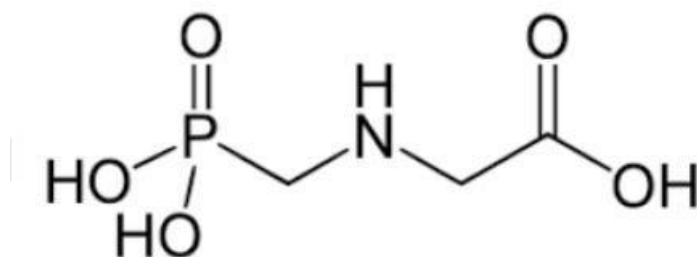


Figure 1: structure chimique du glyphosate.

Tableau 1 : Principales caractéristiques physico-chimiques du glyphosate

Nom chimique	N-(phosphonométhyl) glycine
Formule chimique	$C_3H_8NO_5P$
Famille chimique	Acide aminé
Forme physique	Cristaux solides incolores
Poids moléculaire	169,1 g/mol
Densité	1,74 g/mL
Point de fusion	189,5 C°

Solubilité dans l'eau à 25C°	12 g/L
Tension de vapeur à 25 C°	13,1 µPa
Constante d'Henry à 25 C°	1,41.10 ⁻⁵ mol/L atm
Coefficient de partage octanol-eau de à 25 C	-3,3
Demande Biochimique en Oxygène (DBO)	2 mg/g
Demande Chimique en Oxygène (DCO)	0,53 g/g

Le glyphosate est un herbicide systémique foliaire non sélectif. C'est-à-dire que le principe actif doit pénétrer la plante par ses feuilles pour rejoindre la sève. À partir de celle-ci, il est véhiculé d'un organe à un autre jusqu'aux racines. Il a une action généralisée et détruit la totalité de la végétation sur son lieu d'application [32]. GLY est devenu la molécule phytosanitaire la plus utilisée dans le monde par les professionnels (agriculteurs, collectivités...) ou par les particuliers. Introduit sur le marché dès 1974, il est surtout utilisé comme désherbant en agriculture. Il sert en outre en divers contextes non agricoles comme le domaine forestier et entretien domestique. Comme les valeurs de la demande biochimique en oxygène (DBO) et de la demande chimique en oxygène (DCO) sont respectivement inférieures à 2 mg/g et 0,53 g/g, cette molécule ne peut pas être considérée comme facilement biodégradable [33].

I.2 Mécanisme d'action

Le glyphosate seul est peu efficace car il n'adhère pas aux feuilles et les pénètre difficilement. On lui adjoint donc un tensioactif, pour faciliter sa pénétration. Ce tensioactif, le plus généralement le polyoxyéthylène amine (POEA), a aussi sa toxicité propre. Le mécanisme d'action de cet herbicide est une inhibition de l'enzyme 5-énolpyruvoyl-shikimate-3-phosphate synthase (EPSPS), il bloque ainsi une chaîne de synthèse des acides aminés essentiels aux végétaux tels que la phénylalanine, la tyrosine et le tryptophane, ce qui empêche les plantes de produire certaines protéines nécessaires à leur croissance. Le glyphosate est le seul herbicide qui cible l'enzyme EPSPS, il n'y a donc pas d'analogues ou de classes d'herbicides concurrents [34].

I.3 Contamination des eaux naturelles par le glyphosate

Le glyphosate, qui est une petite molécule avec trois groupes fonctionnels polaires, est fortement absorbé par les minéraux du sol. La sorption augmente avec l'augmentation de la surface spécifique des sorbants et de la température mais diminue avec l'augmentation du pH. Le glyphosate est rapidement adsorbé sur les particules du sol pendant la première heure suivant l'application puis sa vitesse d'adsorption diminue par la suite [35].

La tendance du glyphosate à se volatiliser dans l'atmosphère est faible. Cette forme de composé non volatil est caractérisée par une faible constante de Henry ($1,41 \cdot 10^{-5} \text{ atm} \cdot \text{L} \cdot \text{mol}^{-1}$ à 25 C) [31]. GLY a tendance à se répartir davantage dans l'eau que dans l'air, il est en tête des pesticides retrouvés dans les cours d'eau. Il existe plusieurs voies de contamination des eaux de surface par le glyphosate; principalement par la dérive pendant l'application ou par les ruissellements de surface et souterrain après l'application. Les formes dissoutes et liées aux particules peuvent être déplacées par lessivage à travers le sol (ruissellement souterrain) et par écoulement terrestre (ruissellement de surface). Les ruissellements souterrains se retrouvent dans le drainage et les eaux souterraines, tandis que les ruissellements de surface sont des eaux libres tels que les ruisseaux et les lacs [36].

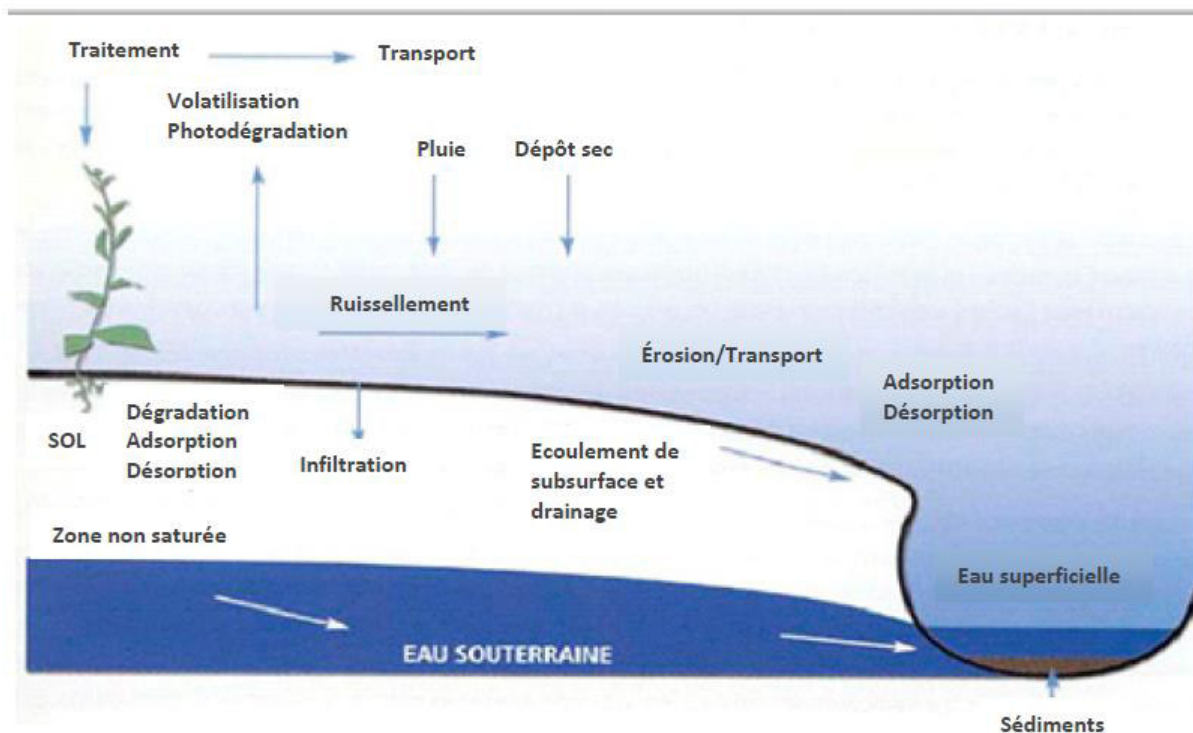


Figure 2 : Modes de transfert du glyphosate du sol à l'eau [37]

Le glyphosate est très soluble dans l'eau (15,7 g/L à 25 C) [31], et a un coefficient de partage octanol-eau très faible de -3,3 à 25 C; par conséquent, il se dissout et se disperse facilement dans les milieux aquatiques. La formulation commerciale du glyphosate utilise des tensioactifs pour augmenter sa solubilité dans l'eau. Cependant, une fois le milieu aqueux atteint, sa demi-vie ($t_{1/2}$) à des concentrations inférieures à 2 g/mL et à pH neutre (7,2) peut varier de 63 jours (eaux peu profondes) à 70 jours (eau de bassin) [38].

La dégradation de la molécule herbicide peut suivre deux voies; la première est basée sur la rupture de la liaison carbone-azote et conduit à la formation d'acide aminométhylphosphonique (AMPA, principal métabolite du glyphosate), tandis que la seconde est basée sur la séparation de la liaison carbone-phosphore, entraînant la formation de sarcosine et de glycine [39]. L'élimination du glyphosate de l'environnement par des mécanismes chimiques est très limitée. La dégradation chimique peut intervenir dans la solution du sol où l'hydrolyse est la réaction la plus fréquente. Elle conduit le plus souvent à des produits intermédiaires polaires et donc plus hydrosolubles que le composé parent. L'impact des facteurs relatifs au milieu sur la dégradation chimique est considérable. Les paramètres généralement considérés dans la littérature sont le pH, l'humidité et dans une moindre mesure la température [40].

Au contact de l'eau, le glyphosate se transforme rapidement en son principal métabolite, l'AMPA, qui conserve toutes les caractéristiques toxiques de son précurseur et est encore plus persistant, avec une demi-vie qui varie de 76 à 240 jours [41]. Le glyphosate est stable dans l'eau à diverses valeurs de pH et de température. Il est également stable à la photodégradation et il présente une faible propension à la décomposition hydrolytique [35].

La dégradation microbienne peut éliminer de manière significative le glyphosate, qui peut être effectué en présence ou en absence d'oxygène. L'efficacité de cette réaction varie considérablement en fonction des caractéristiques du milieu, la température et de la plage de pH. La cinétique de disparition par voie biologique d'un pesticide dans le sol débute presque toujours par une période de latence, plus ou moins longue, au cours de laquelle la dégradation est pratiquement nulle. Elle correspond, soit à une adaptation des microorganismes au nouveau substrat, soit à une multiplication de populations capables de le dégrader [40]. Le temps, estimé en laboratoire, nécessaire pour dégrader 50% du glyphosate présent dans l'eau est inférieur à 14 jours en conditions aérobies et varie de 14 à 22 jours en conditions

anaérobies. Alors que pour le glyphosate présent dans le sol, le temps de dégradation en conditions aérobies est d'environ 2 à 3 jours (temps estimé dans les tests de laboratoire) [33].

I.4 Dangers et risques du glyphosate

I.4.1 Impacts du glyphosate sur les plantes

Le glyphosate n'affecte pas uniquement les mauvaises herbes contre lesquelles on l'utilise, il affecte aussi négativement les plantes non ciblées par le traitement. Parmi ces effets négatifs, on note une réduction de l'absorption des éléments nutritifs du sol comme le manganèse, le zinc et le fer qui sont des éléments connus pour leurs rôles dans les mécanismes de résistance des plantes aux maladies [42].

I.4.2 Impacts du glyphosate sur les animaux et les micro-organismes

De nombreuses études ont été réalisées sur des souris et des rats exposés au glyphosate. Les résultats montrent que la substance provoque des retards de croissance, des lésions rénales, une hypertrophie et une inflammation du foie et des maladies gastriques [43,44]. Le développement des cellules neurales et la croissance des axones des rats ont été altérés après une exposition à une forte dose de glyphosate (4000 mg/L) pendant 24 h [45]. L'exposition chronique de rats au glyphosate dans l'eau potable (0,36%) pendant 60 jours a entraîné un comportement de type dépressif [46]. Dans une autre étude sur l'exposition chronique, des traitements quotidiens de rats vivants avec une faible dose (56 mg/kg) de GLY pour des durées de 5 ou 13 semaines ont entraîné des lésions hépatiques biochimiques et anatomiques [47]. L'exposition à des très faibles doses de GLY (50 ng/L) dans l'eau potable pendant deux ans a causé des dommages au foie et aux reins et diverses tumeurs chez les rats de laboratoire [48]. Enfin, l'application répétée de glyphosate à des doses faibles (5 mg/kg) a affecté négativement la fertilité des rats mâles [49].

Le glyphosate peut provoquer des effets sur les insectes, tels que les abeilles, et sur les oiseaux, pour lesquels l'herbicide est toxique [50]. D'autres études montrent qu'il est la cause de l'augmentation de l'infertilité et des malformations chez les porcs [51]. Le GLY est très toxique pour les larves d'abeilles, les tuant toutes en seulement quelques jours d'exposition [52].

Le glyphosate peut également avoir des effets toxiques sur la santé d'une variété d'animaux dans le réseau alimentaire aquatique, tels que les crustacés, les grenouilles et les poissons. Il

agit en modifiant les fonctions vitales liées à la respiration et à la synthèse des acides aminés aromatiques essentiels [53]. L'application du glyphosate sur une longue période a montré des effets négatifs sur les communautés microbiennes du sol [54]. Des applications expérimentales annuelles sur une période de cinq ans dans une forêt ont provoqué une réduction des biomasses microbienne, fongique et bactérienne [55]. Des effets négatifs du glyphosate ont été démontrés pour diverses espèces de micro-algues et de bactéries aquatiques. Les micro-organismes marins sont sensibles à des concentrations modérément faibles de glyphosate dans l'eau (5,4 à 7,6 mg/L) [56,57].

I.4.3 Impacts du glyphosate sur l'être humain

La relation entre l'utilisation d'herbicides et les effets nocifs sur la santé humaine a fait l'objet de nombreuses études. Bien qu'il y ait encore un débat ouvert sur le sujet, il a été constaté que les niveaux de risque de décès sont généralement plus élevés pour les travailleurs du secteur agricole que pour les autres secteurs. De toute évidence, le risque de ces substances ne peut être limité au seul domaine agricole, car les molécules de pesticides et d'herbicides, dont le glyphosate, sont désormais présentes quasi quotidiennement dans l'environnement humain, en contaminant notamment l'eau, le sol et la nourriture [33].

En mars 2015, le Centre International de Recherche sur le Cancer (CIRC, Lyon, France), un département de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), a classé le glyphosate comme «probablement cancérigène pour l'homme», en l'insérant dans la Catégorie 2A, représentant les substances ayant des preuves limitées de cancérogénicité pour l'homme et des preuves suffisantes pour les animaux [58].

En mai 2016, une réunion conjointe d'experts de l'OMS et de l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (The Food and Agriculture Organization (FAO)) sur les résidus de pesticides dans l'environnement et les aliments, a conclu que «le glyphosate est peu susceptible de présenter un risque cancérigène pour l'homme à travers le régime alimentaire» [59]

Des corrélations ont été trouvées entre une utilisation accrue du glyphosate et une grande variété de maladies humaines, y compris diverses formes de cancer, des lésions rénales et des troubles mentaux (tels que le trouble de déficit de l'attention avec ou sans hyperactivité, l'autisme, la maladie d'Alzheimer et la maladie de Parkinson), des fausses couches et les maladies dermatologiques et respiratoires. Dans d'autres études de laboratoire, l'exposition des

cellules sanguines humaines au glyphosate à des concentrations modérées à élevées (85 à 1690 mg/L) a entraîné des dommages à l'ADN [60].

Les pesticides, tels que le glyphosate, ont été classés comme « substances dangereuses prioritaires » dans la Directive-Cadre Européenne sur l'eau (DCE) # 2000/60 / CE. La DCE propose comme exigence minimale une valeur de normes de qualité environnementale pour les pesticides égale à 0,1 µg/mL [61]. Il existe un intérêt croissant concernant les effets chroniques potentiels du glyphosate lorsqu'ils s'accumulent dans l'environnement [62].

I.5 Techniques d'analyses

Au cours des dernières années, les chercheurs ont exploré de nombreuses approches pour détecter les résidus de glyphosate dans l'eau. Il est essentiel de trouver la méthode la plus appropriée, hautement sensible, sélective et abordable compte tenu des particularités de ce pesticide, de plus la simplicité, la rapidité et le coût de la technique sont des critères aussi importants.

En général, les méthodes analytiques conventionnelles sont courantes dans la détermination du glyphosate, notamment la chromatographie en phase gazeuse (GC), la chromatographie liquide à haute performance (HPLC), la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/MS), la chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC/MS), la chromatographie ionique (IC) et l'électrophorèse capillaire (CE). Il est difficile de détecter les résidus de glyphosate en raison de sa faible solubilité dans les solvants organiques courants, de son évaporation difficile, de sa polarité élevée et de l'absence de chromophores et de fluorophores [63]. Les limites de détection les plus basses (LOD) pour le glyphosate dans l'eau données par ces techniques sont répertoriées dans le tableau 2 [63].

Tableau 2 : LOD de GLY avec les techniques d'analyses classiques

Technique d'analyse	GC	HPLC	GC/MS	LC/MS	IC	CE
LOD	0,5 ng/L	0,05 µg/L	0,3 µg/L	0,06 µg/L	3,2 µg/L	0,005 µg/L

La détection de la fluorescence à l'aide de matériaux à point quantique (QD) a été présentée par différents auteurs pour le dosage du glyphosate. Les points quantiques sont des

nanomatériaux cristallins semi-conducteurs qui ont des propriétés électroniques et optiques uniques. La détection avec les QD est basée sur la sensibilité de leur luminescence. Ainsi, la détection peut résulter d'une interaction (chimique ou physique) avec l'analyte cible qui peut conduire à une amélioration de la photoluminescence ou à une extinction [64]. Les limites de détection obtenues avec cette technique sont de 12 pg/mL [65], de 8 ng/mL [66] et de 12 ng/mL [67].

La méthode colorimétrique a été aussi utilisée pour la détection du GLY. Avec l'avènement de la nanotechnologie, des nanoparticules d'or et d'argent, des nano-fibres et des enzymes sont utilisées pour le développement de capteurs colorimétriques simples et rapides. Le dosage colorimétrique est basé sur le changement de couleur. Les interactions chimiques et moléculaires en présence des analytes cibles sont le principe clé des tests colorimétriques. Ces interactions induisent une agrégation et montrent un changement de couleur qui peut être facilement surveillé à l'œil nu et vérifié par spectroscopie UV-vis et par microscopie électronique à transmission (MET) [68]. Les limites de détection obtenues par cette approche sont de 0,1 µg/mL [69], de 0,17 µg/mL [70] et de 9,94 ng/mL [71].

La détection électrochimique dépend de la mesure d'une quantité électrique, comme le courant, la charge ou le potentiel, due à l'interaction entre l'analyte ciblé et l'électrode de détection. Une cellule électrochimique classique est composée de trois électrodes : une électrode de travail, une contre-électrode et une électrode de référence. La détection électrochimique environnementale est un sujet actuel où plusieurs études se sont concentrées sur le développement de capteurs pouvant cibler des substances pesticides directement sur le terrain tel que le GLY. Différentes méthodes ont été testées et appliquées pour atteindre cet objectif. Le principal défi de la détection électrochimique du glyphosate est sa faible électroactivité sous une fenêtre de potentiel accessible [72]. Par conséquent, afin d'atteindre de faibles concentrations pour la détection du GLY, la technique de l'immobilisation d'anticorps ou d'enzymes, à la surface de l'électrode de travail, présentant une certaine affinité envers le GLY ciblé est utilisée. Les méthodes électrochimiques, le type d'électrodes, les performances analytiques et les conditions de mesure pour la détermination du glyphosate dans l'eau sont résumés dans le tableau 3 [73].

Tableau 3 : Capteurs électrochimiques pour la détection de GLY dans l'eau.

Electrode	Technique	Gamme linéaire	LOD
SPE/Chi/CNO/TYR	Ampérométrie	0.02–10.0 μM	6.50 nM
Au	Ampérométrie	5.9 μM –1.06 mM	1.89 μM
Au-SPE	Ampérométrie	18–300 μM	2.0 μM
HMDE	DPP	0.06–10.4 and 23.6–591.5 μM	0.08 μM
HMDE	DPP	0.20–1.24 μM	0.20 μM
HF-PGE/CuO/MWCNTs– IL	DPV	5.0 nM–1.10 μM	1.30 nM
Cu/GCE	DPV	5.0–60.0 μM	0.19 μM
APNa	SWV	0.59–26.90 μM	0.18 μM

SPE/Chi/CNO/TYR : Electrode sérigraphie/chitosane/nano-oignons de carbone/tyrosinase.

Au : Electrode en or.

Au-SPE : Electrode sérigraphie en or.

HMDE : Electrode à goutte de mercure stationnaire.

HF-PGE/CuO/MWCNTs–IL : Electrode en graphite à fibres creuses-crayon/oxyde de cuivre/liquide ionique à nanotubes de carbone à parois multiples.

Cu/GCE : Cu/électrode de carbone vitreux.

APNa : Peroxydase d'Atemoya immobilisée sur de la nano-argile modifiée

CA : Ampérométrie.

DPP : Polarographie différentielle d'impulsion.

DPV : Voltampérométrie différentielle à impulsions.

SWV : Voltampérométrie à onde carrée.

La technique basée sur les polymères à empreintes moléculaires (MIPs) est largement exploitée pour la détection du GLY (description détaillée dans la section I-3). Les capteurs à base de MIPs pour la détection de GLY rapportés dans la littérature sont résumés dans le tableau 4.

Le glyphosate dans l'eau et dans d'autres fluides aqueux a été également analysé par d'autres techniques tels que: la chromatographie liquide à haute performance (HPLC) couplée à un détecteur de fluorescence, à un spectrophotomètre ultraviolet, ou encore à un détecteur électrochimique; la détection de diffusion de lumière de nucléation par condensation; le dosage immuno-enzymatique; un système d'injection de flux avec détection d'électrochimoluminescence ; ou la spectrophotométrie en solution [74].

Tableau 4 : Capteurs électrochimiques à base de MIPs pour la détection de GLY dans l'eau

Electrode	Polymère	Technique	Gamme linéaire	LOD	Réf
MIPs-GNPs-PGE	MCA	DPASV	3.98–0.54 ng/mL	0.35 ng/mL	[61]
MIPs-Au	PPy	SWV	0.017 pg/mL– 1.69 ng/mL	0.17 pg/mL	[75]
MIPs-PB-HAuCl ₄ -IOT	PPy	DPV	400–1200 ng/mL	92 ng/mL	[76]

MIPs : Polymère à empreintes moléculaires.

GNPs- PGE : Nanoparticules d'or- électrode crayon graphite.

PB-HAuCl₄ –IOT : Bleu de Prusse - nanoparticules d'or - Verre indium/oxyde d'étain.

Au : Electrode en or.

MCA : N-méthacryloyl-L-cystéine.

PPy : Polypyrrole.

DPASV : Voltampérométrie à stripage anodique à impulsion différentielle.

SWV : Voltammogramme à onde carrée.

DPV : Voltampérométrie différentielle à impulsions.

Conclusion

L'utilisation massive et sans précautions particulière du GLY dans la production agricole soulève de nombreuses questions concernant la pollution de l'environnement et les risques pour la santé. Le GLY est transporté loin de la zone d'épandage par l'air et par ruissellement des eaux, contaminant ainsi les eaux souterraines, les rivières et le sol. De nombreuses études ont montré les effets toxicologiques possibles du GLY sur l'homme et les animaux. Ces effets peuvent se produire par la consommation de l'eau potable et de produits agricoles contaminés. Par conséquent, la surveillance de la concentration du GLY dans des échantillons biologiques et environnementaux est d'une grande importance.

II Polymère à empreintes moléculaires (MIPs)

II.1 Principes fondamentaux de la synthèse et de la caractérisation des polymères à empreintes moléculaires

II.1.1 Principe général des MIPs

La technique d'impression moléculaire illustrée sur la figure 3 permet de préparer des polymères capables de reconnaître sélectivement une ou des molécules choisies communément appelées molécule (s) cible (s) ou template (s).

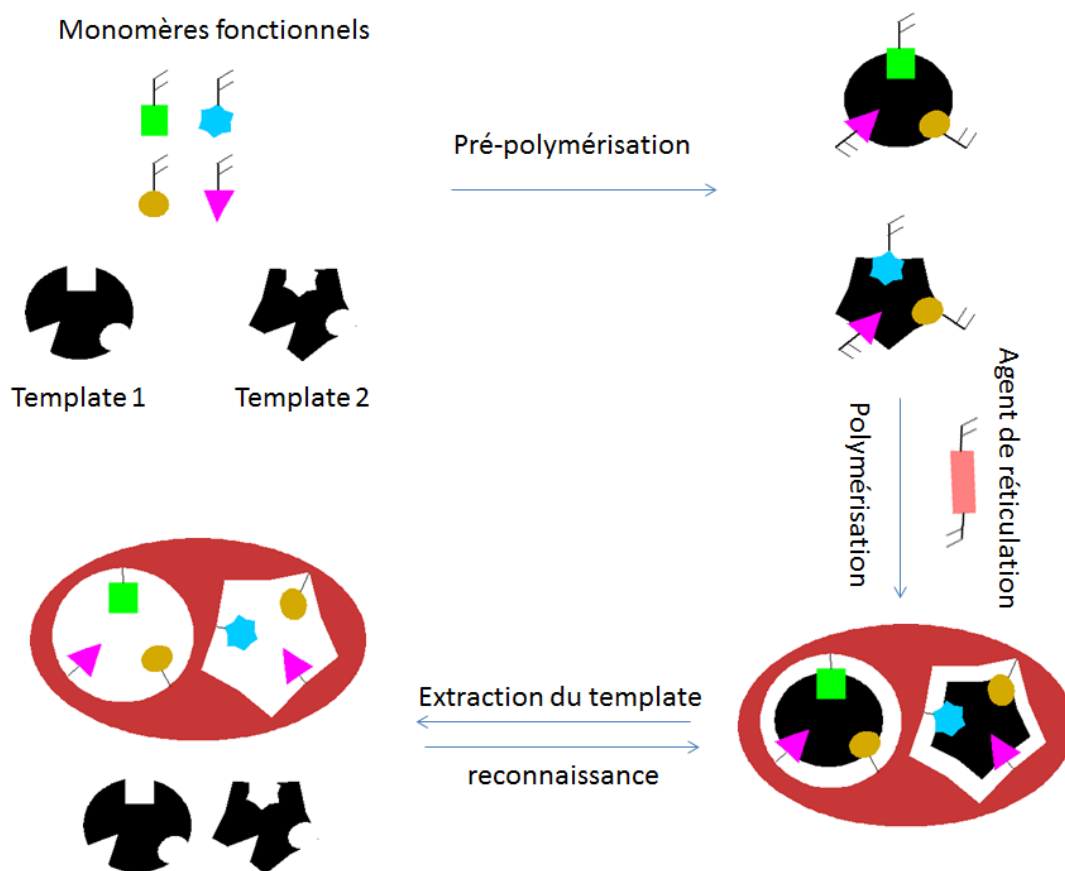


Figure 3 : Schéma de MIPs pour deux templates différents.

Le polymère à empreinte moléculaire (MIPs) est un récepteur artificiel préparé avec un template (molécule cible), un monomère fonctionnel et un agent de réticulation. Le monomère fonctionnel interagit avec le template formant un complexe appelé « complexe de pré-polymérisation ». En présence d'un agent réticulant, le complexe est copolymérisé afin d'obtenir un polymère réticulé. Après la polymérisation, les groupes de polymères fonctionnels sont maintenus en position. La dernière étape consiste alors à extraire les molécules cibles du polymère. Les molécules de matrice sont extraites électrochimiquement

ou chimiquement en cassant les interactions entre le template et les polymères. En conséquence, des matériaux polymères synthétiques avec des sites de reconnaissance spécifiques complémentaires en forme, taille et groupes fonctionnels à la molécule cible sont formés, impliquant un mécanisme d'interaction basé sur la reconnaissance moléculaire.

II.1.2 Paramètres de synthèse des MIPs

b. Template

Le choix du template lors de la synthèse de MIPs est d'une importance majeure, ce template doit former avec le monomère le plus grand nombre de sites spécifiques et bien définis. Le succès des MIPs est déterminé par la capacité du template à établir des liens avec le monomère fonctionnel. Idéalement, ces interactions devraient être fortes pour assurer une meilleure efficacité. Dans la plupart des études, la molécule d'intérêt est considérée comme un modèle. Cependant, pour certaines raisons telles que la rareté, le prix élevé, la toxicité, la difficulté de manipulation, la molécule cible est remplacée par une molécule qui est structurellement et chimiquement analogue lors de la synthèse. Par exemple, utiliser le 2,4-dinitrotoluène (2,4-DNT) pour former des sites spécifiques pour l'analyse des muscs nitrés, en effet le 2,4-DNT a une structure similaire aux muscs nitrés [77]. Cependant, il faut être conscient des inconvénients de l'utilisation d'un modèle avec une structure similaire à l'analyte pour surmonter le problème de la spécificité. Il faut cependant vérifier que la matrice n'interfère pas dans la quantification [78].

Pour choisir le template à utiliser il est nécessaire de prendre en compte sa structure et ses groupements fonctionnels qui permettent de former des liaisons avec le monomère tout au long du processus de formation du complexe matrice/monomère fonctionnel. Il doit être chimiquement inerte et stable dans les conditions de polymérisation et il ne doit comporter ni groupements polymérisables pour éviter les réactions radicalaires, ni fonctions inhibitrices de la polymérisation [79,80].

De même, la taille du template joue un rôle dans la spécificité des cavités formées lors de l'impression. En effet, pour un template de haut poids moléculaire, il existe un risque que les petites molécules pénètrent à l'intérieur des cavités développant des interactions non spécifiques [81]. Les modèles plus grands sont moins rigides et ne facilitent pas la création de cavités bien définies. De plus, les grosses molécules telles que les peptides et les protéines ne pénètrent pas facilement dans le réseau polymérique pour la nouvelle occupation des cavités

[82]. L'impression de petites molécules comme les pesticides ou encore les produits pharmaceutiques est bien établie dans la synthèse des MIPs et considérée comme routinière. L'impression de structures beaucoup plus grandes reste quant à elle un défi.

c. Monomère fonctionnel

Le choix du monomère fonctionnel est également très important compte tenu de sa capacité à fournir des interactions complémentaires avec le template afin d'obtenir des complexes et empreintes plus stables avec la meilleure efficacité possible. Le monomère est choisi en fonction des propriétés physico-chimiques du modèle utilisé pour déterminer les interactions impliquées. Il doit pouvoir interagir avec le modèle par le biais d'interactions covalentes ou non covalentes. Le mécanisme général de formation des sites de liaison MIPs nécessite un choix prudent afin d'avoir une forte intensité des interactions impliquées [83]. La nature du monomère et de la molécule cible détermine la qualité et les performances des MIPs. Le coût et la disponibilité du monomère sont également d'autres critères à considérer.

Les monomères fonctionnels fréquemment utilisés sont le méthacrylate de glycidyle (GMA) et le méthacrylate de méthyle (MAA) [84], le N-isopropylacrylamide (PNIPAM) [85], le pyrrole (PPy) [75], l'acide trifluorométhyl acrilique (TFMAA), le 1-vinylimidazole (1-VI), le 4-vinylpyridine (4-VPY), le 2-vinylpyridine (2-VPY), l'acide 2-acrylamido-2-méthylpropane sulfonique, l'acrylamide, le 2-hydroxyéthylméthacrylate (HEMA) [86] et le chitosane (CS) [87,88].

d. Agent de réticulation

La réticulation est une étape clé dans la synthèse des MIPs. Le type d'agent de réticulation et sa proportion par rapport à la quantité de monomère fonctionnel sont importants pour contrôler la morphologie de la matrice polymère et la sélectivité des cavités formées après l'extraction du template de la matrice. L'agent de réticulation permet donc:

- ✓ Un contrôle précis de l'impression du template.
- ✓ D'apporter des interactions complémentaires avec la cible.
- ✓ La stabilité mécanique des empreintes obtenues et du polymère.
- ✓ La formation d'une matrice rigide, résistante aux températures et pressions élevées et inerte vis-à-vis des acides et des bases [89].

Pour les MIPs synthétisé dans un solvant polaire, il est important de choisir un réticulant hydrophile pour faciliter le contact avec la surface du polymère. De plus, les MIPs réticulés avec un agent hydrophobe restent instables dans les milieux aqueux.

e. Solvant porogène

Le solvant porogène joue un rôle important dans la formation de la structure poreuse des MIPs (morphologie, taille des pores, nombre de pores) [90]. La précision de l'assemblage entre le modèle et le monomère est liée aux caractéristiques physico-chimiques du solvant, car elles déterminent la nature et la force des interactions entre les monomères fonctionnels et le template lors de la phase de pré-complexation. La sélectivité dans les MIPs dépend d'une porosité particulière, le solvant porogène a tendance à former des pores et des matériaux avec des surfaces spécifiques plus importantes. Ainsi, des liaisons fortes peuvent avoir lieu dans des complexes formés [91,92]. Les pores doivent être relativement grands pour permettre à la molécule cible de pénétrer et d'être libérée du polymère facilement.

Habituellement, les solvants utilisés pour la synthèse des MIPs sont: l'éthanol, le méthanol, le chloroforme, l'acétonitrile, le tétrahydrofurane (THF), le dichlorométhane, le N, N-diméthylformamide (DMF), le toluène et l'eau [93]. Le solvant est choisi en fonction de sa capacité à solubiliser suffisamment les réactifs de polymérisation, et il ne doit pas y avoir d'interactions compétitives avec le complexe template/monomère fonctionnel. Lors des interactions non covalentes entre le monomère fonctionnel et le modèle, le solvant doit avoir une faible polarité et être aprotique, comme le sont le toluène, le chloroforme, le dichlorométhane, pour limiter les interactions avec le complexe pré-polymérisé et favoriser sa stabilité. En revanche, les solvants polaires comme l'eau et le méthanol donnent de meilleurs résultats si les interactions entre le monomère et le template sont de type hydrophobe [94].

Pour la préparation de MIPs sous forme de films minces, un solvant de faible volatilité est nécessaire pour limiter le phénomène d'évaporation lors du dépôt, ce qui empêche la formation de pores dans les membranes.

II.1.3 Modes de polymérisation

Il existe deux principaux modes de polymérisation: la polycondensation et la polymérisation en chaîne.

a. Polycondensation

La polycondensation est une polymérisation par étapes. Chaque étape est une réaction de condensation dans laquelle les monomères avec deux ou plusieurs groupes fonctionnels réagissent pour former des polymères à longue chaîne. Cette opération se fait soit par addition de monomères soit par addition d'oligomères avec élimination de petites molécules, des sous-produits telles que H₂O, HCl, NH₃ ou CH₃OH. Cette polymérisation est longue et peut durer plusieurs heures. Ce mode de polymérisation est moins utilisé dans les synthèses des MIPs. En effet les petites molécules formées peuvent interagir avec le complexe pré-polymérisé.

b. Polymérisation en chaîne

Dans ce mode de polymérisation, les monomères activés peuvent s'additionner pour former un polymère à longue chaîne rapidement. Les réactions en chaîne se déroulent en 3 étapes principales:

- **Initiation:** elle conduit à la formation du premier centre actif, qui se fait thermiquement ou photochimiquement sous l'action des rayons UV. Les centres actifs peuvent être des anions ou des cations (polymérisation ionique), ou des radicaux (polymérisation radicalaire).
- **Propagation:** pendant laquelle les macromolécules s'additionnent. Le résultat de cette étape est un mélange de chaînes polymères à haut poids moléculaire.
- **Terminaison:** elle correspond à l'arrêt de la croissance de la chaîne par désactivation du site actif soit par la combinaison de deux macro-radicaux pour former une macro-chaîne, soit par dismutation en créant une double liaison sur un macro-radical et une liaison hydrogène sur l'autre.

Les polymères à empreintes moléculaires sont généralement préparés par polymérisation en chaîne. Plus simple à mettre en œuvre du point de vue des conditions expérimentales et du choix du monomère, elle tolère la présence d'autres molécules comme le template.

II.1.4 Extraction du template

Après la polymérisation, la dernière étape du processus de MIPs consiste à extraire les molécules cibles du polymère. L'extraction du modèle imprimé est une étape importante dans la fabrication des MIPs. Pour cela, de nombreux protocoles ont été établis. Le choix du mode

opérateur doit tenir compte de l'efficacité de l'extraction tout en maintenant la structure sans provoquer de dégradation de la matrice.

Les templates sont retirés des MIPs par extraction électrochimique ou chimique permettant la perturbation des interactions du complexe de prépolymérisation. En effet, les interactions non covalentes telles que les interactions hydrogène peuvent être "cassées" par lavage avec des avec du méthanol, du méthanol/acide acétique, ou dans des solutions aqueuses d'un acide ou d'une base, ce lavage permet de retirer le template du polymère [79].

Cependant, cette étape ne conduit pas à une extraction complète du template du polymère, plus de 1% du modèle utilisé lors de la synthèse des MIPs reste lié au polymère même après un lavage intensif [95]. En conséquence, non seulement une diminution des résultats des sites actifs, mais également de grandes erreurs de dosage peuvent alors se produire en raison de la libération lente des molécules restantes lors de l'utilisation des MIPs [78].

II.1.5 Différentes approches pour développer les MIPs

La formation du complexe template/monomère fonctionnel est l'étape clé de la synthèse des MIPs. Différentes approches peuvent être mises en œuvre, elles diffèrent par la nature des interactions entre le monomère fonctionnel et la molécule d'intérêt conduisant à la formation de ce complexe. Il s'agit de l'approche non covalente, de l'approche semi-covalente et de l'approche covalente.

a. Approche non covalente

L'approche non covalente est basée sur la formation d'interactions non covalentes relativement faibles entre le template et les monomères sélectionnés pendant la polymérisation, également pendant la phase de reconnaissance. Les types d'interactions qui ont été exploités sont les interactions ioniques, les liaisons hydrogène, les liaisons de Van der Waals, les interactions π - π et les interactions hydrophobes [96]. Les interactions des monomères fonctionnels avec le template sont régies par un équilibre d'association/dissociation. Cette association et cette dissociation ont lieu sans nécessiter de liaisons covalentes. La molécule cible diffuse simplement dans et hors des sites complémentaires. Cette approche a été plus utilisée pour la préparation des MIPs car les interactions entre monomères et le template sont facilement obtenues lorsque tous les composants sont mélangés en solution. L'approche non covalente est avantageuse en raison du grand nombre de composés, y compris des composés biologiques, qui sont capables de former

des liaisons non covalentes avec des monomères fonctionnels [90,97]. Le choix du monomère fonctionnel, à l'origine des interactions entre la molécule cible et le polymère, est fondamental dans cette approche. Une meilleure impression est obtenue lorsque plusieurs combinaisons de complexe template/monomère dans le mélange de pré-polymérisation sont possibles.

Les limites de cette approche conduisent à une répartition hétérogène des sites complémentaires, répartition qui dépend fortement de la polarité du solvant. Le plus souvent, la formation d'interactions entre les monomères et le modèle est stabilisée dans des environnements hydrophobes, tandis que les environnements polaires les perturbent facilement. Une autre limitation est que certaines templates sont caractérisées par un seul groupe réactif tel qu'un carboxyle isolé, mais cette approche nécessite plusieurs points d'interaction distincts. Dans ce cas, les propriétés de reconnaissance de la matrice ont peu d'intérêt pour les applications pratiques [82].

b. Approche covalente

L'approche covalente implique la formation de liaisons covalentes irréversibles entre le template et les monomères, ce qui conduit à une stabilité élevée des complexes formés et à une population homogène de sites de liaison, minimisant ainsi l'existence de sites non spécifiques. Elle permet la création de cavités mieux définies par rapport à l'approche non covalente car la molécule imprimée est plus fortement liée aux monomères. Le template est extrait par clivage de ces liaisons covalentes, généralement par hydrolyse acide. Cette extraction laissera des sites dotés de fonctionnalités capables de reconnaître la molécule cible en rétablissant la liaison covalente [82]. Du fait de la stabilité des liaisons covalentes, une bonne homogénéité des sites de reconnaissance est obtenue avec une affinité élevée pour la molécule imprimée, ce qui limite le nombre de sites de faible affinité responsables d'interactions non spécifiques. Il en résulte également une meilleure efficacité d'impression en nombre de sites spécifiques par rapport au rapport monomère fonctionnel/template utilisé [98,99]. La difficulté de cette approche, en plus d'être moins simple à mettre en œuvre, est que seuls les composés avec des groupes fonctionnels spécifiques sont utilisés. Les types de groupes fonctionnels les plus courants sont les esters, les alcools, les aldéhydes, les cétones, les amines ou les acides carboxyliques [100,101]. La cinétique de formation des complexes template/monomère est plus lente, donc les liaisons covalentes nécessitent un temps plus long pour s'établir [102].

c. Approche semi-covalente

Afin de bénéficier des avantages des deux techniques précédentes, une troisième approche alternative dite "semi-covalente" a été développée. L'approche semi-covalente reprend le principe de l'approche covalente [97]. La formation préalable d'un complexe de pré-polymérisation se fait par interactions covalentes. Après extraction de la matrice, la reconnaissance moléculaire a lieu via des interactions non covalentes. Cependant, cette technique reste rarement utilisée pour synthétiser les MIPs car l'approche semi-covalente peut être sujette à une interaction non spécifique lors de la réabsorption [103,104].

II.1.6 Optimisation des rapports template/monomère fonctionnel et réticulant/monomère fonctionnel

La formation des liaisons et la sélectivité des MIP dépendent des rapports template/monomère fonctionnel (T/M) et réticulant/monomère fonctionnel (X/M). Les rapports T/M et X/M présentent des optimums pour de meilleures performances des MIPs de manière à obtenir plus d'interaction entre le monomère fonctionnel, le template et l'agent de réticulation. Par conséquent, il est préférable d'optimiser les deux rapports.

a. Rapport réticulant/monomère fonctionnel

L'étape de réticulation dans la synthèse des MIPs présente un optimum pour lequel la matrice polymère est suffisamment régulière ce qui maintient une meilleure efficacité de l'empreinte. Dans le cas des MIPs non covalents, un excès de monomère fonctionnel par rapport à l'agent de réticulation limite la quantité de polymère réticulé qui peut diminuer l'efficacité des MIPs. Cependant, selon les études fournies, un pourcentage X/M de 50% à 80%, selon le monomère fonctionnel utilisé, peut être considéré comme optimal. Pour l'approche covalente, l'efficacité des MIPs est meilleure pour une quantité maximale de l'agent de réticulation [105].

b. Rapport template/monomère fonctionnel

Pour une empreinte moléculaire covalente, les monomères fonctionnels sont fixés stoechiométriquement. L'ajout du template et des monomères fonctionnels en quantité stoechiométrique permet d'obtenir une bonne efficacité et homogénéité des sites spécifiques.

Dans les MIPs non covalents, une grande quantité de monomères pourrait conduire à une augmentation des interactions non spécifiques tandis qu'une trop petite quantité entraînerait une diminution du nombre de sites de reconnaissance spécifiques. De plus, un excès du

template, reflété notamment par la présence aléatoire de sites non entièrement imprimés est caractérisé par une complémentarité partielle de la molécule cible et responsable d'interactions non spécifiques. Le rapport T/M doit être inférieur à 1 pour favoriser la formation du complexe. Selon la littérature, le rapport T/M dans une plage d'environ 0,5 à 0,25 selon le modèle utilisé a montré de meilleures performances pour les MIPs non covalents [106,107].

II.1.7 Formes physiques des MIPs

Les formats des MIPs peuvent varier en fonction du processus de polymérisation. Le choix de la forme physique des MIPs est avant tout dicté par son application future.

Les MIPs sous forme de monolithes sont préparés par polymérisation en masse. Ce type de polymérisation conduit à des formes irrégulières et présente une distribution de taille importante, ce qui les rend souvent inutilisables pour certaines applications [108]. Le polymère solide obtenu est généralement broyé et tamisé pour obtenir des particules de taille appropriée. Les méthodes de préparation couramment utilisées pour obtenir des particules de différentes tailles sont la polymérisation en suspension [109], la polymérisation en émulsion [110], la polymérisation en dispersion/précipitation [111].

La taille des particules obtenues par précipitation/émulsion est de quelques centaines de nanomètres. La polymérisation en mini-émulsion permet la synthèse de nanoparticules des MIPs avec des tailles allant jusqu'à 50 nanomètres. La taille des particules peut être ajustée par plusieurs paramètres tels que le type de solvant et d'agent de réticulation, la concentration, le rapport entre les composés appliqués, l'agitation et la température [112].

Les MIPs sous forme d'hydrogel sont des polymères hydrophiles utilisés avec des templates hydrophiles tels que des ions, des molécules de bas poids moléculaire, des protéines ou des fragments d'ADN [113]. Les MIPs-hydrogels sont suffisamment flexibles grâce à un taux de réticulation inférieur à 13% [114].

Les MIPs peuvent également se présenter sous la forme d'un film ou d'une membrane. Ces formes sont obtenues soit par:

- ✓ Un dépôt des MIPs synthétisés sous forme de particules sur une matrice support puis formation de film par évaporation ou traitement thermique. Les particules de MIPs sont mélangées avec un liant tel que de la pâte de carbone, et puis imprimées sur

support. Ou alors utiliser une force centrifuge pour répartir uniformément les MIPs sur le support. Ces trois techniques sont respectivement appelées drop-coating, sérigraphie et spin-coating [115].

- ✓ Polymérisation in situ où les MIPs sont directement synthétisés à la surface de la matrice support [116].
- ✓ L'électropolymérisation de la solution de pré-polymérisation sur un transducteur permet la formation de films de polymère ultrafin à la surface de l'électrode. Il s'agit en particulier d'une approche très intéressante pour le développement de capteurs électrochimiques.

II.1.8 Avantages des MIPs

Les polymères à empreintes moléculaires sont souvent comparés aux systèmes naturels tels que les anticorps et les enzymes. Les MIPs ont une bonne résistance physique, une bonne robustesse, une bonne résistance à la pression et à la température et une inertie envers divers produits chimiques (solvants organiques, acides, bases et ions métalliques) par rapport aux éléments biologiques tels que les protéines et les acides nucléiques [117,118]. La synthèse des MIPs est également reproductible, facile et peu coûteuse avec un temps de préparation court. Cela en fait une alternative claire à l'utilisation de récepteurs naturels. L'impression moléculaire peut être appliquée à un large éventail de molécules cibles telles que les médicaments, les herbicides, les sucres, les nucléotides, les acides aminés et les protéines. Les MIPs ont une spécificité et une affinité importantes pour les templates [119]. Une fois préparés, les MIPs ont une durée de conservation assez longue supérieure à celle des éléments biologiques, et être stockés dans des conditions ambiantes [86].

Comme indiqué précédemment, les MIPs ont également des limites telles que:

- ✓ Répartition hétérogène des sites actifs pour les MIPs non covalents.
- ✓ Exiger de grandes quantités de templates.
- ✓ Difficultés et interférences liées à l'impression de grosses molécules.
- ✓ Extraction partielle des templates.

II.1.9 Principales applications des MIPs

Les propriétés importantes des MIPs ainsi que leurs différentes synthèses possibles en ont fait un outil très intéressant pour un large éventail d'applications potentielles. Les MIPs sont répandus dans le domaine de la séparation. Les nanomatériaux imprimés ont été utilisés

comme adsorbants sélectifs à l'intérieur des colonnes de séparation permettant une purification efficace de l'échantillon tels que la chromatographie liquide à haute performance (HPLC), l'électrochromatographie capillaire (CEC) [120], l'extraction en phase solide [121] et l'électrophorèse capillaire (CE) [122].

Divers MIPs ont été développés et appliqués pour l'extraction sélective d'une variété de contaminants; pesticides résiduels, médicaments, colorants organiques, polluants organiques persistants ; ainsi que dans les matrices alimentaires et environnementales telles que la viande, le lait, les œufs, les fruits et légumes, l'eau potable, l'eau des lacs et des rivières, l'eau de mer [123].

Les anticorps ont une structure tridimensionnelle avec une spécificité vis-à-vis d'antigènes spécifiques. Les MIPs ont été utilisés pour remplacer les anticorps soit en imitant leurs fonctions, soit en copiant leurs structures réelles. La première approche consiste à imprimer sur les MIPs la structure des antigènes pour une reconnaissance spécifique [124]. Dans la deuxième approche, les MIPs ont été utilisés comme étape intermédiaire. Initialement la structure des anticorps naturels a été imprimée sur un polymère approprié, puis les empreintes spécifiques obtenues ont été utilisées comme des moules pour produire des anticorps artificiels avec la même spécificité que les anticorps naturels [125].

La technologie d'impression moléculaire a un énorme potentiel pour des applications thérapeutiques. L'utilisation des MIPs dans ce domaine fait l'objet d'une attention croissante. Certains MIPs sont en effet été utilisés comme moyen de contrôle du moment, de la vitesse et du site de libération du médicament, c'est-à-dire une distribution programmée et modulée des médicaments [126]. Un autre défi dans ce domaine concerne le piégeage des substances indésirables. Il existe une très longue liste de substances, incluses dans le corps humain, qui peuvent provoquer ou aggraver certaines maladies telles que les sucres, le cholestérol, etc. En particulier, les MIPs ont été synthétisés pour piéger certaines substances [127].

Les MIPs peuvent également être utilisés dans le domaine de la synthèse et de la catalyse. En plus de la création de sites sélectifs pour le substrat, il est nécessaire d'introduire des groupes chimiquement actifs à des positions appropriées dans ces sites. Les MIPs peuvent être utilisés comme réactifs, agents auxiliaires ou pour masquer les produits indésirables de la réaction permettant de diriger le procédé. De plus, les matrices imprimées ont été utilisées pour des applications catalytiques. Les MIPs agissent comme de véritables catalyseurs qui ne sont pas consommés lors de la réaction [128].

Les différentes propriétés des polymères à empreinte moléculaire représentent un avantage majeur pour la conception des capteurs. Ces dernières années, les capteurs à base des MIPs ont fait l'objet d'un intérêt croissant dans le domaine de la chimie analytique. Les capteurs basés sur les MIPs pourraient fournir une alternative aux biocapteurs. Cette technique évoluera pour concurrencer efficacement les systèmes biologiques pour les applications d'analyses industrielles, médicales et environnementales [129]. À ce jour, les polymères à empreinte moléculaire ont été utilisés avec succès, en tant que phase de reconnaissance, dans des capteurs utilisant différentes technologies de détection telles que les capteurs de fluorescence, optiques, colorimétriques ou électrochimiques [130].

II.2 Chitosane à empreintes moléculaires (CS-MIPs)

II.2.1 Chitine

II.2.1.1 Structure et sources

La chitine est le deuxième biopolymère le plus abondant dans la nature après la cellulose, identifié pour la première fois en 1884 [132]. La structure chimique de la chitine se compose d'unités N-acétylglucosamine. La structure physique de la chitine comprend trois allomorphes en raison de la disposition des chaînes macromoléculaires, α , β et γ -chitine. L' α -chitine est l'un des allomorphes les plus abondants dans lesquels les chaînes de polymère sont disposées dans la même direction et parallèlement. La β -chitine est moins fréquente dans la nature avec des chaînes antiparallèles. La γ -chitine, selon les études, est une variante de la famille α ou β -chitine (Fig.4) [131].

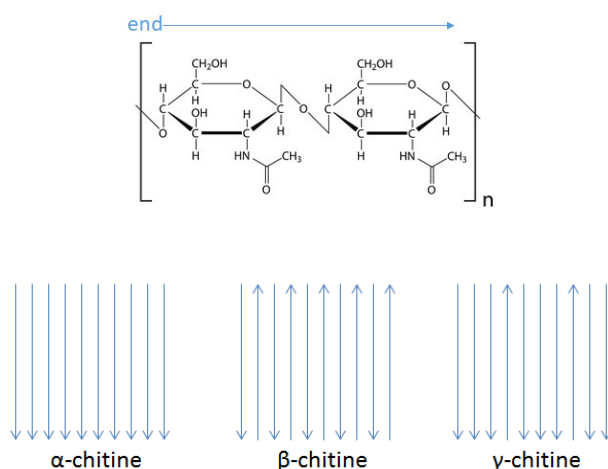


Figure 4 : Types d'allomorphes de la chitine.

La chitine est présente dans les coproduits sous forme de complexe chitine-protéines-carbonate de calcium [132]. La chitine peut être obtenue de diverses sources (tableau 5), elle se trouve principalement dans les exosquelettes, les mollusques et divers micro-organismes [132–134].

Tableau 5 : Principales sources de la chitine.

α -chitine	β -chitine
<p>Champignon, parois cellulaires de levure, krill, homard, crabe, tendons, coquilles de crevettes, cuticule d'insectes.</p> <p>Formé par: recristallisation dans une solution de chitine, biosynthèse in vitro, polymérisation enzymatique.</p>	<p>Stylos à calmar, tube synthétisé par Pogonophoran et vers vestimentifera, lorica construit par certaines algues</p>

II.2.1.2 Extraction de la chitine

Habituellement, il existe deux types de processus d'extraction de la chitine: chimique et biologique (Fig.5). L'extraction chimique est basée sur trois étapes, entre ces différentes étapes, des opérations de lavage sont nécessaires [131].

- ✓ Déminéralisation: par l'acide chlorhydrique pour éliminer les minéraux. Cela consiste à éliminer le carbonate de calcium et le chlorure de calcium.
- ✓ Déprotéinisation: par l'hydroxyde de sodium pour éliminer les protéines.
- ✓ Blanchiment: par hypochlorite de sodium pour éliminer les pigments.

Les traitements biologiques offrent une autre façon d'extraire de la chitine pour éviter les traitements acides et alcalins. Des bactéries productrices d'acide lactique et les enzymes de protéase ont été utilisées pour les étapes de déminéralisation et de déprotéinisation respectivement [135]. La chitine est très hydrophobe et insoluble dans l'eau et la plupart des solvants organiques en raison de la présence de groupes acétyle [19], elle a donc plus d'applications lorsqu'elle est transformée en chitosane.

II.2.1.3 Désacétylation de la chitine

L'étape de désacétylation consiste à convertir la chitine en chitosane par élimination des groupements acétyl. Le traitement de la chitine conduit généralement à une désacétylation partielle. La frontière entre la chitine et le chitosane correspond à un degré de désacétylation (DD). Le DD est une propriété importante dans la production de chitosane car il détermine les groupes amino libres dans les polysaccharides. En effet, il affecte les propriétés physicochimiques et détermine ainsi ses applications appropriées. Le DD est un critère important pour faire la distinction entre la chitine et le chitosane. Il est défini comme la fraction de glucosamine/N-acétyl glucosamine, à noter que:

- Pour un DD <60%, le polymère est nommé chitine.
- Pour un DD > 60%, le polymère est nommé chitosane [136].

Le degré d'acétylation contrôle la proportion de groupes amine et acétyl dans la chaîne carbonique et il est directement lié à la solubilité et au comportement acide-base du polymère [137]. De nombreuses méthodes ont été développées pour déterminer la DD, telles que le dosage conductimétrique [138,139], le titrage potentiométrique [140], la spectroscopie UV, la spectroscopie IR, la spectroscopie RMN 1H, l'analyse HPLC [141]. La désacétylation peut se produire chimiquement ou enzymatiquement.

a. Désacétylation chimique

Les hydroxydes de sodium ou de potassium sont généralement utilisés à haute température pour une désacétylation chimique de la chitine [131]. Le traitement alcalin peut être répété pour obtenir une désacétylation complète [133]. Il a été signalé que le DD peut être affecté par la température, le temps de traitement et la concentration d'alcali. Bien que la désacétylation chimique soit plus couramment utilisée en raison de son faible coût, elle présente également des points négatifs tels que le coût élevé de l'énergie, le gaspillage de solution alcaline concentrée qui entraîne une augmentation de la pollution de l'environnement, difficile à contrôler et conduisant à une gamme large et hétérogène de produits [142].

b. Désacétylation enzymatique

L'enzyme de la chitine désacétylase est utilisée pour la préparation de chitosane. Elle catalyse partiellement l'hydrolyse des liaisons N-acétamido dans la chitine pour produire du chitosane [142,143]. La désacétylation enzymatique est un processus non dégradable et offre la

possibilité de contrôler et de prédire les bioactivités du chitosane, ce qui permet d'avoir des modèles spécifiques d'acétylation. Par conséquent, le chitosane résultant a un schéma de désacétylation plus régulier qu'un chitosane traité avec un alcali chaud [144,145].

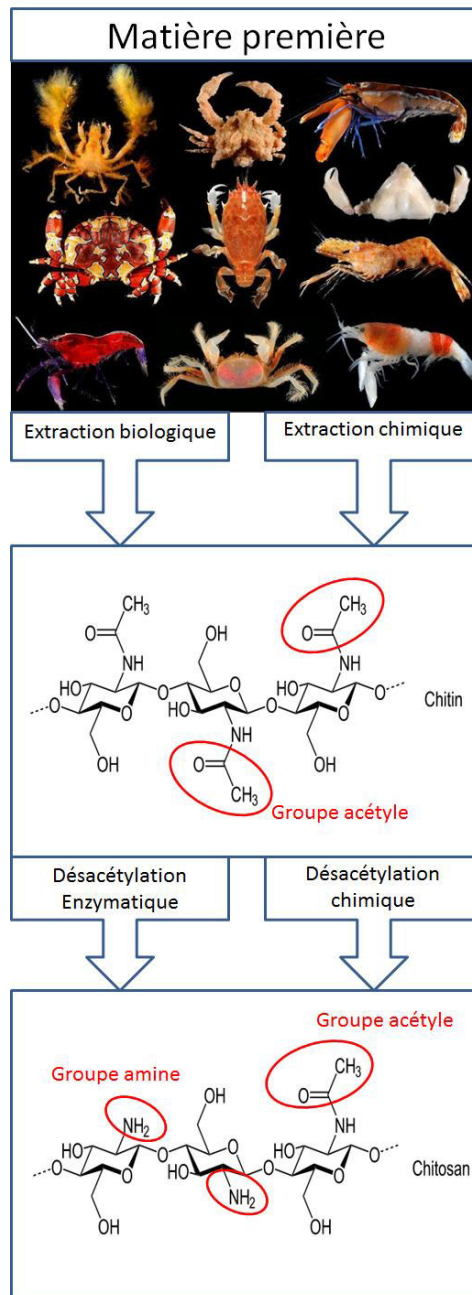


Figure 5 : Préparation de la chitine et de chitosane à partir de matières premières.

II.2.2 Chitosane

II.2.2.1 Structure

Le chitosane (CS) est le nom donné à la chitine après le processus de désacétylation (Fig.5). CS est un sucre aminé d'une masse molaire de 179 g/mol de glucoamine. Il s'agit d'une famille de polysaccharides linéaires avec une fraction molaire DD (degré de désacétylation) de D-glucosamine et une fraction (1-DD) de N-acétylglucosamine [134].

Le chitosane est considéré comme un copolymère avec trois types de groupes fonctionnels réactifs, un groupe amine primaire et un groupe hydroxyle primaire et secondaire (deux groupes hydroxyle (C3, C6) et un groupe amine primaire (C2) par monomère) (Fig.6).

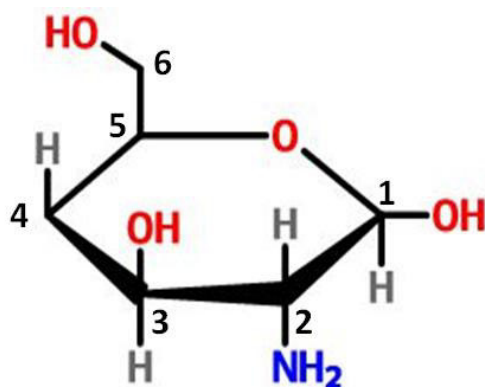


Figure 6 : Structure de la D-glucosamine

Le chitosane est considéré comme un polysaccharide fortement basique. Ce polymère possède de multiples propriétés physiques et chimiques qui le placent comme un candidat crédible pour de nombreuses applications, y compris les aliments [146], pharmaceutique et biomédical [147], cosmétique, textile et agricole [148], le traitement de l'eau et des eaux usées [149].

II.2.2.2 Poids moléculaire (M_w), viscosité et cristallinité du chitosane

Le poids moléculaire (M_w) est l'un des paramètres les plus fondamentaux dans la caractérisation d'un polymère. Le chitosane est un biopolymère de haut poids moléculaire. Pour un produit commercial, M_w est de 100 à 1200 kilodaltons (kDa). M_w varie selon les sources de matières premières et le mode de préparation. Le poids moléculaire du chitosane est une caractéristique importante influençant les propriétés rhéologiques des solutions et donc leurs conditions de mise en œuvre. Le CS de haut poids moléculaire donne généralement

des solutions très visqueuses. La détermination de M_w peut être effectuée par des mesures de diffusion de la lumière et de la viscosimétrie [150,151], ou par chromatographie [152].

La viscosité est l'une des caractéristiques les plus importantes du chitosane. La viscosité dépend du DD, du M_w et également du pH car ces paramètres déterminent la densité de charge sur la chaîne du polymère. La structure des macromolécules est très étendue lorsque la densité de charge est élevée en raison du phénomène de répulsion de charge, donc la viscosité est alors importante. En revanche, lorsque le polymère est peu ionisé, les chaînes macromoléculaires se présentent sous la forme de billes statistiques caractérisées par une faible viscosité. Comme pour les autres polysaccharides, la viscosité baisse lorsque la température augmente [153].

La cristallinité est également un paramètre important car elle permet de contrôler un certain nombre de propriétés telles que l'accessibilité des sites internes dans les chaînes macromoléculaires, les propriétés de gonflement dans l'eau ou encore les propriétés de diffusion. En effet, le chitosane est généralement un matériau semi-cristallin. Généralement, la cristallinité est déterminée par des mesures de diffraction des rayons X ou par résonance magnétique nucléaire (MRN) [132].

II.2.2.3 Propriétés du chitosane

Le chitosane est considéré comme un polysaccharide fortement basique, à caractère cationique en milieu acide. C'est de toute façon le seul polyélectrolyte cationique hydrosoluble d'origine naturelle [153]. CS est un biopolymère hydrophile et une molécule très polaire; cette propriété est due à la présence de nombreux groupements hydroxyle et amine au niveau des unités de glucose.

Il est intéressant de noter que le chitosane est un polymère polycationique ayant un groupe NH_2 et deux groupes OH sur chaque glucosamine. Ces trois groupes sont très réactifs et sont très importants en ce qui concerne les propriétés du polymère. La forte fonctionnalité du chitosane lui donne une opportunité considérable de modification chimique [154]. Les groupes amine forment une plate-forme de liaisons spécifiques avec d'autres groupes externes au polymère, ce qui est une caractéristique de biofabrication importante [155]. Ils peuvent provoquer des réactions chimiques telles que l'alkylation, la réaction avec les aldéhydes et les cétones, le greffage [135].

En revanche, les groupes hydroxyles apportent une certaine souplesse au matériau et sont également responsables de la modification de ses propriétés biologiques et physiques [155]. La fonctionnalité hydroxyle conduit également à certaines réactions comme l'o-acétylation, la liaison H avec des atomes polaires, la réticulation, le greffage [135].

Contrairement à la chitine, la présence de groupes amines libres le long de la chaîne du chitosane permet à cette macromolécule de se dissoudre dans des solvants acides aqueux dilués en raison de la protonation de ces groupes et de se convertir en la forme $R-NH_3^+$ soluble ionisable [131,156]. Cette particularité exceptionnelle d'être chargé positivement, permet au chitosane de réagir avec des composés chargés négativement et de les fixer solidement par des liaisons ioniques, et lui confère de très nombreuses propriétés. Parmi elles, une forte interaction électrostatique, la possibilité de formation de liaisons hydrogène et la flexibilité de la chaîne [156]. Le chitosane peut interagir avec d'autres substances chimiques (ions, molécules, macromolécules) grâce à sa structure chimique particulière qui permet d'entrevoir des capacités d'interaction, de complexation ou d'absorption [132]. Le chitosane peut lier des dérivés fonctionnels sur les chaînes macromoléculaires (les hydroxyles présents sur les carbones C-3 et C-6 et la fonction amine) soit par des liaisons covalentes, semi-covalentes ou non covalentes (Fig.7).

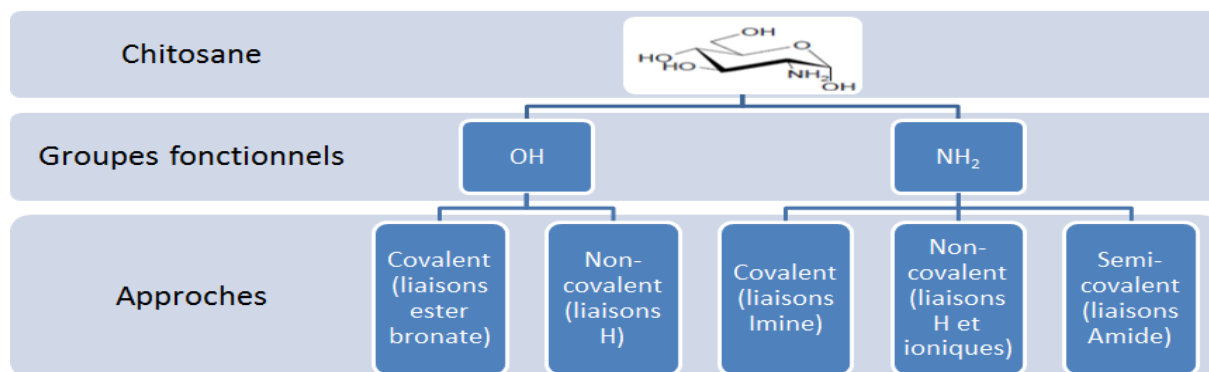


Figure 7 : Différentes approches pour complexer le chitosane.

À un pH $< pK_a$, les fonctions amines de la glucosamine sont protonées. Ceux-ci peuvent ensuite développer des interactions ioniques telles que la fixation d'anions métalliques, de colorants anioniques et l'adhésion à des surfaces chargées négativement. Ces interactions confèrent également au chitosane une excellente propriété filmogène [157]. A un pH basique, les fonctions amines ne sont pas sous forme ionisée et peuvent alors former des liaisons

hydrogène ou des liaisons amides ou imines covalentes avec respectivement des acides carboxyliques et des aldéhydes activés. Concernant l'approche semi-covalente, la fonction amine peut développer une liaison covalente, par exemple, avec un acide carboxylique, puis l'hydrolyse des liaisons permet aux groupes amines de se lier aux groupes acides carboxyliques au moyen de liaisons ioniques [158]. Les fonctions alcool de la glucosamine sont très basiques et peuvent donc principalement développer des liaisons hydrogène ou des liaisons covalentes. Pour développer chacune de ces approches, il a fallu prendre en compte les contraintes acido-basiques de la glucosamine permettant l'établissement de ces liaisons spécifiques.

En outre, ces groupes réactifs offrent également aux polymères de chitosane de nombreux avantages et propriétés pertinentes. Par exemple d'être facilement transformés en gels, films, membranes, nanofibres, formes d'éponges, microparticules et nanoparticules [135,154]. En outre, le chitosane possède de nombreuses autres propriétés telles que la biocompatibilité, la biodégradabilité, une faible toxicité et de bonnes activités antimicrobiennes et antioxydantes, c'est pourquoi une grande attention a été accordée à ses applications [134]. Le tableau 6 résume les principales propriétés du chitosane [132–134].

Tableau 6 : Propriétés du chitosane.

Propriétés physiques et chimiques	Propriétés biologiques
Polysaccharide semi-cristallin	Biocompatible
Groupes amine et hydroxyle réactifs	Polymère naturel
Structure rigide de D-glucosamine	Bioadhésif
Haute hydrophilie	Bioactif
Groupe aminé déprotoné	Non toxique
Former des liaisons hydrogène de façon intermoléculaire	Biodégradable
Haute viscosité	Activité anti-microbienne
Soluble dans l'eau et les solvants organiques	Activité anti-oxydante
Soluble dans les solutions acides aqueuses	Anti-acide, antiulcéreux et antitumoral

diluées	Anticoagulants sanguine
Polyélectrolytes (à pH acide)	Activité hypolipidémique
Agent flocculant	Renouvelable
Propriétés de piégeage, filtration, séparation et absorption	Pouvoir filmogène
	Agent hydratant

II.2.2.4 Solubilité du chitosane

La chitine est insoluble dans de nombreux solvants organiques en raison de la présence d'un groupe acétyle de nature hydrophobe [159]. Le chitosane est le seul biopolymère cationique commercial hydrosoluble et il est soluble dans des solutions acides diluées à des valeurs de pH inférieures à 6,5 mais insoluble dans des solutions aqueuses neutres et alcalines, ce qui le rend plus pratique [148,159]. Dans le tableau I.7, sont présentés quelques solutions utilisées pour la solubilisation du chitosane [133,148].

Les solutions acides concentrées à des températures élevées peuvent dépolymériser le chitosane [160]. L'acide le plus couramment utilisé pour dissoudre le chitosane est l'acide acétique en solution aqueuse, car les films de chitosane obtenus avec de l'acide acétique comme solvant ont les propriétés barrières à la vapeur d'eau [161].

Tableau 7 : Quelques solutions utilisées pour la solubilisation du chitosane.

Soluble	Insoluble
Acide acétique 1%	Acides sulfuriques et phosphoriques
Acide formique 0,2-100%	pH neutre et alcalin en solution aqueuse
Acide chlorhydrique 1%	
Acides dilués de nitrique, succinique, lactique et malique	
Eau	

L'une des propriétés les plus importantes de ce polymère est la présence du groupe amine avec une valeur de pKa de 6,5 dans la chaîne carbonique. Avec cette terminaison, le chitosane a en effet un comportement acide-base en solution, comme le montre la figure 8. Il est rapporté que la valeur de pKa augmente avec la force ionique, élargissant ainsi la plage de pH dans laquelle le chitosane est soluble [162].

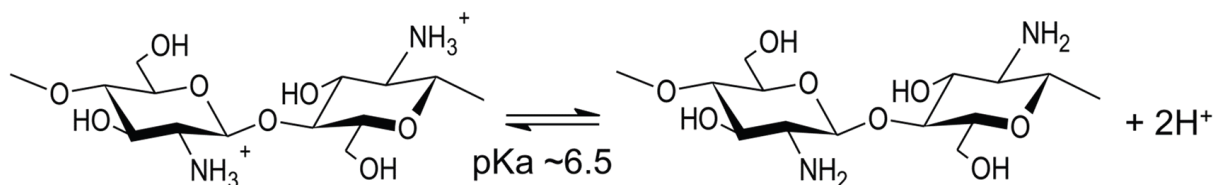


Figure 8 : Comportement du chitosane en fonction du pH de la solution.

Ainsi, à $\text{pH} < \text{pKa}$, les groupes amine sont chargés positivement, ce qui fait du chitosane un polyélectrolyte cationique soluble dans l'eau, et à $\text{pH} > \text{pKa}$, le biopolymère perd sa charge et devient insoluble [133]. En effet, à faible pH, la chaîne est polycationique. Les forces électrostatiques répulsives empêchent les associations de monomères qui rendent le chitosane soluble en solution. Lorsque le pH augmente, le chitosane perd sa charge positive, l'équilibre entre les forces d'attraction et de répulsion est alors perturbé [137,163]. Comme discuté précédemment, la solubilité du chitosane en milieu acide s'explique par le caractère cationique de ses fonctions amines lorsqu'elles sont protonées fournissant une énergie électrostatique suffisante pour rompre les nombreuses liaisons hydrogène et améliorer considérablement l'hydratation des chaînes. Par conséquent, la solubilité du chitosane dépend également de la distribution des groupes acétyle le long de la chaîne du biopolymère et de la valeur DD.

II.2.2.5 Stabilité du chitosane

a. Facteurs affectant le comportement du chitosane

Le chitosane est très sensible aux différents paramètres expérimentaux qui affectent sa stabilité. Par conséquent, les propriétés et le comportement du bio-polymère sont influencés. Le degré de désacétylation, le poids moléculaire, la concentration en polymère, le type d'acide et sa concentration sont des paramètres à prendre en compte dans les expériences [162].

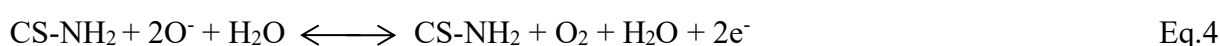
➤ **Effet de la température et du pH**

Les principaux facteurs affectant le comportement et les propriétés physiques du CS sont le pH et la température. Le pH affecte les propriétés du polymère en raison de la protonation et de la déprotonation des groupes amine [164]. Une température élevée (> 500 K °) peut provoquer une dégradation thermique du CS [165]. En outre, il a été signalé que le traitement thermique peut modifier la façon de faire réagir les chaînes du polymère, cela peut par exemple influencer l'association ionique des acides alcanoïques avec l'amine [166,167]. Le mécanisme peut impliquer une dépolymérisation initiale suivie d'une réticulation entre chaînes lorsque la quantité de chaleur assimilée est suffisamment élevée, la participation des groupes NH a été également montrée [168].

➤ **Effet d'humidité**

L'humidité est l'un des facteurs affectant le comportement du chitosane. Des études montrent que de fines couches de chitosane exposées à l'air humide provoquent un gonflement considérable du film. Après chauffage puis refroidissement à la température ambiante de ces couches, une diminution spectaculaire de l'épaisseur est enregistrée. Ces changements ne sont pas dus à l'oxydation ou à la dégradation thermique des films mais il est suggéré que le chauffage libère irréversiblement l'eau emprisonnée [169].

De plus, des études sur des capteurs à base de chitosane montrent que, probablement dans un milieu aéré, les molécules d'oxygène sont chimiquement absorbées par le chitosane (Eq.1). Une fois que le film est soumis à un potentiel, les molécules d'oxygène absorbées réagissent avec les électrons libres formant des espèces ioniques telles que O_2^- et O^- (Eq.2, Eq.3), provoquant une augmentation de la résistance au transfert de charge jusqu'à saturation des molécules d'oxygène. En présence d'eau, les molécules en contact avec le chitosane réagissent avec O^- pour produire de l' O_2 et libérer les électrons participant à la modification de la réponse du capteur (Eq.4).



Sinon, en plus de réagir avec O^- , des liaisons peuvent se former entre l'oxygène des molécules d'eau et l'hydrogène des groupes amine du chitosane (Fig.9). Ces connexions agissent comme des ponts électriques créant une tension superficielle facilitant le mouvement des électrons [25].

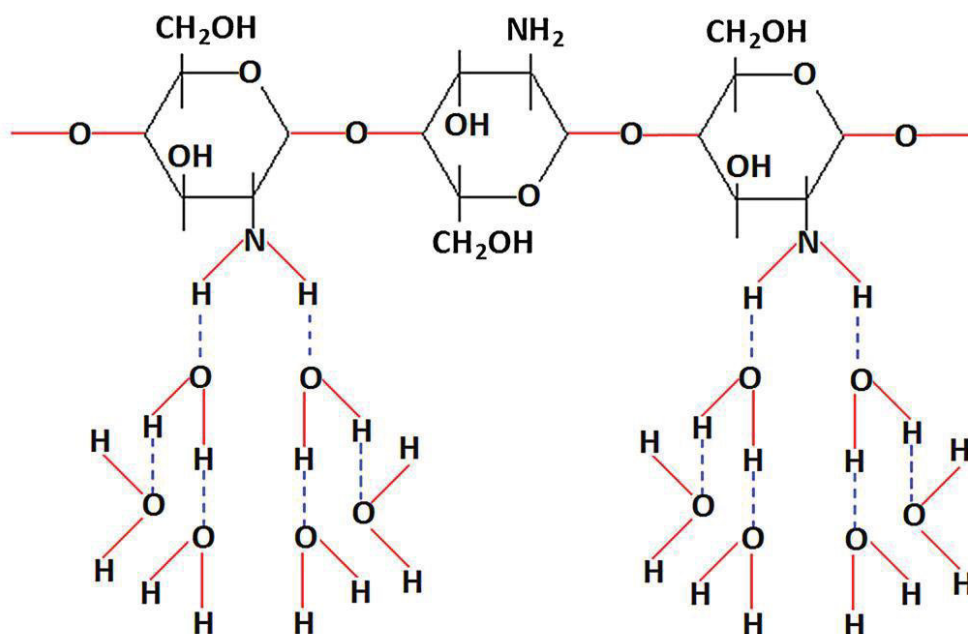


Figure 9 : Formation de ponts hydrogène par réaction entre des molécules d'eau et des groupes amine du chitosane [25].

b. Modification chimique du chitosane

Le chitosane, par ses fonctions hydroxyles et son amine primaire, offre de multiples possibilités de fonctionnalisation chimique, et permet des modifications faciles dont la substitution N, la substitution O et la copolymérisation par greffage de radicaux libres. Ces modifications ont été proposées afin d'améliorer les propriétés intrinsèques du CS (taille des pores, résistance mécanique, stabilité chimique, hydrophilie mais aussi biocompatibilité) ou de donner de nouvelles propriétés [170].

La réticulation chimique est utilisée pour améliorer la stabilité et la compatibilité du chitosane et améliorer ses propriétés mécaniques. Les groupes amine et hydroxyle actifs sur la chaîne du biopolymère permettent de réagir avec certains agents chimiques tout en entraînant des changements structuraux. Ces modifications dues à la création de liaisons covalentes, -OH plus susceptibles de participer à la réaction nucléophile que l'azote en raison d'une électronégativité plus forte de l'oxygène [171,172]. Plusieurs agents de réticulation ont été établis avec le chitosane (Fig.10), notamment le glutaraldéhyde et le glyoxal [173], le N, N'-

méthylènebisacrylamide, le 2- (chlorométhyle) thiirane, l'éthylène glycol diglycidyl, l'acide sulfurique [171], la génipine [174], le sodium tripolyphosphate [175], (3-glycidoxypropyl) triméthoxysilane [176], diisocyanates, épichlorhydrine [177].

La modification chimique du polymère permet de modifier ses propriétés physiques et chimiques. De nombreuses modifications sont possibles, notamment le greffage sur la fonction amine de différents groupes chimiques. L'aminé primaire comprenant un doublet non liant est un bon nucléophile qui permettra des réactions d'addition / élimination nucléophiles sur les carbones électrophiles tels que les aldéhydes, les cétones et l'acide carboxylique. De nombreuses études ont examiné la modification du chitosane. En particulier, il a été signalé la fonctionnalisation du chitosane avec du benzaldéhyde [178], du chlorure de 4-nitrobenzoyle [179], et avec du glutaraldéhyde, un composé ayant deux fonctions aldéhydes permettant de créer un pont covalent entre le chitosane et des fragments d'ADN [30], ou avec des enzymes [180].

Une voie synthétique largement utilisée pour la biofonctionnalisation du chitosane est la formation d'une liaison amide entre l'amine primaire du chitosane et la fonction acide carboxylique de la biomolécule à fixer. Cette liaison est difficile à mettre en œuvre et nécessite l'activation préalable de la fonction acide carboxylique réalisée par le couple 1-éthyl-3- (3-diméthylaminopropyl) carbodiimide et N-hydroxysuccinimide (EDC / NHS). Ce mécanisme d'activation consiste en la formation d'un ester intermédiaire entre le NHS et la fonction carboxylique [181].

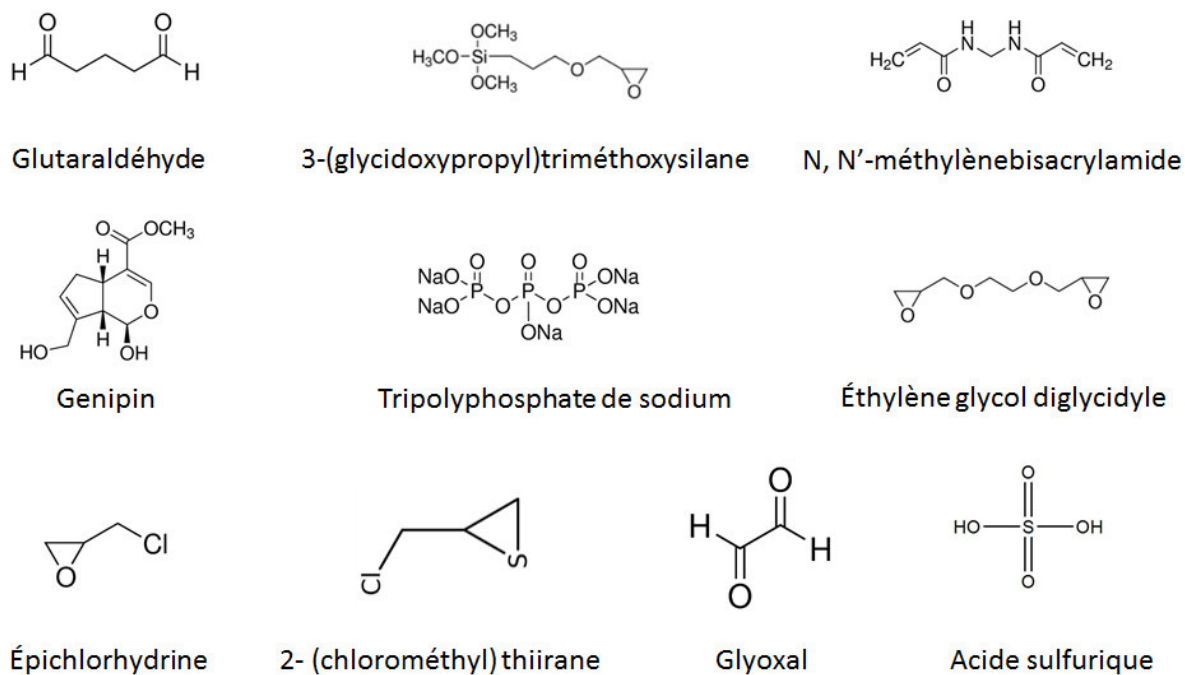


Figure 10 : Différents types d'agents de réticulation pour le chitosane.

II.3 Les MIPs comme élément de reconnaissance dans les capteurs électrochimiques

II.3.1 Réponse du capteur électrochimique MIPs

Pour qu'un capteur soit efficace, il doit générer un signal physique mesurable lors de l'interaction entre la molécule cible et les MIPs (Fig.11).

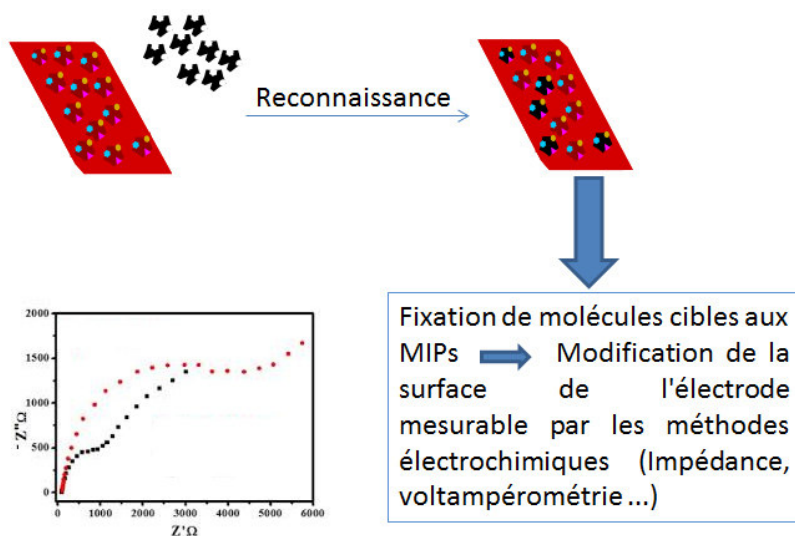


Figure 11 : Réponse électrochimique du capteur MIPs.

La sélectivité, la sensibilité, la stabilité, la réutilisation, le temps de réponse, etc., sont les principaux paramètres de la conception des capteurs basés sur les MIPs. Ces paramètres dépendent à la fois des propriétés des MIPs et de sa capacité à interagir avec l'analyte dans les conditions requises. Ces paramètres dépendent également de la sensibilité du transducteur et de sa capacité à surveiller le processus d'interaction et à le transformer en un signal mesurable. Il est donc essentiel de choisir une bonne combinaison entre ces deux composants mais aussi la technique électrochimique à utiliser.

Les mesures électrochimiques mises en œuvre dans le cas de capteurs à base de MIPs sont très souvent conductimétriques, potentiométriques, ampérométriques, voltamétriques et impédance-métriques. Les capteurs conductométriques sont basés sur la mesure du changement de conductivité résultant de la reconnaissance des molécules cibles par les MIPs. Un capteur potentiométrique mesure la différence de potentiel entre l'électrode de travail fonctionnalisée avec des MIPs et une électrode de référence. Le signal dans les appareils ampérométriques dépend du taux de transfert de charge à la surface de l'électrode. Un capteur voltampérométrique mesure la variation de l'intensité du courant dans un intervalle du potentiel appliqué. La mesure d'impédance est basée sur la mesure de la variation de la résistance de transfert de charge à la surface des MIPs. Il est possible de relier les résultats des mesures aux propriétés physiques et chimiques de l'interaction MIPs/template, et ce en modélisant la réponse par des circuits électriques équivalents adaptés.

Le choix de la technique de mesure est généralement guidé par les propriétés électrochimiques de la molécule cible. Lorsque la cible est électroactive, sa présence dans le milieu à analyser contribuera à la modification de l'intensité du courant. Ce changement pourrait être suivi par ampérométrie ou par voltampérométrie. Si la cible ne présente aucune propriété redox, la présence de la cible entraînera une modification du film MIPs, un comportement généralement contrôlé par conductimétrie ou impédance-métrie.

II.3.2 Capteurs électrochimiques CS-MIPs

En raison de sa structure macromoléculaire (transportant un excès de groupes amine et hydroxyle), de ses propriétés physico-chimiques et biologiques, l'utilisation du chitosane dans les polymères à empreinte moléculaire a attiré une attention considérable. Le fait que le chitosane ait une affinité pour divers composés et la possibilité de complexer le template ou de subir des modifications chimiques par différentes approches (non covalente, semi-covalente, covalente) peut être facilement exploité pour la construction de MIPs.

En raison de ses avantages structurels pertinents d'être facilement transformé en gels, films, membranes, nanofibres et nanofibrilles, échafaudages, perles, formes d'éponge, microparticules et nanoparticules, le chitosane à empreinte moléculaire est largement utilisé. Dans diverses applications telles que l'extraction en phase solide [23], séparation sélective des protéines [123], études thérapeutiques [124,125], capteurs [126]. Les propriétés des MIPs telles que la spécificité et la haute stabilité, la compatibilité avec la technologie de microfabrication et leur faible coût en font des alternatives prometteuses aux anticorps et autres récepteurs naturels habituellement utilisés.

Plusieurs capteurs ont été développés en utilisant des MIPs tels que des capteurs électrochimiques, colorimétriques, fluorescents, etc. La prédominance des capteurs électrochimiques sur le marché est induite en raison de leur simplicité, sensibilité, facilité de mise en œuvre et les coûts de mesure généralement bas. Cette partie se concentrera sur le développement de capteurs électrochimiques à base de chitosane à empreinte moléculaire (CS-MIPs). De nombreux exemples réussis de développement de capteurs électrochimiques basés sur le chitosane-MIPs pour différents templates tels que les pesticides, les produits biologiques, les produits pharmaceutiques, les produits phénoliques, sont rapportés dans le tableau 8. Les capteurs électrochimiques combinés avec du chitosane à empreintes moléculaires ont montré de bonnes performances. Les capteurs proposés présentaient une bonne réponse linéaire envers plusieurs cibles avec une limite de détection faible, de bonnes sélectivité, reproductibilité et stabilité ainsi qu'une possibilité de réutilisation. Les procédures de préparation présentées sont relativement simples, pratiques et fournissent des méthodes rapides et économiques.

Tableau 8 : Capteurs électrochimiques basés sur CS-MIPs.

Technique	Template	Technique de dépôt	Extraction du template	Échantillons	Gamme linéaire	LOD	Réutilisabilité (cycle)	Réf
DPV	Dopamine	CA	CA dans KCl et éthanol	Sérum sanguin	$10^{-9} \text{ M} - 8 \cdot 10^{-8} \text{ M}$ $10^{-7} \text{ M} - 10^{-4} \text{ M}$	10^{-11} M	/	[182]
DPV	Dopamine	CA	KCl et éthanol	PBS	$0,51 \cdot 10^{-6} \text{ M} - 1,95 \cdot 10^{-3} \text{ M}$	$0,16 \cdot 10^{-6} \text{ M}$	/	[183]
DPV	Dopamine	CA	KCl et éthanol	PBS	$0,12 \cdot 10^{-9} \text{ M} - 1,52 \cdot 10^{-4} \text{ M}$	$3,9 \cdot 10^{-11} \text{ M}$	/	[184]
DPV	L-dopa	CA	CA dans KCl et éthanol	Sérum sanguin	$4 \cdot 10^{-7} \text{ M} - 10^{-4} \text{ M}$	$0,012 \cdot 10^{-6} \text{ M}$	/	[185]
DPV	Urée	CA	KCl	Sérum sanguin	$5 \cdot 10^{-12} \text{ M} - 4 \cdot 10^{-10} \text{ M}$ $5 \cdot 10^{-10} \text{ M} - 7 \cdot 10^{-8} \text{ M}$	10^{-12} M	10	[186]
DPV	Microalbumine	Drop-coating	Acide acétique et dodécylsulfate de sodium	Urine	$1,5 \cdot 10^{-9} \text{ M} - 1,5 \cdot 10^{-7} \text{ M}$	$7,7 \cdot 10^{-13} \text{ M}$	9	[187]
DPV	P-nitrophénol	CA	CV dans l'acétate	Solutions tampons d'acétate	$3 \cdot 10^{-8} \text{ M} - 5,5 \cdot 10^{-4} \text{ M}$	$5 \cdot 10^{-9} \text{ M}$	10	[188]
DPV	2,4,6-tribromophénol	CV	Acide sulfurique	Eau potable	$10^{-7} \text{ M} - 10^{-3} \text{ M}$	$1,32 \cdot 10^{-8} \text{ M}$	5	[189]
DPV	Bisphénol A	Drop-coating	Méthanol et acide acétique	Eau potable	$5 \cdot 10^{-9} \text{ M} - 2 \cdot 10^{-7} \text{ M}$ $5 \cdot 10^{-7} \text{ M} - 10^{-5} \text{ M}$	$2 \cdot 10^{-9} \text{ M}$	/	[190]
DPV	Trichlorfon	CA	CA dans KCl	Échantillon de thé	$5 \cdot 10^{-7} \text{ M} - 10^{-5} \text{ M}$	10^{-7} M	/	[191]
DPV	Ions de	CA	acide Éthylène	Eau du robinet	$10^{-9} \text{ M} - 10^{-5} \text{ M}$	$6,4 \cdot 10^{-10} \text{ M}$	9	[192]

	chrome		Diamine Acétique	Tétra-	et de la rivière				
DPV	ions cuivre	Drop-coating	acide Diamine Acétique	Éthylène Tétra-	Eau du robinet et de la rivière	$5.10^{-7} M - 10^{-4} M$	$0,15.10^{-6} M$	5	[193]
DPV	ions cadmium	CA	acide Diamine Acétique	Éthylène Tétra-	Eau potable et lait	$10^{-7} M - 9.10^{-7} M$	$1,62.10^{-4} M$	10	[194]
CV	Urée	CA	KCl		Sérum sanguin et urine	$10^{-8} M - 4.10^{-5} M$	$5.10^{-9} M$	9	[195]
CV	Clenbutérol	Drop-coating	CA dans acétique, phosphorique l'acide borique	l'acide l'acide et	Foie de porc	$3.10^{-7} M - 5.10^{-5} M$	$0,01.10^{-6} M$	5	[196]
CV	Bisphénol A	Drop-coating	Acide sulfurique		Échantillons de plastique	$8.10^{-8} M - 10^{-5} M$	$60.10^{-9} M$	7	[197]
CV	Catéchol	Drop-coating	KCl		Vin	$7,5.10^{-5} M - 10^{-3} M$	$3,7.10^{-5} M$	3	[29]
CV	Catéchol	CA	KCl		Vin	$5.10^{-5} M - 7,5.10^{-5} M$	$6,9.10^{-7} M$	3	[28]
SWV	bisphenol A	CA	Éthanol et acétique	acide	Eau potable	$10^{-3} M - 10^{-21} M$	$0,67.10^{-21} M$	10	[198]
LSV	Bisphénol A	Drop-coating	CV dans HCl		Eau potable et les boissons en consERVE.	$8.10^{-9} M - 10^{-6} M$ $10^{-6} M - 20.10^{-6} M$	$6.10^{-9} M$	10	[199]
CA	Glucose	CA	Élution par l'eau		Solution de KOH	$10^{-5} M - 20.10^{-5} M$	$2.10^{-6} M$	/	[200]
CA	Dopamine	CA	KCl et Éthanol		PBS	$0,12. 10^{-9} M - 152. 10^{-6} M$	$0.039.10^{-9} M$	/	[184]

CA	Épinéphrine	CA	Phosphate	phosphate buffer solution	$0,2 \cdot 10^{-6} \text{ M} - 0,67 \cdot 10^{-3} \text{ M}$	$60 \cdot 10^{-9} \text{ M}$	9	[201]
----	-------------	----	-----------	------------------------------	--	------------------------------	---	-------

DPV: *Voltampérométrie différentielle d'impulsion.*

CA: *Chronoampérométrie.*

SWV: *Voltampérométrie à onde carrée.*

CV: *Voltampérométrie cyclique.*

LSV: *Voltampérométrie à balayage linéaire.*

La voltampérométrie différentielle d'impulsion (DPV) est la technique électrochimique la plus utilisée dans les capteurs basés sur MIPs. Les résultats obtenus montrent de faibles limites de détection, elle atteint 10^{-12} M pour la molécule cible d'urée [186], et un peu moins dans le cas de la dopamine (10^{-11} M) [182]. La LOD est de l'ordre de 10^{-7} à 10^{-9} M avec les produits phénoliques [188–191]. La majorité de ces capteurs peuvent être réutilisés jusqu'à 9 et 10 fois [186–188,192,194], et d'autres moins par exemple 5 fois avec les molécules cibles 2,4,6-tribromophénol [189], et les ions de cuivre [193]. La chronoampérométrie (CA) et la voltampérométrie cyclique (CV) sont utilisées dans plusieurs études. Les limites de détection sont comprises entre 10^{-5} et 10^{-9} M [28,29,195,197]. Certains capteurs ont été régénérés 9 fois [195,201], d'autres moins, par exemple 7 fois dans le cas du Bisphynol A [197], 3 fois avec du catéchol [28,29]. La limite de détection la plus basse enregistrée avec le capteur CS-MIPs est de $0,67 \cdot 10^{-21}$ M, la technique utilisée est la voltampérométrie à onde carrée (SWV) pour la détection du bisphénol A [198].

Pour réticuler le chitosane utilisé dans les capteurs à base de MIPs, deux méthodes sont utilisées, soit l'agent de réticulation est mélangé au complexe template/CS avant l'électrodéposition, dans ce cas le rapport agent de réticulation/monomère fonctionnel est très important [196]. La seconde méthode est basée sur l'électropolymérisation du complexe template/CS, puis imprégnation de l'électrode dans la solution de réticulation; la concentration de la solution et le temps de réticulation définissent les propriétés des MIPs préparés [199].

II.3.3 Principe de l'électrodéposition de chitosane

La capacité de créer des dispositifs tels que des capteurs et des biocapteurs nécessite des méthodes simples pour contrôler avec précision les surfaces. Des techniques variées peuvent être utilisées pour produire les structures souhaitées. L'intégration du chitosane-MIPs avec la zone du transducteur est une étape cruciale dans la fabrication du capteur. Le matériau biopolymère doit bien adhérer à cette surface sans se disperser ni se détacher sous aucune condition. Les propriétés du chitosane ont été utilisées pour fabriquer des membranes, des films minces et des structures tridimensionnelles par diverses méthodes telles que par drop-coating [202], par microcontact, par complexation avec des polyélectrolytes anioniques [30].

L'électro-dressage a été utilisé pour le dépôt d'ions de chitosane dans le domaine des capteurs électrochimiques qui consiste à exploiter une tension appliquée à la surface d'une électrode. L'électrodéposition présente l'avantage d'être une technique simple et rapide à faible coût. Il s'agit d'un processus *in situ* qui combine précipitation et immobilisation. L'électrodéposition

de chitosane permet d'obtenir des films très poreux [203]. Cette technique a été utilisée avec succès pour déposer des films de chitosane sur des électrodes conductrices [204,205].

La solubilité et les propriétés sensibles au pH du chitosane ont également été utilisées pour fabriquer des membranes, des films minces et des structures tridimensionnelles. Le chitosane passe d'un état soluble dans une solution acide à un état d'hydrogel précipité lorsque le pH de la solution augmente. Le CS peut être facilement versé en donnant des membranes et des films qui peuvent être convertis en réseaux insolubles par neutralisation. Les membranes de chitosane coulées peuvent être rendues insolubles sur toute la plage de pH en réticulant de manière covalente les chaînes de chitosane par des interactions amide et/ou imine. Plus précisément, le chitosane peut être électrodéposé à la surface d'une cathode par le mécanisme illustré sur la figure 12.

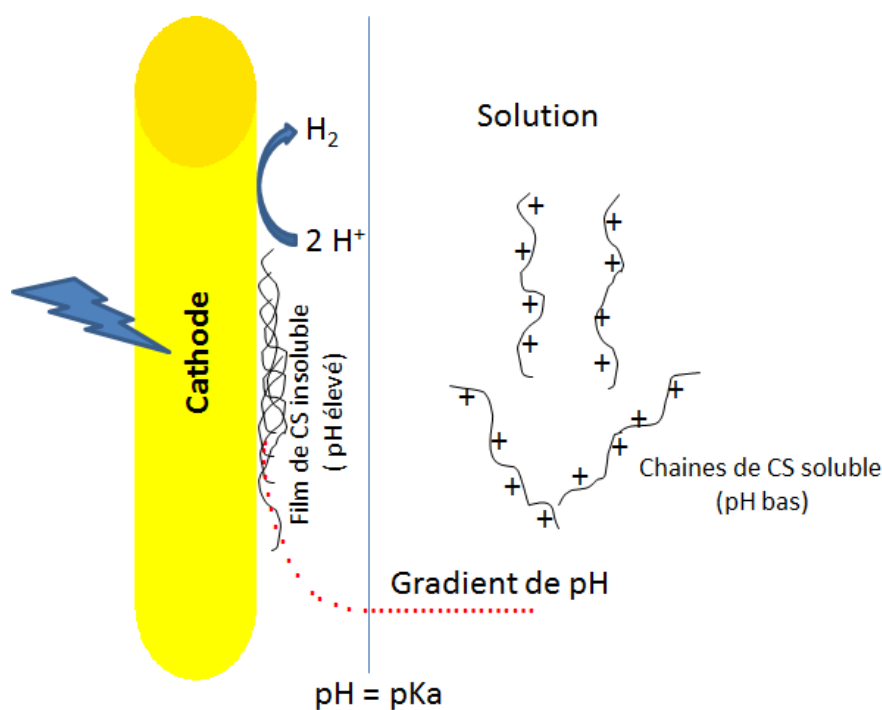


Figure 12 : mécanisme d'électrodéposition de chitosane.

Tout d'abord, l'eau est dissociée selon la réaction suivante:



Par la suite, les ions H^+ sont réduits à la surface de l'électrode pour produire de l'hydrogène par la réaction suivante:



La consommation de protons à la surface de la cathode est partiellement compensée par la génération de protons à partir de la dissociation de l'eau. La réaction de libération d'hydrogène à la surface de la cathode génère des régions localisées avec un pH interfacial élevé. Le pH varie en fonction des taux relatifs de génération d'ions hydroxyde et de diffusion d'ions hydroxyde à partir de la région interfaciale. Les ions hydroxydes générés sont ajustés par la tension appliquée à la surface de l'électrode.

En présence de la solution de chitosane légèrement acide, un gradient de pH s'établit au voisinage de la surface de la cathode. Dans les régions localisées avec un pH élevé supérieur à 6,5, le chitosane est déprotoné et devient insoluble. Selon les conditions, cela provoque la précipitation du polymère et la formation d'une membrane homogène à la surface du conducteur [205].

Les deux techniques les plus utilisées pour l'électropolymérisation du chitosane consistent soit à imposer un potentiel constant fortement négatif à l'électrode de travail et à mesurer l'évolution du courant traversant la cellule avec le temps (CA) [182]; soit par voltamétrie cyclique (CV) qui repose sur la mesure du courant résultant d'un balayage de potentiel linéaire entre les limites de potentiel (E_{inf} et E_{sup}) avec une vitesse de balayage fixe. Plusieurs cycles consécutifs peuvent être exécutés, chacun représenté par un tracé du courant enregistré en fonction du potentiel appliqué, appelé voltammogramme [189]. Le chitosane peut être déposé de manière contrôlable. L'épaisseur du film de chitosane électrodéposé peut varier en fonction du pH de la solution, notamment en fonction des conditions de dépôt électrochimique telles que le temps et le potentiel appliqué dans le cas de CA, l'intervalle de potentiel, le nombre de cycles et la vitesse de balayage dans le cas de CV.

Conclusion

Les propriétés des MIPs tout aussi pertinentes les rendent très attractives pour remplacer des entités biologiques dans diverses applications. L'efficacité des MIPs est déterminée par le choix des différents réactifs ainsi qu'une optimisation des différentes étapes permet d'obtenir un meilleur rendement. Le choix du monomère fonctionnel est basé sur sa capacité à former un complexe avec le template. Le chitosane a été considéré comme un biopolymère intéressant pour le développement des MIPs en raison de ses excellentes propriétés.

Les Chitosan-MIP ont été intégrés avec succès dans la zone des transducteurs pour le développement de capteurs électrochimiques. Les caractéristiques physicochimiques du

chitosane ont été exploitées pour fabriquer des membranes, des films minces et des structures tridimensionnelles par diverses méthodes. L'électrodéposition est une technique simple, facile, rapide et peu coûteuse. Elle permet le dépôt de films poreux de manière contrôlée. L'utilisation d'agents de réticulation assurent à la structure du CS plus de stabilité et de fiabilité.

III Généralités sur la spectroscopie d'impédance électrochimique

III.1 Electrochimie et les phénomènes à l'interface métal/électrolyte

L'électrochimie est une science située à la frontière entre la physique et la chimie. Elle s'intéresse à l'étude de systèmes physiques hétérogènes constitués de l'association d'un conducteur électronique et d'un conducteur ionique, dont l'interface est le lieu de transfert de charges entre les constituants des deux phases. Un conducteur électronique est un corps capable d'assurer le transport de charge au sein duquel des électrons sont susceptibles de se déplacer, il peut être par exemple un métal, composé métallique conducteur ou semi-conducteur, ou encore un polymère conducteur. Tandis qu'un conducteur ionique peut être un électrolyte ou un sel fondu assurant le déplacement des ions. Cependant, des ions et des électrons peuvent parfois se déplacer simultanément dans un conducteur appelé dans ce cas conducteur mixte.

L'électrochimie décrit les phénomènes chimiques couplés à des échanges réciproques d'énergie électrique lorsqu'un milieu chimique électrolytique est en interaction avec un circuit électrique. Elle permet des transformations de la matière à l'échelle atomique et des générations de différentes espèces réactives par transfert d'électrons entre une électrode et un substrat dans une solution électrolytique contrôlée par un courant électrique ou par une tension [206]. En conséquence, l'échange d'électrons à l'interface entre un conducteur électronique et le milieu électrolytique contenant des couples oxydant réducteur (Ox/Red) correspond au domaine des réactions électrochimiques, alors que la réaction d'échange d'électrons réciproque entre différents couples Ox/Red correspond au domaine des réactions d'oxydoréduction [207]. Par définition, on appelle oxydant l'accepteur d'électron, et réducteur le donneur d'électron. Ainsi, l'oxydation correspond à la perte d'électrons par le réducteur, alors que la réduction est un gain d'électrons par l'oxydant.

Les espèces électro-actives disposent de plusieurs « modes de transport » pour se rendre sur le lieu de la réaction de transfert d'électrons, à savoir l'interface électrode/électrolyte. Les phénomènes liés au déplacement de la matière peuvent être abordés au niveau microscopique [206]. Les différents phénomènes sont illustrés dans la figure 13, on trouve essentiellement :

- La convection : elle présente le mouvement d'ensemble du fluide constitué par l'électrolyte, Ce mouvement peut être de la convection naturelle, causée par des gradients de densité, de température, de pression, ou de la convection forcée

correspondant à une homogénéisation par agitation mécanique où le mouvement est imposé par une intervention extérieure.

- La diffusion : il s'agit du mouvement des espèces sous l'action d'un gradient de concentration.
- La migration : il s'agit de déplacement des espèces chargées sous l'effet d'un champ électrique

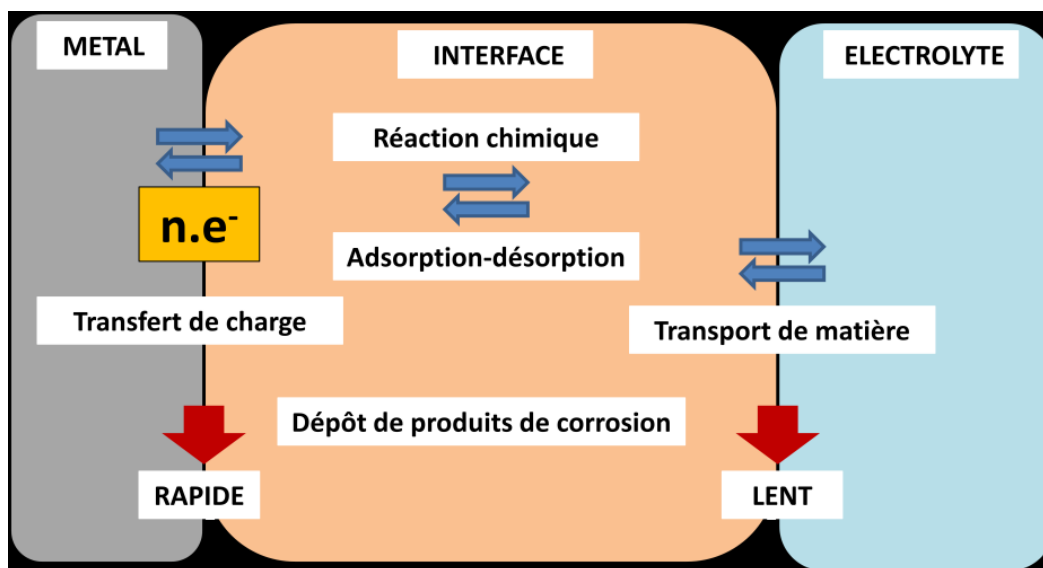


Figure 13 : Différents processus électrochimiques à l'interface métal/électrolyte [208].

Le processus électrochimique peut être affecté par le phénomène d'adsorption sur la surface de l'électrode au contact de la solution. En termes d'adsorption spécifique, l'électro-sorption fait référence à la formation d'une liaison chimique entre les espèces chargées de l'électrolyte et la surface de l'électrode [209].

Plusieurs méthodes électrochimiques sont fréquemment utilisées pour des analyses physico-chimiques de l'interface électrode/électrolyte, telles que la conductimétrie, potentiométrie, ampérométrie, voltamétrie et l'impédance-métrie (comme précisé précédemment). Ces techniques électrochimiques font intervenir trois grandeurs essentielles qui sont le courant (i), le potentiel (E) et le temps (t). Ce chapitre porte sur la définition et les principes de la spectroscopie d'impédance électrochimique.

III.2 Principe de la spectroscopie d'impédance électrochimique

Les méthodes électrochimiques transitoires sont bien adaptées pour extraire des paramètres cinétiques quand le transport de matière limite la vitesse de la réaction globale. Cependant,

quand des réactions hétérogènes complexes interagissent avec le transport de matière, l'analyse transitoire de courant ou de potentiel conduit à des résultats médiocres pour la détermination d'un mécanisme réactionnel. Une analyse fréquentielle est alors plus efficace. La spectroscopie d'impédance électrochimique, en anglais « Electrochemical Impedance Spectroscopy (EIS) », est l'une des techniques non stationnaires qui permet l'analyse des systèmes électrochimiques complexes. L'EIS s'est imposée comme un outil d'analyse très puissant compte tenu de sa grande capacité à étudier les propriétés interfaciales d'électrode/électrolyte [210].

La méthode d'impédance consiste à imposer une perturbation sinusoïdale en potentiel de faible amplitude, autour d'une tension choisie E_0 , entre l'électrode de travail et l'électrode de référence. La réponse en courant sinusoïdale est ainsi mesurée avec une composante continue I_0 , qui correspond au potentiel E_0 (I_0 ayant une valeur nulle lorsque E_0 est le potentiel d'abandon). Cette réponse est accompagnée d'un déphasage (φ) dépendant des éléments électriques présents dans le système. Ce système peut être considéré comme étant une « boîte noire » qui réagit en émettant un signal I quand il est soumis à une perturbation E (Fig.14).

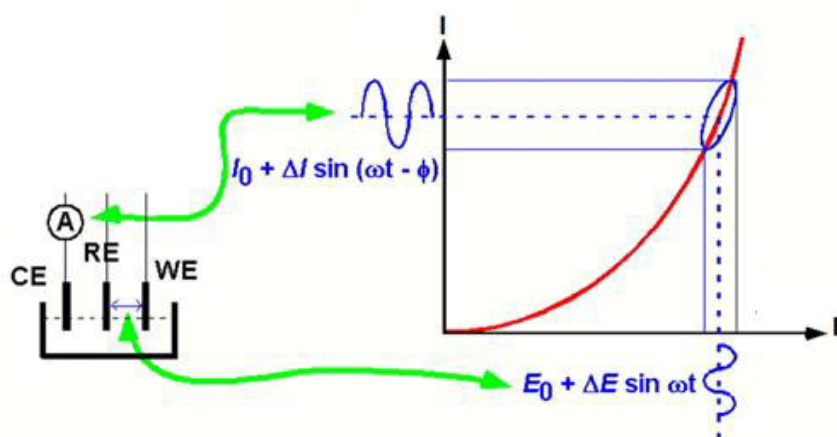


Figure 14 : Schéma d'un système électrochimique non linéaire soumis à une perturbation sinusoïdale.

Le signal appliqué et le signal de sortie sont respectivement de formes suivantes:

$$E(t) = E_0 + \Delta E \sin(\omega t) \quad \text{Eq.7}$$

$$I(t) = I_0 + \Delta I \sin(\omega t + \varphi) \quad \text{Eq.8}$$

Avec:

φ : Déphasage entre I(t) et E(t), ω : Pulsation (mesurée en rad/s; $\omega = 2\pi f$, f est la fréquence mesurée en Hz), ΔI : Amplitude du courant, ΔE : Amplitude du potentiel, t : Temps (s).

L'impédance électrochimique correspond alors au rapport du signal d'entrée sur le signal de sortie :

$$Z(\omega) = \frac{E(\omega)}{I(\omega)} \quad \text{Eq.9}$$

E(ω) et I (ω) étant respectivement les transformées de Fourier de E(t) et I (t).

L'impédance Z(ω) est un nombre complexe qui peut être écrit sous deux formes équivalentes:

a. Forme algébrique

$$Z(\omega) = Z'(\omega) + jZ''(\omega), j = \sqrt{-1} \quad \text{Eq.10}$$

$$Z'(\omega) = |Z(\omega)| \cos(\varphi) \quad \text{Eq.11}$$

$$Z''(\omega) = |Z(\omega)| \sin(\varphi) \quad \text{Eq.12}$$

$$|Z(\omega)| = \sqrt{Z'^2 + Z''^2} \quad \text{Eq.13}$$

$$\varphi = \arctan\left(\frac{Z''}{Z'}\right) \quad \text{Eq.14}$$

b. Forme exponentiel

$$Z(\omega) = |Z(\omega)|e^{j\varphi\omega} \quad \text{Eq.15}$$

|Z(ω)| étant le module, Z' la partie réelle, Z'' la partie imaginaire de l'impédance.

III.3 Représentation graphique de l'impédance

Il existe deux manières principales pour représenter l'analyse fréquentielle de la variation d'impédance, le diagramme de Bode ou celui de Nyquist. Le plan de Bode représente séparément $\log|Z(\omega)|$ et φ en fonction de $\log(\omega)$ ou de $\log(f)$. Le diagramme de Nyquist, consistant à représenter, pour chaque valeur de ω , l'opposé de la partie imaginaire de Z en fonction de sa partie réelle, soit $-Z'' = f(Z')$. C'est généralement cette dernière représentation qui est adoptée, car elle présente l'avantage de ne faire apparaître qu'un seul graphe [211]. Ces deux représentations d'un même résultat sont complémentaires, chacune d'entre-elles montre un aspect particulier du diagramme d'impédance. Les tracés de Nyquist doivent être interprétés correctement pour déduire la résistance de la solution, les résistances de transfert de charge et la diffusion de Warburg, mais elle masque les résultats à hautes fréquences. Alors que la représentation de Bode offre la vision complète du domaine de fréquences, utile pour trouver les effets capacitifs ou inductifs des systèmes [212].

Les diagrammes de Nyquist seront davantage mentionnés dans cette partie car cette représentation donne une signification plus claire pour nos applications.

III.4 Décomposition de l'impédance en éléments électriques simples

L'analyse en fréquence de l'impédance électrochimique permettra de différencier les divers phénomènes élémentaires en fonction de leur fréquence caractéristique (ou constante de temps). Les phénomènes électrochimiques rapides (transfert de charge) sont observés dans le domaine de hautes fréquences, tandis que les phénomènes lents (diffusion, adsorption....) se manifestent aux basses fréquences [213].

D'un point de vue physique, l'impédance n'est qu'une résistance totalement complexe (mesurée en Ohms, Ω) qui apparaît lorsqu'un courant alternatif traverse un circuit composé de résistances, de condensateurs, d'inductances ou de toute combinaison de ceux-ci. En notation complexe, cette grandeur est composée d'une partie résistive/réelle attribuable aux résistances (en phase avec la tension appliquée) et une partie réactive/imaginaire attribuable à la contribution des condensateurs et/ou inducteurs [214].

Les données expérimentales générées par la méthode EIS sont généralement analysées en utilisant un modèle de circuit électrique équivalent. L'utilisation des grandeurs électriques autorise une étude cinétique qui permet de dissocier les couplages entre les divers phénomènes élémentaires. La plupart des éléments électriques utilisés dans ces circuits sont des éléments simples comme des résistances, des capacités et des inductances, placés en série et/ou en parallèle pour constituer un circuit électrique équivalent.

III.4.1 La résistance de la solution R_s

Les variations du potentiel et du courant dans l'électrolyte conduisent au concept de la chute ohmique décrite comme étant la résistance d'électrolyte R_s . Cette résistance est un facteur important contribuant à l'impédance globale de la cellule. R_s est indépendante de la fréquence et ne produit aucun déphasage [215]. L'impédance de la résistance de la solution est :

$$Z_{R_s} = R_s \tag{Eq.16}$$

Cette résistance dépend, principalement, de la résistivité de la solution (ρ en Ω cm), et de la constante de la cellule (l/A en cm^{-1}). De même, ρ dépend de la température, de la concentration et du type d'ions [216]. R_s est définie par l'équation 17.

$$R_s(\Omega) = \rho \frac{l}{A} \quad \text{Eq.17}$$

III.4.2 Impédance faradique

Le courant faradique est un courant associé au transfert de charge à une interface métal/solution. Ce transfert accompagne les réactions d'oxydation/réduction qui conduisent à une modification de la composition chimique. En considérant l'équation suivante :



L'impédance faradique (Z_F) peut être composée d'une résistance au transfert de charge R_{ct} et de l'impédance de diffusion appelée impédance de Warburg Z_w .

III.4.2.1 La résistance de transfert de charge R_{ct}

Dans le cas où la cinétique de réaction est limitée uniquement par le transfert de charge, l'impédance faradique Z_F se réduit donc à une seule résistance de transfert de charge notée R_{ct} à la limite des basses fréquences. La contribution faradique au courant mesuré est indépendante de la fréquence. En faisant l'hypothèse que le transfert de charge suit une loi exponentielle (loi de Tafel), l'impédance mesurée est donc :

$$Z_{R_{ct}} = R_{ct} \quad \text{Eq.19}$$

Au potentiel d'équilibre la résistance de transfert de charge s'écrit :

$$R_{ct} = \frac{RT}{nFi_0} \quad \text{Eq.20}$$

Avec :

R: Constante des gaz parfaits ($J.mol^{-1}.K^{-1}$), T: Température (K°), F: Constante de Faraday ($C.mo1^{-1}$), i_0 : Courant d'échange à l'équilibre (A), n: Nombre d'électrons mis en jeu dans la réaction.

A l'état d'équilibre, la vitesse de la réaction redox et le courant d'électrolyse sont nuls. Les concentrations interfaciales des espèces électroactives sont égales aux concentrations au sein de la solution. L'expression du courant associé est :

$$i_0 = nFA[K_{Ox}C_{Red} - K_{Red}C_{Ox}] \quad \text{Eq.21}$$

K_{Ox} et K_{Red} sont respectivement la constante de vitesse d'oxydation et de réduction, elles sont calculées par les relations suivantes :

$$K_{Ox} = k_{Ox} \exp\left(\alpha \frac{nF}{RT} E_{eq}\right) \quad \text{Eq.22}$$

$$K_{Red} = k_{Red} \exp\left((1 - \alpha) \frac{nF}{RT} E_{eq}\right) \quad \text{Eq.23}$$

k_{Ox} et k_{Red} sont des constantes, α : coefficient de transfert de charge cathodique, $1-\alpha$: coefficient de transfert de charge anodique.

Bien que le courant d'électrolyse soit nul, il y a un échange continu entre l'électrolyte et l'électrode à l'état d'équilibre. Les deux expressions équivalentes suivantes du courant d'échange i_0 sont tirées de la condition d'équilibre.

$$i_0 = nFAk_{Ox}C_{Red} \exp\left(\alpha \frac{nF}{RT} E_{eq}\right) = nFAk_{Red}C_{Ox} \exp\left((1 - \alpha) \frac{nF}{RT} E_{eq}\right) \quad \text{Eq.24}$$

E_{eq} est la tension d'équilibre donnée par la loi de Nernst :

$$E_{eq} = E_{Ox/Red}^0 + \frac{RT}{nF} \ln\left(\frac{C_{Ox}}{C_{Red}}\right) \quad \text{Eq.25}$$

Où : $E_{Ox/Red}^0$ désigne le potentiel standard du couple redox.

Des relations précédentes, on tire :

$$i_0 = nFAk^0 C_{Red}^\alpha C_{Ox}^{1-\alpha} \quad \text{Eq.26}$$

En posant :

$$k^0 = k_{Ox} \exp\left(\alpha \frac{nF}{RT} E_{Ox/Red}^0\right) = k_{Red} \exp\left((1 - \alpha) \frac{nF}{RT} E_{Ox/Red}^0\right) \quad \text{Eq.27}$$

k^0 est la constante de vitesse standard (cm/s).

III.4.2.2 Impédance de Warburg Z_w

Dans le cas d'une cinétique de type activation-diffusion, l'impédance ne peut pas être limitée à un simple transport de charge à l'interface électrode/électrolyte. Il est nécessaire de prendre en compte les phénomènes de diffusion provoqués par le déplacement d'ions. Dans ce cas, la résistance de transfert de l'impédance faradique Z_F est composée d'une résistance de transfert de charge R_{tc} et d'une impédance de diffusion connue sous le nom d'impédance de Warburg

Z_w . Cette dernière traduit le phénomène de diffusion pur qui reflète l'influence du transport de matière de l'espèce électroactive.

a. Couche de diffusion semi-infinie

Si la couche de diffusion est considérée comme semi-infinie, cas des solutions immobiles, l'impédance de Warburg prend la forme suivante [217]:

$$Z_W = \frac{A_W}{\sqrt{\omega}} (1 - j) \quad \text{Eq.28}$$

$$A_W = \frac{RT}{(nF)^2 A \sqrt{2}} \left(\frac{1}{C_{Red} \sqrt{D_{Red}}} + \frac{1}{C_{Ox} \sqrt{D_{Ox}}} \right) \quad \text{Eq.29}$$

Avec :

A : surface de l'électrode (cm²), A_w : coefficient de Warburg, $C_{Red/Ox}$: concentrations en solution des espèces appartenant au couple redox (mol/cm³), $D_{Red/Ox}$: coefficient de diffusion réducteur/ oxydant (cm²/s)

Lorsque les concentrations en solution $C_{Red} = C_{Ox} = C$, A_w peut être simplifié :

$$A_W = \frac{RT\sqrt{2}}{(nF)^2 AC\sqrt{D_s}} \quad \text{Eq.30}$$

$$D_s = \frac{2\sqrt{D_{Red}D_{Ox}}}{\sqrt{D_{Red}} + \sqrt{D_{Ox}}} \quad \text{Eq.31}$$

D_s étant le coefficient de diffusion global.

b. Couche de diffusion finie

Si la couche de diffusion a une épaisseur finie, ce qui se produit quand la variation de concentration des espèces actives suit le modèle de Nernst, l'impédance de Warburg est alors donnée par l'équation suivante [218]:

$$Z_W = \frac{RT}{(nF)^2 A} \left(\frac{\delta}{D_{Red}} \frac{\tanh(\sqrt{j\omega\tau_{Red}})}{C_{Red}\sqrt{j\omega\tau_{Red}}} + \frac{\delta}{D_{Ox}} \frac{\tanh(\sqrt{j\omega\tau_{Ox}})}{C_{Ox}\sqrt{j\omega\tau_{Ox}}} \right) \quad \text{Eq.32}$$

Pour un système redox où $D_{Ox}=D_{Red}=D$; $C_{Ox}=C_{Red}=C$, l'équation 32 devient :

$$Z_W = \frac{RT}{(nF)^2 A} \left(\frac{\delta}{D} \frac{\tanh(\sqrt{j\omega\tau})}{C\sqrt{j\omega\tau}} \right) \quad \text{Eq.33}$$

Avec :

$\tau = \frac{\delta^2}{D}$ le temps de diffusion (s), δ : l'épaisseur de la couche de diffusion (cm)

- Si $\delta \rightarrow \infty$, on retrouve l'impédance de Warburg pour une couche de diffusion semi-infinie
- Quand $\omega \rightarrow 0$, l'impédance prend alors une valeur particulière appelée résistance de polarisation $R_p = R_s + R_{ct} + R_d$ dont R_d est une résistance de diffusion.

III.4.3 Impédance capacitive

Le courant capacitif est celui associé à la charge ou la décharge de la double couche électrochimique. Le courant capacitif n'entraîne pas de changement dans la composition chimique, mais seulement dans la répartition des charges électriques interfaciales. Lorsqu'un métal est placé en contact d'un électrolyte à un potentiel donné, une interface électrique est immédiatement développée. La zone de l'interface métal/solution où existe des espèces chargées est appelée la double couche électrique qui se comporte alors comme un condensateur électrique caractérisé par une capacité C_{dl} . Celle-ci dépend des caractéristiques diélectriques et isolantes de l'interface électrode/électrolyte [219]. L'impédance d'un condensateur de capacité C_{dl} ($F\ cm^{-2}$) est donnée par l'équation :

$$Z_{C_{dl}} = \frac{1}{j\omega C_{dl}} \quad \text{Eq.34}$$

$$C_{dl} = \varepsilon \varepsilon_0 \frac{A}{\delta} \quad \text{Eq.35}$$

Où $\varepsilon_0 = 8.85 \cdot 10^{-10}$ F/cm est la constante diélectrique du vide, ε est la constante diélectrique effective de l'électrolyte, A est la surface de l'électrode et δ est l'épaisseur de la double couche électrique.

En effet, il est établi que des hétérogénéités de surface des électrodes modifiées (rugosité, porosité, présence d'impuretés, absorption sur la double couche...) peuvent être à l'origine d'une dispersion en fréquence des spectres d'impédance [220]. Dans ces cas, des éléments à phases constantes (CPE) (en anglais Constant Phase Element) sont utilisées à la place des capacités pour prendre en compte la non-idéalité du système. Dans la littérature, différentes définitions ont été proposées. La formule du CPE souvent utilisée pour l'ajustement est définie par l'équation [221] :

$$Z_{CPE} = \frac{1}{Q(j\omega)^n} \quad \text{Eq.36}$$

Où : Q en ($s^n \Omega^{-1}$) ou ($F s^{(n-1)}$) représente le coefficient de CPE, $-1 \leq n \leq 1$ est le facteur de correction.

En particulier, Z_{CPE} représente une inductance si $n = -1$, une résistance si $n = 0$, une impédance de Warburg si $n = 0.5$ et une capacité si $n = 1$ [222,223].

III.4.4 Effet inductif

La signification du comportement inductif reste incompréhensible. Des phénomènes ont été proposés comme signification à ce comportement, tels que les mécanismes d'adsorption/désorption et la présence d'inhibiteurs en corrosion, mais cela ne peut pas être une explication universelle. Si un condensateur domine l'impédance, celle-ci est au-dessus de l'axe réel. Mais si une inductance est dominante, l'impédance passe en dessous de l'axe réel. L'impédance d'un inducteur (Z_L) de l'inductance L ($\Omega s \text{ cm}^2$) est donnée par l'équation suivante [224,225]:

$$Z_L = j\omega L \quad \text{Eq.37}$$

III.5 Impédance globale Z

L'impédance totale (Z) d'un circuit avec de nombreux composants placés en série est la somme de différentes impédances :

$$Z = Z_1 + Z_2 + \dots + Z_n \quad \text{Eq.38}$$

Pour les composantes placées en parallèle dans le circuit électrique équivalent, l'admittance totale est la somme de différentes admittances :

$$\frac{1}{Z} = \frac{1}{Z_1} + \frac{1}{Z_2} + \dots + \frac{1}{Z_n} \quad \text{Eq.39}$$

III.6 Circuit équivalent associé à un système électrochimique

Le circuit équivalent le plus simple, appelé circuit de Randles, est représenté sur la figure 15. Il fait apparaître les éléments associés à la mesure électrochimique à une interface électrode/solution, à savoir : la résistance R_s de l'électrolyte, la capacité de double couche C_{dl} et l'impédance faradique comprenant la résistance au transfert de charge R_{tc} et la diffusion de Warburg Z_w .

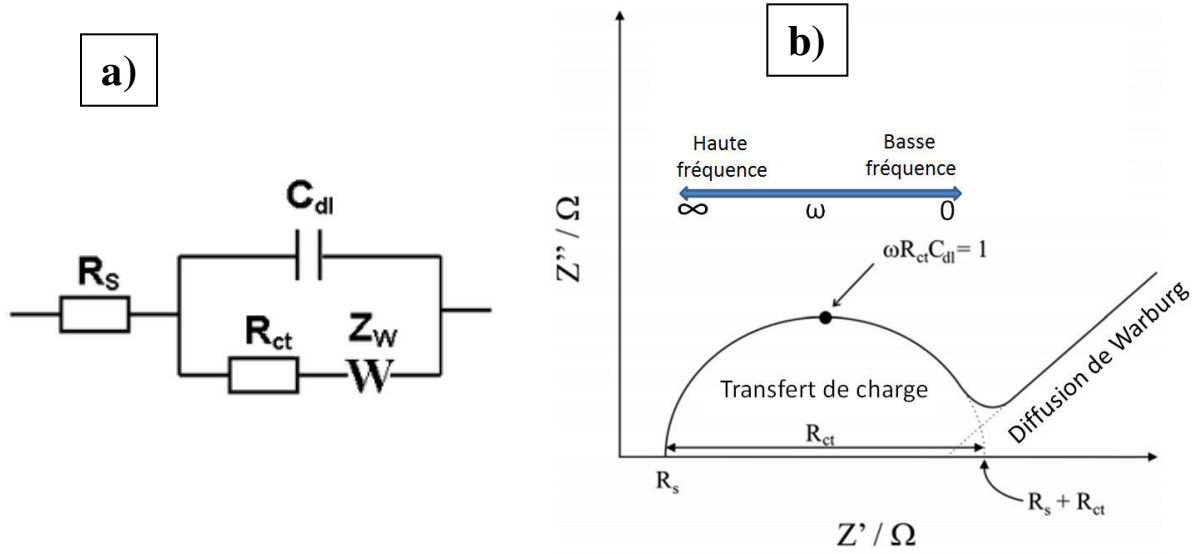


Figure 15 : Circuit équivalent de Randles (a) et le diagramme d'impédance équivalent (b) de l'interface électrode/électrolyte en présence d'une réaction électrochimique.

L'impédance globale équivalente au circuit de la figure 15 est donnée par :

$$Z = R_s + \frac{a}{c} - j \frac{b}{c} \quad \text{Eq.40}$$

$$a = \left(R_{ct} + \frac{A_W}{\sqrt{\omega}} \right) \left(1 + C_{dl} \omega \frac{A_W}{\sqrt{\omega}} \right) - \frac{A_W}{\sqrt{\omega}} \left(R_{ct} C_{dl} \omega + C_{dl} \omega \frac{A_W}{\sqrt{\omega}} \right) \quad \text{Eq.41}$$

$$b = \frac{A_W}{\sqrt{\omega}} \left(1 + C_{dl} \omega \frac{A_W}{\sqrt{\omega}} \right) + \left(R_{ct} C_{dl} \omega + C_{dl} \omega \frac{A_W}{\sqrt{\omega}} \right) \left(R_{ct} + \frac{A_W}{\sqrt{\omega}} \right) \quad \text{Eq.42}$$

$$c = \left(1 + C_{dl} \omega \frac{A_W}{\sqrt{\omega}} \right)^2 + \left(R_{ct} C_{dl} \omega + C_{dl} \omega \frac{A_W}{\sqrt{\omega}} \right)^2 \quad \text{Eq.43}$$

L'impédance globale Z tend vers R_s lorsque $\omega \rightarrow \infty$, et vers $(R_s + R_{ct})$ lorsque $\omega \rightarrow 0$.

A haute fréquence, l'impédance faradique est limitée uniquement par le transfert de charge, l'impédance de Warburg est négligeable ($A_W \approx 0$), l'équation 40 devient [218]:

$$Z = R_s + \frac{R_{ct}}{1 + (R_{ct} C_{dl} \omega)^2} - j \frac{R_{ct}^2 C_{dl} \omega}{1 + (R_{ct} C_{dl} \omega)^2} \quad \text{Eq.44}$$

$$\text{Que l'on peut décomposer en : } \begin{cases} Z' = R_s + \frac{R_{ct}}{1 + (R_{ct} C_{dl} \omega)^2} \\ Z'' = \frac{R_{ct}^2 C_{dl} \omega}{1 + (R_{ct} C_{dl} \omega)^2} \end{cases} \quad \text{Eq.45}$$

L'équation 44 peut s'écrire sous la forme :

$$\left[Z' - \left(R_s + \frac{R_{ct}}{2} \right) \right]^2 + (Z'')^2 = \left(\frac{R_{ct}}{2} \right)^2 \quad \text{Eq.46}$$

Qui est l'équation d'un cercle de rayon $R_{ct}/2$ centré à $(R_s + R_{ct}/2)$ sur l'axe réel. Le sommet du demi-cercle est atteint pour $Z'' = R_{ct}/2$, soit lorsque $\omega R_{ct} C_{dl} = 1$. Ainsi, ce point permet de déterminer la capacité de double couche.

Conclusion

La spectroscopie d'impédance électrochimique est un outil analytique efficace pour caractériser les propriétés à l'interface électrode/électrolyte. Elle est utile en tant que procédure d'analyse, mais elle peut aussi contribuer à l'interprétation des processus électrochimique et électroniques fondamentaux. Il existe une variété presque infinie de réactions et d'interfaces qui peuvent être étudiées (corrosion, revêtements, polymères conducteurs, batteries et piles à combustible, semi-conducteurs, réactions électro-catalytiques, réactions chimiques couplées à des processus faradiques, etc.) [218]. L'EIS a été utilisée pour étudier et prédire certains aspects de la performance des capteurs électrochimiques [226,227]

Les données d'impédance obtenues expérimentalement pour un système donné peuvent être analysées en utilisant un modèle mathématique exact basé sur des théories physiques, ou par un circuit équivalent relativement empirique qui peut prédire l'impédance théorique. L'analyse de la réponse d'impédance observée, conduit à des estimations des paramètres microscopiques comme par exemple la mobilité des charges, les concentrations et le transfert d'électrons. Les paramètres sont estimés par la comparaison entre l'impédance expérimentale et l'impédance théorique. Plus abordable et facilement interprétable que les techniques électrochimiques classiques, la spectroscopie d'impédance électrochimique est de plus en plus utilisée et il est désormais possible d'acquérir, de valider et d'interpréter quantitativement les impédances expérimentales.

Objectif de la thèse

L'objectif de cette thèse est la mise en œuvre d'une étude expérimentale et théorique de capteurs pour l'analyse de la pollution aquatique par le glyphosate. Les recherches sont axées sur le développement de capteurs électrochimiques à base du chitosane à empreintes moléculaires pour une détection spécifique et sensible du GLY.

La mise au point de capteurs performants pour un suivi de la pollution aquatique, nécessite une approche expérimentale méthodique mais aussi une étude théorique consistante. Ces deux voies d'investigations complémentaires permettront de maîtriser aussi bien le schéma de fabrication, le contrôle des conditions opératoires, l'amélioration des propriétés métrologiques ou même la prévision des réponses futures de ces capteurs.

L'étude expérimentale se fera en premier lieu par la caractérisation de la matrice du biofilm immobilisé sur l'électrode formant le transducteur. Ces caractérisations ont fait appel aux techniques électrochimiques (voltampérométrie, impédancemétrie) et à la Microscopie Electronique à Balayage (MEB).

La spectroscopie d'impédance électrochimique (EIS) est la méthode de détection choisie dans notre étude. Cette méthode consiste à imposer une perturbation sinusoïdale en potentiel à l'électrode de travail et à mesurer la réponse en courant également sinusoïdale. Il est possible de relier les résultats des mesures aux propriétés physiques et chimiques du matériau et cela à travers une modélisation de la réponse par des circuits électriques équivalents adaptés. La réponse de ces capteurs 'miniaturisés' est étroitement liée à la présence des empreintes moléculaires spécifiques sur le film du bio-polymère à la surface de la macro-électrode de travail, et elle est aussi liée aux facteurs inhérents à la structure même du capteur et à son mode de fonctionnement.

La volonté de comprendre les mécanismes intrinsèques de fonctionnement de ces instruments de mesure, ou pour ouvrir de nouvelles voies dans la mise en œuvre de nouveaux procédés de conception, nécessite alors une connaissance approfondie de tous les paramètres entrant en jeu. Les données d'impédance obtenues expérimentalement peuvent être analysées en utilisant un modèle mathématique exact basé sur des théories physiques. La modélisation mathématique qui est ciblée par cette thèse est un outil incontournable que ce soit pour la compréhension des mécanismes intrinsèques de fonctionnement de ces capteurs, ou pour l'optimisation des différents paramètres. Néanmoins, un modèle 'fiable' est celui qui permet de simuler le capteur dans les conditions réelles.

**CHAPITRE 2 : DEVELOPPEMENT DES MICRO-CAPTEURS
IMPEDANCE-METRIQUES SENSIBLES AU GLYPHOSATE**

Introduction

Ce chapitre est consacré à la description des matériaux, méthodes et techniques expérimentales employés tout au long de la thèse. Seront aussi abordés les différents matériels, matériaux et produits chimiques utilisés et qui sont introduits dans la première partie. Par la suite, seront détaillées les méthodes utilisées pour le développement des micro-capteurs.

I Matériels et méthodes

I.1 Matériaux et réactifs

- Le chitosane : degré de désacétylation 80,0% -95%, poids moléculaire $M_w=250$ KDa.
- Le polypyrrole
- L'acide acétique (CH_3COOH).
- L'acide sulfurique (H_2SO_4).
- L'acide chlorhydrique (HCl).
- Le méthanol (CH_3OH).
- L'éthanol ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$).
- L'acétonitrile ($\text{C}_2\text{H}_3\text{N}$).
- L'hydroxyde de sodium (NaOH).
- Le 1-éthyl-3-(3-diméthylaminopropyl) carbodiimide (EDC) ($\text{C}_8\text{H}_{17}\text{N}_3$).
- L'acide 4-aminophénylacétique (CMA) ($\text{C}_8\text{H}_9\text{NO}_2$).
- Le nitrite de sodium (NaNO_2).
- Le glyphosate ($\text{C}_3\text{H}_8\text{NO}_5\text{P}$).
- Le gluphosinate-ammonium ($\text{C}_5\text{H}_{12}\text{NO}_4\text{P}$).
- Le chlorpyrifos ($\text{C}_9\text{H}_{11}\text{Cl}_3\text{NO}_3\text{PS}$).
- Le phosmet ($\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{NO}_4\text{PS}_2$).
- Le tampon phosphate salin.
- L'hexacyanoferrate de potassium (III) ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$).
- L'hexacyanoferrate de potassium (II) trihydraté ($\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$).

Tous ces produits ont été fournis par Sigma Aldrich, France.

- Le N-hydroxysuccinimide (NHS) ($\text{C}_4\text{H}_5\text{NO}_3$) a été acheté auprès d'Acros Organics, France

- Le Césium cosane (Cs [3,3-Co (1,2-C₂B₉H₁₁)₂]) a été acheté auprès de Katchem spol. s r.o, République tchèque.

I.2 Appareils et dispositifs

- Un transducteur fabriqué au Centre National de Microélectronique (CNM), CSIC, Barcelone, Espagne. Il contient un réseau de quatre microélectrodes de travail en or nu (WE) ($s = 0,64 \text{ mm}^2$), une contre-microélectrode (CE) ($s = 0,13 \text{ mm}^2$) et deux microélectrodes de référence Ag / AgCl (RE) ($s = 1,37 \text{ mm}^2$) (Fig.16.a).
- Un potentiostat multicanal (Biologic-EC-Lab VMP3) (Fig.16.a).
- Un pH-mètre: Mettler Toledo FE20/EL20.
- Microscopie électronique à balayage (MEB) FEI Quanta FEG 250 de l'Université de Lyon 1, France.
- UV/Ozone ProCleaner.

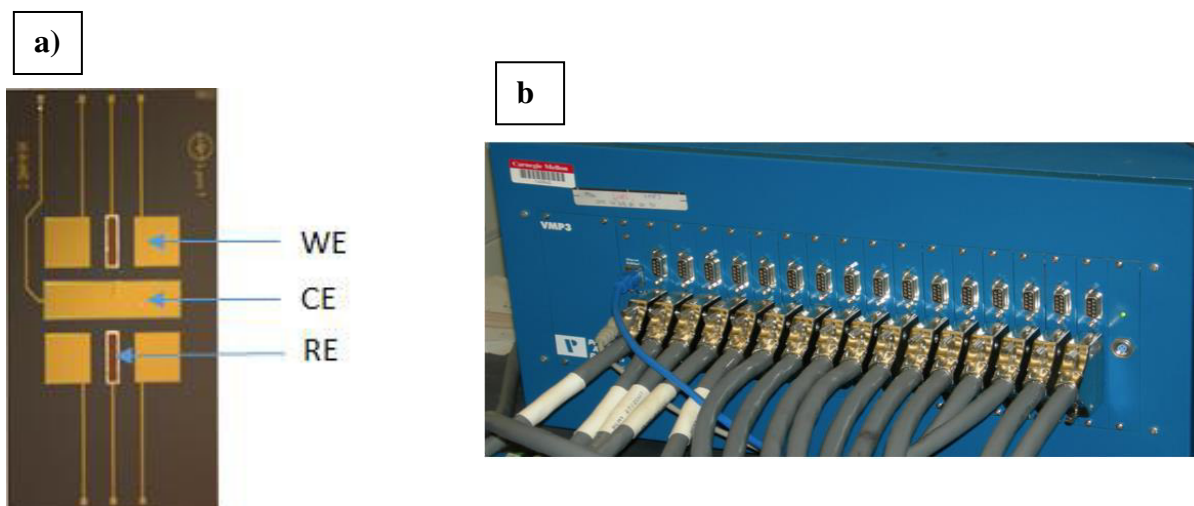


Figure 16 : **a)** Transducteur contenant un réseau de quatre microélectrodes de travail en or nu (WE) $s = 0,64 \text{ mm}^2$, une contre-microélectrode (CE) $s = 0,13 \text{ mm}^2$ et deux microélectrodes de référence Ag / AgCl (RE) $s = 1,37 \text{ mm}^2$. **b)** Potentiostat multicanal (Biologic-EC-Lab VMP3).

I.3 Mesures électrochimiques

Toutes les étapes de la modification des microélectrodes de travail en or ont été caractérisées par des techniques de voltampérométrie cyclique (CV) et de spectroscopie d'impédance électrochimique (EIS). Toutes les mesures ont été effectuées dans la solution tampon phosphate salin (souvent abrégé PBS, de l'anglais Phosphate Buffered Saline) à 5 mM en ferro-ferricyanure ($[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$).

Pour l'étape de détection, les microcapteurs ont été immergés dans de l'eau contenant différentes concentrations de GLY (0,31 pg/mL à 50 ng/mL) pendant 30 min, puis ils ont été caractérisés par EIS.

II Développement d'une membrane de chitosane à empreintes moléculaires sensible au glyphosate.

Dans cette partie, un nouveau microcapteur de spectroscopie d'impédance électrochimique basé sur le chitosane à empreintes moléculaires a été développé pour la détection sensible de glyphosate (CS-MIPs/Au). Des polymères non imprimés (CS-NIP/Au) ont également été préparés dans des conditions identiques afin d'évaluer les adsorptions non spécifiques. Les propriétés des CS-MIPs/Au et des CS-NIP/Au ont été caractérisées par spectroscopie d'impédance électrochimique, voltampérométrie cyclique (CV) et par microscopie électronique à balayage (MEB).

II.1 Préparation du CS-MIPs/Au et CS-NIP/Au

1 g de poudre de chitosane a été dissous dans 100 mL d'acide acétique 0,1 M et passé aux ultrasons pendant 6 heures à température ambiante, puis le pH de la solution a été ajusté à 5 en utilisant du NaOH 0,1M. Le pH 5 est considéré comme pH optimal de l'électrodéposition [182,185].

Un système de suspension GLY-CS 1 mg/mL a été préparé en dispersant 10 mg de GLY dans 10 mL de la solution du chitosane avec un rapport template/monomère égal à 1/10. Le mélange est maintenu sous agitation pendant 2 heures afin de favoriser les interactions entre le glyphosate et le chitosane.

Les microélectrodes ont été rincées sous ultrasons dans l'éthanol, dans l'eau désionisée pendant 10 min puis aux UV/ozone pendant 30 min. La suspension GLY-CS a été déposée en utilisant la voltampérométrie cyclique (CV) pour 15 cycles dans la plage de -1,5 à 0,5 V à une vitesse de balayage de 80 mV/s. L'intensité du pic cathodique observé, caractérisant l'électrodéposition du polymère, diminue progressivement à chaque balayage successif (Fig.17). Cette diminution est due au blocage de la surface de la microélectrode d'or par le biopolymère isolant. Au-delà de 15 scans, l'intensité du pic varie de manière insignifiante ce qui nous a permis de fixer le nombre de scans à 15. Après l'électrodéposition, les microélectrodes ont été rincées avec l'eau déionisée et séchées à l'azote.

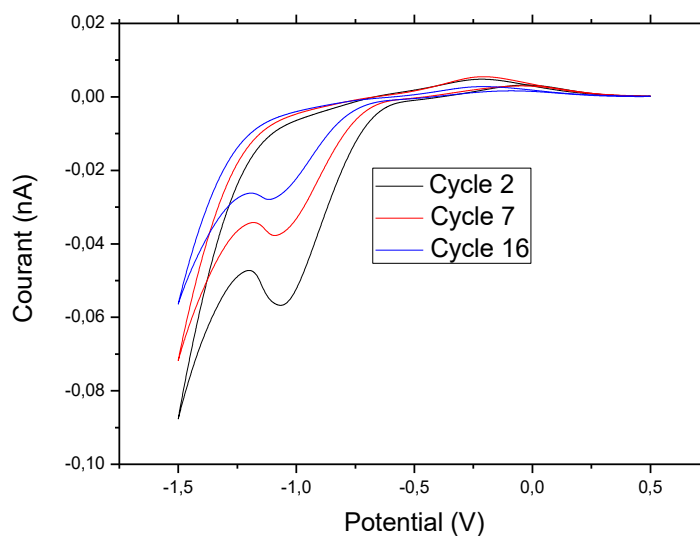


Figure 17 : Voltammogrammes d'électrodéposition du chitosane avec 15 cycles dans la plage de -1,5 à 0,5 V à une vitesse de balayage de 80 mV/s.

L'électrodéposition a été suivie d'une étape de réticulation, qui consiste à incuber le (GLY+CS)/Au dans une solution de H₂SO₄ 0,5 M. Lors de cette réticulation des liaisons ioniques se forment entre les ions sulfate de l'acide sulfurique et les ions ammonium du chitosane, Le mécanisme de réticulation du chitosane avec l'acide sulfurique est présenté sur la figure 18 [171].

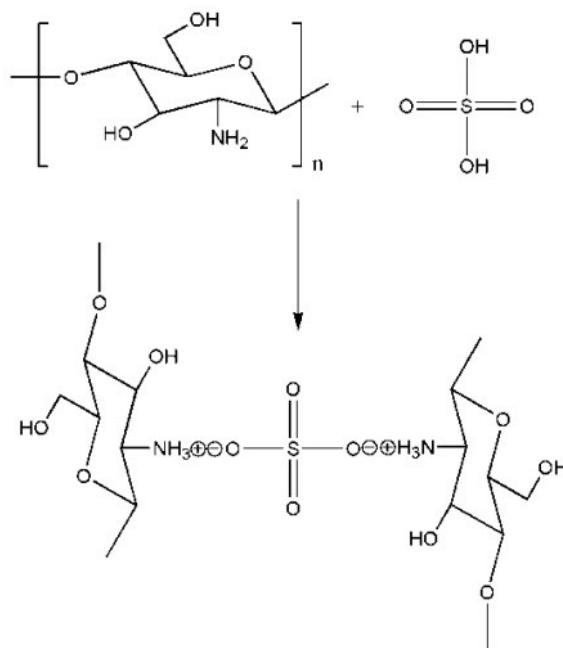


Figure 18 : Mécanisme de réticulation du chitosane avec l'acide sulfurique.

La microélectrode est caractérisée par voltamétrie cyclique, de 0 à 0,35 V à une vitesse de balayage de 80 mV/s dans le ferro-ferricyanure 5 mM, pour différents temps de réticulation. Sur la figure 19, une diminution plus importante des pics d'oxydo-réduction est observée pour un temps de réticulation de 1h par rapport à celui de 30 min. Cette diminution est due au blocage de la surface, provoqué par la réticulation de la matrice chitosane/glyphosate. Une légère variation de la voltamétrie cyclique est observée pour les temps de réticulation de 1h et 2h. Ainsi, le temps de réticulation optimal choisi est de 1h.

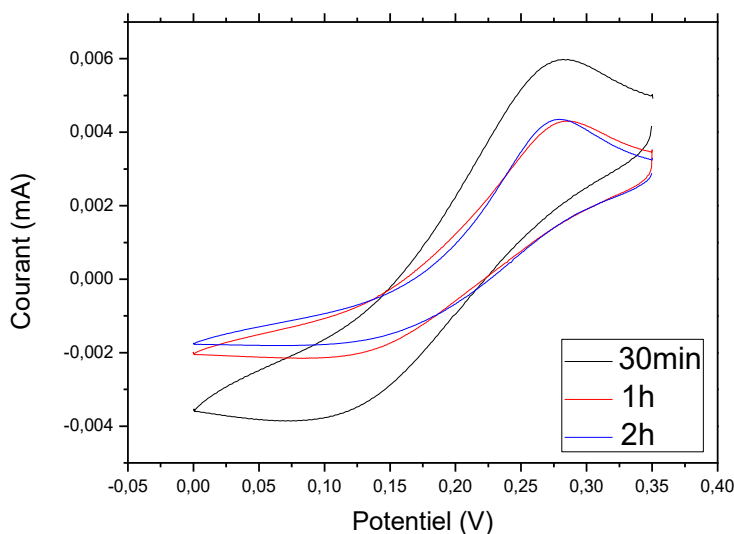


Figure 19 : Voltammogrammes du CS-MIPs/Au pour différents temps de réticulation dans le PBS à 5 mM $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$ de 0 à 0,35 V avec une vitesse de 80 mV/s.

Après la réticulation, les microélectrodes sont incubées dans une solution d'acide acétique/méthanol (1: 1, v/v) pour extraire le GLY de la matrice. Sur la figure 20 nous avons représenté les Voltammogrammes de CS-MIPs/Au obtenus dans le ferro-ferricyanure 5 Mm de 0 à 0,35 V à une vitesse de balayage de 80 mV/s, pour différents temps d'extraction. Une augmentation importante des pics d'oxydo-réduction est observée pour le temps d'extraction de 30 min par rapport à 15 min. En effet, la membrane devient plus favorable au transfert de charge en raison de la libération des molécules de GLY. Ensuite, une variation négligeable est enregistrée entre les temps d'extractions de 30 min et 45 min, indiquant que le temps optimal pour extraire le maximum de templates est de 30 min.

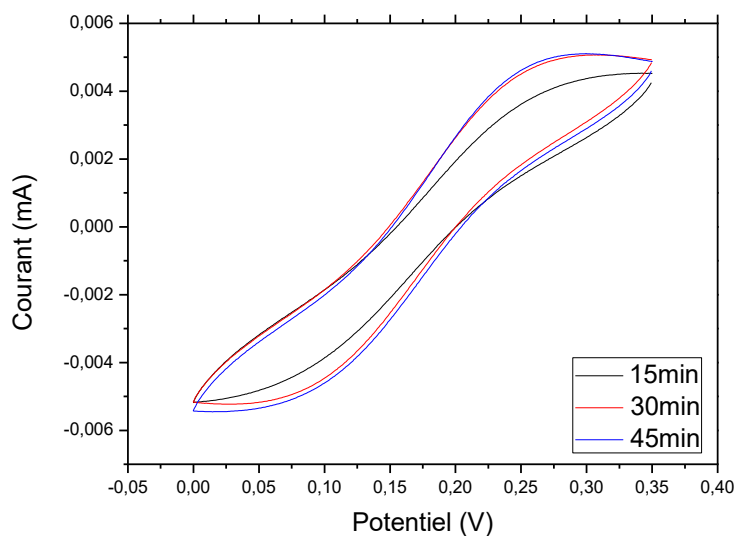


Figure 20 : Voltammogrammes du CS-MIPs/Au pour différents temps d'extraction de GLY dans le PBS à 5 mM $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$ de 0 à 0,35 V avec une vitesse de 80 mV/s..

Ainsi, un capteur électrochimique basé sur un film de chitosane à empreintes moléculaires (CS-MIPs/Au) est aussi développé. Le processus est illustré à la figure 21. Un microcapteur non imprimé (CS-NIP/Au) a été développé en suivant des étapes similaires à celles des électrodes CS-MIPs/Au avec une seule différence majeure, le mélange CS pour le NIP ne contenait pas de GLY. Enfin, les capteurs ont été stockés à température ambiante pour une utilisation future.

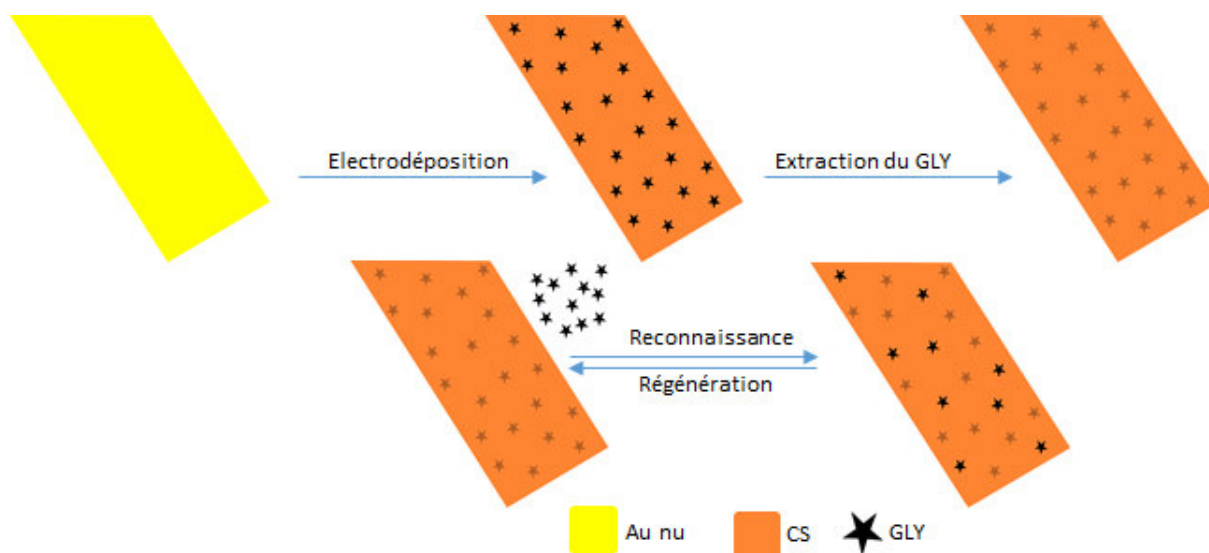


Figure 21 : Préparation de CS-MIPs/Au et sa reconnaissance pour le GLY.

II.2 Caractérisation électrochimique de CS-MIPs/Au et de CS-NIP/Au

La Spectroscopie d'Impédance Electrochimique (EIS) est une méthode efficace pour caractériser les changements de la surface de l'électrode dans le processus de modification. Les EIS comprennent une partie demi-cercle à des fréquences plus élevées correspondant au processus de limitation du transfert d'électrons (R_{ct}) et une partie linéaire aux basses fréquences représentant le processus de diffusion. Ceci est connu comme le circuit de Randles comme le montre la figure 22, où R_s est la résistance d'électrolyte, CPE est relatif aux éléments à phase constante qui représentent une capacitance non-idéale, R_{ct} est la résistance de transfert de charge (électron) et Z_w est l'impédance de Warburg. La sélection du circuit équivalent dépend également des interfaces du tracé de Nyquist pour produire la plus petite erreur exprimée dans l'écart-type (X^2).

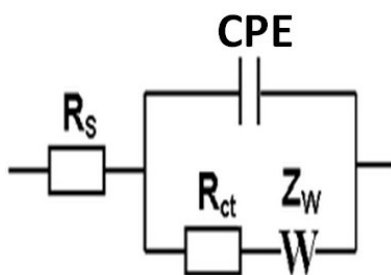


Figure 22 : Schéma du circuit de Randles.

Comme le montre la figure 23, la microélectrode Au nue présente une faible résistance au transfert de charge pour $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ ($R_{ct} = 329,4 \text{ Ohm}$) (Fig.23.a). L'électrodéposition de CS sous forme de film MIPs sur la surface de la microélectrode Au entraîne une augmentation évidente du $\text{Re}(Z)$ ($R_{ct} = 39403 \text{ Ohm}$) (Fig.23.c). Si nous comparons avec le film NIP (Fig.23.b), un $\text{Re}(Z)$ plus grand est observé pour le film MIPs, ce qui peut démontrer que le film MIPs est plus épais que le film NIP ($R_{ct} = 9490 \text{ Ohm}$). Après extraction du template, une diminution significative de l'impédance est observée ($R_{ct} = 6992 \text{ Ohm}$) (Fig.23.d). De plus, une résistance au transfert de charge plus faible est observée par rapport à celle de NIP, cette différence est due aux cavités imprimées, qui favorisent le transfert d'électrons. Les paramètres d'ajustement sont présentés dans le tableau 9 pour les différentes étapes de la modification de l'électrode.

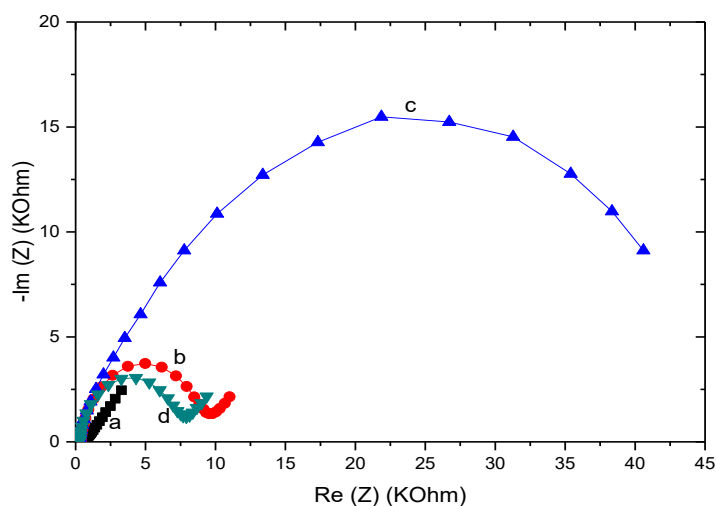


Figure 23 : EIS d'Au nu (a), NIPs/Au (b), MIPs/Au avant l'extraction du GLY (c), MIPs/Au après l'extraction du GLY (d), dans le PBS à 5 mM $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$, potentiel initial $E = 0,2$ V. Freq = 100 kHz à 1 Hz.

Tableau 9 : Paramètres d'ajustement obtenus à partir du circuit équivalent $R_s + CPE / (R_{ct} + Z_w)$ pour les différentes étapes de la modification de l'électrode.

EIS	R_s (Ohm)	R_{ct} (Ohm)	$CPE \cdot 10^6$ (F.s ^{a-1})	Z_w (Ohm.s ^{-1/2})	X^2
Au	474,2	329,4	0,39	5025	0,002
CS-MIPs Avant l'extraction du GLY	216,8	39403	1,17	13524	0,063
CS-MIPs Après l'extraction du GLY	259,6	6992	0,26	5366	0,049
NIP	258,8	9490	0,22	5425	0,003

Ceci est en outre confirmé par la voltampérométrie cyclique (CV) qui a été utilisée pour évaluer la réponse actuelle du WE dans un ferro-ferricyanure et en exécutant le CV de 0 à 0,35 V à une vitesse de balayage de 80 mV/s. Les courbes CV (Fig.24) montrent les mêmes comportements que ceux observés précédemment en utilisant des mesures d'impédance.

Le voltammogramme montre comment les pics d'oxydoréduction diminuent en termes d'intensité de courant après l'électrodéposition du chitosane-MIPs (Fig.24.c) par rapport à l'électrode nue (Fig.24.a) (une diminution du pic d'oxydation de 23 μA à 3,6 μA), ce qui diminue les propriétés de transfert de charge électrique de la microélectrode. Comme l'intensité des pics d'oxydoréduction observée pour le film MIPs est plus faible que celle du film NIP (Fig.24.b) ($I_a = 4,5 \mu\text{A}$), ce dernier peut être supposé plus mince que celui de MIPs. Après extraction du GLY de la matrice, une augmentation significative des pics d'oxydoréduction a été observée (Fig.24.d) ($I_a = 6,2 \mu\text{A}$). Le tableau 10 résume les différentes valeurs du courant anodique (I_a), du potentiel anodique (E_a), du courant cathodique (I_c) et du potentiel cathodique (E_c) pour chaque voltammogramme.

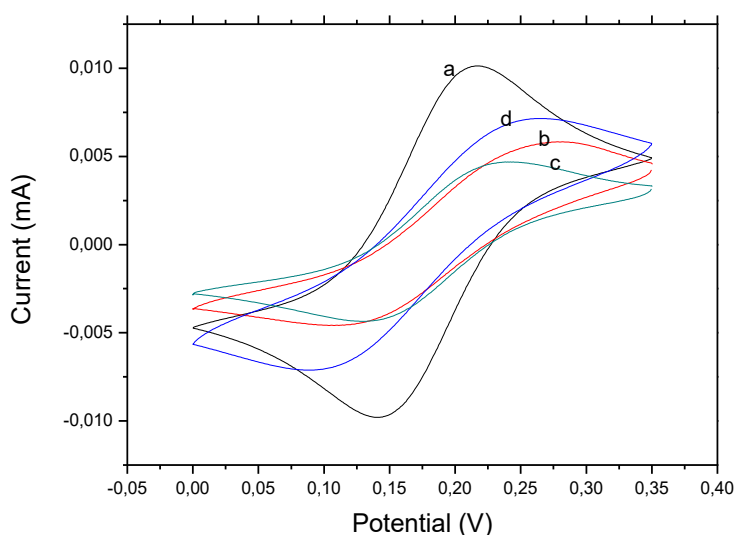


Figure 24 : CV de Au nu (a), NIP/Au (b), MIPs/Au avant l'extraction du GLY (c), MIPs/Au après extraction du GLY (d). Dans le PBS à 5 mM $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$, de 0 à 0,35 V à une vitesse de balayage de 80 mV/s.

Tableau 10 : Valeurs des paramètres des voltammogrammes pour les différentes étapes de la modification de l'électrode.

CV	I_a (μA)	E_a (V)	I_c (μA)	E_c (V)
Au	12	0,22	-10	0,14
CS-MIPs Avant l'extraction du GLY	3,6	0,23	-4,3	0,13

CS-MIPs Après l'extraction du GLY	6,2	0,26	-6,3	0,10
NIP	4,5	0,28	-4,1	0,12

II.3 Le taux de recouvrement du CS-MIPs/Au

Afin de déterminer le taux de recouvrement de surface de la microélectrode CS-MIPS, des mesures EIS avant et après l'électrodéposition de CS sont effectuées. Le taux de couverture d'environ 99,2% est estimé en utilisant l'équation $1 - R_{ct(Au\ nu)}/R_{ct(électrode\ fonctionnalisée)}$ [228].

II.4 Morphologie de surface

La microscopie électronique à balayage (MEB) a été utilisée pour étudier les morphologies de surface des CS-MIPs/Au et CS-NIP/Au. La morphologie de la micro-électrode modifiée avec CS-MIPs (Fig.25.b) est complètement différente (particules agglomérées d'environ 40 nm de diamètre) par rapport à l'or nu (Fig.25.a), ce qui indique le succès de l'électrodéposition du chitosane. Avec le MEB, il est difficile de voir la différence de morphologie entre les MIPs (Fig.25.b) et ceux de NIP (Fig.25.c) car le diamètre des cavités formées par le template est de l'ordre de quelques nanomètres.

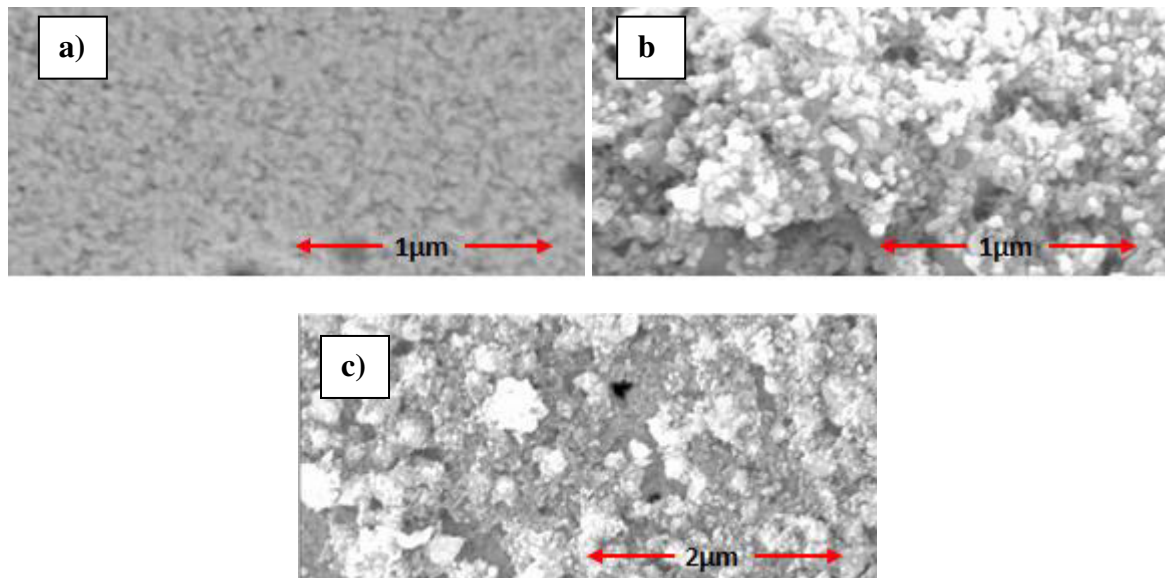


Figure 25 : Les images de MEB. a) Au nu, b) CS-MIPs/Au, c) CS-NIP/Au.

II.5 Caractérisation de l'extraction du GLY

La mesure du spectre UV de la solution méthanol/acide acétique (1:1 v/v) a été prise avant et après l'extraction de GLY du film de chitosane (fig.26). Un pic à 265 nm est observé après l'étape d'élimination du GLY. Le pic correspondant au spectre d'absorption de GLY [229], indique que le GLY est éliminé de la matrice par extraction au solvant. Par conséquent, les empreintes spécifiques laissées dans le film de chitosane peuvent se lier de manière sélective à la molécule cible.

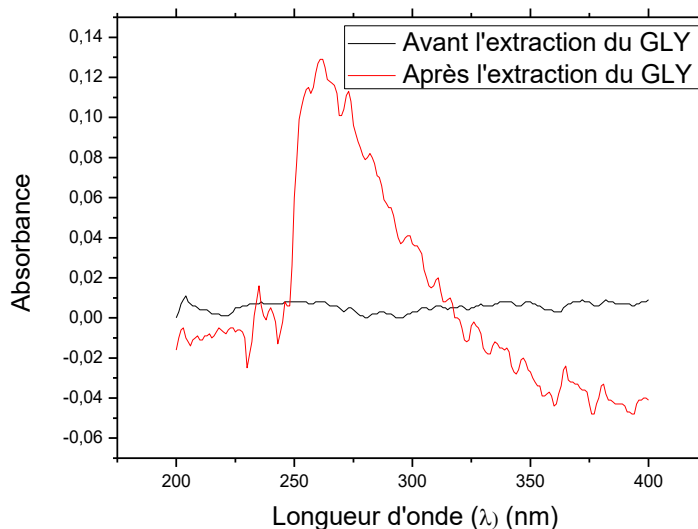


Figure 26 : Spectres UV de la solution méthanol/acide acétique avant et après l'extraction du GLY.

II.6 Réponses électrochimiques du CS-MIPs/Au

Comme le montre la figure 27, une augmentation progressive de l'EIS est observée avec l'augmentation de la concentration de GLY, indiquant une corrélation entre la concentration de GLY et l'impédance de l'électrode/interface. Les valeurs des paramètres du circuit équivalent rassemblées dans le tableau 11 sont extrapolées par ajustement.

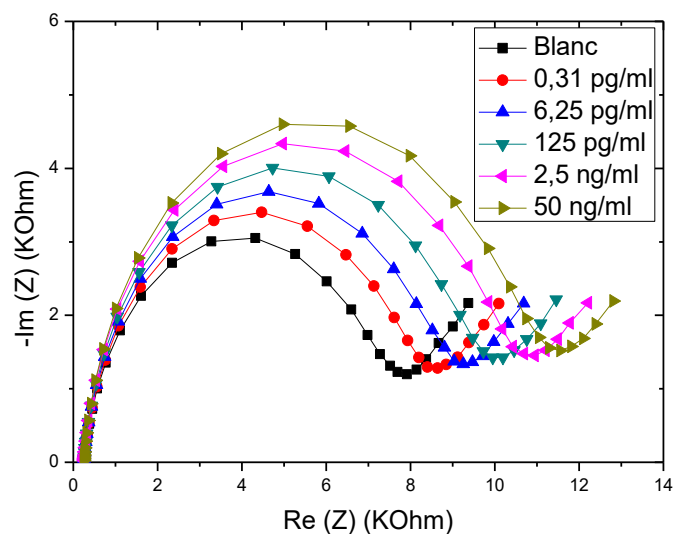


Figure 27 : EIS du CS-MIPs/Au avant la pré-concentration et après incubation dans différentes concentrations du GLY, dans PBS à 5 mM $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$ avec potentiel initial $E = 0,2$ V et $Freq = 100$ kHz à 1 Hz.

Tableau 11 : Paramètres d'ajustement de la réponse impédancemétrique du CS-MIPs obtenus à partir du circuit équivalent $R_s + CPE / (R_{ct} + Z_w)$.

Concentration	R_s (Ohm)	$CPE \cdot 10^7$ ($F \cdot s^{a-1}$)	R_{ct} (Ohm)	n	Z_w ($Ohm \cdot s^{-1/2}$)	X^2
Blanc	259,6	2,596	6992	0,90	5366	0,004
0,31 pg/mL	254,6	2,412	7745	0,90	5340	0,005
6,25 pg/mL	251,5	2,327	8403	0,89	5239	0,007
125 pg/mL	243,5	2,297	9099	0,90	5224	0,006
2,5 ng/mL	237,7	2,171	9883	0,91	5177	0,003
50 ng/mL	244,3	2,089	10987	0,91	5228	0,011

La variation relative de la résistance au transfert de charge de chaque électrode est présentée en utilisant l'équation suivante $|R_{ct} - R_{ct(Blanc)}| / R_{ct(Blanc)}$ ($\Delta R/R$). Ce paramètre est linéairement proportionnel à la valeur logarithmique des concentrations de GLY dans la plage de 0,31 pg/mL à 50 ng/mL, comme le montre la figure 29, avec un coefficient de corrélation de 0,991. L'équation de régression linéaire est: $\Delta R/R = 0,087 \log [GLY] + 0,673$

La limite de détection (LOD) du capteur considéré a été estimée à 0,001 pg/mL. La LOD a été obtenue à partir de l'équation $3S/m$ [230], où S est l'écart-type résiduel de la régression linéaire et m est la pente de la droite de régression. Les résultats ont révélé la faible limite de détection et une sensibilité élevée de CS-MIPs/Au.

Les performances analytiques du capteur CS-MIPs/Au ont été comparées à d'autres capteurs MIPs utilisés pour la détection du GLY rapportés dans la littérature (tableau 12). À notre connaissance, ce capteur avait un LOD inférieur à la plupart des capteurs précédemment rapportés.

Tableau 12 : comparaison des paramètres analytiques du microcapteur proposé avec d'autres capteurs de la littérature.

Echantillon	Electrode	Polymer	méthode	Gamme linéaire	LOD	Réf
Aqueux	MIPs- GNPs- PGE	MCA	DPASV	3,98-0,54 ng/mL	0,35 ng/mL	[61]
Aqueux	MIPs/Au	PPy	SWV	0,017pg/mL- 1,69 ng/mL	0,17 pg/mL	[75]
Aqueux	MIPs-PB- HAuCl ₄ - IOT	PPy	DPV	400-1200 ng/mL	92 ng/mL	[76]
Aqueux	MIPs/Au	CS	EIS	0,31pg/mL-50 ng/mL	0,005 pg/mL	Ce travail

MIPs: Polymère à empreintes moléculaires.

GNPs: Nanoparticules d'or.

PGE: électrode en graphite.

MCA: N-méthacryloyl-L-cystéine.

PPy: Polypyrrole.

PB: bleu de Prusse.

HAuCl₄: nanoparticules d'or de type oursin.

IOT: Verre indium/oxyde d'étain.

DPASV: Voltampérométrie à impulsion différentielle par strippage anodique.

SWV: Voltammogramme à onde carrée.

DPV: Voltampérométrie différentielle à impulsions.

II.7 Effet de l'impression

Afin d'évaluer l'efficacité des empreintes, l'expérience est répétée en utilisant des CS-NIP/Au pour comparer la détection de GLY sur un capteur non imprimé. Comme le montre la figure 28, l'absence de détection de GLY sur le NIP indique que l'adsorption de GLY par le film de chitosane non imprimé est négligeable. La réponse des CS-NIP/Au à différentes concentrations est inférieure à celle des MIPs ($\Delta R/R = 0,006 \log [\text{GLY}] + 0,078$, $R^2 = 0,488$) (fig.29), indiquant l'efficacité des empreintes du GLY. Le facteur d'impression (IF), un rapport entre la sensibilité du MIPs et la sensibilité du NIP, est égal à 14,5 ce qui est assez important.

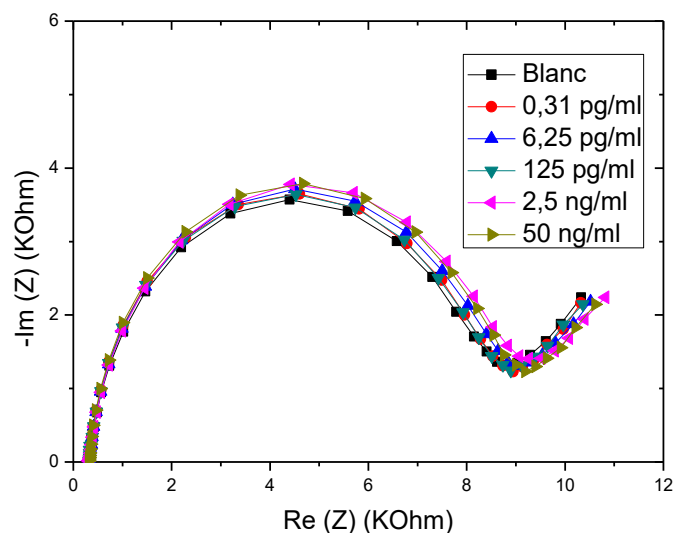


Figure 28 : EIS du CS-NIP/Au avant la pré-concentration et après incubation dans différentes concentrations du GLY, dans PBS à 5 mM $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4}$ avec potentiel initial $E = 0,2 \text{ V}$ et $\text{Freq} = 100 \text{ kHz}$ à 1 Hz.

II.8 Sélectivité du CS-MIPS/Au

La sélectivité de CS-MIPS/Au est testée avec la détection de différents pesticides qui pourraient être présents dans le même milieu que GLY; ceux-ci incluent le glyphosate-ammonium (GLU), le chlorpyrifos (CHL) et le phosmet (PHO). La figure 30 montre la structure chimique du GLU, du CHL et du PHO qui sont plus structurellement similaires au GLY. Le facteur de sélectivité (SF) est utilisé pour montrer la forte affinité de GLY pour le MIPS [185]. Le SF est calculé en utilisant la formule suivante: $SF = S_{GLY}/S_{INT}$, avec S_{GLY} = sensibilité de la détection de GLY, et S_{INT} = sensibilité des substances interférentes. Les réponses de CS-MIPS/Au vis-à-vis du GLU, CHL et PHO sont respectivement 7,9-43,5 et 14,5 fois plus faibles que celle de GLY comme le montre la figure 29. Ainsi, nous pouvons conclure que les composés testés n'interfèrent pas avec la détection de GLY, prouvant la sélectivité de la surface de CS-MIPS.

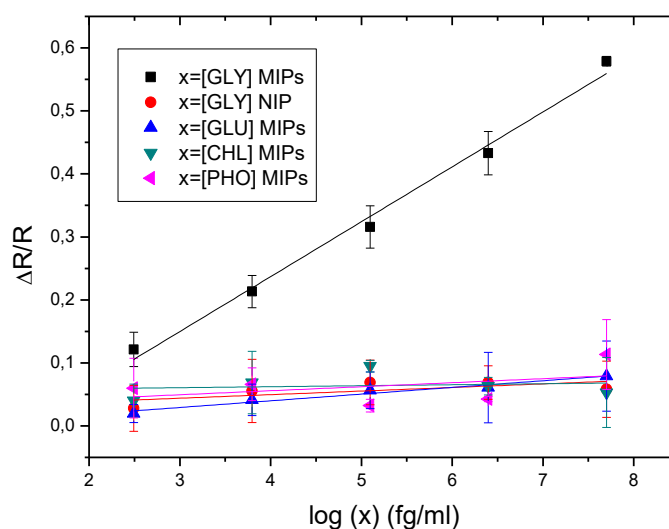


Figure 29 : Sensibilité de la détection GLY et des interférences, --- réponse de CS-MIPS/Au pour le GLY ($y=0.087x+0.673$; $R^2=0.991$), --- réponse de CS-NIP/Au pour le GLY ($y=0.006x+0.087$; $R^2=0.488$), --- réponse de CS-MIPS/Au pour le GLU ($y=0.011x+0.093$; $R^2=0.962$), --- réponse de CS-MIPS/Au pour le CHL ($y=0.002x+0.072$; $R^2=0.024$), --- réponse de CS-MIPS/Au pour le PHO ($y=0.006x+0.087$; $R^2=0.176$)

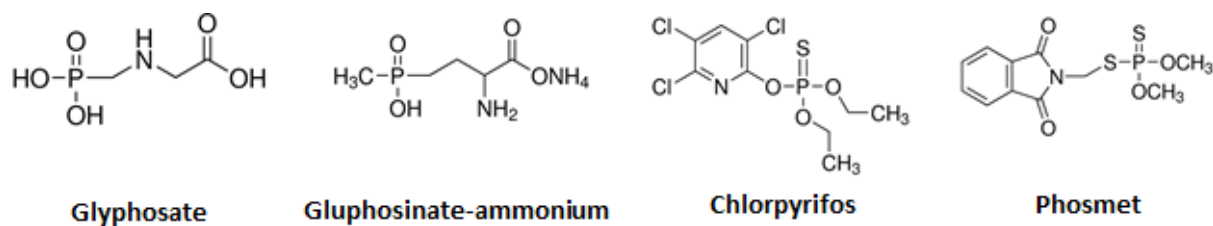


Figure 30 : Structure chimique du glyphosate, du gluphosinate-ammonium, du chlorpyrifos et du phosmet.

II.9 Reproductibilité et régénération

Pour étudier la reproductibilité du capteur CS-MIPs/Au, l'expérience a été réalisée en utilisant trois électrodes individuelles, qui ont été préparées dans des conditions similaires. Les résultats ont montré une reproductibilité acceptable avec un écart-type relatif de 2,28%.

Le capteur CS-MIPs/Au a été régénéré en l'incubant dans une solution d'acide acétique/méthanol (1:1, v/v) pour éliminer le GLY adsorbé. Une caractérisation par EIS montre qu'une incubation de 5 min est suffisante pour re-extraire le GLY adsorbé (Fig.31).

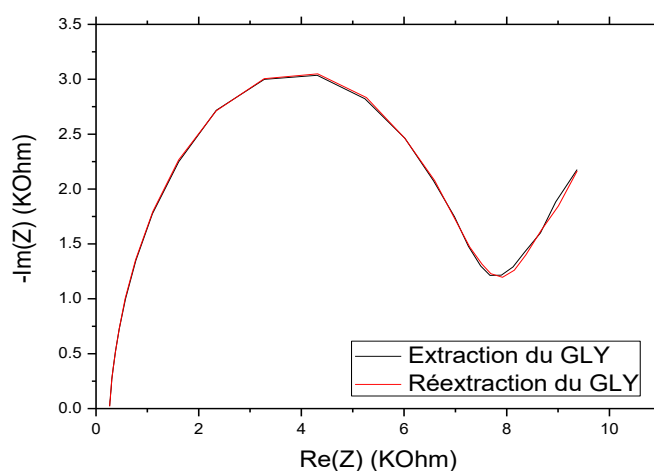


Figure 31 : EIS du CS-MIPs/Au après l'extraction et la réextraction du GLY, dans PBS à 5 mM $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$ avec potentiel initial $E = 0,2$ V et $Freq = 100$ kHz à 1 Hz.

Le capteur est ensuite ré-immersé dans de l'eau contenant 125 pg/mL de GLY. Ensuite, EIS est utilisé pour mesurer la résistance au transfert de charge du film. Le cycle est répété quatre fois (fig.32); la première répétition a montré une faible diminution de la réponse du microcapteur; des cycles consécutifs ont produit des variations importantes, indiquant que le capteur ne peut être régénéré qu'une seule fois.

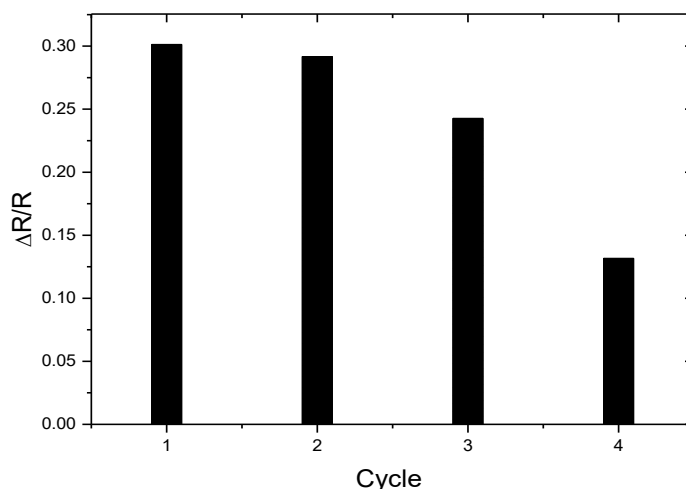


Figure 32 : Régénération du capteur CS-MIPs/Au.

II.10 Analyse d'échantillons réels

Pour évaluer la faisabilité du capteur proposé pour ses applications potentielles, le CS-MIPs/Au a été utilisé pour déterminer les niveaux de GLY dans un échantillon d'eau de rivière prélevé dans le Rhône à Lyon, France. Les mesures EIS ont été effectuées avant et après incubation du capteur dans l'eau de la rivière pendant 30 min, et leurs spectres de Nyquist respectifs sont presque superposés, indiquant peut-être que cet échantillon ne contient pas de GLY (fig.33).

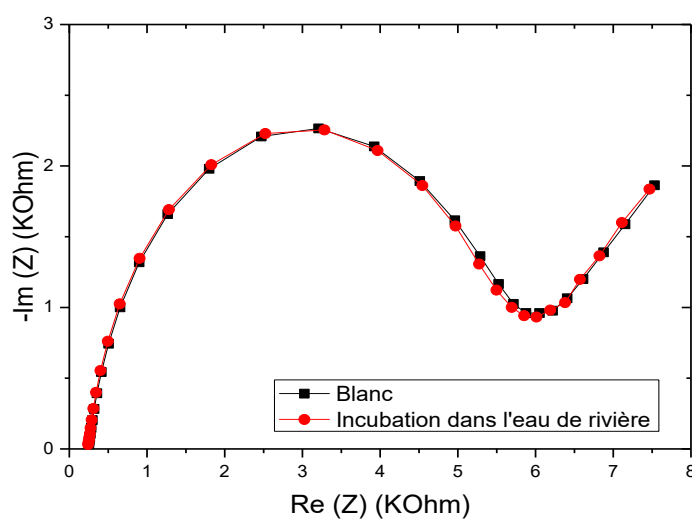


Figure 33 : EIE du CS-MIPs/Au avant et après incubation dans l'eau de rivière, dans PBS à 5 mM $[Fe(CN)_6]^{3-4}$ avec potentiel initial $E = 0,2$ V et Freq = 100 kHz à 1 Hz.

Pour confirmer l'observation ci-dessus, la méthode des ajouts dosés a été utilisée pour détecter le GLY. Cela a été fait en augmentant progressivement la concentration de GLY dans l'échantillon. Une augmentation progressive de l'EIS a été observée avec l'augmentation des concentrations de GLY; la variation de la résistance au transfert de charge est linéairement proportionnelle à la valeur logarithmique des concentrations de GLY dans la plage de 0,31 pg/ml à 50 ng/mL (fig.34) avec R^2 égal à 0,983, indiquant une bonne corrélation entre la concentration de GLY et l'impédance de l'électrode/interface. La régression linéaire est de forme $y=ax$ ($\Delta R/R = 0,090 \log [GLY]$), ce qui confirme probablement l'absence de GLY dans l'échantillon de base. De plus, ce capteur présente une sensibilité dans l'eau de la rivière identique à celle dans l'échantillon tampon ; ainsi qu'une sélectivité de reconnaissance élevée envers le GLY et presque sans interférence.

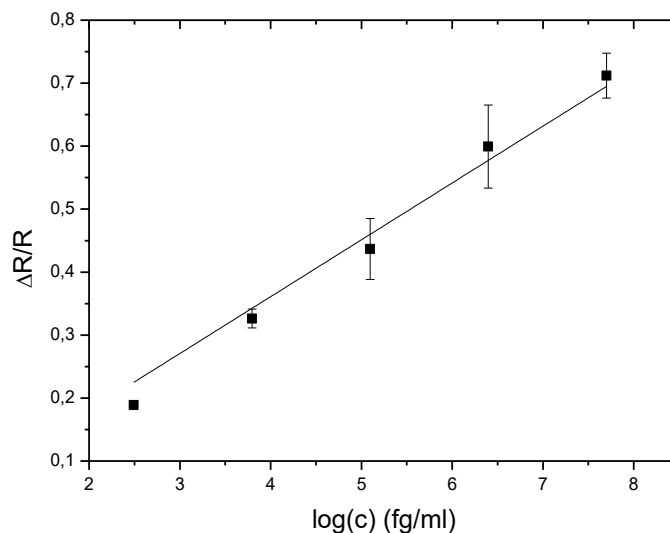


Figure 34 : Détection du GLY dans l'eau du Rhône en utilisant la méthode des ajouts dosés avec les concentrations suivantes (0,031 pg/mL, 6,25 pg/mL, 125 pg/mL, 2,5 ng/mL et 50 ng/mL) ($\Delta R/R = 0,090 \log [GLY]$; $R^2 = 0,983$).

Dans cette partie, un nouveau micro-capteur impédance-métrique basé sur le chitosane à empreintes moléculaires pour la détection sensible du GLY dans l'eau avec une gamme de concentrations de 0,31 pg/mL à 50 ng/mL a été développé. Les résultats ont montré une sensibilité élevée, une limite de détection basse et une bonne sélectivité. De plus, la procédure de fabrication est très simple, rapide et peu coûteuse.

III Micro-capteur impédimétrique basé sur le chitosane à empreintes moléculaires et une couche conductrice de polypyrrole pour la détection du glyphosate.

Dans cette étude, un nouveau micro-capteur de spectroscopie d'impédance électrochimique (EIS) est construit pour la détection sensible de GLY. La surface de la microélectrode en or a été recouverte par électrodéposition d'un polymère conducteur fonctionnel dopé avec de l'anion cobaltbis (dicarbollide) ($[3,3\text{-Co}(1,2\text{-C}_2\text{B}_9\text{H}_{11})_2]^-$). Ensuite, une membrane sensible au chitosane à empreintes moléculaires est électrodéposée sur la couche du polymère conducteur. Les microélectrodes modifiées résultantes sont caractérisées en utilisant la mesure de voltampérométrie cyclique (CV), la spectrométrie d'impédance électrochimique (EIS) et la microscopie électronique à balayage (MEB) et les performances analytiques du capteur sont déterminées pour la détection de GLY.

III.1 PPy dopé avec les ions Cobaltbis $[3,3\text{-Co}(1,2\text{-C}_2\text{B}_9\text{H}_{11})_2]^-$

L'utilisation d'un polymère conducteur en tant que couche liante intermédiaire est un moyen efficace pour améliorer l'adhérence mécanique et les échanges de charges entre la microélectrode et la membrane sensible. Le polypyrrole (PPy) est l'un des matériaux les plus prometteurs pour de nombreuses applications en raison de sa bonne stabilité chimique et thermique, de sa synthèse facile, de sa conductivité élevée et de ses propriétés écologiques [231,232]. PPy admet une structure poreuse avec une grande surface spécifique. Cette propriété est un atout pour plusieurs applications en raison du taux de charge/décharge élevé [233].

Lors de l'oxydation du PPy après application d'un potentiel anodique, les charges positives formées sont dans des états bipolaires [234]. La neutralité de la charge totale est obtenue par l'introduction d'un contre anion. De nombreux anions dopants peuvent être incorporés dans des films PPy. L'anion cobaltbis (dicarbollide) $[3,3\text{-Co}(1,2\text{-C}_2\text{B}_9\text{H}_{11})_2]^-$ est sélectionné comme anion hydrophobe idéal pour doper le PPy [235]. Le polymère PPy résultant dopé avec l'anion $[3,3\text{-Co}(1,2\text{-C}_2\text{B}_9\text{H}_{11})_2]^-$ a montré une stabilité thermique élevée et une amélioration spectaculaire de son seuil d'oxydation, qui est directement lié aux caractéristiques électriques du film [236].

III.2 Préparation de CS-MIPs/PPy[3,3-Co(1,2-C₂B₉H₁₁)₂]/Au

a. Préparation des électrodes

Les microélectrodes en or sont rincées à l'éthanol et à l'eau déionisée passées aux ultrasons pendant 10 min puis exposées aux UV/ozone pendant 30 min.

b. Electrodeposition de PPy[3,3-Co(1,2-C₂B₉H₁₁)₂]

Une couche de contact solide de polypyrrole dopé avec PPy[3,3-Co(1,2-C₂B₉H₁₁)₂]⁻ est électrodéposée sur des microélectrodes en or. La solution est constituée de 0,035 M de Cs[3,3-Co(1,2-C₂B₉H₁₁)₂]⁻ et 0,1 M de pyrrole dans l'acétonitrile à 1% en poids dans l'eau. La polymérisation électrochimique est réalisée en appliquant 5 cycles de balayage entre -0,6 V et 1,2 V, à une vitesse de 100 mV/s au moyen de la voltampérométrie cyclique (CV) (Fig.35) [237]. Après polymérisation, les microélectrodes sont rincées à l'eau déionisée et séchées sous flux d'azote.

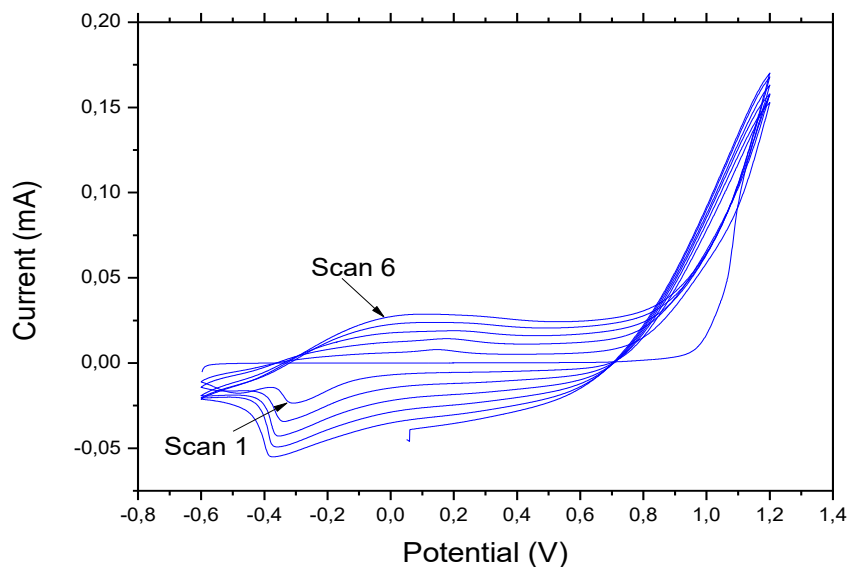


Figure 35 : Voltammogrammes d'électrodeposition de PPy [3,3-Co(1,2-C₂B₉H₁₁)₂] sur la surface d'une microélectrode en or avec 5 cycles de balayage entre -0,6 V et 1,2 V, à une vitesse de 100 mV/s.

On observe bien les pics de réduction et d'oxydation caractéristique du Pyrrole à -0,35 V et 0,1 V. L'évolution progressive du courant traduit l'apparition de couches successives de PPy à la surface de la microélectrode cycle par cycle.

c. Electrodeposition du CS-MIPs

1 g de poudre CS est dissous dans 100 mL d'acide acétique 0,1 M et ultrasoniqué pendant 6 h à température ambiante, puis le pH de la solution est ajusté à 5 en utilisant du NaOH 0,1 M. Le système de suspension GLY-CS est préparé en dispersant 10 mg de GLY dans une solution de 10 mL de chitosane à 1 mg/mL et mélangé pendant 2 h. La suspension de GLY-CS est déposée en utilisant la voltampérométrie cyclique (CV) pour 5 balayages dans la plage de -1,5 à 0,5 V à une vitesse de balayage de 80 mV/s (Fig.36). Après électrodeposition, les microélectrodes sont rincées à l'eau déionisée et séchées à l'azote.

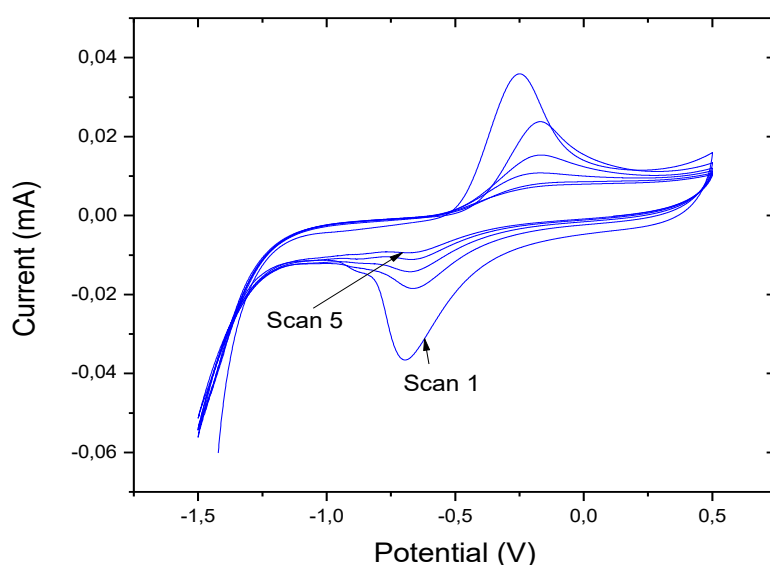


Figure 36 : CV d'électrodeposition de CS-MIPs sur le film du PPy pour 5 balayages dans la plage de -1,5 à 0,5 V à une vitesse de balayage de 80 mV/s.

d. La réticulation et l'extraction du GLY

Ces opérations consistent à incuber le capteur (GLY + CS) / Au dans une solution 0,5 M H₂SO₄ pendant 1 h pour la réticulation, puis dans une solution d'acide acétique/méthanol (1: 1, v / v) pendant 30 min pour retirer le GLY de la matrice.

La figure 37 illustre le processus de fabrication du capteur électrochimique développé dans cette étude et qui est basé sur des films de polypyrrole électropolymérisés, dopé avec des ions cobaltabis (dicarbollide) ([3,3-Co(1,2-C₂B₉H₁₁)₂]). Ce film forme une couche de contact solide entre la surface de la microélectrode en or et la membrane de chitosane à empreintes moléculaires.

Les étapes de préparation du capteur polymère sans empreinte (CS-NIP/PPy[3,3-Co(1,2-C₂B₉H₁₁)₂]/Au) sont similaires à celles des CS-MIPs/PPy[3,3-Co(1,2-C₂B₉H₁₁)₂]/Au avec une seule différence majeure, le mélange CS pour les NIP ne contenant pas du GLY. Enfin, les capteurs ont été stockés à température ambiante pour une utilisation ultérieure.

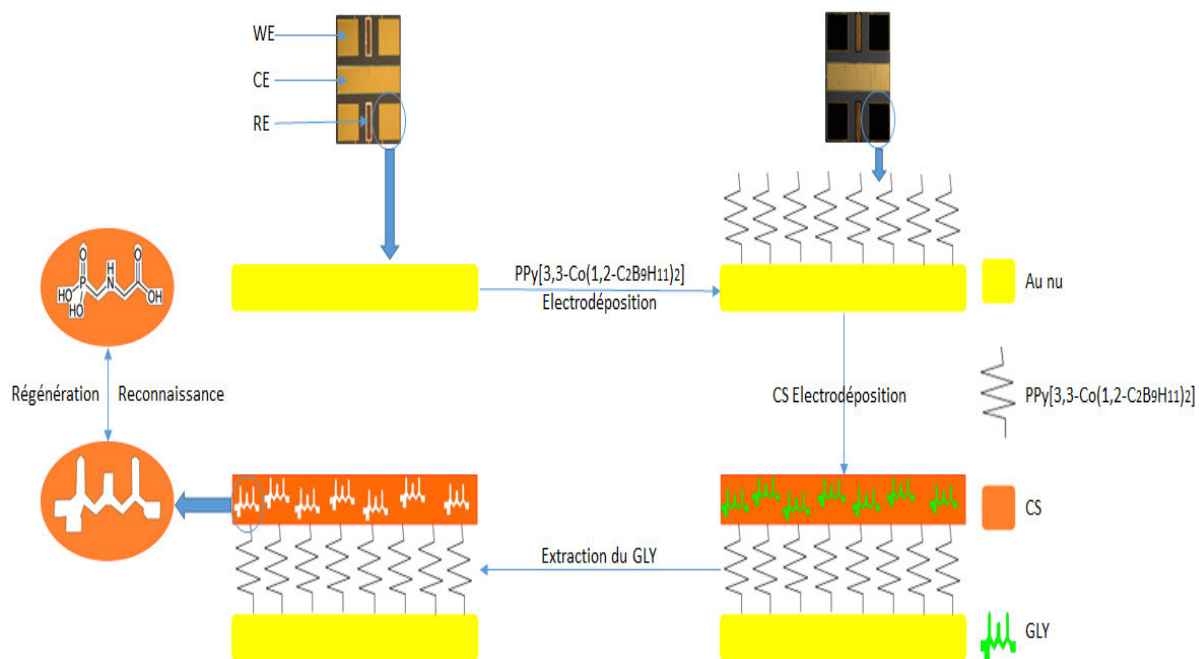


Figure 37 : Préparation de CS-MIPs/PPy[3,3-Co(1,2-C₂B₉H₁₁)₂]/Au et sa reconnaissance pour le GLY.

III.3 Caractérisation électrochimique du CS-MIPs/PPy[3,3-Co(1,2-C₂B₉H₁₁)₂]/Au

Du polypyrrole dopé avec du [3,3-Co(1,2-C₂B₉H₁₁)₂]⁻ est déposé sur un substrat d'or afin d'améliorer le transfert de charge et les propriétés d'adhésion à l'interface. L'utilisation de polymères conducteurs comme matériaux de contacts solides est proposée comme moyen d'échange de charge entre la membrane chitosane-MIP et le substrat métallique. Les figures 38 et 39 montrent les diagrammes de spectroscopie d'impédance électrochimique et les voltammogrammes cycliques de microélectrodes en or, après électropolymérisation de PPy[3,3-Co(1,2-C₂B₉H₁₁)₂] sur la microélectrode, après électrodéposition de CS-MIPs sur une couche de contact solide réticulée avec de l'acide sulfurique, après l'extraction du GLY et de CS-NIP/ PPy[3,3-Co(1,2-C₂B₉H₁₁)₂]/Au.

On peut voir sur l'EIS (Fig.38) que l'impédance présente une diminution évidente après électropolymérisation du PPy ($R_{ct} = 68,7 \Omega$), par rapport à l'électrode nue ($R_{ct} = 342,4 \Omega$)

(Fig.38.a) en raison de la présence du polymère conducteur qui améliore les propriétés de transfert de charge électrique de l'électrode. L'électrodéposition de CS sur le PPy entraîne une augmentation évidente de la résistance au transfert de charge due au blocage de la surface par le film de chitosane ($R_{ct} = 17691 \Omega$) (Fig.38.c). En comparaison avec le film NIP ($R_{ct} = 3555 \Omega$) (Fig.38.e), un $Re(Z)$ plus grand est observé pour le film MIPS, ce qui peut démontrer que le film MIPS est plus épais que celui de NIP. Après extraction de GLY de la matrice, une diminution significative de l'impédance a été observée ($R_{ct} = 991,2 \Omega$) (Fig.38.d). De plus, une résistance au transfert de charge plus faible est observée par rapport à celle des NIP, cette différence est due aux empreintes imprimées, qui favorisent le transfert d'électrons. Le circuit équivalent Randles est proposé pour ajuster les tracés de Nyquist. Les paramètres d'ajustement sont présentés dans le tableau 13 pour les différentes étapes de la modification de l'électrode.

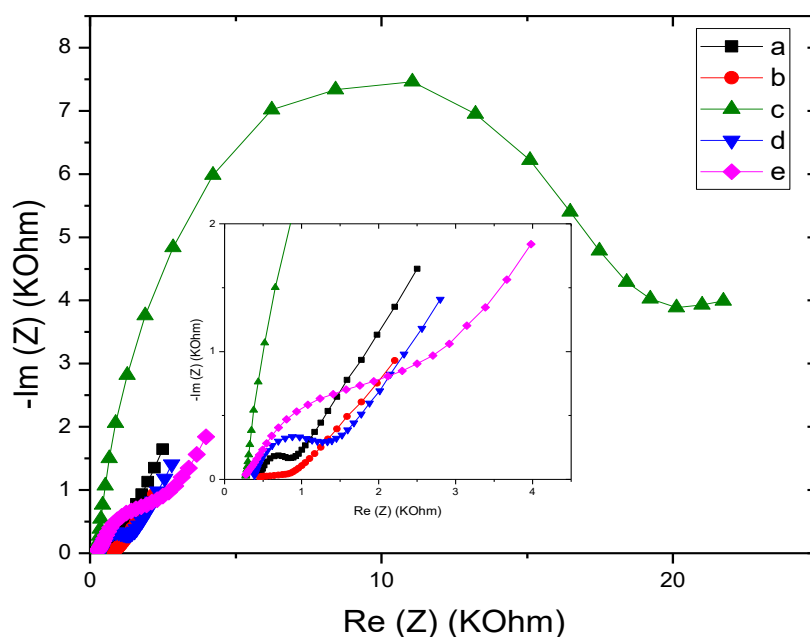


Figure 38 : EIS de Au nu (a), PPy[3,3-Co (1,2-C₂B₉H₁₁)₂]/Au (b), CS-MIPs / PPy[3,3-Co (1,2-C₂B₉H₁₁)₂]/Au avant extraction de GLY (c), CS-MIPs/PPy[3,3-Co (1,2-C₂B₉H₁₁)₂]/Au après extraction de GLY (d), CS-NIP/PPy[3,3-Co (1,2-C₂B₉H₁₁)₂]/Au (e). Dans le PBS à 5 mM [Fe(CN)₆]^{3-/4-}, potentiel initial E = 0,2 V. Freq supérieur = 100 khz, Freq inférieur = 1 Hz.

Tableau 13 : Paramètres d'ajustement obtenus à partir du circuit équivalent $R_s + CPE / (R_{ct} + Z_w)$ pour les différentes étapes de la modification de l'électrode.

EIS	R_s (Ohm)	R_{ct} (Ohm)	$Q \cdot 10^6$ (F.s ^{a-1})	Z_w (Ohm.s ^{-1/2})	X^2
Au nu	474,8	342,4	0,46	5081	0,001
PPy/Au	280,5	68,7	0,08	3369	0,059
MIPs avant l'extraction	273,8	17691	1,79	9308	0,004
MIPs après extraction	369,2	991,2	1,79	3687	0,003
NIP	268,8	3555	13,8	5823	0,049

La voltampérométrie cyclique (CV) est utilisée pour évaluer le taux de transfert d'électrons pour l'électrode de travail modifiée (WE). Cela a été fait en immergeant le WE modifié dans du ferro-ferricyanure et en exécutant le CV de 0 à 0,45 V à une vitesse de balayage de 80 mV/s pendant 5 cycles. Le voltammogramme cyclique (Fig.39) montre comment les pics d'oxydoréduction sont augmentés en termes d'intensité de courant après l'électrodéposition de la couche PPy[3,3-Co (1,2-C₂B₉H₁₁)₂] (une augmente de 24 μ A à 30 μ A), puis diminué après électrodéposition du film de chitosane-MIPs ($I_a = 5,6 \mu$ A) (Fig.39.c). Ce dernier est à l'origine de l'abaissement des propriétés de transfert de charge électrique de la microélectrode. Relativement au film NIP ($I_a = 10 \mu$ A) (Fig.39.e), la valeur minimale des pics d'oxydoréduction est observée pour le film MIPs, ce qui montre que le film MIPs est plus épais que celui de NIP. Après extraction de GLY de la matrice, une augmentation significative des pics d'oxydoréduction est observée ($I_a = 7,5 \mu$ A) (Fig.39.d). Le tableau 14 résume les différentes valeurs du courant anodique (I_a), du potentiel anodique (E_a), du courant de cathodique (I_c) et du potentiel de cathodique (E_c) pour chaque voltammogramme.

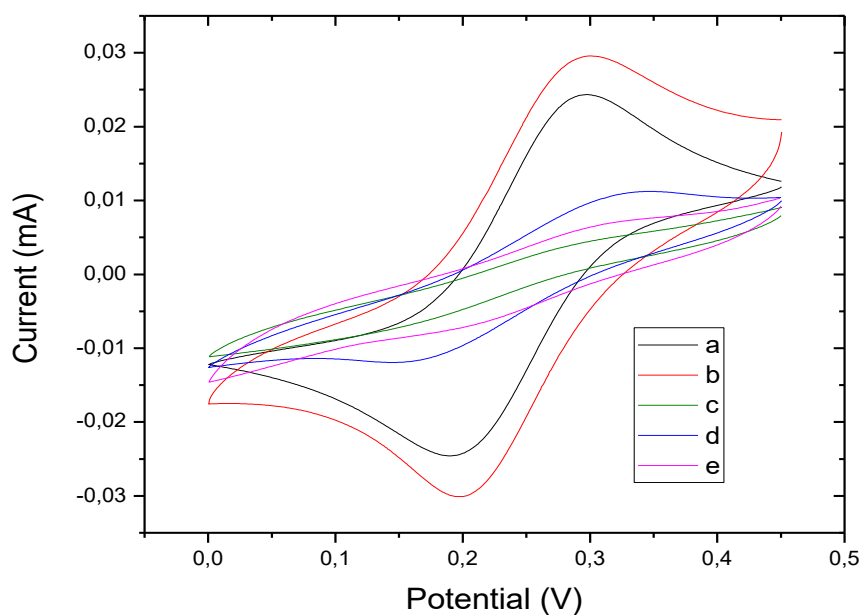


Figure 39 : CV de Au nu (a), PPy[3,3-Co (1,2-C₂B₉H₁₁)₂]/Au (b), CS-MIPs / PPy[3,3-Co (1,2-C₂B₉H₁₁)₂]/Au avant extraction de GLY (c), CS-MIPs/PPy[3,3-Co (1,2-C₂B₉H₁₁)₂]/Au après extraction de GLY (d), CS-NIP/PPy[3,3-Co (1,2-C₂B₉H₁₁)₂]/Au (e). Dans le PBS à 5 mM [Fe(CN)₆]^{3-/4-}, de 0 à 0,45 V à une vitesse de balayage de 80 mV/s.

Tableau 14 : Valeurs des paramètres des voltammogrammes pour les différentes étapes de la modification de l'électrode.

CV	Ia (μA)	Ec (V)	Ic (μA)	Ea (V)
Au nu	24	0.3	-24	0.2
PPy/Au	30	0.3	-30	0.2
MIPs avant extraction	5.6	0.34	-6.7	0.16
MIPs après extraction	7.5	0.34	-8.4	0.16
NIP	10	0.34	-10	0.16

III.4 Morphologie de surface

La microscopie électronique à balayage (MEB) est utilisée pour étudier les morphologies de surface de l'électrode nue, PPy[3,3-Co(1,2-C₂B₉H₁₁)₂]/Au, CS-MIPs/PPy[3,3-Co(1,2-C₂B₉H₁₁)₂]/Au et CS-NIP/PPy[3,3-Co(1,2-C₂B₉H₁₁)₂]/Au (Fig.40). On peut voir que la morphologie de la microélectrode modifiée avec PPy[3,3-Co(1,2-C₂B₉H₁₁)₂] (Fig.40.a) est complètement différente par rapport à la surface de l'or nu (Fig.40.b). Ce qui indique le succès de l'électrodéposition de la couche conductrice. Après électrodéposition du chitosane sur une couche de contact solide, une autre couche apparaît à la surface de la microélectrode qui modifie encore la morphologie et confirme le dépôt du CS (Fig.40.c). Avec MEB, il est difficile de voir la différence de morphologie entre les films MIPs (Fig.40.c) et NIP (Fig.40.d) car les diamètres des cavités formées par le GLY sont de l'ordre de quelques nanomètres.

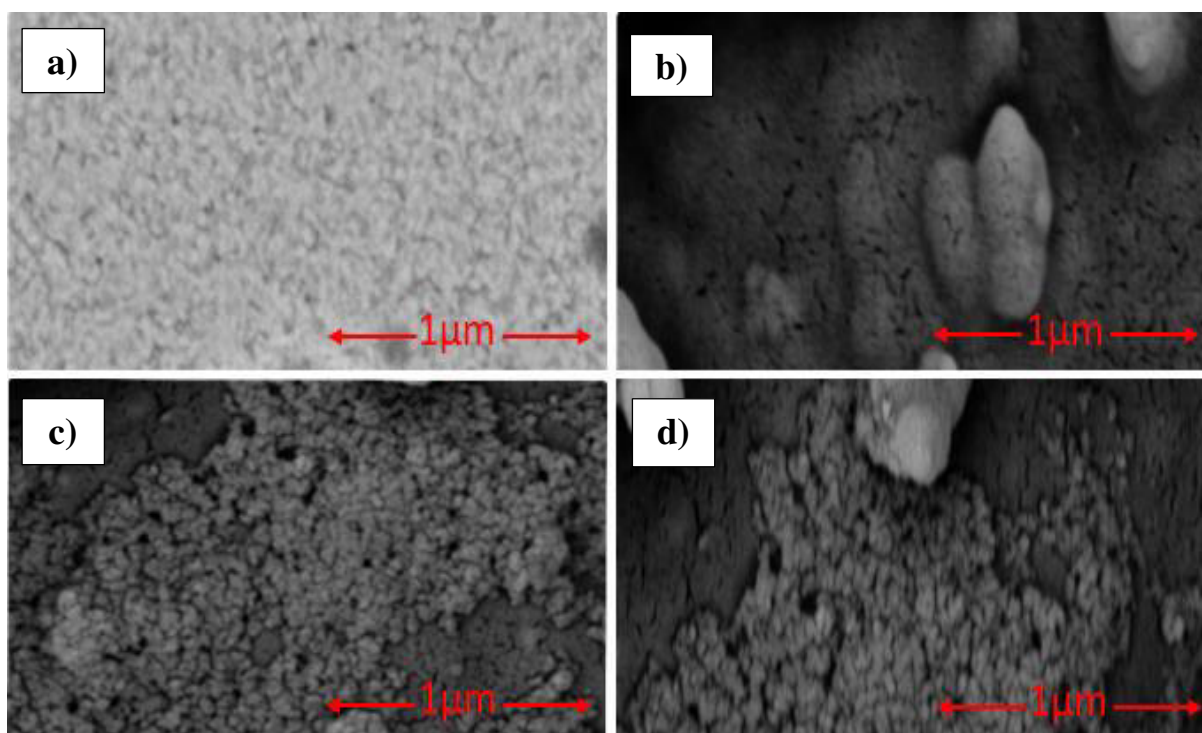


Figure 40 : Images MEB. *a) Or nu, b) PPy[3,3-Co(1,2-C₂B₉H₁₁)₂]/Au, c) CS-MIPs/PPy[3,3-Co(1,2-C₂B₉H₁₁)₂]/Au, d) CS-NIP/PPy[3,3-Co(1,2-C₂B₉H₁₁)₂]/Au.*

III.5 Réponses impédance-métrique du CS-MIPs/PPy[3,3-Co(1,2-C₂B₉H₁₁)₂]/Au

EIS est utilisé pour la détection quantitative de GLY. À partir des spectres d'impédance, les valeurs des paramètres d'ajustement du circuit équivalent sont présentées dans le tableau 15. Comme le montre la figure 41, une augmentation progressive de l'EIS est observée avec l'augmentation de la concentration de GLY indiquant une corrélation entre la concentration de

GLY et l'impédance de l'électrode. La variation relative de la résistance au transfert de charge de chaque électrode est ensuite normalisée en utilisant l'équation suivante : $|R_{ct} - R_{ct(Blanc)}|/R_{ct(Blanc)}$ ($\Delta R/R$). Sur la figure 42 (droite noire), le graphique de $\Delta R/R$ par rapport aux valeurs logarithmiques des concentrations de GLY produit une relation linéaire allant de 0,31 pg/mL à 50 ng/mL avec un coefficient de corrélation de 0,991. L'équation de régression linéaire: $\Delta R/R = 0,332 \log[GLY] - 0,237$. La limite de détection (LOD) du capteur considéré est estimée à 1 fg/ml. LOD est obtenue à partir de l'équation $3S/m$ [230], où S est l'écart-type résiduel de la régression linéaire et m est la pente de la droite de régression. Les résultats montrent une faible limite de détection et une sensibilité élevée du microcapteur.

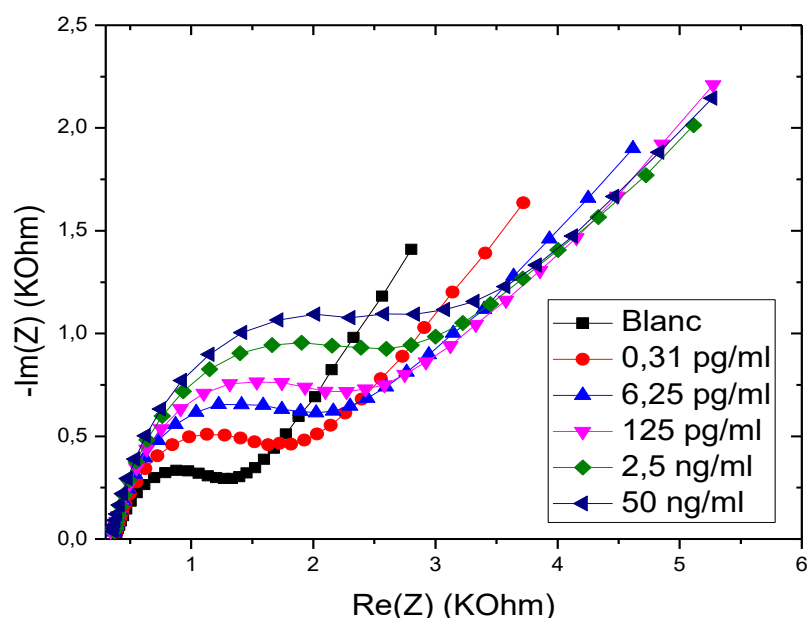


Figure 41 : EIS du CS-MIPs/PPy[3,3-Co(1,2-C₂B₉H₁₁)₂]/Au Avant la pré-concentration et après incubation dans différentes concentrations de GLY, dans le PBS à 5 mM [Fe(CN)₆]^{3-/4-}, potentiel initial E = 0,2 V. Freq supérieur = 100 khz, Freq inférieur = 1 Hz.

Tableau 15 : Paramètres d'ajustement obtenus à partir du circuit équivalent $R_s + CPE / (R_{ct} + Z_w)$.

GLY conc.	R ₁ (Ohm)	R ₂ (Ohm)	Q.10 ⁶ (F.s ^{a-1})	Z _w (Ohm.s ^{-1/2})	X ²
Blanc	369,2	991,2	1,790	3687	0,003
0.31 pg/mL	364,5	1532	1,464	4606	0,016
6.25 pg/mL	345,5	1993	1,301	5725	0,034

125 pg/mL	348,4	2269	1,117	6648	0,035
2.5 ng/mL	343,6	2766	1,008	9364	0,053
50 ng/mL	336,7	3044	0,864	10855	0,037

III.6 Effet de PPy [3,3-Co(1,2-C₂B₉H₁₁)₂] sur la sensibilité du micro-capteur

La sensibilité du micro-capteur basé sur des films de polypyrrole dopés avec des ions cobaltbis (dicarbollide) ([3,3-Co (1,2-C₂B₉H₁₁)₂]), en tant que couche de contact solide entre la surface des microélectrodes en or et le chitosane à empreinte moléculaire est comparée à la sensibilité du microcapteur basé uniquement sur la membrane de chitosane sans utiliser de couche conductrice (CS-MIPs/Au).

Comme le montre la figure 42, la sensibilité des CS-MIPs/PPy[3,3-Co (1,2-C₂B₉H₁₁)₂]/Au est 3,82 fois plus élevée que celle des CS-MIPs/Au. L'utilisation du polypyrrole dopé avec les anions de cobaltbis (dicarbollide) conduit à des performances améliorées du microcapteur. Ce complexe utilisé comme couche de contact solide entre la surface de la microélectrode et le chitosane imprimé, permet d'améliorer les propriétés d'adhérence à l'interface. De plus, grâce à son caractère conducteur, le polypyrrole accélère le transfert de charge entre la membrane chitosane-MIPs et le substrat métallique.

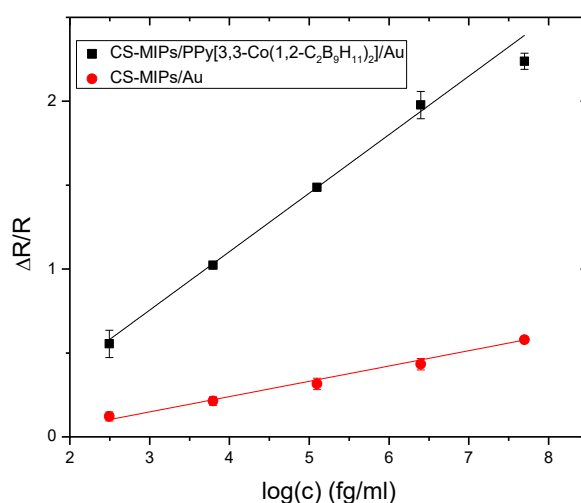


Figure 42 : Sensibilité du CS-MIPs/PPy[3,3-Co(1,2-C₂B₉H₁₁)₂]/Au ($\Delta R/R = 0.332 \log [GLY] - 0.237$; $R^2 = 0.991$) (---) et CS-MIPs/Au ($\Delta R/R = 0.087 \log [GLY] + 0.673$; $R^2 = 0.991$) (---).

III.7 Effet de l'impression et de la sélectivité du capteur

Afin d'évaluer l'efficacité des empreintes, l'expérience est répétée en utilisant un film de chitosane sans empreintes. Comme le montre la figure 43, la réponse du capteur CS-NIP/PPy[3,3-Co (1,2-C₂B₉H₁₁)₂]/Au est très faible en comparaison avec celle de CS-MIPs/PPy[3,3-Co (1,2-C₂B₉H₁₁)₂]/Au, indiquant que l'adsorption de GLY par le Chitosan non imprimé est négligeable, ce qui confirme l'efficacité de l'impression du modèle.

La spécificité des MIPs est testée avec la détection de différents pesticides susceptibles d'être présents dans le même milieu que le GLY. Le gluphosinate-ammonium (GLU), le chlorpyrifos (CHL) et le phosmet (PHO) sont choisis pour étudier la sélectivité de ce capteur imprimé (Fig.43). Sur le CS-MIPs/ PPy [3,3-Co(1,2-C₂B₉H₁₁)₂]/Au, $\Delta R/R$ de GLY était plus élevé que celui des trois autres substances à la même concentration. Ainsi, nous pouvons conclure que les composés testés n'interfèrent pas avec la détection de GLY, prouvant la sélectivité efficace de ce micro-capteur.

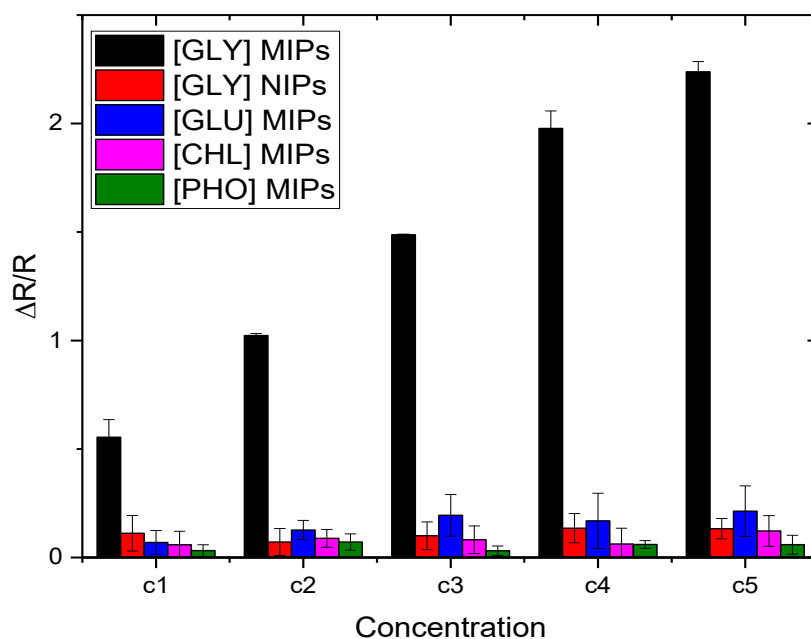


Figure 43 : Sélectivité des microcapteurs CS-MIPs/PPy [3,3-Co (1,2-C₂B₉H₁₁)₂]/Au. **noir**) réponse de CS-MIPs/PPy [3,3-Co (1,2-C₂B₉H₁₁)₂]/Au au GLY, **rouge**) réponse des CS-NIP/PPy [3,3-Co (1,2-C₂B₉H₁₁)₂]/Au au GLY, **bleu**) réponse de CS-MIPs/PPy [3,3-Co (1,2-C₂B₉H₁₁)₂]/Au au GLU, **rose**) réponse de CS-MIPs/PPy [3,3-Co (1,2-C₂B₉H₁₁)₂]/Au au CHL, **vert**) réponse de CS-MIPs/PPy [3,3-Co (1,2-C₂B₉H₁₁)₂]/Au au PHO.

III.8 Reproductibilité et régénération

Pour étudier la reproductibilité de microcapteur CS-MIPs/PPy [3,3-Co(1,2-C₂B₉H₁₁)₂]/Au, l'expérience est réalisée en utilisant trois électrodes individuelles, qui sont préparées dans des conditions similaires. Les résultats ont montré une reproductibilité acceptable avec un écart type relatif de 1,29%.

Le microcapteur CS-MIPs/PPy[3,3-Co (1,2-C₂B₉H₁₁)₂]/Au est régénéré en l'incubant dans une solution d'acide acétique/méthanol (1:1, v/v) pendant 5 min pour éliminer le GLY adsorbé. Le capteur est ensuite ré-immersé dans de l'eau contenant 125 pg/mL de GLY. Pour chacune des cinq répétitions des cycles, EIS est utilisé pour estimer la résistance au transfert de charge du film. Le cycle a été répété cinq fois (Fig.44); les deuxièmes et troisièmes cycles montrent une faible variation de la résistance au transfert de charge par rapport au premier cycle (0,96% et 9,64% respectivement); des cycles consécutifs ont donné des variations importantes (15,67% et 30,30%), indiquant que le capteur ne peut être régénéré que deux fois.

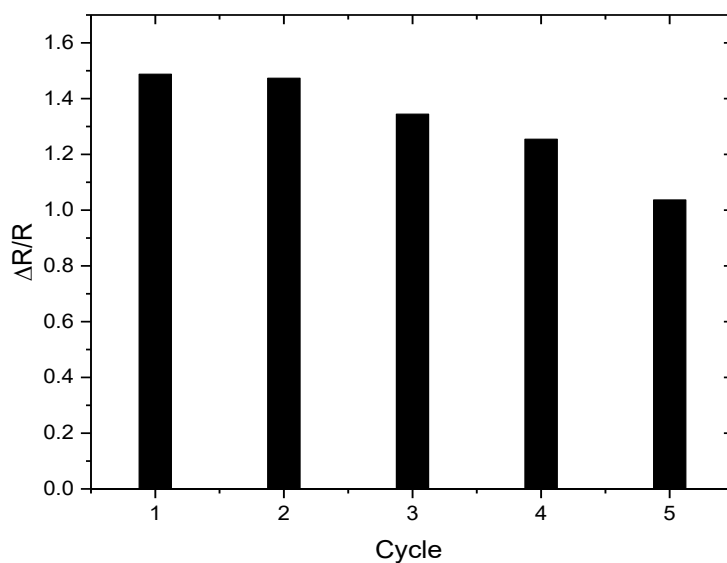


Figure 44 : Régénération du CS-MIPs/PPy [3,3-Co (1,2-C₂B₉H₁₁)₂]/Au.

III.9 Analyse d'échantillons réels

Pour évaluer la faisabilité du capteur proposé pour ses applications potentielles, le CS-MIPs/PPy [3,3-Co (1,2-C₂B₉H₁₁)₂]/Au est utilisé pour déterminer les niveaux de GLY dans un échantillon d'eau de rivière prélevé du Rhône à Lyon, France. Les mesures EIS sont effectuées avant et après incubation du capteur dans l'eau de rivière pendant 30 min, et leurs

spectres de Nyquist respectifs sont presque superposés, indiquant que cet échantillon ne contient pas du GLY (Fig.45).

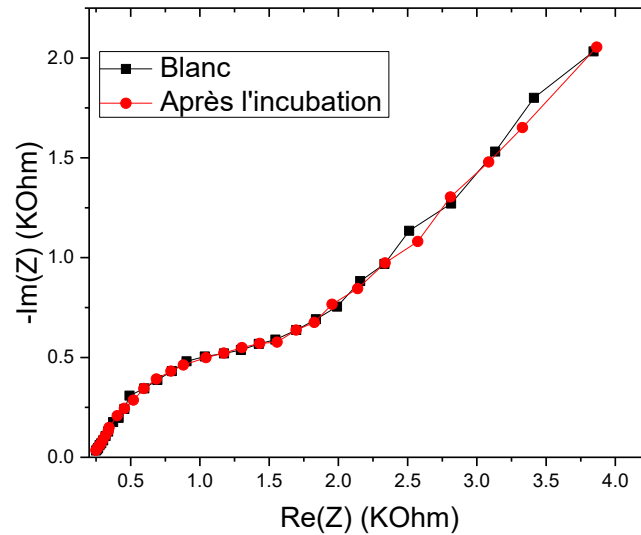


Figure 45 : EIE du CS-MIPs/PPy [3,3-Co (1,2-C₂B₉H₁₁)₂]/Au avant et après incubation dans l'eau de rivière. Dans le PBS à 5 mM [Fe(CN)₆]^{3-/4-}, potentiel initial E = 0,2 V. Freq supérieur = 100 khz, Freq inférieur = 1 Hz.

Pour confirmer l'observation ci-dessus, la méthode des ajouts dosés est utilisée pour détecter le GLY. Cela a été fait en augmentant progressivement la concentration de GLY dans l'échantillon. Une variation remarquable de l'EIS est observée avec l'augmentation des concentrations de GLY (Fig.46).

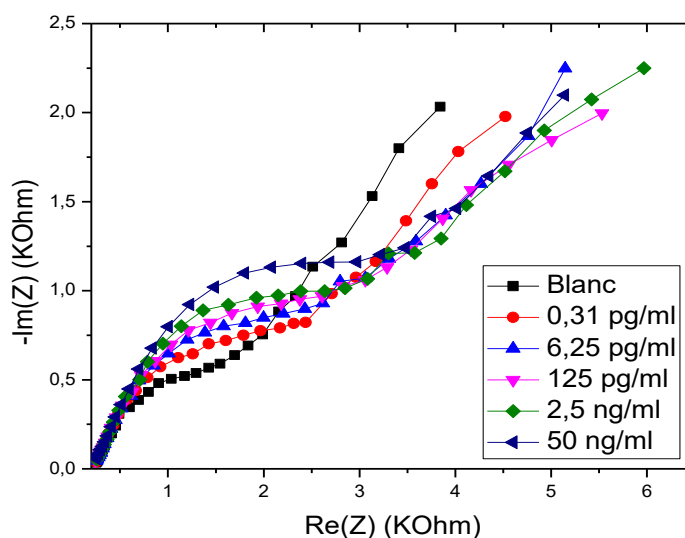


Figure 46 : EIS du CS-MIPs/PPy[3,3-Co(1,2-C₂B₉H₁₁)₂]/Au avant préconcentration et après incubation dans l'eau de rivière avec différentes concentrations de GLY. Dans le PBS à 5 mM [Fe(CN)₆]^{3-/4-}, potentiel initial E = 0,2 V. Freq supérieur = 100 khz, Freq inférieur = 1 Hz.

La variation de la résistance au transfert de charge est linéairement proportionnelle à la valeur logarithmique des concentrations de GLY dans la plage de 0,31 pg/mL à 50 ng/mL avec R² égal à 0,986 (Fig.47), indiquant une forte corrélation entre la concentration de GLY et le changement de l'impédance. La régression linéaire passe par zéro ($\Delta R/R = 0,316 \log [\text{GLY}]$), ce qui confirme l'absence de GLY dans l'échantillon de base. De plus, la sensibilité de ce capteur dans l'eau de la rivière est la même que dans le tampon, ce qui confirme que le CS-MIPs/PPy[3,3-Co(1,2-C₂B₉H₁₁)₂]/Au présente une sélectivité de reconnaissance élevée envers GLY dans les échantillons d'eau de rivière.

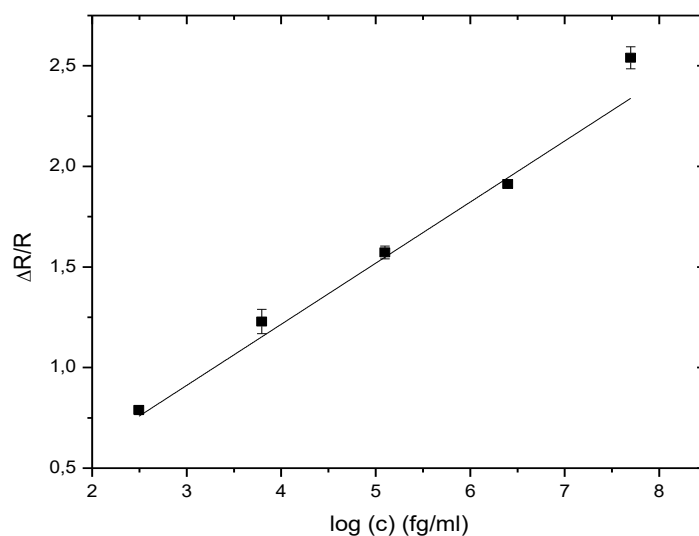


Figure 47 : Détection de GLY dans l'eau de rivière en utilisant la méthode d'addition standard avec les concentrations suivantes (0,031 pg/mL, 6,25 pg/mL, 125 pg/mL, 2,5 ng/mL et 50 ng/mL) ($\Delta R/R = 0,316 \log [GLY]$; $R^2 = 0,986$).

Dans cette partie, un nouveau micro-capteur impédance-métrique CS-MIPs/PPy[3,3-Co(1,2-C₂B₉H₁₁)₂]/Au pour la détection sensible du glyphosate dans l'eau, de 0,31 pg/mL à 50 ng/mL, est conçu à partir de film de polypyrrole dopés avec des ions cobaltabis ([3,3-Co (1,2-C₂B₉H₁₁)₂]), en tant que couche de contact solide conductrice entre la surface des microélectrodes en or et la membrane de chitosane à empreinte moléculaire. La sensibilité des CS-MIPs/PPy [3,3-Co(1,2-C₂B₉H₁₁)₂]/Au est supérieure à celle des CS-MIPs/Au ce qui suscite l'intérêt d'utiliser la couche conductrice du polypyrrole. De plus, le micro-capteur développé présente une sensibilité élevée, une faible limite de détection, une bonne reproductibilité et une bonne sélectivité.

IV Micro-capteur conçu sur un film du chitosane à empreinte moléculaire greffé sur l'acide 4-aminophénylacétique (CMA).

Dans cette partie, un nouveau micro-capteur de spectroscopie d'impédance électrochimique est développé pour la détection du glyphosate dans l'eau. Il est basé sur l'immobilisation covalente du chitosane à empreinte moléculaire sur la surface de la microélectrode précédemment modifiée avec de l'acide 4-aminophénylacétique, plus communément appelé CMA. Les microélectrodes résultantes sont caractérisées en utilisant la voltampérométrie cyclique (CV), la spectrométrie d'impédance électrochimique (EIS) et la microscopie électronique à balayage (SEM).

IV.1 Principe du CMA

Le processus de dépôt de CMA réside dans la formation d'un cation de sel de diazonium qui permet de former une liaison covalente entre le radical aryle et la surface de l'or. Le cation diazonium est une espèce instable, très réactive et facilement hydrolysable à température ambiante [238]. L'ion diazonium peut être préparé par une procédure de diazotation standard, par traitement d'amines aromatiques avec des nitrites NO_2^- en présence d'acide chlorhydrique (HCl). Après ce traitement, le groupe $-\text{NH}_2$ d'aniline est converti en groupe $-\text{N}_2^+$ qui conduit à la formation d'un aryl diazonium. La réduction électrochimique du cation diazonium sur une cathode métallique (par un transfert d'électrons de la surface de l'électrode vers le sel de diazonium) génère un radical aryle intermédiaire après la libération de N_2 . Celui-ci s'attache à la surface conductrice par formation d'une liaison covalente entre le carbone du cycle aromatique et l'élément métallique [239].

La fonction carboxylique de l'acide est alors disponible comme surface accessible de l'électrode pour greffer le chitosane qui est fonctionnalisé par le CMA via la formation d'une liaison amide. Cette liaison est difficile à mettre en œuvre et nécessite l'activation préalable de la fonction acide carboxylique réalisée par le couple 1-éthyl-3-(3-diméthylaminopropyl) carbodiimide et N-hydroxysuccinimide (EDC/NHS). Il consiste en la formation d'un ester intermédiaire entre le NHS et la fonction carboxylique. Ainsi, l'intermédiaire formé réagit plus facilement avec l'amine primaire du chitosane ce qui améliore la cinétique de réaction. Il en résulte une meilleure adhérence du chitosane par la formation d'un film fonctionnalisé homogène à la surface du capteur [239].

IV.2 Préparation de CS-MIPs/CMA/Au

IV.2.1 Electrodeposition du CMA sur des micro-électrodes en or

a. Préparation du sel de diazonium (CMA)

Une solution de CMA de 3 mM est préparée dans une solution aqueuse de HCl (20 mM) et de NaNO₂ (20 mM) (Fig.49. Etape 1). Le mélange est conservé à 4 ° C jusqu'à l'apparition d'une teinte rosée (environ 5 min) [240].

b. Electrodeposition du CMA

Les microélectrodes en or sont rincées à l'éthanol et à l'eau déionisée sous ultrasons pendant 10 min puis exposées à l'UV/Ozone pendant 30 min. La solution de CMA est électrodéposée en utilisant la voltampérométrie cyclique (CV) pour 5 balayages dans la plage de -1,2 à 0,0 V à une vitesse de balayage de 50 mV/s (Fig.49. Etape.2). Un pic cathodique est observé, l'intensité du pic diminue à chaque balayage successif (Fig.48). Cette diminution est due au blocage de la surface de la microélectrode en or. Après électrodéposition, les microélectrodes sont rincées à l'eau déionisée et séchées sous flux d'azote.

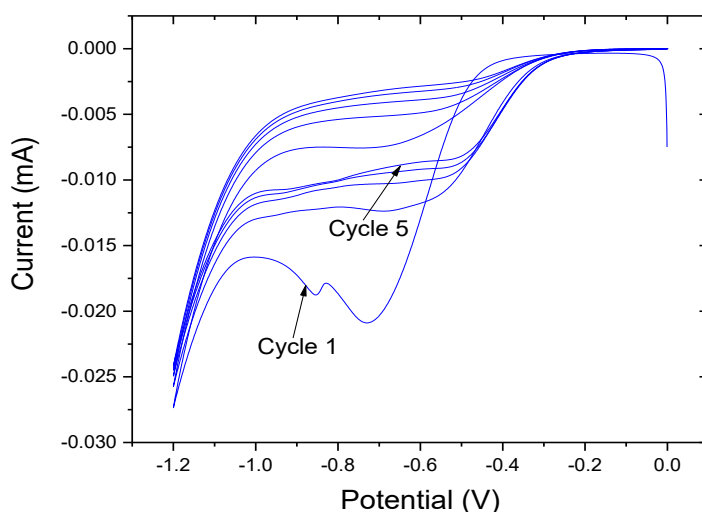


Figure 48 : CV d'électrodéposition du CMA sur la surface de la microélectrode en or pour 5 balayages dans la plage de -1,2 à 0,0 V à une vitesse de balayage de 50 mV/s.

c. Activation de la fonction carboxylique

Une solution de 1-éthyl-3-(3 diméthylaminopropyl) carbodiimide (EDC) (0,4 M) et de N-Hydroxysuccinimide (NHS) (0,1 M) est préparée dans de l'éthanol absolu. Les

microélectrodes fonctionnalisées par le CMA sont incubées dans cette solution pendant 1 heure pour activer la fonction carboxylique (Fig.49. Etape.3). Ensuite, les appareils sont soigneusement rincés à l'éthanol pur puis séchés à l'azote [240].

IV.2.2 Greffage du CS sur le CMA

a. Préparation du mélange GLY/CS

La solution de CS est préparée en dissolvant 1 g de poudre de CS dans 100 mL d'acide acétique 0,1 M et ultrasoniquée pendant 6 h à température ambiante. 1 mg/mL de GLY est préparé dans une solution de CS et la suspension est mélangée pendant 2 h, puis le pH de la solution est ajusté à 5 avec une solution d'hydroxyde d'ammoniaque.

b. Dépôt de CS-MIPs

Le mélange GLY/CS est déposé sur la surface des micro-électrodes fonctionnalisées pendant 24 heures. Le dépôt est suivi d'une incubation du CS-MIPs/CMA/Au dans une solution de 0,5 M H₂SO₄ pendant 1 h comme agent de réticulation et pour éliminer les résidus de chitosane. Ensuite, les microélectrodes sont incubées dans une solution d'acide acétique/méthanol (1:1, v/v) pendant 30 min pour extraire le GLY. Les processus sont illustrés sur la figure 49-Etape.4,5. Ainsi, un microcapteur électrochimique basé sur un film à empreinte moléculaire CS modifié avec du CMA est développé pour la reconnaissance spécifique du GLY.

Les étapes de fabrication du capteur polymère non imprimé (CS-NIP/CMA/Au) sont similaires à celles des électrodes CS-MIPs/CMA/Au, sauf que GLY était absent dans tout le processus. Enfin, les capteurs sont stockés à température ambiante pour une utilisation ultérieure.

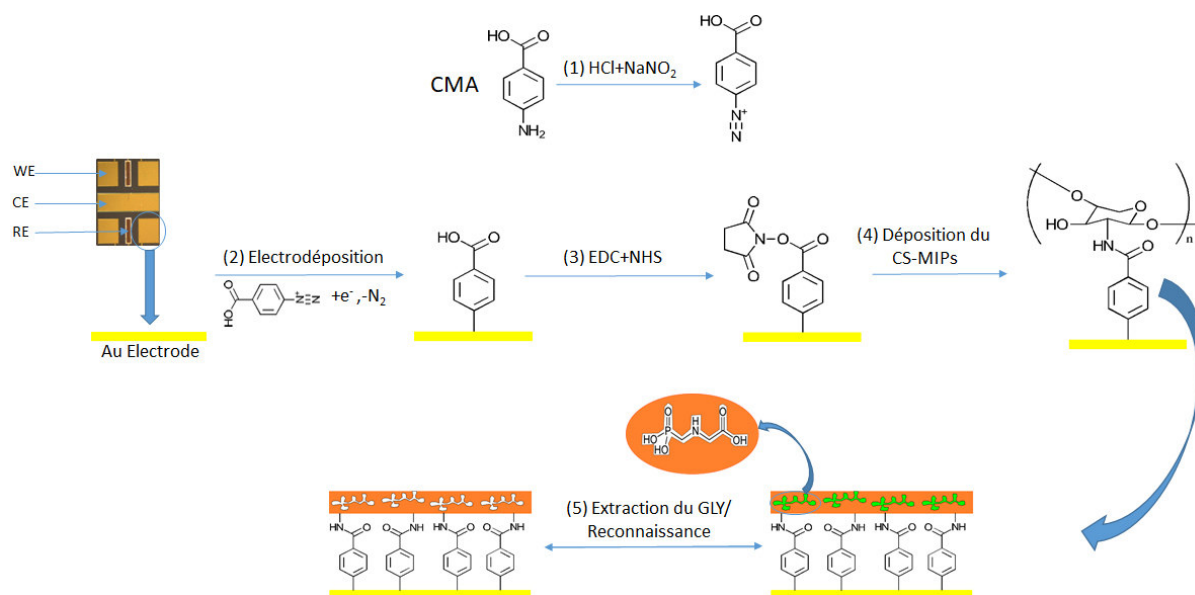


Figure 49 : Préparation du CS-MIPs/CMA/Au et sa reconnaissance pour le GLY.

IV.3 Caractérisation électrochimique des modifications de la surface des électrodes

La spectroscopie d'impédance électrochimique (EIS) est une alternative aux techniques d'analyse conventionnelles pour étudier les surfaces modifiées. Sur la figure 50, l'EIS est représenté pour les différentes étapes de modification de l'électrode dans le PBS à 5 mM [Fe(CN)₆]^{3-/4-}, E = 0,2 V. Freq = 100 khz-100 mHz. Comme le montre la (Fig.50.a), la microélectrode nue présente une faible résistance au transfert de charge pour [Fe(CN)₆]^{3-/4-}. Une augmentation évidente de la valeur d'impédance est observée avec l'électrodéposition de CMA sur la surface de la microélectrode en or (Fig.50.c). L'impédance devient plus élevée après le dépôt chimique du chitosane (Fig.50.d). Si nous comparons avec le film NIP (Fig.50.b), un Re (Z) plus grand est observé pour le film MIPs, ce qui signifie que la morphologie des deux films est différente. L'extraction du GLY de la matrice des MIPs conduit à une diminution significative de l'impédance (Fig.50.e) et à une formation d'un spectre avec deux demi-cercles bien définis. De plus, la résistance au transfert de charge de NIP est plus élevée que celle de film MIPs en raison de la présence de cavités imprimées sur la couche MIPs, ce qui favorise le transfert d'électrons.

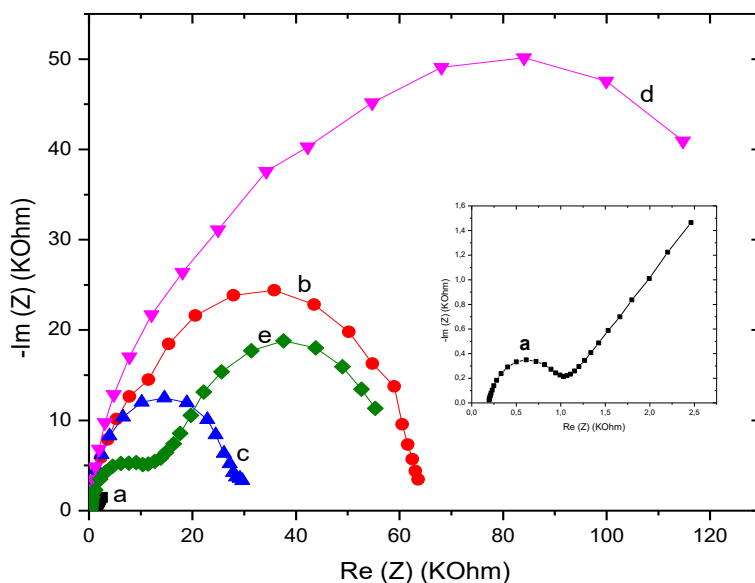


Figure 50 : EIS d'au nu (a), CS-NIP/CMA/Au (b), CMA/Au (c), CS-MIPs/CMA/Au avant l'extraction du GLY (d), CS-MIPs/CMA/Au après l'extraction du GLY (e). Dans le PBS à 5 mM $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$, $E = 0,2$ V. Freq = 100 khz-100 mHz.

Ce résultat est confirmé par la voltampérométrie cyclique (CV) utilisée pour évaluer la réponse du WE pour chaque modification dans une solution de ferro-ferricyanure, de 0 à 0,45 V à une vitesse de balayage de 80 mV/s. Les courbes CV (Fig.51) montrent les mêmes comportements que ceux observés précédemment en utilisant des mesures d'impédance. Ainsi, après l'électrodéposition de CMA (Fig.51.c), les pics d'oxydoréduction diminuent en termes d'intensité de courant par rapport à la surface d'or nu (Fig.51.a). Ensuite, les pics redox sont plus faibles après le dépôt du CS qui est un polymère non conducteur (Fig.51.d). Il est à noter que les pics redox du film NIP (Fig.51.b) sont plus élevés que ceux de film MIPs en raison de la différence de morphologie. Après l'extraction du GLY de la matrice des MIPs (Fig.51.e), l'augmentation significative du pic redox par rapport aux films NIP est liée à la présence de cavités imprimées qui favorisent le transfert d'électrons.

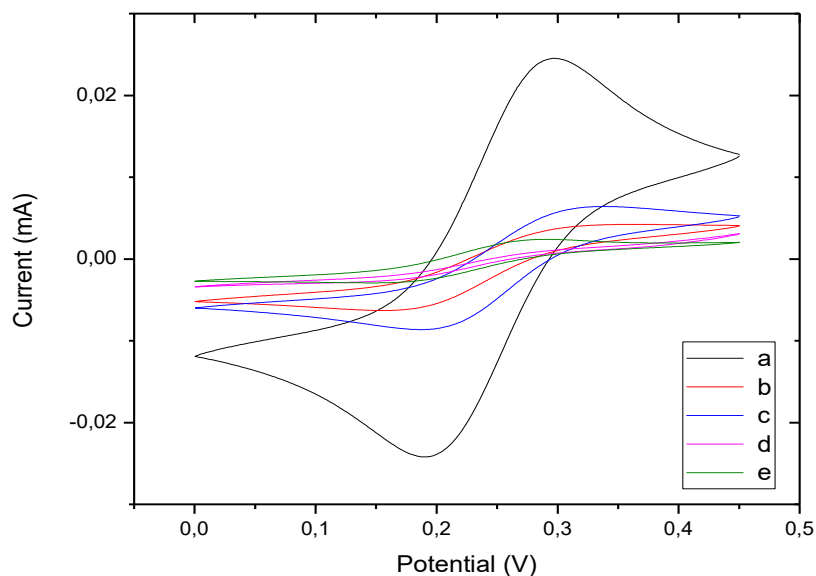


Figure 51 : CV d'au nu (a), CS-NIP/CMA/Au (b), CMA/Au (c), CS-MIPs/CMA/Au avant l'extraction du GLY (d), CS-MIPs/CMA/Au après l'extraction du GLY (e). Dans le PBS à 5 mM $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$, de 0 à 0,45 V avec une vitesse de balayage de 80 mV / s.

IV.4 Morphologie de la surface

La microscopie électronique à balayage (MEB) est utilisée pour étudier les morphologies de CMA/Au, CS-MIPs/CMA/Au et CS-NIP/CMA/Au (Fig.52). Il est clair que la morphologie de la micro-électrode modifiée avec du CMA (Fig.52.b) est complètement différente par rapport à celle d'or nu (Fig.52.a), ce qui indique le succès de l'électrodéposition de la couche de CMA. Après le dépôt chimique du chitosane sur la couche de CMA, une autre modification de morphologie apparaît à la surface de la microélectrode qui confirme le dépôt du CS (Fig.52.c). Par conséquent, MEB ne permet pas de distinguer entre la morphologie des films de MIPs (Fig.52.b) et ceux de NIP (Fig.52.c); car les diamètres des cavités, quelques nanomètres, de la couche de chitosane ont le même ordre de grandeur que les molécules GLY.

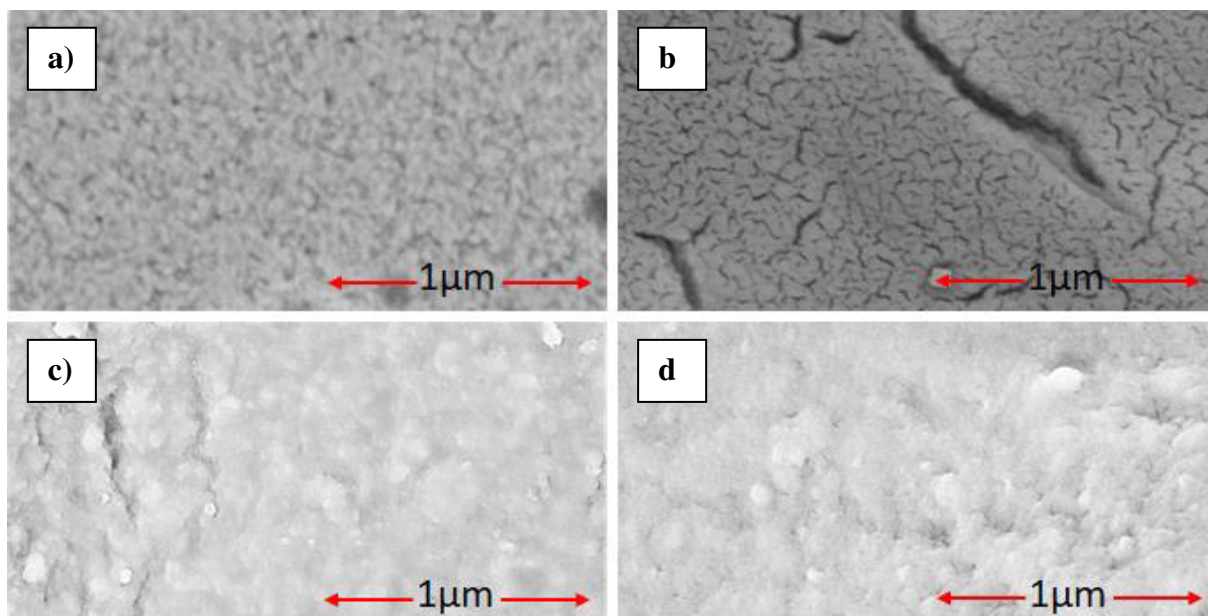


Figure 52 : Images de MEB. *a) Au nu, b) CMA/Au, c) CS-MIPs/CMA/Au, d) CS-NIPs/CMA/Au.*

IV.5 Réponses électrochimiques du CS-MIPs/CMA/Au

Comme le montre la figure 54, une variation très remarquable des spectres EIS est observée avec l'augmentation de la concentration du GLY, indiquant une corrélation entre la concentration du GLY et la variation des spectres d'impédance.

Le circuit électrique équivalent est déterminé en ajustant les données EIS. Le meilleur ajustement est fait en utilisant le circuit électrique équivalent ($R_s + CPE_1/R_{ct1} + CPE_2/R_{ct2}$), qui est formé par une association en série de trois composants (Fig.53). Ici, les composants peuvent être expliqués comme suit: R_s exprime la résistance de la solution. CPE_1 est l'élément à phase constante parallèle à R_{ct1} qui est la résistance au transfert de charge du premier demi-cercle de Nyquist. Enfin, CPE_2 est un autre élément à phase constante qui est parallèle à R_{ct2} qui est la résistance de transfert de charge pour le deuxième demi-cercle de Nyquist. Ce circuit électrique caractérise les structures poreuses. Les éléments à phase constante CPE_1 et CPE_2 sont interprétés comme les capacités non idéales causées par la rugosité de la surface, la porosité et la géométrie. L'impédance correspondante peut être exprimée par la relation suivante: $Z_{CPE} = 1/Q(j\omega)^n$; où Q est une constante, j est le nombre imaginaire, ω est la fréquence angulaire et n est le facteur de correction ($-1 \leq n \leq 1$). CPE devient plus capacitif, lorsque la valeur n tend vers 1 [241,242].

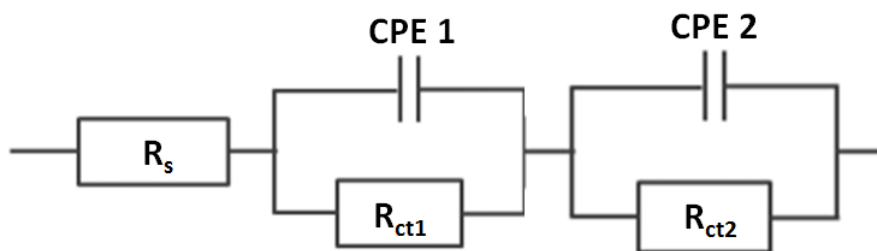


Figure 53 : Circuit électrique équivalent ($R_s + CPE1/R_{ct1} + CPE2/R_{ct2}$)

À partir des spectres d'impédance, les valeurs des paramètres d'ajustement du circuit équivalent sont présentées dans le tableau 16. Les résultats rapportés par le fitting révèlent que n_1 et n_2 sont inférieurs à 1, ce qui confirme la rugosité et l'hétérogénéité de la surface de la microélectrode. Ces valeurs restent pratiquement inchangées tout au long des mesures, indiquant que la surface de l'électrode reste stable.

Le tracé de Nyquist présente deux demi-cercles: le premier situé à haute fréquence, tandis que le second est observé à basse fréquence. Cet élément est composé des contributions de trois processus différents qui sont le processus de transfert d'électrons, le contrôle de la diffusion et l'adsorption d'espèces ioniques [243,244].

La diminution de la résistance au transfert de charge R_{ct2} lors de l'adsorption de $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$ sur la microélectrode modifiée peut être attribuée à l'interaction électrostatique entre cette surface, modifiée par les ions négatifs, et les membranes. On suppose alors que la surface active de l'électrode est beaucoup plus importante à cause de l'accumulation de ces ions à la surface mais aussi reliée à la morphologie et la porosité de surface de ces électrodes [243,244].

D'un autre côté, la résistance R_{ct1} augmente du fait de la réoccupation des sites complémentaires qui se trouvent sur la membrane du bio-polymère. Ces complexations rendent la surface de l'électrode plus résistante au transfert de charge.

La variation relative de la résistance au transfert de charge de l'électrode est présentée en utilisant l'équation suivante $|R_{ct1} - R_{ct1\text{blanc}}|/R_{ct1\text{blanc}}$ ($\Delta R/R$). Les calculs de $\Delta R/R$ ont été effectués avec R_{ct1} , qui est lié à la variation de la concentration du GLY. Il est constaté que ce paramètre est linéairement proportionnel à la valeur logarithmique des concentrations de GLY dans la plage de 0,31 pg/mL à 50 ng/mL, comme le montre la figure 55-droite noire, avec un

coefficient de corrélation de 0,999. L'équation de régression linéaire est: $\Delta R/R = 0,206 \log [GLY] - 0,188$

La limite de détection (LOD) du capteur considéré est estimée à 1 fg/mL. LOD a été obtenue à partir de l'équation $3S/m$ [230], où S est l'écart type résiduel de la régression linéaire et m est la pente de la droite de régression. Les résultats ont révélé une faible limite de détection et une sensibilité élevée.

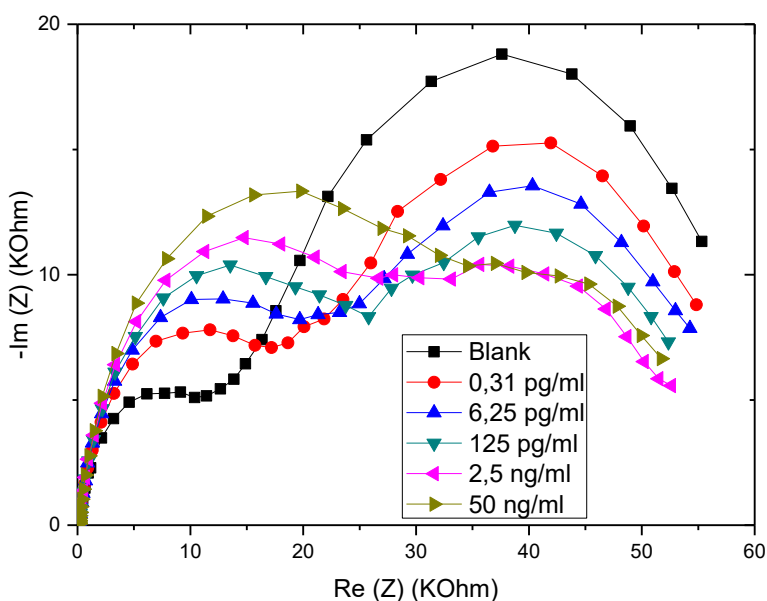


Figure 54 : EIS du CS-MIPs/CMA/Au dans le PBS à 5 mM $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$ avant la pré-concentration et après incubation dans différentes concentrations du GLY dans le PBS à 5 mM $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$, $E = 0,2$ V. Freq = 100 khz-100 mHz.

Tableau 16 : Paramètres de fitting obtenus à partir du circuit équivalent $R_s + CPE1/R_{ct1} + CPE2/R_{ct2}$

GLY conc.	R_s (Ohm)	R_{ct1} (Ohm)	$Q_2 \cdot 10^7$ (F.s ⁿ⁻¹)	n_2	R_{ct2} (Ohm)	$Q_3 \cdot 10^6$ (F.s ⁿ⁻¹)	n_3	X^2
Blanc	147	11775	3,09	0,86	53728	8,84	0,74	0,042
0.31 pg/mL	142,4	14633	2,49	0,88	45421	8,52	0,72	0,013
6.25 pg/mL	135,1	19369	2,22	0,88	40029	7,72	0,73	0,014
125 pg/mL	134,8	21937	2,16	0,88	34817	7,21	0,73	0,013

2.5 ng/mL	132,6	23910	2,03	0,87	30561	6,45	0,73	0,013
50 ng/mL	131,6	28397	2,83	0,87	28673	5,73	0,77	0,011

IV.6 Effet du CMA sur la sensibilité du capteur

La sensibilité du capteur CS-MIPs/CMA/Au est comparée à celle du capteur à base de la membrane de chitosane uniquement (CS-MIPs/Au). Comme le montre la figure 55, la sensibilité des CS-MIPs/CMA/Au est 2,37 fois supérieure à celle des CS-MIPs/Au. Pour les applications dans le domaine des capteurs, l'électrodéposition de chitosane sur une surface conductrice par gradient de pH provoque un dégagement de H₂. Le blocage de ces molécules à l'intérieur de la membrane la rend non homogène. Le greffage de chitosane sur le sel de diazonium par la formation d'interactions fortes conduit probablement à des membranes plus homogènes et à la résolution de problèmes d'interface.

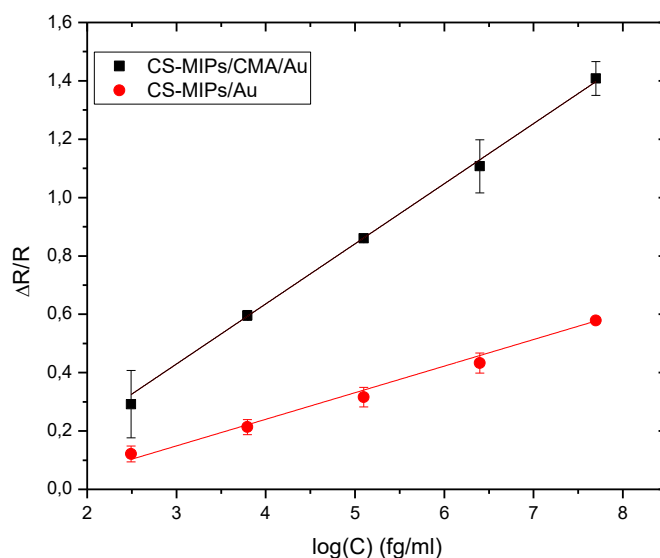


Figure 55 : Sensibilité du CS-MIPs/CMA/Au ($\Delta R / R = 0,206 \log [GLY] - 0,188$, $R^2 = 0,999$) et CS-MIPs/Au ($\Delta R / R = 0,087 \log [GLY] + 0,673$; $R^2 = 0,991$).

IV.7 Etude d'interférence

La détection sélective du microcapteur conçu pour GLY est testée en utilisant des pesticides interférents; cela comprend le gluphosinate-ammonium (GLU), le chlorpyrifos (CHL) et le phosmet (PHO). Des analyses EIS sont effectuées, en utilisant le même processus

expérimental que la détection du GLY. Tous les tests de détection du GLU, CHL et PHO sont effectués dans la même gamme de concentrations de 0,31 pg/mL à 50 ng/mL (Fig.56). Pour les différentes interférences, la réponse du capteur CS-MIPs/CMA/Au est plus faible que celle pour la détection du GLY indiquant que le microcapteur possède une meilleure sélectivité pour le GLY.

Un micro-capteur non imprimé (CS-NIP/CMA/Au) est utilisé pour étudier l'efficacité de l'impression en présence du GLY. Comme le montre la figure 56, Les $\Delta R/R$ de CS-MIPs/CMA/Au sont plus grands que les $\Delta R/R$ de CS-NIP/CMA/Au, ce qui indique que le capteur proposé a une excellente spécificité, car l'adsorption de GLY par le microcapteur non imprimé est négligeable, ce qui confirme le succès et l'efficacité de l'impression du GLY.

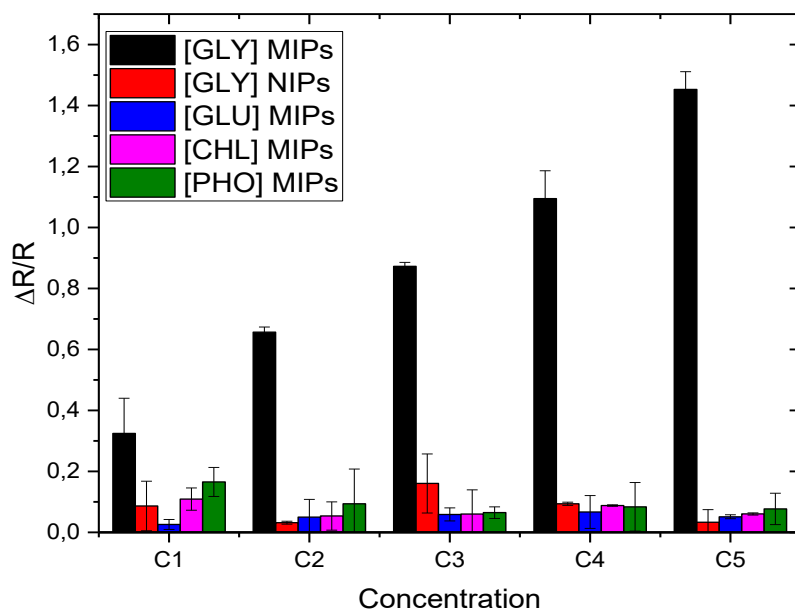


Figure 56 : Sélectivité du microcapteurs CS-MIPs/CMA/Au. **noir)** réponse de CS-MIPs/CMA/Au pour le GLY, **rouge)** réponse de CS-NIP/CMA/Au pour le GLY, **bleu)** réponse de CS-MIPs/CMA/Au pour le GLU, **rose)** réponse de CS-MIPs/CMA/Au pour le CHL, **vert)** réponse de CS-MIPs/CMA/Au pour le PHO. C1=0,031 pg/mL, C2=6,25 pg/mL, C3=125 pg/mL, C4=2,5 ng/mL et C5=50 ng/mL.

IV.8 Reproductibilité et régénération

Pour étudier la reproductibilité du microcapteur CS-MIPs/CMA/Au, les expériences sont réalisées en utilisant trois électrodes individuelles, qui sont préparées dans des conditions

similaires. Les résultats ont montré une reproductibilité acceptable avec un écart-type relatif de 1,46%.

Pour étudier la régénération du microcapteur CS-MIPs/CMA/Au, des mesures répétitives EIS sont effectuées en utilisant le même microcapteur imprimé qui est ré-immersé dans des solutions contenant 125 pg/mL du GLY. Après chaque mesure, les CS-MIP/CMA/Au sont incubés dans une solution d'acide acétique/méthanol (1:1, v/v) pendant 5 min pour éliminer le GLY adsorbé. Comme le montre la figure 57, les résultats de deuxième et troisième mesures répétées montrent une faible variation de $\Delta R/R$ par rapport au premier cycle (3,08% et 12,75% respectivement). Pour la quatrième répétition, la variation est plus grande (50,75%), indiquant que le capteur ne peut être régénéré que deux fois.

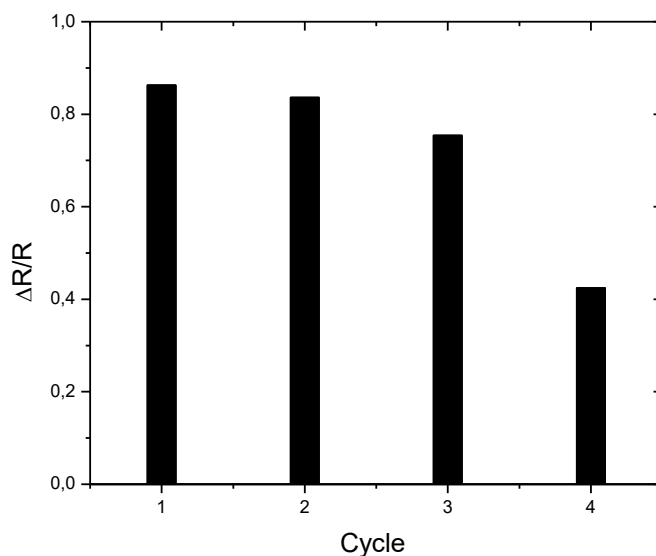


Figure 57 : Régénération du microcapteur CS-MIPs/CMA/Au.

IV.9 Analyse des échantillons réels

Pour évaluer l'applicabilité du microcapteur développé, des échantillons d'eau de rivière prélevés dans le Rhône à Lyon, en France, sont analysés. Le microsenseur CS-MIPs/CMA/Au est incubé dans un échantillon de l'eau de rivière pendant 30 min, puis une mesure EIS est effectuée pour étudier la résistance au transfert d'électrons de la surface. Les spectres de Nyquist respectifs avant et après l'analyse de l'échantillon sont presque superposés, indiquant peut-être l'absence du GLY dans l'échantillon analysé (Fig.58).

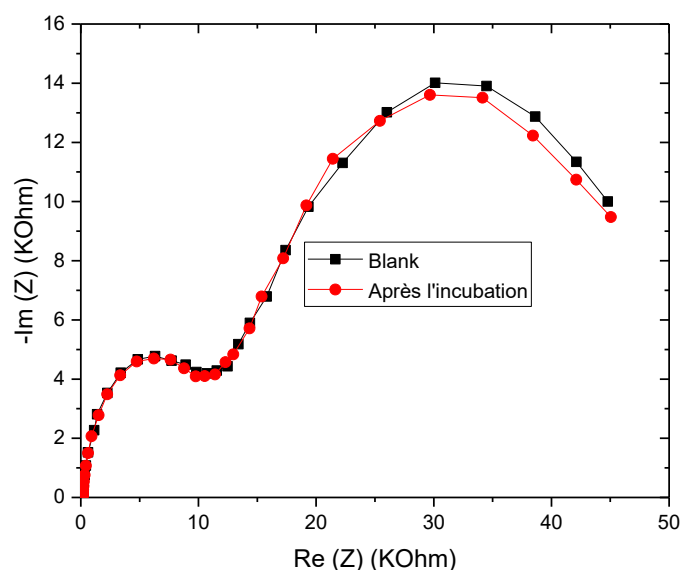


Figure 58 : EIE du CS-MIPs/CMA/Au avant et après incubation dans l'eau du Rhône, dans le PBS à 5 mM $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$, $E = 0,2$ V. Freq = 100 khz-100 mHz.

Pour confirmer l'observation ci-dessus, le GLY est déterminé en utilisant la méthode des ajouts dosés. Une variation remarquable des spectres d'impédance est observée avec une augmentation progressive de la concentration du GLY dans l'échantillon d'eau de rivière dans la plage de 0,31 pg/mL à 50 ng/mL (fig.59).

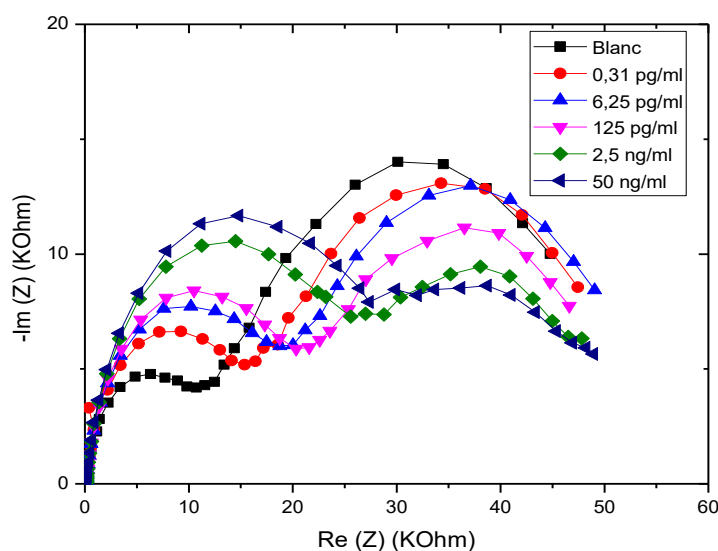


Figure 59 : EIS du CS-MIPs/CMA/Au avant préconcentration et après incubation dans l'eau de rivière avec différentes concentrations du GLY (0,031 pg/mL, 6,25 pg/mL, 125 pg/mL, 2,5 ng/mL et 50 ng/mL), dans le PBS à 5 mM $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$, $E = 0,2$ V. Freq = 100 khz-100 mHz.

Une bonne corrélation entre la concentration du GLY et la résistance relative au transfert est enregistrée avec R^2 égal à 0,997 (fig.60). L'équation de régression est de la forme $y = ax$ ($\Delta R/R = 0,20 \log [GLY]$), ce qui confirme probablement l'absence du GLY dans l'échantillon de base. De plus, comme les sensibilités de ce microcapteur dans l'eau de la rivière et dans l'échantillon ampon sont très proche, le CS-MIPs/CMA/Au présente donc une grande fiabilité.

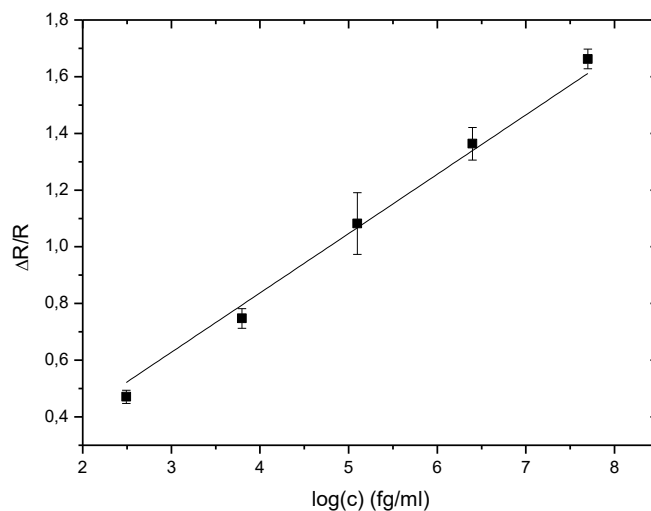


Figure 60 : Courbe de calibration ($\Delta R/R = 0,20 \log [GLY]$; $R^2 = 0,997$).

Dans ce travail, un nouveau micro-capteur impédance-métrique (CS-MIPs/CMA/Au) basé sur le chitosane à empreintes moléculaires greffé sur la surface de microélectrode d'or modifiée par l'acide 4-aminophénylacétique (CMA) est développé pour une détection spécifique du GLY dans l'eau avec une gamme linéaire de concentration entre 0,31 pg/mL à 50 ng/mL. La sensibilité de CS-MIPs/CMA/Au est plus élevée que celle de CS-MIPs/Au; ce qui suscite l'intérêt d'utiliser ce sel de diazonium. De plus, le micro-capteur développé présente une sensibilité élevée, une faible limite de détection, une bonne reproductibilité et une bonne sélectivité.

Conclusion

Dans ce chapitre, trois micro-capteurs électrochimiques basés sur le chitosane à empreintes moléculaires pour la détection sensible du GLY dans l'eau ont été développés.

- Le premier micro-capteur est basé sur l'électrodéposition du chitosane à empreintes moléculaires sur la surface de la microélectrode en or (CS-MIPs/Au).
- Dans le deuxième micro-capteur, un polypyrrole fonctionnel dopé avec de l'anion cobalt bis [3,3-Co(1,2-C₂B₉H₁₁)₂] est utilisé comme une couche de contact conductrice entre la surface de la microélectrode et le chitosane à empreintes moléculaires (CS-MIPs/PPy[3,3-Co(1,2-C₂B₉H₁₁)₂] /Au).
- Le troisième micro-capteur porte sur l'immobilisation covalente du chitosane à empreintes moléculaires sur l'acide 4-aminophénylacétique, plus communément appelé CMA (CS-MIPs/CMA/Au).

La spectroscopie d'impédance électrochimique (EIS) a été utilisée pour la détection du GLY entre une large gamme de concentrations de 0,31 pg/mL à 50 ng/mL. Les micro-capteurs développés se sont révélés très sélectifs vis-à-vis du GLY par rapport à certains pesticides tels que le gluphosinate-ammonium (GLU), le chlorpyrifos (CHL) et le phosmet (PHO), prouvant la sélectivité de la surface de MIPs. L'adsorption du GLY par le Chitosane non imprimé est négligeable, ce qui indique l'efficacité des empreintes laissées sur le polymère par le GLY. Les résultats expérimentaux ont montré une sensibilité élevée, une limite de détection basse, une bonne reproductibilité et une bonne sélectivité. La procédure de fabrication est très simple, rapide et peu coûteuse. De plus, les micro-capteurs proposés offrent une grande fiabilité pour détecter de faibles niveaux de résidus du GLY dans des échantillons d'eau de rivière.

CHAPITRE 3 : MODELISATION DE LA REponse IMPEDANCE-METRIQUE DES MICRO-CAPTEURS.

Introduction

La réponse de capteurs ‘miniaturisés développés’ développés dans cette étude est étroitement liée à la présence des empreintes moléculaires spécifiques sur le film du bio-polymère à la surface de la macro-électrode de travail. Elle est aussi liée aux facteurs inhérents à la structure même du capteur et à son mode de fonctionnement. L’explication du fonctionnement dans les profondeurs de ce capteur nécessite une connaissance approfondie de tous les paramètres entrant en jeu dans une telle conception.

La modélisation est une représentation simplifiée d'un système ou d'un phénomène physique réel, permettant de reproduire son fonctionnement, de l'analyser, de l'expliquer, et d'en prédire certains aspects. La modélisation est un outil qui aide à la compréhension des mécanismes intrinsèques de ces instruments d’analyses. Il permet de trouver des relations entre les variables et les paramètres sensés influencer sur les caractéristiques métrologiques de ces capteurs, il s’agit par exemple de la résistance de la solution, la résistance au transfert de charge/matière dans les différentes ‘couches’ composant le capteur, ou encore sa structure géométrique.

La modélisation est incontournable pour l’optimisation avant la mise sur le marché d’un appareil ou d’un procédé. Un modèle ‘fiable’ est celui qui permet de simuler un capteur dans les conditions réelles. Et là, se pose le problème de la détermination des paramètres qui interviennent dans les équations du modèle.

Dans ce chapitre, des modèles mathématiques basés sur des théories physiques sont développés afin d’analyser les données obtenues expérimentalement. L’analyse de la réponse impédance-métrique observée conduit à estimer les paramètres microscopiques des capteurs. La validation des différents modèles, est réalisée par la comparaison entre les impédances expérimentale et théorique de chacun des capteurs et sous les conditions expérimentales bien déterminées.

I Modélisation du micro-capteur CS-MIPs/Au

I.1 Le modèle physique

Le schéma général du spectre d'impédance obtenu par mesure spectroscopique pour la cellule expérimentale et son circuit électrique équivalent sont illustrés sur la figure 61.

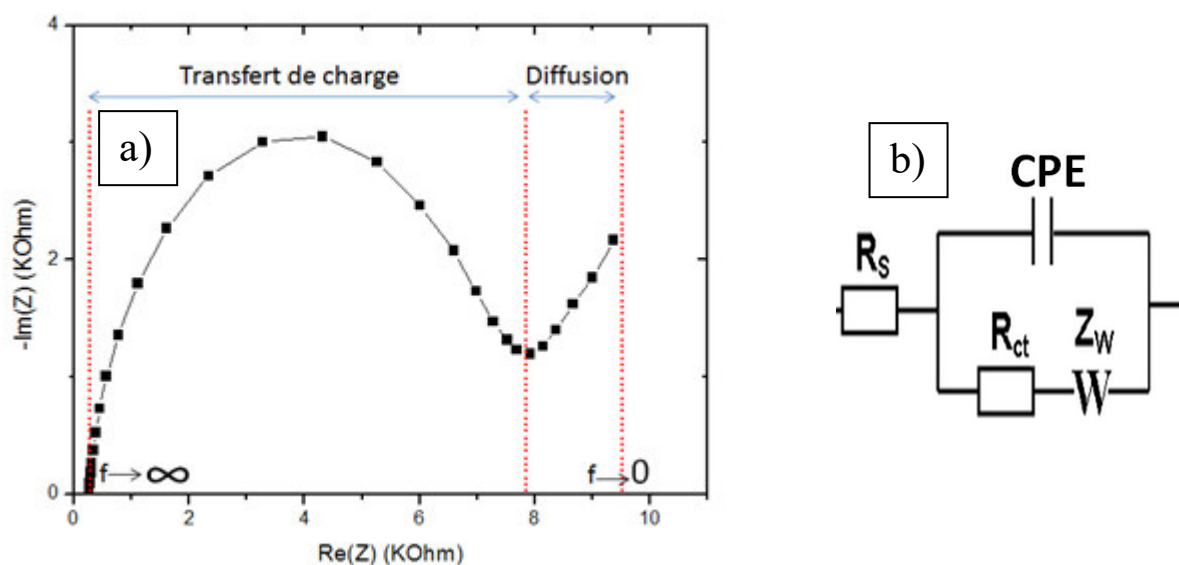


Figure 61 : a) Diagramme de Nyquist du modèle global d'impédance électrochimique. b) circuit électrique équivalent ($R_s + CPE / (R_{ct} + Z_w)$)

Le spectre d'impédance global est constitué de deux régions bien séparées : De 100 KHz à 10 Hz correspond à un demi-cercle qui associe la résistance de transfert de charge en parallèle à la capacité de double couche que l'on décrit habituellement par des éléments à phase constante (CPE). En haute fréquence (100 KHz), l'intersection de la courbe d'impédance avec l'axe des abscisses permet de déterminer la résistance d'électrolyte R_s qui modélise la conductivité électrique de la solution due aux ions mobiles. De 10 Hz à 1 Hz la partie linéaire du diagramme correspond à l'impédance de Warburg (diffusion des espèces électroactives).

La réponse des micro-capteurs est marquée par la variation des demi-cercles vis-à-vis des concentrations de GLY incubées. Cette variation, d'après les spectres d'impédance, est plus significative en comparaison avec la variation de la diffusion de Warburg.

Afin de simplifier les équations du modèle physique, la réponse du capteur est modélisée avec une combinaison en série de la résistance de la solution R_s et de la résistance au transfert de charge R_{ct} placée en parallèle avec CPE. Le circuit équivalent de la figure 1 est donc réduit à un autre circuit représenté sur la figure 62.

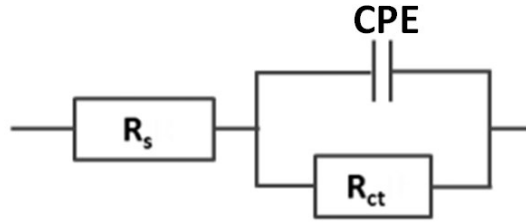


Figure 62 : Circuit électrique équivalent composé de deux résistances et des éléments à phase constante ($R_s + CPE/R_{ct}$).

L'impédance globale de ce circuit équivalent est constituée d'une résistance R_s en série avec une connexion parallèle de CPE et R_{ct} .

Comme défini dans la littérature, le CPE représente de nombreux éléments comme par exemple l'inhomogénéité de la surface et de la distribution de charge ainsi que du couplage entre les courants faradique et capacitif. On peut donc s'attendre à ce qu'un meilleur ajustement pour les systèmes réels soit obtenu en utilisant le CPE en remplacement de la capacitance C_{dl} . Pour modéliser ce comportement, un élément fractionnaire CPE est proposé et exprimé comme suit:

$$Z_{CPE} = \frac{1}{Q(j\omega)^n} \quad \text{Eq.47}$$

$$j = \sqrt{-1} = \cos\left(\frac{\pi}{2}\right) + j \sin\left(\frac{\pi}{2}\right) \quad \text{Eq.48}$$

Avec : Q en ($s^n \Omega^{-1}$) ou ($F s^{(n-1)}$) représentant le coefficient de CPE, $-1 \leq n \leq 1$ est le facteur de correction, $\omega = 2\pi f$, où f représente la fréquence mesurée en Hz. L'équation 47 peut également s'écrire :

$$Z_{CPE} = \frac{1}{Q\omega^n} \left[\cos\left(n\frac{\pi}{2}\right) - j \sin\left(n\frac{\pi}{2}\right) \right] \quad \text{Eq.49}$$

L'impédance globale équivalente au circuit de la figure 62 est donnée par :

$$Z = R_s + \frac{R_{ct}\left(1 + R_{ct}Q\omega^n \cos\frac{n\pi}{2}\right)}{1 + (R_{ct}Q\omega^n)^2 + 2R_{ct}Q\omega^n \cos\frac{n\pi}{2}} - j \frac{R_{ct}^2 Q\omega^n \sin\frac{n\pi}{2}}{1 + (R_{ct}Q\omega^n)^2 + 2R_{ct}Q\omega^n \cos\frac{n\pi}{2}} \quad \text{Eq.50}$$

Que l'on peut décomposer en :

$$Re(Z) = R_s + \frac{R_{ct}\left(1 + R_{ct}Q\omega^n \cos\frac{n\pi}{2}\right)}{1 + (R_{ct}Q\omega^n)^2 + 2R_{ct}Q\omega^n \cos\frac{n\pi}{2}} \quad \text{Eq.51}$$

$$-Im(Z) = \frac{R_{ct}^2 Q \omega^n \sin \frac{n\pi}{2}}{1 + (R_{ct} Q \omega^n)^2 + 2R_{ct} Q \omega^n \cos \frac{n\pi}{2}} \quad \text{Eq.52}$$

Où $Re(Z)$ est la partie réelle de l'impédance, $-Im(Z)$ est la partie imaginaire de l'impédance.

Les réactions aux électrodes mettent en jeu le couple redox ferri/ferrocyanure, dans lequel ferricyanure est l'oxydant et le ferrocyanure est le réducteur. La demi-équation électronique correspondant à ce couple est la suivante :



Dans le cas où les réactions des électrodes sont totalement régies par la cinétique de transfert d'électrons, la résistance au transfert de charge (R_{ct}) est l'opposition connue au mouvement des électrons. R_{ct} est observée sur la figure 61 à la deuxième intersection extrapolée avec l'axe réel dans la région de moyenne à basse fréquence. Pour $C_{Ox}=C_{Red}=C$, et pour un processus simple à un électron ($n=1$), R_{ct} est donnée par l'équation 54:

$$R_{tc} = \frac{RT}{F^2 A k^0 C} \quad \text{Eq.54}$$

Avec ; R: Constante des gaz parfaits ($J.mol^{-1}.K^{-1}$), T: Température (K), F: Constante de Faraday ($C.mol^{-1}$), A : surface de l'électrode de travail (cm^2), k^0 constante de vitesse standard (cm/s).

L'impédance globale Z tend vers la résistance de la solution R_s lorsque $\omega \rightarrow \infty$, R_s est définie par l'équation 55:

$$R_s(\Omega) = \rho \frac{l}{A} \quad \text{Eq.55}$$

Où, ρ est la résistivité de la solution (Ωcm), A : surface de l'électrode (cm^2), l l'épaisseur de revêtement (cm).

La résistivité de la solution ferri/ferrocyanure est calculée par les relations suivantes :

$$\rho = \frac{1}{\sigma} \quad \text{Eq.56}$$

$$\sigma = \sum_i q_i \lambda_i C_i \quad \text{Eq.57}$$

Avec, σ : conductivité de la solution (s/m), q_i le nombre de charges de l'ion, λ_i la conductivité molaire ionique équivalente ($\lambda(Fe^{III}(CN)_6^{3-})=10.09 \text{ ms.m}^2/\text{mol}$, $\lambda(Fe^{II}(CN)_6^{4-})=11.04$

ms.m²/mol), C_i la concentration de l'ion (mol/m³). La valeur de résistivité ainsi déterminée est de 2.687 Ω m.

I.2 Simulation numérique

Afin de pouvoir déterminer les paramètres de ce modèle à partir de données expérimentales, le logiciel Matlab est utilisé pour simuler le modèle physique. La température (T), la constante des gaz parfait (R), la résistivité de la solution (ρ), la constante de Faraday (F), la surface de l'électrode (A), la concentration (C), le vecteur de vitesses angulaires (ω), l'erreur tolérée (ε₀), Re (Z) et -Im (Z) expérimentales sont utilisés comme variables d'entrées.

Re (Z) et -Im(Z) théoriques ont été calculées en plusieurs itérations pour chaque pas de l'épaisseur de la membrane (l), de la constante de la vitesse (k°), du coefficient de CPE (Q) et du facteur de correction (n). L'intervalle de variation de chaque paramètre et les valeurs des données d'entrées sont présentés dans le tableau 17.

Tableau 17 : Paramètres et variables utilisés dans la simulation numérique.

Paramètres d'entrées	Valeur	Unité	Variables	Plage de variation	Unité
T	298	K	<i>l</i>	[10 ⁻³ ,10 ⁻⁵]	cm
F	96485	c.mol ⁻¹	k°	[10 ⁻³ ,10 ⁻⁵]	cm.s ⁻¹
R	8.3145	J.mol ⁻¹ .K ⁻¹	Q	[10 ⁻⁵ ,10 ⁻⁸]	s ⁿ .Ω ⁻¹
A	0.0064	cm ²	n	[-1,1]	/
ρ	268.7	Ω.cm			
C	5.10 ⁻⁶	mol.cm ⁻³			
ω= 2πf	f=	100 rad.s ⁻¹ KHz→10 Hz			
Re(Z)	/	Ω			
-Im(Z)	/	Ω			

Les valeurs de différents paramètres sont déterminées en minimisant l'erreur entre les données expérimentales et les réponses simulées, cette erreur est calculée selon la relation suivante :

$$Erreur(e_1) = \sum \left| \frac{Re(Z)_{théorique} - Re(Z)_{expérimentale}}{Re(Z)_{théorique}} \right| \quad \text{Eq.58}$$

$$Erreur(e_2) = \sum \left| \frac{(-Im(Z))_{théorique} - (-Im(Z))_{expérimentale}}{(-Im(Z))_{théorique}} \right| \quad \text{Eq.59}$$

Les itérations sont arrêtées lorsque $e_1, e_2 \leq e_0$. L'algorithme général du programme numérique est donné sur la Figure 63.

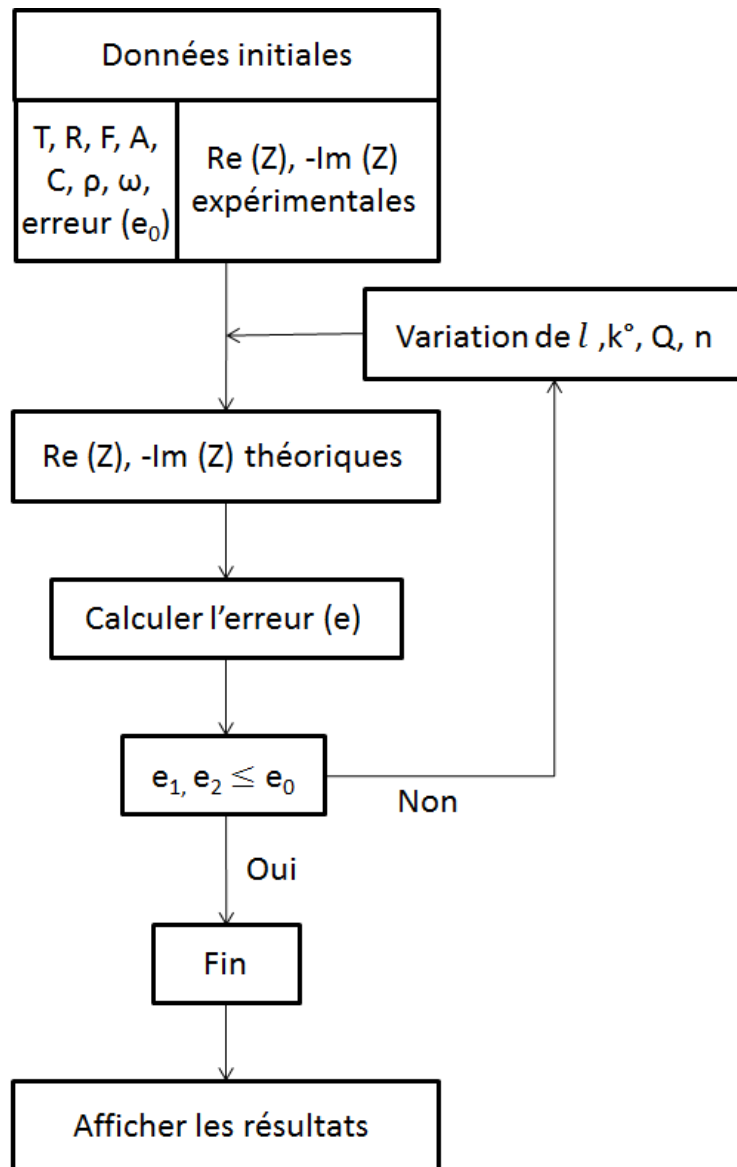


Figure 63 : Schéma de l'algorithme général de programmation.

I.3 Validation du modèle

Cette section est consacrée à la modélisation physique de la réponse du micro-capteur pour la détection du GLY. Afin de valider le modèle proposé, les résultats des simulations sont comparés aux données expérimentales. La figure 64 présente l'évolution théorique et expérimentale de $\text{Re}(Z)$ en fonction de $-\text{Im}(Z)$. Un bon ajustement est atteint entre les données expérimentales et les données théoriques calculées avec une erreur assez faible ($<10^{-3}$).

Une augmentation progressive des spectres d'impédance expérimentaux et théoriques est observée avec l'augmentation de la concentration de GLY indiquant une corrélation entre la concentration de GLY et EIS. Cette augmentation des spectres d'impédances, après incubation graduelle du GLY, est probablement due à la diminution correspondante de la contribution de l'impédance faradique et/ou capacitive. Cela peut se produire si R_{ct} et/ou Q diminuent en raison du changement d'état de surface de l'électrode apporté par la présence du GLY.

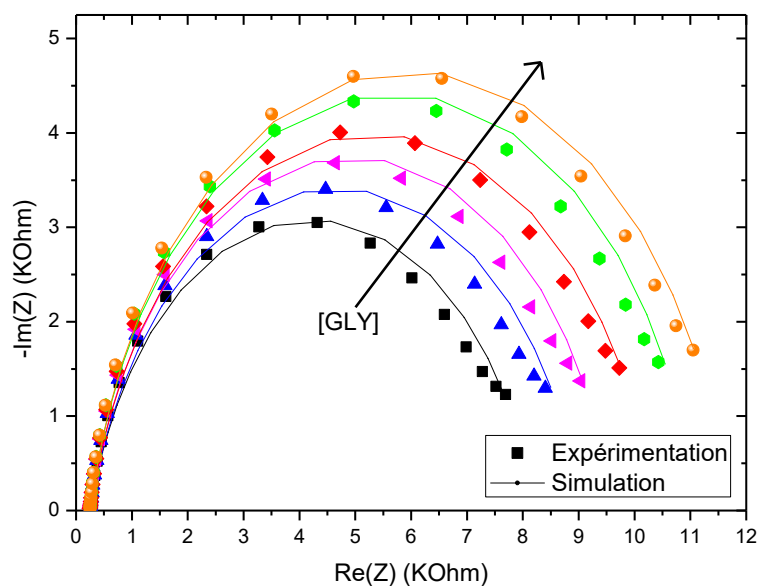


Figure 64 : EIS expérimentales et théoriques de CS-MIPs/Au dans 5 mM $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ potentiel initial $E = 0,2 \text{ V}$. $f = 100 \text{ kHz} - 10 \text{ Hz}$. Pour différentes concentrations de GLY (0.31pg/mL, 6.25 pg/mL, 125pg/mL, 2.5ng/mL et 50ng/mL).

Le tableau 18 représente les différentes valeurs de l , Q , k° et n déterminées numériquement pour les différentes concentrations du GLY incubées.

L'épaisseur de la membrane de MIPs déposée sur l'électrode est estimée à 62 μm . l est restée constante au cours de l'expérience, ce qui signifie que cette membrane est stable dans les milieux d'étude et elle n'est infectée ni par l'humidité, ni par la solution ferri/ferrocyanure utilisée pour la caractérisation. La résistance de la solution R_s calculée à partir de la valeur de l est aussi constante ($R_s = 260.3 \Omega$). Le coefficient de correction n , caractérisant l'inhomogénéité de la surface d'électrode modifiée, estimé à une valeur fixe de 0.84 indique l'absence des variations dans la porosité et la rugosité de la membrane du chitosane.

La valeur simulée de la vitesse standard de la réaction de transfert d'électrons k° sur l'électrode caractérisée avant l'incubation dans la solution du GLY est égale à 10 $\mu\text{m/s}$. k° diminue avec l'augmentation de la concentration du GLY incubée. Cette diminution est assurément due à la réoccupation des cavités complémentaires par les molécules du GLY en s'opposant au transfert d'électrons et augmentant ainsi la résistance de la membrane au transfert de charge R_{ct} .

Sur la figure 65.a, est représentée l'évolution de la constante k° en fonction de la résistance R_{ct} obtenue à partir du modèle. K° varie linéairement en fonction de R_{ct} avec un coefficient de corrélation $R^2=0.995$, l'équation de régression ainsi retrouvée est : $k^\circ = -8.14 \cdot 10^{-4} R_{ct} + 16.55$.

Les variations de k° (fig.65.b) et R_{ct} (fig.65.c) en fonction du logarithme de la concentration du GLY présentent une très bonne régression linéaire, soit respectivement : ($k^\circ = -0.446 \log[\text{GLY}] + 10.5$; $R^2=0.991$) et ($R_{ct} = 550.27 \log[\text{GLY}] + 7419.4$; $R^2=0.999$) ; respectivement.

Les valeurs du coefficient de CPE (Q) diminuent également avec l'augmentation de la concentration du GLY; elles sont liées à l'évolution de l'impédance capacitive qui participe au changement de l'impédance globale. Cette variation évolue selon une loi linéaire ($Q = -0.2 \cdot 10^{-7} \log[\text{GLY}] + 6.56 \cdot 10^{-7}$; $R^2=0.978$) (fig.65.d). Q varie peu par rapport à la variation de R_{ct} ce qui permet de conclure que le courant Faradique est le plus perturbé par le GLY et qu'il participe plus à la variation de l'impédance globale que le courant capacitif.

Tableau 18 : Différents paramètres du CS-MIPs/Au estimés par le modèle pour différentes concentrations du GLY.

[GLY]	l (μm)	R_s (Ω)	k° ($\mu\text{m/s}$)	R_{ct} (Ω)	$Q \cdot 10^7$ ($\text{S}^n \Omega^{-1}$)	n	$e_1 \cdot 10^4$	$e_2 \cdot 10^4$

0	62	260,3	10	8056,9	6,7	0,84	4,72	2,87
0.31 pg/mL	62	260,3	9,45	8807,2	5,9	0,84	4,97	1,61
6.25 pg/mL	62	260,3	8,79	9468,5	5,4	0,84	4,73	1,27
125 pg/mL	62	260,3	8,13	10237	5,1	0,84	4,78	1,16
2.5 ng/mL	62	260,3	7,59	10965	4,6	0,84	4,91	1,61
50 ng/mL	62	260,3	7,15	11640	4,4	0,84	4,64	3,36

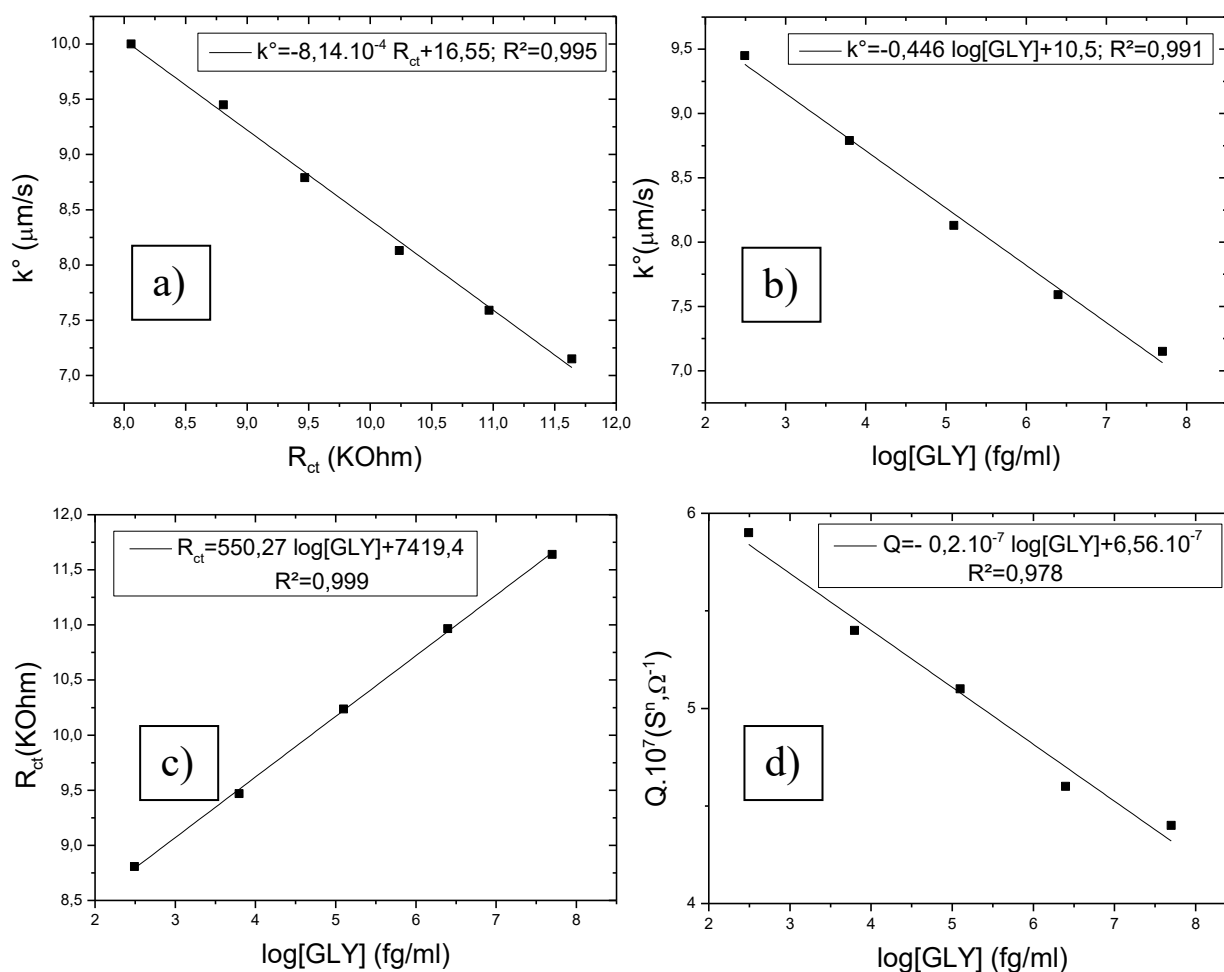


Figure 65 : Courbes de calibrations CS-MIPs. a) $k^\circ = f(R_{ct})$ pour différentes [GLY], b) $k^\circ = f(\log[\text{GLY}])$, c) $R_{ct} = f(\log[\text{GLY}])$, d) $Q = f(\log[\text{GLY}])$. ([GLU]=0, 0.31pg/mL, 6.25pg/mL, 125pg/mL, 2.5ng/mL, 50ng/mL)

I.4 Effets de différents paramètres sur la réponse impédance-métrique de CS-MIPs/Au

I.4.1 Effet du coefficient n

En utilisant les équations 51 et 52, on peut montrer la variation de l'impédance globale pour différentes valeurs du coefficient n (fig.66.a). La variation de n allant de 0.6 jusqu'à 1 fait augmenter proportionnellement le spectre d'impédance.

La représentation de $-\text{Im}(Z)$ en fonction de n (fig.66.b), montre que la valeur maximale de l'impédance imaginaire augmente et se décale vers les zones de basse fréquence avec l'augmentation de n . Tandis que la valeur maximale de l'impédance réelle semble être indépendante de la valeur de n . La seule observation remarquée est que l'intervalle de fréquence de variation de $\text{Re}(Z)$ diminue et se rapproche des basses fréquences avec l'augmentation de n (fig.66.c).

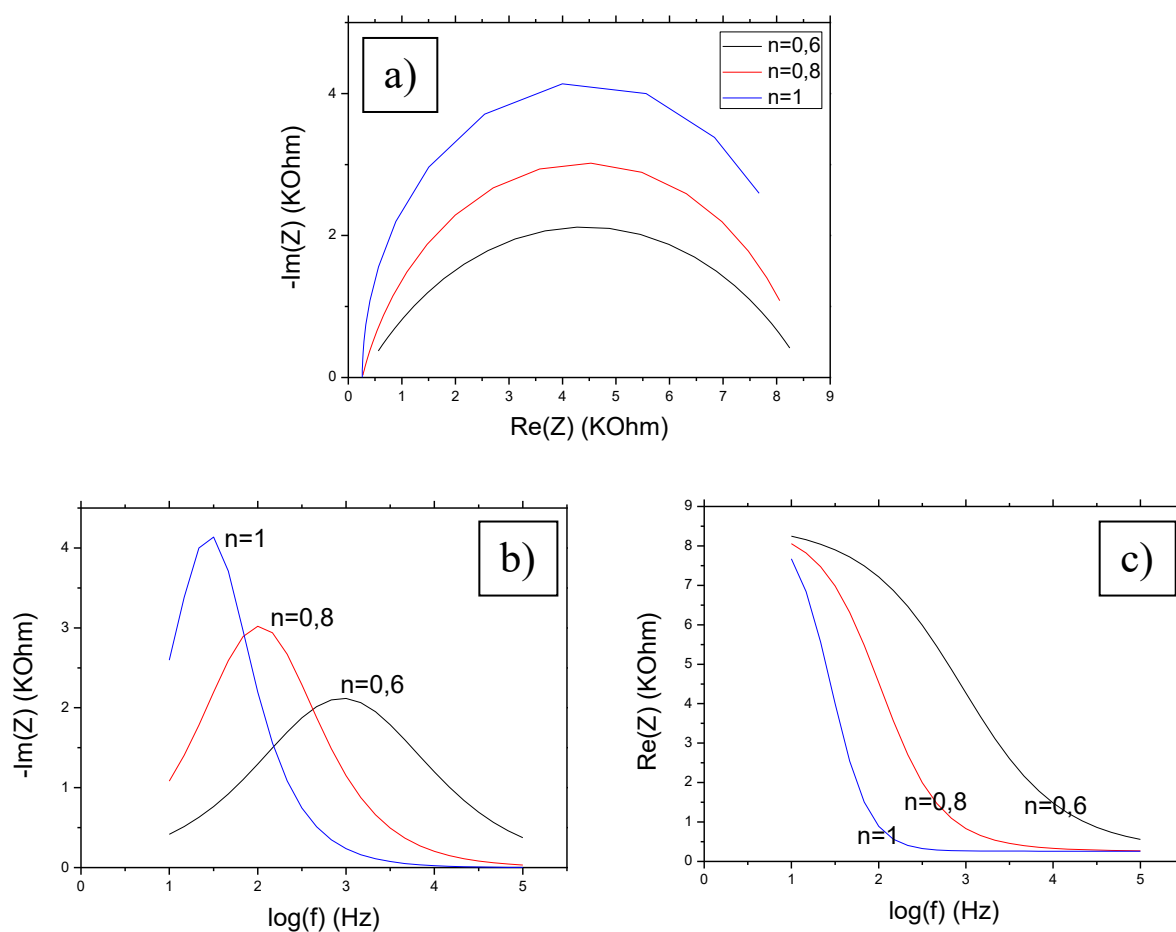


Figure 66 : Effet du coefficient n sur la variation de la réponse impédancemétrique du CS-MIPs. **a)** $-\text{Im}(Z)=f(\text{Re}(Z))$, **b)** $-\text{Im}(Z)=\log(f)$, **c)** $\text{Re}(Z)=\log(f)$. Dans $5\text{ mM } [\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$. $f = 100\text{ kHz} - 10\text{ Hz}$. $k^\circ=0.001\text{ cm/s}$, $A=0.0064\text{ cm}^2$, $Q=7*10^{-7}\text{ s}^n\text{ }\Omega^{-1}$, $T=298\text{ K}$, $l=60\text{ }\mu\text{m}$.

I.4.2 Effet de la constante de vitesse de transfert d'électrons k°

Les effets de la variation de la constante de vitesse standard k° sur la réponse du microcapteur sont visibles sur la figure 67. k° n'a pas d'effet sur la valeur de l'impédance réelle à la fréquence de départ. D'un autre côté, l'impédance imaginaire initiale augmente avec la diminution de k° . En outre, les maximums de $\text{Re}(Z)$ et $-\text{Im}(Z)$ sont inversement proportionnels à l'augmentation de k° et ils se décalent vers les basses fréquences.

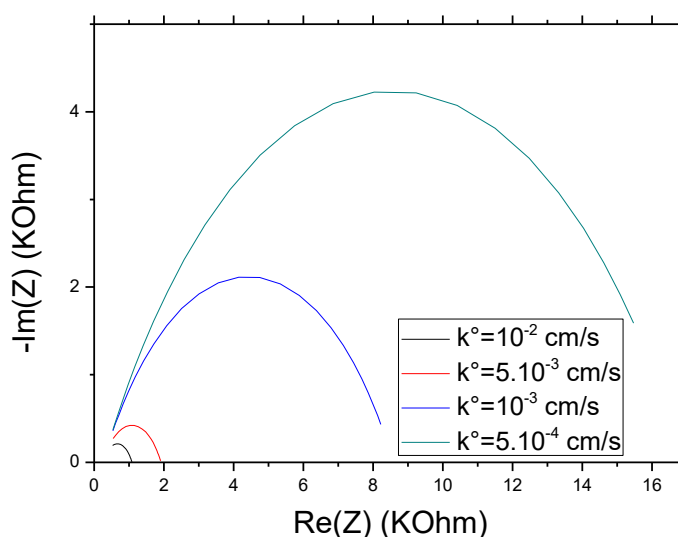


Figure 67 : Effet de la constante de vitesse k° sur la réponse impédancemétrique du CS-MIPs pour $T=298K$, $A=0.0064\text{cm}^2$, $Q=7 \cdot 10^{-7} \text{ s}^n \Omega^{-1}$, $l=60\mu\text{m}$, $n=0.8$ dans $5 \text{ mM } [\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$. $f = 100 \text{ KHz} - 10 \text{ Hz}$.

I.4.3 Effet du coefficient de CPE (Q)

Sur la figure 68, est représenté le spectre d'impédance pour différentes valeurs du coefficient de CPE (Q). Un spectre d'impédance avec demi-cercle bien défini est obtenu pour une valeur Q donnée que l'on nomme Q optimale (Q_{opt}). Pour $Q > Q_{\text{opt}}$, $-\text{Im}(Z)$ se rapproche de zéro, $\text{Re}(Z)$ tend vers la valeur de la résistance de la solution R_s . Pour $Q < Q_{\text{opt}}$, $-\text{Im}(Z)$ tend vers zéro et $\text{Re}(Z)$ tend vers la valeur de la résistance de transfert de charge R_{ct} .

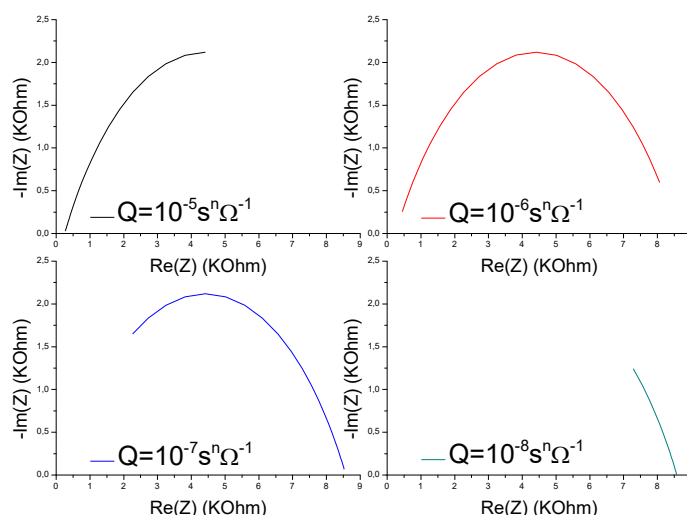


Figure 68 : Effet du coefficient Q sur la réponse impédancemétrique du CS-MIPs pour $T=298K$, $A=0.0064cm^2$, $k^0=0.001cm/s$, $l= 60\mu m$, $n= 0.8$ dans $5 mM [Fe(CN)_6]^{3-/4-}$. $f = 100 KHz - 10 Hz$.

I.4.4 Effets de l'épaisseur et de la surface de la membrane CS-MIPs

D'après les équations 51 et 52, l'épaisseur de la membrane (l) influe sur la résistance de la solution R_s intervenant seulement dans l'équation de l'impédance réelle. Sur la figure 69.a, la variation du spectre d'impédance est tracée pour différentes valeurs de l . L'augmentation du maximum de $Re(Z)$ avec l'épaisseur peut s'expliquer par le changement de la résistance de la solution. Par contre, la valeur maximale de $-Im(Z)$ reste constante.

La variation de la surface de la membrane (A), influe fortement sur l'impédance globale (fig.69.b). $Re(Z)$ et $-Im(Z)$ enregistrent des valeurs plus grandes pour une surface A minimale. Aussi, A affecte la résistance de la solution qui tend vers 0 pour une surface A plus grande.

Ces variations causées par l et A sont les minimales qui peuvent être enregistrées sur l'impédance globale. En réalité l et A peuvent influencer aussi sur l'impédance Faradique en faisant varier la vitesse de transfert d'électrons exprimée en unité de distance par unité de temps. Ils peuvent également modifier l'impédance capacitive causée par le changement des caractéristiques de la membrane comme le coefficient n .

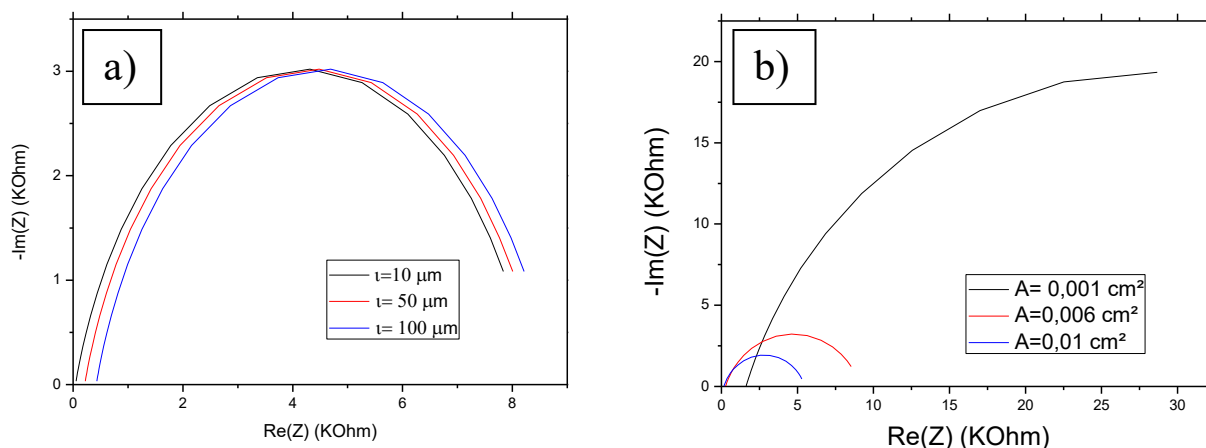


Figure 69 : Variation de la réponse impédancemétrique du CS-MIPs. **a)** en fonction de l pour $k^\circ=0.001\text{cm/s}$, $A=0.0064\text{cm}^2$, $Q=7*10^{-7} \text{ s}^n \Omega^{-1}$, $T=298\text{K}$, $n= 0.8$, **b)** en fonction de A pour $k^\circ=0.001\text{cm/s}$, $Q=7*10^{-7} \text{ s}^n \Omega^{-1}$, $T=298\text{K}$, $l= 60\mu\text{m}$, $n=0.8$. Dans $5 \text{ mM } [\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3- / 4-}$. $f = 100 \text{ khz} - 10 \text{ Hz}$.

I.4.5 Effets de la température et de la concentration de la solution ferri/ferrocyanure

Les températures élevées de la solution ferri/ferrocyanure, utilisée pour la caractérisation de l'électrode, provoquent une augmentation de l'impédance réelle et imaginaire comme le montre la figure 70.a. La variation de la température montre un effet sur la résistance de transfert de charge R_{ct} . Mais elle peut aussi provoquer un changement dans la résistance de la solution R_s en modifiant sa résistivité.

La concentration de la solution ferri/ferrocyanure influe beaucoup sur l'impédance globale Z . La figure 70.b donne les tracés de la variation de Z en fonction de trois concentrations du couple redox ($C=1, 5, 10 \text{ mM}$). L'augmentation de la concentration dans le milieu d'analyse provoque une diminution des parties $\text{Re}(Z)$ et $-\text{Im}(Z)$, notamment une diminution de R_{ct} . La concentration du couple redox influe aussi sur la résistance de la solution en modifiant sa résistivité; plus la concentration est grande, plus R_s est faible.

La température et la concentration du couple redox peuvent également influencer sur la vitesse de transfert de charge caractérisée par sa constante k° . Ces changements sont dûs au mouvement et à la densité des électrons, respectivement.

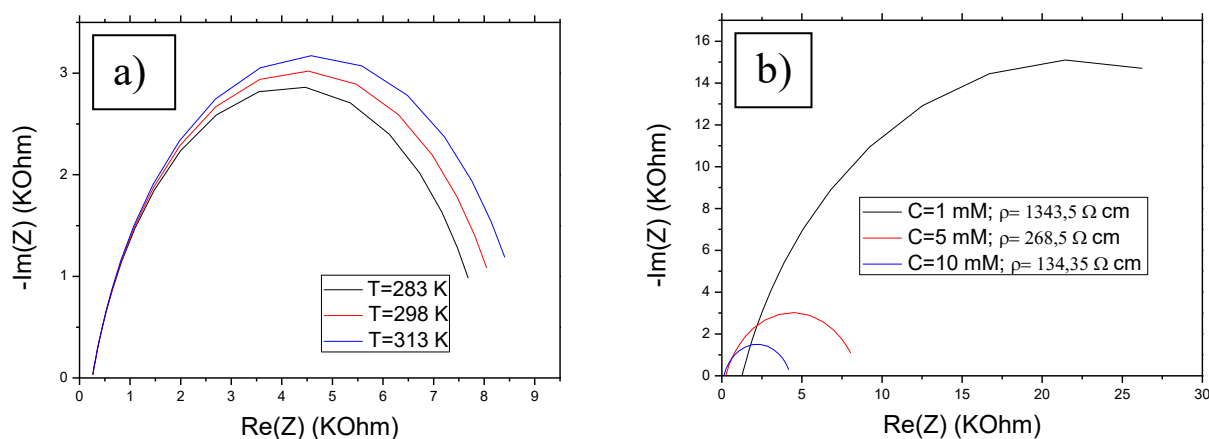


Figure 70 : Variation de la réponse impédance-métrique du CS-MIPs. **a)** en fonction de la température pour $k^{\circ}=0.001\text{cm/s}$, $A=0.0064\text{cm}^2$, $Q=7*10^{-7} \text{ s}^n \Omega^{-1}$, $l= 60\mu\text{m}$, $n= 0.8$, **b)** en fonction de la concentration du couple $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ pour $k^{\circ}=0.001\text{cm/s}$, $A=0.0064\text{cm}^2$, $Q=7*10^{-7} \text{ s}^n \Omega^{-1}$, $T=298\text{K}$, $l= 60\mu\text{m}$, $n=0.8$. $f = 100 \text{ kHz} - 10 \text{ Hz}$.

I.5 Effet du polypyrrole sur la réponse du micro-capteur

I.5.1 Analyse spectrale

La représentation des spectres d'impédance de CS-MIPs/Au et CS-MIPs/PPy/Au sur le même graphe permet d'exploiter les résultats donnés par le modèle physique afin de comprendre l'effet du polypyrrole sur la réponse du capteur. Sur la figure 71, la résistance de la solution imposée sur le CS-MIPs/Au est inférieure à celle du CS-MIPs/PPy/Au, ce qui indique que l'épaisseur du film des MIPs est plus grande en présence du PPy. Les valeurs maximales de $\text{Re}(Z)$ et $-\text{Im}(Z)$ sont plus grandes dans le spectre du CS-MIPs/Au, ce qui signifie que ce capteur présente une résistance au transfert de charge plus grande. La valeur du coefficient n du capteur CS-MIPs/PPy/Au est par conséquent inférieure à celle du CS-MIPs/Au car le maximum de $-\text{Im}(Z)$ est plus faible en présence du PPy. On remarque aussi que le demi-cercle de l'EIS est incomplet en présence du PPy et il se rapproche de la valeur R_s , cela signifie que ce capteur présente un coefficient de CPE plus grand.

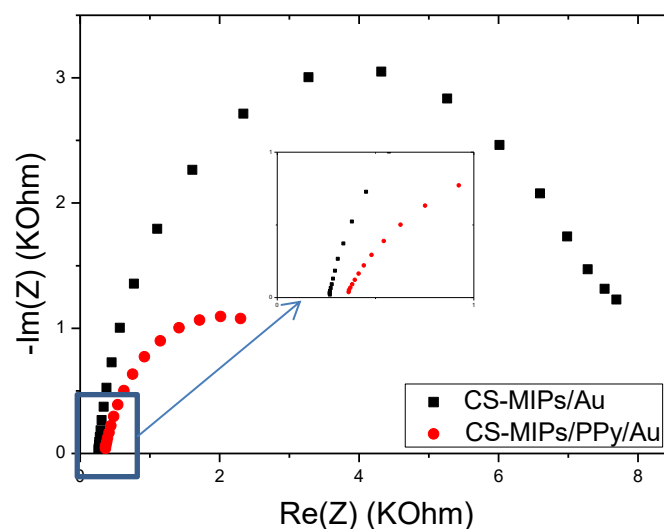


Figure 71 : EIS expérimentales de CS-MIPs/Au et de CS-MIPs/PPy/Au.

La modélisation du microcapteur CS-MIPs/PPy[3,3-Co(1,2-C₂B₉H₁₁)₂]/Au est réalisée afin de comprendre l'effet du film de polypyrrole dopé avec les ions cobaltabis ([3,3-Co (1,2-C₂B₉H₁₁)₂]) utilisé en tant que couche de contact solide entre la surface des microélectrodes en or et le chitosane à empreinte moléculaire. La modélisation permet aussi d'expliquer l'amélioration de la sensibilité en comparaison avec le microcapteur basé uniquement sur la membrane du chitosane sans utiliser de couche conductrice (CS-MIPs/Au). Pour cela, le même modèle physique est utilisé pour simuler la réponse du CS-MIPs/Au.

Un ajustement presque parfait est atteint entre les données prédites par le modèle et les mesures expérimentales pour toutes les concentrations du GLY, et l'erreur entre les deux mesures est très satisfaisante. Les spectres d'impédance expérimentale et théorique augmentent proportionnellement avec l'augmentation graduelle des concentrations du GLY incubées (fig.72).

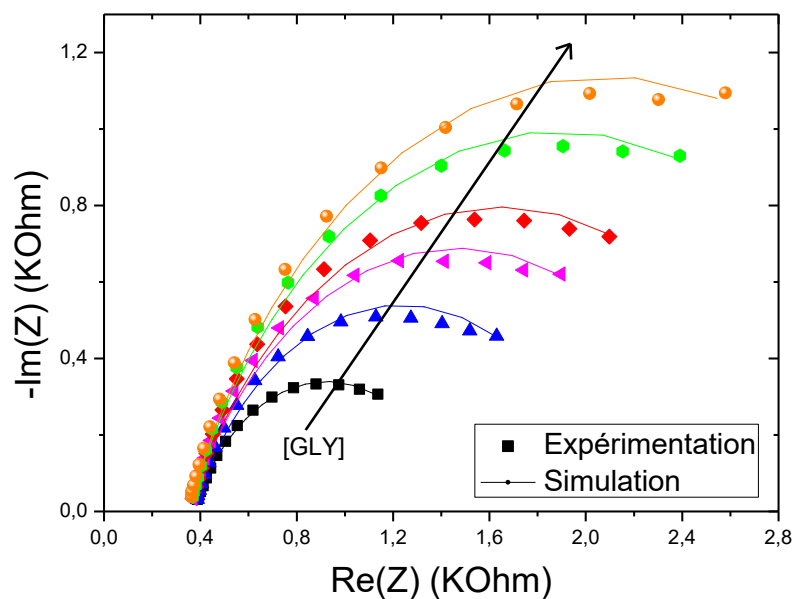


Figure 72 : EIS expérimentales et théoriques de CS-MIPs/PPy/Au dans 5 mM $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$ potentiel initial $E = 0,2$ V. $f = 100$ kHz - 150 Hz. Pour différentes concentrations du GLY (0.31pg/mL, 6.25 pg/mL, 125pg/mL, 2.5ng/mL et 50ng/mL).

I.5.3 Analyse des résultats théoriques

Les différents paramètres déterminés par le modèle sont rassemblés dans le tableau 19. L'épaisseur de la membrane du chitosane est estimée à 88 μm . A partir de la deuxième incubation, la légère diminution de l'épaisseur enregistrée (83 μm), est peut être provoquée par la sédimentation due à la rugosité de surface du polypyrrole en contact avec le film de chitosane. La résistance de la solution est passée d'une valeur de 369.5 Ω à 348.5 Ω après la deuxième incubation, cette variation est liée au changement de l'épaisseur l . La valeur du coefficient n prédite par le modèle physique est de 0.71, indiquant que la membrane du MIPs est de morphologie poreuse. Ce coefficient augmente légèrement (0.73) à partir de la deuxième mesure.

La constante de vitesse initiale k^0 prédite pour le capteur en l'absence de glyphosate est de 55 $\mu\text{m/s}$. k^0 diminue avec l'augmentation de la concentration de GLY incubée, ce qui explique l'intensification de la résistance au transfert de charge R_{ct} . R_{tc} augmente proportionnellement à la concentration du GLY du fait de sa présence sur la surface du capteur. Le coefficient de CPE (Q) est inversement proportionnel à la concentration en GLY car la présence de ce dernier sur le film affecte le courant capacitif.

Tableau 19 : Différents paramètres du CS-MIP/PPy/Au estimés par le modèle pour différentes concentrations du GLY.

[GLY]	l (μm)	R_s (Ω)	k° ($\mu\text{m/s}$)	R_{ct} (Ω)	$Q \cdot 10^6$ ($\text{S}^n \Omega^{-1}$)	n	$e_1 \cdot 10^4$	$e_2 \cdot 10^4$
0	88	369,5	55	1109,7	2,5	0,71	3,46	4,58
0.31 pg/mL	88	369,5	48	1733,9	2,25	0,71	1,81	6,34
6.25 pg/mL	83	348,5	39	2249,4	2,08	0,73	3,99	3,83
125 pg/mL	83	348,5	32	2600,9	1,74	0,73	2,97	2,75
2.5 ng/mL	83	348,5	27	3082,5	1,42	0,73	6,84	1,90
50 ng/mL	83	348,5	24	3467,8	1,26	0,73	7,81	6,93

I.5.4 Comparaison entre les résultats théoriques de deux capteurs

La présence du PPy provoque plusieurs modifications des caractéristiques morphologiques et physiques du capteur. L'épaisseur de la membrane déposée est de 29% plus épaisse, influant sur la résistance R_s qui est passée de 260,3 Ω à 369,5 Ω . Le facteur n en présence du PPy est inférieur à celui retrouvé dans le capteur avec CS seul (0,71 > 0,84). Probablement, plus l est grand, plus la membrane devient plus poreuse.

PPy induit également des variations dans les impédances faradique et capacitive. La vitesse de transfert d'électrons k° est 5,5 fois plus grande, menant à la diminution de la résistance R_{ct} de 8056,9 Ω à 1109,7 Ω . Le coefficient Q est plus grand en présence du PPy qui est passé de $6,7 \cdot 10^{-7}$ à $2,5 \cdot 10^{-6} \text{ S}^n \Omega^{-1}$.

La constante de transfert de charge k° varie linéairement en fonction de la résistance R_{ct} ($k^\circ = -0,014 R_{ct} + 70,72$; $R^2=0,981$). La sensibilité de la courbe de calibration est 17,2 fois plus

grande que celle du CS seul (fig.73.a). k° et R_{ct} varient aussi selon des lois linéaires avec le logarithme de la concentration du GLY dont les équations de régressions sont les suivantes ($k^\circ = -4,69 \log[\text{GLY}] + 57,5$; $R^2=0,96$) et ($R_{ct} = 330,6 \log[\text{GLY}] + 942$; $R^2=0,996$), respectivement. La valeur de k° est 10,3 fois plus grande en présence du PPy (fig.73.b), ce qui fait diminuer 1.6 fois la sensibilité de R_{ct} (fig.73.c).

Le coefficient Q , quant à lui varie aussi linéairement avec la concentration du GLY ($Q = -2,029 \cdot 10^{-7} \log[\text{GLY}] + 6,59 \cdot 10^{-7}$, $R^2=0,979$), cette variation est 7 fois plus grande que le CS seul (fig.73.d).

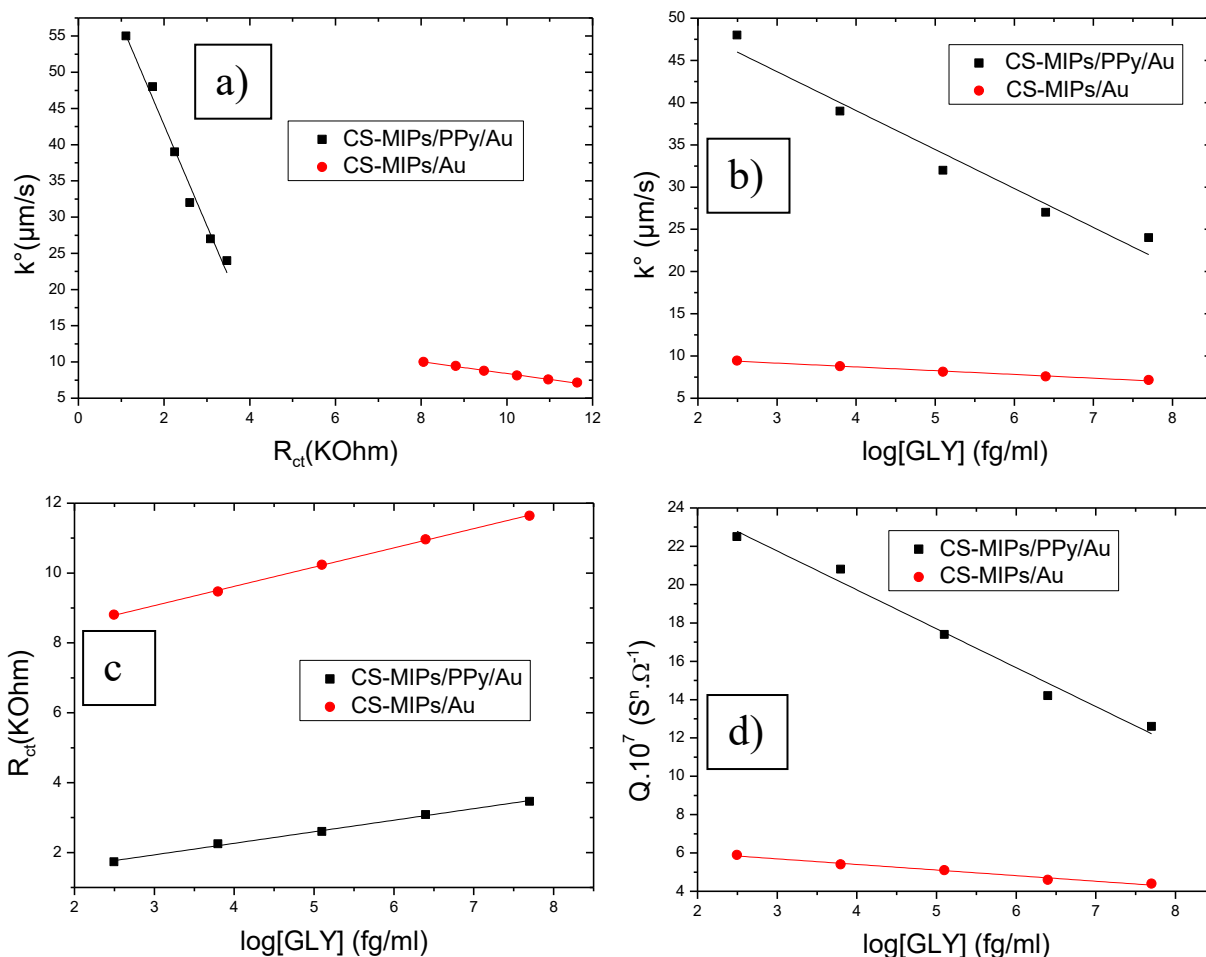


Figure 73 : Courbes de calibrations CS-MIPs/PPy/Au et CS-MIPs/Au. **a)** $k^\circ = f(R_{ct})$ pour différentes [GLY]. --- ($k^\circ = -0,014 R_{ct} + 70,72$; $R^2=0,981$), --- ($k^\circ = -8,14 \cdot 10^{-4} R_{ct} + 16,55$; $R^2=0,995$), **b)** $k^\circ = f(\log[\text{GLY}])$. --- ($k^\circ = -4,69 \log[\text{GLY}] + 57,5$; $R^2=0,96$), --- ($k^\circ = -0,446 \log[\text{GLY}] + 10,5$; $R^2=0,991$), **c)** $R_{ct} = f(\log[\text{GLY}])$. --- ($R_{ct} = 330,6 \log[\text{GLY}] + 942$; $R^2=0,996$), --- ($R_{ct} = 550,27 \log[\text{GLY}] + 7419,4$; $R^2=0,999$), **d)** $Q = f(\log[\text{GLY}])$. --- ($Q = -2,029 \cdot 10^{-7} \log[\text{GLY}] + 6,59 \cdot 10^{-7}$, $R^2=0,979$), --- ($Q = -0,2 \cdot 10^{-7} \log[\text{GLY}] + 6,56 \cdot 10^{-7}$; $R^2=0,979$). ([GLU] = 0.31pg/mL, 6.25pg/mL, 125pg/mL, 2.5ng/mL, 50ng/mL)

II Modélisation du micro-capteur CS-MIPs/CMA/Au

II.1 Modèle Physique

Dans les modèles discutés ci-dessous, les phases constitutives ont des valeurs de conductivité différentes, mais les conductivités sont du même type, c'est-à-dire qu'elles sont toutes soit ioniques ou électroniques. La réaction à l'électrode peut comporter une étape de transfert de charge avec formation d'ions adsorbés à la surface des membranes. Cela est généralement visualisé par la présence de frontière triphasée où le conducteur électronique, le conducteur ionique et les pores se rencontrent.

Le spectre d'impédance caractérisant le microcapteur conçu par le greffage du chitosane à empreintes moléculaires sur le sel de diazonium (CMA) et son circuit équivalent sont représentés sur la figure 74.

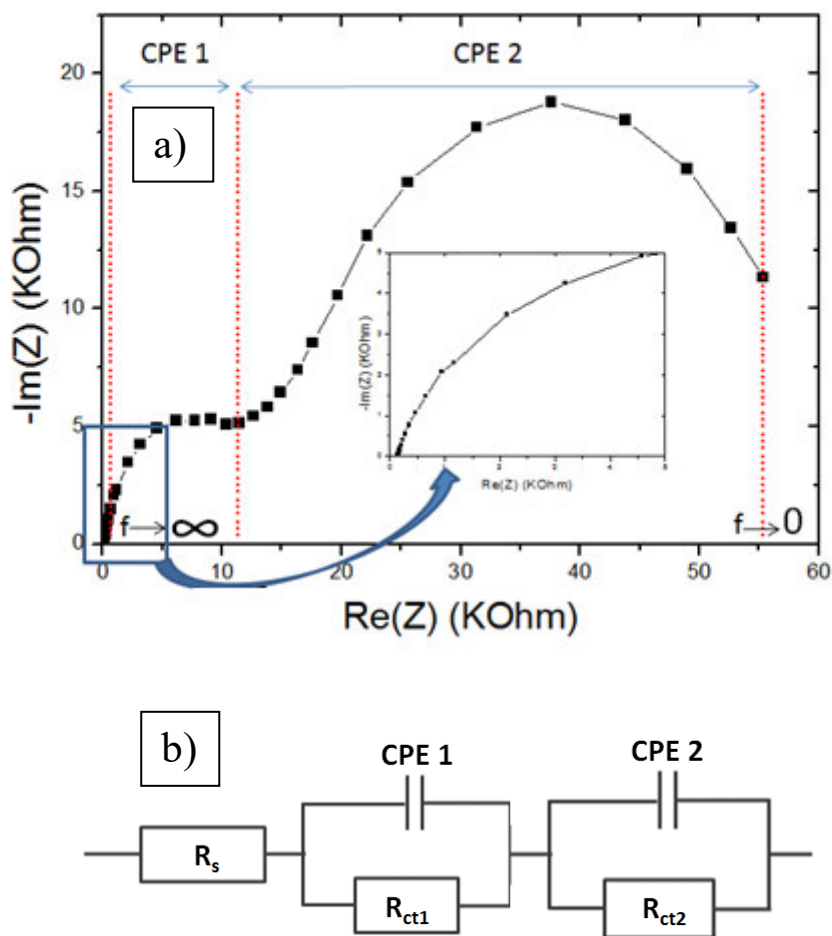


Figure 74 : a) EIS du CS-MIPs/CMA/Au. b) circuit électrique équivalent ($R_s + CPE1/R_{ct1} + CPE2/R_{ct2}$)

Le spectre d'impédance global forme deux demi-cercles bien séparés. Le premier demi-cerle, de 100 KHz à 17 Hz, est associé à une résistance de transfert de charge (R_{ct1}) en parallèle avec les éléments à phase constante (CPE_1). En haute fréquence (100 KHz), l'intersection de la courbe d'impédance avec l'axe des abscisses permet de déterminer la résistance d'électrolyte R_s . Le deuxième demi-cercle, de 17 Hz à 100 mHz, est modélisé par une résistance de transfert de charge (R_{ct2}) en parallèle avec les éléments à phase constante (CPE_2).

Les impédances réelle et imaginaire globales équivalentes au circuit de la figure 74 sont données par les équations suivantes :

$$Re(Z) = R_s + \frac{R_{ct1}(1+R_{ct1}Q_1\omega^{n_1}\cos\frac{n_1\pi}{2})}{1+(R_{ct1}Q_1\omega^{n_1})^2+2R_{ct1}Q_1\omega^{n_1}\cos\frac{n_1\pi}{2}} + \frac{R_{ct2}(1+R_{ct2}Q_2\omega^{n_2}\cos\frac{n_2\pi}{2})}{1+(R_{ct2}Q_2\omega^{n_2})^2+2R_{ct2}Q_2\omega^{n_2}\cos\frac{n_2\pi}{2}} \quad \text{Eq.60}$$

$$-Im(Z) = \frac{R_{ct1}^2Q_1\omega^{n_1}\sin\frac{n_1\pi}{2}}{1+(R_{ct1}Q_1\omega^{n_1})^2+2R_{ct1}Q_1\omega^{n_1}\cos\frac{n_1\pi}{2}} + \frac{R_{ct2}^2Q_2\omega^{n_2}\sin\frac{n_2\pi}{2}}{1+(R_{ct2}Q_2\omega^{n_2})^2+2R_{ct2}Q_2\omega^{n_2}\cos\frac{n_2\pi}{2}} \quad \text{Eq.61}$$

Où $Re(Z)$ est la partie réelle de l'impédance, $-Im(Z)$ est la partie imaginaire de l'impédance. Q_1 représente le coefficient de CPE_1 , n_1 le facteur de correction de CPE_1 , Q_2 est le coefficient de CPE_2 , n_2 le facteur de correction de CPE_2 .

II.2 Simulation numérique

Pour déterminer les différents paramètres et valider le modèle proposé, la réponse du capteur est simulée par exploitation des équations 60 et 61 à l'aide du logiciel Matlab. Les paramètres sont variés avec un pas très petit (tableau 20), puis les valeurs optimales sont déterminées en minimisant l'erreur entre les valeurs expérimentales et les valeurs prédites. Les simulations doivent permettre de trouver le lien existant entre la mesure d'impédance et les différents paramètres exposés. Le programme développé est constitué de deux parties distinctes. La première partie consiste à déterminer les paramètres du circuit R_s+CPE_1/R_{ct1} , après la validation de cette étape le programme procède à la détermination des paramètres du circuit CPE_2/R_{ct2} .

Tableau 20 : Intervalle de variation de différents paramètres.

Paramètres	Plage de variation	Unité
l	$[10^{-3}, 10^{-5}]$	cm
k_1°	$[10^{-3}, 10^{-5}]$	cm.s ⁻¹
Q_1	$[10^{-5}, 10^{-8}]$	$\Omega^{-1} \cdot s^n$
n_1	$[-1, 1]$	/
k_2°	$[10^{-3}, 10^{-5}]$	cm.s ⁻¹
Q_2	$[10^{-5}, 10^{-8}]$	$s^n \cdot \Omega^{-1}$
n_2	$[-1, 1]$	/

II.3 Validation du modèle

Afin de valider le modèle physique, les résultats des simulations sont comparés aux données expérimentales (fig.75). A première vue, les résultats obtenus théoriquement semblent cohérents avec les valeurs expérimentales. Ainsi, le modèle physique proposé, en accord avec les simulations, a montré de bonnes concordances avec les résultats obtenus au laboratoire. Globalement les erreurs sont inférieures à 10^{-3} .

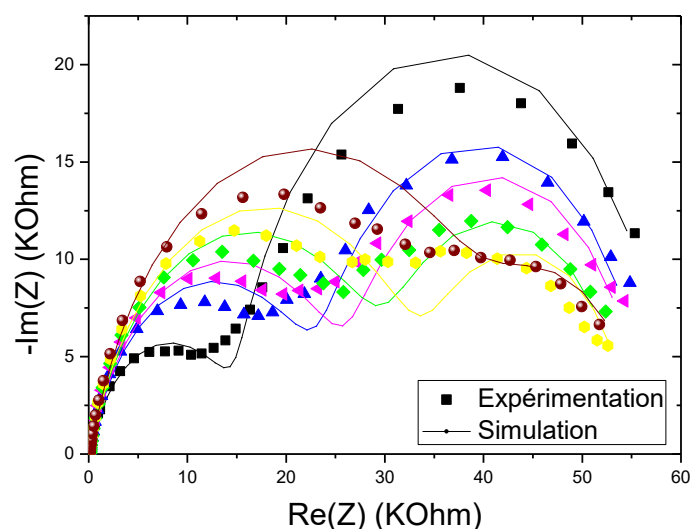


Figure 75 : EIS expérimentales et théoriques de CS-MIPs/CMA/Au dans 5 mM $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$ potentiel initial $E = 0,2$ V. $f = 100$ khz - 100 mHz. Pour différentes concentrations de GLY (0.31pg/mL, 6.25 pg/mL, 125pg/mL, 2.5ng/mL et 50ng/mL).

II.4 Analyse des résultats théoriques

Les valeurs de chaque paramètre du modèle sont présentées dans le tableau 21. L'épaisseur des membranes (CS+CMA) déposées sur l'électrode déterminée par le modèle est de 36 μm . Cette épaisseur est constante tout au long de l'expérience indiquant la stabilité du capteur dans le milieu d'analyse. Ainsi, la résistance de la solution R_s relative à l'épaisseur de la membrane est de 151,14 Ohm, cette résistance est aussi constante durant l'expérience.

Pour les paramètres du premier demi-cercle, la valeur de la constante de vitesse standard k_1° diminue avec l'augmentation de la concentration du GLY incubée en passant de 5.5 $\mu\text{m/s}$ à 2 $\mu\text{m/s}$ selon une loi linéaire ($k_1^\circ = -0,284 \log[\text{GLY}] + 4,19$) avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0,997$ (Fig.76.a). La diminution de la vitesse de transfert d'électrons conduit à une augmentation de la résistance de transfert de charge R_{ct1} , cette corrélation est donnée par l'équation de régression suivante ($k_1^\circ = -8,285 R_{ct1} + 5,35$; $R^2 = 0,961$) (Fig.76.b). La résistance R_{ct1} est directement proportionnelle à l'augmentation de la concentration du GLY ($R_{ct1} = 3343,5 \log[\text{GLY}] + 14507,2$; $R^2 = 0,966$) (Fig.76.c). Elle passe de 15132 Ohm pour une concentration nulle en GLY à 41614 Ohm pour une concentration de 50 ng/ml de GLY incubé. De plus, Q_1 , associé également au comportement de CPE_1 , diminue proportionnel à la concentration du GLY selon : ($Q_1 = -0,16 * 10^{-7} \log[\text{GLY}] + 5,83 * 10^{-7}$; $R^2 = 0,977$) (Fig.76.d). Sa valeur varie de $5,6 * 10^{-7} \text{ S}^n \Omega^{-1}$ ($[\text{GLY}] = 0$) à $4,56 * 10^{-7} \text{ S}^n \Omega^{-1}$ ($[\text{GLY}] = 50 \text{ ng/mL}$). La valeur de

n_1 de 0,79 indique que la surface est inhomogène. Tant que n_1 est inférieure à 1, le modèle comportant une CPE et non une capacitance est cohérent.

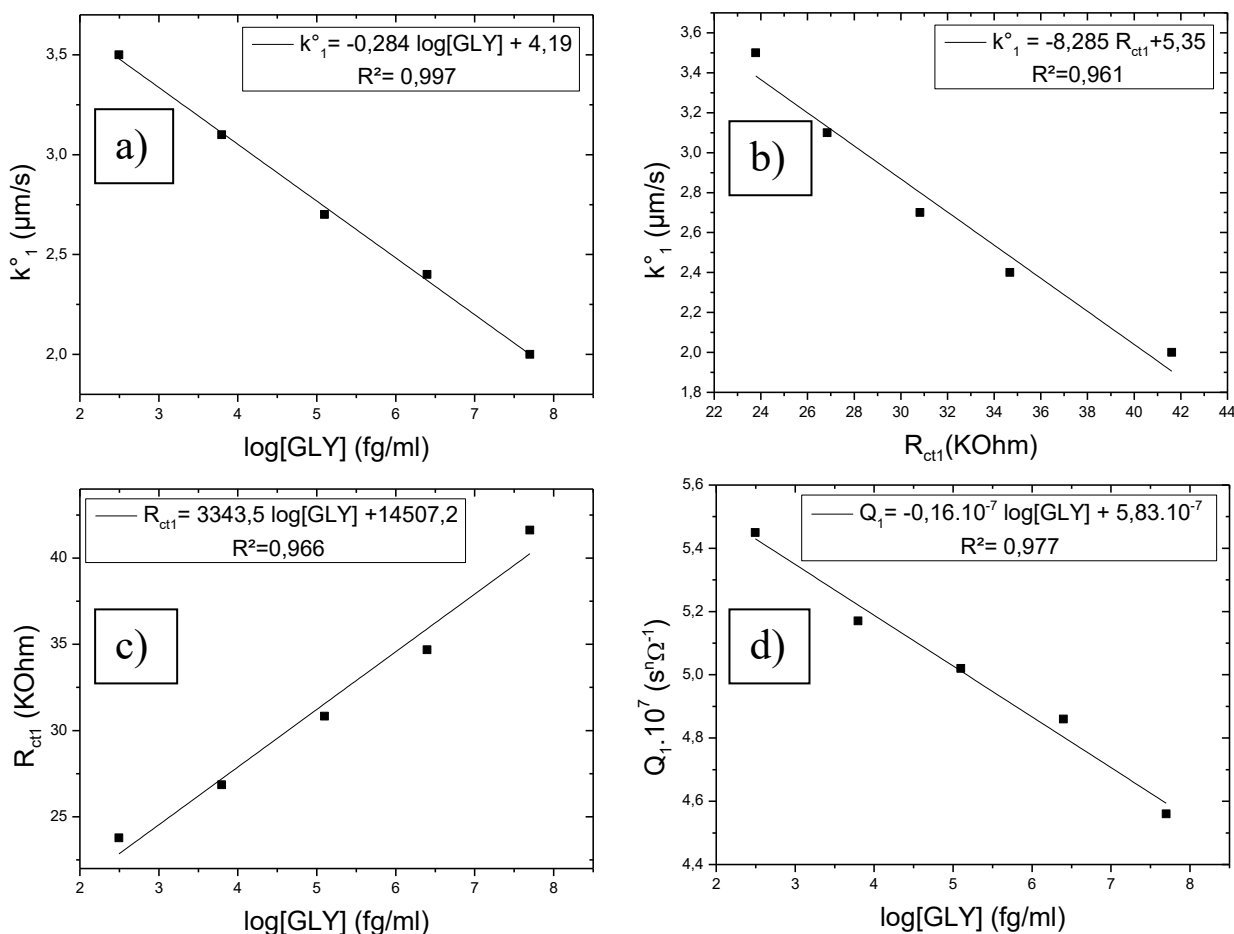


Figure 76 : Courbes de calibrations CS-MIPs/CMA/Au. a) $k_1^\circ = f(\log[\text{GLY}])$, b) $k_1^\circ = f(R_{ct1})$ pour différentes [GLY], c) $R_{ct1} = f(\log[\text{GLY}])$, d) $Q_1 = f(\log[\text{GLY}])$. ([GLY] = 0.31pg/mL, 6.25pg/mL, 125pg/mL, 2.5ng/mL, 50ng/mL).

Concernant les paramètres du deuxième demi-cercle, la constante de vitesse k_2° , la résistance R_{ct2} et le coefficient Q_2 sont linéairement dépendants de la concentration du GLY incubé. Les équations de regression respectives sont :

$$k_2^\circ = 0,55 \log[\text{GLY}] + 0,78 ; R^2 = 0,986 \text{ (Fig.77.a).}$$

$$Q_2 = 0,1714 \cdot 10^{-5} \log[\text{GLY}] + 0,966 \cdot 10^{-5} ; R^2 = 0,983 \text{ (Fig.77.d).}$$

$$R_{ct1} = -3547,1 \log[\text{GLY}] + 41865,1 ; R^2 = 0,989 \text{ (Fig.77.c).}$$

Tandis que la résistance au transfert de charge diminue de manière proportionnelle à la constante de vitesse k_2° ($k_2^\circ = -1.563 R_{ct2} + 7.334$; $R^2 = 0.993$) (Fig.77.b).

Ainsi, lors une variation d'une concentration incubée nulle à une concentration de 50 ng/mL en glyphosate, k_2° augmente de 1.92 $\mu\text{m/s}$ à 5.21 $\mu\text{m/s}$ tandis que Q passe de $1.07 \cdot 10^{-5} \text{ S}^n \Omega^{-1}$ à $2.3 \cdot 10^{-5} \text{ S}^n \Omega^{-1}$. Quant au facteur n_2 , sa valeur est estimée à 0.96 indiquant que la surface est plus relativement homogène.

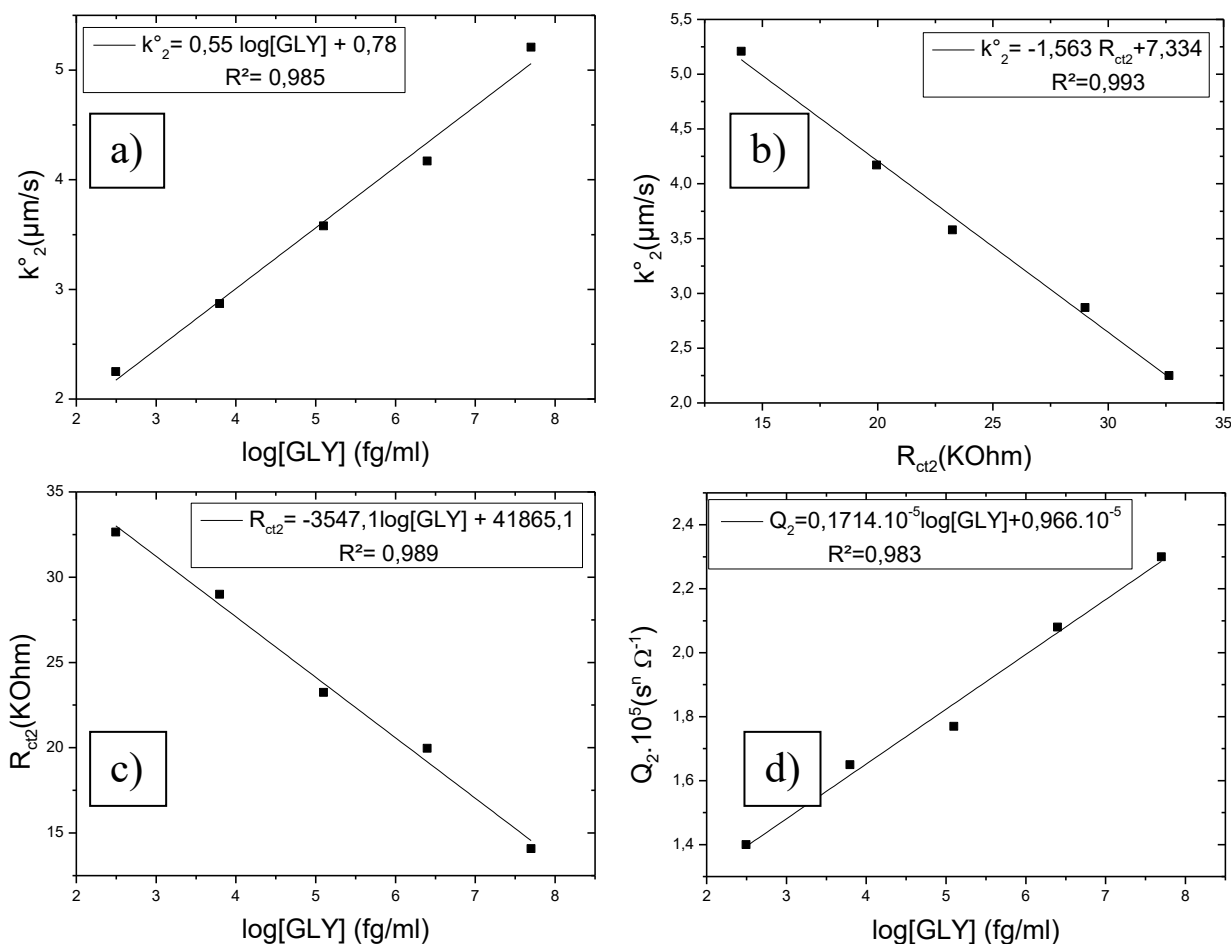


Figure 77 : Courbes de calibrations CS-MIPs/CMA/Au. a) $k_2^\circ = f(\log[\text{GLY}])$, b) $k_2^\circ = f(R_{ct2})$ pour différentes [GLY], c) $R_{ct2} = f(\log[\text{GLY}])$, d) $Q_2 = f(\log[\text{GLY}])$. ([GLY] = 0.31pg/mL, 6.25pg/mL, 125pg/mL, 2.5ng/mL, 50ng/mL).

On remarque que les phases constitutives ont différentes valeurs de conductivité. Ainsi, R_{ct1} , k_1° , n_1 et Q_1 décrivent les processus qui se produisent dans la membrane du chitosane. Par conséquent, toutes les variations enregistrées sur ces paramètres sont dues à la variation de la concentration du glyphosate dans la membrane de MIPs, plus cette concentration est grande plus le film est résistif provoquant ainsi une diminution dans le courant faradique et capacitif.

Tandis que R_{ct2} , k_2° , n_2 et Q_2 correspondent au film de CMA qui sépare la membrane MIPs de la surface du capteur, comme il peuvent représenter aussi la polarisation de l'électrode.

L'impédance de l'électrode polarisable peut être représentée comme une connexion en parallèle de la résistance de transfert de charge et de la capacité de double couche. Il est supposé dans la littérature qu'une telle distribution peut résulter d'une rugosité microscopique toujours présente sur les surfaces solides. Elle peut être aussi provoquée par une dispersion de la capacité d'origine interfaciale, liée à l'adsorption des ions et aux inhomogénéités chimiques de la surface [243,244]. L'accumulation des ions à la surface de l'électrode produit une augmentation du courant faradique et capacitif.

Tableau 21 : Valeurs estimées des paramètres du CS-MIPs/CMA/Au estimés par le modèle pour différentes concentrations du GLY.

[GLY]	l (μm)	R_s (Ω)	k_1° ($\mu\text{m/s}$)	R_{ct1} (Ω)	$Q_1 \cdot 10^7$ ($\text{S}^n \Omega^{-1}$)	n_1	k_2° ($\mu\text{m/s}$)	R_{ct2} (Ω)	$Q_2 \cdot 10^5$ ($\text{S}^n \Omega^{-1}$)	n_2	$e_1 \cdot 10^4$	$e_2 \cdot 10^4$
0	36	151,14	5,5	15132	5,60	0,79	1,92	43348	1,07	0,96	4,20	3,59
0.31 pg/mL	36	151,14	3,5	23779	5,45	0,79	2,25	32638	1,40	0,96	7,04	3,88
6.25 pg/mL	36	151,14	3,1	26848	5,17	0,79	2,87	28999	1,65	0,96	6,52	6,84
125 pg/mL	36	151,14	2,7	30825	5,02	0,79	3,58	23248	1,77	0,96	7,50	9,94
2.5 ng/mL	36	151,14	2,4	34678	4,86	0,79	4,17	19959	2,08	0,96	0,98	0,38
50 ng/mL	36	151,14	2,0	41614	4,56	0,79	5,21	14083	2,30	0,96	2,88	9,57

II.5 Effets de différents paramètres sur la réponse impédancemétrique de CS-MIPs/CMA/Au

II.5.1 Effet du coefficient n

Le coefficient n_1 présente un effet sur l'impédance du premier demi-cercle qui se trouve aux hautes fréquences. Plus n_1 diminue plus le maximum de $-\text{Im}(Z)$ du premier demi-cercle et sa valeur à l'extrémité vers les fréquences moyennes diminuent, contrairement à la valeur minimale de $\text{Re}(Z)$ qui augmente et son maximum reste constant. Ce coefficient n'a pas d'incidence sur le deuxième demi-cercle, à l'exception de la valeur initiale de l'impédance imaginaire $-\text{Im}(Z)$ (Fig.78.a).

Avec la diminution du coefficient n_2 on remarque que le maximum de $\text{Re}(Z)$ et de $-\text{Im}(Z)$ du premier demi-cercle augmentent, et qu'une meilleure définition du demi-cercle est obtenue pour une valeur n_2 maximale. Pour le deuxième demi-cercle, les maximums de $\text{Re}(Z)$ et de $-\text{Im}(Z)$ dans le domaine des basses fréquences diminuent avec la diminution de n_2 . Plus n_2 est grand, plus ce demi-cercle est bien défini (Fig.78.b).

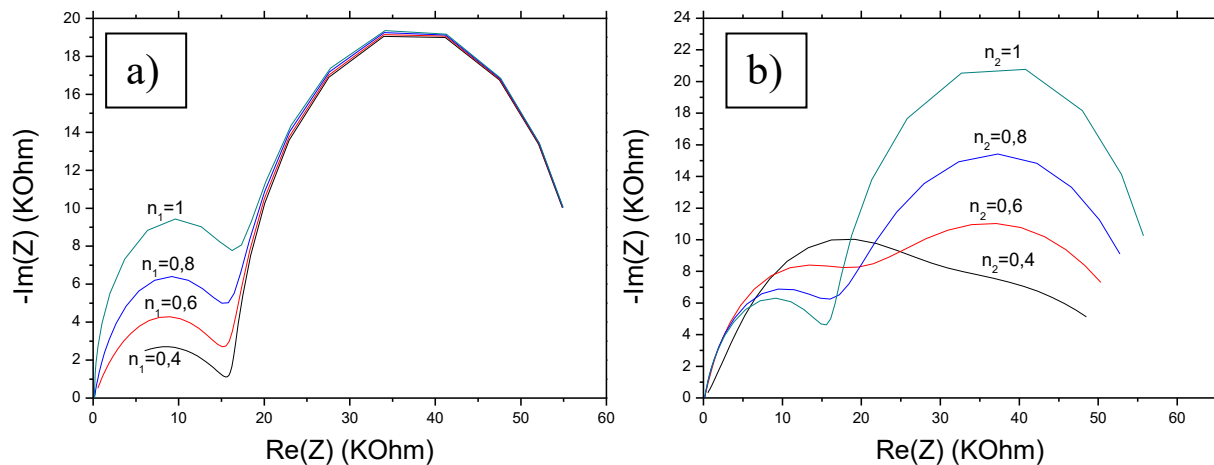


Figure 78 : a) Effet du coefficient n_1 sur la variation de la réponse impédancemétrique du CS-MIPs/CMA/Au pour $n_2 = 0.95$. b) Effet du coefficient n_2 sur la variation de la réponse impédancemétrique du CS-MIPs/CMA/Au pour $n_1 = 0.8$. Dans $5 \text{ mM } [\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$. $f = 100 \text{ kHz} - 100 \text{ mHz}$. $A = 0.0064 \text{ cm}^2$, $T = 298 \text{ K}$, $l = 36 \mu\text{m}$, $k_1^\circ = 5 \mu\text{m/s}$, $Q_1 = 5 \cdot 10^{-7} \text{ s}^n \Omega^{-1}$, $k_2^\circ = 2 \mu\text{m/s}$, $Q_2 = 10^{-5} \text{ s}^n \Omega^{-1}$.

II.5.2 Effet de la constante de vitesse standard k°

La diminution de la valeur de k°_1 de 10^{-2} à 10^{-3} cm/s induit une augmentation l'impédance réelle et imaginaire de premier demi-cercle, et de l'impédance réelle du deuxième demi-cercle alors que le maximum de $-\text{Im}(Z)$ de ce dernier, demeure constant. Le passage à une vitesse

k_1° de 10^{-4} cm/s fait enregistrer une augmentation importante de l'impédance imaginaire du premier demi-cercle, tandis que le maximum de l'impédance réelle est identique que pour k_1° égale à 10^{-3} cm/s. Pour le deuxième demi-cercle, alors qu'il est moins défini, la valeur maximale de $-\text{Im}(Z)$ est plus grande et celle de $\text{Re}(Z)$ est plus petite que les valeurs enregistrées pour k_1° égale à 10^{-3} cm/s. Avec la diminution de k_1° , on remarque l'apparition d'un seul demi-cercle avec une résistance plus grande (Fig.79).

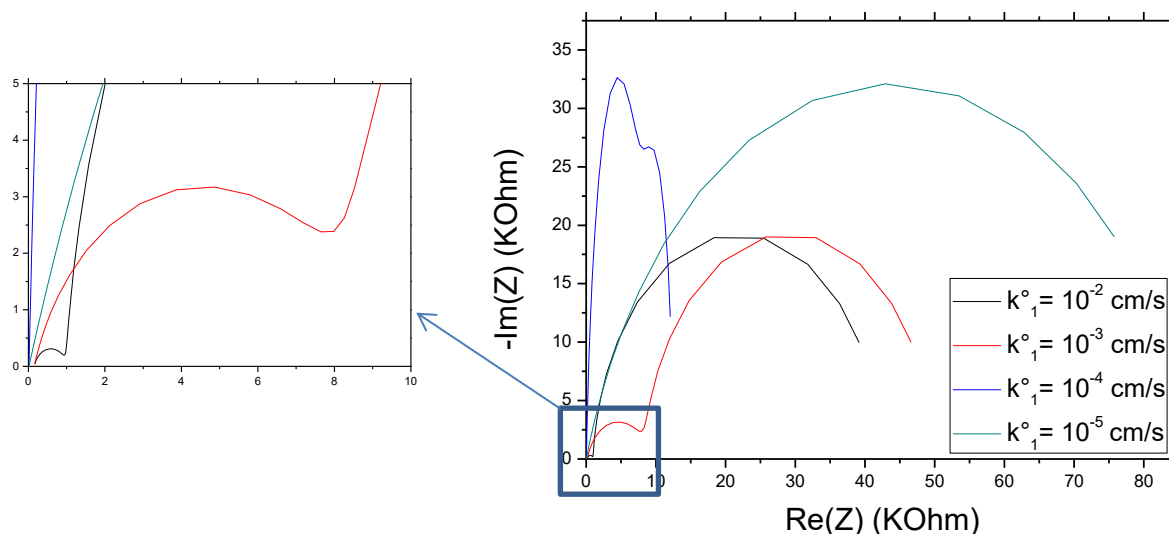


Figure 79 : Effet de la constante de vitesse k_1° sur la réponse impédancemétrique du CS-MIPs/CMA/Au. Pour $T=298K$, $A=0.0064\text{cm}^2$, $l=60\mu\text{m}$, $Q_1=5*10^{-7}\text{ s}^n \Omega^{-1}$, $n_1=0.8$, $k_2^\circ=2\mu\text{m/s}$, $Q_2=10^{-5}\text{ s}^n \Omega^{-1}$, $n_2=0.95$. $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}=5\text{ mM}$. $f=100\text{ kHz}-100\text{ MHz}$.

L'effet de la variation de la constante de vitesse k_2° sur le spectre d'impédance est représenté sur la figure 80. Pour de grandes valeurs de k_2° , un spectre avec un seul demi-cercle apparaît. Avec la diminution de k_2° , deux demi-cercles apparaissent sur le spectre. Le maximum de $\text{Re}(Z)$ du premier demi-cercle reste constant, et le maximum de $-\text{Im}(Z)$ diminue avec la diminution de k_2° . Tandis que, pour le deuxième demi-cercle, le maximum de $-\text{Im}(Z)$ diminue et celui de $\text{Re}(Z)$ augmente avec la diminution k_2° . Pour des valeurs de k_2° suffisamment faibles, le demi-cercle aux basses fréquences se rapproche de la forme d'une droite semi-infinie.

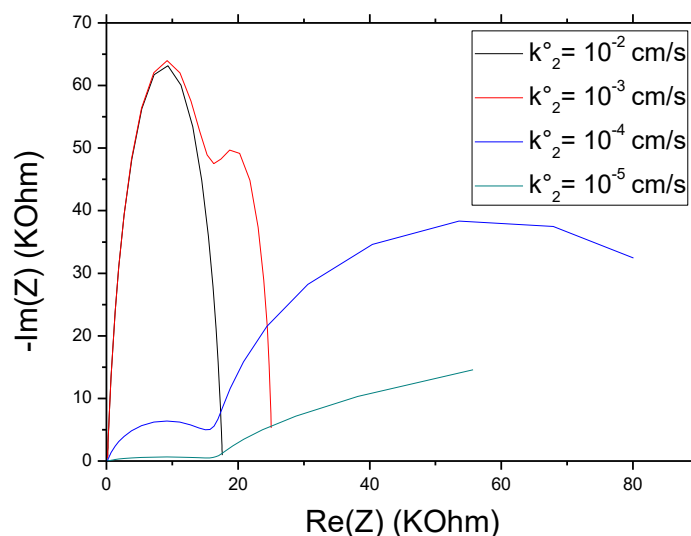


Figure 80 : Effet de la constante de vitesse k_2^0 sur la réponse impédancemétrique du CS-MIPs/CMA/Au. Pour $T=298K$, $A=0.0064cm^2$, $l=60\mu m$, $k_1^0=5\mu m/s$, $Q_1=5*10^{-7}$, $n_1=0.8s^n \Omega^{-1}$, $Q_2=10^{-5} s^n \Omega^{-1}$, $n_2=0.95$. $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}=5 mM$. $f=100 kHz -100 mHz$.

II.5.3 Effet du coefficient de CPE (Q)

Pour des valeurs plus grandes de Q_1 , le modèle donne un spectre avec un seul demi-cercle (Fig.81.a). Avec la diminution de la valeur de Q_1 , on obtient des spectres avec deux demi-cercle qui sont plus définis pour une valeur Q_1 minimale. Sur les deux demi-cercles, le maximum de $-Im(Z)$ varie peu, et celui de $Re(Z)$ reste constant.

Avec la variation du coefficient de CPE (Q_2), on obtient un seul demi-cercle pour les valeurs faibles de Q_2 . Avec l'augmentation de Q_2 le modèle donne deux demi-cercles de mieux en mieux définis. Le maximum de $-Im(Z)$ varie peu, et le maximum de $Re(Z)$ reste constant. Pour des valeurs suffisamment grandes en Q_2 on remarque la disparition d'une partie du deuxième demi-cercle qui se trouve vers les zones de basses fréquences (Fig.81.b).

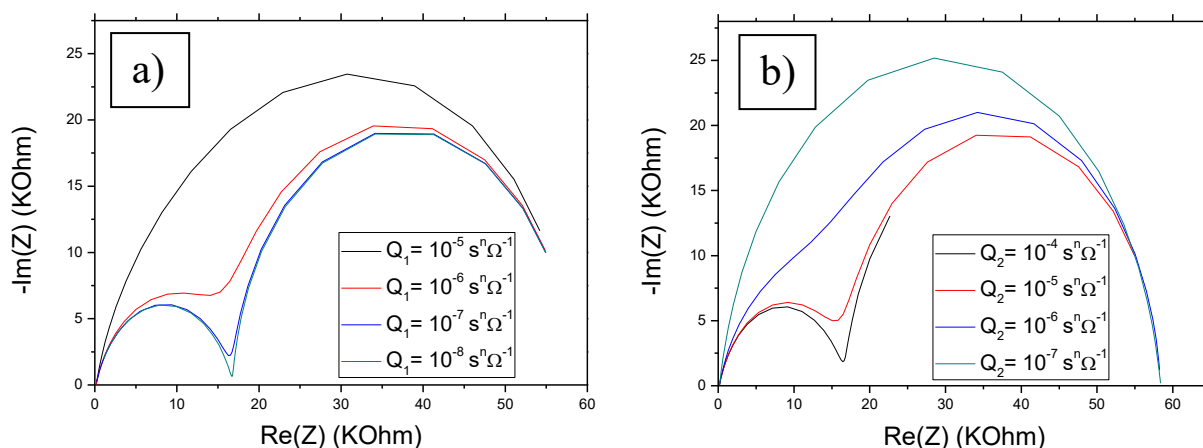


Figure 81 : **a)** Effet de la constante de vitesse Q_1 sur la réponse impédancemétrique du CS-MIPs/CMA/Au. Pour $Q_2=10^{-5} \text{ s}^n \Omega^{-1}$. **b)** Effet de la constante de vitesse Q_2 sur la réponse impédancemétrique du CS-MIPs/CMA/Au. Pour $Q_1=5 \cdot 10^{-7}$. $T=298\text{K}$, $A=0.0064\text{cm}^2$, $l=60\mu\text{m}$, $k_1^\circ=5\mu\text{m/s}$, $n_1=0.8\text{s}^n \Omega^{-1}$, $n_2=0.95$. $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}=5 \text{ mM}$. $f=100 \text{ kHz}-100 \text{ mHz}$.

Conclusion

Dans ce chapitre, la réponse impédance-métrique des différents micro-capteurs est modélisée en utilisant des bilans basés sur des lois physiques. Les différents paramètres sont déterminés en minimisant l'erreur entre les valeurs expérimentales et théoriques. Cette étude a permis de décrire les phénomènes à l'interface électrode/électrolyte et de montrer la modulation du signal de la réponse avec la concentration du GLY et avec les paramètres intrinsèques des trois capteurs élaborés.

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

L'objectif principal de cette thèse était de développer un système d'analyse pour la détection du glyphosate dans les eaux. Dans un premier temps, des études expérimentales ont été menées au laboratoire, puis un travail de modélisation a été effectué afin de comprendre le comportement des capteurs développés.

Dans la partie expérimentale, trois micro-capteurs impédance-métriques ont été développés pour la détection du GLY dans l'eau.

CS-MIPs/Au : Ce micro-capteur est basé sur l'électrodéposition du CS-MIPs sur la surface de la microélectrode en or.

CS-MIPs/PPy[3,3-Co(1,2-C₂B₉H₁₁)₂] /Au: Dans cette étude la surface de la microélectrode en or a été recouverte, par électrodéposition, d'un polymère conducteur fonctionnel dopé avec de l'anion cobalt bis [3,3-Co(1,2-C₂B₉H₁₁)₂]. Ensuite, une membrane sensible de chitosane a été électrodéposée sur la couche du polymère conducteur.

CS-MIPs/CMA/Au: Dans ce travail, les modifications covalentes des surfaces des microélectrodes en or ont été explorées par l'utilisation d'un acide 4-aminophénylacétique, plus communément appelé CMA, pour assurer l'immobilisation covalente du chitosane à empreinte moléculaire.

Pour chacune de ces études, des micro-capteurs non imprimés ont été conçus en suivant des étapes similaires à celles des micro-capteurs imprimés avec une seule différence majeure, en absence du GLY dans la synthèse. Ces capteurs avaient pour objectif d'étudier l'efficacité des empreintes et d'évaluer les adsorptions non spécifiques.

Les performances et les différentes modifications des microélectrodes résultantes ont été caractérisées en utilisant des mesures de la voltamétrie cyclique (CV), la spectrométrie d'impédance électrochimique (EIS) et la microscopie électronique à balayage (SEM). La spectroscopie d'impédance électrochimique (EIS) a été utilisée pour la détection du GLY dans une plage linéaire de 0,31 pg/mL à 50 ng/mL. De plus, le succès de l'impression et l'affinité de la couche MIPs pour le GLY ont été confirmés par l'utilisation du CS non imprimé (NIP) pour la détection du GLY dans les mêmes conditions que les MIPs. La sélectivité des MIPs a été vérifiée avec la détection de différents pesticides, telles que le GLU, CHL et PHO, comme des interférences plus structurellement similaires au GLY. Des études de la reproductibilité et la réutilisation ont également été effectuées sur les trois micro-capteurs.

Les capteurs proposés présentent une bonne réponse linéaire avec une limite de détection faible, de bonnes sélectivité et reproductibilité et une possibilité de réutilisation. Les procédures de préparation adoptées sont relativement simples, pratiques et assurent des méthodes rapides et économiques. Pour évaluer la faisabilité des micro-capteurs proposés pour ses applications potentielles, ils ont été utilisés pour déterminer les niveaux du GLY dans un échantillon d'eau de rivière prélevé du Rhône à Lyon, France. Les performances analytiques de différents micro-capteurs développés sont résumées dans le tableau 22.

Tableau 22 : Les performances analytiques de différents micro-capteurs.

Micro-capteur	Gamme linéaire	Sensibilité	LOD	Régénération
CS-MIPs/Au	0,31 pg/mL-50 ng/mL	0,087	1 fg/mL	2 Cycles
CS-MIPs/PPy/Au		0,332		3 Cycles
CS-MIPs/CMA/Au		0,206		3 Cycles

La modélisation mathématique des réponses impédance-métriques des trois micro-capteurs a permis de décrire les phénomènes à l'interface électrode/électrolyte et de mettre en lumière la modulation de ces réponses avec la concentration du GLY. Les paramètres des modèles ont été déterminés en minimisant l'erreur entre les données expérimentales et les réponses théoriques ; pour l'ensemble des simulations l'erreur d'ajustement maximale est inférieure à 10^{-3} . Les estimations des paramètres des différents micro-capteurs liés à la membrane de chitosane sont résumés dans le tableau 23. L'exploitation de ces modèles a permis d'élaborer de corrélations fiables entre les effets des différents paramètres et la réponse des micro-capteurs.

Tableau 23 : Les valeurs estimées des paramètres de différents micro-capteurs

Micro-capteur	l (μm)	k° ($\mu\text{m/s}$)	Q ($\text{S}^n \Omega^{-1}$)
CS-MIPs/Au	62	10	$6,5 \cdot 10^{-7}$
CS-MIPs/PPy/Au	88	55	$2,5 \cdot 10^{-6}$
CS-MIPs/CMA/Au	36	5,5	$5,6 \cdot 10^{-7}$

Le micro-capteur à base de PPy présente un dépôt plus important du CS par rapport aux deux autres micro-capteurs. Grâce au PPy, davantage de sites complémentaires au GLY sont présents sur la surface de l'électrode. En outre, ce polymère conducteur a permis d'augmenter la vitesse de transfert d'électrons, de diminuer la résistance au transfert de charge, ainsi que d'amplifier le courant capacitif. Par ailleurs, l'épaisseur de la membrane du CS obtenue avec le CMA est faible (<36 μm). Le CMA, qui est de nature isolante, a contribué à la diminution du courant faradique et capacitif.

La variation relative de la résistance au transfert de charge de chaque micro-capteur, $|R_{\text{ct}} - R_{\text{ct blanc}}| / R_{\text{ct blanc}}$ ($\Delta R/R$), a été représentée en fonction de $\log[\text{GLY}]$ (fig.82). Malgré la nature isolante du CMA et la faible épaisseur de la membrane de CS formée, la sensibilité du micro-capteur CS-MIPs/CMA/Au est proche de celle du CS-MIPs/PPy/Au. Cela confirme que, l'électrodéposition de chitosane sur une surface conductrice par gradient de pH provoque un dégagement de H_2 . Ces molécules sont bloquées à l'intérieur de la membrane qui devient ainsi non homogène. Le greffage de chitosane sur le sel de diazonium par la formation d'interactions fortes conduit probablement à des membranes plus homogènes et à la résolution de problèmes d'interface.

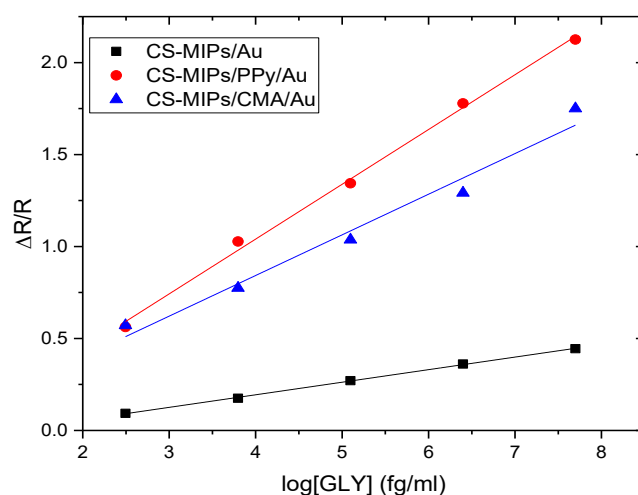


Figure 82 : Sensibilité de CS-MIPs/Au ($\Delta R/R = 0.068 \log [\text{GLY}] - 0.07$; $R^2 = 0.999$) (---), CS-MIPs/PPy/Au ($\Delta R/R = 0.297 \log[\text{GLY}] - 0.15$; $R^2 = 0.998$) (---) et de CS-MIPs/CMA/Au ($\Delta R/R = 0.22 \log[\text{GLY}] - 0.04$; $R^2 = 0.991$) (---)

Perspectives

Ce travail décrit le processus de fabrication de trois différents micro-capteurs impédance-métriques pour la détection du GLY dans l'eau. Plusieurs aspects restent néanmoins à développer :

- Exploiter chacune des microélectrodes du transducteur pour détecter en simultané quatre molécules cibles différentes.
- Développer des MIPs pour une multiple détection.
- Améliorer la régénération des micro-capteurs.
- Utiliser d'autres matériaux pour le greffage de CS afin d'obtenir des membranes plus stables.
- Utiliser des nanoparticules pour améliorer les caractéristiques électriques du chitosane.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Bui, M.-P.N.; Brockgreitens, J.; Ahmed, S.; Abbas, A. Dual detection of nitrate and mercury in water using disposable electrochemical sensors. *Biosensors and Bioelectronics* **2016**, *85*, 280–286, doi:10.1016/j.bios.2016.05.017.
2. Guth, U.; Vonau, W.; Zosel, J. Recent developments in electrochemical sensor application and technology—a review. *Measurement Science and Technology* **2009**, *20*, 042002, doi:10.1088/0957-0233/20/4/042002.
3. Katz, E.; Willner, I. Probing Biomolecular Interactions at Conductive and Semiconductive Surfaces by Impedance Spectroscopy: Routes to Impedimetric Immunosensors, DNA-Sensors, and Enzyme Biosensors. *Electroanalysis* **2003**, *15*, 913–947, doi:10.1002/elan.200390114.
4. Bahadır, E.B.; Sezgentürk, M.K. A review on impedimetric biosensors. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology* **2016**, *44*, 248–262, doi:10.3109/21691401.2014.942456.
5. Bard, A.J.; Faulkner, L.R. Fundamentals and applications. *Electrochemical Methods* **2001**, *2*, 580–632.
6. Wei, D.; Bailey, M.J.A.; Andrew, P.; Ryhänen, T. Electrochemical biosensors at the nanoscale. *Lab Chip* **2009**, *9*, 2123, doi:10.1039/b903118a.
7. Yáñez-Sedeño, P.; Campuzano, S.; Pingarrón, J.M. Electrochemical sensors based on magnetic molecularly imprinted polymers: A review. *Analytica Chimica Acta* **2017**, *960*, 1–17, doi:10.1016/j.aca.2017.01.003.
8. Scheller, F.W.; Zhang, X.; Yarman, A.; Wollenberger, U.; Gyurcsányi, R.E. Molecularly imprinted polymer-based electrochemical sensors for biopolymers. *Current Opinion in Electrochemistry* **2019**, *14*, 53–59, doi:10.1016/j.coelec.2018.12.005.
9. Wulff, G. The use of polymers with enzyme-analogous structures for the resolution of racemates. *Angew. Chem. Internat. Edit.* **1972**, *11*, 341.
10. O'Mahony, J.; Karlsson, B.C.G.; Mizaikoff, B.; Nicholls, I.A. Correlated theoretical, spectroscopic and X-ray crystallographic studies of a non-covalent molecularly imprinted polymerisation system. *The Analyst* **2007**, *132*, 1161, doi:10.1039/b706258c.
11. Singh, K.; Balasubramanian, S.; Amitha Rani, B.E. Computational and Experimental Studies of Molecularly Imprinted Polymers for Organochlorine Pesticides Heptachlor and DDT. *Current Analytical Chemistry* **2012**, *8*, 562–568, doi:10.2174/157341112803216807.
12. Kyzas, G.Z.; Lazaridis, N.K.; Bikiaris, D.N. Optimization of chitosan and β -cyclodextrin molecularly imprinted polymer synthesis for dye adsorption. *Carbohydrate Polymers* **2013**, *91*, 198–208, doi:10.1016/j.carbpol.2012.08.016.
13. Yu, H.; Chen, Z.; Fu, Y.; Kang, L.; Wang, M.; Du, X. Synthesis and optimization of molecularly imprinted polymers for quercetin. *Polymer International* **2012**, *61*, 1002–1009, doi:10.1002/pi.4172.
14. Qiao, F.; Sun, H.; Yan, H.; Row, K.H. Molecularly Imprinted Polymers for Solid Phase Extraction. *Chromatographia* **2006**, *64*, 625–634, doi:10.1365/s10337-006-0097-2.
15. Haupt, K.; Mosbach, K. Molecularly Imprinted Polymers and Their Use in Biomimetic Sensors. *Chemical Reviews* **2000**, *100*, 2495–2504, doi:10.1021/cr990099w.
16. Orozco, J.; Cortés, A.; Cheng, G.; Sattayasamitsathit, S.; Gao, W.; Feng, X.; Shen, Y.; Wang, J. Molecularly Imprinted Polymer-Based Catalytic Micromotors for Selective Protein Transport. *Journal of the American Chemical Society* **2013**, *135*, 5336–5339, doi:10.1021/ja4018545.
17. Nezhadali, A.; Mojarrab, M. Computational study and multivariate optimization of hydrochlorothiazide analysis using molecularly imprinted polymer electrochemical sensor based on carbon nanotube/polypyrrole film. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2014**, *190*, 829–837, doi:10.1016/j.snb.2013.08.086.

18. Turiel, E.; Martín-Esteban, A. Molecularly imprinted polymers for sample preparation: A review. *Analytica Chimica Acta* **2010**, *668*, 87–99, doi:10.1016/j.aca.2010.04.019.
19. Dutta, P.K.; Dutta, J.; Tripathi, V. Chitin and chitosan: Chemistry, properties and applications. **2004**.
20. Jayakumar, R.; Prabakaran, M.; Reis, R.L.; Mano, J.F. Graft copolymerized chitosan—present status and applications. *Carbohydrate Polymers* **2005**, *62*, 142–158, doi:10.1016/j.carbpol.2005.07.017.
21. Grenha, A.; Grainger, C.I.; Dailey, L.A.; Seijo, B.; Martin, G.P.; Remuñán-López, C.; Forbes, B. Chitosan nanoparticles are compatible with respiratory epithelial cells in vitro. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* **2007**, *31*, 73–84, doi:10.1016/j.ejps.2007.02.008.
22. Li, M.-C.; Lee, J.K.; Cho, U.R. Synthesis, characterization, and enzymatic degradation of starch-grafted poly(methyl methacrylate) copolymer films. *Journal of Applied Polymer Science* **2012**, *125*, 405–414, doi:10.1002/app.35620.
23. Wang, Y.; Wang, E.; Wu, Z.; Li, H.; Zhu, Z.; Zhu, X.; Dong, Y. Synthesis of chitosan molecularly imprinted polymers for solid-phase extraction of methandrostenolone. *Carbohydrate Polymers* **2014**, *101*, 517–523, doi:10.1016/j.carbpol.2013.09.078.
24. Wang, X.; Wu, M.; Tang, W.; Zhu, Y.; Wang, L.; Wang, Q.; He, P.; Fang, Y. Simultaneous electrochemical determination of ascorbic acid, dopamine and uric acid using a palladium nanoparticle/graphene/chitosan modified electrode. *Journal of Electroanalytical Chemistry* **2013**, *695*, 10–16, doi:10.1016/j.jelechem.2013.02.021.
25. Nasution, T.I.; Nainggolan, I.; Hutagalung, S.D.; Ahmad, K.R.; Ahmad, Z.A. The sensing mechanism and detection of low concentration acetone using chitosan-based sensors. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2013**, *177*, 522–528, doi:10.1016/j.snb.2012.11.063.
26. Claesson, P.M.; Ninham, B.W. pH-dependent interactions between adsorbed chitosan layers. *Langmuir* **1992**, *8*, 1406–1412, doi:10.1021/la00041a027.
27. Tangpasuthadol, V.; Pongchaisirikul, N.; Hoven, V.P. Surface modification of chitosan films. *Carbohydrate Research* **2003**, *338*, 937–942, doi:10.1016/s0008-6215(03)00038-7.
28. Salvo-Comino, C.; Rassas, I.; Minot, S.; Bessueille, F.; Rodriguez-Mendez, M.L.; Errachid, A.; Jaffrezic-Renault, N. Voltammetric sensor based on electrodeposited molecularly imprinted chitosan film on BDD electrodes for catechol detection in buffer and in wine samples. *Materials Science and Engineering: C* **2020**, *110*, 110667, doi:10.1016/j.msec.2020.110667.
29. Salvo-Comino, C.; Rassas, I.; Minot, S.; Bessueille, F.; Arab, M.; Chevallier, V.; Rodriguez-Mendez, M.L.; Errachid, A.; Jaffrezic-Renault, N. Voltammetric Sensor Based on Molecularly Imprinted Chitosan-Carbon Nanotubes Decorated with Gold Nanoparticles Nanocomposite Deposited on Boron-Doped Diamond Electrodes for Catechol Detection. *Materials* **2020**, *13*, 688, doi:10.3390/ma13030688.
30. Yi, H.; Wu, L.-Q.; Bentley, W.E.; Ghodssi, R.; Rubloff, G.W.; Culver, J.N.; Payne, G.F. Biofabrication with Chitosan. *Biomacromolecules* **2005**, *6*, 2881–2894, doi:10.1021/bm050410l.
31. Martinez, D.A.; Loening, U.E.; Graham, M.C. Impacts of glyphosate-based herbicides on disease resistance and health of crops: a review. *Environmental Sciences Europe* **2018**, *30*, doi:10.1186/s12302-018-0131-7.
32. Valavanidis, A. Glyphosate, the most widely used herbicide. *Health and safety issues. Why scientists differ in their evaluation of its adverse health effects* **2018**.

33. Torretta, V.; Katsoyiannis, I.; Viotti, P.; Rada, E. Critical Review of the Effects of Glyphosate Exposure to the Environment and Humans through the Food Supply Chain. *Sustainability* **2018**, *10*, 950, doi:10.3390/su10040950.
34. Picque, A. Evaluation des impacts du glyphosate sur la santé humaine. **2016**.
35. Kennedy, C. REVIEW ON. **2017**.
36. Borggaard, O.K.; Gimsing, A.L. Fate of glyphosate in soil and the possibility of leaching to ground and surface waters: a review. *Pest Management Science* **2008**, *64*, 441–456, doi:10.1002/ps.1512.
37. Feriani, M. Synthèse et caractérisation des matériaux nanostructurés et leur mise en oeuvre comme photocatalyseurs pour la dégradation du glyphosate en milieux aqueux. **2016**.
38. Villamar-Ayala, C.A.; Carrera-Cevallos, J.V.; Vasquez-Medrano, R.; Espinoza-Montero, P.J. Fate, eco-toxicological characteristics, and treatment processes applied to water polluted with glyphosate: A critical review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* **2019**, *49*, 1476–1514, doi:10.1080/10643389.2019.1579627.
39. Battaglin, W.A.; Meyer, M.T.; Kuivila, K.M.; Dietze, J.E. Glyphosate and Its Degradation Product AMPA Occur Frequently and Widely in U.S. Soils, Surface Water, Groundwater, and Precipitation. *JAWRA Journal of the American Water Resources Association* **2014**, *50*, 275–290, doi:10.1111/jawr.12159.
40. Al Rajab, A.J. Impact sur l'environnement d'un herbicide non sélectif, le glyphosate: approche modélisée en conditions contrôlées et naturelles. **2007**.
41. Vereecken, H. Mobility and leaching of glyphosate: a review. *Pest Management Science* **2005**, *61*, 1139–1151, doi:10.1002/ps.1122.
42. Rolando, C.; Baillie, B.; Thompson, D.; Little, K. The Risks Associated with Glyphosate-Based Herbicide Use in Planted Forests. *Forests* **2017**, *8*, 208, doi:10.3390/f8060208.
43. Samsel, A.; Seneff, S. Glyphosate, pathways to modern diseases II: Celiac sprue and gluten intolerance. *Interdisciplinary toxicology* **2013**, *6*, 159–184.
44. Williams, G.M.; Kroes, R.; Munro, I.C. Safety Evaluation and Risk Assessment of the Herbicide Roundup and Its Active Ingredient, Glyphosate, for Humans. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* **2000**, *31*, 117–165, doi:10.1006/rtp.1999.1371.
45. Coullery, R.P.; Ferrari, M.E.; Rosso, S.B. Neuronal development and axon growth are altered by glyphosate through a WNT non-canonical signaling pathway. *NeuroToxicology* **2016**, *52*, 150–161, doi:10.1016/j.neuro.2015.12.004.
46. Cattani, D.; Cesconetto, P.A.; Tavares, M.K.; Parisotto, E.B.; De Oliveira, P.A.; Rieg, C.E.H.; Leite, M.C.; Prediger, R.D.S.; Wendt, N.C.; Razzera, G.; et al. Developmental exposure to glyphosate-based herbicide and depressive-like behavior in adult offspring: Implication of glutamate excitotoxicity and oxidative stress. *Toxicology* **2017**, *387*, 67–80, doi:10.1016/j.tox.2017.06.001.
47. Çağlar, S.; Kolankaya, D. The effect of sub-acute and sub-chronic exposure of rats to the glyphosate-based herbicide Roundup. *Environmental Toxicology and Pharmacology* **2008**, *25*, 57–62, doi:10.1016/j.etap.2007.08.011.
48. Séralini, G.-E.; Clair, E.; Mesnage, R.; Gress, S.; Defarge, N.; Malatesta, M.; Hennequin, D.; de Vendômois, J.S. Republished study: long-term toxicity of a Roundup herbicide and a Roundup-tolerant genetically modified maize. *Environmental Sciences Europe* **2014**, *26*, doi:10.1186/s12302-014-0014-5.
49. Abarikwu, S.O.; Akiri, O.F.; Durojaiye, M.A.; Adenike, A. Combined effects of repeated administration of Bretmont Wipeout (glyphosate) and Ultrazin (atrazine) on testosterone, oxidative stress and sperm quality of Wistar rats. *Toxicology Mechanisms and Methods* **2015**, *25*, 70–80, doi:10.3109/15376516.2014.989349.

50. Herbert, L.T.; Vázquez, D.E.; Arenas, A.; Farina, W.M. Effects of field-realistic doses of glyphosate on honeybee appetitive behaviour. *Journal of Experimental Biology* **2014**, *217*, 3457–3464.
51. Krüger, M.; Schledorn, P.; Schrödl, W.; Hoppe, H.-W.; Lutz, W.; Shehata, A.A. Detection of glyphosate residues in animals and humans. *J Environ Anal Toxicol* **2014**, *4*, 1–5.
52. Seide, V.E.; Bernardes, R.C.; Pereira, E.J.G.; Lima, M.A.P. Glyphosate is lethal and Cry toxins alter the development of the stingless bee *Melipona quadrifasciata*. *Environmental Pollution* **2018**, *243*, 1854–1860, doi:10.1016/j.envpol.2018.10.020.
53. Van Bruggen, A.H.C.; He, M.M.; Shin, K.; Mai, V.; Jeong, K.C.; Finckh, M.R.; Morris, J.G. Environmental and health effects of the herbicide glyphosate. *Science of The Total Environment* **2018**, *616–617*, 255–268, doi:10.1016/j.scitotenv.2017.10.309.
54. Busse, M.D.; Ratcliff, A.W.; Shestak, C.J.; Powers, R.F. Glyphosate toxicity and the effects of long-term vegetation control on soil microbial communities. *Soil Biology and Biochemistry* **2001**, *33*, 1777–1789, doi:10.1016/S0038-0717(01)00103-1.
55. Ohtonen, R.; Munson, A.; Brand, D. Soil Microbial Community Response to Silvicultural Intervention in Coniferous Plantation Ecosystems. *Ecological Applications* **1992**, *2*, 363–375, doi:10.2307/1941871.
56. Sihtmäe, M.; Blinova, I.; Künnis-Beres, K.; Kanarbik, L.; Heinlaan, M.; Kahru, A. Ecotoxicological effects of different glyphosate formulations. *Applied Soil Ecology* **2013**, *72*, 215–224, doi:10.1016/j.apsoil.2013.07.005.
57. Wang, C.; Lin, X.; Li, L.; Lin, S. Differential Growth Responses of Marine Phytoplankton to Herbicide Glyphosate. *PLOS ONE* **2016**, *11*, e0151633, doi:10.1371/journal.pone.0151633.
58. IARC Monograph on glyphosate. Available online: https://www.iarc.fr/en/media-center/iarcnews/2016/glyphosate_IARC2016.ph.
59. Xu, J.; Smith, S.; Smith, G.; Wang, W.; Li, Y. Glyphosate contamination in grains and foods: An overview. *Food Control* **2019**, *106*, 106710, doi:10.1016/j.foodcont.2019.106710.
60. Kwiatkowska, M.; Reszka, E.; Woźniak, K.; Jabłońska, E.; Michałowicz, J.; Bukowska, B. DNA damage and methylation induced by glyphosate in human peripheral blood mononuclear cells (in vitro study). *Food and Chemical Toxicology* **2017**, *105*, 93–98, doi:10.1016/j.fct.2017.03.051.
61. Prasad, B.B.; Jauhari, D.; Tiwari, M.P. Doubly imprinted polymer nanofilm-modified electrochemical sensor for ultra-trace simultaneous analysis of glyphosate and glufosinate. *Biosensors and Bioelectronics* **2014**, *59*, 81–88, doi:10.1016/j.bios.2014.03.019.
62. Bai, S.H.; Ogbourne, S.M. Glyphosate: environmental contamination, toxicity and potential risks to human health via food contamination. *Environmental Science and Pollution Research* **2016**, *23*, 18988–19001, doi:10.1007/s11356-016-7425-3.
63. Ding, J.; Guo, H.; Liu, W.; Zhang, W.; Wang, J. Current progress on the detection of glyphosate in environmental samples. *J. Sci. Appl. Biomed* **2015**, *3*, 88–95.
64. Murphy, C.J. Peer Reviewed: Optical Sensing with Quantum Dots. *Analytical Chemistry* **2002**, *74*, 520 A-526 A, doi:10.1021/ac022124v.
65. Li, T.; Zhou, Y.; Sun, J.; Wu, K. Ultrasensitive Detection of Glyphosate Using CdTe Quantum Dots in Sol-Gel-Derived Silica Spheres Coated with Calix[6]arene as Fluorescent Probes. *American Journal of Analytical Chemistry* **2012**, *03*, 12–18, doi:10.4236/ajac.2012.31003.
66. Wang, D.; Lin, B.; Cao, Y.; Guo, M.; Yu, Y. A Highly Selective and Sensitive Fluorescence Detection Method of Glyphosate Based on an Immune Reaction Strategy

- of Carbon Dot Labeled Antibody and Antigen Magnetic Beads. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2016**, *64*, 6042–6050, doi:10.1021/acs.jafc.6b01088.
67. Wang, L.; Bi, Y.; Hou, J.; Li, H.; Xu, Y.; Wang, B.; Ding, H.; Ding, L. Facile, green and clean one-step synthesis of carbon dots from wool: Application as a sensor for glyphosate detection based on the inner filter effect. *Talanta* **2016**, *160*, 268–275, doi:10.1016/j.talanta.2016.07.020.
68. Singh, R.; Thakur, P.; Thakur, A.; Kumar, H.; Chawla, P.; V. Rohit, J.; Kaushik, R.; Kumar, N. Colorimetric sensing approaches of surface-modified gold and silver nanoparticles for detection of residual pesticides: a review. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* **2020**, 1–17, doi:10.1080/03067319.2020.1715382.
69. De Almeida, L.K.S.; Chigome, S.; Torto, N.; Frost, C.L.; Pletschke, B.I. A novel colorimetric sensor strip for the detection of glyphosate in water. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2015**, *206*, 357–363, doi:10.1016/j.snb.2014.09.039.
70. Chang, Y.; Zhang, Z.; Hao, J.; Yang, W.; Tang, J. A simple label free colorimetric method for glyphosate detection based on the inhibition of peroxidase-like activity of Cu(II). *Sensors and Actuators B: Chemical* **2016**, *228*, 410–415, doi:10.1016/j.snb.2016.01.048.
71. Zheng, J.; Zhang, H.; Qu, J.; Zhu, Q.; Chen, X. Visual detection of glyphosate in environmental water samples using cysteamine-stabilized gold nanoparticles as colorimetric probe. *Anal. Methods* **2013**, *5*, 917–924, doi:10.1039/C2AY26391B.
72. Cahuantzi-Muñoz, S.L.; González-Fuentes, M.A.; Ortiz-Frade, L.A.; Torres, E.; Țălu, Ș.; Trejo, G.; Méndez-Albores, A. Electrochemical Biosensor for Sensitive Quantification of Glyphosate in Maize Kernels. *Electroanalysis* **2019**, *31*, 927–935, doi:10.1002/elan.201800759.
73. Noori, J.S.; Mortensen, J.; Geto, A. Recent Development on the Electrochemical Detection of Selected Pesticides: A Focused Review. *Sensors* **2020**, *20*, 2221, doi:10.3390/s20082221.
74. Koskinen, W.C.; Marek, L.J.; Hall, K.E. Analysis of glyphosate and aminomethylphosphonic acid in water, plant materials and soil: Analysis of glyphosate and AMPA in water, plant materials and soil. *Pest Management Science* **2016**, *72*, 423–432, doi:10.1002/ps.4172.
75. Mazouz, Z.; Rahali, S.; Fourati, N.; Zerrouki, C.; Aloui, N.; Seydou, M.; Yaakoubi, N.; Chehimi, M.; Othmane, A.; Kalfat, R. Highly Selective Polypyrrole MIP-Based Gravimetric and Electrochemical Sensors for Picomolar Detection of Glyphosate. *Sensors* **2017**, *17*, 2586, doi:10.3390/s17112586.
76. Xu, J.; Zhang, Y.; Wu, K.; Zhang, L.; Ge, S.; Yu, J. A molecularly imprinted polypyrrole for ultrasensitive voltammetric determination of glyphosate. *Microchimica Acta* **2017**, *184*, 1959–1967, doi:10.1007/s00604-017-2200-9.
77. Lopez-Nogueroles, M.; Lordel-Madeleine, S.; Chisvert, A.; Salvador, A.; Pichon, V. Development of a selective solid phase extraction method for nitro musk compounds in environmental waters using a molecularly imprinted sorbent. *Talanta* **2013**, *110*, 128–134, doi:10.1016/j.talanta.2013.02.023.
78. Lorenzo, R.; Carro, A.; Alvarez-Lorenzo, C.; Concheiro, A. To Remove or Not to Remove? The Challenge of Extracting the Template to Make the Cavities Available in Molecularly Imprinted Polymers (MIPs). *International Journal of Molecular Sciences* **2011**, *12*, 4327–4347, doi:10.3390/ijms12074327.
79. Algieri, C.; Drioli, E.; Guzzo, L.; Donato, L. Bio-Mimetic Sensors Based on Molecularly Imprinted Membranes. *Sensors* **2014**, *14*, 13863–13912, doi:10.3390/s140813863.

80. Svenson, J.; Karlsson, J.G.; Nicholls, I.A. Nuclear magnetic resonance study of the molecular imprinting of (-)-nicotine: template self-association, a molecular basis for cooperative ligand binding. *Journal of Chromatography A* **2004**, *1024*, 39–44, doi:10.1016/j.chroma.2003.09.064.
81. Turiel, E.; Martín-Esteban, A.; Fernández, P.; Pérez-Conde, C.; Cámara, C. Molecular Recognition in a Propazine-imprinted Polymer and Its Application to the Determination of Triazines in Environmental Samples. *Analytical Chemistry* **2001**, *73*, 5133–5141, doi:10.1021/ac0105538.
82. Yan, H.; Row, K. Characteristic and Synthetic Approach of Molecularly Imprinted Polymer. *International Journal of Molecular Sciences* **2006**, *7*, 155–178, doi:10.3390/i7050155.
83. Pichon, V.; Haupt, K. Affinity Separations on Molecularly Imprinted Polymers with Special Emphasis on Solid-Phase Extraction. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies* **2006**, *29*, 989–1023, doi:10.1080/10826070600574739.
84. Wang, Y.-F.; Jin, H.-X.; Wang, Y.-G.; Yang, L.-Y.; OuYang, X.-K.; Wu, W.-J. Synthesis and Characterization of Magnetic Molecularly Imprinted Polymer for the Enrichment of Ofloxacin Enantiomers in Fish Samples. *Molecules* **2016**, *21*, 915, doi:10.3390/molecules21070915.
85. Perçin, I.; Idil, N.; Denizli, A. Molecularly imprinted poly(N-isopropylacrylamide) thermosensitive based cryogel for immunoglobulin G purification. *Process Biochemistry* **2019**, *80*, 181–189, doi:10.1016/j.procbio.2019.02.001.
86. Vasapollo, G.; Sole, R.D.; Mergola, L.; Lazoi, M.R.; Scardino, A.; Scorrano, S.; Mele, G. Molecularly Imprinted Polymers: Present and Future Prospective. *International Journal of Molecular Sciences* **2011**, *12*, 5908–5945, doi:10.3390/ijms12095908.
87. Guo, T.-Y.; Xia, Y.-Q.; Wang, J.; Song, M.-D.; Zhang, B.-H. Chitosan beads as molecularly imprinted polymer matrix for selective separation of proteins. *Biomaterials* **2005**, *26*, 5737–5745, doi:10.1016/j.biomaterials.2005.02.017.
88. Ogunlaja, A.S.; Coombes, M.J.; Torto, N.; Tshentu, Z.R. The adsorptive extraction of oxidized sulfur-containing compounds from fuels by using molecularly imprinted chitosan materials. *Reactive and Functional Polymers* **2014**, *81*, 61–76, doi:10.1016/j.reactfunctpolym.2014.04.006.
89. Svenson, J.; Nicholls, I.A. On the thermal and chemical stability of molecularly imprinted polymers. *Analytica Chimica Acta* **2001**, *435*, 19–24, doi:10.1016/S0003-2670(00)01396-9.
90. Sellergren, B.; Shea, K.J. Influence of polymer morphology on the ability of imprinted network polymers to resolve enantiomers. *Journal of Chromatography A* **1993**, *635*, 31–49, doi:10.1016/0021-9673(93)83112-6.
91. Spivak, D. Optimization, evaluation, and characterization of molecularly imprinted polymers. *Advanced Drug Delivery Reviews* **2005**, *57*, 1779–1794, doi:10.1016/j.addr.2005.07.012.
92. Pichon, V.; Chapuis-Hugon, F. Role of molecularly imprinted polymers for selective determination of environmental pollutants—A review. *Analytica Chimica Acta* **2008**, *622*, 48–61, doi:10.1016/j.aca.2008.05.057.
93. Chen, L.; Wang, X.; Lu, W.; Wu, X.; Li, J. Molecular imprinting: perspectives and applications. *Chemical Society Reviews* **2016**, *45*, 2137–2211, doi:10.1039/C6CS00061D.
94. Kirsch, N.; Hart, J.P.; Bird, D.J.; Luxton, R.W.; McCalley, D.V. Towards the development of molecularly imprinted polymer based screen-printed sensors for metabolites of PAHs. *The Analyst* **2001**, *126*, 1936–1941, doi:10.1039/b108008n.

95. Ellwanger, A.; Karlsson, L.; Owens, P.K.; Berggren, C.; Crecenzi, C.; Ensing, K.; Bayouhd, S.; Cormack, P.; Sherrington, D.; Sellergren, B. Evaluation of methods aimed at complete removal of template from molecularly imprinted polymers. *The Analyst* **2001**, *126*, 784–792, doi:10.1039/b009693h.
96. Turiel, E.; Martín-Esteban, A. Molecularly imprinted polymers for sample preparation: A review. *Analytica Chimica Acta* **2010**, *668*, 87–99, doi:10.1016/j.aca.2010.04.019.
97. Whitcombe, M.J.; Rodriguez, M.E.; Villar, P.; Vulfson, E.N. A New Method for the Introduction of Recognition Site Functionality into Polymers Prepared by Molecular Imprinting: Synthesis and Characterization of Polymeric Receptors for Cholesterol. *Journal of the American Chemical Society* **1995**, *117*, 7105–7111, doi:10.1021/ja00132a010.
98. Haupt, K.; Mosbach, K. Molecularly Imprinted Polymers and Their Use in Biomimetic Sensors. *Chemical Reviews* **2000**, *100*, 2495–2504, doi:10.1021/cr990099w.
99. Baggiani, C.; Anfossi, L.; Giovannoli, C. Solid phase extraction of food contaminants using molecular imprinted polymers. *Analytica Chimica Acta* **2007**, *591*, 29–39, doi:10.1016/j.aca.2007.01.056.
100. Shea, K.J.; Thompson, E.A.; Pandey, S.D.; Beauchamp, P.S. Template synthesis of macromolecules. Synthesis and chemistry of functionalized macroporous poly (divinylbenzene). *Journal of the American Chemical Society* **1980**, *102*, 3149–3155.
101. Damen, J.; Neckers, D.C. Memory of synthesized vinyl polymers for their origins. *The Journal of Organic Chemistry* **1980**, *45*, 1382–1387.
102. Bompert, M.; Haupt, K.; Ayela, C. Micro and Nanofabrication of Molecularly Imprinted Polymers. In *Molecular Imprinting*; Haupt, K., Ed.; Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, 2011; Vol. 325, pp. 83–110 ISBN 978-3-642-28420-5.
103. Graham, A.L.; Carlson, C.A.; Edmiston, P.L. Development and Characterization of Molecularly Imprinted Sol–Gel Materials for the Selective Detection of DDT. *Analytical Chemistry* **2002**, *74*, 458–467, doi:10.1021/ac0106142.
104. Petcu, M.; Cooney, J.; Cook, C.; Lauren, D.; Schaare, P.; Holland, P. Molecular imprinting of a small substituted phenol of biological importance. *Analytica Chimica Acta* **2001**, *435*, 49–55, doi:10.1016/S0003-2670(00)01354-4.
105. Wulff, G. Chirality of vinyl polymers. The preparation of chiral cavities in synthetic polymers. **1982**.
106. Sellergren, B. Molecular imprinting by noncovalent interactions. Enantioselectivity and binding capacity of polymers prepared under conditions favoring the formation of template complexes. *Die Makromolekulare Chemie: Macromolecular Chemistry and Physics* **1989**, *190*, 2703–2711.
107. Kim, H.; Spivak, D.A. New Insight into Modeling Non-Covalently Imprinted Polymers. *Journal of the American Chemical Society* **2003**, *125*, 11269–11275, doi:10.1021/ja0361502.
108. Biffis, A.; Dvorakova, G.; Falcimaigne-Cordin, A. Physical forms of MIPs. In *Molecular Imprinting*; Springer, 2010; pp. 29–82.
109. Mayes, A.G.; Mosbach, K. Molecularly Imprinted Polymer Beads: Suspension Polymerization Using a Liquid Perfluorocarbon as the Dispersing Phase. *Analytical Chemistry* **1996**, *68*, 3769–3774, doi:10.1021/ac960363a.
110. Vaihinger, D.; Landfester, K.; Kräuter, I.; Brunner, H.; Tovar, G.E. Molecularly imprinted polymer nanospheres as synthetic affinity receptors obtained by miniemulsion polymerisation. *Macromolecular Chemistry and Physics* **2002**, *203*, 1965–1973.
111. Ye, L.; Weiss, R.; Mosbach, K. Synthesis and Characterization of Molecularly Imprinted Microspheres. *Macromolecules* **2000**, *33*, 8239–8245, doi:10.1021/ma000825t.

112. Wackerlig, J.; Schirhagl, R. Applications of Molecularly Imprinted Polymer Nanoparticles and Their Advances toward Industrial Use: A Review. *Analytical Chemistry* **2016**, *88*, 250–261, doi:10.1021/acs.analchem.5b03804.
113. Cutivet, A.; Schembri, C.; Kovensky, J.; Haupt, K. Molecularly Imprinted Microgels as Enzyme Inhibitors. *Journal of the American Chemical Society* **2009**, *131*, 14699–14702, doi:10.1021/ja901600e.
114. J. Wizeman, W.; Kofinas, P. Molecularly imprinted polymer hydrogels displaying isomerically resolved glucose binding. *Biomaterials* **2001**, *22*, 1485–1491, doi:10.1016/S0142-9612(00)00303-3.
115. Ryabov, A.D. The Biochemical Reactions of Organometallics with Enzymes and Proteins. *Angewandte Chemie International Edition in English* **1991**, *30*, 931–941, doi:10.1002/anie.199109311.
116. Dong, S.; Wang, B.; Liu, B. Amperometric glucose sensor with ferrocene as an electron transfer mediator. *Biosensors and Bioelectronics* **1992**, *7*, 215–222, doi:10.1016/0956-5663(92)87018-K.
117. Mahony, J.O.; Nolan, K.; Smyth, M.R.; Mizaikoff, B. Molecularly imprinted polymers—potential and challenges in analytical chemistry. *Analytica Chimica Acta* **2005**, *534*, 31–39, doi:10.1016/j.aca.2004.07.043.
118. Cheong, W.J.; Yang, S.H.; Ali, F. Molecular imprinted polymers for separation science: A review of reviews: Other Techniques. *Journal of Separation Science* **2013**, *36*, 609–628, doi:10.1002/jssc.201200784.
119. Brüggemann, O.; Haupt, K.; Ye, L.; Yilmaz, E.; Mosbach, K. New configurations and applications of molecularly imprinted polymers. *Journal of Chromatography A* **2000**, *889*, 15–24, doi:10.1016/S0021-9673(00)00350-2.
120. Cheong, W.J.; Ali, F.; Choi, J.H.; Lee, J.O.; Yune Sung, K. Recent applications of molecular imprinted polymers for enantio-selective recognition. *Talanta* **2013**, *106*, 45–59, doi:10.1016/j.talanta.2012.11.049.
121. Madrakian, T.; Afkhami, A.; Mahmood-Kashani, H.; Ahmadi, M. Superparamagnetic surface molecularly imprinted nanoparticles for sensitive solid-phase extraction of tramadol from urine samples. *Talanta* **2013**, *105*, 255–261, doi:10.1016/j.talanta.2012.12.039.
122. Liu, X.; Zong, H.-Y.; Huang, Y.-P.; Liu, Z.-S. Liquid crystal-based molecularly imprinted nanoparticles with low crosslinking for capillary electrochromatography. *Journal of Chromatography A* **2013**, *1309*, 84–89, doi:10.1016/j.chroma.2013.08.024.
123. Speltini, A.; Scalabrini, A.; Maraschi, F.; Sturini, M.; Profumo, A. Newest applications of molecularly imprinted polymers for extraction of contaminants from environmental and food matrices: A review. *Analytica Chimica Acta* **2017**, *974*, 1–26, doi:10.1016/j.aca.2017.04.042.
124. Liu, Y.; Fang, S.; Zhai, J.; Zhao, M. Construction of antibody-like nanoparticles for selective protein sequestration in living cells. *Nanoscale* **2015**, *7*, 7162–7167, doi:10.1039/C4NR07615J.
125. Hoshino, Y.; Shea, K.J. The evolution of plastic antibodies. *J. Mater. Chem.* **2011**, *21*, 3517–3521, doi:10.1039/C0JM03122D.
126. Rouquerol, J.; Rouquerol, F.; Llewellyn, P.; Maurin, G.; Sing, K.S. *Adsorption by powders and porous solids: principles, methodology and applications*; Academic press, 2013; ISBN 0-08-097036-2.
127. Alvarez-Lorenzo, C.; Concheiro, A. Molecularly imprinted polymers for drug delivery. *Journal of Chromatography B* **2004**, *804*, 231–245, doi:10.1016/j.jchromb.2003.12.032.

128. Ramström, O.; Mosbach, K. Synthesis and catalysis by molecularly imprinted materials. *Current Opinion in Chemical Biology* **1999**, *3*, 759–764, doi:10.1016/S1367-5931(99)00037-X.
129. Hillberg, A.; Brain, K.; Allender, C. Molecular imprinted polymer sensors: Implications for therapeutics. *Advanced Drug Delivery Reviews* **2005**, doi:10.1016/j.addr.2005.07.016.
130. Yan, M. *Molecularly imprinted materials: science and technology*; CRC press, 2004; ISBN 1-4200-3030-2.
131. Aranaz, I.; Mengibar, M.; Harris, R.; Panos, I.; Miralles, B.; Acosta, N.; Galed, G.; Heras, A. Functional Characterization of Chitin and Chitosan. *Current Chemical Biology* **2009**, *3*, 203–230, doi:10.2174/187231309788166415.
132. Rinaudo, M. Chitin and chitosan: Properties and applications. *Progress in Polymer Science* **2006**, *31*, 603–632, doi:10.1016/j.progpolymsci.2006.06.001.
133. Zargar, V.; Asghari, M.; Dashti, A. A Review on Chitin and Chitosan Polymers: Structure, Chemistry, Solubility, Derivatives, and Applications. *ChemBioEng Reviews* **2015**, *2*, 204–226, doi:10.1002/cben.201400025.
134. Younes, I.; Rinaudo, M. Chitin and Chitosan Preparation from Marine Sources. Structure, Properties and Applications. *Marine Drugs* **2015**, *13*, 1133–1174, doi:10.3390/md13031133.
135. El Knidri, H.; Belaabed, R.; Addaou, A.; Laajeb, A.; Lahsini, A. Extraction, chemical modification and characterization of chitin and chitosan. *International Journal of Biological Macromolecules* **2018**, *120*, 1181–1189, doi:10.1016/j.ijbiomac.2018.08.139.
136. Domard, A.; Domard, M. Chitosan: structure-properties relationship and biomedical applications. *Polymeric biomaterials* **2001**, *2*, 187–212.
137. Sorlier, P.; Rochas, C.; Morfin, I.; Viton, C.; Domard, A. Light Scattering Studies of the Solution Properties of Chitosans of Varying Degrees of Acetylation. *Biomacromolecules* **2003**, *4*, 1034–1040, doi:10.1021/bm034054n.
138. Raymond, L.; Morin, F.G.; Marchessault, R.H. Degree of deacetylation of chitosan using conductometric titration and solid-state NMR. *Carbohydrate Research* **1993**, *246*, 331–336, doi:10.1016/0008-6215(93)84044-7.
139. dos Santos, Z.M.; Caroni, A.L.P.F.; Pereira, M.R.; da Silva, D.R.; Fonseca, J.L.C. Determination of deacetylation degree of chitosan: a comparison between conductometric titration and CHN elemental analysis. *Carbohydrate Research* **2009**, *344*, 2591–2595, doi:10.1016/j.carres.2009.08.030.
140. Jiang, X.; Chen, L.; Zhong, W. A new linear potentiometric titration method for the determination of deacetylation degree of chitosan. *Carbohydrate Polymers* **2003**, *54*, 457–463, doi:10.1016/j.carbpol.2003.05.004.
141. Kasaaï, M.R. Determination of the degree of N-acetylation for chitin and chitosan by various NMR spectroscopy techniques: A review. *Carbohydrate Polymers* **2010**, *79*, 801–810, doi:10.1016/j.carbpol.2009.10.051.
142. Tsigos, I.; Martinou, A.; Kafetzopoulos, D.; Bouriotis, V. Chitin deacetylases: new, versatile tools in biotechnology. *Trends in Biotechnology* **2000**, *18*, 305–312, doi:10.1016/S0167-7799(00)01462-1.
143. Kim, S.; Rajapakse, N. Enzymatic production and biological activities of chitosan oligosaccharides (COS): A review. *Carbohydrate Polymers* **2005**, *62*, 357–368, doi:10.1016/j.carbpol.2005.08.012.
144. Zhao, Y.; Park, R.-D.; Muzzarelli, R.A.A. Chitin Deacetylases: Properties and Applications. *Marine Drugs* **2010**, *8*, 24–46, doi:10.3390/md8010024.
145. Naqvi, S.; Cord-Landwehr, S.; Singh, R.; Bernard, F.; Kolkenbrock, S.; El Gueddari, N.E.; Moerschbacher, B.M. A Recombinant Fungal Chitin Deacetylase Produces Fully

- Defined Chitosan Oligomers with Novel Patterns of Acetylation. *Appl. Environ. Microbiol.* **2016**, 82, 6645–6655, doi:10.1128/AEM.01961-16.
146. No, H.K.; Meyers, S.P.; Prinyawiwatkul, W.; Xu, Z. Applications of Chitosan for Improvement of Quality and Shelf Life of Foods: A Review. *J Food Science* **2007**, 72, R87–R100, doi:10.1111/j.1750-3841.2007.00383.x.
147. Cheung, R.; Ng, T.; Wong, J.; Chan, W. Chitosan: An Update on Potential Biomedical and Pharmaceutical Applications. *Marine Drugs* **2015**, 13, 5156–5186, doi:10.3390/md13085156.
148. Hamed, I.; Özogul, F.; Regenstein, J.M. Industrial applications of crustacean by-products (chitin, chitosan, and chitoooligosaccharides): A review. *Trends in Food Science & Technology* **2016**, 48, 40–50, doi:10.1016/j.tifs.2015.11.007.
149. Bhatnagar, A.; Sillanpää, M. Applications of chitin- and chitosan-derivatives for the detoxification of water and wastewater — A short review. *Advances in Colloid and Interface Science* **2009**, 152, 26–38, doi:10.1016/j.cis.2009.09.003.
150. Muzzarelli, R.A.A. Potential of chitin/chitosan-bearing materials for uranium recovery: An interdisciplinary review. *Carbohydrate Polymers* **2011**, 84, 54–63, doi:10.1016/j.carbpol.2010.12.025.
151. Hasegawa, M.; Isogai, A.; Onabe, F. Preparation of low-molecular-weight chitosan using phosphoric acid. *Carbohydrate Polymers* **1993**, 20, 279–283, doi:10.1016/0144-8617(93)90100-I.
152. Bough, W.A.; Salter, W.L.; Wu, A.C.M.; Perkins, B.E. Influence of manufacturing variables on the characteristics and effectiveness of chitosan products. I. Chemical composition, viscosity, and molecular-weight distribution of chitosan products. *Biotechnol. Bioeng.* **1978**, 20, 1931–1943, doi:10.1002/bit.260201208.
153. Pa, J.; Yu, T.L. Light scattering study of chitosan in acetic acid aqueous solutions. *Macromolecular Chemistry and Physics* **2001**, 202, 985–991.
154. Aranaz, I.; Harris, R.; Heras, A. Chitosan amphiphilic derivatives. Chemistry and applications. *Current Organic Chemistry* **2010**, 14, 308–330.
155. Dash, M.; Chiellini, F.; Ottenbrite, R.M.; Chiellini, E. Chitosan—A versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications. *Progress in Polymer Science* **2011**, 36, 981–1014, doi:10.1016/j.progpolymsci.2011.02.001.
156. Ahmed, T.; Aljaeid, B. Preparation, characterization, and potential application of chitosan, chitosan derivatives, and chitosan metal nanoparticles in pharmaceutical drug delivery. *Drug Design, Development and Therapy* **2016**, 483, doi:10.2147/DDDT.S99651.
157. Tual, C.; Espuche, E.; Escoubes, M.; Domard, A. Transport properties of chitosan membranes: influence of crosslinking. *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics* **2000**, 38, 1521–1529.
158. Sellergren, B.; Andersson, L. Molecular recognition in macroporous polymers prepared by a substrate analog imprinting strategy. *The Journal of organic chemistry* **1990**, 55, 3381–3383.
159. Zhang, J.; Xia, W.; Liu, P.; Cheng, Q.; Tahi, T.; Gu, W.; Li, B. Chitosan Modification and Pharmaceutical/Biomedical Applications. *Marine Drugs* **2010**, 8, 1962–1987, doi:10.3390/md8071962.
160. Roberts, G.A.F.; Domszy, J.G. Determination of the viscometric constants for chitosan. *International Journal of Biological Macromolecules* **1982**, 4, 374–377, doi:10.1016/0141-8130(82)90074-5.
161. Caner, C.; Vergano, P.J.; Wiles, J.L. Chitosan Film Mechanical and Permeation Properties as Affected by Acid, Plasticizer, and Storage. *Journal of Food Science* **2006**, 63, 1049–1053, doi:10.1111/j.1365-2621.1998.tb15852.x.

162. Sorlier, P.; Denuzière, A.; Viton, C.; Domard, A. Relation between the degree of acetylation and the electrostatic properties of chitin and chitosan. *Biomacromolecules* **2001**, *2*, 765–772.
163. Schatz, C.; Pichot, C.; Delair, T.; Viton, C.; Domard, A. Static Light Scattering Studies on Chitosan Solutions: From Macromolecular Chains to Colloidal Dispersions. *Langmuir* **2003**, *19*, 9896–9903, doi:10.1021/la034410n.
164. Carreira, A.S.; Gonçalves, F.A.M.M.; Mendonça, P.V.; Gil, M.H.; Coelho, J.F.J. Temperature and pH responsive polymers based on chitosan: Applications and new graft copolymerization strategies based on living radical polymerization. *Carbohydrate Polymers* **2010**, *80*, 618–630, doi:10.1016/j.carbpol.2009.12.047.
165. Wanjun, T.; Cunxin, W.; Donghua, C. Kinetic studies on the pyrolysis of chitin and chitosan. *Polymer Degradation and Stability* **2005**, *87*, 389–394, doi:10.1016/j.polymdegradstab.2004.08.006.
166. Ritthidej, G.C.; Phaechamud, T.; Koizumi, T. Moist heat treatment on physicochemical change of chitosan salt films. *International Journal of Pharmaceutics* **2002**, *232*, 11–22, doi:10.1016/S0378-5173(01)00894-8.
167. Toffey, A.; Glasser, W.G. Chitin derivatives III Formation of amidized homologs of chitosan. *Cellulose* **2001**, *8*, 35–47.
168. Lim, L.; Khor, E.; Ling, C. Effects of dry heat and saturated steam on the physical properties of chitosan. *Journal of Biomedical Materials Research: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials* **1999**, *48*, 111–116.
169. Murray, C.A.; Dutcher, J.R. Effect of Changes in Relative Humidity and Temperature on Ultrathin Chitosan Films. *Biomacromolecules* **2006**, *7*, 3460–3465, doi:10.1021/bm060416q.
170. Wang, J.; Wang, L.; Yu, H.; Zain-ul-Abdin; Chen, Y.; Chen, Q.; Zhou, W.; Zhang, H.; Chen, X. Recent progress on synthesis, property and application of modified chitosan: An overview. *International Journal of Biological Macromolecules* **2016**, *88*, 333–344, doi:10.1016/j.ijbiomac.2016.04.002.
171. Xu, L.; Huang, Y.-A.; Zhu, Q.-J.; Ye, C. Chitosan in Molecularly-Imprinted Polymers: Current and Future Prospects. *International Journal of Molecular Sciences* **2015**, *16*, 18328–18347, doi:10.3390/ijms160818328.
172. Szymańska, E.; Winnicka, K. Stability of Chitosan—A Challenge for Pharmaceutical and Biomedical Applications. *Marine Drugs* **2015**, *13*, 1819–1846, doi:10.3390/md13041819.
173. Gupta, K.; Jabrail, F. Effects of degree of deacetylation and cross-linking on physical characteristics, swelling and release behavior of chitosan microspheres. *Carbohydrate Polymers* **2006**, *66*, 43–54, doi:10.1016/j.carbpol.2006.02.019.
174. Yuan, Y.; Chesnutt, B.M.; Utturkar, G.; Haggard, W.O.; Yang, Y.; Ong, J.L.; Bumgardner, J.D. The effect of cross-linking of chitosan microspheres with genipin on protein release. *Carbohydrate Polymers* **2007**, *68*, 561–567, doi:10.1016/j.carbpol.2006.10.023.
175. Chiou, M.S.; Li, H.Y. Adsorption behavior of reactive dye in aqueous solution on chemical cross-linked chitosan beads. *Chemosphere* **2003**, *50*, 1095–1105, doi:10.1016/S0045-6535(02)00636-7.
176. Liu, Y.-L.; Su, Y.-H.; Lai, J.-Y. In situ crosslinking of chitosan and formation of chitosan–silica hybrid membranes with using γ -glycidoxypropyltrimethoxysilane as a crosslinking agent. *Polymer* **2004**, *45*, 6831–6837, doi:10.1016/j.polymer.2004.08.006.
177. Schiffman, J.D.; Schauer, C.L. Cross-Linking Chitosan Nanofibers. *Biomacromolecules* **2007**, *8*, 594–601, doi:10.1021/bm060804s.

178. Pereira, F.S.; da Silva Agostini, D.L.; Job, A.E.; González, E.R.P. Thermal studies of chitin–chitosan derivatives. *J Therm Anal Calorim* **2013**, *114*, 321–327, doi:10.1007/s10973-012-2835-z.
179. Martins, A.O.; da Silva, E.L.; Carasek, E.; Gonçalves, N.S.; Laranjeira, M.C.M.; de Fávère, V.T. Chelating resin from functionalization of chitosan with complexing agent 8-hydroxyquinoline: application for metal ions on line preconcentration system. *Analytica Chimica Acta* **2004**, *521*, 157–162, doi:10.1016/j.aca.2004.06.033.
180. Solanki, P.R.; Kaushik, A.; Ansari, A.A.; Tiwari, A.; Malhotra, B.D. Multi-walled carbon nanotubes/sol–gel-derived silica/chitosan nanobiocomposite for total cholesterol sensor. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2009**, *137*, 727–735, doi:10.1016/j.snb.2008.12.044.
181. Chung, T.W.; Yang, J.; Akaike, T.; Cho, K.Y.; Nah, J.W.; Kim, S.I.; Cho, C.S. Preparation of alginate/galactosylated chitosan scaffold for hepatocyte attachment. *Biomaterials* **2002**, *23*, 2827–2834, doi:10.1016/S0142-9612(01)00399-4.
182. Liu, B.; Lian, H.T.; Yin, J.F.; Sun, X.Y. Dopamine molecularly imprinted electrochemical sensor based on graphene–chitosan composite. *Electrochimica Acta* **2012**, *75*, 108–114, doi:10.1016/j.electacta.2012.04.081.
183. Wang, L.; Yang, H.; Xu, L.; Peng, C.; Song, Y. A novel popamine-imprinted chitosan/CuCo₂O₄@carbon/three-dimensional macroporous carbon integrated electrode. *Journal of Alloys and Compounds* **2020**, *817*, 152771, doi:10.1016/j.jallcom.2019.152771.
184. Song, Y.; Han, J.; Xu, L.; Miao, L.; Peng, C.; Wang, L. A dopamine-imprinted chitosan Film/Porous ZnO NPs@carbon Nanospheres/Macroporous carbon for electrochemical sensing dopamine. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2019**, *298*, 126949, doi:10.1016/j.snb.2019.126949.
185. Lin, L.; Lian, H.-T.; Sun, X.-Y.; Yu, Y.-M.; Liu, B. An L-dopa electrochemical sensor based on a graphene doped molecularly imprinted chitosan film. *Analytical Methods* **2015**, *7*, 1387–1394.
186. Lian, H.-T.; Liu, B.; Chen, Y.-P.; Sun, X.-Y. A urea electrochemical sensor based on molecularly imprinted chitosan film doping with CdS quantum dots. *Analytical Biochemistry* **2012**, *426*, 40–46, doi:10.1016/j.ab.2012.03.024.
187. Fatoni, A.; Numnuam, A.; Kanatharana, P.; Limbut, W.; Thavarungkul, P. A novel molecularly imprinted chitosan–acrylamide, graphene, ferrocene composite cryogel biosensor used to detect microalbumin. *Analyst* **2014**, *139*, 6160–6167, doi:10.1039/C4AN01000K.
188. Li, S.; Du, D.; Huang, J.; Tu, H.; Yang, Y.; Zhang, A. One-step electrodeposition of a molecularly imprinting chitosan/phenyltrimethoxysilane/AuNPs hybrid film and its application in the selective determination of p-nitrophenol. *Analyst* **2013**, *138*, 2761, doi:10.1039/c3an36497f.
189. Huang, L.; Lu, Y.; Wu, Z.; Li, M.; Xiang, S.; Ma, X.; Zhang, Z. A Facile Approach to Preparing Molecularly Imprinted Chitosan for Detecting 2,4,6-Tribromophenol with a Widely Linear Range. *Environments* **2017**, *4*, 30, doi:10.3390/environments4020030.
190. Tan, Y.; Jin, J.; Zhang, S.; Shi, Z.; Wang, J.; Zhang, J.; Pu, W.; Yang, C. Electrochemical Determination of Bisphenol A Using a Molecularly Imprinted Chitosan-acetylene Black Composite Film Modified Glassy Carbon Electrode. *Electroanalysis* **2016**, *28*, 189–196, doi:10.1002/elan.201500533.
191. Chen, J.; Lian, H.; Sun, X.; Liu, B. Development of a chitosan molecularly imprinted electrochemical sensor for trichlorophenol determination. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* **2012**, *92*, 1046–1058, doi:10.1080/03067319.2010.496054.

192. Wu, S.; Dai, X.; Cheng, T.; Li, S. Highly sensitive and selective ion-imprinted polymers based on one-step electrodeposition of chitosan-graphene nanocomposites for the determination of Cr(VI). *Carbohydrate Polymers* **2018**, *195*, 199–206, doi:10.1016/j.carbpol.2018.04.077.
193. Wei, P.; Zhu, Z.; Song, R.; Li, Z.; Chen, C. An ion-imprinted sensor based on chitosan-graphene oxide composite polymer modified glassy carbon electrode for environmental sensing application. *Electrochimica Acta* **2019**, *317*, 93–101, doi:10.1016/j.electacta.2019.05.136.
194. Wu, S.; Li, K.; Dai, X.; Zhang, Z.; Ding, F.; Li, S. An ultrasensitive electrochemical platform based on imprinted chitosan/gold nanoparticles/graphene nanocomposite for sensing cadmium (II) ions. *Microchemical Journal* **2020**, *155*, 104710, doi:10.1016/j.microc.2020.104710.
195. Chen, Y.-P.; Liu, B.; Lian, H.-T.; Sun, X.-Y. Preparation and Application of Urea Electrochemical Sensor Based on Chitosan Molecularly Imprinted Films. *Electroanalysis* **2011**, *23*, 1454–1461, doi:10.1002/elan.201000693.
196. Zhao, C.; Jin, G.-P.; Chen, L.-L.; Li, Y.; Yu, B. Preparation of molecular imprinted film based on chitosan/naion/nano-silver/poly quercetin for clenbuterol sensing. *Food Chemistry* **2011**, *129*, 595–600, doi:10.1016/j.foodchem.2011.04.072.
197. Deng, P.; Xu, Z.; Li, J.; Kuang, Y. Acetylene black paste electrode modified with a molecularly imprinted chitosan film for the detection of bisphenol A. *Microchim Acta* **2013**, *180*, 861–869, doi:10.1007/s00604-013-1001-z.
198. Chakroun Galai, H.; Namour, P.; Bonhomme, A.; Bessueille, F.; Besbes Hentati, S.; Jaffrezic-Renault, N. Elaboration of an Imprinted Polymer Film Based on Chitosan Electrodeposition for the Voltammetric Detection of BPA. *Journal of The Electrochemical Society* **2020**, *167*, 027507, doi:10.1149/1945-7111/ab6283.
199. Deng, P.; Xu, Z.; Kuang, Y. Electrochemical determination of bisphenol A in plastic bottled drinking water and canned beverages using a molecularly imprinted chitosan–graphene composite film modified electrode. *Food Chemistry* **2014**, *157*, 490–497, doi:10.1016/j.foodchem.2014.02.074.
200. Li, H.X.; Yao, W.; Wu, Q.; Xia, W.S. Glucose Molecularly Imprinted Electrochemical Sensor Based on Chitosan and Nickel Oxide Electrode. *Advanced Materials Research* **2014**, *1052*, 215–219, doi:10.4028/www.scientific.net/AMR.1052.215.
201. Wu, Y.; Feng, X.; Zhou, S.; Shi, H.; Wu, H.; Zhao, S.; Song, W. Sensing epinephrine with an ITO electrode modified with an imprinted chitosan film containing multi-walled carbon nanotubes and a polymerized ionic liquid. *Microchimica Acta* **2013**, *180*, 1325–1332, doi:10.1007/s00604-013-1063-y.
202. Li, H.; Xie, C.; Fu, X. Electrochemiluminescence sensor for sulfonylurea herbicide with molecular imprinting core–shell nanoparticles/chitosan composite film modified glassy carbon electrode. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2013**, *181*, 858–866, doi:10.1016/j.snb.2013.02.094.
203. Pang, X.; Zhitomirsky, I. Electrodeposition of composite hydroxyapatite–chitosan films. *Materials Chemistry and Physics* **2005**, *94*, 245–251, doi:10.1016/j.matchemphys.2005.04.040.
204. Wu, L.-Q.; Yi, H.; Li, S.; Rubloff, G.W.; Bentley, W.E.; Ghodssi, R.; Payne, G.F. Spatially Selective Deposition of a Reactive Polysaccharide Layer onto a Patterned Template. *Langmuir* **2003**, *19*, 519–524, doi:10.1021/la026518t.
205. Fernandes, R.; Wu, L.-Q.; Chen, T.; Yi, H.; Rubloff, G.W.; Ghodssi, R.; Bentley, W.E.; Payne, G.F. Electrochemically Induced Deposition of a Polysaccharide Hydrogel onto a Patterned Surface. *Langmuir* **2003**, *19*, 4058–4062, doi:10.1021/la027052h.

206. Lefrou, C.; Fabry, P.; Poignet, J.-C. *Électrochimie : concepts fondamentaux illustrés.*; Collection Grenoble sciences; [Nouvelle édition].; EDP sciences, 2013; ISBN 978-2-7598-0966-0.
207. Miomandre, F.; Sadki, S.; Audebert, P.; Méallet-Renault, R.; Amatore, C. *Électrochimie : des concepts aux applications.*; Sciences sup. Chimie; 4e édition.; Dunod, 2019; ISBN 978-2-10-079024-1.
208. Ntienoue, J. Étude, caractérisation et suivi électrochimique de la surface de l'acier inoxydable 254 SMO en milieux aqueux naturels amazoniens. **2013**.
209. Sakar, H.; Celik, I.; Balcik Canbolat, C.; Keskinler, B.; Karagunduz, A. Electro-sorption of ammonium by a modified membrane capacitive deionization unit. *Separation Science and Technology* **2017**, *52*, 2591–2599, doi:10.1080/01496395.2017.1336556.
210. Park, S.-M.; Yoo, J.-S. Peer reviewed: electrochemical impedance spectroscopy for better electrochemical measurements. **2003**.
211. Aglzim, E.H. Caractérisation par spectroscopie d'impédance de l'impédance complexe d'une pile à combustible en charge: Evaluation de l'influence de l'humidité. **2009**.
212. Randviir, E.P.; Banks, C.E. Electrochemical impedance spectroscopy: an overview of bioanalytical applications. *Analytical Methods* **2013**, *5*, 1098, doi:10.1039/c3ay26476a.
213. Gabrielli, C. Méthodes électrochimiques: Mesures d'impédances. *Techniques de l'ingénieur. Corrosion vieillissement* **1998**.
214. Fernández-Sánchez, C.; McNeil, C.J.; Rawson, K. Electrochemical impedance spectroscopy studies of polymer degradation: application to biosensor development. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* **2005**, *24*, 37–48, doi:10.1016/j.trac.2004.08.010.
215. Jorcin, J.-B. Spectroscopie d'impédance électrochimique locale: caractérisation de la delamination des peintures et de la corrosion des alliages Al-Cu. **2007**.
216. Sekar, N.; Ramasamy, R.P. Electrochemical impedance spectroscopy for microbial fuel cell characterization. *J. Microb. Biochem. Technol. S* **2013**, *6*.
217. Yeh, J.; Zhu, B.; Wang, K.I.-K.; Salcic, Z.; Kannappan, K.; Partridge, A. Modelling diffusion impedance in the sensing of micron-sized particles. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2016**, *237*, 329–340, doi:10.1016/j.snb.2016.06.065.
218. Macdonald, J.R.; Barsoukov, E. Impedance spectroscopy: theory, experiment, and applications. *History* **2005**, *1*, 1–13.
219. Sapountzi, E. Développement de nouveaux supports basés sur des nanofibres de matériaux hybrides électrofilées pour le développement de biocapteurs électrochimiques. **2015**.
220. Brug, G.; Van Den Eeden, A.; Sluyters-Rehbach, M.; Sluyters, J. The analysis of electrode impedances complicated by the presence of a constant phase element. *Journal of Electroanalytical Chemistry* **1984**, *176*, 275–295.
221. Huang, J.; Li, Z.; Liaw, B.Y.; Zhang, J. Graphical analysis of electrochemical impedance spectroscopy data in Bode and Nyquist representations. *Journal of Power Sources* **2016**, *309*, 82–98, doi:10.1016/j.jpowsour.2016.01.073.
222. Stoynov, Z.; Vladikova, D. Differential impedance analysis. **2005**.
223. Zoltowski, P. On the electrical capacitance of interfaces exhibiting constant phase element behaviour. *Journal of Electroanalytical Chemistry* **1998**, *443*, 149–154, doi:10.1016/S0022-0728(97)00490-7.
224. Harrington, D.A.; van den Driessche, P. Mechanism and equivalent circuits in electrochemical impedance spectroscopy. *Electrochimica Acta* **2011**, *56*, 8005–8013, doi:10.1016/j.electacta.2011.01.067.
225. Bisquert, J.; Randriamahazaka, H.; Garcia-Belmonte, G. Inductive behaviour by charge-transfer and relaxation in solid-state electrochemistry. *Electrochimica Acta* **2005**, *51*, 627–640, doi:10.1016/j.electacta.2005.05.025.

226. Lisdat, F.; Schäfer, D. The use of electrochemical impedance spectroscopy for biosensing. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **2008**, *391*, 1555–1567, doi:10.1007/s00216-008-1970-7.
227. Pejčić, B.; De Marco, R. Impedance spectroscopy: Over 35 years of electrochemical sensor optimization. *Electrochimica Acta* **2006**, *51*, 6217–6229, doi:10.1016/j.electacta.2006.04.025.
228. Mlika, R.; Rouis, A.; Bonnamour, I.; Ouada, H.B. Impedance spectroscopic investigation of the effect of thin azo-calix[4]arene film type on the cation sensitivity of the gold electrodes. *Materials Science and Engineering: C* **2011**, *31*, 1466–1471, doi:10.1016/j.msec.2011.05.017.
229. Felton, D.E.; Ederer, M.; Steffens, T.; Hartzell, P.L.; Waynant, K.V. UV–Vis Spectrophotometric Analysis and Quantification of Glyphosate for an Interdisciplinary Undergraduate Laboratory. *Journal of Chemical Education* **2018**, *95*, 136–140, doi:10.1021/acs.jchemed.7b00440.
230. Shrivastava, A.; Gupta, V. Methods for the determination of limit of detection and limit of quantitation of the analytical methods. *Chronicles of Young Scientists* **2011**, *2*, 21, doi:10.4103/2229-5186.79345.
231. Wang, J.; Xu, Y.; Chen, X.; Sun, X. Capacitance properties of single wall carbon nanotube/polypyrrole composite films. *Composites Science and Technology* **2007**, *67*, 2981–2985, doi:10.1016/j.compscitech.2007.05.015.
232. Wang, L.-X.; Li, X.-G.; Yang, Y.-L. Preparation, properties and applications of polypyrroles. *Reactive and Functional Polymers* **2001**, *47*, 125–139, doi:10.1016/S1381-5148(00)00079-1.
233. Chen, J.H.; Huang, Z.P.; Wang, D.Z.; Yang, S.X.; Li, W.Z.; Wen, J.G.; Ren, Z.F. Electrochemical synthesis of polypyrrole films over each of well-aligned carbon nanotubes. *Synthetic Metals* **2001**, *125*, 289–294, doi:10.1016/S0379-6779(01)00404-0.
234. Heeger, A.J.; Kivelson, S.; Schrieffer, J.; Su, W.-P. Solitons in conducting polymers. *Reviews of Modern Physics* **1988**, *60*, 781.
235. Rais, J.; Selucký, P.; Kyrš, M. Extraction of alkali metals into nitrobenzene in the presence of univalent polyhedral borate anions. *Journal of Inorganic and Nuclear Chemistry* **1976**, *38*, 1376–1378, doi:10.1016/0022-1902(76)80156-X.
236. Biloivan, O.A.; Dzyadevych, S.V.; El'skaya, A.V.; Jaffrezic-Renault, N.; Zine, N.; Bausells, J.; Samitier, J.; Errachid, A. Development of bi-enzyme microbiosensor based on solid-contact ion-selective microelectrodes for protein detection. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2007**, *123*, 1096–1100, doi:10.1016/j.snb.2006.11.024.
237. Gallardo-Gonzalez, J.; Saini, A.; Baraket, A.; Boudjaoui, S.; Alcácer, A.; Strecklas, A.; Teixidor, F.; Zine, N.; Bausells, J.; Errachid, A. A highly selective potentiometric amphetamine microsensor based on all-solid-state membrane using a new ion-pair complex, [3,3'-Co(1,2-closo-C₂B₉H₁₁)₂]⁻ [C₉H₁₃NH]⁺. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2018**, *266*, 823–829, doi:10.1016/j.snb.2018.04.001.
238. Chira, A.; Bucur, B.; Radu, G.-L. Electrodeposited Organic Layers Formed from Aryl Diazonium Salts for Inhibition of Copper Corrosion. *Materials* **2017**, *10*, 235, doi:10.3390/ma10030235.
239. Corgier, B.P.; Marquette, C.A.; Blum, L.J. Diazonium–Protein Adducts for Graphite Electrode Microarrays Modification: Direct and Addressed Electrochemical Immobilization. *Journal of the American Chemical Society* **2005**, *127*, 18328–18332, doi:10.1021/ja056946w.
240. El Alami El Hassani, N.; Baraket, A.; Boudjaoui, S.; Taveira Tenório Neto, E.; Bausells, J.; El Bari, N.; Bouchikhi, B.; Elaissari, A.; Errachid, A.; Zine, N. Development and application of a novel electrochemical immunosensor for tetracycline screening in honey

- using a fully integrated electrochemical Bio-MEMS. *Biosensors and Bioelectronics* **2019**, *130*, 330–337, doi:10.1016/j.bios.2018.09.052.
241. Ebdelli, R.; Rouis, A.; Mlika, R.; Bonnamour, I.; Jaffrezic-Renault, N.; Ben Ouada, H.; Davenas, J. Electrochemical impedance detection of Hg²⁺, Ni²⁺ and Eu³⁺ ions by a new azo-calix[4]arene membrane. *Journal of Electroanalytical Chemistry* **2011**, *661*, 31–38, doi:10.1016/j.jelechem.2011.07.007.
242. Aymen Gaied; Nejmeddine Jaballah; Teka, S. A Water-Insoluble β -Cyclodextrin Derivative for Hydroquinone Sensor Applications. **2015**, doi:10.13140/RG.2.1.1272.0726.
243. Terbouche, A.; Lameche, S.; Ait-Ramdane-Terbouche, C.; Guerniche, D.; Lerari, D.; Bachari, K.; Hauchard, D. A new electrochemical sensor based on carbon paste electrode/Ru(III) complex for determination of nitrite: Electrochemical impedance and cyclic voltammetry measurements. *Measurement* **2016**, *92*, 524–533, doi:10.1016/j.measurement.2016.06.034.
244. Tanujit, B.; Asokan, S. Electrochemical Impedance spectroscopy study of AgI-Ag₂O-MoO₃ Glasses: Understanding the Diffusion, Relaxation, Fragility and Power Law Behavior. *arXiv preprint arXiv:1906.07438* **2019**.

Titre en français : Modélisation et optimisation des biocapteurs utilisés dans l'analyse environnementale.

Résumé

L'utilisation massive et sans précautions particulières du glyphosate (GLY) dans le domaine agricole soulève de nombreuses questions concernant la pollution de l'environnement et les risques pour la santé. Par conséquent, la surveillance de la concentration du GLY dans l'environnement est d'une grande importance.

Ce travail porte sur le développement de micro-capteurs électrochimiques pour la détection du GLY dans l'eau. Ils sont à base du chitosane à empreintes moléculaires déposé sur des microélectrodes en or. La spectroscopie d'impédance électrochimique (EIS) est utilisée comme une technique de détection dans une plage de concentration de 0,31 pg/mL à 50 ng/mL. Les capteurs proposés présentent une bonne réponse linéaire avec une limite de détection faible, bonne sélectivité, bonne reproductibilité et une possibilité de réutilisation. Les procédures de préparation sont relativement simples, pratiques et assurent des méthodes rapides et économiques.

La réponse impédance-métrique des différents micro-capteurs est modélisée en utilisant des bilans basés sur des lois physiques. Cette étude a permis de décrire les phénomènes à l'interface électrode/électrolyte et de montrer l'effet de chaque paramètre sur le signal de la réponse. Ainsi, nous avons pu montrer l'effet du GLY sur les différents paramètres.

Mots-clés : Micro-capteur, Chitosane à empreintes moléculaires, Glyphosate, Spectroscopie d'impédance électrochimique, Modélisation.

Titre en anglais: Modeling and optimization of biosensors used in environmental analysis.

Abstract

The massive and unrestricted use of glyphosate (GLY) in agriculture raises questions concerning its effects on the environment and health. Therefore, the monitoring of GLY concentrations in the environment is essential for the assessment of the damage it causes.

This work aimed to develop electrochemical micro-sensors for the detection of GLY in water. The devices were based on molecularly imprinted chitosan deposited onto gold microelectrodes. Electrochemical impedance spectroscopy (EIS) was used as a detection technique; the concentration range used is 0,31 pg/mL to 50 ng/mL. The proposed sensors exhibit good linear response with a low detection limit, good selectivity, reproducibility and reusability. Moreover, the preparation procedures are relatively simple, fast and low-cost.

EIS responses of the different micro-sensors were modeled by using mathematical modelization that described the phenomena at the electrode/electrolyte interface, while showing the effect of each parameter on the response signal, highlighting how GLY concentration can affect EIS parameters.

Keywords: Micro-sensor, Molecularly imprinted chitosan, Glyphosate, Electrochemical impedance spectroscopy, Modelization.