



HAL
open science

Conception et développement de nouveaux capteurs chimiques et de (bio) capteurs à transduction électrochimique

Imane Boubezari

► **To cite this version:**

Imane Boubezari. Conception et développement de nouveaux capteurs chimiques et de (bio) capteurs à transduction électrochimique. Matériaux. Université de Lyon; Université de Jijel, 2021. Français. NNT : 2021LYSE1097 . tel-03648621

HAL Id: tel-03648621

<https://theses.hal.science/tel-03648621>

Submitted on 21 Apr 2022

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 : 2021LYSE1097



THESE de DOCTORAT DE L'UNIVERSITE DE LYON

opérée au sein de

l'Université Claude Bernard Lyon 1

en co-tutelle avec

l'Université Mohamed Seddik Benyahia-Jijel

Faculté des Sciences Exactes et de l'Informatique

Ecole Doctorale N° 206

Ecole doctorale de chimie

Spécialité de doctorat : Chimie des matériaux

Soutenue publiquement le 14/06/2021, par :

Imane BOUBEZARI

Conception et développement de nouveaux capteurs chimiques et de (bio) capteurs à transduction électrochimique

Devant le jury composé de :

MERABET, Naima	Professeur	Université MSBY- Jijel	Présidente
KORRI-YOUSSOUFI, Hafsa	Professeur	Université Paris Saclay	Rapporteure
BOUROUINA-BACHA, Saliha	Professeur	Université de Bejaia	Rapporteure
BOUCHOUIT, Karim	Professeur	ENS- Constantine	Examineur
LEONARD, Didier	Professeur	Université Claude Bernard Lyon 1	Examineur
GORGY, Karine	Maître de Conférences	Université Grenoble-Alpes	Examinatrice
ERRACHID EL SALHI, Abdelhamid	Professeur	Université Claude Bernard Lyon 1	Directeur de thèse
ZAZOUA, Ali	Professeur	Université MSBY- Jijel	Directeur de thèse
JAFFREZIC RENAULT, Nicole	Professeur émérite	Université Claude Bernard Lyon 1	Invitée

Dédicaces

Par habitude, on oublie qu'ils sont précieux
Comme des diamants dans leur écrin bleu, ils
brillent de mille feux
Ils resteront à jamais sertis dans mon cœur, mes
chers parents
A la mémoire de mes défunts grands parents.
A ma grande mère.
A mon fiancé Abdallah et ma belle famille
A mes frères Oussama, Mehdi.
A ma chère sœur Nour, et son mari Yacin
A ma chère sœur Amina, et son mari Kheireddine
À ma petite chère sœur Nourelhouda
À Nadine et Youcef
A mes amis (es)
A vous tous, je dédie avec joie cette recherche.
« Que DIEU nous garde unis et heureux »
Si le passé ne s'oublie pas, c'est le présent qu'il faut
vivre et l'avenir qu'il faut construire...

Imène

Remerciements

Dieu merci pour nous avoir donné la santé, la volonté et le courage sans lesquels ce travail n'aurait pas été réalisé.

Nous tenons à exprimer notre gratitude à toutes les personnes qui nous ont apporté leur soutien, leur compréhension et leur aide, pour la réalisation de ce travail de recherche.

Nos remerciements les plus vifs à

Monsieur **AliZAZOUA**, Professeur à la Faculté des Sciences et de la Technologie, Université de Jijel d'avoir bien assuré la direction et l'encadrement de mes travaux de thèse. Je tiens à lui exprimer mes remerciements pour les conseils et l'aide qu'il nous a apportés au cours de ce mémoire sans lesquels nous n'aurions pu mener à bien ce travail, pour sa permanente disponibilité et son encouragement

Et à

Mon directeur de thèse Monsieur **Abdelhamid ERRACHID EL SALHI** Professeur des universités à l'Université Claude Bernard Lyon 1, de m'avoir accueillie au sein de son équipe, de m'avoir engagée dans une thèse en cotutelle et d'avoir su me pousser pour donner le meilleur de moi-même afin d'arriver au bout de cette aventure. Je lui suis également reconnaissante pour le temps conséquent qu'il m'a accordé, pour son encadrement de qualité.

Et à

Madame **Nicole JAFFREZIC-RENAULT**, Directrice de Recherche Emérite au CNRS, pour avoir accepté et encadré cette thèse, pour la confiance qu'elle m'a témoignée du début à la fin du travail, pour sa disponibilité à comprendre et à communiquer et sans oublier ses précieux conseils, pour ses qualités humaines, pour le temps qu'elle m'a accordé, surtout les moments les plus difficiles que j'ai passés, ainsi que pour sa franchise et sa sympathie.

Mes sincères remerciements et ma gratitude vont aussi à Madame **Naima MERABET** Professeur à la Faculté des Sciences et de la Technologie, à Monsieur **Karim BOUCHOUIT**, Professeur à l'Ecole Normale Supérieure de Constantine, à Monsieur **Didier LEONARD** Professeur à l'université Claude Bernard Lyon 1, et à Madame **Karine GORGY** Maître de Conférences à l'université Grenoble-Alpes, pour avoir accepté de juger ce travail.

Je tiens par ailleurs à remercier Madame **Saliha BOUROUINA-BACHA**, Professeur à la Faculté de à la Faculté de la Technologie, Université de Bejaia et Madame **Hafsa KORRI-**

YOUSSEUFI, Directrice de Recherche CNRS, à l'ICMMO Université Paris-Sud Orsay et responsable du PHC Maghreb #39382RE, d'avoir accepté d'être les rapporteurs de cette thèse. Je leur exprime toute ma gratitude pour l'intérêt qu'elles ont manifesté à l'égard de ce travail et pour leurs appréciations.

Je tiens à remercier Monsieur **François BESSUEILLE**, Maître de Conférences à l'Université Claude Bernard Lyon 1, pour son aide dans l'acquisition des images par microscopie électronique à balayage.

J'ai pu travailler dans un cadre particulièrement agréable, grâce à l'ensemble des membres de l'équipe **MNBT** (Micro/Nano Bio Capteurs) de l'Institut des Sciences Analytiques (**ISA**) et du **LEAM** (Laboratoire énergétique appliquée et des matériaux).

Je remercie tout particulièrement mes collègues, pour leur aide et leur présence amicale : Abdallah, Bilel, Ali, Anis, Fares, Ibrahim, Hamdi, Saber, Imad, Bastien, Mohamed, Gaëtan, Marie, Florence, Francesca, Amira, Hajer, Madiha, Asma, Nadia, Meryem, Amel, Imen, Sabah, Wassila, Rabiaa, Sarah, Kahina, Madame ZINE Nadia, Monsieur RAFFIN Guy et Madame BONHOMME Anne .

Enfin, un merci tout particulier au **Partenariat Hubert Curien (PHC) MAGHREB #39382RE**, d'avoir financé mes séjours de recherche à Lyon.

SOMMAIRE

Dédicaces	
Remerciements	
Liste des abréviations	
Résumé	
Abstract	
ملخص	
Liste des Figures	
Liste des Tableaux	
Introduction générale.....	1

CHAPITRE I: Généralités

CHAPITRE I: Généralités.....	4
I-Les (bio) capteurs chimiques.....	4
I-1. Introduction	4
I-2. Définition d'un capteur chimique.....	4
I-3. Un biocapteur:	5
I-4. Les enzymes	6
I-5. Classification des biocapteurs	7
I-6. Les différents types des capteurs chimiques:.....	8
I-6.1. Les capteurs électrochimiques :.....	8
I-6.2. Les capteurs potentiométriques :	9
I-6.3. Les capteurs ampérométriques :	10
I-6.4. Capteur impédimétrique	11
I-6.5. Transducteurs mécaniques « piézoélectriques » :.....	12
I-6.6. Les capteurs thermiques	13
I-6.7. Les capteurs optoélectriques.....	14
I-7. Caractéristiques métrologiques d'un capteur	14

I-8. Procédés chimiques d'immobilisation.....	16
I-9. Les méthodes de modification de surface.....	18
I-9.1. Méthode de dépôt simple.....	18
I-9.2. Méthode de dépôt rotation ou spin-coating:	18
I-10. Application	19
I-11. Méthodes de caractérisation :	20
I-11.1. La voltampérométrie cyclique	21
I-11.2. Voltampérométrie à ondes carrées SWV	23
I-12. Méthodes de caractérisation physique des surfaces modifiées et des matériaux synthétisés :	25
I-12.1. Diffraction des rayons X.....	25
I-12.2. Spectrométrie infrarouge a transformée de Fourier (IRTF)	26
I-12.3. Analyse par microscopie électronique à balayage (MEB)	26
I-12.4. Spectroscopie de rayons X à dispersion d'énergie (EDX)	26
I-13. Conclusion.....	27
Références (CHAPITRE I).....	28

CHAPITRE II : Biocapteur à base de laccase encapsulé dans un composite galactomannane-chitosane pour l'évaluation des composés phénoliques

II- Introduction	34
------------------------	----

Partie A

II- 1. Généralités sur les polysaccharides.....	34
II-1.1. Polyélectrolyte.....	34
II-1.2.Les polysaccharides.....	35
II-1.2.1. Le chitosane.....	36
II-1.2.1.1 Solubilité	38
II-1.2.2. Les carraghénanes	

II-1.2.3. Galactomannanes de Caroube	40
II-1.2.3.1. Généralités sur le caroubier :	40
II-1.2.3.1.2. Description botanique	40
II-1.2.3.1.3. La composition de la caroube.....	41
II-1.2.3.1.4. Répartition géographique	43
II-1.2.3.1.5. Utilisation du caroubier	43
II-1.2.3.1.6. La gomme de caroube	44
II-1.2.3.1.7. Les galactomannanes.....	45

Partie B

II-Introduction	46
II-1. Matériaux et méthodes	48
II-1.1.Réactifs.....	48
II-1.2. Extraction de galactomannane à partir de graines de caroube (<i>ceratonia siliqua</i>)	48
II-1.3. Caractérisation du du biocapteur à base de laccase.....	49
II-1.4. Préparation de l'électrode en or modifiée par laccase	50
II-1.5.Application du biocapteur pour la détection du contenu phénolique dans les échantillons d'huile d'olive.....	51
II-2. Résultats et discussion.....	52
II-2.1.Caractérisation du galactomannane préparé.....	52
II-2.2.Caractérisation de l'électrode en or modifiée avec le film de laccase / chitosane + galactomannane	54
II-2.3. Optimisation de la concentration des galactomannanes sur la réponse du biocapteur à base de laccase	56
II-2.4.Performances analytiques du biocapteur.....	57
II-2.5.Application du biocapteur pour l'estimation comparée du contenu phénolique dans les échantillons d'huile d'olive	59
II-3. Conclusion.....	62

Références (CHAPITRE II)	62
--------------------------------	----

CHAPITRE III : Conception d'un nouveau capteur non-enzymatique basé sur une pérovskite $A_2BO_{4+\delta}$ substituée pour la détection voltampérométrique du glucose

Partie A

III-Introduction.....	70
III-1. Structure pérovskite	71
III-2. Structure cristallographique	71
III-3. Procédés de synthèse.....	73
III-4. Caractérisations physico-chimiques.....	75
III-5. Dopage des pérovskites.....	76
III-6. Les propriétés des oxydes pérovskites	77
III-6.1. Les propriétés diélectriques	77
III-6.2. La supraconductivité	78
III-6.3. Les propriétés optiques	78
III-6.4. Propriétés catalytiques des pérovskites.....	79
III-7. Applications des pérovskites.....	80

Partie B

III-1. Partie expérimentale :	83
III-1.2. Réactifs et solutions :	83
III-1.3. Synthèse de matériaux pérovskites par la méthode sol-gel	83
III-1.3. 1. Organigramme de la synthèse de $Pr_{1.95}Ba_{0.05}Ni_{0.95}Zn_{0.05}O_4$ (PBNZO):	84
III-2. Caractérisation des PBNZO	85
III-2.1. Caractérisation de la poudre par DRX :	85
III-2.2. Caractérisation morphologique	87
III-3. Description du protocole de préparation.....	88
III-3.1. Elaboration de l'électrode en or modifiée par le PBNZO	88
III-3.2. Mesures électrochimiques.....	88

III-3.4. Oxydation électrocatalytique du glucose	89
III.4. Conclusion.....	93
Références (CHAPITRE III).....	94
Conclusion générale.....	112

Liste des abréviations

3,6-AG	3,6-anhydro-galactose
4-ATP	4-aminothiophénol
ADN	Acide désoxyribonucléique
ARN	Acide ribonucléique
CAR	Carraghénane
CPE	Complexepolyélectrolyte
CHIT	Chitosane
CV	Voltampérométrie cyclique
DA	Degré d'acétylation
DD	Degré de désacétylation
DRX	Diffraction de rayons X
E	Enzyme
E	Potentiel
ES	Complexe enzyme-substrat
ECS	Electrode au calomel saturé
EDX	Spectroscopie de rayons X à dispersion d'énergie
F	Constante de Faraday
FTIR	Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier
GA	Glytaraldéhyde
GAL	Galactomannane
GOD	Glucose oxydase
GC-MS	Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse
HEPES	Acide 4-(2-hydroxyéthyl)-1-pipérazine éthane sulfonique
i	Courant
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
IR	Spectroscopie Infrarouge

K_{mapp}	Constante apparente de Michaelis-Menten
K_m	Constante de Michaelis-Menten
LAC	Laccase
LBG	Locust Bean Gum
LOD	Limite de détection
MEB	Microscopie électronique à balayage
MWCNT	Nanotubes de carbone à parois multiples
O_x/Red	Oxydant- réducteur
P	Produit
PBS	Tampon phosphate salin
PE	Polyélectrolyte
RSD	Ecart type relatif
R	Constante des gaz parfaits
S	Substrat
S	Sensibilité
SAM	Monocouche auto-assemblée
SEC	Chromatographie d'exclusion stérique
SWV	Voltamétrie à vague carrée
T	Temps
Tr	Trimyristine
T	Température absolue
UP	Ultra pure

Résumé

Au cours des dernières années, les (bio) capteurs électrochimiques ont connu un développement considérable en raison de leur simplicité, fiabilité, rapidité et sélectivité. Ils ont constitué les alternatives les plus séduisantes pour les méthodes analytiques classiques dans des domaines aussi variés que la médecine, l'agro-alimentaire et la biologie clinique, ou le contrôle de la qualité de l'environnement. La détermination instantanée des niveaux de glucose est nécessaire pour surveiller le traitement du diabète. La prochaine génération de capteurs électrochimiques vise à éliminer l'utilisation des enzymes en raison de leur manque de stabilité et de la procédure complexe pour les immobiliser sur l'électrode.

Dans ce travail de recherche, nous nous sommes intéressés, dans un premier volet, à un polysaccharide neutre, extrait des graines de caroube, le « galactomannane » pour la fabrication d'un biocapteur à base de laccase par l'encapsulation de la laccase dans un composite chitosan+galactomannane. Le biocapteur fabriqué est caractérisé par IRTF, microscopie électronique à balayage et voltampérométrie cyclique. La détection du pyrocatechol est obtenue par des mesures de voltampérométrie cyclique, par la détection de l'o-quinone à -0,447 V. L'activité de la laccase est bien préservée dans le composite chitosan+galactomannane et la sensibilité de détection du pyrocatechol dans la gamme 10^{-16} M- 10^{-4} M était très élevée. La réponse voltampérométrique du biocapteur est stable pendant plus de deux semaines. Pour estimer la capacité antioxydante des échantillons d'huile d'olive, il est démontré que le biocapteur à base de laccase obtenu est une alternative valable à la méthode colorimétrique Folin-Ciocalteu.

Dans un second volet, nous nous sommes intéressés au développement d'un capteur électrochimique à base d'une nouvelle pérovskite $\text{Pr}_{1.92}\text{Ba}_{0.08}\text{Ni}_{0.95}\text{Zn}_{0.05}\text{O}_{4+\delta}$, pour la détection non enzymatique du glucose. La pérovskite est synthétisée par une méthode sol-gel. La poudre cristallisée obtenue est caractérisée structurellement par XRD, morphologiquement par MEB et EDX et électrochimiquement. Un système cristallographique monoclinique est formé. La présence de Pr_2O_3 pendant la synthèse et la calcination est en accord avec la formation de défauts dans le réseau cristallin et la dismutation des sites Ni^{III} en Ni^{II} et Ni^{IV} , due à la substitution de Pr par Ba. L'oxydo-réduction des sites Ni^{II} est observée par voltampérométrie cyclique. L'oxydation électrocatalytique du glucose par le site Ni^{III} est observée sur une électrode en or, à 481 mV. Les performances analytiques de ce capteur de glucose sont bonnes par rapport aux électrodes ABO_3 modifiées à la pérovskite, publiées précédemment, en termes de gamme dynamique et de limite de détection. Son application au sérum humain montre qu'il n'y a pas d'interférence pour la détection du glucose.

Mots-clés : Détection voltampérométrique, glucose, non-enzymatique, pérovskite, contenu phénolique galactomannane, chitosane, laccase.

Abstract

In recent years, electrochemical (bio) sensors have undergone considerable development due to their simplicity, reliability, fast response and selectivity. They have become the most attractive alternatives for classical analytical methods in fields as varied as medicine, food and agriculture, clinical biology and environmental quality control. Instantaneous determination of glucose levels is necessary to monitor the treatment of diabetes. The next generation of electrochemical sensors aims to eliminate the use of enzymes due to their lack of stability and the complex procedure to immobilize them on the electrode.

In this research work, we were interested, in a first part, we were interested in a neutral polysaccharide "galactomannan", extracted from carob seeds for the manufacture of a laccase-based biosensor by encapsulating the laccase in a chitosan+galactomannan composite. The manufactured biosensor is characterized by FTIR, scanning electron microscopy and cyclic voltammetry. The detection of pyrocatechol is obtained by cyclic voltammetry measurements, by the detection of o-quinone at -0.447 V. Laccase activity is well preserved in the chitosan+galactomannan composite and the detection sensitivity of pyrocatechol in the 10^{-16} M- 10^{-4} M range was very high. The voltammetric response of the biosensor was stable for more than two weeks. To estimate the antioxidant capacity of olive oil samples, it is demonstrated that the laccase-based biosensor obtained is a valid alternative to the Folin-Ciocalteu colorimetric method.

In a second part, we were interested in the development of an electrochemical sensor based on a new perovskite $\text{Pr}_{1.92}\text{Ba}_{0.08}\text{Ni}_{0.95}\text{Zn}_{0.05}\text{O}_{4+\delta}$, for the non-enzymatic detection of glucose. Perovskite is synthesized by a sol-gel method. The resulting crystalline powder is characterized structurally by XRD, morphologically by SEM and EDX and electrochemically. A monoclinic crystallographic system is formed. The presence of Pr_2O_3 during synthesis and calcination is consistent with the formation of defects in the crystal lattice and the disproportionation of Ni^{III} to Ni^{II} and Ni^{IV} sites due to the substitution of Pr by Ba. Oxidation-reduction of Ni^{II} sites is observed by cyclic voltammetry. Electrocatalytic oxidation of glucose by the Ni^{III} site is observed on a gold electrode at 481 mV. The analytical performance of this glucose sensor is good compared to previously published perovskite-modified ABO_3 electrodes in terms of dynamic range and detection limit. Its application to human serum shows that there is no interference for glucose detection.

Keywords: Voltammetric detection, glucose, non-enzymatic, perovskite, phenolic content, galactomannan, chitosan, laccase.

ملخص

في السنوات الأخيرة ، مرت أجهزة الاستشعار الكهروكيميائية (الحيوية) بتطور كبير بسبب بساطتها وموثوقيتها وسرعتها وانتقائيتها. لقد كانت البدائل الأكثر جاذبية للطرق التحليلية الكلاسيكية في مجالات متنوعة مثل الطب ، وتجهيز الأغذية ، وعلم الأحياء الإكلينيكي ، أو مراقبة الجودة البيئية. يعد التحديد الفوري لمستويات الجلوكوز أمراً ضرورياً لمراقبة علاج مرض السكري. يهدف الجيل التالي من المستشعرات الكهروكيميائية إلى القضاء على استخدام الإنزيمات بسبب افتقارها إلى الاستقرار والإجراءات المعقدة لشل حركتها على القطب.

في هذا العمل البحثي ، كنا مهتمين ، في الجزء الأول ، بعدد السكاريد المحايد ، المستخرج من بذور الخروب ، "galactomannan" لتصنيع مستشعر حيوي يعتمد على اللاكاز عن طريق تغليف اللاكاز في الشيتوزان + الجالاكتومانان. مركب. يتميز المستشعر الحيوي المُصنَّع بـ FTIR ، المسح المجهر الإلكتروني وفولتميتر دوري. يتم الحصول على الكشف عن البيروكاتيكول عن طريق قياسات الفولتميتر الدوري ، عن طريق الكشف عن o-quinone عند 0.447 فولت. يتم الحفاظ على نشاط اللاكاز جيداً في مركب الشيتوزان + الجالاكتومانان وحساسية الكشف عن البيروكاتيكول . كان النطاق كان نطاق 10^{-4} - 10^{-16} جداً. تكون الاستجابة الفولتمترية لجهاز الاستشعار الحيوي مستقرة لأكثر من أسبوعين. لتقدير القدرة المضادة للأكسدة لعينات زيت الزيتون ، يتضح أن المستشعر الحيوي القائم على اللاكاز الذي تم الحصول عليه هو بديل صالح لطريقة Folin-Ciocalteu اللونية.

في الجزء الثاني ، كنا مهتمين بتطوير مستشعر كهروكيميائي يعتمد على بيروفسكايت جديد $Pr_{1.92}Ba_{0.08}Ni_{0.95}Zn_{0.05}O_{4+4}$ للكشف غير الأنزيمي عن الجلوكوز. يتم تصنيع البيروفسكايت بطريقة سول-جل. يتميز المسحوق المتبلور الذي تم الحصول عليه من الناحية الهيكلية بـ XRD ، شكلياً بواسطة SEM و EDX وكهربياً كيميائياً. يتم تشكيل نظام بلوري أحادي الميل. يتوافق وجود Pr_2O_3 أثناء التوليف والتكلس مع تكوين عيوب في الشبكة البلورية وعدم تناسب مواقع Ni^{III} مع Ni^{II} و Ni^{IV} ، بسبب استبدال Pr بواسطة Ba. يتم ملاحظة تقليل الأكسدة في مواقع Ni^{II} عن طريق قياس الفولتميتر الدوري. تمت ملاحظة أكسدة الجلوكوز بالتحفيز الكهربائي بواسطة موقع N^{III} على قطب كهربائي من الذهب ، عند 481 مللي فولت. يعد الأداء التحليلي لمستشعر الجلوكوز هذا جيداً مقارنةً بأقطاب ABO_3 المعدلة من البيروفسكايت المنشورة مسبقاً من حيث النطاق الديناميكي وحد الكشف. يوضح تطبيقه على مصل الإنسان أنه لا يوجد تدخل للكشف عن الجلوكوز.

الكلمات المفتاحية:

كشف الفولتميتر ، الجلوكوز ، غير الأنزيمي ، البيروفسكايت، المحتوى الفيولي ، الجالاكتومانان ، الشيتوزان ، اللاكاز.

Figures

FIGURE	TITRE
CHAPITRE I	
Figure I-1	Schéma du concept général d'un capteur
Figure I-2	Principe de fonctionnement d'un capteur
Figure I-3	Le mécanisme enzymatique
Figure I-4	Différents processus électrochimiques à l'interface métal/électrolyte
Figure I-5	Principe de mesure potentiométrique: accumulation de charges électriques à la surface de l'électrode indicatrice
Figure I-6	Schéma du principe du capteur à oxygène
Figure I-7	Schéma de principe des mesures impédimétriques
Figure I-8	Exemple d'un biocapteur piézoélectrique
Figure I-9	Schéma d'un biocapteur thermique
Figure I-10	Schéma d'un capteur optique (optrode)
Figure I-11	Sélectivité d'un biocapteur
Figure I-12	Méthodes d'immobilisation du bio –récepteur
Figure I-13	Schéma illustratif du dépôt par spin-coating
Figure I-14	Illustration schématique des applications des (bio) capteurs
Figure I-15	Voltamogramme cyclique d'un couple redox (système réversible).
Figure I-16	Signal potentiel- temps typique de la voltampérométrie cyclique
Figure I-17	Exemple d'un voltampérogramme cyclique pour un système lent.

Figure I-18	Voltampérogramme résultant d'une impulsion « ondes carrées » : a) Signal d'excitation de la voltammétrie à ondes carrées, b) Courbe courant-potentiel
Figure I-19	Diffraction des rayons X
Figure I-20	L'impact d'un faisceau d'électrons avec un échantillon
CHAPITRE II	
Figure II-1	Complexe polyélectrolytes (CPE)
Figure II-2	Schéma des différents domaines d'application des polysaccharides.
Figure II-3	Préparation de la chitine et du chitosane à partir de la matière première.
Figure II-4	Structure de la glucosamine
Figure II-5	Différentes approches pour complexer le chitosane
Figure II-6	Schéma d'unité de base carrabinose.
Figure II-7	Schéma des différentes structures des Carraghénanes
Figure II-8	L'arbre de caroubier
Figure II-9	Photographie des fleurs de la caroube
Figure II-10	Photographie de la pulpe de la caroube, des graines de la caroube
Figure II-11	Coupe transversale d'une graine de caroube
Figure II-12	Structure des galactomannanes de la gomme de caroube.
Figure II-13	Illustration schématique de la fabrication du film LAC/CHIT+GAL sur l'électrode en or.
Figure II-14	a) Spectre FTIR du galactomannane préparé ; b) Spectre FTIR du film de laccase / galactomannane + chitosane préparé
Figure II-15	Images MEB du film de chitosan+galactomannane sans (a) et avec la laccase

	encapsulée (b).
Figure II-16	Voltammogrammes cycliques obtenus pour : Au, Au/4-ATP ; Au/4-ATP/CHIT ; Au/4-ATP/GAL ; Au/4-ATP/CHIT/GAL, Au/4-ATP/CHIT/GAL/Laccase : 10mM [Fe[(CN) ₆] ^{3-/4-} in PBS (0,1M, pH 7).
Figure II-17	Courbes de calibrations de différents biocapteurs à base de laccase : Variation de l'intensité maximale du pic en fonction du logarithme de la concentration de pyrocatechol.
Figure II-18	.a) Voltammogrammes cycliques observés pour l'électrode en or modifiée Laccase/CHIT+GAL en présence de différentes concentrations de pyrocatechol. Vitesse de balayage 80 mV/s. Solution de PBS (0,1 M, pH 7) ; b) Courbe de calibration du biocapteur à base de laccase : Variation de l'intensité maximale du pic en fonction du logarithme de la concentration de pyrocatechol.
Figure II-19	Intensités du courant cathodique pour une concentration en Pyrocatechol à 10 ⁻⁴ M à différents jours.
Figure II-20	Voltammogrammes cycliques obtenus en présence d'échantillons d'huile d'olive diluée dans du PBS (0,1M, pH 7).
Figure II-21	Coloration du réactif Folin et Ciocalteu en présence d'échantillons d'huile d'olive dilués dans du PBS (0,1M, pH 7) (1) huile d'olive de Tunisie (2) huile d'olive d'Algérie (3) huile d'olive d'Espagne (4) huile d'olive du Maroc (5) Couleur originale du réactif Folin et Ciocalteu
Figure II-22	Comparaison graphique des résultats obtenus avec le biocapteur à base de laccase et avec la méthode Folin-Ciocalteu
CHAPITRE III	
Figure III-1	Structure de la Pérovskite (ABO ₃). Avec site A; site B.
Figure III-2	Classification des pérovskites
Figure III-3	Exemple des méthodes de caractérisation des pérovskites.

Figure III-4	Diagramme de la méthode d'élaboration de $\text{Pr}_{1.92}\text{Ba}_{0.08}\text{Ni}_{0.95}\text{Zn}_{0.05}\text{O}_{4+\delta}$.
Figure III-5	Spectre XRD de $\text{Pr}_{1.92}\text{Ba}_{0.08}\text{Ni}_{0.95}\text{Zn}_{0.05}\text{O}_{4+\delta}$ synthétisé par la méthode sol-gel et calciné à 950 ° C.
Figure III-6	Images MEB de PBNZO sous forme de poudre (A) et de film déposé sur une électrode en or (B)
Figure III-7	Spectre EDX de la poudre PBNZO
Figure III-8	Voltampérométrie cyclique de l'électrode en or modifiée par PBNZO en absence de glucose et en présence de 4 mM de glucose. Milieu de mesure : 0,1 M PBS à pH 11.
Figure III-9	Pic d'oxydation obtenu par voltammétrie à vagues carrées (SWV) du glucose obtenu avec une électrode en or modifiée au PBNZO, en présence de différentes concentrations de glucose. Conditions de mesure : 0,1 M PBS à pH 11.
Figure III-10	Courbe de calibration obtenue pour trois différentes électrodes d'or modifiées par PBNZO pour des concentrations croissantes de glucose. Milieu de mesure : 0,1 M PBS à pH 11.
Figure III-11	(A) Pic d'oxydation SWV du glucose obtenu avec une électrode en or modifiée au PBNZO, en présence de différentes concentrations de glucose. (B) Courbe de calibration obtenue pour trois électrodes d'or modifiées avec PBNZO en présence de concentrations croissantes de glucose. Conditions de mesure : sérum humain dilué dans du PBS 0,1 M à pH 11.

Liste des tableaux

TABLEAU	TITRE
CHAPITRE I	
Tableau I-1	Résume les différentes méthodes d'immobilisations
Tableau I-2	Exemples des applications des capteurs selon les domaines
CHAPITRE II	
Tableau II-1	Quelques exemples des polysaccharides utilisés dans la préparation de bio-composites.
Tableau II-2	Résumé des différentes applications de la composition caroubier
Tableau II-3	Comparaison des performances analytiques de biocapteurs à base de laccase publiés précédemment et utilisant le chitosane comme matrice d'immobilisation.
Tableau II-4	Bandes d'absorption IR caractéristiques du galactomannane.
Tableau II-5	Intensités maximales des pics redox (Ia et Ic) et ΔE_p (différence de potentiel entre les pics redox) et pour les différentes étapes de la modification de l'électrode en or
CHAPITRE III	
Tableau III-1	Capteurs non enzymatiques de glucose précédemment publiés, basés sur la pérovskite
Tableau III-2	Comparaison des caractéristiques cristallographiques de $\text{Pr}_2\text{NiO}_{4+x}$ et de $\text{Pr}_{1.92}\text{Ba}_{0.08}\text{Ni}_{0.95}\text{Zn}_{0.05}\text{O}_{4+\delta}$

Liste des publications et communications :

Publications

- **2020: Article** Boubezari, I., Zazoua, A., Bessueille, F., Errachid, A., & Jaffrezic-Renault, N. (2020). Design of a New Non-enzymatic Sensor Based on a Substituted A₂BO₄+ δ Perovskite for the Voltammetric Detection of Glucose. *Electroanalysis*.32, 1642 – 1650
- **2020: Article** Boubezari, I., Bessueille, F., Bonhomme, A., Raimondi, G., Zazoua, A., Errachid, A., & Jaffrezic-Renault, N. (2020). Laccase-Based Biosensor Encapsulated in a Galactomannan-Chitosan Composite for the Evaluation of Phenolic Compounds. *Biosensors*, 10(6), 70.

Communications

- Ali Zazoua, Imene Boubezari, Nicole Jaffrezic-Renault, Development of a biosensor based on alkaloids extracted from cocoa for the detection of urea, JPFSA 2017, Marrakech 27-28 April 2017.
- Imane Boubezari, Ali Zazoua, Nicole Jaffrezic-Renault, Design of a new non-enzymatic sensor based on a polysaccharide / Perovskite matrix for the glucose detection, Madica 2018, 7 et 8 Novembre 2018, Mahdia, Tunisie.
- Ali Zazoua, Imane Boubezari, Sarra Bouraoui, Nicole Jaffrezic-Renault, Gold electrode functionalized with a natural theobromine-based membrane for the urea monitoring in urine, Madica 2018, 7 et 8 Novembre 2018, Mahdia, Tunisie.
- I. BOUBEZARI, A. ZAZOUA ,N. Jaffrezic-Renault, A. Errachid Design of a lead sensor from galactomannan extracted from caroub .The Ninth International workshop on Biosensors Merzouga, Morocco09-11 October 2019.
- 3èmes journées du PHC Maghreb developpement d'un capteur pour la detection des metaux lourds 4 et 5 mars 2019 – Oran –Algerie.
- **02 Décembre 2019:** Séminaire des doctorant(e)s- 2019 de L'ISA UMR5280 CNRS UCBL LYON 1 : Communication Conception d'un capteur non enzymatique pour la détection du glucose.
- **16 Décembre 2019:** Journée des doctorants-Jijel- 2019 JDD2019 6ieme édition Communication orale Nouvelle approche pour la détection du glucose: Développement d'un instrument miniaturisé.

Introduction générale

Introduction générale

Le progrès des études scientifiques et de la nanotechnologie ne cesse de trouver des solutions ou de faciliter la résolution des obstacles qui étaient considérés auparavant comme complexes ou difficiles à résoudre.

De nos jours, l'émergence de la recherche dans les domaines chimiques, biologiques et microélectroniques a permis de mettre en œuvre de nouveaux capteurs électrochimiques de plus en plus performants, moins coûteux, simples, fiables, rapides et sélectifs, permettant de détecter des composés biologiques et chimiques divers. Les capteurs biologiques suscitent un intérêt particulier de par leurs champs d'applications divers et variés dans les domaines médical, environnemental, agro-alimentaire, ...etc. Ils ont constitué les alternatives les plus séduisantes et les plus sûres aux méthodes analytiques classiques qui sont assez compliquées, encombrantes, onéreuses et nécessitent un prétraitement de l'échantillon.

En effet, la performance des biocapteurs réside dans leur partie sensible qui sera en contact avec l'espèce à analyser et qui constitue le plus d'intérêt. La priorité est ainsi de développer des biocapteurs présentant de bonnes performances analytiques. Cette amélioration est rendue possible par des modifications de la surface des électrodes qui acquièrent les propriétés chimiques et électrochimiques du matériau immobilisé.

Récemment, les modificateurs d'électrodes à base de nanomatériaux et de polymères possédant des propriétés spécifiques électroniques, catalytiques et analytiques, ont fait l'objet d'une intense activité de recherche. En effet, un biocapteur est un dispositif analytique composé d'un élément biologique immobilisé, nommé bio-récepteur « partie sensible » capable de reconnaître une molécule spécifique, relié à un transducteur qui transforme le signal biochimique en un signal physique mesurable. Ces dernières années, de nombreuses études ont fait l'objet d'une grande activité de recherche pour la conception et le développement de nouveaux biocapteurs compacts et précis. Une progression du marché des biocapteurs est observée, surtout le capteur de glucose, pour la surveillance des diabétiques. C'est dans cet esprit que s'inscrivent les travaux de cette thèse.

L'objectif donc est de développer des capteurs électrochimiques architecturés stables et sélectifs, en tirant profit des avantages liés au concept de modification de surfaces des électrodes soit par des biocatalyseurs (enzymes), soit de catalyseurs inorganiques (pérovskites).

Notre travail sera axé sur l'assemblage de couches fines présentant des propriétés catalytiques et analytiques sur la surface de l'électrode.

Le manuscrit de cette thèse est structuré en trois parties :

Le premier chapitre présentera des généralités sur les capteurs chimiques, les différentes composantes impliquées dans leurs constructions, les différents modes de fonctionnement et leurs caractéristiques ainsi que leurs avantages et leurs inconvénients. Les principes des différentes méthodes de caractérisation électrochimiques seront rappelés pour leurs utilisations à l'évaluation du comportement des différents systèmes.

Le deuxième chapitre sera consacré aux généralités sur les polysaccharides ainsi que des complexes polyélectrolytes qui peuvent en résulter. Nous présenterons des notions théoriques fondamentales sur un polysaccharide galactomannane et la plante utilisée pour l'extraire. Nous présenterons en deuxième lieu, l'élaboration d'un nouveau capteur fonctionnalisé par la laccase dans le galactomannane extrait et le chitosane, déposé sur l'or pour la détection du catéchol. Nous discuterons les différentes techniques expérimentales en allant de la préparation des surfaces des structures utilisées jusqu'aux différentes caractérisations effectuées sur les capteurs, en passant par les méthodes de dépôt des membranes polymères. Nous montrerons l'intérêt du galactomannane pour l'encapsulation de l'enzyme laccase pour la réalisation d'un biocapteur électrochimique de contenu phénolique, en terme de sensibilité et de durée de vie.

Le dernier chapitre portera sur la synthèse et la caractérisation d'un matériau type pérovskite avec une revue des propriétés catalytiques de ces matériaux et leurs applications. Nous présenterons aussi dans ce chapitre, quelques travaux effectués pour pouvoir se situer dans le contexte général de l'étude réalisée. Le développement d'un capteur chimique à base d'une pérovskite élaborée sur un transducteur en or, en vue de la détection de glucose, fera l'objet de la deuxième partie de ce chapitre, montrant ainsi l'intérêt d'un matériau à propriétés électrocatalytiques pour remplacer l'enzyme glucose oxydase.

Enfin, le manuscrit sera terminé par une conclusion générale qui englobera l'ensemble des résultats auxquels nous avons abouti ainsi que les perspectives permettant l'amélioration éventuelle des différents systèmes développés.

CHAPITRE I:
Généralités

CHAPITRE I: Généralités

I- Les (bio)capteurs chimiques

I-1. Introduction

Depuis le premier biocapteur adapté à la mesure du taux de glucose dans le sang développé par Clark et Lyons au début des années soixante ^[1], des progrès récents ont été faits pour mettre au point d'autres dispositifs miniaturisés, simples, fiables, rapides et sélectifs de détection d'espèces montrant un intérêt dans des domaines de la médecine, de la biologie clinique, de l'agro-alimentaire et du contrôle de qualité de notre environnement ^[2-3-4]. À l'heure actuelle, les scientifiques sont toujours en quête de nouveaux matériaux encore plus résistants et plus performants pour l'immobilisation des molécules qui permettent de garder leur efficacité.

La détection par les biocapteurs est devenue un domaine de recherche important et spécialement attractif en termes de publications et de commercialisation. Ils sont considérés comme une solution alternative aux techniques classiques pour la détection de telles espèces qui sont généralement complexes, coûteuses, volumineuses et souvent difficiles à mettre en œuvre.

Dans ce chapitre nous présentons des généralités sur les capteurs chimiques ainsi que les différentes méthodes de transduction utilisées et la méthode d'immobilisation de la couche réceptrice. Nous présentons également en fin de chapitre les méthodes de caractérisation utilisées.

I-2. Définition d'un capteur chimique

Un capteur ou un biocapteur est un dispositif qui transforme une information chimique ou biologique, comme la concentration ou la composition d'une espèce à détecter « analyte », en un signal électrique exploitable. Un capteur chimique en lui-même est composé de deux parties essentielles : la première partie, le récepteur ou « couche sensible » qui interagit avec l'analyte ^[5]. La deuxième partie concerne la transduction ; il s'agit d'un système permettant de mettre en évidence l'interaction avec le récepteur, en transformant l'interaction chimique en signal électrique directement mesurable et corréléable à la concentration de l'analyte ^[6].

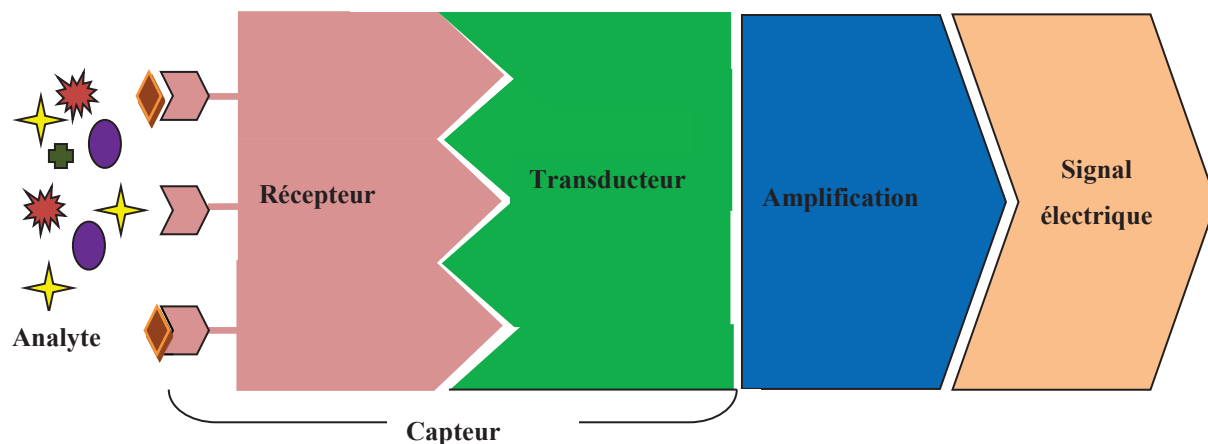


Figure I-1. Schéma du concept général d'un capteur chimique.

I-3. Un biocapteur

Un bio capteur est un dispositif analytique composé d'une entité biologiquement active dite bio récepteur (enzyme, anticorps, antigène, ARN...etc) qui réagit spécifiquement avec la substance cible qu'on veut analyser (analyte), liée à un transducteur qui transforme les interactions ou la reconnaissance biologique en un signal physiquement mesurable souvent électronique^[7-8]. La figure I-2 montre le principe de fonctionnement d'un biocapteur permettant d'obtenir, à partir de l'analyte dans l'échantillon, toute information utile à sa détection.

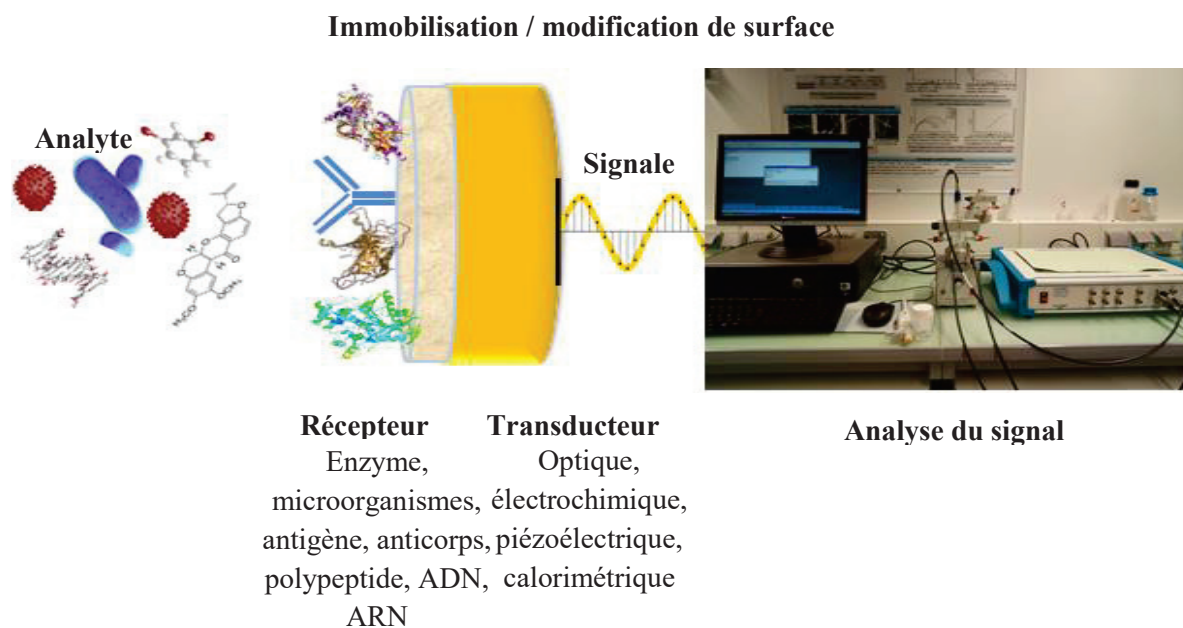


Figure I-2. Principe de fonctionnement d'un biocapteur.

I-4. Les enzymes

Les enzymes sont des protéines de structure très complexe qui agissent comme catalyseurs et sont constituées d'acides aminés créant des chaînes polypeptidiques liées par des liaisons peptidiques $H_3N^+ - CHR_1 - CO - NH - CHR_2 - CO - NH - CHR_3 - CO - \dots - NH - CHR_n - COO^-$.

Les groupements R contiennent généralement des liaisons hydrogènes, ioniques, hydrophobes, assurant leur fixation sur des supports par liaisons covalentes. L'activité enzymatique comporte la formation d'un complexe entre l'enzyme (E) et son substrat (S), appelé généralement « complexe enzyme-substrat » (ES). Cette formation est suivie par la transformation du substrat en produit (P), par l'activation catalytique de la réaction, au sein du complexe tout en libérant l'enzyme.



Ce mécanisme enzymatique se déroule en quatre étapes :

- ✓ Diffusion des réactifs dans le milieu ;
- ✓ Reconnaissance enzyme- substrat ;
- ✓ Mécanisme catalytique ;
- ✓ Expulsion des produits.

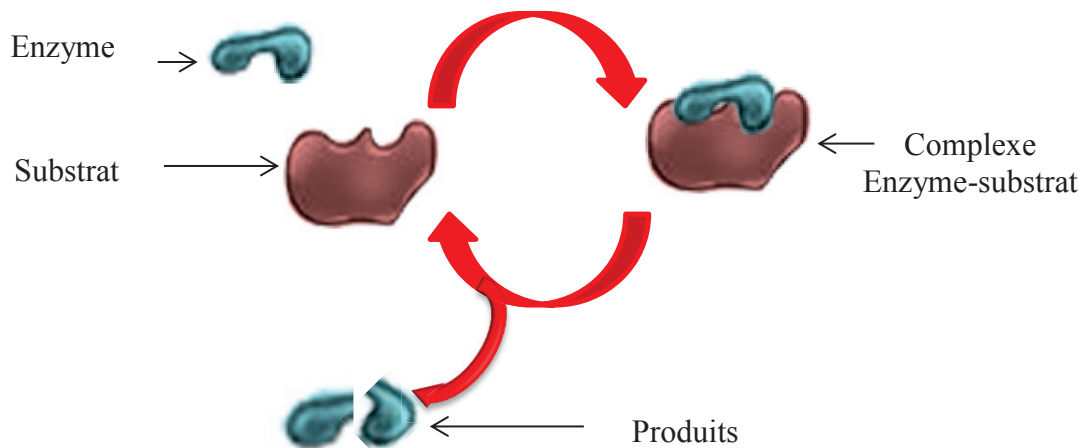


Figure I-3. Le mécanisme enzymatique.

Les enzymes ont des propriétés catalytiques capables d'accélérer la vitesse de toutes les réactions du métabolisme. La forte stéréospécificité des enzymes permet de choisir les différents énantiomères parmi les substrats possibles. Selon les réactions catalysées, les enzymes sont classées dans six grandes catégories^[9]: oxydoréductases, transférases, hydrolases, lyases, isomérases et ligases.

Les enzymes ont été les premières molécules biologiques de reconnaissance intégrées dans les biocapteurs en 1960, avec les travaux de Clark et Lyon sur la détection du glucose^[1]. Les biocapteurs enzymatiques sont les plus étudiés et les plus répandus, en vue d'applications dans les analyses agro-alimentaires, environnementales^[10,11] et biomédicales^[12].

I-5. Classification des biocapteurs

L'échange d'électrons à l'interface entre un conducteur électronique et le milieu électrolytique contenant des couples oxydant-réducteur (Ox/Red) correspondent au domaine des réactions électrochimiques^[13]. Les différents modes de transports de ces couples vers l'électrode sont illustrés dans la figure I.4, on trouve essentiellement :

- **La convection** : il s'agit du mouvement de composition du fluide constitué par l'électrolyte. Ce mouvement peut être de la convection naturelle, exprimée 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** : présente le déplacement des espèces redox sous l'action d'un gradient de concentration.
- **La migration** : il s'agit du mouvement des espèces chargées sous l'effet d'un champ électrique.

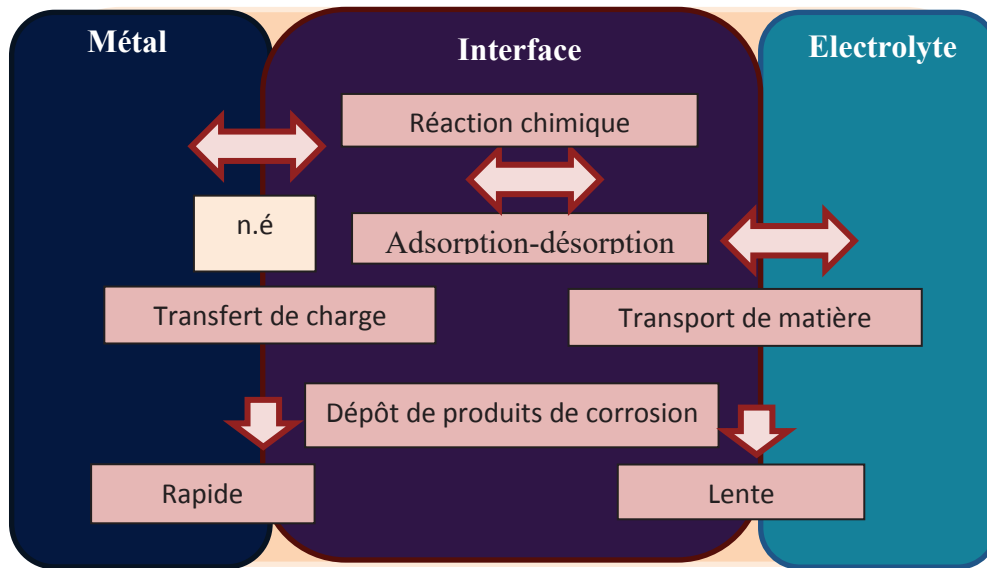


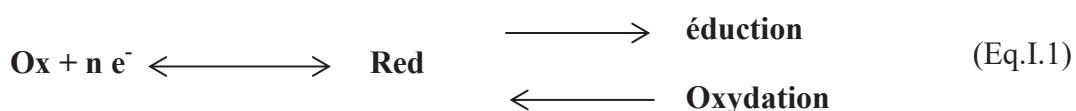
Figure I-4. Différents processus électrochimiques à l'interface métal/électrolyte.

I-6. Les différents types des capteurs chimiques:

Selon le paramètre physico-chimique engendré par la reconnaissance moléculaire, différents modes de transduction en signal électrique sont utilisés permettant de classer les capteurs chimiques en quatre grandes catégories : optique, électrochimique, piézoélectrique, thermique. Les techniques électrochimiques font intervenir trois grandeurs essentielles qui sont le courant (i), le potentiel (E) et le temps (t).

I-6.1. Les capteurs électrochimiques :

Leur principe de fonctionnement est basé sur le fait que certaines molécules électro-actives en solution peuvent échanger les électrons avec la surface de l'électrode selon le potentiel auquel cet échange a lieu. Ils sont classés en quatre catégories suivant le mode de détection : potentiométrique, ampérométrique, conductimétrique et coulométrique ^[14]. Dans tous les processus électrochimiques, on mesure un signal électrique engendré entre deux électrodes, par une réaction d'oxydo-réduction de l'analyte qui obéit au schéma réactionnel suivant (Eq.I.1) ^[15].



I-6.2. Les capteurs potentiométriques :

La potentiométrie est une méthode électrochimique basée sur la mesure de l'accumulation de charges électriques à la surface d'une électrode. Pratiquement, cela se traduit par une détermination de la différence de potentiel qui s'installe entre une électrode de mesure et une électrode de référence. Le potentiel développé par l'électrode indicatrice, est proportionnel au logarithme de la concentration ou à l'activité de l'ion présent dans l'électrolyte à doser où le capteur est plongé ^[16](Figure I-5).

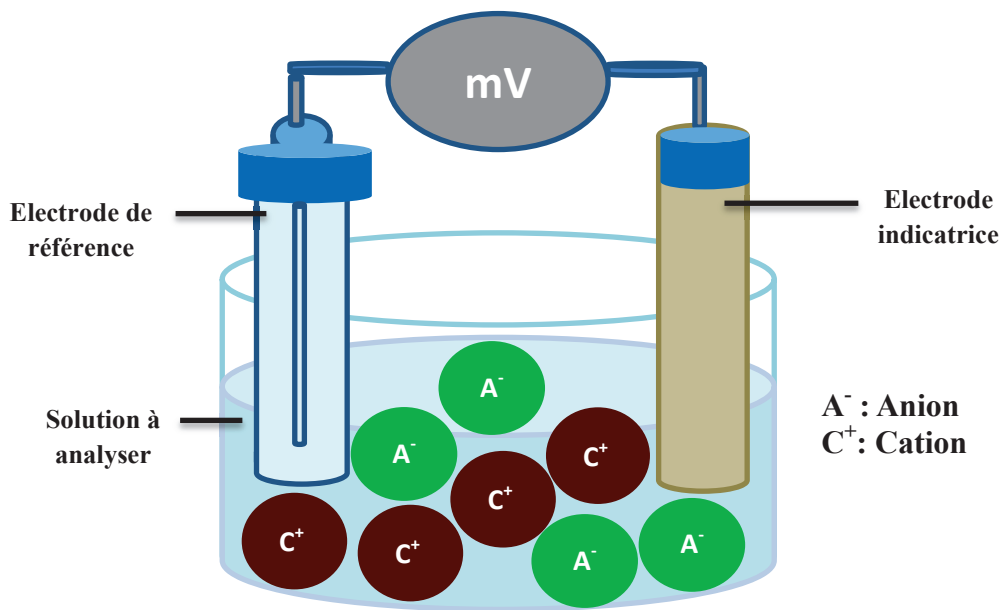


Figure I-5. Principe de mesure potentiométrique: accumulation de charges électriques à la surface de l'électrode indicatrice (capteur redox).

Si l'on n'impose pas de courant dans le circuit, les conditions opératoires sont dites potentiométriques, à courant nul. Dans ce modèle, un équilibre local est établi à la surface du capteur et conduit à la génération d'un potentiel proportionnel au logarithme de la concentration (activité) de l'échantillon selon la loi de Nernst, dans le cas d'un capteur redox ^[16]. La forme commune de cette équation est celle donnée par l'équation suivante pour une température de 25°C

$$E_P = E_{Ox>Red}^{\circ} + \frac{RT}{nF} * \ln \frac{a_{Ox}}{a_{Red}}$$

Où

E° : Le potentiel normal standard du couple redox;

$a_{\text{Ox}}/a_{\text{Red}}$: Le rapport de l'activité de l'espèce déterminant le potentiel à l'état oxydé et à l'état réduit ;

R : La constante des gaz parfaits ($8,314 \text{ K}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1}$) ;

T : La température absolue en Kelvin;

F : Constante de Faraday = $96500 \text{ C} \cdot \text{mol}^{-1}$.

I-6.3. Les capteurs ampérométriques :

La méthode ampérométrique consiste à mesurer l'intensité de courant obtenue lors d'une réaction d'oxydoréduction issue de l'électrolyse d'une espèce électro-active qui traverse une cellule électrochimique à un potentiel appliqué entre les deux électrodes plongées dans une solution. Le courant mesuré dépend de la propriété des matériaux de détection, de la composition et de la géométrie des électrodes, des concentrations des espèces électro-actives générées au cours d'une réaction^[17]. Les électrodes métalliques, les électrodes de carbone ou les électrodes modifiées chimiquement sont les plus utilisées dans les capteurs ampérométriques. L'interaction avec l'analyte peut provoquer une réaction d'électro-oxydation (ou une réduction), modifiant l'accumulation de charges au niveau de l'électrode modifiée par rapport à l'électrode de référence.

Le capteur d'oxygène O_2 (électrode de Clark) (Figure I-6) est le plus connu des capteurs^[18]. La réaction électrochimique mise en jeu est la suivante :

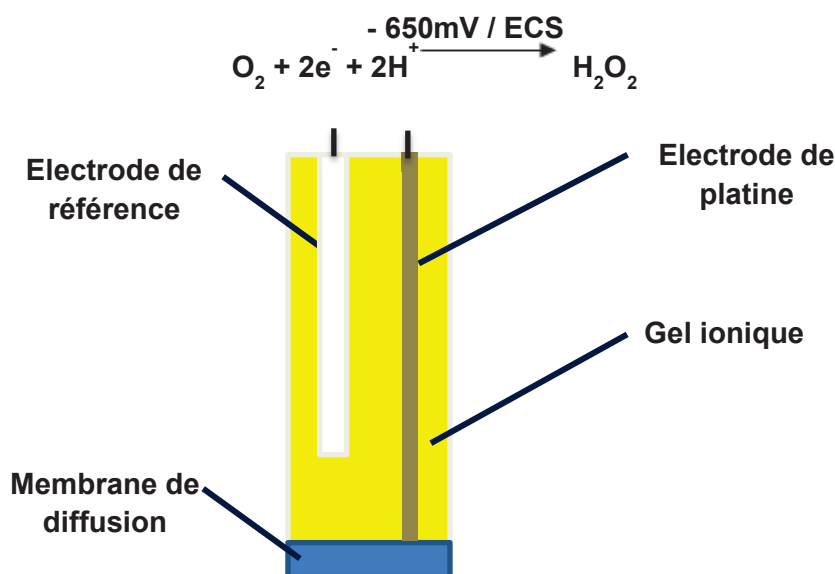


Figure I-6. Schéma du principe du capteur à oxygène.

I-6.4. Capteur impédimétrique

Les termes «capteur de conductance» et «capteur impedimétrique» sont souvent utilisés comme synonymes^[19]. Ce type de capteur électrochimique repose sur la mesure de l'impédance d'une cellule électrochimique par la technique de spectroscopie d'impédance électrochimique (EIS). L'EIS s'est imposée comme un outil d'analyse très puissant compte tenu de sa grande capacité à contrôler le processus de transfert de charges à l'interface électrode/électrolyte^[20]. Pratiquement, la mesure de l'impédance s'effectue dans une cellule à trois électrodes, une électrode modifiée par la couche sensible, une électrode de référence et une électrode auxiliaire (figure I-7).

La méthode d'impédance consiste à imposer une perturbation sinusoïdale de 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. L'impédance du système électrochimique est définie par le rapport de la tension alternative appliquée à l'intensité du courant alternatif mesuré. Cette impédance peut être symbolisée par un circuit électrique équivalent selon le type du système (système faradique ou système non faradique), qui permet d'exprimer les paramètres électriques définissant les phénomènes interfaciaux à l'interface électrode/électrolyte. L'EIS a été utilisée pour étudier et prédire certains aspects de la performance des capteurs électrochimiques^[21].

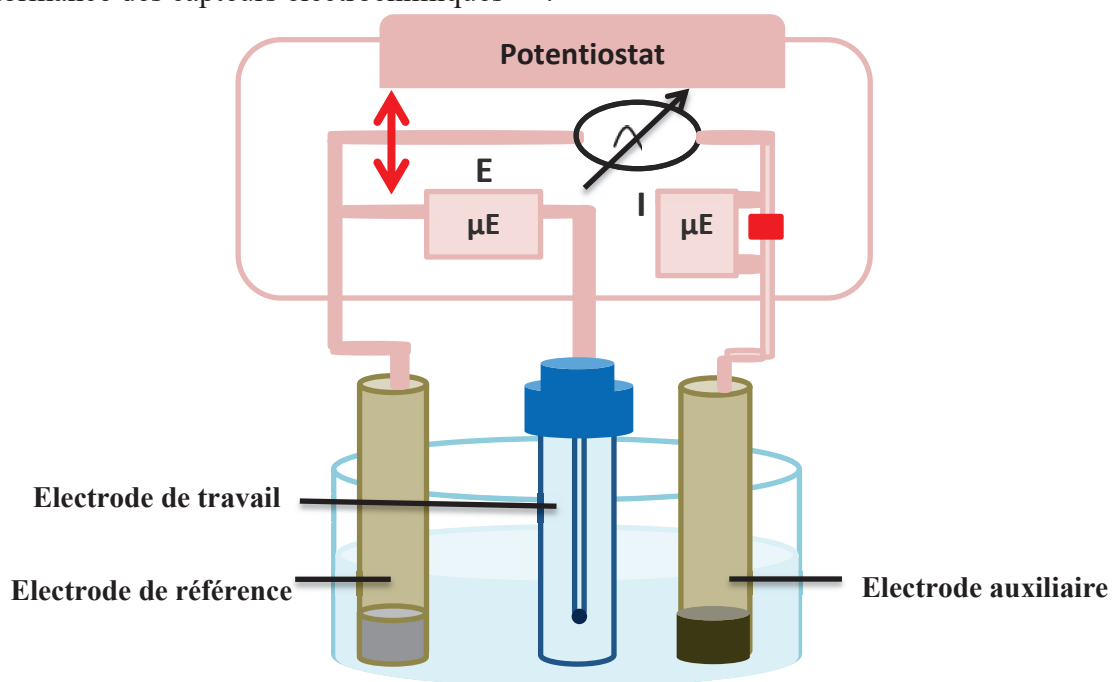


Figure I-7. Schéma de principe des mesures impédimétriques.

I-6.5. Transducteurs mécaniques « piézoélectriques » :

Ces biocapteurs sont des dispositifs gravimétriques basés sur la mesure de l'oscillation d'un cristal de quartz sur lequel est immobilisé le composé biologique (anticorps) (figure I-8). Le cristal de quartz est soumis à une oscillation sous l'effet d'un champ électrique alternatif. La fréquence de résonance va être modifiée lorsque la masse à la surface du quartz va changer.

Les propriétés piézoélectriques permettent de quantifier toutes les variations de masse à la surface du cristal de quartz avec la connaissance des propriétés physico-chimiques au sein du milieu^[22].

Les réponses des biocapteurs sont rapides mais il est essentiel que la couche active utilisée soit très sélective et sensible en fonction du système oscillant employé.

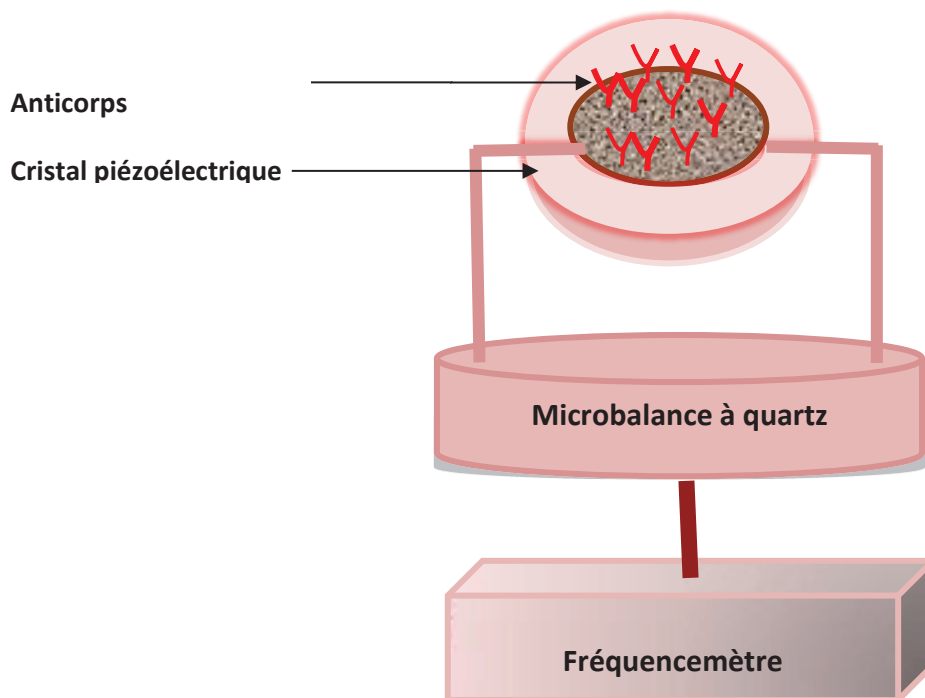


Figure I-8. Exemple d'un biocapteur piézoélectrique.

I-6.6. Les capteurs thermiques

Le principal objectif des capteurs thermométriques nommés aussi capteurs enthalpimétriques est la détermination de concentration d'un substrat par la variation d'enthalpie associée à la réaction enzymatique^[23]. Ces biocapteurs sont onéreux donc ils sont rarement utilisés

Le changement de température ΔT est déterminé par un microcalorimètre et il est relié aux variations d'enthalpie ΔH et la capacité calorifique du réacteur C_p par la relation suivante :

$$\Delta T = \frac{n\Delta H}{C_p}$$

Avec :

n : Nombre de moles de substrat ayant réagi.

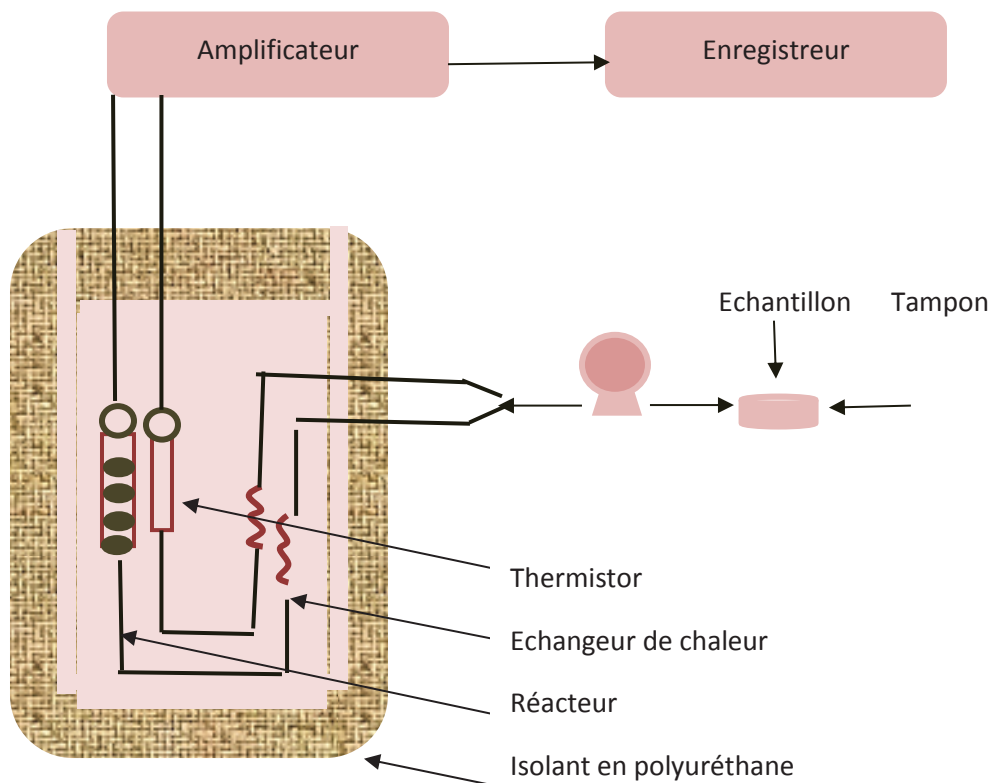


Figure I-9. Schéma d'un biocapteur thermique.

I-6.7. Les capteurs optoélectriques

Ces dispositifs sont constitués d'une ou plusieurs fibres optiques pour le rayon incident et pour le faisceau lumineux réfléchi (figure I-10). Une substance de type colorant est fixé en bout de fibre ; cette substance va changer de couleur en présence de l'espèce à détecter, ce changement étant enregistré par le faisceau réfléchi.

Les transducteurs optiques sont utilisés dans les milieux biologiques et environnementaux ^[24]. Plusieurs propriétés rendent ces capteurs très utiles ; leur faible poids, leurs dimensions et leur insensibilité aux interférences électromagnétiques ainsi que la possibilité d'identifier la présence de produits effectués dans les endroits difficilement accessibles.

Les capteurs à fibre optique sont également utilisés pour la détection d'une vaste gamme d'espèces chimiques (pH, pCO₂, ADN, pNH₄, glucose, sodium, cations des métaux...)

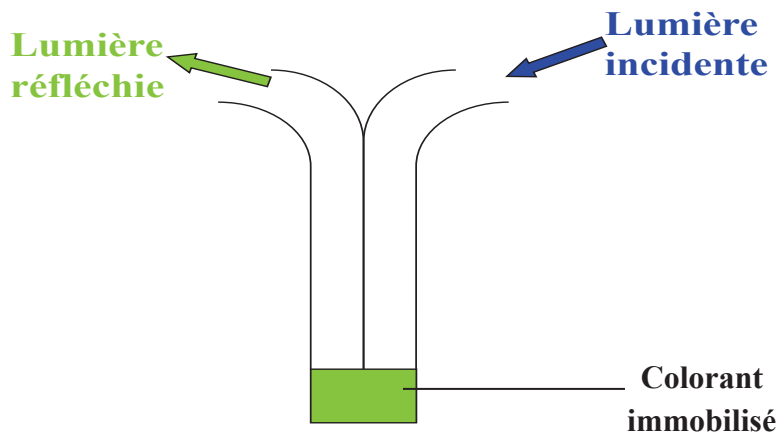


Figure I-10. Schéma d'un capteur optique (optrode)

I.7. Caractéristiques métrologiques d'un capteur

Un capteur chimique ou biologique doit avoir des performances évaluées sur la base de quelques critères déterminants et qui permettent de qualifier son comportement et de déterminer s'il s'agit d'un «mauvais» ou d'un «bon» capteur. L'amélioration de la sensibilité et de la sélectivité des capteurs a toujours été d'un intérêt primordial.

- **La sensibilité** : est directement liée à la variation du signal de sortie suite à l'interaction analyte- récepteur. L'expression de la sensibilité du capteur est donnée par l'équation suivante :

$$S = \frac{\partial X}{\partial Y}$$

X: le signal de sortie d'un capteur

Y: la quantité de l'analyte.

Une bonne sensibilité implique la détection de petites variations ce qui permet d'atteindre de faibles limites de détection (la plus petite quantité de l'espèce à analyser).

- **La sélectivité** : représentant la capacité du capteur à reconnaître l'analyte et à interagir avec l'analyte en présence d'autres espèces.

✓ Une méthode dite sélective lorsqu'elle est complètement capable de quantifier avec précision la cible en présence de plusieurs autres molécules, et seul l'analyte d'intérêt contribuera au signal mesuré. Elle dépend de la partie sensible du capteur, bien que parfois le choix du transducteur puisse contribuer à la sélectivité (figure I-11).

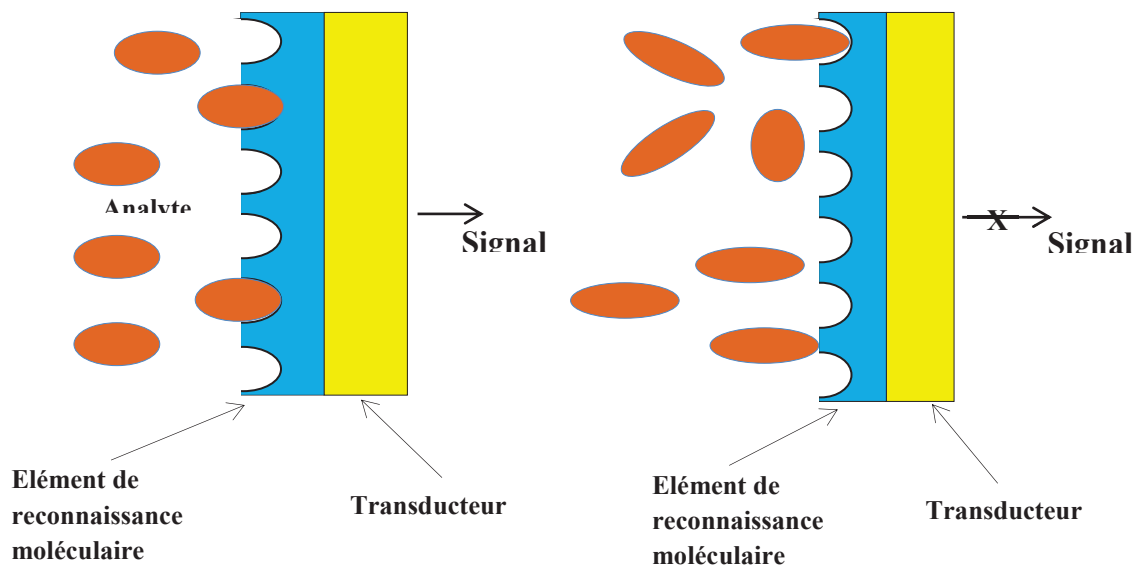


Figure I-11.Sélectivité d'un biocapteur.

- **La stabilité dans le temps** : il s'agit des performances du capteur pour assurer la fiabilité des mesures (réponses très voisines lors de l'application répétée) sur une longue durée.
- **La répétabilité et la reproductibilité** : se réfèrent à la proximité de l'accord entre les résultats des mesures successives réalisée dans les mêmes conditions (répétabilité) ou dans des conditions différentes (reproductibilité).

I-8. Procédés chimiques d'immobilisation

De nombreuses méthodes de modification de surface sont développées. Cette modification peut être réalisée par les techniques d'adsorption^[25];deréticulation^[26-27], de greffage chimique^[28], d'encapsulation^[29], d'électro-polymérisation^[30] et d'auto-assemblage^[31]. Les principales voies envisageables pour l'immobilisation d'espèces à la surface d'électrode peuvent être définies comme le montre le schéma I-12.

Une bonne électrode modifiée doit répondre aux critères suivants : une bonne stabilité physique, une stabilité chimique, une grande efficacité et une bonne sélectivité.

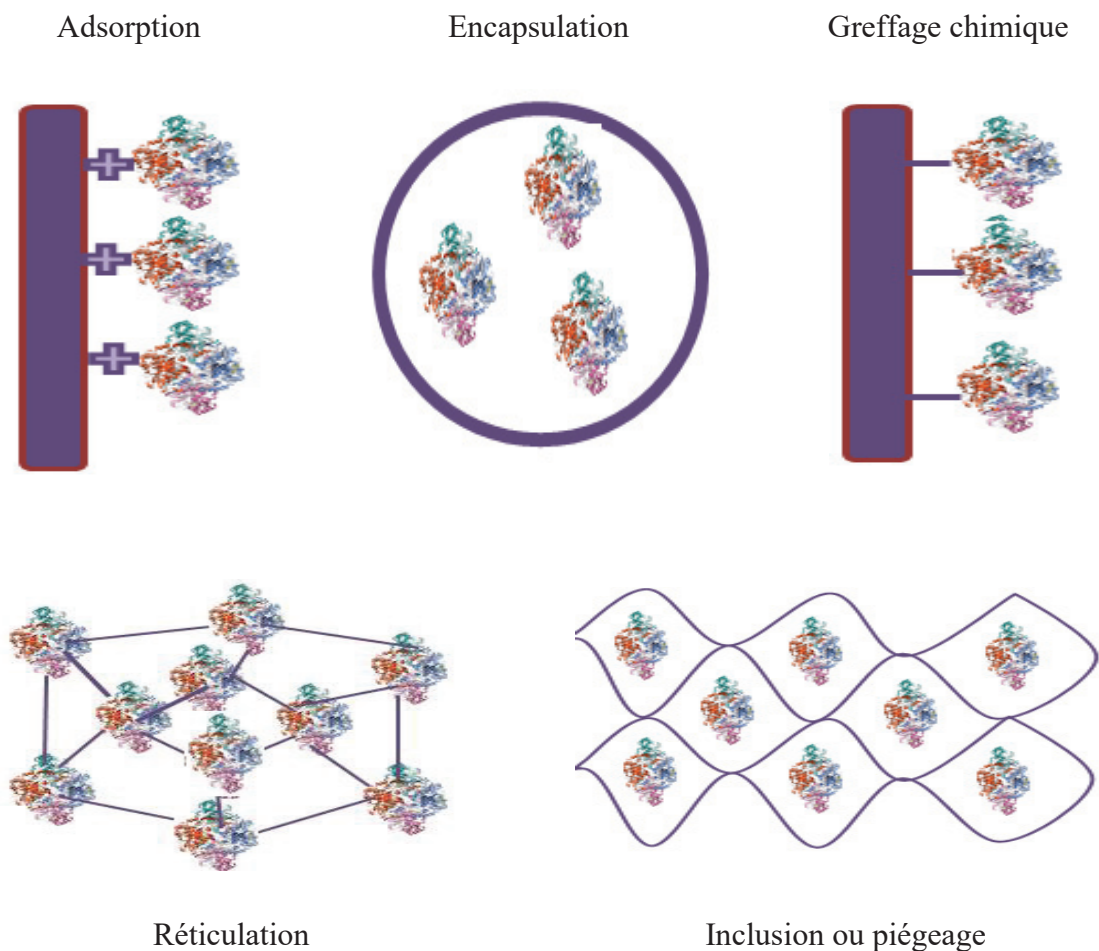


Figure I-12. Méthodes d'immobilisation du bio -récepteur.

Le tableau I-1. Résume les différentes méthodes d'immobilisations

Méthodes d'immobilisation	Principe	Avantage	Inconvénient
Greffage chimique	S'agit de l' interaction covalente entre le bio-récepteur et les surfaces préalablement modifiées par des groupements	Grande stabilité, peut conserver l'accessibilité des sites, induisant des temps de réponse très courts Grande variété de réactions possibles	Nécessite une surface de transducteur ou de membrane fonctionnalisable
Réticulation	Basée sur le couplage intermoléculaire entre les espèces (les bio-molécules) par l'utilisation d'agents de réticulation bi-fonctionnel	Augmenter la stabilité des édifices obtenus par les techniques d'adsorption et d'inclusion dans un gel	Difficulté de contrôler le degré de réticulation Matrice non réutilisable
Encapsulation	Consiste à l'emprisonnement des biomolécules dans une matrice comme le Chitosane	Applicable également à des cellules entières ou des organelles	Bio-récepteur non directement en contact avec le transducteur
Electro-polymérisation	Faire croître un film de polymère sur un transducteur en piégeant la molécule		
Adsorption	Il s'agit des interactions de type Van der Waals ou hydrophobes entre l'adsorbant et l'adsorbat.	Matrice réutilisable L'élément biologique non modifié	Désorption de la biomolécule sous l'effet de variation de pH ou de force ionique ou detempérature

Monocouche auto-assemblée	Consiste à réaliser un dépôt organisé en une couche mono moléculaire avec une orientation définie à partir des molécules amphiphiles	Pouvoir s'adapter à des dépôts de molécules de grandes tailles, voire de polymères	Les fragments insérés subissent parfois des réarrangements
----------------------------------	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	------------------------------------------------------------------------------------	------------------------------------------------------------

I-9. Les méthodes de modification de surface

I-9.1. Méthode de dépôt simple

C'est la procédure basée sur le dépôt d'une solution sur un substrat suivi d'un séchage. Bien qu'il soit possible de préparer un film épais et de qualité, c'est la technique disponible la plus simple de formation de film. L'avantage est qu'elle nécessite des équipements simples, mais le manque de contrôle de l'épaisseur du film, les effets de débord, l'apparition de précipités pendant le séchage, l'inhomogénéité du séchage en sont les inconvénients majeurs. En plus, il faut que le matériau à couvrir ait une solubilité élevée dans le solvant utilisé pour éviter la cristallisation ou la précipitation ^[41].

I-9.2. Méthode de dépôt rotation ou spin-coating:

Cette technique de revêtement par rotation a fait l'objet de nombreuses études fondamentales et son utilisation se généralise: l'opération typique de revêtement par centrifugation consiste à déposer une solution par rotation sur un substrat suivi d'une accélération du substrat à une vitesse de rotation choisie (comme illustré sur la Figure I-13). Cette technique a l'avantage d'être facilement mise en œuvre, pour des investissements modérés. Elle permet la formation de films très homogènes sur une grande surface.

Cette méthode de dépôt peut être décomposée en quatre phases,

- 1) Le dépôt de liquide ;
- 2) Le début de la rotation : la phase d'accélération provoque l'écoulement du liquide vers l'extérieur de substrat ;
- 3) La rotation à vitesse constante permet l'éjection de l'excès de liquide sous forme de gouttelettes et la diminution de l'épaisseur du film de façon uniforme ;
- 4) L'évaporation des solvants les plus volatils accentue la diminution de l'épaisseur du film déposé.

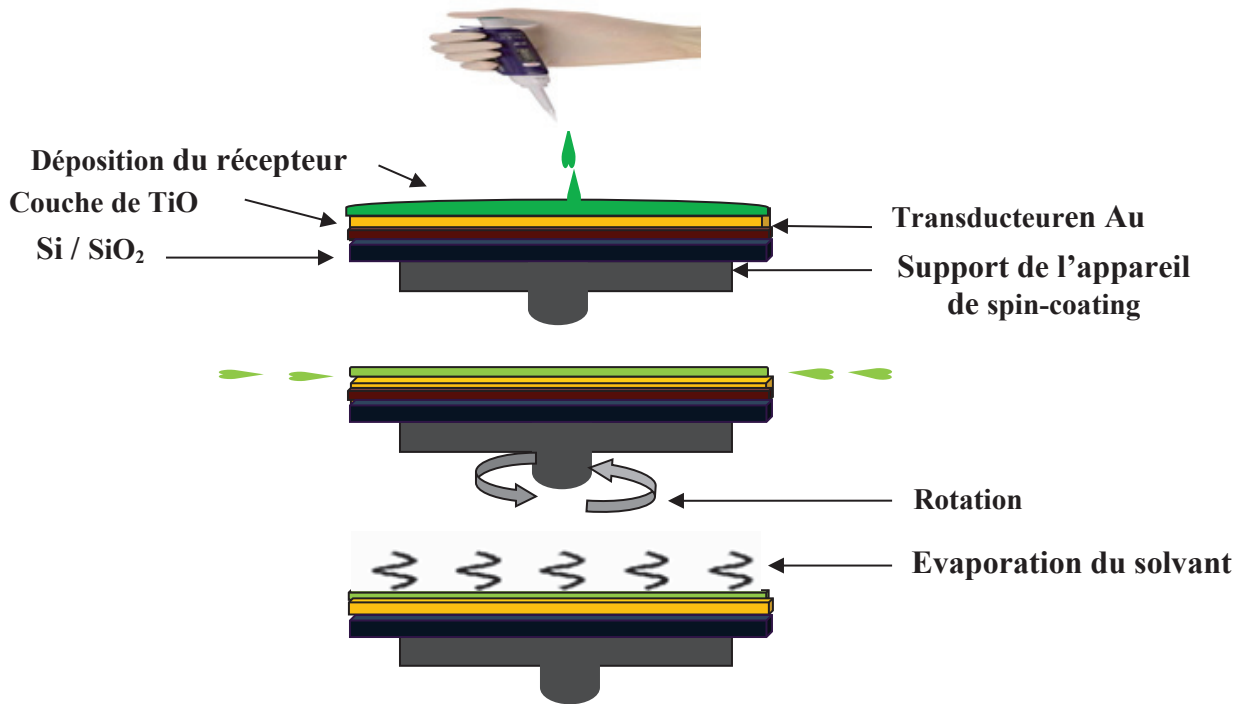


Figure I-13. Schéma illustratif du dépôt par spin-coating.

I-10. Application

Les domaines d'application des biocapteurs sont divers. On peut éventuellement citer : le domaine médical/pharmaceutique, le domaine environnemental, le domaine agro-alimentaire et le domaine cosmétique. Le tableau I-2 illustre une classification des applications des capteurs selon les domaines.

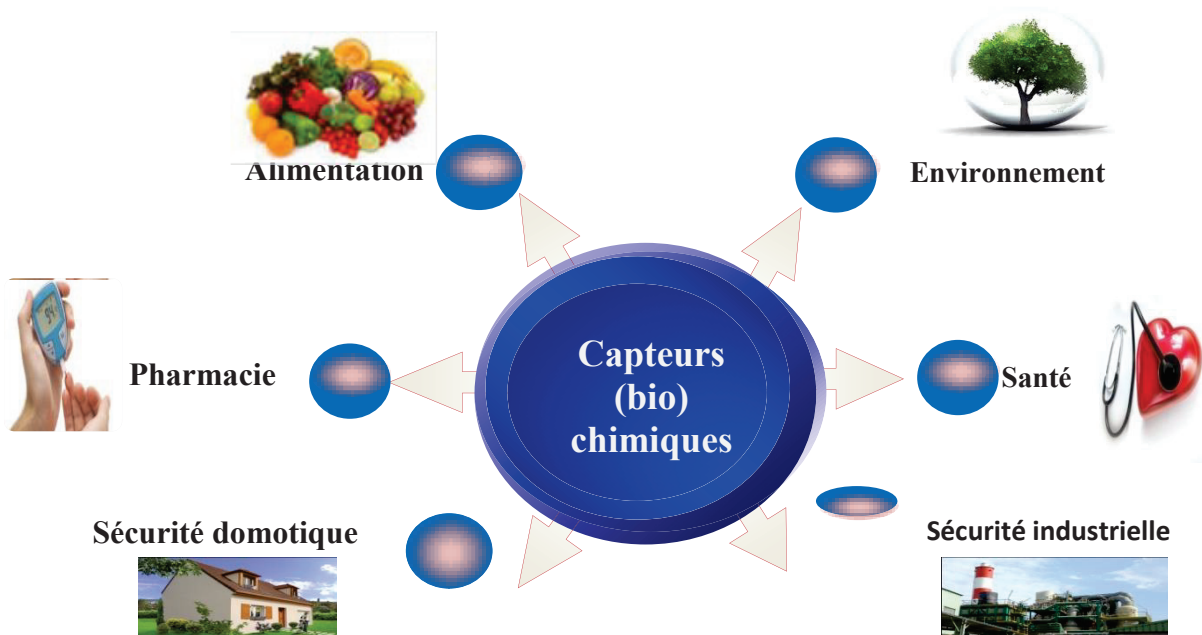


Figure I-14. Illustration schématique des applications des (bio) capteurs.

Tableau I-2: Exemples des applications des capteurs selon les domaines

Domaine	Biocapteur
Industriel ^[32]	Adaptation de la sensibilité de détection des capteurs flexibles de fumées, à base de graphène en décorant avec des microparticules en céramique
Médical ^[33]	Un capteur ampérométrique basé sur un polymère duplex à empreinte moléculaire pour la détection de la testostérone
Cosmétique ^[34]	Une approche sensible de l'analyse des traces de méthylparabène dans les eaux usées et les produits cosmétiques à l'aide d'un polymère à empreinte moléculaire
Environnemental ^[35]	Détermination du glyphosate par spectroscopie d'impédance électrochimique à l'aide d'un chitosane à empreinte moléculaire
Agro-alimentaire ^[36]	Développement d'un capteur électrochimique à empreinte moléculaire hautement sensible et sélectif pour la détection de la sulfaguanidine dans les échantillons de miel

I-11. Méthodes de caractérisation :

Afin de caractériser nos échantillons et par conséquent étudier leur comportement à l'interface capteur-solution, nous avons utilisé les méthodes électrochimiques à savoir :

- La voltamétrie cyclique ;
- La voltamétrie à ondes carrées ;

Ces deux techniques nous ont été très utiles pour mieux comprendre les mécanismes et les déplacements chimiques qui se produisent à l'interface entre l'électrode de travail et l'électrolyte de nos systèmes.

I-11.1. La voltampérométrie cyclique

De manière générale, la voltampérométrie cyclique est l'une des méthodes électroanalytiques les plus universelles pour l'étude des systèmes électrochimiques. La principale propriété de cette technique est son aptitude de mieux comprendre la nature des éventuels phénomènes qui se manifestent à l'interface de la surface active et de l'électrolyte de nos dispositifs. Les potentiels auxquels ils se produisent, ainsi que la détermination des cinétiques de réaction ^[37]. Des variations importantes des concentrations en espèces électro-actives sont détectées à la surface de l'électrode, alors que les concentrations dans l'électrolyte ne sont pratiquement pas affectées lors de l'analyse.

La voltampérométrie consiste à appliquer sur l'électrode de travail un potentiel qui varie linéairement en fonction du temps avec une vitesse de balayage aller /retour. La tension imposée est un signal triangulaire et symétrique. La réponse du système est l'enregistrement du courant en fonction du potentiel $I = f(E)$, appelée voltamogramme cyclique, c'est une caractéristique de l'espèce électro-active (figure I-15).

Pour un système réversible (transfert de charge très rapide), une réaction d'oxydo-réduction ($Ox + ne^- \rightarrow Red$) se produit, le voltamogramme résultant présente deux pics. Deux courants de pic sont définis : i_{pa} ; courant de pic anodique et i_{pc} ; courant de pic cathodique de l'espèce étudiée ainsi que les potentiels d'oxydations (E_{pa}) et de réductions(E_{pc}). Cette technique permet de vérifier que le comportement du système étudié est de type diffusif.

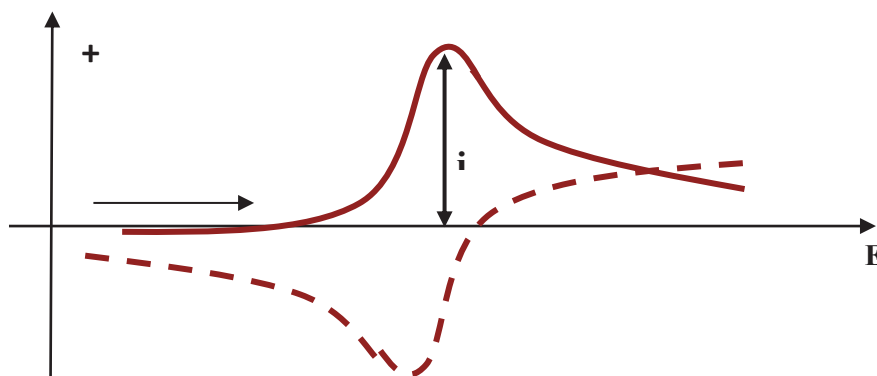


Figure I-15. Voltamogramme cyclique d'un couple redox (système réversible).

La relation de Randles-Sevcik ^[38] exprime le courant de pic i_p (Eq I.2) :

$$I_p = (2,69 \cdot 10^5) n^{3/2} a D^{1/2} V^{1/2} C^* \text{ (Eq I.2)}$$

V : vitesse de balayage ($V\text{ cm}^{-1}$)

C^* : concentration de l'espèce électroactive (mmol l^{-1})

n : nombre d'électrons échangés

a : surface de l'électrode (cm^2)

D : coefficient de diffusion ($\text{cm}^2\text{ s}^{-1}$)

On peut déterminer l'écart de potentiel entre les pics anodique et cathodique $|E_{pc}-E_{pa}|$ pour étudier le caractère réversible d'un système redox.

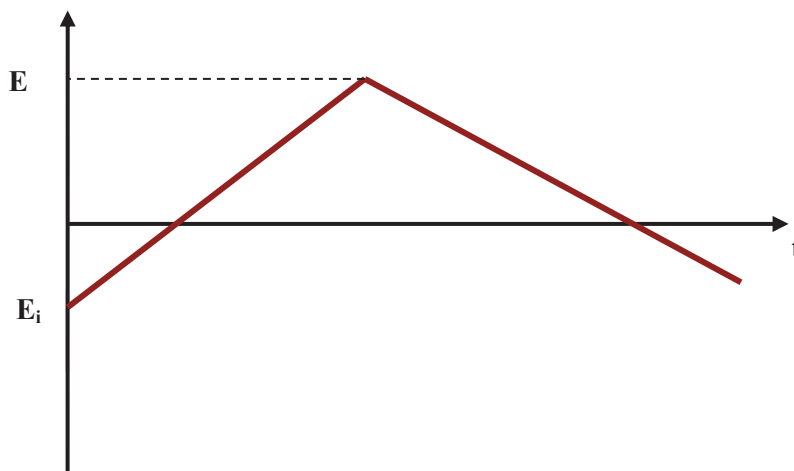


Figure I-16. Signal potentiel-temps typique de la voltampérométrie cyclique.

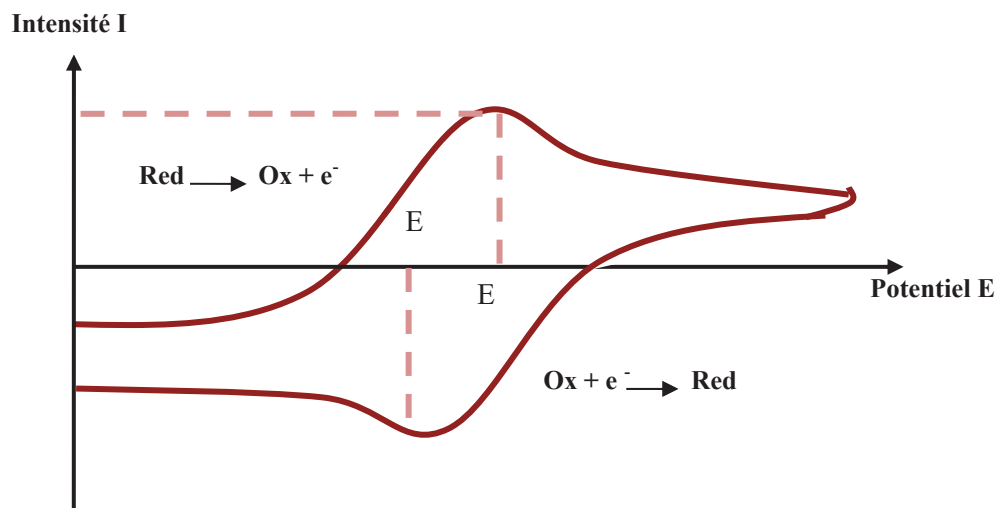


Figure I-17. Exemple d'un voltampérogramme cyclique pour un système lent.

L'expression de la relation donnant l'intensité du courant de pic n'est plus adaptée (équation I.2) pour un système irréversible,

$$\Delta E_p = E_{pa} - E_{pc} = \frac{0,058}{n}$$

$$E_{pa} = E_{1/2} + \frac{0,029}{n}$$

$$E_{pc} = E_{1/2} + \frac{0,029}{n}$$

$E_{1/2}$: Potentiel de demi-vague du couple redox

Le système est lent lorsque la vitesse du transfert électronique est moins élevée que le transfert de matière, on introduit le paramètre n_a , nombre d'électrons impliqués dans l'étape limitante (Eq I.3).

$$i_p = (2,6910^5)n(\alpha n_a)^{1/2} a D^{1/2} V^{1/2} C^* \quad (\text{Eq I.3})$$

L'étude des variations du courant et de potentiel en fonction de la racine carrée de la vitesse de balayage (V) et potentiel en fonction de logarithme de la vitesse de balayage peut nous informer sur la nature de l'étape limitante du courant mesuré et ainsi, sur le mécanisme de la réaction.

- Si $I_{pc} = f(V^{1/2})$ est une droite la réaction est régie par la diffusion pure.
- Si $I_{pc} = f(V^{1/2})$ est une courbe de concavité tournée vers l'axe des courants, le processus à l'électrode comporte un transfert de charge accompagné d'une adsorption et dans le cas où la concavité est tournée vers l'axe des vitesses de balayage le processus à l'électrode est associé à une réaction chimique.
- Si $E_{pc} = f(\log V)$ est une droite de pente nulle, la réaction à l'électrode est rapide.
- Si $E_{pc} = f(\log V)$ est une droite de pente différente de zéro, il s'agit d'un transfert de charge lent.

I-11.2. Voltampérométrie à ondes carrées SWV

La voltamétrie à ondes carrées (SWV) a reçu une attention croissante comme une technique voltampérométrique pour des analyses quantitatives fréquentes bien que cette technique fût rapportée depuis 1957 par Barker ^[39]. Le signal d'excitation est pris en superposant à un « escalier » de potentiel, de hauteur ΔE_p , une onde carrée symétrique d'amplitude ΔE_s en phase avec la fréquence des « rampe de l'escalier » (figure I-18).

Le signal reporté sur le voltampérogramme intensité-potentiel est le courant différentiel ΔI ($i_{dir} - i_{inv}$) entre les courants mesurés à la fin de chaque pulse montant « dir: le courant mesuré sur l'impulsion dans le même sens que le balayage (dir pour direct) » et descendant « inv: le courant mesuré sur l'impulsion dans le sens opposé (inv pour inverse) ». La hauteur de pic est proportionnelle à la concentration de l'espèce électroactive, et le potentiel de pic correspond au potentiel de demi-vague observé en voltamétrie normale.

Pour un système réversible, les impulsions permettent de réaliser des allers-retours entre les formes oxydées et réduites de l'espèce électrolysée dont i_{dir} est un courant positif tandis que i_{inv} est un courant négatif signifiant la réduction du produit i formé.

L'amplitude de l'impulsion $\Delta E = 50$ mV, la période de pas $1/f$ (typiquement la fréquence $f = 50$ à 200 Hz), et hauteur ΔE_s (de l'ordre de 5 mV), sont des paramètres susceptibles d'influencer la largeur et la hauteur de pic et donc la résolution et la sensibilité de la méthode.

La SWV permet d'obtenir des courants plus grands par rapport à la DPV (Differential Pulse Voltammetry) parce que la DPV ne prend pas en compte le courant inverse, ce qui rend la SWV plus sensible ^[40]. On peut ainsi faire varier le potentiel à des vitesses beaucoup plus élevées, de l'ordre de $V = 400$ à 1600 mV/s, et donc réduire le temps d'analyse par rapport aux techniques d'impulsions différentielles qui emploient une vitesse de balayage de 1 à 10 mV/sec. La Figure I-18 présente la séquence de balayage de potentiel utilisée en SWV (gauche) ainsi qu'un exemple type de voltampérogramme obtenu (droite).

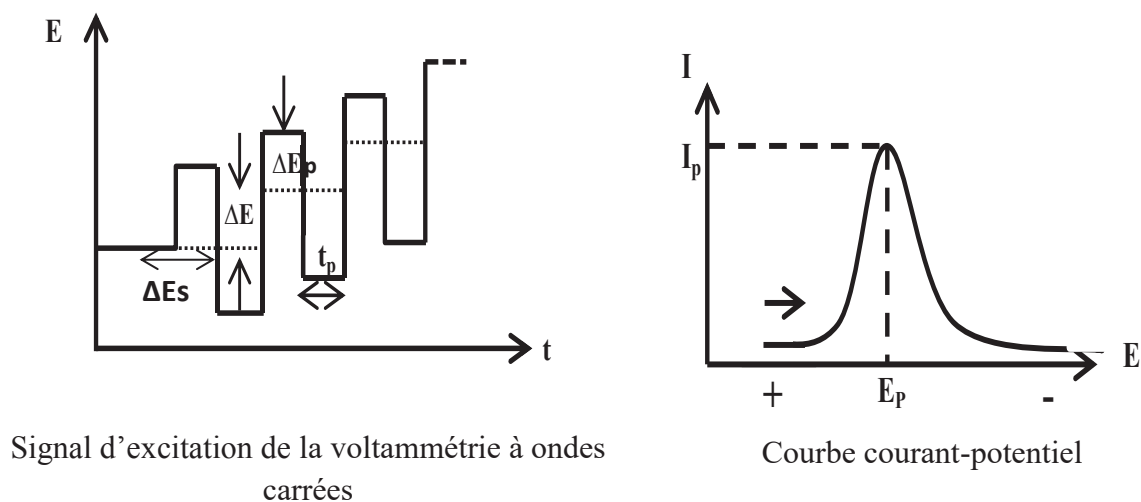


Figure I-18. Voltampérogramme résultant d'une impulsion « ondes carrées » : **a)** Signal d'excitation de la voltammétrie à ondes carrées, **b)** Courbe courant-potentiel

I-12. Méthodes de caractérisation physique des surfaces modifiées et des matériaux synthétisés :

I-12.1. Diffraction des rayons X

La diffraction des rayons X est l'une des méthodes les plus utilisées dans la caractérisation des matériaux. La diffraction de rayons X (DRX) permet d'identifier les phases présentes dans l'échantillon par comparaison aux données des datas internationales de diffraction JCPDS (Joint Committee on Powder Diffraction Standards) et de déterminer les paramètres de maille d'un réseau cristallin ainsi que les distances interatomiques et l'arrangement des atomes dans les réseaux cristallins. Par ailleurs, elle permet de calculer la taille moyenne des cristallites en appliquant la méthode de Scherrer. Son principe consiste en l'enregistrement des rayons diffractés par un échantillon (réflexion des plans de l'indice de Miller hkl) parallèle au support, en fonction de l'angle entre le rayonnement incident et l'échantillon (figure I-19). Un faisceau de rayons X monochromatique est diffracté sur un réseau de plans cristallins selon la loi de Bragg^[41] :

$$2d_{hkl} \cdot \sin(\theta_{hkl}) = n \cdot \lambda$$

Où:

- d : distance interatomique
- λ : longueur d'onde des rayons X
- θ : angle d'incidence
- n : ordre de la réflexion (n étant entier)

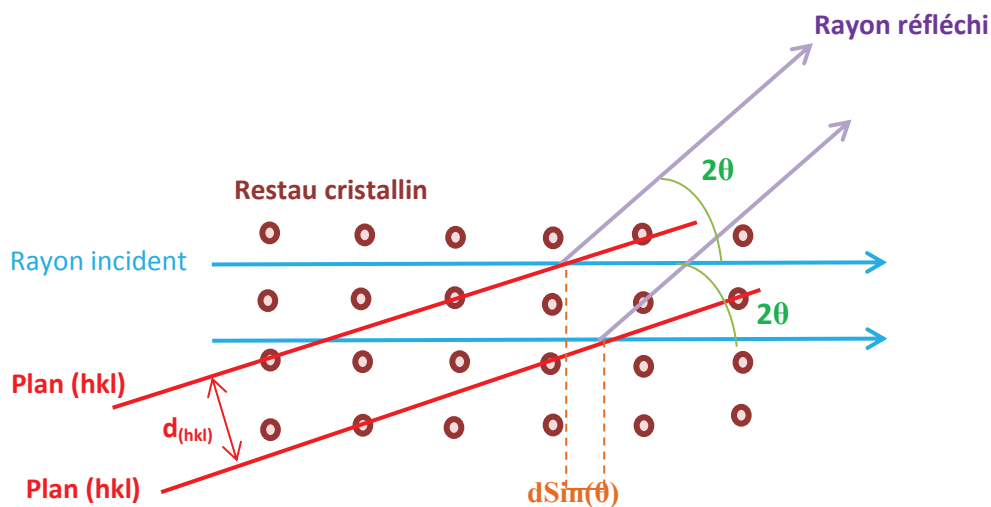


Figure I-19. Diffraction des rayons X.

I-12.2. Spectroscopie infrarouge a transformée de Fourier (IRTF)

La spectroscopie infrarouge IRTF est utilisée depuis une centaine d'années pour identifier et quantifier les différents composés ^[43]. Actuellement, la spectroscopie d'absorption infrarouge est considérée comme une méthode analytique très puissante car elle permet d'identifier certains groupements et donne des informations structurales à partir de leurs propriétés vibrationnelles. En effet, le rayonnement infrarouge excite des modes de vibration (déformation, élongation) spécifiques et caractéristiques des liaisons chimiques. La comparaison entre le rayonnement incident et celui transmis par l'échantillon permet de déterminer les espèces chimiques qu'il contient. La spectroscopie infrarouge a souvent servi comme une « norme » pour les études d'inter-comparaison des différentes mesures ^[44] en raison de sa spécificité.

Le domaine infrarouge entre 4000 et 400cm⁻¹ correspond au domaine de vibration des molécules. Cette technique peut donner des renseignements sur des particularités des espèces traces organiques et inorganiques.

I-12.3. Analyse par microscopie électronique à balayage (MEB)

La Microscopie Electronique à Balayage est fondée sur les interactions électrons-matière. Elle permet la description morphologique, l'obtention d'images de hautes résolutions de la surface de l'échantillon avec des profondeurs de champs supérieures à la microscopie optique. Elle permet l'analyse de la composition (lorsqu'elle est couplée à un système d'analyse X) et l'étude de l'homogénéité du solide.

Le microscope électronique consiste à effectuer un balayage sur une aire de l'échantillon par un faisceau d'électrons émis par effet de champ et accéléré par une tension appliquée dans le microscope électronique à balayage. Par la suite, ce balayage donne lieu à différents phénomènes : diffusion et diffraction des électrons, émission des électrons secondaires, électrons Auger et électrons rétrodiffusés ainsi que l'émission de rayons X.

La spectroscopie de rayons X à dispersion d'énergie (EDX) couplée au MEB repose sur l'analyse et la détection des photons Xémis lors de l'interaction entre les électrons et l'échantillon. Elle permet la détermination de la composition chimique de la surface de la zone

de l'échantillon ciblée par le faisceau, aboutissant à une caractérisation des éléments métalliques ou minéraux en présence (Figure I-20).

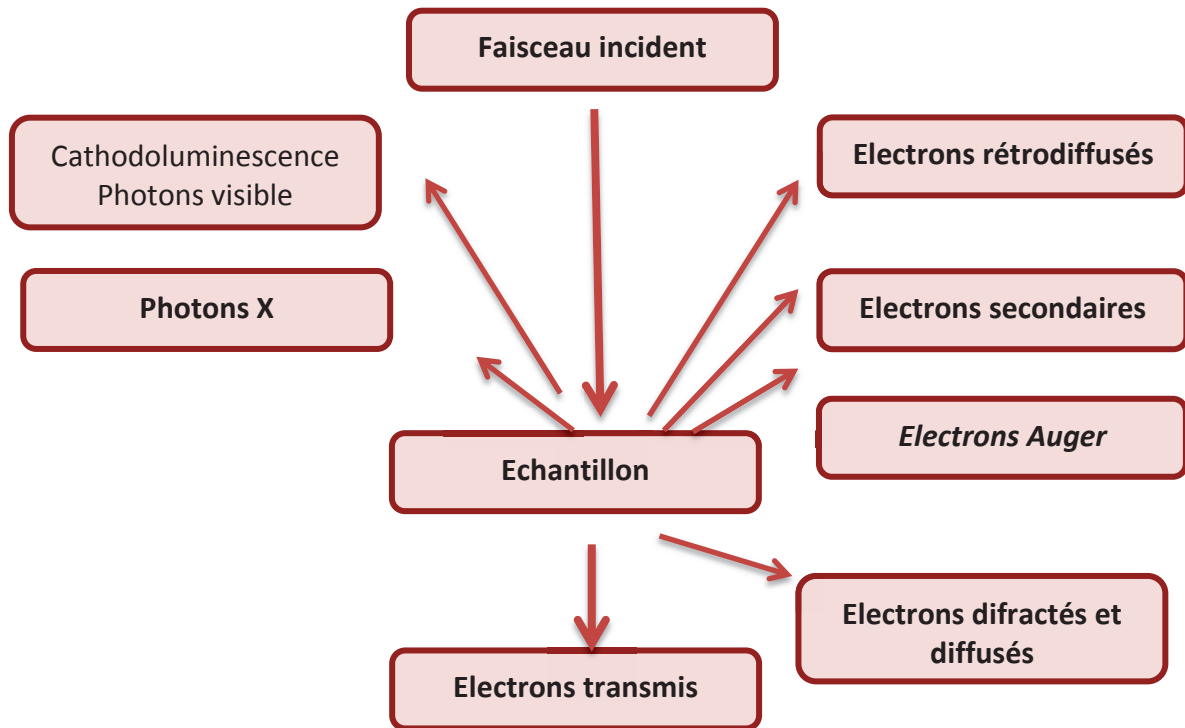


Figure I-20. L'impact d'un faisceau d'électrons avec un échantillon dans un microscope électronique à balayage.

I-13. Conclusion

Au cours de ce chapitre nous avons défini le terme de biocapteur et présenté les différents types de transduction. Par la suite nous avons décrit les différentes méthodes électrochimiques telles que la voltammétrie cyclique et la voltammétrie à ondes carrées. Nous avons aussi défini des techniques de caractérisation de surface et de morphologie de l'électrode comme la microscopie électronique à balayage, la spectroscopie infrarouge. Ces techniques sont utilisées dans les prochains chapitres pour déterminer les performances des capteurs électrochimiques élaborés.

Références (CHAPITRE I)

1. Peteu, S. F., Emerson, D., & Worden, R. M. (1996). A Clark-type oxidase enzyme-based amperometric microbiosensor for sensing glucose, galactose, or choline. *Biosensors and Bioelectronics*, *11*(10), 1059-1071.
2. Turner, A. P. (2013). Biosensors: sense and sensibility. *Chemical Society Reviews*, *42*(8), 3184-3196.
3. Deng, S., Yan, J., Wang, F., Su, Y., Zhang, X., Li, Q., Liu, G., Fan, C., Pei, H. & Wan, Y. (2019). In situ terminus-regulated DNA hydrogelation for ultrasensitive on-chip microRNA assay. *Biosensors and Bioelectronics*, *137*, 263-270.
4. Smith, R. G., D'Souza, N., & Nicklin, S. (2008). A review of biosensors and biologically inspired systems for explosives detection. *Analyst*, *133*(5), 571-584.
5. Asch, G., & Poussery, B. (2017). *Les capteurs en instrumentation industrielle-8e éd.* Dunod.
6. Yang, Y. T., Callegari, C., Feng, X. L., Ekinici, K. L., & Roukes, M. L. (2006). Zeptogram-scale nanomechanical mass sensing. *Nano letters*, *6*(4), 583-586.
7. Kanyong, P., Hughes, G., Pemberton, R. M., Jackson, S. K., & Hart, J. P. (2016). Amperometric screen-printed galactose biosensor for cell toxicity applications. *Analytical Letters*, *49*(2), 236-244.
8. Byrne, R., & Diamond, D. (2006). Chemo/bio-sensor networks. *Nature materials*, *5*(6), 421-424.
9. Shen, H. B., & Chou, K. C. (2007). EzyPred: a top-down approach for predicting enzyme functional classes and subclasses. *Biochemical and biophysical research communications*, *364*(1), 53-59.
10. Liu, F., Zhong, A., Xu, Q., Cao, H., & Hu, X. (2016). Inhibition of 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid to catalase immobilized on hierarchical porous calcium phosphate: Kinetic aspect and electrochemical biosensor construction. *The Journal of Physical Chemistry C*, *120*(29), 15966-15975.
11. Monosik, R., Stredansky, M., Tkac, J., & Sturdik, E. (2012). Application of enzyme biosensors in analysis of food and beverages. *Food Analytical Methods*, *5*(1), 40-53.
12. Rocchitta, G., Spanu, A., Babudieri, S., Latte, G., Madeddu, G., Galleri, G., Nuvoli, S., Bagella, P., Demartis, M.I., Fiore, V., Manetti, R., Serra, P.A. (2016). Enzyme biosensors

- for biomedical applications: Strategies for safeguarding analytical performances in biological fluids. *Sensors*, 16(6), 780.
13. Lefrou, C., Fabry, P., & Poignet, J. C. (2013). *Électrochimie: Concepts fondamentaux illustrés*. EDP Sciences, Les Ulis.
 14. Briones, A. V., & Sato, T. (2010). Encapsulation of glucose oxidase (GOD) in polyelectrolyte complexes of chitosan–carrageenan. *Reactive and Functional Polymers*, 70(1), 19-27.
 15. Maccà, C. (2004). Response time of ion-selective electrodes: Current usage versus IUPAC recommendations. *Analytica Chimica Acta*, 512(2), 183-190.
 16. Gründler, P. (2007). *Chemical sensors: an introduction for scientists and engineers*. Springer Science & Business Media.
 17. Dzyadevych, S. V., Arkhypova, V. N., Soldatkin, A. P., El'Skaya, A. V., Martelet, C., & Jaffrezic-Renault, N. (2008). Amperometric enzyme biosensors: Past, present and future. *Irbm*, 29(2-3), 171-180.
 18. Wolfbeis, O. S. (2015). Luminescent sensing and imaging of oxygen: Fierce competition to the Clark electrode. *BioEssays*, 37(8), 921-928.
 19. Adhikary, A., Roy, J., Kumar, A. G., Banerjee, S., & Biswas, K. (2019). An Impedimetric Cu-Polymer Sensor-Based Conductivity Meter for Precision Agriculture and Aquaculture Applications. *IEEE Sensors Journal*, 19(24), 12087-12095.
 20. Park, S. M., & Yoo, J. S. (2003). Peer reviewed: electrochemical impedance spectroscopy for better electrochemical measurements.
 21. Bogomolova, A., Komarova, E., Reber, K., Gerasimov, T., Yavuz, O., Bhatt, S., & Aldissi, M. (2009). Challenges of electrochemical impedance spectroscopy in protein biosensing. *Analytical Chemistry*, 81(10), 3944-3949.
 22. Tian, G., Deng, W., Gao, Y., Xiong, D., Yan, C., He, X., Yan, C., He, X., Yang, T., Jin, L., Chu, X., Zhang, H., Yan, W. & Yan, W. (2019). Rich lamellar crystal baklava-structured PZT/PVDF piezoelectric sensor toward individual table tennis training. *Nano Energy*, 59, 574-581.
 23. Yang, H., Qi, D., Liu, Z., Chandran, B. K., Wang, T., Yu, J., & Chen, X. (2016). Soft thermal sensor with mechanical adaptability. *Advanced Materials*, 28(41), 9175-9181.
 24. Güemes, A., Fernández-López, A., Díaz-Maroto, P. F., Lozano, A., & Sierra-Perez, J. (2018). Structural health monitoring in composite structures by fiber-optic sensors. *Sensors*, 18(4), 1094.

25. McMorn, P., & Hutchings, G. J. (2004). Heterogeneous enantioselective catalysts: strategies for the immobilisation of homogeneous catalysts. *Chemical Society Reviews*, 33(2), 108-122.
26. Ghafourifar, G., & C Waldron, K. (2016). Capillary electrophoretic peptide mapping to probe the immobilization/digestion conditions of glutaraldehyde-crosslinked chymotrypsin. *Current Analytical Chemistry*, 12(1), 65-73.
27. Maalouf, R., Chebib, H., Saïkali, Y., Vittori, O., Sigaud, M., & Jaffrezic-Renault, N. (2007). Amperometric and impedimetric characterization of a glutamate biosensor based on Nafion® and a methyl viologen modified glassy carbon electrode. *Biosensors and Bioelectronics*, 22(11), 2682-2688
28. Viateau, V., Zhou, J., Guérard, S., Manassero, M., Thourot, M., Anagnostou, F., Mitton, D., Brulez, B. & Migonney, V. (2011). Ligart: ligament synthétique «bioactif» et «biointégrable» permettant la réhabilitation rapide du patient: greffage chimique, évaluations biologiques in vivo, expérimentation animale, étude préclinique. *IRBM*, 32(2), 118-122.
29. Oelßner, W., Zosel, J., Guth, U., Pechstein, T., Babel, W., Connery, J. G., Demuth, C., Grote Gansey, M. & Verburg, J. B. (2005). Encapsulation of ISFET sensor chips. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 105(1), 104-117.
30. Khoder, R., & Korri-Youssoufi, H. (2020). E-DNA biosensors of *M. tuberculosis* based on nanostructured polypyrrole. *Materials Science and Engineering: C*, 108, 110371.
31. Denayer, J. (2011). Monocouches auto-assemblées d'organothiols mono-et bipodes sur le cuivre.
32. Mtz-Enriquez, A. I., Padmasree, K. P., Oliva, A. I., Gomez-Solis, C., Coutino-Gonzalez, E., Garcia, C. R., Esparza, D. & Oliva, J. (2020). Tailoring the detection sensitivity of graphene based flexible smoke sensors by decorating with ceramic microparticles. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 305, 127466.
33. Fourou, H., Braiek, M., Bonhomme, A., Lagarde, F., Zazoua, A., & Jaffrezic-Renault, N. (2018). Voltammetric Sensor Based on a Double-Layered Molecularly Imprinted Polymer for Testosterone. *Analytical Letters*, 51(3), 312-322.
34. Wang, L., Li, Y., Li, G., & Ye, B. (2015). A new strategy for enhancing electrochemical sensing from MWCNTs modified electrode with Langmuir-Blodgett film and used in determination of methylparaben. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 211, 332-338.
35. Zouaoui, F., Bourouina-Bacha, S., Bourouina, M., Alcacer, A., Bausells, J., Jaffrezic-Renault, N., Zine, N. & Errachid, A. (2020). Experimental Study and Mathematical

- Modeling of a Glyphosate Impedimetric Microsensor Based on Molecularly Imprinted Chitosan Film. *Chemosensors*, 8(4), 104.
36. El Hassani, N. E. A., Llobet, E., Popescu, L. M., Ghita, M., Bouchikhi, B., & El Bari, N. (2018). Development of a highly sensitive and selective molecularly imprinted electrochemical sensor for sulfaguanidine detection in honey samples. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 823, 647-655.
37. Wolf, C., Quinn, P., Koumanov, K., Chachaty, C., Tenchov, B. (1999) Arrangement physique des lipides membranaires susceptibles d'être utilisés par les processus d'assemblage cellulaire des protéines. *Journal de la Société de biologie*, 193, 117-123.
38. Randles, J. E. (1948). A cathode ray polarograph. Part II. The current-voltage curves. *Transactions of the Faraday Society*, 44, 327-338.
39. Mirceski, V., Komorsky-Lovric, S., & Lovric, M. (2007). *Square-wave voltammetry: theory and application*. Springer Science & Business Media.
40. Qiu, P., & Ni, Y. N. (2008). Determination of ziram in vegetable samples by square wave voltammetry. *Chinese Chemical Letters*, 19(11), 1337-1340.
41. Krebs, F. C. (2009). Fabrication and processing of polymer solar cells: A review of printing and coating techniques. *Solar energy materials and solar cells*, 93(4), 394-412.
42. Cullity, B. D. (2019). *Elements of X-ray Diffraction* (1978) Addison.
43. Banerjee, A., Bassil, B. S., Röschenhaler, G. V., & Kortz, U. (2012). Diphosphates and diphosphonates in polyoxometalate chemistry. *Chemical Society Reviews*, 41(22), 7590-7604.
44. Lukashuk, L. V., Lysenko, A. B., Rusanov, E. B., Chernega, A. N., & Domasevitch, K. V. (2007). Diaquabis [4-(4H-1, 2, 4-triazol-4-yl) benzoato-κ²O, O'] cobalt (II), and the cadmium (II) and copper (II) analogues: new self-complementary hydrogen-bond donor/acceptor modules for designing hydrogen-bonded frameworks. *Acta Crystallographica Section C: Crystal Structure Communications*, 63(4), m140-m143.

**CHAPITRE II : Biocapteur
à base de laccase
encapsulée dans un
composite
galactomannane-chitosane
pour l'évaluation des
composés phénoliques**

CHAPITRE II : Biocapteur à base de laccase encapsulée dans un composite galactomannane-chitosane pour l'évaluation des composés phénoliques

II-Introduction

Les polyphénols possèdent un large éventail d'activités biologiques qui n'ont pas encore livrés tous leurs secrets. Ils possèdent d'intéressantes propriétés nutritionnelles et organoleptiques antioxydantes bien établies et en lien avec l'inhibition de l'oxydation aussi bien dans le domaine alimentaire que physiologique. La détermination de la teneur en composés phénoliques des huiles d'olive vierges devient importante, bien que non réglementaire à ce jour ; plusieurs techniques ont été mises en œuvre pour l'analyse qualitative et quantitative des composés phénoliques : la méthode de Folin-Ciocalteu (FC); la chromatographie en phase liquide (HPLC); la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse. Cependant ces méthodes classiques sont complexes, énergivores et prennent du temps et nécessitent le prétraitement des échantillons, donc la mise au point des biocapteurs électrochimiques basés sur le piégeage d'une enzyme telle que la laccase ou la tyrosinase constituent une alternative. Actuellement, une grande attention est portée sur la recherche de nouveaux complexes polyélectrolytes pour l'encapsulation des enzymes lors de l'élaboration de biocapteurs enzymatiques, pour minimiser les inconvénients liés à l'altération des enzymes par la température et les composés chimiques.

Ce chapitre porte sur l'élaboration d'un biocapteur enzymatique et électrochimique à base de l'enzyme laccase, piégée dans un film d'un complexe polyélectrolyte constitué du chitosane et du galactomannane, déposé sur électrode d'or afin de l'appliquer à la détection du catéchol. Pour commencer nous avons présenté dans une première partie des généralités sur les polysaccharides. Dans une deuxième partie, nous avons décrit la méthode utilisée pour former le complexe polyélectrolyte PEC constitué du galactomannane et du chitosane, le mélanger avec l'enzyme et le déposer sur une électrode d'or ; nous avons ensuite caractérisé les différents films élaborés par la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) et la microscopie électronique à balayage MEB, et la voltampérométrie cyclique. Dans la dernière partie, nous avons utilisé la voltampérométrie à onde carrée comme méthode de détection et déterminé les caractéristiques analytiques du biocapteur. En final, nous avons comparé les taux de polyphénols des huiles d'olive vierges de différents pays par le biocapteur enzymatique et par la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu.

Partie A

II-1. Généralités sur les polysaccharides

II-1.1. Polyélectrolyte

Au cours de ces dernières décennies, les polyélectrolytes sont devenus l'un des sujets de recherche scientifique les plus intéressants en raison de leur grand potentiel dans les technologies de pointe et la biologie moléculaire.

On définit un polyélectrolyte (**PE**) comme un polymère contenant des unités répétitives et qui se dissocie en une molécule polymérique hautement chargée lorsqu'elle est placée dans un solvant ionisant (par exemple H₂O) formant une chaîne polymère chargée soit positivement ou soit négativement ^[1]. Les polyélectrolytes ionisés en solution peuvent former un complexe avec des polyélectrolytes de charge opposée. Ceux-ci sont formés par le biais d'interactions électrostatiques coopératives entre polycations et polyanions lors du mélange de solutions aqueuses de **PE** de charge opposée, conduisant à la formation d'une phase épaisse séparée du solvant dite un complexe polyélectrolyte **CPE** ^[2] (Figure I-1). Plusieurs chercheurs ont signalé l'utilisation des CPE pour l'encapsulation de médicaments afin d'améliorer leur libération contrôlée et prolongée en raison de leur facilité de préparation et leur capacité à protéger l'intégrité des protéines dans ses complexes ^[3-4].

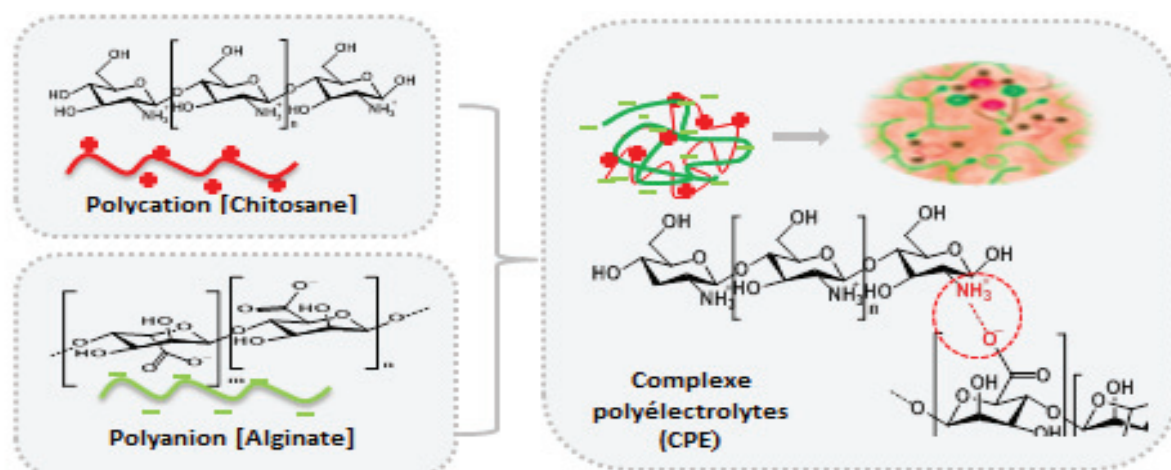


Figure II-1. Complexe polyélectrolyte (CPE).

II-1.2. Les polysaccharides

Les polysaccharides sont des polymères biologiques de la famille des glucides composés de plusieurs monosaccharides de mêmes types d'oses nommés les glycanes reliés entre eux par des liaisons osidiques ; ils peuvent être d'origine animale, végétale ou microbienne. Parmi les monomères constitutifs : le glucose, le fructose, le mannose, l'arabinose, la xylose, le rhamnose, et le galactose.

Les polyosides les plus répandus sont l'amidon, la cellulose, le glycogène et la chitine.

Tableau II-1 : Quelques exemples des polysaccharides utilisés dans la préparation de bio-composites.

Caractère ionique	Types de polysaccharides	Groupe fonctionnels
Neutre	Agarose	OH
	Dextran	OH
	Amidon	OH
Anionique	Alginate	OH, COO ⁻
	Carraghénane	OH, SO ₃ ⁻
	Héparine	OH, SO ₃ ⁻
	Gomme arabique	OH, COO ⁻
Cationique	Dextrine	OH, NH ₃ ⁺
	Chitosane	OH, NH ₃ ⁺

Généralement, les polysaccharides sont biocompatibles dans des conditions physiologiques. Le pH est un facteur clé dans le comportement des solutions mixtes dû à son effet sur le nombre de charges portées par les groupements ionisables des molécules. Certains polysaccharides sont utilisés dans le secteur agro-alimentaire, cosmétique et thérapeutique grâce à leurs propriétés biologiques, stabilisantes, épaississantes et gélifiantes ^[5-6]. La figure II-2 montre quelques domaines d'application des polysaccharides.

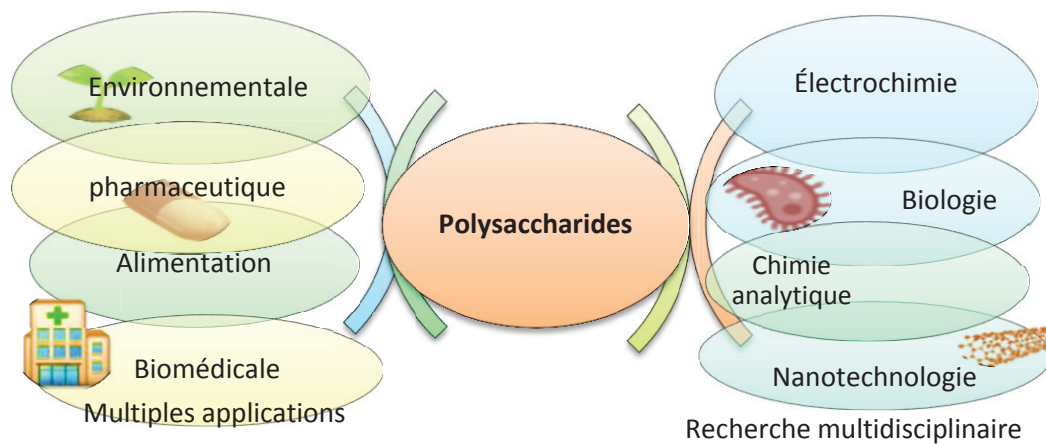


Figure II-2.Schéma des différents domaines d'application des polysaccharides.

II-1.2.1. Le chitosane

Le chitosane(CS)ayant unemasse molaire de 45 à 300kg/mol est un polymère dérivé de la chitineaprès le processus de désacétylation (Figure III- 3). Le CS appartient à la famille de polysaccharides linéaires avec une fraction molaire DD (degré de désacétylation) de D-glucosamine et une fraction (1-DD) de N-acétylglucosamine^[7]. Laglucosamine porte trois types de groupes fonctionnels réactifs, un groupe amine primaire (C₂) et un groupe hydroxyle primaire et deux secondaires (C₃, C₆)^[8].(Figure II-4)

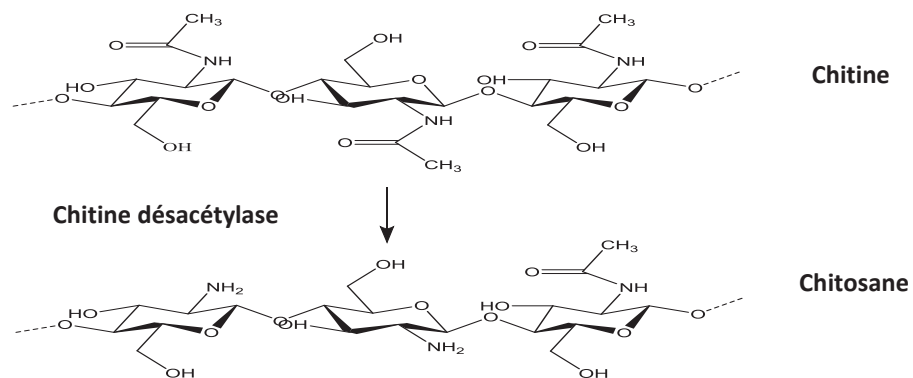


Figure II-3.Préparation du chitosane à partir de la chitine.

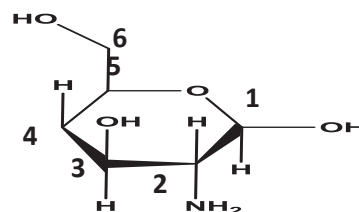


Figure II-4. Structure de la glucosamine.

En raison de ses avantages structurels pertinents et de ses propriétés physico-chimiques et biologiques, à savoir sa facilité de transformation en gels, films, membranes, nanofibres et nanofibrilles, perles, formes d'éponge, microparticules et nanoparticules^[9-10], l'utilisation de ce polymère a suscité un intérêt considérable dans diverses applications telles que l'extraction en phase solide^[9], la séparation sélective des protéines^[10], les études thérapeutiques^[11] et les capteurs^[12-13-14]. Grâce à sa structure chimique spécifique, le chitosane peut interagir avec d'autres matières chimiques (ions, molécules, macromolécules) permettant d'entrevoir des capacités d'interaction, de complexation ou d'adsorption^[15]. Le chitosane peut lier des dérivés fonctionnels sur les chaînes macromoléculaires par des liaisons covalentes, semi-covalentes ou non covalentes (Voir la figure II-5).

- **À un pH < pKa (6,5);** forme protonée des fonctions aminées de la glucosamine ; elle peut faire des interactions ioniques telles que la fixation d'anions métalliques ou les interactions avec les groupements carboxyliques^[16].
- **À un pH basique ;** la forme des fonctions n'est pas anionique ; elle peut établir des liaisons hydrogène ou des liaisons covalentes amide ou imine avec les acides carboxyliques et les aldéhydes activés, respectivement.

Il est nécessaire de prendre en compte les contraintes acido-basiques de la glucosamine permettant la formation des liaisons hydrogènes ou des liaisons covalentes par les fonctions alcooliques de la glucosamine.

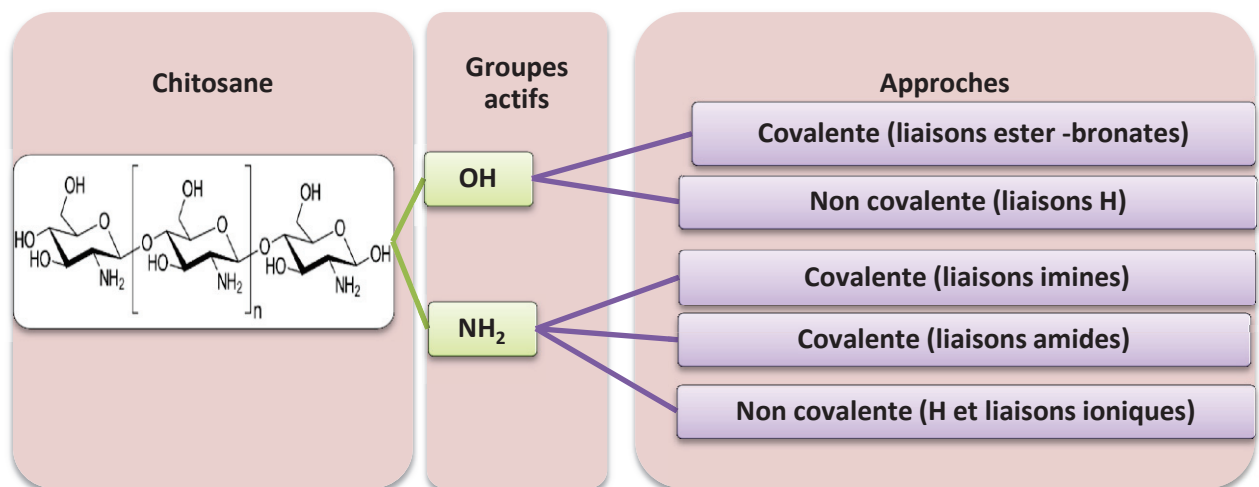


Figure II-5. Différentes approches pour modifier chimiquement le chitosane.

II-1.2.1.1 Solubilité

Le chitosane est un bio-polymère cationique soluble dans les solutions acides diluées à des pH inférieurs à 6,5 mais insoluble dans les solutions aqueuses neutres et alcalines^[17-18]. Il est soluble dans l'acide acétique 1%, l'acide formique 0.2-100%, l'acide chlorhydrique, l'acide nitrique diluée, l'acide succinique, l'acide malique, l'acide lactique et l'eau. En revanche, il est insoluble dans l'acide sulfurique et l'acide phosphorique et dans un pH neutre ou alcalin en solution aqueuse. À haute température, le chitosane peut se dépolymériser par des solutions acides concentrées à haute température^[19].

II-1.2.2. Les carraghénanes

Les carraghénanes sont des macromolécules, faisant partie de la famille des polysaccharides extraits des macro-algues rouges et composés de l'enchaînement linéaire des molécules de galactose et de 3,6-anhydrogalactose plus ou moins sulfatées. Le squelette est composé de sous unités dites carrabinose (Figure II-6) comprenant deux galactoses associés par une liaison α -(1,3). Ces carrabinoses sont liées entre eux dans la chaîne par des liaisons β -(1,4)^[20].

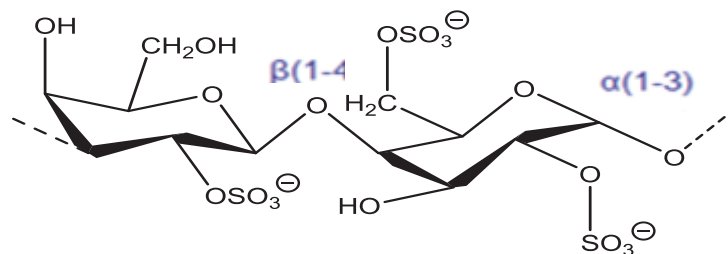


Figure II-6. Schéma d'unité de base carrabinose.

Il existe trois grandes catégories de carraghénanes commercialisées, elles diffèrent par la position des groupements sulfates ainsi que le nombre de ponts 3,6-anhydro-galactoses (3,6-AG) au niveau de la structure moléculaire (Figure II-7).

- **Le kappa-carraghénane** possède un groupement sulfate et un pont 3,6-anhydro-galactose. Il est formé dans l'algue grâce à l'enzyme dékinase. Les structures kappa carraghénanes doivent être modifiées pour produire des structures hydrogéniques^[21]. Il est moins hydrophile et sa solubilité totale est assurée par élévation de la température.

- **Lambda(λ) carraghénane** ; constitué de trois groupements sulfatés et aucune unité 3,6 anhydrogalactose^[20]. Pour cela, il se comporte comme un acide fort soluble à température ambiante quel que soit le cation associé aux sulfates. Il ne possède pas de propriété gélifiante.
- **L'iota(ι) carraghénane** ; à un niveau intermédiaire de substitution, il possède deux groupements sulfatés, il a donc un pouvoir gélifiant plus faible que le kappa-carraghénane.

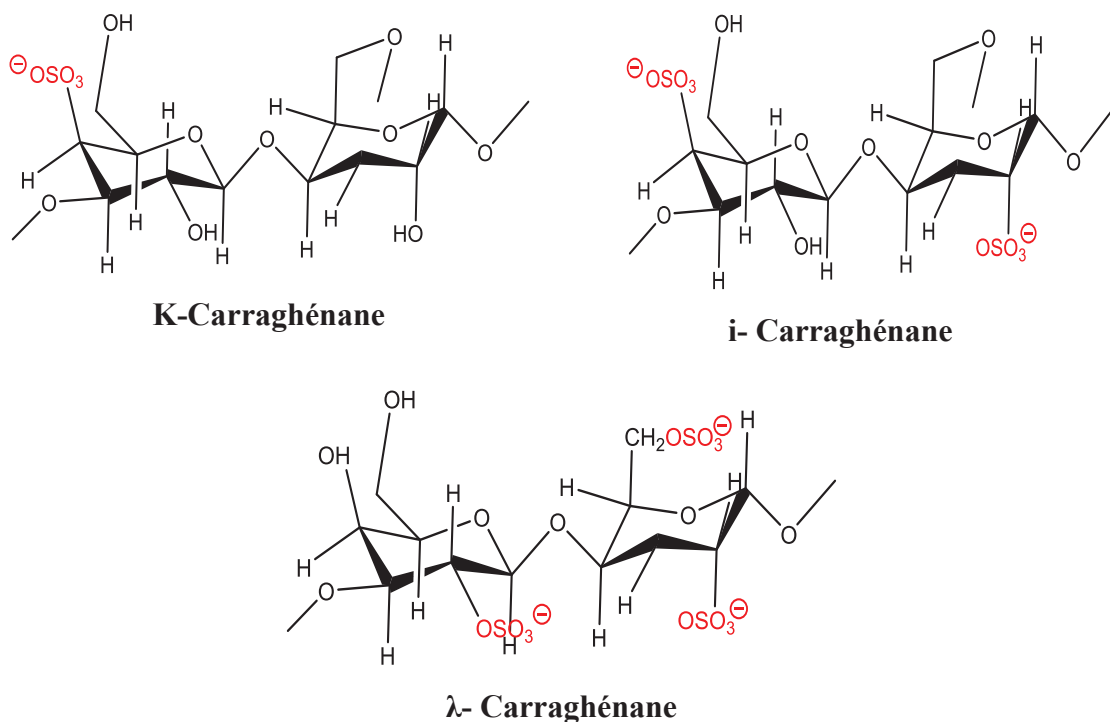


Figure II-7. Schéma des différentes structures chimiques des Carraghénanes.

Parmi les trois types de carraghénane, le kappa-carraghénane peut former un gel fort car le nombre de groupements sulfatés est le plus faible. Toutes les fractions de carraghénane sont solubles dans l'eau, insolubles dans les solvants organiques, les huiles ou les graisses. Cependant, plus il y a de groupements sulfatés, plus la molécule est soluble. En revanche, la présence des ponts hydrophobes diminue la solubilité.

Le Kappa-carraghénane, au caractère anionique du fait de la présence des groupements esters sulfates (SO_4), réagit avec le chitosane comme polycations (amines chargées positivement ($-\text{NH}_3^+$)), et forme par la suite une phase dense (complexe polyélectrolyte CPE) provoquée par les interactions électrostatiques coopératives entre les ions.

Récemment, une étude a également évoqué des complexes stables polyélectrolytes CPE à base de chitosane/carraghénane comme une bonne matrice d'immobilisation de la laccase. Une interaction électrostatique coopérative entre les formes ioniques est le principal mécanisme impliqué dans l'incorporation de cette protéine enzymatique dans le complexe avec la conservation de l'aspect fonctionnel. Le complexe chitosane / carraghénane agit comme agent prometteur pour protéger cette enzyme^[22].

II-1.2.3. Galactomannanes de Caroube

II-1.2.3.1. Généralités sur le caroubier :

II-1.2.3.1.2. Description botanique

Le caroubier (*Ceratonia siliqua*) (Figure II-8) aussi appelé, caroube, algarroba et pain de Saint-Jean ^[23], appartient à la famille des légumineuses (Fabacées) de l'ordre des Rosales, de la sous-famille des césalpinacées à feuilles persistantes. Il résiste bien à la sécheresse, ce qui explique sa grande prolifération dans les régions arides et semi-arides du climat méditerranéen. Il présente aussi quelques caractéristiques comme la rusticité, la fertilisation du sol et la lutte contre l'érosion des sols^[24]. Par ailleurs, il possède une importance socio-économique et écologique très importante^[23-25]. Cette espèce végétale fruitière et forestière représente le plus grand potentiel de valorisation depuis l'antiquité ^[26-27]. Le caroubier peut atteindre une taille allant de 7 à 20 m et une circonférence à la base du tronc de 2 à 3m et vivre jusqu'à 200 ans^[28].



Figure II-8. L'arbre de caroubier.

II-1.2.3.1.3. La composition de la caroube

➤ Le feuillage

Une feuille ovale et verdâtre de 10 à 20 cm de longueur, persistante, dense et brillante et caractérisée par un pétiole sillonné. Elle est composée de 4 à 10 folioles, de couleur vert ^[23-28]. Ses feuilles se renouvellent au printemps chaque deux ans.

➤ Les fleurs

Les fleurs sont petites de 6 à 16 mm de longueur, de couleur verte, spiralées et assemblées formant des grappes droites et axillaires (Figure II-9). Les petites fleurs rouges du caroubier fleurissent à partir de septembre jusqu'au mois de novembre. Ce sont elles qui, après fécondation, vont donner naissance aux fruits appelés gousses ^[28-29].



Figure II-9. Photographie des fleurs de la caroube.

➤ Système racinaire

Les racines de cette plante sont fortes et envahissantes et peuvent atteindre une taille de 8 jusqu'à 15 m de long ^[23-28].

➤ La gousse

La gousse, fruit de caroube, appelé caroube ou carouge est épaisse, coriace, arquée, de forme allongée, à sutures épaisses de 1 à 2,5 cm, longue de 10 à 20 cm sur 2 à 3 cm de largeur, pendante. Elle est composée de trois parties : l'épicarpe, le mésocarpe et les graines. Elle est séparée à l'intérieur par des cloisons pulpeuses transversales et contenant de 10 à 16 graines. Sa couleur est verte avant la maturité. A maturité, elle devient brun foncé ^[28-31].

➤ **La pulpe de la caroube**

La composition de la pulpe de caroube dépend de la variété, du climat et des techniques de cultures. Toutefois, on peut avancer que la pulpe de la caroube représente 90% de la masse du fruit. Elle est constituée de sucres (40-60%) essentiellement, saccharose (27-40%), fructose (3-8%) et glucose (3-5%), lipides (0,4-0,6%), protéines (27-50%) et cendres (2-3 %). Les polyphénols représentent 18-20%. Il faut souligner la présence de minéraux (K, Ca, Na, Fe et de Mg) et de vitamines^[34]. Elle présente l'avantage d'être exempte de théobromine et de caféine, contrairement au cacao qui en contient des quantités importantes^[33].



Figure II-10. Photographie de la pulpe de la caroube, des graines de la caroube.

➤ **Les graines de la caroube**

Les graines de la caroube (Figure II-11) constituent environ 10 % de la masse de la gousse. Ils sont ovales, lisses, durs, d'une longueur de 8 à 10mm et une largeur de 7 à 8 mm et de 3 à 5 mm d'épaisseur. Leur nombre varie généralement entre 10 et 15. Elles sont constituées de trois parties : le tégument (ou cuticule), l'endosperme et le germe (la radicule ou embryon)^[31-34].

- La 1^{ère} partie: le tégument (ou cuticule) qui recouvre la graine et représente 30 à 35 % du poids sec de la graine, résistant, lisse, de couleur brun rougeâtre et brillant. Il est constitué surtout de cellulose, de lignine et de tanin.
- L'endosperme riche en galactomannane, utilisé notamment dans l'industrie agro-alimentaire, grâce à ses bonnes propriétés texturantes^[35]. C'est la partie la plus intéressante dans la gomme de caroube. Elle représente 40 à 50 % du poids de la

graine, constitue le tissu de réserve enrobant un germe ou embryon et possède un contenu élevé en galactomannane brut.

- La 3^{ème} partie est le germe, qui représente 15 et 30% du poids sec de la graine. Il est soluble dans l'eau, constitué de lipides insaturés et possède une valeur énergétique élevée due à son taux important de protéines.

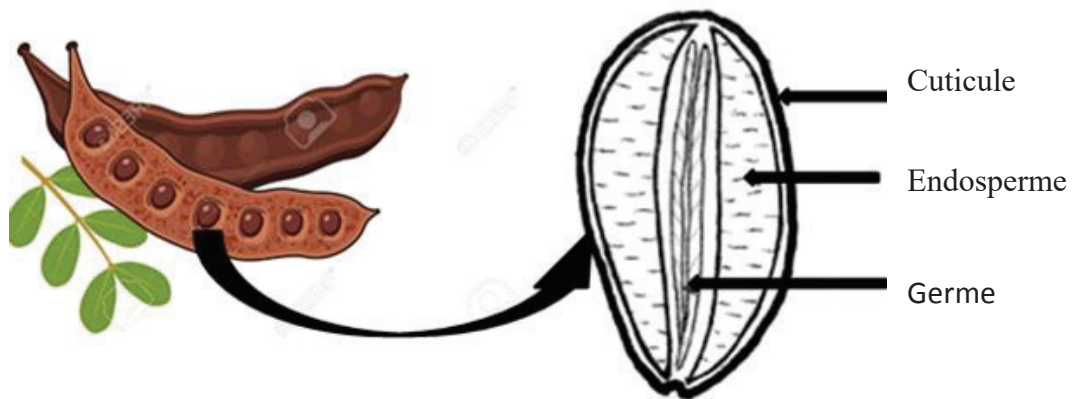


Figure II-11.Coupe transversale d'une graine de caroube

II-1.2.3.1.4. Répartition géographique

L'intérêt de planter les caroubiers a été augmenté dans les régions méditerranéennes, c'est une essence thermophile cultivée dans ce climat, Pour cela, ils poussent mieux dans les sols calcaires et de préférence dans les zones côtières proches de la mer ^[36]. On le rencontre dans les zones allant, selon la surface cultivée, en Grèce, en Espagne, en Italie, au Portugal et au Maroc. Il est aussi cultivé en Inde et aux Philippines ^[37]. Actuellement on le trouve aussi en Algérie, en raison du développement de l'industrie alimentaire et l'augmentation de la demande pour les produits à base de caroube.

II-1.2.3.1.5. Utilisation du caroubier

Toutes les composantes de l'arbre (feuillage, fleur, fruit, bois, écorce, racine) sont utiles et ont une valeur dans plusieurs domaines en plus de sa valeur ornementale et paysagère. Ainsi, le caroubier est considéré comme l'un des arbres fruitiers et forestiers qui représente le plus grand potentiel de valorisation grâce à ses propriétés épaississantes et gonflantes, pour sa

capacité à former une solution très visqueuse, à une faible concentration en raison de ses propriétés épaississantes, émulsifiantes^[38-39] (voir le tableau II-2).

Tableau II-2: Résumé des différentes applications de la composition caroubier

Usages	Actions
secteur industriel	Extraction de jus sucrés ^[40] . La préparation d'alcools ^[41] . La production de farine de chocolat ^[42] . La production du miel de caroube dans l'alimentation animale ^[43] . La production de la gomme de caroube (additif E 410, épaississant) ^[44] . Fabrication du charbon ^[45] . Agent épaississant, gonflant, liant et stabilisant dans les préparations des émulsions(savons, crèmes, dentifrices...) et la fabrication d'un condiment aromatique ^[46] . utilisée en imprimerie, photographie, matière plastique, encre et cirage ^[47] .
Secteur médical et pharmaceutique	Cette plante est utilisée dans la médecine traditionnelle pour soulager plusieurs maladies telles que les crises d'asthme, bronchite, infections grippales, toux, cancer et diarrhée ^[48-52] .
Environnementale	La dépollution ^[53] , la rusticité, la fertilisation du sol et la lutte contre l'érosion des sols ^[24] .

II-1.2.3.1.6. La gomme de caroube

La gomme de caroube représente 40 à 50 % du poids de la graine. Il s'agit de polysaccharides de réserve que l'on retrouve dans l'endosperme translucide de nombreuses graines de plantes légumineuses dont celles de caroube. Ces polysaccharides sont appelés galactomannanes. En anglais «Carob Bean Gum» ou plus couramment «Locust Bean Gum» (LBG). Un LBG de haute pureté est composé essentiellement de 80 à 85% de galactomannane, de 10 à 13% d'humidité, 5% de protéine et d'une petite teneur en cendres et

en fibres. Ce polysaccharide est utilisé comme additif naturel E 410 dans l'industrie alimentaire ou non-alimentaire et commercialisée sous forme de poudre blanchâtre^[40].

Il est utilisé également, pour son caractère synergique avec d'autres polysaccharides tels que le carraghénane, l'agar et la gomme de xanthane, même à des faibles doses pour augmenter la rigidité et l'élasticité du gel et assurer une protection contre la dégradation thermique par auto-association.

II-1.2.3.1.7. Les galactomannanes

Les galactomannanes sont des polysaccharides linéaires basés sur un squelette α -D-(1-4)-mannane auquel les résidus de D-galactopyranosyle sont attachés par des liaisons α -(1-6). Ils peuvent être extraits de différentes graines (caroube^[54], trigonella foenum-graceum^[55]...) (Figure II-12).

Leur composition moléculaire dépend de leur origine, en particulier de la teneur en galactose et du rapport mannose/galactose. La taille moléculaire et la structure fine (rapport mannose/galactose, distribution du galactose dans la chaîne linéaire du mannose) influencent la solubilité, la capacité d'auto-association et le contrôle des propriétés rhéologiques de leurs solutions aqueuses. Les galactomannanes sont utilisés industriellement dans de nombreux domaines : papier, textile, pharmaceutique, cosmétique et dans les produits alimentaires comme additif E410 (crème glacée et autres préparations). La principale propriété importante de ce bio-polymère est sa capacité à former une solution très visqueuse à une concentration relativement faible, à stabiliser la dispersion et l'émulsion et à remplacer la matière grasse dans de nombreux produits laitiers.

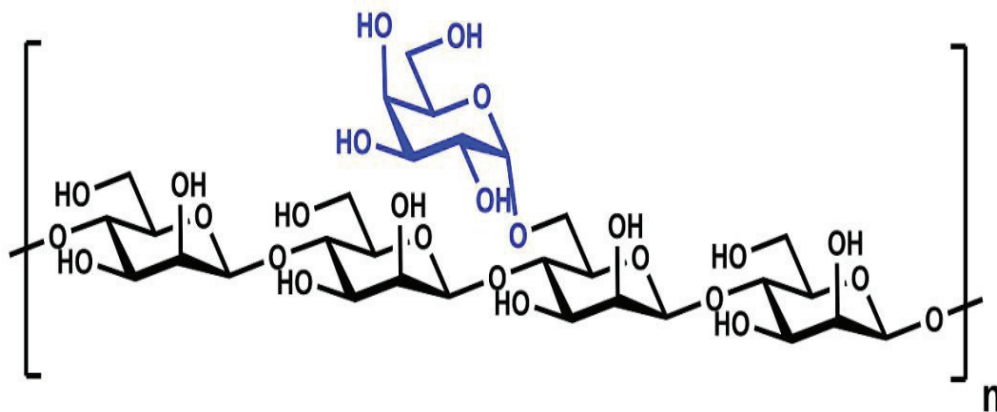


Figure II-12. Structure chimique des galactomannanes de la gomme de caroube.

Partie B

Biocapteur à base de laccase encapsulé dans un composite galactomannane-chitosane pour l'évaluation des composés phénoliques

II-Introduction

En raison de leur caractère antioxydant, les composés phénoliques, métabolites secondaires des plantes, ont attiré l'attention des scientifiques ces dernières années. Ils peuvent protéger contre de nombreuses maladies telles que le cancer ou les maladies cardiovasculaires ^[56]. A ce titre, les composés phénoliques extraits de végétaux sont utilisés comme additifs dans les produits agroalimentaires, les produits cosmétiques. Pour ces raisons, un effort important a été fait pour caractériser la teneur en phénol dans les produits végétaux ^[57]. Les méthodes très sensibles telles que la GC/MS ou la HPLC/MS sont utilisées pour identifier et quantifier les composés phénoliques individuels, elles sont coûteuses, prennent du temps et nécessitent une étape de prétraitement de l'échantillon. Les biocapteurs électrochimiques ^[58], basés sur l'immobilisation d'une enzyme, la laccase ou la tyrosinase, constituent une excellente alternative.

C'est dans cette optique que nous avons utilisé le galactomannane, extrait à partir de graines de caroube afin de développer un biocapteur électrochimique. Le galactomannane a été utilisé dans un réseau polymère interpénétrant avec le chitosane ^[59] et dans l'alcool polyvinylique ^[60] pour l'encapsulation de l'enzyme. Ce concept a été utilisé pour l'encapsulation d'enzymes dans des systèmes d'administration de peptides et d'enzymes antimicrobiens (protéase et lipase) pour préserver leur propre activité biologique et leur grande affinité ^[61]. Plusieurs biocapteurs ont été fabriqués par l'encapsulation de la laccase dans du chitosane, avec des nanomatériaux ^[62-63] ou du chitosane + carraghénane ^[64], comme présenté dans le tableau II-3.

Tableau II-3: Comparaison des performances analytiques de biocapteurs à base de laccase publiés précédemment et utilisant le chitosane comme matrice d'immobilisation.

Matrice d'immobilisation de Lacasse	Plage linéaire [μM]	LOD [μM]	Durée de conservation [Jours]
Laccase/MWCT/ Chitosane ^[65]	0,091 –12.1	0,233	-
LBL Assemblages de chitosane/liquide ionique/ Phthalocyanine ^[66]	2,4 - 26	8,96x10⁻⁴	-
Nanoparticules de cuivre/chitosane/nanotubes de carbone à parois multiples/polyaniline-Au ^[67]	1 -500	0,156	10
Film composite graphène/chitosan ^[65]	2 - 100	0,26	10
Chitosane/ nanoparticules de Fe ₃ O ₄ /oxyde de graphène réduit ^[68]	6x10⁻³ -0,228	18x10⁻³	60
Chitosane/AuNPs/Phthalocyanine ^[69]	2,4-20	8,55x10⁻⁴	-
Fe ₃ O ₄ /polyaniline /laccase /chitosane ^[70]	0,5 - 80	0,4	60
chitosane modifié avec trymiristine ^[22]	10⁻¹⁴ - 10⁻⁹	10⁻¹⁴	60
Chitosane/ LambdaCarraghenane ^[71]	10⁻¹⁴-10⁻⁸	3x10⁻¹⁵	60
Oxyde de graphène /Glycerol/Chitosane ^[72]	0,2 -15	76x10⁻³	15
Chitosane/ Galactomannane / Laccase ^[73] Notre travail	10⁻¹⁶ x 10⁶ - 10⁻⁴ x10⁶	10⁻¹⁶ x10⁶	15

L'avantage de l'encapsulation d'une enzyme telle que la laccase dans un polysaccharide (chitosane) est que son activité est préservée et que certaines interférences sont annulées. L'intégration de nanomatériaux dans le chitosane augmente la sensibilité de détection. Il a été démontré que l'utilisation d'un complexe chitosane-carraghénane pour l'encapsulation d'une enzyme telle que le glucose oxydase augmente la sensibilité de la détection voltampérométrique du glucose^[74].

Dans ce travail, un composite polymère galactomannane/chitosane (CHIT) a été utilisé pour l'encapsulation de l'enzyme laccase dans un biocapteur voltampérométrique car il a été précédemment démontré que le galactomannane était capable de préserver l'activité enzymatique et cette propriété n'a jamais été appliquée à ce jour à la conception d'un biocapteur. Le composite enzyme/polymère a été déposé sur une électrode en or modifiée par un thiol, puis réticulé dans une vapeur de glutaraldéhyde par la formation de liaisons imides entre le glutaraldéhyde et les groupes amines du chitosane.

La laccase catalyse l'oxydation du pyrocatechol en 1,2-benzoquinone selon l'équation suivante :



o-quinone peut ensuite être réduit électrochimiquement en pyrocatechol à la surface de l'électrode, comme l'indique la réaction électrochimique :



Les performances analytiques du biocapteur à base de la laccase ont été déterminées pour la détection du catéchol, par la détection voltampérométrique de la 1,2-benzohydroquinone. Le contenu phénolique de l'huile d'olive a été testé sur des échantillons dilués, sans autre procédure de préparation. Le contenu phénolique de l'huile d'olive (composé principal : hydroxytyrosol) confère à ce produit des propriétés antioxydantes, cardioprotectrices, de piégeage des ROS et surtout un caractère anticancer^[75]. Une comparaison des huiles d'olive de différentes origines a été effectuée à l'aide de ce dispositif. Les résultats ont été comparés avec une méthode classique d'analyse, en l'occurrence, le test colorimétrique à partir du réactif de Folin-Ciocalteu.

II-1. Matériaux et méthodes

II-1.1. Réactifs

Acide sulfurique, éthanol, isopropanol, acétone, acide acétique, 4-aminothiophénol (4-ATP, 97%), chitosane (CHIT) (MW moyen = 45 kDa avec un degré d'acétylation >75,0 %), le glutaraldéhyde (GA), le pyrocatechol (≥ 99 %), la laccase (EC=1.10.3.2, de *Trametes versicolor*, 85 0,94 U/mg), le réactif phénolique de Folin et Ciocalteu (2M) et le carbonate de sodium ont été fournis par Sigma-Aldrich. Des solutions aqueuses sont préparées en utilisant de l'eau Milli Q (résistivité 18,2 M Ω ·cm). Une solution tampon de phosphate, PBS (0,1 M) est préparée à partir de sels de phosphate monopotassique et dipotassique, de chlorures de sodium et de potassium et ajustée à pH7.

II-1.2.Extraction de galactomannane à partir de graines de caroube (*ceratonia siliqua*)

L'extraction est réalisée selon le protocole décrit par Dakia et al^[54]:

Les graines de caroube sont composées de la cuticule, de l'endosperme et du germe. Elles sont séparées des gousses de caroube, à l'aide d'une pince.

La cuticule est séparée manuellement de l'endosperme après avoir chauffé les graines de caroube dans une solution sulfurique (H_2SO_4/H_2O 60/40 v/v), à 60 °C pendant 1 heure. Ce traitement carbonise la cuticule. Les germes sont ensuite séparés manuellement en fendant l'endosperme dans le sens de la longueur, après avoir été trempés dans l'eau pendant une nuit. Afin d'obtenir la gomme de caroube brute (gomme de caroube (LBG)), les endospermessontlavés, séchés et broyés. La gomme de caroube est dissoute dans de l'eau chaude (80 °C) pendant une nuit. La solution est ensuite centrifugée et le surnageant est récupéré. Après addition d'isopropanol à 40 °C et centrifugation, le précipitéestrécupéré sous forme de gomme blanche contenant du galactomannane (GAL). A partir de la gomme de caroube brute, le taux de récupération est de 13%.

II-1.3. Caractérisation du biocapteur à base de laccase

Les spectres FTIR sont enregistrés sur le film de galactomannane et sur le film de laccase/galactomannane+chitosane déposé à la goutte sur l'électrode en or, en utilisant un microscope Continuum Nicolet couplé au spectromètre infrarouge Nexus en mode de réflexion spéculaire, équipé d'un détecteur MCT. La résolution utilisée pour les mesures est égale à 4 cm^{-1} et le signal est traité par apodisation de Happgenzel.

La masse molaire moyenne du galactomannane dissous dans l'eau (1% (p/p)) est déterminée par chromatographie d'exclusion stérique, en utilisant un système Agilent Technologies [22].

Des images de microscopie électronique à balayage (MEB) sont réalisées sur le film de galactomannane et sur le film de laccase / galactomannane + chitosane déposé sur l'électrode en or, en utilisant un MEB VEGA TESCAN.

Des mesures de voltampérométrie cyclique (CV) sont effectuées à température ambiante à l'aide de l'instrument d'analyse SPS Bio-Logic (Bio-Logic, France). Le traitement des données est réalisé à l'aide du logiciel EC LAB. Une cellule à trois électrodes de 5 ml équipée d'une plaque de platine comme contre-électrode, d'une électrode Ag/AgCl comme électrode de référence et d'une plaque d'or modifiée comme électrode de travail sont utilisées. Pour la caractérisation électrochimique de l'électrode en or modifiée, les mesures de CV sont

effectuées dans du PBS 10 mM $[\text{Fe}[(\text{CN})_6]^{3-/4-}]$ (0,1M, pH 7), à une vitesse de balayage de 80 mV/s. Pour la détermination des performances analytiques du biocapteur, les mesures de CV sont effectuées en présence de différentes concentrations de pyrocatechol dans une solution de PBS (0,1 M, pH 7), à une vitesse de balayage de 80 mV/s.

II-1.4.Préparation de l'électrode en or modifiée par laccase

Les substrats en or (300 nm de couche d'or/ 30 nm de couche de titane/ 300 nm SiO_2 / p-type Si/300 nm SiO_2) sont fournis par le réseau français RENATECH (LAAS, CNRS Toulouse, France). La surface de l'électrode est nettoyée dans de l'acétone pendant 5 minutes, puis dans de l'eau UP, et enfin incubée dans une solution piranha ($\text{H}_2\text{SO}_4:\text{H}_2\text{O}_2=3 : 1$ v/v), puis nettoyée dans de l'eau UP avec séchage sous flux d'azote. La figureII-13 illustre la fabrication du film LAC/CHIT+GAL sur l'électrode en or.

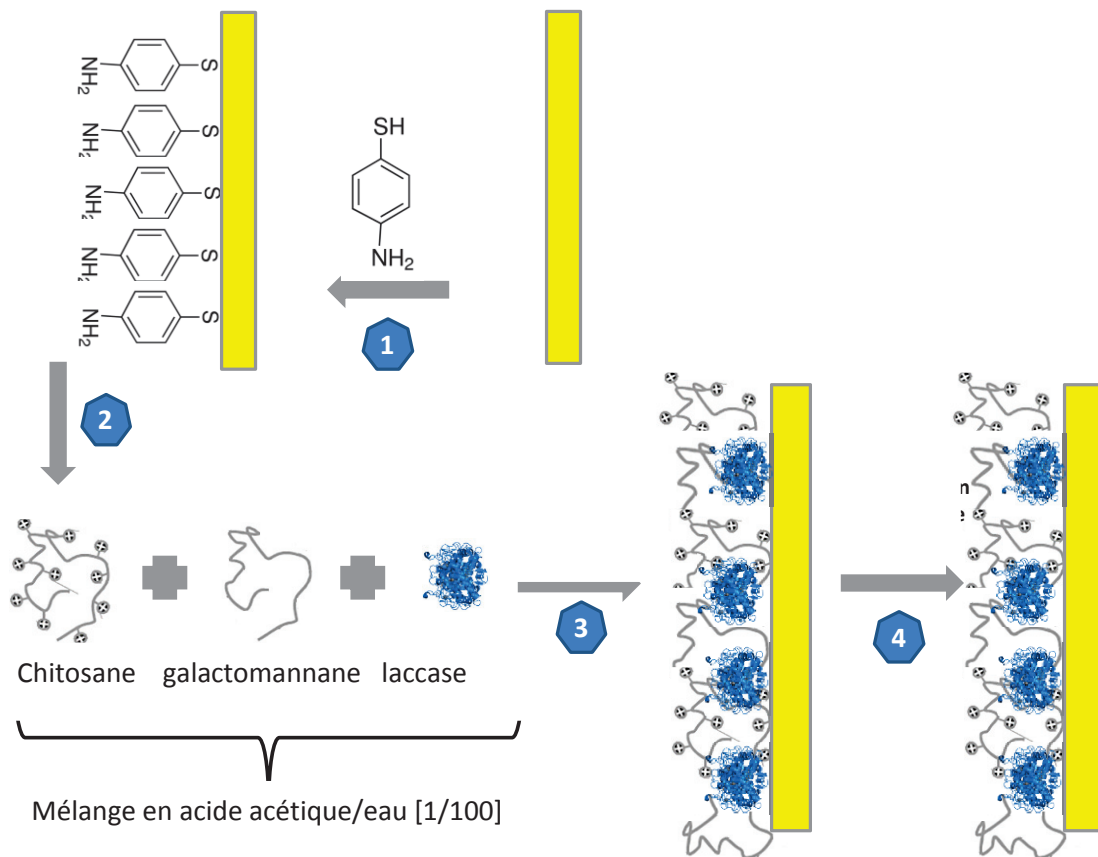


Figure II-13. Illustration schématique de la fabrication du film LAC/CHIT+GAL sur l'électrode en or.

- **Étape 1 :** formation de la monocouche auto-assemblée de 4-ATP ;
- **Étape 2 :** formation du mélange laccase/chitosane+galactomannane ;
- **Étape 3 :** dépôt du film laccase/galactomannane + chitosane sur l'électrode en or ;

➤ **Étape 4** : réticulation dans la vapeur de glutaraldéhyde pendant 20 minutes.

Les électrodes nettoyées sont incubées dans une solution éthanolique de 4-ATP à 0,1 M pendant 12 heures pour former une monocouche auto-assemblée (SAM) ancrée sur la surface de l'électrode. L'électrode est ensuite rincée à l'éthanol.

Une solution de gel est préparée en mélangeant 0,5 ml de solution S₁ et 0,5 ml de solution S₂:

- S₁ : 10 mg de chitosane dissous dans 0,1 ml d'acide acétique + 4,9 ml d'eau après 24 heures.
- S₂ : 10 mg de galactomannane dissous dans 5 ml d'eau chaude (45 °C) après 5 heures.

10 mg de laccase sont mélangés dans la solution de gel. 10 µl de ce mélange laccase / chitosane + galactomannane sont déposés sur la surface de l'électrode en or / 4-ATP. Cette surface est ensuite exposée à une vapeur de glutaraldéhyde pendant une durée optimisée de 20 min. La vapeur de glutaraldéhyde est générée dans un récipient fermé, au-dessus d'une solution de glutaraldéhyde à 25% dans l'eau, à température ambiante. Cette vapeur contient des monomères de glutaraldéhyde qui réticule les groupes amino du chitosane et du 4-ATP en formant des groupes imine. Cette étape a donc permis d'assurer l'ancrage du film réticulé de laccase / chitosane + galactomannane sur l'électrode en or et de diminuer le taux d'hydratation du film. Enfin, l'électrode en or modifiée LAC/CHIT+GAL est maintenue à 4 °C pendant 24 heures.

II-1.5. Application du biocapteur pour la détection du contenu phénolique dans les échantillons d'huile d'olive

Des huiles d'olive de différentes origines (Tunisie, Algérie, Maroc, Espagne) sont testées. Les huiles d'olive sont constituées de mélanges d'huiles d'olive raffinées et d'huiles d'olive vierges. Les échantillons sont conservés à l'obscurité et à température ambiante, puis ouverts juste avant leur utilisation afin d'éviter leur dégradation par oxydation. Dans des conditions optimisées : des échantillons d'huile (1 g) dilués à 5 mL avec de l'hexane sont placés dans des tubes à essai. Ensuite, 100 µL de solution aqueuse de HCl 1 M sont ajoutés et le mélange est agité pendant 2 min en utilisant une agitation tourbillonnaire. Les phases sont séparées par centrifugation pendant 10 minutes à 4000 tours/minute. La phase organique supérieure est soigneusement éliminée à l'aide d'une pipette en verre et la phase aqueuse acide restante (40 µL) est récupérée à l'aide d'une seringue pour l'analyse finale. Des mesures voltampérométriques cycliques sont effectuées dans cet extrait, après dilution dans du PBS 0,1M, pH 7 pour la détection électrochimique du contenu phénolique. Un test colorimétrique

est réalisé dans cet extrait en utilisant le réactif Folin-Ciocalteu à des fins de comparaison. Le réactif de Folin-Ciocalteu est composé d'un mélange d'acide phosphotungstique $H_3PW_{12}O_{40}$ et d'acide phosphomolybdique $H_3PMo_{12}O_{40}$, capables d'oxyder les composés phénoliques puis de les réduire, ce qui entraîne une augmentation de l'absorption à 765 nm ^[74]. 40 μ l de l'extrait sont mélangés avec 200 μ L de réactif Folin-Ciocalteu et 800 μ L de solution de Na_2CO_3 à 7,5 %, dilués jusqu'à 4 ml et incubés pendant 2 h à l'obscurité avant la détermination spectrophotométrique ; l'absorbance est mesurée à 765 nm. La courbe d'étalonnage est construite en utilisant des étalons aqueux d'acide caféique de 0 à 300 mg/L (N = 5) dans du HCl 1 M.

II-2. Résultats et discussion

II-2.1. Caractérisation du galactomannane préparé

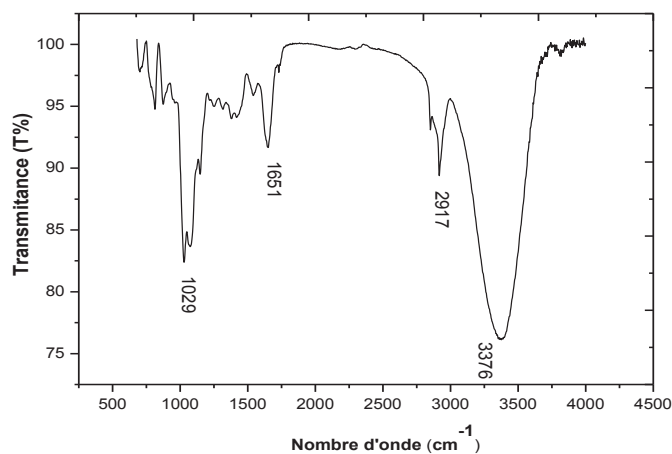
Le spectre FTIR du galactomannane est illustré dans la **figureII-14a**. Comme elles ont été précédemment identifiées ^[4], les caractéristiques des bandes d'absorption du galactomannane révèlent : la bande d'absorption à 1651 cm^{-1} pour le groupe carbonyle cétonique. Le GAL a montré des pics caractéristiques à 3376 cm^{-1} pour l'étirement du groupe O-H et à environ 2917 cm^{-1} pour le repliement/déplacement du groupe CH_2 . Un large pic à 1029 cm^{-1} représentait l'étirement du groupe C-O-H.

TableauII-4:Bandes d'absorption IR caractéristiques du galactomannane.

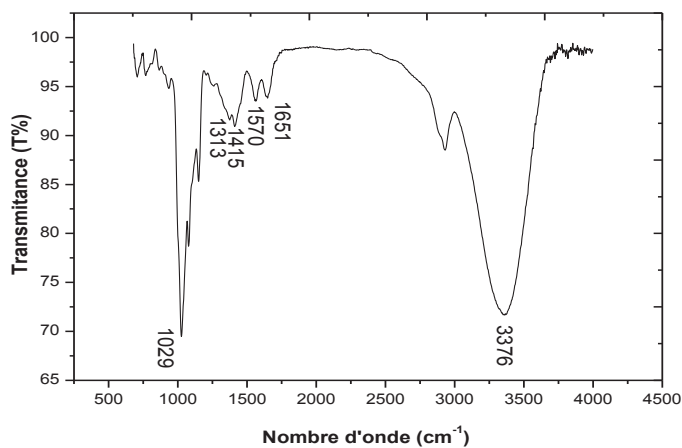
Nombre d'onde (cm^{-1})	Groupe caractéristique	Réfs
3376,00	ν_{O-H} eau et polymère	[76]
2917,16	ν_{C-H} de CH_2 asymétrique	[77]
2850,83	ν_{C-H} de CH_2 symétrique	[77]
1729,22	$\nu_{C=O}$ du groupement carboxylique (COOH) de l'acide galacturonique	[78]
1651,41	δ_{O-H} Molécule de glucides hydratation amides	[39]
1541,18	ν_{COH}	[79]
1379,88	ν_{CH_2} Symétrique	
1316,47		
1250,49		
1148,46	ν_{C-O-C} , ν_{C-O-H} Liaisons osidiques des structures polysaccharidiques	[80]
1074,59		
1029,12		

813,00	Unité β -D-mannopyranose	[55]
875,04	Unité α -D-galactopyranose (oscillations CH des conformateurs α et β)	
684,83	Cristallinité du polymère.	[81]

ν : vibration de valence
 δ : déformation



(a)



(b)

Figure II-14.a) Spectre FTIR du galactomannane préparé ; **b)** Spectre FTIR du film de laccase / galactomannane + chitosane préparé

Le poids moléculaire du galactomannane est de 850 kDa avec un indice de polydispersité de 1,57. Cette valeur est proche de celle du galactomannane extrait après traitement acide des graines de caroube ^[54]. Dans ce type de GAL, le rapport mannose/galactose est de 3,6, selon

l'unité moléculaire présentée sur la figure II-12. Ce type de polysaccharide présente un caractère non ionique ^[59], il peut donc être facilement incorporé dans un polymère à charge positive tel que le chitosane. La charge globale de ce composite est alors positive. La laccase dont le point isoélectrique est de 3,6 ^[22] est chargée négativement à pH 5-6 et peut être étroitement encapsulée dans ce composite chargé positivement.

II-2.2. Caractérisation de l'électrode en or modifiée avec le film de laccase / chitosane + galactomannane

- Caractérisation spectroscopique

Le spectre FTIR du film de laccase / galactomannane + chitosane préparé est représenté sur la **figure II-14b**. Les principaux pics du galactomannane (1651 cm^{-1} , 3376 cm^{-1} , 2917 cm^{-1} , 1029 cm^{-1}) et du chitosane (1415 cm^{-1} , 1313 cm^{-1}) sont indiqués. La présence de la laccase encapsulée dans le film de chitosane + galactomannane est mise en évidence par l'apparition de deux bandes d'absorption à 1570 cm^{-1} et 1651 cm^{-1} , caractéristiques de l'amide I et de l'amide II respectivement de la laccase ^[82].

- Caractérisation microscopique

Les images MEB du film de galactomannane+chitosane sans et avec laccase encapsulée sont présentées respectivement dans la **figure II-15a** et la **figure II-15b**. Le film de galactomannane+chitosane présente quelques fissures alors que l'encapsulation de la laccase hydrophile montre un film plus homogène avec une structure globulaire.

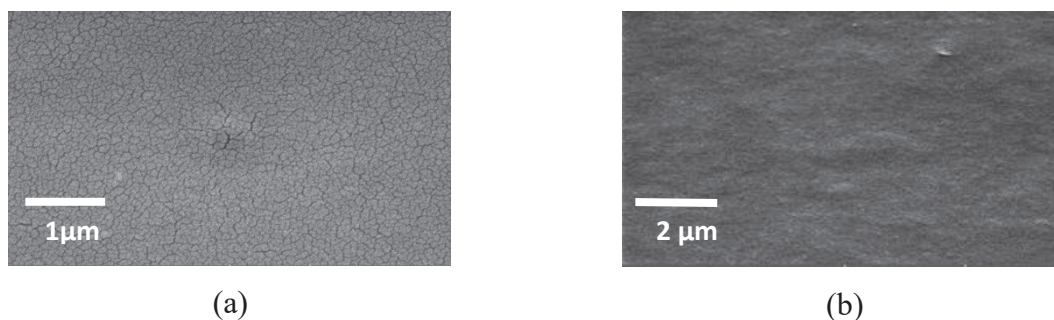


Figure II-15. Images MEB du film de chitosan+galactomannane sans **(a)** et avec la laccase encapsulée **(b)**.

- Caractérisation électrochimique

La méthode de voltampérométrie cyclique, en présence de la sonde redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$, permet d'étudier le transfert de charges à l'interface électrode/électrolyte modifiée. Les voltampérogrammes cycliques obtenus au cours des étapes successives de préparation de la modification de l'électrode en or sont représentés sur **la figure II-16**.

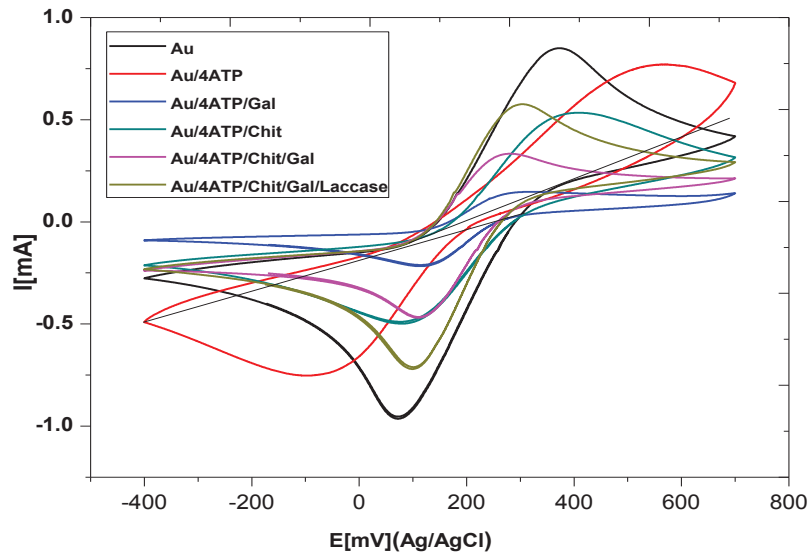


Figure II-16. Voltammogrammes cycliques obtenus pour : Au, Au/4-ATP ; Au/4-ATP/CHIT ; Au/4-ATP/GAL ; Au/4-ATP/CHIT/GAL, Au/4-ATP/CHIT/GAL/Laccase :10 mM $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ in PBS (0,1M, pH 7).

Tableau II-5: Intensités maximales des pics redox (I_a et I_c) et ΔE_p (différence de potentiel entre les pics redox) et pour les différentes étapes de la modification de l'électrode en or

Electrode	Au	Au/4ATP	Au/4ATP/CHIT	Au/4ATP/GAL	Au/4ATP/CHIT +GAL	Au/4ATP/CHIT +GAL/Laccase
ΔE_p [mV]	292	628	297	160	170	182
I_a [μA]	790	749	506	127	285	535
I_c [μA]	810	777	498	164	309	601

Dans le tableau, les intensités maximales des pics d'oxydoréduction (I_a et I_c) et ΔE_p sont indiquées pour les différentes étapes de la modification de l'électrode en or. Une forte augmentation de ΔE_p est observée après la formation de la SAM thiol à la surface de

l'électrode en or. La haute viscosité du film de galactomannane entraîne une forte diminution des pics d'intensité maximale ; l'insertion de galactomannane dans le chitosane entraîne une forte augmentation des pics d'intensité maximale d'un facteur supérieur à 2, ce qui montre l'amélioration du transfert de charges due à la présence de chitosane. Ce point montre l'intérêt d'utiliser du galactomannane = chitosane composite plutôt que du galactomannane pur pour la détection électrochimique. Après encapsulation de la laccase, les intensités maximales des pics sont doublées en raison de la présence de cuivre dans le site actif de l'enzyme ^[83].

II-2.3. Optimisation de la concentration des galactomannanes sur la réponse du biocapteur à base de laccase

Une série de capteurs contenant chacun un film obtenu à partir d'une solution galactomannane à différentes concentrations (à pH naturel) et à température ambiante, sont préparés en ajoutant la même concentration du chitosane : soit 1% et la même quantité de laccase. Les courbes de calibration obtenues pour la détection du pyrocatechol sont représentés sur **la figure II-17**.

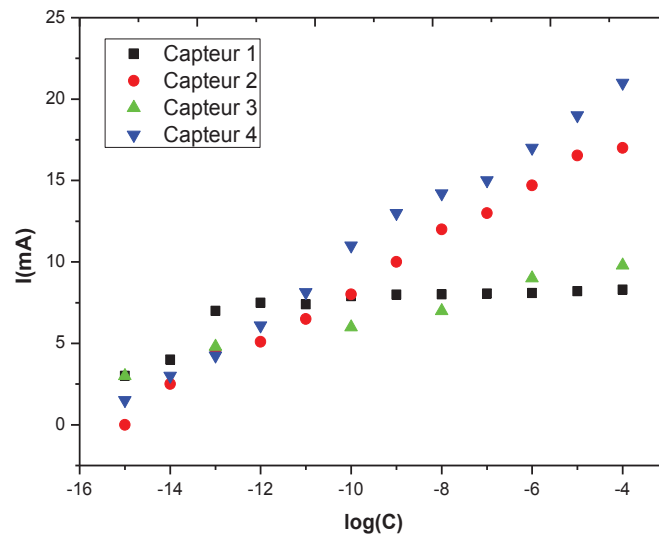


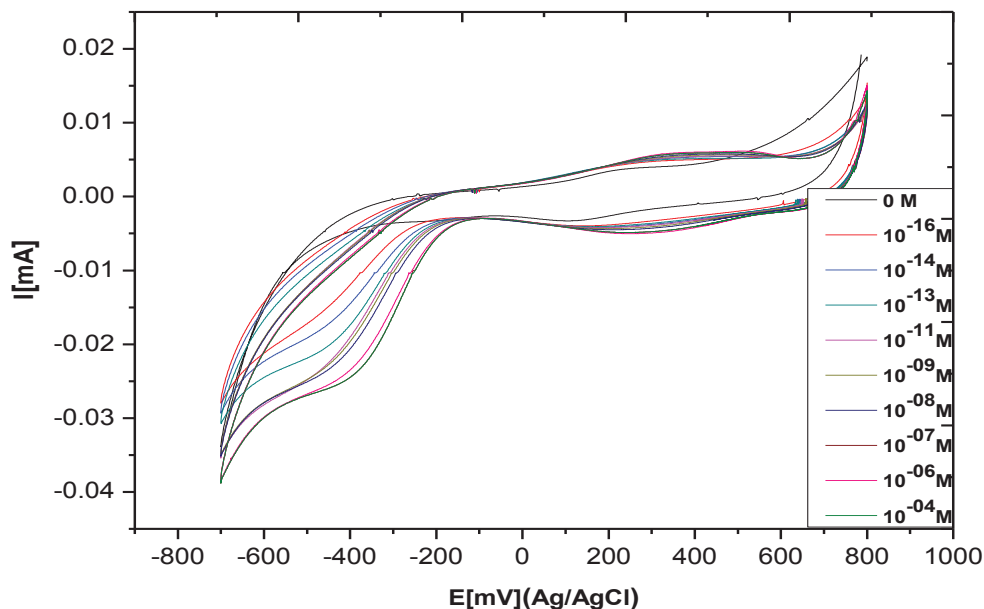
Figure II-17. Courbes de calibrations de différents biocapteurs à base de laccase : Variation de l'intensité maximale du pic en fonction du logarithme de la concentration de pyrocatechol.

- Capteur 1 capteur avec 1% chitosane en absence du galactomannane
- Capteur 2 capteur avec 1% chitosane en présence du 10 % galactomannane
- Capteur 3 capteur avec 1 % chitosane en présence du 0,1% galactomannane
- Capteur 4 capteur avec 1% chitosane en présence du 1 % galactomannane

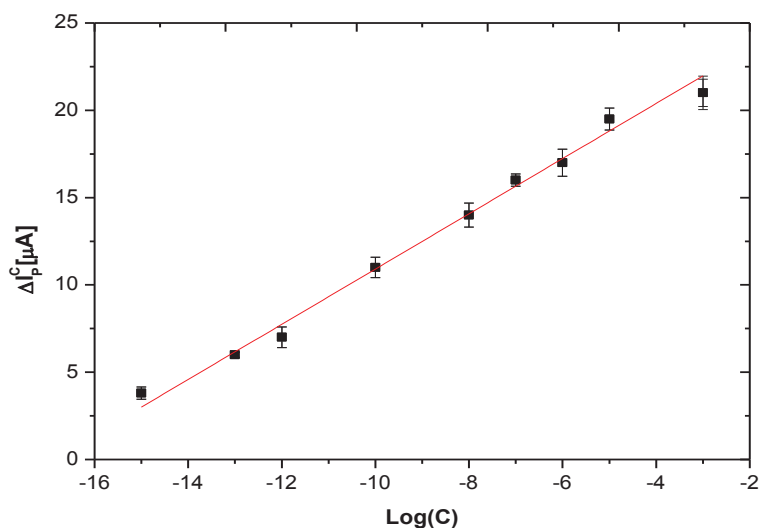
- La meilleure réponse des capteurs est celle du capteur avec 1% chitosane et 1 % galactomannane.
- Les résultats des courbes obtenues des capteurs avec deux polysaccharides galactomannane+chitosane montrent des bonnes sensibilités contrairement à celles du capteur avec le chitosane seul.

II-2.4. Performances analytiques du biocapteur

La **figure II-18a** présente les voltampérogrammes cycliques de l'électrode en or modifiée de Laccase/CHIT+GAL, en présence de pyrocatechol. Le pic de réduction correspondant à la réduction de la o-quinone apparaît à -447 mV pour des concentrations de pyrocatechol de 10^{-16} M. Lorsque les concentrations de pyrocatechol augmentent, le potentiel du pic de réduction est déplacé vers des potentiels positifs jusqu'à -380 mV pour les concentrations de pyrocatechol de 10^{-4} M. La valeur de ce potentiel cathodique est très faible par rapport à celle observée lorsque la laccase est encapsulée dans du chitosane + carraghénane (-1,35 V) [22]. Ce point montre que le transfert de charges est plus facile dans le film CHIT+GAL.



(a)



(b)

Figure II-18.a) Voltamogrammes cycliques observés pour l'électrode en or modifiée Laccase/CHIT+GAL en présence de différentes concentrations de pyrocatechol. Vitesse de balayage 80 mV/s. Solution de PBS (0,1 M, pH 7) ; **b)** Courbe de calibration du biocapteur à base de laccase : Variation de l'intensité maximale du pic en fonction du logarithme de la concentration de pyrocatechol.

L'intensité du pic cathodique augmente lorsque la concentration de pyrocatechol augmente. La variation de l'intensité maximale du pic cathodique est rapportée en fonction du logarithme de la concentration de pyrocatechol, dans la gamme de 10^{-16} M à 10^{-4} M sur la **figure II-18 b**. Une relation linéaire est observée entre I (intensité pour une concentration de pyrocatechol - intensité sans catéchol) et le logarithme de la concentration de pyrocatechol, dans la gamme 10^{-16} M à 10^{-4} M. La pente de la ligne droite est $S = 1,58 \mu\text{A}$, avec un coefficient de corrélation R^2 de 0,99. La limite de détection est calculée à partir de l'équation : $\text{LOD} = 3 \times \sigma/S$, où S est le bruit de fond du blanc. Elle est de l'ordre de 10^{-16} M. L'écart-type relatif pour trois biocapteurs est de 3,5%. La limite de détection obtenue se situe dans la plage inférieure de celles des biocapteurs à base de laccase publiés précédemment et fabriqués par encapsulation de laccase dans le chitosane, comme indiqué dans le tableau II-3^[65-73]. La constante apparente de Michaelis-Menten (K_M^{app}) de la laccase, déterminée à partir de la linéarisation de l'équation de Lineweaver-Burk, est égale à 3×10^{-11} M. Cette valeur basse, comparée au K_M de la laccase libre (8×10^{-5} M), peut être attribuée à bonne conformation de l'enzyme dans son environnement.

La répétabilité du biocapteur est testée. Les mesures sont effectuées après le stockage du biocapteur à 4 °C. L'écart type relatif constaté après 15 jours est de 5 %, ce qui montre la bonne conservation de la laccase dans le composite chitosane+galactomannane. Les résultats sont récapitulés dans la **Figure II-19**.

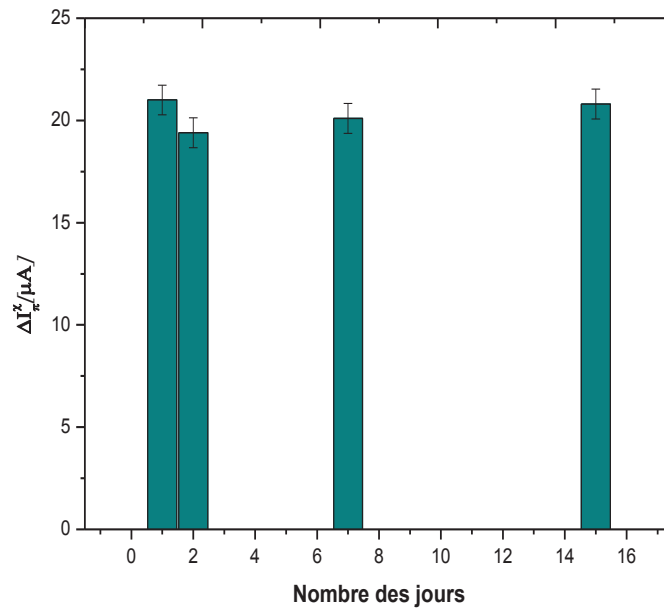


Figure II-19. Intensités du courant cathodique pour une concentration en Pyrocatechol à 10^{-4} M à différents jours.

II-2.5. Application du biocapteur pour l'estimation comparée du contenu phénolique dans les échantillons d'huile d'olive

Les voltammogrammes cycliques obtenus dans les extraits d'échantillons d'huile d'olive dilués dans une solution de PBS 0,1 M sont présentés à la **figure II-20**. Les potentiels des pics cathodiques sont dans la même gamme que ceux obtenus pour la détection du catéchol dans le PBS 0,1 M (**figure II-20a**).

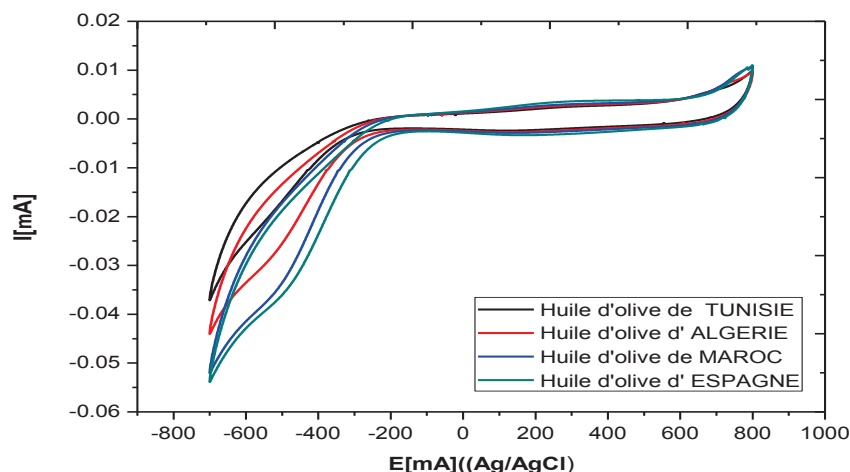


Figure II-20. Voltammogrammes cycliques obtenus en présence d'échantillons d'huile d'olive diluée dans du PBS (0,1M, pH 7).



Figure II-21. Coloration du réactif Folin et Ciocalteu en présence d'échantillons d'huile d'olive dilués dans du PBS (0,1M, pH 7) (1) huile d'olive de Tunisie (2) huile d'olive d'Algérie (3) huile d'olive d'Espagne (4) huile d'olive du Maroc (5) Couleur originale du réactif Folin et Ciocalteu

Une comparaison graphique des résultats obtenus par les biocapteurs à base de laccase (déterminé à partir de la courbe de calibration présentée en figure II-18) et par la méthode Folin-Ciocalteu (obtenue par une calibration de la méthode colorimétrique) est représentée sur la **figureII-22**. Comme on peut l'observer, des concentrations plus faibles sont systématiquement trouvées avec le biocapteur par rapport à celles obtenues avec la méthode colorimétrique. Ce résultat peut s'expliquer comme suit : la méthode Folin-Ciocalteu estime la teneur totale en polyphénols alors que le biocapteur détecte la concentration de pyrocatechol

et d'autres monophénols ; de plus, le réactif de Folin-Ciocalteu est considéré comme un réactif non spécifique par de nombreux auteurs car il peut être réduit par des composés non phénoliques [84]. Ainsi, la méthode Folin-Ciocalteu pourrait également refléter la présence d'autres espèces oxydables présentes dans l'extrait de l'échantillon. Malgré ces différences, la **figure II-22** montre une forte corrélation entre les résultats obtenus par les deux méthodes. L'encapsulation de la laccase dans le composite chitosan+galactomannane empêche tout effet d'inhibition de la laccase par les métaux lourds et les composés sulfhydriles [85] qui pourraient être présents dans les échantillons d'huile d'olive. En conséquence, pour estimer la capacité antioxydante des échantillons d'huile d'olive, nous pouvons conclure que le biocapteur à base de laccase obtenu est une alternative valable à la méthode Folin-Ciocalteu.

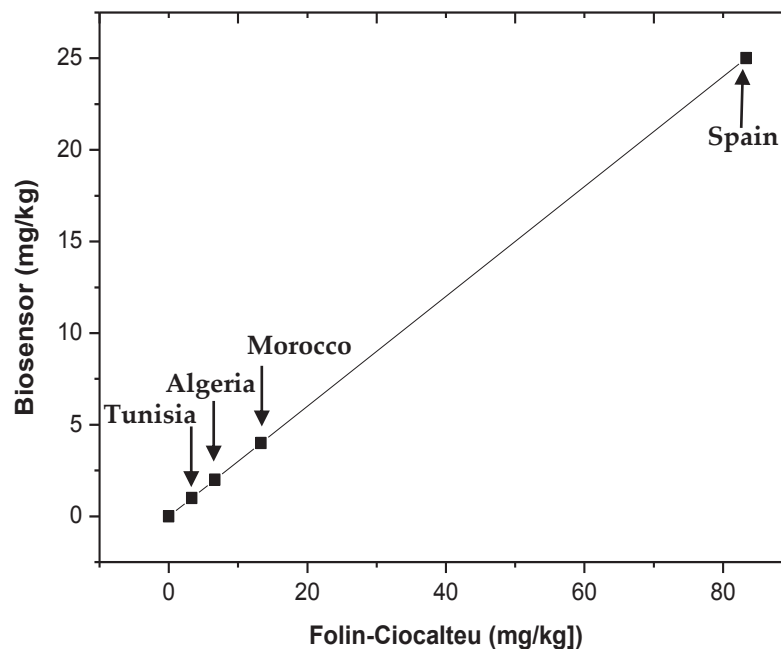


Figure II-22. Comparaison graphique des résultats obtenus avec le biocapteur à base de laccase et avec la méthode Folin-Ciocalteu. La teneur en composés phénoliques donnée par le biocapteur est déterminée à partir de la courbe de calibration présentée en figure II-18. La teneur en composés phénoliques donnée par la méthode de Folin-Ciocalteu est obtenue par une calibration de la méthode colorimétrique

II-3. Conclusion

Le Galactommanane est extrait des graines de caroube et caractérisé. Il est utilisé pour la première fois pour la fabrication d'un biocapteur par l'encapsulation de la laccase dans un composite chitosan+galactomannane. Ce composite est capable d'assurer un bon taux de transfert de charges. L'activité de la laccase est bien préservée dans ce composite et la sensibilité de détection du pyrocatechol dans la gamme 10^{-16} M - 10^{-4} M est très élevée. La réponse voltampérométrique du biocapteur est stable pendant plus de deux semaines. Pour estimer la capacité antioxydante des échantillons d'huile d'olive, il a été démontré que le biocapteur à base de laccase obtenu est une alternative valable à la méthode colorimétrique Folin-Ciocalteu.

Référence (CHAPITRE II)

1. Bratby, J. (2016). *Coagulation and flocculation in water and wastewater treatment*. IWA publishing.
2. Muthukumar, M. (2017). 50th anniversary perspective: A perspective on polyelectrolyte solutions. *Macromolecules*, 50(24), 9528-9560
3. Sergeeva, A. S., Gorin, D. A., & Volodkin, D. V. (2014). Polyelectrolyte microcapsule arrays: preparation and biomedical applications. *BioNanoScience*, 4(1), 1-14.
4. Jha, P. K., Desai, P. S., Li, J., & Larson, R. G. (2014). pH and salt effects on the associative phase separation of oppositely charged polyelectrolytes. *Polymers*, 6(5), 1414-1436.
5. Qi, X., & Tester, R. F. (2019). Utilisation of dietary fibre (non-starch polysaccharide and resistant starch) molecules for diarrhoea therapy: A mini-review. *International journal of biological macromolecules*, 122, 572-577.
6. Sinha, A. K., Kumar, V., Makkar, H. P., De Boeck, G., & Becker, K. (2011). Non-starch polysaccharides and their role in fish nutrition—A review. *Food Chemistry*, 127(4), 1409-1426.
7. Bellich, B., D'Agostino, I., Semeraro, S., Gamini, A., & Cesàro, A. (2016). “The good, the bad and the ugly” of chitosans. *Marine drugs*, 14(5), 99.
8. Younes, I., & Rinaudo, M. (2015). Chitin and chitosan preparation from marine sources. Structure, properties and applications. *Marine drugs*, 13(3), 1133-1174.
9. El Knidri, H., Belaabed, R., Addaou, A., Laajeb, A., & Lahsini, A. (2018). Extraction, chemical modification and characterization of chitin and chitosan. *International journal of biological macromolecules*, 120, 1181-1189.
10. Aranaz, I., Harris, R., & Heras, A. (2010). Chitosan amphiphilic derivatives. Chemistry and applications. *Current Organic Chemistry*, 14(3), 308-330.
11. Guo, T. Y., Xia, Y. Q., Wang, J., Song, M. D., & Zhang, B. H. (2005). Chitosan beads as molecularly imprinted polymer matrix for selective separation of proteins. *Biomaterials*, 26(28), 5737-5745.
12. Kamaruddin, N. H., Bakar, A. A. A., Yaacob, M. H., Mahdi, M. A., Zan, M. S. D., & Shaari, S. (2016). Enhancement of chitosan-graphene oxide spr sensor with a multi-metallic layers of au–ag–au nanostructure for lead (ii) ion detection. *Applied Surface Science*, 361, 177-184

13. Crini, G. (2009). *Chitine et chitosane: du biopolymère à l'application*. Presses Univ. Franche-Comté.
14. Motia, S., Bouchikhi, B., & El Bari, N. (2020). An electrochemical molecularly imprinted sensor based on chitosan capped with gold nanoparticles and its application for highly sensitive butylated hydroxyanisole analysis in foodstuff products. *Talanta*, 223, 121689.
15. Rinaudo, M. (2006). Chitin and chitosan: properties and applications. *Progress in polymer science*, 31(7), 603-632.
16. Zargar, V., Asghari, M., & Dashti, A. (2015). A review on chitin and chitosan polymers: structure, chemistry, solubility, derivatives, and applications. *ChemBioEng Reviews*, 2(3), 204-226.
17. Hamed, I., Özogul, F., & Regenstein, J. M. (2016). Industrial applications of crustacean by-products (chitin, chitosan, and chitoooligosaccharides): A review. *Trends in food science & technology*, 48, 40-50.
18. Sorlier, P., Denuzière, A., Viton, C., & Domard, A. (2001). Relation between the degree of acetylation and the electrostatic properties of chitin and chitosan. *Biomacromolecules*, 2(3), 765-772.
19. Mao, S., Shuai, X., Unger, F., Simon, M., Bi, D., & Kissel, T. (2004). The depolymerization of chitosan: effects on physicochemical and biological properties. *International journal of pharmaceutics*, 281(1-2), 45-54.
20. Préchoux, A., Genicot, S., Rogniaux, H., & Helbert, W. (2013). Controlling carrageenan structure using a novel formylglycine-dependent sulfatase, an endo-4S-iota-carrageenan sulfatase. *Marine biotechnology*, 15(3), 265-274.
21. Zakuwan, S. Z., & Ahmad, I. (2018). Synergistic effect of hybridized cellulose nanocrystals and organically modified montmorillonite on κ -Carrageenan bionanocomposites. *Nanomaterials*, 8(11), 874.
22. Chakroun Galai, H., Rassas, I., Namour, P., Bonhomme, A., Raimondi, G., Besbes Hentati, S., & Jaffrezic-Renault, N. (2020). A Laccase/Chitosan-Lambda-Carrageenan Based Voltammetric Biosensor for Phenolic Compound Detection. *Electroanalysis*, 32(4), 732-740.
23. Dakia, P. A., Wathelet, B., & Paquot, M. (2007). Isolation and chemical evaluation of carob (*Ceratonia siliqua* L.) seed germ. *Food Chemistry*, 102(4), 1368-1374.
24. Boutasknit, A., Baslam, M., Ait-El-Mokhtar, M., Anli, M., Ben-Laouane, R., Douira, A., El Modafar, C., Mitsui, T. & Meddich, A. (2020). Arbuscular Mycorrhizal Fungi Mediate Drought Tolerance and Recovery in Two Contrasting Carob (*Ceratonia siliqua* L.)

- Ecotypes by Regulating Stomatal, Water Relations, and (In) Organic Adjustments. *Plants*, 9(1), 80.
25. Battle, I., & Tous, J. (1997). *Carob tree: Ceratonia siliqua L.*-Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. 17. Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research, Gatersleben/International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy. International Plant Genetic Resources Institute, 1997. ISBN 92-9043-328-X
26. Baumel, A., Mirleau, P., Viruel, J., Bou Dagher Kharrat, M., La Malfa, S., Ouahmane, L., Diadema, K., Moakhar, M., Sanguin, H. & Médail, F. (2018). Assessment of plant species diversity associated with the carob tree (*Ceratonia siliqua*, Fabaceae) at the Mediterranean scale. *Plant Ecology and Evolution*, 151(2), 185-193.
27. Talhouk, S. N., Van Breugel, P., Zurayk, R., Al-Khatib, A., Estephan, J., Ghalayini, A. Debian, N. & Lychaa, D. (2005). Status and prospects for the conservation of remnant semi-natural carob *Ceratonia siliqua L.* populations in Lebanon. *Forest ecology and management*, 206(1-3), 49-59.
28. Ait Chitt, M., Belmir, H., & Lazrak, A. (2007). Production de plants sélectionnés et greffés de caroubier. *Bulletin mensuel d'information et de liaison du PNTTA MAPM/DERD*, 153, 1-4.
29. Linskens, H. F., & Scholten, W. (1980). The flower of carob. *Portugaliae Acta Biologica*, A, 16(1/4), 95-101.
30. Correia, P. J., & Martins-Loução, M. A. (2005). The use of macronutrients and water in marginal Mediterranean areas: the case of carob-tree. *Field Crops Research*, 91(1), 1-6.
31. Barracosa, P., Osorio, J., & Cravador, A. (2007). Evaluation of fruit and seed diversity and characterization of carob (*Ceratonia siliqua L.*) cultivars in Algarve region. *Scientia Horticulturae*, 114(4), 250-257.
32. Biner, B., Gubbuk, H., Karhan, M., Aksu, M., & Pekmezci, M. (2007). Sugar profiles of the pods of cultivated and wild types of carob bean (*Ceratonia siliqua L.*) in Turkey. *Food Chemistry*, 100(4), 1453-1455.
33. Custódio, L., Fernandes, E., Escapa, A. L., Fajardo, A., Aligué, R., Alberício, F. Neng, N.R., Nogueira, J.M.F. & Romano, A. (2011). Antioxidant and cytotoxic activities of carob tree fruit pulps are strongly influenced by gender and cultivar. *Journal of agricultural and food chemistry*, 59(13), 7005-7012.
34. Fadel, F., Fattouch, S., Tahrouch, S., Lahmar, R., Benddou, A., & Hatimi, A. (2011). The phenolic compounds of *Ceratonia siliqua* pulps and seeds (Les composés phénoliques des

- pulpes et des graines de *Ceratonia siliqua*). *Journal of Materials and Environmental Science*, 2, 285-292.
35. Gillet, S., Blecker, C., Paquot, M., & Richel, A. (2014). La relation structure chimique–propriétés physiques des galactomannanes extraits de la caroube. *Comptes Rendus Chimie*, 17(4), 386-401.
36. Melgarejo, P., & Salazar, D. M. (2003). Tratado de fruticultura para zonas áridas y semiáridas, Vol. II: Algarrobo, granado y jinjolero. *Mundi-Prensa y AMV Ediciones. Madrid*.
37. Khelifa, M., Bahloul, A., & Kitane, S. (2013). Determination of chemical composition of carob pod (*Ceratonia siliqua* L) and its morphological study. *J. Mater. Environ. Sci*, 4(3), 348-353.
38. Cevoli, C., Balestra, F., Ragni, L., & Fabbri, A. (2013). Rheological characterisation of selected food hydrocolloids by traditional and simplified techniques. *Food hydrocolloids*, 33(1), 142-150.
39. López-Franco, Y. L., Cervantes-Montaña, C. I., Martínez-Robinson, K. G., Lizardi-Mendoza, J., & Robles-Ozuna, L. E. (2013). Physicochemical characterization and functional properties of galactomannans from mesquite seeds (*Prosopis* spp.). *Food Hydrocolloids*, 30(2), 656-660.
40. Rababah, T. M., Al-u'datt, M., Ereifej, K., Almajwal, A., Al-Mahasneh, M., Brewer, S., Alsheyab, F. & Yang, W. (2013). Chemical, functional and sensory properties of carob juice. *Journal of Food Quality*, 36(4), 238-244.
41. Germec, M., Cheng, K. C., Karhan, M., Demirci, A., & Turhan, I. (2019). Application of mathematical models to ethanol fermentation in biofilm reactor with carob extract. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 1-16.
42. Konstantas, A., Jeswani, H. K., Stamford, L., & Azapagic, A. (2018). Environmental impacts of chocolate production and consumption in the UK. *Food research international*, 106, 1012-1025.
43. Fihri, A. F., Al-Waili, N. S., El-Haskoury, R., Bakour, M., Amarti, A., Ansari, M. J., & Lyoussi, B. (2016). Protective effect of morocco carob honey against lead-induced anemia and hepato-renal toxicity. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 39(1), 115-122.
44. Barak, S., & Mudgil, D. (2014). Locust bean gum: processing, properties and food applications—a review. *International journal of biological macromolecules*, 66, 74-80.
45. Yatmaz, E., & Turhan, I. (2018). Carob as a carbon source for fermentation technology. *Biocatalysis and agricultural biotechnology*, 16, 200-208.

46. Gilbert, L., Loisel, V., Savary, G., Grisel, M., & Picard, C. (2013). Stretching properties of xanthan, carob, modified guar and celluloses in cosmetic emulsions. *Carbohydrate polymers*, 93(2), 644-650.
47. Bounaas, M., Bouguettoucha, A., Chebli, D., Gatica, J. M., & Vidal, H. (2020). Role of the Wild Carob as Biosorbent and as Precursor of a New High-Surface-Area Activated Carbon for the Adsorption of Methylene Blue. *Arabian Journal for Science and Engineering*, 1-17.
48. Rtibi, K., Selmi, S., Grami, D., Saidani, K., Sebai, H., Amri, M., Eto, B. & Marzouki, L. (2017). *Ceratonia siliqua* L.(immature carob bean) inhibits intestinal glucose absorption, improves glucose tolerance and protects against alloxan-induced diabetes in rat. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(8), 2664-2670.
49. Sebai, H., Souli, A., Chehimi, L., Rtibi, K., Amri, M., El-Benna, J., & Sakly, M. (2013). In vitro and in vivo antioxidant properties of Tunisian carob (*Ceratonia siliqua* L.). *Journal of Medicinal Plants Research*, 7(2), 85-90.
50. Kono, Y., Tsushima, K., Yamaguchi, K., Kurita, N., Soeda, S., Fujiwara, A., Sugiyama, S., Togashi, Y., Kasagi, S., To, M., To, Y., Setoguchi, Y. (2013). The utility of galactomannan antigen in the bronchial washing and serum for diagnosing pulmonary aspergillosis. *Respiratory Medicine*, 107(7), 1094-1100.
51. Zannou, O., Güclü, G., Koca, I., & Selli, S. (2019). Carob Beans (*Ceratonia siliqua* L.): Uses, Health Benefits, Bioactive And Aroma Compounds. *Turkish Journal of Scientific Reviews*, 12(1), 26-34.
52. Rasheed, D. M., El-Kersh, D. M., & Farag, M. A. (2019). *Ceratonia siliqua* (Carob-Locust Bean) Outgoing and Potential Trends of Phytochemical, Economic and Medicinal Merits. In *Wild Fruits: Composition, Nutritional Value and Products* (pp. 481-498). Springer, Cham.
53. Gezer, B. (2018). Adsorption capacity for the removal of organic dye pollutants from wastewater using carob powder. *International Journal of Agriculture Forestry and Life Sciences*, 2(1), 1-14.
54. Dakia, P. A., Blecker, C., Robert, C., Wathelet, B., & Paquot, M. (2008). Composition and physicochemical properties of locust bean gum extracted from whole seeds by acid or water dehulling pre-treatment. *Food Hydrocolloids*, 22(5), 807-818.
55. Leboukh, M., & Aouadi, S. (2017). Extraction and purification of galactmannans from *Gleditsia triacanthos* L. seeds. *Algerian Journal of Arid Environment*, 7(2), 72-77.

56. Lu, Y., & Foo, L. Y. (2002). Polyphenolics of Salvia—a review. *Phytochemistry*, 59(2), 117-140.
57. Pinelo, M., Del Fabbro, P., Manzocco, L., Nuñez, M. J., & Nicoli, M. C. (2005). Optimization of continuous phenol extraction from *Vitis vinifera* byproducts. *Food chemistry*, 92(1), 109-117.
58. Karim, F., & Fakhruddin, A. N. M. (2012). Recent advances in the development of biosensor for phenol: a review. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 11(3), 261-274.
59. Jana, S., & Sen, K. K. (2017). Chitosan—Locust bean gum interpenetrating polymeric network nanocomposites for delivery of aceclofenac. *International journal of biological macromolecules*, 102, 878-884.
60. Kaity, S., Isaac, J., & Ghosh, A. (2013). Interpenetrating polymer network of locust bean gum-poly (vinyl alcohol) for controlled release drug delivery. *Carbohydrate polymers*, 94(1), 456-467.
61. Campia, P., Ponzini, E., Rossi, B., Farris, S., Silveti, T., Merlini, L., Brasca, M., Grandoni, R. & Galante, Y. M. (2017). Aerogels of enzymatically oxidized galactomannans from leguminous plants: Versatile delivery systems of antimicrobial peptides and enzymes. *Carbohydrate polymers*, 158, 102-111.
62. Diaconu, M., Litescu, S. C., & Radu, G. L. (2010). Laccase—MWCNT—chitosan biosensor—A new tool for total polyphenolic content evaluation from in vitro cultivated plants. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 145(2), 800-806.
63. Salvo-Comino, C., Garcia-Hernandez, C., Garcia-Cabezón, C., & Rodríguez-Mendez, M. L. (2020). Promoting laccase sensing activity for catechol detection using LBL assemblies of chitosan/ionic liquid/phthalocyanine as immobilization surfaces. *Bioelectrochemistry*, 132, 107407.
64. Chawla, S., Rawal, R., & Pundir, C. S. (2011). Fabrication of polyphenol biosensor based on laccase immobilized on copper nanoparticles/chitosan/multiwalled carbon nanotubes/polyaniline-modified gold electrode. *Journal of biotechnology*, 156(1), 39-45.
65. Qu, J., Lou, T., Kang, S., & Du, X. (2014). Laccase biosensor based on graphene-chitosan composite film for determination of hydroquinone. *Analytical Letters*, 47(9), 1564-1578.
66. Fernandes, P. M., Campiña, J. M., & Silva, A. F. (2020). A layered nanocomposite of laccase, chitosan, and Fe₃O₄ nanoparticles-reduced graphene oxide for the nanomolar electrochemical detection of bisphenol A. *Microchimica Acta*, 187, 1-10.

67. Salvo-Comino, C., González-Gil, A., Rodríguez-Valentin, J., Garcia-Hernandez, C., Martin-Pedrosa, F., Garcia-Cabezon, C., & Rodríguez-Mendez, M. L. (2020). Biosensors Platform Based on Chitosan/AuNPs/Phthalocyanine Composite Films for the Electrochemical Detection of Catechol. The Role of the Surface Structure. *Sensors*, *20*(7), 2152.
68. Sadeghi, S., Fooladi, E., & Malekaneh, M. (2015). A new amperometric biosensor based on Fe₃O₄/polyaniline/laccase/chitosan biocomposite-modified carbon paste electrode for determination of catechol in tea leaves. *Applied biochemistry and biotechnology*, *175*(3), 1603-1616.
69. Chakroun Galai, H. C., Rahmouni, N., Namour, P., Bonhomme, A., Bessueille, F., Hentati, S. B., & Jaffrezic-Renault, N. (2020). Highly Sensitive Voltammetric Catechol Biosensor Based on Electroaddressing of Laccase Encapsulated in Modified Chitosan. *Sensor Letters*, *18*(3), 165-172.
70. Boujakhrouf, A., Jimenez-Falcao, S., Martínez-Ruiz, P., Sánchez, A., Díez, P., Pingarrón, J. M., & Villalonga, R. (2016). Novel reduced graphene oxide–glycol chitosan nanohybrid for the assembly of an amperometric enzyme biosensor for phenols. *Analyst*, *141*(13), 4162-4169.
71. Rassas, I., Braiek, M., Bonhomme, A., Bessueille, F., Rafin, G., Majdoub, H., & Jaffrezic-Renault, N. (2019). Voltammetric glucose biosensor based on glucose oxidase encapsulation in a chitosan-kappa-carrageenan polyelectrolyte complex. *Materials Science and Engineering: C*, *95*, 152-159.
72. Martínez, L., Ros, G., & Nieto, G. (2018). Hydroxytyrosol: Health benefits and use as functional ingredient in meat. *Medicines*, *5*(1), 13.
73. Boubezari, I., Bessueille, F., Bonhomme, A., Raimondi, G., Zazoua, A., Errachid, A., Jaffrezic-Renault, N. (2020) Laccase-based biosensor encapsulated in a galactomannan-chitosan composite for the evaluation of phenolic compounds. *Biosensors* *10*, 70
74. ISO14502-1, Determination of Substances Characteristic of Green and Black Tea – Part 1: Content of Total Polyphenols in Tea – Colorimetric Method Using Folin-Ciocalteu Reagent, (2005)
75. Hublik, G.; Schinner, F. Characterization and immobilization of the laccase from *Pleurotus ostreatus* and its use for the continuous elimination of phenolic pollutants. *Enzyme Microb. Technol.* 2000, *27*, 330-336
76. Issarani, R., & Nagori, B. P. (2004). FTIR-Spectrum Of Galactomannan Extracted From *Trigonella Foenum-Graceum*. *Indian journal of pharmaceutical sciences*, *66*(3), 358

77. Buriti, F. C., dos Santos, K. M., Sombra, V. G., Maciel, J. S., Teixeira Sá, D. M. T., Salles, H. O., Oliviera, G., de Paula, R.C.M., Feitosa, J.P.A., Monteiro Moreira, A.C.O., Moreira, R.A., & Egito, A.S. (2014). Characterisation of partially hydrolysed galactomannan from *Caesalpinia pulcherrima* seeds as a potential dietary fibre. *Food Hydrocolloids*, 35, 512-521.
78. Singh, V., Srivastava, A., & Tiwari, A. (2009). Structural elucidation, modification and characterization of seed gum from *Cassia javahikai* seeds: A non-traditional source of industrial gums. *International journal of biological macromolecules*, 45(3), 293-297.
79. Cerqueira, M. A., Souza, B. W., Simões, J., Teixeira, J. A., Domingues, M. R. M., Coimbra, M. A., & Vicente, A. A. (2011). Structural and thermal characterization of galactomannans from non-conventional sources. *Carbohydrate polymers*, 83(1), 179-185.
80. Anjos, O., Campos, M. G., Ruiz, P. C., & Antunes, P. (2015). Application of FTIR-ATR spectroscopy to the quantification of sugar in honey. *Food chemistry*, 169, 218-223.
81. Tul'chinsky, V. M., Zurabyan, S. E., Asankozhoev, K. A., Kogan, G. A., & Khorlin, A. Y. (1976). Study of the infrared spectra of oligosaccharides in the region 1,000-40 cm⁻¹. *Carbohydrate Research*, 51(1), 1-8.
82. Mei, Y., Miller, L., Gao, W., & Gross, R. A. (2003). Imaging the distribution and secondary structure of immobilized enzymes using infrared microspectroscopy. *Biomacromolecules*, 4(1), 70-74.
83. Zhu, Y., Zhang, Y., Zhan, J., Lin, Y., & Yang, X. (2019). Axial bonds at the T1 Cu site of *Thermus thermophilus* SG 0.5 JP 17-16 laccase influence enzymatic properties. *FEBS open bio*, 9(5), 986-995.
84. Fernández, E., Vidal, L., & Canals, A. (2018). Rapid determination of hydrophilic phenols in olive oil by vortex-assisted reversed-phase dispersive liquid-liquid microextraction and screen-printed carbon electrodes. *Talanta*, 181, 44-51.
85. Baldrian, P. (2006). Fungal laccases—occurrence and properties. *FEMS microbiology reviews*, 30(2), 215-242.

CHAPITRE III :

Conception d'un nouveau capteur
non-enzymatique basé sur une
pérovskite $A_2BO_{4+\delta}$ substituée
pour la détection
voltampérométrique du glucose

CHAPITRE III : Conception d'un nouveau capteur non-enzymatique basé sur une pérovskite $A_2BO_{4+\delta}$ substituée pour la détection voltampérométrique du glucose

Partie A

III- Introduction

Depuis plusieurs années, des études très importantes sur les pérovskites en tant que nanomatériaux ont été réalisées. En effet, le contrôle des caractéristiques morphologiques des particules nanométriques des pérovskites présente un grand intérêt. Grâce à leurs propriétés physico-chimiques en matière de magnétisme, de conductivité électrique, de la mobilité des ions oxygène à travers le réseau cristallin, leur stabilité thermique et chimique, leurs propriétés thermoélectriques et diélectriques et enfin leurs propriétés optiques, leurs domaines d'utilisation dans des applications technologiques ne cessent d'augmenter ^[1-9]. Les nano pérovskites ont été utilisées dans la modification de la cinétique de la réaction d'oxydation et de réduction de l'hydrogène et de l'oxygène ^[10]. Ces matériaux sont caractérisés aussi par une grande activité catalytique ^[11]. Dernièrement, plusieurs chercheurs les ont utilisées comme modificateur d'électrode pour la détection électrochimique des gaz, du glucose, d'urée et de H_2O_2 ^[12-20]. Ils peuvent améliorer les performances catalytiques en termes de sélectivité, de sensibilité, de reproductibilité et de stabilité. Ils sont utilisés aussi dans de nombreux dispositifs technologiques tels que : les piles solaires ^[10-21], les piles à combustible ^[22] et la catalyse ^[23-25].

Ce chapitre présente brièvement les oxydes pérovskites y compris la structure cristalline, les procédés de synthèse, les propriétés de base et la caractérisation. Dans un deuxième lieu, on explique l'avantage d'utiliser ces composés dans la conception et le développement de capteurs en mettant l'accent sur un nouveau dispositif non-enzymatique basé sur une pérovskite $A_2BO_{4+\delta}$ substituée, pour la détection voltampérométrique du glucose.

III-1. Structure pérovskite

L'une des classes les plus importantes des oxydes de métaux de transition est celle ayant la structure pérovskite ^[26-27]. La structure minérale CaTiO₃ (titanate de calcium) fut observée pour la première fois par le géologue Gustav Rose dans les montagnes de l'Oural en 1839 et elle a été nommée pérovskite en reconnaissance du comte Lev Alexevich von Perovski, un éminent minéralogiste russe ^[28]. Dans la croûte terrestre, il existe plusieurs composés à structure pérovskite ^[29,30] dont les plus abondants sont les MgSiO₃ et FeSiO₃. La recherche sur les oxydes pérovskites est un domaine très vaste. A l'interface entre la chimie et la physique, ces matériaux ont montré plusieurs propriétés physiques et chimiques remarquables soit électriques, optiques ou magnétiques du fait que la majorité des éléments du tableau périodique peuvent être stables dans la structure pérovskite avec un pouvoir de substitution totale ou partielle des cations dans les sites A et B ^[31,34].

III-2. Structure cristallographique

Une pérovskite est un oxyde dont la formule générale chimique est ABO₃, où A est un cation alcalino-terreux ou une terre-rare de grand rayon qui habituellement occupe le centre de la structure et il est entouré de 12 ions oxygène (avec 12, nombre de coordination) et B représente le métal de transition trivalent à faible rayon qui occupe le coin tridimensionnel et qui est entouré par 6 ions oxygène sous forme d'octaèdre BO₆(avec 6, nombre de coordination) ^[35-36] (Figure III-1). Le groupe d'espace de l'arrangement atomique idéal dans une maille cubique (pérovskite idéale) est Pm $\bar{3}m$ ^[37]. Pour les pérovskites, le facteur de tolérance t, qui a été introduit par V.M. Goldschmidt en 1920 sur cette structure, est considéré comme un indicateur de stabilité et de distorsion de la pérovskite de la structure cubique idéale, applicable aux rayons ioniques empiriques à température ambiante. Il est défini de la manière suivante ^[38] :

$$t = (rA + rO) / \sqrt{2}(rB + rO) \quad (\text{Eq III.1})$$

rA, rB et rO représentent les rayons ioniques des ions A, B et de l'oxygène respectivement.

D'après l'équation (1), le facteur de tolérance t diminue lorsque rA diminue et/ou rB augmente. La structure de la pérovskite a été estimée par Hines et al ^[39] sur la base de l'analyse de la valeur du facteur de tolérance comme suit :

- $0.9 < t < 1$: la structure adoptée est la structure cubique pour laquelle les contraintes structurales au sein de la maille sont minimales ;
- $t > 1$, la structure de la pérovskite est hexagonale, le cation situé en site A est trop gros ;
- $t < 1$, la structure de la pérovskite est rhomboédrique ou orthorhombique, le cation situé en site A est trop petit.

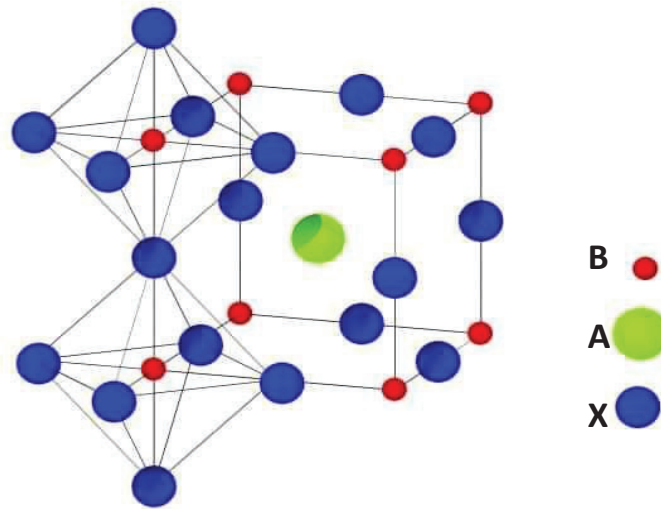


Figure III-1. Structure de la Pérovskite (ABO₃). Avec site A; site B.

X = O ou halogène

Il existe un très grand nombre de combinaisons possibles en ce qui concerne la nature des cations A et B pour les systèmes simples d'oxyde ABO₃ conduisant à différents états des valences cationiques. : Par exemple [I+V] = A^IB^VO₃ pour KNbO₃ [II+IV] = A^{II}B^{IV}O₃ pour CaFeO₃ [III+III] = A^{III}B^{III}O₃ pour LaCoO₃. Il existe aussi d'autres composés avec du soufre ou du fluor au lieu de l'oxygène. On distingue en fonction des types d'atomes qui occupent les sites A et B :

- 1- Les pérovskites simples : chaque site A et B est occupé par un seul type d'atome tel que PbTiO₃, SrCoO₃ et SnAlO₃, Al₂O₃, In₂O₃.
- 2- Les pérovskites complexes : l'un des deux sites A ou B est occupé par deux types d'atomes : La_{0,6}Sr_{0,4}CoO₃, La_{0,8}Ca_{0,2}MnO₃, La_{0,9}Sr_{0,1}CuO₃.

Des travaux ont décrit une famille de pérovskites en couches du type $A_nB_nO_{3n+2}$ ^[40,41]. La structure de ces composés se caractérise par un empilement de n couches d'octaèdres $[BO_6]$ distordus, le long de l'axe c . Ces octaèdres sont attachés par les sommets et établissent entre eux des chaînes infinies le long des axes a et b . Une autre structure pérovskite en feuillets à base de couches de type $A_{n-1}B_nO_{3n+1}$ peuvent être divisées en trois séries particulières ; les phases Ruddlesden-Poper (RP), $A_2[A'_{n-1}B_nO_{3n+1}]$ ^[42], les phases Dion Jacobson (DJ), $A[A'_{n-1}B_nO_{3n+1}]$ ^[44] et les phases Aurivillius $(Bi_2O_2)_{2+}[A_{n-1}B_nO_{3n+1}]$ ^[45] (A métal alcalin, A' terre rare, B métal de transition, n le nombre de couches de pérovskite) et ces structures sont caractérisées par l'empilement suivant l'axe c de n octaèdres $[BO_6]$ par feuillet. Au centre de ces feuillets, les octaèdres sont assemblés par les sommets et la valeur de n définit l'épaisseur du feuillet. Ils ont comme caractéristique commune des feuilles de pérovskites $[A'_{n-1}B_nO_{3n+1}]$ séparées par des cations échangeables.

Ces oxydes sont classés en pérovskites d'oxydes inorganiques, les pérovskites d'halogénures de métaux alcalins et les pérovskites d'halogénures de métaux organiques avec des anions d'oxydes ou d'halogénures^[46,47].

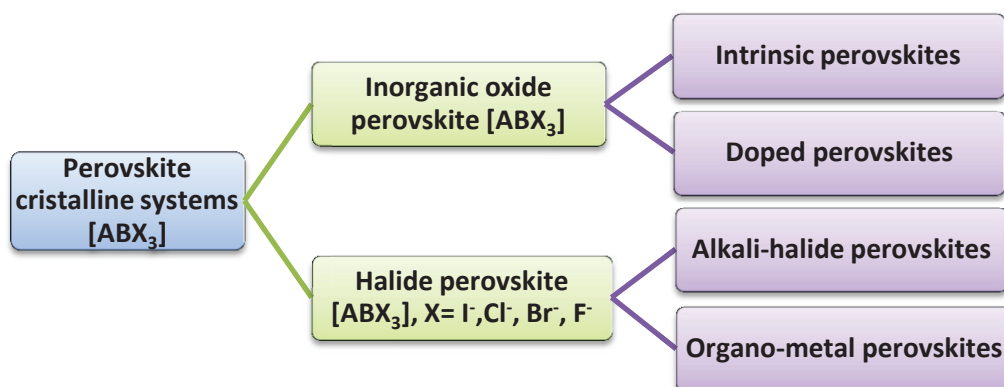


Figure III-2. Classification des pérovskites.

III-3. Procédés de synthèse

Afin d'évaluer des conditions menant à la formation de poudres de bonnes propriétés, il existe plusieurs méthodes d'élaboration de synthèse de poudre. Toutes ces méthodes de synthèse ont fait l'objet d'excellentes revues exhaustives^[25,48-50], on peut citer la synthèse par voie solide, voie sol gel, la co-précipitation et le procédé citrate-nitrate.

➤ **Par voie solide :**

Dans **la voie solide** appelée aussi la méthode classique, les produits de départ sont généralement des oxydes, des hydroxydes de cations ou des nitrates. Elle est basée sur le broyage et la calcination du mélange de ces produits pris en proportions stœchiométriques pour homogénéiser les composés. Le frittage a lieu à des températures élevées allant jusqu'à 1100 à 1400°C pendant des durées relativement longues. Cette méthode est aisée et rapide à mettre en œuvre car elle ne nécessite pas des préparations antérieures des précurseurs. En dépit d'une utilisation très répandue, cette méthode simple présente cependant plusieurs inconvénients ^[51-52]: la réaction est lente ; les procédés conventionnels ont des limites, en raison de la température élevée et de la période de chauffage prolongée ; le procédé est énergivore ; la composition du produit final obtenue peut être inhomogène.

➤ **Par la méthode de co-précipitation** ^[53-56] :

Elle repose sur la précipitation simultanée de deux sels de produits de départ afin d'obtenir un co-précipité homogène sous agitation pour une répartition aléatoire et des précurseurs dans le précipité. Pour atteindre les propriétés physiques souhaitées, les chercheurs se sont basés sur le contrôle de la température, de la vitesse de mélange, de la concentration et de l'ajustement du pH au cours de la réaction chimique de co-précipitation. Pour la synthèse des matériaux purs souhaités, le recuit est essentiel.

➤ **Par voie nitrate citrate ou polyacrylamide:**

Il existe deux autres méthodes qui consistent en l'intervention de la chélation des cations soit par voie nitrate citrate, soit par voie sol gel (polyacrylamide). Le principe de ces méthodes consiste en des réactions d'oxydoréduction qui sont exothermiques accompagnées par un dégagement d'une énergie importante (phénomène d'auto combustion). Malgré cet inconvénient, ces deux méthodes conduisent à la formation de produits purs à des températures basses par rapport à celles de la méthode classique et à l'échelle nanométrique.

- **Par voie nitrate- citrate** ^[60-63] :

Dans ce procédé, l'objectif est l'obtention d'une phase aqueuse dans laquelle les cations sont complexés à l'aide d'un agent chélatant. Parmi les agents chélatants les plus utilisés, il y a des composés carboxyliques tel que l'acide citrique. Ce ligand possède deux atomes donneurs d'électrons qui permettent d'établir des liaisons de coordinations plus stables avec les cations en solution. Dans le cas d'une solution de nitrates, l'acide citrique joue le rôle d'un réducteur vis-à-vis les ions nitrates. Après cette étape de complexation, il y a formation d'un gel visqueux puis une mousse rigide se forme en augmentant la température jusqu'à l'étape d'auto-combustion du précurseur. Le traitement thermique et le broyage sont nécessaires pour obtenir la phase finale. Cette technique est limitée par l'auto-combustion et par la petite quantité de matériau désiré qui donne lieu à des variations de granulométrie de la poudre finale. La voie gel polyacrylamide est capable de remédier à ce problème.

- **Par voie gel polyacrylamide** ^[57-59] :

La voie gel polyacrylamide est basée sur la chélation des cations en utilisant des monomères d'acrylamide avec un agent chélatant en augmentant l'homogénéité du précurseur par dispersion des cations dans le réseau polymérique organique. Elle présente de nombreux avantages qui sont en fait liés au rôle du précurseur organique intermédiaire possédant plusieurs fonctions.

- ✓ Elle permet une meilleure homogénéité ;
- ✓ Elle permet une formation plus aisée des grandes quantités de la poudre finale du fait d'une durée de temps moins longue et d'une température plus basse.

III-4. Caractérisations physico-chimiques

Les principales méthodes de caractérisation physico-chimiques utilisées sont : l'analyse thermique ATG/ATD^[63-65], la spectroscopie des photoélectrons induits par rayons X (XPS)^[66-68], la mesure de surface spécifique par la méthode BET^[69-71], la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) ^[72-74], la diffraction des rayons X (DRX)^[75-77], le microscope électronique à balayage ^[78-80] et le microscope électronique à transmission ^[81-82].

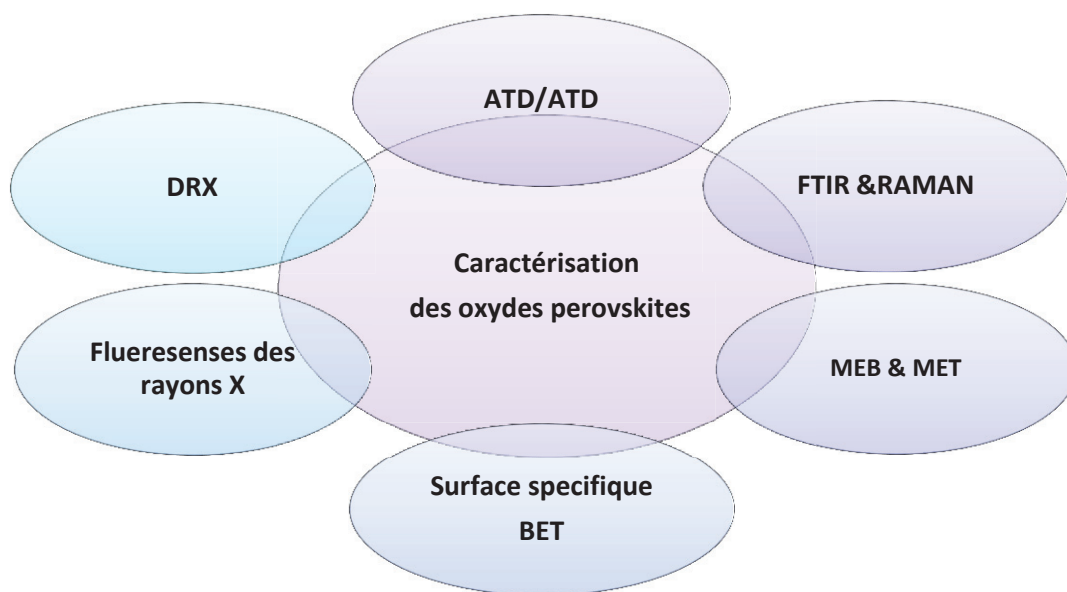


Figure III-3. Les principales méthodes de caractérisation des pérovskites.

III-5. Dopage des pérovskites

Les pérovskites possèdent différentes propriétés physiques et chimiques qui dépendent de leur composition cationique et de leur stœchiométrie en oxygène et qui ont été largement étudiées tant pour des applications pratiques que pour la modélisation théorique. Généralement, les propriétés les plus importantes sont : les propriétés photoélectriques, la supraconductivité : $\text{BaPb}_{1-x}\text{Bi}_x\text{O}_3$ [83], la magnétorésistance géante : $\text{La}_{0,85}\text{Ca}_{0,15}\text{MnO}_3$ [84], les propriétés catalytiques : $\text{La}_{1-x}\text{Ce}_x\text{CoO}_3$ [85], trois propriétés ferroïques: ferroélectricité, ferroélasticité, ferromagnétisme pour respectivement $\text{La}_{0,01}(\text{Ba}_{1-x}\text{Ca}_x)_{0,99}\text{TiO}_3$ [86], $\text{CH}_3\text{NH}_3\text{PbI}_3$ [87] et $\text{La}_{0,5}\text{Sr}_{0,5}\text{MnO}_3$ [88].

Selon la combinaison des molécules A et B utilisées, la substitution de sites A et/ou B, la méthode de synthèse et le traitement thermique, la structure de la pérovskite qui en résulte peut avoir de nombreuses propriétés différentes, en raison des changements de l'état d'oxydation des cations, de la modification de leur état chimique, de la formation des défauts structuraux et des lacunes en oxygène [89,90]. Le lien fort entre l'ion oxygène et l'ion du site B est le caractère de base des oxydes de type pérovskite. Ce site est responsable de l'activité catalytique [91-93]. En outre, l'ion du site A assure la stabilité thermique de la pérovskite [31].

Le dopage du site A par des cations du même degré d'oxydation mais avec des ions de plus faible taille conduit à une grande tendance d'accueillir une grande variété de cations sur ce site. Un changement de la composition de la structure et de ses propriétés, en raison des interactions synergiques entre les ions métalliques A et B, conduit à une conductivité ionique élevée ainsi qu'à une activité catalytique de la pérovskite dopée [94].

Plusieurs études ont été réalisées sur l'effet des cations A et B, dans la structure pérovskite et leur activité catalytiques : $\text{SrSc}_{0.2}\text{Co}_{0.8}\text{O}_{3-\delta}$ [95], $\text{SrSc}_{0.175}\text{Nb}_{0.025}\text{Co}_{0.8}\text{O}_{3-\delta}$ [96], $\text{La}_x\text{Sr}_{1-x}\text{CoO}_{3-\delta}$ [97], $\text{Sr}_{0.9}\text{Y}_{0.1}\text{CoO}_{3-\delta}$ [98], $\text{La}_{0.6}\text{Sr}_{0.4}\text{Co}_{1-x}\text{Mn}_x\text{O}_3$ [99], $\text{Ln}_{0.8}\text{Sr}_{0.2}\text{FeO}_{3-\delta}$ [100], $\text{Bi}_{0.95}\text{Sm}_{0.05}\text{Fe}_{0.94}\text{Mn}_{0.06}\text{O}_3$ [101], $\text{La}_{1-x}\text{Y}_x\text{MnO}_3$ [102], $\text{Ba}_{0.5}\text{Sr}_{0.5}\text{Co}_{0.8}\text{Fe}_{0.2}\text{O}_{3-\delta}$ [103], $\text{Nd}_{0.9}\text{Mn}_{0.1}\text{FeO}_3$ [104], $\text{BiFe}_{1-x}\text{TixO}_{3-\delta}$ [105], $\text{La}_{1-x}\text{Ce}_x\text{CoO}_3$ [85], $\text{La}_{0.85}\text{Mg}_{0.15-x}\text{Ba}_x\text{FeO}_3$ [106], $\text{La}_{0.5}\text{Sr}_{0.5}\text{Mn}_{0.9}\text{Al}_{0.1}\text{O}_3$ [107], $\text{LaCo}_{0.1}\text{Fe}_{0.9}\text{O}_3$ [108], $\text{La}_{0.75}\text{Sm}_{0.25}\text{FeO}_3$ [109], $\text{La}_{0.6}\text{Ca}_{0.4}\text{CoO}_3$ [110], $\text{LaNi}_{0.5}\text{Fe}_{0.5}\text{O}_3$ [111].

III-6. Les propriétés des oxydes pérovskites

III-6.1. Les propriétés diélectriques

Les propriétés diélectriques (la ferroélectricité, la piézoélectricité, l'électrostriction et la pyroélectricité) des oxydes de type pérovskites, comme la plupart des oxydes des métaux de transition, sont directement reliées à leurs structures de bandes. Le comportement ferroélectrique est l'une des caractéristiques importantes des pérovskites. Ce caractère est bien visible pour le BaTiO_3 et le PdTZO_3 et leurs composés dopés [112-114]. Ce comportement de BaTiO_3 est fortement lié à sa structure cristalline [115]. Cette perovskite peut être utilisée comme isolant électrique dans sa forme la plus pure. Le titanate de baryum dopé est un matériau accordable prometteur avec des propriétés ferroélectriques et piézoélectriques améliorées, des propriétés qui peuvent être des bonnes alternatives au titanate de zirconate de plomb [116].

Des études approfondies ont été menées sur les caractéristiques du PbTiO_3 (PLT). L'ajout de lanthane (La) améliore les caractéristiques diffuses de la réponse diélectrique dépendant de la température à proximité de la transition de phase et diminue la température de Curie de manière significative. Le PLT est considéré comme un système modèle idéal pour la compréhension de la nature de la ferroélectricité et comme l'un des matériaux les plus prometteurs pour de nombreuses applications technologiques modernes [117-118].

III-6.2. La supraconductivité

Récemment, Osada et al ont observé la supraconductivité avec une température de transition de 7-12 K et une densité de courant critique robuste à 2 K de 334 kA / cm² dans des couches minces de Pr_{0.8}Sr_{0.2}NiO₂, à l'échelle nanométrique, stabilisées par épitaxie sur des substrats SrTiO₃ via une réduction topotactique à partir de la phase précurseur de la pérovskite [119].

III-6.3. Les propriétés optiques

Les propriétés d'absorption de lumière des oxydes de type pérovskite comme les oxydes des métaux de transition sont principalement liées à des transferts de charges de diverses natures dans le matériau [120]. Récemment, la pérovskite à l'halogénure de plomb (pérovskite hybride) a fait l'objet de beaucoup d'attention en raison de sa photoluminescence élevée et de son rendement quantique [121-124]. Elle possède un coefficient d'absorption optique élevé et un excellent transport de porteurs de charge (cristallinité). Les propriétés optiques du BaTiO₃ et d'autres pérovskites (SrTiO₃) ont été démontrées par Gupta et al [125]. Les nanoparticules composites de BaTiO₃-Au ont la bande d'absorption dans la plage visible du spectre et présentent une luminescence plasmonique et des propriétés optiques remarquables [126]. Garten et al ont amélioré les propriétés photovoltaïques au moyen de structures de domaines ferroélectriques dans MAPBI₃ [127]. Les structures cristallines de pérovskite à l'halogénure d'éthyle sont apparues comme une classe de matériaux optoélectroniques qui combinent la facilité de mise en solution avec d'excellentes qualités d'absorption et d'émission optiques. Les nanocristaux de pérovskite (CsSnX₃) confirment leur accord spectral à la fois par des effets de confinement quantique et par le contrôle de la composition anionique [128-47]. Les films semi-conducteurs en pérovskite sont maintenant largement étudiés comme récolteurs de lumière dans les cellules solaires avec des rendements de conversion de puissance toujours plus élevés, ce qui a motivé la fabrication d'autres dispositifs optoélectroniques, tels que les diodes électroluminescentes, les lasers et les photodétecteurs [129-130]. Behara et al ont montré que le titanate de bismuth sodique (Na_{0,5}Bi_{0,5}TiO₃-NBT) peut être pertinent pour des applications impliquant la récolte de la lumière, la séparation de charges et le stockage de charges [131].

III-6.4. Propriétés catalytiques des pérovskites

Le contact du matériau avec l'air ambiant forme une couche d'oxyde et plusieurs couches d'hydratation. En conséquence, une formation de groupements hydroxyles OH en surface survient, lors des interactions fortes avec les cations et les atomes d'oxygène de la surface du matériau ^[132-133]. De la même façon, un phénomène d'adsorption résulte quand le matériau est mis dans une solution. Ceci est lié à sa porosité et à sa grande surface spécifique ^[134] et à son caractère acido-basique sans oublier les conditions expérimentales (T, pH, etc...) ; ce qui engendre la catalyse des réactions chimiques par les sites ioniques créés ^[135].

Les pérovskites sont l'un des axes les plus attractifs de l'électro-catalyse ^[136-137] dans le cadre de l'effort technologique consacré à la conversion de l'énergie. Bien que, pour certains, les applications continuent à être encore limitées ^[138]. Les pérovskites peuvent être décrites comme un modèle de sites actifs et comme un catalyseur d'oxydation ou activé par l'oxygène ^[139]. La grande stabilité chimique, les comportements électrochimique et électro-catalytique des oxydes pérovskites sont souvent étudiés afin de comprendre la corrélation entre la structure du matériau et la réactivité de l'électro-catalyseur vis-à-vis des réactions électrochimiques qui mènent aux applications comprenant le dégagement ou la réduction de l'oxygène ou à l'activation de l'oxygène ^[140-141], ce qui a pour résultat la création d'un grand nombre de sites vacants ^[142]. Par exemple, les propriétés catalytiques des pérovskites sont évaluées dans les réactions chimiques mises en oeuvre comme cathode dans les piles à combustible qui sont des alternatives énergétiques des plus prometteuses.

Cette structure est aussi conçue pour offrir une grande surface de contact entre les éléments catalyseurs et les gaz d'échappement automobile. Il a été mentionné dans la littérature que les pérovskites ont montré de bonnes performances catalytiques parce qu'elles déclenchent ou accentuent les réactions chimiques qui tendent à transformer les composants les plus toxiques des gaz d'échappement (CO, NO...), en éléments moins toxiques (eau, CO₂ et N₂) ^[143-144].

L'intérêt de ces matériaux est dû à la facilité de substituer les cations A /B par d'autres cations, ce qui induit la modification des propriétés de surfaces directement liées à la configuration électronique de ces cations. Leur rôle en tant que matériaux anodiques dans les piles DMFC offre plusieurs avantages en termes d'activité catalytique pouvant être améliorée par rapport aux catalyseurs métalliques à base de platine ^[145].

La substitution partielle des cations A par les cations A', possédant une valence distincte dans ABO_3 , induit à plusieurs états électroniques et à des défauts ioniques dans la phase pérovskite qui affecte l'activité catalytique. Considérons le cas où les cations trivalents A dans $A^{3+}B^{3+}O_3$ sont partiellement modifiés par les cations bivalents A', l'état d'équilibre de charge peut être obtenu par formation stœchiométrique de cations quadrivalents de B (ou de lacunes positives) ou de vacances d'oxygène ^[31, 146, 147].

III-7. Applications des pérovskites

La science des matériaux et les applications potentielles des pérovskites sont extrêmement variées en raison de leurs diverses propriétés physico-chimiques (conduction mixte électronique et ioniques, photoélectricité, ferroélectricité, catalyse etc..) liées à leur composition cationique, leur non-stœchiométrie et leur arrangement structural (défauts structuraux). Leur utilisation a touché le vaste domaine des capteurs ^[16,148, 149, 150], des électrodes catalytiques, certains types de piles à combustible ^[151], des piles solaires ^[152], des lasers ^[153], des dispositifs de mémoire ^[154] et des applications spintroniques ^[155].

Partie B

III. Introduction:

Le diabète est dû à un niveau anormal de glucose dans le sang ; il est considéré comme l'une des principales maladies humaines chroniques dans le monde et continue de se développer. Dans le sang humain, une concentration de glucose supérieure à la fourchette normale de 80 à 120 mg/dL (4,4 à 6,6 mM) est associée à un trouble métabolique entraînant une carence en insuline. De plus, le diabète provoque de nombreux effets secondaires graves tels que des lésions oculaires, des maladies cardiaques, une neuropathie, une déficience auditive, etc. La détermination instantanée des niveaux de glucose est nécessaire pour surveiller le traitement du diabète. De nombreuses techniques ont été mises en œuvre pour la détection rapide de la concentration de glucose, telles que les techniques électrochimiques ^[156], les techniques de résonance plasmonique de surface ^[157] et les techniques colorimétriques ^[158]. La technique électrochimique est devenue familière, en raison de son faible coût, de sa facilité de manipulation, de sa faible consommation d'échantillons et de sa grande précision à faible concentration de glucose. Sur la base de cette technique, de nombreux kits commerciaux sont disponibles pour la surveillance des patients (par exemple, Accu-Chek® de Roche Diabetes Care Company).

La première génération des capteurs de glucose repose sur la réaction entre l'enzyme (glucose oxydase) et l'analyte (glucose), un médiateur d'électrons étant ici nécessaire pour le transfert d'électrons entre l'enzyme et l'électrode de détection ^[156]. Une nouvelle génération de capteurs vise à éliminer les inconvénients de l'utilisation de l'enzyme en raison de son manque de stabilité (sensibilité à la température, au pH, aux produits chimiques toxiques et à l'humidité), selon la procédure d'immobilisation à la surface de l'électrode. Ces capteurs électrochimiques sans enzyme devraient être sensibles et sélectifs pour détecter le glucose. Ces objectifs ont été atteints grâce à des matériaux à base de Pt nanostructurés, comme le démontrent les Pt mésoporeux, les nanoparticules de Pt (NP), les nanoparticules de Pt, les réseaux de PtPb nanoporeux et les nanostructures de Pt en forme de fleur ^[159,160]. Des nanomatériaux à base d'or ou de palladium ont également été développés ^[161,162]. Pour la production de masse, il est souhaitable de trouver une alternative aux métaux nobles avec des composés à base de métaux non nobles qui permettent d'atteindre une sensibilité aussi élevée.

Ces dernières années, plusieurs oxydes métalliques ont montré des propriétés électrocatalytiques pour la détection du glucose, comme le CuO, le MnO₂, le NiOx et le CoOx [163]. Les oxydes de pérovskite, avec la formule chimique ABO₃, sont une autre classe d'oxydes de métaux non nobles attractifs qui a été largement appliquée comme catalyseur dans les réactions liées à l'oxygène [164,165]. La conductivité électronique, la conductivité ionique de l'oxygène et la non-stoechiométrie de la pérovskite (les lacunes en oxygène) peuvent être adaptées en mélangeant différents oxydes métalliques [166].

Dans la pérovskite ABO₃, A est un lanthanide tel que La ou Nd. L'élément A peut être remplacé par un élément alcalino-terreux tel que le Sr, ce qui entraîne l'oxydation partielle de B³⁺ en B⁴⁺ et/ou une augmentation de la non-stoechiométrie de l'oxygène, donnant lieu à une conductivité ionique plus élevée [167]. B est un métal, tel que Ni, Co, Mn, Ti, Pd ; au potentiel anodique appliqué, ces espèces sont oxydées en tant qu'espèces fortement oxydantes (Ni(III), Co(III)...) et le glucose est ensuite oxydé catalytiquement pour produire de la gluconolactone [168].

Il existe un autre type de pérovskite formulé sous forme d'A₂BO_{4+δ}. Il est décrit comme une alternance de couches de pérovskite ABO₃ et de couches d'oxyde AO le long de la direction *c*. Les composés A₂BO_{4+δ} présentent une conductivité électronique élevée en raison de la valence mixte du métal du site B. De plus, une forte concentration en oxygène interstitiel offre la possibilité d'un transport rapide de l'oxygène et cette céramique est donc un nouveau type de conducteur électronique ionique mixte [166].

Le type de pérovskite A₂BO_{4+δ} est utilisé, pour la première fois, pour la détection électrocatalytique du glucose. Le site A est Pr, substitué par Ba (*x* = 0,08) et le site B est Ni, substitué par Zn (*y* = 0,05), ce qui conduit à la formule : Pr_{1.92}Ba_{0.08}Ni_{0.95}Zn_{0.05}O_{4+δ}(PBNZO). Cette pérovskite a été élaborée par une méthode sol-gel et obtenue sous forme de poudre cristalline après séchage et calcination. Après avoir été mise en suspension dans une solution de polysaccharides (voir figure III-3.1), cette poudre a été déposée par spin-coating sur une électrode en or. La performance analytique du capteur de glucose obtenue a ensuite été déterminée. Il a été démontré que de nombreux matériaux en pérovskite ABO₃ sont capables de détecter le glucose de manière sensible (Tableau III-1). Nous allons comparer les performances de détection obtenues avec la pérovskite A₂BO_{4+δ}.

Tableau III-1: Capteurs non enzymatiques de glucose précédemment publiés, basés sur la pérovskite

Électrodes modifiées	Sensitivité $\mu\text{A}/\text{mM}/\text{cm}^2$	Gamme linéaire μM	LOD μM	Réfs
LaNi _{0,5} Ti _{0,5} O ₃ -/CPE	1630,57	0,2 – 20 20 - 1000	0,07	[167]
LaNi _{0,6} Co _{0,4} O ₃ /CPE	643,0	0,05 - 200	0,008	[168]
LaNiO ₃ nanofibers/CPE	2,99.	1 - 1000	0,32	[169]
LaTiO ₃ -Ag _{0,2} /GCE	784,14	2,5 - 4000	0,21	[170]
La _{0,88} Sr _{0,12} MnO ₃ /CPE	1111,11	0,05 - 100	0,0312	[171]
Sr _{1,7} Ca _{0,3} PdO ₃ /graphite electrode	306,9 54,17	5 – 1400 1800 - 5600	0,0845	[172]
NdNiO ₃ /GCE	1105,1	0,5 - 4600	0,3	[173]
La _{0,6} Sr _{0,4} CoO _{3-δ} /GCE	275	5 – 1500	0,15	[174]
La _{0,6} Sr _{0,4} CoO _{3-δ} + rGO/GCE	330	2 - 3350	0,063	[174]

III-1. Partie expérimentale :

III-1.2. Réactifs et solutions :

Les réactifs et les solutions qui ont été utilisés dans ce chapitre sont des produits commerciaux fournis par Sigma et ils sont utilisés sans aucune purification supplémentaire : D-(+)-glucose, 4-aminothiophénol (4-ATP, 97 %), glutaraldéhyde (GA, solution aqueuse à 25 % en poids), acide N-(2 hydroxyéthyle) pipérazine-N'- 2-éthanesulfonique) (HEPES), éthanol, acétone, acide sulfurique, La solution de peroxyde d'hydrogène (30%), le nitrate de baryum, le nitrate de zinc hexahydraté, le nitrate de praséodyme hexahydraté (III) et le nickel hexahydraté (II) sont achetés à Sigma Aldrich (L'Isle d'Abeau, France). Le chitosane (MW moyen = 45 kDa avec un degré d'acétylation > 75%) et le kappa-carraghénane (MW moyen = 250 kDa) ont été obtenus auprès de Sigma Aldrich. L'eau ultra-pure (UPW) est obtenue en utilisant un système Milli-Q (résistivité 18,2 M Ω .cm). L'acide acétique, l'acide nitrique et l'acide citrique sont fournis par FLUKA. Le PBS (solution tampon) est préparé à partir des sels de phosphate monopotassique et dipotassique et d'une solution de chlorure de sodium fournie par Sigma Aldrich. Le pH de la solution est ajusté par addition d'hydroxyde de sodium.

L'électrolyte que nous avons utilisé est la solution équimolaire du couple redox (ferricyanure (Fe(CN)₆³⁻) / ferrocyanure (Fe(CN)₆⁴⁻)) (10⁻³M) dans du PBS (0.1M) à pH 7,4. Les solutions sont conservées à l'obscurité pour éviter toute formation de l'acide cyanhydrique (HCN).

II-1.3. Synthèse de matériaux pérovskites par la méthode sol-gel

Les nitrates de praséodyme, de baryum, de nickel et de zinc sont dissous dans l'eau en quantités stoechiométriques. Le mélange de cations est maintenu sous agitation magnétique dans un bain-marie, à une température comprise entre 70 et 80 °C, pendant 2 heures tout en ajoutant de l'acide citrique (avec un rapport de 2 à 1 par rapport à la somme des cations). Au cours de cette étape, la viscosité du gel augmente pour atteindre une valeur critique caractérisant la transition sol-gel (formation du gel). Le gel est séché à une température comprise entre 80 et 174 °C pour obtenir une poudre amorphe. Enfin, le traitement thermique se fait en plusieurs étapes : à 350°C pour le frittage, puis à 500°C et à 950°C pendant 5 heures pour obtenir le produit final (poudre cristalline). Le diagramme de la méthode d'élaboration du matériau est représenté dans la figure III-4.

III-1.3. 1. Organigramme de la synthèse de $\text{Pr}_{1,95}\text{Ba}_{0,05}\text{Ni}_{0,95}\text{Zn}_{0,05}\text{O}_4$ (PBNZO):

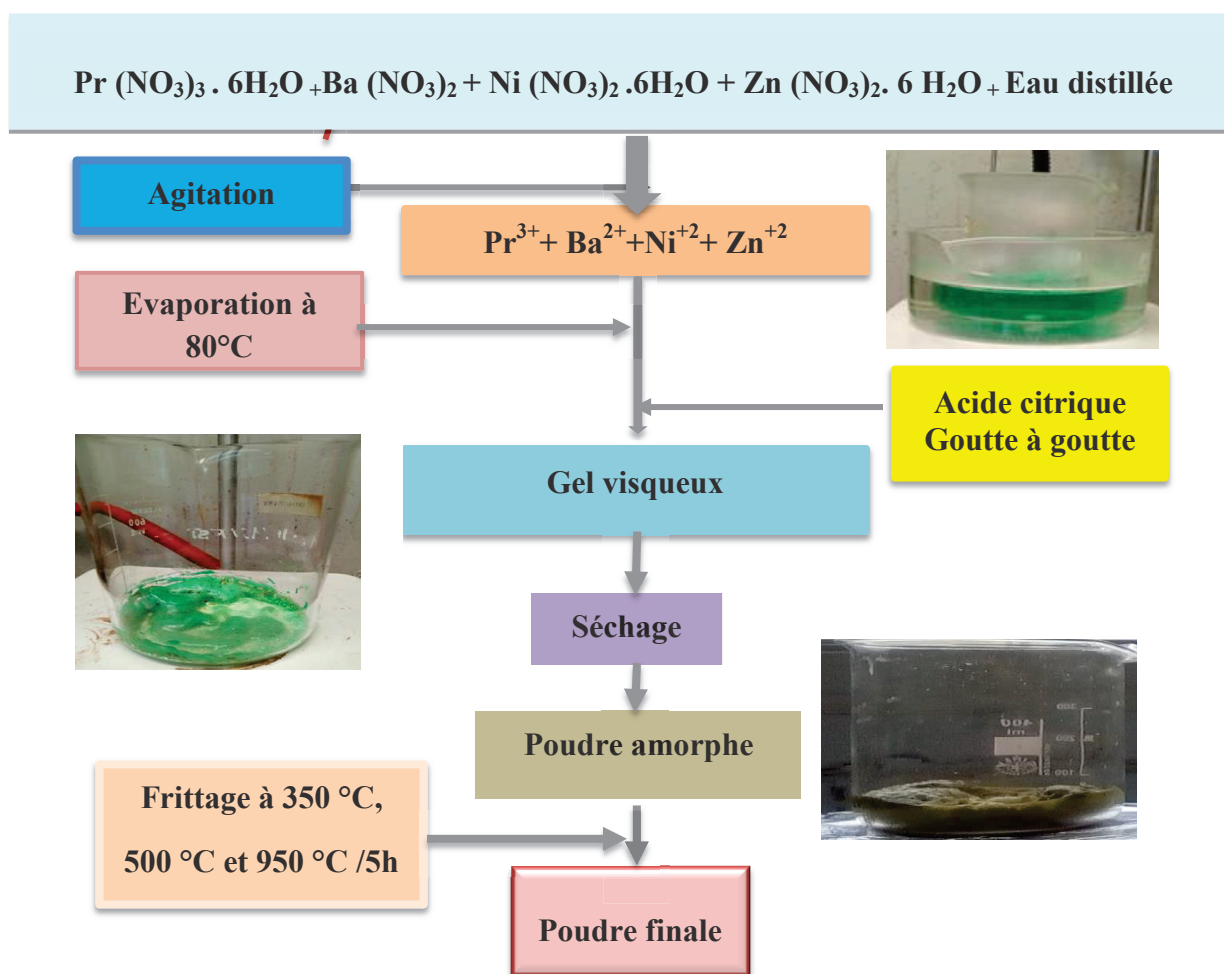


Figure III-4. Diagramme de la méthode d'élaboration de $\text{Pr}_{1,92}\text{Ba}_{0,08}\text{Ni}_{0,95}\text{Zn}_{0,05}\text{O}_{4+\delta}$.

III-2. Caractérisation des PBNZO

III-2.1. Caractérisation de la poudre par DRX :

Les motifs de diffraction des rayons X (XRD) sont recueillis par un diffractomètre Bruker (D8 Advance, Allemagne) avec un rayonnement Cu-K α ($\lambda = 0,1548$ nm). La morphologie de Pr_{1.92}Ba_{0.08}Ni_{0.95}Zn_{0.05}O₄⁺ a été étudiée par microscopie électronique à balayage (MEB, JEOL JSM 7500) avec une cartographie par spectroscopie de rayons X à dispersion d'énergie (EDX).

III-2.1.1. Caractérisation de la structure

Le composé Pr_{1.92}Ba_{0.08}Ni_{0.95}Zn_{0.05}O₄⁺ (PBNZO) est une poudre cristalline de couleur noire. Les pics qui apparaissent dans le diffractomètre XRD, présentés sur la figure III- 5, sont conformes à la structure monoclinique de la structure cristalline de Pr₂NiO₄^{+x} et peuvent être indexés comme dans la fiche technique de l'ASTM (N° 00-058-0849). Le spectre montre également 3,5% d'une phase de Pr₂O₃ où tous les pics et paramètres sont proches de ceux rapportés dans la littérature et sont en accord avec la fiche ASTM (N° 00-061-0049). La taille des cristallites D (D = 20 nm), est calculée par l'équation de Scherrer $D = 0,9 \lambda / (\beta \cos \theta)$ à partir de la largeur du pic (β) le plus intense (113) du spectre DRX.

Le PBNZO cristallise dans le système monoclinique (groupe spatial F2/m), avec des paramètres de maille : a = 5,3434, b = 5,4218 et c = 12,5738 nm calculés à l'aide du logiciel Celref 3. La substitution par le Ba et le Zn entraîne une modification de ces paramètres. En effet, les paramètres a et b de cette structure diminuent avec la substitution alors que le paramètre c augmente (Tableau III-2).

La présence de la phase Pr₂O₃ peut s'expliquer par le mécanisme suivant :

Lorsque le site A (Pr) est substitué par un élément alcalino-terreux (Ba), un changement de concentration des lacunes en oxygène se produit ainsi qu'une oxydation/réduction partielle du site B (Ni/Zn). Ce mécanisme est décomposé en deux étapes ^[175] :

Formation de défauts : Ba'_{Pr} et V''_O selon l'équation 2 :



dismutation des sites Ni^{III}/Zn^{III} en Ni^{II}/Zn^{II} et Ni^{IV}/Zn^{IV}.

Le Pr_2O_3 ainsi formé devrait être dans la même proportion que la fraction substituée de Pr (0,08/1,92) qui est d'environ 4%. Le pourcentage observé de la phase Pr_2O_3 est en accord avec le mécanisme proposé.

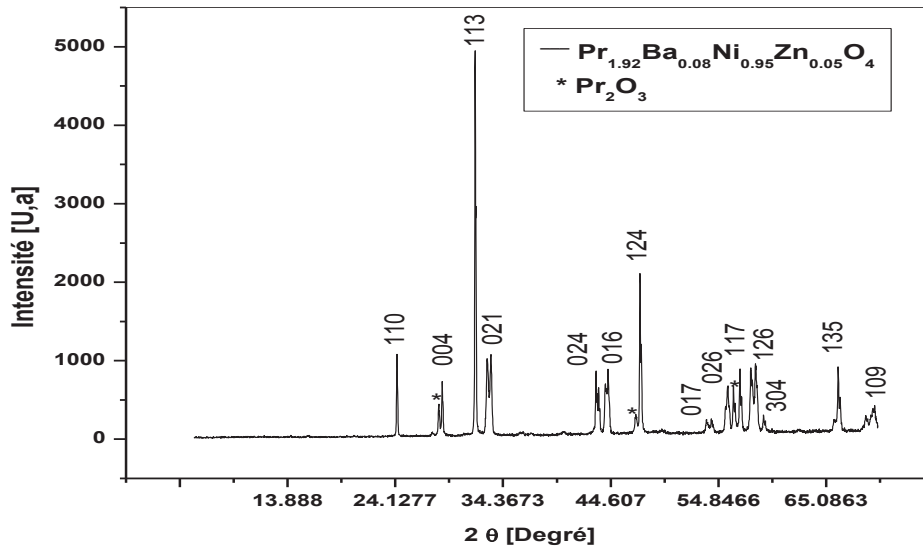


Figure III-5. Spectre XRD de $\text{Pr}_{1.92}\text{Ba}_{0.08}\text{Ni}_{0.95}\text{Zn}_{0.05}\text{O}_{4+\delta}$ synthétisé par la méthode sol-gel et calciné à 950°C .

Matériau	Système cristallin	Paramètre de maille (Å)	groupe spatial	Volume (Å ³)	Gamma (°)
* $\text{Pr}_2\text{NiO}_{4+x}$	Monoclinique	a= 5,3930 b= 5,4565 c= 12,4446	F2/m	366,21	90,069
$\text{Pr}_{1.92}\text{Ba}_{0.08}\text{Ni}_{0.95}\text{Zn}_{0.05}\text{O}_{4+\delta}$	Monoclinique	a= 5,3434 b= 5,4218 c= 12,5738		364,21	91,03

*ASTM fiche (N°00-058-0849)

III-2.1.2. Caractérisation morphologique

L'étude de la poudre par microscopie électronique à balayage MEB (figure III-6) montre une distribution polydispersée de particules de l'ordre du micromètre PBNZO sous forme d'agglomérats, de poudre (figure 6A) et de film déposé sur une électrode en or (figure 6B).

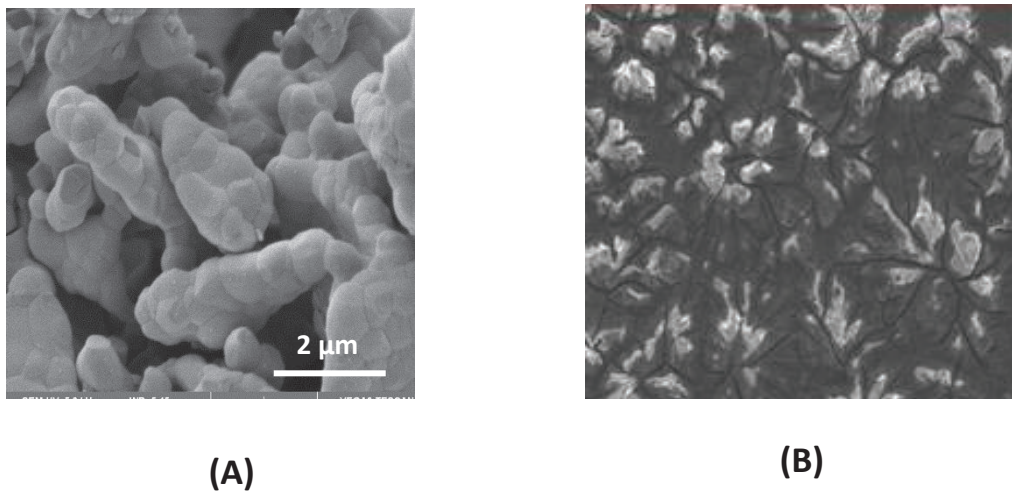


Figure III-6. Images MEB de PBNZO sous forme de poudre (A) et de film déposé sur une électrode en or (B)

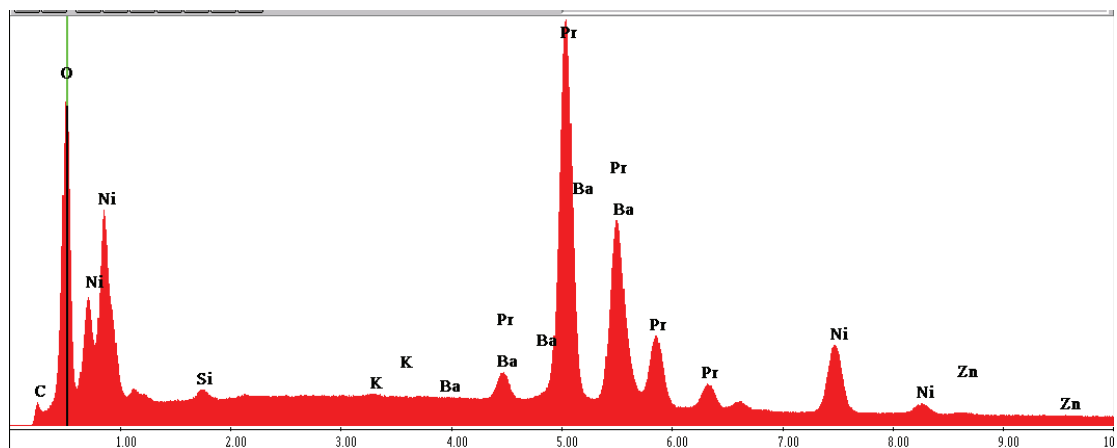


Figure III-7. Spectre EDX de la poudre PBNZO

A partir de spectre EDS sur PBNZO, présenté dans la figure III-7, les rapports atomiques Ba/Pr et Zn/Ni sont respectivement de 4,5% et 4,6% ce qui est proche des valeurs théoriques : 4,16% et 5,2%.

III-3.Description du protocole de préparation

III-3.1.Elaboration de l'électrode en or modifiée par le PBNZO

Les substrats d'or sont fournis par le réseau français RENATECH (LAAS, CNRS TOULOUSE). La surface de l'électrode est nettoyée dans de l'acétone, puis de l'eau UP, et enfin incubée dans une solution piranha, puis nettoyée dans de l'eau UP et séchée sous flux d'azote. La solution de polysaccharides est préparée en mélangeant 0,5 mL de la solution de kappa-carraghénane (1 mg / 2 mL d'eau) avec 0,5 mL de la solution de chitosane (3 mg / 2 ml (0,6 acide acétique + 1,4 HEPES)). Ce type de solution permet la formation d'un complexe de polyélectrolyte (CPE) qui sera capable de coller ensemble la poudre cristalline de pérovskite [176]. La suspension de pérovskite (20 mg/1 mL d'eau) est ajoutée par la suite. Les électrodes sont incubées dans du 4-ATP (0,065 g/5 mL d'éthanol) pendant 2 heures avant d'être rincées à l'éthanol, puis séchées. 15 µL du mélange CPE/PBNZO sont déposés sur la surface des électrodes en or par spin-coating. Les dispositifs ensuite sont exposés à la vapeur de glutaraldéhyde pendant 20 minutes pour réticuler le complexe polysaccharidique qui sera maintenus pendant 48 heures à 4 °C.

III-3.2. Mesures électrochimiques

Toutes les mesures électrochimiques sont effectuées dans une cellule de verre, avec un système expérimental à trois électrodes, composé de :

- Une électrode en or modifiée par le PBNZO comme électrode de travail (surface active définie par un joint torique : 0,07 cm²)
- Une électrode de référence au calomel saturé
- Une électrode auxiliaire en platine (plaque de platine, surface active définie par un joint torique : 0,19 cm²).

Des mesures de voltampérométrie cyclique (vitesse de balayage : 100 mV/s) et de voltampérométrie à ondes carrées (amplitude : 1 mV ; incrément de potentiel : 10 mV ; largeur d'impulsion : 0,02 ms) sont effectuées dans une plage de potentiel de 0 à 0,8 V en milieu alcalin. Toutes les mesures électrochimiques sont effectuées à l'aide de l'analyseur d'impédance Voltalab 40 S.A. PG 402, piloté par un ordinateur.

III-3.4. Oxydation électrocatalytique du glucose

Le comportement électrochimique de l'électrode en or modifiée au PBZNO dans le PBS à 0,1 M et pH = 11 avec et sans addition de glucose (4 mM) est caractérisé par une voltampérométrie cyclique (vitesse de balayage 100 mV/s), comme le montre la figure 11. Dans la plupart des articles précédents, l'oxydation électrocatalytique du glucose est étudiée dans du NaOH 0,1 M. Nos résultats sont obtenus avec une valeur de pH plus faible, moins agressive pour le film déposé de polysaccharide/PBZNO.

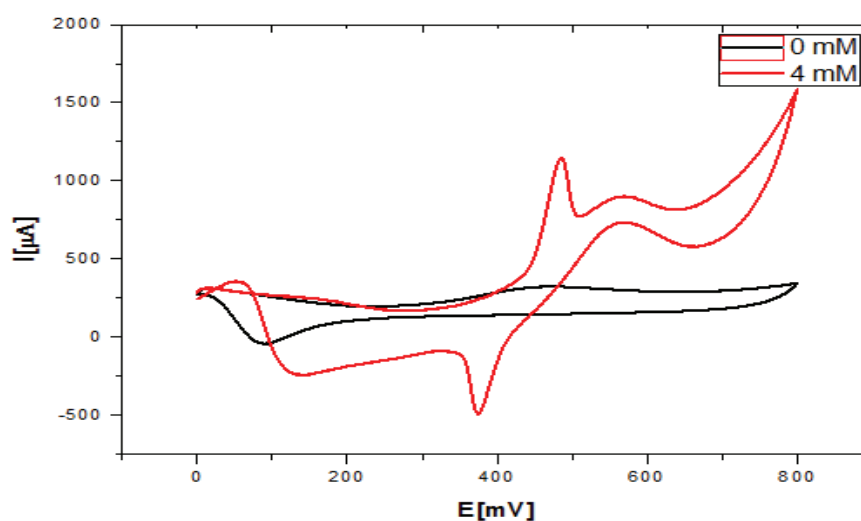


Figure III-8. Voltampérométrie cyclique de l'électrode en or modifiée par PBNZO en absence de glucose et en présence de 4 mM de glucose. Milieu de mesure : 0,1 M PBS à pH 11.

Le voltampérogramme de l'électrode en or modifiée au PBNZO en PBS, pH 11, montre un pic anodique à 463 mV et un pic cathodique à 91 mV. Ces pics correspondent à l'oxydo-réduction de Ni^{II} [168,169] : Ni^{II} ↔ Ni^{III} + e⁻. Ep est égal à 372 mV, ce qui est légèrement supérieur à l'Ep obtenu sur une électrode à pâte de carbone : 333 mV^[169] et 260 mV^[168]. En présence de 4 mM du glucose, un pic anodique aigu apparaît à 481 mV et le pic cathodique est à 377 mV, avec un Ep de 104 mV. Le pic anodique correspond à l'oxydation catalytique du glucose, selon la réaction :



À partir de ces observations, l'électrode en or modifiée par le PBNZO devient un capteur de glucose. La détection du glucose est effectuée par voltampérométrie à ondes carrées (SWV)

dans la plage d'oxydation. La variation du pic d'oxydation lorsque la concentration de glucose varie de 0 à 7 mM est présentée dans la figure III-9. Le pic maximal augmente lorsque la concentration de glucose augmente.

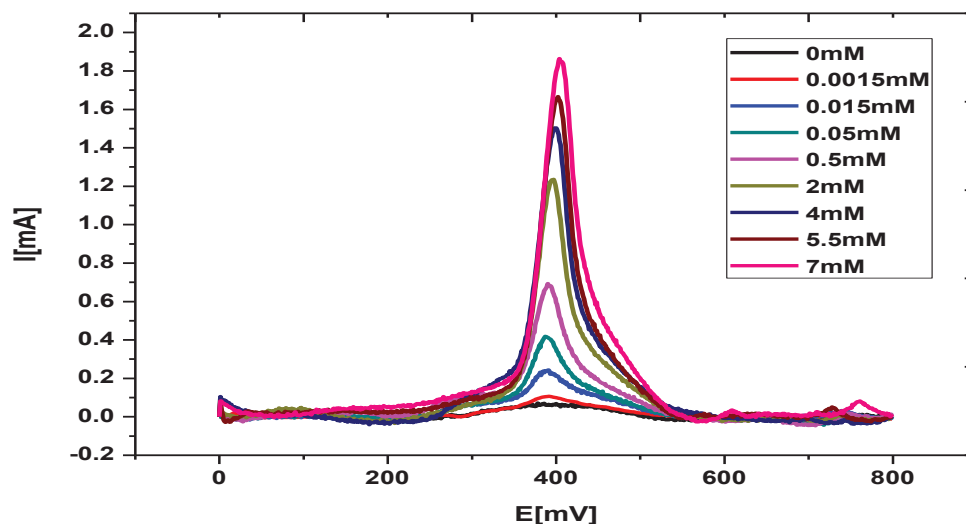


Figure III-9. Pic d'oxydation obtenu par voltammétrie à vagues carrées (SWV) du glucose obtenu avec une électrode en or modifiée au PBNZO, en présence de différentes concentrations de glucose. Conditions de mesure : 0,1 M PBS à pH 11.

La figure III-10 montre la courbe de calibration obtenue en rapportant l'intensité maximale du pic SWV en fonction du logarithme de la concentration du glucose. La courbe présente deux parties linéaires. Dans la première partie (1,5 μM - 50 μM), la sensibilité est de 101 $\mu\text{A}/\log\text{C}$ (mM), tandis que dans la seconde partie de la courbe, correspondant à la plage de concentration de 0,05 mM à 7 mM, la sensibilité est de 604 $\mu\text{A}/\log\text{C}$ (mM). Dans la partie des basses concentrations, la plus faible sensibilité de détection peut être expliquée par une limitation du taux d'adsorption du glucose sur la surface de PBNZO. Un écart-type relatif de 9 % est obtenu à partir de mesures consécutives (5) avec la même électrode PBNZO/Au et de 6,26 %, avec trois électrodes différentes. La limite de détection est calculée à partir de $3\sigma/S$ (σ étant le bruit du blanc et S étant la sensibilité dans la gamme inférieure) et sa valeur est de 0,5 μM . Lorsque l'on compare les performances analytiques de l'électrode PBNZO/Au à celles des électrodes modifiées à la pérovskite ABO_3 publiées précédemment (Tableau III-1), il apparaît que la gamme de détection est la plus large (jusqu'à 7000 μM) et que la limite de détection se situe dans la même gamme.

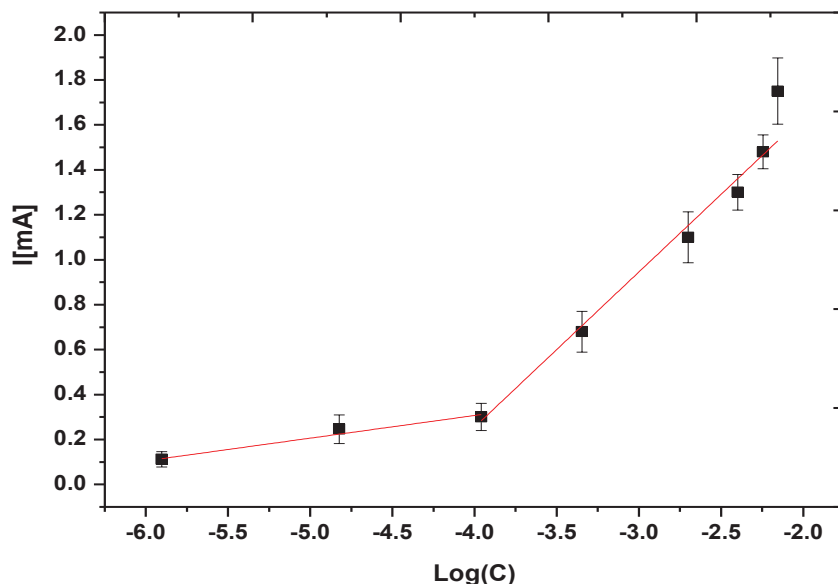
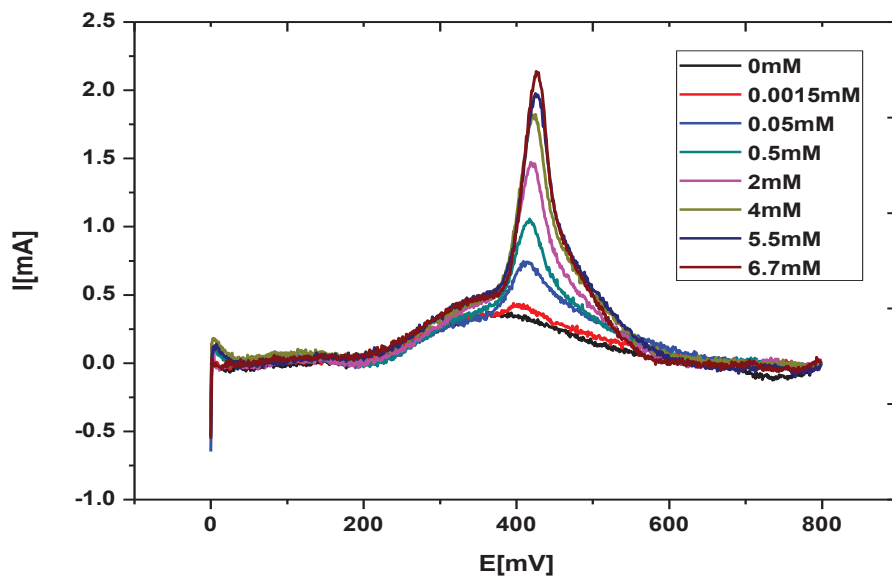
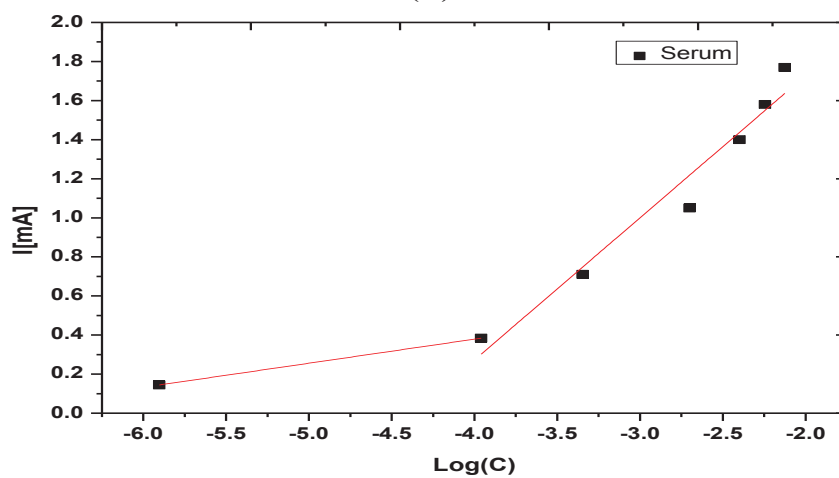


Figure III-10. Courbe de calibration obtenue pour trois différentes électrodes d'or modifiées par PBNZO pour des concentrations croissantes de glucose. Milieu de mesure : 0,1 M PBS à pH 11.

Afin de démontrer la sélectivité de l'électrode PBNZO/Au, le glucose est détecté dans le sérum humain à partir de plasma AB masculin humain, dilué dans du PBS 0,1 M à pH 11. La teneur en glucose de l'échantillon de sérum est déterminée dans un laboratoire médical comme étant de 6,7 mM. Les concentrations de glucose comprises entre 0,0015 mM et 6,7 mM dans le serum dilué ont ensuite été testées. Comme le montre la figure III-11A, le pic d'oxydation du glucose obtenu par la technique SWV apparaît au même potentiel que dans le PBS. La courbe de calibration présente deux parties linéaires. Dans la première partie (1,5 μ M - 50 μ M), la sensibilité est de 123 μ A/logC (mM), tandis que dans la deuxième partie de la courbe, elle correspond à la plage de concentration 0,05 mM à 6,7 mM. La sensibilité est de l'ordre de 727 μ A/logC (mM). Ces valeurs sont très proches de celles obtenues en PBS, ce qui montre qu'il n'y a pas d'interférence avec la détection du glucose dans le sérum humain dilué. Dans le sérum, la gamme dynamique du capteur de glucose à base de PBNZO est de 1,5 à 6700 μ M. S'il doit être appliqué à un patient diabétique, une petite dilution du sérum du patient doit être appliquée.



(A)



(B)

Figure III-11. A) Pic d'oxydation SWV du glucose obtenu avec une électrode en or modifiée au PBNZO, en présence de différentes concentrations de glucose.

(B) Courbe de calibration obtenue pour trois électrodes d'or modifiées avec PBNZO en présence de concentrations croissante de glucose.

Conditions de mesure : sérum humain dilué dans du PBS 0,1 M à pH 11.

III.4. Conclusion

Dans la première partie de ce chapitre, nous avons présenté les matériaux oxydes de type pérovskites, leur structure, leur préparation, leur caractérisation et leurs différentes propriétés et applications.

Dans la seconde partie de ce chapitre, une pérovskite $\text{Pr}_{1.92}\text{Ba}_{0.08}\text{Ni}_{0.95}\text{Zn}_{0.05}\text{O}_{4+\delta}$ a été synthétisée par une méthode sol-gel. La poudre cristallisée obtenue est caractérisée structurellement, morphologiquement et électrochimiquement. Un système cristallin monoclinique est formé. La présence de Pr_2O_3 pendant la synthèse et la calcination est en accord avec la formation de défauts dans le réseau cristallin et la dismutation des sites Ni^{III} en Ni^{II} et Ni^{IV} , due à la substitution de Pr par Ba. L'oxydo-réduction des sites Ni^{II} est observée par voltampérométrie cyclique. L'oxydation électrocatalytique du glucose par ce type de pérovskite A_2BO_{4+} est observée pour la première fois sur une électrode en or. Les performances analytiques de ce capteur de glucose sont bonnes par rapport aux électrodes modifiées par la pérovskite ABO_3 publiées précédemment, en termes de gamme dynamique. Son application au sérum humain montre qu'il n'y a pas d'interférence pour la détection du glucose.

Références (CHAPITRE III)

1. Mir, S. A., & Gupta, D. C. (2020). Exploration of uranium double perovskites Ba_2MUO_6 (M= Co, Ni) for magnetism, spintronic and thermoelectric applications. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 493, 165722
2. Ling, Y., Tian, Y., Wang, X., Wang, J. C., Knox, J. M., Perez-Orive, F., Du, Y., Tan, L., Hanson, K., Ma, B. & Gao, H. (2016). Enhanced optical and electrical properties of polymer-assisted all-inorganic perovskites for light-emitting diodes. *Advanced Materials*, 28(40), 8983-8989.
3. Ge, X., Du, Y., Li, B., Hor, T.S.A., Sindoro, M., Zong, Y., Zhang, H. & Liu, Z. (2016). Intrinsically conductive perovskite oxides with enhanced stability and electrocatalytic activity for oxygen reduction reactions. *ACS Catalysis*, 6(11), 7865-7871
4. Chang, H., Bjørgum, E., Mihai, O., Yang, J., Lein, H. L., Grande, T., ... & Chen, D. (2020). Effects of Oxygen Mobility in La-Fe-Based Perovskites on the Catalytic Activity and Selectivity of Methane Oxidation. *ACS Catalysis*, 10(6), 3707-3719
5. Petrie, J. R., Jeen, H., Barron, S. C., Meyer, T. L., & Lee, H. N. (2016). Enhancing perovskite electrocatalysis through strain tuning of the oxygen deficiency. *Journal of the American Chemical Society*, 138(23), 7252-7255.
6. Niu, G., Guo, X., & Wang, L. (2015). Review of recent progress in chemical stability of perovskite solar cells. *Journal of Materials Chemistry A*, 3(17), 8970-8980.
7. Zhang, Y., Lim, C. K., Dai, Z., Yu, G., Haus, J. W., Zhang, H., & Prasad, P. N. (2019). Photonics and optoelectronics using nano-structured hybrid perovskite media and their optical cavities. *Physics Reports*, 795, 1-51
8. Saxena, M., Tanwar, K., & Maiti, T. (2017). Environmental friendly Sr_2TiMoO_6 double perovskite for high temperature thermoelectric applications. *Scripta Materialia*, 130, 205-209.
9. Bellaiche, L., & Vanderbilt, D. (2000). Virtual crystal approximation revisited: Application to dielectric and piezoelectric properties of perovskites. *Physical Review B*, 61(12), 7877.
10. Suntivich, J., Gasteiger, H. A., Yabuuchi, N., Nakanishi, H., Goodenough, J. B., & Shao-Horn, Y. (2011). Design principles for oxygen-reduction activity on perovskite oxide catalysts for fuel cells and metal-air batteries. *Nature chemistry*, 3(7), 546-550.

11. Zhang, T., & Liu, Q. (2020). Perovskite LaNiO₃ Nanocrystals inside Mesostructured Cellular Foam Silica: High Catalytic Activity and Stability for CO₂ Methanation. *Energy Technology*, 8(3), 1901164.
12. Ahmad, K., Mohammad, A., Mathur, P., & Mobin, S. M. (2016). Preparation of SrTiO₃ perovskite decorated rGO and electrochemical detection of nitroaromatics. *Electrochimica Acta*, 215, 435-446.
13. Tseng, T. W., Rajaji, U., Chen, T. W., Chen, S. M., Huang, Y. C., Mani, V., & Jothi, A. I. (2020). Sonochemical synthesis and fabrication of perovskite type calcium titanate interfacial nanostructure supported on graphene oxide sheets as a highly efficient electrocatalyst for electrochemical detection of chemotherapeutic drug. *Ultrasonics Sonochemistry*, 69, 105242
14. Chen, T. W., Ramachandran, R., Chen, S. M., Anushya, G., & Ramachandran, K. (2020). Graphene and Perovskite-Based Nanocomposite for Both Electrochemical and Gas Sensor Applications: An Overview. *Sensors*, 20(23), 6755.
15. Boubezari, I., Zazoua, A., Bessueille, F., Errachid, A., & Jaffrezic-Renault, N. (2020). Design of a New Non-enzymatic Sensor Based on a Substituted A₂BO_{4+δ} Perovskite for the Voltammetric Detection of Glucose. *Electroanalysis* 32, 1642–1650
16. Shellaiah, M., & Sun, K. W. (2020). Review on sensing applications of perovskite nanomaterials. *Chemosensors*, 8(3), 55.
17. Atta, N. F., Galal, A., & Ekram, H. (2019). Effect of B-site doping on Sr₂PdO₃ perovskite catalyst activity for non-enzymatic determination of glucose in biological fluids. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 852, 113523.
18. Sivakumar, M., Pandi, K., Chen, S. M., Cheng, Y. H., & Sakthivel, M. (2017). Facile synthesis of perovskite-type NdNiO₃ nanoparticles for an effective electrochemical non-enzymatic glucose biosensor. *New Journal of Chemistry*, 41(19), 11201-11207.
19. Galal, A., Atta, N. F., & Hefnawy, M. A. (2020). Voltammetry study of electrocatalytic activity of lanthanum nickel perovskite nanoclusters-based composite catalyst for effective oxidation of urea in alkaline medium. *Synthetic Metals*, 266, 116372.
20. He, J., Sunarso, J., Zhu, Y., Zhong, Y., Miao, J., Zhou, W., & Shao, Z. (2017). High-performance non-enzymatic perovskite sensor for hydrogen peroxide and glucose electrochemical detection. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 244, 482-491.0.
21. You, J., Meng, L., Song, T. B., Guo, T. F., Yang, Y. M., Chang, W. H., Hong, Z., Chen, H., Zhou, H., Chen, Q., Liu, Y., De Marco, N. & Yang, Y. (2016). Improved air stability of

- perovskite solar cells via solution-processed metal oxide transport layers. *Nature nanotechnology*, *11*(1), 75-81.
22. Cai, W., Cao, D., Zhou, M., Yan, X., Li, Y., Wu, Z., Lü, S., Mao, C., Xie, Y., Zhao, C., Yu, J., Ni, M., Liu, J. & Wang, H. (2020). Sulfur-tolerant Fe-doped $\text{La}_{0.3}\text{Sr}_{0.7}\text{TiO}_3$ perovskite as anode of direct carbon solid oxide fuel cells. *Energy*, *211*, 118958.
 23. Rojas-Cervantes, M. L., & Castillejos, E. (2019). Perovskites as catalysts in advanced oxidation processes for wastewater treatment. *Catalysts*, *79*(3), 230.
 24. Özbay, N., & Şahin, R. Z. Y. (2020). Effect of preparation method and B-side metal type on the physicochemical properties of LaBO_3 perovskite catalyst and its catalytic behaviour in the biomass pyrolysis. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 1-14.
 25. Zhu, J., Li, H., Zhong, L., Xiao, P., Xu, X., Yang, X., Zhao, Z. & Li, J. (2014). Perovskite oxides: preparation, characterizations, and applications in heterogeneous catalysis. *Acs Catalysis*, *4*(9), 2917-2940.
 26. Zhou, J. S. (2020). Structural distortions in rare-earth transition-metal oxide perovskites under high pressure. *Physical Review B*, *101*(22), 224104.
 27. Savkina, R., & Smirnov, A. (2020). 6 Transition Metal Oxides for Magnetic and Energy Applications. *Oxide-Based Materials and Structures: Fundamentals and Applications*, 137.
 28. Ortega-San-Martin, L. (2020). Introduction to Perovskites: A Historical Perspective. In *Revolution of Perovskite* (pp. 1-41). Springer, Singapore.
 29. Arimoto, T., Irifune, T., Nishi, M., Tange, Y., Kunimoto, T., & Liu, Z. (2019). Phase relations of $\text{MgSiO}_3\text{-FeSiO}_3$ system up to 64 GPa and 2300 K using multianvil apparatus with sintered diamond anvils. *Physics of the Earth and Planetary Interiors*, *295*, 106297.
 30. Akimoto, S. I., & Syono, Y. (1970). High-pressure decomposition of the system $\text{FeSiO}_3\text{-MgSiO}_3$. *Physics of the Earth and Planetary Interiors*, *3*, 186-188.
 31. Pena, M. A., & Fierro, J. L. G. (2001). Chemical structures and performance of perovskite oxides. *Chemical reviews*, *101*(7), 1981-2018.
 32. Haid, S., Benstaali, W., Abbad, A., Bouadjemi, B., Bentata, S., & Aziz, Z. (2019). Thermoelectric, Structural, Optoelectronic and Magnetic properties of double perovskite $\text{Sr}_2\text{CrTaO}_6$: First principle Study. *Materials Science and Engineering: B*, *245*, 68-74.
 33. Gao, P., Grätzel, M., & Nazeeruddin, M. K. (2014). Organohalide lead perovskites for photovoltaic applications. *Energy & Environmental Science*, *7*(8), 2448-2463.

34. Hoefler, S. F., Trimmel, G., & Rath, T. (2017). Progress on lead-free metal halide perovskites for photovoltaic applications: a review. *Monatshefte für Chemie-Chemical Monthly*, 148(5), 795-826.4
35. Dion, M., Ganne, M., & Tournoux, M. (1981). Nouvelles familles de phases $M^I M^{II}_2 Nb_3 O_{10}$ à feuillets "perovskites". *Materials Research Bulletin*, 16(11), 1429-1435.
36. Behara, S., & Thomas, T. (2020). Stability and amphotericity analysis in rhombohedral ABO_3 perovskites. *Materialia*, 13, 100819.
37. Yamanaka, T., Hirai, N., & Komatsu, Y. (2002). Structure change of $Ca_{1-x}Sr_xTiO_3$ perovskite with composition and pressure. *American Mineralogist*, 87(8-9), 1183-1189
38. Goldschmidt, V. M. (1927). Krystallbau und chemische Zusammensetzung. *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft (A and B Series)*, 60(5), 1263-1296.
39. Hines, R. I., Allan, N. L., & Flavell, W. R. (1996). Potentials for B-metal compounds: The stannates $ASnO_3$ (A= Ca, Sr or Ba) and SnO_2 . *Philosophical Magazine B*, 73(1), 33-39
40. M. Nanot, F. Queyroux, J.C. Gilles, A. Carpy, J. Galy (1974) Phases multiples dans les systèmes $Ca_2Nb_2O_7-NaNbO_3$ et $La_2Ti_2O_7-CaTiO_3$: Les séries homologues de formule $A_nB_nO_{3n+2}$, *Journal of Solid State Chemistry*, 11(4), 272-284.
41. F. Lichtenberg, A. Herrnberger, K. Wiedenmann, J. Mannhart (2001) Synthesis of perovskite-related layered $A_nB_nO_{3n+2} = ABO_x$ type niobates and titanates and study of their structural, electric and magnetic properties, *Journal of Progress in Solid State Chemistry*, 29(1-2), 1-70.
42. Beznosikov, B. V., & Aleksandrov, K. S. (2000). Perovskite-like crystals of the Ruddlesden-Popper series. *Crystallography Reports*, 45(5), 792-798.
43. Li, L., Deng, J., Chen, J., & Xing, X. (2016). Topochemical molten salt synthesis for functional perovskite compounds. *Chemical science*, 7(2), 855-865.
44. Chen, C., Ning, H., Lepadatu, S., Cain, M., Yan, H., & Reece, M. J. (2015). Ferroelectricity in Dion-Jacobson $ABiNb_2O_7$ (A= Rb, Cs) compounds. *Journal of Materials Chemistry C*, 3(1), 19-22.
45. Veenachary, V., Ramana, E. V., Kumar, G. S., Prasad, G., & Prasad, N. V. (2020). Electrical Studies on $Bi_4NdTi_3Fe_{0.7}Co_{0.3}O_{15}-Bi_3NdTi_2Fe_{0.7}Co_{0.3}O_{12-8}$ Intergrowth Aurivillius Ceramics. *Transactions of the Indian Ceramic Society*, 79(3), 113-119.
46. Assirey, E. A. R. (2019). Perovskite synthesis, properties and their related biochemical and industrial application. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 27(6), 817-829.

47. Shamsi, J., Urban, A. S., Imran, M., De Trizio, L., & Manna, L. (2019). Metal halide perovskite nanocrystals: synthesis, post-synthesis modifications, and their optical properties. *Chemical reviews*, *119*(5), 3296-3348.
48. Athayde, D. D., Souza, D. F., Silva, A. M., Vasconcelos, D., Nunes, E. H., da Costa, J. C. D., & Vasconcelos, W. L. (2016). Review of perovskite ceramic synthesis and membrane preparation methods. *Ceramics International*, *42*(6), 6555-6571.
49. Cousin, P., & Ross, R. A. (1990). Preparation of mixed oxides: a review. *Materials Science and Engineering: A*, *130*(1), 119-125.
50. Zhu, X., Liu, Z., & Ming, N. (2010). Perovskite oxide nanotubes: synthesis, structural characterization, properties and applications. *Journal of Materials Chemistry*, *20*(20), 4015-4030.
51. Galasso, F. S. (2013). *Structure, properties and preparation of perovskite-type compounds: international series of monographs in solid state physics* (Vol. 5). Elsevier.
52. Bobba, R., & Ghosh, S. (2004). VII. 15 Dense Membranes for Anode-Supported All-Perovskite IT-SOFC. *2004 Office of Fossil Energy Fuel Cell Program Annual Report*, 314.
53. Zhang, J., Fan, L., Li, J., Liu, X., Wang, R., Wang, L., & Tu, G. (2019). Growth mechanism of CsPbBr₃ perovskite nanocrystals by a co-precipitation method in a CSTR system. *Nano Research*, *12*(1), 121-127.
54. Segovia, L. C. A., Agudelo, J. I. D., Glisoni, R. J., Acha, C., De Zan, M. M., & Rintoul, I. (2020). A multiparametric model for the industrialization of co-precipitation synthesis of nano-commodities. *Nanotechnology*, *31*(18), 185604.
55. Haron, W., Wisitsoraat, A., & Wongnawa, S. (2017). Nanostructured perovskite oxides—LaMO₃ (M= Al, Co, Fe) prepared by co-precipitation method and their ethanol-sensing characteristics. *Ceramics International*, *43*(6), 5032-5040.
56. Mostafavi, E., Babaei, A., & Ataie, A. (2015). Synthesis of nano-structured La_{0.6}Sr_{0.4}Co_{0.2}Fe_{0.8}O₃ perovskite by co-precipitation method. *Journal of Ultrafine Grained and Nanostructured Materials*, *48*(1), 45-52.
57. Wang, K., Tang, M. C., Dang, H. X., Munir, R., Barrit, D., De Bastiani, M., Aydin, E., Smilgies, D.M., De Wolf, S. & Amassian, A. (2019). Kinetic Stabilization of the Sol–Gel State in Perovskites Enables Facile Processing of High-Efficiency Solar Cells. *Advanced Materials*, *31*(32), 1808357.

58. Xian, T., Yang, H., Dai, J. F., Wei, Z. Q., Ma, J. Y., & Feng, W. J. (2011). Photocatalytic properties of SrTiO₃ nanoparticles prepared by a polyacrylamide gel route. *Materials Letters*, 65(21-22), 3254-3257.
59. Gao, H., Yang, H., Wang, S., & Zhao, X. (2018). Optical and electrochemical properties of perovskite type MAIO₃ (M= Y, La, Ce) pigments synthesized by a gamma-ray irradiation assisted polyacrylamide gel route. *Ceramics International*, 44(12), 14754-14766.
60. Boumaza, S., Boudjellal, L., Brahim, R., Belhadi, A., & Trari, M. (2020). Synthesis by citrates sol-gel method and characterization of the perovskite LaFeO₃: application to oxygen photo-production. *Journal of Sol-Gel Science and Technology*, 1-7.
61. Ferby, V. A., Raj, A. M. E., & Bououdina, M. (2020). Dependence of structural/morphological and magnetic properties of LaCoO₃ nanoparticles prepared by citrate-nitrate auto-combustion. *Applied Physics A*, 126(11), 1-8.
62. Eskandrani, A. A., Ali, S. M., & Al-Otaibi, H. M. (2020). Study of the Oxygen Evolution Reaction at Strontium Palladium Perovskite Electrocatalyst in Acidic Medium. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(11), 3785.
63. Özkan, D. Ç., Türk, A., & Çelik, E. (2020). Synthesis and characterizations of sol-gel derived LaFeO₃ perovskite powders. *Journal of Materials Science: Materials in Electronics*, 1-21.
64. Pila, C. R. M., Otero, T. M., Cappe, E. P., Alves, O. L., Aranda, P., Frutis, M. A., & Laffita, Y. M. (2014). Influence of citrate/nitrate ratio on the preparation of Li_{0.5}La_{0.5}TiO₃ nanopowder by combustion method. *Ceramics International*, 40(1), 249-256.
65. Sedda, K., Djafar, R., Boumchedda, K., Boukazouha, F., & Latif, M. (2019, November). Synthesis of Lead-Free Ceramics of the Perovskite Type for Piezoelectric Applications by Conventional Solid-State Reaction. In *International Symposium on Materials and Sustainable Development* (pp. 216-222). Springer, Cham.
66. San Choi, J., Ahn, C. W., Bae, J. S., & Kim, T. H. (2020). Identifying a perovskite phase in rare-earth nickelates using X-ray photoelectron spectroscopy. *Current Applied Physics*, 20(1), 102-105.
67. Zheng, X., Zhang, L., Wang, X., Qing, Y., Chen, J., Wu, Y., ...& Geng, J. (2020). Synthesis, structure, and superconductivity of B-site doped perovskite bismuth lead oxide with indium. *Inorganic Chemistry Frontiers*, 7(19), 3561-3570.

68. Merino, N. A., Barbero, B. P., Eloy, P., & Cadús, L. E. (2006). $\text{La}_{1-x}\text{Ca}_x\text{CoO}_3$ perovskite-type oxides: identification of the surface oxygen species by XPS. *Applied Surface Science*, 253(3), 1489-1493
69. Sfeir, J., Vaucher, S., Holtappels, P., Vogt, U., Schindler, H. J., Van Herle, J., Suvorova, E., Buffat, P., Perret, D., Xanthopoulos, N. & Bucheli, O. (2005). Characterization of perovskite powders for cathode and oxygen membranes made by different synthesis routes. *Journal of the European Ceramic Society*, 25(12), 1991-1995.
70. Abdi, M., Mahdikhah, V., & Sheibani, S. (2020). Visible light photocatalytic performance of La-Fe co-doped SrTiO_3 perovskite powder. *Optical Materials*, 102, 109803.
71. Li, L., Song, J., Lu, Q., & Tan, X. (2014). Synthesis of nano-crystalline $\text{Sm}_{0.5}\text{Sr}_{0.5}\text{Co}(\text{Fe})\text{O}_{3-\delta}$ perovskite oxides by a microwave-assisted sol-gel combustion process. *Ceramics International*, 40(1), 1189-1194.
72. Aal, A. A., Hammad, T. R., Zawrah, M., Battisha, I. K., & Abou Hammad, A. B. (2014). FTIR study of nanostructure perovskite BaTiO_3 doped with both Fe^{3+} and Ni^{2+} ions prepared by sol-gel technique. *Acta Phys. Pol. A*, 126(6), 1318-1322.
73. Zhang, L., Sun, B., Shao, C., Zhen, F., Wei, S., Bu, W., Yao, Q., Jiang, Z. & Chen, H. (2018). Preparation, band-structure and luminescence of double perovskite $\text{Ba}_2\text{MgMoO}_6:\text{Eu}^{3+}$ orange-red phosphor for white LEDs. *Ceramics International*, 44(14), 17305-17312.
74. Nurhaziqah, A. M. S., Afiqah, I. Q., Aziz, M. F. H. A., Aziz, N. N., Daud, M. Z., Hasiah, S., & Nurhayati, I. (2020, May). Microstructure Study of Calcium Manganese Oxide (CaMnO_3) as Perovskite Materials. In *Journal of Physics: Conference Series* (Vol. 1535, No. 1, p. 012024). IOP Publishing.
75. Rodrigues, A. S., Jorge, M. E. M., Ciriaco, L., Pacheco, M. J., & Lopes, A. (2020). Perovskites $(\text{La,Ba})(\text{Fe,Ti})\text{O}_3:\text{AO}_7$ photocatalysis under visible light. *Reviews on Advanced Materials Science*, 59(1), 151-159.
76. Salas, M. A. S., De Paoli, J. M., Pérez, O. E. L., Bajales, N., & Fuertes, V. C. (2020). Synthesis and characterization of alumina-embedded $\text{SrCo}_{0.95}\text{V}_{0.05}\text{O}_3$ nanostructured perovskite: An attractive material for supercapacitor devices. *Microporous and Mesoporous Materials*, 293, 109797.
77. Peng, W., Miao, X., Adinolfi, V., Alarousu, E., El Tall, O., Emwas, A. H., Zhao, C., Walters, G., Liu, J., Ouellette, O., Pan, J., Murali, B., Sargent, E.H., Mohammed, O.F. & Bakr, O.M. (2016). Engineering of $\text{CH}_3\text{NH}_3\text{PbI}_3$ perovskite crystals by alloying large

- organic cations for enhanced thermal stability and transport properties. *Angewandte Chemie International Edition*, 55(36), 10686-10690.
78. Afroze, S., Torino, N., Henry, P. F., Reza, M. S., Cheok, Q., & Azad, A. K. (2020). Insight of novel layered perovskite $\text{PrSrMn}_2\text{O}_{5+\delta}$: a neutron powder diffraction study. *Materials Letters*, 261, 127126.
79. Stefanski, M., Ptak, M., Sieradzki, A., & Strek, W. (2020). Optical characterization of Yb^{3+} : CsPbCl_3 perovskite powder. *Chemical Engineering Journal*, 127347.
80. Nurhaziqah, A. M. S., Afiqah, I. Q., Aziz, M. F. H. A., Aziz, N. N., Daud, M. Z., Hasiah, S., & Nurhayati, I. (2020, May). Microstructure Study of Calcium Manganese Oxide (CaMnO_3) as Perovskite Materials. In *Journal of Physics: Conference Series* (Vol. 1535, No. 1, p. 012024). IOP Publishing.
81. Singh, P. K., Singh, R., Singh, V., Tomar, S. K., Bhattacharya, B., & Khan, Z. H. (2017). Effect of crystal and powder of $\text{CH}_3\text{NH}_3\text{I}$ on the $\text{CH}_3\text{NH}_3\text{PbI}_3$ based perovskite sensitized solar cell. *Materials Research Bulletin*, 89, 292-296
82. Zhang, M., Zheng, Z., Fu, Q., Chen, Z., He, J., Zhang, S., Yan, L., Hu, Y. & Luo, W. (2017). Growth and characterization of all-inorganic lead halide perovskite semiconductor CsPbBr_3 single crystals. *CrystEngComm*, 19(45), 6797-6803.
83. Harris, D. T., Campbell, N., Uecker, R., Brützm, M., Schlom, D. G., Levchenko, A., Rzchowski, M.S. & Eom, C.B. (2018). Superconductivity-localization interplay and fluctuation magnetoresistance in epitaxial $\text{BaPb}_{1-x}\text{Bi}_x\text{O}_3$ thin films. *Physical Review Materials*, 2(4), 041801
84. Lobanov, M. V., Balagurov, A. M., Pomjakushin, V. J., Fischer, P., Gutmann, M., Abakumov, A. M., D'yachenko, O.G., Antipov, E.V., Lebedev, O.I. & Van Tendeloo, G. (2000). Structural and magnetic properties of the colossal magnetoresistance perovskite $\text{La}_{0.85}\text{Ca}_{0.15}\text{MnO}_3$. *Physical Review B*, 61(13), 8941.
85. Ansari, A. A., Adil, S. F., Alam, M., Ahmad, N., Assal, M. E., Labis, J. P., & Alwarthan, A. (2020). Catalytic performance of the Ce-doped LaCoO_3 perovskite nanoparticles. *Scientific Reports*, 10(1), 1-13
86. Kadira, L., Elmesbahi, A., Sayouri, S., Zenkouar, M., Kherbache, A., Echa-Chamikh, M., & Lotfi, M. (2003, July). Elaboration par voie sol-gel et caractérisation de matériaux céramiques de structure pérovskite de titanate de baryum et de lanthane dope au calcium $\text{La}_{0,01}(\text{Ba}_{1-x}\text{Ca}_x)_{0,99}\text{TiO}_3$. In *Annales de Chimie Science des Matériaux* (Vol. 28, No. 4, pp. 75-82).

87. Fan, Z., Xiao, J., Sun, K., Chen, L., Hu, Y., Ouyang, J., Ong, K.P., Zeng, K. & Wang, J. (2015). Ferroelectricity of $\text{CH}_3\text{NH}_3\text{PbI}_3$ perovskite. *The Journal of Physical Chemistry Letters*, 6(7), 1155-1161.
88. Ikebe, M., Fujishiro, H., Kanoh, S., & Mikami, T. (2001). Original Papers-Magnetic properties; magnetic resonances-Characteristic Phonon Scattering Enhancement Correlated with Magnetic and Charge Orders in $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$ ($X \geq 0.50$). *Physica Status Solidi-B-Basic Research*, 225(1), 135-144.
89. Moure, C., & Peña, O. (2015). Recent advances in perovskites: Processing and properties. *Progress in Solid State Chemistry*, 43(4), 123-148.
90. Chandler, C. D., Roger, C., & Hampden-Smith, M. J. (1993). Chemical aspects of solution routes to perovskite-phase mixed-metal oxides from metal-organic precursors. *Chemical reviews*, 93(3), 1205-1241.
91. Russo, N., Palmisano, P., & Fino, D. (2009). Pd substitution effects on perovskite catalyst activity for methane emission control. *Chemical Engineering Journal*, 154(1-3), 137-141.
92. Oishi, M., Yashiro, K., Sato, K., Mizusaki, J., & Kawada, T. (2008). Oxygen nonstoichiometry and defect structure analysis of B-site mixed perovskite-type oxide ($\text{La, Sr}(\text{Cr, M})\text{O}_{3-\delta}$ (M= Ti, Mn and Fe)). *Journal of solid state chemistry*, 181(11), 3177-3184.
93. Niu, G., Li, W., Li, J., Liang, X., & Wang, L. (2017). Enhancement of thermal stability for perovskite solar cells through cesium doping. *RSC advances*, 7(28), 17473-17479.
94. Dhakad, M., Rayalu, S. S., Kumar, R., Doggali, P., Bakardjieva, S., Subrt, J., Mitsuhashi, T., Hanada, H. & Labhsetwar, N. (2008). Low cost, ceria promoted perovskite type catalysts for diesel soot oxidation. *Catalysis letters*, 121(1-2), 137-143
95. Guo, Y., Shi, H., Ran, R., & Shao, Z. (2009). Performance of $\text{SrSc}_{0.2}\text{Co}_{0.8}\text{O}_{3-\delta} + \text{Sm}_{0.5}\text{Sr}_{0.5}\text{CoO}_{3-\delta}$ mixed-conducting composite electrodes for oxygen reduction at intermediate temperatures. *International journal of hydrogen energy*, 34(23), 9496-9504.
96. Zhu, A., Zhang, G., Wan, T., Shi, T., Wang, H., Wu, M., Wang, C., Huang, S., Guo, Y., Yu, H. & Shao, Z. (2018). Evaluation of $\text{SrSc}_{0.175}\text{Nb}_{0.025}\text{Co}_{0.8}\text{O}_{3-\delta}$ perovskite as a cathode for proton-conducting solid oxide fuel cells: The possibility of in situ creating protonic conductivity and electrochemical performance. *Electrochimica Acta*, 259, 559-565.

97. Wang, X., Huang, K., Qian, J., Cong, Y., Ge, C., & Feng, S. (2017). Enhanced CO catalytic oxidation by Sr reconstruction on the surface of $\text{La}_x\text{Sr}_{1-x}\text{CoO}_{3-\delta}$. *Science Bulletin*, 62(9), 658-664.
98. Yang, T., Mattick, V. F., Chen, Y., An, K., Ma, D., & Huang, K. (2018). Crystal Structure and Transport Properties of Oxygen-Deficient Perovskite $\text{Sr}_{0.9}\text{Y}_{0.1}\text{CoO}_{3-\delta}$. *ACS Applied Energy Materials*, 1(2), 822-832
99. Sun, N., Liu, H., Yu, Z., Zheng, Z., & Shao, C. (2016). Mn-doped $\text{La}_{0.6}\text{Sr}_{0.4}\text{CoO}_3$ perovskite catalysts with enhanced performances for non-aqueous electrolyte Li-O₂ batteries. *RSC Advances*, 6(16), 13522-13530.
100. Ren, Y., Küngas, R., Gorte, R. J., & Deng, C. (2012). The effect of A-site cation (Ln= La, Pr, Sm) on the crystal structure, conductivity and oxygen reduction properties of Sr-doped ferrite perovskites. *Solid State Ionics*, 212, 47-54.
101. Chermahini, M. D., Safaee, I., Kazazi, M., & Shahraki, M. M. (2018). Enhanced multiferroic properties of sono-synthesized BiFeO_3 nanoceramics by co-doping of Sm and Mn elements. *Ceramics International*, 44(12), 14281-14285.
102. Miao, H., Wang, Z., Wang, Q., Sun, S., Xue, Y., Wang, F., Zhao, J., Liu, Z., & Yuan, J. (2018). A new family of Mn-based perovskite ($\text{La}_{1-x}\text{Y}_x\text{MnO}_3$) with improved oxygen electrocatalytic activity for metal-air batteries. *Energy*, 154, 561-570.
103. Liu, W., Kou, H., Wang, X., Bi, L., & Zhao, X. S. (2019). Improving the performance of the $\text{Ba}_{0.5}\text{Sr}_{0.5}\text{Co}_{0.8}\text{Fe}_{0.2}\text{O}_{3-\delta}$ cathode for proton-conducting SOFCs by microwave sintering. *Ceramics International*, 45(16), 20994-20998
104. Ogunniran, K. O., Murugadoss, G., Thangamuthu, R., & Periasamy, P. (2018). All inorganic based $\text{Nd}_{0.9}\text{Mn}_{0.1}\text{FeO}_3$ perovskite for Li-ion battery application: Synthesis, structural and morphological investigation. *Journal of Alloys and Compounds*, 766, 1014-1023
105. Banu, I. S., Lakshmi, S. D., Kossar, S., & Mundari, N. A. A. (2018, March). Substitution driven optical and magnetic properties of neodymium and nickel doped BiFeO_3 ceramics for spintronics applications. In *2018 International Conference on Recent Trends in Electrical, Control and Communication (RTECC)* (pp. 93-98). IEEE
106. Lin, Q., Lin, J., Yang, X., He, Y., Wang, L., & Dong, J. (2019). The effects of Mg^{2+} and Ba^{2+} dopants on the microstructure and magnetic properties of doubly-doped LaFeO_3 perovskite catalytic nanocrystals. *Ceramics International*, 45(3), 3333-3340.

107. Ishihara, T., Bahrain, A. M., & Wu, K. T. (2017). Anodic Performance of $\text{La}_{0.5}\text{Sr}_{0.5}\text{Mn}_{0.9}\text{Al}_{0.1}\text{O}_3$ Perovskite Oxide for Solid Oxide Fuel Cells Using Dry C_3H_8 Fuel. *ECS Transactions*, 78(1), 2511.
108. Vecherskii, S. I., Tabatchikova, S. N., Antonov, B. D., & Biryukov, V. A. (2011). Electrical conductivity of $\text{LaCo}_x\text{Fe}_{1-x}\text{O}_{3-\delta}$ and $\text{LaLi}_{0.1}\text{Co}_x\text{Fe}_{0.9-x}\text{O}_{3-\delta}$ ($0 \leq x \leq 0.4$) oxides. *Inorganic Materials*, 47(12), 1356-1360.
109. Atta, N. F., Galal, A., & Ali, S. M. (2014). The effect of the lanthanide ion-type in LnFeO_3 on the Catalytic activity for the Hydrogen evolution in acidic medium. *Int. J. Electrochem. Sci*, 9, 2132-2148.
110. Müller, S., Striebel, K., & Haas, O. (1994). $\text{La}_{0.6}\text{Ca}_{0.4}\text{CoO}_3$: a stable and powerful catalyst for bifunctional air electrodes. *Electrochimica Acta*, 39(11-12), 1661-1668
111. Wang, M., Zhao, T., Dong, X., Li, M., & Wang, H. (2018). Effects of Ce substitution at the A-site of $\text{LaNi}_{0.5}\text{Fe}_{0.5}\text{O}_3$ perovskite on the enhanced catalytic activity for dry reforming of methane. *Applied Catalysis B: Environmental*, 224, 214-221.
112. Ishihara, T. (2009). Structure and properties of perovskite oxides. In *Perovskite oxide for solid oxide fuel cells* (pp. 1-16). Springer, Boston, MA.
113. Ishihara, T. (2017). Inorganic perovskite oxides. In *Springer Handbook of Electronic and Photonic Materials* (pp. 1-1). Springer, Cham.RE
114. Chen, Y. F., & Orgiu, E. (2019). Charge Transport in Halide Perovskite Single Crystals: Experimental and Theoretical Perspectives. *ChemNanoMat*, 5(3), 290-299.
115. Arshad, M., Du, H., Javed, M. S., Maqsood, A., Ashraf, I., Hussain, S., Ma, W. & Ran, H. (2020). Fabrication, structure, and frequency-dependent electrical and dielectric properties of Sr-doped BaTiO_3 ceramics. *Ceramics International*, 46(2), 2238-2246.
116. Tewatia, K., Sharma, A., Sharma, M., & Kumar, A. (2020). Factors affecting morphological and electrical properties of Barium Titanate: A brief review. *Materials Today: Proceedings*.
117. Kim, B. G., Cho, S. M., Kim, T. Y., & Jang, H. M. (2001). Giant dielectric permittivity observed in Pb-based perovskite ferroelectrics. *Physical review letters*, 86(15), 3404.
118. Mostafa, M., Alrowaili, Z. A., Rashwan, G. M., & Gerges, M. K. (2020). Ferroelectric behavior and spectroscopic properties of La-Modified lead titanate nanoparticles prepared by a sol-gel method. *Heliyon*, 6(2), e03389.

119. Osada, M., Wang, B. Y., Goodge, B. H., Lee, K., Yoon, H., Sakuma, K., Li, D., Miura, M., Kourkoutis, L.F. & Hwang, H. Y. (2020). A superconducting praseodymium nickelate with infinite layer structure. *Nano letters*, 20(8), 5735-5740.
120. Karthikeyan, C., Arunachalam, P., Ramachandran, K., Al-Mayouf, A. M., & Karuppuchamy, S. (2020). Recent advances in semiconductor metal oxides with enhanced methods for solar photocatalytic applications. *Journal of Alloys and Compounds*, 828, 154281.
121. Huang, H., Polavarapu, L., Sichert, J. A., Susa, A. S., Urban, A. S., & Rogach, A. L. (2016). Colloidal lead halide perovskite nanocrystals: synthesis, optical properties and applications. *NPG Asia Materials*, 8(11), e328-e328
122. Ha, S. T., Su, R., Xing, J., Zhang, Q., & Xiong, Q. (2017). Metal halide perovskite nanomaterials: synthesis and applications. *Chemical science*, 8(4), 2522-2536.
123. Wu, Y., Li, X., & Zeng, H. (2019). Highly luminescent and stable halide perovskite nanocrystals. *ACS Energy Letters*, 4(3), 673-681.
124. Wang, X., Zhang, T., Lou, Y., & Zhao, Y. (2019). All-inorganic lead-free perovskites for optoelectronic applications. *Materials chemistry frontiers*, 3(3), 365-375.
125. Gupta, G., Nautiyal, T., & Auluck, S. (2004). Optical properties of the compounds BaTiO₃ and SrTiO₃. *Physical Review B*, 69(5), 052101
126. Barmina, E. V., Mukhametyanov, B. A., Uvarov, O. V., Vlasov, I. I., Kudryavtsev, O. S., Kalachev, Y. L., Skoulas, E., Kourmoulakis, G., Voronov., V.V., Stratakis, E. & Shafeev, G. A. (2020). Laser-Assisted Synthesis of Composite Nanoparticles of Perovskite BaTiO₃ in Aqueous Solutions and Their Optical Properties. *Materials*, 13(18), 4086
127. Garten, L. M., Moore, D. T., Nanayakkara, S. U., Dwaraknath, S., Schulz, P., Wands, J., Rockett, A., Newell, B., Persson, K.A., Troler-McKinstry, S., & Ginley, D. S. (2019). The existence and impact of persistent ferroelectric domains in MAPbI₃. *Science advances*, 5(1), eaas9311.
128. Jellicoe, T. C., Richter, J. M., Glass, H. F., Tabachnyk, M., Brady, R., Dutton, S. E., Rao, A., Friend, R.H., Credginton, D., Greenham, N.C. & Böhm, M. L. (2016). Synthesis and optical properties of lead-free cesium tin halide perovskite nanocrystals. *Journal of the American Chemical Society*, 138(9), 2941-2944.
129. Cao, Z., Hu, F., Zhang, C., Zhu, S., Xiao, M., & Wang, X. (2020). Optical studies of semiconductor perovskite nanocrystals for classical optoelectronic applications and quantum information technologies: a review. *Advanced Photonics*, 2(5), 054001.

130. Jung, H. S., & Park, N. G. (2015). Perovskite solar cells: from materials to devices. *small*, 11(1), 10-25.
131. Behara, S., Priyanga, G. S., & Thomas, T. (2020). Strain-induced effects in the electronic and optical properties of $\text{Na}_{0.5}\text{Bi}_{0.5}\text{TiO}_3$: An ab-initio study. *Materials Today Communications*, 101348.
132. Head, A. R., Gattinoni, C., Trotochaud, L., Yu, Y., Karslıoğlu, O., Pletincx, S., Eichhorn, B. & Bluhm, H. (2019). Water (Non-) Interaction with MoO_3 . *The Journal of Physical Chemistry C*, 123(27), 16836-16842.
133. Zhu, J., Li, H., Zhong, L., Xiao, P., Xu, X., Yang, X., Zhao, Z. & Li, J. (2014). Perovskite oxides: preparation, characterizations, and applications in heterogeneous catalysis. *Acs Catalysis*, 4(9), 2917-2940.
134. Martinson, K. D., Kondrashkova, I. S., Omarov, S. O., Sladkovskiy, D. A., Kiselev, A. S., Kiseleva, T. Y., & Popkov, V. I. (2020). Magnetically recoverable catalyst based on porous nanocrystalline HoFeO_3 for processes of n-hexane conversion. *Advanced Powder Technology*, 31(1), 402-408
135. Polo-Garzon, F., & Wu, Z. (2018). Acid–base catalysis over perovskites: a review. *Journal of Materials Chemistry A*, 6(7), 2877-2894.
136. Hwang, J., Rao, R. R., Giordano, L., Katayama, Y., Yu, Y., & Shao-Horn, Y. (2017). Perovskites in catalysis and electrocatalysis. *Science*, 358(6364), 751-756.
137. Xu, X., Zhong, Y., & Shao, Z. (2019). Double perovskites in catalysis, electrocatalysis, and photo (electro) catalysis. *Trends in Chemistry*, 1(4), 410-424.
138. Kulkarni, S. A., Mhaisalkar, S. G., Mathews, N., & Boix, P. P. (2019). Perovskite nanoparticles: synthesis, properties, and novel applications in photovoltaics and LEDs. *Small Methods*, 3(1), 1800231.
139. Atta, N. F., Galal, A., & El-Ads, E. H. (2016). Perovskite nanomaterials—synthesis, characterization, and applications. *Perovskite Materials—Synthesis, Characterisation, Properties, and Applications*; Pan, L., Ed, 107-151.
140. Lyu, Y. Q., & Ciucci, F. (2017). Activating the bifunctionality of a perovskite oxide toward oxygen reduction and oxygen evolution reactions. *ACS applied materials & interfaces*, 9(41), 35829-35836.
141. Bockris, J. O. M., & Otagawa, T. (2002). Mechanism of oxygen evolution on perovskites. *The Journal of Physical Chemistry*, 87(15), 2960-2971.

142. Lu, Y., Ma, A., Yu, Y., Tan, R., Liu, C., Zhang, P., ... & Gui, J. (2018). Engineering oxygen vacancies into LaCoO₃ perovskite for efficient electrocatalytic oxygen evolution. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 7(3), 2906-2910
143. Civera, A., Pavese, M., Saracco, G., & Specchia, V. (2003). Combustion synthesis of perovskite-type catalysts for natural gas combustion. *Catalysis Today*, 83(1-4), 199-211.
144. Labhassetwar, N., Saravanan, G., Megarajan, S. K., Manwar, N., Khobragade, R., Doggali, P., & Grasset, F. (2015). Perovskite-type catalytic materials for environmental applications. *Science and technology of advanced materials*.
145. Li, L., Tan, S., Salvatore, K. L., & Wong, S. S. (2019). Nanoscale perovskites as catalysts and supports for direct methanol fuel cells. *Chemistry—A European Journal*, 25(33), 7779-7797
146. Royer, S., Duprez, D., Can, F., Courtois, X., Batiot-Dupeyrat, C., Laassiri, S., & Alamdari, H. (2014). Perovskites as substitutes of noble metals for heterogeneous catalysis: dream or reality. *Chemical reviews*, 114(20), 10292-10368.
147. Einaga, H., Nasu, Y., Oda, M., & Saito, H. (2016). Catalytic performances of perovskite oxides for CO oxidation under microwave irradiation. *Chemical Engineering Journal*, 283, 97-104.
148. Maity, A., Raychaudhuri, A. K., & Ghosh, B. (2019). High sensitivity NH₃ gas sensor with electrical readout made on paper with perovskite halide as sensor material. *Scientific reports*, 9(1), 1-10.
149. Xu, W., Li, F., Cai, Z., Wang, Y., Luo, F., & Chen, X. (2016). An ultrasensitive and reversible fluorescence sensor of humidity using perovskite CH₃NH₃PbBr₃. *Journal of Materials Chemistry C*, 4(41), 9651-9655.
150. Gopi, P. K., Muthukutty, B., Chen, S. M., Chen, T. W., Liu, X., Alothman, A. A., Ali, M.A. & Wabaidur, S. M. (2020). Platelet-structured strontium titanate perovskite decorated on graphene oxide as a nanocatalyst for electrochemical determination of neurotransmitter dopamine. *New Journal of Chemistry*, 44(42), 18431-18441.
151. Kaur, P., & Singh, K. (2020). Review of perovskite-structure related cathode materials for solid oxide fuel cells. *Ceramics International*, 46(5), 5521-5535
152. Green, M. A., Ho-Baillie, A., & Snaith, H. J. (2014). The emergence of perovskite solar cells. *Nature photonics*, 8(7), 506-514
153. Veldhuis, S. A., Boix, P. P., Yantara, N., Li, M., Sum, T. C., Mathews, N., & Mhaisalkar, S. G. (2016). Perovskite materials for light-emitting diodes and lasers. *Advanced materials*, 28(32), 6804-6834.

154. Gu, C., & Lee, J. S. (2016). Flexible hybrid organic–inorganic perovskite memory. *ACS nano*, *10*(5), 5413-5418.
155. Han, D., Zhang, T., & Chen, S. (2020). High-throughput first-principles screening of layered magnetic double perovskites $Cs_4MSb_2X_{12}$ for spintronic applications. *Journal of Physics: Condensed Matter*, *32*(22), 225705.
156. Wang, J. (2008). Electrochemical glucose biosensors. *Chemical reviews*, *108*(2), 814-825.
157. Yang, X., Yuan, Y., Dai, Z., Liu, F., & Huang, J. (2016). Optical property and adsorption isotherm models of glucose sensitive membrane based on prism SPR sensor. *Sensors and Actuators B: Chemical*, *237*, 150-158.
158. Honda, M., Kataoka, K., Seki, T., & Takeoka, Y. (2009). Confined stimuli-responsive polymer gel in inverse opal polymer membrane for colorimetric glucose sensor. *Langmuir*, *25*(14), 8349-8356.
159. Park, S., Chung, T. D., & Kim, H. C. (2003). Nonenzymatic glucose detection using mesoporous platinum. *Analytical Chemistry*, *75*(13), 3046-3049.
160. Wang, Y., Chen, J., Zhou, C., Zhou, L., Kong, Y., Long, H., & Zhong, S. (2014). A novel self-cleaning, non-enzymatic glucose sensor working under a very low applied potential based on a Pt nanoparticle-decorated TiO_2 nanotube array electrode. *Electrochimica Acta*, *115*, 269-276.
161. Bai, H., Han, M., Du, Y., Bao, J., & Dai, Z. (2010). Facile synthesis of porous tubular palladium nanostructures and their application in a nonenzymatic glucose sensor. *Chemical communications*, *46*(10), 1739-1741.
162. Meng, L., Jin, J., Yang, G., Lu, T., Zhang, H., & Cai, C. (2009). Nonenzymatic electrochemical detection of glucose based on palladium– single-walled carbon nanotube hybrid nanostructures. *Analytical chemistry*, *81*(17), 7271-7280.
163. Zhu, H., Li, L., Zhou, W., Shao, Z., & Chen, X. (2016). Advances in non-enzymatic glucose sensors based on metal oxides. *Journal of Materials Chemistry B*, *4*(46), 7333-7349.
164. Meadowcroft, D. B. (1970). Low-cost oxygen electrode material. *Nature*, *226*(5248), 847-848.
165. Bockris, J. O. M., & Otagawa, T. (1984). The electrocatalysis of oxygen evolution on perovskites. *Journal of The Electrochemical Society*, *131*(2), 290.
166. Sun, C., Hui, R., & Roller, J. (2010). Cathode materials for solid oxide fuel cells: a review. *Journal of Solid State Electrochemistry*, *14*(7), 1125-1144.

167. Y. Wang, Y. Xu, L. Luo, Y. Ding, X. Liu, A. Huang, *Sens. Actuators B* 2010, 151, 65–70
168. Zhang, Z., Gu, S., Ding, Y., & Jin, J. (2012). A novel nonenzymatic sensor based on $\text{LaNi}_{0.6}\text{Co}_{0.4}\text{O}_3$ modified electrode for hydrogen peroxide and glucose. *Analytica chimica acta*, 745, 112-117.
169. Wang, B., Gu, S., Ding, Y., Chu, Y., Zhang, Z., Ba, X., Zhang, Q. & Li, X. (2013). A novel route to prepare LaNiO_3 perovskite-type oxide nanofibers by electrospinning for glucose and hydrogen peroxide sensing. *Analyst*, 138(1), 362-367.
170. Wang, Y. Z., Zhong, H., Li, X. M., Jia, F. F., Shi, Y. X., Zhang, W. G., Cheng, Z.P., Zhang, L.L. & Wang, J. K. (2013). Perovskite $\text{LaTiO}_3\text{-Ag}_{0.2}$ nanomaterials for nonenzymatic glucose sensor with high performance. *Biosensors and Bioelectronics*, 48, 56-60.
171. Xu, D., Luo, L., Ding, Y., & Xu, P. (2015). Sensitive electrochemical detection of glucose based on electrospun $\text{La}_{0.88}\text{Sr}_{0.12}\text{MnO}_3$ nanofibers modified electrode. *Analytical biochemistry*, 489, 38-43.
172. Ekram, H., Galal, A., & Atta, N. F. (2016). The effect of A-site doping in a strontium palladium perovskite and its applications for non-enzymatic glucose sensing. *RSC advances*, 6(20), 16183-16196.
173. M. Sivakumar, K. Pandi, S. M. Chen, Y. H. Cheng, M. Sakthivel, *New J. Chem.* 2017, 41, 11201.
174. He, J., Sunarso, J., Zhu, Y., Zhong, Y., Miao, J., Zhou, W., & Shao, Z. (2017). High-performance non-enzymatic perovskite sensor for hydrogen peroxide and glucose electrochemical detection. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 244, 482-491.
175. Vashook, V. V., Ullmann, H., Olshevskaya, O. P., Kulik, V. P., Lukashevich, V. E., & Kokhanovskij, L. V. (2000). Composition and electrical conductivity of some cobaltates of the type $\text{La}_{2-x}\text{Sr}_x\text{CoO}_{4.5-x/2+\delta}$. *Solid State Ionics*, 138(1-2), 99-104.
176. I. Rassas, M. Braiek, A. Bonhomme, F. Bessueille, G. Rafin, H. Majdoub, N. Jaffrezic-Renault (2019) Voltammetric glucose biosensor based on glucose oxidase encapsulation in a chitosan-kappa-carrageenan polyelectrolyte complex. *Mater. Sci. Eng. C* 2019, 95, 152–159.

Conclusion générale

Conclusion générale et perspectives

Le travail de cette thèse s'inscrit dans le cadre de l'élaboration de capteurs électrochimiques qui pourraient être utilisés dans des milieux réels pour la détection d'espèces en solution.

En premier lieu, un nouveau concept de biocapteur voltamétrique de catéchol, basé sur l'encapsulation de la laccase (**LAC**) dans un complexe polyélectrolyte (PEC) chitosane +galactomannane utilisant un processus de coaservation simple a été présenté. Le galactomannane a été extrait à partir des graines de caroube, le biocapteur fabriqué a été caractérisé par IRTF, microscopie électronique à balayage et voltampérométrie cyclique. La détection du pyrocatechol est obtenue par des mesures de voltampérométrie cyclique, par la détection de l'o-quinone à -0,447 V. L'activité de la laccase est bien préservée dans le composite chitosane +galactomannane et la sensibilité de détection du pyrocatechol dans la gamme 10^{-16} M- 10^{-4} M est très élevée. La réponse voltampérométrique du biocapteur est stable pendant plus de deux semaines. Pour estimer la capacité antioxydante des échantillons d'huile d'olive, on a démontré que le biocapteur à base de laccase obtenu est une alternative valable à la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu.

Dans la partie suivante, nous nous sommes intéressés à la détermination instantanée des niveaux de glucose dans le plasma sanguin, nécessaire pour surveiller les malades du diabète. La prochaine génération de capteurs électrochimiques vise à éliminer l'utilisation des enzymes en raison de leur manque de stabilité et de la procédure complexe pour les immobiliser sur l'électrode. Dans ce travail, la pérovskite $\text{Pr}_{1.92}\text{Ba}_{0.08}\text{Ni}_{0.95}\text{Zn}_{0.05}\text{O}_{4+\delta}$, un type $\text{A}_2\text{BO}_{4+\delta}$, est testée, pour la première fois, pour la détection non enzymatique du glucose. Elle est synthétisée par une méthode sol-gel. La poudre cristallisée obtenue est caractérisée structurellement par XRD, morphologiquement par SEM et EDX et électrochimiquement. Un système cristallographique monoclinique est formé.

La présence de Pr_2O_3 pendant la synthèse et la calcination est en accord avec la formation de défauts dans le réseau cristallin et la dismutation des sites Ni^{III} en Ni^{II} et Ni^{IV} , due à la substitution de Pr par Ba. L'oxydo-réduction des sites Ni^{II} est observée par voltampérométrie cyclique. L'oxydation électrocatalytique du glucose par le site Ni^{III} est observée sur une électrode en or, à 481 mV.

Les performances analytiques de ce capteur du glucose sont bonnes par rapport aux électrodes ABO_3 modifiées publiées précédemment, en termes de gamme dynamique (1,5 μM -7000 μM) et de limite de détection (0,5 μM). Son application au sérum humain montre qu'il n'y a pas d'interférence pour la détection du glucose. Les résultats obtenus peuvent être utilisés comme base ou guide pour des nouvelles études.

A la lumière de ce qui a été réalisé, il serait intéressant:

- ✓ De poursuivre cette étude en procédant à l'investigation des conditions de dépôt électrochimique des films pouvant aboutir d'une part, à faire augmenter les performances analytiques de capteur, à diminuer la limite de détection et à élargir le domaine de linéarité du capteur tout en maintenant sa très haute sensibilité, et d'autre part à la possibilité d'appliquer ces nouvelles matrices dans le domaine biologique.
- ✓ Une autre exploration, non moins importante, serait d'introduire des oxydes pérovskites qui pourraient être synthétisés à la surface d'électrode, cela créerait des films plus stables et prometteurs pour la détection électrocatalytique non-enzymatique.
- ✓ Introduire les polysaccharides biocompatibles et biodégradables dans l'immobilisation enzymatique et non enzymatique.