



HAL
open science

Développement d'une plateforme électrochimique pour la détection de contaminants émergents.

Quentin Palas

► **To cite this version:**

Quentin Palas. Développement d'une plateforme électrochimique pour la détection de contaminants émergents.. Chimie analytique. Université de Pau et des Pays de l'Adour, 2023. Français. NNT : 2023PAUU3067 . tel-04702942

HAL Id: tel-04702942

<https://theses.hal.science/tel-04702942v1>

Submitted on 19 Sep 2024

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

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

THÈSE

UNIVERSITE DE PAU ET DES PAYS DE L'ADOUR
École doctorale Sciences Exactes et leurs Applications (ED 211)

Présentée et soutenue le 21 Décembre 2023
par **Quentin PALAS**

pour obtenir le grade de docteur
de l'Université de Pau et des Pays de l'Adour
Spécialité : Chimie analytique

Développement d'une plateforme électrochimique pour
la détection de contaminants émergents.

MEMBRES DU JURY

RAPPORTEURS

- Boris LAKARD
- Vincent BALL

Professeur des universités / Université de Franche-Comté
Professeur des universités / Université de Strasbourg

EXAMINATEUR

- Stéphanie REYNAUD
- Elise DENIAU-LEJEUNE

Directeur de recherche / Université de Pau et des Pays de l'Adour
Maître de conférences / Le Mans Université

MEMBRE INVITÉ

- Corinne PARAT

Ingénieur de recherche / Université de Pau et des Pays de l'Adour

DIRECTEURS

- Luisa RONGA
- Christine LARTIGAU-DAGRON

Maître de conférences/ Université de Pau et des Pays de l'Adour
Maître de conférences-HDR/ Université de Pau et des Pays de l'Adour

Remerciements

Bien que ce manuscrit soit à mon nom, je ne peux pas dire que j'ai été seul pour arriver jusqu'au bout de sa rédaction.

Je tiens donc à remercier mes directrices de thèse Christine Lartigau-Dagron et Luisa Ronga pour votre implication et votre disponibilité tout au long de ces travaux. La découverte de l'électrochimie a pu nous offrir de belle surprise, vous avez toujours su m'aider à rebondir.

Je remercie mes collègues de labo de l'équipe Captain Adhoc, Amine, Jordan et Estelle pour toute l'aide que vous avez pu m'apporter au laboratoire.

Je tiens particulièrement à remercier Corinne Parat pour m'avoir accompagné en électrochimie, mais surtout pour m'avoir secoué lorsque c'était nécessaire.

Merci aux copains de l'IPREM, pour les bons moments passés, les matchs de padel ou de foot, les kilomètres de murs escaladés et les nombreuses discussions philosophiques autour de quelques verres.

Bien entendu, je ne serai pas arrivé au bout de ce doctorat sans le soutien de ma famille.

Je tiens donc à remercier mes parents pour votre soutien sans faille toutes ces années, dans la vie comme dans les études. Grâce à vous la vie à toujours paru facile et amusante, vous m'avez apporté la confiance nécessaire pour arriver à cet objectif.

Léa, ma petite sœur, tu illumines mes journées par ton sourire et ta bonne humeur. Je te remercie pour tout l'amour que tu nous portes.

Marie, tu m'accompagne au quotidien depuis le début. Ces trois dernières années, notre vie à bien évoluée, on a démarré avec le début de ma thèse, puis l'ouverture de ton cabinet de kiné, l'achat et la rénovation de notre maison et enfin l'arrivée d'Étienne. Avec tout ça j'ai failli oublier de finir ma thèse ! Je te remercie pour tout, tu as su rendre notre vie captivante. Tu m'apportes le bonheur chaque jour.

Enfin je voulais remercier mon fils, Étienne, d'avoir attendu que je soutienne ma thèse pour arriver au monde. La vue de ton sourire me remplit de joie chaque matin. J'espère pouvoir t'apporter tout ce dont tu as besoin pour que tu puisses t'épanouir.

Résumé

Ce travail de recherche doctorale s'inscrit dans un projet de recherche Captain ADHOC (E2S-UPPA 2020-2024) qui vise à développer un capteur électrochimique sensible et sélectif pour la détection *in situ* et en temps réel de contaminants tels que les pesticides et les médicaments dans l'eau de rivière.

L'objectif de cette thèse est de concevoir une plateforme électrochimique pour la détection de pesticides en étudiant deux types de capteurs par rapport à leurs sélectivités et spécificités : les aptacapteurs et les capteurs à base de polymère à empreinte moléculaire (MIP).

Pour fonctionnaliser des électrodes de carbone avec des aptamères, deux stratégies ont été explorées. La première consiste en la copolymérisation électrochimique du pyrrole et de l'acide pyrrole-1-propionique. Des preuves de la fonctionnalisation de l'électrode et du greffage des aptamères ont été établies en utilisant la spectrométrie photoélectronique à rayons X. Les mesures électrochimiques ont montré l'efficacité de la plateforme lorsqu'un aptamère modèle, l'aptamère anti-thrombine, est utilisé. Cependant, la même plateforme électrochimique fonctionnalisée avec un aptamère spécifique pour un pesticide, le thiabendazole, s'est révélée inefficace.

La deuxième stratégie repose sur l'auto-assemblage du dipeptide L-Phénylalanyl-L-Phénylalanine (Phe-Phe) pour obtenir un revêtement stable à la surface de l'électrode. Après avoir testé différentes conditions d'auto-assemblage et caractérisé les fibres de Phe-Phe déposées uniformément sur les électrodes de carbone par microscopie optique, la caractérisation de surface a permis de confirmer le greffage covalent des aptamères sur les fibres. Finalement, différentes techniques électrochimiques, telles que la voltamétrie cyclique ou la voltamétrie à impulsions différentielles, ont démontré de bonnes capacités du capteur pour la détection électrochimique de grosses molécules telles que la thrombine.

En raison de l'inefficacité de la détection des pesticides par les aptacapteurs, des méthodes de détection directe ont été envisagées. Parmi celles-ci, il a été possible de détecter le glyphosate directement sur une surface en or. En effet, la modification d'une électrode de carbone sérigraphiée par un dépôt d'or (Au/SPCE) a permis d'atteindre une limite de détection (LOD) du glyphosate de 5 $\mu\text{mol/L}$. Cependant, elle n'est pas suffisante pour respecter la limite française de concentration de glyphosate dans l'eau potable fixée à 5 nmol/L . Afin d'améliorer la LOD et atteindre cette limite légale, cette électrode Au-SPCE a été modifiée par électrodéposition d'une couche de polypyrrole en présence de glyphosate, qui est ensuite lavé pour former un polymère à empreinte moléculaire. L'étude a donc consisté à comparer les résultats de l'électropolymérisation du pyrrole sur l'électrode Au/SPCE en présence ou en l'absence de glyphosate. Pour ce faire, les propriétés structurales de l'électrode ont été analysées à l'aide de la microscopie électronique à balayage. Les compositions chimiques des différentes électrodes ont été caractérisées par spectrométrie photoélectronique à rayons X, afin de comprendre les mécanismes mis en jeu lors de la détection. Cette approche a considérablement amélioré la détection du glyphosate, permettant ainsi de détecter des quantités de glyphosate de l'ordre du picomole par litre, inférieures à la limite légale dans l'eau.

Summary

This doctoral research work is part of the Captain ADHOC research project (E2S-UPPA 2020-2024), which aims to develop a sensitive and selective electrochemical sensor for the real-time, *in situ* detection of contaminants such as pesticides and drugs in river water.

The objective of this thesis is to design and develop an electrochemical platform for the detection of pesticides by studying two types of sensors for their selectivity and specificity: aptasensors and molecularly imprinted polymer (MIP)-based sensors. To functionalize carbon electrodes with aptamers, two strategies were explored. The first is based on the electrochemical copolymerization of pyrrole and pyrrole-1-propionic acid. Evidence of electrode functionalization and aptamers grafting was provided by X-ray photoelectron spectroscopy. Electrochemical measurements demonstrated the platform's effectiveness with a model aptamer: the anti-thrombin aptamer. However, the same electrochemical platform functionalized by an aptamer specific for a pesticide, the thiabendazole, was ineffective for its electrochemical detection.

The second strategy relied on the self-assembly of the dipeptide L-Phenylalanyl-L-Phenylalanine (Phe-Phe) to obtain a stable coating on the electrode surface. After testing various self-assembling conditions and characterizing the uniform deposition of Phe-Phe fibers on carbon electrodes using optical microscopy, surface characterization confirmed the covalent grafting of aptamers on fibers. Finally, different electrochemical techniques, such as cyclic voltametry or differential pulse voltametry, demonstrated the sensor's capabilities for electrochemical detection of large molecules like thrombin.

Due to the inefficiency of pesticide detection by aptasensors, direct detection methods were considered. Among these, it was possible to detect glyphosate directly on a gold surface. Indeed, the modification of a screen-printed carbon electrode by gold deposition (Au/SPCE) achieved a limit of detection (LOD) for glyphosate of 5 $\mu\text{mol/L}$. However, this did not reach the French limit for glyphosate concentration in drinking water, fixed at 5 nmol/L . To improve the LOD and reach this legal limit, the Au-SPCE electrode was modified by electrodepositing a thin layer of polypyrrole in the presence of glyphosate, which was then washed to form a molecularly imprinted polymer. The study compared the results of electropolymerization of pyrrole on the Au/SPCE electrode in the presence or the absence of glyphosate. To do this, the structural properties of the electrode were analyzed using scanning electron microscopy. The chemical compositions of the different electrodes were characterized by X-ray photoelectron spectroscopy to understand the mechanisms involved in the detection. This approach significantly improved the detection of glyphosate, allowing the detection of glyphosate at picomole per liter levels, below the legal limit in water.

Table des matières

Résumé.....	4
Summary.....	5
1. Introduction générale	10
2. Études bibliographiques	12
2.1. Les pesticides.....	12
2.1.1. Cycle de vie des pesticides	12
2.1.2. Risques toxicologiques	16
2.2. Capteurs et biocapteurs électrochimiques pour la détection de pesticides	17
2.2.1. Généralités.....	17
2.2.2. Les immunocapteurs	19
2.2.3. Les aptacapteurs.....	23
2.2.4. Les capteurs à base de polymères à empreintes moléculaire (MIPs).....	32
2.3. Les polymères conducteurs	39
2.3.1. Généralités.....	39
2.3.2. Polymères pour les (bio)capteurs électrochimiques	44
2.4. L'auto-assemblage de la L-Phénylalanine-L-phénylalanine (FF).....	47
2.5. Objectifs de la thèse	51
2.6. Références bibliographiques	53
3. RESULTATS	67
3.1. Développement de plateformes électrochimiques à base de polypyrrole pour le greffage des aptamères	67
3.1.1. Construction de la plateforme.....	68
3.1.2. Fonctionnalisation du polypyrrole et greffage d'aptamères.....	73
3.1.3. Sensibilité et stabilité électrochimique de la plateforme	77
3.1.4. Détection électrochimique	85
3.1.5. Conclusions.....	88
3.2. Auto-assemblage de peptides pour le développement d'un aptacapteur.....	90
3.2.1. Mise en forme des fibres de L-Phénylalanine-L-Phénylalanine (FF)	91
3.2.2. Sensibilité et stabilité électrochimique	102
3.2.3. Greffage d'aptamères	106
3.2.4. Détection électrochimique de la cible.....	109
3.2.5. Conclusions.....	110
3.3. Détection du glyphosate grâce aux polymères à empreintes moléculaires.....	112

3.3.1.	Détection électrochimique du glyphosate	113
3.3.2.	Polypyrrole comme polymère à empreinte moléculaire (MIP)	116
3.3.3.	Conclusion	131
4.	Conclusion générale	132
5.	Partie expérimentale	134
5.1.	Matériels.....	134
5.1.1.	Réactifs	134
5.1.2.	Montage électrochimique	134
5.1.3.	Electrodes sérigraphiées.....	136
5.2.	Méthodes	138
5.2.1.	Méthodes électrochimiques utilisées.....	138
5.2.2.	Construction des plateformes électrochimiques.....	141
5.2.3.	Caractérisation de surface	144
	Liste des figures.....	146
	Liste des abréviations	150
	Production scientifique	151

1. Introduction générale

Ce travail de thèse d'une durée de 3 ans, financé par E2S UPPA et la Communauté d'Agglomération de Pau Pyrénées, fait partie intégrante du projet de recherche Captain ADHOC qui a pour objectif de développer un capteur électrochimique capable de détecter et doser les polluants dans les eaux de rivière, notamment les eaux locales du bassin de l'Adour.

Dans un premier temps il est nécessaire de définir ce qu'est la pollution visée par cette étude. La pollution environnementale peut être décrite comme l'introduction de substances dangereuses dans l'environnement, souvent appelées polluants ou contaminants. Certains polluants sont largement connus du grand public en raison de leurs effets néfastes sur l'environnement et la santé qui ont déjà été décrits. Parmi ces contaminants, les oxydes de soufre, d'azote et de carbone, les composés organiques volatils et les métaux potentiellement toxiques. Ces contaminants sont surveillés par la Commission européenne afin de limiter leur impact sur l'environnement. La directive cadre européenne sur l'eau du 23 octobre 2000 impose à chaque pays membre de l'Union européenne la gestion et la protection des ressources en eau et des milieux aquatiques¹. L'objectif principal défini par cette directive est d'atteindre un bon état des eaux superficielles et souterraines et fait référence à une liste de 21 substances dangereuses prioritaires de la directive 2013/39/UE du 12 Août 2013².

Cependant, une nouvelle classe de polluants environnementaux est régulièrement étudiée, il s'agit des contaminants émergents (CE).³ Les contaminants émergents sont couramment définis comme des substances chimiques synthétiques ou naturelles fréquemment présentes dans l'environnement, qui ne sont pas réglementées, mais qui peuvent potentiellement avoir des effets néfastes sur l'environnement.

Ainsi, Sauvé et Desrosiers⁴ montrent l'évolution des « contaminants d'inquiétude émergente », terme qu'ils préfèrent à "contaminants émergents", car selon eux, différents polluants ont pu être historiquement perçus comme des polluants émergents. La première prise de conscience du danger des polluants émergents est souvent attribuée à Rachel Carson à travers son livre « Silent Spring »⁵ où elle a démontré que l'utilisation massive du dichlorodiphényltrichloroéthane pour éliminer les moustiques avait conduit à la disparition de nombreux oiseaux.

Cependant les premières études pouvant être associées aux contaminants émergents proviennent de Hong *et al*⁶, qui ont mis en évidence la pollution causée par l'extraction du plomb et de l'argent par les civilisations grecque et romaine. Cette pollution a eu un impact étendu, allant jusqu'au Groenland où des traces de plomb ont été retrouvées, piégées dans les glaces.

Cela démontre que les substances émergentes dans l'environnement ne sont pas nécessairement de nouveaux composés chimiques, mais peuvent être des substances qui ont longtemps été présentes dans l'environnement et dont les effets n'ont été compris que récemment. Pour approfondir la notion d'émergence, Khan *et al.*⁷ les définissent en trois catégories:

- les nouvelles molécules qui émergent dans l'environnement,
- les molécules qui étaient connues pour exister dans l'environnement, mais dont les effets toxiques émergent,
- les contaminants déjà connus, mais qui présentent de nouveaux effets toxicologiques.

A partir de ces définitions plus précises, les principales catégories de contaminants émergents comprennent les produits chimiques industriels, les pesticides, les tensioactifs, les produits pharmaceutiques et cosmétiques⁸, y compris un grand nombre d'hormones⁹ et de substances alkyles poly- et perfluorées (PFAS)¹⁰.

Dans ce projet, un focus est donné aux résidus de pesticides (métolachlore, glyphosate, etc) car ils ont été retrouvés fréquemment dans les eaux de surface locale, notamment dans le bassin Adour-Garonne.

2. Études bibliographiques

2.1. Les pesticides

2.1.1. Cycle de vie des pesticides

Les pesticides sont des substances ou des produits destinés à lutter contre les organismes jugés nuisibles, qu'ils s'agissent de plantes, d'animaux, de champignons ou de bactéries. Les pesticides peuvent être classés en plusieurs catégories en fonction de la cible visée, telles que les herbicides, les insecticides, les fongicides, les nématicides, les rodenticides, etc.

Les pesticides sont principalement utilisés en agriculture pour améliorer les rendements de production. La Figure 1 montre que la consommation de pesticides en 2020 s'élevait à environ 2 650 000 tonnes. Leur utilisation a considérablement augmenté dans le monde au cours des 20 dernières années, en particulier dans les continents de l'hémisphère sud.

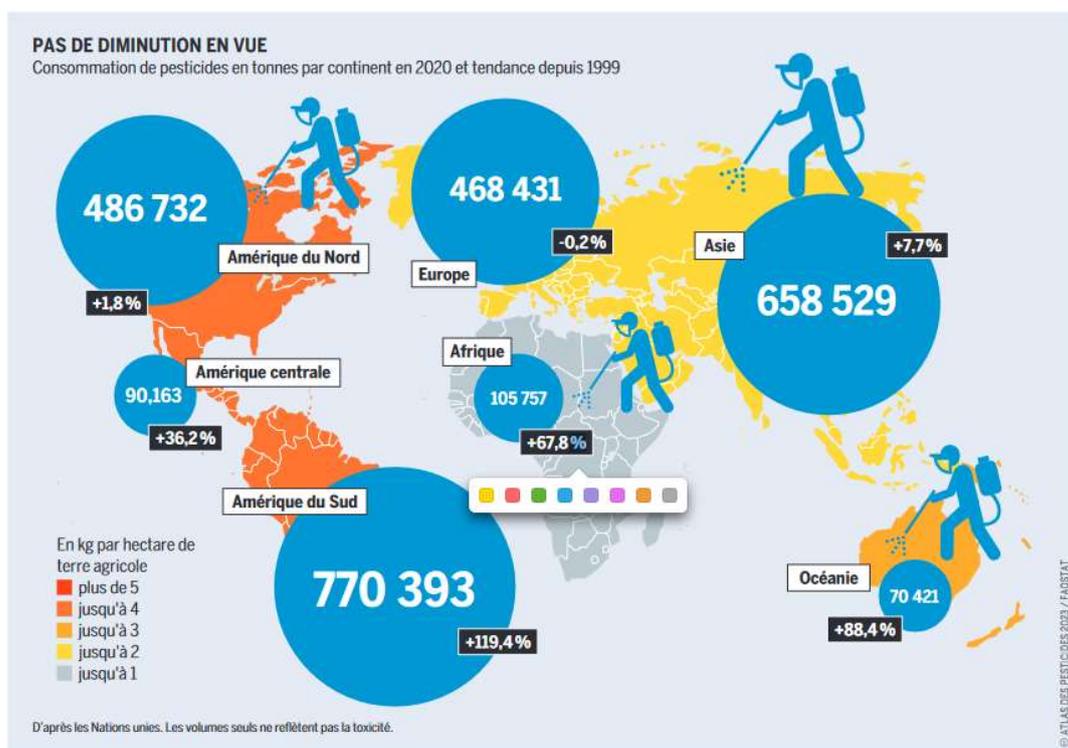


Figure 1 : Consommation des pesticides en tonnes par région du monde en 2020 et tendance depuis 1999 selon l'ATLAS DES PESTICIDES 2023.

La Figure 2 montre l'évolution des ventes de pesticides dans l'Union-européenne de l'année 2011 à 2020. Les fongicides et les herbicides ont été les principaux pesticides représentant respectivement 40 à 44 % et 30 à 36 % des ventes totales de pesticides selon les années. Malgré une chute des ventes de fongicide en 2019, attribuée aux conditions météo, la vente de pesticides en Europe semble stable, aux alentours de 400 000 tonnes par an. Au sein de l'Europe, la France est le premier consommateur de pesticides, avec 65 000 tonnes pour l'année 2020, suivi par l'Italie et l'Allemagne avec 56 000 et 49 000 tonnes, respectivement.

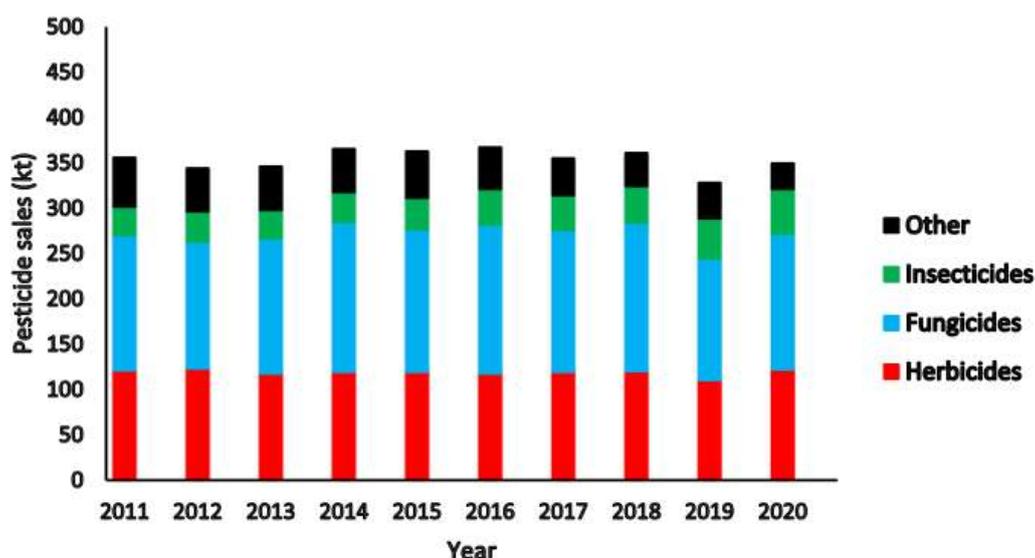


Figure 2 : Quantité de pesticides vendus en Europe en fonction de l'année, en vert les insecticides, en bleu les fongicides, en rouge les herbicides et en noir les autres selon McGinley et al.¹¹

La forte consommation de pesticides est principalement due à leur impact économique. Par exemple, le glyphosate, l'herbicide le plus utilisé dans le monde, permet d'augmenter les rendements de production de céréales d'environ 40%.¹² Selon Cook *et al.*,¹³ l'utilisation du glyphosate et des cultures résistantes au glyphosate permet à l'industrie agricole du Royaume-Uni d'économiser 40 millions de Livres sterling par an. Cette économie considérable se répercute sur le prix des aliments, réduisant par exemple le prix du blé de 40% grâce à l'utilisation du glyphosate. Aux États-Unis, l'utilisation du glyphosate a débuté en 1996, et la production de maïs, de soja et de coton aux États-Unis est passée de 1,8 million de kg en 1990 à 45 millions de kg en 2005.¹⁴ Cependant, il a été démontré qu'une part significative des produits appliqués en agriculture n'atteint jamais les organismes ciblés. En effet, moins de 15% des pesticides appliqués parviennent effectivement à atteindre leurs cibles, le reste de ces produits chimiques, donc 85% de la quantité utilisée, se disperse dans divers compartiments de l'environnement.¹⁵ Lunardi *et al.* ont décrit le parcours des pesticides depuis leur point d'application jusqu'aux eaux souterraines, comme illustré dans la Figure 3.¹⁶

Ainsi, les pesticides pulvérisés sur les cultures peuvent suivre trois voies distinctes :

- 1) Lorsqu'ils sont emportés par les précipitations, ils peuvent s'écouler directement dans les cours d'eau.
- 2) S'ils sont entraînés par les précipitations, ils peuvent s'infiltrer dans les sols et atteindre les nappes phréatiques.
- 3) Ils peuvent également s'évaporer et retomber avec les pluies, finissant par se déverser dans les eaux de surface.

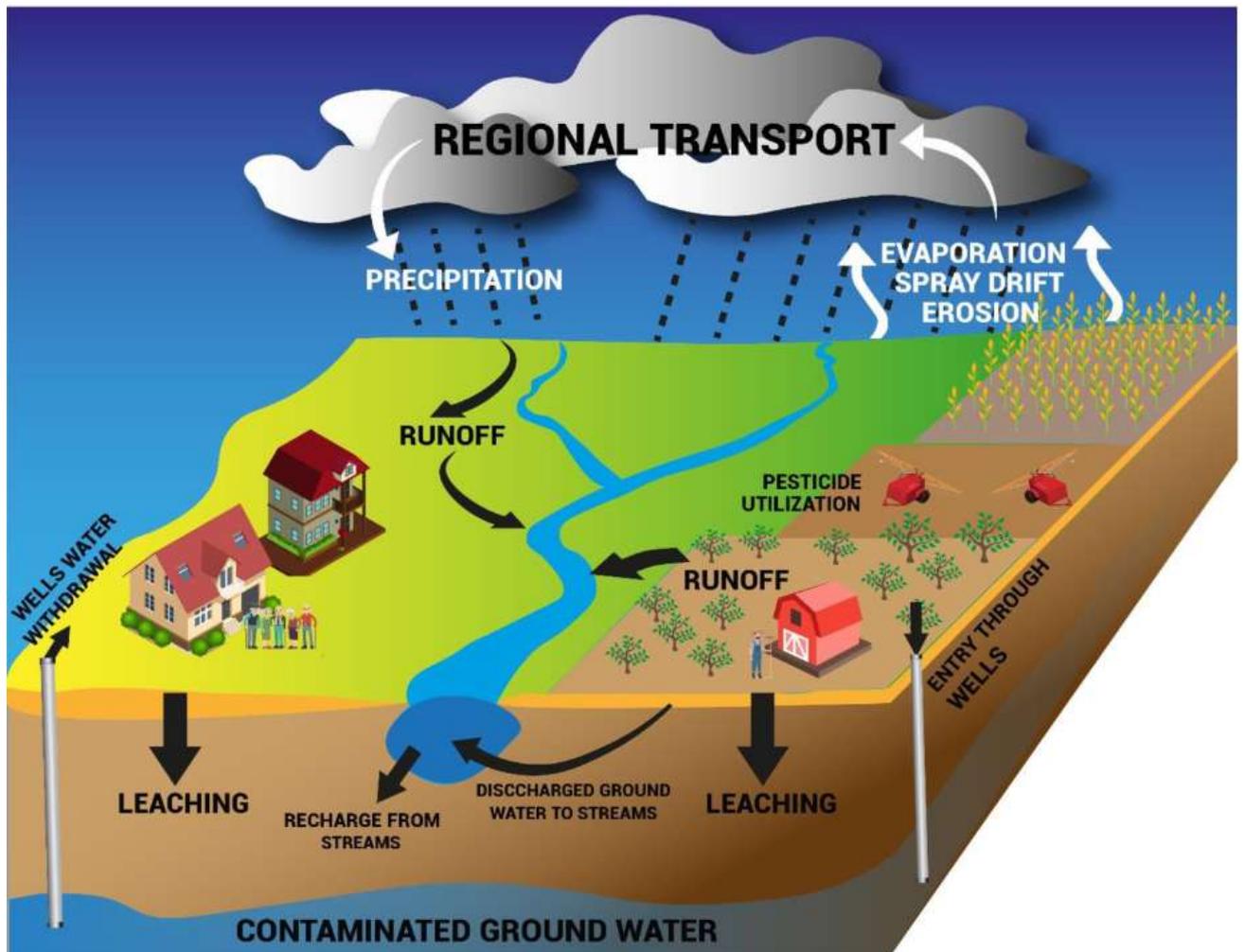


Figure 3 : Devenir des pesticides appliqués dans l'environnement selon Lunardi et al. ¹⁶

En fin de compte, environ 85% des pesticides vendus finissent par se retrouver dans les eaux de surface ou les eaux souterraines. En Europe, cela représente 340 000 tonnes de pesticides se déversant dans les eaux chaque année. Il est donc crucial d'être capable de détecter et doser ces pesticides.

La classification des pesticides peut être complexe, car elle peut se faire en fonction de différents critères. Les catégories courantes pour les pesticides sont souvent basées sur la cible visée, telles que les herbicides, les insecticides, les fongicides, les nématicides et les rodenticides. Cependant, ces groupes peuvent comporter une grande variété de produits avec des caractéristiques chimiques diverses.¹⁷⁻¹⁹

Les pesticides peuvent également être classés en fonction de leur composition chimique, indépendamment de leur mode d'action. Voici cinq catégories majeures de pesticides basées sur leur composition chimique :

- Les organophosphorés²⁰ : composés organiques contenant au moins un atome de phosphore, généralement dérivés de l'acide phosphorique. Les principaux pesticides organophosphorés sont le chlorpyrifos, le parathion, le malathion, le glyphosate et le triazophos. La plupart des pesticides organophosphorés sont des insecticides, mais on trouve également des herbicides, comme le glyphosate.
- Les organochlorés²¹ : composés organiques contenant au moins un atome de chlore. Des exemples incluent le chlordane, le lindane, la dieldrine, le β -endosulfan et l'endrine. Généralement, les pesticides organochlorés sont également utilisés en tant que pesticides. Leur utilisation est maintenant moins fréquente en raison de leur persistance dans l'environnement.
- Les carbamates²⁰ : dérivés principalement de l'acide carbamique. Certains exemples de carbamates comprennent l'aldicarbe, le carbofuran, le carbaryl, le fenobucarbe, l'oxamyl et le méthomyl. On retrouve à la fois des herbicides, des insecticides et des fongicides parmi les carbamates.
- Les triazines²² : composés constitués d'hétérocycles azotés. Parmi les triazines, on trouve des herbicides tels que l'atrazine, la propazine, la simazine, le prometon, le terbumeton et le sebumeton. La plupart de ces pesticides sont utilisés en tant qu'herbicides.
- Les phenoxy²³ : pesticides qui comportent des groupes phényle dans leur structure, tels que le mecoprop, le dichlorprop et l'acide 2,4-dichlorophénoxyacétique. Les pesticides phenoxy sont généralement des herbicides qui sont peu persistants, voire pas du tout, dans l'environnement.

À la vue de l'immense diversité de pesticides utilisés à travers le monde, la classification des pesticides est importante pour comprendre les effets sur l'environnement et leur réglementation. Elle permet également de mieux cerner les risques potentiels associés à chaque catégorie de pesticides.

2.1.2. Risques toxicologiques

L'utilisation excessive de pesticides, entraîne une décharge importante de ceux-ci dans les eaux de surfaces. Ainsi, les pesticides entrent en contact avec de nombreuses espèces végétales ou animales qui ne sont pas les cibles originales. De nombreuses études répertorient leurs impacts néfastes. On retrouve notamment des impacts sur la biodiversité, sur la santé humaine, mais aussi sur la chaîne alimentaire et sur le réchauffement climatique.^{15,24}

De plus, des études ont montré que des résidus de pesticides peuvent se retrouver dans les produits alimentaires, notamment dans les céréales et la viande²⁵, se retrouvant alors chez l'Homme. Notamment, 99% des urines des français contiendraient du glyphosate.²⁶ La proportion de glyphosate serait même plus importante chez les jeunes où il est possible de retrouver jusqu'à 2 µg/L de glyphosate dans les urines.²⁷

Le centre international de recherche sur le cancer (CIRC) a réalisé des évaluations des risques potentiels pour la santé associée aux pesticides. 25 substances ont été définies comme potentiellement carcinogénétiques. En effet, Alavanja *et al.*²⁸ ont rapporté que le contact direct avec certains pesticides spécifiques pouvait être en lien avec les cancers du poumon, de la prostate ou du pancréas. Les analyses indiquent que les agriculteurs ou les personnes vivant dans des zones agricoles ont un risque accru à ces cancers. L'effet des pesticides sur la santé ne se limiterait pas à l'augmentation du risque de cancer. Montgomery *et al.*²⁹ ont avancé l'idée que les fermiers utilisant régulièrement des pesticides organochlorés avaient un risque accru de plus de 50% à développer le diabète. Une étude systématique, sur 300 000 participants dans 10 pays sur 3 continents, menée par Evangleou *et al.*³⁰ a confirmé cette idée. Tanner *et al.*³¹ ont rapporté l'effet d'inhibition des mitochondries par certains pesticides comme le paraquat qui impliquerait l'augmentation des risques de développer la maladie de Parkinson.

Ces études sont quelques exemples des effets que peuvent avoir le contact régulier des pesticides sur la santé humaine, mais il existe aussi des risques pour la biodiversité, en affectant la faune, la flore et les écosystèmes. Cela peut inclure la contamination des sols et des eaux, la réduction de la biodiversité, et la perturbation des chaînes alimentaires naturelles.

Bien que moins souvent évoqué, l'utilisation de pesticides peut également avoir des implications pour le climat. Le rôle précis et le mécanisme des pesticides, leur solubilité, leur persistance et leurs caractéristiques de dégradation sont des facteurs qui contribuent largement au changement climatique.¹⁵

2.2. Capteurs et biocapteurs électrochimiques pour la détection de pesticides

2.2.1. Généralités

Pour détecter avec précision les pesticides tout en respectant les limites de concentration établies par les autorités compétentes, à savoir 0,1 µg/L pour chaque substance, il est essentiel de recourir à des techniques sophistiquées. Les méthodes traditionnelles telles que la chromatographie en phase gazeuse et la chromatographie en phase liquide, couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS et LC-MS) ont longtemps été privilégiées pour leur capacité à fournir des analyses sensibles, sélectives et reproductibles des résidus de pesticides dans l'eau.³²⁻³⁶ Cependant, l'inconvénient de ces méthodes réside dans le fait que les échantillons nécessitent un prétraitement complexe pour être extrait des matrices d'analyses. De plus, les analyses doivent obligatoirement être réalisées dans des laboratoires équipés avec un personnel formé. Par conséquent, l'analyse est coûteuse et largement différée par rapport au prélèvement. Cela limite donc l'utilisation possible de ces méthodes pour des enquêtes sur les eaux courantes, où il est nécessaire de surveiller fréquemment et en temps réel afin de détecter rapidement d'éventuels pics de pollution et de prendre des mesures appropriées.

Les biocapteurs apparaissent comme des outils d'analyses prometteurs pour remplacer les méthodes conventionnelles pour des mesures régulières. Ils offrent la possibilité de détecter les analytes en temps réel, en minimisant les prétraitements des échantillons, voire même d'être intégrés directement sur les sites d'intérêts.

Les biocapteurs se distinguent principalement en deux grandes catégories en fonction de leur mode de transduction, à savoir les biocapteurs optiques et les biocapteurs électrochimiques.³⁷ Dans le contexte de cette étude, nous nous concentrerons exclusivement sur l'examen des biocapteurs électrochimiques.

Les capteurs électrochimiques se divisent encore en deux catégories comme on peut le voir dans la Figure 4, les capteurs enzymatiques et non enzymatiques.

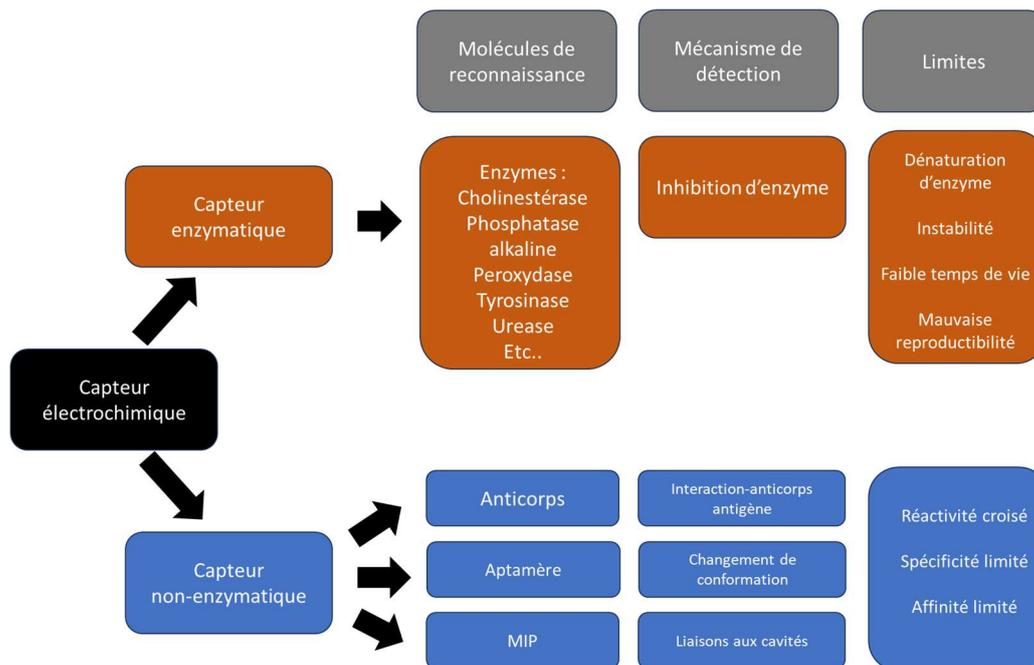


Figure 4 : Les différents types de biocapteurs électrochimiques.

Les capteurs enzymatiques sont des biocapteurs qui utilisent des enzymes pour convertir un signal de détection moléculaire en un signal électrochimique.³⁸ Les biocapteurs électrochimiques enzymatiques se basent sur des enzymes d'oxydoréduction, ce qui signifie qu'ils détectent la présence d'un substrat en mesurant une réaction d'oxydation ou de réduction. Les capteurs enzymatiques utilisés pour la détection de pesticides fonctionnent généralement grâce à l'inhibition enzymatique. Le principe de base des biocapteurs basés sur l'inhibition consiste à évaluer l'activité enzymatique avant et après l'interaction avec la cible, qui joue le rôle d'inhibiteur.

Les capteurs les plus fréquemment étudiés utilisent l'enzyme acétylcholinestérase, qui hydrolyse l'acétylcholine en deux produits, l'ion acétate et la choline. Des études ont montré que les pesticides inhibent cette réaction, dont la mesure permet de détecter la présence de pesticides.³⁹⁻⁴¹ L'inhibition enzymatique n'est pas sélective, mais certains pesticides inhibent plus l'acétylcholine que d'autres. Par exemple, le paraoxon inhibe plus cette enzyme que le malathion.³⁹ Ainsi, l'utilisation de différentes enzymes peut permettre de détecter une large gamme de pesticides. L'utilisation d'un capteur basé sur la butyrylcholinestérase (BChE), a permis de détecter le paraoxon, l'acide 2,4-dichlorophénoxyacétique et l'atrazine.⁴² Les capteurs à base de phosphatase alcaline ont montré une inhibition face au malathion (organophosphoré) et à l'acide 2,4-dichlorophénoxyacétique (organochloré),⁴³ mais aussi en présence de métham-sodium (carbamate) et tétradifon (organochloré).⁴⁴ D'autres enzymes sont utilisées dans la détection électrochimique de pesticides telles que la peroxydase^{39,45}, la phosphatase acide⁴³, l'uréase⁴⁶. Les capteurs enzymatiques n'étant pas spécifiques, ils ne seront donc pas plus étudiés pour privilégier les capteurs non enzymatiques.

Les capteurs non enzymatiques se composent de deux parties principales : la molécule de reconnaissance qui est développée pour être spécifique envers une cible, telle qu'un anticorps, un aptamère ou un polymère d'impression moléculaire (MIP), et le transducteur. Pour des mesures électrochimiques, le transducteur est constitué d'une électrode et de composants déposés à sa surface pour améliorer la sensibilité et immobiliser la molécule de reconnaissance (Figure 5).

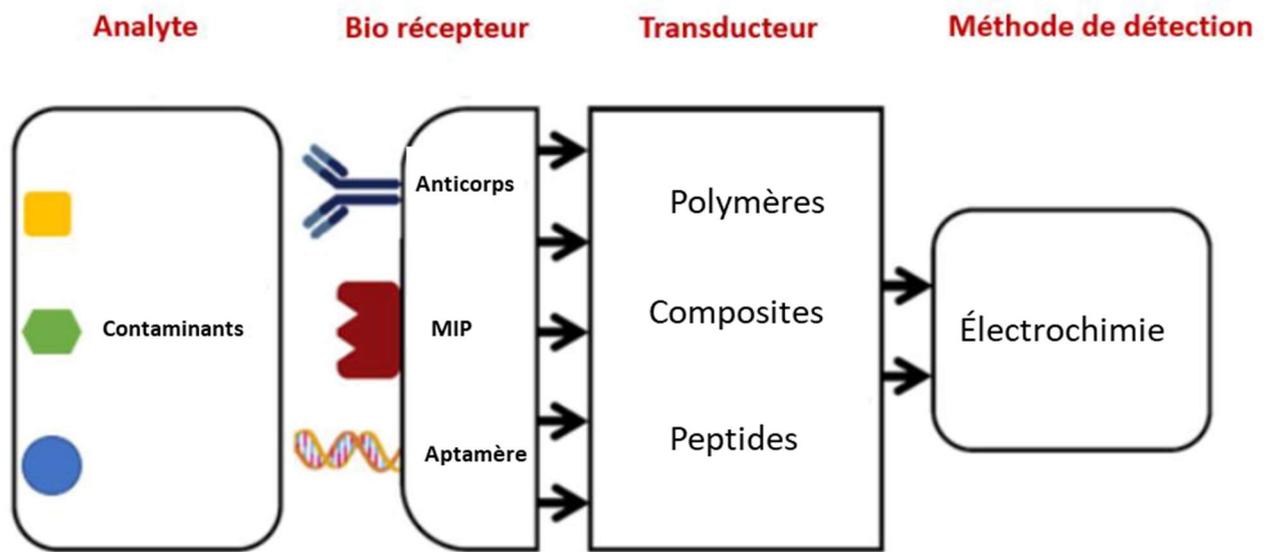


Figure 5 : Schéma de concept d'un biocapteur électrochimique.

2.2.2. Les immunocapteurs

Les immunocapteurs sont des biocapteurs à base d'anticorps. Contrairement au capteur enzymatique, les immunocapteurs sont très sélectifs car ils reposent sur le principe de la reconnaissance moléculaire entre un antigène et un anticorps pour la capture de la cible dans la solution d'analyse.⁴⁷ Par définition, un antigène est une molécule qui provoque une réponse immunitaire (immunogénicité) et qui est capable de se combiner avec un anticorps spécifique. Les molécules qui se lient aux anticorps mais qui ne possèdent pas d'immunogénicité sont appelées "haptènes". Les pesticides sont des haptènes typiques. Pour générer des anticorps contre les pesticides, il est nécessaire de les fixer à une protéine vectrice, tel que l'albumine sérique bovine, avant de les insérer dans un hôte biologique. L'hôte produira alors des anticorps pour se défendre de cet haptène.⁴⁸ Le Tableau 1 montre des immunocapteurs électrochimiques récemment développés pour la détection de pesticides tels que le parathion, le chlorpyrifos, l'atrazine ou le paraoxon.

Tableau 1 : Immunocapteurs électrochimiques pour la détection de pesticides

Matériaux	Anticorps utilisé	Pesticide	Type d'analyse	Gamme de sensibilité	Limite de détection	de	Ref
Graphene	Anti-parathion	Parathion	EIS	0,1–1000 ng/L	52 pg/L		Mehta <i>et al.</i> (2016) ⁴⁹
GQDs	Anti-parathion	Parathion	EIS	0,01-10 ⁻⁶ ng/L	46 pg/L		Mehta <i>et al.</i> (2017) ⁵⁰
GS-MB/AuNPs	Anti-chlorpyrifos monoclonal	Chlorpyrifos	Ampérométrie, EIS, CV	1-500 µg/L	0,056 µg/L		Qiao <i>et al.</i> (2014) ⁵¹
NiAl-LDH/G and HGNs	Anti-chlorpyrifos	Chlorpyrifos	Electrochimique	5-150 mg/L	0,052 mg/L		Qiao <i>et al.</i> (2015) ⁵²
AuNPs/PANI/MWCNTs/CS	Anti-chlorpyrifos	Chlorpyrifos	CV and EIS	0,1.10 ⁻⁶ -40.10 ⁻⁶ g/L et 40.10 ⁻⁶ -500.10 ⁻⁶ g/L	0,06.10 ⁻⁶ g/L		Sun <i>et al.</i> (2013) ⁵³
PANI/Gr	Anti-atrazine	Atrazine	SWV		43.10 ⁻¹² g/L		Chuc <i>et al.</i> (2016) ⁵⁴
AuNPs/MWCNTs	Anti-atrazine polyclonal	Atrazine	SWV	0,5–100 nM	0,02 nM		Norouzi <i>et al.</i> (2012) ⁵⁵
CNT embedded ZnO nanofiber	Anti-atrazine	Atrazine	CV and EIS	10zM –1 µM	5,368 zM		Supraja <i>et al.</i> (2020) ⁵⁶
AuNPs	Anti-atrazine monoclonal	Atrazine	EIS, CV, DPV	0,05-0,5 µg/L	0,016 µg/L		Liu <i>et al.</i> (2014) ⁵⁷
SSA-PANI	Anti-atrazine	Atrazine	EIS	0,01–50 µg/L	0,01 µg/L		Deep <i>et al.</i> (2014) ⁵⁸
SWCNTs on GC	Anti-paraoxon IgG	Paraoxon	Electrochemical (CV and SWV)	2–2500 ppb	2 ppb		Liu <i>et al.</i> (2014) ⁵⁹
MBs/SPCE	Anti-glyphosate	Glyphosate	Ampérométrie	30-10000 µg/L	10 µg/L		Bettazzi <i>et al.</i> (2018) ⁶⁰

De cette étude, on peut remarquer que pour le développement d'immunocapteurs, les anticorps peuvent être greffés sur différents matériaux, qui peuvent être regroupés par catégorie. On retrouve les matériaux à base de graphène⁴⁹⁻⁵², de nanotubes de carbone^{55,59}, les matériaux à base de nanoparticules d'or^{51,53,55,57} et les polymères, notamment la polyaniline.^{53,54,58} Ces différents matériaux sont utilisés dans le but d'augmenter la sensibilité des capteurs. L'objectif est d'augmenter la surface spécifique de l'électrode pour pouvoir greffer un maximum d'anticorps, tout en gardant une surface d'électrode conductrice. Pour améliorer la détection de l'atrazine, Supraja *et al.*⁵⁶ ont déposé à la surface d'une électrode de carbone vitreux (GCE) des fibres d'oxyde de zinc enrobées de nanotube de carbone (Figure 6). La Figure 6a montre la synthèse de l'acétate de zinc dihydraté et des nanotubes de carbones est électrofilé à partir d'une solution précurseur contenant du polyacrylonitrile (PAN). Les fibres qui en résultent sont calcinées puis déposées sur la surface d'une GCE. La Figure 6b montre la fonctionnalisation de ces fibres et l'immobilisation des anticorps à la surface. Ainsi, la limite de détection obtenue pour ce système est de 10 zmol/L, qui est vraiment très faible. De plus, ce capteur a été mis en présence de différent produit et n'a montré que de faible variation de signal, révélant une forte spécificité à l'atrazine.

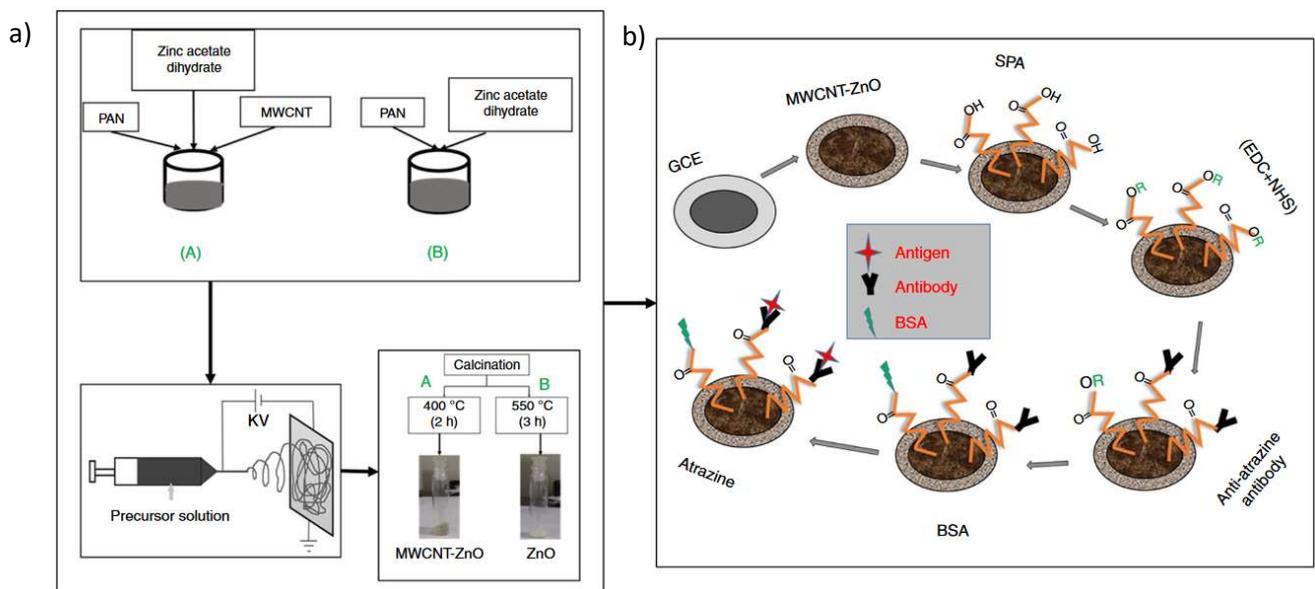


Figure 6 : Schéma a) de la synthèse des fibres d'oxyde de zinc électrofilées enrobées de nanotubes de carbone, et b) de la construction de l'immunocapteur « CNT embedded ZnO nanofiber » selon Supraja *et al.*⁵⁶

Bettazzi *et al.*⁶⁰ ont choisi une autre voie pour augmenter la surface de leur capteur anti-glyphosate. La Figure 7 montre que les anticorps ne sont pas greffés à la surface d'une électrode, mais sont immobilisés à la surface de particules paramagnétiques. Les particules dispersées dans la solution d'analyse permettent la capture des molécules de glyphosate

fonctionnalisées par l'enzyme peroxydase de raifort (HRP) afin de pouvoir réduire, par une méthode ampérométrique, le 3,3',5,5'-tétraméthylbenzidine (TMB) à la surface d'une électrode de graphite. Cette solution est en effet ingénieuse pour maximiser la capture de la cible, et permet une détection jusqu'à 10 µg/L. Cependant, la préparation nécessaire de l'échantillon et le fait d'être non réutilisable font que ce principe ne pourra pas être utilisé pour le développement d'un capteur de routine.

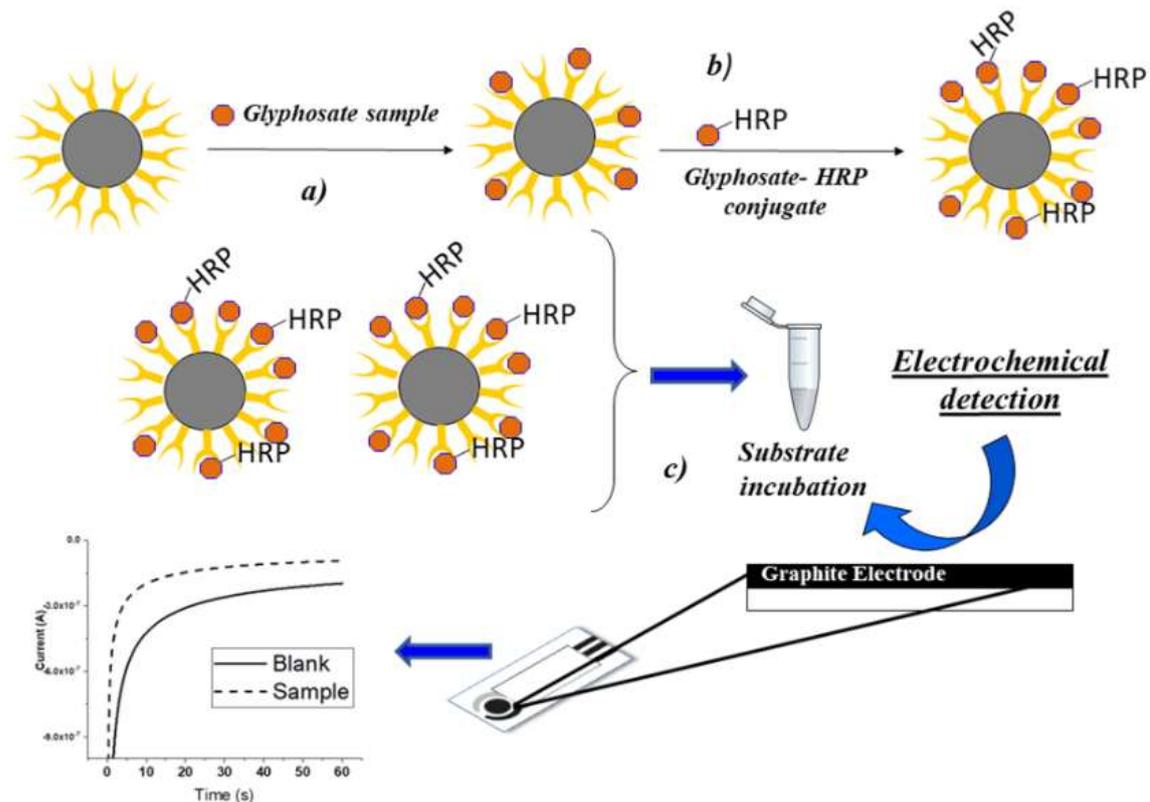


Figure 7 : Schéma montrant des billes paramagnétiques fonctionnalisées par des anticorps anti-glyphosate, permettant la détection électrochimique du glyphosate-HRP sur une électrode de graphite, selon Bettazzi et al.⁶⁰

Ces biocapteurs utilisent des techniques électrochimiques diverses comme la spectroscopie d'impédance électronique (EIS), des mesures ampérométriques, la voltamétrie cyclique (CV), la voltamétrie à signaux carrés (SWV) et la voltamétrie à impulsion différentielle (DPV). La plupart de ces méthodes électrochimiques nécessite l'utilisation d'une sonde redox qui est capable de s'oxyder ou de se réduire en appliquant différents potentiels, et ainsi de créer un courant électrique. Généralement, la sonde redox se trouve en solution, ce qui peut limiter l'utilisation du capteur sur le terrain. Qiao et al.⁵¹ ont alors essayé de fixer le bleu de méthylène sur la surface de l'électrode. Pour cela, après avoir électrodéposé des particules d'or à la surface d'une GCE, ils ont déposé une goutte d'un mélange contenant du chitosane, des feuilles de graphène et du bleu de méthylène. Ainsi, la sonde redox se retrouve piégée sur l'électrode. Une fois l'anticorps du chlorpyrifos immobilisé à la surface, le capteur a montré une gamme de sensibilité pour la détection du chlorpyrifos allant de 1 à 500 µg/L.

Les immunocapteurs électrochimiques présentent des avantages significatifs pour la détection des pesticides, notamment leur haute spécificité grâce à l'utilisation d'anticorps ou d'autres éléments de reconnaissance biologique. Cependant, il est important de noter qu'ils ont également certaines limites, dont voici quelques-unes :

- Ils ne sont pas réutilisables : la plupart des immunocapteurs électrochimiques ne sont pas réutilisables. Cela peut augmenter les coûts de détection.
- Ils nécessitent l'utilisation d'une sonde redox : pour la détection électrochimique, il est souvent nécessaire d'avoir une sonde redox en solution ou de la greffer à la surface de l'électrode ou à l'anticorps. Cela ajoute une complexité au système et peut rendre la mise en œuvre plus coûteuse.
- Coût élevé des anticorps : les anticorps sont souvent coûteux à produire. Cela peut augmenter le coût global de fabrication de ces capteurs.

2.2.3. Les aptacapteurs

Les aptamères sont des oligonucléotides à simple brin, généralement composés d'ADN ou d'ARN, qui ont la capacité de se lier à leurs cibles avec une grande affinité et une spécificité semblables aux interactions antigène-anticorps. La sélection d'aptamères pour des cibles spécifiques se fait au moyen d'un processus appelé SELEX (Système d'Évolution Systématique des Ligands par Enrichissement Exponentiel). Ce processus a été découvert presque simultanément par deux groupes de recherche indépendants, à savoir Ellington *et al*⁶¹ et Tuerk *et al*⁶², en 1990.

Comme illustré dans la Figure 8, le processus SELEX comporte trois étapes distinctes :

- 1) Une bibliothèque contenant des milliers de séquences d'aptamères aléatoires est mise en présence de la cible d'intérêt afin d'obtenir des complexes aptamère-cible avec les séquences compatibles,
- 2) Les aptamères qui ont formé des complexes avec la cible sont récupérés,
- 3) Les complexes aptamère-cible sont dissociés, et les aptamères résultants sont multipliés pour former une nouvelle bibliothèque d'aptamères.

Ce processus est répété plusieurs fois, en itérant les étapes 1 à 3, pour enrichir la population d'aptamères vers ceux qui ont une forte affinité pour la molécule cible. Une fois le processus terminé, l'aptamère sélectionné est hautement spécifique à la cible.

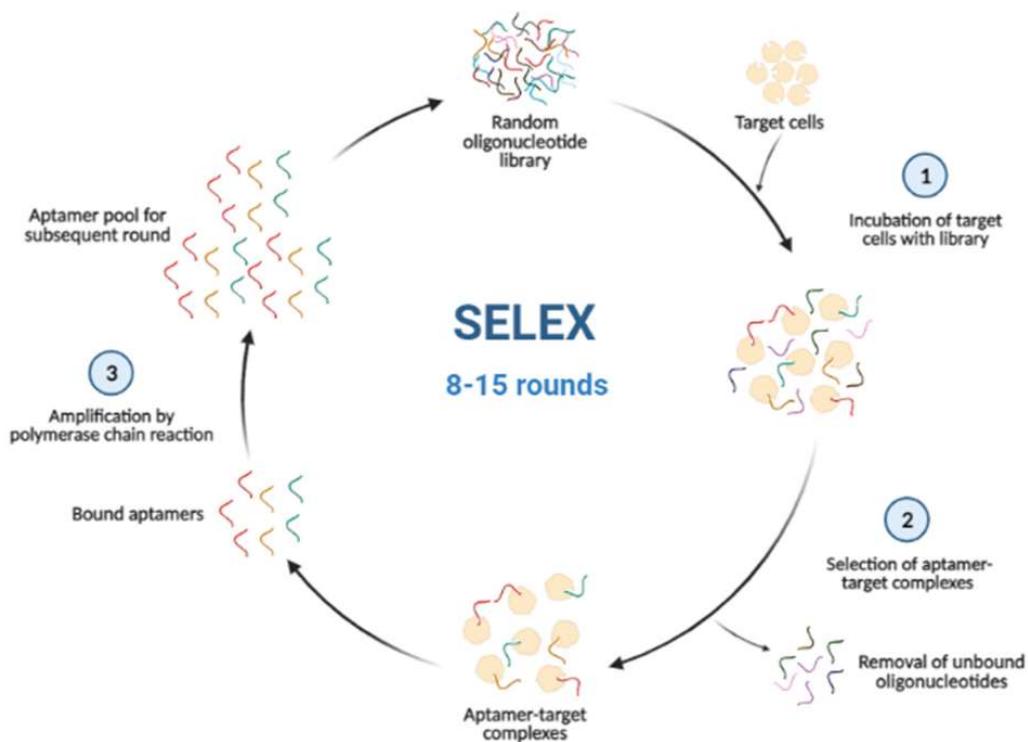


Figure 8 : Schéma du processus SELEX selon Gan et al.⁶³

Les aptacapteurs électrochimiques pour la détection des contaminants émergents reposent sur deux principaux modes de fonctionnement, résumé dans la Figure 9. Ces modes de fonctionnement mettent en évidence comment les aptamères interagissent avec les cibles pour générer un signal de détection. Les deux principaux modes de fonctionnement observés pour la détection de contaminants émergents reposent sur la variation de résistance et l'hybridation d'oligonucléotide.

Dans le mode étudiant la variation de résistance (Figure 9a), la résistance du capteur évolue en fonction de la concentration de la cible. Lorsque la cible est capturée par l'aptamère, cela conduit à une passivation de l'électrode, ce qui se traduit par une augmentation de la résistance du capteur. Cette variation de résistance est proportionnelle à la concentration de la cible, permettant ainsi la détection et la quantification.

Le deuxième mode de fonctionnement repose sur l'utilisation de séquences d'oligonucléotides complémentaires (Figure 9b). Ces séquences s'hybrident à la surface de l'électrode, empêchant ainsi la lecture d'un signal électrochimique. Lorsque la cible entre en contact avec l'aptamère, l'hybridation entre les deux séquences est rompue, permettant la lecture d'un signal.

Cette méthode offre une sensibilité accrue grâce à un encombrement stérique plus important, ce qui amplifie le contraste lors de la capture de la cible. Cependant, un inconvénient majeur de cette deuxième méthode est la perte de la séquence hybridée après la première interaction, ce qui signifie que le capteur ne peut pas être utilisé de manière continue. Cette limitation peut avoir un impact sur l'applicabilité des capteurs dans certaines applications, notamment celles nécessitant une surveillance en temps réel.

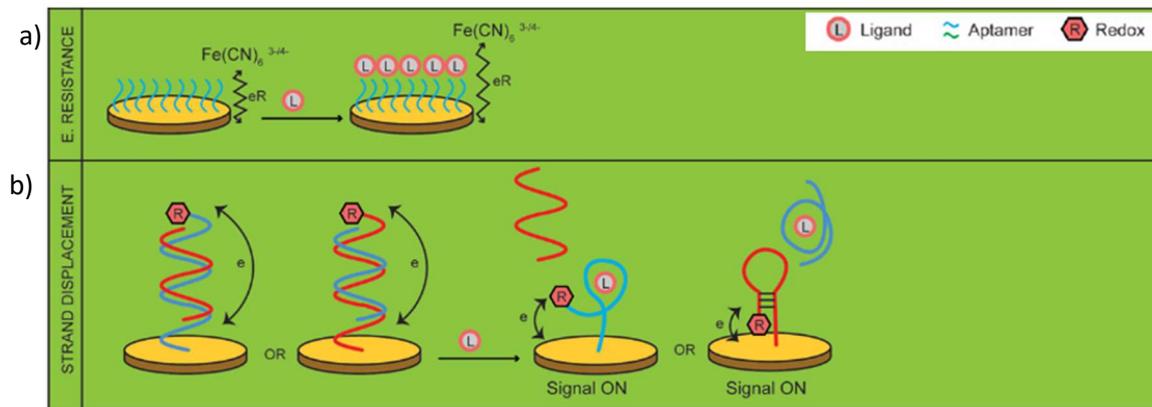


Figure 9 : Schéma des différents modes de fonctionnements des aptacapteurs électrochimiques, a) mesure de la résistance électrique, c) mesure de courant à l'aide du déplacement d'un oligonucléotide complémentaire. Adapté de Rozemblum et al.⁶⁴

Le Tableau 2 résume les dernières avancées en termes d'aptacapteurs électrochimiques pour la détection de pesticides, ainsi que de produits pharmaceutiques. Ces derniers sont également des molécules organiques de taille similaire aux pesticides, présentant les mêmes défis en termes de détection. Il semblait donc important d'élargir la recherche pour obtenir une vue plus globale des différentes approches pour la détection de ces molécules organiques grâce aux aptacapteurs électrochimique.

Tableau 2 : Récents travaux sur les aptacapteurs électrochimiques anti-pesticides et anti-médicaments

Cible	Sequene d'aptamère	Gamme de sensibilité	Limite de détection	Ref.
Atrazine	5'-TGT-ACC-GTC-TGA-GCG-ATT-CGT-ACG-AAC-GGC-TTT-GTACTG-TTT-GCA-CTG-GCG-GAT-TTA-GCC-AGT-CAG-TGT-TAAGGA-GTG-C-3'	50-fM–0,3 nM	12,0 fM	Sun et al. (2019) ⁶⁵
	5'-(SH)-(CH ₂) ₆ -TACTGTTTGCACTGGCGGATTTAGCCAGTCAGTG-[FITC]-3'	6,00.10 ⁻⁴ - 1,00 µM	4,00x10 ⁻⁵ µM	Madianos et al. (2018) ⁶⁶
	5'-(SH)-(CH ₂) ₆ -TACTGTTTGCACTGGCGGATTTAGCCAGTCAGTG-[Flc]-3'	100 pM - 1 µM	10 Pm	Madianos et al. (2018) ⁶⁷
Amoxicilline	5'-(SH)-TTA GTT GGG GTT CAG TTG G-3'	0,5–3 nM	0,2 nM	Song et al. (2020) ⁶⁸
Sulfadimethoxine	5'-GAG GGC AAC GAG TGT TTA TAG A-3'	0,1–500 nM	0,038 nM	Bai et al. (2019) ⁶⁹
	5'-SH-TCT ATA AAC ACT CGT TGC CCT C-3'			
Malathion	5'-COOH-ATCCGTCACACCTGCTCTTATACACAATTGTTTTTCTCTTAACTTCTTGACTGCTGGTGTTGGCT-3'	0,5–600 ng/L	0,5 ng/L	Xu et al. (2019) ⁷⁰
	5'(Ami)ATCCGTCACACCTGCTCTTATACACAATTGTTTTTCTCTTAACTTCTTGACTGCTGGTGTTGGCTCCCGTAT3'	1,00.10 ⁻¹⁰ - 1,00 µM	5,00.10 ⁻¹⁰ µM	Kaur et al (2019) ⁷¹
	5'(Btn)ATCCGTCACACCTGCTCTTATACACAATTGTTTTTCTCTTAACTTCTTGACTGCTGGTGTTGGCTCCCGTAT-3'	3,03.10 ⁻⁶ - 3,03.10 ⁻² µM	3,03.10 ⁻⁶ µM	Prabhakar et al. (2016) ⁷²

	5'-Fc- TTAAGAGAAAAACAATTGTGTATAAGAGCAGGTGTGACGGAT-(CH ₂) ₆ -SH-3'	AGCCAACACCAGCAGTCAAGAAG 1,51.10 ⁻³ - 1,82 μM	1,5.10 ⁻³ μM	Xu et al. (2019) ⁷⁰
Chloramphenicol	5'-ACTTCAGTGAGTTGTCCCACGGTCGGCGAGTCGGTGGTAG-3'	1,0 pM- 1,0nM	0,3pM	Roushani et al. (2019) ⁷³
Tetracycline	5' -TCTCTCCTCGGTGGTGCCTCTCT-3'	0,2nM- 100nM	0,13nM	Wang et al. (2019) ⁷⁴
	5'-SH-CCCCGGCAGGCCACGGCTTGGGTTGGTCCCACTGCGCG-3'	10 ⁻¹⁶ - 10 ⁻⁶ M	3.10 ⁻¹⁷ M	Mohammad-Razdari et al. (2020) ⁷⁵
Tobramycine	5'-ACUUGGUUUAGGUAAUGAGU-3'	0,01 pg/mL - 10 ng/mL	2,0 fg/mL	Wang et al. (2019) ⁷⁶
Kanamycine	5' TGGGGGTTGAGGCTAAGCCGA-3'	1 pM-1 μM	0,16 pM	He et al. (2019) ⁷⁷
	5'- AGATCCTAGGAGGCACATGTAAGAGTAGATGGGGGTTGAGGCTAAGCCGATAGCTA-3'	0,05 pM- 50nM	18 fM	Shen et al. (2019) ⁷⁸
	5'-ACGTTGACGCTGGTGCCCGTTGTGGTGCGAGTGTGTGCCTATGCAGTTT-3'	-	2,4 pM	Yang et al. (2019) ⁷⁹
	5'-NH ₂ -AGATGGGGGTTGAGGCTAAGCCGA-3'	-	87,3 pM	Li et al. (2018) ⁸⁰

Chlorpyrifos	5-CCTGCCACGCTCCGCAAGCTTAGGGTTACGCCTGCAGCGAT TCTTGATCGCGCTGCTGGTAATCCTTCTTTAAGCTTGGCACCCGCATCGT3'	2,85.10 ⁻⁴ - 2,85.10 ⁻² μM	9,41x10 ⁻⁵ μM	Jiao et al. (2017) ⁸¹
	5'- CCTGCCACGCTCCGCAAGCTTAGGGTTACGCCTGCAGCGATTCTTGATCGCGCTGCTG GTAATCCTTCTTTAAGCTTGGCACCCGCATCGT-3'	0,1 - 150 ng/mL	70 pg/mL	Xu et al. (2018) ⁸²
Acétamipride	5'-(SH)-(CH ₂) ₆ - TGTAATTTGTCTGCAGCGGTTCTTGATCGCTGACACCATATTATGAAGA-[FITC]-3'	4,00.10 ⁻⁵ - 1,00 μM	6,00x10 ⁻⁶ μM	Madianos et al. (2018) ⁶⁶
	5'-(SH)-(CH ₂) ₆ -TGTAAT TTG TCT GCA GCG GTT CTT GAT CGC TGA CAC CAT ATT ATGAAG A-3'	2,25x10 ⁻¹⁶ - 4,49x10 ⁻⁸ μM	1,70x10 ⁻⁷ μM	Fei et al. (2015) ⁸³
Carbofuran	5'- CACCTGGGGGAGTATTGCGGAGGAAAGAGAACTGGGGCAGATATGGGCCAGCAG GTC-(CH ₂) ₃ -SH-3'	0,2 - 50 nM	67 pM	Li et al. (2018) ⁸⁴
Diclofénac	5'-NH ₂ -(CH ₂) ₆ - TCTAACGTGAATGATAGACCTGGCTTGGGTGGTGGGCGACTGACTGGCGGTGCAACG TTAACTTATTGACCATA-3'	0,1 - 500 nM	0,069 nM	Yang et al. (2021) ⁸⁵

Selon la méthode d'étude de variation de la résistance, Prabhakar *et al.*⁷² ont développé un aptacapteur pour détecter le malathion. Pour cela, ils ont déposé un film nanocomposite de chitosane et d'oxyde de fer (CHIT-IO) à la surface d'une électrode en oxyde d'étain et de fluor (FTO). Sur la plateforme électrochimique CHIT-IO/FTO, la streptavidine est immobilisée pour permettre le greffage de l'aptamère anti-malathion fonctionnalisé en position 5' par la biotine. Une fois le capteur construit, la variation du signal obtenue par DPV est mesurée en fonction de la concentration (Figure 10). Lors des mesures DPV, le potentiel est balayé pour permettre à la sonde redox présente de s'oxyder et de créer un courant au sein de l'électrode de travail. Dans cette étude, la sonde $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ est utilisée comme sonde redox, son potentiel d'oxydation se trouve ici aux alentours de 0,35 V, le potentiel est donc balayé de 0,2 V à 0,7 V. On remarque que plus la concentration en malathion est élevée, plus l'intensité du signal obtenu en DPV diminue. Ici, l'évolution de la résistance de l'électrode est suivie en fonction de la concentration en analyte.

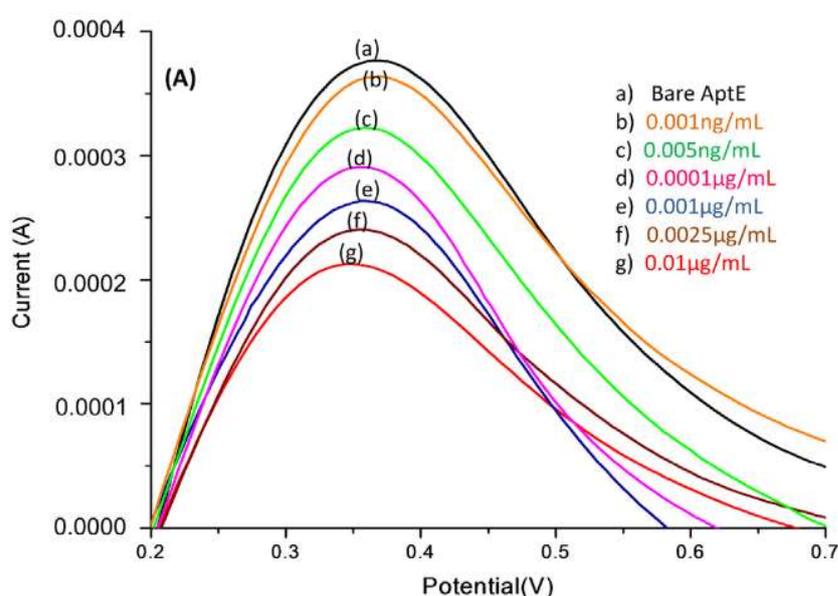


Figure 10 : Réponse DPV de l'aptacapteur avec différentes concentrations de malathion (a) Aptacapteur nue (b) 0,001 ng/mL (c) 0,005 ng/mL (d) 0,0001 mg/mL (e) 0,001 mg/mL (f) 0,0025 mg/mL (g) 0,01 mg/mL ; dans du PBS 0,05 M (pH-7,0, 0,9 % NaCl) contenant 5mM $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$, selon Prabhakar *et al.*⁷²

Sur le même principe, Madiano *et al.*⁶⁶ ont détecté l'acétamipride grâce à une électrode faite de nanoparticules de platines déposées à la surface d'un wafer de silice. Les aptamères anti-acétamipride sont immobilisés à la surface de l'électrode grâce à une fonction thiol. À la différence des travaux précédents, Madiano *et al.* utilisent la spectroscopie d'impédance électrochimique (EIS) pour déterminer l'impédance du capteur en fonction de la concentration en pesticide. Grâce à cette technique sensible, l'acétamipride est quantifié de 1.10^{-10} à 1.10^{-6}

mol/L. L'impédance est l'équivalent de la résistance mais pour un courant alternatif, elle se calcule tel que :

$$Z(\omega) = \frac{R}{1+RCi\omega} \quad \text{Équation 1}$$

Où ω est la fréquence (s^{-1}) à laquelle le potentielle est inversé, C représente la capacité (F) et la R la résistance (Ω). Lors de l'analyse EIS, la pulsation est balayée, ce qui permet de déterminer la résistance du capteur. Cette méthode est très efficace pour étudier la résistance du capteur en fonction de la concentration en cible.

Ces deux aptacapteurs reposent sur un système de mesure dit « OFF », car le signal électrochimique diminue lorsque la concentration en cible augmente.

Grâce à l'utilisation de séquences d'oligonucléotides complémentaires, Xu *et al.*⁷⁰ ont montré un aptacapteur basé sur des nanoparticules de polydopamine et d'or (PDA-AuNPs) capable de détecter le malathion. Pour cela, la séquence complémentaire de l'aptamère anti-malathion est fixée sur la surface de l'électrode. Cette séquence est fonctionnalisée en position 3' par une fonction thiol, nécessaire pour l'immobilisation sur les AuNPs, et en position 5' par une molécule de ferrocène, qui agit comme une sonde redox dans le système. Lors de la construction du, l'aptamère anti-malathion est appairé à la séquence complémentaire, il éloigne ainsi la sonde redox de la surface de l'électrode. Lorsque le malathion est capturé par l'aptamère, celui-ci se dissocie de sa séquence complémentaire. La sonde redox en position 5' est donc maintenant libre d'accéder à la surface de l'électrode. Lors des mesures DPV, l'augmentation de concentration en malathion se traduit donc par une augmentation de l'intensité du signal. Ainsi la gamme de sensibilité de ce capteur est de $1,51 \cdot 10^{-9}$ mol/L à $1,82 \cdot 10^{-6}$ mol/L.

Avec un principe de fonctionnement similaire, He *et al.*⁷⁷ ont développé un capteur capable de détecter la kanamycine (Figure 11). Pour cela, la séquence complémentaire de l'aptamère anti-kanamycine (CS 1) est fixé grâce à sa fonction thiol sur la surface d'une électrode d'or. Cette électrode est mise en présence d'une solution contenant l'aptamère anti-kanamycine et différentes concentrations de ce polluant. Les aptamères n'ayant pas interagité avec la kanamycine vont venir se lier à CS 1 à la surface de l'électrode, les complexes cible/aptamère restent en solution. La sonde redox utilisée ici est la thionine (Th), elle est greffée sur des nanoparticules d'or sur lesquelles sont immobilisées de courtes séquences (CS 2) complémentaires de CS 1. Ainsi, si CS 1 est libre, CS 2 peut venir s'hybrider permettant ainsi une détection électrochimique grâce à la thionine. La détection de la kanamycine grâce à cet aptacapteur est possible sur une gamme allant de 0.001 nmol/L à 1 μ mol/L.

Ces deux aptacapteurs reposent sur un système de mesure dit « ON » car le signal électrochimique augmente en fonction de la concentration de la cible. L'inconvénient de ces systèmes est que les séquences d'oligonucléotides non immobilisées ne peuvent pas être réutilisées, ce qui nous permet d'émettre des doutes sur la possible utilisation de ces capteurs sur le terrain.

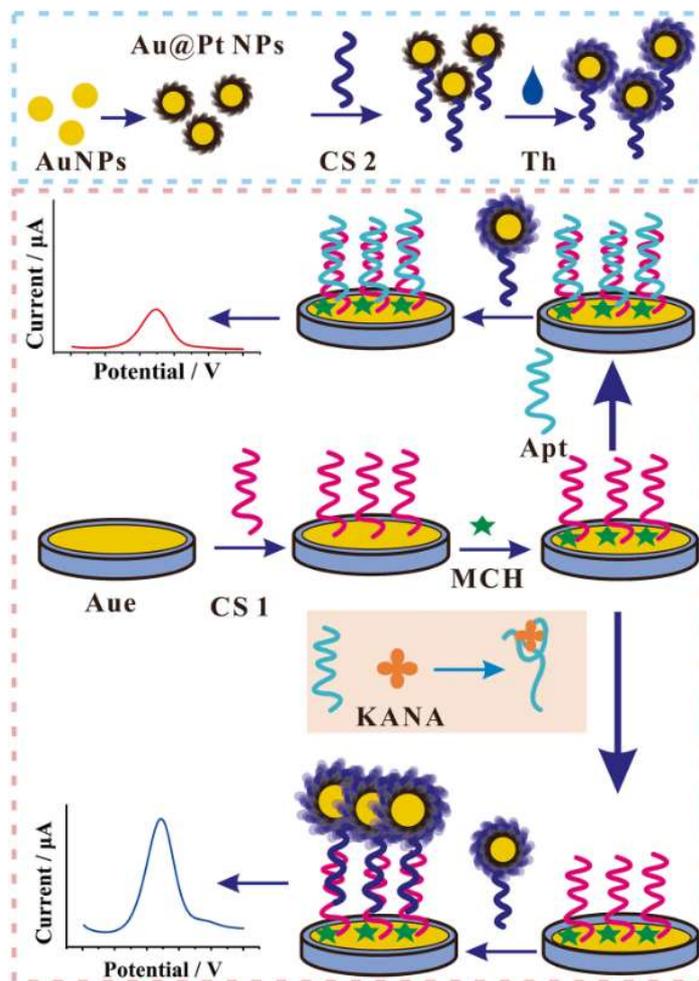


Figure 11 : Schéma de fonctionnement d'un aptacapteur anti-kanamycine selon He et al.⁷⁷

Les aptacapteurs semblent en effet être une alternative prometteuse aux immunocapteurs pour la détection de pesticides. Ils partagent certaines caractéristiques clés, notamment la spécificité vis-à-vis de la cible et leur aptitude à fonctionner dans des milieux biologiques. Par rapport aux anticorps, les aptamères présentent plusieurs avantages notables.

Les aptamères sont moins coûteux à produire que les anticorps, car contrairement à ces derniers, ils n'ont pas besoin d'un hôte biologique pour leur synthèse. Cela en fait une option plus économique, en particulier lorsqu'il s'agit de détecter une grande variété de pesticides. Ils peuvent être facilement fonctionnalisés. Ils peuvent être immobilisés rapidement à la surface d'une électrode par une liaison covalente, ce qui est essentiel pour la création de capteurs électrochimiques. De plus, une sonde redox peut être fixée à une extrémité de l'aptamère pour générer un courant électrique lors de l'analyse. Les aptamères sont résistants à la température.⁸⁶ Cette caractéristique peut être exploitée pour relarguer la

cible en brisant les liaisons physiques formant le complexe cible/aptamère à l'aide d'un apport de chaleur. Cela permet la réutilisation des aptamères, ce qui peut être un avantage considérable.

Dans l'ensemble, les aptamères présentent des propriétés qui en font un choix attrayant pour la détection de pesticides, offrant une alternative efficace et économique aux immunocapteurs.

2.2.4. Les capteurs à base de polymères à empreintes moléculaire (MIPs)

Les polymères à empreintes moléculaires (MIPs) sont souvent décrits comme des anticorps synthétiques grâce à leur capacité à se lier aux molécules cibles.^{87,88} Ce sont des polymères obtenus par polymérisation en présence de la molécule cible, ce qui permet de piéger cette molécule à l'intérieur du polymère. Ensuite, par un processus de nettoyage, qui peut varier en fonction des polymères et des cibles, la molécule cible est retirée du polymère, laissant une cavité correspondant à l'empreinte de la molécule (Figure 12).

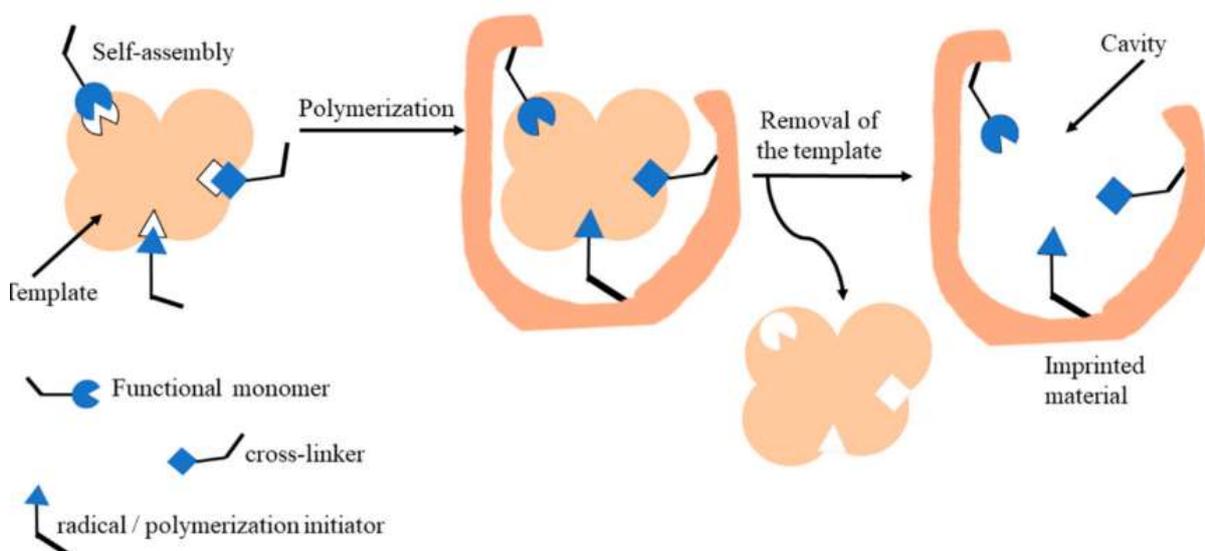


Figure 12 : Principe de fabrication d'un MIP selon Zheng et al.⁸⁹

Pour la création d'empreinte, différents types de monomères sont fréquemment utilisés. Les monomères vinyliques, tels que l'acrylamide et ses dérivés, l'acide méthacrylique et ses dérivés, ainsi que les monomères à base d'acrylates, sont choisis la diversité de leurs fonctions permettant de créer des liaisons hydrogène avec les molécules cibles. Les liaisons hydrogène sont importantes pour la reconnaissance moléculaire, car elles favorisent la fixation sélective des molécules cibles.⁹⁰

Les monomères conjugués, tels que le pyrrole ou l'aniline, contiennent des cycles aromatiques qui peuvent former des liaisons par empilement π - π avec certaines molécules organiques. De plus, ces monomères peuvent interagir par affinité électronique, ce qui les rend adaptés à la création de capteurs moléculaires basés sur des interactions électroniques.⁹¹

Une catégorie plus rare de monomères comprend les silanes, tels que le 3-(Triméthoxysilyl)propyl methacrylate ou le vinyltriméthoxysilane. Ces monomères sont utilisés en raison de leur capacité à former des polymères sol-gel inorganiques. Comme les monomères vinyliques, ils possèdent des fonctions capables de créer des liaisons hydrogène, ce qui les rend utiles pour la reconnaissance moléculaire et la création de matériaux de capteurs.⁸⁹

Le choix des monomères dépend des propriétés chimiques spécifiques de la molécule cible, permettant une interaction sélective, que ce soit par liaisons hydrogène, empilement π - π , affinité électronique ou d'autres mécanismes de liaison.

En outre, on ajoute généralement des agents de réticulation qui sont des molécules capables de réagir aux deux extrémités, liant ainsi deux chaînes de polymère entre elles.⁸⁹ Pour les polymères vinyliques, les agents réticulants courants sont le N,N'-(Ethane-1,2-diyl)diacrylamide et l'éthylène glycol diméthacrylate. Pour les polymères conjugués, on peut utiliser la *p*-phénylènediamine, tandis que les polysilanes peuvent nécessiter du tétraéthyl-orthosilicate comme agent de liaison. Ces agents de réticulation permettent de figer le polymère autour de la molécule cible et ainsi de créer les cavités, les empreintes des molécules cibles nécessaires pour la recapture. Il faut noter que le polypyrrole est un cas particulier car il ne nécessite pas d'agent de réticulation lors de sa polymérisation car il est réticulé par les liaisons β dans le plan.^{92,93}

Généralement, les polymères à empreintes moléculaires (MIP) sont obtenus par polymérisation radicalaire en utilisant différentes méthodes, telles que la polymérisation en masse, par précipitation, en émulsion, ou en suspension. Plus récemment, des techniques d'électropolymérisation de MIP ont également été développées.

La polymérisation en solution est la méthode la plus simple pour obtenir un polymère imprimé.^{90,94} Dans cette méthode, les réactifs, y compris les monomères, les agents de liaison et la molécule cible, sont introduits dans un réacteur contenant un solvant approprié. La polymérisation est généralement amorcée en utilisant un amorceur radicalaire, qui génère des radicaux libres grâce à une élévation de la température. Cependant, un inconvénient de cette méthode est que les molécules cibles se retrouvent piégées à l'intérieur d'un polymère épais. Par conséquent, il est nécessaire de broyer finement le polymère pour pouvoir accéder aux molécules cibles, qui peuvent ensuite être retirées à l'aide d'un solvant d'éluion.

La polymérisation en suspension est un procédé de polymérisation radicalaire simple, en une seule étape, qui permet de former des MIP sous forme de particules sphériques.⁹⁵ Pour cela, le mélange organique, de monomères, agents de liaison, molécules cibles et amorceur est introduit dans un réacteur contenant un solvant aqueux. Par agitation mécanique, tout au long de la réaction, le mélange organique, non miscible avec l'eau, vient former des gouttelettes. La polymérisation du MIP a donc lieu au sein des gouttelettes. L'avantage de cette méthode est qu'il n'est plus nécessaire de broyer le MIP avant d'extraire les molécules cibles à l'aide d'un solvant d'éluion. L'inconvénient est que la cible doit avoir une solubilité supérieure

dans le solvant organique que dans l'eau. Une cible très soluble dans l'eau ne pourra donc pas être introduit dans un polymère réalisé par polymérisation en suspension. Ce qui est une limite importante de cette méthode.

La polymérisation par émulsion est une technique de polymérisation radicalaire utilisée pour créer des polymères à empreintes moléculaires (MIP).⁹⁶ Dans cette méthode, le mélange de monomères, agents de liaison et molécules cibles est introduit dans une phase aqueuse contenant un tensioactif et l'amorceur radicalaire. Avant le début de la polymérisation, le mélange est agité pour former des micelles et des gouttelettes de monomère. Contrairement à la polymérisation en suspension, l'amorceur est soluble dans l'eau. Cela signifie que la réaction de polymérisation démarre avec les monomères qui ont diffusé des gouttelettes vers la phase aqueuse. Les oligomères formés migrent ensuite vers les micelles, où ils achèvent leur polymérisation. Un avantage clé de la polymérisation par émulsion est le contrôle précis de la taille des particules formées. Ce contrôle est rendu possible grâce au rapport entre les monomères, l'amorceur et le tensioactif. En ajustant ces paramètres, il est possible de moduler la taille des particules, ce qui peut augmenter l'affinité des MIP pour la cible. De plus, les MIP produits par cette méthode présentent une plus grande reproductibilité par rapport à d'autres méthodes. Cependant, le tensioactif peut créer un encombrement stérique à la surface des particules de polymères, ce qui peut bloquer la capture de la cible par le MIP.

La polymérisation par précipitation a donné des résultats prometteurs pour la synthèse de MIP en particules sphériques et de taille homogène.^{97,98} Cette procédure permet un excellent contrôle de la taille et de la forme des particules MIP développées, et la croissance de la chaîne de polymères est bien formée et finit par précipiter hors de la solution. Des facteurs tels que la température, la vitesse d'agitation et la polarité du solvant jouent un rôle important dans la structure morphologique bien définie des particules MIP.

L'inconvénient de ces méthodes est qu'il est nécessaire de synthétiser le MIP puis de le déposer à la surface d'un capteur. Grâce à l'électropolymérisation, la synthèse et le dépôt se font en une seule et même étape.^{99,100} De plus, en modifiant les paramètres de l'électropolymérisation, tel que la méthode électrochimique, ou la quantité de courant, il est possible contrôler de l'épaisseur et de la structure des dépôts.⁹¹ Ces avantages en font une méthode privilégiée pour le développement de microcapteur, pour des applications de terrains.⁸⁴

Les MIP ont suscité un intérêt considérable en tant qu'éléments de reconnaissance dans le développement de capteurs en raison de leur sélectivité envers l'analyte cible, ainsi que de plusieurs avantages par rapport aux récepteurs biologiques, à base d'anticorps ou d'aptamères :

- 1) Facilité et coût de synthèse : La synthèse des MIP est relativement facile et peu coûteuse par rapport à la sélection d'aptamères ou à la production d'anticorps, ce qui en fait une option attrayante pour la création de capteurs spécifiques.

- 2) Robustesse physique et chimique : résistant à des conditions défavorables telles que des solvants organiques, des valeurs de pH extrêmes, des températures élevées et/ou des pressions élevées, ce qui les rend adaptés à un large éventail d'applications.
- 3) Réutilisabilité : ils peuvent être lavés pour éliminer les molécules cibles capturées, ce qui permet une utilisation prolongée.
- 4) Stabilité : Les MIP sont stables dans des conditions de stockage appropriées, ce qui garantit leur longévité.

Dans les capteurs, les MIP présentent l'avantage d'agir à la fois comme molécules de reconnaissance et comme transducteur. Différents modes de transduction sont possibles, à savoir les mécanismes électrochimiques, optiques, la spectroscopie Raman améliorée par la surface (SERS) et la résonance plasmonique de surface (SPR).^{90,94,101} Encore une fois, seuls les capteurs électrochimiques ont ici été étudiés.

Alizadeh⁹⁸ a utilisé l'acide méthacrylique (MAA) et l'agent de liaison éthylène glycol diméthacrylate (EDMA) pour réaliser un MIP anti-parathion. Pour cela, la méthode de polymérisation par précipitation a été utilisée afin d'obtenir des nanoparticules de MIP. Elles sont ensuite nettoyées avec du méthanol par Soxhlet et ont été mélangées à une pâte de carbone pour être moulées sur une électrode. La détection du parathion est réalisée par oxydation de celui-ci par la voltamétrie à signaux carrés. Grâce à ce capteur, la détection linéaire du parathion est possible de $1,7 \cdot 10^{-9}$ à $9,0 \cdot 10^{-7}$ mol/L avec une limite de détection de $5,0 \cdot 10^{-10}$ mol/L. Ce capteur est mis en présence d'autre cible tel que le paraoxon, le 1-(4-nitrophényl) propane-1,2,3-triol, N-(4-nitrophényl) acétamide et l'acide 2-(4-nitrophényl) acétique. Des signaux électrochimiques ont été obtenus lorsque le capteur a été mis en présence de paraoxon, ce qui montre une faible spécificité du capteur.

Avec les mêmes monomères, c'est-à-dire MAA et EDMA, Motaharian *et al.*⁹⁵ ont développé un MIP anti-diazinon (DZN). Il a été préparé en suspension et élué par des rinçages répétés au méthanol afin de ne plus observer de traces de DZN sur le spectre UV-visible. Pour créer le capteur, les particules de MIP sont mélangées à une poudre de graphite et de la paraffine pour former une pâte de carbone (CP). Le mélange final est moulé dans un tube en téflon contenant un fil de cuivre pour le contact électrique. Ainsi, ils obtiennent une électrode de carbone contenant les MIP anti-DZN. La détection de la cible est réalisée grâce à une méthode potentiométrique, le DZN s'oxyde à -1,2 V, l'intensité du signal obtenu est directement liée à la concentration en solution. Une gamme de quantification a pu être établie de $2,5 \cdot 10^{-9}$ à $1,0 \cdot 10^{-7}$ mol/L. Pour vérifier l'intérêt du MIP dans cette détection, la même électrode a été réalisée en intégrant des particules de polymères non imprimé (NIP). La Figure 13 montre l'influence positive du MIP sur l'intensité du signal lors de l'oxydation du DZN.

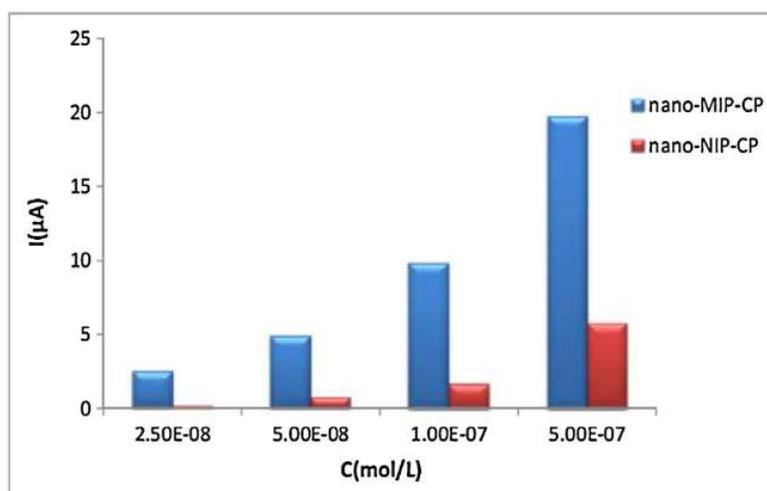


Figure 13: Comparaison des intensités de signaux obtenus pour différentes concentrations pour une électrode MIP/Carbone (bleu) et NIP/Carbone (rouge), selon Motaharian et al.⁹⁵

Pour la détection du glyphosate, Zhang *et al.*¹⁰⁰ ont opté pour l'électropolymérisation du pyrrole afin de modifier la surface d'une électrode en or. Pour obtenir le MIP anti-glyphosate, le pyrrole est électropolymérisé par voltamétrie cyclique en présence de glyphosate dans un tampon Britton-Robinson à un pH égal à 5. La Figure 14 montre le principe d'adsorption et de désorption du glyphosate sur le MIP. Ils expliquent que lors de la polymérisation, l'état oxydé du polymère permet l'adsorption du glyphosate. Pour éliminer le glyphosate et révéler son empreinte, le MIP est sur-oxydé par voltamétrie cyclique dans une solution d'hydroxyde de sodium. Ainsi, le polypyrrole dans son état sur-oxydé présente des groupements carbonyles. À un pH basique, les molécules de glyphosate et le polypyrrole sur-oxydé se repoussent en raison des interactions ioniques. La détection électrochimique est réalisée à l'aide d'une sonde redox, ainsi, ils étudient la diminution de signal obtenu grâce à la sonde redox lors de la capture du glyphosate. La gamme de quantification obtenue pour ce capteur est de 5 à 800 ng/mL.

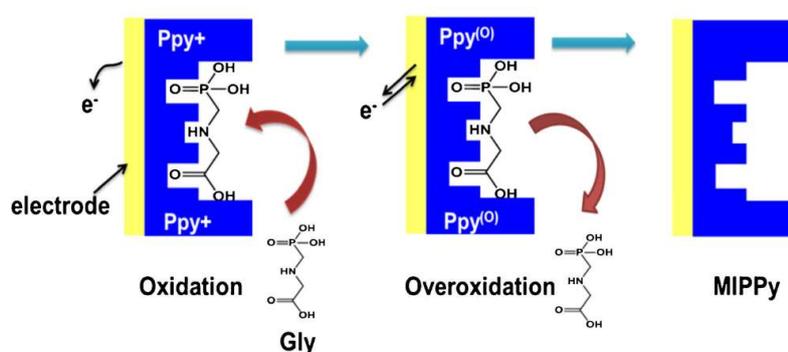


Figure 14 : Schéma représentant le mécanisme d'adsorption et de désorption du glyphosate sur le MIP de polypyrrole, selon Zhang et al.¹⁰⁰

Ding *et al.*⁹⁹ ont aussi utilisé le polypyrrole pour réaliser un capteur contre le glyphosate. Pour cela, ils ont polymérisé le pyrrole en présence de glyphosate sur des nanotubes d'orangé de méthyl et d'oxyde de fer. Après élution à l'aide d'acide acétique et de méthanol, ils obtiennent des nanotubes de polypyrrole imprimé au glyphosate. La détection du glyphosate est réalisée par voltamétrie. Des pics d'oxydations variables en fonction de la concentration sont observés aux alentours de 0,65 V. Ce capteur a montré une gamme de détection linéaire de 2,5 à 350 µg/L, ce qui est très sensible, et a peu près dans la même gamme que le capteur de Zhang *et al.*¹⁰⁰

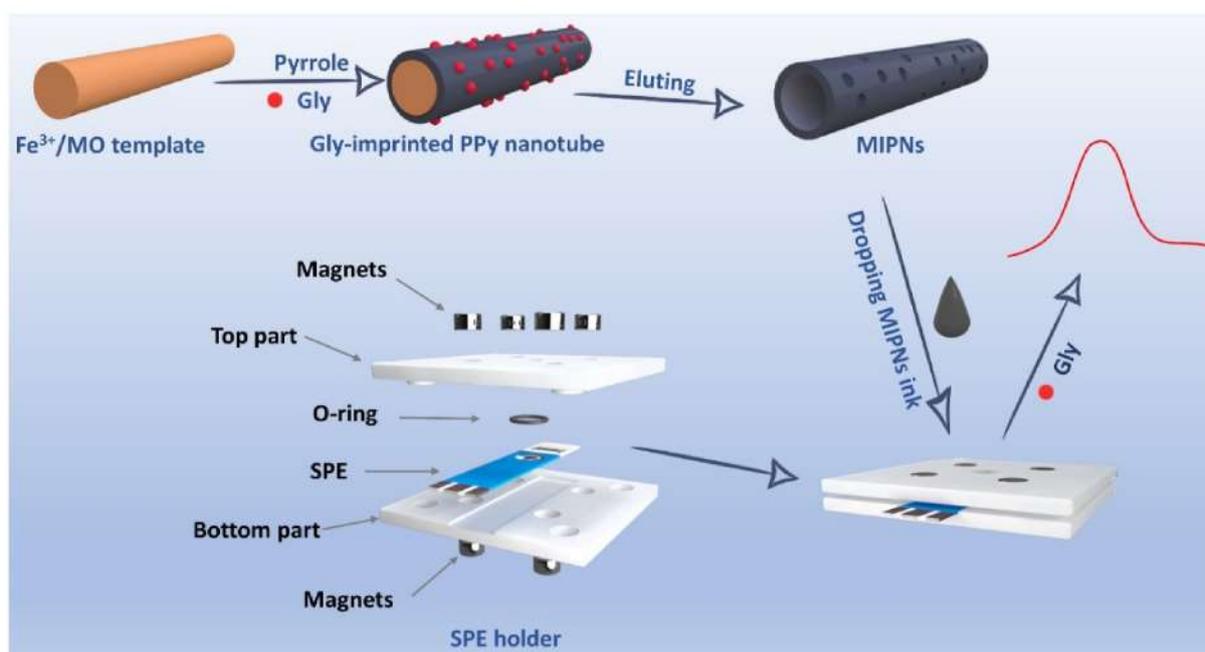


Figure 15 : Schéma de construction d'un capteur à base de nanotubes de polypyrrole imprimés pour la détection du glyphosate selon Ding *et al.*⁹⁹

Mazouz *et al.*¹⁰² rapportent eux aussi la détection du glyphosate grâce à un MIP à base de polypyrrole. Le capteur est construit en polymérisant le pyrrole en présence de glyphosate sur une électrode par chronoampérométrie. Le glyphosate est retiré du film grâce à une incubation de 30 min dans un mélange méthanol/acide acétique à 1 : 1. La quantification du glyphosate est suivie par voltamétrie à courant carré. Les pics d'oxydation suivis en fonction de la concentration en glyphosate apparaissent à 0,4 V. La limite de détection obtenue pour ce capteur est de 1 pmol/L.

En suivant des principes de détection similaire, différents capteurs à base de MIP ont été développés pour les pesticides comme l'hexazinone¹⁰³, propazine¹⁰⁴, le carbofuran¹⁰⁵, chloridazon¹⁰⁶, malathion¹⁰⁷, diuron¹⁰⁸, méthyl parathion¹⁰⁹ ou encore le paraoxon.¹¹⁰

En conclusion, les MIP ont une affinité pour leur cible comparable à celle des aptamères ou des anticorps. La spécificité des MIPs est souvent décrite comme élevée, même si on a pu observer des réactions d'interférences sur certaines études.⁹⁸ Comme les MIPs sont des molécules de reconnaissances synthétiques, la variété de cibles visées par ceux-ci est très importante, ce qui est un avantage indéniable. Cependant, le développement d'un MIP est plus chronophage que le développement d'un aptamère ou d'un anticorps car il y a de nombreux paramètres à optimiser, tel que la concentration en monomère, le rapport monomère/cible, la taille des MIP, etc.

Le

Tableau 3 résume les caractéristiques des molécules de reconnaissances étudiées. On remarque que leur affinité et spécificité pour la cible sont similaires. Les aptamères et MIP présentent l'avantage d'être facilement fonctionnalisables, ce qui facilite l'immobilisation sur la cible. De plus ils sont moins coûteux à produire que les anticorps et sont donc à considérer dans cette étude.

Tableau 3 : Résumé des caractéristiques de l'utilisation de chaque molécule de reconnaissance pour la détection de pesticides.

Caractéristiques	Anticorps	Aptamères	MIPs	Références
Affinité pour la cible	Pico à nanomolaire	Pico à nanomolaire	Pico à nanomolaire	[^{87,111}]
Spécificité	Elevée	Elevée	Elevée	[¹¹²]
Gamme de cible	Très vaste	Limité	Très vaste	[^{112,113}]
Stabilité à température	Faible	Faible	Très élevée	[¹¹⁴]
Stabilité au pH	Faible	Faible	Très élevée	[^{87,88,115}]
Fonctionnalité pour le greffage	Faible	Très élevée	Très élevée	[^{112,113}]
Coût de production	Elevé	Modéré	Faible	[^{88,114}]
Stockage	Limité à température ambiante	Limité à température ambiante	Long et sans perte de performance	[¹¹³]

2.3. Les polymères conducteurs

2.3.1. Généralités

Les polymères conducteurs (PC) sont une catégorie particulière de matériaux polymères qui combinent les propriétés mécaniques des polymères avec la capacité de conduire l'électricité, une caractéristique généralement associée aux métaux.

En 1977, Shirakawa *et al.*¹¹⁶ ont découvert qu'une fois dopé à l'iode, le polyacétylène présente une conductivité électronique élevée, unique pour un matériau organique.

La conductivité électrique des polymères conducteurs résulte de la présence d'une structure chimique conjuguée, caractérisée par une alternance de liaisons simples et doubles. Heydari Gharahcheshmeh *et Gleason*¹¹⁷ explique que la polymérisation de monomères conjugués crée une structure où les électrons impliqués dans les liaisons σ présentes dans les liaisons simples et doubles sont fortement localisés, tandis que les électrons associés aux liaisons π sont plus facilement délocalisables. Ainsi, le gap énergétique entre l'orbitale moléculaire occupée la plus haute (HOMO) et la première orbitale moléculaire non occupée (LUMO) est réduit pour le polymère (Figure 16).

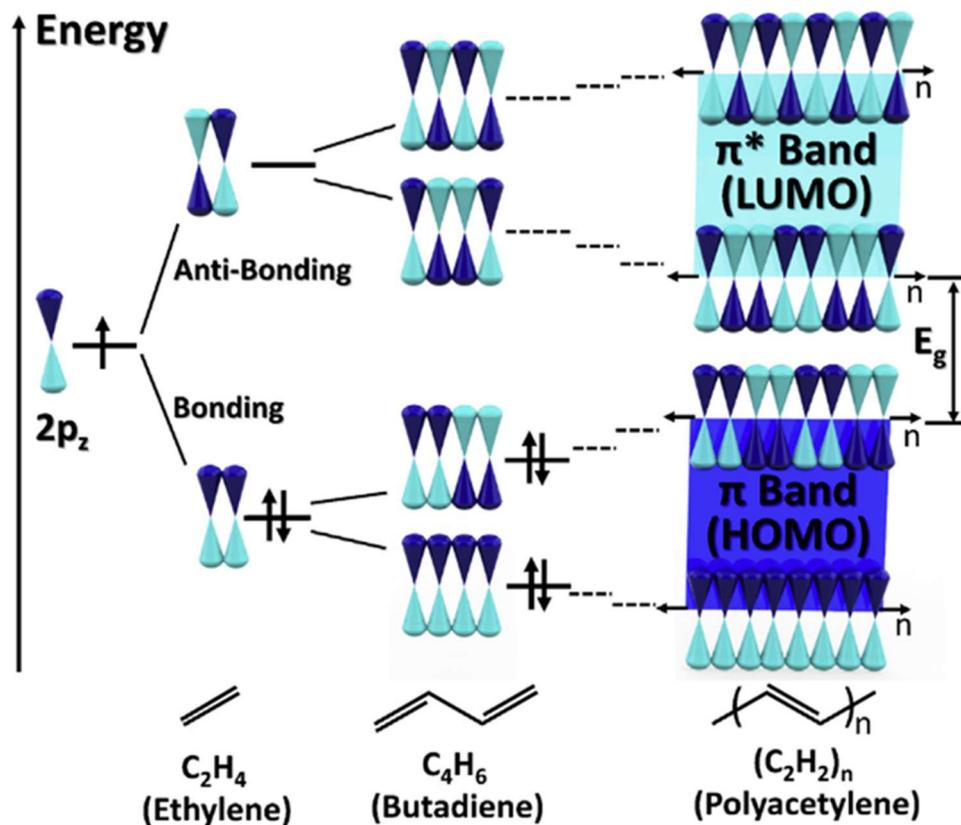


Figure 16 : Diagramme d'énergie des orbitales moléculaires π lors de la polymérisation de monomères éthylène, selon Heydari Gharahcheshmeh et Gleason¹¹⁷

Lorsque des ions négatifs ou positifs s'intercalent entre les chaînes de polymères, le polymère est dit dopé. Il a été démontré que le dopage améliore les propriétés optiques et la conductivité électronique des polymères conjugués. Les polymères de type n sont chargés négativement, tandis que les types p positivement, ce qui crée des lacunes d'électrons, communément appelées trous. Le dopage permet de faire passer le polymère d'un état isolant à un état métallique en ajoutant des charges. Cette délocalisation de charges grâce à la conjugaison confère aux polymères conducteurs leur capacité à conduire l'électricité.

Les polymères conducteurs les plus couramment utilisés sont notamment le polypyrrole, le polythiophène, la polyaniline et le PEDOT (Figure 17), notamment parce qu'ils peuvent être obtenus par électropolymérisation.

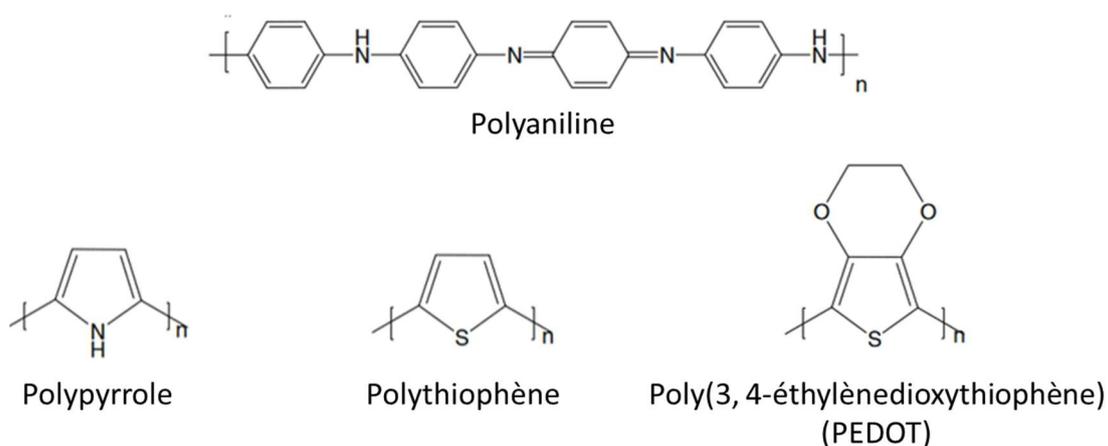


Figure 17 : Structures chimiques des principaux polymères conducteurs.

L'électropolymérisation des polymères intervient souvent par l'oxydation électrochimique du monomère. Par exemple, Gvozdenović *et al.*¹¹⁸ ont décrit le processus d'électropolymérisation de l'aniline, tel qu'illustré dans la Figure 18. La polymérisation commence par l'oxydation anodique de l'aniline, formant ainsi des radicaux capables de se coupler. Le dimère ainsi formé peut être à son tour oxydé pour créer un nouveau radical qui peut s'associer à une aniline déjà oxydée, permettant ainsi la propagation de la polymérisation.

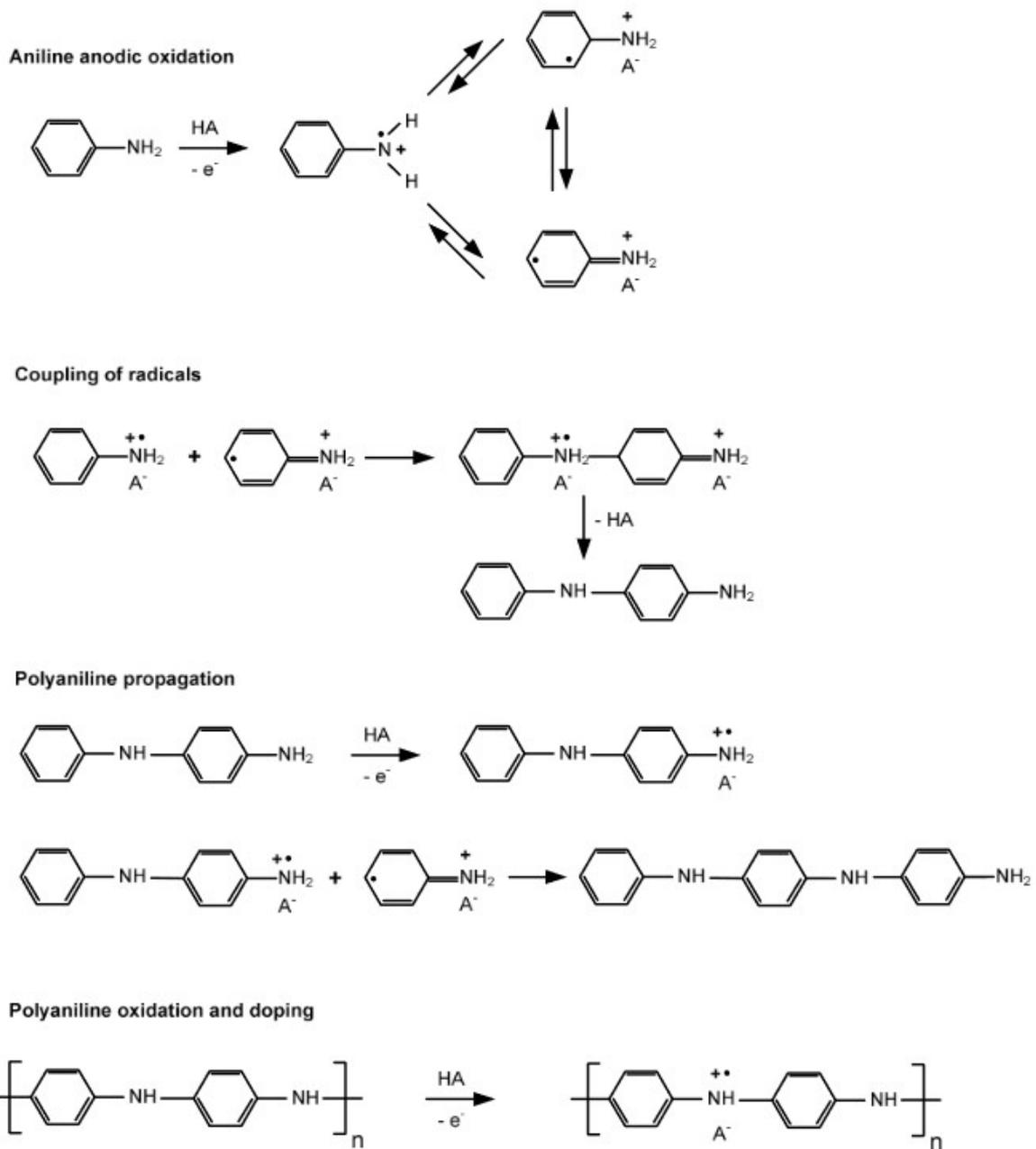


Figure 18 : Mécanisme d'électropolymérisation de l'aniline selon Gvozdenović et al.¹¹⁸

De façon analogue, Diaz *et al.*¹¹⁹ ont décrit l'électropolymérisation du pyrrole comme décrit dans la Figure 19. On remarque qu'à l'instar de l'aniline, le pyrrole est oxydé pour former un radical, qui va ensuite se coupler à un autre radical pour former un dimère. La propagation de la polymérisation est possible par l'oxydation des oligomères et le couplage aux monomères oxydés.

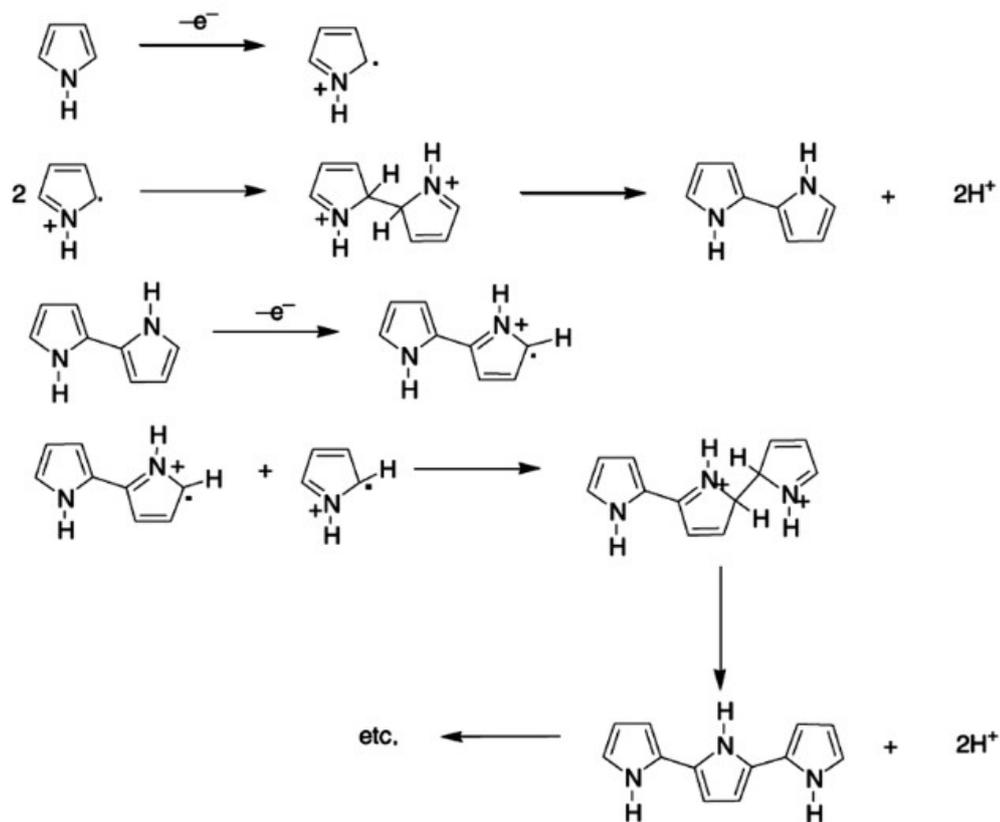


Figure 19 : Mécanisme décrit par Diaz et al.¹¹⁹ d'électropolymérisation du pyrrole.

L'électropolymérisation, en comparaison à une polymérisation chimique, présente l'avantage de déposer directement le polymère sur la surface de l'électrode. Les polymères conducteurs possèdent donc des propriétés filmogènes. De plus, il est possible de structurer ces polymères pour obtenir une surface spécifique plus large.¹²⁰ Pour cela, deux méthodes sont possibles, la structuration par un modèle rigide ou par un modèle souple (Figure 20). La méthode par modèle rigide (Hard template), consiste à utiliser un masque pour guider la croissance des nanostructures. L'électropolymérisation à travers les pores ou les canaux du masque permet d'obtenir des nanostructures dont la morphologie et le diamètre sont entièrement contrôlés. Parthasarathy et Martin¹²¹ semble être les premiers à montrer la polymérisation du pyrrole sous forme de nanotubes grâce à cette méthode. Ainsi, ils ont été capables d'immobiliser plus d'enzymes à la surface de leur capteur.

L'avantage principal de cette méthode réside dans le fait que le diamètre de la nanostructure est contrôlé par la taille des pores ou des canaux de la membrane, tandis que la longueur et l'épaisseur de la nanostructure sont généralement ajustées en modifiant le temps de polymérisation. Cependant, la méthode du modèle dur présente certains inconvénients comme un post-traitement pour retirer le modèle, ce qui complexifie le processus de préparation. De plus, le post-traitement peut souvent endommager ou perturber les nanostructures formées. Enfin, la quantité de nanostructures produites par cette méthode

est limitée par la taille de la membrane matrice, ce qui restreint ses applications dans la production de nanostructures à grande échelle.

Dans la méthode de structuration par modèle souple, des tensio-actifs sont utilisés pour encapsuler les monomères, formant ainsi des assemblages tensio-actif/monomères. La polymérisation ultérieure fixe les structures préalablement définies. Par exemple, Zhang *et al.* ont employé cette technique de structuration pour créer des nanotubes de polypyrrole¹²² et de PEDOT¹²³ par le biais de polymérisation chimique.

Xu *et al.*¹²⁴ ont électropolymérisé l'aniline en présence d'acide perfluorooctane sulfonique, un tensio-actif fluoré. Grâce à ce tensio-actif, ils ont réussi à produire des structures de polyaniline hélicoïdales de moins d'un micromètre de diamètre. Le réseau obtenu est très étendu, ce qui se traduit par une surface spécifique très élevée. Cependant, un inconvénient de cette approche est que le tensio-actif utilisé rend la surface hydrophobe, ce qui peut limiter l'application de ce système dans des environnements aqueux.

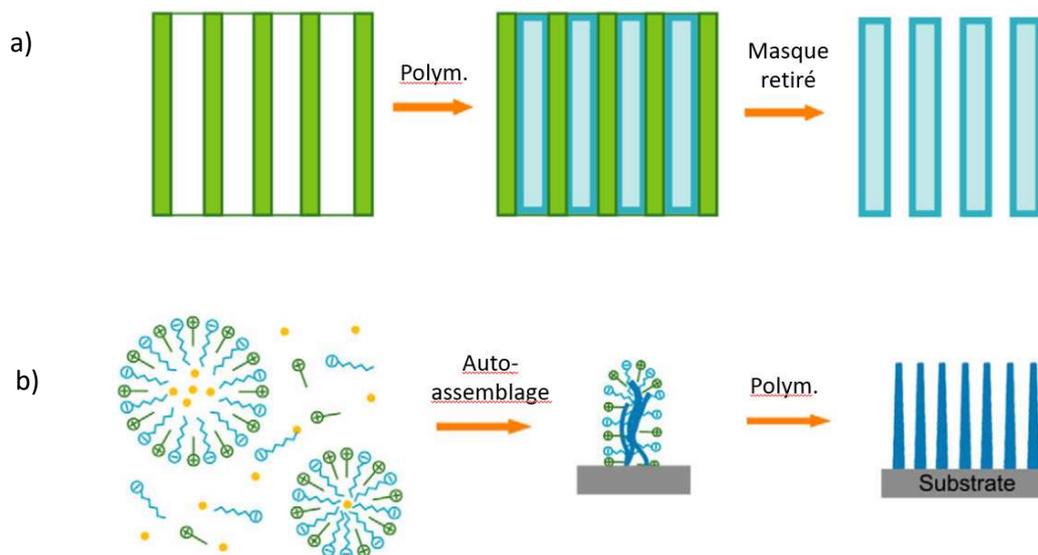


Figure 20 : Schéma de fabrication de nanostructures a) par la méthode à modèle rigide, b) par la méthode à modèle souple, adapté de Xia *et al.*¹²⁰

En conclusion, les polymères conducteurs semblent être des matériaux adaptés au développement de biocapteurs. Leur conductivité accrue permet d'augmenter la sensibilité de détection. De plus, la méthode d'électropolymérisation offre la possibilité de recouvrir aisément les électrodes de travail, y compris avec des nanostructures, permettant ainsi d'agrandir la surface spécifique. Les fonctionnalités présentes à la surface de ces polymères permettent le greffage des molécules de reconnaissance, renforçant ainsi leur applicabilité dans le domaine de la détection.

2.3.2. Polymères pour les (bio)capteurs électrochimiques

Beaucoup de travaux décrivent l'utilisation de polymères dans les biocapteurs, l'étude dans le Tableau 4 se restreint donc aux travaux qui ont été réalisés sur des aptacapteurs électrochimiques utilisant des électrodes en carbone modifiées par des polymères (ou composites) développés pour la détection de contaminants.

Tableau 4 : Récents aptacapteurs à base de polymères conducteurs pour des contaminants.

Type d'analyte	Electrode travail	Modification électrode	LOD (nM)	Domaine de linéarité (nM)	Références
Antigène NS1	Graphite	AuNP/PEI	$9,6 \cdot 10^{-7}$	$9,6 \cdot 10^{-6}$ – $5,2 \cdot 10^{-4}$	Rashid <i>et al.</i> ¹²⁵
Chloramphénicol	Graphite pyrolitique	poly(1,5-DAN)	$1,1 \cdot 10^{-5}$	$5,0 \cdot 10^{-5}$ – $5,0 \cdot 10^{-4}$	Rosy <i>et al.</i> ¹²⁶
Bisphénol A	Carbone vitreux	poly(pyrroleNTA)	$1,2 \cdot 10^{-3}$	10^{-2} - 10^3	Kazane <i>et al.</i> ¹²⁷
Chlorpyrifos	Carbone vitreux	AuNP/PDA	$1,5 \cdot 10^{-3}$	$1,5 \cdot 10^{-3}$ – 1,8	Xu <i>et al.</i> ⁷⁰
Aflatoxine	Electrode de carbone sérigraphié	PT3C	$5,1 \cdot 10^{-3}$	$8,0 \cdot 10^{-3}$ – $9,6 \cdot 10^{-2}$	Zejli <i>et al.</i> ¹²⁸
Polychlorobiphényle hydroxylée	Carbone vitreux	AuNP/PDDA-graphène	$5,3 \cdot 10^{-3}$	$2,9 \cdot 10^{-3}$ – $2,9 \cdot 10^2$	Yang <i>et al.</i> ¹²⁹
Chloramphénicol	Graphite pyrolitique	P-AHNSA	$2,0 \cdot 10^{-1}$	$1,0 \cdot 10^{-1}$ – $2,5 \cdot 10^3$	Yadav <i>et al.</i> ¹³⁰
Bisphénol A	Carbone vitreux	MWCNT/PDDA	$1,0 \cdot 10^1$	$3,2 \cdot 10^1$ - 10^3	Lv <i>et al.</i> ¹³¹
Acétamipride	Electrode de carbone sérigraphié	AuNP/PANI	$8,6 \cdot 10^1$	2,5 - 10	Rapini <i>et al.</i> ¹³²
17 β -estradiol	Carbone vitreux	Py-PAA/GCE	$1 \cdot 10^{-6}$	$1 \cdot 10^{-6}$ - $1 \cdot 10^3$	Zhu <i>et al.</i> ¹³³
Bisphénol A	Carbone vitreux	PPY/ /AuNP/GCE	$80 \cdot 10^{-9}$	$0,5 \cdot 10^{-6}$ - $5 \cdot 10^{-3}$	Ensafi <i>et al.</i> ¹³⁴
Plomb	Electrode de carbone sérigraphié	Au/Ppy/SPCE	0,36	0,5-10	Ding <i>et al.</i> ¹³⁵

Légende :

SPCE : électrode sérigraphiée en carbone ; GCE : électrode en carbone vitreux ; 1,5-DAN : 1,5-diaminonaphthalène ; AuNP : nanoparticules d'or ; MWCNT : nanotubes de carbone multi parois ; NTA : acide nitrotriacétique ; PANI : polyaniline ; PEI : poly(éthylèneimine) ; PDDA : chlorure de poly(diallyldiméthylammonium) ; P-AHNSA : poly(acide 4-amino-3-hydroxy naphthalène sulfonique) ; PDA : polydopamine ; PT3C : poly(acide 3-thiophène-carboxylique) ; PPy : Polypyrrole ; PAA : Acide 3-pyrrolylacrylique.

Ces travaux mettent en évidence l'utilisation des principaux polymères conducteurs tels que la polyaniline, le polythiophène et le polypyrrole, ainsi que l'exploitation de polymères moins couramment employés tels que le polyéthylèneimine et la polydopamine. Dans la plupart de ces cas, il est nécessaire de développer des stratégies spécifiques pour le greffage des aptamères.

Par exemple, pour fonctionnaliser le poly(1,5-diaminonaphtalène), Rosy *et al.*¹²⁶ ajoutent de la glutaraldéhyde pour permettre l'immobilisation covalente de l'aptamère sur l'électrode. Zejli *et al.*¹²⁸ utilisent le PT3C, qui a été électropolymérisé directement à la surface de l'électrode. Ce polymère contient une fonction carboxylique activée par le couple 1-éthyl-3-(3-diméthylaminopropyl)carbodiimide/N-hydroxysuccinimide (EDC/NHS) pour permettre le greffage de l'hexaméthylènediamine (HMDA), servant de séparateur, et immobiliser l'aptamère fonctionnalisé par une fonction carboxylique (Figure 21).

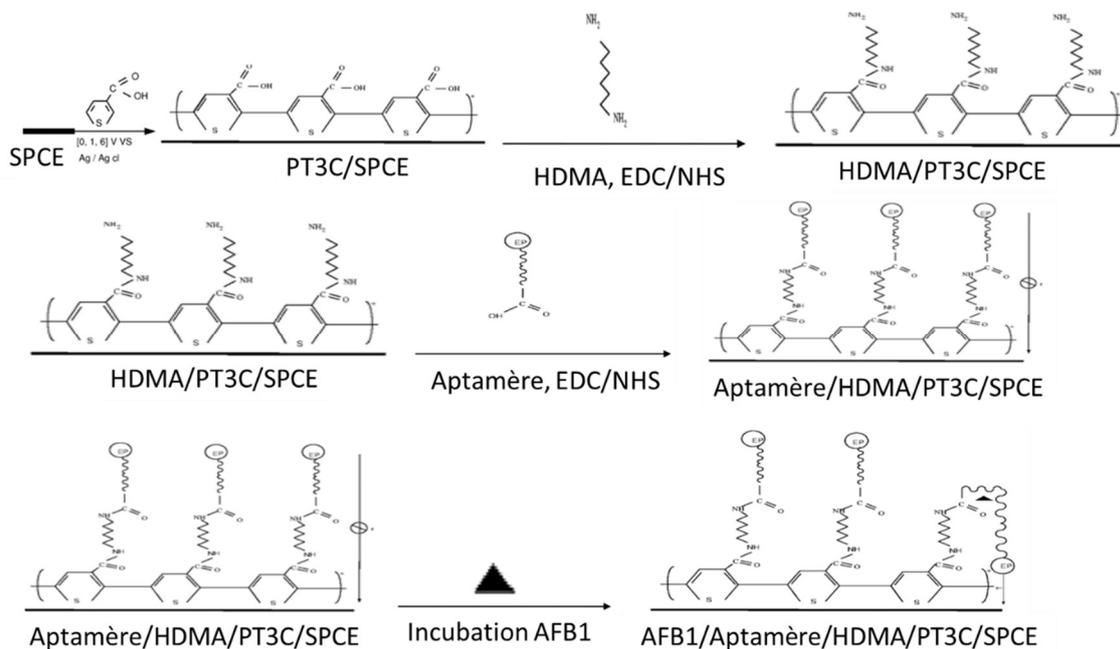


Figure 21 : Schéma de concept d'un aptacapteur à base de PT3C, selon Zejli *et al.*¹²⁸

En ce qui concerne le polypyrrole, il a été utilisé à plusieurs reprises dans le développement des aptacapteurs, avec différentes stratégies de fonctionnalisation pour l'immobilisation des aptamères.

Par exemple, Kazane *et al.*¹²⁷ ont choisi de préalablement fonctionnaliser le pyrrole avec l'acide nitrolotriacétique (PPyNTA). L'aptamère qu'ils utilisent est lui-même fonctionnalisé par la polyhistidine, ce qui permet la liaison au PPyNTA grâce à un complexe impliquant un ion Cu^{2+} .

Ensafi *et al.*¹³⁴ ont choisi d'utiliser un composite polypyrrole/nanoparticules d'or pour fonctionnaliser la surface d'une électrode de carbone vitreux. Ainsi les nanoparticules d'or déposées à la surface vont accueillir les aptamères fonctionnalisés à l'extrémité 3' par une

fonction thiol. Le polypyrrole est électrodéposé par-dessus cet ensemble afin de piéger le complexe cible/aptamère dans le polymère. Ainsi un MIP à base de glyphosate est créé pour augmenter la sensibilité de l'aptacapteur. Cet aptacapteur couplé à un MIP est très efficace car la gamme de sensibilité pour le bisphénol A est de $0,5 \cdot 10^{-15}$ - $5 \cdot 10^{-9}$ mol/L ce qui est très sensible.

Pour fonctionnaliser une électrode de carbone vitreux, Zhu *et al.*¹³³ ont électro-co-polymérisé le pyrrole avec un monomère dérivé du pyrrole possédant une fonction carboxyle, l'acide 3-pyrrolylacrylique tel que sur la Figure 22. La fonction carboxylique est ensuite activée grâce au couple EDC/NHS pour pouvoir immobiliser l'aptamère de manière covalente. Cette méthode permet donc un greffage direct de l'aptamère sur l'électrode. L'aptacapteur obtenu permet une détection très sensible du 17 β -estradiol, jusqu'à 1 fmol/L.

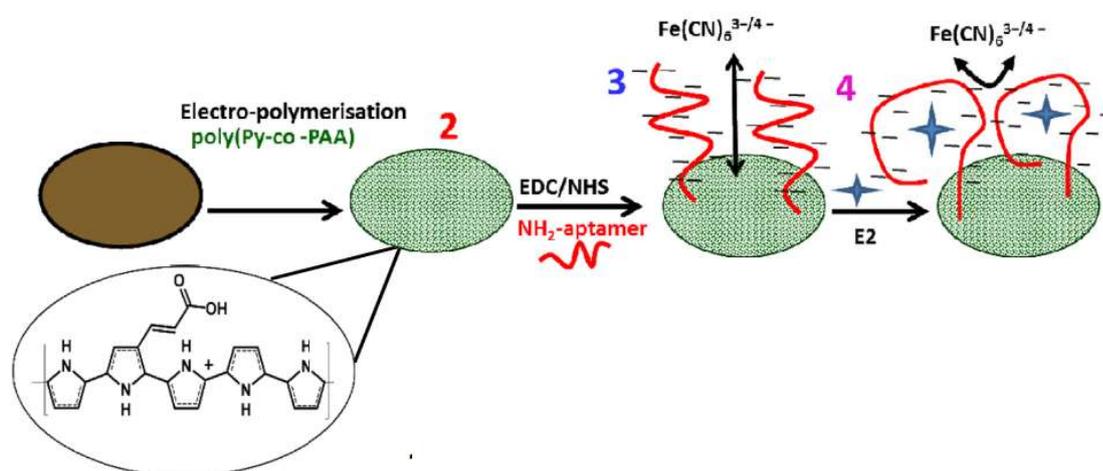


Figure 22 : Schéma de construction d'un aptacapteur P(Py-co-PAA)/GCE et principe de fonctionnement.

Le polypyrrole semble être un choix judicieux pour le développement d'un aptacapteur électrochimique, et ce, pour plusieurs raisons. Tout d'abord, sa polymérisation et son comportement ont été largement décrits dans la littérature scientifique. De plus, il est réputé pour sa grande stabilité.¹³⁶⁻¹³⁸ La copolymérisation avec un monomère possédant les fonctions nécessaires permet le greffage covalent des aptamères. Un autre avantage est que le polypyrrole est conducteur à pH neutre, contrairement à la polyaniline.¹³⁹ C'est pourquoi, dans le cadre de notre étude, nous avons choisi d'utiliser le polypyrrole comme matériau conducteur, en raison de ses propriétés favorables pour le développement de l'aptacapteur.

2.4. L'auto-assemblage de la L-Phénylalanyl-L-phénylalanine (FF)

Certains peptides se distinguent par leur capacité unique à s'auto-assembler et former des fibres. C'est notamment le cas du peptide L-Phénylalanyl-L-Phénylalanine (Phe-Phe ou FF) dont la formation de nanotubes peptidiques a d'abord été observée dans les fibres de polypeptide β -amyloïdes responsable de la maladie d'Alzheimer.¹⁴⁰ La FF est composé de deux cycles aromatiques sur les chaînes latérales, qui sont hydrophobes et de fonctions hydrophiles sur la chaîne peptidique principale.

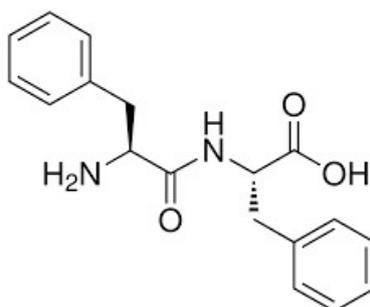


Figure 23 : Structure chimique du peptide L-Phénylalanyl-L-phénylalanine.

Görbitz¹⁴¹ a étudié la formation de fibres de FF (Figure 24) et a montré que les fonctions hydrophiles de différentes molécules se regroupent, maintenues par des liaisons hydrogènes. Les cycles aromatiques quant à eux s'assemblent par empilement π - π . Ainsi, des structures cycliques se forment jusqu'à former un tube vide en son centre.

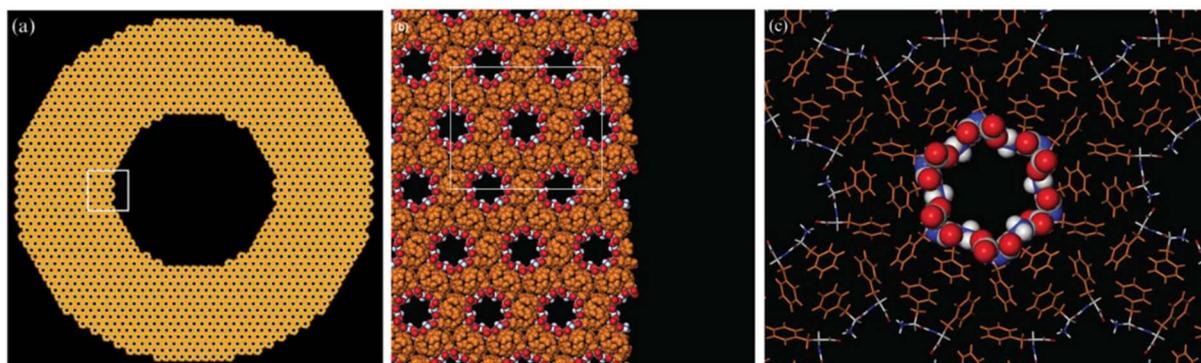


Figure 24 : Formation des fibres de FF selon Görbitz.¹⁴¹

Yan *et al.*¹⁴² affirment qu'en fonction des conditions expérimentales, différentes structures de FF peuvent être envisagées comme illustré dans la Figure 25, telles que des nanotubes, des vésicules ou encore des nanofibrilles.

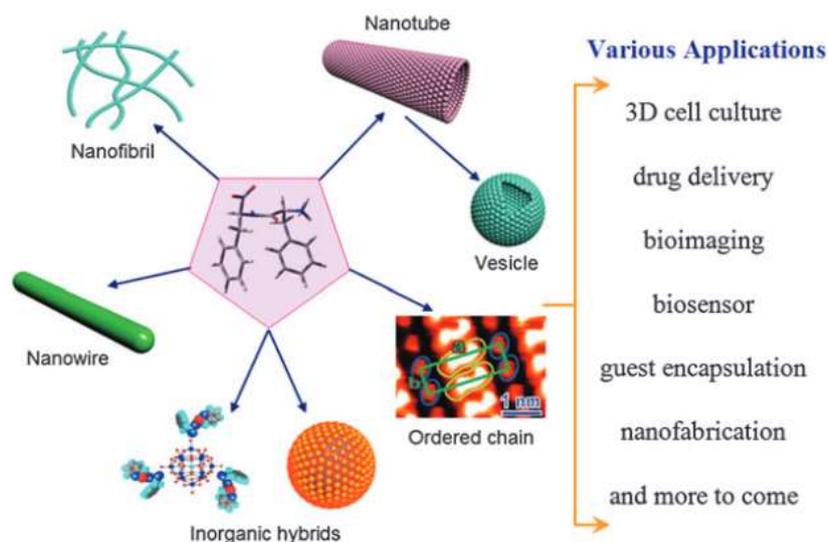


Figure 25 : Représentation schématique de diverses nanostructures formées par auto-assemblage de blocs de construction à base de FF et de leurs applications potentielles, selon Yan *et al.*¹⁴³

En raison de leurs propriétés adhésives, les fibres formées par le dipeptide FF constituent une approche alternative prometteuse pour la modification des électrodes en carbone. Il est particulièrement intéressant de noter que les dipeptides possèdent des fonctions telles que les amines ou les groupes carboxyliques, qui sont capables de former des liaisons covalentes avec les aptamères. De plus leur rapport de forme élevé permet d'augmenter la surface spécifique du capteur.

En 2004 Yemini *et al.*¹⁴⁴ ont rapporté ce qui semble être la première utilisation des fibres de dipeptide FF à des fins électrochimiques. Ils ont modifié une électrode en carbone sérigraphiée en déposant des nanotubes de peptide sur sa surface. Pour former ces fibres, ils ont suivi le protocole de Reches et Gazit¹⁴⁵, en dissolvant une forme lyophilisée du peptide dans de l'hexafluoroisopropanol (HFIP) à une concentration de 100 mg/mL. L'assemblage des nanotubes de peptide a été réalisé à la concentration optimale de 2 mg/mL, ce qui a conduit à la formation favorable de structures tubulaires. Ensuite, une goutte du mélange ainsi obtenu a été déposée à la surface de l'électrode sérigraphiée. Le capteur a ensuite été analysé par CV en présence d'une sonde redox. L'électrode avec le dépôt de FF a montré une intensité d'oxydation plus importante que l'électrode nue. Le FF semble améliorer la sensibilité de l'électrode.

Bianchi *et al.*¹⁴⁶ montre une autre voie pour la formation de fibre de FF. Après avoir fonctionnalisé une électrode d'or par la 4-mercaptopyridine (MCP), ils ont immobilisé des fibres de FF à la surface. L'auto-assemblage du FF a été réalisé directement sur les substrats en utilisant une approche en phase solide-vapeur. Le FF est dissout dans du HFIP à une concentration de 100 mg mL⁻¹. Une partie de cette solution est déposée sur la couche de MCP pour former un film de peptide amorphe. Ensuite, les échantillons ont été incubés dans une

chambre saturée de vapeur d'eau ou de vapeur d'aniline pendant 12 heures à 98 °C et à pression normale. Après cette procédure, des fibres de FF se sont formées à la surface de l'électrode. Cette méthode permet d'obtenir de longues fibres de FF, en revanche elle est plus contraignante que l'auto-assemblage en solution.

La première utilisation du FF dans les biocapteurs semble venir de Cipriano *et al.*¹⁴⁷ Ils ont immobilisé les fibres de FF à sur la surface de l'électrode ITO par dépôt couche par couche, en utilisant du poly(chlorhydrate d'allylamine). En greffant la microperoxidase-11 à la surface des fibres, ils ont été capables de créer un capteur oxydant le peroxyde d'hydrogène.

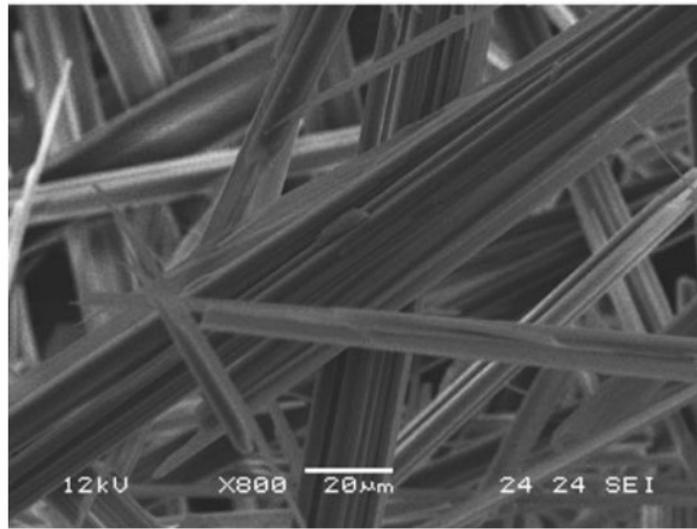


Figure 26 : Image MEB des fibres de FF obtenues par Cipriano *et al.*¹⁴⁷

Wu *et al.*¹⁴⁸ rapportent la création d'un biocapteur à base de FF. Les fibres de FF sont mélangées au graphène pour former un nanocomposite (FF-G). L'hémoglobine (Hb), en tant que molécule modèle, est ensuite immobilisée sur les nanocomposites FF-G afin de construire un biocapteur ampérométrique détectant H₂O₂. Le biocapteur présente une large réponse linéaire dans la plage de 5,0.10⁻⁷ à 5,0.10⁻⁴ mol L⁻¹, avec une faible limite de détection de 1,0 .10⁻⁷ mol L⁻¹.

Récemment la structuration du FF à la surface d'une électrode sérigraphiée a été étudié par Moïni *et al.*¹⁴⁹ Le dépôt de fibre de FF a été effectué selon deux protocoles. Dans les deux cas les fibres sont dissoutes dans HFIP à 100 mg/mL. Le premier protocole dilue cette solution dans l'eau à 2 mg/mL avant le dépôt. Le dépôt obtenu grâce à cette solution est fait de longues fibres à la surface de l'électrode (Figure 27a). Le deuxième protocole dépose cette solution directement sur la surface de l'électrode de carbone. Les nanotubes de FF qui en résulte forment des structures en forme de fleurs (Figure 27b). Ces structures recouvrent et augmente l'ensemble de la surface.

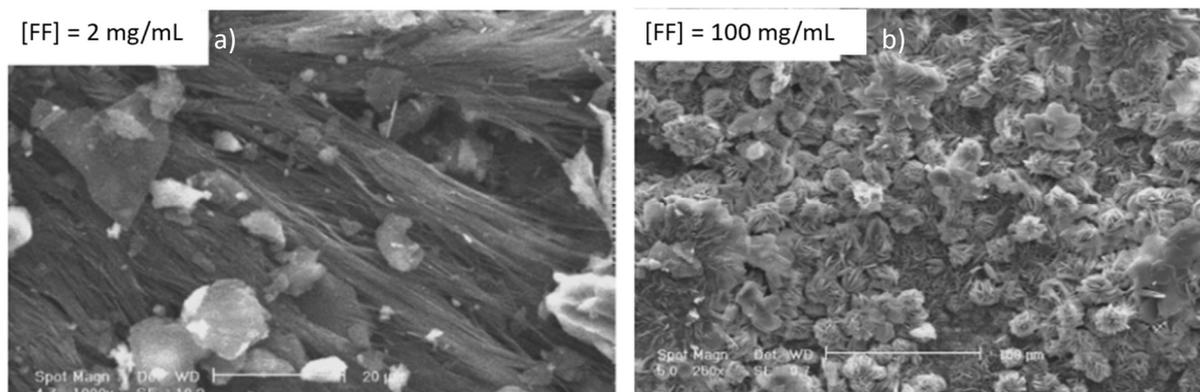


Figure 27 : Image MEB d'électrode sérigraphiée avec un dépôt de [FF] a) 2 mg/mL b) 100 mg/mL selon Moini et al.

Allafchian *et al.*¹⁵⁰ ont utilisé ces structures en formes de fleurs pour immobiliser des anticorps de l'hormone de croissance humaine et réaliser un immunocapteur. Grâce à des mesures EIS, ce capteur a permis la détection de l'hormone de croissance humaine dans une gamme linéaire de 0,001 à 0,1 ng/mL.

En conclusion, il est clair que la fonctionnalisation d'une électrode en carbone par des fibres de dipeptide FF représente une approche rapide et efficace pour greffer des molécules de reconnaissance, améliorant ainsi la sensibilité électrochimique des électrodes. Bien que jusqu'à présent, aucun aptacapteur électrochimique basé sur les fibres de dipeptide FF n'ait été développé, il semble pourtant qu'il n'y ait aucune limitation majeure qui empêche une telle application. Les fibres de dipeptide FF présentent des propriétés adhésives et sont capables de former des liaisons covalentes avec des molécules de reconnaissance, ce qui en fait un matériau prometteur pour la création de biocapteurs électrochimiques.

2.5. Objectifs de la thèse

L'utilisation excessive de pesticides entraîne une importante décharge de ces produits dans les eaux de surface.¹⁶ De plus, des études ont montré que des résidus de pesticides peuvent se retrouver dans l'eau potable et les produits alimentaires, et ainsi se retrouver dans l'organisme humain.²⁶ Le contact direct avec certains pesticides spécifiques peut présenter des risques importants pour la santé, tels que l'augmentation du risque de cancers ou le développement du diabète.²⁸ Les méthodes traditionnelles, telles que la GC-MS et LC-MS, permettent des analyses sensibles, sélectives et reproductibles des résidus de pesticides dans l'eau.³²⁻³⁶ Cependant, ces analyses sont longues et coûteuses pour les organismes de surveillance des eaux. Il est donc nécessaire d'envisager des méthodes de détection alternatives permettant de détecter ou de quantifier rapidement les pesticides dans l'eau, à moindre coût.

Les biocapteurs non enzymatiques électrochimiques semblent être une solution idéale pour la détection, car ils sont décrits comme sélectifs grâce à la molécule de reconnaissance moléculaire et sensibles grâce aux matériaux d'électrode formant le transducteur. Les différentes molécules de reconnaissance ont été examinées, telles que les anticorps, les aptamères et les polymères à empreintes moléculaires.³⁷

Dans ce travail de thèse, il a été choisi de travailler avec les aptamères, car ils sont sélectifs envers la cible et peu coûteux par rapport aux anticorps. De plus, ils sont résistants à des températures relativement élevées, ce qui permet de rompre les interactions liant la cible à la molécule de reconnaissance.⁸⁶ Les aptamères contre les pesticides sont développés dans le cadre du projet Captain Adhoc en partenariat avec Novaptech, société bordelaise spécialisée dans le développement d'aptamères. Pour valider la plateforme électrochimique, un aptamère anti-thrombine est utilisé comme aptamère modèle, car il a été décrit dans la littérature comme efficace. Les aptacapteurs fonctionnant avec le départ d'oligonucléotide complémentaire ne semblent pas adaptés à la mesure in-situ et en continu des pesticides, c'est pourquoi les aptacapteurs à variation de résistance sont privilégiés dans cette étude⁶⁴

L'objectif principal est donc le développement de la plateforme électrochimique qui doit accueillir l'aptamère. Cette plateforme a deux fonctions : immobiliser l'aptamère sur la surface et améliorer la sensibilité du capteur. Pour cela, deux voies différentes ont été envisagées, l'utilisation de polymères conducteurs et l'auto-assemblage du peptide FF.

Les polymères conducteurs semblent en effet appropriés au développement d'un aptacapteur. Ils sont électropolymérisables à la surface des électrodes, avec la possibilité de former des structures augmentant la surface spécifique du capteur. Le polypyrrole a été choisi parmi les polymères conducteurs pour plusieurs raisons. Tout d'abord, sa polymérisation et son comportement ont été largement décrits dans la littérature¹¹⁹ et il présente une grande stabilité. De plus, la copolymérisation avec un monomère possédant les fonctions nécessaires

permet le greffage covalent des aptamères.^{127 133} L'objectif est donc d'obtenir un film de copolymère à base de polypyrrole sur lequel les aptamères peuvent être immobilisés par des liaisons covalentes. Ce film doit être sensible à pH neutre et présenter une surface spécifique élevée pour augmenter la quantité d'aptamères à la surface.

L'auto-assemblage du peptide FF est une deuxième voie envisagée pour la fonctionnalisation des électrodes en carbone. Ces fibres sont décrites comme adhérentes à la surface des électrodes et semblent augmenter la sensibilité électrochimique de celles-ci.¹⁴⁴ L'objectif est donc de réussir à immobiliser ces fibres à la surface d'une électrode en carbone sérigraphiée, afin de greffer les aptamères grâce aux fonctions amine ou carboxyle présentes dans le FF. La structure des fibres devra être optimisée afin d'obtenir une surface spécifique élevée et un capteur sensible.

Un des objectifs du projet Captain ADHOC est la détection et la quantification du glyphosate. Les aptamères ne permettant pas la capture spécifique de cette cible.¹⁵¹ Nous nous sommes tournés vers les polymères à empreintes moléculaires. Les MIPs sont décrits comme des molécules de reconnaissance spécifiques, stables aux variations de pH et de température, ce qui est idéal pour le développement d'un capteur de terrain.⁸⁹ Nous avons pu observer que les capteurs à base de polypyrrole imprimé contre le glyphosate se sont révélés très sensibles.^{100,135} C'est pourquoi nous allons étudier ce système. L'objectif de ce travail est de réaliser un MIP capable de détecter le glyphosate à la limite légale dans les eaux, soit 1 µg/L. Pour cela, les interactions entre le MIP et le glyphosate seront caractérisées afin d'améliorer la détection.

2.6. Références bibliographiques

- (1) Directive 7/55/CE du Parlement européen et du Conseil du 6 octobre 1997: modifiant la directive 84/450/CEE sur la publicité trompeuse afin d'y inclure la publicité comparative. *LEGICOM* **1999**, 18 (2), 165. <https://doi.org/10.3917/legi.018.0165>.
- (2) Directive 2013/39/EU of the European Parliament and of the Council of 12 August 2013 Amending Directives 2000/60/EC and 2008/105/EC as Regards Priority Substances in the Field of Water policyText with EEA Relevance.
- (3) Kumar, R.; Qureshi, M.; Vishwakarma, D. K.; Al-Ansari, N.; Kuriqi, A.; Elbeltagi, A.; Saraswat, A. A Review on Emerging Water Contaminants and the Application of Sustainable Removal Technologies. *Case Studies in Chemical and Environmental Engineering* **2022**, 6, 100219. <https://doi.org/10.1016/j.cscee.2022.100219>.
- (4) Sauvé, S.; Desrosiers, M. A Review of What Is an Emerging Contaminant. *Chemistry Central Journal* **2014**, 8 (1), 15. <https://doi.org/10.1186/1752-153X-8-15>.
- (5) *Silent Spring by Rachel Carson | Hardcover | 2002-10-22 | Mariner Books Classics | 9780618253050*. <https://www.biblio.com/9780618253050> (accessed 2023-10-18).
- (6) Hong, S.; Candelone, J.-P.; Patterson, C. C.; Boutron, C. F. Greenland Ice Evidence of Hemispheric Lead Pollution Two Millennia Ago by Greek and Roman Civilizations. *Science* **1994**, 265 (5180), 1841–1843. <https://doi.org/10.1126/science.265.5180.1841>.
- (7) Khan, N. A.; López-Maldonado, E. A.; Majumder, A.; Singh, S.; Varshney, R.; López, J. R.; Méndez, P. F.; Ramamurthy, P. C.; Khan, M. A.; Khan, A. H.; Mubarak, N. M.; Amhad, W.; Shamshuddin, S. Z. M.; Aljundi, I. H. A State-of-Art-Review on Emerging Contaminants: Environmental Chemistry, Health Effect, and Modern Treatment Methods. *Chemosphere* **2023**, 344, 140264. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.140264>.
- (8) Khan, N. A.; Ahmed, S.; Farooqi, I. H.; Ali, I.; Vambol, V.; Changani, F.; Yousefi, M.; Vambol, S.; Khan, S. U.; Khan, A. H. Occurrence, Sources and Conventional Treatment Techniques for Various Antibiotics Present in Hospital Wastewaters: A Critical Review. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* **2020**, 129, 115921. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2020.115921>.
- (9) Kumirska, J.; Migowska, N.; Caban, M.; Łukaszewicz, P.; Stepnowski, P. Simultaneous Determination of Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs and Oestrogenic Hormones in Environmental Solid Samples. *Science of The Total Environment* **2015**, 508, 498–505. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.12.020>.
- (10) Bodus, B.; O'Malley, K.; Dieter, G.; Gunawardana, C.; McDonald, W. Review of Emerging Contaminants in Green Stormwater Infrastructure: Antibiotic Resistance Genes, Microplastics, Tire Wear Particles, PFAS, and Temperature. *Science of The Total Environment* **2024**, 906, 167195. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.167195>.
- (11) McGinley, J.; Healy, M. G.; Ryan, P. C.; Harmon O'Driscoll, J.; Mellander, P.-E.; Morrison, L.; Siggins, A. Impact of Historical Legacy Pesticides on Achieving Legislative Goals in Europe. *Science of The Total Environment* **2023**, 873, 162312. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.162312>.
- (12) Duke, S. O.; Powles, S. B. Glyphosate: A Once-in-a-century Herbicide. *Pest Management Science* **2008**, 64 (4), 319–325. <https://doi.org/10.1002/ps.1518>.
- (13) Cook, S. K.; Wynn, S. C.; Clarke, J. H. How Valuable Is Glyphosate to UK Agriculture and the Environment? *Outlook Pest Man* **2010**, 21 (6), 280–284. <https://doi.org/10.1564/21dec08>.
- (14) Gianessi, L. P. Economic Impacts of Glyphosate-resistant Crops. *Pest Management Science* **2008**, 64 (4), 346–352. <https://doi.org/10.1002/ps.1490>.
- (15) Singh, N. K.; Sanghvi, G.; Yadav, M.; Padhiyar, H.; Christian, J.; Singh, V. Fate of Pesticides in Agricultural Runoff Treatment Systems: Occurrence, Impacts and Technological Progress. *Environmental Research* **2023**, 237, 117100. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2023.117100>.
- (16) Bervia Lunardi, V.; Edi Soetaredjo, F.; Foe, K.; Nyoo Putro, J.; Permatasari Santoso, S.; Gede Wenten, I.; Irawaty, W.; Yuliana, M.; Ju, Y.-H.; Elisa Angkawijaya, A.; Ismadji, S. Pesticide

- Elimination through Adsorption by Metal-Organic Framework and Their Modified Forms. *Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management* **2022**, *17*, 100638. <https://doi.org/10.1016/j.enmm.2021.100638>.
- (17) Yadav, I. C.; Devi, N. L. Pesticides Classification and Its Impact on Human and Environment. *Environ. Sci.* **2017**, *6*.
- (18) Kaur, R.; Mavi, G. K.; Raghav, S.; Khan, I. Pesticides Classification and Its Impact on Environment. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci* **2019**, *8* (03), 1889–1897. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2019.803.224>.
- (19) Abubakar, Y. Chapter 3 - Pesticides, History, and Classification. **2020**.
- (20) Gupta, R. C. Classification and Uses of Organophosphates and Carbamates. In *Toxicology of Organophosphate & Carbamate Compounds*; Elsevier, 2006; pp 5–24. <https://doi.org/10.1016/B978-012088523-7/50003-X>.
- (21) Jayaraj, R.; Megha, P.; Sreedev, P. Review Article. Organochlorine Pesticides, Their Toxic Effects on Living Organisms and Their Fate in the Environment. *Interdisciplinary Toxicology* **2016**, *9* (3–4), 90–100. <https://doi.org/10.1515/intox-2016-0012>.
- (22) Klementova, S.; Keltnerova, L. Triazine Herbicides in the Environment. In *Herbicides, Physiology of Action, and Safety*; Price, A., Kelton, J., Sarunaite, L., Eds.; InTech, 2015. <https://doi.org/10.5772/60858>.
- (23) Muszyński, P.; Brodowska, M. S.; Paszko, T. Occurrence and Transformation of Phenoxy Acids in Aquatic Environment and Photochemical Methods of Their Removal: A Review. *Environ Sci Pollut Res* **2020**, *27* (2), 1276–1293. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-06510-2>.
- (24) Richmond, M. E. Glyphosate: A Review of Its Global Use, Environmental Impact, and Potential Health Effects on Humans and Other Species. *J Environ Stud Sci* **2018**, *8* (4), 416–434. <https://doi.org/10.1007/s13412-018-0517-2>.
- (25) Bai, S. H.; Ogbourne, S. M. Glyphosate: Environmental Contamination, Toxicity and Potential Risks to Human Health via Food Contamination. *Environ Sci Pollut Res* **2016**, *23* (19), 18988–19001. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-7425-3>.
- (26) Grau, D.; Grau, N.; Gascuel, Q.; Paroissin, C.; Stratonovitch, C.; Lairon, D.; Devault, D. A.; Di Cristofaro, J. Quantifiable Urine Glyphosate Levels Detected in 99% of the French Population, with Higher Values in Men, in Younger People, and in Farmers. *Environ Sci Pollut Res* **2022**, *29* (22), 32882–32893. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-18110-0>.
- (27) Ferreira, C.; Duarte, S. C.; Costa, E.; Pereira, A. M. P. T.; Silva, L. J. G.; Almeida, A.; Lino, C.; Pena, A. Urine Biomonitoring of Glyphosate in Children: Exposure and Risk Assessment. *Environmental Research* **2021**, *198*, 111294. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.111294>.
- (28) Alavanja, M. C. R.; Bonner, M. R. Occupational Pesticide Exposures and Cancer Risk: A Review. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B* **2012**, *15* (4), 238–263. <https://doi.org/10.1080/10937404.2012.632358>.
- (29) Montgomery, M. P.; Kamel, F.; Saldana, T. M.; Alavanja, M. C. R.; Sandler, D. P. Incident Diabetes and Pesticide Exposure among Licensed Pesticide Applicators: Agricultural Health Study, 1993-2003. *American Journal of Epidemiology* **2008**, *167* (10), 1235–1246. <https://doi.org/10.1093/aje/kwn028>.
- (30) Evangelou, E.; Ntritsos, G.; Chondrogiorgi, M.; Kavvoura, F. K.; Hernández, A. F.; Ntzani, E. E.; Tzoulaki, I. Exposure to Pesticides and Diabetes: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Environment International* **2016**, *91*, 60–68. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2016.02.013>.
- (31) Tanner, C. M.; Kamel, F.; Ross, G. W.; Hoppin, J. A.; Goldman, S. M.; Korell, M.; Marras, C.; Bhudhikanok, G. S.; Kasten, M.; Chade, A. R.; Comyns, K.; Richards, M. B.; Meng, C.; Priestley, B.; Fernandez, H. H.; Cambi, F.; Umbach, D. M.; Blair, A.; Sandler, D. P.; Langston, J. W. Rotenone, Paraquat, and Parkinson's Disease. *Environ Health Perspect* **2011**, *119* (6), 866–872. <https://doi.org/10.1289/ehp.1002839>.
- (32) Lesueur, C.; Knittl, P.; Gartner, M.; Mentler, A.; Fuerhacker, M. Analysis of 140 Pesticides from Conventional Farming Foodstuff Samples after Extraction with the Modified QuEChERS Method. *Food Control* **2008**, *19* (9), 906–914. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2007.09.002>.

- (33) Lehotay, S. J.; Kok, A. D.; Hiemstra, M.; Bodegraven, P. V. Validation of a Fast and Easy Method for the Determination of Residues from 229 Pesticides in Fruits and Vegetables Using Gas and Liquid Chromatography and Mass Spectrometric Detection. *Journal of AOAC INTERNATIONAL* **2005**, *88* (2), 595–614. <https://doi.org/10.1093/jaoac/88.2.595>.
- (34) Wang, J.; Cheung, W.; Grant, D. Determination of Pesticides in Apple-Based Infant Foods Using Liquid Chromatography Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometry. *J. Agric. Food Chem.* **2005**, *53* (3), 528–537. <https://doi.org/10.1021/jf048413x>.
- (35) Li, H.-P.; Li, G.-C.; Jen, J.-F. Determination of Organochlorine Pesticides in Water Using Microwave Assisted Headspace Solid-Phase Microextraction and Gas Chromatography. *Journal of Chromatography A* **2003**, *1012* (2), 129–137. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(03\)00916-6](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(03)00916-6).
- (36) Gamón, M.; Lleó, C.; Ten, A.; Mocholí, F. Multiresidue Determination of Pesticides in Fruit and Vegetables by Gas Chromatography/Tandem Mass Spectrometry. *Journal of AOAC INTERNATIONAL* **2001**, *84* (4), 1209–1216. <https://doi.org/10.1093/jaoac/84.4.1209>.
- (37) Berkal, M. A.; Nardin, C. Pesticide Biosensors: Trends and Progresses. *Anal Bioanal Chem* **2023**, *415* (24), 5899–5924. <https://doi.org/10.1007/s00216-023-04911-4>.
- (38) Trojanowicz, M. Determination of Pesticides Using Electrochemical Enzymatic Biosensors. *Electroanalysis* **2002**, *14* (19–20), 1311–1328. [https://doi.org/10.1002/1521-4109\(200211\)14:19/20<1311::AID-ELAN1311>3.0.CO;2-7](https://doi.org/10.1002/1521-4109(200211)14:19/20<1311::AID-ELAN1311>3.0.CO;2-7).
- (39) Simonian, A. L.; Efremenko, E. N.; Wild, J. R. Discriminative Detection of Neurotoxins in Multi-Component Samples. *Analytica Chimica Acta* **2001**, *444* (2), 179–186. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(01\)01099-6](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(01)01099-6).
- (40) Chauhan, N.; Pundir, C. S. An Amperometric Biosensor Based on Acetylcholinesterase Immobilized onto Iron Oxide Nanoparticles/Multi-Walled Carbon Nanotubes Modified Gold Electrode for Measurement of Organophosphorus Insecticides. *Analytica Chimica Acta* **2011**, *701* (1), 66–74. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2011.06.014>.
- (41) Patel, H.; Rawtani, D.; Agrawal, Y. K. A Newly Emerging Trend of Chitosan-Based Sensing Platform for the Organophosphate Pesticide Detection Using Acetylcholinesterase- a Review. *Trends in Food Science & Technology* **2019**, *85*, 78–91. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.01.007>.
- (42) Arduini, F.; Cinti, S.; Caratelli, V.; Amendola, L.; Palleschi, G.; Moscone, D. Origami Multiple Paper-Based Electrochemical Biosensors for Pesticide Detection. *Biosensors and Bioelectronics* **2019**, *126*, 346–354. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2018.10.014>.
- (43) Mazzei, F.; Botrè, F.; Montilla, S.; Pilloton, R.; Podestà, E.; Botrè, C. Alkaline Phosphatase Inhibition Based Electrochemical Sensors for the Detection of Pesticides. *Journal of Electroanalytical Chemistry* **2004**, *574* (1), 95–100. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2004.08.004>.
- (44) García Sánchez, F.; Navas Díaz, A.; Ramos Peinado, M. C.; Belledone, C. Free and Sol–Gel Immobilized Alkaline Phosphatase-Based Biosensor for the Determination of Pesticides and Inorganic Compounds. *Analytica Chimica Acta* **2003**, *484* (1), 45–51. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(03\)00310-6](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(03)00310-6).
- (45) Li, H.; Zhao, S.; Wang, Z.; Li, F. Controllable Preparation of 2D V2O5 Peroxidase-Mimetic Nanozyme to Develop Portable Paper-Based Analytical Device for Intelligent Pesticide Assay. *Small* **2023**, *19* (14), 2206465. <https://doi.org/10.1002/smll.202206465>.
- (46) Vaghela, C.; Kulkarni, M.; Haram, S.; Aiyer, R.; Karve, M. A Novel Inhibition Based Biosensor Using Urease Nanoconjugate Entrapped Biocomposite Membrane for Potentiometric Glyphosate Detection. *International Journal of Biological Macromolecules* **2018**, *108*, 32–40. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.11.136>.
- (47) Kumar, V.; Vaid, K.; Bansal, S. A.; Kim, K.-H. Nanomaterial-Based Immunosensors for Ultrasensitive Detection of Pesticides/Herbicides: Current Status and Perspectives. *Biosensors and Bioelectronics* **2020**, *165*, 112382. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2020.112382>.

- (48) Suri, C. R.; Raje, M.; Varshney, G. C. Immunosensors for Pesticide Analysis: Antibody Production and Sensor Development. *Critical Reviews in Biotechnology* **2002**, *22* (1), 15–32. <https://doi.org/10.1080/07388550290789441>.
- (49) Mehta, J.; Vinayak, P.; Tuteja, S. K.; Chhabra, V. A.; Bhardwaj, N.; Paul, A. K.; Kim, K.-H.; Deep, A. Graphene Modified Screen Printed Immunosensor for Highly Sensitive Detection of Parathion. *Biosensors and Bioelectronics* **2016**, *83*, 339–346. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2016.04.058>.
- (50) Mehta, J.; Bhardwaj, N.; Bhardwaj, S. K.; Tuteja, S. K.; Vinayak, P.; Paul, A. K.; Kim, K.-H.; Deep, A. Graphene Quantum Dot Modified Screen Printed Immunosensor for the Determination of Parathion. *Analytical Biochemistry* **2017**, *523*, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2017.01.026>.
- (51) Qiao, L.; Wang, X.; Sun, X. A Novel Label-Free Amperometric Immunosensor Based on Graphene Sheets-Methylene Blue Nanocomposite/Gold Nanoparticles. *International Journal of Electrochemical Science* **2014**, *9* (3), 1399–1414. [https://doi.org/10.1016/S1452-3981\(23\)07803-3](https://doi.org/10.1016/S1452-3981(23)07803-3).
- (52) Qiao, L.; Guo, Y.; Sun, X.; Jiao, Y.; Wang, X. Electrochemical Immunosensor with NiAl-Layered Double Hydroxide/Graphene Nanocomposites and Hollow Gold Nanospheres Double-Assisted Signal Amplification. *Bioprocess Biosyst Eng* **2015**, *38* (8), 1455–1468. <https://doi.org/10.1007/s00449-015-1388-5>.
- (53) Sun, X.; Qiao, L.; Wang, X. A Novel Immunosensor Based on Au Nanoparticles and Polyaniline/Multiwall Carbon Nanotubes/Chitosan Nanocomposite Film Functionalized Interface. *Nano-Micro Lett.* **2013**, *5* (3), 191–201. <https://doi.org/10.1007/BF03353750>.
- (54) Chuc, N. V.; Binh, N. H.; Thanh, C. T.; Tu, N. V.; Huy, N. L.; Dzung, N. T.; Minh, P. N.; Thu, V. T.; Lam, T. D. Electrochemical Immunosensor for Detection of Atrazine Based on Polyaniline/Graphene. *Journal of Materials Science & Technology* **2016**, *32* (6), 539–544. <https://doi.org/10.1016/j.jmst.2016.04.004>.
- (55) Norouzi, P.; Larijani, B.; Ganjali, M. R.; Faridbod, F. Admittometric Electrochemical Determination of Atrazine by Nano-Composite Immune-Biosensor Using FFT- Square Wave Voltammetry. *International Journal of Electrochemical Science* **2012**, *7* (11), 10414–10426. [https://doi.org/10.1016/S1452-3981\(23\)16873-8](https://doi.org/10.1016/S1452-3981(23)16873-8).
- (56) Supraja, P.; Singh, V.; Vanjari, S. R. K.; Govind Singh, S. Electrospun CNT Embedded ZnO Nanofiber Based Biosensor for Electrochemical Detection of Atrazine: A Step Closure to Single Molecule Detection. *Microsyst Nanoeng* **2020**, *6* (1), 3. <https://doi.org/10.1038/s41378-019-0115-9>.
- (57) Liu, X.; Li, W.-J.; Li, L.; Yang, Y.; Mao, L.-G.; Peng, Z. A Label-Free Electrochemical Immunosensor Based on Gold Nanoparticles for Direct Detection of Atrazine. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2014**, *191*, 408–414. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2013.10.033>.
- (58) Deep, A.; Saraf, M.; Neha; Bharadwaj, S. K.; Sharma, A. L. Styrene Sulphonic Acid Doped Polyaniline Based Immunosensor for Highly Sensitive Impedimetric Sensing of Atrazine. *Electrochimica Acta* **2014**, *146*, 301–306. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2014.09.048>.
- (59) Liu, G.; Guo, W.; Song, D. A Multianalyte Electrochemical Immunosensor Based on Patterned Carbon Nanotubes Modified Substrates for Detection of Pesticides. *Biosensors and Bioelectronics* **2014**, *52*, 360–366. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2013.09.009>.
- (60) Bettazzi, F.; Romero Natale, A.; Torres, E.; Palchetti, I. Glyphosate Determination by Coupling an Immuno-Magnetic Assay with Electrochemical Sensors. *Sensors* **2018**, *18* (9), 2965. <https://doi.org/10.3390/s18092965>.
- (61) Ellington, A. D.; Szostak, J. W. In Vitro Selection of RNA Molecules That Bind Specific Ligands. *Nature* **1990**, *346* (6287), 818–822. <https://doi.org/10.1038/346818a0>.
- (62) Tuerk, C.; Gold, L. Systematic Evolution of Ligands by Exponential Enrichment: RNA Ligands to Bacteriophage T4 DNA Polymerase. *Science* **1990**, *249* (4968), 505–510. <https://doi.org/10.1126/science.2200121>.
- (63) Gan, Z.; Roslan, M. A. M.; Abd Shukor, M. Y.; Halim, M.; Yasid, N. A.; Abdullah, J.; Md Yasin, I. S.; Wasoh, H. Advances in Aptamer-Based Biosensors and Cell-Internalizing SELEX Technology for

- Diagnostic and Therapeutic Application. *Biosensors* **2022**, *12* (11), 922. <https://doi.org/10.3390/bios12110922>.
- (64) Rozenblum; Pollitzer; Radrizzani. Challenges in Electrochemical Aptasensors and Current Sensing Architectures Using Flat Gold Surfaces. *Chemosensors* **2019**, *7* (4), 57. <https://doi.org/10.3390/chemosensors7040057>.
- (65) Sun, C.; Liu, M.; Sun, H.; Lu, H.; Zhao, G. Immobilization-Free Photoelectrochemical Aptasensor for Environmental Pollutants: Design, Fabrication and Mechanism. *Biosensors and Bioelectronics* **2019**, *140*, 111352. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2019.111352>.
- (66) Madianos, L.; Skotadis, E.; Tsekenis, G.; Patsiouras, L.; Tsigkourakos, M.; Tsoukalas, D. Impedimetric Nanoparticle Aptasensor for Selective and Label Free Pesticide Detection. *Microelectronic Engineering* **2018**, *189*, 39–45. <https://doi.org/10.1016/j.mee.2017.12.016>.
- (67) Madianos, L.; Tsekenis, G.; Skotadis, E.; Patsiouras, L.; Tsoukalas, D. A Highly Sensitive Impedimetric Aptasensor for the Selective Detection of Acetamiprid and Atrazine Based on Microwires Formed by Platinum Nanoparticles. *Biosensors and Bioelectronics* **2018**, *101*, 268–274. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2017.10.034>.
- (68) Song, J.; Huang, M.; Jiang, N.; Zheng, S.; Mu, T.; Meng, L.; Liu, Y.; Liu, J.; Chen, G. Ultrasensitive Detection of Amoxicillin by TiO₂-g-C₃N₄@AuNPs Impedimetric Aptasensor: Fabrication, Optimization, and Mechanism. *Journal of Hazardous Materials* **2020**, *391*, 122024. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.122024>.
- (69) Bai, Z.; Chen, Y.; Li, F.; Zhou, Y.; Yin, H.; Ai, S. Electrochemical Aptasensor for Sulfadimethoxine Detection Based on the Triggered Cleavage Activity of Nuclease P1 by Aptamer-Target Complex. *Talanta* **2019**, *204*, 409–414. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.06.035>.
- (70) Xu, G.; Hou, J.; Zhao, Y.; Bao, J.; Yang, M.; Fa, H.; Yang, Y.; Li, L.; Huo, D.; Hou, C. Dual-Signal Aptamer Sensor Based on Polydopamine-Gold Nanoparticles and Exonuclease I for Ultrasensitive Malathion Detection. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2019**, *287*, 428–436. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2019.01.113>.
- (71) Kaur, N.; Thakur, H.; Prabhakar, N. Multi Walled Carbon Nanotubes Embedded Conducting Polymer Based Electrochemical Aptasensor for Estimation of Malathion. *Microchemical Journal* **2019**, *147*, 393–402. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.03.042>.
- (72) Prabhakar, N.; Thakur, H.; Bharti, A.; Kaur, N. Chitosan-Iron Oxide Nanocomposite Based Electrochemical Aptasensor for Determination of Malathion. *Analytica Chimica Acta* **2016**, *939*, 108–116. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2016.08.015>.
- (73) Roushani, M.; Rahmati, Z.; Hoseini, S. J.; Hashemi Fath, R. Impedimetric Ultrasensitive Detection of Chloramphenicol Based on Aptamer MIP Using a Glassy Carbon Electrode Modified by 3-Ampy-RGO and Silver Nanoparticle. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* **2019**, *183*, 110451. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2019.110451>.
- (74) Wang, R.-H.; Zhu, C.-L.; Wang, L.-L.; Xu, L.-Z.; Wang, W.-L.; Yang, C.; Zhang, Y. Dual-Modal Aptasensor for the Detection of Isocarboxiphos in Vegetables. *Talanta* **2019**, *205*, 120094. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.06.094>.
- (75) Mohammad-Razdari, A.; Ghasemi-Varnamkhasti, M.; Rostami, S.; Izadi, Z.; Ensafi, A. A.; Siadat, M. Development of an Electrochemical Biosensor for Impedimetric Detection of Tetracycline in Milk. *J Food Sci Technol* **2020**, *57* (12), 4697–4706. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04506-2>.
- (76) Wang, S.; Li, Z.; Duan, F.; Hu, B.; He, L.; Wang, M.; Zhou, N.; Jia, Q.; Zhang, Z. Bimetallic Cerium/Copper Organic Framework-Derived Cerium and Copper Oxides Embedded by Mesoporous Carbon: Label-Free Aptasensor for Ultrasensitive Tobramycin Detection. *Analytica Chimica Acta* **2019**, *1047*, 150–162. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2018.09.064>.
- (77) He, B.; Yan, S. Voltammetric Kanamycin Aptasensor Based on the Use of Thionine Incorporated into Au@Pt Core-Shell Nanoparticles. *Microchim Acta* **2019**, *186* (2), 77. <https://doi.org/10.1007/s00604-018-3188-5>.
- (78) Shen, Z.; He, L.; Cao, Y.; Hong, F.; Zhang, K.; Hu, F.; Lin, J.; Wu, D.; Gan, N. Multiplexed Electrochemical Aptasensor for Antibiotics Detection Using Metallic-Encoded Apoferritin

- Probes and Double Stirring Bars-Assisted Target Recycling for Signal Amplification. *Talanta* **2019**, *197*, 491–499. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.12.018>.
- (79) Yang, Q.; Hong, J.; Wu, Y.-X.; Cao, Y.; Wu, D.; Hu, F.; Gan, N. A Multicolor Fluorescence Nanoprobe Platform Using Two-Dimensional Metal Organic Framework Nanosheets and Double Stirring Bar Assisted Target Replacement for Multiple Bioanalytical Applications. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2019**, *11* (44), 41506–41515. <https://doi.org/10.1021/acsami.9b12475>.
- (80) Li, F.; Wang, X.; Sun, X.; Guo, Y. Multiplex Electrochemical Aptasensor for Detecting Multiple Antibiotics Residues Based on Carbon Fiber and Mesoporous Carbon-Gold Nanoparticles. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2018**, *265*, 217–226. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2018.03.042>.
- (81) Jiao, Y.; Hou, W.; Fu, J.; Guo, Y.; Sun, X.; Wang, X.; Zhao, J. A Nanostructured Electrochemical Aptasensor for Highly Sensitive Detection of Chlorpyrifos. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2017**, *243*, 1164–1170. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2016.12.106>.
- (82) Xu, G.; Huo, D.; Hou, C.; Zhao, Y.; Bao, J.; Yang, M.; Fa, H. A Regenerative and Selective Electrochemical Aptasensor Based on Copper Oxide Nanoflowers-Single Walled Carbon Nanotubes Nanocomposite for Chlorpyrifos Detection. *Talanta* **2018**, *178*, 1046–1052. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2017.08.086>.
- (83) Fei, A.; Liu, Q.; Huan, J.; Qian, J.; Dong, X.; Qiu, B.; Mao, H.; Wang, K. Label-Free Impedimetric Aptasensor for Detection of Femtomole Level Acetamiprid Using Gold Nanoparticles Decorated Multiwalled Carbon Nanotube-Reduced Graphene Oxide Nanoribbon Composites. *Biosensors and Bioelectronics* **2015**, *70*, 122–129. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2015.03.028>.
- (84) Li, S.; Li, J.; Luo, J.; Xu, Z.; Ma, X. A Microfluidic Chip Containing a Molecularly Imprinted Polymer and a DNA Aptamer for Voltammetric Determination of Carbofuran. *Microchim Acta* **2018**, *185* (6), 295. <https://doi.org/10.1007/s00604-018-2835-1>.
- (85) Yang, L.; Li, L.; Li, F.; Zheng, H.; Li, T.; Liu, X.; Zhu, J.; Zhou, Y.; Alwarappan, S. Ultrasensitive Photoelectrochemical Aptasensor for Diclofenac Sodium Based on Surface-Modified TiO₂-FeVO₄ Composite. *Anal Bioanal Chem* **2021**, *413* (1), 193–203. <https://doi.org/10.1007/s00216-020-02991-0>.
- (86) Zhang, Y.; Lai, B.; Juhas, M. Recent Advances in Aptamer Discovery and Applications. *Molecules* **2019**, *24* (5), 941. <https://doi.org/10.3390/molecules24050941>.
- (87) Canfarotta, F.; Cecchini, A.; Piletsky, S. Nano-Sized Molecularly Imprinted Polymers as Artificial Antibodies. In *Molecularly Imprinted Polymers for Analytical Chemistry Applications*; Kutner, W., Sharma, P. S., Eds.; The Royal Society of Chemistry, 2018; pp 1–27. <https://doi.org/10.1039/9781788010474-00001>.
- (88) Dixit, C. K.; Bhakta, S.; Reza, K. K.; Kaushik, A. Exploring Molecularly Imprinted Polymers as Artificial Antibodies for Efficient Diagnostics and Commercialization: A Critical Overview. *Hybrid Advances* **2022**, *1*, 100001. <https://doi.org/10.1016/j.hybadv.2022.100001>.
- (89) Zheng, X.; Khaoulani, S.; Ktari, N.; Lo, M.; Khalil, A. M.; Zerrouki, C.; Fourati, N.; Chehimi, M. M. Towards Clean and Safe Water: A Review on the Emerging Role of Imprinted Polymer-Based Electrochemical Sensors. *Sensors* **2021**, *21* (13), 4300. <https://doi.org/10.3390/s21134300>.
- (90) Ayivi, R. D.; Obare, S. O.; Wei, J. Molecularly Imprinted Polymers as Chemosensors for Organophosphate Pesticide Detection and Environmental Applications. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* **2023**, *167*, 117231. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2023.117231>.
- (91) Moreira Gonçalves, L. Electropolymerized Molecularly Imprinted Polymers: Perceptions Based on Recent Literature for Soon-to-Be World-Class Scientists. *Current Opinion in Electrochemistry* **2021**, *25*, 100640. <https://doi.org/10.1016/j.coelec.2020.09.007>.
- (92) Ansari, R. Polypyrrole Conducting Electroactive Polymers: Synthesis and Stability Studies. *E-Journal of Chemistry* **2006**, *3* (4), 186–201. <https://doi.org/10.1155/2006/860413>.
- (93) Waltman, R. J.; Bargon, J. Reactivity/Structure Correlations for the Electropolymerization of Pyrrole: An INDO/CNDO Study of the Reactive Sites of Oligomeric Radical Cations. *Tetrahedron* **1984**, *40* (20), 3963–3970. [https://doi.org/10.1016/0040-4020\(84\)85074-7](https://doi.org/10.1016/0040-4020(84)85074-7).

- (94) Suzaei, F. M.; Daryanavard, S. M.; Abdel-Rehim, A.; Bassyouni, F.; Abdel-Rehim, M. Recent Molecularly Imprinted Polymers Applications in Bioanalysis. *Chem. Pap.* **2023**, *77* (2), 619–655. <https://doi.org/10.1007/s11696-022-02488-3>.
- (95) Motaharian, A.; Motaharian, F.; Abnous, K.; Hosseini, M. R. M.; Hassanzadeh-Khayyat, M. Molecularly Imprinted Polymer Nanoparticles-Based Electrochemical Sensor for Determination of Diazinon Pesticide in Well Water and Apple Fruit Samples. *Anal Bioanal Chem* **2016**, *408* (24), 6769–6779. <https://doi.org/10.1007/s00216-016-9802-7>.
- (96) Zhao, G.; Liu, J.; Liu, M.; Han, X.; Peng, Y.; Tian, X.; Liu, J.; Zhang, S. Synthesis of Molecularly Imprinted Polymer via Emulsion Polymerization for Application in Solanesol Separation. *Applied Sciences* **2020**, *10* (8), 2868. <https://doi.org/10.3390/app10082868>.
- (97) Pardeshi, S. Precipitation Polymerization: A Versatile Tool for Preparing Molecularly Imprinted Polymer Beads for Chromatography Applications. *RSC Advances* **2016**.
- (98) Alizadeh, T. High Selective Parathion Voltammetric Sensor Development by Using an Acrylic Based Molecularly Imprinted Polymer-Carbon Paste Electrode. *Electroanalysis* **2009**, *21* (13), 1490–1498. <https://doi.org/10.1002/elan.200804541>.
- (99) Ding, S.; Lyu, Z.; Li, S.; Ruan, X.; Fei, M.; Zhou, Y.; Niu, X.; Zhu, W.; Du, D.; Lin, Y. Molecularly Imprinted Polypyrrole Nanotubes Based Electrochemical Sensor for Glyphosate Detection. *Biosensors and Bioelectronics* **2021**, *191*, 113434. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2021.113434>.
- (100) Zhang, C.; She, Y.; Li, T.; Zhao, F.; Jin, M.; Guo, Y.; Zheng, L.; Wang, S.; Jin, F.; Shao, H.; Liu, H.; Wang, J. A Highly Selective Electrochemical Sensor Based on Molecularly Imprinted Polypyrrole-Modified Gold Electrode for the Determination of Glyphosate in Cucumber and Tap Water. *Anal Bioanal Chem* **2017**, *409* (30), 7133–7144. <https://doi.org/10.1007/s00216-017-0671-5>.
- (101) Wackerlig, J.; Lieberzeit, P. A. Molecularly Imprinted Polymer Nanoparticles in Chemical Sensing – Synthesis, Characterisation and Application. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2015**, *207*, 144–157. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2014.09.094>.
- (102) Mazouz, Z.; Rahali, S.; Fourati, N.; Zerrouki, C.; Aloui, N.; Seydou, M.; Yaakoubi, N.; Chehimi, M.; Othmane, A.; Kalfat, R. Highly Selective Polypyrrole MIP-Based Gravimetric and Electrochemical Sensors for Picomolar Detection of Glyphosate. *Sensors* **2017**, *17* (11), 2586. <https://doi.org/10.3390/s17112586>.
- (103) Toro, M. J. U.; Marestoni, L. D.; Sotomayor, M. D. P. T. A New Biomimetic Sensor Based on Molecularly Imprinted Polymers for Highly Sensitive and Selective Determination of Hexazinone Herbicide. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2015**, *208*, 299–306. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2014.11.036>.
- (104) Gholivand, M. B.; Karimian, N.; Malekzadeh, G. Computational Design and Synthesis of a High Selective Molecularly Imprinted Polymer for Voltammetric Sensing of Propazine in Food Samples. *Talanta* **2012**, *89*, 513–520. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2012.01.001>.
- (105) Qi, P.; Wang, J.; Wang, X.; Wang, Z.; Xu, H.; Di, S.; Wang, Q.; Wang, X. Sensitive and Selective Detection of the Highly Toxic Pesticide Carbofuran in Vegetable Samples by a Molecularly Imprinted Electrochemical Sensor with Signal Enhancement by AuNPs. *RSC Adv.* **2018**, *8* (45), 25334–25341. <https://doi.org/10.1039/C8RA05022H>.
- (106) Ghorbani, A.; Ganjali, M. R.; Ojani, R.; Raoof, J. Detection of Chloridazon in Aqueous Matrices Using a Nano-Sized Chloridazon-Imprinted Polymer-Based Voltammetric Sensor. *International Journal of Electrochemical Science* **2020**, *15* (4), 2913–2922. <https://doi.org/10.20964/2020.04.17>.
- (107) Aghoutane, Y.; Diouf, A.; Österlund, L.; Bouchikhi, B.; El Bari, N. Development of a Molecularly Imprinted Polymer Electrochemical Sensor and Its Application for Sensitive Detection and Determination of Malathion in Olive Fruits and Oils. *Bioelectrochemistry* **2020**, *132*, 107404. <https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2019.107404>.
- (108) Wong, A.; Foguel, M. V.; Khan, S.; Oliveira, F. M. D.; Tarley, C. R. T.; Sotomayor, M. D. P. T. DEVELOPMENT OF AN ELECTROCHEMICAL SENSOR MODIFIED WITH MWCNT-COOH AND MIP

- FOR DETECTION OF DIURON. *Electrochimica Acta* **2015**, *182*, 122–130.
<https://doi.org/10.1016/j.electacta.2015.09.054>.
- (109) Li, Y.; Liu, J.; Zhang, Y.; Gu, M.; Wang, D.; Dang, Y.; Ye, B.-C.; Li, Y. A Robust Electrochemical Sensing Platform Using Carbon Paste Electrode Modified with Molecularly Imprinted Microsphere and Its Application on Methyl Parathion Detection. *Biosensors and Bioelectronics* **2018**, *106*, 71–77. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2018.01.057>.
- (110) Amatongchai, M.; Sroysee, W.; Sodkrathok, P.; Kesangam, N.; Chairam, S.; Jarujamrus, P. Novel Three-Dimensional Molecularly Imprinted Polymer-Coated Carbon Nanotubes (3D-CNTs@MIP) for Selective Detection of Profenofos in Food. *Analytica Chimica Acta* **2019**, *1076*, 64–72. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2019.04.075>.
- (111) Smolinska-Kempisty, K.; Guerreiro, A.; Canfarotta, F.; Cáceres, C.; Whitcombe, M. J.; Piletsky, S. A Comparison of the Performance of Molecularly Imprinted Polymer Nanoparticles for Small Molecule Targets and Antibodies in the ELISA Format. *Sci Rep* **2016**, *6* (1), 37638. <https://doi.org/10.1038/srep37638>.
- (112) Naseri, M.; Mohammadniaei, M.; Sun, Y.; Ashley, J. The Use of Aptamers and Molecularly Imprinted Polymers in Biosensors for Environmental Monitoring: A Tale of Two Receptors. *Chemosensors* **2020**, *8* (2), 32. <https://doi.org/10.3390/chemosensors8020032>.
- (113) Majdinasab, M.; Daneshi, M.; Louis Marty, J. Recent Developments in Non-Enzymatic (Bio)Sensors for Detection of Pesticide Residues: Focusing on Antibody, Aptamer and Molecularly Imprinted Polymer. *Talanta* **2021**, *232*, 122397. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2021.122397>.
- (114) Crapnell, R. D.; Dempsey-Hibbert, N. C.; Peeters, M.; Tridente, A.; Banks, C. E. Molecularly Imprinted Polymer Based Electrochemical Biosensors: Overcoming the Challenges of Detecting Vital Biomarkers and Speeding up Diagnosis. *Talanta Open* **2020**, *2*, 100018. <https://doi.org/10.1016/j.talo.2020.100018>.
- (115) Lowdon, J. W.; Diliën, H.; Singla, P.; Peeters, M.; Cleij, T. J.; Van Grinsven, B.; Eersels, K. MIPs for Commercial Application in Low-Cost Sensors and Assays – An Overview of the Current Status Quo. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2020**, *325*, 128973. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2020.128973>.
- (116) Shirakawa, H.; Louis, E. J.; MacDiarmid, A. G.; Chiang, C. K.; Heeger, A. J. Synthesis of Electrically Conducting Organic Polymers: Halogen Derivatives of Polyacetylene, (CH)_x. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1977**, No. 16, 578–580. <https://doi.org/10.1039/C39770000578>.
- (117) Heydari Gharahcheshmeh, M.; Gleason, K. K. Texture and Nanostructural Engineering of Conjugated Conducting and Semiconducting Polymers. *Materials Today Advances* **2020**, *8*, 100086. <https://doi.org/10.1016/j.mtadv.2020.100086>.
- (118) Gvozdenovi, M. M.; Trišovi, T. L. Electrochemical Polymerization of Aniline.
- (119) Diaz, A. F.; Kanazawa, I.; Logan, A. C O N D U ~ G POLY-/~..ALKYLPYRROI.R,POLYMER-FILMS. *J. Electroanal. Chem* **7**.
- (120) Xia, L.; Wei, Z.; Wan, M. Conducting Polymer Nanostructures and Their Application in Biosensors. *Journal of Colloid and Interface Science* **2010**, *341* (1), 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2009.09.029>.
- (121) Parthasarathy, R. V.; Martin, C. R. Synthesis of Polymeric Microcapsule Arrays and Their Use for Enzyme Immobilization. *Nature* **1994**, *369* (6478), 298–301. <https://doi.org/10.1038/369298a0>.
- (122) Zhang, X.; Zhang, J.; Song, W.; Liu, Z. Controllable Synthesis of Conducting Polypyrrole Nanostructures. *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110* (3), 1158–1165. <https://doi.org/10.1021/jp054335k>.
- (123) Zhang, X.; Lee, J.-S.; Lee, G. S.; Cha, D.-K.; Kim, M. J.; Yang, D. J.; Manohar, S. K. Chemical Synthesis of PEDOT Nanotubes. *Macromolecules* **2006**, *39* (2), 470–472. <https://doi.org/10.1021/ma051975c>.
- (124) Xu, L.; Chen, Z.; Chen, W.; Mulchandani, A.; Yan, Y. Electrochemical Synthesis of Perfluorinated Ion Doped Conducting Polyaniline Films Consisting of Helical Fibers and Their Reversible

- Switching between Superhydrophobicity and Superhydrophilicity. *Macromol. Rapid Commun.* **2008**, *29* (10), 832–838. <https://doi.org/10.1002/marc.200700891>.
- (125) Rashid, S.; Nawaz, M. H.; Marty, J. L.; Hayat, A. Label Free Ultrasensitive Detection of NS1 Based on Electrochemical Aptasensor Using Polyethyleneimine Aggregated AuNPs. *Microchemical Journal* **2020**, *158*, 105285. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2020.105285>.
- (126) Rosy, R.; Goyal, R. N.; Shim, Y.-B. Glutaraldehyde Sandwiched Amino Functionalized Polymer Based Aptasensor for the Determination and Quantification of Chloramphenicol. *RSC Adv.* **2015**, *5* (85), 69356–69364. <https://doi.org/10.1039/C5RA11131E>.
- (127) Kazane, I.; Gorgy, K.; Gondran, C.; Spinelli, N.; Zazoua, A.; Defrancq, E.; Cosnier, S. Highly Sensitive Bisphenol-A Electrochemical Aptasensor Based on Poly(Pyrrole-Nitrilotriacetic Acid)-Aptamer Film. *Anal. Chem.* **2016**, *88* (14), 7268–7273. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.6b01574>.
- (128) Zejli, H.; Goud, K. Y.; Marty, J. L. An Electrochemical Aptasensor Based on Polythiophene-3-Carboxylic Acid Assisted Methylene Blue for Aflatoxin B1 Detection. *Sensing and Bio-Sensing Research* **2019**, *25*, 100290. <https://doi.org/10.1016/j.sbsr.2019.100290>.
- (129) Yang, K.; Li, Z.; Lv, Y.; Yu, C.; Wang, P.; Su, X.; Wu, L.; He, Y. Graphene and AuNPs Based Electrochemical Aptasensor for Ultrasensitive Detection of Hydroxylated Polychlorinated Biphenyl. *Analytica Chimica Acta* **2018**, *1041*, 94–101. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2018.08.047>.
- (130) Yadav, S. K.; Agrawal, B.; Chandra, P.; Goyal, R. N. In Vitro Chloramphenicol Detection in a Haemophilus Influenza Model Using an Aptamer-Polymer Based Electrochemical Biosensor. *Biosensors and Bioelectronics* **2014**, *55*, 337–342. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2013.12.031>.
- (131) Lv, E.; Ding, J.; Qin, W. Potentiometric Aptasensing of Small Molecules Based on Surface Charge Change. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2018**, *259*, 463–466. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2017.12.067>.
- (132) Rapini, R.; Cincinelli, A.; Marrazza, G. Acetamidiprid Multidetector by Disposable Electrochemical DNA Aptasensor. *Talanta* **2016**, *161*, 15–21. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2016.08.026>.
- (133) Zhu, B.; Alsager, O. A.; Kumar, S.; Hodgkiss, J. M.; Travas-Sejdic, J. Label-Free Electrochemical Aptasensor for Femtomolar Detection of 17 β -Estradiol. *Biosensors and Bioelectronics* **2015**, *70*, 398–403. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2015.03.050>.
- (134) Ensafi, A. A.; Amini, M.; Rezaei, B. Molecularly Imprinted Electrochemical Aptasensor for the Attomolar Detection of Bisphenol A. *Microchim Acta* **2018**, *185* (5), 265. <https://doi.org/10.1007/s00604-018-2810-x>.
- (135) Ding, J. An Electrochemical Aptasensor Based on Gold@polypyrrole Composites for Detection of Lead Ions. *Microchim Acta* **2018**, *7*.
- (136) Cheah, K.; Forsyth, M.; Truong, V.-T. Ordering and Stability in Conducting Polypyrrole. *Synthetic Metals* **1998**, *94* (2), 215–219. [https://doi.org/10.1016/S0379-6779\(98\)00006-X](https://doi.org/10.1016/S0379-6779(98)00006-X).
- (137) Brie, M.; Turcu, R.; Mihut, A. Stability Study of Conducting Polypyrrole Films and Polyvinylchloride-Polypyrrole Composites Doped with Different Counterions. *Materials Chemistry and Physics* **1997**, *49* (2), 174–178. [https://doi.org/10.1016/S0254-0584\(97\)01885-3](https://doi.org/10.1016/S0254-0584(97)01885-3).
- (138) Ricks-Laskoski, H. L.; Buckley, L. J. Twenty-Year Aging Study of Electrically Conductive Polypyrrole Films. *Synthetic Metals* **2006**, *156* (5–6), 417–419. <https://doi.org/10.1016/j.synthmet.2006.01.004>.
- (139) Brožová, L.; Holler, P.; Kovářová, J.; Stejskal, J.; Trchová, M. The Stability of Polyaniline in Strongly Alkaline or Acidic Aqueous Media. *Polymer Degradation and Stability* **2008**, *93* (3), 592–600. <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2008.01.012>.
- (140) De Groot, N. S.; Parella, T.; Aviles, F. X.; Vendrell, J.; Ventura, S. Ile-Phe Dipeptide Self-Assembly: Clues to Amyloid Formation. *Biophysical Journal* **2007**, *92* (5), 1732–1741. <https://doi.org/10.1529/biophysj.106.096677>.

- (141) Görbitz, C. H. The Structure of Nanotubes Formed by Diphenylalanine, the Core Recognition Motif of Alzheimer's β -Amyloid Polypeptide. *Chem. Commun.* **2006**, No. 22, 2332–2334. <https://doi.org/10.1039/B603080G>.
- (142) Yan, X.; Zhu, P.; Li, J. Self-Assembly and Application of Diphenylalanine-Based Nanostructures. *Chem. Soc. Rev.* **2010**, 39 (6), 1877. <https://doi.org/10.1039/b915765b>.
- (143) Yan, X.; Zhu, P.; Li, J. Self-Assembly and Application of Diphenylalanine-Based Nanostructures. *Chem. Soc. Rev.* **2010**, 39 (6), 1877. <https://doi.org/10.1039/b915765b>.
- (144) Yemini, M.; Reches, M.; Rishpon, J.; Gazit, E. Novel Electrochemical Biosensing Platform Using Self-Assembled Peptide Nanotubes. *Nano Lett.* **2005**, 5 (1), 183–186. <https://doi.org/10.1021/nl0484189>.
- (145) Reches, M.; Gazit, E. Casting Metal Nanowires Within Discrete Self-Assembled Peptide Nanotubes. *Science* **2003**, 300 (5619), 625–627. <https://doi.org/10.1126/science.1082387>.
- (146) Bianchi, R. C.; da Silva, E. R.; Dall'Antonia, L. H.; Ferreira, F. F.; Alves, W. A. A Nonenzymatic Biosensor Based on Gold Electrodes Modified with Peptide Self-Assemblies for Detecting Ammonia and Urea Oxidation. *Langmuir* **2014**, 30 (38), 11464–11473. <https://doi.org/10.1021/la502315m>.
- (147) Cipriano, T. C.; Takahashi, P. M.; de Lima, D.; Oliveira, V. X.; Souza, J. A.; Martinho, H.; Alves, W. A. Spatial Organization of Peptide Nanotubes for Electrochemical Devices. *J Mater Sci* **2010**, 45 (18), 5101–5108. <https://doi.org/10.1007/s10853-010-4478-4>.
- (148) Wu, Y.; Wang, F.; Lu, K.; Lv, M.; Zhao, Y. Self-Assembled Dipeptide-Graphene Nanostructures onto an Electrode Surface for Highly Sensitive Amperometric Hydrogen Peroxide Biosensors. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2017**, 244, 1022–1030. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2017.01.048>.
- (149) Moini, E.; Dadkhah, A. A.; Allafchian, A.; Habibi, N. Patterning Protein Conjugates into Organized Microarrays with Diphenylalanine Peptide Nanotubes Self-Assembled on Graphite and Gold Electrode. *J Mater Sci: Mater Electron* **2017**, 28 (22), 16910–16920. <https://doi.org/10.1007/s10854-017-7610-2>.
- (150) Allafchian, A. R.; Moini, E.; Mirahmadi-Zare, S. Z. Flower-Like Self-Assembly of Diphenylalanine for Electrochemical Human Growth Hormone Biosensor. *IEEE Sensors J.* **2018**, 18 (21), 8979–8985. <https://doi.org/10.1109/JSEN.2018.2869071>.
- (151) Berkal, M. A.; Palas, Q.; Ricard, E.; Lartigau-Dagron, C.; Ronga, L.; Toulmé, J.; Parat, C.; Nardin, C. Glyphosate–Exonuclease Interactions: Reduced Enzymatic Activity as a Route to Glyphosate Biosensing. *Macromolecular Bioscience* **2023**, 23 (8), 2200508. <https://doi.org/10.1002/mabi.202200508>.
- (152) Shaban, S. M.; Kim, D.-H. Recent Advances in Aptamer Sensors. *Sensors* **2021**, 21 (3), 979. <https://doi.org/10.3390/s21030979>.
- (153) Phopin, K.; Tantimongcolwat, T. Pesticide Aptasensors—State of the Art and Perspectives. *Sensors* **2020**, 20 (23), 6809. <https://doi.org/10.3390/s20236809>.
- (154) Kappen, J.; Skorupa, M.; Krukiewicz, K. Conducting Polymers as Versatile Tools for the Electrochemical Detection of Cancer Biomarkers. *Biosensors* **2022**, 13 (1), 31. <https://doi.org/10.3390/bios13010031>.
- (155) Saidman, S. B. Influence of Anion and pH on the Electrochemical Behaviour of Polypyrrole Synthesised in Alkaline Media. *Electrochimica Acta* **2003**, 48 (12), 1719–1726. [https://doi.org/10.1016/S0013-4686\(03\)00110-5](https://doi.org/10.1016/S0013-4686(03)00110-5).
- (156) Pang, A. L.; Arsad, A.; Ahmadipour, M. Synthesis and Factor Affecting on the Conductivity of Polypyrrole: A Short Review. *Polymers for Advanced Techs* **2021**, 32 (4), 1428–1454. <https://doi.org/10.1002/pat.5201>.
- (157) Sandu, T.; Sârbu, A.; Gârea, S. A.; Iovu, H. STUDY OF POLYPYRROLE FUNCTIONALIZATION PARAMETERS. 10.
- (158) Sheikhzadeh, E.; Chamsaz, M.; Turner, A. P. F.; Jager, E. W. H.; Beni, V. Label-Free Impedimetric Biosensor for Salmonella Typhimurium Detection Based on Poly [Pyrrole-Co-3-Carboxyl-

- Pyrrole] Copolymer Supported Aptamer. *Biosensors and Bioelectronics* **2016**, *80*, 194–200. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2016.01.057>.
- (159) Armes, S. P. Optimum Reaction Conditions for the Polymerization of Pyrrole by Iron(III) Chloride in Aqueous Solution. *Synthetic Metals* **1987**, *20* (3), 365–371. [https://doi.org/10.1016/0379-6779\(87\)90833-2](https://doi.org/10.1016/0379-6779(87)90833-2).
- (160) Scott, J. C.; Bredas, J. L.; Yakushi, K.; Pfluger, P.; Street, G. B. The Evidence for Bipolarons in Pyrrole Polymers. *Synthetic Metals* **1984**, *9* (2), 165–172. [https://doi.org/10.1016/0379-6779\(84\)90055-9](https://doi.org/10.1016/0379-6779(84)90055-9).
- (161) Dhawan, S. K.; Bhandari, H.; Ruhi, G.; Bisht, B. M. S.; Sambyal, P. *Corrosion Preventive Materials and Corrosion Testing*, 1st ed.; CRC Press, 2020. <https://doi.org/10.1201/9781315101217>.
- (162) Bobacka, J.; Gao, Z.; Ivaska, A.; Lewenstam, A. Mechanism of Ionic and Redox Sensitivity of P-Type Conducting Polymers Part 2. Experimental Study of Polypyrrole.
- (163) Bock, L. C.; Griffin, L. C.; Latham, J. A.; Vermaas, E. H.; Toole, J. J. Selection of Single-Stranded DNA Molecules That Bind and Inhibit Human Thrombin. *Nature* **1992**, *355* (6360), 564–566. <https://doi.org/10.1038/355564a0>.
- (164) Wang, X.; Gao, F.; Gong, Y.; Liu, G.; Zhang, Y.; Ding, C. Electrochemical Aptasensor Based on Conductive Supramolecular Polymer Hydrogels for Thrombin Detection with High Selectivity. *Talanta* **2019**, *205*, 120140. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.120140>.
- (165) Kwon, O. S.; Park, C. S.; Park, S. J.; Noh, S.; Kim, S.; Kong, H. J.; Bae, J.; Lee, C.-S.; Yoon, H. Carboxylic Acid-Functionalized Conducting-Polymer Nanotubes as Highly Sensitive Nerve-Agent Chemiresistors. *Sci Rep* **2016**, *6* (1), 33724. <https://doi.org/10.1038/srep33724>.
- (166) Hu, W.; Li, C. M.; Dong, H. Poly(Pyrrole-Co-Pyrrole Propylic Acid) Film and Its Application in Label-Free Surface Plasmon Resonance Immunosensors. *Analytica Chimica Acta* **2008**, *630* (1), 67–74. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2008.09.059>.
- (167) Hu, W.; Li, C. M.; Cui, X.; Dong, H.; Zhou, Q. In Situ Studies of Protein Adsorptions on Poly(Pyrrole-Co-Pyrrole Propylic Acid) Film by Electrochemical Surface Plasmon Resonance. *Langmuir* **2007**, *23* (5), 2761–2767. <https://doi.org/10.1021/la063024d>.
- (168) Li, Y.; Qian, R. Electrochemical Overoxidation of Conducting Polypyrrole Nitrate Film in Aqueous Solutions. *Electrochimica Acta* **2000**, *45* (11), 1727–1731. [https://doi.org/10.1016/S0013-4686\(99\)00392-8](https://doi.org/10.1016/S0013-4686(99)00392-8).
- (169) Wu, C.; Wang, J.; Bai, Y.; Li, X. Significant Effect of Cations on Polypyrrole Cycle Stability. *Solid State Ionics* **2020**, *346*, 115216. <https://doi.org/10.1016/j.ssi.2019.115216>.
- (170) Eivazzadeh-Keihan, R.; Saadatidizaji, Z.; Maleki, A.; De La Guardia, M. D. L.; Mahdavi, M.; Barzegar, S.; Ahadian, S. Recent Progresses in Development of Biosensors for Thrombin Detection. *Biosensors* **2022**, *12* (9), 767. <https://doi.org/10.3390/bios12090767>.
- (171) Reches, M.; Gazit, E. Formation of Closed-Cage Nanostructures by Self-Assembly of Aromatic Dipeptides. *Nano Lett.* **2004**, *4* (4), 581–585. <https://doi.org/10.1021/nl035159z>.
- (172) Yan, X.; He, Q.; Wang, K.; Duan, L.; Cui, Y.; Li, J. Transition of Cationic Dipeptide Nanotubes into Vesicles and Oligonucleotide Delivery. *Angew Chem Int Ed* **2007**, *46* (14), 2431–2434. <https://doi.org/10.1002/anie.200603387>.
- (173) Yemini, M.; Reches, M.; Gazit, E.; Rishpon, J. Peptide Nanotube-Modified Electrodes for Enzyme–Biosensor Applications. *Anal. Chem.* **2005**, *77* (16), 5155–5159. <https://doi.org/10.1021/ac050414g>.
- (174) Pang, Y. Self-Assembled Diphenylalanine Peptide Fibrils with Ultra-High Aspect Ratio: A Platform for Sensitive Electrochemical H₂O₂ Sensor. *Int. J. Electrochem. Sci.* **2018**, 8518–8529. <https://doi.org/10.20964/2018.09.15>.
- (175) Bhandaru, N.; Kaur, G.; Panjla, A.; Verma, S. Spin Coating Mediated Morphology Modulation in Self Assembly of Peptides. *Nanoscale* **2021**, *13* (19), 8884–8892. <https://doi.org/10.1039/D0NR09082D>.
- (176) Adler-Abramovich, L.; Reches, M.; Sedman, V. L.; Allen, S.; Tandler, S. J. B.; Gazit, E. Thermal and Chemical Stability of Diphenylalanine Peptide Nanotubes: Implications for

- Nanotechnological Applications. *Langmuir* **2006**, *22* (3), 1313–1320. <https://doi.org/10.1021/la052409d>.
- (177) Rissanou, A. N.; Georgilis, E.; Kasotakis, E.; Mitraki, A.; Harmandaris, V. Effect of Solvent on the Self-Assembly of Dialanine and Diphenylalanine Peptides. *J. Phys. Chem. B* **2013**.
- (178) Sidelman, N.; Rosenberg, Y.; Richter, S. Peptide-Based Spherulitic Films—Formation and Properties. *Journal of Colloid and Interface Science* **2010**, *343* (1), 387–391. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2009.11.028>.
- (179) Piccoli, J. P.; Soares, A. C.; Oliveira, O. N.; Cilli, E. M. Nanostructured Functional Peptide Films and Their Application in C-Reactive Protein Immunosensors. *Bioelectrochemistry* **2021**, *138*, 107692. <https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2020.107692>.
- (180) Romero-Fernandez, W.; Carvajal-Tapia, C.; Prusky, A.; Katdare, K. A.; Wang, E.; Shostak, A.; Ventura-Antunes, L.; Harmsen, H. J.; Lippmann, E. S.; Fuxe, K.; MacGurn, J. A.; Borroto-Escuela, D. O.; Schrag, M. S. Detection, Visualization and Quantification of Protein Complexes in Human Alzheimer's Disease Brains Using Proximity Ligation Assay. *Sci Rep* **2023**, *13* (1), 11948. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-38000-4>.
- (181) Fares, M.; Mourad, S.; Rajab, M.; Rifai, N. The Use of C-Reactive Protein in Predicting Bacterial Co-Infection in Children with Bronchiolitis. *North Am J Med Sci* **2011**, 152–156. <https://doi.org/10.4297/najms.2011.3152>.
- (182) Schönbrunn, E.; Eschenburg, S.; Shuttleworth, W. A.; Schloss, J. V.; Amrhein, N.; Evans, J. N. S.; Kabsch, W. Interaction of the Herbicide Glyphosate with Its Target Enzyme 5-Enolpyruvylshikimate 3-Phosphate Synthase in Atomic Detail. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2001**, *98* (4), 1376–1380. <https://doi.org/10.1073/pnas.98.4.1376>.
- (183) Pline-Srnic, W. Physiological Mechanisms of Glyphosate Resistance. *Weed Technology* **2006**, *20* (2), 290–300.
- (184) Guyton, K. Z.; Loomis, D.; Grosse, Y.; El Ghissassi, F.; Benbrahim-Tallaa, L.; Guha, N.; Scocciati, C.; Mattock, H.; Straif, K. Carcinogenicity of Tetrachlorvinphos, Parathion, Malathion, Diazinon, and Glyphosate. *The Lancet Oncology* **2015**, *16* (5), 490–491. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(15\)70134-8](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(15)70134-8).
- (185) European Food Safety Authority (EFSA). Peer Review of the Pesticide Risk Assessment of the Potential Endocrine Disrupting Properties of Glyphosate. *EFSA* **2017**, *15* (9). <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2017.4979>.
- (186) Panis, C.; Candiotti, L. Z. P.; Gaboardi, S. C.; Gurzenda, S.; Cruz, J.; Castro, M.; Lemos, B. Widespread Pesticide Contamination of Drinking Water and Impact on Cancer Risk in Brazil. *Environment International* **2022**, *165*, 107321. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2022.107321>.
- (187) Todorovic, G. R.; Mentler, A.; Popp, M.; Hann, S.; Köllensperger, G.; Rampazzo, N.; Blum, W. E. H. Determination of Glyphosate and AMPA in Three Representative Agricultural Austrian Soils with a HPLC-MS/MS Method.
- (188) Le Bot, B.; Colliaux, K.; Pelle, D.; Briens, C.; Seux, R.; Clément, M. Optimization and Performance Evaluation of the Analysis of Glyphosate and AMPA in Water by HPLC with Fluorescence Detection. *Chromatographia* **2002**, *56* (3–4), 161–164. <https://doi.org/10.1007/BF02493205>.
- (189) Uka, B.; Kieninger, J.; Urban, G. A.; Weltin, A. Electrochemical Microsensor for Microfluidic Glyphosate Monitoring in Water Using MIP-Based Concentrators. *ACS Sens.* **2021**, *6* (7), 2738–2746. <https://doi.org/10.1021/acssensors.1c00884>.
- (190) Guo, S.; Wang, L.; Wang, E. Templateless, Surfactantless, Simple Electrochemical Route to Rapid Synthesis of Diameter-Controlled 3D Flowerlike Gold Microstructure with “Clean” Surface. *Chem. Commun.* **2007**, No. 30, 3163. <https://doi.org/10.1039/b705630c>.
- (191) Yáñez-Sedeño, P.; Campuzano, S.; Pingarrón, J. M. Electrochemical Sensors Based on Magnetic Molecularly Imprinted Polymers: A Review. *Analytica Chimica Acta* **2017**, *960*, 1–17. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2017.01.003>.
- (192) Mazouz, Z.; Touchente, Z. A.; Laradi, H.; Fourati, N.; Yaakoubi, N.; Touzani, R.; Chehimi, M. M.; Kalfat, R.; Othmane, A.; Zerrouki, C. Design of Novel Electrochemical Sensors for the Selective

- Detection of Glyphosate. In *Proceedings of Eurosenors 2017, Paris, France, 3–6 September 2017*; MDPI, 2017; p 483. <https://doi.org/10.3390/proceedings1040483>.
- (193) Rebelo, P.; Costa-Rama, E.; Seguro, I.; Pacheco, J. G.; Nouws, H. P. A.; Cordeiro, M. N. D. S.; Delerue-Matos, C. Molecularly Imprinted Polymer-Based Electrochemical Sensors for Environmental Analysis. *Biosensors and Bioelectronics* **2021**, *172*, 112719. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2020.112719>.
- (194) Damos, F. S.; Luz, R. C. S.; Kubota, L. T. Investigations of Ultrathin Polypyrrole Films: Formation and Effects of Doping/Dedoping Processes on Its Optical Properties by Electrochemical Surface Plasmon Resonance (ESPR). *Electrochimica Acta* **2006**, *51* (7), 1304–1312. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2005.06.019>.
- (195) Azizian, S.; Eris, S.; Wilson, L. D. Re-Evaluation of the Century-Old Langmuir Isotherm for Modeling Adsorption Phenomena in Solution. *Chemical Physics* **2018**, *513*, 99–104. <https://doi.org/10.1016/j.chemphys.2018.06.022>.

3. RESULTATS

3.1. Développement de plateformes électrochimiques à base de polypyrrole pour le greffage des aptamères

L'utilisation d'aptamères en tant qu'éléments de reconnaissance offre un potentiel significatif dans la détection ciblée de molécules, que ce soit dans des applications médicales ou environnementales, en raison de leur capacité de reconnaissance spécifique et sélective des molécules cibles.^{152,153} Cependant, pour créer un aptacapteur électrochimique efficace, il est impératif de développer une plateforme capable d'accueillir le greffage de ces aptamères.

Cette plateforme électrochimique doit présenter des caractéristiques spécifiques pour garantir une détection optimale des molécules polluantes, même dans des conditions sur le terrain, telles que dans les eaux de rivières.¹⁵³ Notamment, la plateforme doit être opérationnelle à un pH proche de la neutralité, afin de pouvoir réaliser les études directement dans l'eau de rivière. La plateforme doit maintenir ses performances de détection au fil du temps, même après de nombreuses utilisations. Une stabilité à long terme est donc cruciale pour les applications continues. La plateforme doit disposer de sites ou de fonctionnalités chimiques permettant le greffage covalent des molécules de reconnaissances. Cela assure une liaison solide et efficace entre les aptamères et la plateforme. Enfin, une grande surface spécifique, devrait permettre d'augmenter la capacité de capture des molécules cibles, améliorant ainsi la sensibilité du capteur.¹⁵⁴

Les polymères conducteurs sont couramment utilisés dans le développement de biocapteurs dans les domaines de la santé, l'alimentation ou l'environnement. Pour ce travail de thèse, le polypyrrole (Ppy) a été choisi pour le développement d'une plateforme électrochimique devant accueillir les aptamères. Le polypyrrole peut présenter une conductivité électrique élevée, supérieure à 100 S/cm, notamment à pH acide ou neutre, ce qui est essentiel pour détecter les signaux électriques générés lors de la détection électrochimique.^{155,156} Il peut être fonctionnalisé pour le greffage de biomolécules, soit après la polymérisation à l'aide d'un agent de liaison tel que le glutaraldéhyde¹⁵⁷, soit pendant, par copolymérisation avec un comonomère possédant les fonctions appropriées.¹⁵⁸ En tant que polymère conducteur, le polypyrrole est décrit comme stable et résistant à la corrosion, garantissant ainsi la fiabilité à long terme des capteurs¹³⁸. De plus, l'électrodéposition du pyrrole peut permettre une fabrication à grande échelle de manière économique, ce qui est un avantage pour la production industrielle de biocapteurs.

En résumé, les polymères conducteurs, et plus particulièrement le polypyrrole, comme plateforme électrochimique pour un aptacapteur offrent une combinaison potentielle de propriétés électriques, de sensibilité, de flexibilité et de stabilité, les rendant particulièrement adaptés à la détection de molécules cibles spécifiques.

3.1.1. Construction de la plateforme

3.1.1.1. Polymérisation du pyrrole

Le dépôt de polymère à base de pyrrole a été choisi pour fonctionnaliser des électrodes de carbones et permettre le greffage des aptamères en tant que molécule de reconnaissance.

La polymérisation du pyrrole peut être réalisée soit par voie chimique en présence d'un oxydant,¹⁵⁹ soit par voie électrochimique. Diaz *et al.*¹¹⁹ ont été les premiers à décrire l'électropolymérisation du pyrrole. Celle-ci présente plusieurs avantages majeurs dans le contexte de l'élaboration d'une plateforme électrochimique car elle permet de :

- synthétiser et déposer le polymère en une seule et unique étape, se démarquant ainsi de la polymérisation classique ;
- réaliser la polymérisation en solution aqueuse. Cette caractéristique est particulièrement intéressante, car elle réduit l'impact potentiel des solvants organiques et offre des avantages environnementaux et de sécurité.
- ajuster la topographie de surface du polymère en modifiant les méthodes et les paramètres électrochimiques. Cette versatilité permet d'adapter les propriétés du polymère aux besoins spécifiques de la plateforme électrochimique. Par exemple, pour le développement d'un aptacapteur sensible, il est souhaitable que la plateforme électrochimique présente une grande surface spécifique pour augmenter le nombre d'aptamères immobilisés à la surface.

Deux méthodes d'électropolymérisation ont été examinées, à savoir la chronoampérométrie et la voltamétrie cyclique, en utilisant trois types d'électrodes en carbone différents. Ces électrodes comprennent les électrodes en carbone vitreux OrigaTip d'Orignalys, les électrodes en carbone sérigraphié DropSens de Metrohm, ainsi que les électrodes en carbone sérigraphié fabriquées au sein de notre laboratoire. L'objectif de cette étude est d'optimiser la sensibilité électrochimique de la plateforme, en cherchant à identifier la meilleure configuration d'électrode pour nos besoins.

Le polypyrrole peut être synthétisé sous deux états. Scott *et al.*¹⁶⁰ ont montré que si la polymérisation du pyrrole a lieu en présence d'anions, comme les perchlorates, le pyrrole est oxydé pour former le polypyrrole oxydé (Figure 28). Cet état oxydé est hautement conducteur en raison de la présence de charges polaroniques, qui sont des charges positives itinérantes le long de la chaîne de polymère. Ces charges polaroniques sont responsables de la conductivité électrique du polypyrrole. Autrement, le polypyrrole sous forme réduite n'est pas conducteur.

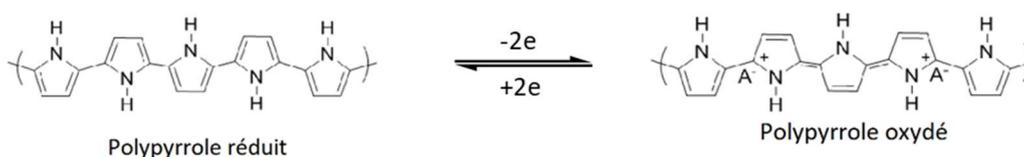


Figure 28 : Variation de structures chimiques du polypyrrole en fonction de son état d'oxydation, selon Dhawan *et al.*¹⁶¹

Dans un premier temps, le polypyrrole est déposé sur électrode en carbone vitreux (GCE) par voltamétrie cyclique en présence de perchlorate de lithium. Avec cette méthode, le potentiel évolue de manière cyclique entre -0,8 V et +0,8 V à la vitesse de 50 mV/s (voir Figure 29). Au cours de ce balayage de potentiel, on peut observer, et dès le premier cycle, l'oxydation du monomère pyrrole vers 0,8 V, qui selon Diaz *et al*,¹¹⁹ amorce le début de la polymérisation. Puis, la croissance du polymère apparaît avec l'augmentation des vagues d'oxydation et de réduction du polypyrrole lors des cycles de voltamétrie suivants.

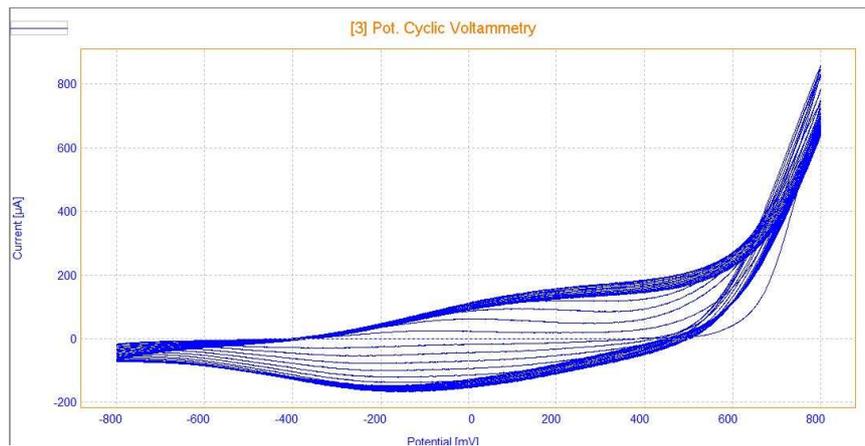


Figure 29 : Electropolymérisation du pyrrole sur une électrode de carbone vitreux, par voltamétrie cyclique, à la vitesse de balayage de 50 mV/s, dans une solution contenant 0,1 mol/L de pyrrole et 0,1 mol/L de perchlorate de lithium.

Dans l'objectif de comparer les effets de chaque méthode de polymérisation sur la structure du dépôt à la surface d'une électrode de carbone vitreux, les dépôts de polypyrrole ont été observés par microscopie électronique à balayage (MEB) (Figure 30).

Grâce à la voltamétrie cyclique, le polypyrrole se dépose de manière régulière et uniforme sur la surface d'une électrode en carbone vitreux (Figure 30A). En effet, à chaque cycle de voltamétrie, l'oxydation du monomère pyrrole amorce la création de nouvelles chaînes de polypyrrole. Cette électropolymérisation contrôlée a pour conséquence de générer une couche uniforme et homogène à la surface de l'électrode. La surface d'une électrode en carbone vitreux est polie avant d'être utilisée, elle est donc très lisse. Le dépôt de polypyrrole obtenue sur cette surface présente une faible rugosité.

En revanche, la méthode d'électropolymérisation par chrono-ampérométrie fixe le potentiel à 0,7 V, qui correspond au potentiel oxydant du monomère pyrrole. Cela crée en permanence de nouveaux radicaux réactifs, encourageant ainsi une croissance très rapide des chaînes de polymère existantes. Cette croissance continue forme des noyaux de polymère et conduit à la création de structures en relief à la surface, telles que les formations de type "chou-fleur" observées sur les images obtenues par microscopie électronique à balayage (MEB) de l'électrode en carbone vitreux (voir Figure 30B).

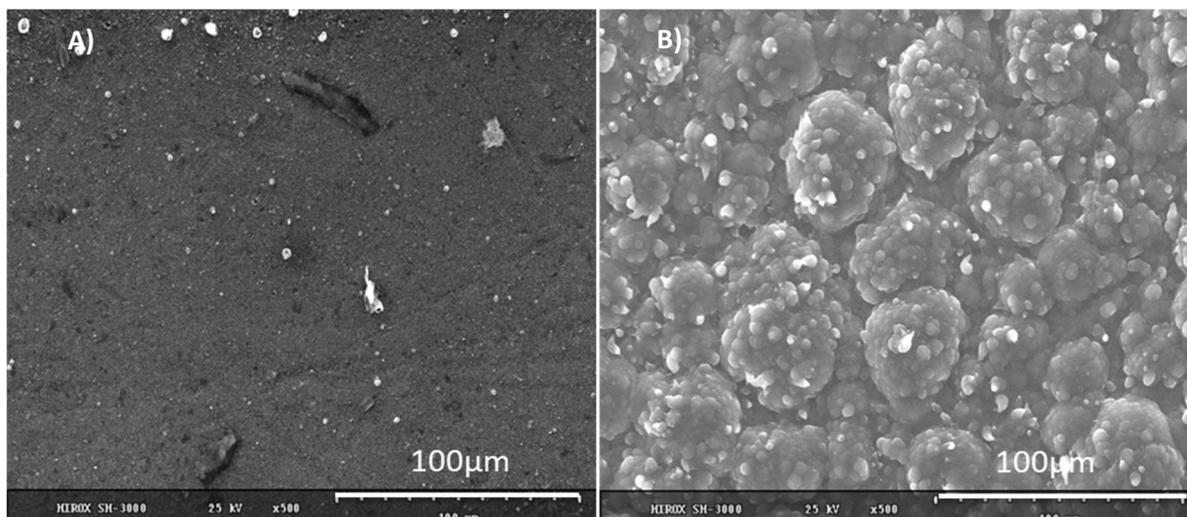


Figure 30 : Images de microscopie électronique à balayage d'une électrode de carbone vitreux recouvert de polypyrrole obtenues par A) voltamétrie cyclique 20 cycles de - 0.8 V à + 0.8 V et B) chronoampérométrie à potentiel 0.7 V pendant 30 min.

Pour le développement d'un capteur électrochimique, l'objectif est d'optimiser la surface de travail pour greffer un maximum d'aptamères. La chrono-ampérométrie permet de moduler plus aisément l'épaisseur du film en variant le temps de déposition comme montré sur les images de microscopie optique de la Figure 31. La Figure 31A montre un dépôt de polypyrrole sur une GCE après 5 minutes d'électrodéposition par chrono-ampérométrie. Sur cette image, on observe des parties très lisses et des structures en relief qui ressemblent à des nodules de 10 à 50 μm de diamètre environ. La Figure 31B montre un dépôt réalisé en utilisant la chrono-ampérométrie pendant 10 minutes. Les nodules semblent avoir continué à croître pour former des structures d'environ 100 μm de diamètre. Il semble qu'avec la méthode de dépôt par chrono-ampérométrie, des nodules de polymères commencent à se former dès le début de la polymérisation. Ils croissent ensuite en fusionnant pour former des structures de plus en plus grandes. Cette méthode électrochimique permet d'obtenir des dépôts structurés sur l'électrode, ce qui augmente la surface spécifique disponible pour le greffage des aptamères.

Il est important de noter que, pour les dépôts de 5 et 10 minutes, les surfaces des électrodes ne sont pas totalement recouvertes, et le polypyrrole ne semble pas être réparti de manière homogène à la surface. Par conséquent, il est nécessaire de prolonger le processus d'électrodéposition pendant 30 minutes pour obtenir un dépôt qui recouvre de manière homogène la totalité de la surface de l'électrode (Figure 30B).

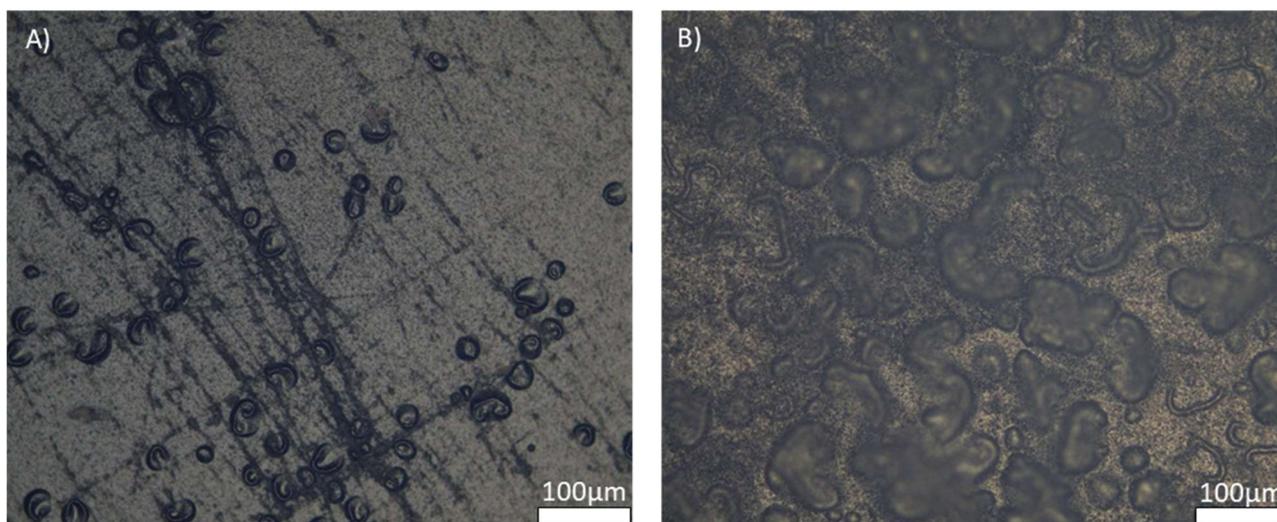


Figure 31 : Images de microscopie optique d'une électrode de carbone vitreux avec un dépôt de polypyrrole obtenu par chrono-ampérométrie pendant A) 5 min, B) 10 min.

Malgré les avantages procurés par les structures en forme de choux-fleurs, tels qu'une augmentation de la surface spécifique, il est essentiel de prendre en compte les effets de l'épaisseur du film. En effet, comme décrit par Bobacka *et al*¹⁶², un film de polypyrrole excessivement épais peut entraîner une augmentation indue du temps de réponse électrochimique comme montré dans la Figure 32. Ici, un fort courant capacitif est créé, réduisant la sensibilité de l'électrode. Cette situation découle du fait que plus le film est épais, plus la diffusion des espèces dopantes, tel que les ions perchlorate, à l'intérieur du film sera ralentie. Pour observer un signal électrochimique avec film de polypyrrole épais, il est nécessaire d'utiliser une concentration élevée en sonde redox, ce qui va induire une baisse de sensibilité du capteur. Par conséquent, il est préférable de travailler en vue de réduire l'épaisseur de ce film.

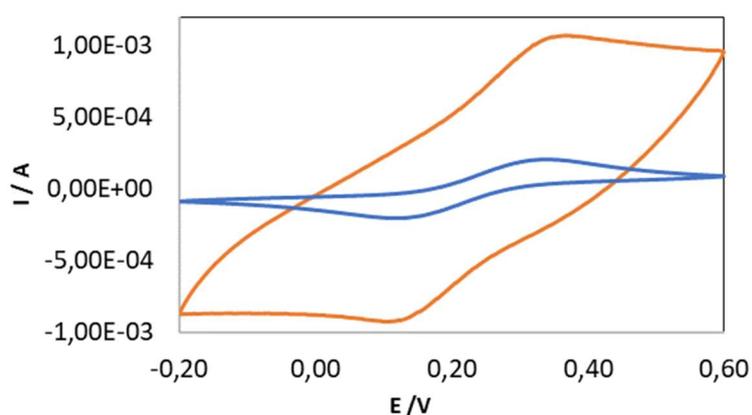


Figure 32 : Voltamogrammes obtenus par CV, avec une vitesse de balayage de 100 mV/s, dans une solution aqueuse contenant $[KCl]=0,1$ M et $[Fe^{2+/3+}]=10$ mM d'une électrode de carbone vitreux nue (en bleu) et recouverte de polypyrrole (en orange) obtenue par chrono-ampérométrie.

Pour atteindre cet objectif, une stratégie a été mise en place en remplaçant l'électrode en carbone vitreux par une électrode en carbone sérigraphié (SPCE). La Figure 33 montre une électrode SPCE recouverte de polypyrrole par voltamétrie cyclique. La rugosité observée sur cette électrode provient de l'encre de carbone utilisé pour la construire. Lorsque le pyrrole est électropolymérisé par voltamétrie cyclique à la surface de cette électrode, il génère un film extrêmement mince qui conserve la rugosité inhérente à l'électrode de carbone sérigraphié. Ce film mince doit permettre une diffusion des espèces beaucoup plus rapide. Plus le polypyrrole est épais, plus il crée du courant capacitif, qui vient masquer le signal donné par la sonde redox.

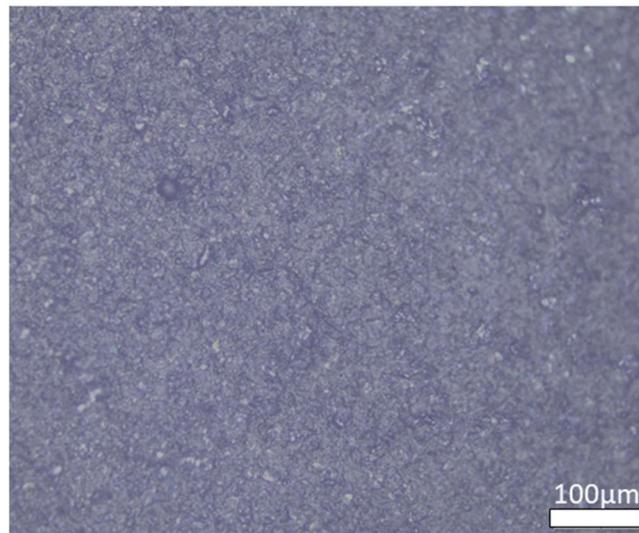


Figure 33 : Image de microscopie optique d'une électrode Ppy/SPCE

Le choix entre les électrodes de carbone sérigraphiées commerciales et celles fabriquées au laboratoire a été influencé par la reproductibilité des mesures. Lorsque l'on compare les derniers cycles de polymérisation de trois électrodes sérigraphiées fabriquées au laboratoire (Figure 34A) on observe une superposition des cycles presque parfaite. Cela suggère une reproductibilité adéquate des dépôts de polypyrrole. En revanche, sur les électrodes DropSens, les courbes de voltamétrie cyclique obtenues lors du dépôt de polypyrrole présentent des différences marquées les unes par rapport aux autres (Figure 34B). Les vagues de réduction du polypyrrole ne sont pas visibles sur les cycles de couleur bleue et verte, ce qui soulève des doutes quant à la présence du polymère. Contrairement aux attentes initiales, il s'est avéré que les électrodes fabriquées au laboratoire offraient une meilleure reproductibilité des dépôts de polypyrrole par rapport aux électrodes commerciales DropSens.

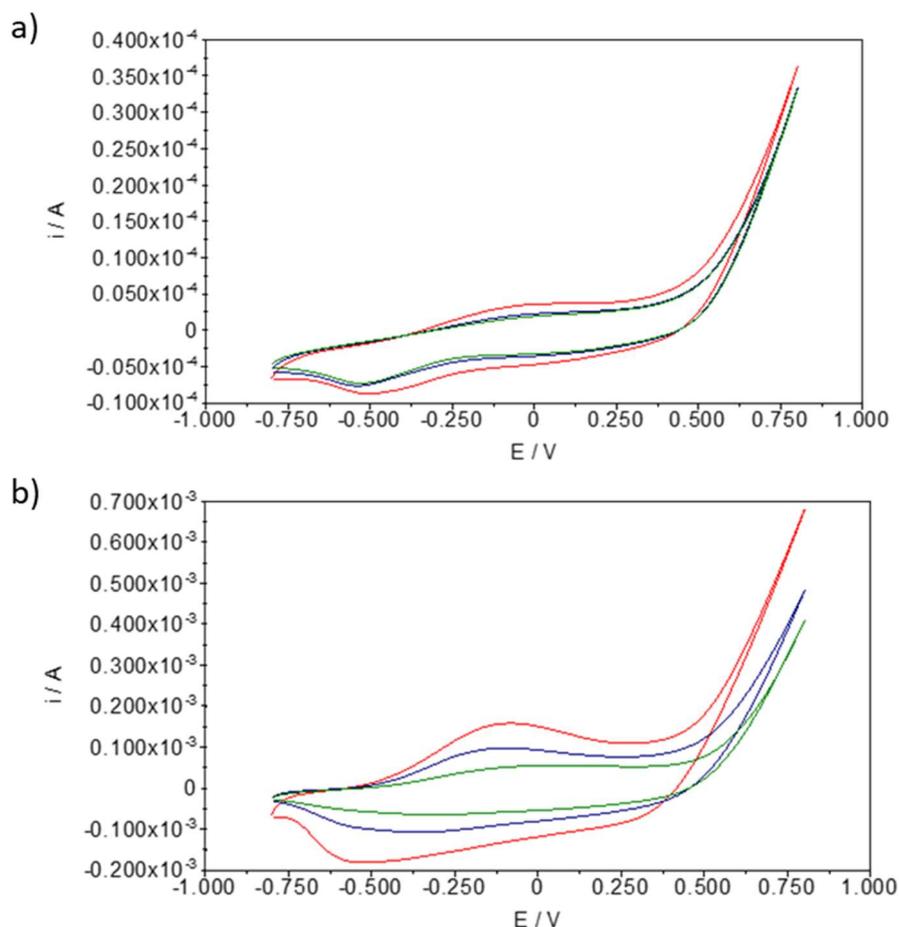


Figure 34 : Comparaison des derniers cycles de polymérisation montrant la reproductibilité sur trois dépôts de polypyrrole différents sur des électrodes A) SPCE B) DropSens.

Finalement, pour obtenir une électrode sensible et reproductible, la polymérisation par voltamétrie cyclique sur une électrode de carbone sérigraphié fabriquée au laboratoire présente le meilleur compromis. Grâce à sa rugosité, elle permet un dépôt fin du polypyrrole, nécessaire à la sensibilité électrochimique, qui présente une surface spécifique élevée pour augmenter l'immobilisation d'un maximum d'aptamères comme observé en microscopie optique (Figure 33).

3.1.2. Fonctionnalisation du polypyrrole et greffage d'aptamères

Le développement d'un aptacapteur repose sur le greffage covalent d'un aptamère spécifique. Bien que les aptamères pour les pesticides d'intérêt soient encore en développement, il était nécessaire de valider la plateforme électrochimique en utilisant un aptamère dont l'efficacité a déjà été démontrée. L'aptamère anti-thrombine a été choisi comme modèle dans la conception de cet aptacapteur en raison de sa description détaillée et de son efficacité bien documentée.^{163,164} Cet aptamère a été fonctionnalisé en position 5' avec une fonction amine et un espaceur composé de six carbones pour faciliter le greffage à la surface du copolymère, créant ainsi la séquence $H_2N-C_6H_{12}-GGTTGGTGTGGTTGG$.

Cependant, le polypyrrole ne permet pas de réaliser des liaisons covalentes directes avec les aptamères en raison de la faible réactivité de ses fonctions amines en surface. Par conséquent, il est impératif d'introduire des groupes fonctionnels dans le polymère qui permettront la liaison covalente des molécules de reconnaissance.

La copolymérisation par voie électrochimique du pyrrole avec des monomères pyrroliques comportant des fonctions carboxyliques a plusieurs fois été décrite et peut permettre d'obtenir les fonctions nécessaires au greffage covalent des aptamères.¹⁶⁵⁻¹⁶⁷ Les monomères choisis (Figure 35), l'acide pyrrole-1-propionique (Py1COOH) et l'acide 4-(3-pyrrolylbutyrique) (Py3COOH), possèdent des groupes carboxyliques fonctionnels au bout de chaînes carbonées qui peuvent permettre le greffage covalent d'aptamères en limitant l'encombrement stérique à la surface.

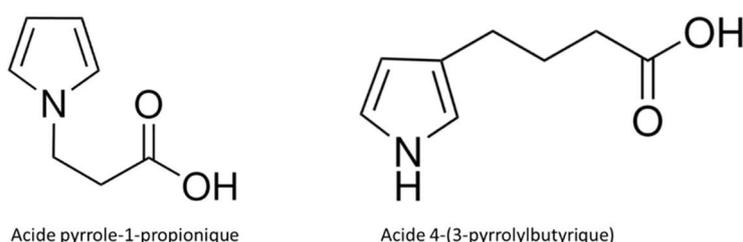


Figure 35 : Structures chimiques de l'acide pyrrole-1-propionique (Py1COOH) et de l'acide 4-(3-pyrrolylbutyrique) (Py3COOH).

Lorsque ces monomères pyrroliques fonctionnalisés sont incorporés dans la copolymérisation avec le pyrrole, ils créent des sites réactifs permettant d'immobiliser les aptamères. En effet, la formation d'une liaison amide entre les groupes carboxyliques du polymère et les fonctions amines des aptamères, peut assurer une connexion solide et durable entre les deux entités.

Les trois polymères, à savoir le polypyrrole, le poly(pyrrole-co-acide pyrrole-1-propionique) et le poly(pyrrole-co-acide pyrrole-3-butérique), ont été synthétisés par électropolymérisation par voltamétrie cyclique sur une électrode en carbone sérigraphié. Lorsque l'on compare le dernier cycle de ces électropolymérisations (Figure 36) pour chaque polymère et copolymères, des différences sont observées.

Les résultats montrent des variations significatives dans les vagues de réduction entre les différents polymères. Les potentiels de réduction sont observés à 0,5 V pour le polypyrrole, à 0,3 V pour le poly(Py-co-Py1COOH), et à 0,5 V également pour le poly(Py-co-Py3COOH). Cependant, il est important de noter que l'oxydation du poly(Py-co-Py3COOH) semble se produire plus rapidement que celle du polypyrrole. Ces variations dans les vagues de réduction suggèrent que l'incorporation des monomères fonctionnalisés modifie la structure du polymère résultant. De plus, il est intéressant de noter que la vague de réduction obtenue pour le copolymère P(Py-co-Py-1-COOH) est moins intense, ce qui suggère soit que le dépôt est moins électroactif, soit que le dépôt est plus mince à la surface de l'électrode.

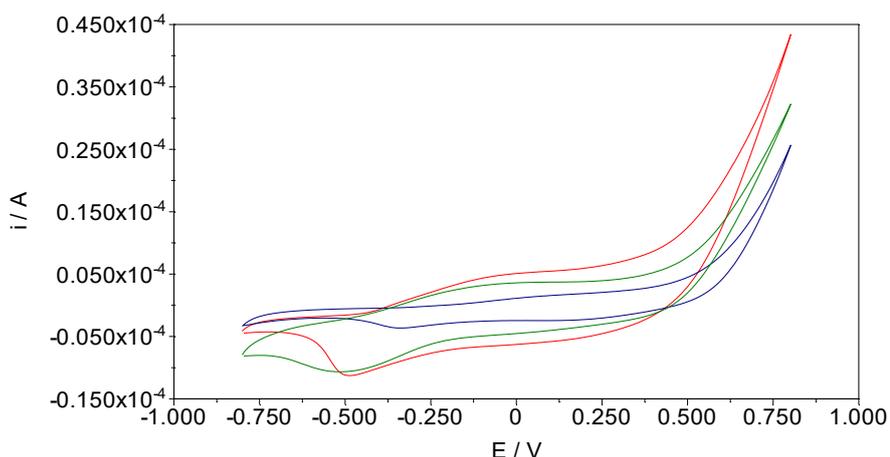


Figure 36 : Derniers cycles de l'électropolymérisation par voltamétrie cyclique du polypyrrole (vert), du poly(pyrrole-co-acide pyrrole-1- propionique) (bleu) et du poly(pyrrole-co-acide pyrrole-3-butannique) (rouge).

La Figure 37 présente les spectres obtenus par spectrométrie photoélectronique à rayons X (XPS), après la déconvolution des pics, réalisés pour caractériser la composition de surface des différentes électrodes. Les électrodes analysées comprennent une électrode Ppy/SPCE utilisée comme témoin, une électrode P(Py-co-Py1COOH)/SPCE pour prouver la copolymérisation par voie électrochimique, et enfin une électrode apta/P(Py-co-Py1COOH)/SPCE après le greffage de l'aptamère sur la surface de l'électrode. Le processus de greffage de l'aptamère implique l'incubation de l'aptamère sur une électrode P(Py-co-Py1COOH) dont la surface a été préalablement activée par le 1-éthyl-3-(3-diméthylaminopropyl) carbodiimide (EDC).

Cette analyse XPS permet de caractériser la composition de la surface des électrodes à chaque étape du processus à partir d'une électrode témoin, démontrant ainsi l'efficacité de la copolymérisation et du greffage de l'aptamère.

L'analyse comparative des spectres C1s révèle des structures communes, telles que la fonction amine caractéristique du polypyrrole avec un pic à environ 286,5 eV, ainsi que des liaisons C-C à environ 285 eV. Cependant, il est important de noter la présence de pics distincts qui varient d'un polymère à l'autre. Le pic à environ 288 eV est attribué aux groupes carbonyles, qui peuvent révéler l'oxydation du polypyrrole. Plus significativement, le copolymère montre un pic à environ 289 eV, correspondant aux carbones impliqués dans les fonctions acides carboxyliques. Cette observation confirme l'efficacité de l'électropolymérisation pour la copolymérisation du pyrrole avec l'acide pyrrole-1-propionique.

Après le greffage de l'aptamère, le pic attribuable à la fonction acide carboxylique est décalé de 289 eV à environ 288,5 eV, ce qui correspondrait aux carbones impliqués dans la liaison amide. Cette transformation, combinée à l'apparition d'un pic d'énergie du phosphore, qui est spécifique à l'aptamère, confirme la réussite du greffage covalent entre l'aptamère et la surface de l'électrode. L'immobilisation de l'aptamère par la liaison amide est essentielle pour la reconnaissance sélective et la détection des cibles d'intérêt.

L'analyse des spectres N1s est également instructive. Trois pics de déconvolution sont obtenus. Le pic à environ 398 eV correspond à la fonction imine, le pic à environ 400 eV correspond à la fonction amine du polypyrrole, et celui à environ 402,5 eV correspond à la C-N⁺ et indique le dopage du polymère par les ions perchlorates. En comparant l'intensité de ce dernier pic pour les différents spectres, on peut noter que le dopage du copolymère est moins important que celui du polypyrrole. Il semble que l'acide pyrrole-1-propionique limite le dopage par les ions perchlorates, ce qui suggère que le poly(pyrrole-co-acide pyrrole-1-propionique) est moins électroactif que le polypyrrole, comme observé dans la Figure 36.

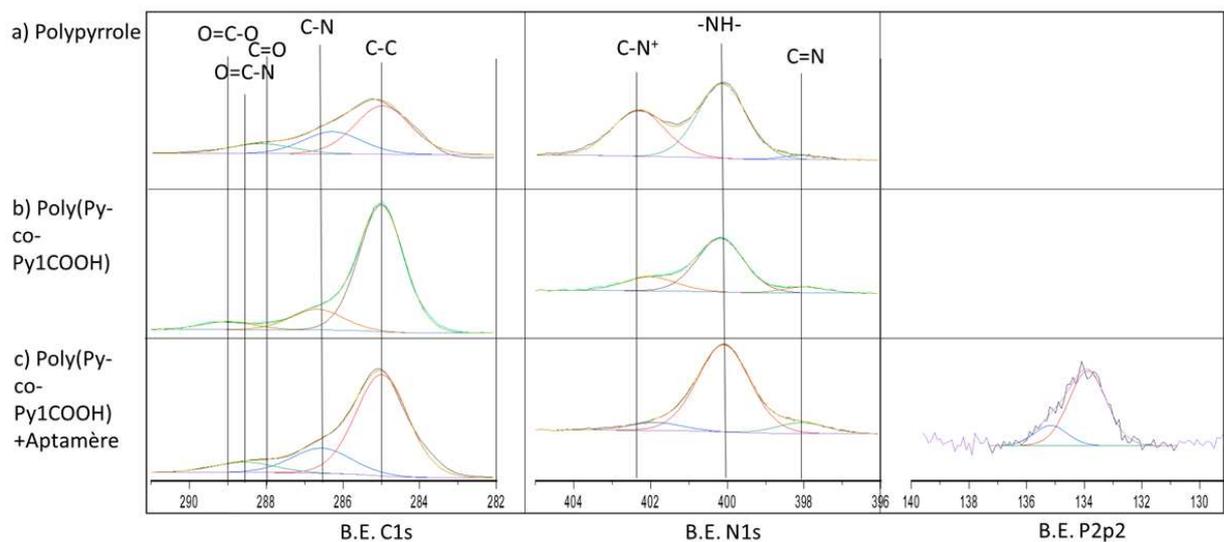


Figure 37 : Spectres XPS des énergies de liaisons C1s N1s et P2p d'électrodes de carbones sériographiés recouvertes de a) polypyrrole b) poly(pyrrole-co-acide pyrrole-1-propionique) et c) poly(pyrrole-co-acide pyrrole-1-propionique) après greffage d'aptamère.

En résumé, le développement de l'aptacapteur repose sur le greffage covalent d'aptamères spécifiques, rendu possible grâce à l'introduction stratégique de fonctions acide carboxyliques dans le polymère de polypyrrole. L'incorporation de l'acide pyrrole-1-propionique au cours de l'électropolymérisation du polypyrrole a permis de créer des sites réactifs capables de former des liaisons covalentes avec l'aptamère anti-thrombine, comme en témoignent les analyses spectroscopiques qui ont mis en évidence la formation de liaisons amides spécifiques entre la surface du polymère et les aptamères.

3.1.3. Sensibilité et stabilité électrochimique de la plateforme

La détection électrochimique des polluants dans le cas de notre aptacapteur se déroule en deux étapes essentielles.

La première implique la capture de la cible, soit un polluant spécifique, ou soit dans le cas de cette étude témoin, la thrombine, par les aptamères. Cela se produit lors de l'incubation de la plateforme électrochimique, qui comporte les aptamères greffés, dans une solution contenant l'analyte, c'est-à-dire le polluant à détecter.

La deuxième étape est la mesure électrochimique. La voltamétrie à impulsion différentielle a été choisie comme méthode électrochimique pour la détection car elle est très sensible et reproductible, ce qui en fait une technique idéale. Elle se déroule en présence d'une sonde redox externe car l'analyte n'est pas électroactif. Une sonde redox est une espèce électrochimique qui subit une réaction d'oxydation ou de réduction, générant ainsi un courant électrique mesurable par la plateforme électrochimique. Dans le cas de l'aptacapteur, la capture de la cible par les aptamères modifie la conformation de ces derniers. Cette modification de conformation peut affecter l'interaction de la sonde redox avec la surface du capteur. La variation d'intensité de courant générée par la sonde redox en réponse à cette interaction modifiée avec les aptamères peut être corrélée à la concentration de la cible dans la solution.

En utilisant cette relation entre la concentration de la cible et la variation d'intensité de courant, il est possible de quantifier la quantité d'analyte présent dans la solution, ce qui permet de détecter et de quantifier la présence de la cible visée par l'aptamère.

Pour assurer une sensibilité optimale du capteur, il est crucial que l'interaction et le transfert d'électrons entre la sonde et la surface du capteur soient optimisés. Pour cela, différentes sondes électrochimiques, comme le couple hexacyanoferrate (III) de potassium hexacyanoferrate (II) de potassium ($[\text{FeIII}(\text{CN})_6]^{3-}/[\text{FeII}(\text{CN})_6]^{4-}$) ou la sonde de chlorure d'hexaaminoruthénium ($[\text{Ru}^{\text{III}}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$), ont été utilisées pour caractériser le comportement des capteurs.

Il est important de rappeler que le polypyrrole et les copolymères qui en sont dérivés, sont polymérisés en présence de perchlorate de lithium, ce qui les maintient dans un état oxydé, caractérisé par une structure polaronique (Figure 28). C'est-à-dire que le polymère comporte de nombreuses charges positives à sa surface. La sonde redox hexacyanoferrate de potassium est choisie dans un premier temps car elle possède une charge globale négative. Les interactions ioniques entre les charges positives à la surface du polymère et les charges négatives de la sonde redox à base de fer facilitent l'interaction entre la sonde et la surface du polymère. En effet, cela permet non seulement une meilleure adsorption de la sonde redox sur la surface du polymère, mais également une meilleure transmission des signaux électrochimiques générés lors des réactions d'oxydation et de réduction. Cette interaction ionique contribue ainsi à une réponse électrochimique plus sensible.

L'analyse par voltamétrie à impulsion différentielle montre un potentiel d'oxydation de l'ion hexacyanoferrate autour de 0,2 V. Par conséquent, le potentiel est balayé de 0 à 0,4 V, avec une vitesse de 5 mV/s, ce qui permet d'observer un pic de courant lié à l'oxydation de la sonde redox, comme illustré dans la Figure 38.

Lors de la première mesure effectuée immédiatement après le greffage de l'aptamère à t_0 , la hauteur du pic a atteint une intensité maximale de $3,92 \cdot 10^{-4}$ A. Cette réponse électrochimique initiale du capteur est donc satisfaisante. Comme prévu, le polypyrrole a démontré une bonne sensibilité à l'égard de la sonde redox hexacyanoferrate de potassium.

Cependant, pour évaluer la stabilité du capteur avant d'introduire la thrombine, nous avons effectué des mesures répétées. Ces répétitions ont révélé une instabilité du signal. En effet, après 10 répétitions, le signal est descendu à une intensité de $3,11 \cdot 10^{-4}$ A, ce qui représente une diminution de 20% par rapport à la valeur initiale. La diminution du signal s'est poursuivie, atteignant une hauteur de $0,7 \cdot 10^{-4}$ A après 20 répétitions, soit une perte de signal de 82%, et descendant à $0,42 \cdot 10^{-4}$ A après 30 répétitions, ce qui représente une perte de signal de 90%.

Ces résultats mettent en évidence une dégradation progressive de la réponse du capteur au fil des mesures répétées, ce qui implique qu'après quelques mesures, le capteur est inutilisable.

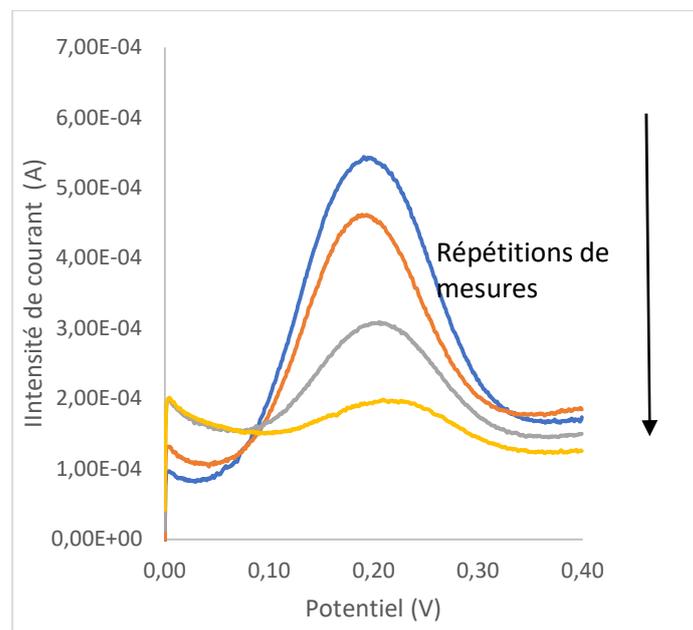


Figure 38 : Voltamogrammes à impulsions différentielles, obtenus à la vitesse de balayage de 5 mV/s, d'une électrode SPCE/Polypyrrole dans une solution $[KCl] = 0,1$ mol/L et $[[FeIII(CN)_6]^{3-}]/[FeII(CN)_6]^{4-}] = 1$ mM montrant l'instabilité du capteur lors de la répétition des mesures. Ici sont superposées les 1^{ère}, 10^{ème}, 20^{ème} et 30^{ème} répétitions.

La perte de signal observée lors de ces mesures peut être attribuée à deux phénomènes principaux.

Tout d'abord, la suroxydation irréversible du polypyrrole qui se produit à chaque mesure et a tendance à rendre le polymère non conducteur. La Figure 39 décrit le mécanisme de suroxydation irréversible tel que vu par Li et Qian¹⁶⁸. Elle consiste à oxyder le polypyrrole au-delà de son état standard d'oxydation de manière permanente et irréversible. Le polymère perd alors ses propriétés conductrices et ne peut pas être restauré à son état précédent. Ce phénomène peut subvenir dès 0,4 V, ce qui veut dire, que lors de la voltamétrie à impulsion différentielle, lorsque le potentiel atteint 0,4 V, une partie du polymère peut se suroxyder. La répétition de cette mesure altère la conductivité du film.

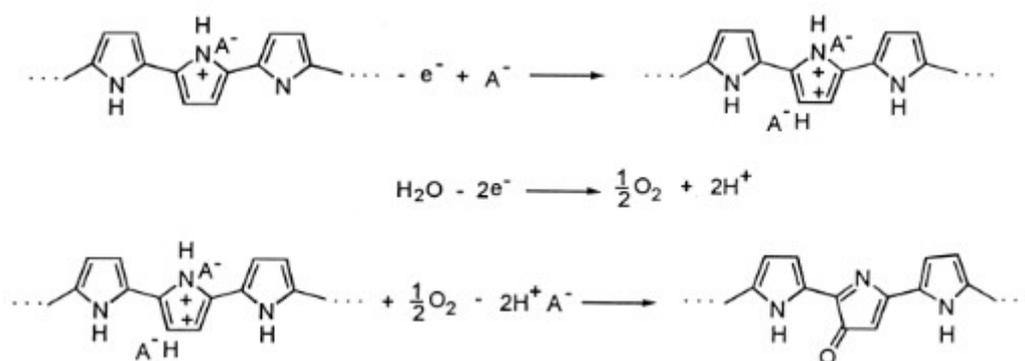


Figure 39 : Mécanisme de suroxydation irréversible du polypyrrole tel que vu par Li et Qian¹⁶⁸

Le deuxième phénomène contribuant à la perte de signal est le dédopage du polypyrrole. Wu *et al*¹⁶⁹ ont décrit le phénomène de dédopage par la migration d'anions, dans notre cas les ions perchlorates, en dehors du film, dans la solution ou par la migration de cations de la solution vers le film. Le polymère qui été maintenu dans un état polaronique par les ions perchlorate redevient neutre et perd sa conductivité électrique, ce qui entraîne une diminution du signal électrochimique mesuré.

Il est également essentiel de noter que la suroxydation du polymère accélère le processus de dédopage. Ainsi, la suroxydation irréversible est le problème majeur à éviter pour obtenir une plateforme stable lors des mesures par voltamétrie à impulsion différentielle.

Pour éviter ces phénomènes, il est impératif d'utiliser une sonde redox présentant un potentiel d'oxydation plus bas. Le chlorure d'hexaaminoruthénium s'oxyde à environ -0,2 V. En optant pour cette sonde au potentiel d'oxydation plus faible, la plage de balayage du potentiel électrochimique peut être réduite, balayant alors de -0,6 V à +0,1 V. Cette adaptation permet de garantir que le potentiel maximal atteint pendant la mesure électrochimique reste non oxydant pour le polymère. Par conséquent, cela contribue de manière significative à minimiser les phénomènes indésirables tels que la suroxydation et le dédopage du polymère.

Cependant, lors de l'application de la voltamétrie à impulsion différentielle dans une solution contenant la sonde à base de ruthénium, le signal obtenu s'avère insatisfaisant (Figure 40). La ligne de base attribuable à ce pic est perturbée par l'oxydation réversible du polypyrrole ou des copolymères dérivés, qui intervient au même potentiel. Le courant résultant de l'oxydation du film masque ainsi le courant généré par la sonde, limitant la détection efficace.

De plus, la hauteur du pic est relativement faible, environ 1 μA , ce qui laisse transparaître une mauvaise sensibilité du polypyrrole à l'hexaaminoruthénium. Cet ion à base de ruthénium possède une charge globale positive. À l'inverse de la sonde à base de fer, les interactions ioniques entre les charges positives du polypyrrole et celles de l'hexaaminoruthénium diminuent l'adsorption de cette sonde à la surface. Le transfert d'électrons est rendu plus difficile.

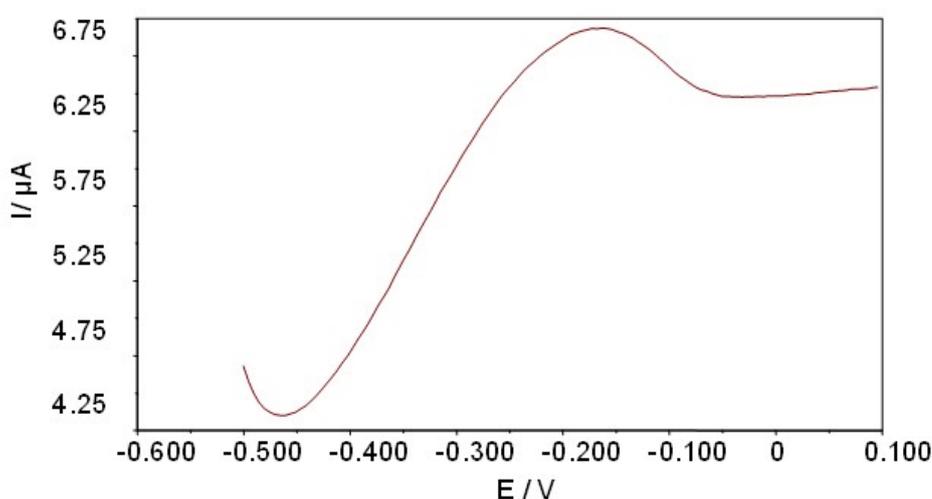


Figure 40 : Voltamétrie à impulsion différentielle d'une électrode SPCE/polypyrrole dans une solution $[\text{KCl}] = 0,1 \text{ mol/L}$ et $[[\text{RuIII}(\text{NH}_3)_6]^{3+}] = 0,1 \text{ mmol/L}$ obtenu pour une vitesse de balayage de 5 mV/s.

Pour améliorer la sensibilité de la plateforme électrochimique envers l'hexaaminoruthénium, il est nécessaire de retirer les charges positives du film de polymères. Pour ce faire, nous avons déjà décrit que la suroxydation irréversible permet de passer d'une forme polaronique du polypyrrole à une forme neutre.

Le polypyrrole est suroxydé par voltamétrie cyclique (Figure 41). Lors du balayage de potentiel, allant de -0,8 V à +1,5 V, le premier cycle montre une vague d'oxydation très importante vers 1,2 V. Cette vague d'oxydation correspond à la réaction de suroxydation du polypyrrole (Figure 39). Lors du cycle suivant, la vague d'oxydation survient à un potentiel plus faible, à 0,7 V. Cette modification dans le potentiel d'oxydation reflète les changements de structure du polymère. Au troisième cycle, les courants générés par l'oxydation ou la réduction du polymère sont bien moins importants.

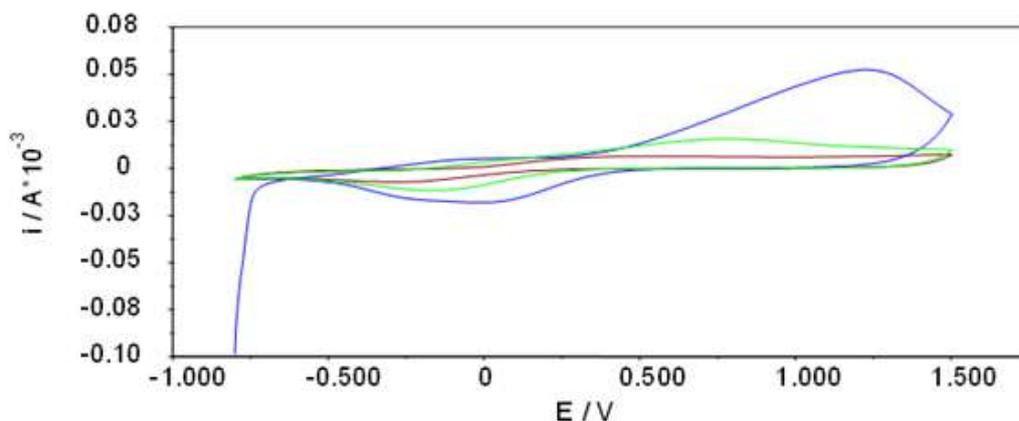


Figure 41 : Suroxydation par voltamétrie cyclique, avec une vitesse de balayage de 100 mV/s, dans un tampon acide acétique/acétate de sodium à pH=4, du poly(pyrrole-co-pyrrole-1-COOH) sur une électrode SPCE/P(Py-co-Py1COOH), cycle n°1 en bleu, n°2 en vert et n°3 en rouge.

L'objectif de cette suroxydation est de retirer les charges positives présentes dans le film mais aussi d'obtenir un film qui est électroinactif au potentiel d'oxydation de la sonde redox, c'est-à-dire -0,2 V. En comparant le troisième cycle de suroxydation des trois polymères étudiés dans la Figure 42, c'est dire, le polypyrrole, le poly(pyrrole-co-pyrrole-1-propionique acide) et le poly(pyrrole-co-pyrrole-3-butyrrique acide) des différences significatives sont observées. Dans un premier temps, il est notable que seul le poly(pyrrole-co-acide pyrrole-1-propionique) ne présente plus d'oxydation aux environs de -0,2 V. En comparaison, une très forte électroactivité intervient encore sur le polypyrrole et sur le poly(pyrrole-co-acide pyrrole-3-butyrrique).

La suroxydation du copolymère, poly(pyrrole-co-acide pyrrole-1-propionique), apparait plus efficace.

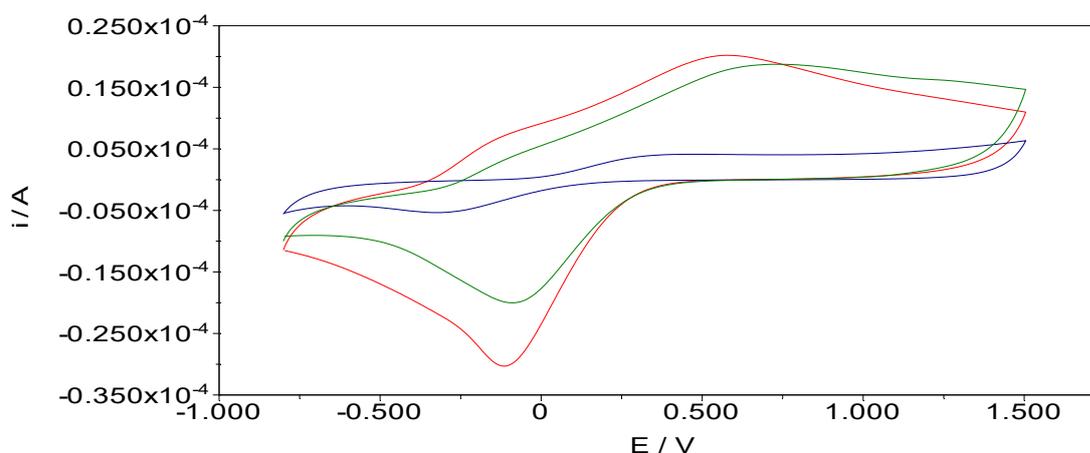


Figure 42 : 3^{ème} cycles obtenus par CV lors de la suroxydation du polypyrrole (en vert), du poly(pyrrole-co-acide pyrrole-1-propionique) (en bleu) et du poly(pyrrole-co-acide pyrrole-3-butyrrique) (en rouge).

Dans la Figure 43, nous pouvons examiner les mesures de DPV effectuées en présence de la sonde $[RuIII(NH_3)_6]^{3+}$ sur les trois polymères sur-oxydés différents. Il est intéressant de noter que le polypyrrole ainsi que le poly(pyrrole-co-acide pyrrole-3-butyrique) ne révèlent pas d'oxydation de la sonde lors du balayage de potentiel. Malgré la suroxydation subie, ces deux polymères demeurent électroactifs dans cette plage de potentiel et continuent à masquer le signal émis par la sonde.

En contraste, le poly(pyrrole-co-acide pyrrole-1-propionique), qui se révèle électro-inactif dans cette plage de potentiel spécifique, permet d'observer l'oxydation attendue de l'hexaaminoruthénium. La hauteur du pic d'oxydation atteint environ $4 \mu A$, démontrant ainsi l'efficacité de la suroxydation en augmentant la sensibilité du film vis-à-vis de la sonde.

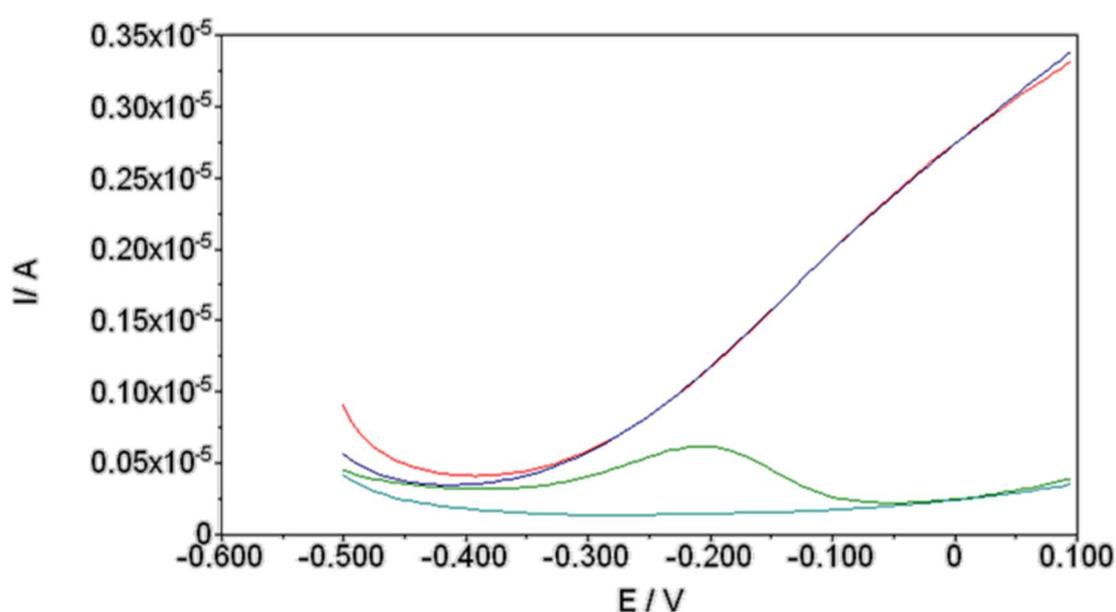


Figure 43 : Voltamogrammes à impulsion différentielle, avec une vitesse de balayage de 5 mV/s, dans une solution $[KCl]=0,1\text{mol/L}$ et $[Ru^{2+/3+}] = 0,1\text{mmol/L}$, sur les électrodes : SPCE/Ppy en rouge ; SPCE/P(Py-co-Py3COOH) en bleu et SPCE/P(Py-co-Py1COOH) en vert.

La différence d'électroactivité entre les deux copolymères semble découler des variations structurales. En effet, comme le suggère la Figure 44a, la présence d'une chaîne carbonée sur le carbone n°3 de l'acide 4-(3-pyrrolylbutyrique) semble entraver la suroxydation potentielle du copolymère à cette position. Par conséquent, ce monomère permet au film de disperser efficacement les charges accumulées lors des mesures électrochimiques. La hauteur des vagues d'oxydoréduction plus élevée observée sur ce copolymère par rapport à celle du polypyrrole suggère même que la copolymérisation contribue partiellement à protéger le polypyrrole de la suroxydation.

Le capteur final, c'est-à-dire le Apta/P(Py-co-Py1COOH)/SPCE après suroxydation, est placé dans la solution d'interaction avec l'aptamère anti-thrombine pour étudier la stabilité du capteur. La Figure 45 montre l'évolution du signal électrochimique en fonction du temps d'incubation dans la solution d'interaction.

Dans une première phase, on observe des fluctuations dans l'aire des pics obtenus. Ces variations sont attribuées au processus de dopage du copolymère par les ions présents dans la solution. Après 8h d'incubation, les mesures se stabilisent (Figure 45). Une fois les mesures stabilisées, la valeur moyenne de l'aire du pic d'oxydation observée est de $1,90 \cdot 10^{-7}$ A.V avec un écart type de $2 \cdot 10^{-9}$ A.V soit 1%.

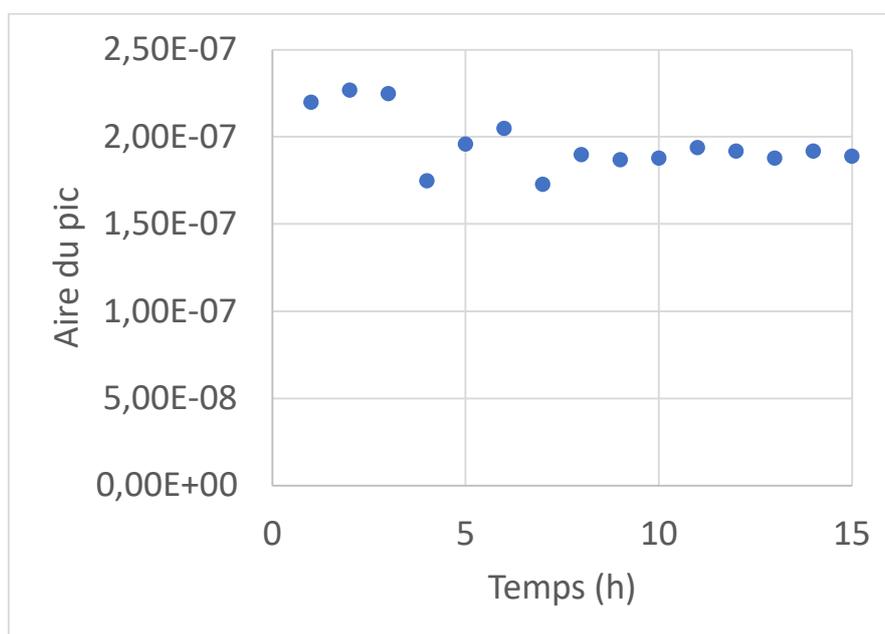


Figure 45 : Aire du pic obtenue par DPV sur un capteur Apta/P(Py-co-Py1COOH)/SPCE après suroxydation en fonction du temps d'incubation.

Il est crucial de noter que ce phénomène de dopage et de dédopage de la plateforme peut complexifier considérablement l'utilisation du capteur dans des conditions de terrain. Dans cette étude, une approche est adoptée pour minimiser cet effet : après la suroxydation de la plateforme électrochimique, le capteur est conservé dans la solution d'interaction avec l'aptamère anti-thrombine, et les mesures sont effectuées dans cette même solution. Cette démarche vise à éviter les fluctuations de signal générées par le processus de dopage, assurant ainsi des mesures plus stables et fiables.

En résumé, comme schématisé dans la Figure 46, le copolymère poly(pyrrole-co-acide pyrrole-1-propionique) est électrodéposé par voltamétrie cyclique sur une électrode de carbone sérigraphiée pour fonctionnaliser cette dernière. Après le dépôt du film fin de copolymère, les aptamères sont greffés à la surface par une liaison amide. Cette liaison covalente assure un greffage solide et durable à la surface. Le film est ensuite suroxydé pour obtenir la sensibilité nécessaire à la sonde redox, le chlorure d'hexaaminoruthénium. Une fois le capteur terminé, est stocké dans la solution tampon développé pour optimiser l'interaction de l'aptamère, afin de limiter les effets de dopage et dédopage du polymère.

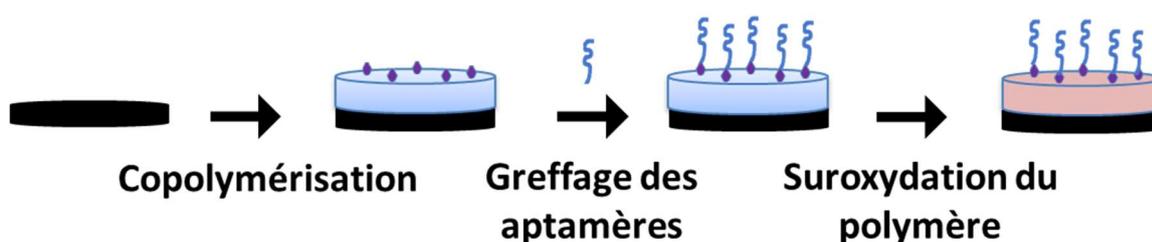


Figure 46 : Résumé de la construction de l'aptacapteur électrochimique.

3.1.4. Détection électrochimique

3.1.4.1. Détection de la thrombine

La plateforme électrochimique a été développée avec le greffage d'un aptamère modèle, anti-thrombine. Cette aptamère a été choisi car il est largement décrit dans la littérature et permet de prouver l'efficacité de la plateforme électrochimique pour la conception d'un aptacapteur.^{163,164}

L'aptacapteur anti-thrombine, est incubé dans des solutions contenant différentes concentrations en thrombine. La variation du signal électrochimique a été observée après chaque incubation du capteur (Figure 47). Les résultats montrent que l'aptacapteur présente une gamme de détection linéaire allant de 0,1 $\mu\text{mol/L}$ à 0,5 $\mu\text{mol/L}$.

Pour évaluer la limite de détection (LD) et la limite de quantification (LQ), on peut utiliser les équations suivantes :

$$L_D = m_{\text{blanc}} + 3 \sigma_{\text{blanc}} \quad \text{Équation 2}$$

$$L_Q = m_{\text{blanc}} + 10 \sigma_{\text{blanc}} \quad \text{Équation 3}$$

Avec m_{blanc} la moyenne et σ_{blanc} l'écart type des signaux pour $[\text{Thrombine}] = 0 \text{ mol/L}$.

Or, dans la Figure 45 on a pu voir qu'après 8 h d'incubation dans la solution tampon d'interaction de l'aptamère, le signal présente une erreur de mesure d'environ 1%. On obtient la limite de détection pour une variation de signal de 3% et la limite de quantification pour une variation de signal de 10%.

Le signal de l'aptacapteur avant détection est de $1,84 \cdot 10^{-7}$ A.V, après incubation dans une solution contenant $0,1 \mu\text{mol/L}$ de thrombine le signal atteint $1,99 \cdot 10^{-7}$ A.V. Le signal a donc augmenté d'environ 8%. Ainsi, cette différence de mesures est donc supérieure à la limite de détection, cette concentration s'approche même de la limite de quantification de cet aptacapteur.

La variation maximale de signal a été obtenue pour $[\text{Thrombine}] = 0,5 \mu\text{mol/L}$, l'aire du pic observé est de $2,40 \cdot 10^{-7}$ A.V, ce qui correspond donc à une différence de signal de 30% par rapport au signal initial. Cette variation de signal semble acceptable et peut permettre la quantification sensible de la thrombine dans cette gamme de concentration.

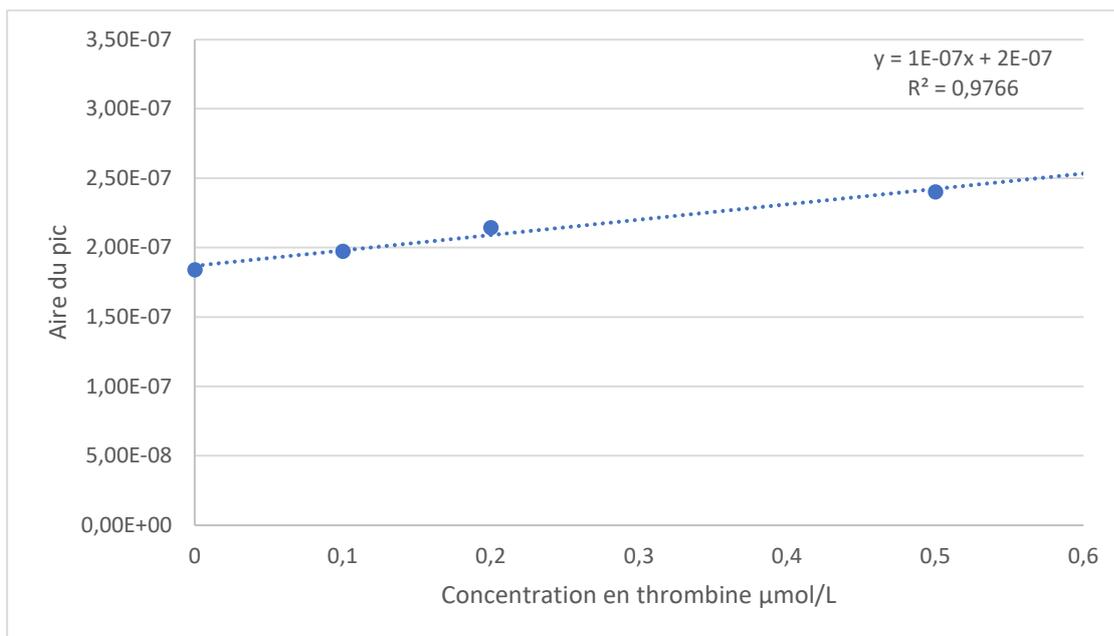


Figure 47 : Aire du pic d'oxydation de la sonde chlorure d'hexaaminoruthénium sur la surface de l'aptacapteur en fonction de la concentration en thrombine.

Cette gamme de détection semble plutôt élevée en comparaison de ce qui est proposé dans la littérature¹⁷⁰, mais la simplicité de construction du capteur est un avantage certain pour le développement d'un capteur de terrain. Ces résultats de détection de thrombine valide le bon fonctionnement de la plateforme électrochimique.

3.1.4.2. Détection du thiabendazole

Une fois la plateforme validée, il est possible de greffer les aptamères développés spécialement pour la détection de pesticide. Notamment l'aptamère anti-thiabendazole, appelé BOL009, dont la séquence développée par Novaptech est confidentielle. Le thiabendazole est un fongicide qui présente une forte toxicité pour la faune aquatique et pour les mammifères.

L'aptacapteur a été incubé dans le tampon d'interaction de l'aptamère BOL009, et des mesures DPV ont été réalisées toutes les heures pour étudier sa stabilité. La Figure 48 reporte les variations de l'aire de la vague d'oxydation en fonction du temps d'incubation dans le tampon. Le signal semble augmenter dans un premier temps, jusqu'à 4h d'incubation, pour ensuite se stabiliser. La valeur moyenne de l'aire du pic une fois stabilisé est mesurée à $1,72 \cdot 10^{-7}$ A.V avec un écart type de $6,9 \cdot 10^{-9}$ A.V soit environ 4% de variation du signal.

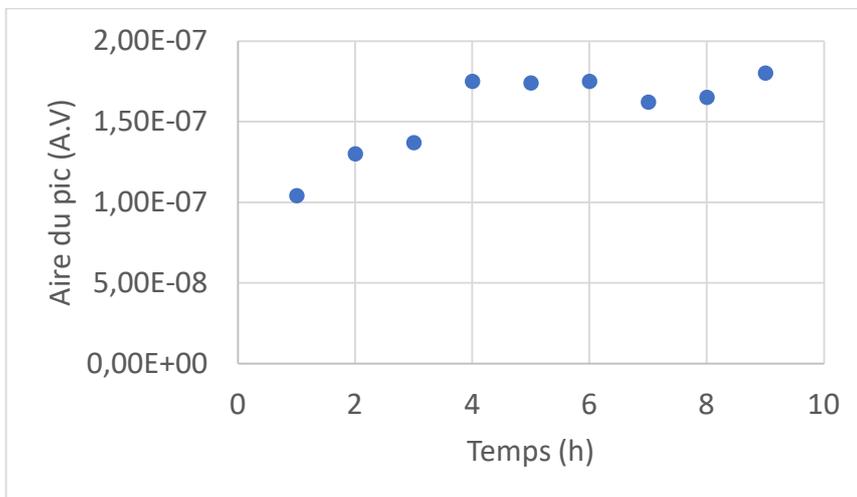


Figure 48 : Variation de l'aire de la vague d'oxydation lorsque le capteur est incubé dans le tampon d'interaction de l'aptamère BOL009 au cours du temps.

La L_D de cet aptacapteur a été déterminée pour une variation de signal de 12%, tandis que la L_Q a été calculée pour une variation de signal de 40%. La Figure 49 montre les variations de signal lorsque l'aptacapteur est incubé dans des solutions contenant des concentrations de thiabendazole allant de 0,5 $\mu\text{mol/L}$ à 1 mmol/L . la variation maximale du signal a été observée pour $[\text{thiabendazole}] = 0,5 \mu\text{mol/L}$, avec une variation de signal de 23%, ce qui est significatif pour la détection du thiabendazole.

Cependant, les concentrations de thrombine équivalant à 1 $\mu\text{mol/L}$ et 1 mmol/L ont donné des variations de signal de 17% et 8%, respectivement. Ces variations de signal sont inférieures à la variation attribuable à la L_Q . Ces variations de signal ne permettent donc pas de quantifier le thiabendazole.

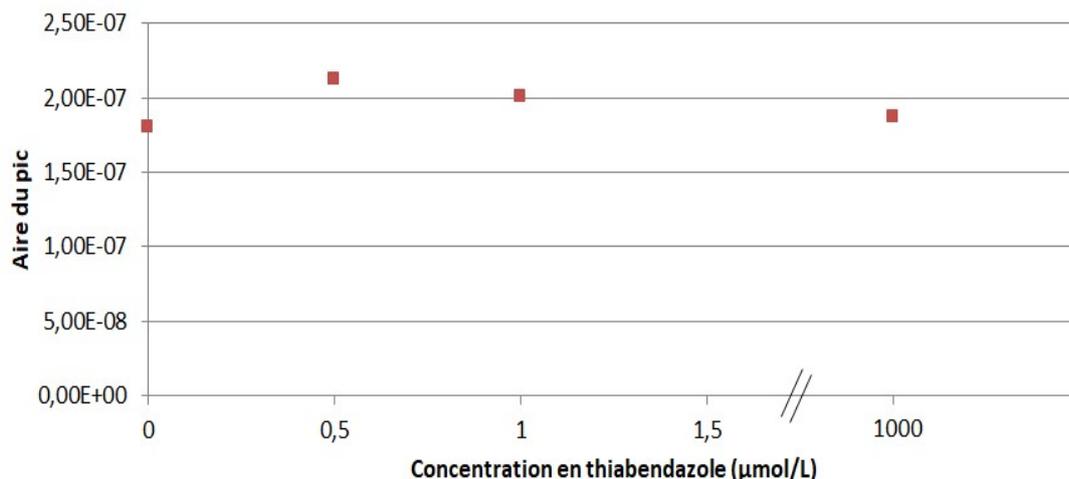


Figure 49 : Aire de la vague d'oxydation de la sonde chlorure d'haxaaminoruthénium sur la surface de l'aptacapteur en fonction de la concentration en thiabendazole.

L'aptacapteur se révèle inefficace contre ce pesticide. En effet, la thrombine est une protéine, c'est-à-dire, une macromolécule de masse molaire 37000g/mol, et présente donc un encombrement bien plus important que le thiabendazole qui possède une masse molaire presque 200 fois plus petite (201,2g/mol) comme les différents pesticides mis en jeu dans cette étude. L'hypothèse de départ est que les aptamères, lors de la capture de leurs cibles, changent de conformation et viennent passiver ou activer la plateforme électrochimique en faisant varier l'encombrement à la surface de celle-ci. Cependant, à la vue de la différence de masse molaire entre un aptamère comme celui du thiabendazole, c'est-à-dire, 25468,6 g/mol et celle de sa molécule cible, il est facilement envisageable que le changement de conformation reste minime et n'est pas suffisamment important pour être transduit en électrochimie.

3.1.5. Conclusions

Cette étude a porté sur la création d'un aptacapteur électrochimique en utilisant un polymère spécifique, le poly(pyrrole-co-acide pyrrole-1-propionique), obtenu par électro-copolymérisation. L'électrodéposition de ce polymère sur une électrode en carbone sérigraphiée a permis de conserver la rugosité de l'électrode, assurant ainsi une surface spécifique élevée pour le greffage d'aptamères. L'utilisation de la XPS a confirmé la copolymérisation et l'immobilisation covalente des aptamères sur la surface du capteur par le biais d'une liaison amide.

La sensibilité du capteur a été améliorée grâce à une suroxydation irréversible du polymère et à l'utilisation d'une sonde redox ($[\text{RuIII}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$). Cependant, des phénomènes de dopage du polymère ont été observés, ce qui peut perturber la sensibilité du capteur. Il a été nécessaire d'incuber le capteur dans la matrice d'analyse pendant plusieurs heures pour équilibrer ces phénomènes de dopage et de dédopage du copolymère. Une fois à l'équilibre, le capteur a montré des résultats stables pendant au moins 9 heures.

L'étude a testé deux aptamères, l'un contre la thrombine et l'autre contre le thiabendazole. L'aptacapteur contre la thrombine a donné des résultats encourageants, avec une gamme de quantification linéaire de 0,1 à 0,5 $\mu\text{mol/L}$ et une limite de détection de 0,02 $\mu\text{mol/L}$. Cependant, la quantification du thiabendazole s'est révélée moins efficace en raison de problèmes de reproductibilité de la mesure et d'une sensibilité insuffisante. Des études plus approfondies sont nécessaires pour améliorer ce capteur.

Enfin, l'étude a montré qu'il n'est pas nécessaire d'utiliser un matériau conducteur pour fonctionnaliser l'électrode en carbone, car la suroxydation du polypyrrole entraîne une forte diminution de sa conductivité.¹⁶⁸ Par conséquent, une approche différente est envisagée, des fibres auto-assemblées de peptide non conductrices sont déposées pour essayer de fonctionnaliser la surface d'une électrode de carbone sérigraphiée.

3.2. Auto-assemblage de peptides pour le développement d'un aptacapteur

Une approche alternative pour la modification des électrodes de carbone repose sur l'utilisation de peptides. Certains de ces peptides se distinguent par leur capacité unique à s'auto-assembler. Les peptides amphiphiles, en particulier, se composent généralement d'une séquence peptidique qui comporte à la fois une partie hydrophile et une partie hydrophobe. La section hydrophile renferme des groupes fonctionnels polaires qui interagissent de manière favorable avec l'eau, tandis que la partie hydrophobe est généralement constituée d'acides aminés non polaires, dont l'interaction avec l'eau est défavorable. En conséquence, ces peptides ont la capacité de s'organiser en solution, avec les parties polaires se regroupant spontanément pour former des assemblages. Ces assemblages peuvent engendrer des nanostructures remarquables¹⁴³, telles que des vésicules^{171,172}, des nanotubes^{141,173} ou des fibres.^{174,175}

Notamment, le dipeptide L-Phénylalananyl-L-Phénylalanine (FF), est composé de deux cycles aromatiques sur les extrémités, qui sont hydrophobes et de fonctions hydrophiles sur la partie centrale (Figure 50). Ces deux zones vont créer un assemblage des molécules, renforcé par les liaisons hydrogènes dans la partie hydrophile, et par l'empilement π - π dans la zone hydrophobe.¹⁴¹ L'auto-assemblage de FF permet de former des nanostructures qui présentent une stabilité thermique et chimique remarquable, comme démontré dans des dispositifs nanotechnologiques pratiques.¹⁷⁶ La formation de ces nanostructures crée un rapport surface/volume très élevé, ce qui pourrait permettre d'augmenter le nombre de molécules de reconnaissance sur la surface des électrodes et ainsi améliorer la sensibilité des biocapteurs.

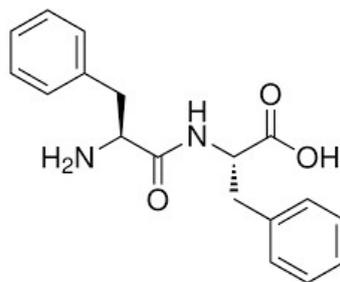


Figure 50 : Structure chimique du peptide L-Phénylalananyl-L-Phénylalanine.

Cette étude trouve son origine dans les travaux d'Allafchian *et al.*^{149,150} dans lesquels le développement d'un immunocapteur destiné à la détection de l'hormone de croissance humaine (hGH) a été décrit. Pour cela, le peptide est auto-assemblé en solution avant d'être déposé sur une électrode de travail en carbone vitreux. Le greffage d'un anticorps spécifique de l'hGH est possible grâce aux fonctions amines et carboxyliques. Le capteur est ensuite mis en présence de la cible afin d'observer la variation du signal. Les fibres de FF possèdent des fonctions réactives, comme notamment la fonction acide carboxylique, qui peut permettre le

greffage d'aptamères fonctionnalisés avec une amine. Dans cette étude, une électrode de carbone sérigraphié a été fonctionnalisée par des fibres auto-assemblées de FF afin de pouvoir greffer des aptamères et créer un aptacapteur électrochimique, notamment pour la détection de la thrombine jusqu'à 0,5 $\mu\text{mol/L}$.

3.2.1. Mise en forme des fibres de L-Phénylalanine-L-Phénylalanine (FF)

Le développement de l'aptacapteur commence par la fonctionnalisation de la surface de l'électrode en carbone par les fibres composées de FF auto-assemblé. L'auto-assemblage des fibres de FF est réalisé en solution, Rissanou *et al.*¹⁷⁷ ont montré l'influence que pouvez avoir le solvant sur la structure de ces fibres. Différents protocoles, ont été testés pour optimiser le dépôt de fibre à la surface de l'électrode.

Dans un premier temps, pour l'auto-assemblage en solution, le protocole développé par Reches et Gazit¹⁴⁵ et repris par Allafchian *et al.*¹⁵⁰ a été reproduit. Le peptide lyophilisé est alors solubilisé dans une solution d'hexafluoroisopropanol (HFIP) à une concentration de 100 mg/mL. Cette solution est ensuite diluée dans l'eau pour obtenir des solutions de fibres à différentes concentrations. La solution est alors incubée 30 minutes à 70°C pour briser les liaisons hydrogènes entre les molécules et leur donner la mobilité nécessaire à l'auto-assemblage. Ensuite, la solution est laissée à température ambiante jusqu'au refroidissement total. On observe à l'œil nu l'auto-assemblage des molécules de FF se former quand la température diminue, pour finalement former des fibres. Les fibres, déjà formées, sont alors déposées par goutte. La Figure 51 montre les effets de la concentration en FF dans la solution finale sur la morphologie des revêtements de surface.

Dans la Figure 51b on remarque que pour la concentration la plus faible, 0,1 mg/mL, il n'y a que très peu de fibres qui se sont déposées sur la surface de carbone. Les fibres observées sont, de plus, très courtes, on peut émettre l'hypothèse qu'il n'y a pas assez de peptide en solution pour former ces structures.

En revanche, sur la Figure 51c, dès 1 mg/mL, de longues fibres apparaissent sur la surface de l'électrode. Ces fibres semblent s'aligner du bord vers le centre de l'électrode, avec un recouvrement qui n'est pas homogène. Sur la Figure 51d est observé le dépôt à partir d'une concentration de 2 mg/mL. Les fibres apparaissent plus denses à la surface de l'électrode de carbone. Cependant, elles sont toujours réparties sur le pourtour de celle-ci.

La présence de longues fibres semble indiquer que l'auto-assemblage du FF est bien réalisé. En effet, la longueur des fibres est d'environ 1500 μm et le diamètre est de 5 μm ce qui donne le rapport de forme :

$$\text{Rapport de forme} = \frac{\text{Longueur}}{\text{Diamètre}} = \frac{1500}{5} = 300 \quad (\text{eq 1})$$

Les fibres (Figure 51d) possèdent donc un rapport de forme élevé qui augmente grandement la surface de l'électrode comme décrit dans la littérature.¹⁴⁴ Cependant, le dépôt n'est pas homogène sur la surface de l'électrode, les fibres semblent fixées sur le périmètre de l'électrode de carbone et sont trop courtes pour couvrir le centre.

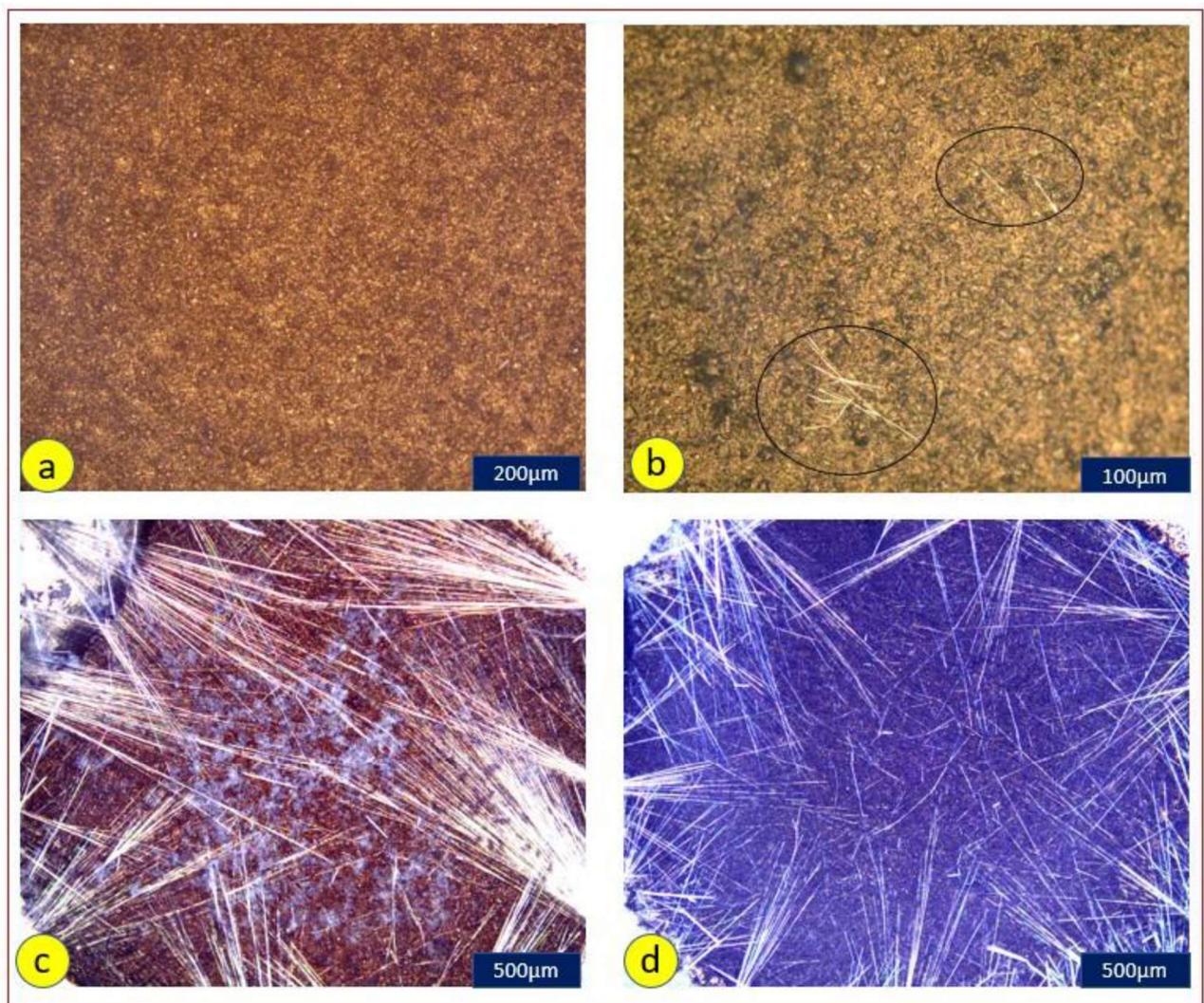


Figure 51 : Images de microscopie optique d'une électrode SPCE avant (a) et après le dépôt d'une goutte d'eau contenant [FF] à 0,1 mg/mL (b), 1 mg/mL (c) et 2 mg/mL (d).

Lorsque les électrodes FF/SPCE sont immergées dans l'eau, il est possible d'observer à l'œil nu que les fibres se détachent de la surface en carbone. Ces fibres semblent n'adhérer qu'à la partie en polystyrène sur laquelle l'électrode est sérigraphiée. La Figure 52 illustre les résultats après une incubation de 15 heures d'une électrode FF/SPCE dans l'eau. La plupart des longues fibres qui étaient initialement présentes sur la surface en carbone ne sont plus attachées à cette dernière. Seules quelques fibres courtes demeurent.

Pour la réalisation d'un aptacapteur efficace, il est impératif que la surface de l'électrode de travail reste stable lors de l'incubation dans un solvant aqueux. Pour cela il est nécessaire de comprendre les interactions entre les fibres et la surface de carbone.

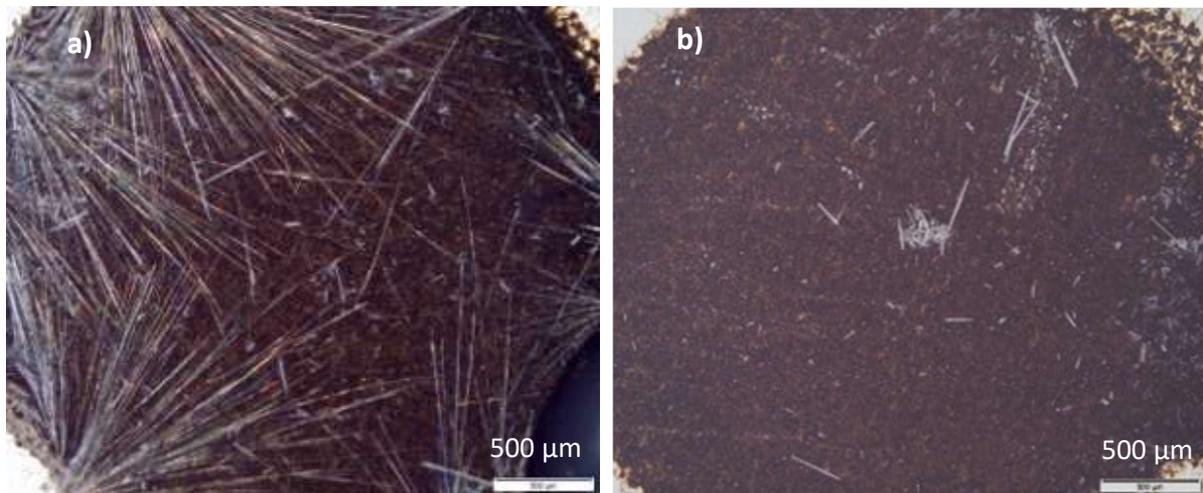


Figure 52 : Images de microscopie optique d'une électrode FF/SPCE (a) avant et (b) après 15h d'incubation dans l'eau.

Afin de comprendre pourquoi les fibres ont tendance à se déposer de manière privilégiée sur le pourtour de l'électrode en carbone, nous avons étudié la mouillabilité de la surface en carbone. La Figure 53 illustre l'angle de contact entre une goutte d'eau et la surface d'une SPCE, qui est de $118,5^\circ$. Cet angle est considérablement supérieur à 90° , ce qui témoigne de l'hydrophobicité attendue de la surface en carbone.

Lors du dépôt par goutte de la solution eau + FF, il semble que les fibres montrent une affinité préférentielle pour l'interface air/eau, probablement en raison des propriétés amphiphiles du FF. Lors du dépôt, les fibres se positionnent à l'interface entre l'air et l'eau et la majorité des fibres viendraient se déposer sur le pourtour de la goutte avant le séchage de celle-ci.

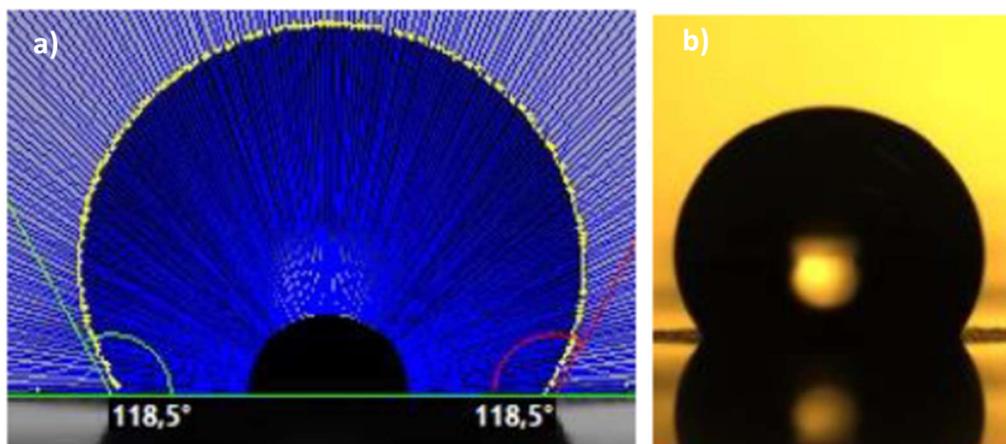


Figure 53 : Mesure d'angle de contact entre une goutte d'eau et une SPCE : a) mesure de l'angle, b) photo de la goutte.

Afin d'améliorer l'adhésion des fibres à la surface de l'électrode en carbone, le protocole d'auto-assemblage des fibres a été modifié. L'eau est remplacée par le HFIP. La

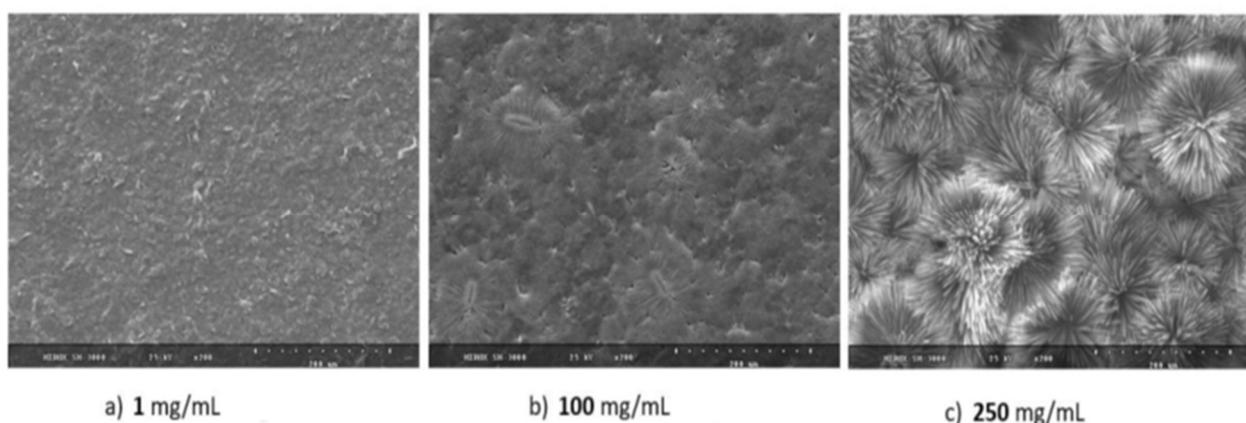


Figure 54 illustre l'impact de la concentration de la solution de FF sur la structure du dépôt en surface.

À une concentration de 1 mg/mL, la formation de longues fibres, précédemment observées suite au dépôt de la même concentration de peptide dans l'eau et HFIP (Figure 51c), n'est plus apparente. Il n'y a pas d'assemblage de peptide pour cette concentration et seule la surface de l'électrode de carbone est observée. En augmentant la concentration à 100 mg/mL, des structures de FF se forment à la surface. Ces structures sont appelées sphérulites car elles se composent de courtes fibres qui rayonnent autour d'un noyau central.¹⁷⁸ Les sphérulites semblent être réparties de manière uniforme sur la surface de l'électrode en carbone sérigraphié. À une concentration encore plus élevée, soit 250 mg/mL, les fibres restent courtes, mais elles sont beaucoup plus denses à la surface, formant des structures en forme de fleurs. Ces structures ressemblent à celles observées dans l'étude précédente d'Allafchian *et al.*¹⁵⁰ pour une concentration de 100 mg/mL dans HFIP. La surface de la SPCE est homogènement recouverte et la surface disponible pour le greffage des aptamères a largement augmenté en comparaison à la surface de carbone initiale.

Le solvant a une forte influence sur l'auto-assemblage des peptides, Rissanou *et al.*¹⁷⁷ ont montré l'importance d'un solvant polaire pour la création des fibres. Ainsi, le HFIP est moins favorable que l'eau à l'assemblage des fibres de FF, c'est pourquoi les fibres obtenues dans ce solvant sont plus courtes. Par exemple, les fibres obtenues d'une solution de HFIP contenant du FF à 250 mg/mL mesurent seulement 100 µm environ (

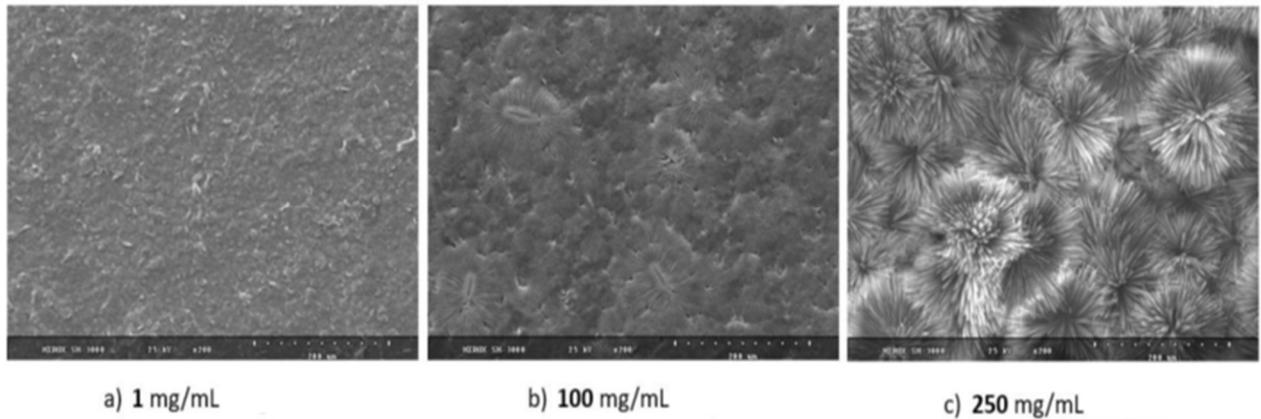


Figure 54c).

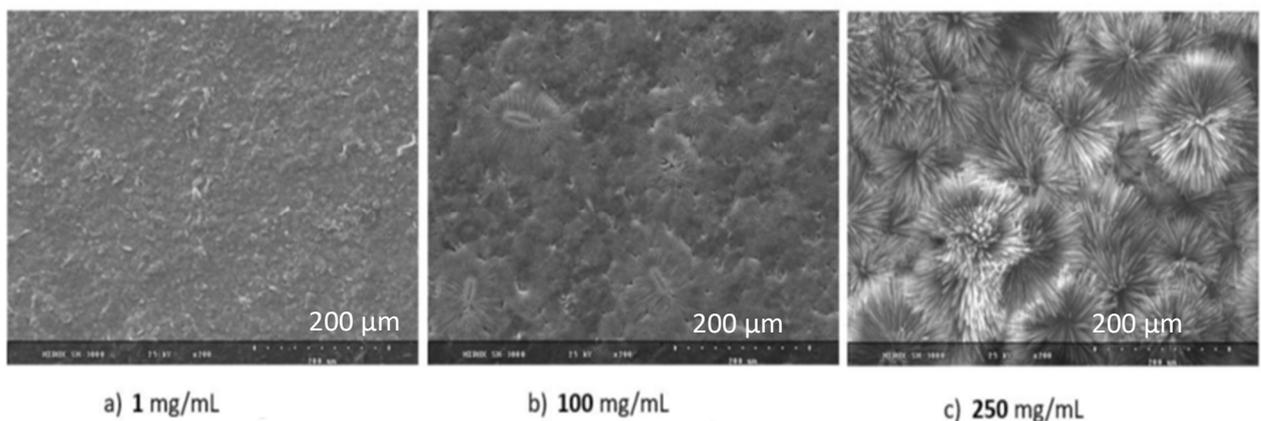


Figure 54 : Images MEB d'électrodes FF/SPCE réalisées à partir du dépôt d'une goutte de HFIP contenant une concentration en FF à a) 1 mg/mL, b) 100 mg/mL et c) 250 mg/mL.

Cependant, lorsqu'une électrode FF/SPCE, fabriquée à partir d'une solution à 250 mg/mL, est immergée dans l'eau, les structures ne parviennent pas à adhérer efficacement à la surface de l'électrode. La Figure 55 présente la surface de l'électrode FF/SPCE après 15h d'incubation dans l'eau. Les structures en formes de fleurs ont disparu. Les fibres de FF ont été lavées de la surface, seulement quelques fibres subsistent sur le bord en polystyrène de l'électrode. Il est clair que l'adhésion de ces fibres n'est pas efficace.

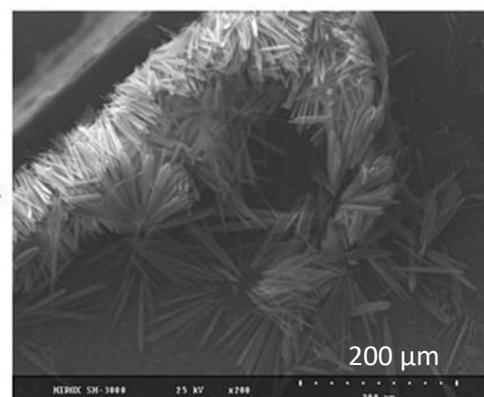
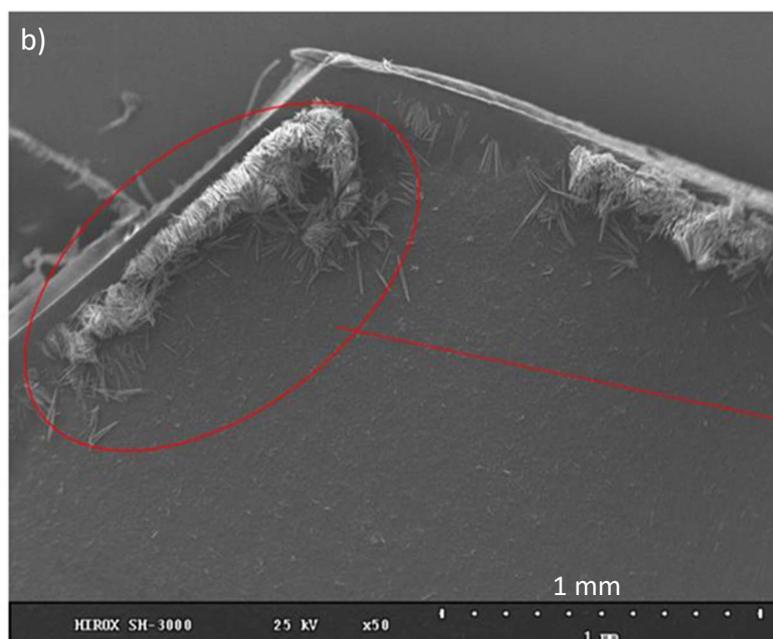
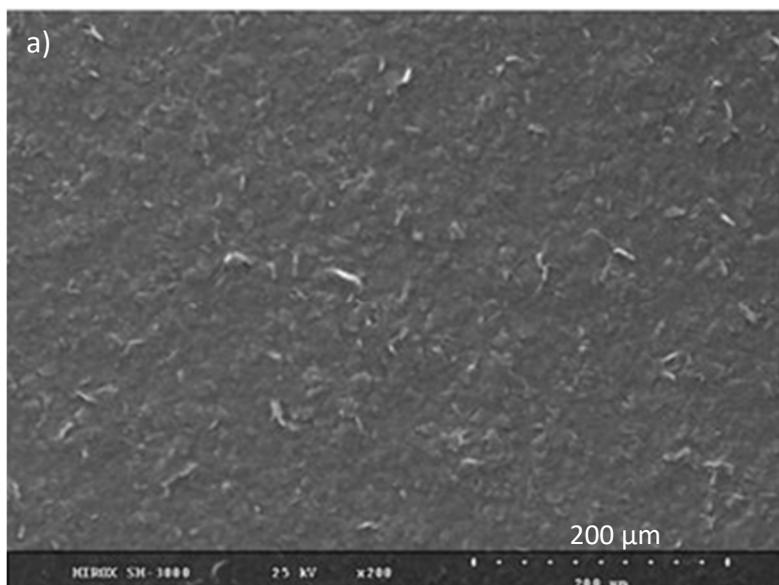


Figure 55 : Images MEB d'une électrode FF/SPCE, préparée à partir d'une solution de FF à 250mg/mL dans l'HFIP, et incubée dans l'eau : a) à la surface de carbone, b) sur le bord de l'électrode en polystyrène.

En théorie, les fibres s'auto-assemblent en solution, cependant, nous avons voulu vérifier si la méthode de séchage a une influence sur la structuration du dépôt.

La Figure 56 montre deux électrodes FF/SPCE réalisées par dépôt d'une goutte de HFIP contenant $[FF] = 100 \text{ mg/mL}$. La première est séchée à l'air libre alors que la seconde est placée sous un flux d'azote pour accélérer le séchage. Les deux électrodes présentent les mêmes structures en forme de spherulites, ce qui semble indiquer que ces deux méthodes de séchages n'influent pas sur la structuration des fibres.

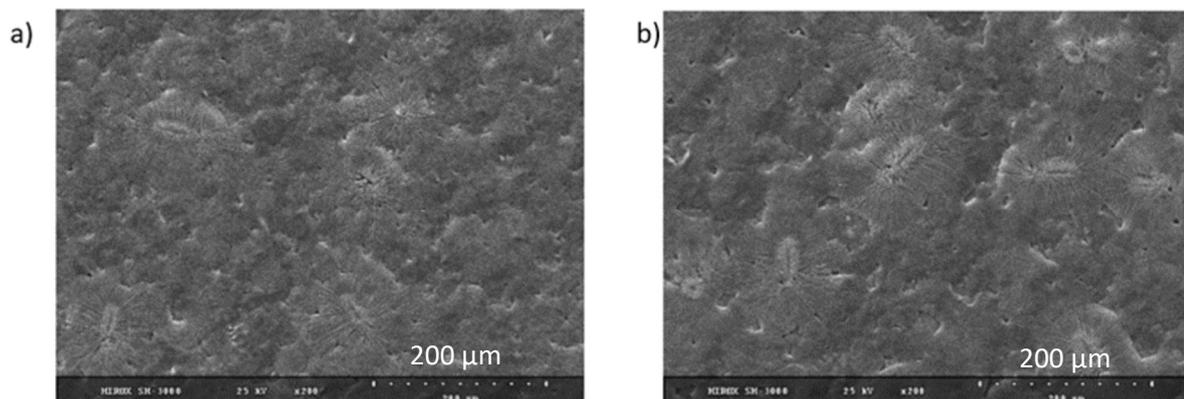


Figure 56 : Images MEB d'une électrode FF/SPCE dont le dépôt par goutte est a) séché à l'air libre, b) séché sous flux d'azote.

La voltamétrie cyclique est utilisée pour caractériser l'influence du dépôt de FF sur la sensibilité électrochimique de l'électrode. La Figure 57 montre la différence entre les voltamogrammes d'une électrode SPCE (en noir) et FF/SPCE (en vert). Les vagues d'oxydation et de réduction qui apparaissent en vert pour l'électrode FF/SPCE sont moins intenses que celles qui apparaissent pour la SPCE. La cinétique d'oxydo-réduction est aussi moins importante pour l'électrode recouverte. Les fibres de peptides passivent donc en partie la surface de l'électrode. Yemini *et al.*¹⁴⁴ ont montré que le dépôt de fibres de FF, plus longues que celles présentées dans la Figure 56, à la surface d'une électrode augmente sa sensibilité électrochimique. Ces résultats contraires à la littérature laissent supposer que la structure des fibres est très importante pour la sensibilité électrochimique de l'ensemble.

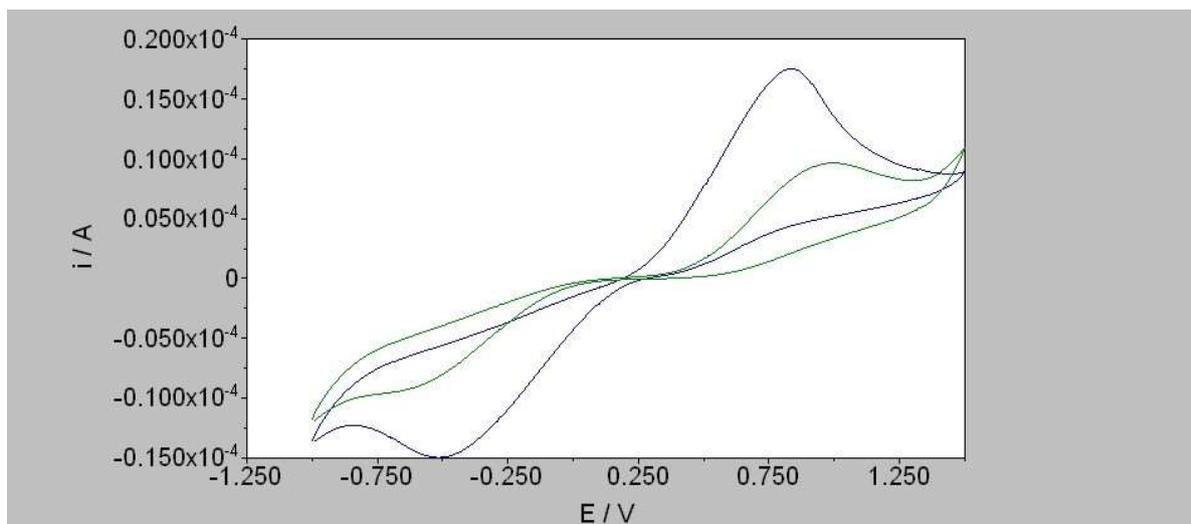


Figure 57 : Voltamogrammes obtenus avec une vitesse de balayage de 100 mV/s, dans une solution tampon phosphate à 0,1 mol/L et $[[\text{FeIII}(\text{CN})_6]^{3-}/[\text{FeII}(\text{CN})_6]^{4-}] = 1\text{mM}$ pour une électrode SPCE (noir) et une FF/SPCE (vert).

La stabilité de l'électrode a été étudiée, également par CV. La Figure 58 montre l'évolution de la hauteur de la vague d'oxydation au fil du temps, et il est clairement observable que l'intensité du signal augmente très rapidement après le début de l'incubation. L'hypothèse est donc que les structures peptidiques se détachent de la surface de l'électrode de carbone. En effet, l'intensité d'oxydation sur l'électrode FF/SPCE, initialement de 7 μA , augmente rapidement pour atteindre un maximum à 9,5 μA au bout de 2 heures d'incubation. Cette valeur est comparable à celle obtenue pour une électrode nue, soit 11 μA . La diminution du signal observé sur les heures suivantes est attribuée à une légère passivation de l'électrode de carbone. Ces résultats mettent en évidence que la plateforme électrochimique ne peut pas être utilisée telle quelle pour des mesures en solutions aqueuses.

Il est donc nécessaire de trouver des méthodes ou des modifications supplémentaires pour renforcer l'adhérence des structures peptidiques à la surface de l'électrode et ainsi assurer la stabilité de la plateforme électrochimique lors de l'exposition à des solutions aqueuses.

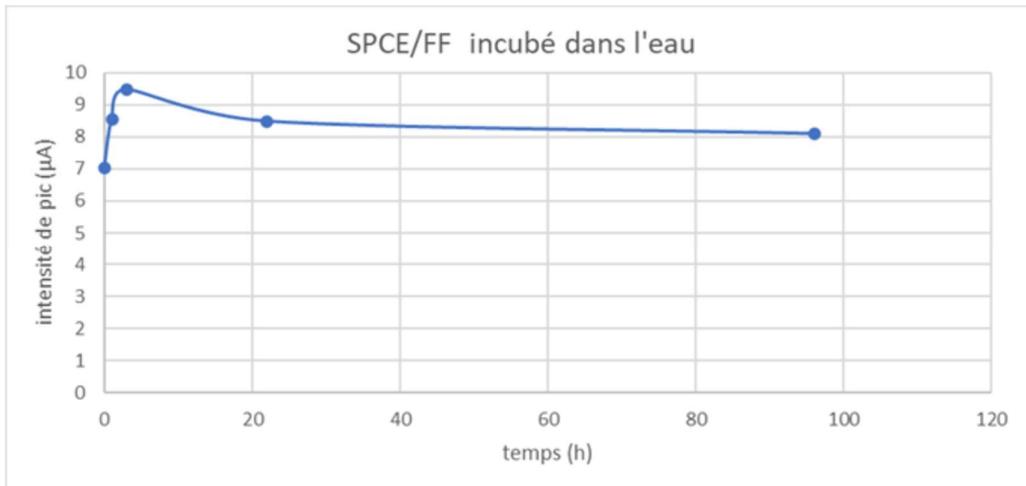


Figure 58 : Intensité de la vague d'oxydation obtenue par CV en fonction du temps d'incubation d'une électrode FF/SPCE dans l'eau.

Moini *et al.*¹⁴⁹, ont montré que les fibres pouvaient adhérer sur une électrode de carbone, grâce aux interactions physiques entre les fibres et la surface. Pour obtenir une adhésion suffisamment robuste, il est donc impératif d'accroître le nombre d'interactions physiques. L'une des méthodes pour y parvenir consiste à augmenter la longueur des fibres, ce qui permet d'augmenter le rapport de forme. En d'autres termes, en allongeant les fibres, nous devrions favoriser une meilleure adhérence de celles-ci à la surface.

Pour tenter d'allonger les fibres, nous avons choisi d'appliquer d'avantage d'énergie lors du processus d'auto-assemblage. À cette fin, la solution de FF dans le HFIP a été incubée dans un bain à ultrasons à 70°C. La durée d'immersion dans ce bain était de 3 heures, ce qui a permis à chaque molécule d'atteindre un niveau élevé d'énergie, qui brise les interactions intermoléculaires. Par la suite, la solution a été refroidie progressivement jusqu'à atteindre la température ambiante. Au cours de ce refroidissement, les fibres de peptides ont commencé à se former, aboutissant finalement à la formation d'un gel à l'intérieur du tube. Diverses concentrations ont également été testées pour optimiser le processus de dépôt en surface.

La Figure 59 présente les images de microscopie optique des dépôts de fibres de FF obtenus à partir de solutions contenant des concentrations de peptide allant de 25 mg/mL à 100 mg/mL. Tout d'abord, il est évident que l'apport d'énergie lors du processus d'auto-assemblage a favorisé l'allongement des fibres. En effet, des fibres d'environ 500 µm de longueur recouvrent la surface de chacune des électrodes. Les fibres sont plus courtes qu'avec la méthode d'auto-assemblage en solution aqueuse, dont la longueur était d'environ 1500 µm. Cela donne alors un rapport de forme égal à 100 (eq 2).

$$\text{Rapport de forme } 2 = \frac{\text{Longueur}}{\text{Diamètre}} = \frac{500}{5} = 100 \quad (\text{eq } 2)$$

Pour les concentrations de 25 mg/mL et 50 mg/mL, les fibres sont bien définies et sont réparties de manière homogène sur la surface. Cependant, il est à noter que la densité de fibres à la surface est plus élevée pour le dépôt réalisé à partir de la solution à 50 mg/mL. En ce qui concerne la concentration de 100 mg/mL, des agrégats de fibres sont visibles à la surface. L'hypothèse sous-jacente est que la concentration en peptides est trop élevée, ce qui signifie qu'une fois que les fibres se sont formées, il reste encore des molécules de FF disponibles. Ces molécules s'agrégeraient alors à la surface des fibres, entraînant leur adhésion mutuelle.

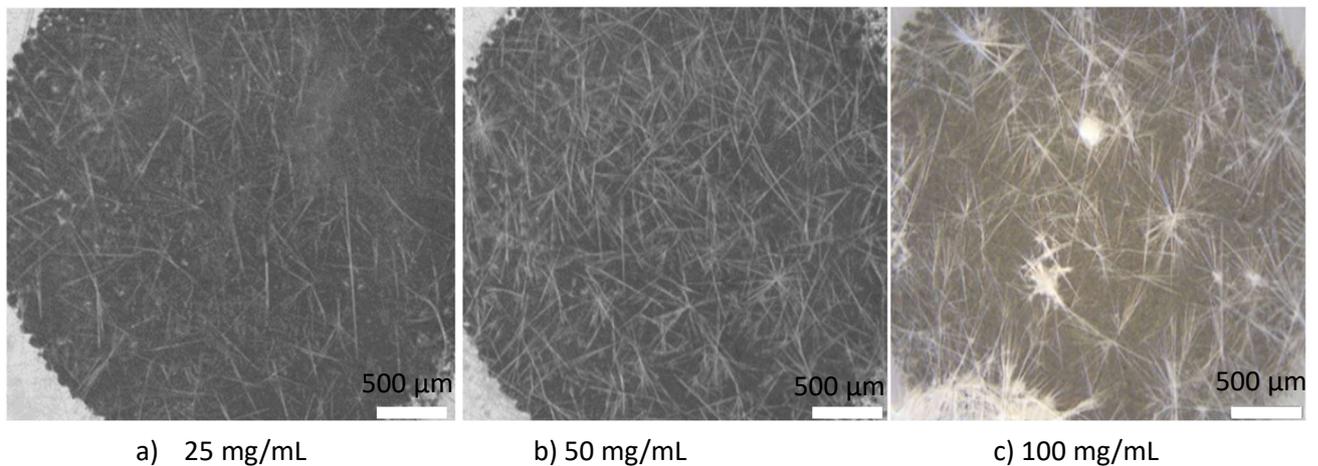


Figure 59 : Images de microscopie optique d'une électrode FF/SPCE obtenue par le dépôt de goutte de HFIP contenant a) [FF] = 25 mg/mL, b) [FF] = 50 mg/mL et c) [FF] = 100 mg/mL.

En fin de compte, la concentration de 100 mg/mL n'est pas retenue en raison de la non-uniformité du dépôt. Les tests d'adhésion ont ensuite été réalisés sur les deux autres concentrations, à savoir 25 mg/mL et 50 mg/mL.

Pour vérifier l'adhésion, les électrodes FF/SPCE sont incubées dans une solution aqueuse toute une nuit. La Figure 60 illustre la bonne adhésion des fibres sur la surface de carbone pour les deux concentrations. En effet, lorsqu'on compare les images avant et après incubation dans l'eau, il n'y a pas de différence observable. Comme vu précédemment, les fibres sont longues, réparties uniformément sur la surface de carbone.

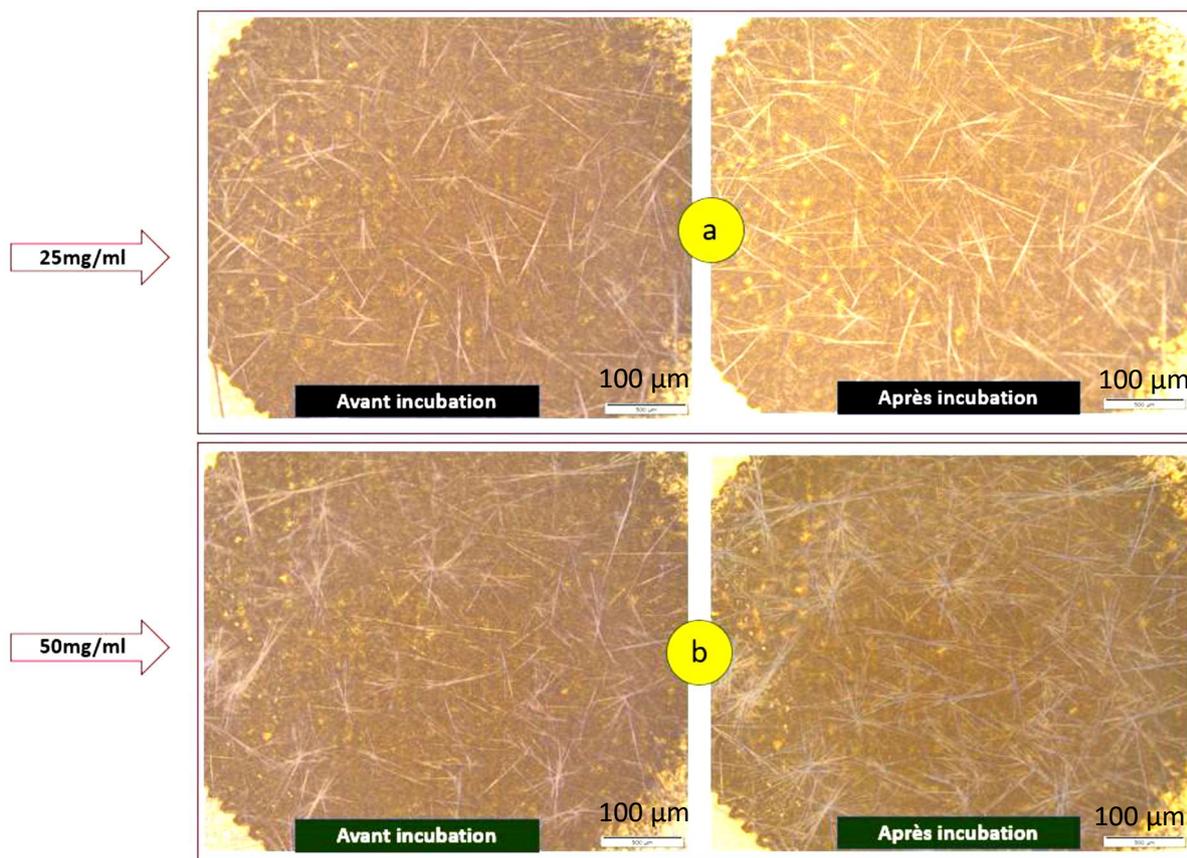


Figure 60 : Images de microscopie optique d'électrodes FF/SPCE avant et après incubation dans l'eau obtenues par dépôt d'une solution a) [FF] = 25 mg/mL b) [FF] = 50 mg/mL.

En conclusion, différents protocoles d'auto-assemblages, résumés dans le Tableau 5, ont été testés pour obtenir à la formation de fibres de L-Phénylalanine-L-Phénylalanine qui adhèrent à la surface de l'électrode en carbone, pour permettre désormais d'immerger celle-ci dans des solutions aqueuses. Étant donné que la surface de la SPCE est hydrophobe, il est nécessaire de retirer l'eau du mélange initial. Sans eau, les fibres formées apparaissent très courtes et ne s'attachent pas à la surface. Pour allonger les fibres, un apport d'énergie supplémentaire est nécessaire lors du processus d'auto-assemblage. L'immersion de la solution dans un bain à ultrasons chauffé à 70°C pendant 3 heures a donc permis d'obtenir des fibres suffisamment longues, mesurant entre 500 µm et 1000 µm de longueur, et qui adhèrent solidement à la surface de l'électrode.

Tableau 5 : Conditions expérimentales pour la structuration des fibres de FF et principaux impacts sur le dépôt.

Solvant	H ₂ O + HFIP	H ₂ O + HFIP	H ₂ O + HFIP	HFIP	HFIP	HFIP	HFIP	HFIP	HFIP
Concentrations de FF (mg/mL)	0,1	1	2	1	100	200	25	50	100
Temps d'incubation du FF à 70 °C (h)*	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	3	3	3
Structure	X	Longues fibres	Longues fibres	X	Sphérulites	Forme de fleur	Longues fibres	Longues fibres	Longues fibres + agrégats
Adhésion	X	Non	Non	X	Non	Non	Oui	Oui	Oui

*cette étape permet l'autoassemblage du peptide en solution.

Maintenant que le dépôt de fibres de FF sur une SPCE est stable en présence de solutions aqueuses, cette plateforme peut désormais être considérée comme une palteforme électrochimique pour le greffage d'aptamères et donc pour le développement d'un aptacapteur.

3.2.2. Sensibilité et stabilité électrochimique

Il est important de rappeler que la détection électrochimique des polluants, dans le cas de notre aptacapteur, se déroule en deux étapes distinctes :

- le capteur est mis en présence de la cible par incubation, afin que les aptamères puissent capturer la cible. Dans cette étude témoin la cible est la thrombine, qui est une protéine dont l'aptamère a été prouvé efficace. À terme, l'objectif est de capturer un polluant spécifique.
- la mesure électrochimique, qui se déroule en présence d'une sonde redox externe. Nous avons déjà souligné dans le chapitre 3.1 l'importance d'une interaction adéquate entre la sonde et la surface pour obtenir un signal électrochimique sensible.

L'un des objectifs du dépôt FF étant d'améliorer la sensibilité du capteur, des analyses par CV ont été réalisées pour vérifier l'affinité du système FF/SPCE envers la sonde redox de fer. La Figure 61 présente les voltamogrammes obtenus lors de la voltamétrie cyclique en présence du couple $[\text{FeIII}(\text{CN})_6]^{3-} / [\text{FeII}(\text{CN})_6]^{4-}$ sur les électrodes SPCE (en noir) et FF/SPCE (en rose).

Il y a deux observations importantes à noter :

- les maxima d'oxydation et de réduction sont décalés. Ainsi, la cinétique, mesurée par l'écart entre les pics d'oxydation et de réduction, s'avère être plus rapide sur l'électrode recouverte de fibres de FF.
- Les intensités d'oxydation et de réduction sont plus élevées avec l'électrode FF/SPCE qu'avec l'électrode nue en carbone sérigraphié.

Ces résultats suggèrent que l'utilisation de l'électrode FF/SPCE améliore la réponse électrochimique de l'électrode SPCE, comme décrit par Yemini *et al.*¹⁴⁴ Cette sensibilité est essentielle pour le développement d'un aptacapteur sensible et performant pour la détection de cibles spécifiques, telles que la thrombine dans cette étude témoin.

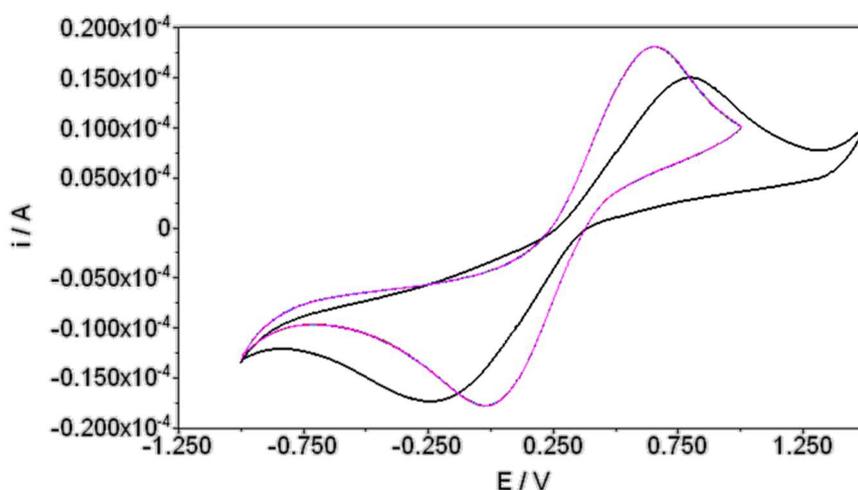


Figure 61 : Voltammogrammes obtenus avec une vitesse de balayage de 100 mV/s, dans une solution aqueuse [PBS] = 0,1 mol/L et $[[\text{FeIII}(\text{CN})_6]^{3-}/[\text{FeII}(\text{CN})_6]^{4-}] = 1 \text{ mmol/L}$, d'une SPCE (noir) et d'une FF/SPCE (rose).

L'amélioration de la réponse électrochimique est en effet un point intéressant à souligner, d'autant plus que les fibres de FF ne sont pas conductrices par elles-mêmes. Les mesures d'angles de contact, telles que représentées dans la Figure 62, ont permis d'expliquer en partie cette amélioration du signal. En effet, initialement, l'électrode en carbone sérigraphié est très hydrophobe, ce qui est illustré par un angle de contact nettement supérieur à 90°. Cependant, une fois que les fibres sont déposées à la surface de l'électrode, l'angle de contact diminue à 67°. Cela signifie que la mouillabilité de l'électrode par rapport à l'eau est considérablement améliorée grâce à la présence des fibres à sa surface. Cette augmentation de la mouillabilité facilite l'accès de la sonde redox à la surface de l'électrode, ce qui, à son tour, favorise le transfert d'électrons.

En somme, les fibres de FF, bien que non conductrices, contribuent à rendre la surface de l'électrode plus accessible aux molécules de la sonde redox, améliorant ainsi la réponse électrochimique globale de l'aptacpteur.

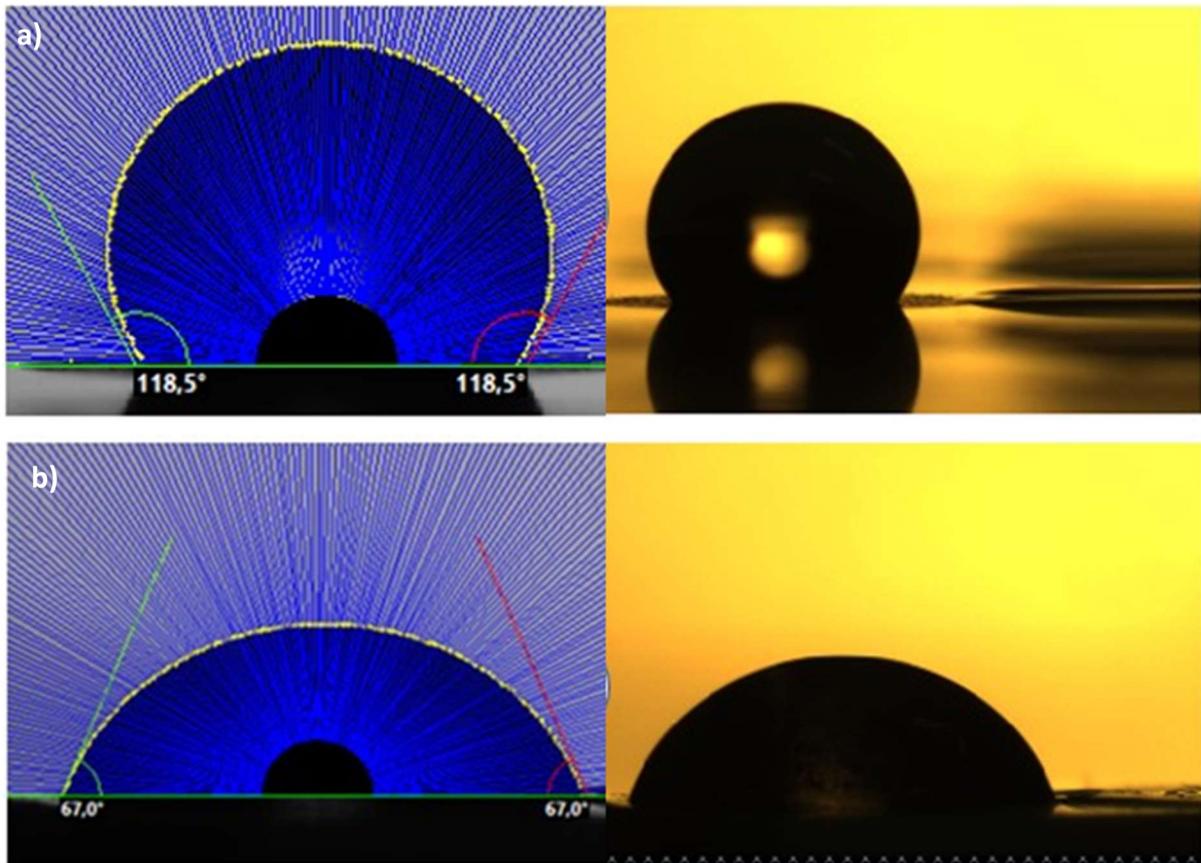


Figure 62 : Mesures d'angles de contact a) d'une électrode SPCE b) d'une électrode FF/SPCE. La mesure à gauche est prise à partir de la photo de droite.

Les analyses électrochimiques ont été répétées pour vérifier la stabilité de la plateforme électrochimique. La Figure 63 illustre l'intensité de l'oxydation obtenue par CV, en présence de la sonde redox, au fil du temps avec une électrode FF/SPCE. On peut observer que l'intensité augmente dans un premier temps, avant d'atteindre un plateau après quelques heures de mesures. Cette augmentation initiale peut être attribuée à l'adsorption de la sonde redox sur les fibres de FF.

Il est essentiel de noter que, dans la Figure 61, l'intensité du signal est déjà plus élevée pour l'électrode FF/SPCE par rapport à la SPCE seule. Le fait que le signal ne diminue pas au fil du temps comme montré dans la Figure 63 indique toujours une bonne adhésion des fibres à la surface.

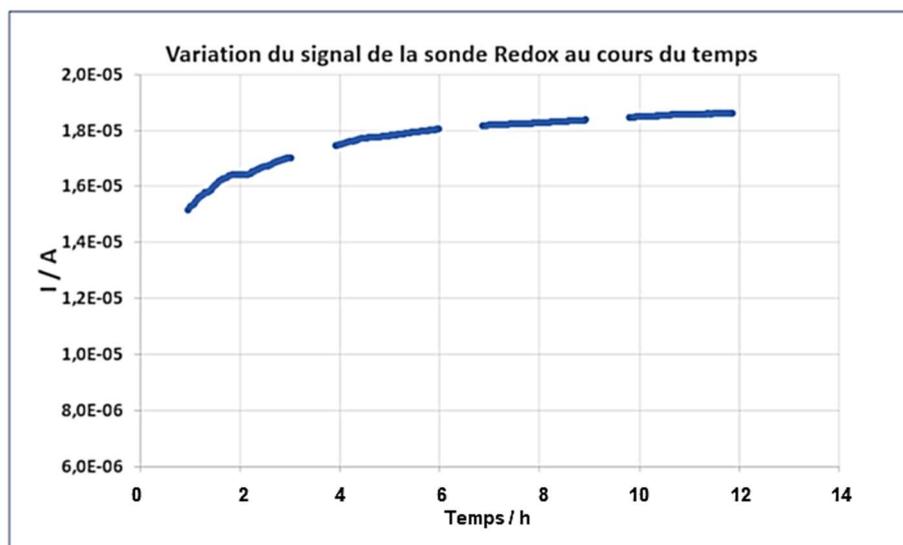


Figure 63 : Variation de l'intensité d'oxydation de la sonde de fer obtenue par CV sur une électrode FF/SPCE au cours du temps.

L'adsorption de la sonde sur la surface de la plateforme électrochimique peut poser problème lors des analyses de détection de polluant. Il est important de vérifier que la sonde redox ne reste pas adsorbée lors du rinçage de l'électrode. La Figure 64 montre trois répétitions de mesures de voltamétrie à impulsions différentielles où l'électrode est rincée entre chaque mesure. On constate que les trois pics obtenus sont identiques et complètement superposés. Cette parfaite superposition met en évidence la bonne répétabilité des mesures et la stabilité de l'électrode. Cette stabilité de la réponse électrochimique renforce la confiance dans les performances de la plateforme électrochimique pour des applications de détection.

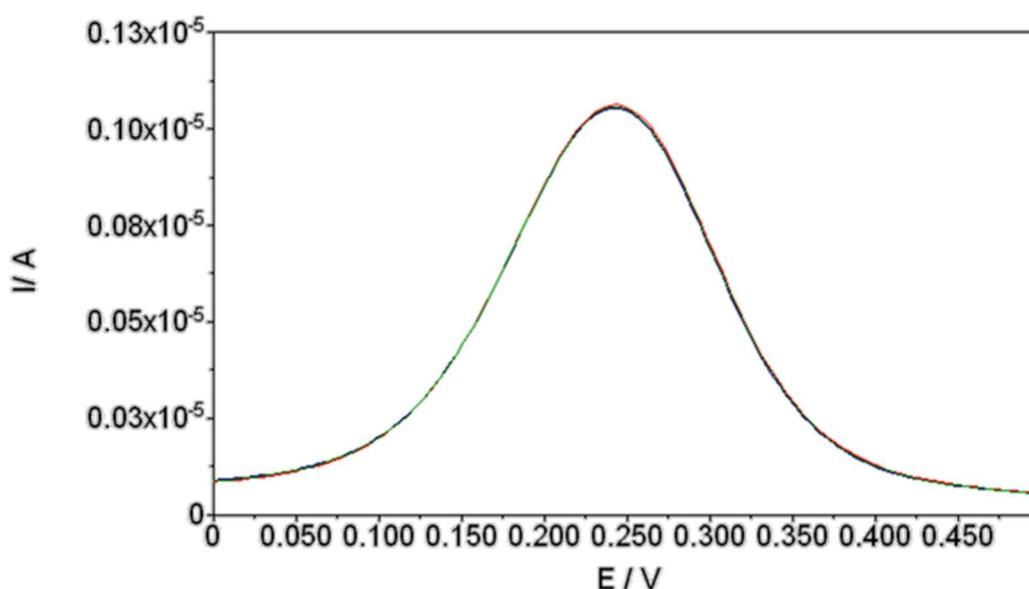


Figure 64 : Superposition de trois voltamogrammes obtenus par DPV dans la sonde de fer, l'électrode FF/SPCE est rincée entre chaque mesure.

En résumé, en complément de la bonne adhésion des fibres à la surface de l'électrode en carbone sérigraphié, nous avons constaté que les peptides auto-assemblés déposés à la surface améliorent la sensibilité électrochimique comme l'avait décrit Yémini *et al.*¹⁴⁴ L'amélioration de la mouillabilité de l'électrode par les fibres de FF pourrait expliquer l'augmentation du transfert d'électrons sur cette plateforme maintenant hydrophile. De plus, le signal électrochimique obtenu en présence de la sonde redox s'est révélé très stable, ce qui constitue un avantage majeur pour le développement d'un aptacapteur.

Cependant, il est à noter qu'une adsorption de la sonde redox a été observée sur la surface lorsque le capteur est incubé pendant de longues périodes dans la solution électrolytique. Heureusement, une fois le capteur rincé, le signal revient à sa valeur initiale. Par conséquent, il sera nécessaire de nettoyer régulièrement le capteur pour éviter des altérations du signal à long terme. Cela permettra de maintenir la performance optimale de la plateforme électrochimique dans le temps.

3.2.3. Greffage d'aptamères

Après l'optimisation du dépôt de FF pour obtenir une plateforme électrochimique stable, le greffage des aptamères a pu être envisagé. Dans le but de valider cette plateforme électrochimique comme base pour l'élaboration d'un aptacapteur, l'aptamère anti-thrombine de séquence $H_2N-C_6H_{12}-5'-CCAACGGTTGGTGGTTGG-3'$, a été choisi pour être greffé à la surface. Ce choix s'explique par l'efficacité déjà démontrée de cet aptamère pour la capture sélective de la thrombine dans plusieurs études antérieures.^{163,164}

L'aptamère a été fonctionnalisé en position 5' par une amine, permettant ainsi une liaison covalente à la surface de l'électrode *via* une liaison amide avec le C-terminal du FF. Pour ce faire, les fonctions acides carboxyliques présentes sur la L-Phénylalanine ont été préalablement activées par des incubations successives dans une solution contenant de l'EDC (carbodiimide) puis du NHS (N-hydroxysuccinimide). Enfin, l'électrode FF/SPCE a été incubée dans une solution contenant 1 $\mu\text{mol/L}$ d'aptamère.

Le capteur électrochimique se construit en deux étapes, telles que sur la Figure 65 :

- 1) Dépôt d'une goutte de solution de $[FF] = 50 \text{ mg/mL}$ auto-assemblé dans le HFIP.
- 2) Greffage des aptamères après activation par EDC/NHS par incubation.

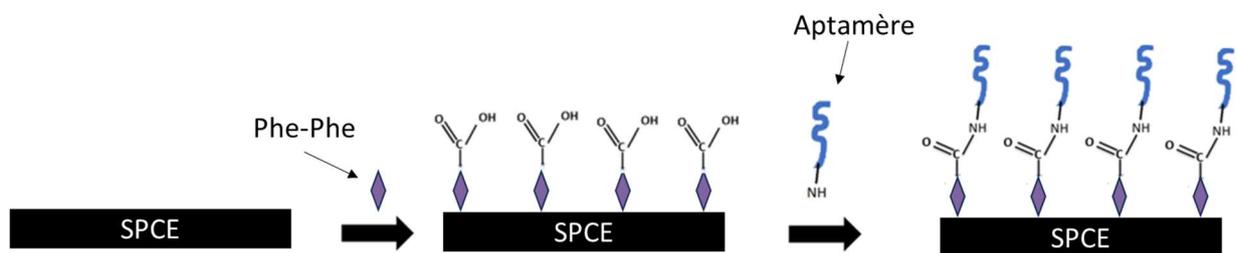


Figure 65 : Schéma de construction de l'aptacapteur électrochimique.

La Figure 66 présente les spectres infrarouges obtenus à chaque étape de la construction de l'aptacapteur. Dans le spectre correspondant à l'électrode SPCE seule, des pics de faible intensité sont observables entre 2400 et 2100 cm^{-1} , attribuables aux élongations des liaisons carbone-carbone. Pour le spectre de l'électrode FF/SPCE, le pic d'intensité faible autour de 3200 cm^{-1} est attribué à la fonction amine du peptide (élongation N-H), tandis que celui autour de 3050 peut être attribué à l'élongation du OH de la fonction acide carboxylique. Le pic à 1658 cm^{-1} est quant à lui caractéristique de l'élongation du C=O, il semble élargi et pourrait correspondre au C=O de la fonction acide mais également amide du FF. Les pics à 1460 et 1470 cm^{-1} peuvent être attribués à la déformation N-H de la fonction amine ainsi qu'aux élongations des C=C du cycle aromatique présent dans la phénylalanine. Enfin, le pic d'intensité élevée aux alentours de 700 cm^{-1} correspond à la déformation hors du plan des hydrogènes du cycle aromatique monosubstitué du FF.

Le spectre rouge correspond à l'électrode Apta/FF/SPCE, après greffage de l'aptamère. Sur ce spectre, les fonctions correspondant aux fibres de FF semblent masquées. Seul le pic à 1654 cm^{-1} semble encore indiquer la présence de certaines fonctions acides ou peuvent venir des C=O de l'amide. Bien qu'il ne soit pas possible d'observer la fonction amide de façon claire dans ce spectre, ce qui aurait prouvé le greffage, la preuve semble être apportée par le fait que les fonctions de la L-Phénylalanine sont masquées, tandis que les fibres restent présentes à la surface. Cela suggère que l'aptamère a été greffé avec succès à la surface de l'électrode, confirmant ainsi la construction de l'aptacapteur.

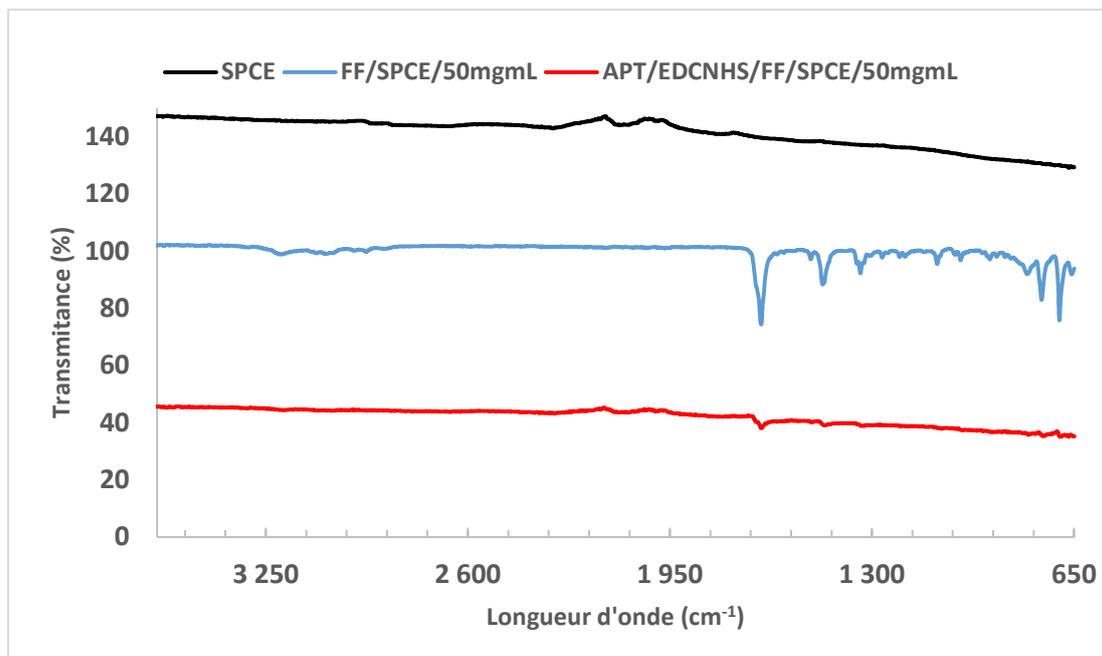


Figure 66 : Spectres infrarouge (ATR) d'une électrode SPCE, FF/SPCE, Apta/FF/SPCE.

Pour confirmer le greffage des aptamères à la surface du capteur, une analyse électrochimique peut être réalisée. Comme montré dans la Figure 67, les voltamogrammes obtenus pour les électrodes FF/SPCE et Apta/FF/SPCE ont été comparés. Les intensités des pics d'oxydation et de réduction obtenues pour la surface greffée sont identiques à celles obtenues pour la surface nue. Cependant, la cinétique, déterminée par l'écart en potentiel entre le pic d'oxydation et le pic de réduction, est plus lente pour l'électrode Apta/FF/SPCE démontrant une perturbation du transfert d'électrons. Ces différences s'expliquent par l'encombrement à la surface provoqué par les aptamères qui ont été greffés.

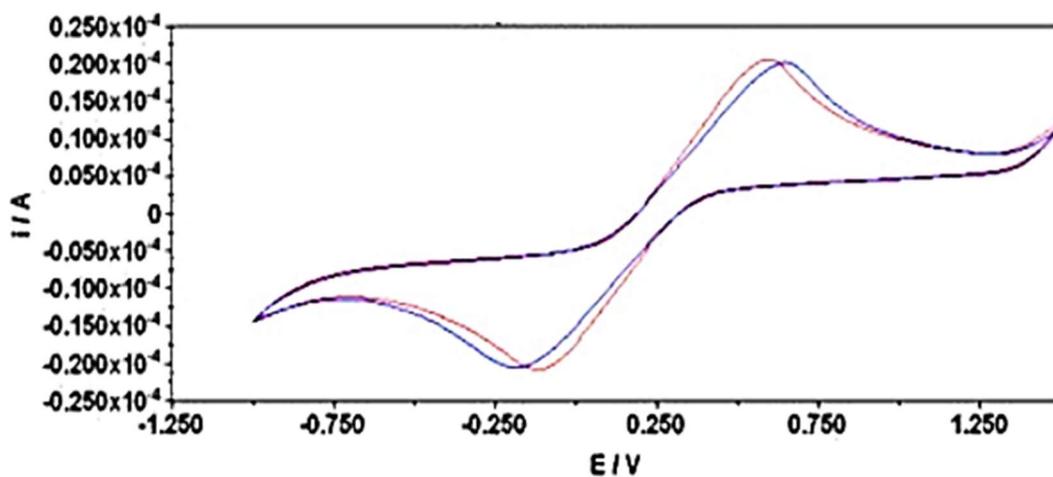


Figure 67 : Voltamogrammes obtenus avec une vitesse de balayage de 100 mV/s, dans la sonde de fer avec une électrode FF/SPCE (en rouge) et Apta/FF/SPCE (en bleu).

3.2.4. Détection électrochimique de la cible

La plateforme électrochimique étant stable et l'aptamère greffé à la surface, les propriétés de détections de ce capteur ont été testées. La voltamétrie à impulsions différentielles a été choisie comme méthode électrochimique pour le suivi du capteur en raison de sa sensibilité.

Le capteur a été immergé dans une solution contenant de la thrombine, à différentes concentrations, et des mesures électrochimiques ont été effectuées toutes les 25 minutes. Deux concentrations de thrombine ont été étudiées pour évaluer les limites du capteur (0.5 et 1.5 $\mu\text{mol/L}$). Dans la Figure 68, l'intensité du signal d'oxydation de la sonde en présence de la cible est suivie au fil du temps. On remarque que l'intensité maximale est atteinte dès 25 minutes.

Cette observation suggère que le temps d'incubation nécessaire du capteur avec la cible est de 25 minutes pour une détection optimale. Ce qui semble être une durée acceptable pour une détection de routine sur le terrain.

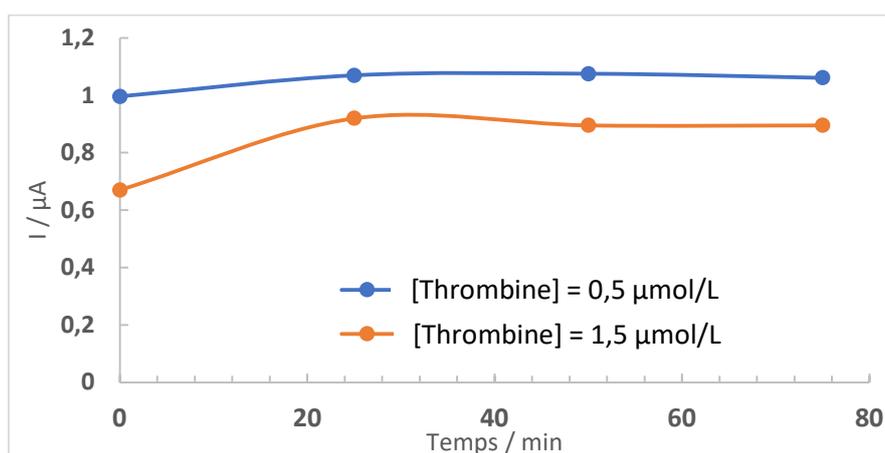


Figure 68 : Intensité du signal d'oxydation en fonction du temps d'incubation dans une solution: [thrombine] = 0,5 $\mu\text{mol/L}$ et [thrombine] = 1,5 $\mu\text{mol/L}$.

Pour observer l'impact de la concentration en thrombine sur le signal électrochimique, on compare les signaux obtenus par une électrode Apta/FF/SPCE avant et après 25 minutes d'incubation avec les deux concentrations de thrombine différentes (Figure 69). Dans les deux cas, on peut observer une augmentation du signal. Pour la concentration en thrombine de 0,5 $\mu\text{mol/L}$, l'augmentation du signal est de 6%, ce qui est relativement faible, on peut supposer que cette concentration est la limite de détection du capteur. Pour la concentration en thrombine de 1,5 $\mu\text{mol/L}$, l'augmentation du signal est de 33%, cette variation conséquente est satisfaisante pour laisser envisager la possibilité de quantifier la thrombine dans la gamme de concentration allant de 0,5 à 1,5 $\mu\text{mol/L}$.

Ces résultats indiquent que l'aptacapteur électrochimique est efficace pour la détection de la thrombine dans une gamme de concentrations de l'ordre du micromolaire au vu des différences de signaux en fonctions de la concentration. Cette efficacité renforce la validité de la plateforme comme outil de détection et suggère son potentiel pour des applications de détection de protéines dans divers domaines, tels que la biologie, par exemple pour la détection de la protéine C-réactive, marqueur d'inflammation.¹⁷⁹

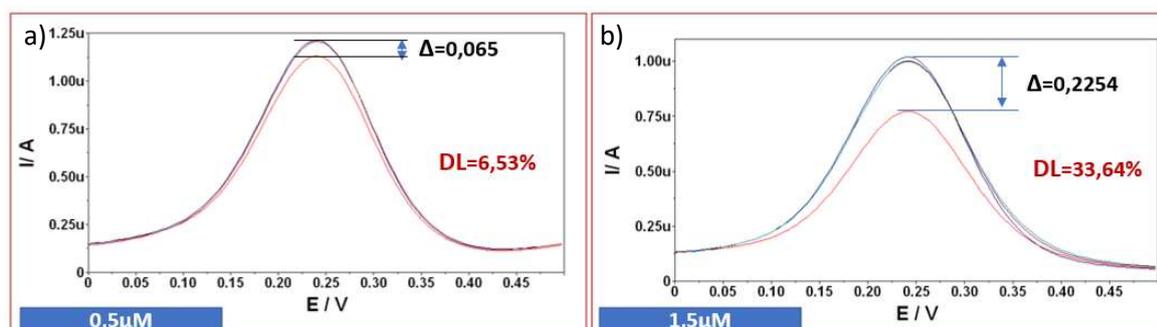


Figure 69 : Signaux obtenus par voltamétrie à impulsions différentielles avant et après incubation dans a) [thrombine]= 0,5 µmol/L et b) [thrombine]= 1,5 µmol/L, avec une vitesse de balayage de 5 mV/s.

3.2.5. Conclusions

Finalement, l'utilisation de peptides auto-assemblants, comme le dipeptide L-Phénylalaninyl-L-Phénylalanine (FF), offre une voie prometteuse pour le développement d'aptacapteurs électrochimiques.

Ces peptides ont montré la capacité de former des nanostructures stables qui présentent un rapport surface/volume élevé, et augmente donc la surface spécifique de l'électrode. La bonne adhésion des fibres à la surface de l'électrode a été obtenue en utilisant un protocole d'auto-assemblage spécifique, sans eau (avec HFIP) et en exposant la solution à un bain à ultrasons chauffé.

L'étude a démontré l'importance de la concentration de FF dans la solution de dépôt pour obtenir des fibres bien structurées sur la surface de l'électrode en carbone sérigraphié. Une concentration de 50 mg/mL a été privilégiée, car elle a permis d'obtenir des fibres longues et uniformément réparties sur la surface. Cela a également amélioré la mouillabilité de l'électrode, favorisant ainsi le transfert d'électrons et la réponse électrochimique de la plateforme.

Les tests de stabilité ont montré que la plateforme électrochimique reste stable pendant au moins 12 h d'incubation dans le tampon d'interaction.

Enfin, le greffage d'aptamères spécifiques, comme l'aptamère anti-thrombine, à la surface de l'électrode FF a été démontré. Des premiers tests de détection ont pu être réalisés et ont montré des résultats encourageants car le capteur répond bien aux variations de concentrations en thrombine. Cependant, par manque de temps nous n'avons pas pu faire de droite de calibration pour cette cible, qui pourrait être établie dans une gamme de concentrations micromolaires.

Dans cette étude, l'aptamère de la thrombine a été testé, validant l'utilisation du FF pour l'immobilisation d'aptamère à la surface d'électrode. Par manque de temps, la détection des pesticides n'a pas pu être réalisé. Il serait donc intéressant de greffer l'aptamère anti-thiabendazole étudié au chapitre précédent pour déterminer l'efficacité de cette plateforme face aux pesticides. De plus, cette plateforme électrochimique ouvre la voie au développement d'autres aptacapteurs électrochimiques. Les fibres de FF étant biocompatibles, elles présentent l'avantage certain de pouvoir être introduites dans des milieux biologiques ce qui permettrait la détection, en milieu réel, d'autres protéines responsables de pathologies, comme par exemple la protéine Tau responsable de la maladie d'Alzheimer¹⁸⁰, ou la protéine C-réactive, marqueur d'inflammation, dont la détection peut permettre de prévenir les infections bactériennes ou autres. ^{179,181}

3.3. Détection du glyphosate grâce aux polymères à empreintes moléculaires

Le glyphosate (GLY), également connu sous le nom de N-phosphonométhyl-glycine (Figure 70), est un pesticide organophosphoré qui a été introduit sur le marché par Monsanto en 1970 sous le nom commercial de Roundup. Cette molécule agit en inhibant l'enzyme 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (EPSPS), essentielle à la biosynthèse des acides aminés aromatiques des plantes. En bloquant cette voie métabolique, le glyphosate provoque l'arrêt de la croissance des plantes, les conduisant finalement à la mort.¹⁸² C'est pourquoi le glyphosate est largement utilisé comme herbicide pour éliminer efficacement les mauvaises herbes, d'autant plus depuis le développement de variétés de céréales résistantes au glyphosate.¹⁸³

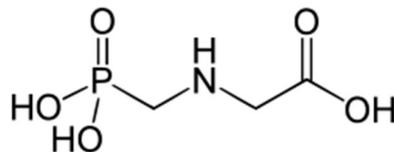


Figure 70 : Structure chimique du glyphosate

La toxicité potentielle du glyphosate pour la santé humaine fait l'objet de débats et de controverses. Le Centre international de recherche sur le cancer (CIRC) a déclaré en 2015 que le glyphosate est probablement cancérogène pour l'homme.¹⁸⁴ Deux ans plus tard, en 2017, l'Autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA) a publié un rapport affirmant que le glyphosate n'était pas cancérogène.¹⁸⁵

De plus, le glyphosate a une forte capacité à contaminer l'eau potable.¹⁸⁶ Une source majeure de cette contamination provient du ruissellement agricole.¹⁵ Lorsque les agriculteurs pulvérisent des herbicides contenant du glyphosate sur leurs cultures, une partie de ces produits chimiques peut être emportée par la pluie ou une irrigation excessive et se retrouver dans les cours d'eau, les rivières et les lacs à proximité. Le glyphosate peut ainsi pénétrer dans les sources d'eau potable, présentant un risque pour la santé publique. En conséquence, on estime que 99% des échantillons d'urine en France contiennent du glyphosate.²⁶ Cela souligne l'importance de surveiller régulièrement sa concentration dans l'eau pour garantir le respect de la norme de 0,1 µg/L imposée par les directives européennes.¹ Cependant, sa détection présente des défis importants en raison de ses propriétés chimiques spécifiques.

La détection précise du glyphosate nécessite souvent l'utilisation d'équipements analytiques sophistiqués tels que la chromatographie liquide à haute performance (HPLC) et la spectrométrie de masse (MS).^{187,188} Ces équipements ne sont pas disponibles dans tous les laboratoires et nécessitent un personnel qualifié. De plus, ces méthodes d'analyse sont souvent longues et coûteuses, ce qui représente un problème majeur pour de nombreux organismes de réglementation.

Il est donc nécessaire de développer des méthodes de détection ou de quantification du glyphosate qui puissent être mises en œuvre sur le terrain, directement sur les sites d'intérêt, pour garantir la sécurité de l'eau potable et de l'environnement.

3.3.1. Détection électrochimique du glyphosate

L'électrochimie apparaît comme une solution prometteuse à cet égard. Cette technique nécessite peu d'équipement, ce qui la rend adaptée à une utilisation près des zones d'intérêt. De plus, les manipulations sont relativement simples et ne requièrent pas de personnel hautement qualifié pour être effectuées. Elle pourrait ainsi constituer une méthode fiable pour surveiller la présence de glyphosate dans les sources d'eau potable et contribuer à assurer la qualité de l'eau potable.

La détection électrochimique du glyphosate a été étudiée à plusieurs reprises sur différentes surfaces telles que l'or, le cuivre, le carbone ou le mercure. En particulier, une récente étude menée par *Uka et al.*¹⁸⁹ a montré la détection du glyphosate par voltamétrie cyclique sur une électrode d'or électrodéposé.

De la même manière, et dans le but de réduire la limite de détection, une électrode d'or électrodéposée sur du carbone sérigraphié a été développée au laboratoire. La Figure 71a) montre les états de surface par MEB, pour l'électrode de carbone sérigraphié SPCE, alors que la Figure 71b) montre les microstructures obtenues après le dépôt d'or en forme d'étoiles. Cette structuration de l'or a été obtenue par chronocoulométrie à partir d'acide chloraurique HAuCl_4 à 6,35 mmol/L grâce à un protocole adapté de *Guo et al.*¹⁹⁰ Grâce à cette structure, la surface spécifique de l'électrode est beaucoup plus importante.

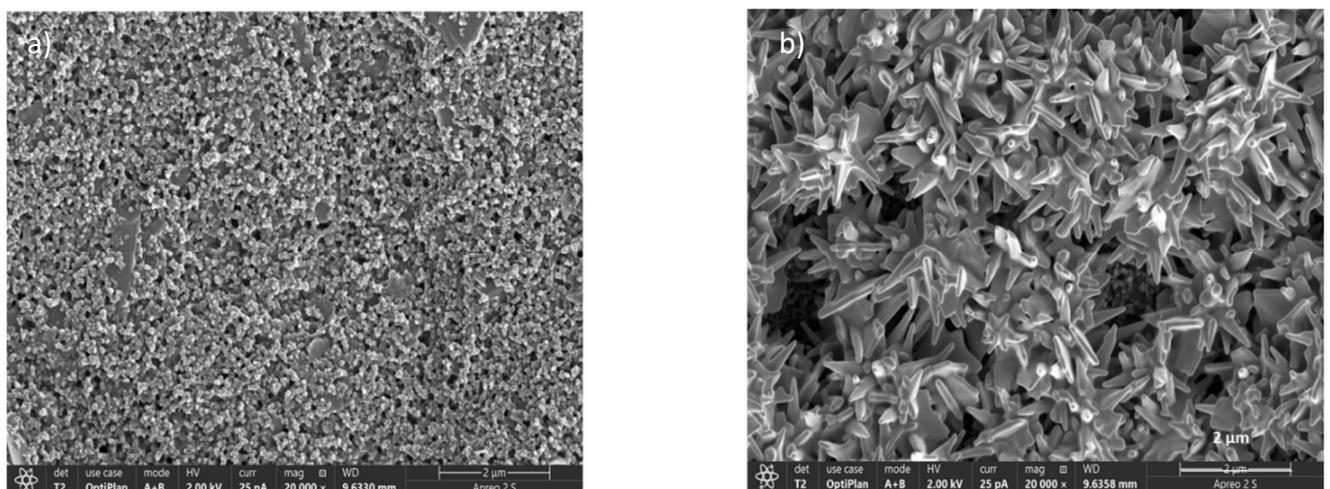


Figure 71 : Images MEB a) d'une électrode SPCE et b) d'une électrode Au/SPCE (barre = 2 µm).

La Figure 72 présente le voltamogramme après voltamétrie cyclique (CV) d'une électrode Au/SPCE dans une solution d'acide nitrique à 0,5 mol/L (en rouge) et en présence de 100 $\mu\text{mol/L}$ de glyphosate (en vert). La comparaison des deux cycles révèle l'apparition d'une vague d'oxydation aux alentours de 1 V, qui peut être attribuée au glyphosate selon Uka *et al.*¹⁸⁹

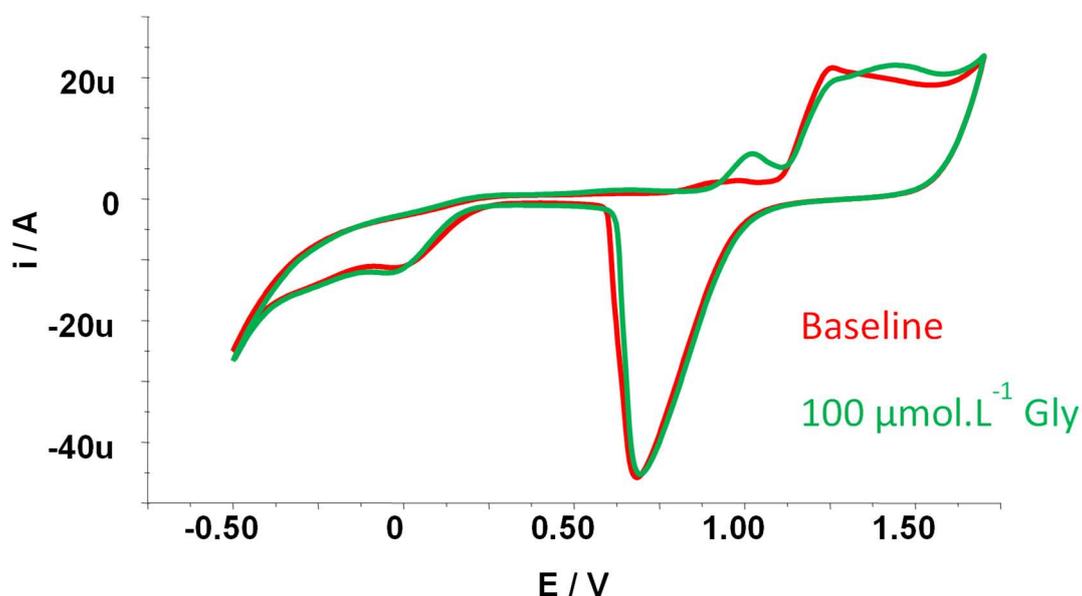


Figure 72 : Voltamogrammes d'une électrode Au/SPCE dans $[\text{HNO}_3] = 0,5 \text{ mol/L}$ (en rouge) et avec ajout de $[\text{GLY}] = 100 \mu\text{mol/L}$ (en vert).

La Figure 73a) présente les analyses chronopotentielles de stripage (SCP) effectuées sur une électrode Au/SPCE pour différentes concentrations en glyphosate. Cette méthode, plus sensible que la voltamétrie cyclique (CV), permet d'observer un pic d'oxydation du glyphosate sur la surface d'or, même à des concentrations beaucoup plus faibles. Cependant, pour les mesures réalisées à des concentrations de GLY inférieures à 30 $\mu\text{mol/L}$, un pic apparaît à environ 0,9 V. Ce pic est attribué à l'oxydation de la surface d'or. Il vient ainsi perturber le signal obtenu lors des mesures et limiter la capacité à baisser la limite de détection.

La Figure 73b) présente la régression linéaire obtenue en utilisant l'intégration de l'aire des pics en fonction de la concentration de glyphosate. Il est important de noter que la quantification du glyphosate est possible dans une gamme linéaire allant de 30 $\mu\text{mol/L}$ à 120 $\mu\text{mol/L}$. L'intégration a été réalisée uniquement sur le pic à 1 V, bien que le pic à 0,9 V le masque en partie. C'est pourquoi la droite de calibration passe en dessous de zéro à l'origine. Cependant, il est essentiel de souligner que la concentration minimale détectée, bien que non représentée dans cette figure, est de 4 $\mu\text{mol/L}$. Cela démontre la grande sensibilité de la méthode développée pour la détection du glyphosate, même à des concentrations relativement faibles.

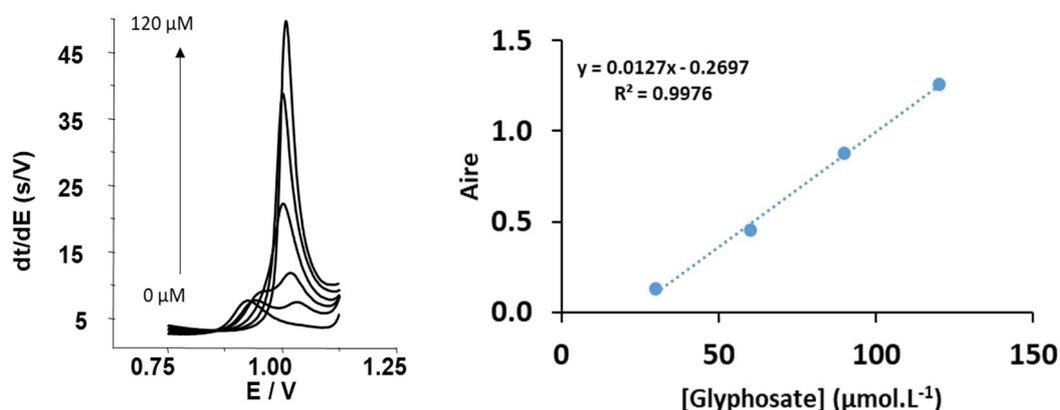


Figure 73 : a) Mesures SCP sur une électrode Au/SPCE dans une solution HNO_3 à 0,5 mol/L et du glyphosate de 0 à 120 $\mu\text{mol/L}$. b) Régression linéaire de l'aire du pic en fonction de la concentration en glyphosate.

Bien que la méthode de détection développée se soit avérée efficace pour la détection du glyphosate, la limite de détection actuelle n'est pas conforme à la limite légale établie par l'UE pour les pesticides dans l'eau, qui est de 0,1 $\mu\text{g/L}$ pour chaque substance, soit une concentration de 0,6 nmol/L pour le glyphosate.¹ Il est donc impératif de réduire la limite de détection d'un facteur 10 000 pour rendre ce capteur applicable sur le terrain. Cette amélioration de la sensibilité de détection serait cruciale pour assurer une surveillance efficace du glyphosate dans les sources d'eau et garantir la conformité aux normes de sécurité environnementale et sanitaire. Plusieurs approches ont été envisagées pour améliorer la détection du glyphosate.

Initialement, l'objectif était de développer un aptacapteur spécifique pour le glyphosate. Cependant, les aptacapteurs que nous avons étudiés n'ont pas permis la détection des pesticides. De plus, il était nécessaire de développer un aptamère anti-glyphosate avec un changement de conformation suffisamment important lors de la capture pour être observable en électrochimie. Finalement, l'interaction entre l'aptamère et la cible n'a pas pu être prouvée, car il a été démontré que l'enzyme utilisée pour étudier cette interaction était inhibée par le glyphosate.¹⁵¹

Les polymères à empreintes moléculaires (MIPs) semblent être une bonne alternative pour la détection du glyphosate. Ils sont conçus pour reconnaître et se lier sélectivement à des molécules spécifiques. Ils sont créés en réalisant la polymérisation de monomère, capable de se lier à la cible par des liaisons hydrogènes ou des empilement π - π , en présence de molécules cibles, ce qui génère des sites dans la structure du polymère capable de lier la molécule cible par des interactions physiques.¹⁰¹ Les MIPs peuvent être utilisés soit comme système de préconcentration¹⁸⁹, soit comme molécule de reconnaissance sur une électrode.^{100,191-193}

3.3.2. Polypyrrole comme polymère à empreinte moléculaire (MIP)

Les MIPs sont décrits comme hautement sélectifs,⁸⁹ car ils sont spécialement conçus pour reconnaître une molécule cible particulière dans un mélange de molécules. Cette sélectivité est basée sur la forme, la taille et les propriétés chimiques de la molécule cible, qui est introduite lors de la polymérisation.

Pour la détection du glyphosate, le polypyrrole a été précédemment utilisé comme matériau pour le développement de MIPs.^{100,102,192} Il présente l'avantage de pouvoir être préparé par électropolymérisation, en présence ou non d'une cible d'intérêt, ce qui permet de recouvrir facilement la surface d'une électrode ou d'autres structures conductrices, telles que des nanotubes de carbone.⁹⁹ Zhang *et al*¹⁰⁰ ont précédemment utilisé le polypyrrole pour former un MIP du glyphosate sur une électrode en or. La gamme de quantification du glyphosate obtenue pour ce capteur à base de MIP est de 30 nmol/L à 5 µmol/L, ce qui s'approche de la limite légale de 0,6 nmol/L. Dans leur méthode, ils utilisent une sonde redox externe qui interagit plus ou moins avec la surface en fonction de la concentration en glyphosate. Dans notre étude, le polypyrrole est aussi employé pour créer un MIP sur une surface en or, mais la détection est réalisée par oxydation du glyphosate directement sans l'utilisation d'une sonde redox. L'objectif est de simplifier le système pour favoriser une future application sur le terrain.

Le protocole de construction du capteur est schématisé dans la Figure 74. Tout d'abord, de l'or est électrodéposé à la surface d'une électrode à carbone sérigraphié (SPCE). Ensuite, le pyrrole est électropolymérisé en présence ou en l'absence de glyphosate, formant respectivement un MIP ou un polymère sans empreinte moléculaire (NIP). Le MIP est ensuite élué pour éliminer le glyphosate, créant ainsi un capteur basé sur un MIP qui permet la détection du glyphosate par oxydation.

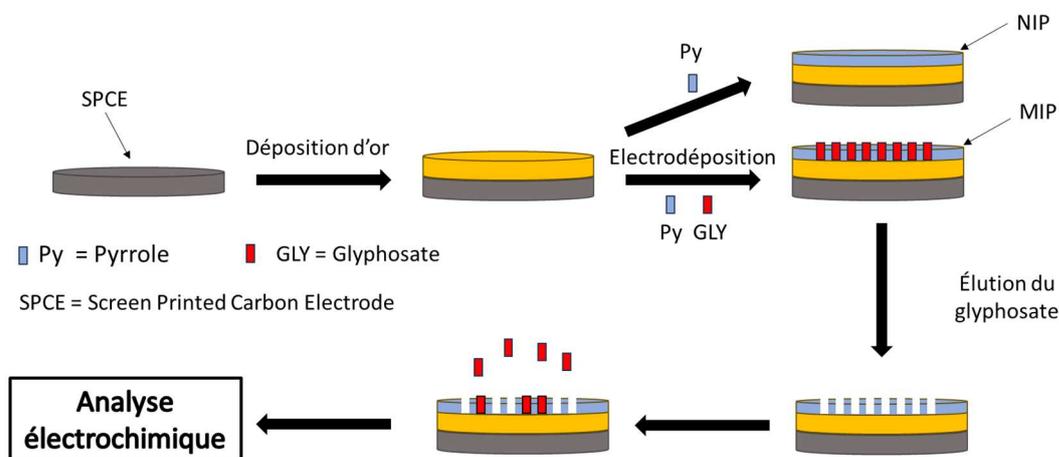


Figure 74 : Schéma de construction d'un capteur MIP/Au/SPCE

3.3.2.1. Caractérisation du dépôt

Le polypyrrole est déposé sur l'électrode Au/SPCE précédemment étudiée. La Figure 75 présente la CV enregistrée pendant le processus d'électropolymérisation du pyrrole en présence de glyphosate. Le rapport pyrrole/glyphosate est choisi à 5:1, conformément à la méthode décrite par Zhang *et al.*¹⁰⁰

Dans le premier cycle de voltamétrie cyclique (en bleu), on observe une vague d'oxydation à 0,1 V et une vague de réduction à -0,25 V, correspondant respectivement à l'oxydation et à la réduction de l'or. Sur tous les cycles, une forte oxydation autour de 0,8 V est observée, ce qui correspond à l'oxydation du pyrrole. Sur le cycle 1 (bleu) le signal d'oxydation et de réduction de l'or, est observé respectivement vers 0,1 V et -0,25 V. À mesure que le polymère se forme, des vagues d'oxydation et de réduction du polymère apparaissent, respectivement vers 0,4 V et 0,1 V. Dans le même temps, une diminution partielle de l'oxydation et de la réduction de l'or se produit, montrant que le polymère recouvre bien la surface d'or.

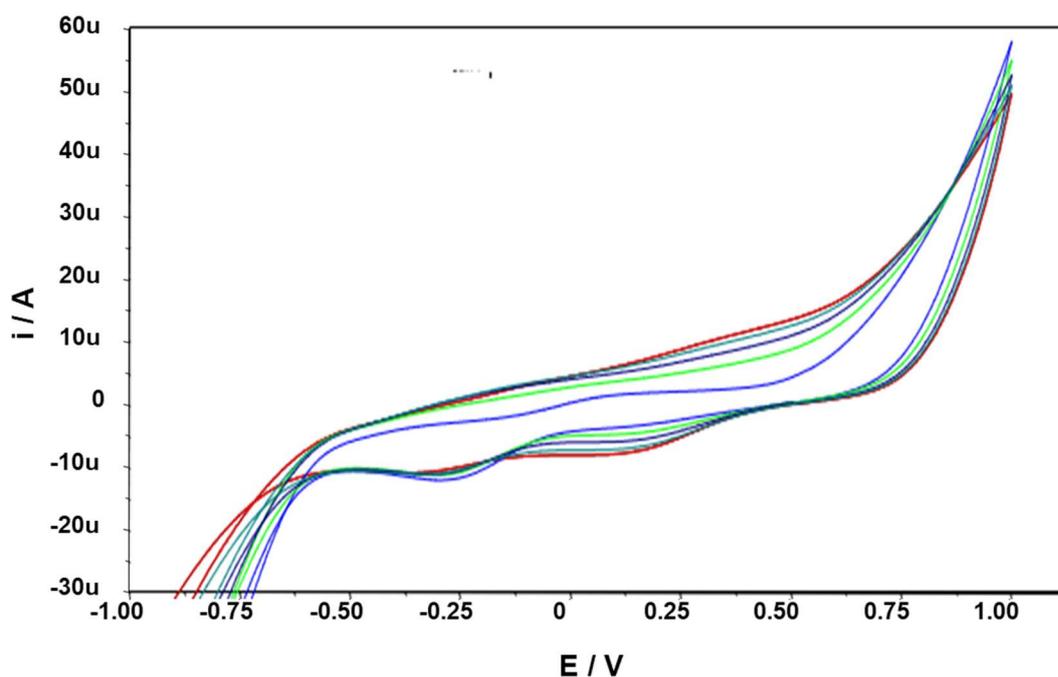


Figure 75 : Voltamogrammes d'électrodéposition par CV, à la vitesse de balayage de 50 mV/s, du polypyrrole pour former l'électrode MIP/Au/SPCE.

La Figure 76 présente les images obtenues par microscopie électronique à balayage (MEB) de l'électrode avant et après le dépôt du polymère à empreinte moléculaire (MIP) à base de pyrrole. À première vue, il semble y avoir peu de différences entre les deux images. En effet, la présence du polypyrrole à la surface de l'électrode n'est pas clairement perceptible. Cependant, les résultats de la voltamétrie cyclique ont montré que l'or était recouvert, ce qui suggère que le dépôt de polypyrrole est très fin et ne peut pas être observé au MEB. L'avantage de cette fine couche de polypyrrole est que les structures en étoile de l'électrode sont conservées, ainsi que la grande surface spécifique qui en découle. Par ailleurs, Zhang *et al.* ont décrit la nécessité d'obtenir un film fin pour pouvoir éluer correctement le glyphosate de celui-ci.

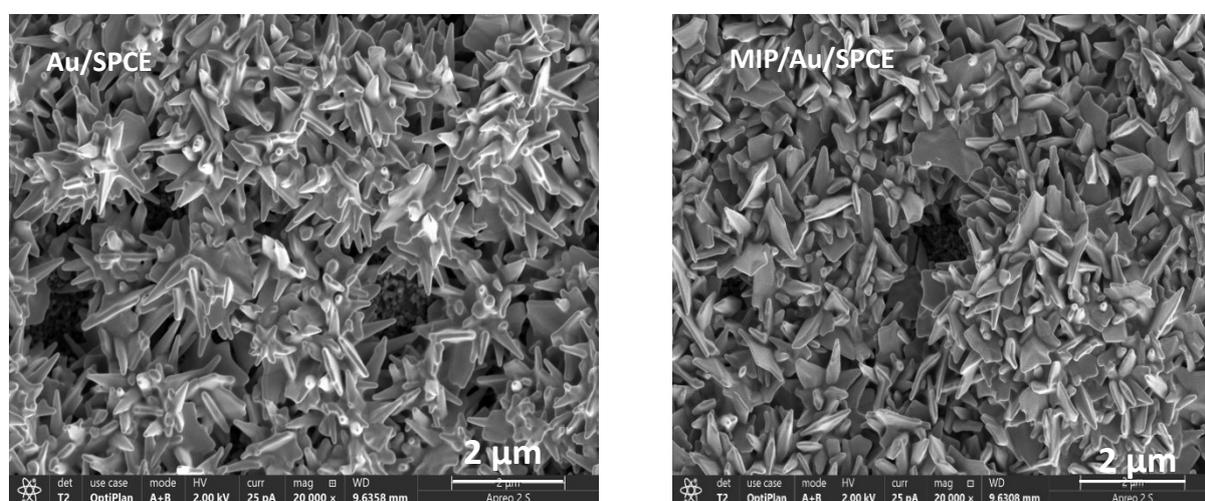


Figure 76 : Images MEB d'une électrode Au/SPCE à gauche et MIP/Au/SPCE à droite.

Une fois avoir déposé le MIP à la surface de l'électrode, il est nécessaire de retirer le glyphosate adsorbé dans le polypyrrole. Pour cela, des CVs sont effectuées dans une solution de NaOH à 0,1 mol/L. Cette méthode d'éluion est réalisée sur 20 cycles, présentés dans la Figure 77, pour éliminer autant de glyphosate que possible. Cependant, un changement significatif entre le premier cycle (rouge) et les suivants est observé. Une large vague d'oxydation apparaît entre 0,5 V et 1,2 V, correspondant à la suroxydation irréversible du polypyrrole qui intervient lorsque le potentiel dépasse 0,8 V. La Figure 78 présente le mécanisme de cette suroxydation du polypyrrole à pH basique tel que la décrit Li et Qian.¹⁶⁸ Sur cette CV, la réduction de l'or réapparaît, vers -0,25 V, au cours des cycles, laissant supposer que le glyphosate se dégage de la surface et expose ainsi l'or.

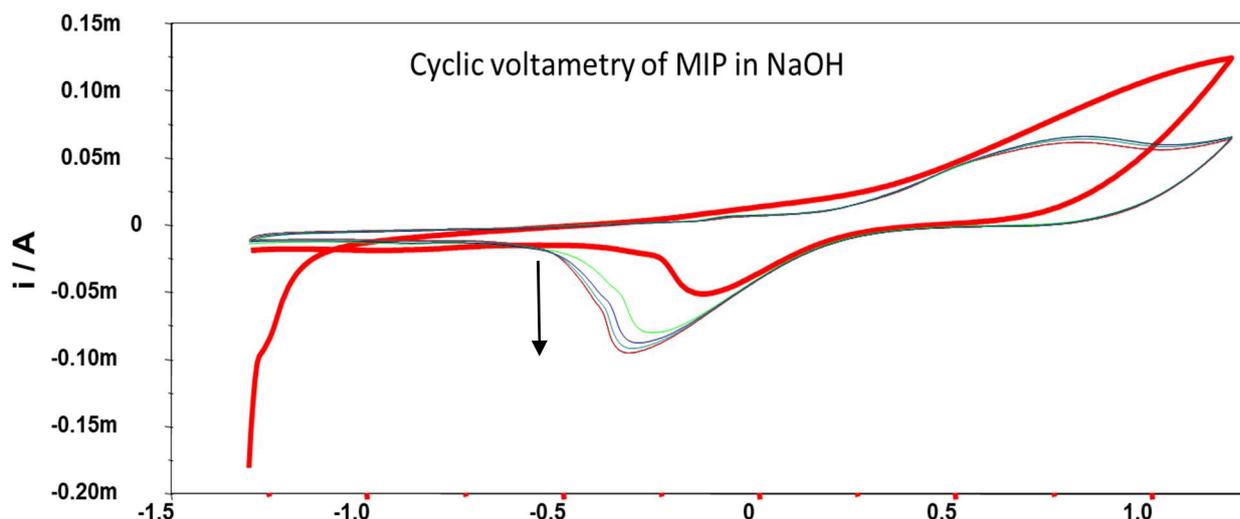


Figure 77 : Voltamogrammes CV, avec une vitesse de balayage de 100 mV/s, d'une électrode MIP/Au/SPCE dans une solution de NaOH à 0,1 mol/L pour éluer le glyphosate du film de polypyrrole, le premier cycle en rouge épais et le dernier en rouge fin.

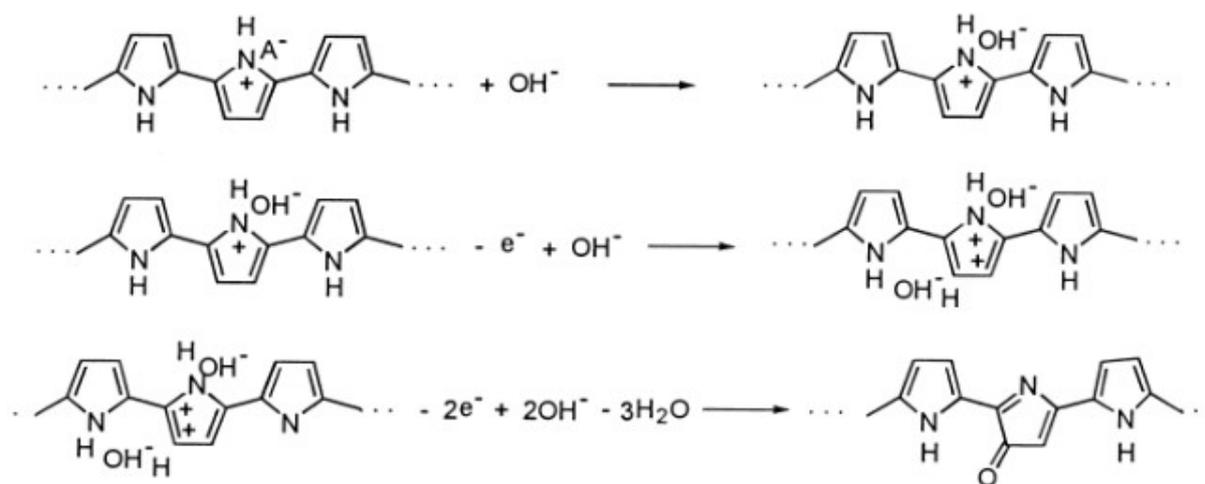


Figure 78 : Mécanisme de suroxydation irréversible du polypyrrole en milieu basique décrit par Li et Qian¹⁶⁸

Le glyphosate est élué du MIP dans la soude. À pH basique, le polypyrrole dans sa forme suroxydée a la capacité de repousser le glyphosate, qui se trouve sous forme de GLY^{3-} (Figure 79), grâce à des interactions électrostatiques. Ce processus devrait permettre d'éliminer efficacement le glyphosate du film MIP, le laissant prêt pour la détection spécifique de cette molécule cible.

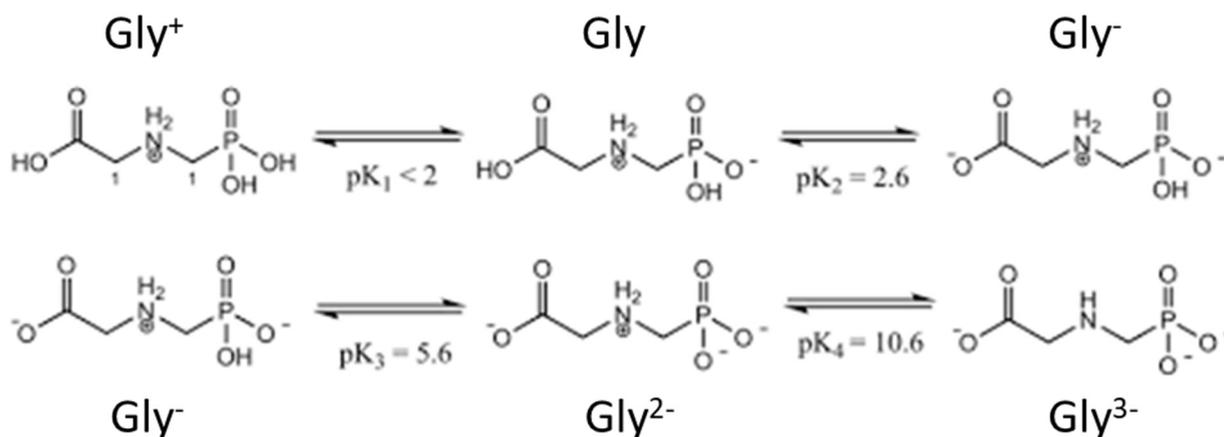


Figure 79 : Etat de protonation/déprotonation du glyphosate en fonction du pH.

Pour être certain d'avoir réalisé un MIP, il est nécessaire de savoir si le glyphosate a été intégré au dépôt lors de la polymérisation et s'il a été retiré lors de l'éluion. La spectroscopie photoélectronique à rayons X (XPS) a été choisie pour caractériser le MIP. La Figure 80 présente les spectres XPS, calibrés et déconvolués, des électrodes Au/SPCE recouvertes d'un NIP ou de deux MIP réalisés avec une solution contenant du GLY à 7 mmol/L et 10 mmol/L ou d'un MIP après éluion avec NaOH.

Tout d'abord, le spectre C1s de ces électrodes confirme la présence d'une chaîne carbonée à la surface de l'or. Cette chaîne carbonée est attribuée au polypyrrole, éliminant ainsi les doutes sur la présence du polymère qui pouvait être émis lors de l'observation des images MEB (Figure 76).

En comparant les spectres C1s des différentes électrodes on constate que :

- Le NIP, est composé principalement de liaisons C-C (pic à 285 eV) et de liaisons C-N (pic à 286,5 eV), caractéristiques du polypyrrole. Cependant, d'autres fonctions, telles que les liaisons C-O et O=C-O, indiquent que le polymère est partiellement suroxydé.
- Les MIPs présentent les liaisons caractéristiques du polypyrrole C-C et C-N. En revanche, la composante C-O du MIP est bien plus importante que pour le NIP. Sur le MIP 10mM, la composante O=C-O est vraiment plus élevée que sur les deux précédents. Ces deux composantes pourraient être attribuées à la présence du glyphosate dans le MIP.
- Le MIP-élué présente les mêmes pics C1s que le MIP, il est impossible d'affirmer le départ du glyphosate sur la base des spectres C1s.

Les pics O1s de chaque électrode sont alors comparés :

- Le NIP, est composé de liaison C-O et C=O dans la chaîne du polymère, ce qui est lié à son état d'oxydation.
- Pour le MIP 7,5mM, l'intensité du pic O1s observé a augmenté par rapport au NIP ce qui indique la présence de plus d'oxygène. Le pic attribuable à la fonction C-O est légèrement supérieur par rapport à celui de la fonction C=O. Les différences avec le NIP ne sont pas flagrantes sur les spectres C1s.
- Le MIP obtenu en présence de (GLY)=10mM possède un spectre bien différent des autres avec une composante C=O très élevée, de plus l'intensité du pic O1s est bien plus importante que sur les autres spectres. Ces deux remarques semblent indiquer la présence de glyphosate dans ce film de polymère.
- Sur le MIP élué, la composante C-O est beaucoup moins intense que la composante C=O. La suroxydation du polypyrrole crée des fonctions carbonyles à la surface du polymère, il est donc normal de retrouver les fonctions C=O. En revanche, il n'est pas possible de déterminer la présence ou non du glyphosate sur le MIP-élué car les fonctions C=O du glyphosate et du polypyrrole suroxydé entrent en compétition sur ce spectre.

Les spectres N1s n'apportent pas d'information sur la présence du glyphosate car on note une très faible variation d'une électrode à une autre. Trois pics de déconvolutions apparaissent pour chaque électrode. Le pic majoritaire, à 400 eV, correspond à la fonction amine. Ensuite deux pics, plus faibles, se distinguent vers 396 eV et 402 eV, respectivement pour les liaisons C-N⁺ et C=N. L'apparition de la fonction C-N⁺ dans la chaîne de polypyrrole est attribuable au dopage du polypyrrole par les ions acétates présents lors de la polymérisation.¹⁹⁴ La fonction C=N, apparaît lors de la suroxydation irréversible du polymère.

La XPS a permis de mettre en évidence des différences de composition dans la structure des différents dépôts qui semblerait indiquer la présence du glyphosate. Cependant, l'élué du glyphosate n'a pas pu être montrée par l'analyse qualitative, car les fonctions C=O attribuables au glyphosate peuvent être compensées par les mêmes fonctions attribuables au polypyrrole suroxydé sur le spectre. L'analyse quantitative de ces surfaces est nécessaire pour déterminer la présence ou non de glyphosate.

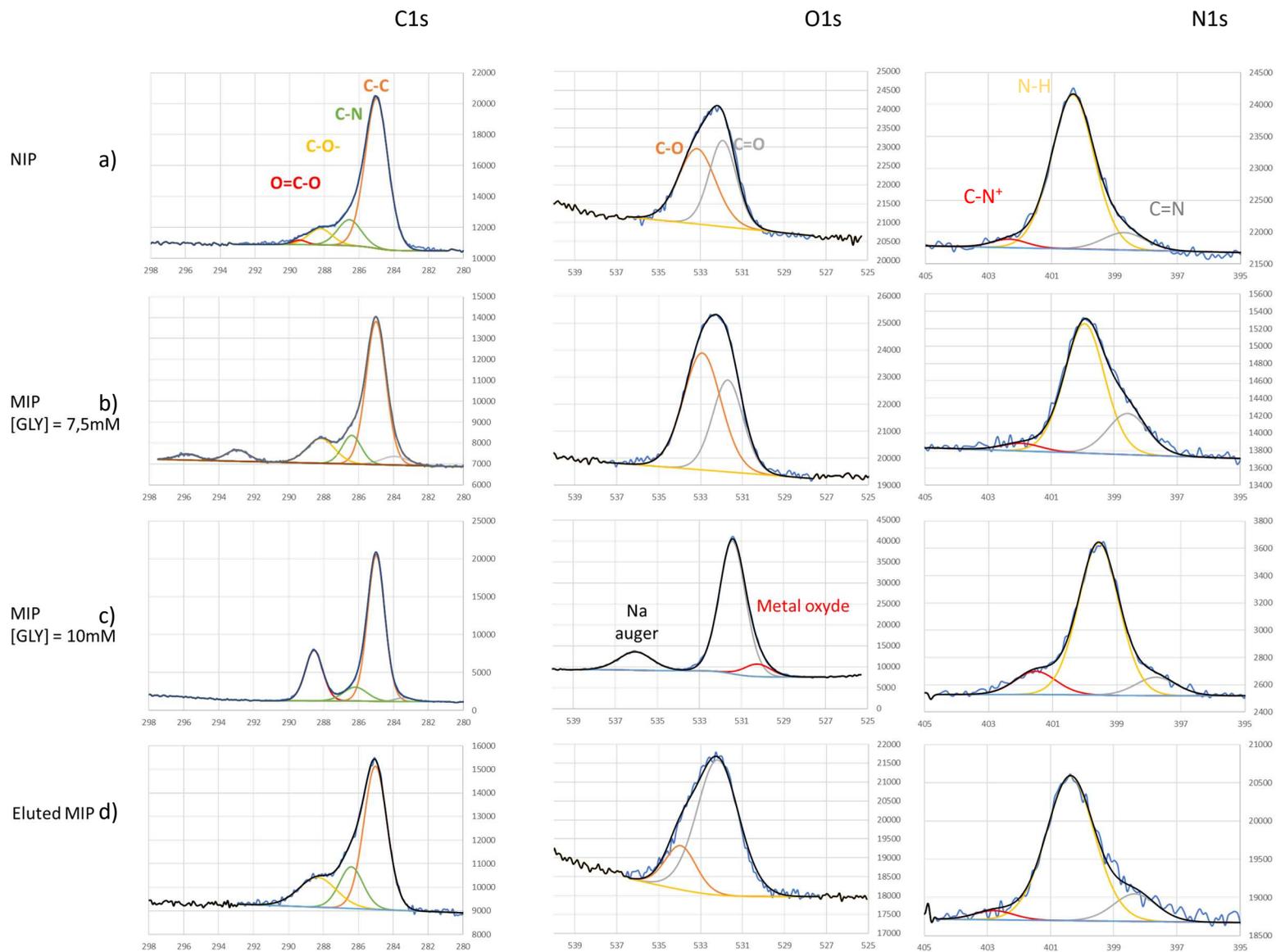


Figure 80 : Spectres XPS pour une électrode a) NIP/Au/SPCE b) MIP/Au/SPCE avec [GLY] = 7,5 mmol/L c) MIP/Au/SPCE avec [GLY] = 10 mmol/L et d) MIP-élué /Au/SPCE

Pour déterminer la présence ou non de glyphosate dans les différents films de polypyrrole, une analyse quantitative des différents spectres a été réalisée et résumée dans le Tableau 6.

Tout d'abord, la quantité de carbone est plus élevée sur l'électrode sans empreinte moléculaire (NIP), ce qui est attendu car elle est principalement composée de la chaîne carbonée du polypyrrole. Ensuite, de la concentration en carbone la plus élevée à la moins élevée, on retrouve le MIP, le MIP élué et enfin le MIP obtenu avec une concentration en glyphosate de 10 mmol/L. Les MIPs semblent composés de moins de carbones que les autres films, notamment car leur concentration en oxygène est beaucoup plus élevée.

En effet, en ce qui concerne la quantité d'oxygène à la surface des électrodes, il est intéressant de noter que les électrodes comportant du glyphosate ont un taux d'oxygène beaucoup plus élevé que les autres. Les électrodes NIP et MIP-élué possèdent un pourcentage d'oxygène d'environ 13 % alors que les MIPs à 7 mM et 10 mM possèdent respectivement, 22,22 % et 32,56 % d'oxygène. On remarque alors que la quantité d'oxygène augmente avec la concentration en glyphosate, comme celui-ci comporte cinq atomes d'oxygène, il est donc logique que sa présence fasse augmenter le pourcentage pour cet atome.

En ce qui concerne la quantité d'or détectée, lorsque le glyphosate est élué du MIP, la quantité d'or observable est multipliée par 2,5, passant de 5,74 % à 13,69 %. Ce résultat suggère que plus il y a de glyphosate lors de la polymérisation, moins le polypyrrole recouvre la surface de l'or. Cela confirme la présence de cavités dans le MIP capables d'accueillir le glyphosate, ce qui est en accord avec le concept d'empreinte moléculaire. Une fois le MIP élué, les cavités sont bien vides et laissent l'accès à la surface d'or.

Tableau 6 : Composition atomique de la surface de chaque électrode par XPS

Orbitale atomique	NIP	MIP [GLY] = 7,5mM	MIP élué	MIP [Gly] = 10 mM
C1s	75,16%	64,17%	65,37%	52,99%
N1s	7,18%	7,87%	7,58%	8,99%
O1s	12,87%	22,22%	13,36%	32,56%
Au4d	4,79%	5,74%	13,69%	3,67%

L'électrode MIP-élué/Au/SPCE forme finalement le capteur final. Maintenant, il est nécessaire d'étudier la capacité de ce capteur à détecter le glyphosate.

3.3.2.2. Détection du glyphosate

Le capteur MIP-élué/Au/SPCE a été testé en présence de différentes concentrations en glyphosate. La Figure 81 montre les mesures de SCP de ce capteur d'abord testé en l'absence de glyphosate (en noir), puis en présence de solutions contenant du glyphosate à 100 $\mu\text{mol/L}$ (en bleu) ou 200 $\mu\text{mol/L}$ (en rouge). Les signaux obtenus en présence de glyphosate sont nets et intenses. Pour $[\text{GLY}] = 100 \mu\text{mol/L}$, l'intensité du signal d'oxydation du glyphosate atteint 200 s/V, ce qui est 5 fois supérieures à l'intensité obtenue pour une électrode Au/SPCE pour la même concentration de GLY (Figure 73). De plus, lorsque la concentration de glyphosate est doublée à 200 $\mu\text{mol/L}$, l'intensité du signal double également.

Ces résultats sont encourageants et indiquent que le capteur MIP/Au/SPCE est capable de détecter efficacement le glyphosate à des concentrations élevées, et sa sensibilité semble être améliorée par rapport à la détection sur une électrode d'or. Cependant, ces résultats incitent également à réduire la concentration de glyphosate en solution pour déterminer la limite de détection du capteur.

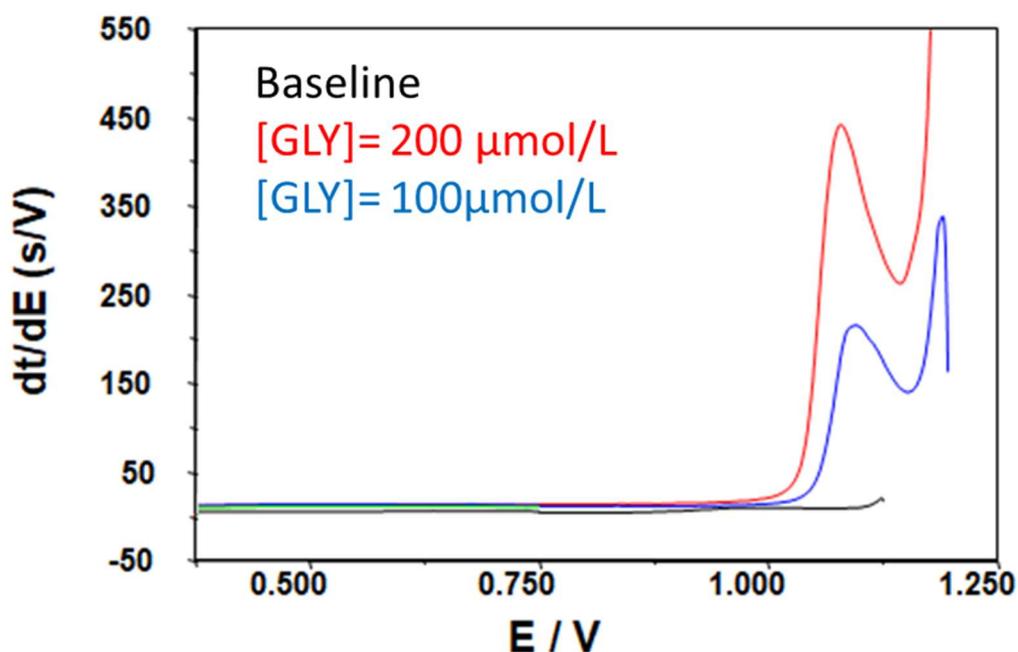


Figure 81 : Mesures SCP d'un capteur MIP-élué/Au/SPCE dans une solution contenant du HNO_3 à 0,5 mol/L, en l'absence de GLY (en noir) et en présence de GLY à 100 $\mu\text{mol/L}$ (en bleu) et 200 $\mu\text{mol/L}$ (en rouge).

Pour tester la limite de détection du capteur, la concentration en glyphosate a été réduite progressivement. Cependant, pour des concentrations faibles, telles que 1 nmol/L (Figure 82), le signal obtenu par SCP se montre non répétable. Lorsque la mesure est répétée, le pic d'oxydation augmente.

La Figure 82 présente l'évolution du signal lorsque des mesures de SCP sont répétées sur une électrode MIP-élué/Au/SPCE dans une même solution de glyphosate à une concentration de 1 nmol/L. Le pic d'oxydation du glyphosate est initialement faible, environ 20 s/V, puis il augmente rapidement pour atteindre des valeurs très hautes, 320 s/V dans cet exemple. Initialement, l'hypothèse était que la cinétique d'adsorption du glyphosate à la surface du polypyrrole était lente, nécessitant un certain temps pour atteindre un état d'équilibre entre le glyphosate adsorbé à la surface et celui en solution.

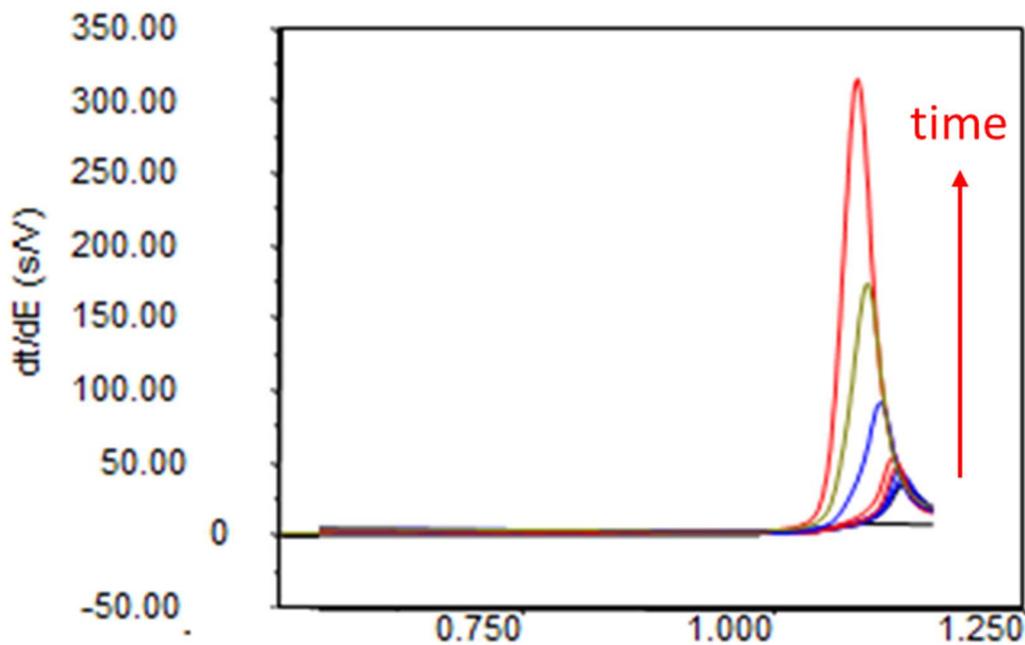


Figure 82 : Mesures SCP, répétées au cours du temps sur une électrode MIP-élué/Au/SPCE dans une solution à 1 nmol/L, montrant la croissance du signal.

Cette hypothèse reposait sur le modèle de Langmuir, qui peut être adapté pour l'adsorption de molécule en solution et permet de décrire la cinétique d'adsorption d'un composé sur une surface.¹⁹⁵ Cependant, il est devenu évident que le signal ne semblait jamais atteindre un état stable et continuait de croître. L'adsorption du glyphosate à ce stade semble ne pas avoir de limite, ce qui signifie que le modèle de Langmuir ne peut pas s'appliquer dans ce contexte.

En étudiant la cinétique de croissance du pic, il est apparu que la concentration avait un impact sur celle-ci. La Figure 83 présente les résultats de l'étude sur l'effet de la concentration de glyphosate sur la croissance du pic d'oxydation observé lors des mesures SCP. Trois concentrations différentes de glyphosate ont été testées : 1 nmol/L, 10 nmol/L et 20 nmol/L, chacune sur un capteur neuf.

Les cinétiques obtenues montrent des différences significatives. Il semble qu'en augmentant la concentration de glyphosate, le pic d'oxydation augmente plus rapidement. Cette observation suggère qu'il pourrait être possible de déterminer la concentration d'une solution de glyphosate en fonction de la cinétique d'oxydation. En d'autres termes, la rapidité avec laquelle le signal d'oxydation augmente pourrait servir de base pour quantifier la concentration de glyphosate dans une solution.

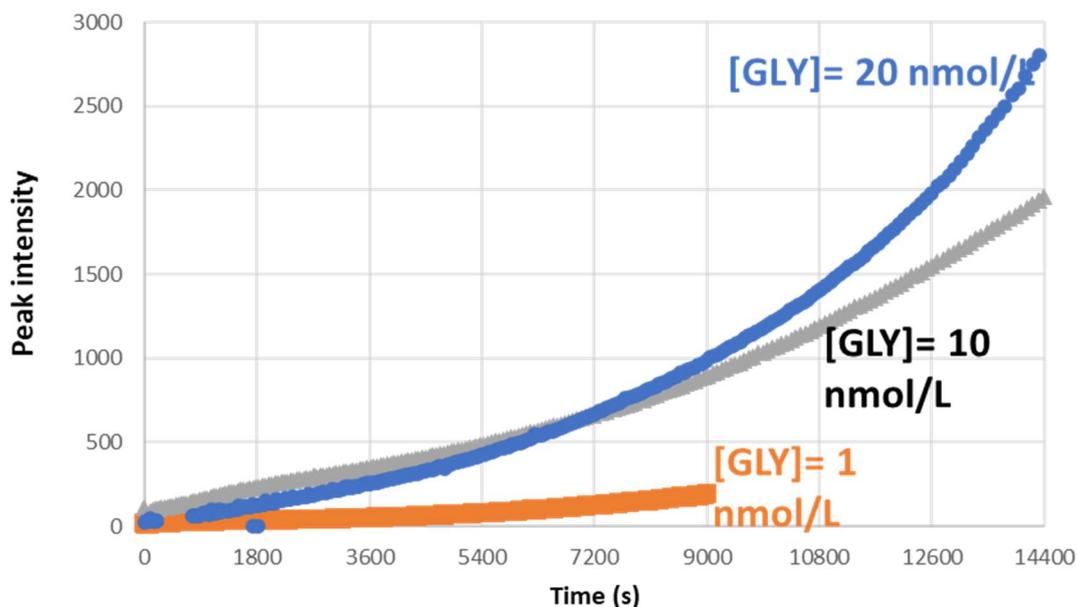


Figure 83 : Intensité du pic d'oxydation en fonction du temps pour trois concentrations de glyphosate différentes : 1 nmol/L (en orange), 10 nmol/L (en gris) et 20 nmol/L (en bleu).

Pour déterminer la limite de quantification grâce à l'étude de la cinétique, il a été choisi d'abaisser encore la concentration en glyphosate à 10 pmol/L, 1 pmol/L et 100 fmol/L. La Figure 84 montre les pics obtenus après 8 heures de mesures répétées. La différence de signaux entre ces concentrations est nettement discernable. Ce test démontre qu'en adaptant la durée de la mesure, il pourrait être possible de faire varier la gamme de détection du capteur.

Cela suggère que le capteur basé sur le polymère à empreinte moléculaire a le potentiel de détecter le glyphosate dans une plage de concentrations allant de concentrations élevées à de concentrations extrêmement faibles, en faisant varier le temps de mesure. Cette flexibilité dans la gamme de détection renforce l'utilité du capteur pour des applications de détection de glyphosate dans divers contextes.

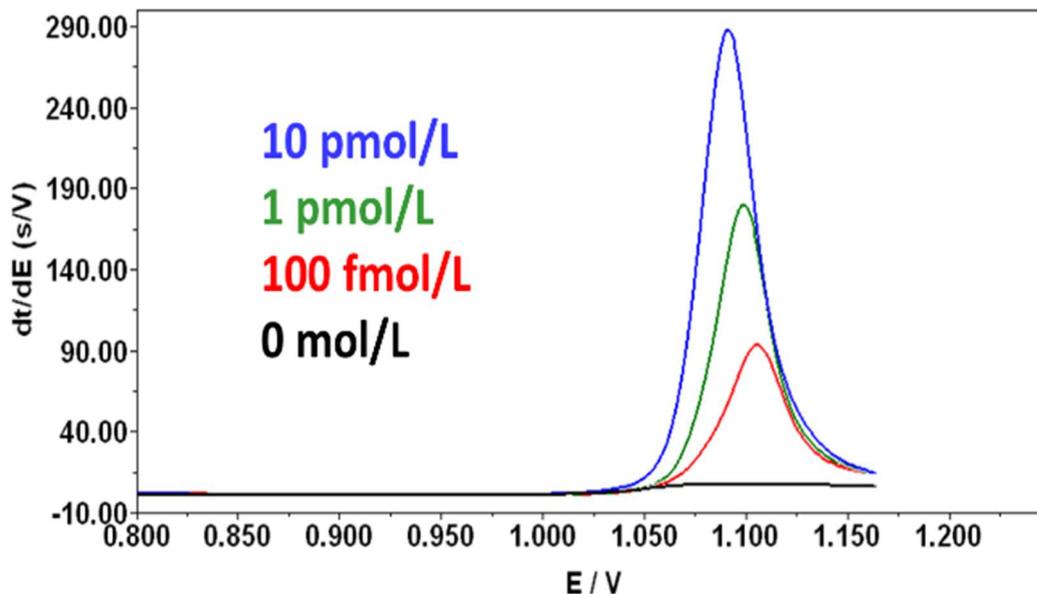


Figure 84 : Mesures SCP obtenue après 8h de mesures répétées pour trois concentrations de glyphosate différentes : 100 fmol/L (en rouge), 1 pmol/L (en vert) et 10 pmol/L (en bleu).

Cependant, pour le moment, aucune gamme avec une détection linéaire n'a pu être réalisée. La priorité a été d'essayer de comprendre les phénomènes mis en jeu dans ce mécanisme. Néanmoins, cette observation ouvre la voie à de nouvelles possibilités pour améliorer la détection et la quantification du glyphosate à des concentrations extrêmement faibles telles que le picomole par litre.

3.3.2.3. Étude du mécanisme de détection

Pour comprendre les mécanismes impliqués dans la détection du glyphosate sur une électrode MIP-élué/Au/SPCE chacun des composants du capteur a été analysé de manière isolée pour explorer les interactions du glyphosate avec le polypyrrole ou l'or. Différentes séries de mesures SCP ont été effectuées, permettant de mieux comprendre le mécanisme de détection mis en place par l'électrode MIP-élué/Au/SPCE.

Une SPCE est plongée dans une solution d'acide chloraurique pour déterminer l'influence de l'or en solution sur le signal. La Figure 85 montre la superposition des mesures SCP effectuées. Deux pics d'oxydation sont observés, à 0,9 V et 1,2 V. Ces pics d'oxydation augmentent légèrement lors des répétitions de mesures.

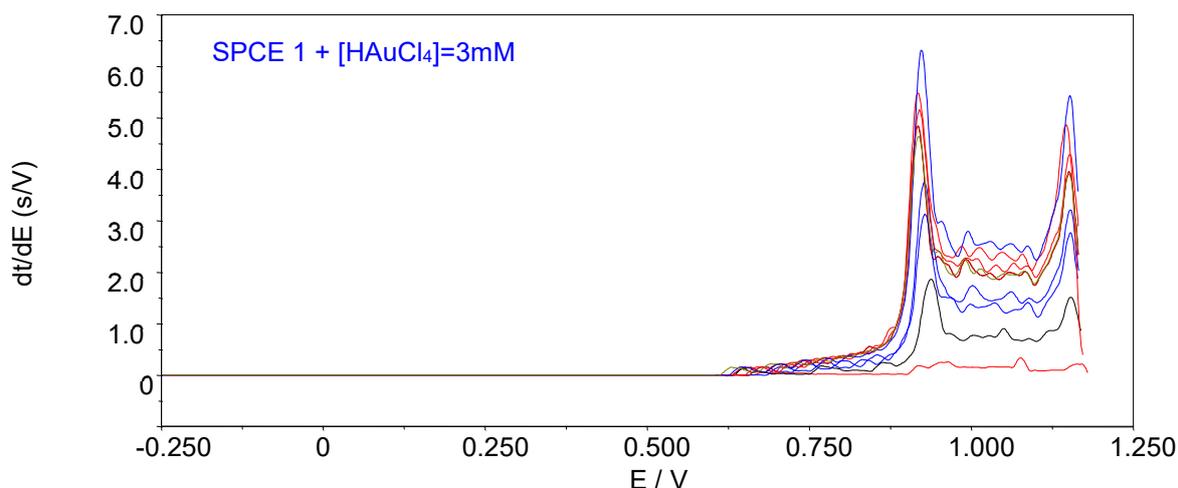


Figure 85 : Superposition de mesures SCP répétées sur une électrode SPCE dans une solution de HAuCl_4 à 3 mmol/L.

Ensuite, l'influence du glyphosate, puis du mélange acide chloraurique et glyphosate, a été étudiée. La Figure 86 montre des mesures SCP réalisées sur une électrode SPCE plongée dans une solution de glyphosate à 100 $\mu\text{mol/L}$ en rouge. On constate qu'aucun pic d'oxydation n'apparaît. Ensuite, la même solution est soumise à l'ajout de 3 mmol/L d'acide chloraurique. Lorsqu'une solution d'or est ajoutée, un pic apparaît à environ 1,05 V, qui augmente rapidement avec la répétition des mesures. Il semble qu'une interaction entre l'or en solution et le glyphosate permette une forte oxydation, avec une accumulation de l'espèce oxydée à la surface de l'électrode.

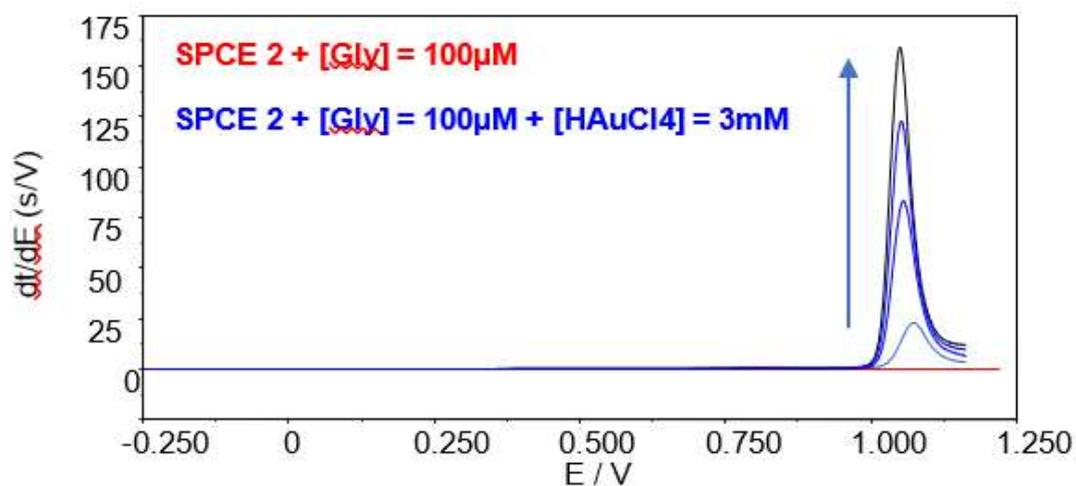


Figure 86 : Superposition des mesures SCP répétées sur une électrode SPCE dans une solution de glyphosate à 100 $\mu\text{mol/L}$, en l'absence (en rouge) ou en présence de HAuCl_4 à 3 mmol/L (en bleu).

Pour déterminer l'influence du polymère, du polypyrrole a été déposé sur une électrode SPCE pour former une électrode NIP/SPCE. Lorsque cette électrode a été testée en l'absence de glyphosate, des mesures SCP répétées ont révélé un pic d'oxydation à 1,2 V (Figure 87a). Ce pic est donc attribué à l'oxydation du polypyrrole à la surface de l'électrode en carbone et reste stable au fil des répétitions des mesures.

Cependant, lorsque du glyphosate a été ajouté à la solution à une concentration de 150 $\mu\text{mol/L}$, le pic d'oxydation à 1,2 V, lié au polypyrrole, a augmenté à chaque répétition de mesure (Figure 87b). Cela indique que l'oxydation du polypyrrole a été influencée par la présence de glyphosate dans la solution.

En résumé, l'oxydation du polypyrrole crée un pic à 1,2 V, mais qui évolue en présence de glyphosate. Cependant, le potentiel d'oxydation ne correspond pas au potentiel de 1 V observé pour le capteur MIP/Au/SPCE.

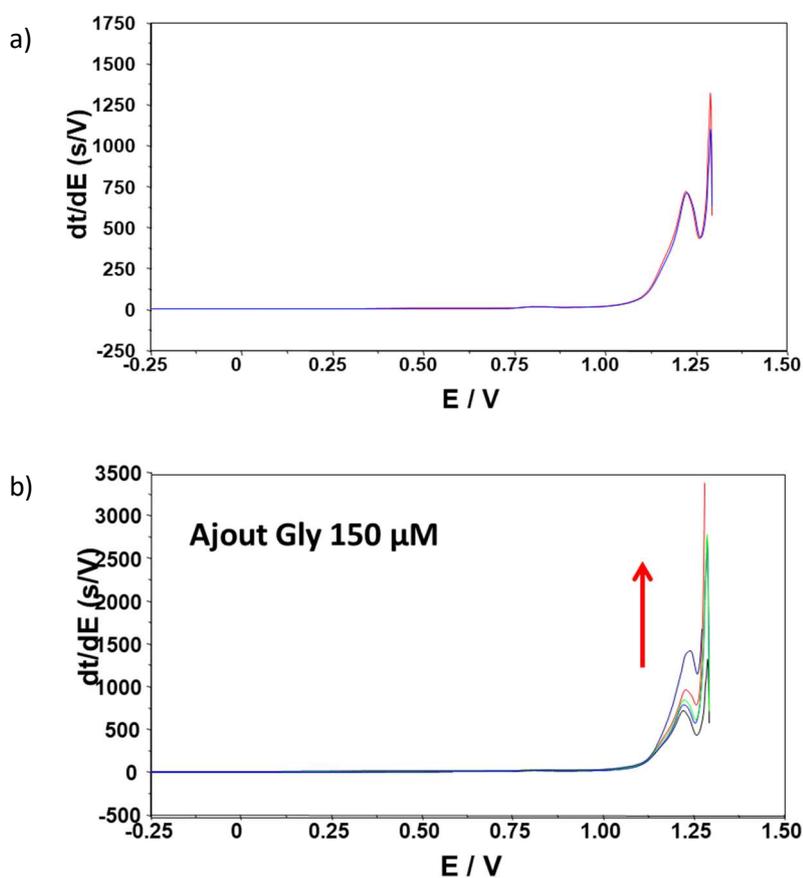


Figure 87 : Mesures SCP répétées sur une électrode NIP-Suroxydé/SPCE dans une solution acide acétique/acétate de sodium en l'absence (a) ou en présence de glyphosate (b).

Le Tableau 7 résume l'ensemble des résultats obtenus dans cette étude. En comparant les potentiels des pics d'oxydation pour chaque système, deux pics distincts sont observés.

Le premier à 1,2 V, correspond à l'oxydation du polypyrrole, il augmente lorsque le glyphosate est ajouté. L'hypothèse est que cette augmentation est due au dopage du polymère par le glyphosate, ce qui le rend plus oxydo-actif et modifie l'intensité du pic d'oxydation.

Le deuxième pic apparaît vers 1,02-1,05 V, et correspondrait à l'oxydation conjointe du glyphosate et de l'or en solution. Ce pic semble être le même que celui observé sur le capteur MIP-élué/Au/SPCE lors de l'ajout de glyphosate. Le polypyrrole semble jouer un rôle à la surface de l'électrode d'or, car en son absence, le pic n'augmente pas. L'hypothèse formulée est que le polypyrrole retient le glyphosate et l'or en solution à la surface du capteur pendant les mesures, entraînant une accumulation de la quantité d'or et de glyphosate disponible pour l'oxydation à la surface de l'électrode et donc une augmentation de l'intensité du pic.

Tableau 7 : Récapitulatif des pics d'oxydations obtenus pour les différents systèmes.

Système	Potentiel du pic (V)	Stabilité/évolution
MIP-élué/Au/SPCE + Gly	1,05	Augmente
Au/SPCE + Gly	1,02	Stable
SPCE + HAuCl ₄	0,9 et 1,2	Augmente
SPCE + Gly + HAuCl ₄	1,05	Augmente
SPCE/MIP	1,2	Stable
SPCE/MIP + Gly	1,2	Augmente

3.3.3. Conclusion

En conclusion, l'électrochimie apparaît comme une solution prometteuse pour la détection du glyphosate. Elle présente l'avantage d'être peu coûteuse, nécessitant un équipement minimal, et des procédures de manipulation relativement simples.

Dans le cadre de cette étude, une électrode en or électrodéposée sur du carbone sérigraphié (Au/SPCE) a été développée pour la détection électrochimique du glyphosate. Les résultats ont montré une amélioration significative de la sensibilité par rapport à la détection sur une électrode en or étudiée par Uka *et al.*¹⁸⁹ Grâce à cette électrode Au/SPCE, il est possible de quantifier le glyphosate dans la gamme de 30 à 120 $\mu\text{mol/L}$, avec une limite de détection de 4 $\mu\text{mol/L}$.

Cependant, pour rendre cette méthode applicable sur le terrain et conforme aux normes de sécurité environnementale, il est impératif de réduire la limite de détection d'un facteur de 10 000, soit une concentration de 0,6 nmol/L pour le glyphosate.

Dans cette optique, un polymère à empreinte moléculaire à base de polypyrrole a été utilisé pour améliorer la détection du glyphosate. Le polypyrrole a été choisi en raison de sa capacité à être électropolymérisé, en présence ou en l'absence de glyphosate. La caractérisation du dépôt a montré que le polypyrrole couvre la surface de l'or de manière fine, conservant les structures en étoile de l'électrode et offrant une grande surface spécifique. La formation du MIP semble avoir été réalisée avec succès, car après l'éluion du glyphosate, la spectroscopie XPS montre la présence d'or supplémentaire. Cet or supplémentaire est révélé par les cavités vidées en glyphosate. Ces cavités dans le MIP sont donc capables d'accueillir le glyphosate.

La détection du glyphosate a été testée sur ce capteur MIP/Au/SPCE, montrant une sensibilité accrue par rapport à la détection sur une Au/SPCE classique. Les résultats ont indiqué la possibilité de détecter efficacement le glyphosate sur une large plage de concentrations, y compris des concentrations extrêmement faibles. Cependant, pour l'instant, aucune gamme de quantification n'a été établie, et il reste à optimiser les paramètres de mesure pour réduire le temps d'analyse actuellement trop long.

4. Conclusion générale

L'objectif principal de cette recherche était de concevoir des capteurs électrochimiques pour la détection de pesticides, en particulier dans le contexte de la surveillance environnementale. Pour ce faire, deux approches principales ont été explorées, chacune avec ses avantages et ses défis spécifiques.

Dans un premier temps, le développement d'une plateforme électrochimique qui doit accueillir des aptamères a été étudié. Cette plateforme a deux fonctions : immobiliser l'aptamère sur la surface et améliorer la sensibilité du capteur. Pour cela, deux voies différentes ont été envisagées, l'utilisation de polymères conducteurs et l'auto-assemblage du peptide FF.

L'objectif était donc d'obtenir un film de copolymère à base de polypyrrole sur lequel les aptamères peuvent être immobilisés par des liaisons covalentes. Ce film devait être sensible à pH neutre et présenter une surface spécifique élevée pour augmenter la quantité d'aptamère à la surface. L'électrocopolymérisation pyrrole et de l'acide pyrrole-1-propionique sur une électrode en carbone sérigraphié a permis de conserver la rugosité de l'électrode, assurant ainsi une surface spécifique élevée pour le greffage d'aptamères et les fonctions nécessaires à l'immobilisation des aptamères. La sensibilité du capteur envers la sonde redox a été améliorée grâce à une suroxydation irréversible du polymère. Cependant, des phénomènes de dopage du polymère ont été observés, perturbant la sensibilité du capteur, et des périodes d'incubation ont été nécessaires pour équilibrer ces phénomènes et obtenir des mesures stables. Malgré ces défis, le capteur a montré des résultats prometteurs pour la détection de la thrombine, avec une gamme de quantification linéaire de 0,1 à 0,5 $\mu\text{mol/L}$ et une limite de détection de 0,02 $\mu\text{mol/L}$. Cependant, la détection du pesticide thiabendazole s'est révélée inefficace. L'hypothèse est que la variation de conformation de l'aptamère est trop faible pour faire varier la résistance du capteur. Des études par modélisation sont en cours pour étudier cette hypothèse.

Ensuite, l'auto-assemblage de fibres de dipeptide L-Phénylalanine-L-Phénylalanine (FF) a été étudié pour fonctionnaliser une électrode en carbone. L'objectif était d'optimiser la structure des fibres pour les immobiliser à la surface d'une électrode de carbone, améliorant la sensibilité et permettant le greffage des aptamères. Finalement, protocole d'auto-assemblage spécifique du peptide en fibres, par solubilisation dans l'HFIP et incubation dans un bain à ultrasons à 70 °C, a permis d'obtenir une plateforme électrochimique présentant une grande surface spécifique grâce aux nanostructures stables des fibres de FF. L'immobilisation des aptamères et la détection de la thrombine ont été réalisées avec succès, bien que des études ultérieures soient nécessaires pour établir une gamme de concentrations précise pour la détection de la thrombine.

Dans ces études sur les aptacapteurs, la détection de deux cibles a été testée, la thrombine et le thiabendazole. Les capteurs se sont révélés efficaces seulement pour la détection de la thrombine, sûrement parce que la protéine est plus imposante que le pesticide. Cette plateforme électrochimique ouvre cependant la voie au développement d'autres

aptacapteurs électrochimiques pour la détection de protéines, comme par exemple la protéine Tau responsable de la maladie d'Alzheimer¹⁸⁰, ou la protéine C-réactive, marqueur d'inflammation, dont la détection peut permettre de prévenir les infections bactériennes ou autres.^{179,181} De plus, les fibres de FF étant biocompatibles, elles présentent l'avantage certain de pouvoir être introduites dans des milieux biologiques, pour une détection rapide.

En ce qui concerne la détection du glyphosate, qui était une cible importante du projet, une autre approche a été explorée car les aptamères ne permettent pas la capture spécifique du glyphosate. Tout d'abord, une électrode en or électrodéposée sur du carbone sérigraphié (Au/SPCE) a permis de quantifier le glyphosate dans la gamme de 30 à 120 $\mu\text{mol/L}$, avec une limite de détection de 4 $\mu\text{mol/L}$. Cependant, cette LOD est 10 000 fois supérieure à la limite légale de concentration en glyphosate dans les eaux.

L'idée était alors d'améliorer cette détection en utilisant des polymères à empreinte moléculaire (MIP) à base de polypyrrole. Cette technique a montré une sensibilité améliorée par rapport aux méthodes précédentes, allant jusqu'à détecter le glyphosate à une concentration de 100 fmol/L. Cependant, des ajustements sont nécessaires pour réduire le temps d'analyse et établir une gamme de quantification.

En conclusion, ces recherches ont jeté les bases pour le développement de capteurs électrochimiques prometteurs dans la détection de pesticides. Elles ont révélé les avantages de chaque approche tout en soulignant les défis qui subsistent. Ces travaux ouvrent la voie à des applications potentielles dans la détection de diverses cibles, telles que des protéines spécifiques ou d'autres composés d'intérêt, offrant ainsi des perspectives importantes pour la surveillance environnementale et la santé publique. Des efforts futurs pourraient permettre d'améliorer davantage ces capteurs et les rendre encore plus efficaces pour la détection des polluants émergents, contribuant ainsi à un environnement plus sûr et à une diminution des menaces pour la santé publique.

5. Partie expérimentale

5.1. Matériels

5.1.1. Réactifs

L'acétate de sodium trihydraté (CH_3COONa , Trace select) a été obtenu auprès de Fluka. L'acide nitrique (69–70 %, Baker Instra-Analysed pour l'analyse des métaux traces) et l'hydroxyde de sodium (Baker Analysed) ont été obtenus auprès de J.T. Baker. Le phosphate disodique dihydraté ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$), le phosphate monosodique (NaH_2PO_4), La solution de sels d'or ($\text{HAuCl}_4, 3\text{H}_2\text{O}$), le glyphosate le sel de ferricyanure de potassium $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$, le sel de ferrocyanure de potassium $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$, le chlorure de potassium (KCl) et le pyrrole ont été achetés chez Sigma-Aldrich.

Les séquences d'aptamères contre la thrombine et le thiabendazole ont été obtenues chez Eurogentec. Elles ont été fonctionnalisées en position 5' par un espaceur C_6H_{12} et une fonction amine pour permettre le greffage, donnant les séquences suivantes :

- Séquence de l'aptamère anti-thrombine : $\text{H}_2\text{N}-\text{C}_6\text{H}_{12}-5'-\text{CCAACGGTTGGTGTGGTTGG}-3'$
- Séquence BOL009 anti-thiabendazole » : $\text{H}_2\text{N}-\text{C}_6\text{H}_{12}-5'-\text{GGAGGCTCTCGGCACCACGG-GTACGTAGCGTAACGTACATGCTTCCATCTTAGCATGACTCGTCGGCATCGT}-3'$

5.1.2. Montage électrochimique

L'appareil utilisé est un potentiostat, $\mu\text{autolab III}$ de chez METROHM (Figure 88). Il se compose de trois parties. La première permet d'allumer le système et de gérer les données, la deuxième sert au contrôle de l'agitation et de l'arrivée du flux d'azote, enfin la dernière contient le montage électrochimique. Le logiciel utilisé est GPES.

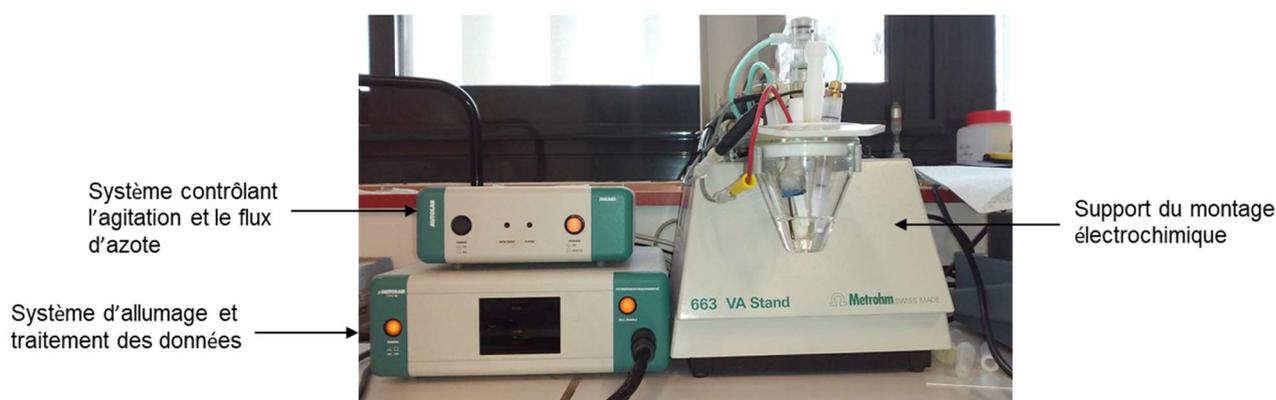


Figure 88 : Potentiostat, $\mu\text{autolab III}$

Les expériences sont réalisées dans une cellule de voltampérométrie. Le montage électrochimique est composé de trois électrodes (Figure 89). L'électrode de travail sérigraphiée, la contre électrode (ou auxiliaire) en carbone graphite et l'électrode de référence AgAgCl/KCl 3 mol.L⁻¹ fixant le potentiel.

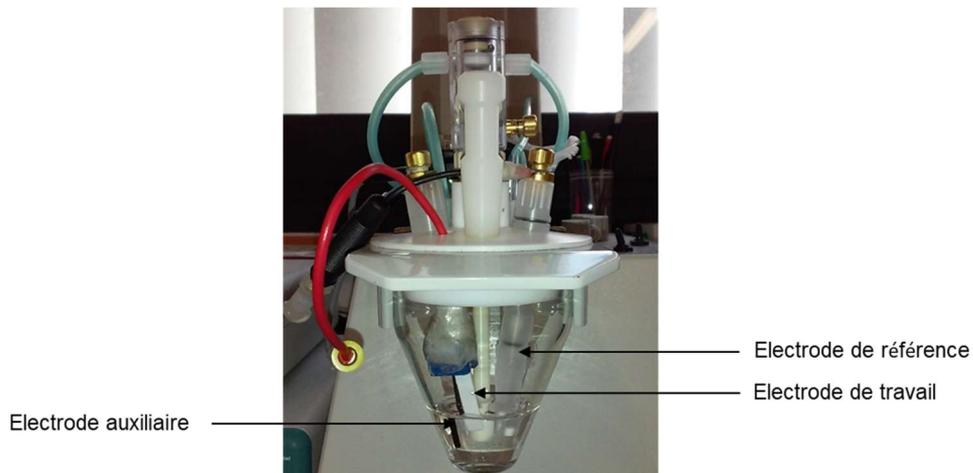


Figure 89 : Cellule de réaction pour l'électrochimie.

Trois électrodes de travaux en carbone ont été étudiées (Figure 90), les pastilles de carbone vitreux OrigaTips de chez Origalys, les électrodes sérigraphiées DropSens 110 de chez Metrohm et les électrodes SPCE sérigraphiées au laboratoire sur un support en polystyrène pour la sérigraphie obtenu auprès de Sericol avec une encre de carbone commerciale (Electrodag PF-407A) achetée auprès d'Acheson Colloids.

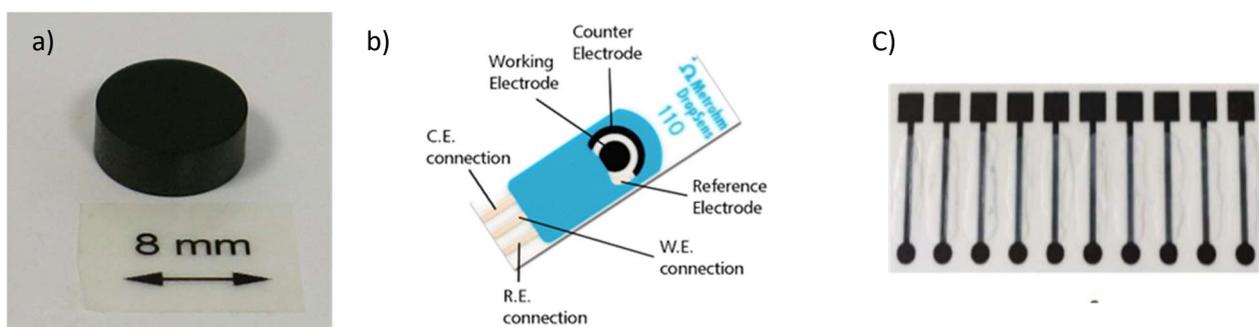


Figure 90 : Electrode de carbone a) OrigaTips b) DropSens 110 et c) SPCE

5.1.3. Electrodes sérigraphiées

La sérigraphie est une technique d'imprimerie qui utilise un pochoir interposé entre l'encre et le support. Cette technique est couramment utilisée, de façon manuelle, au sein du LCABIE pour la réalisation d'électrode de travail ou la réalisation de tri-électrode (travail, référence et auxiliaire), seul le dessin sur le pochoir change.

Fabrication du masque

Le pochoir est appelé masque (Figure 91). Il est défini par un nombre de mesh c'est-à-dire un nombre de fils par pouce (2,5 cm), correspondant à un maillage. Plus ce dernier est serré plus la définition du dessin final sera précise. Celui utilisé possède 200 mesh. Au centre est déposée une résine photosensible. Le modèle des électrodes de travail est disposé sur cette dernière. Le tout est placé sous rayons ultraviolets dans une insoleuse, machine servant à la fabrication de circuits imprimés. La résine réticule aux endroits exposés aux rayons et se fixe sur le masque, contrairement aux zones occultées par le modèle. L'excédent de résine est sorti à l'eau. Après un séchage de 48 heures à l'air, le dessin des électrodes apparaît. Le masque est prêt à l'emploi.



Figure 91 : Masque de sérigraphie

Fabrication des électrodes sérigraphiées

Pour la réalisation d'électrodes de travail, le support utilisé est du polystyrène choc. Il s'agit d'un support isolant qui n'interfère pas lors des expériences. Il est disposé sous le masque de façon à être situé sous les motifs des électrodes (Figure 92). De l'encre conductrice, ici du carbone graphite, est répartie au sommet du modèle. A l'aide d'une raclette, l'encre est étalée. Afin d'obtenir une électrode correcte il faut effectuer deux passages. Le modèle permet de réaliser 8 électrodes de travail en même temps.

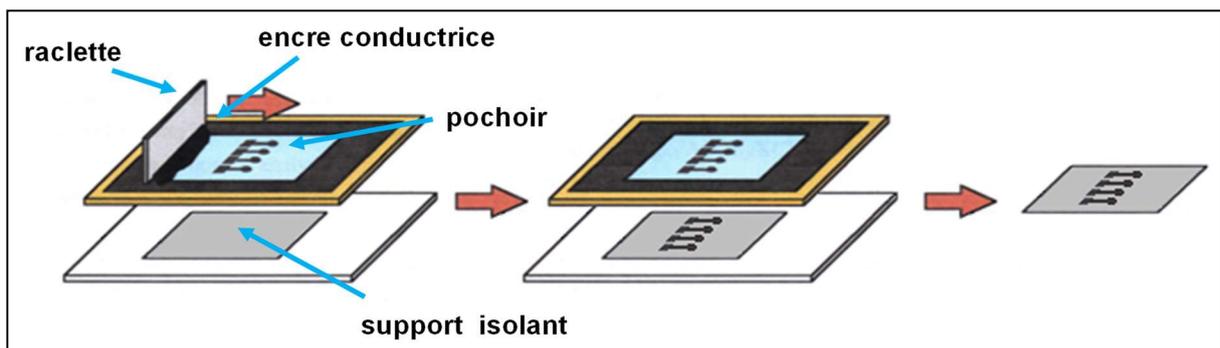


Figure 92 : Réalisation d'électrodes sérigraphiées

Une fois sérigraphiée, les électrodes sont séchées une heure à l'air puis une heure à l'étuve à 60 °C.

Ensuite les électrodes sont isolées entre la surface de travail et le contact électrique (Figure 93). L'isolant utilisé est constitué de polystyrène choc fondu dans du mésitylène. Il est appliqué manuellement à l'aide d'une spatule. La surface de travail est de 9,6 mm². Enfin les électrodes sont séchées jusqu'à ce que l'isolant soit sec. Cette technique permet de réaliser des centaines d'électrodes en quelques minutes.

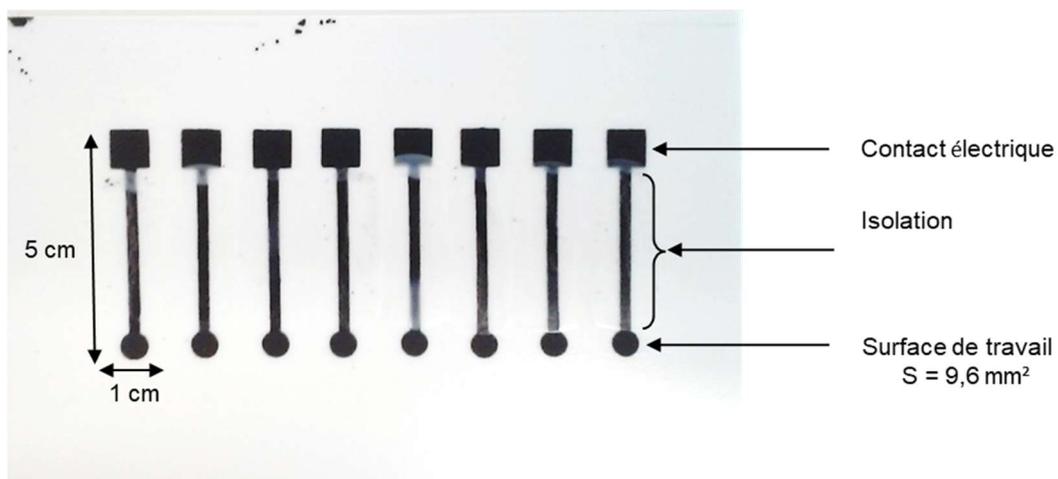


Figure 93 : Electrodes sérigraphiées et isolées

Avant l'utilisation, les électrodes OrigaTips sont polies au papier de verre de grain 4000, puis traitées à l'UV/ozone pendant 10 minutes pour s'assurer d'avoir une surface propre. Les électrodes sérigraphiées sont nettoyées dans une solution $[H_2SO_4] = 0,5 \text{ mol/L}$ en utilisant une voltamétrie cyclique (CV) aux conditions suivantes : 5 balayages à une vitesse de 100 mV/s , allant de -1 à $1,5 \text{ V}$.

5.2. Méthodes

5.2.1. Méthodes électrochimiques utilisées

5.2.1.1. La voltamétrie cyclique (CV)

La voltamétrie cyclique est une méthode dans laquelle le potentiel est balayé linéairement entre deux bornes, E_{min} et E_{max} , déterminées par l'expérimentateur. L'intensité de courant est enregistrée en fonction de la variation de potentiel (Figure 94). On l'appelle voltamétrie cyclique car le potentiel est balayé en aller-retour de E_{min} à E_{max} , formant ainsi un cycle. Ils peuvent être répétés pour suivre l'évolution du système. Lorsque la voltamétrie cyclique est réalisée en présence d'une espèce électroactive, un échange d'électrons entre la surface de l'électrode et cette espèce crée un courant, dont l'intensité est mesurée. Cette réponse est la somme d'un courant capacitif, lié à l'existence de la double couche électrique, et d'un courant faradique, résultant d'un transfert d'électrons entre l'électrode et l'espèce impliquée dans des réactions d'oxydo-réduction. Ainsi, des vagues de courant d'oxydation et de réduction sont créées sur le voltamogramme aux potentiels d'oxydation (E_{ox}) et de réduction (E_{red}) de l'espèce électroactive. Ces vagues sont proportionnelles à la quantité d'analytes oxydés ou réduits.

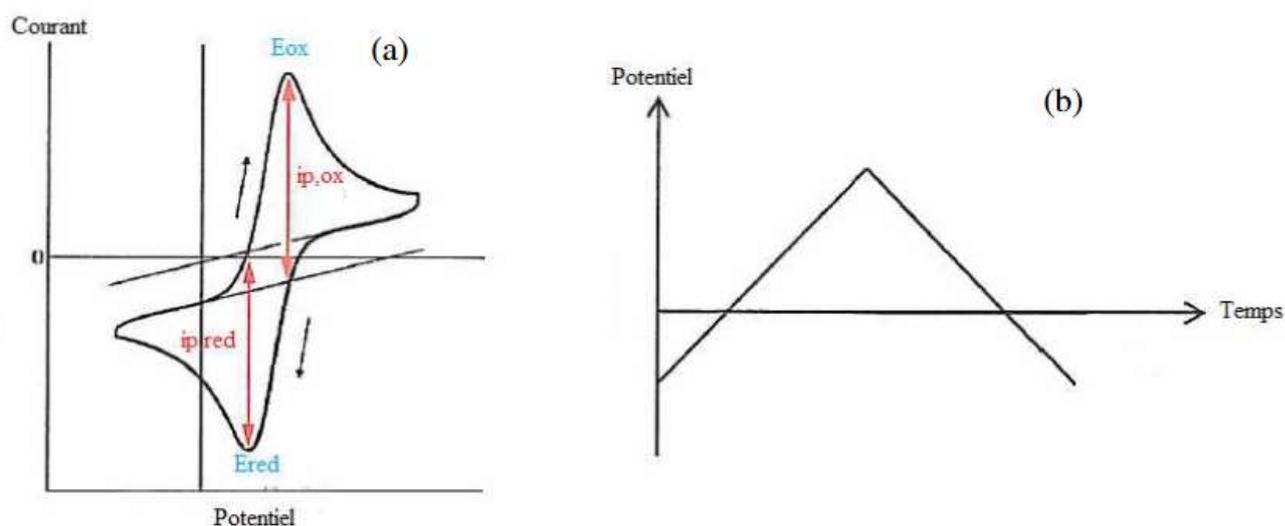


Figure 94 : (a) Voltamogramme d'une réaction redox limitée par la diffusion en solution ; (b) Forme du potentiel imposé par voltamétrie cyclique $E = f(t)$.

La voltamétrie cyclique est une des méthodes électrochimiques efficaces pour caractériser rapidement les réactions de transfert de charges entre l'électrode et l'électrolyte. Elle est également utilisée pour étudier les propriétés redox des structures d'interface, et de composés chimiques à la surface de l'électrode. Dans cette étude, elle permet aussi la l'électropolymérisation du pyrrole.

5.2.1.2. La voltamétrie à impulsion différentielle

La voltamétrie à impulsion différentielle (DPV) est une technique d'analyse couramment utilisée pour l'analyse individuelle ou simultanée de composés.

Elle consiste à appliquer de courtes impulsions de tension (10-100 ms) avec une faible amplitude (1-100 mV) à une électrode. Ces impulsions sont superposées à une rampe de courant continu (DC) qui augmente de manière linéaire.

Pendant l'expérience, le courant électrique est mesuré à deux moments : avant l'application de l'impulsion (courant I_1) et à la fin de l'impulsion (courant I_2). I_1 est principalement attribué au courant de la rampe DC, tandis que la différence entre I_2 et I_1 ($I_2 - I_1$) reflète le courant généré par l'impulsion de potentiel.

Les voltamogrammes DPV montrent un pic. Le point d'inflexion du voltamogramme DPV correspond au potentiel de demi-vague de la réaction d'oxydation ou de réduction étudiée. En d'autres termes, il indique le potentiel à partir duquel une substance subit une réaction électrochimique. Ce potentiel de pic est identique au potentiel de demi-vague.

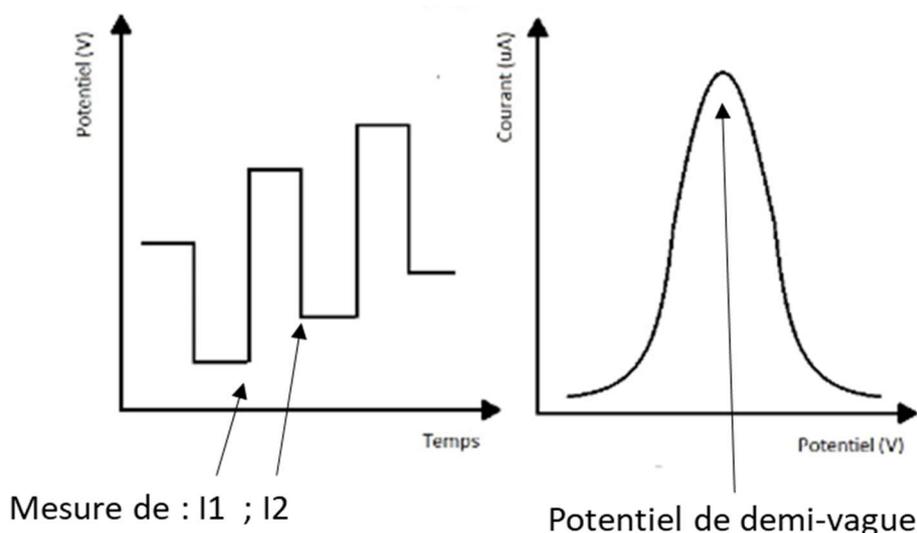


Figure 95 : a) Forme du potentiel imposé $E = f(t)$ b) voltamogramme DPV.

La voltamétrie à impulsion différentielle est très sensible, avec des limites de détection typiques de l'ordre de 1.10^{-8} mol/L. Elle offre également une capacité de résolution de 40 mV et une capacité de séparation de $1.10^5/1$, ce qui en fait une méthode puissante pour détecter et caractériser des espèces chimiques en électrochimie.

Dans cette étude, elle est utilisée avec une sonde redox, le couple $[\text{FeIII}(\text{CN})_6]^{3-} / [\text{FeII}(\text{CN})_6]^{4-}$ ou $[\text{Ru}^{\text{III}}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$, pour étudier l'interaction de la surface en présence ou non de la cible. Les variations de signal doivent être proportionnelles à la concentration de cible en solution.

5.2.1.3. Chronopotentiométrie par courant de stripage (SCP)

La chronopotentiométrie par courant de stripage est une technique analytique sensible. Elle se compose de deux étapes.

La première phase consiste à de l'électrodéposition sur l'électrode. Un potentiel suffisamment réducteur est appliqué pendant un temps donné (60, 120 ou 300 secondes) sous agitation. Ainsi les analytes, sont réduits et pré concentrés sur la surface de travail de l'électrode.

La réaction est la suivante : $A^+ + e^- \rightarrow A$

La deuxième phase est celle de redissolution. Un courant d'oxydation est appliqué. Les analytes réduits sont alors ré oxydés. Chaque analyte possède un potentiel d'oxydation qui lui est propre et qui est fixé suivant l'électrode de référence utilisée.

Au cours de cette deuxième étape la variation du temps en fonction du potentiel est enregistrée (Figure 96). Lorsque l'analyte est complètement retiré de l'électrode, une brusque variation de potentiel se produit, après quoi le potentiel redox d'une autre espèce est atteint. Le temps nécessaire pour que l'analyte soit oxydé est appelé temps de transition (τ), il est proportionnel à la concentration en analyte.

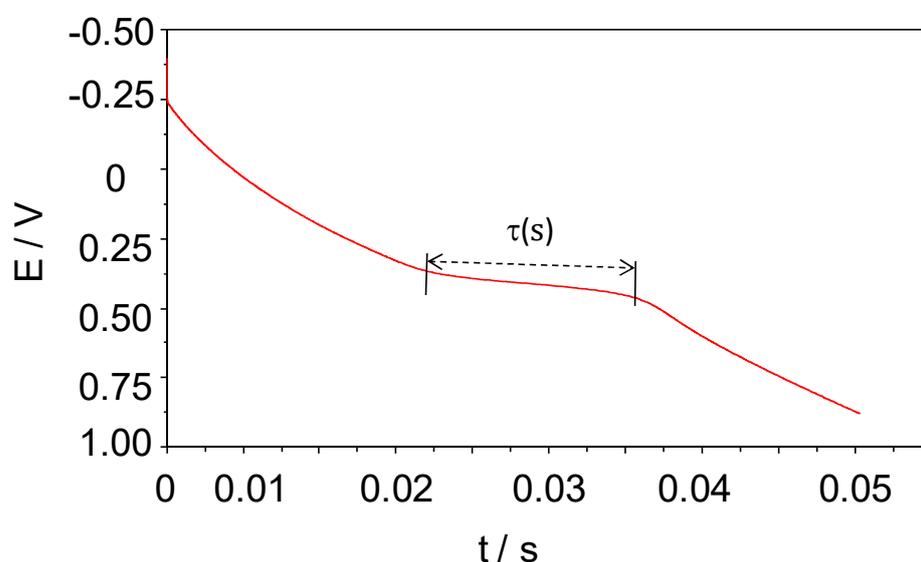


Figure 96 : Chronopotentiométrie à courant de stripage $E=f(t)$

Pour analyser les données, la dérivée du potentiel par rapport au temps (dE/dt) est souvent tracée par rapport au potentiel (E), ce qui permet d'obtenir des courbes de stripage en forme de pic (Figure 97). Les aires sous ces pics sont mesurées pour quantifier la concentration de l'analyte.

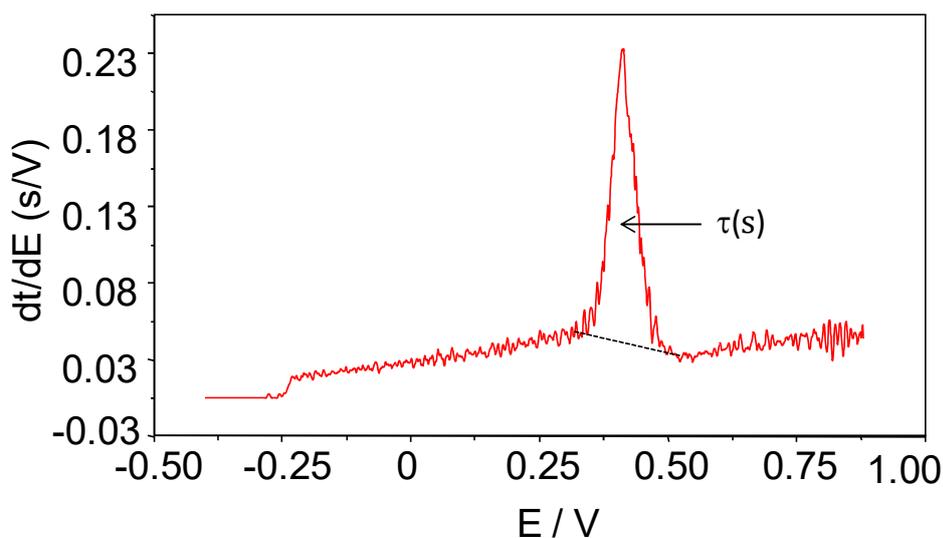


Figure 97 : Voltamogrammes obtenue après dérivation, $E = f(dt/dE)$

5.2.2. Construction des plateformes électrochimiques

5.2.2.1. Solution tampons et tampons d'interactions

Les tampons d'interactions des aptamères sont composé tels que :

- Tampon d'interaction « Thrombine » : 20 mM Tris-HCL, 120 mM NaCl, 1 mM MgCl₂ et 10 mM KCL, pH 7,4.
- Tampon interaction « BOL009 » : 20 mM HEPES, 20 mM CH₃CO₂Na, 140 mM CH₃CO₂K, 3mM CH₃CO₂ 2Mg₄ H₂O et 17% MeOH

Le tampon acide acétique/acétate de sodium est préparé à 1 mol/L à partir d'un protocole permettant d'obtenir un pH de 4.7 et une solution tampon de 100mL : Acétate de sodium : 8.2g et acide acétique : 5.721mL puis le complément jusqu'à 100mL est réalisé par ajout d'eau supra-pure. Il est dilué à 0,1 mol/L pour l'utilisation.

Une solution tampon de phosphate (PB) à 0.1 M et pH = 7.3 est préparée à partir de Na₂HPO₄ et de NaH₂PO₄.

5.2.2.2. Aptacapteurs à base de polypyrrole

5.2.2.2.1. Construction de l'aptacapteur

Avant toute utilisation, le pyrrole est purifié par distillation, puis stocké à l'abri de la lumière à -20°C . Les films de polypyrrole ont été obtenus à partir d'une solution aqueuse contenant $[\text{Py}] = 0,1 \text{ mol/L}$ et $[\text{LiClO}_4] = 0,1 \text{ mol/L}$.

Sur la GCE Origatips, la polymérisation du mélange a également été réalisée par chrono-ampérométrie au potentiel de $0,7 \text{ V}$ sur la GCE pendant 5, 10 et 30 minutes pour obtenir différentes structures en relief à la surface de la GCE.

Sur les trois électrodes, le polypyrrole est électropolymérisé à l'aide de 5 cycles de voltamétrie cyclique, de $-0,8$ à $+0,8 \text{ V}$ à une vitesse de balayage de 50 mV/s pour obtenir un film lisse.

Les films de $\text{P}(\text{Py-co-Py1COOH})$ et $\text{P}(\text{Py-co-Py3COOH})$ sont obtenus par électropolymérisation sur une SPCE en suivant le même protocole de CV à partir d'une solution contenant : $[\text{LiClO}_4] = 0,1 \text{ mol/L}$; $[\text{Py}] = 0,1 \text{ mol/L}$; $[\text{Py1COOH}]$ ou $[\text{Py3COOH}] = 0,025 \text{ mol/L}$, formant les électrodes $\text{P}(\text{Py-co-Py1COOH})/\text{SPCE}$ et $\text{P}(\text{Py-co-Py3COOH})/\text{SPCE}$.

5.2.2.2.2. Immobilisation des aptamères

Le protocole de greffage est identique pour les deux aptamères. L'électrode $\text{P}(\text{Py-co-Py1COOH})/\text{SPCE}$ est incubée dans $100 \mu\text{L}$ d'une solution de 1-Éthyl-3-(3-diméthylaminopropyl)carbodiimide à 1 mmol/L pendant 1 heure à température ambiante, suivie d'une incubation dans une solution de tampon d'interaction contenant l'aptamère à $1 \mu\text{mol/L}$ pendant 1 heure à température ambiante. L'électrode est ensuite rincée à l'eau milli-Q pour éliminer les aptamères non greffés à la surface.

Une fois l'aptamère greffé à la surface, l'aptacapteur subit une CV dans un tampon acide acétique/acétate de sodium à $0,1 \text{ mol/L}$ et $\text{pH}=4,5$. Le potentiel est balayé de $-0,8$ à $1,5 \text{ V}$ pour sur-oxyder le polymère.

5.2.2.2.3. Détection électrochimique des cibles :

Pour caractériser la sensibilité du capteur, les mesures DPV ont dans un premier temps été réalisées dans une solution $[\text{KCl}] = 0,1 \text{ mol/L}$ et $[[\text{FeIII}(\text{CN})_6]^{3-}/[\text{FeII}(\text{CN})_6]^{4-}] = 1 \text{ mM}$.

Finalement pour obtenir un capteur stable, il a été nécessaire de remplacer la sonde redox et de réaliser les mesures dans le tampon d'interaction de l'aptamère par le $[\text{RuIII}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$ à $0,1 \text{ mol/L}$.

La capture de la thrombine est réalisée par incubation de l'aptacapteur anti-thrombine dans le tampon d'interaction « thrombine » en présence de $[\text{Thrombine}]$ de $0,1$ à $0,5 \mu\text{mol/L}$.

De façon similaire, la capture du thiabendazole est réalisée par incubation de l'aptacapteur anti-thiabendazole dans le tampon d'interaction « BOL009 » en présence de $[\text{Thiabendazole}]$ de $0,5 \mu\text{mol/L}$ à 1 mmol/L .

5.2.2.3. Aptacapteur à base de L-Phénylalanine

5.2.2.3.1. Formation des fibres de L-Phénylalanine

Les fibres de L-Phénylalanine sont obtenues par dissolution et traitement thermique dans un bain à ultrason chauffé à 70°C selon 3 différents protocoles :

- 1) Dans l'hexafluoroisopropanol (HFIP) à une concentration de 100 mg/mL. Cette solution est ensuite diluée dans de l'eau à différentes concentrations : 0,1 ; 1 et 2 mg/L. Incubation dans le bain à ultrason pendant 30 minutes.
- 2) Dans le HFIP à différentes concentrations : 1 ; 100 et 200 mg/mL. Incubation dans le bain à ultrason pendant 30 minutes.
- 3) Dans le HFIP à différentes concentrations : 25 ; 50 et 100 mg/mL. Ces solutions sont ensuite incubées pendant 3 heures dans un bain à ultrasons chauffé à 70°C.

Une fois redescendu à température ambiante, 10 µL de la solution sont déposés sur une électrode SPCE. L'électrode est ensuite laissée sécher à l'air libre. Les électrodes FF/SPCE obtenues sont ensuite incubées pendant plusieurs heures dans de l'eau pour vérifier l'adhésion des fibres.

5.2.2.3.2. Immobilisations des aptamères

Le dépôt obtenu à partir de la solution [FF] = 50 mg/mL dans HFIP incubé 3h a été retenue pour l'immobilisation des aptamères. Cette électrode FF/SPCE est incubée 1h dans 100 µL EDC/NHS à 1 mmol/L pour activer les fonctions carboxyliques du FF.

Au bout d'une heure, l'électrode est incubée 1h dans une solution de tampon d'interaction « thrombine » contenant 1 µmol/L d'aptamère anti-thrombine.

5.2.2.3.3. Détection de la thrombine

L'électrode Apta/FF/SPCE est immergée pendant 20 min, dans la solution tampon d'interaction « thrombine » plus thrombine à 0,5 ou 1,5 µmol/L. L'évolution du signal obtenue par la voltamétrie à impulsion différentielle (DPV) en présence de $[[FeIII(CN)_6]^{3-}/[FeII(CN)_6]^{4-}] = 1mM$ comme sondes redox permet d'observer la détection de la thrombine.

5.2.2.4. Capteur à base de MIP

5.2.2.4.1. Construction du capteur à base de MIP

Des particules d'or sont électrodéposées à la surface d'une SPCE par chronoampérométrie au potentiel -0.6 V à partir d'une solution contenant $[HAuCl_4] = 6,35$ mmol/L et $[H_2SO_4] = 0,5$ mol/L pour former Au/SPCE.

Dans un tampon acide acétique/acétate de sodium à 0,1 mol/L, le pyrrole à 33 mmol/L est électropolymérisés à la surface de l'or par 5 cycles de CV de -1 à 1 V, seul pour former NIP/Au/SPCE et en présence de 7,5 mmol/L de glyphosate pour former MIP/Au/SPCE.

Le glyphosate est retiré du MIP à l'aide de 20 cycles de CV dans une solution de NaOH à 0,1 mol/L formant MIP-élué/Au/SPCE

5.2.2.4.2. Détection du glyphosate

La détection du glyphosate est réalisée grâce à la SCP. Le capteur MIP-élué/Au/SPCE est plongé dans une solution d'acide nitrique à 0,1 mol/L pour les concentrations de 10 à 200 $\mu\text{mol/L}$ de glyphosate et dans un tampon acétate de sodium/acide acétique à pH 4,5 pour les concentrations inférieures.

5.2.3. Caractérisation de surface

5.2.3.1. Spectroscopie photoélectronique à rayons X

La spectroscopie photoélectronique à rayons X (XPS) est une technique d'analyse de surface qui mesure la composition élémentaire, l'état d'oxydation et l'environnement électronique des atomes constitutifs d'un matériau. La XPS a été utilisée pour déterminer la composition de la surface des électrodes de carbones modifiées.

Une source de rayons X Al-K α monochromatisée ($h\nu = 1486,6 \text{ eV}$) a été utilisée avec un canon neutralisateur pour minimiser la charge de la surface. Le spectre a été calibré en utilisant la composante C-C/C-H (285,0 eV) dans les pics centraux du C 1s. Le processus d'ajustement des pics a été réalisé à l'aide d'une ligne de base non linéaire de type Shirley. Les positions et les surfaces des pics ont été optimisées par la méthode de calcul des moindres carrés pondérés en utilisant des formes de lignes gaussiennes à 70 % et lorentziennes à 30 %. La quantification de la composition de la surface a été réalisée en utilisant les facteurs de sensibilité relative de Scofield corrigés par des valeurs spécifiques en fonction de l'appareil. La quantification et l'ajustement des spectres ont été effectués à l'aide du logiciel CASAXPS.

5.2.3.2. La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)

Des spectres IR ont été réalisés à l'aide d'un appareil Nicolet IS-50 FT-IR, en ATR (Attenuated Total Reflection). Les spectres ont été réalisés en transmittance, de 4000 à 400 cm^{-1} pour évaluer la composition chimique des dépôts de fibres de FF à la surface des électrodes SPCE, et vérifier l'immobilisation de la cible sur les électrodes. Notamment, en observant les pics caractéristiques tels que la fonction amine et carboxylique du peptide, la disparition du pic amine et la fonction amide qui se crée lors de l'ajout de l'aptamère.

5.2.3.3. La microscopie électronique à balayage (MEB)

La microscopie électronique à balayage a été réalisé à l'aide deux appareils différents.

Un microscope Hirox SH-3000 a été utilisé à une tension de 25 kV pour observer les électrodes :

- FF/SPCE pour différentes concentrations de FF dans HFP : 1, 100 et 250 mg/mL.
- FF/SPCE à 100 mg/mL ayant trempé dans la solution d'analyse électrochimique pendant 15h.
- GCE
- Ppy/GCE avec le pyrrole électropolymérisé par CV
- Ppy/GCE avec le pyrrole électropolymérisé par chrono-potentiométrie pendant 30 min.

Avant d'être analysés, les échantillons ont été métallisés afin de permettre l'écoulement des électrons en excès et de rendre la surface plus conductrice. Cette métallisation a été faite en envoyant un plasma de 30 mA pendant 60 secondes entre une cathode (cible en or) et l'anode qui porte les échantillons.

Un microscope Apreo 2S (Thermofisher) avec un détecteur d'électron secondaire à une tension de 2 kV pour observer les électrodes :

- Au/SPCE
- MIP/Au/SPCE
- NIP/Au/SPCE

Les échantillons n'ont pas été métallisés. Un contacteur en cuivre a été utilisé pour permettre l'élimination des électrons.

5.2.3.4. Microscopie optique

La caractérisation au microscope optique LEICA DM LM a permis d'observer la morphologie des revêtements et le dimensionnement des fibres préparées. Les images ont été réalisées aux grossissements x5, x10, x20, 50. Seul les grossissements x5 et x10 sont présentés dans cette étude. Elle permet également de suivre la stabilité des électrodes modifiées au cours du temps et aide à comprendre certains phénomènes physicochimiques liés à l'autoassemblage des fibres.

Liste des figures

Figure 1 : Consommation des pesticides en tonnes par région du monde en 2020 et tendance depuis 1999 selon l'ATLAS DES PESTICIDES 2023.	12
Figure 2 : Quantité de pesticides vendus en Europe en fonction de l'année, en vert les insecticides, en bleu les fongicides, en rouge les herbicides et en noir les autres selon McGinley et al. ¹¹	13
Figure 3 : Devenir des pesticides appliqués dans l'environnement selon Lunardi et al. ¹⁶	14
Figure 4 : Les différents types de biocapteurs électrochimiques.	18
Figure 5 : Schéma de concept d'un biocapteur électrochimique.....	19
Figure 6 : Schéma a) de la synthèse des fibres d'oxyde de zinc électrofilées enrobées de nanotubes de carbone, et b) de la construction de l'immuncapteur « CNT embedded ZnO nanofiber » selon Supraja et al. ⁵⁶	21
Figure 7 : Schéma montrant des billes paramagnétiques fonctionnalisées par des anticorps anti-glyphosate, permettant la détection électrochimique du glyphosate-HRP sur une électrode de graphite, selon Bettazzi et al. ⁶⁰	22
Figure 8 : Schéma du processus SELEX selon Gan et al. ⁶³	24
Figure 9 : Schéma des différents modes de fonctionnements des aptacapteurs électrochimiques, a) mesure de la résistance électrique, c) mesure de courant à l'aide du déplacement d'un oligonucléotide complémentaire. Adapté de Rozemblum et al. ⁶⁴	25
Figure 10 : Réponse DPV de l'aptacapteur avec différentes concentrations de malathion (a) Aptacapteur nue (b) 0,001 ng/mL (c) 0,005 ng/mL (d) 0,0001 mg/mL (e) 0,001 mg/mL (f) 0. 0025 mg/mL (g) 0,01 mg/mL ; dans du PBS 0,05 M (pH-7,0, 0,9 % NaCl) contenant 5mM [Fe(CN) ₆] ^{3-/4-} , selon Prabhakar et al. ⁷²	29
Figure 11 : Schéma de fonctionnement d'un aptacapteur anti-kanamycine selon He et al. ⁷⁷	31
Figure 12 : Principe de fabrication d'un MIP selon Zheng et al. ⁸⁹	32
Figure 13: Comparaison des intensités de signaux obtenus pour différentes concentrations pour une électrode MIP/Carbone (bleu) et NIP/Carbone (rouge), selon Motaharian et al. ⁹⁵	36
Figure 14 : Schéma représentant le mécanisme d'adsorption et de désorption du glyphosate sur le MIP de polypyrrole, selon Zhang et al. ¹⁰⁰	36
Figure 15 : Schéma de construction d'un capteur à base de nanotubes de polypyrrole imprimés pour la détection du glyphosate selon Ding et al. ⁹⁹	37
Figure 16 : Diagramme d'énergie des orbitales moléculaires π lors de la polymérisation de monomères éthylène, selon Heydari Gharahcheshmeh et Gleason ¹¹⁷	39
Figure 17 : Structures chimiques des principaux polymères conducteurs.....	40
Figure 18 : Mécanisme d'électropolymérisation de l'aniline selon Gvozdenović et al. ¹¹⁸	41
Figure 19 : Mécanisme décrit par Diaz et al. ¹¹⁹ . d'électropolymérisation du pyrrole.	42
Figure 20 : Schéma de fabrication de nanostructures a) par la méthode à modèle rigide, b) par la méthode à modèle souple, adapté de Xia et al. ¹²⁰	43
Figure 21 : Schéma de concept d'un aptacapteur à base de PT3C, selon Zejli et al. ¹²⁸	45
Figure 22 : Schéma de construction d'un aptacapteur P(Py-co-PAA)/GCE et principe de fonctionnement.....	46
Figure 23 : Structure chimique du peptide L-Phénylalaninyl-L-phénylalanine.....	47
Figure 24 : Formation des fibres de FF selon Görbitz. ¹⁴¹	47
Figure 25 : Représentation schématique de diverses nanostructures formées par auto-assemblage de blocs de construction à base de FF et de leurs applications potentielles, selon Yan et al. ¹⁴³	48
Figure 26 : Image MEB des fibres de FF obtenues par Cipriano et al. ¹⁴⁷	49
Figure 27 : Image MEB d'électrode sérigraphiée avec un dépôt de [FF] a) 2 mg/mL b) 100 mg/mL selon Moini et al.	50

Figure 28 : Variation de structures chimiques du polypyrrole en fonction de son état d'oxydation, selon Dhawan et al. ¹⁶¹	68
Figure 29 : Electropolymérisation du pyrrole sur une électrode de carbone vitreux, par voltamétrie cyclique, dans une solution contenant 0,1 mol/L de pyrrole et 0,1 mol/ L de perchlorate de lithium. 69	
Figure 30: Images de microscopie électronique à balayage d'une électrode de carbone vitreux recouvert de polypyrrole obtenues par A) voltamétrie cyclique 20 cycles de - 0.8 V à + 0.8 V et B) chronoampérométrie à potentiel 0.7 V pendant 30 min.	70
Figure 31 : Images de microscopie optique d'une électrode de carbone vitreux avec un dépôt de polypyrrole obtenu par chrono-ampérométrie pendant A) 5 min, B) 10 min.	71
Figure 32 : Voltamogrammes obtenus par CV dans une solution aqueuse contenant [KCl]=0,1 M et [Fe ^{2+/3+}]=10 mM d'une électrode de carbone vitreux nue (en bleu) et recouverte de polypyrrole (en orange) obtenue par chrono-ampérométrie.....	71
Figure 33 : Image de microscopie optique d'une électrode Ppy/SPCE	72
Figure 34 : Comparaison des derniers cycles de polymérisation montrant la reproductibilité sur trois dépôts de polypyrrole différents sur des électrodes A) SPCE B) DropSens.....	73
Figure 35 : Structures chimiques de l'acide pyrrole-1-propionique (Py1COOH) et de l'acide 4-(3-pyrrolyl)butyrique) (Py3COOH).	74
Figure 36 : Derniers cycles de l'électropolymérisation par voltamétrie cyclique du polypyrrole (vert), du poly(pyrrole-co-acide pyrrole-1- propionique) (bleu) et du poly(pyrrole-co-acide pyrrole-3-butyrrique) (rouge).	75
Figure 37 : Spectres XPS des énergies de liaisons C1s N1s et P2p d'électrodes de carbones sérigraphiés recouvertes de a) polypyrrole b) poly(pyrrole-co-acide pyrrole-1-propionique) et c) poly(pyrrole-co-acide pyrrole-1-propionique) après greffage d'aptamère.	76
Figure 38 : Voltamogrammes à impulsions différentielles d'une électrode SPCE/Polypyrrole dans une solution [KCl] =0,1 mol/L et [[FeIII(CN) ₆] ³⁻ /[FeII(CN) ₆] ⁴⁻] = 1mM montrant l'instabilité du capteur lors de la répétition des mesures. Ici sont superposées les 1 ^{ère} , 10 ^{ème} , 20 ^{ème} et 30 ^{ème} répétitions.	78
Figure 39 : Mécanisme de suroxydation irréversible du polypyrrole tel que vu par Li et Qian ¹⁶⁸	79
Figure 40 : Voltamétrie à impulsion différentielle d'une électrode SPCE/polypyrrole dans une solution [KCl]=0,1mol/L et [[RuIII(NH ₃) ₆] ³⁺]= 0,1mmol/L.....	80
Figure 41 : Suroxydation par voltamétrie cyclique dans un tampon acide acétique/acétate de sodium à pH=4, du poly(pyrrole-co-pyrrole-1-COOH) sur une électrode SPCE/P(Py-co-Py1COOH), cycle n°1 en bleu, n°2 en vert et n°3 en rouge.	81
Figure 42 : 3 ^{ème} cycles obtenus par CV lors de la suroxydation du polypyrrole (en vert), du poly(pyrrole-co-acide pyrrole-1-propionique) (en bleu) et du poly(pyrrole-co-acide pyrrole-3-butyrrique) (en rouge).	81
Figure 43 : Voltamogrammes à impulsion différentielle dans une solution [KCl]=0,1mol/L et [Ru ^{2+/3+}]= 0,1mmol/L, sur les électrodes : SPCE/Ppy en rouge ; SPCE/P(Py-co-Py3COOH) en bleu et SPCE/P(Py-co-Py1COOH) en vert.....	82
Figure 44 : Réactions de suroxydations proposées pour a) poly(pyrrole-co-acide pyrrole-3-butyrrique) et b) poly(pyrrole-co-acide pyrrole-1-propionique)	83
Figure 45 : Aire du pic obtenue par DPV sur un capteur Apta/P(Py-co-Py1COOH)/SPCE après suroxydation en fonction du temps d'incubation.	84
Figure 46 : Résumé de la construction de l'aptacapteur électrochimique.	85
Figure 47 : Aire du pic d'oxydation de la sonde chlorure d'hexaaminoruthénium sur la surface de l'aptacapteur en fonction de la concentration en thrombine.	86
Figure 48 : Variation du capteur incubé dans le tampon d'interaction de l'aptamère BOL009 au cours du temps.....	87

Figure 49 : Aire de la vague d'oxydation de la sonde chlorure d'hexaaminoruthénium sur la surface de l'aptacaptur en fonction de la concentration en thiabendazole.	88
Figure 50 : Structure chimique du peptide L-Phénylalanine-L-Phénylalanine.....	90
Figure 51 : Images de microscopie optique d'une électrode SPCE avant (a) et après le dépôt d'une goutte d'eau contenant [FF] à 0,1 mg/mL (b), 1 mg/mL (c) et 2 mg/mL (d).	92
Figure 52 : Images de microscopie optique d'une électrode FF/SPCE (a) avant et (b) après 15h d'incubation dans l'eau.	93
Figure 53 : Mesure d'angle de contact entre une goutte d'eau et une SPCE : a) mesure de l'angle, b) photo de la goutte.	94
Figure 54 : Images MEB d'électrodes FF/SPCE réalisées à partir du dépôt d'une goutte de HFIP contenant une concentration en FF à a) 1 mg/mL, b) 100 mg/mL et c) 250 mg/mL.....	95
Figure 55 : Images MEB d'une électrode FF/SPCE, préparée à partir d'une solution de FF à 250mg/mL dans l'HFIP, et incubée dans l'eau : a) à la surface de carbone, b) sur le bord de l'électrode en polystyrène.....	96
Figure 56 : Images MEB d'une électrode FF/SPCE dont le dépôt par goutte est a) séché à l'air libre, b) séché sous flux d'azote.....	97
Figure 57 : Voltamogrammes obtenus dans une solution tampon phosphate à 0,1 mol/L et $[[Fe^{III}(CN)_6]^{3-}/[Fe^{II}(CN)_6]^{4-}] = 1mM$ pour une électrode SPCE (noir) et une FF/SPCE (vert).....	98
Figure 58 : Intensité de la vague d'oxydation en fonction du temps d'incubation d'une électrode FF/SPCE dans l'eau.....	99
Figure 60 : Images de microscopie optique d'une électrode FF/SPCE obtenue par le dépôt de goutte de HFIP contenant a) [FF] = 25 mg/mL, b) [FF] = 50 mg/mL et c) [FF] = 100 mg/mL.....	101
Figure 60 : Images de microscopie optique d'électrodes FF/SPCE avant et après incubation dans l'eau obtenues par dépôt d'une solution a) [FF] = 25 mg/mL b) [FF] = 50 mg/mL.....	101
Figure 61 : Voltamogrammes obtenus dans une solution aqueuse [PBS] = 0,1 mol/L et	103
Figure 62 : Mesures d'angles de contact a) d'une électrode SPCE b) d'une électrode FF/SPCE. La mesure à gauche est prise à partir de la photo de droite.	104
Figure 63 : Variation de l'intensité d'oxydation de la sonde de fer obtenue par CV sur une électrode FF/SPCE au cours du temps.	105
Figure 64 : Superposition de trois voltamogrammes obtenus par DPV dans la sonde de fer, l'électrode FF/SPCE est rincée entre chaque mesure.....	105
Figure 65 : Schéma de construction de l'aptacaptur électrochimique.....	107
Figure 66 : Spectres infrarouge (ATR) d'une électrode SPCE, FF/SPCE, Apta/FF/SPCE.....	108
Figure 67 : Voltamogrammes obtenus dans la sonde de fer avec une électrode FF/SPCE (en rouge) et Apta/FF/SPCE (en bleu).	108
Figure 68 : Intensité du signal en fonction du temps d'incubation dans une solution : [thrombine] = 0,5 μ mol/L et [thrombine] = 1,5 μ mol/L.	109
Figure 69 : Signaux obtenus par voltamétrie à impulsions différentielles avant et après incubation dans a) [thrombine]= 0,5 μ mol/L et b) [thrombine]= 1,5 μ mol/L.....	110
Figure 70 : Structure chimique du glyphosate	112
Figure 71 : Images MEB a) d'une électrode SPCE et b) d'une électrode Au/SPCE (barre = 2 μ m).	113
Figure 72 : Voltamogrammes d'une électrode Au/SPCE dans $[HNO_3] = 0,5$ mol/L (en rouge) et avec ajout de $[GLY] = 100$ μ mol/L (en vert).	114
Figure 73 : a) Mesures SCP sur une électrode Au/SPCE dans une solution HNO_3 à 0,5 mol/L et du glyphosate de 0 à 120 μ mol/L. b) Régression linéaire de l'aire du pic en fonction de la concentration en glyphosate.	115
Figure 74 : Schéma de construction d'un capteur MIP/Au/SPCE	116

Figure 75 : Voltamogrammes d'électrodéposition par CV du polypyrrole pour former l'électrode MIP/Au/SPCE.	117
Figure 76 : Images MEB d'une électrode Au/SPCE à gauche et MIP/Au/SPCE à droite.....	118
Figure 77 : Voltamogrammes CV d'une électrode MIP/Au/SPCE dans une solution de NaOH à 0,1 mol/L pour éluer le glyphosate du film de polypyrrole, le premier cycle en rouge épais et le dernier en rouge fin.	119
Figure 78 : Mécanisme de suroxydation irréversible du polypyrrole en milieu basique décrit par Li et Qian ¹⁶⁸	119
Figure 79 : Etat de protonation/déprotonation du glyphosate en fonction du pH.	120
Figure 80 : Spectres XPS pour une électrode a) NIP/Au/SPCE b) MIP/Au/SPCE avec [GLY] = 7,5 mmol/L c) MIP/Au/SPCE avec [GLY] = 10 mmol/L et d) MIP-élué/Au/SPCE	122
Figure 81 : Mesures SCP d'un capteur MIP-élué/Au/SPCE dans une solution contenant du HNO ₃ à 0,5 mol/L, en l'absence de GLY (en noir) et en présence de GLY à 100 µmol/L (en bleu) et 200 µmol/L (en rouge).	124
Figure 82 : Mesures SCP, répétées au cours du temps sur une électrode MIP-élué/Au/SPCE dans une solution à 1 nmol/L, montrant la croissance du signal.....	125
Figure 83 : Intensité du pic d'oxydation en fonction du temps pour trois concentrations de glyphosate différentes : 1 nmol/L (en orange), 10 nmol/L (en gris) et 20 nmol/L (en bleu).	126
Figure 84 : Mesures SCP obtenue après 8h de mesures répétées pour trois concentrations de glyphosate différentes : 100 fmol/L (en rouge), 1 pmol/L (en vert) et 10 pmol/L (en bleu).....	127
Figure 85 : Superposition de mesures SCP répétées sur une électrode SPCE dans une solution de HAuCl ₄ à 3 mmol/L.	128
Figure 86 : Superposition des mesures SCP répétées sur une électrode SPCE dans une solution de glyphosate à 100 µmol/L, en l'absence (en rouge) ou en présence de HAuCl ₄ à 3 mmol/L (en bleu).128	128
Figure 87 : Mesures SCP répétées sur une électrode NIP-Suroxydé/SPCE dans une solution acide acétique/acétate de sodium en l'absence (a) ou en présence de glyphosate (b).	129
Figure 88 : Potentiostat, µautolab III.....	134
Figure 89 : Cellule de réaction pour l'électrochimie.....	135
Figure 90 : Electrode de carbone a) OrigaTips b) DropSens 110 et c) SPCE	135
Figure 91 : Masque de sérigraphie	136
Figure 92 : Réalisation d'électrodes sérigraphiées	137
Figure 93 : Electrodes sérigraphiées et isolées	137
Figure 94 : (a) Voltamogramme d'une réaction redox limitée par la diffusion en solution ; (b) Forme du potentiel imposé par voltamétrie cyclique $E = f(t)$	138
Figure 95 : a) Forme du potentiel imposé $E = f(t)$ b) voltamogramme DPV.....	139
Figure 96 : Chronopotentiométrie à courant de stripage $E=f(t)$	140
Figure 97 : Voltamogrammes obtenue après dérivation, $E = f(dt/dE)$	Erreur ! Signet non défini.

Liste des abréviations

ADN	Acide Désoxyribonucléique
ARN	Acide Ribonucléique
AuNPs	Nanoparticules d'Or
CIRC	Centre International de Recherche sur le Cancer
CS	Séquence Complémentaire
CV	Voltamétrie Cyclique
DPV	Voltamétrie à Impulsion Différentielle
DZN	Diazinon
EDMA	Éthylène Glycol Diméthacrylate
EDC	1-éthyl-3-(3-diméthylaminopropyl)carbodiimide
EIS	Spectroscopie d'Impédance Electrochimique
FF	L-Phénylalanine-L-Phénylalanine
FTO	Oxyde d'Étain et de Fluor
GC-MS	Chromatographie en Phase Gazeuse Couplée à la Spectrométrie de Masse
GCE	Électrode en Carbone Vitreux
GLY	Glyphosate
GS-MB	Feuille de Graphène au Bleu de Méthylène
Hb	Hémoglobine
HFIP	Hexafluoroisopropanol
HOMO	Orbitale Moléculaire Occupée la Plus Haute Highest Occupied Molecular Orbital (orbitale moléculaire occupée la plus haute)
ITO	Indium Tin Oxide (Oxyde d'Indium et d'Étain)
LUMO	Première Orbitale Moléculaire Non Occupée Lowest Unoccupied Molecular Orbital (orbitale moléculaire la plus basse inoccupée)
LC-MS	Chromatographie en Phase Liquide Couplée à la Spectrométrie de Masse
LD ou LOD	Limite de Détection
LQ	Limite de Quantification
MAA	Acide Méthacrylique
MIP	Polymère d'Impression Moléculaire
MS	Spectrométrie de Masse
MWCNTs	Nanotubes de Carbone Multicouches Multiparoies
NHS	N-hydroxysuccinimide
PDA	Polydopamine
PEDOT	Poly(3,4-éthylène Dioxythiophène)
PFAS	Substances Alkyles Poly- et Perfluorées
PC	Polymères Conducteurs
PANI	Polyaniline
MIP	Molecular Imprinted Polymer (Polymère à empreinte moléculaire (Molecular imprinted polymer))
NIP	Non-Imprinted Polymer (Polymère non imprimé)
PDA	Polydopamine
Ppy	Polypyrrole
Py	Pyrrole
QD	Quantum Dots
SPR	Résonance Plasmonique de Surface

SELEX	Système d'Évolution systématique des Ligands par Enrichissement Exponentiel
SERS	Spectroscopie Raman Améliorée par la Surface
SPCE	Électrode en Carbone Sérigraphié
SWV	Voltamétrie à Signaux Carrés (SWV)
XPS	Spectrométrie Photoélectronique à Rayons X

Production scientifique

Publication Scientifique

M.A. Berkal, **Q. Palas**, E. Ricard, C. Lartigau-Dagron, L. Ronga, J. Toulmé, C. Parat, C. Nardin; « Glyphosate–Exonuclease Interactions: Reduced Enzymatic Activity as a Route to Glyphosate Biosensing », Macromolecular Bioscience. **2023**

Q. Palas, E. Ricard, C. Lartigau-Dagron, L. Ronga, C. Parat; « Glyphosate electrochemical detection onto gold surface enhanced by MIP coating » Manuscrit en préparation.

Communication orale

Q. Palas, A. Drabo, M.A. BERKAL, C. Nardin, C. Lartigau-Dagron, L. Ronga « Aptasensors for the detection of emerging contaminants : development of an electrochemical platform» Journées Grand Sud Ouest de la Société Chimique de France, **Toulouse**, France, 11-12 juillet 2022.

Q. Palas, E. Ricard, C. Parat, C. Lartigau-Dagron, L. Ronga « A highly sensitive sensor for glyphosate detection based on the modification of a screen-printed carbon electrode by gold microstructures coated with a nanometric layer of polypyrrole», 13th International Conference on Instrumental Methods of Analysis: Modern Trends and Applications, **Chania**, Grèce, 17-20 Septembre 2023,