

: N° Ordre...../Faculté/UMBB/2017

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE MINISTERE DE  
L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

**UNIVERSITE M'HAMED BOUGARA- BOUMERDES**



Faculté des Sciences

**Thèse de Doctorat**

Présentée par **BELKHALFA Hakim**

Filière : Sciences Physiques

Option : Physique des Matériaux

---

---

## **Elaboration de biocapteurs non-enzymatique de glucose à base de nanostructures de carbone et d'hydroxydes métalliques**

---

---

**Devant le jury:**

DJELALI Nacer Eddine	Prof.	UMBB	Président
DOKHAN Nahed	MC/A	UMBB	Directrice de thèse
ALILI Baya	Prof.	USTHB	Examinatrice
BOUNOUGHAZ Moussa	Prof.	UMBB	Examinateur
HAMADOU Lamia	MC/A	UMMTO	Examinatrice
SZUNERITS Sabine	Prof.	IEMN- Lille1	Invitée

## REMERCIEMENT

Je remercie mon directeur de Thèse, le docteur Nahed Dokhan, de m'avoir suivi de près soit pour le sujet de départ soit avec le nouveau thème, pour ses précieux conseils et pour ses qualités humaines.

Je tiens à remercier mon encadreur en France le Professeur Sabine SZUNERITS sans qui bien évidemment ce travail n'aurait pas été possible. Elle m'a permis de découvrir un domaine de recherche actif sur l'électrochimie et les capteurs. Les excellents moyens matériels et humains mis à ma disposition ont été très précieux pour réaliser au mieux ce projet, je la remercie aussi pour ses qualités humaines. **Merci beaucoup.**

Je voulais également remercier Docteur Rabah BOUKHERROUB (Associate Editor, ACS Applied Materials & Interfaces) pour m'avoir intégré dans son groupe, pour ses précieux conseils et également pour ces qualités humaines.

Je voudrais aussi remercier mon co-directeur de thèse Dr. Badidi Bouda Ali.

Il me paraît essentiel de remercier toutes les personnes ayant contribué de près ou de loin à l'élaboration de cette thèse, au sein de l'équipe Nanobiointerfaces à l'Institut d'Electronique, de Microélectronique et de Nanotechnologie (IEMN-UMR CNRS 8520).

J'exprime toute ma gratitude aux Pr. DJELALI Nacer Eddine, Pr. BOUNOUGHAZ Moussa et Pr. ALILI Baya ainsi que Dr. HAMADOU Lamia pour avoir accepté d'être les examinateurs de ces travaux et de me faire l'honneur d'être membre du jury d'évaluation de cette thèse. Un grand merci pour consacrer de votre temps pour évaluer ce manuscrit.

Je remercie aussi tous les membres de l'équipe Nanobiointerfaces (Florina, Lee, Yanyan, Ni, Mehdi, Patrik, Santosh, Houcem, Roxana, Abd Errahmen, Chian, Alex, Alexandra, Faouzia, fereshtah).

Je remercie mes amis au CRTI (Amir, Naim, Ahmed Mebtouche, Faiza, Nadia, Mohand, Brahim Mehdi, Youcef Faci, Abd Elkader safou, Younes, Ouadhah, Nabil, Halim, Yacine).

Enfin, je remercie toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont contribué au bon déroulement de cette thèse.

## SOMMAIRE

Introduction générale.....	2
Chapitre I : Synthèse bibliographique .....	4
Introduction .....	5
I.1. L'Oxyde de Zinc et le composite ZnO/RGO .....	5
I.2. Le graphène.....	11
I.2.1 Le graphène, une forme allotropique du carbone.....	11
I.2.2. Structure du Graphène.....	13
I.2.3. Méthodes d'obtention du graphène .....	17
I.3. Les nanofibres de carbone (CNFs).....	18
I.3.1.La fibre de carbone.....	19
I.3.2.Propriétés catalytiques des fibres de carbone.....	23
I.3.3. Nanofibres de Carbone.....	24
I.3.4. Nanofibres de carbone en électrocatalyse .....	26
I.4.L'hydroxyde de cobalt et l'hydroxyde de Nickel .....	27
I.4.1.L'hydroxyde de cobalt.....	28
I.4.2.L'hydroxyde de Nickel.....	30
I.5. Les biocapteurs .....	32
I.5.1. Biocapteurs enzymatiques.....	33
I.5.2.Avantages et inconvénients des électrodes enzymatiques de glucose .....	35
I.5.3.Capteur non- enzymatiques .....	35
I.5.3.1.L'électrocatalyse non-enzymatique.....	36
I.5.3.2.Exemple d'électrodes non-enzymatiques.....	37
Références .....	39
Chapitre II: Procédures Expérimentales & Techniques de Caractérisations.....	48
II.1. Préparation de l'oxyde de graphène (GO).....	49
II.2. Préparation des nanofibres de carbone (NFC).....	49
II.3. Préparation du substrat d'électrodes.....	50
II.4. Dépôt électrophorétique.....	50
II.4.1. Principe de l'électrophorèse.....	50
II.4.2. Dispositif d'électrophorèse .....	51
II. 5 Dépôt par goutte (Drop-cast) .....	52

II.6. Electro-activation.....	52
II.7. L'électrochimie et la détection du glucose .....	52
II.7.1 Voltammétrie cyclique.....	53
II.7.2. Ampérométrie .....	54
II.7.3. Le montage électrochimique.....	55
II.8. Mesure de la quantité d'insuline.....	56
II.8.1. Charge et Libération électrochimique d'insuline.....	57
II.8.2. Mesure de la quantité d'insuline chargée.....	58
II.8.3. Mesure de la quantité d'insuline larguée .....	58
II.9. Les Techniques de Caractérisations.....	60
II.9.1. La spectroscopie Raman .....	60
II.9.2. Microscope électronique à balayage (MEB).....	63
II.9.3. La spectroscopie UV-Visible .....	65
II.9.4. La spectroscopie de photoélectrons de rayons X (XPS) .....	66
II.9.5. Mesure du potentiel Zeta.....	69
II.9.6. Modèles Langmuir et BET - Surface spécifique et porosité.....	70
Références .....	73
Chapitre III : Resultats experimentaux & discussions .....	75
Partie A : Capteurs de glucose à base de RGO/ZnO.....	76
Introduction .....	76
III.A.1. Dépôt électrophorétique (DEP) des films RGO/ZnO et RGO/insuline/ZnO .....	76
III.A.2. Les tests de détection électrochimiques .....	77
III.A.2.1. Détection de glucose.....	78
III.A.2.2. Mesure de l'insuline larguée dans l'électrolyte .....	81
Conclusion.....	82
Partie-B : Capteurs de glucose à base de RGO/Ni(OH) <sub>2</sub> .....	84
III.B.1. Introduction .....	84
III.B.2. Dépôt électrophorétique du film RGO/insulin/Ni(OH) <sub>2</sub> .....	85
III.B.2.1. Préparation de la solution de DEP .....	85
III.B.2.2. Elaboration du matériau d'électrode par DEP .....	85
III.B.3. Mesure du taux d'insuline chargée dans le nanocomposite .....	86
III.B.4. Variation du taux d'insuline chargée en fonction du pH.....	87
III.B.5. Morphologie et cartographies X des films obtenus à différents temps de dépôt.....	88

III.B.6. Composition chimique des films de RGO/insuline/Ni(OH) <sub>2</sub> .....	92
III.B.7. Quantité d'insuline chargée dans les films en fonction du temps de dépôt.....	94
III.B.8. Voltamogramme cycliques des films formés à différents temps de dépôt .....	95
III.B.9. Variation de l'épaisseur des films en fonction du temps de dépôt .....	96
III.B.10. Analyse par spectroscopie Raman du film de RGO/insuline/Ni(OH) <sub>2</sub> .....	97
III.B.11. Oxydation électrocatalytique du glucose par le nano composite RGO/insulin/NiOH <sub>2</sub> .....	98
III.B.12. Sensibilité et limite de détection en fonction du temps de dépôt .....	102
III.B.13. Libération électrochimique d'insuline .....	105
Conclusion.....	107
Références .....	109
Partie-C : Capteurs de glucose à base de films CNFS / Co (OH) <sub>2</sub> .....	110
III.C.1. Introduction .....	110
III.C.2. Synthèse par DEP de nanocomposites du CNFS/Co(OH) <sub>2</sub> .....	110
III.C.3. Processus de Formation du nanocomposite NFC/Co(OH) <sub>2</sub> .....	111
III.C.4. Morphologie des films obtenus .....	112
III.C.5. L'influence du temps de dépôt sur l'épaisseur du nanocomposite .....	112
III.C.6. La composition chimique du composite CNFS @ Co(OH) <sub>2</sub> .....	113
III.C.7. Mesure de la surface spécifique de NFC/Co(OH) <sub>2</sub> .....	114
III.C.8. Oxydation électrocatalytique du glucose sur le nanocomposite NFC/Co(OH) <sub>2</sub> .....	114
III.C.9. Détection ampérométrique.....	117
III.C.10. Sensibilité de détection en fonction du temps de dépôt électrophorétique.....	118
III.C.11. Test d'interférence .....	119
Conclusion.....	121
Références .....	122
Conclusion Générale .....	124

## Liste des abréviations

CE : contre-électrode

ChOx : Cholestérol oxydase

DCV : dépôt chimique en phase vapeur

DEP : dépôt électrophorétique

ER : électrode de référence

ET: électrode de travail

FAD : la flavine adénine dinucléotide

GO : Graphen Oxide (oxyde de graphène)

GOx : Glucose Oxydase

NFC : nanofibres de carbone

NF-ZnO : Nanofils d'oxyde de zinc

NTC : nanotubes de carbone

RGO : Reduced Graphen Oxide

OGR : oxyde de graphène réduit

VC : Voltammétrie cyclique

ZnO : Oxyde de zinc

AKT : est la protéine kinase B, aussi appelée PKB.

PI : point isoélectrique

EDX (ou EDS) ....

XPS (X-ray photoelectron Spectroscopy)

PBS : tampon phosphate salin (en anglais : Phosphate Buffered Saline)

## Liste des figures

### Chapitre I

- Figure I.1** Schéma illustrant une mesure de pH intracellulaire grâce à des nanofils de ZnO.....6
- Figure I.2** Mécanisme de détection de glucose au niveau d'électrodes formée de nanotubes de ZnO, de glucose oxydase et de Nafion.....7
- Figure I.3** Le glucose oxydase catalyse la réaction de transfert d'électrons du glucose vers l'oxygène en produisant de l'acide gluconique et du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.....7
- Figure I.4** A gauche : (a) Nanofils d'oxyde de zinc (NF-ZnO), (b) l'enzyme uréase immobilisé sur les NF-ZnO ; à droite : (a) Illustration schématique d'une bioélectrode à base de NF-ZnO et d'uréase pour la détection d'urée, (b) Voltammétrie cyclique (VC) avec et sans urée dans une solution de PBS (pH7), (c) VC à différentes vitesses de balayage, (d) amplitudes des pics d'oxydation (I<sub>pa</sub>) et de réduction (I<sub>pc</sub>) en fonction de la vitesse de balayage.....8
- Figure I.5** Schéma illustrant une mesure du taux de cholestérol grâce à des nanofils de ZnO combinés au cholestérol oxydase (ChOx).....8
- Figure I.6** Exemple de capteur non-enzymatique à base de nanofils de ZnO (des nanoparticules de CuO ont été déposées sur ces nanofils pour améliorer l'effet électrocatalytique).....9
- Figure I.7** Haut : préparation d'une électrode détectrice à base de ZnO et de nanotubes de carbone ; bas : images MEB des Nanotubes de carbones (A) et de ZnO/Nanotubes de carbone (B).....10
- Figure I.8** Image MEB de l'électrode d'un biocapteur d'ADN, (A) Nanofils de ZnO, (B) Nanotubes de carbone, (C) Nanofils-ZnO /Nanotubes de carbone.....11
- Figure I.9** Formes allotropiques du carbone.....12
- Figure I.10** La structure 2D du graphène est une base pour certaines formes allotropiques du carbone (graphite, nanotube, fullérène, etc.).....13
- Figure I.11** Exemple d'images MEB de deux nanostructures de carbone utilisé dans cette thèse (A) Nanofibres de Carbone (NFC), (B) feuillets de graphène.....13
- Figure I.12** (a) Orbitales atomique puis hybridation sp<sup>2</sup> de l'atome de carbone, (b) atome de carbone avec ses trois orbitales sp<sup>2</sup> et son orbitale p, (c) Les liaisons  $\sigma$  et  $\pi$  créent de fortes liaisons covalentes entre les atomes de carbone.....14
- Figure I.13** Structure du graphène, les orbitales de liaisons et le spectre de dispersion correspondant.....14
- Figure I.14** (a) Les orbitales sp<sup>2</sup> et p<sub>z</sub> des atomes de carbone dans le graphène [35], (b) les orbitales planaires sp<sup>2</sup>, (c) les orbitales p<sub>z</sub>.....14
- Figure I.15** Illustration schématique des bandes d'énergie pour le graphène .....15

<b>Figure I.16</b> (a) Structure cristalline du graphène formant deux sous-réseaux A et B ; (b) $\mathbf{a}_1$ et $\mathbf{a}_2$ sont les vecteurs de base du réseau de Bravais triangulaire, les vecteurs $\delta_1$ , $\delta_2$ et $\delta_3$ relient les plus proches voisins ; (c) première zone de Brillouin (ZB) pour le graphène, $\mathbf{b}_1$ et $\mathbf{b}_2$ sont les vecteurs du réseau réciproque.....	15
<b>Figure I.17</b> Graphène à trois couches, (a) Empilement Bernal, (b) empilement Rhomboédral.....	16
<b>Figure I.18</b> Nanorubans de graphène (a) en bordure Zigzag, (b) en bordure Armchair (fauteuil).....	16
<b>Figure I.19</b> Réduction-Dépôt anodique d'oxyde de graphène par électrophorèse.....	18
<b>Figure I.20</b> Les premières lampes électriques utilisaient un filament de carbone.....	19
<b>Figure I.21</b> Comparaison schématique des dimensions des diamètres sur une échelle logarithmique de différents types de carbone fibreux (nanotube <b>a</b> et <b>b</b> , nanofibre <b>c</b> , fibre <b>d</b> et <b>e</b> ).....	20
<b>Figure I.22</b> Composites à base de fibres de Carbone dans l'industrie automobile.....	21
<b>Figure I.23</b> (1) Arrangement des atomes de carbone dans le cristal de graphite parfait.....	21
<b>Figure I.24</b> (1) Carbone turbostratique constituant les fibres de carbone, (2) structure hexagonale du graphite idéal.....	22
<b>Figure I.25</b> Exemple de structure d'une fibre de carbone .....	23
<b>Figure I.26</b> Exemple de mécanisme catalytique .....	24
<b>Figure I.27</b> (a) NFC- cônes, (b) NFC-arêtes de poisson, (c) NFC-plaques, (d) NFC-tubulaires.....	24
<b>Figure I.28</b> Illustration schématique d'une supercapacité constituée d'une électrode positive à base de Graphène/ $\text{MnO}_2$ et d'une électrode négative à base de NFC activées, l'électrolyte étant une solution aqueuse neutre de $\text{Na}_2\text{SO}_4$ .....	25
<b>Figure I.29</b> Illustration schématique d'une croissance de NFC par DCV.....	26
<b>Figure I.30</b> (A) Exemple de NFC obtenues par DCV, (B) NFC obtenues par DCV selon un autre protocole .....	26
<b>Figure I.31</b> Images MEB de (a) NFC et (b) Vulcan XC-72R, (c) spectre DRX respectif des NFC et du Vulcan XC-72R .....	27
<b>Figure I.32</b> Exemple d'ancrage de nanoparticules catalytique sur la surface d'une NFC.....	27
<b>Figure I.33</b> Exemple d'utilisation de nanofils d'oxyde de cobalt pour la dégradation de phénol.....	28
<b>Figure I.34</b> Nano-aiguilles de $\text{Co}(\text{OH})_2$ déposé sur le graphène formant l'électrode d'un détecteur non-enzymatique de glucose.....	28
<b>Figure I.35</b> Structure de l'hydroxyde de cobalt $\text{Co}(\text{OH})_2$ , et exemple de diffractogramme .....	29
<b>Figure I.36</b> Nanofeuillet de $\text{Co}(\text{OH})_2$ testé pour les batterie alcalines zinc-air .....	30
<b>Figure I.37</b> (a) La phase $\alpha$ - $\text{Ni}(\text{OH})_2$ , (b) la phase $\beta$ - $\text{Ni}(\text{OH})_2$ , (c) spectres DRX de film de $\text{Ni}(\text{OH})_2$ sur un substrat de Nickel : la phase $\alpha$ est beaucoup moins cristalline que la phase $\beta$ .....	31



<b>Figure I.38</b> Illustration schématique du mécanisme de détection électrocatalytique du glucose par une électrode constituée de nanoparticules de nickel déposées sur du carbone vitreux.....	32
<b>Figure I.39</b> Principe de fonctionnement d'un biocapteur.....	33
<b>Figure I.40</b> Résumé des mécanismes d'oxydation enzymatique du glucose.....	34
<b>Figure I.41</b> Illustration de l'adsorption d'une espèce organique à la surface du matériau électrocatalytique et libération simultanée d'hydrogène.....	36

## Chapitre II

<b>Figure II.1</b> Image MEB des nanofibres de carbone (NFC) élaborées.....	50
<b>Figure II.2.A</b> Schéma du dispositif d'électrophorèse. CE : contre électrode en platine, ET : électrode de travail (substrat).....	51
<b>Figure II.2 B</b> Schéma illustratif du dépôt électrophorétique : (A) dépôt anodique, (B) dépôt cathodique.....	51
<b>Figure II.3</b> Voltammétrie cyclique avec et sans la présence de glucose.....	53
<b>Figure II.4</b> Illustration schématique de l'oxydation du glucose à la surface de l'électrode modifiée sous potentiel anodique.....	54
<b>Figure II.5</b> Courbe ampérométrique avec différentes concentrations de glucose.....	54
<b>Figure II.6</b> Illustration schématique du dispositif électrochimique utilisé .....	55
<b>Figure II.7</b> Structure moléculaire de l'insuline.....	57
<b>Figure II.8.</b> a) Spectres UV-Visible pour différentes concentrations d'insuline dans l'eau, b) la courbe de calibration correspondante .....	58
<b>Figure II. 9</b> a) Spectres UV-Visible pour différentes concentrations d'insuline dans NaOH (0.1 M), b) la courbe de calibration correspondante.....	59
<b>Figure II. 10</b> a) Spectres UV-Visible pour différentes concentrations d'insuline dans PBS pH7.4, b) la courbe de calibration correspondante .....	59
<b>Figure II.11</b> Illustration schématique du processus Raman Stokes et anti-Stokes (a et b), (c) diagramme d'énergie montrant le processus de Rayleigh (diffusion élastique) et le processus Raman (diffusion inélastique), (d) spectre de l'intensité diffusée en fonction du nombre d'onde (autrement dit de l'énergie) montrant les pics Stokes et anti-Stokes.....	61
<b>Figure II.12</b> Illustration schématique du spectre Raman .....	62
<b>Figure II.13</b> Exemple de spectromètre Raman de marque « LabRam HR Visible » de la société Horiba Jobin Yvon.....	63
<b>Figure II.14</b> Signaux produits par interaction d'un électron primaire avec l'échantillon .....	64
<b>Figure II.15</b> Domaine d'émission des diverses interactions.....	64

<b>Figure II.16</b> spectrophotomètre UV-vis Evolution 600 de Thermo Scientific.....	65
<b>Figure II.17</b> Exemple de spectre XPS montrant l'état 1s de d'oxygène.....	67
<b>Figure II.18</b> Image illustre la puissance de la technique XPS.....	67
<b>Figure II.19</b> Spectre XPS (a) film d'oxyde de graphène (b) film d'oxyde de graphène réduit.....	68
<b>Figure II.20</b> Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments S. A.,Worcestershire, U.K.).....	69
<b>Figure II.21</b> Courbes caractéristiques (A) d'une isotherme de Langmuir, (B) d'une isotherme BET...72	

### Chapitre III- Partie A

<b>Figure III.A.1.</b> (A) Voltamogramme cyclique dans une solution de NaOH 0,1 M pour les électrodes modifiées avec glucose (rouge) et sans glucose (bleu) sans insuline, (B) avec insuline.....	77
<b>Figure III.A.2.</b> (A) courbe de réponse ampérométrique de RGO/ZnO/Au, polarisée à +0,4 V vs. Ag/AgCl avec des additions successives de 5µM de glucose dans NaOH 0,1 M, (B) Courbe de calibration pour RGO/ZnO/Or, (C) Courbe de calibration pour RGO/ZnO/Or (zoom à des concentrations plus faibles).....	78-79
<b>Figure III.A.3.</b> (A) courbe de réponse ampérométrique d'une électrode RGO/insuline/ZnO/Or, polarisée à +0,4 V vs Ag/AgCl avec des additions successives de glucose dans NaOH 0,1 M (jusqu'à un total de 1 mM); (B) Courbe de calibration pour RGO/insuline/ZnO/Or (C) Courbe de calibration pour RGO/insuline/ZnO/Or (zoom sur les faibles concentrations).....	79-80
<b>Figure III.A.4.</b> Comparaison entre les courbes de calibration pour RGO/insuline/ZnO/Or et RGO/ZnO/Or .....	80
<b>Figure III.A.5</b> les courbes d'étalonnage de l'insuline dans NaOH (0,1M) et PBS (pH7.4).....	81
<b>Figure III.A.6</b> (A) Cinétique de libération d'insuline à partir de l'électrode de RGO/insuline/ZnO/Or dans le NaOH (0,1 M) (B) dans PBS (pH 7,4) et à un potentiel de -0,8 V et +0,4V vs Ag/AgCl.....	82

### Chapitre III-Partie B

<b>Figure III.B.1:</b> le spectre UV/ Visible de l'insuline aux différentes concentrations dans l'eau Milli-Q avec la courbe de calibration.....	87
<b>Figure III.B.2</b> Insuline humaine chargée, en fonction du pH, dans le nanocomposite d'électrode durant le DEP à partir d'une solution de GO (0.5 mg mL <sup>-1</sup> ) ou GO/Ni <sup>2+</sup> (0.5 mg mL <sup>-1</sup> ).....	88
<b>Figure III.B.3</b> Images MEB du nanocomposite RGO/insuline/Ni(OH) <sub>2</sub> formés par EPD à 15 V pour des durée de 1, 3, 5 et 10 min en utilisant une suspension de GO (0,5 mg ml <sup>-1</sup> ), Ni <sup>2+</sup> (0,5 mg ml <sup>-1</sup> ) chargé avec 48 µg ml <sup>-1</sup> d'insuline.....	89
<b>Figure III.B.4</b> Cartographie X de la répartition de carbone (C), d' nickel (Ni), d'oxygène (O) et d'azote (N) du film de RGO/insuline/Ni(OH) <sub>2</sub> formé à travers le DEP à 15 V pendant 5 min.....	91
<b>Figure III.B.5</b> Spectres XPS haute résolution Ni2p typique des films de RGO/insuline/Ni(OH) <sub>2</sub> .....	93

<b>Figure III.B.6</b> Variation du pourcentage de carbone C, d'azote N et de nickel Ni, dans le nanocomposite en fonction de la durée du dépôt .....	94
<b>Figure III.B.7</b> Quantité d'insuline chargée dans le film en fonction du temps de dépôt.....	94
<b>Figure III.B.8</b> (A) Voltammogrammes cycliques dans NaOH (0,1 M) pour les films formés à 1, 3, 5 et 10 min .....	96
<b>Figure III.B.9</b> L'influence du temps de dépôt électrophorétique sur l'épaisseur (en nm) des films de rGO/insulin/Ni(OH) <sub>2</sub> .....	97
<b>Figure III.B.10:</b> Spectre Raman typique du film RGO/insulin/Ni(OH) <sub>2</sub> (15 V, 5 min).....	98
<b>Figure III.B.11</b> (A) Voltammogrammes Cycliques (VC) dans NaOH (0,1 M) avant et après addition de 1 mM de glucose des électrodes (A) RGO/insulin/Ni(OH) <sub>2</sub> formées par DEP à 15 V et en 5 min, (B) RGO/Ni(OH) <sub>2</sub> formées par DEP à 50V et en 20 s [3]; vitesse de balayage dans les deux cas: 50 mV/s.....	99
<b>Figure III.B.12</b> Le mécanisme proposé pour l'oxydation électrocatalytique du glucose sur le nanocomposite RGO/insulin/Ni(OH) <sub>2</sub> en milieu alcalin: a) Ni(OH) <sub>2</sub> est oxydé en NiOOH catalytiquement actif ; b) le glucose subit une première déshydrogénation produisant le radical intermédiaire et régénérant l'espèce Ni(OH) <sub>2</sub> , c) les ions hydroxyle se déchargent tout en provoquant une déshydrogénation du radical intermédiaire pour donner la δ-gluconolactone.....	101
<b>Figure III.B.13</b> Molécule de β-D-glucose se transformant en δ-gluconolactone puis en acide gluconique.....	102
<b>Figure III.B.14</b> (A) Courbe de réponse ampérométrique des électrodes RGO/insulin/Ni(OH) <sub>2</sub> formées par EPD à 15 V en 5 min, sous une polarisation de +0,6 V vs. Ag/AgCl et avec additions successives de glucose dans NaOH (0,1 M) ; (B) courbe d'étalonnage correspondante avec insertion d'un zoom sur les petites concentrations de glucose.....	103
<b>Figure III.B.15</b> Variation de la sensibilité de la limite de détection des électrodes RGO/insuline/Ni(OH) <sub>2</sub> en fonction de la durée de DEP.....	104
<b>Figure III.B.16</b> Test d'interférence du film de RGO/insulin/Ni(OH) <sub>2</sub> dans NaOH 0,1 M à +0,6 V avec 1 mM de glucose en présence de 1 mM de : fructose, glucose, acide urique (UA), dopamine et acide ascorbique (AA).....	105
<b>Figure III.B.17</b> (A) Cinétique de libération d'insuline à partir de l'électrode de RGO/insulin/Ni(OH) <sub>2</sub> dans le PBS (pH 7,4) et NaOH (0,1 M) à un potentiel de -0,8 V et +0,6 V vs. Ag/AgCl; (B) histogramme montrant les proportions d'insuline libérée selon le potentiel appliqué à l'électrode....	106
<b>Figure III.B.18</b> L'activité de l'insuline exprimée par le rapport entre la p-Akt et l'Akt, pour l'insuline native et l'insuline libérée par voie électrochimique, par rapport à un témoin négatif (cellules sans traitement par l'insuline), déterminée sur des cellules HepG2. Les résultats sont exprimés par la moyenne d'au moins trois échantillons indépendants pour chaque groupe.....	107

### Chapitre III-Partie C

<b>Figure III.C.1</b> Représentation schématique de la formation des films NFC/Co(OH) <sub>2</sub> par DEP.....	111
---	-----

<b>Figure III.C.2</b> Images MEB (A) de films NFC déposés par goutte ( <i>Drop-cast</i> ) et (B) de films NFC/Co(OH) <sub>2</sub> formés par DEP à 50V pendant un temps de déposition de 2 min .....	112
<b>Figure III.C.3</b> Influence du temps de dépôt sur l'épaisseur du matériau nanocomposite .....	113
<b>Figure III.C.4</b> Spectres XPS à haute résolution de Co <sub>2p</sub> et C1s des films de NFC/Co(OH) <sub>2</sub> déposés par DEP à 50 V pendant 2 min sur un film mince d'or.....	113
<b>Figure III.C.5</b> Analyse d'isotherme d'adsorption-désorption d'azote des films NFC/Co(OH) <sub>2</sub> déposés par EPD à 50 V pendant 2 min sur un film mince d'or.....	114
<b>Figure III.C.6</b> Voltammogrammes cycliques de NFC (gris) et NFC/Co(OH) <sub>2</sub> (rapport 2: 1, temps de déposition de 2 min) sur des électrodes d'or (A) dans NaOH à 0,1 M, la vitesse de balayage: 50 mVs <sup>-1</sup> ; (B) en présence de 1 mM de glucose; (C) VC des électrodes d'or modifiées avec Co(OH) <sub>2</sub> obtenu par DEP en l'absence (noir) et en présence (pointillés noirs) de glucose (1 mM) dans le NaOH à 0,1 M, la vitesse de balayage: 50 mV s <sup>-1</sup> .....	116
<b>Figure III.C.7</b> Comparaison de la réponse électroanalytique des NFC, des films Co(OH) <sub>2</sub> et des films de NFC/Co(OH) <sub>2</sub> électrophorétiquement formé en variant le rapport NFC / Co <sup>2+</sup> et le temps de déposition.....	118
<b>Figure III.C.8</b> (A) La courbe ampérométrique de l'électrode d'or modifiée par le film NFC/Co(OH) <sub>2</sub> polarisée à 0,55 V vs. Ag / AgCl après des additions successives de glucose (100 μM) dans le NaOH 0,1 M; (B) Courbe d'étalonnage obtenue.....	119
<b>Figure III.C.9</b> Réponse ampérométrique des électrodes de NFC/Co (OH) <sub>2</sub> polarisée à 0,55 V vs. Ag / AgCl suite à l'ajout de glucose (500 μM), de dopamine (DA, 50 μM), d'acide ascorbique (AA, 50 μM), d'acide urique ( UA, 50 μM), de fructose (50 μM), de lactose (50 μM), et de galactose (50 μM). L'électrolyte est une solution de NaOH à 0,1 M.....	120
<b>Figure III.C.10</b> La réponse ampérométrique des électrodes modifiées du NFC/Co (OH) <sub>2</sub> après l'additions successives de différents analytes : glucose (1 mM), sérum humain (dilué 5 fois ), acide ascorbique (AA, 1 mM), dopamine (DA, 1 mM), tous dilués dans une solution de NaOH à 0,1 M et sous potentiel de 0,55 V vs Ag / AgCl.....	120

## Liste des tableaux

### Chapitre I

<b>Tableau I.1</b> : Principales propriétés du monocristal de graphite à 300K.....	21
--	----

### Chapitre III-Partie B

<b>Tableau III.B.1</b> : Pourcentage atomiques des éléments chimiques C, N, Ni et O estimés par EDX du nanocomposite RGO/insuline/Ni(OH) <sub>2</sub> élaboré sous 15 V en 5 min.....	91
---	----

<b>Tableau III.B.2</b> : La composition chimique (en pourcentage, %) déterminée par les spectres XPS des films de RGO / insuline / Ni(OH) <sub>2</sub> formés par EDP à 15 V pour différents intervalles de temps.....	93
--	----

<b>Tableau III.B.3</b> : Comparaison des performances analytiques des électrodes RGO/insuline/Ni(OH) <sub>2</sub> en fonction de la durée du DEP .....	104
--	-----

<b>Tableau III.B.4</b> : Comparaison des performances analytiques des autres capteurs de glucose non enzymatiques et enzymatiques.....	104
--	-----

### Chapitre III-Partie C

<b>Tableau III.C.1</b> . Comparaison des performances analytiques d'autres capteurs non enzymatiques à base de Co.....	118
--	-----

---

---

# ***INTRODUCTION GENERALE***

---

---

## **Introduction générale**

L'utilisation de nouveaux matériaux pour la détection et plus spécifiquement la bio-détection est parmi les domaines qui connaissent actuellement la plus grande activité, vu l'importance des applications potentielles.

D'énormes efforts ont été consacrés au développement des méthodes efficaces et fiables pour la détection du Glucose. Les biocapteurs à base de glucose-oxydase ont été développés à cet effet et des électrodes enzymatiques ampérométriques ont joué un rôle de premier plan pour les tests de glycémie dans le sang.

Même si les capteurs électrochimiques à base d'enzymes dominant le marché, leur coût élevé ainsi que leur stabilité très limitée provoque un problème important à la plupart de ces capteurs. Une autre alternative est proposée qui pourrait permettre de remédier aux limitations des biocapteurs à base d'enzymes : c'est le développement de la détection non-enzymatique. En dépit du fait que cette catégorie de capteurs soit légèrement moins sélective que la précédente envers quelques espèces nécessitant une exploitation dans un milieu alcalin, elle présente d'indéniables avantages tels que le temps de réponse rapide, la plus grande sensibilité et une bien meilleure stabilité.

Plusieurs nanomatériaux, surtout ceux caractérisés par des propriétés électrocatalytiques marquées, ont été proposés pour la détection de glucose.

Nous nous sommes intéressés dans ce travail à explorer trois de ces matériaux, d'abord le ZnO qui est connu pour être un matériau aux fonctionnalités riches et diversifiées aisément nanostructurable et possédant des propriétés catalytiques bien avérées ; restait à étudier ses propriétés d'oxydation électrocatalytique du glucose. Le second matériau est l'hydroxyde de nickel, que nous avons associé à l'oxyde du graphène réduit, l'ensemble fut chargé d'insuline pour réaliser un biocapteur électrochimique de glucose à double fonction : détection – régulation. Et enfin le troisième matériau exploré qui est l'hydroxyde de cobalt que nous avons associé à un réseau de nanofibres de carbone pour améliorer la sensibilité et tester un éventuel effet synergique dans la détection ampérométrique du glucose.

Dans la première partie de ce travail, nous avons réalisé des électrodes détectrices du glucose à base de nanopoudre de ZnO associée à l'oxyde du graphène réduit. Le dépôt de la couche détectrice a été effectué en appliquant le procédé électrophorétique (DEP) et en ajustant les paramètres expérimentaux de manière adéquate. Les tests électrocatalytiques ont été effectués « avec » et « sans » chargement d'insuline au sein de la couche détectrice; dans le premier comme dans le second cas, les résultats de détection non-enzymatique du glucose furent peu satisfaisants.

Afin d'obtenir des résultats plus probants, notre travail de recherche s'est orienté vers deux hydroxydes,  $\text{Co}(\text{OH})_2$  et le  $\text{Ni}(\text{OH})_2$ , connus pour leur aptitude à montrer d'intéressantes activités électrocatalytiques ; restait à prouver leur efficacité dans la détection non-enzymatique de glucose quand ils sont associés à des nanostructures de carbone (graphène et nanofibres de carbone). Les résultats obtenus dans le cas de ces deux derniers matériaux se sont avérés très satisfaisants.

Ainsi, le travail présenté dans ce manuscrit est une contribution à la recherche sur l'utilisation et l'association de nanomatériaux pour la mise au point de biocapteurs non-enzymatiques utilisables dans la détection électrochimique de glucose et aussi dans sa régulation par libération d'insuline préalablement chargée dans le nanocomposite de la couche détectrice.

Le manuscrit est constitué, en plus de l'introduction et de la conclusion générale, de trois principaux chapitres :

1. Le premier chapitre est une synthèse bibliographique concernant les matériaux utilisés et les biocapteurs (plus spécifiquement, les biocapteurs enzymatiques et non-enzymatiques).
2. Le deuxième chapitre porte sur le procédé expérimental que nous avons utilisé et les techniques de caractérisations.
3. Le troisième chapitre se divise en trois parties : la première partie présente l'élaboration d'électrodes modifiées à base d'oxyde de graphène réduit (RGO) et de nanostructures de ZnO co-déposés par procédé électrophorétique; la deuxième partie présente la synthèse d'un matériau nanocomposite obtenu par l'association de  $\text{Co}(\text{OH})_2$  nanostructuré et de nanofibres de carbone (NFC), déposé grâce au procédé électrophorétique. Des tests de détection ampérométrique de glucose ont été réalisés ; dans la troisième partie sera présentée l'élaboration d'un matériau d'électrode à base d'oxyde de graphène réduit (RGO) et d'hydroxyde de nickel –  $\text{Ni}(\text{OH})_2$  nanostructuré, les tests de détection ampérométriques de glucose ont été réalisés sur deux variantes de ce nanocomposite : avec ou sans chargement d'insuline. En utilisant un dosage in vitro, nous avons démontré que l'activité métabolique de l'insuline électrochimiquement libérée a été préservée.

Le manuscrit se termine par une conclusion générale.



---

# Chapitre I :

## Synthèse bibliographique

---

## **Introduction**

Les nanostructures d'oxydes et hydroxydes de certains métaux de transition, tels que le zinc, le cobalt ou le nickel, font l'objet de recherches intensives dans le but de les optimiser pour la bio-détection. Avec l'avènement relativement récent de nouveaux nanomatériaux carbonés comme le graphène, les nanotubes et les nanofibres de carbone, présentant des propriétés exceptionnelles, la recherche s'est systématiquement orientée vers l'association de ces deux catégories de nanostructures dans l'objectif d'améliorer la réponse des biocapteurs.

Dans ce chapitre nous présentons les trois matériaux inorganiques ZnO, Co(OH)<sub>2</sub> et Ni(OH)<sub>2</sub> utilisés dans le cadre de cette thèse, ainsi que le graphène et les nanofibres de carbone qui seront combinés aux matériaux inorganiques pour former des nanocomposites utilisables dans les biocapteurs de glucose. La détection électrochimique enzymatique et non-enzymatique du glucose sera présentée à la fin de ce chapitre.

### **I.1. L'Oxyde de Zinc et le composite ZnO/RGO**

Les récents développements des biocapteurs s'orientent de plus en plus vers l'utilisation de certains matériaux inorganiques nanostructurés qui offrent un grand rapport surface/volume, une activité de surface accrue et un bon transfert d'électrons entre les sites actifs et l'électrode [1].

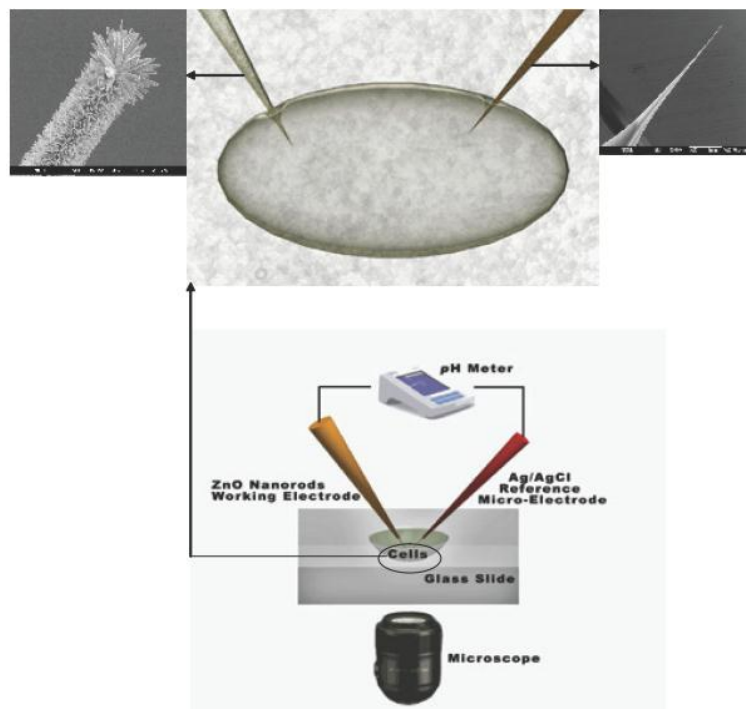
L'oxyde de zinc (ZnO), qui est un semi-conducteur de type II-VI à large gap (~3,37 eV) et à grande énergie d'exciton (60 meV), est un intéressant matériau en raison de ses propriétés électroniques et optiques et catalytiques. Sur la base de ces propriétés, le ZnO a été utilisé pour diverses applications, telles que les diodes émettrices de lumière [2,3], les cellules solaires photovoltaïques ou à colorant [4,5] et les capteurs [6]. Pour nombre d'applications potentielles, la morphologie ainsi que la taille nanométrique de ZnO sont des paramètres importants à considérer [7].

Les nanostructures de ZnO tels que les nanocristaux, les nanofils et les nanotubes ont récemment attiré beaucoup d'attention pour la détection d'espèces chimiques et biologiques, investissant ainsi peu à peu le domaine de l'environnement et des bio-industries. Ceci est justifié non seulement par les propriétés de ce matériau (non-toxicité, biocompatibilité, stabilité chimique, présence de surface polaire, activité catalytique, grande capacité d'adsorption, importante vitesse de transfert électronique), mais aussi pour la facilité qu'il a

de croître selon des structures nanométriques organisées (ce qui permet d'augmenter considérablement la surface spécifique disponible) [8].

De part sa forte liaison ionique (60%), sa faible solubilité aux pH biologiques, la taille de ses nanostructures - comparables à la taille des espèces chimiques et biologiques à détecter -, son point isoélectrique élevé (~9,5), ZnO est intuitivement un excellent transducteur primaire pour produire des signaux électriques de détection [9].

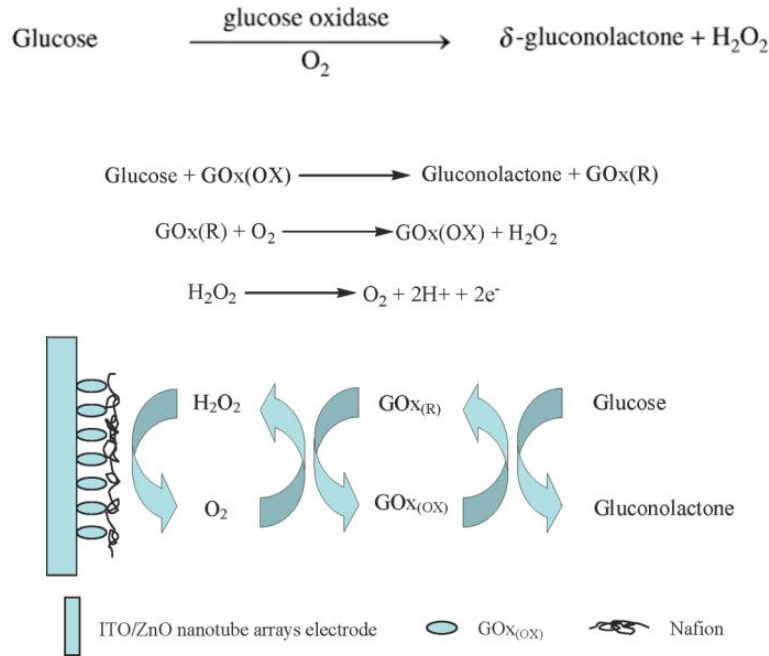
Le capteur à base de ZnO a été utilisé pour détecter et surveiller les changements dans le fonctionnement de cellules (humaines ou animales) en mesurant le changement du potentiel électrochimique à l'interface « milieu intracellulaire/nanostructure de ZnO ». Il a ainsi été démontré que le pH aussi bien que le taux de certains ions ( $\text{Ca}^{2+}$ , par exemple) dans la zone intracellulaire pouvait être contrôlé sans endommagement de la cellule [10,11], figure I.1. Un travail d'investigation concernant l'application des nanofils de ZnO comme élément électronique de biodétection à sensibilité protonique, a été effectué par l'équipe de *Magnus Willander*, à la fin de la dernière décennie [12].



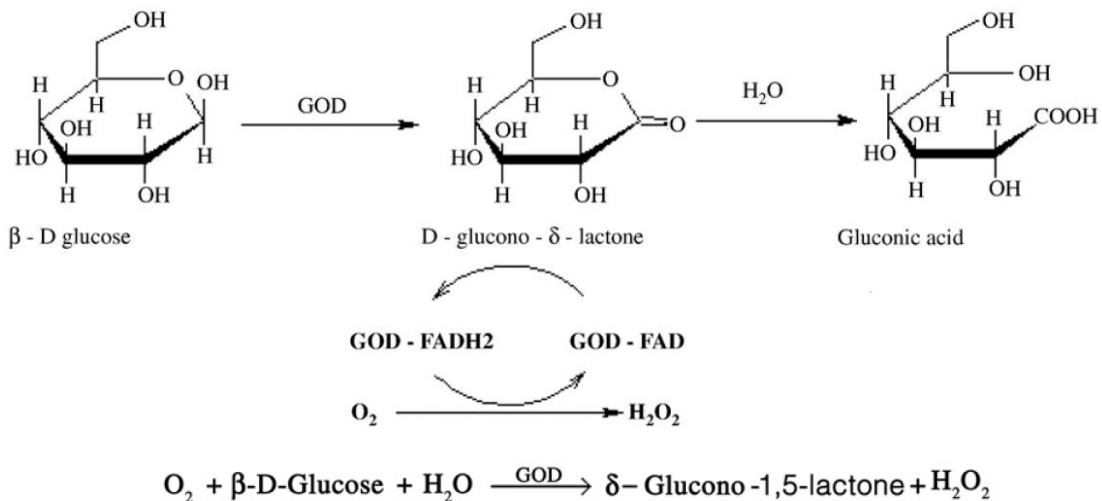
**Figure I.1** Schéma illustrant une mesure de pH intracellulaire grâce à des nanofils de ZnO [13].

Dans le domaine des capteurs à glucose, le ZnO nanostructuré a essentiellement été utilisé dans les capteurs enzymatiques ampérométriques ; ceux-ci utilisent la Glucose Oxydase GOx (Figure I.2 et I.3), enzyme jouant le rôle de catalyseur dans le métabolisme humain pour l'oxydation du glucose, donnant en fin de réaction de l'acide gluconique et du peroxyde d'hydrogène H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> [1].

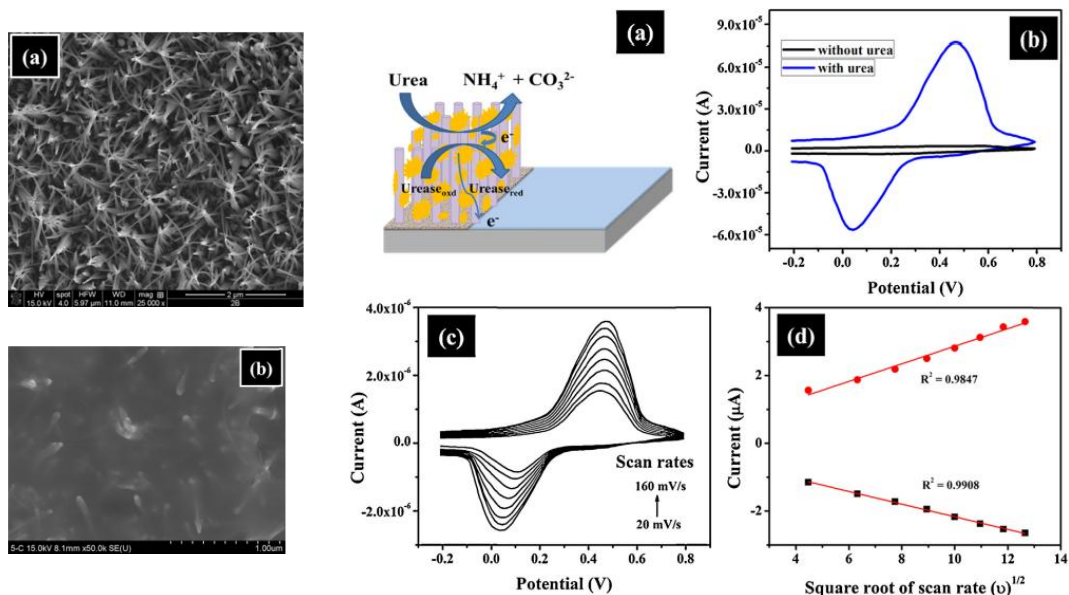
La réaction d'oxydation du glucose grâce à l'action catalytique de l'enzyme glucose oxydase [15] :



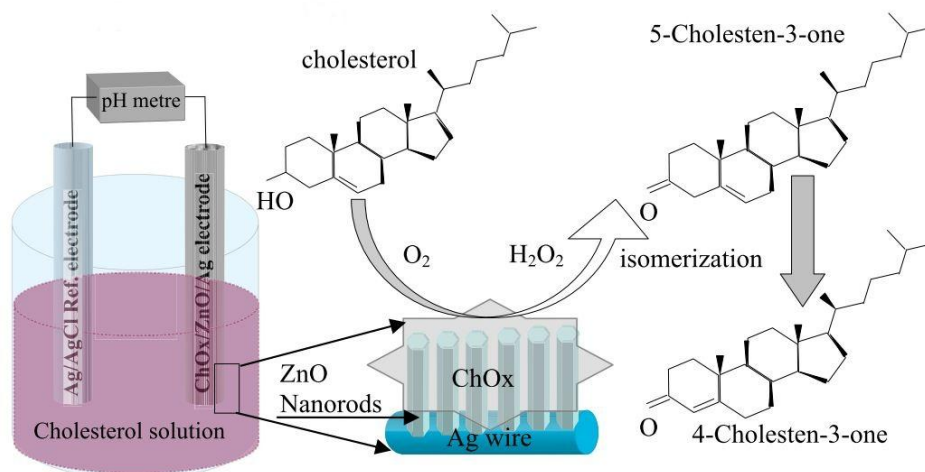
**Figure I. 2** Mécanisme de détection de glucose au niveau d'électrodes formée de nanotubes de ZnO, de glucose oxydase et de Nafion [16].



**Figure I.3** Le glucose oxydase catalyse la réaction de transfert d'électrons du glucose vers l'oxygène en produisant de l'acide gluconique et du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> [17].



**Figure I.4** A gauche : (a) Nanofils d'oxyde de zinc (NF-ZnO), (b) l'enzyme uréase immobilisé sur les NF-ZnO ; à droite : (a) Illustration schématique d'une bioélectrode à base de NF-ZnO et d'uréase pour la détection d'urée, (b) Voltammétrie cyclique (VC) avec et sans urée dans une solution de PBS (pH7), (c) VC à différentes vitesses de balayage, (d) amplitudes des pics d'oxydation ( $I_{pa}$ ) et de réduction ( $I_{pc}$ ) en fonction de la vitesse de balayage [1,14].



**Figure I.5** Schéma illustrant une mesure du taux de cholestérol grâce à des nanofils de ZnO combinés au cholestérol oxydase (ChOx) [2,14].

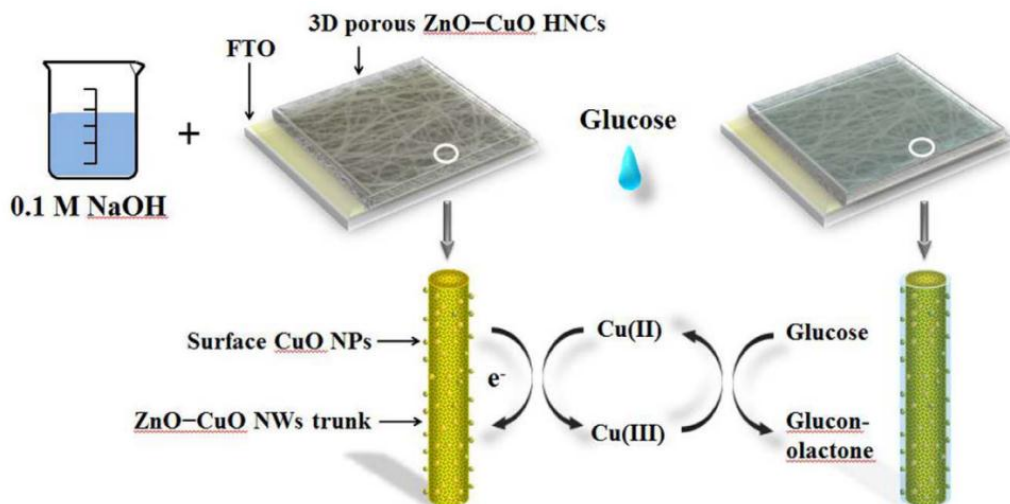
ZnO a été ainsi largement testé dans les capteurs enzymatiques utilisant des enzymes redox comme la *glucose oxydase*, l'*urate oxydase* et l'*uréase* (Figure I.4), le *cortisol*, la *cytochrome c oxydase*, la *cholestérol oxydase* (Figure I.5) et la *peroxydase de raifort*. Les résultats ont montré une bonne sensibilité et une excellente sélectivité pour différents analytes. Les

capteurs enzymatiques continuent toutefois à faire l'objet de recherches intensives afin d'améliorer l'immobilisation (qui peut nécessiter plusieurs étapes complexes) et la stabilité des enzymes à la surface des électrodes ; l'enzyme pouvant, en effet, être facilement endommagé durant la fabrication ou les tests. D'autre part, ces capteurs enzymatiques souvent ne fonctionnent de manière effective que sous certaines conditions ce qui ne favorise pas un large éventail d'applications [18].

Compte tenu de ces inconvénients, beaucoup de travaux de recherche se sont orientés vers le développement de capteurs non-enzymatiques, assurant la détection d'espèces dans divers analytes [18].

Parmi ces nouveaux capteurs figurent les capteurs de glucose, dit dans ce cas non-enzymatiques ; certains sont à base d'oxydes ou d'hydroxydes métalliques et permettent la détermination directe et à faible coût du taux de glucose sanguin sans utiliser de médiateur pour le transfert d'électrons et sans qu'il y ait perte de sensibilité due à la dénaturation des enzymes protéiques durant les procédures de détection [19], figure I. 6.

Notons toutefois que le nombre de publications dans ce cas reste relativement faible.



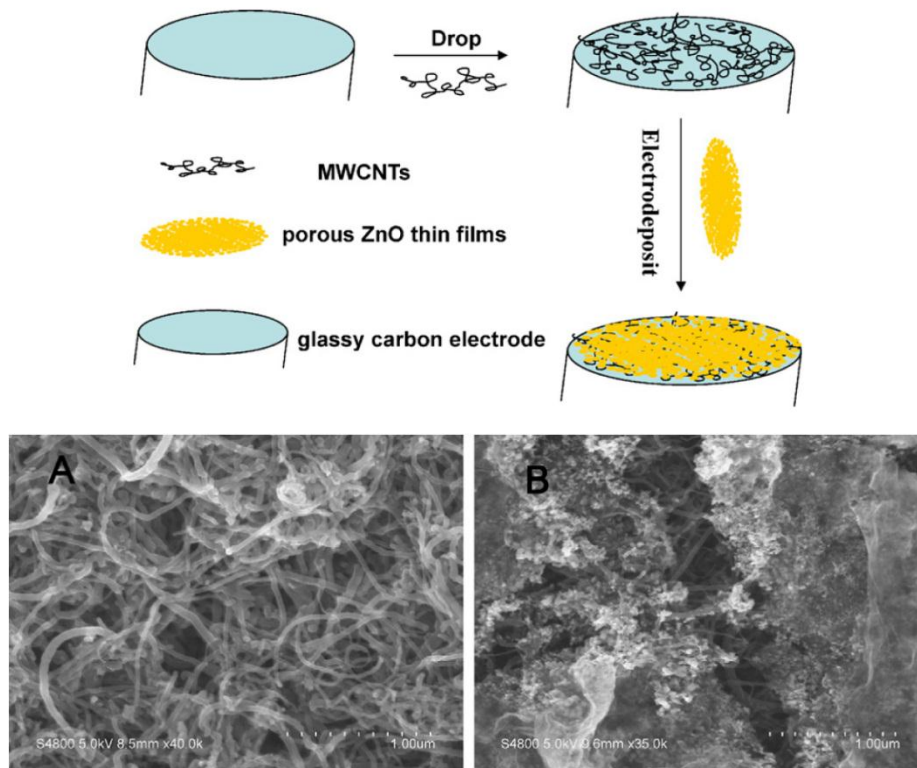
**Figure I. 6** Exemple de capteur non-enzymatique à base de nanofils de ZnO (des nanoparticules de CuO ont été déposées sur ces nanofils pour améliorer l'effet électrocatalytique) [20].

Toujours dans le but d'améliorer les performances de ces biocapteurs, des nanostructures de carbone (*NTC*-nanotubes de carbone, *graphène*, *NFC*-nanofibres de carbone) ont été introduites (Figure I.7 et Figure I.8); ceci a été encouragé par une plus grande maîtrise de leur

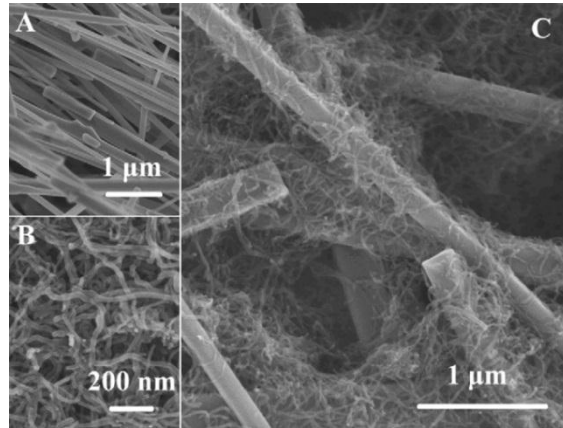
techniques de fabrication permettant un meilleur rapport performances/coût. La très bonne conductivité électrique de ces nanostructures de carbone, leur stabilité chimique, et leur biocompatibilité, élargit de plus en plus leur utilisation dans les capteurs de glucose, en les associant à des nanoparticules hautement catalytiques (Co -oxydes et hydroxydes, Ni -oxydes et hydroxydes, ZnO - nanoparticules, etc.).

Parmi les nanocomposites à base de carbone nanostructuré et d'oxydes (ou hydroxydes) métalliques, présentant un grand potentiel d'action électrocatalytique vis-à-vis de la réduction de l'O<sub>2</sub> et l'oxydation du glucose, nous citerons : le OGR/ZnO (OGR : Oxyde de Graphène Réduit, qui désigne le graphène obtenu par la réduction de l'oxyde de graphène), NFC/Co(OH)<sub>2</sub>, et le RGO/Ni(OH)<sub>2</sub>, qui font l'objet d'investigation dans la présente thèse.

Dans les paragraphes qui suivent, nous allons présenter les deux nanostructures de carbone utilisées dans ce travail, à savoir le graphène (plus particulièrement l'OGR) et les NFC, en insistant sur leurs propriétés exceptionnelles et l'important champ de leurs applications potentielles.



**Figure I.7** Haut : préparation d'une électrode détectrice à base de ZnO et de nanotubes de carbone ; bas : images MEB des Nanotubes de carbones (A) et de ZnO/Nanotubes de carbone (B) [21].



**Figure I.8** Image MEB de l'électrode d'un biocapteur d'ADN, (A) Nanofils de ZnO, (B) Nanotubes de carbone, (C) Nanofils-ZnO /Nanotubes de carbone [22].

## **I.2. Le graphène**

Le graphène est une couche de carbone d'épaisseur monoatomique, présentant une structure hexagonale composée d'atomes de carbone hybridés  $sp^2$ . Il a été d'abord étudié théoriquement par P. R. Wallace en 1947 puis obtenu expérimentalement pour la première fois en 2004 par Andre Geim et Konstantin Noroselov de l'université de Manchester, dont la découverte a été couronnée par le Prix Nobel 2010, officiellement « pour des expériences pionnières sur le matériau bidimensionnel graphène ». Le graphène a depuis gagné beaucoup d'attention de la part des chercheurs car présentant une combinaison unique de propriétés extrêmement intéressantes : résistance mécanique extrême, conductivité électrique et thermique exceptionnellement élevées, imperméabilité aux gaz, ainsi que bien d'autres propriétés suprêmes [23].

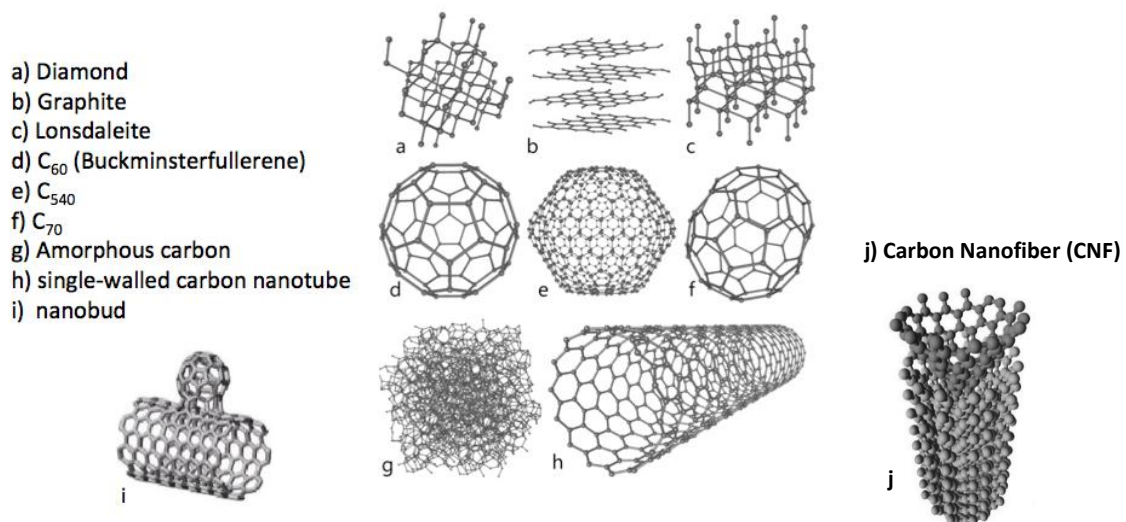
### **I.2.1 Le graphène, une forme allotropique du carbone**

Dans la nature, le carbone existe sous trois formes allotropiques : amorphe (suie), graphite et diamant. Dans les dernières décennies, de nouveaux types de carbone ont été élaborés et identifiés : les nanofibres de carbone, les fullerènes, les nanotubes et le graphène ; l'intérêt de ces nouvelles formes allotropiques du carbone réside dans les propriétés nouvelles, parfois exceptionnelles, qu'elles présentent (figure I.9).

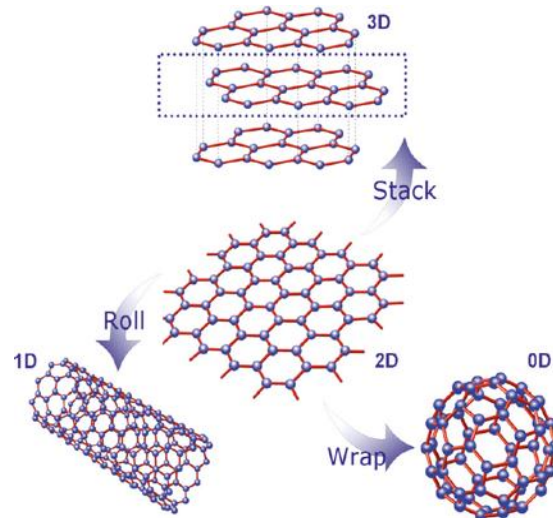
Ces différentes formes allotropiques sont directement liées à la manière selon laquelle les atomes se rassemblent et se lient entre eux [24] :



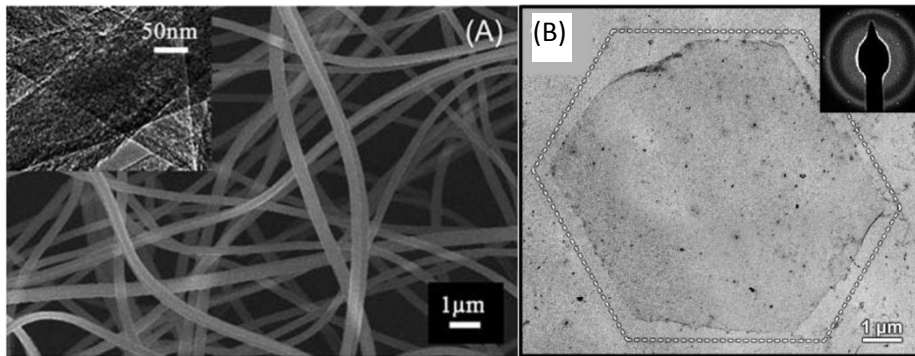
- Si le rassemblement est effectué sans ordre, on obtient du carbone **amorphe** (charbon, par exemple).
- Si le rassemblement est effectué sur une base cubique, on obtient le **diamant**.
- S'il s'effectue sur une base hexagonale, on obtient une matière noire et tendre appelée **graphite** (du grec graphein, écrire).
- Lorsque l'on parvient à isoler une monocouche de ce graphite, on obtient un nouveau matériau qui porte le nom de **graphène**. Sa structure et ses propriétés électroniques sont tout à fait exceptionnelles, figure I.10.
- Si le rassemblement forme de longues chaînes linéaires, on obtient les **nanofibres de carbone** (NFC) caractérisées par un diamètre entre 20 et 200 nm (alors que les conventionnelles fibres de carbone (CFs) font quelques microns de diamètre). Les fibres de carbone ont la propriété d'être très légères et plus résistantes à la traction que les fils d'acier, elles entrent dans la fabrication de beaucoup de composites, figure I.11.
- Une autre variété de carbone est le **fullerène**, il est constitué de 60 atomes de carbone formant un polyèdre (icosaèdre) semblable à un ballon de football. Sa découverte en 1985 par Harold Kroto, Robert Curl et Richard Smalley, leur a valu le prix Nobel de chimie en 1996 (d'autres formes moléculaires  $C_{70}$ ,  $C_{540}$ , etc. ont été depuis mises en évidence).
- L'enroulement d'une ou plusieurs feuilles de graphène donne les **nanotubes de carbone**, qui ont des propriétés électroniques très remarquables.



**Figure I.9** Formes allotropiques du carbone [25].



**Figure I.10** La structure 2D du graphène est une base pour certaines formes allotropiques du carbone (graphite, nanotube, fullérène, etc.) [26, 27].

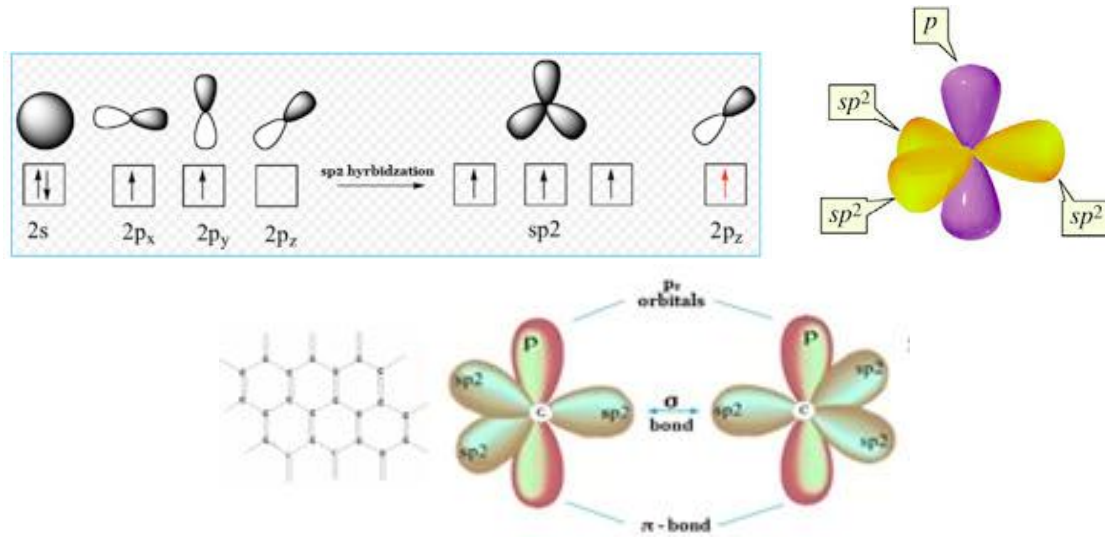


**Figure I.11** Exemple d'images MEB de deux nanostructures de carbone utilisé dans cette thèse (A) Nanofibres de Carbone (NFC) [28], (B) feuillets de graphène [29].

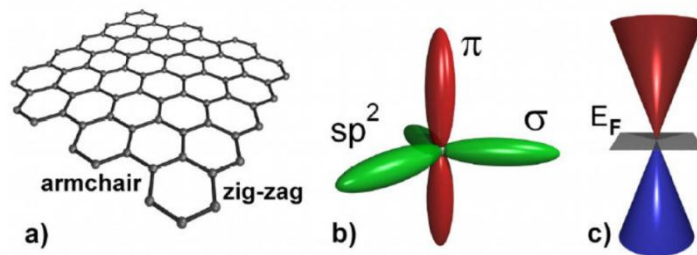
### I.2.2. Structure du Graphène

Le carbone a pour numéro atomique  $Z = 6$ , sa configuration électronique est ainsi  $1s^2 2s^2 2p^2$ . Dans le cas du graphène, la combinaison des orbitales atomiques de valence  $2s$ ,  $2p_x$ ,  $2p_y$  de chaque atome de carbone va donner trois orbitales hybrides notées  $sp^2$  pointant dans les 3 directions d'un triangle équilatéral (Figure I.12). Ces 3 orbitales hybrides vont ensuite former les trois liaisons  $\sigma$  par recouvrement axial avec les orbitales atomiques des trois atomes de carbone voisins donnant lieu à des liaisons covalentes « fortes » planaires C-C-C séparées de  $120^\circ$  (celles-ci confèrent au graphène son exceptionnelle rigidité structurale), figure I.13. L'orbitale restante  $2p_z$ , pour chaque atome de carbone, va chevaucher avec celles des trois voisins, pour former une bande d'orbitales  $\pi$  pleine, appelée bande de valence, et une bande d'orbitales  $\pi^*$  vide, appelée bande de conduction, figure I.14. La liaison  $\pi$  est

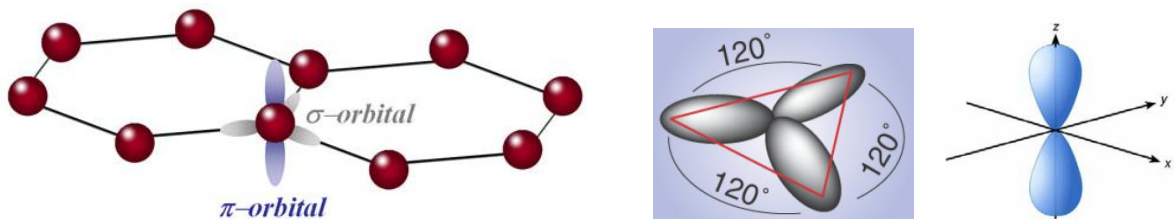
perpendiculaire au plan des trois orbitales  $sp^2$  [30], elles assurent au graphène ses propriétés uniques de conductivité électrique, figure I.15.



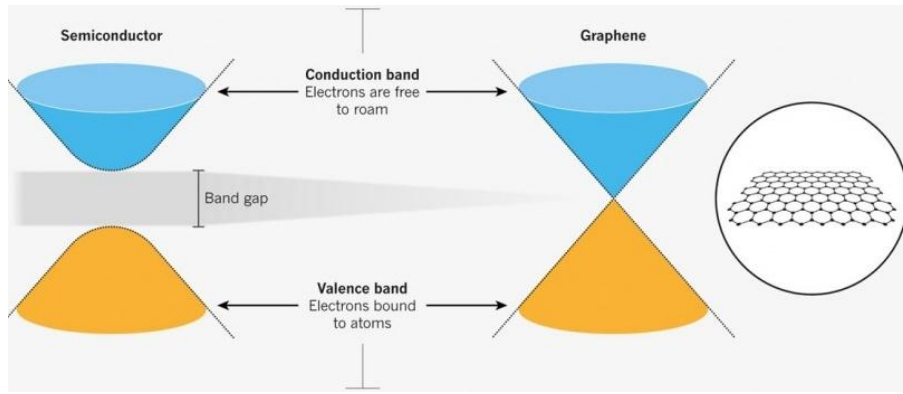
**Figure I.12** (a) Orbitales atomique puis hybridation  $sp^2$  de l'atome de carbone [31], (b) atome de carbone avec ses trois orbitales  $sp^2$  et son orbitale p [32], (c) Les liaisons  $\sigma$  et  $\pi$  créent de fortes liaisons covalentes entre les atomes de carbone.



**Figure I.13** Structure du graphène, les orbitales de liaisons et le spectre de dispersion correspondant [33, 34].

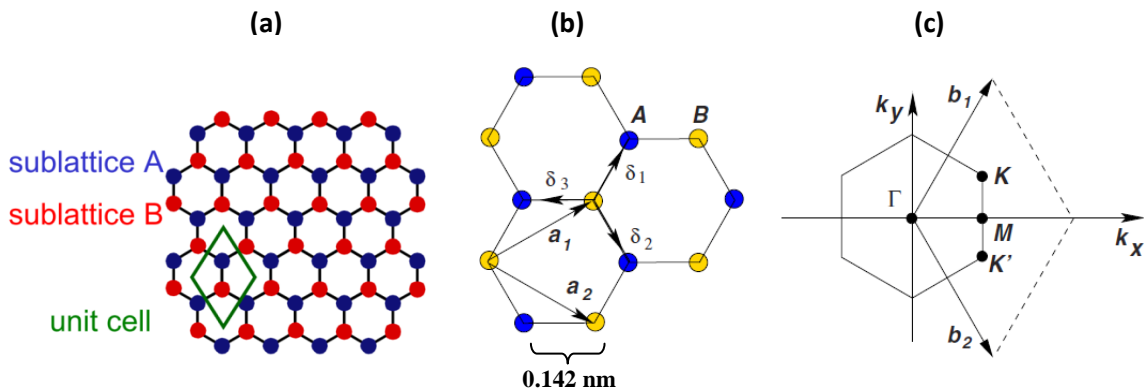


**Figure I.14** (a) Les orbitales  $sp^2$  et  $p_z$  des atomes de carbone dans le graphène [35], (b) les orbitales planaires  $sp^2$ , (c) les orbitales  $p_z$  [36].



**Figure I.15** Illustration schématique des bandes d'énergie pour le graphène : celui-ci n'est donc pas classifiable comme semi-conducteur car il n'a pas de gap ; parfois il est appelé « semi-conducteur à gap nul » pour décrire sa structure électronique unique où la bande de valence et la bande de conduction se rencontrent en un seul point (appelé point de Dirac). Il peut être classé comme un semi-métal (une énergie nulle pour faire mouvoir les électrons et pour qu'ils deviennent conducteurs) [37].

Concernant sa structure, le graphène est formé d'un réseau 2D d'atomes de carbone rassemblés dans une structure en nid d'abeilles, qui résulte comme on l'a dit précédemment d'une hybridation  $sp^2$  de ces atomes. Cette structure hexagonale en nid d'abeille ne forme pas un réseau de Bravais, car deux atomes voisins ne sont pas équivalents (figure I.16) ; en effet, un atome de ce réseau n'est pas totalement identique à son voisin : quand l'un a deux liaisons vers le haut et une liaison vers le bas, le voisin immédiat en a deux vers le bas et une vers le haut (ce qui est appelé « haut » et « bas » est bien sûr relativement à la figure illustrative ci-dessous) [38]. De ce fait, le graphène est dit constitué de deux sous-réseaux (chacun étant un réseau de Bravais).



**Figure I.16** (a) Structure cristalline du graphène formant deux sous-réseaux A et B ; (b)  $\mathbf{a}_1$  et  $\mathbf{a}_2$  sont les vecteurs de base du réseau de Bravais triangulaire, les vecteurs  $\delta_1$ ,  $\delta_2$  et  $\delta_3$  relient les plus proches voisins ; (c) première zone de Brillouin (ZB) pour le graphène,  $\mathbf{b}_1$  et  $\mathbf{b}_2$  sont les vecteurs du réseau réciproque [36,38].

Le graphène peut être classés en trois catégories: celui à monocouche, celui à bicouche, et celui à plusieurs couches (en effet, il a été observé que quelques couches empilées continuaient à présenter des propriétés très différentes de celles du graphite, ce qui justifie qu'on continue à la considérer comme du graphène). Chacune de ces catégories présente des propriétés électroniques différentes. Ces empilements de mono-feuillets de graphène peuvent présenter soit un arrangement Bernal (ABAB) ou rhomboédral (ABCABC), (figure I.17). Le graphène monocouche, même s'il ne présente pas une structure d'empilement, peut présenter une forme ondulée [28, 39].

Certains types de graphène, comme les nanorubans, ont des propriétés qui dépendent du type de bordure qui les délimite (figure I.18) : bordure en Zigzag (Z) ou bordure en Fauteuil (A : Armchair) ; il a été prouvé expérimentalement et théoriquement que le type de bordure influence fortement les propriétés électroniques et magnétiques (par exemple, le graphène en nanoruban présente un gap non nul, dont la valeur dépend de la largeur du ruban et du type de bordure) [40].

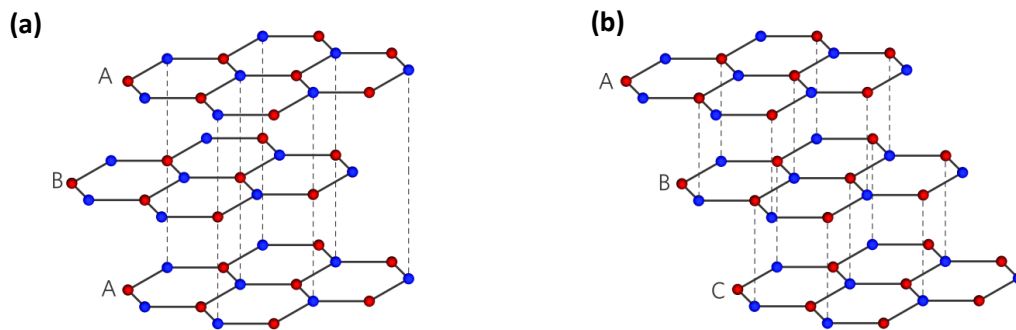


Figure I.17 Graphène à trois couches, (a) Empilement Bernal, (b) empilement Rhomboédral [42].

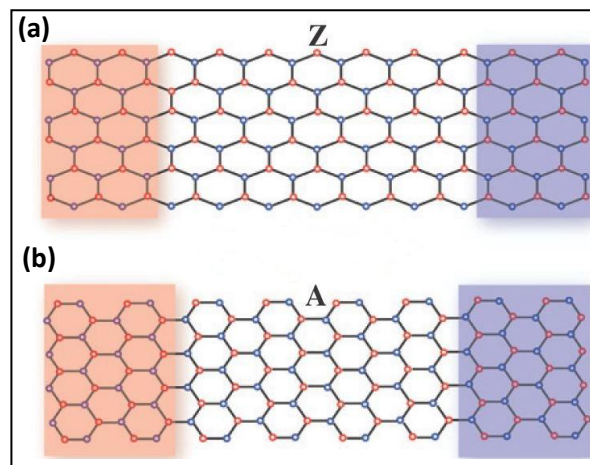


Figure I.18 Nanorubans de graphène (a) en bordure Zigzag, (b) en bordure Armchair (fauteuil) [43].

### **I.2.3. Méthodes d'obtention du graphène**

Il existe une variété de méthodes qui permettent la synthèse du graphène afin de satisfaire la forte demande sur ce dernier. On peut distinguer deux principales approches : l'approche dite « ascendante » (en anglais *bottom-up*) et l'approche dite « descendante » (*top-down*). Les principales méthodes de fabrication communément utilisées telles que l'exfoliation mécanique, la croissance épitaxiale ou la réduction de l'oxyde de graphène, ont chacune leurs avantages et leurs limitations [43]. Bien que la méthode d'exfoliation mécanique utilisant par exemple un simple ruban de scotch (utilisée par Geim- Noroselov en 2004) puisse produire un film de graphène de haute qualité, cette méthode s'avère limitée en raison de son faible rendement [44]. La méthode de croissance épitaxiale, même si elle peut produire un film de graphène de haute qualité avec un faible niveau de défauts, elle est généralement considérée comme coûteuse et nécessitant des conditions de vide rigoureuses [44]. Concernant la méthode de dépôt chimique en phase vapeur, qui est un bon candidat pour les applications électroniques, elle a l'inconvénient de faire intervenir un processus de transfert du feuillet de graphène initialement élaboré sur un substrat métallique (Cu, Ni, etc.), pour le redéposer sur le substrat final par exemple en silicium [43].

Enfin, il y a la méthode basée sur l'exfoliation chimique du graphite – communément appelée procédé de Hummers –, qui semble offrir certains nets avantages par rapport aux autres méthodes précédemment citées, essentiellement en termes de simplicité et de faible coût [43,44].

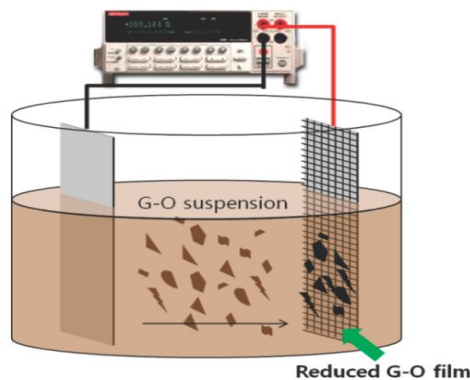
L'idée de l'exfoliation chimique du graphite remonte à la période 1840-1859 durant laquelle le scientifique Allemand Schafhaeut développa l'idée d'un composé d'intercalation du graphite (CIG) : en effet, le graphite étant constitué de feuillets 2D de carbone reliés entre eux par des liaisons de Van Der Waals, Schafhaeu procéda à l'insertion de molécules entre ces feuillets en utilisant l'acide sulfurique et l'acide nitrique, ceci facilita l'exfoliation des feuillets car les molécules insérées, en augmentant la distance entre les couches (souvent par plusieurs angströms), favorisaient le découplage électronique entre eux [27,45].

L'exfoliation chimique utilisant le procédé Hummers produit de l'oxyde de graphène (GO) ayant un grand nombre de groupes fonctionnels, comme le groupe fonctionnel de l'oxygène (hydroxyle, époxyde, etc.), qui détruit la structure d'hybridation  $sp^2$ , produit des défauts, et augmente la distance entre les couches de graphène empilées [44]. Cependant, en utilisant des

procédés de réduction on peut éliminer la majeure partie des groupes fonctionnels d'oxygène [46].

La réduction chimique est largement utilisée, mais elle laisse une quantité appréciable d'impuretés. De même, il y a la réduction thermique à haute température qui permet d'éliminer le groupe de l'oxygène; cependant, cette méthode entraîne aussi une perte d'atomes de carbone [47]. Des études récentes [48] ont montré la possibilité de photo-réduction d'oxyde de graphène par radiation UV, mais dans ce cas le temps d'irradiation devient un paramètre délicat, et le dépassement d'un temps optimal risque de provoquer une destruction partielle du feuillet de graphène obtenu.

Une autre méthode de réduction, utilisée dans ce travail, consiste à employer l'électrophorèse pour, à la fois, réduire l'oxyde de graphène et le déposer [49]. Cette méthode de réduction nous a paru particulièrement adaptée à la réalisation de biocapteur pour la détection de glucose. La figure I.19 montre les feuillets d'oxyde de graphène, chargés négativement, attiré par l'anode; au niveau de celle-ci ils subiront une réduction qui permettra de libérer les groupes fonctionnels d'oxygène, et de dégager le feuillet de graphène. Dans le cas de ce travail, la réduction a été cathodique et non anodique, nous expliquerons ultérieurement les raisons (figure I.19).



**Figure I.19** Réduction-Dépôt anodique d'oxyde de graphène par électrophorèse [49].

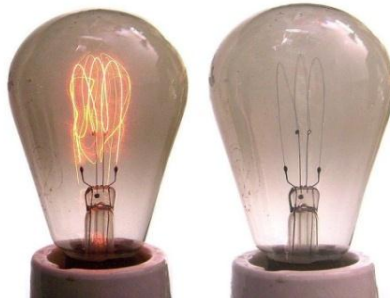
### **I.3. Les nanofibres de carbone (CNFs)**

Les nanofibres de carbone (NFC) sont actuellement l'une des plus importantes catégories de Fibres de Carbone (CF). Les nanocomposites à base de NFC ont un important potentiel d'application dans divers domaines comme les composants électroniques ou les matériaux d'électrodes pour les batteries, les super-capacités et les détecteurs. Pour toutes ces

applications, la conductivité électrique est souvent un critère prioritaire à considérer [50]. Avant d'aborder la NFC, présentons la Fibre de Carbone (FC), dont l'exploitation et l'étude a permis d'arriver aux NFC.

### **I.3.1. La fibre de carbone**

La première utilisation industrielle de la fibre de carbone (FC), synthétisée à partir de la carbonisation du coton et du Bambou, remonte à 1879 quand Thomas Edison les utilisa comme filaments pour les ampoules électriques à incandescence<sup>1</sup> (figure I.20). Même si ces premières fibres montraient un bon rayonnement à l'incandescence (supportant une température de 2000°C) et présentant l'avantage du faible coût, elles furent abandonnées au profit du fil de tungstène ( $T_{\text{fusion}} 3422^{\circ}\text{C}$ ) à cause de la sublimation du carbone de ces fibres lors de l'incandescence puis sa condensation sur le verre de la lampe le rendant ainsi opaque. Ces premières fibres avaient aussi d'assez pauvres propriétés mécaniques ; de ce fait, elles tombèrent dans l'oubli et n'excitèrent de nouveau l'intérêt des chercheurs et des industriels que dans les années 1950 avec l'avènement de l'ère spatiale et des matériaux composites [51].

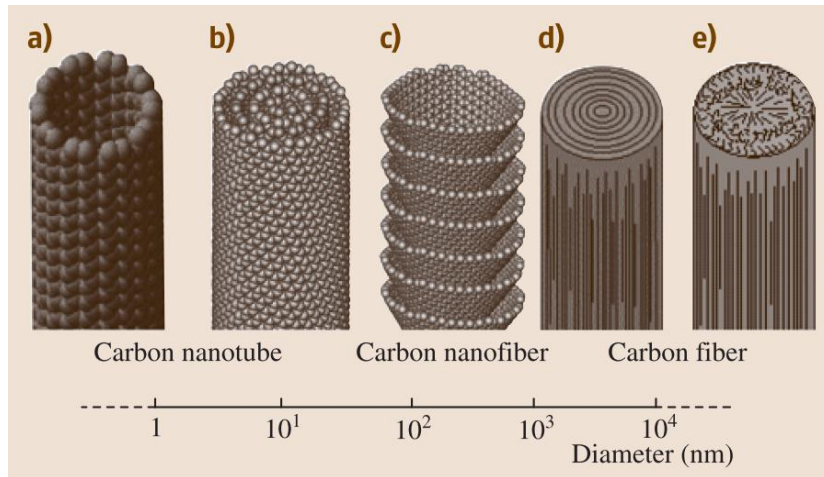


**Figure I.20** Les premières lampes électriques utilisaient un filament de carbone (Edison-1879).

---

<sup>1</sup> Dès le milieu du 19<sup>ème</sup> siècle il a été remarqué que la carbonisation de fibres de bambou donnait un filament conducteur d'électricité et qui devenait incandescent par passage de courant électrique sous faible voltage. En 1879 Thomas Edison dépose le brevet de l'ampoule électrique à base de filament de carbone en bambou du Japon (il est dit qu'Edison avait testé quelques 6 000 substances végétales envoyées chercher dans le monde entier avant d'opter pour le bambou du Japon). Voici la méthode de leur élaboration : « *La matière qui doit former, après sa carbonisation, le filament conducteur de la lampe Edison, c'est le bambou du Japon. Arrivé à l'usine, le bambou est découpé en petites lanières, puis recourbé en forme d'U et introduit dans des boîtes plates en nickel, bien fermées. Ces boîtes sont entassées, par centaines, dans un fourneau, et on remplit de plombagine l'intervalle qui existe entre elles, pour empêcher l'accès de l'air. On chauffe alors fortement le fourneau. Par la chaleur, le filament de bambou est transformé en charbon solide, flexible, assez dur, et conservant la forme recourbée en U qu'on lui avait donnée, en le plaçant dans la boîte de nickel. Chaque extrémité du filament de charbon est ensuite fixée à un fil de platine, contourné, au bas, en une sorte de pince. Le filament charbonneux est ainsi soutenu en l'air par un fil de platine recourbé, qui établit sa communication directe avec le courant électrique* » [52].





**Figure I.21** Comparaison schématique des dimensions des diamètres sur une échelle logarithmique de différents types de carbone fibreux (nanotube **a** et **b**, nanofibre **c**, fibre **d** et **e**) [51].

Les fibres de carbone, figure I.21, dont le diamètre est de l'ordre de 10  $\mu\text{m}$ , sont composées à 90% d'atomes de carbone présentant une structure cristalline graphitique imparfaite disposée le long de l'axe de la fibre [53]. Elles sont obtenues par un traitement thermique à partir de trois principaux précurseurs constitués de molécules organiques (polymères ou hydrocarbures) : *Cellulose*<sup>2</sup>, *Polyacrylonitrile* (PAN)<sup>3</sup> et *Brai*<sup>4</sup>. Grâce à leur faible densité et leurs excellentes propriétés mécaniques, ces fibres sont utilisées dans de nombreux composites (industrie aéronautique et spatiale – exemple : revêtement en *fibre de carbone* dans une matrice en SiC utilisé comme bouclier thermique de la navette spatiale européenne lancée en 2015 –, industrie chimique, freinage aéronautique, pales des rotors d'éoliennes<sup>5</sup>, voitures de course et bateau de compétition, industrie automobile<sup>6</sup> – où il a été décidé de miser sur les composites à base de fibre de carbone pour remplacer l'acier dans les pièces structurelles futures dès 2022 –) (figure I.22, I.23) [54].

<sup>2</sup> La fibre issue du précurseur cellulose est utilisée pour ses propriétés d'isolant thermique [55].

<sup>3</sup> La fibre organique PAN est la plus vendue et permet l'obtention de fibres à haute résistance mécanique (HT : Module d'Young = 150-300 GPa, Contrainte à la rupture = 3000-7100 MPa) [55].

<sup>4</sup> Brai : résidu de la distillation des goudrons de pétrole, de houille, de bois, ou d'autres matières organiques (utilisations : enduit d'étanchéité, fabrication de peintures, de vernis, d'électrodes, etc.). Le brai est généralement constitué de plus de 200 espèces chimiques [56]. Les fibres de haut module (HM, E = 400-950 GPa,  $\sigma_R = 2000-3000$  MPa) sont pour la plupart obtenues à partir de brais [55].

<sup>5</sup> Les pales des grandes éoliennes modernes sont fabriquées en plastique (polyester ou époxy) renforcées par des fibres de verre ou des fibres de carbone (7 $\mu\text{m}$ ) (seul le coût élevé reste prohibitif pour une plus large utilisation de la fibre de carbone).

<sup>6</sup> En 2013, BMW fut le premier constructeur à produire en série une automobile - la BMW i3 - dont la structure est en composites à *fibres de carbone* (PAN) à structure graphitique stable d'une grande pureté en carbone ( $\varnothing$  7  $\mu\text{m}$ ) ; ceci afin d'alléger son poids (tout en assurant une grande résistance en cas de collision) et permettre que sa motorisation soit électrique (batteries Lithium-ions de Samsung).



Figure I.22 Composites à base de fibres de Carbone dans l'industrie automobile [54].

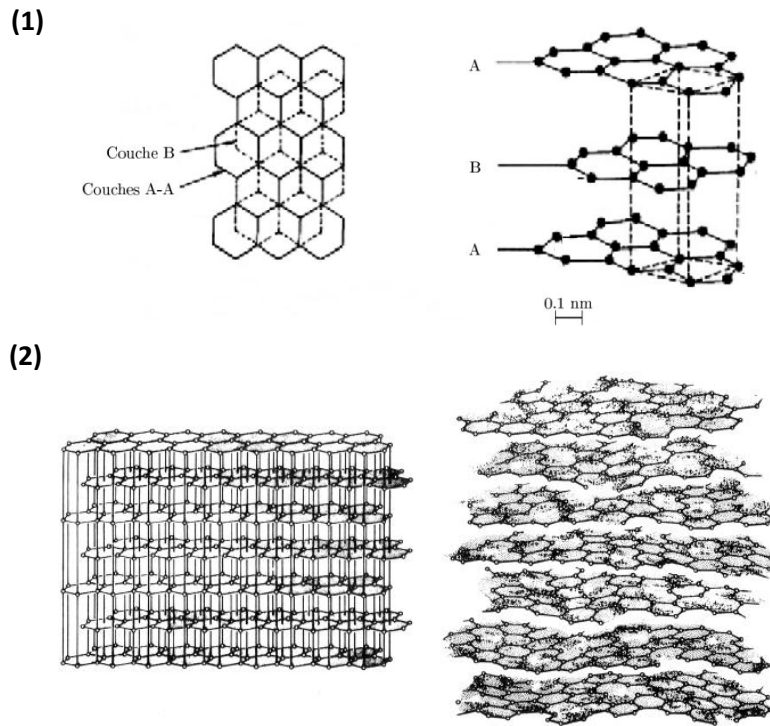


Figure I.23 (1) Arrangement des atomes de carbone dans le cristal de graphite parfait [57], (2) Structure cristalline d'un graphite parfait (à gauche) et structure cristalline graphitique imparfaite dite « turbostratique » présente dans la fibre de carbone (à droite).

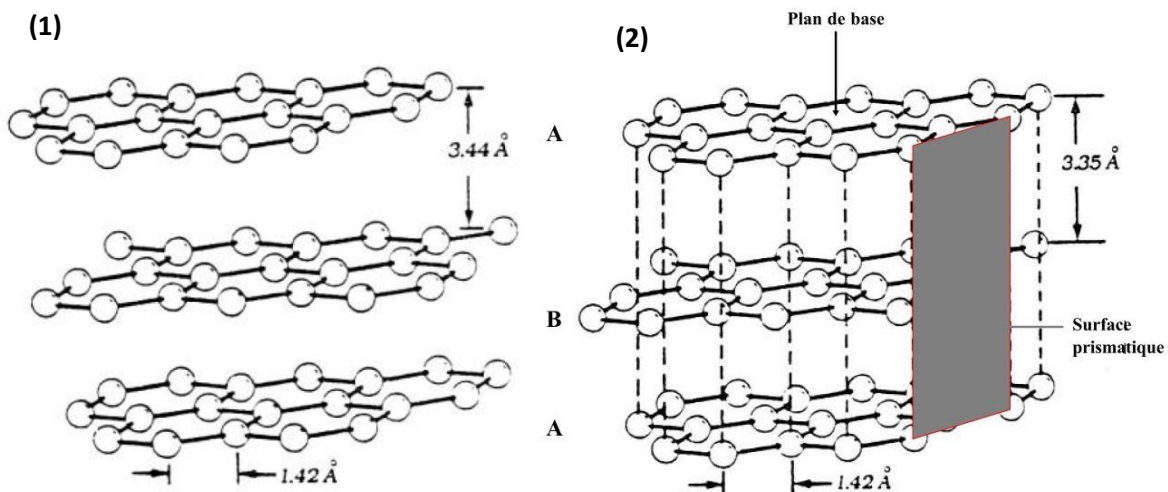
Tableau I.1 : Principales propriétés du monocristal de graphite à 300K [55].

	Parallèlement au plan	Perpendiculairement au plan
Module élastique (GPa)	~ 1000	~ 36
Conductivité thermique ( $\text{W}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{°C}^{-1}$ )	~ 2000	~ 7
Coefficient de dilatation ( $\text{K}^{-1}$ )	de -1 à $-1.5\cdot 10^{-6}$	$\sim 2.7\cdot 10^{-5}$
Résistivité ( $\Omega\cdot\text{m}$ )	$\sim 4\cdot 10^{-7}$	$\sim 1.10^{-4}$

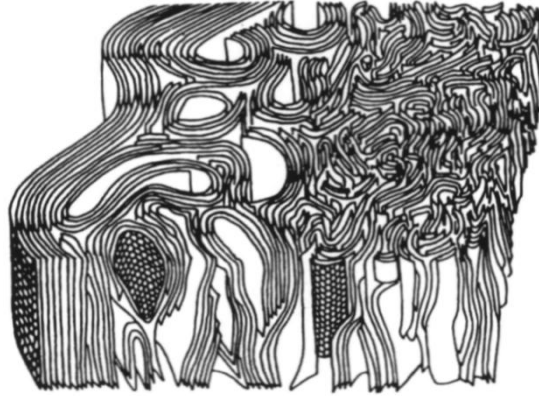
La fibre de carbone tire ses propriétés de celle du **graphite**, ce dernier est un matériau fortement anisotrope qui présente des caractéristiques mécaniques élevées dans la direction des couches graphitiques ; toutefois, son clivage suivant les plans graphitiques est facilité par

les faibles liaisons de Van Der Waals (frotté sur le papier, le graphite y laisse des traces dues à l'arrachage aisé des couches graphitiques externes) [56].

Les structures graphitiques sont caractérisées par des liaisons covalentes  $sp^2$  (liaison  $\sigma$ ), de petite longueur (1,417Å) et de forte énergie (524 kJ/mol.). Chaque atome se combine avec trois autres atomes pour créer une série de structures hexagonales formant le système polyaromatique constituant les *plans graphitiques* ou *plans de base*. Le quatrième électron (l'électron libre délocalisé) est disponible pour créer une liaison de Van Der Waals inter-plan (7 kJ/mol) en formant une liaison inter-plan dite  $\pi$  avec un autre électron délocalisé du plan graphitique adjacent [60]. Les fibres de carbone sont constituées de structures graphitiques dites turbostratiques : cette structure est un état intermédiaire entre le carbone amorphe et le graphite, elle présente un empilement de plans graphitiques mais les couches sont désorientées entre elles par une série de rotations aléatoires [57]. Comme dans le cas du graphène multi-couche, le graphite idéal présent des plans graphitiques qui sont empilés parallèlement formant une séquence du type ABAB pour le graphite hexagonal et ABCABC pour le graphite rhomboédrique. Le graphite hexagonal est la forme thermodynamiquement stable du graphite. Les liaisons inter-plan sont de  $\sim 3,35$  Å dans le cas d'un graphite idéal [60], mais dépassent cette valeur dans les fibres de carbone (figure I.24); ce paramètre est ainsi employé comme mesure du degré de graphitisation de la fibre, car il se rapproche de la valeur théorique au fur et à mesure que la structure de la fibre devient plus graphitique.



La fibre de carbone est constituée de particules graphitiques de dimension finie (d'une dizaine à une centaine de nanomètre) ; elles doivent être orientées le plus possible suivant l'axe de la fibre afin d'améliorer au maximum ses propriétés mécaniques comme la résistance<sup>7</sup> et la rigidité<sup>8</sup>. La fibre de carbone présente des densités assez faibles (entre 1.7 et 2 g/cm<sup>3</sup>) qui s'explique par le caractère turbostratique et la porosité qui caractérisent sa constitution (figure I.25).



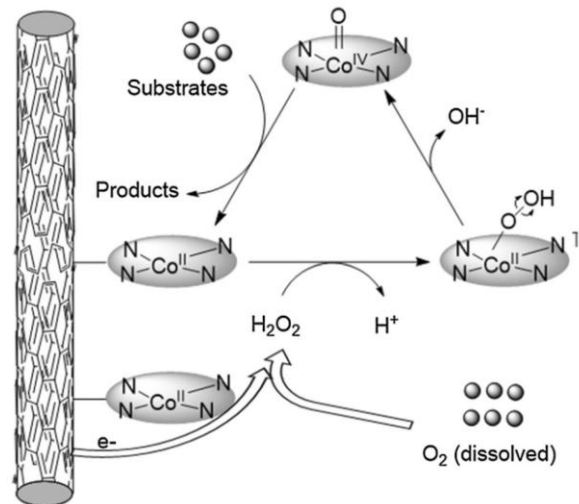
**Figure I.25** Exemple de structure d'une fibre de carbone : des feuillets graphitiques associés les uns aux autres formant un ensemble de feuilles froissées et pliées (avec parfois de faibles rayons de courbure) qui s'orientent préférentiellement suivant l'axe de la fibre en formant des pores principalement longitudinaux [55].

### **I.3.2. Propriétés catalytiques des fibres de carbone**

La fibre de carbone possède une inhabituelle stabilité chimique et des propriétés conductrices, ainsi elle peut être utilisée pour immobiliser des enzymes et des catalyseurs pour procéder à l'oxydation de polluants. Par ailleurs, l'introduction de la fibre facilite le transfert de masse des contaminants depuis la solution jusqu'à la surface de l'électrode lors d'une décontamination par électrocatalyse [58], (figure I.26).

<sup>7</sup> Résistance à la déformation évaluée par les essais de traction et de dureté ainsi que la résistance au choc mécanique évaluée par un essai de résilience.

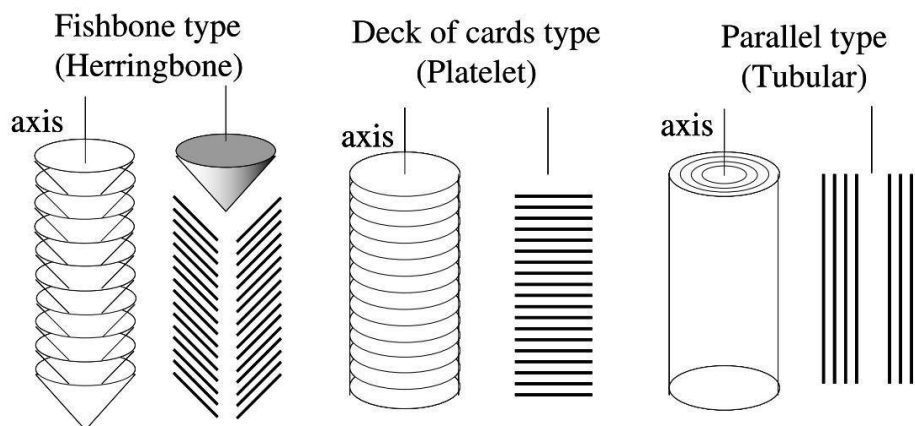
<sup>8</sup> Un *matériau* dont le module de Young est très élevé est dit *rigide*.



**Figure I.26** Exemple de mécanisme catalytique pouvant expliquer la dégradation d'un contaminant organique par un système électrocatalytique utilisant la fibre de carbone [58].

### I.3.3. Nanofibres de Carbone

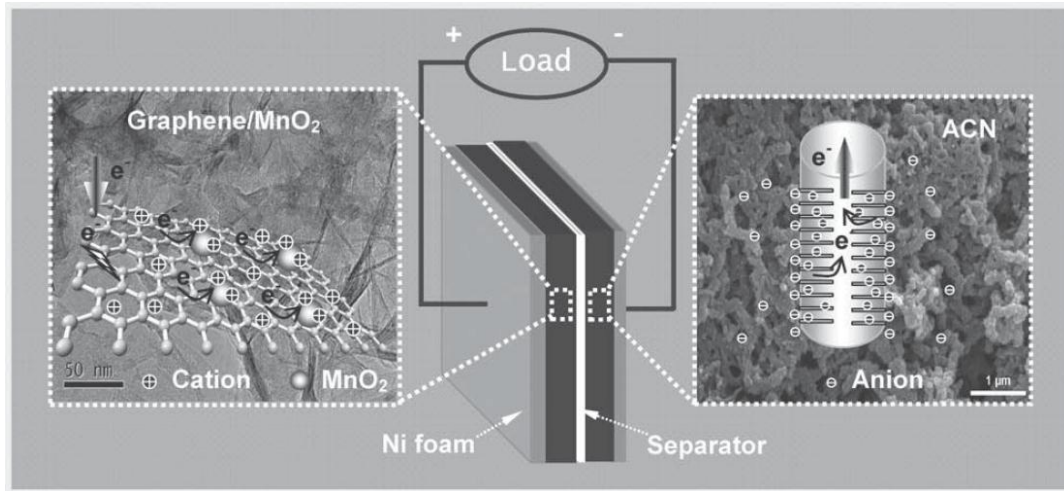
La nanofibre de carbone est un filament linéaire, constitué d'atomes de carbone à hybridation  $sp^2$ , dont le diamètre avoisine les 100 nm. Elles peuvent être visualisées comme un empilement linéaire – le long du filament – de couches planes (ou plaques), de cônes (ou tasses) ou d'arête de poisson et de tubes (Figure I.27). Ces différents modes d'empilement sont directement liés au mode de synthèse [54].



**Figure I.27** (a) NFC- cônes, (b) NFC-arêtes de poisson, (c) NFC-plaques, (d) NFC-tubulaires [59].

Les nanofibres de carbone sont caractérisées par leur flexibilité, un fort rapport d'aspect (*aspect ratio*) – supérieur à 100, une résistance mécanique et une conductivité électrique élevées ainsi qu'une bonne stabilité chimique. La synthèse des NFC a connu un intérêt croissant, suscité par l'importance des applications potentielles allant des supercapacités

(figure I.28), des batteries Li-ions et des électrocatalyseurs pour arriver aux nouveaux matériaux de construction alliant légèreté et très haute résistance [60], ainsi que les composites hautes performances pour les industries automobiles, marines et aérospatiales [61].



**Figure I.28** Illustration schématique d'une supercapacité constituée d'une électrode positive à base de Graphène/MnO<sub>2</sub> et d'une électrode négative à base de NFC activées, l'électrolyte étant une solution aqueuse neutre de Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> [62].

Les NFC sont synthétisées à partir d'une variété de matériaux incluant le brai, la rayonne<sup>9</sup>, le PAN (polyacrylonitrile), les matériaux carbonés solides, l'acétone et les gaz d'hydrocarbures. Diverses techniques sont utilisées pour cette synthèse, on peut citer : l'électrospinning/carbonisation, le DCV (dépôt chimique en phase vapeur) et la technique Arc/plasma [62].

La méthode DCV – qui a été adoptée pour la synthèse de NFC dans le présent travail – consiste à utiliser des particules catalytiques à base de métaux de transition comme le fer, le nickel, le cobalt et le cuivre, conjointement avec une source de carbone comme le monoxyde de carbone (CO) ou des gaz d'hydrocarbure (CH<sub>4</sub>, C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>, etc.). En générale, la plage de température pour ce processus varie entre 500°C et 1200°C ; dans le cas de la présente synthèse elle varie entre 250°C et 800°C, ce qui constitue un gain important en énergie dépensée (figure I.29 ; I.30)

<sup>9</sup> La rayonne est une fibre textile artificielle à base de cellulose.

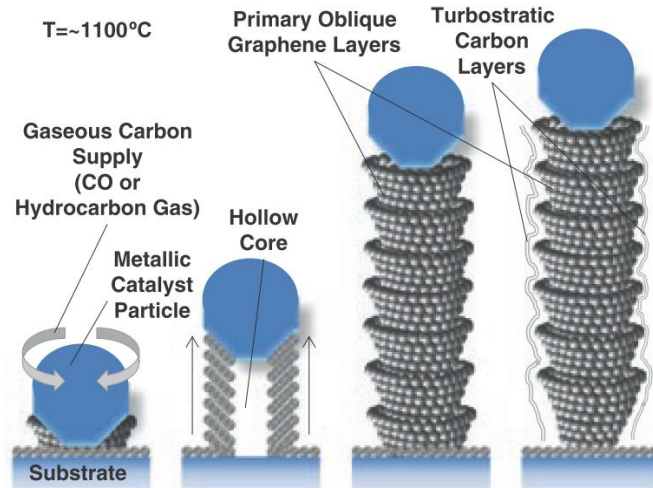


Figure I.29 Illustration schématique d'une croissance de NFC par DCV [54, 63].

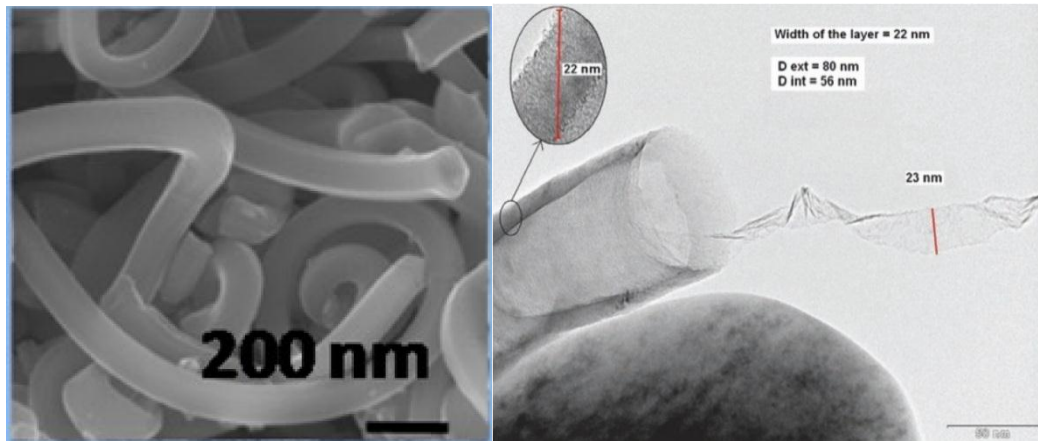


Figure I.30 (A) Exemple de NFC obtenues par DCV [64], (B) NFC obtenues par DCV selon un autre protocole (on peut remarquer la forme en cône en bout de fibre) [54, 65].

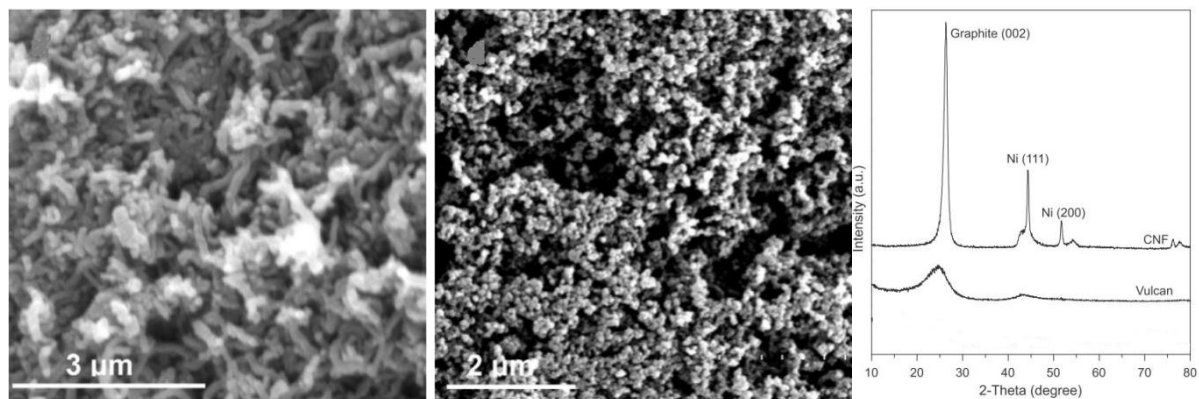
### I.3.4. Nanofibres de carbone en électrocatalyse

Même s'ils n'ont pas de propriétés électrocatalytiques propres, les NFC sont de première importance comme support pour les nanostructures électrocatalytiques.

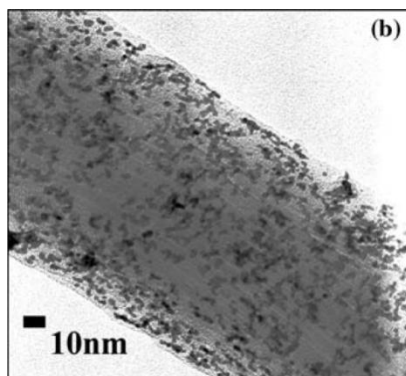
Pour les applications en électrocatalyse, c'est le noir de carbone (plus particulièrement, la variété Vulcan XC-72R) qui jusqu'à récemment avait la primauté. Sa morphologie mésoporeuse lui permet en effet d'avoir une très importante surface spécifique  $\sim 250 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ , alors que les NFC présentent des surfaces allant de  $90 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$  à  $220 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ . En dépit de cela, de plus en plus de travaux s'orientent vers le remplacement du noir de carbone par les NFC pour trois principales raisons : la meilleure cristallinité, la meilleure conductivité électrique et la faible microporosité (figure I.31) (un micropore a en effet le pouvoir de se remplir de nanoparticules du métal catalytique réduisant ainsi considérablement leurs actions

électrocatalytiques ; celles-ci ne sont optimales que lorsqu'elles sont bien dispersées en surface) [66, 67].

Après la synthèse des NFC, il est parfois nécessaire de modifier leur chimie de surface par exemple par un traitement d'oxydation afin de créer des groupes fonctionnels d'oxygène en surface (figure I.32) ; en effet, il a été observé que ces groupes sont nécessaires pour accroître les performances électrocatalytiques des NFC [67].



**Figure I.31** Images MEB de (a) NFC et (b) Vulcan XC-72R, (c) spectre DRX respectif des NFC et du Vulcan XC-72R montrant la très bonne cristallinité (bien graphitique) du premier par au second [66].



**Figure I.32** Exemple d'ancrage de nanoparticules catalytique (ici Pt) sur la surface d'une NFC [68].

#### I.4.L'hydroxyde de cobalt et l'hydroxyde de Nickel

Après ZnO nanostructuré, il a été décidé d'investiguer deux autres matériaux aux propriétés électrocatalytiques bien avérées – à savoir le Co(OH)<sub>2</sub> et Ni(OH)<sub>2</sub>, en les combinant respectivement avec la NFC et le graphène.



Les oxydes et hydroxydes de cobalt et de nickel, qui allient une très bonne activité électrocatalytique, des performances élevées et un faible coût, ont reçu une attention particulière ces dernières années.

Nous présentons ces deux matériaux dans la partie qui va suivre.

#### I.4.1.L'hydroxyde de cobalt

L'hydroxyde de cobalt Co(OH)<sub>2</sub>, l'oxyhydroxyde de cobalt CoO(OH), l'oxyde de cobalt Co<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, et leurs composés dérivés sont particulièrement intéressants en raison de leurs propriétés physico-chimiques, les rendant des matériaux recherchés dans le domaine des batteries (Li-ions), des détecteurs de gaz, des catalyseurs, et des échangeurs ioniques [69,70,71]. Sur la figure I.33 est schématiquement illustrée l'utilisation de nanofils d'oxyde de cobalt pour la dégradation de phénol [72] et sur la figure I.34 des nano-aiguilles de Co(OH)<sub>2</sub> déposées sur le graphène formant l'électrode d'un détecteur non-enzymatique de glucose [73].

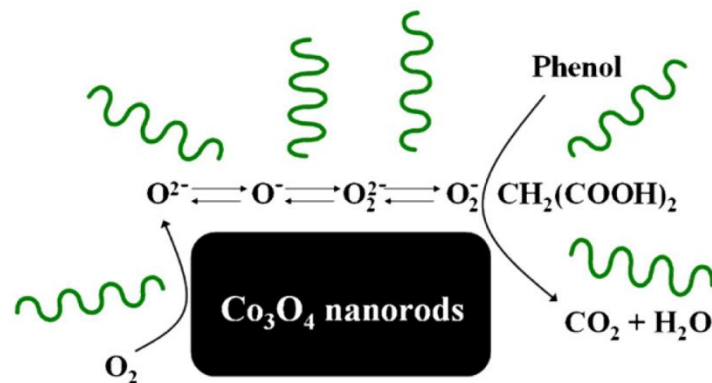


Figure I.33 Exemple d'utilisation de nanofils d'oxyde de cobalt pour la dégradation de phénol [72].

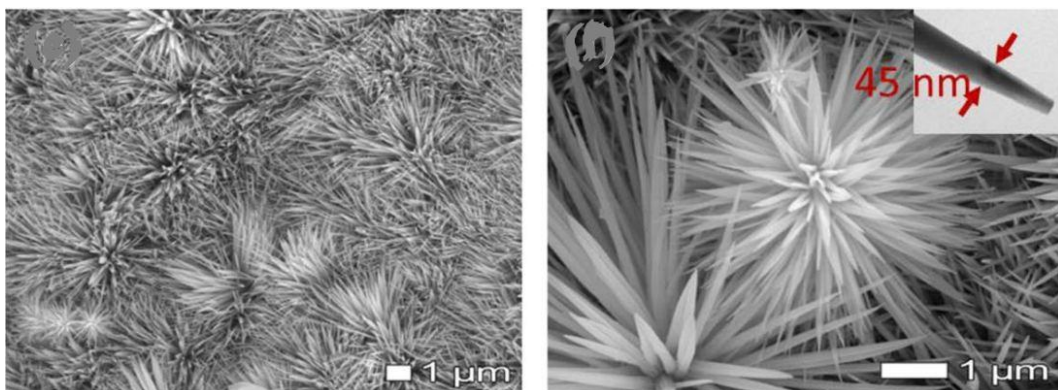
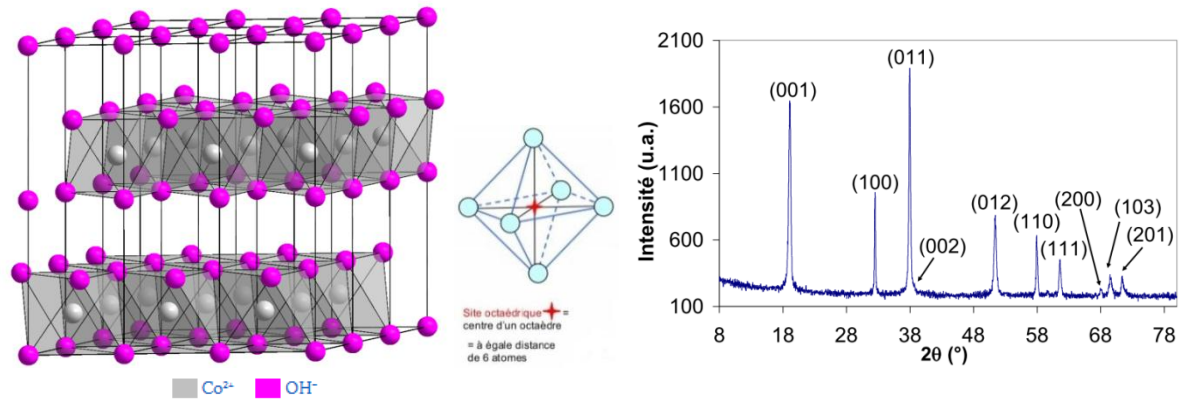


Figure I.34 Nano-aiguilles de Co(OH)<sub>2</sub> déposé sur le graphène formant l'électrode d'un détecteur non-enzymatique de glucose [73].

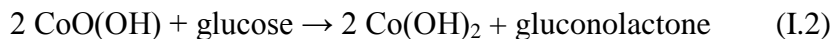
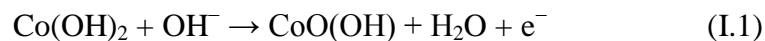
L'hydroxyde de cobalt cristallise selon une structure ordonnée de type CdI<sub>2</sub> ; il se compose de couches de Co(OH)<sub>2</sub> avec les ions hydroxyles OH<sup>-</sup> présentant un arrangement hexagonal et les ions Co(II) occupant des rangées alternées de sites octaédriques (figure I.35).



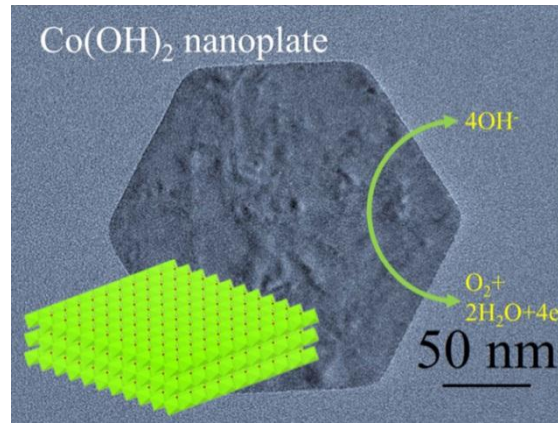
**Figure I.35** Structure de l'hydroxyde de cobalt Co(OH)<sub>2</sub>, et exemple de diffractogramme de celui-ci [74].

Co(OH)<sub>2</sub> est bien connue comme additif de batteries secondaires alcalines, il est aussi utilisé comme précurseur pour les matériaux CoO(OH) et Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub> ; et il constitue un important matériau pour les catalyses hétérogènes [75]. Sur la figure I.36 on a un exemple de nanofeuillets de Co(OH)<sub>2</sub> testés pour les batterie alcalines zinc-air [76].

Pour la détection de glucose, l'hydroxyde de cobalt subit, en milieu basique et sous potentiel anodique approprié, un cycle réversible permettant l'oxydation du glucose en gluconolactone selon les réactions suivantes :



L'oxyhydroxyde de cobalt, CoO(OH), outre son implication dans la biodétection, a été aussi appliqué en tant que matériau de remplacement pour la détection de CO ou pour améliorer les capteurs de gaz à base de Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub> [77].



**Figure I.36** Nanofeuillet de Co(OH)<sub>2</sub> testé pour les batteries alcalines zinc-air [76].

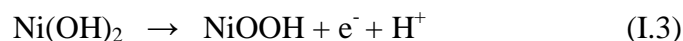
#### I.4.2.L'hydroxyde de Nickel

Les hydroxydes de nickel, Ni(OH)<sub>2</sub>, ont été bien étudiés dans la littérature pour leur importance dans le domaine des accumulateurs alcalins. C'est un composé insoluble, largement utilisé dans l'industrie des batteries en raison de sa réactivité au cours de procédés d'oxydo-réduction, d'électrocatalyse et d'électrochromisme [78].

L'hydroxyde de nickel Ni(OH)<sub>2</sub> peut exister sous deux formes : l'une anhydre, notée β, et l'autre hydraté, notée α (figure I.37).

La phase β-Ni(OH)<sub>2</sub> possède une structure cristalline lamellaire : les atomes d'oxygène sont disposés selon la structure hexagonal compact parallèlement à l'axe *c* définissant les plans lamellaires ; pour les atomes d'hydrogène, il se retrouvent dans l'espace inter-lamellaire où ils occupent le centre d'un tétraèdre aux sommets duquel sont positionnés les atomes d'oxygène. La phase α-Ni(OH)<sub>2</sub> possède une structure semblable à la phase β et n'en diffère que par la présence de molécules d'eau dans l'espaces inter-lamellaires (figure I.37). Le paramètre de maille *a*<sub>hex</sub> de la phase α-Ni(OH)<sub>2</sub> (structure hydratée) est identique à celui de la phase β-Ni(OH)<sub>2</sub> (structure anhydre), 3,12 Å, mais son paramètre de maille *c*<sub>hex</sub> est approximativement doublé, 8 Å contre 4,6 Å, à cause des phénomènes d'insertion d'eau. Le degré d'oxydation moyen des cations nickel dans le cas de ces deux structures est compris entre 2 et 2,2 [78].

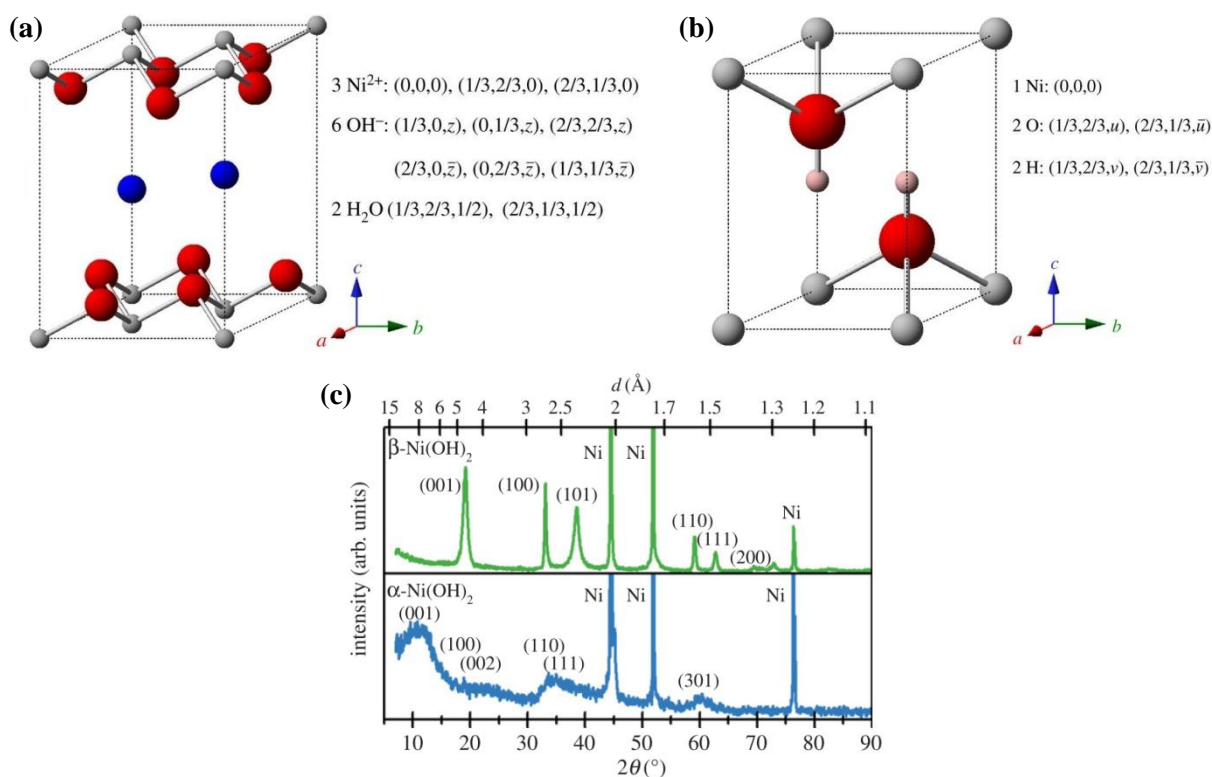
Lorsqu'on impose un potentiel anodique adéquat à une électrode couverte d'hydroxyde de nickel, celui-ci peut être oxydé en oxyhydroxyde de nickel suivant la réaction électrochimique suivante :



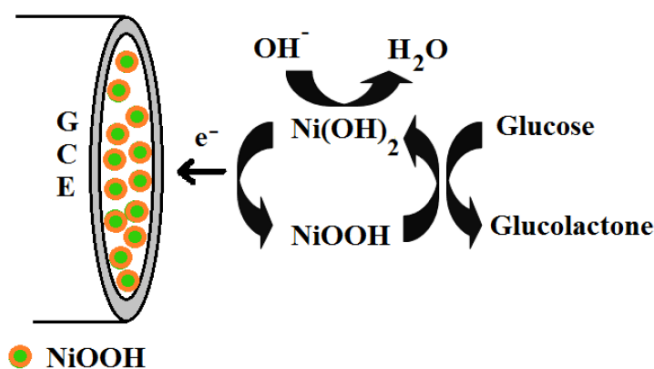
En effet, à des potentiels dans la gamme de + 0,6 à + 0,7 V par rapport l'ENH (électrode normale à hydrogène), l'oxyde de nickel (II) subit une oxydation supplémentaire pour atteindre l'état d'oxydation Ni (III). Ce dernier état est responsable de l'oxydation catalytique de glucides, d'acides aminés et d'autres substances biologiques (Figure I.38).

La forme  $\beta$ -Ni(OH)<sub>2</sub> va évoluer vers la forme  $\beta$ -NiOOH, dont les caractéristiques cristallines sont équivalentes. Le degré d'oxydation moyen des ions nickel dans cette phase est compris entre 2,7 et 3 [78,80].

D'autre part, la forme  $\alpha$ -Ni(OH)<sub>2</sub> s'oxyde en  $\gamma$ -NiOOH, espèce également hydratée, avec une insertion de cations alcalins dans l'espace inter-lamellaire. Le degré d'oxydation moyen des cations nickel dans cette phase est sensiblement supérieur à celui de la phase  $\beta$ -NiOOH puisqu'il est compris entre 3,5 et 3,7 [78,80]. Dans ces matériaux, la cohésion des feuillets est assurée par un réseau de liaisons hydrogène mais leur déficience, dans le cas de  $\gamma$ -NiOOH, pourrait être compensée par les phénomènes d'insertion cationique. Les cations alcalins stabilisent les feuillets de la forme  $\gamma$ -NiOOH, via des interactions électrostatiques [78].



**Figure I.37** (a) La phase  $\alpha$ -Ni(OH)<sub>2</sub>, (b) la phase  $\beta$ -Ni(OH)<sub>2</sub>, (c) spectres DRX de film de Ni(OH)<sub>2</sub> sur un substrat de Nickel : la phase  $\alpha$  est beaucoup moins cristalline que la phase  $\beta$  [79].



**Figure I.38** Illustration schématique du mécanisme de détection électrocatalytique du glucose par une électrode constituée de nanoparticules de nickel déposées sur du carbone vitreux [81].

Les détecteurs non-enzymatiques à base de nickel ont montré une exceptionnelle activité électrocatalytique vis-à-vis de l'oxydation du glucose, celle-ci se produit par l'intermédiaire du couple redox Ni(II)/Ni(III) dans une solution aqueuse alcaline [82, 83, 84].

En général, pour la détection du glucose c'est la phase  $\beta$ -Ni(OH)<sub>2</sub> qui est privilégiée. Afin d'assurer la prédominance de cette phase dans le Ni(OH)<sub>2</sub> initial on procède à une « électro-activation » et qui sera présentée au chapitre II.

### I.5. Les biocapteurs

Le concept de biocapteur moderne a commencé à partir de 1962 avec le développement d'électrodes enzymatiques par Leland C. Clark. Dans cette nouvelle conception, le biocapteur est basé sur l'immobilisation d'enzymes sur une électrode où son action sera utilisée pour la détection [85].

Depuis cette date, les chercheurs dans différents domaines (physique, chimie, biochimie, science des matériaux, électronique, électrochimie) ont contribué au développement incessant de ces biodétecteurs, les rendant de plus en plus performants et fiables.

Ces capteurs biochimiques – de plus en plus employés dans le domaine médical, agro-alimentaire et de surveillance de l'environnement –, sont souvent simples dans leur principe et peuvent offrir une analyse en temps réel des analytes.

Les techniques traditionnelles d'analyse biologique impliquent des réactions qui ont lieu dans des solutions où l'on ajoute des espèces bio-réactives. Dans les biocapteurs, ces réactions ont lieu sur une électrode. Ce capteur sera ainsi un dispositif qui permettra de convertir un

changement observé (chimique ou physique) en une réponse (électrique, optique, calorimétrique, piézoélectrique, électrochimique) mesurable (figure I.39).

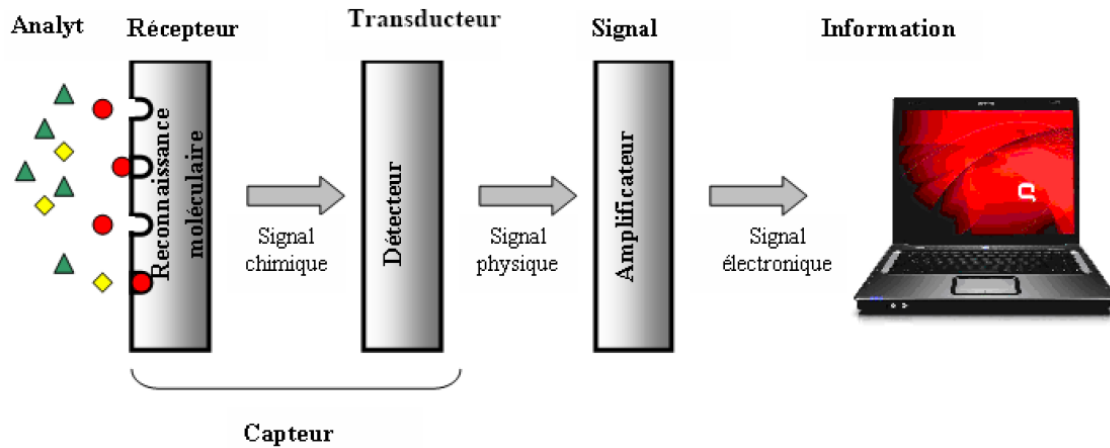


Figure I.39 Principe de fonctionnement d'un biocapteur [86,87].

Le *biocapteur électrochimique* répond à un transfert d'électrons, à une consommation d'électrons, ou à une génération d'électrons au cours d'un processus d'interaction biochimique. Cette classe de capteurs est d'une grande importance vu qu'ils sont particulièrement favorables à la miniaturisation par rapport à la plupart des autres biocapteurs. Ils sont divisés en capteurs conductimétriques, potentiométriques, et ampérométriques.

Le biocapteur conductimétrique est basé sur le changement de conductance entre deux électrodes métalliques suite à une réaction biochimique [88] ; les capteurs potentiométriques répondent quant à eux au changement de potentiel (mesurée par rapport à une électrode de référence) dû à l'accumulation de charges (électrons) sur l'électrode de travail [89]. Enfin, les biocapteurs ampérométriques, qui sont les plus utilisés, basent leur détection sur la mesure du courant électrique résultant de l'oxydation électrocatalytique d'une biomolécule [90, 91].

### I.5.1. Biocapteurs enzymatiques

Les capteurs enzymatiques de glucose dominent l'industrie des biocapteurs, ceci a été accentué par le développement sans cesse croissant de l'autotest et de surveillance de la glycémie.

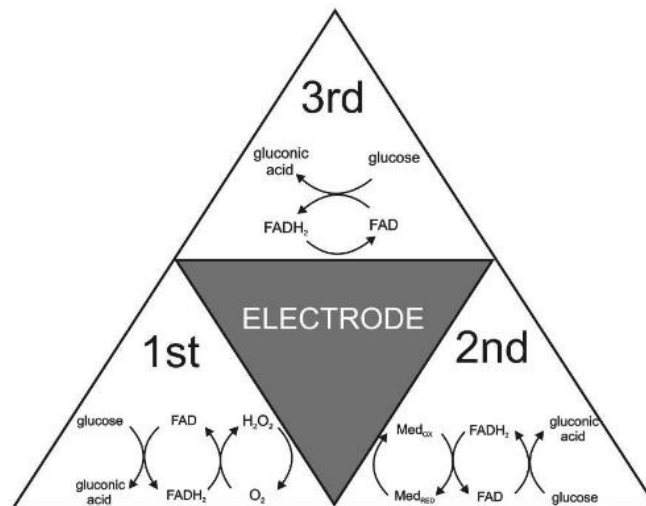
Les premiers capteurs de glucose ont été introduits, comme on l'a indiqué précédemment, par Clark et Lyons en 1962; ce capteur est basé sur l'oxydation catalytique du glucose en présence d'oxygène, c'est cette variation d'oxygène qui est alors mesurée [85].

Le premier capteur ampérométrique enzymatique de glucose a été développé en 1973 [92] ; dans ce détecteur, la production anodique de peroxyde d'hydrogène H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a été analysée au lieu du courant due à la réduction d'oxygène. Depuis, les capteurs de glucose ont considérablement progressé grâce à une technologie électrochimique de plus en plus innovante, efficace et performante [93].

Depuis le début et jusqu'à maintenant, l'enzyme Glucose Oxydase (GOx ou GOD) est le composant catalytique principal utilisé dans des biocapteurs enzymatiques. Elle a été décrite comme une enzyme « idéale » pour l'oxydation du glucose [94,95], en raison de sa sélectivité relativement élevée, de sa sensibilité et de sa stabilité, comparée à d'autres matériaux enzymatiques. L'élément clé de cette grande molécule de protéine est le centre redox, qui est la FAD (la flavine adénine dinucléotide). Le groupe de flavine est réduit par interaction avec le glucose, en produisant comme sous-produit d'oxydoréduction la glucolactone (C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>O<sub>6</sub>), conformément à l'équation [95] :



Comme le centre actif FAD est profondément enfoui dans l'enzyme, son oxydoréduction est un facteur limitant majeur. Trois approches ont été adoptées afin d'oxyder le centre réduit FADH<sub>2</sub> et ainsi régénérer la FAD : soit catalytiquement par la réduction naturelle de l'oxygène présent (première génération de biocapteurs enzymatique de glucose), soit en le faisant réagir avec un médiateur (seconde génération), soit enfin en l'oxydant directement via l'électrode (troisième génération). Les capteurs de glucose enzymatiques sont ainsi distingués en fonction du mécanisme de régénération du centre actif ; ceci est résumé dans la figure I.40 [93].



**Figure I.40** Résumé des mécanismes d'oxydation enzymatique du glucose [95].

### **I.5.2. Avantages et inconvénients des électrodes enzymatiques de glucose**

Malgré une domination de l'industrie des capteurs de glucose par les systèmes enzymatiques, ces derniers ont un certain nombre de failles. Les capteurs de première génération souffrent d'une dépendance élevée à l'oxygène, et sont donc inadaptés pour des analyses pratiques et fiables. De plus, leur capacité de détection est fortement influencée par la présence d'autres interférents électroactifs toujours courants dans les échantillons sanguins réels. Pour y remédier, une deuxième génération de capteurs a utilisé des médiateurs synthétiques permettant de se passer d'oxygène, ainsi que des potentiels ampérométriques inférieurs pour éviter les interférences électroactives [95].

Les électrodes de ces capteurs deviennent de plus en plus élaborées, mais la production d'un capteur reproductible reste complexe et difficile.

Enfin, est apparue la troisième génération de capteur qui est encore à ses débuts mais qui montre déjà beaucoup de promesses, basée sur les surfaces d'électrodes nanostructurées [95-99].

Le problème de stabilité qui caractérise les systèmes enzymatiques entrave fortement leur développement et leur plus large application. Assurer la stabilité de l'enzyme et du médiateur d'électrodes immobilisées nécessite une attention considérable ; des procédés de fabrication complexes (électropolymérisation, réticulation covalente, piégeage par sol-gel, piégeage par des chaînes de polymères, etc.) ont été étudiés dans le but d'aboutir à un procédé applicable à grande échelle tout en alliant coût raisonnable et fiabilité.

En dépit de ces problèmes, les capteurs enzymatiques de glucose gardent commercialement le monopole [95]. Cela est compréhensible étant donné la forte sélectivité de l'enzyme envers le glucose.

### **I.5.3. Capteur non-enzymatiques**

L'utilisation d'électrodes non enzymatiques promet potentiellement l'avènement d'une quatrième génération de capteurs de glucose. Les électrodes non enzymatiques doivent assurer l'oxydation directe du glucose sans passer par un médiateur. Ce système idéal a d'abord été étudié, il y a un siècle, par Walther Loeb [95,99] qui a oxydé le glucose électrochimiquement dans de l'acide sulfurique en utilisant une anode en plomb. Malgré l'effort de recherche, non-négligeable, consacré aux systèmes non-enzymatiques, cet effort

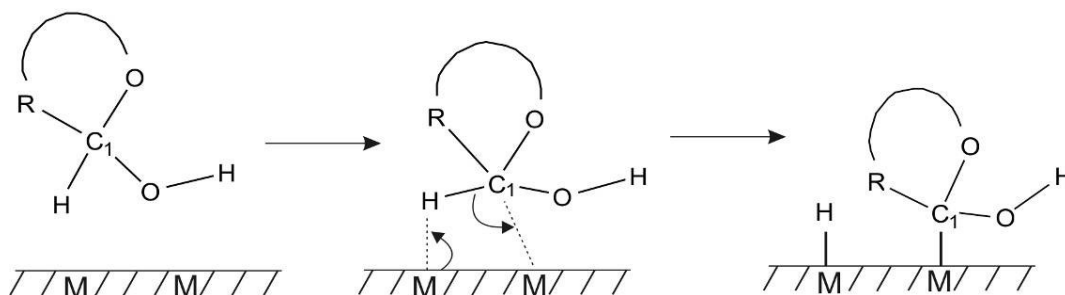


reste très insuffisant et demeure bien en-deçà des efforts déployés pour les systèmes enzymatiques.

### **I.5.3.1.L'électrocatalyse non-enzymatique**

Les électrocatalyseurs non-enzymatiques se présentent sous différentes formes, par exemple : des métaux (Pt, Au), des oxydes ou des hydroxydes de métal (Ni(OH)<sub>2</sub>, RuO<sub>2</sub>), des alliages (PtPb, PtRu), des complexes (phtalocyanine de cobalt) et il peuvent être combinés à l'une des formes allotropiques du carbone (nanotubes de carbone, le diamant dopé bore, graphène, noir de carbone, nanofibre de carbone) .

Le procédé d'électrocatalyse débute généralement par l'adsorption de l'analyte à la surface d'électrode, ce processus implique les électrons des orbitales de l'atome impliqué dans la catalyse, ce qui permet de former une liaison appropriée avec l'adsorbant. Cette liaison est nécessaire pour le processus catalytique. La force d'adhérence dépend de l'énergie d'adsorption de Gibbs, un changement dans la force de liaison peut être imposé par un changement dans l'état d'oxydation du métal, ce qui peut altérer l'interaction adsorbant-métal et favoriser la désorption du produit [95,100]. La géométrie de l'électrode peut aussi être un facteur très important, comme on le voit dans de nombreux travaux de recherche [95,100]. Dans ce procédé catalytique, l'adsorption de l'espèce organique semble coïncider avec une expulsion d'hydrogène du matériau d'électrode catalytique. En effet, l'étape déterminant la vitesse dans la plupart des expériences d'électro-oxydation de glucose est concomitante avec l'élimination de l'atome d'hydrogène hémiacétalique [101] (voir figure I.41).



**Figure I.41** Illustration de l'adsorption d'une espèce organique à la surface du matériau électrocatalytique et libération simultanée d'hydrogène [95,100].

### **I.5.3.2.Exemple d'électrodes non-enzymatiques**

#### **- À base de Nanotubes de carbone**

Les nanotubes de carbone (NTC) ont trouvé une importante application en électroanalyse d'une grande variété d'analytes ; le plus souvent à travers la modification d'électrodes planes en augmentant la rugosité de surface et la porosité. Les NTC – qui ne sont autre que des feuilles de graphène cylindriques – ont des dimensions nanométriques et sont hautement conducteurs, ce qui a pour effet d'augmenter sensiblement la surface et la sensibilité des électrodes détectrices tout en conservant une haute stabilité physique et chimique [95].

Les nanotubes de carbone ont particulièrement montré de bien prometteurs résultats dans le développement de la troisième génération de capteurs enzymatique de glucose [95, 101, 102].

Les nanotubes de carbone ont aussi montré une amélioration dans la détection non-enzymatique du glucose [103].

Un certain nombre d'oxydes métalliques (par exemple MnO<sub>2</sub>) ont été utilisés conjointement avec ces nanotubes de carbone pour produire des capteurs de glucose électrocatalytiques [95,104-109].

#### **- À base de graphène et de nanofibres de carbone**

Les récents progrès dans la préparation de graphène, matériau de très grande conductivité électrique, ont permis des études d'utilisation du graphène dans l'électrocatalyse. En ce qui concerne l'oxydation catalytique du glucose, des expériences ont et été tentées sur des systèmes enzymatiques, dans lequel la GOx est immobilisée à la surface des nanofeuillets de graphène [110-114], conjointement avec des nanoparticules de platine et d'or. Le carbone aux liaisons sp<sup>2</sup> est théoriquement appelé à jouer un rôle important dans la détection électrochimique de composés organiques, en raison du faible potentiel auquel le radical hydroxyle peut être formé au niveau des sites de surface [95,115].

À la différence des nanotubes de carbone, les nanofibres de carbone (NFC) ne sont pas creuses, et la disposition des nanofeuillets de graphène qui la constituent permet théoriquement de disposer d'une plus grande proportion de bords formant la surface active [116]. Au cours des dernières années, les NFC ont été combinées avec des enzymes pour produire des biocapteurs enzymatiques de glucose présentant des performances parfois supérieures aux nanotubes de carbone. Les électrodes CNF non-enzymatiques ont également été développées récemment ; Rathod et al. [117] ont dispersé des nanoparticules de platine à la surface des NFC pour la détection électrocatalytique de glucose dans des conditions

physiologiques (pH 7) ; toutefois, dans le cas de cette expérience les résultats de détection ont été meilleurs lorsque les NTC étaient utilisés [95].

**Références**

- [1]. Z.W. Zhao, X.J. Chen, B.K. Tay , J.S. Chen, Z.J. Han, K.A. Khor, *Biosensors and Bioelectronics* 23 (2007) 135.
- [2]. N. Saito, H. Haneda, T. Sekiguchi, N. Ohashi, I. Sakaguchi and K. Koumoto, *Adv. Mater.*,14 (2002) 418.
- [3]. S. H. Park, S. H. Kim and S. W. Han, *Nanotechnology*, 18 (2007) 055608.
- [4]. F. Vietmeyer, B. Seger and P. V. Kamat, *Adv. Mater.* 19 (2007) 2935.
- [5]. D. Wei, H. E. Unalan, D. Han, Q. Zhang, L. Niu, G. Amaratunga and T. Ryhanen, *Nanotechnology*, 19 (2008) 424006.
- [6]. C. C. Li, Z. F. Du, L. M. Li, H. C. Yu, Q. Wan and T. H. Wang, *Appl. Phys. Lett.* 91 (2007) 032101.
- [7]. Kwi Nam Han, Cheng Ai Li, Minh-Phuong Ngoc Bui, Xuan-Hung Pham and Gi Hun Seong, *Chem. Commun.*, 47 (2011) 938.
- [8]. Fenfen Zhang, Xiaoli Wang, Shiyun Ai, Zhengdong Sun, Qiao Wan, Ziqiang Zhu, Yuezhong Xian, Litong Jin, Katsunobu Yamamoto, *Analytica Chimica Acta* 519 (2004) 155.
- [9]. Thèse Muhammad Asif, « Electrochemical Biosensors Based on Functionalized Zinc Oxide Nanorods », Université de Linköping – Suède, 2009.
- [10]. S. M. Al-Hilli, M. Willander, A. Öst, and P. Strålfors. *J. Appl. Phys.* **102** (2007) 084304
- [11]. S. M. Al-Hilli, R. T. Al-Mofarji, and M. Willander. *Appl. Phys. Lett.* **89** (2006) 173119
- [12]. Safaa Al-Hilli et Magnus Willander, *Sensors* 9 (2009) 7445.
- [13]. Muhammad H. Asif, Fredrik Elinder, Magnus Willander, *J Anal Bioanal Tech* S7 (2011).
- [14]. R. Ahmad, N. Tripathy, Y-B Hahn, *Sensors And Actuators B* 194 (2014) 290.

- [15]. Sandip B. Bankar, Mahesh V. Bule, Rekha S. Singhal, Laxmi Ananthanarayan, *Biotechnology Advances* 27 (2009) 489.
- [16]. Kun Yang, Guang-Wei She, Hui Wang, Xue-Mei Ou, Xiao-Hong Zhang, Chun-Sing Lee, Shuit-Tong Lee, *J. Phys. Chem. C* , 113 (2009) 20169.
- [17]. Witt S, Wohlfahrt G, Schomburg D, Hecht H, Kalisz H., *J Biochem* 9 (2000) 347.
- [18]. Naif H. Al-Hardan, Muhammad Azmi Abdul Hamid, Roslinda Shamsudin, Norinsan Kamil Othman, Lim Kar Keng, *Sensors* 16 (2016) 1004.
- [19]. Mohammed M. Rahman, Aslam Jamal, Sher Bahadar Khan, Mohd Faisal, *ACS Appl. Mater. Interfaces* 3 (2011) 1346.
- [20]. Chunyang Zhou, Lin Xu, Jian Song, Ruiqing Xing, Sai Xu, Dali Liu, Hongwei Song, *Sci. Rep.* 4, 7382; DOI:10.1038/srep07382 (2014).
- [21]. Cuihong Zhang, Guangfeng Wang, Min Liu, Yuehua Feng, Zhidan Zhang, Bin Fang, *Electrochimica Acta* 55 (2010) 2835.
- [22]. Jie Wang, Shuping Li, Yuzhong Zhang, *Electrochimica Acta* 55 (2010) 4436.
- [23]. Novoselov, K.S., et al., A roadmap for graphene. *Nature*, 490 (7419) (2012) p. 192.
- [24]. Union des professeurs de physique et de chimie, site : <http://national.udppc.asso.fr>.
- [25]. cours Alexander Klein Payap University, <http://cis.payap.ac.th>.
- [26]. S. Pei et H.-M. Cheng, *Carbon* 50(9) (2012) 3210.
- [27]. Thèse Fatimah Abdulbaqi Alussail, « Synthesis and Characterization of Reduced Graphene Oxide Films », Université de Waterloo – Canada, 2015.
- [28]. Jianshe Huang, Tianyan You, “Electrospun Nanofibers: From Rational Design, Fabrication to Electrochemical Sensing Applications” <http://dx.doi.org/10.5772/57099>.
- [29]. Qingkai Yu, Luis A. Jauregui, Wei Wu, Robert Colby, Jifa Tian, Zhihua Su, Helin Cao, Zhihong Liu, Deepak Pandey, Dongguang Wei, Ting Fung Chung, Peng Peng, Nathan P.

Guisinger, Eric A. Stach, Jiming Bao, Shin-Shem Pei and Yong P. Chen, *Nature Materials* 10 (2011) 443.

[30]. M.J. Allen, V.C. Tung, R.B. Kaner, *Chemical reviews* 110(1) (2009), 132.

[31]. M.J. Allen.com/index.php/properties/graphite-properties/walker-mine/analytical-product-testing

[32]. Basic bonding concepts in organic chemistry, <http://www.introorganicchemistry.com/basic.html>

[33]. Ashok K. Sood, Isaac Lund, Yash R. Puri, Harry Efstathiadis, Pradeep Haldar, Nibir K. Dhar, Jay Lewis, Madan Dubey, Eugene Zakar, Priyalal Wijewarnasuriya, Dennis L. Polla, Michael Fritze, "Review of Graphene Technology and Its Applications for Electronic Devices", *Graphene - New Trends and Developments*, INTECH open science-open mind (2015).

[34]. M.C. Lemme, *Solid State Phenomena* Vols. 156-158 (2010) 499.

[35]. <http://sjerng.egloos.com>.

[36]. Cours C. Kane <http://www.physics.upenn.edu/~kane/>.

[37]. <http://rebrn.com/re/how-is-graphene-both-a-good-conductor-of-electricity-and-a-semiconductor>

[38]. Jean-Noël FUCHS, Mark Oliver GOERBIG, "Introduction to the Physical Properties of Graphene", *Lecture Notes* (2008).

[39]. Edwards, R.S. and K.S. Coleman, *Graphene synthesis: relationship to applications*. *Nanoscale*, 5(1) (2013) p. 38.

[40]. Xiaoting Jia, Mario Hofmann, Vincent Meunier, Bobby G. Sumpter, Jessica Campos-Delgado, José Manuel Romo-Herrera, Hyungbin Son, Ya-Ping Hsieh, Alfonso Reina, Jing Kong, Mauricio Terrones, Mildred S. Dresselhaus, *Science* 323 (2009) 1701.

[41]. Amir Yacoby, *Nature Physics* 7 (2011) 925.

- [42]. Xuechao Zhai, Guojun Jin, EPL 96 (2011) 16002p1.
- [43]. Wan, X., Y. Huang, and Y. Chen, Focusing on Energy and Optoelectronic Applications: A Journey for Graphene and Graphene Oxide at Large Scale. Accounts of Chemical Research, 45(4) (2012) 598.
- [44]. Compton, O.C. and S.T. Nguyen, Small 6(6) (2010) 711.
- [45]. Dreyer, D.R., R.S. Ruoff, and C.W. Bielawski, Angewandte Chemie International Edition 49(49) (2010) 9336.
- [46]. Pei, S. and H.-M. Cheng, Carbon 50(9) (2012) 3210.
- [47]. Lazauskas, A., et al., Superlattices and Microstructures 75(0) (2014) 461.
- [48]. Ding, Y.H., et al., Nanotechnology.22 (21) (2011) 215601.
- [49]. Sung Jin An, Yanwu Zhu, Sun Hwa Lee, Meryl D. Stoller, Tryggvi Emilsson, Sungjin Park, Aruna Velamakanni, Jinho An, Rodney S. Ruoff, J. Phys. Chem. Lett. 1 (2010) 1259.
- [50]. Lichao Feng, Ning Xie, Jing Zhong, Materials 7 (2014) 3919.
- [51]. Yoong Ahm Kim, Takuya Hayashi, Morinobu Endo, Mildred S. Dresselhaus, Springer Handbook of Nanomaterials, Part A|7 Carbon Nanofibers, (2011).
- [52]. Pierre Zweigacker. *Fluide vital: contes de l'ère électrique*. PPUR presses polytechniques, 2005 google books
- [53]. J.B. Donnet, R.C. Bansal: Carbon Fibers ; Marcel Dekker, New York (1984).
- [54]. Ronald L. Poveda, Nikhil Gupta, « Carbon Nanofiber Reinforced Polymer Composites» Book Springer Briefs in Materials (2016).
- [55]. Thèse Christophe Pradere, « Thermal and thermomechanical characterisation of carbon and ceramic fibers at very high temperature », Ecole Nationale Supérieure d'Arts et Métiers Bordeaux – France, (2004).

- [56]. Thèse Catherine DAVY, « Rupture d'un composite carbone-carbone 3D sous sollicitations complexes : Expérimentation et modélisation », Ecole Normale Supérieure de Cachan – France, (2001).
- [57]. Thèse Matthieu FRANCOIS, « Matériaux composite C/C pour le freinage aéronautique : éléments de compréhension des régimes de frottements et d'usure haut et bas », L'Ecole Centrale de Lyon – France, (2003).
- [58]. Mengyao Liu, Hanchun Xia, Wangyang Lu, Tiefeng Xu, Zhexin Zhu, Wenxing Chen, *J Appl Electrochem* 46 (2016) 583.
- [59]. Kunchan Lee, Jiujun Zhang, Haijiang Wang, David P. Wilkinson, *Journal of Applied Electrochemistry* 36 (2006) 507.
- [60]. Jiawen Ren, Fang-Fang Li, Jason Lau, Luis González-Urbina, Stuart Licht, *Nano Lett.* 15 (9) (2015) 6142.
- [61]. Y. A. Kim, T. Hayashi, M. Endo, M. S. Dresselhaus, *Springer Handbook of Nanomaterials*, chapter 7 « Carbon nanofibers », 2011.
- [62]. Zhuangjun Fan, Jun Yan, Tong Wei, Linjie Zhi, Guoqing Ning, Tianyou Li, Fei Wei, *Adv. Funct. Mater.* 21 (2011) 2366.
- [63]. Lifeng Zhang, Alex Aboagye, Ajit Kelkar, Chuilin Lai, Hao Fong, *J Mater Sci* 49 (2014) 463.
- [64]. Qian Wang, Yao Ma, Xin Jiang, Nianjun Yang, Yannick Coffinier, Hakim Belkhalifa, Nahed Dokhane, Musen Li, Rabah Boukherroub, Sabine Szunerits, *Electroanalysis* 28 (2016) 119.
- [65]. Jose Vera-Agullo, Helena Varela-Rizo, Juan A. Conesa, Cristina Almansa, César Merino, Ignacio Martin-Gullon, *Carbon* 45 (2007) 2751.
- [66]. L. Calvillo, V. Celorrio, R. Moliner, M.J. Lázaro, *Materials Chemistry and Physics* 127 (2011) 335.



- [67]. D. Sebastian, J.C. Calderon, J.A. Gonzalez-Exposito, E. Pastor, M.V. Martinez-Huerta, I. Suelves, R. Moliner, M.J. Lazaro, *International Journal of Hydrogen Energy* Vol. 35, Issue 18,( 2010) 9934.
- [68].A. Asami, S. Iinou, A. Ishihara, S. Mitsushima, N. Kamiya and K.I. Ota, Application of Pt/VGCF as cathode for PEFC, Proceeding ofthe 24th Annual Meeting of Hydrogen Energy Systems Society of Japan, Saitama, Japan, 10–11 December (2004) 16.
- [69]. Yanguang Li, Bing Tan, and Yiying Wu, *Nano Letters* Vol. 8, No. 1 (2008).
- [70]. Liu, Z.; Ma, R.; Osada, M.; Iyi, N.; Ebina, Y.; Takada, K.; Sasaki,T. *J. Am. Chem. Soc.* 128 (2006) 4872.
- [71]. Xie, X.; Li, Y.; Liu, Z.-Q.; Haruta, M.; Shen, W. *Nature (London)* 458 (2009) 746.
- [72]. Teh-Long Lai, Yuan-Lung Lai, Chia-Chan Lee, Youn-Yuen Shu, Chen-Bin Wang, *Catalysis Today* 131 (2008) 105.
- [73]. Iman Shackery, Umakant Patil, Atiye Pezeshki, Nanasaheb M. Shinde, Seongil Im, Seong Chan Jun, *Microchimica Acta* Vol. 183 Issue 8 (2016), 2473.
- [74]. Thèse Lionel ROBERTSON, « Etude de pigments thermochromes autour du cobalt II », Université Bordeaux 1 – France, (2010).
- [75]. Jing Yang, Hongwei Liu, Wayde N. Martens, and Ray L. Frost, *J. Phys. Chem. C*, 114 (2010) 111.
- [76]. Yi Zhan, Guojun Du, Shiliu Yang, Chaohe Xu, Meihua Lu, Zhaolin Liu, Jim Yang Lee, *ACS Appl. Mater. Interfaces* 7 (2015) 12930.
- [77]. Abolanle S. Adekunle, John A.O. Oyekunle, Oluwatobi S. Oluwafemi, Abiodun O. Joshua, Wasiu. O. Makinde,Aderemi O. Ogunfowoka1, Marcus. A. Eleruja, and Eno E. Ebenso, *Int. J. Electrochem. Sci.* 9 (2014) 3008 .
- [78]. Florian Moureaux, « Etude des réactions mettant en jeu l'oxygène dans un système électrochimique lithium-air aqueux rechargeable électriquement », Université de Grenoble – France, 2006.

- [79]. David S. Hall, David J. Lockwood, Christina Bock, Barry R. MacDougall, Proc. R. Soc. A Vol. 471, No. 2174, (2015) 20140792.
- [80]. M.E.G. Lyons, M.P. Brandon, J. Electroanal. Chem., 641 (2010) 119.
- [81] Pinwattana, K., & Janmanee, R. (2016). A simple strategy to fabricate electrochemical sensor based on nickel nanoparticles modified glassy carbon electrode for the determination of glucose in urine. *NU. International Journal of Science*, 12(2), 29-38.
- [82] Zhao, C., Shao, C., Li, M., and Jiao, K. (2007). Flow-injection analysis of glucose without enzyme based on electrocatalytic oxidation of glucose at a nickel electrode. *Talanta*, 71(4), 1769-1773
- [83] Niu, X., Lan, M., Zhao, H., and Chen, C. (2013). Highly Sensitive and Selective Nonenzymatic Detection of Glucose Using Three-Dimensional Porous Nickel Nanostructures. *Analytical Chemistry*, 85(7), 3561-3569.
- [84] Sherdedani, R., Karevan, M., and Amini, A. (2014). Prickly nickel nanowires grown on Cu substrate as a supersensitive enzyme-free electrochemical glucose sensor. *Sensors And Actuators B: Chemical*, 204, 783-790.
- [85]. L. C. Clark, C. Lyons, *Annals of the New York Academy of Sciences* 102 (1962) 29.
- [86]. Thèse de doctorat Z. Allam, Université de Tlemcen - Algérie, (2010).
- [87]. Basma Khadro « conception et réalisation de biocapteurs pour le suivi de polluants dans les eaux naturelles » 2008 google-books.
- [88]. M. Archer, M. Christopherson, P. M. Fauchet, *Biomed Microdevices* 6 (2004) 203.
- [89]. G. Gauglitz, *Opto-Chemical and Opto-Immuno Sensors*, Sensor update, VCH, Weinheim. vol 1 (1996).
- [90]. Brian A. Gregg and Adam Heller, Cross-Linked Redox Gels Containing Glucose Oxidase for Amperometric Biosensor Applications, *Anal. Chem.* 1990, 62, 258-263.

- [91]. Arkady A. Kayakin,\* Olga V. Gitelmacher, and Elena E. Kayakina, Prussian Blue-Based First-Generation Biosensor. A Sensitive Amperometric Electrode for Glucose, *Anal. Chem.* 1995, 67, 2419-242.
- [92]. G. G. Guilbault and G. J. Lubrano, *Anal. Chim. Acta* 64 (1973) 439.
- [93]. Chao Chen, Qingji Xie,\* Dawei Yang, Hualing Xiao, Yingchun Fu, Yueming Tan and Shouzhao Yao, Recent advances in electrochemical glucose biosensors, *RSC Advances*
- [94]. R. Wilson and A. P. F. Turner, *Biosens. Bioelectron.* 7 (1992) 165.
- [95]. Kathryn E. Toghill, Richard G. Compton, *Int. J. Electrochem. Sci.* 5 (2010) 1246.
- [96]. Y. Wang and F. Caruso, *Chem. Commun. (Cambridge, U. K.)* (2004) 1528.
- [97]. S. Wu, H. Ju, and Y. Liu, *Adv. Funct. Mater.* 17 (2007) 585.
- [98]. S. Bao, C. M. Li, J. Zang, X. Cui, Y. Qiao, and J. Guo, *Adv. Funct. Mater.* 18 (2008) 591.
- [99]. W. Loeb, *Biochem. Z.* 17 (1909) 132.
- [100]. D. Pletcher, *J. Appl. Electrochem.* 14 (1984) 403.
- [101]. S. Sotiropoulou and N. A. Chaniotakis, *Anal. Bioanal. Chem.* 375 (2003) 103.
- [102]. S. G. Wang, Q. Zhang, R. Wang, and S. F. Yoon, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 311 (2003) 572.
- [103]. J. Ye, Y. Wen, W. D. Zhang, L. M. Gan, G. Q. Xu, and F. Sheu, *Electrochem. Commun.* 6 (2004) 66.
- [104]. Y. Myung, D. M. Jang, Y. J. Cho, H. S. Kim, J. Park, J. Kim, Y. Choi, and C. J. Lee, *J. Phys. Chem. C* 113 (2009) 1251.
- [105]. X. Zhang, G. Wang, W. Zhang, Y. Wei, and B. Fang, *Biosens. Bioelectron.* 24 (2009) 3395.

- [106].J. Chen, W. Zhang, and J. Ye, *Electrochem. Commun.*10 (2008) 1268.
- [107].S. Buratti, B. Brunetti, and S. Mannino, *Talanta* 76 (2008) 454.
- [108].C. Batchelor-McAuley, G. G. Wildgoose, R. G. Compton, L. Shao, and M. L. H. Green, *Sens. Actuators, B* B132 (2008) 356.
- [109].L. Siegart, D. K. Kampouris, J. Kruusma, V. Sammelseg, and C. E. Banks, *Electroanalysis* 21 (2009) 48.
- [110].H. Wu, J. Wang, X. Kang, C. Wang, D. Wang, J. Liu, I. A. Aksay, and Y. Lin, *Talanta* 80 (2009) 403.
- [111].K. Zhou, Y. Zhu, X. Yang, and C. Li, *Electroanalysis* 22 (2010) 259.
- [112].C. Shan, H. Yang, D. Han, Q. Zhang, A. Ivaska, and L. Niu, *Biosens. Bioelectron.*25 (2010) 1070.
- [113].T. T. Baby, S. S. J. Aravind, T. Arockiadoss, R. B.Rakhi, and S. Ramaprabhu, *Sens. Actuators, B*B145 (2010) 71.
- [114].Y. Liu, D. Yu, C. Zeng, Z. Miao, and L. Dai, *Langmuir* 26 (2010) 6158.
- [115].D. Koppang, M. Witek, J. Blau, and G. M. Swain, *Anal. Chem.* 71 (1999) 1188.
- [116] V. Stavyiannoudaki, V. Vamvakaki, and N. Chaniotakis, *Anal. Bioanal. Chem.* 395 (2009) 429.
- [117] D. Rathod, C. Dickinson, D. Egan, and E. Dempsey, *Sens. Actuators, B*B 143 (2010) 547.

---

## *Chapitre II*

# *Procédures Expérimentales & Techniques de Caractérisations*

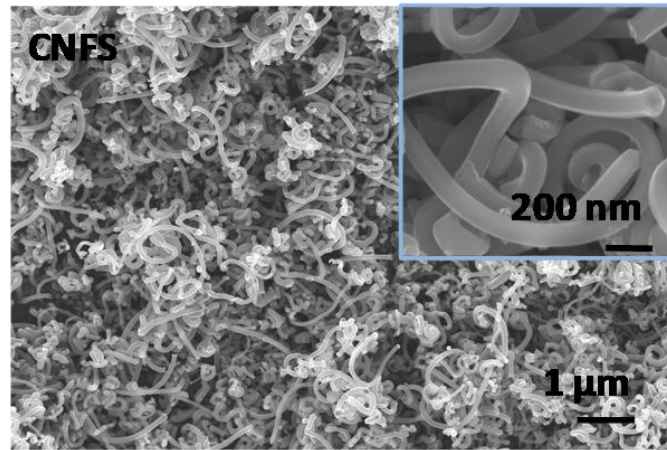
---

### **II.1. Préparation de l'oxyde de graphène (GO)**

L'oxyde de graphène a été synthétisé en suivant la méthode de Hummer modifiée [1], dans laquelle la poudre de graphite et  $\text{KMnO}_4$  ont été mélangés selon le rapport de 1:6. À ce mélange a été ajoutée goutte à goutte une solution  $\text{H}_2\text{SO}_4$ :  $\text{H}_3\text{PO}_4$  (rapport 9:1) en maintenant une faible température de la solution grâce à un bain de glace. La solution obtenue est ensuite chauffée dans un bain d'huile pendant 24 heures à  $60^\circ\text{C}$ . Après l'achèvement de cette étape, la solution est versée progressivement dans un ballon contenant 30% de  $\text{H}_2\text{O}_2$  sous agitation continue et plongé dans un bain de glace ; la solution devient de couleur jaune clair. Le GO formé a d'abord été précipité par centrifugation à 10 000 tr/min pendant 10 minutes, puis lavé plusieurs fois avec une quantité abondante d'eau distillée et une centrifugation. La solution obtenue a été encore lavée avec de l'acide chlorhydrique à 30% pour éliminer les résidus métalliques n'ayant pas réagi. Le matériau finalement obtenu a été lavé avec une quantité abondante d'éthanol et d'éther diéthylique (trois fois) et séché à  $60^\circ\text{C}$  pendant 12 heures.

### **II.2. Préparation des nanofibres de carbone (NFC)**

Les NFC ont été préparées via le procédé thermique de dépôt chimique en phase vapeur. Il a été effectué dans un four tubulaire équipé d'un tube de quartz. Le tartrate de Cuivre (II) hydraté est mis dans le tube de quartz (chambre de réaction) en tant que précurseur pour catalyser la croissance des nanofibres. Le tube est d'abord chauffé à  $250^\circ\text{C}$  sous un vide au-dessous de 0.1 mbar ; par la suite, la chambre est remplie d'acétylène pur ( $\text{C}_2\text{H}_2$ ) jusqu'à 500 mbar. Le système est maintenu à cette température pendant une période d'une heure pour permettre la croissance des nanostructures carbonées; après cela, la chambre de réaction est rapidement évacuée, et la température augmentée jusqu'à  $800^\circ\text{C}$  pendant une heure afin d'éliminer l'hydrogène des nanofibres formées (cette étape est appelée processus de carbonisation). Enfin, l'ensemble du système est refroidi lentement jusqu'à la température ambiante. L'image MEB des NFC ainsi synthétisées montre que la croissance est colonnaire et uniforme, avec un diamètre moyen de 120 nm et une longueur de l'ordre de 10  $\mu\text{m}$  (Figure II.1).



**Figure II.1** Image MEB des nonofibres de carbone (NFC) élaborées [2].

### **II.3. Préparation du substrat d'électrodes**

Les substrats utilisés dans ce travail, pour réaliser les électrodes modifiées, sont constitués d'une couche d'or couvrant une lame de verre ; ces couches ont été préparées en déposant sur des lames de verre ( $76 \times 26 \times 1 \text{ mm}^3$ , CML France) préalablement bien nettoyées une couche de 5 nm de titane suivie de 50 nm d'or, par évaporation thermique. Ces substrats sont utilisés tout au long de ce travail.

### **II.4. Dépôt électrophorétique**

La technique de dépôt électrophorétique (DEP) permet la formation de films d'épaisseurs nanométriques sur des surfaces conductrices.

Les nanostructures de carbone (graphène-RGO, nanofibres-NFC, nanotubes-NTC, etc.) dont les surfaces sont chargées électriquement, réagissent avec les ions métalliques dans les solutions électrolytiques en produisant un potentiel zêta positif ou négatif ; ce phénomène rend le dépôt électrophorétique de nanocomposites possibles par voie cathodique ou anodique.

Les propriétés des films déposés par électrophorèse sont contrôlées par les paramètres de DEP : temps de dépôt, concentration des précurseurs, rapport de ces concentrations, etc.

#### **II.4.1. Principe de l'électrophorèse**

L'électrophorèse se base sur le déplacement de particules colloïdales en suspension lors de l'application d'un champ électrique externe.

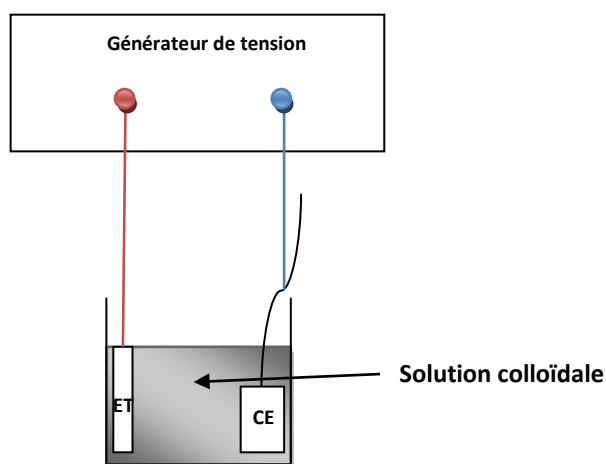
Dans le cas général, ce sont des particules chargées entourée de l'électrolyte liquide, et l'application d'un champ électrique induit des forces de Coulomb sur ces particules. La translation résultante de celle-ci est à la base du phénomène d'électrophorèse. Durant le dépôt

électrophorétique, ce processus de translation est dominant et déplace les particules vers l'électrode de charge opposée ; une fois les particules sont à proximité de l'électrode, c'est le processus de dépôt qui commence à dominer.

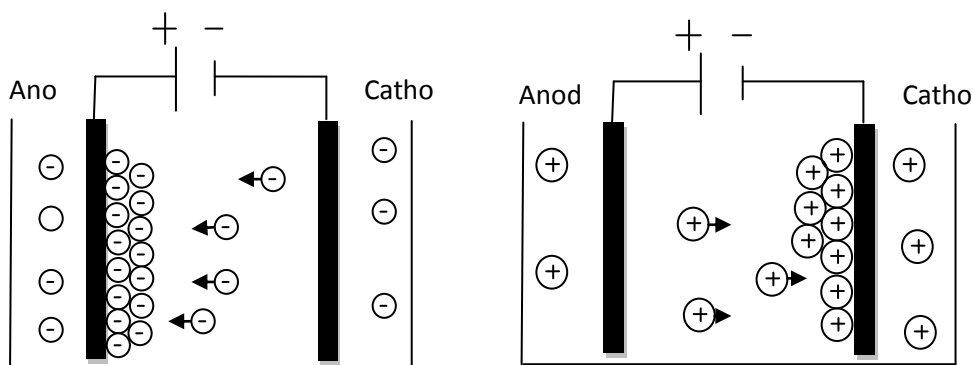
L'utilisation de cette méthode de dépôt dans ce travail de thèse nous permet d'attester que cette technique est à la fois simple et performante, permettant un dépôt uniforme à d'épaisseur contrôlable.

#### II.4.2. Dispositif d'électrophorèse

Dans ce travail, on a utilisé une électrode de platine et une électrode modifiée immergées dans la solution colloïdale de volume 1 ml. Les deux électrodes sont parallèles et sont séparées par une distance de 1 cm ; elles sont branchées au générateur de tension, grâce auquel on va fixer le potentiel durant le temps de dépôt choisi (Figure II.2.A).



**Figure II.2.A** Schéma du dispositif d'électrophorèse. CE : contre électrode en platine, ET : électrode de travail (substrat).



**Figure II.2 B** Schéma illustratif du dépôt électrophorétique : (A) dépôt anodique, (B) dépôt cathodique.



Quand la solution contient des particules colloïdales chargées négativement, le dépôt s'effectue sur l'électrode positive (anode); et inversement, si la solution colloïdale est chargée positivement, le dépôt s'effectuera sur l'électrode négative (cathode), figure II.2.B.

Après le dépôt, on nettoie les films avec l'eau désionisée trois fois de suite et à la fin on les sèche avec de l'azote après les films obtenus sont prêts être utilisés.

## **II. 5 Dépôt par goutte (Drop-cast)**

C'est un procédé de dépôt très simple, rapide et non couteux. Il consiste à déposer des gouttelettes de la solution colloïdale qui contient le composé qu'on veut déposer sur un substrat, puis on laisse le solvant s'évaporer et on récupère le film obtenu après séchage.

## **II.6. Electro-activation**

Après le dépôt électrophorétique du nanocomposite, on effectue un séchage à l'azote, puis on procède à l'étape d'électro-activation, qui a été effectuée à toutes les électrodes modifiées réalisées dans ce travail de thèse. Cette étape consiste à activer/stabiliser la surface précédemment obtenue en la soumettant à une voltammétrie cyclique (300 cycles), entre 0 et 0,8 V vs. Ag/AgCl à 100 mV/s dans une solution de NaOH à 0.1M. Cette étape qui consiste à faire subir à la couche de nanocomposite une succession d'oxydation-réduction favorise l'augmentation du niveau d'oxydation du métal à la surface.

L'électro-activation de CNFS/Co(OH)<sub>2</sub> favorise la formation du couple rédox Co(OH)<sub>2</sub>/CoOOH qui sera responsable de la détection du glucose [2].

Le dépôt électrophorétique du film de RGO/Ni(OH)<sub>2</sub> entraîne la formation des deux phases  $\alpha$ -Ni(OH)<sub>2</sub> et  $\beta$ -Ni(OH)<sub>2</sub>. L'étape d'électro-activation va d'un côté augmenter la proportion de la phase  $\beta$ -Ni(OH)<sub>2</sub> (qui est la plus favorable à la détection de glucose); et d'un autre côté, assure la formation du couple Ni(OH)<sub>2</sub>/NiOOH [3].

## **II.7. L'électrochimie et la détection du glucose**

L'électrochimie est la discipline qui a pour objet l'étude des interfaces entre des conducteurs électroniques (métaux, polymères conducteurs, semi-conducteurs...) et des conducteurs ioniques (solutions électrolytiques, sels fondus, électrolytes solides...). Les méthodes électrochimiques d'analyse se divisent en deux catégories. La première catégorie traite des mesures concernant l'interface à l'équilibre ou dans des situations dynamiques excluant tout transfert électronique. La seconde catégorie concerne la

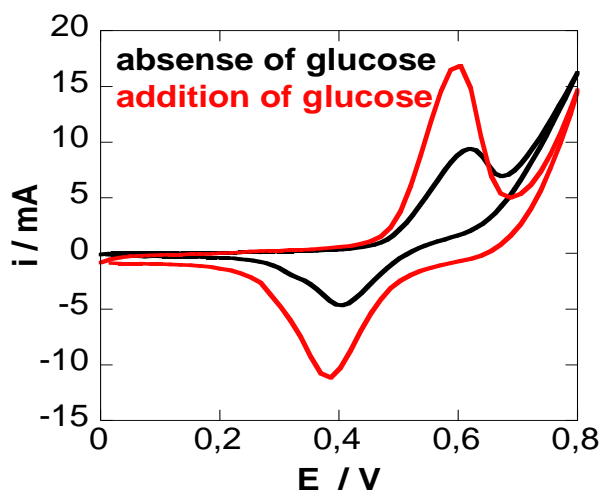
réalisation et l'étude du transfert électronique hétérogène à l'interface. Dans les deux cas l'interface porte le nom d'électrode.

Dans ce travail, on a utilisé deux méthodes électrochimiques pour la détection du glucose :

### II.7.1 Voltammétrie cyclique

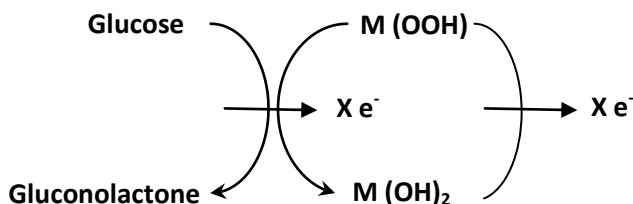
Le principe général de la voltammétrie est l'obtention d'une réponse (courant  $i$ ) du système étudié en lui imposant une variation progressive du potentiel d'électrode  $E$  (balayage de potentiel). Si cette variation est effectuée dans un seul sens, la voltammétrie est appelée linéaire ; si elle est effectuée successivement dans un sens puis dans le sens inverse, elle est appelée voltammétrie cyclique. Cette technique est très utilisée en électrochimie.

La figure II.3 montre l'exemple d'une courbe de voltammétrie cyclique permettant de voir la sensibilité de l'électrode modifiée au glucose.



**Figure II.3** Voltammétrie cyclique avec et sans la présence de glucose [4].

La figure II.3 montre le pic anodique d'oxydation du glucose ; une oxydation qui produit du Gluconolactone. Cette réaction se produit à la surface de l'oxyde (ou de l'hydroxyde) métallique selon un processus illustré schématiquement sur la figure II.4.

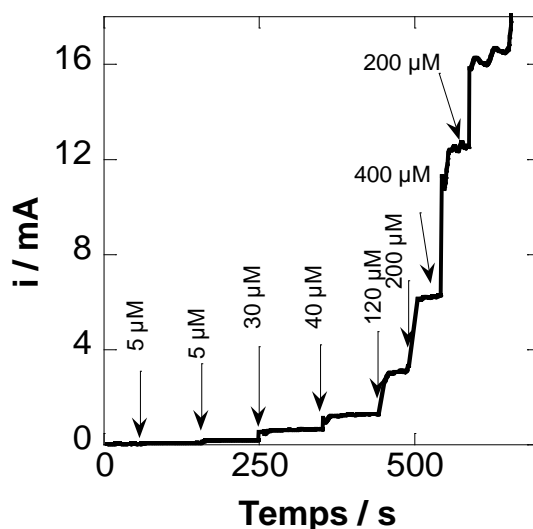


**Figure II.4** Illustration schématique de l'oxydation du glucose à la surface de l'électrode modifiée sous potentiel anodique [5].

### II.7.2. Ampérométrie

L'ampérométrie utilise la variation d'intensité du courant traversant une électrode indicatrice qui est plongée dans une solution à doser.

Dans notre travail, pour tester la qualité de détection de l'électrode modifiée élaborée on la place dans une cellule électrochimique et on applique un potentiel constant (mode potentiostatique) ; puis on mesure le courant anodique qui accompagne l'ajout d'une quantité prédéfinie de glucose ; la réponse anodique est par la suite mesurée pour des ajouts successifs de cette quantité. C'est ce courant en fonction du temps après les additions successives du glucose qui forme la réponse *ampérométrique* de l'électrode détectrice. Cette réponse pour un bon détecteur de glucose montre une progression en escalier lors de l'addition de glucose figure II.5.

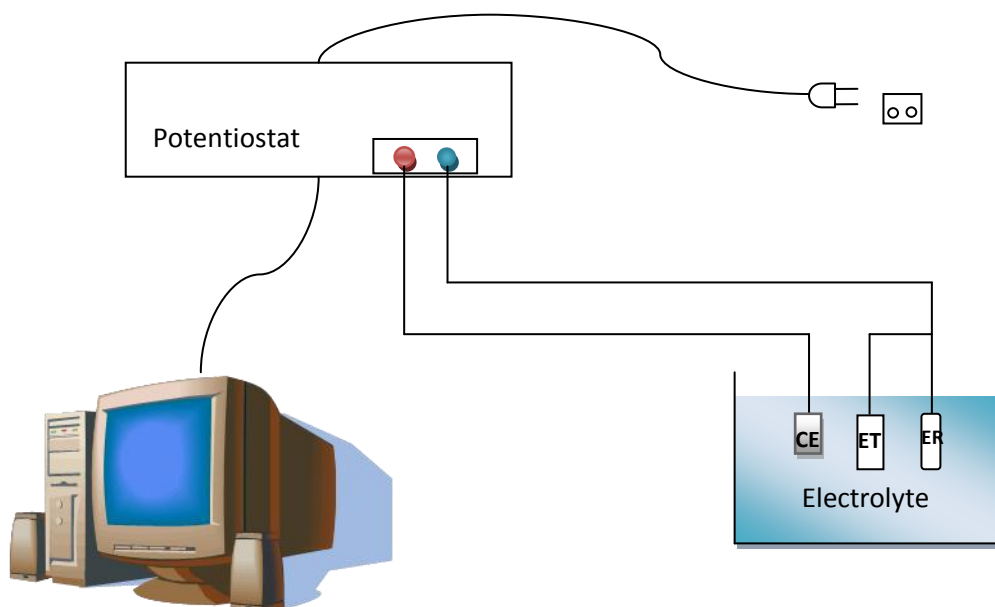


**Figure II.5** Courbe ampérométrique avec différentes concentrations de glucose [4].

### II.7.3. Le montage électrochimique

Pour la détection de glucose et les mesures électrochimiques, nous avons utilisé une cellule à trois électrodes (Figure II.5) ; ces électrodes sont comme suit :

- 1- une électrode de travail (**ET**) – qu'on a appelé électrode modifiée ; les électrodes de travail utilisées dans cette thèse sont : (RGO/ZnO), (RGO/insuline/ZnO), (RGO/Ni(OH)<sub>2</sub>), (RGO/insuline/Ni(OH)<sub>2</sub>) et (CNFS/Co(OH)<sub>2</sub>).
- 2- une contre-électrode (**CE**) constituée d'une feuille fine de platine (7×8 mm<sup>2</sup>) ou d'un fil de platine ; celle-ci assure le passage du courant à travers l'électrolyte.
- 3- une électrode de référence (**ER**) Ag/AgCl au KCl saturé qui, comme son nom l'indique, permet d'imposer un potentiel électrique à l'électrode de travail en se référant à un système connu.



**Figure II.6** Illustration schématique du dispositif électrochimique utilisé.

Les trois électrodes, disposées comme illustré sur la figure II.6, sont reliées à un Potentiostat/Galvanostat dont le fonctionnement est assuré par un logiciel installé sur un ordinateur relié au Potentiostat. Si un potentiel constant est imposé, un courant en fonction du temps va être recueilli et tracé sur l'écran de l'ordinateur. Les courbes  $I=f(t)$ , c'est-à-dire la variation du courant en fonction du temps, sont appelées chronoampérogrammes.

Les chronoampérogrammes constituent une importante source d'informations quand on étudie la détection électrochimique de glucose.

La cellule électrochimique utilisée est une cellule ouverte, c'est-à-dire qu'elle est constituée d'un récipient en verre sans couvercle, la surface de la solution électrolytique reste donc en contact avec l'air ambiant.

Les analyses électrochimiques relatives à l'oxydation électrocatalytiques de glucose ont été exécutées en utilisant un Potentiostat/Galvanostat Autolab 20 (Ecochimie, Utrecht, Pays-Bas). Une électrode d'Ag/AgCl (Bioanalytical Systems, Inc.) a été utilisée comme électrode de référence. L'électrode de travail est l'électrode d'or sur laquelle a été déposé le nanocomposite.

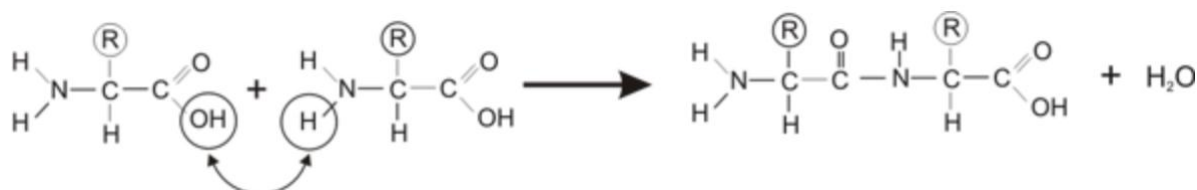
## II.8. Mesure de la quantité d'insuline

L'insuline est une hormone peptidique<sup>10</sup> sécrétée par les cellules- $\beta$  dans les îlots de Langerhans du pancréas, elle a été découverte à Strasbourg en 1889. Elle est considérée comme la principale hormone anabolique<sup>11</sup> du corps car elle régule le métabolisme des glucides, des graisses et des protéines en favorisant leur absorption dans les cellules. Son action sur le glucose est déterminante pour le bon fonctionnement de l'organisme.

L'insuline, faisant partie des petites protéines, a pour formule brute  $C_{257}H_{383}O_{77}N_{65}S_6$  et possède une masse moléculaire de 5800 daltons. Sa structure a été déterminée par **Frederick Sanger** dont elle fut, en 1958, l'objet du premier de ses deux prix Nobel de Chimie. Elle est constituée de 2 chaînes, la chaîne-A comportant 21 acides aminés et la chaîne-B comportant

---

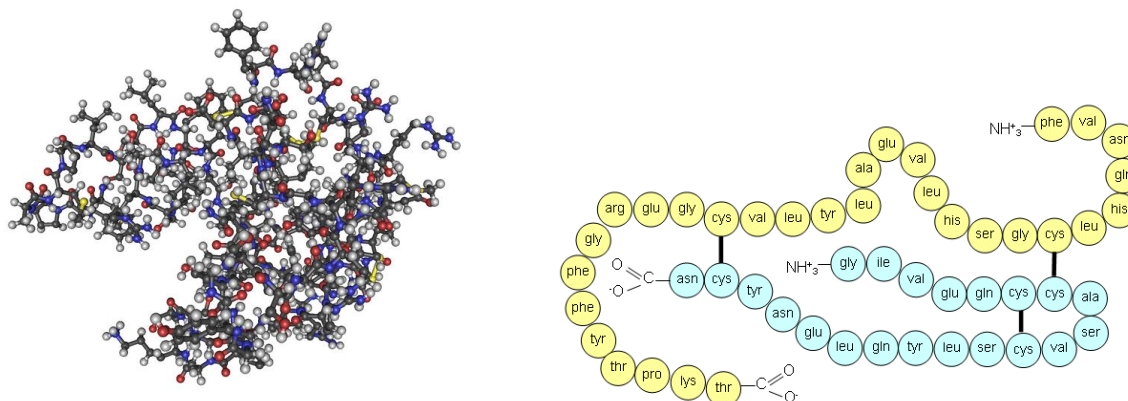
<sup>10</sup> Une **hormone** est une molécule biologiquement active, sécrétée par une glande endocrine à la suite d'une stimulation ; elle agit à distance, essentiellement par voie sanguine, sur des récepteurs spécifiques d'une cellule cible dont elle modifie le fonctionnement (soit en stimulant une de ses fonctions, soit au contraire en l'inhibant). Une **hormone peptidique** est une chaîne d'acides aminés reliés entre eux par des liaisons peptidique qui sont des liaisons covalentes s'établissant entre la fonction carboxyle d'un acide aminé et la fonction amine d'un autre acide aminé.



Rappelons qu'un **acide aminé (AA)** est un **acide** organique contenant au moins un radical **amine** ( $\text{NH}_2$ ) et un radical carboxyle ( $\text{COOH}$ ) ; les AA – qui sont au nombre de 21 – sont les éléments de base constituant les protéines.

<sup>11</sup> L'**anabolisme** est l'ensemble des réactions chimiques de synthèse moléculaire d'un organisme vivant. Il est le contraire du catabolisme, qui est l'ensemble des réactions de dégradation de molécules. Le catabolisme et l'anabolisme sont les deux composantes du métabolisme (qui regroupe l'ensemble des réactions chimiques qui se déroulent au sein d'un être vivant).

30 ; ces deux chaînes sont réunies par deux ponts disulfure, un troisième pont est interne à la chaîne-A (figure II.7).



**Figure II.7** Structure moléculaire de l'insuline. Dans l'image de gauche : le carbone est indiqué en noir, l'hydrogène en blanc, l'oxygène en rouge l'azote en bleu et le soufre en jaune [6]. Image de droite : les deux chaînes constituant la molécule d'insuline avec les trois ponts disulfures –trait plein et épais entre les acides aminés Cys (i.e. Cystéine) (2 ponts entre chaînes et 1 pont intra-chaîne), le nombre total d'AA constituant l'insuline est 51 [7].

### **II.8.1. Charge et Libération électrochimique d'insuline**

Un précédent travail de l'équipe de S. Szunerits [3] a montré que l'insuline pouvait être libérée – dans un but thérapeutique – par des électrodes modifiées d'OGR chargés d'insuline après application d'un potentiel électrique adéquat.

En effet, les propriétés uniques des feuilles d'OGR permettaient leur utilisation comme des nanoporteurs efficaces pour l'insuline. Une interface intégrée a été développée et montrait qu'une libération d'insuline pouvait être déclenchée électrochimiquement. La capacité de libération de ces électrodes d'Or recouvertes d'insuline-OGR s'est révélée dépendante du potentiel avec une libération optimale à  $-0,8$  V vs. Ag/AgCl. D'autres tests ont montré que la libération électrochimique n'altérait pas l'activité de l'insuline [3].

Ce nouveau concept peut être mis en œuvre avec des systèmes électriques micro/nanométriques utilisant des électrodes sérigraphiées contenant des électrodes de référence et contre-électrodes intégrées sur des patches cutanés flexibles permettant une administration cutanée transdermique [3].

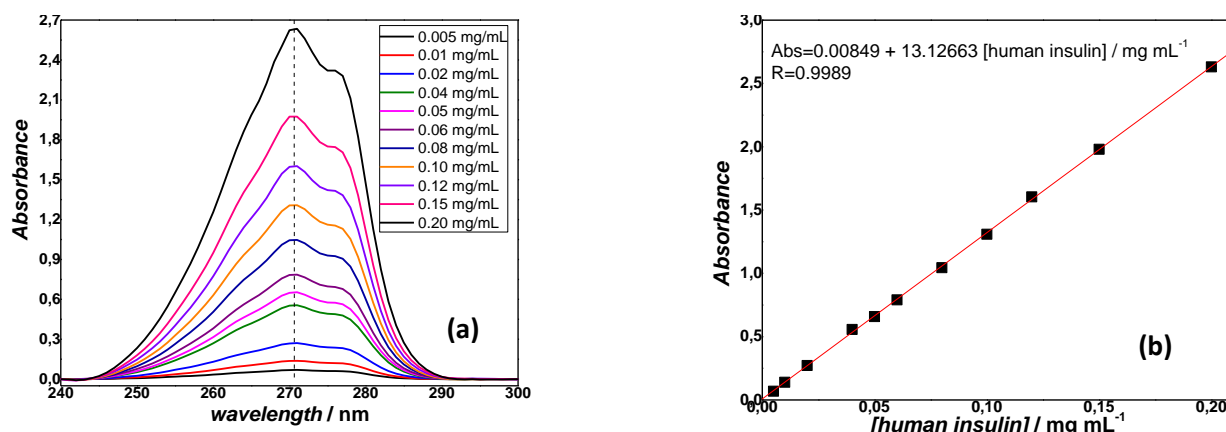
Dans ce travail de thèse, nous avons procédé à la mesure : (a) du taux d'insuline chargé dans le nanocomposite durant l'élaboration des électrodes RGO/insulin/ZnO et RGO/insulin/Ni(OH)<sub>2</sub> ; (b) du taux d'insuline largué à  $0,4$  V vs. Ag/AgCl ou  $0,6$  V vs. Ag/AgCl (c'est-à-dire aux *potentiels de détection* de glucose pour les différents

nanocomposites élaborés); et (c) le taux d'insuline largué à  $-0,8$  V vs. Ag/AgCl (c'est-à-dire au *potentiel de régulation*).

### II.8.2. Mesure de la quantité d'insuline chargée

Pour la mesure de la quantité d'insuline chargée dans le nanocomposite lors du DEP, on effectue une calibration de l'insuline dans l'eau à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible ; puis à l'aide de cette calibration, on mesure la quantité d'insuline qui est restée dans la solution électrolytique après DEP ; ainsi, en retranchant la quantité qui est restée de la quantité initiale on obtient la quantité d'insuline effectivement chargée dans l'électrode modifiée.

La courbe de calibration de l'insuline dans l'eau et l'équation de calibration sont données par la figure II.8.



**Figure. II.8.** a) Spectres UV-Visible pour différentes concentrations d'insuline dans l'eau, b) la courbe de calibration correspondante.

### II.8.3. Mesure de la quantité d'insuline larguée

Pour mesurer la concentration d'insuline larguée dans l'électrolyte pendant la détection ou la régulation de glucose, on procède à une calibration de l'insuline dans une solution de NaOH à 0.1 M (figure II.9) et de PBS<sup>12</sup> (figure II.10).

<sup>12</sup> Le PBS, *phosphate buffered saline*, est une solution tampon couramment utilisée en biochimie. Il s'agit d'un soluté physiologique contenant du chlorure de sodium, du phosphate disodique, du phosphate monopotassique et un peu de chlorure de potassium. En général, la concentration de ces sels est celle du corps humain. Son pouvoir tampon repose sur le couple dihydrogénophosphate / hydrogénophosphate ( $pK_A = 7,2$ ), qui est un des trois grands mécanismes permettant le maintien du pH sanguin ( $HPO_4^{2-} + H^+ = H_2PO_4^-$ ).

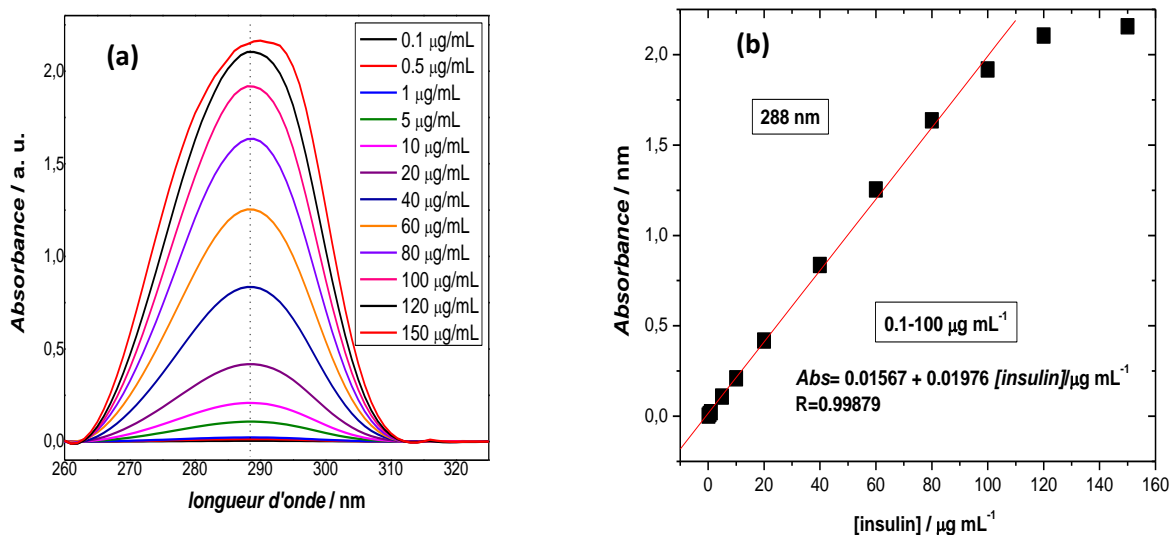


Figure II.9 a) Spectres UV-Visible pour différentes concentrations d'insuline dans NaOH (0.1 M), b) la courbe de calibration correspondante.

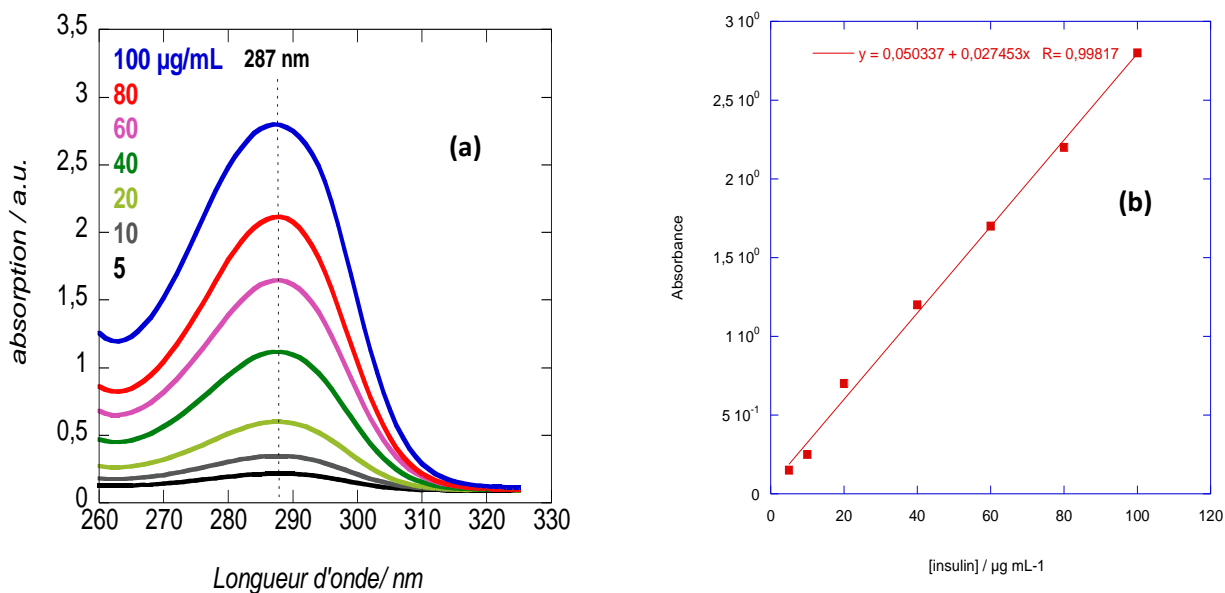


Figure II.10 a) Spectres UV-Visible pour différentes concentrations d'insuline dans PBS pH7.4, b) la courbe de calibration correspondante.



## **II.9. Les Techniques de Caractérisations**

### **II.9.1. La spectroscopie Raman**

La spectroscopie Raman est une technique d'analyse puissante dans le domaine des matériaux. Elle repose sur le principe de la diffusion inélastique de photons par les phonons du matériau étudié. Les propriétés des matériaux peuvent être caractérisées par l'utilisation de la spectroscopie Raman sans endommager l'échantillon et des informations peuvent être extraites sur la composition et la structure cristalline.

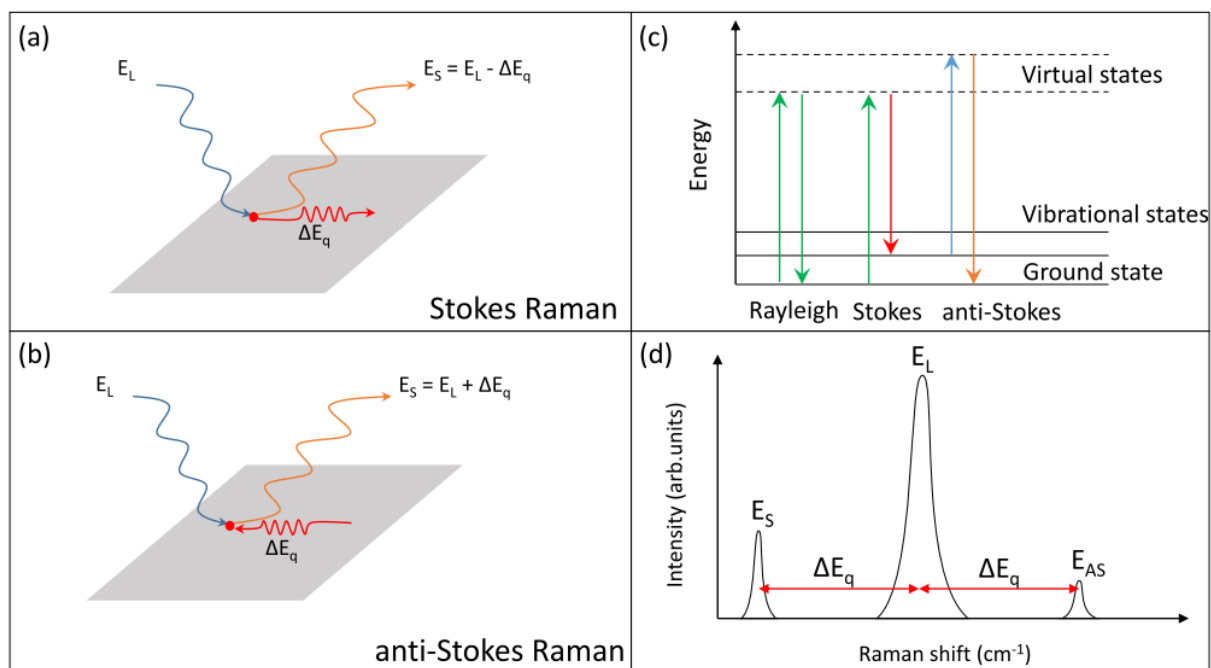
La spectroscopie Raman s'appuie sur la mesure de la longueur d'onde et de l'intensité de la lumière inélastiquement diffusée par les molécules. La lumière diffusée par effet Raman apparaît à des longueurs d'onde qui sont décalées par rapport à la longueur d'onde de la lumière incidente. L'intensité de la lumière diffusée de cette manière (radiation Raman) est de l'ordre de  $10^{-9}$  à  $10^{-6}$  fois l'intensité incidente, d'où la nécessité d'utiliser un rayonnement intense (source laser). Il a été observé que les écarts de la longueur d'onde entre les radiations Raman et la radiation incidente sont caractéristiques du matériau analysé et indépendants de la fréquence excitatrice [8].

Lorsqu'on éclaire un échantillon avec une lumière monochromatique de fréquence  $\nu_0$  (source laser) et si on analyse lumière diffusée à l'aide d'un spectromètre, on remarquera, des deux côtés de la raie de diffusion Rayleigh à  $\nu_0$  (photons diffusés élastiquement sans changement d'énergie), des raies de diffusion Raman de très faible intensité (raies Stokes du côté des basses fréquences et anti-Stokes de l'autre), figure II.11. Ce phénomène a été prédit en 1923 par Skemal et observé par Raman en 1928 [9].

En diffusion Raman, les émissions observées résultent de polarisations induites par le faisceau électromagnétique incident. Les mouvements de rotation et de vibration déforment le nuage électronique et induisent une variation de la polarisabilité moléculaire. La modulation de la polarisabilité des molécules constituant l'échantillon est à l'origine de la diffusion Raman observée.

L'analyse des écarts énergétiques entre le rayonnement incident et le rayonnement diffusé par effet Raman permet de remonter à certaines propriétés structurales du matériau étudié. En effet, la spectroscopie Raman est utilisée pour déterminer les niveaux vibrationnels des cristaux qui sont directement liés à l'état de leurs structures cristallographiques. Le positionnement des raies Raman (la position relative des raies Raman et Rayleigh) ne dépend pas de la fréquence du rayonnement incident mais uniquement de la substance étudiée.

Cependant l'effet Raman dépend de la polarisation de la lumière incidente et de l'orientation des cristaux du matériau étudié [9].

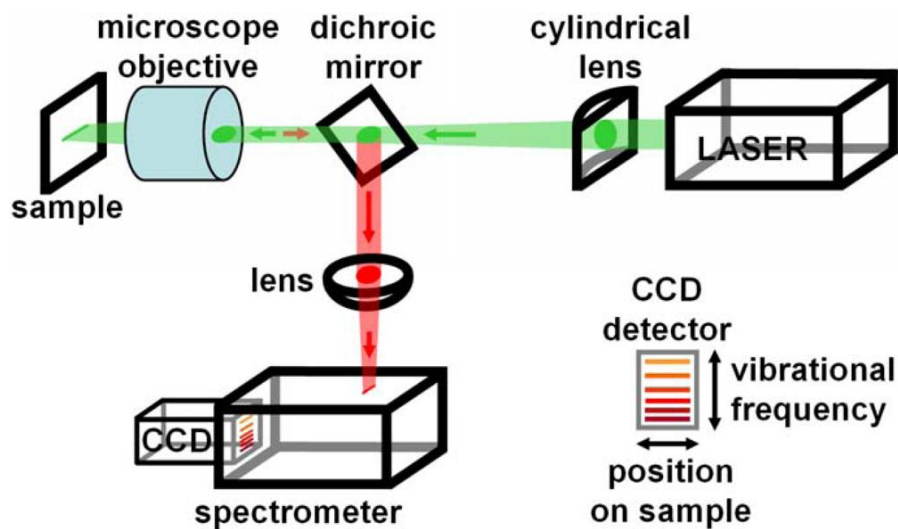


**Figure II.11** Illustration schématique du processus Raman Stokes et anti-Stokes (a et b), (c) diagramme d'énergie montrant le processus de Rayleigh (diffusion élastique) et le processus Raman (diffusion inélastique), (d) spectre de l'intensité diffusée en fonction du nombre d'ordre (autrement dit de l'énergie) montrant les pics Stokes et anti-Stokes [10].

Dans le cas des matériaux à base de carbone, la spectroscopie Raman se révèle un outil essentiel de caractérisation, de par sa sensibilité à la structure électronique, en particulier des doubles liaisons C=C qui produisent de fortes intensités Raman. Pour tous les systèmes carbonés, le spectre Raman montre un nombre très limité de pics, quelle que soit la structure du système, qu'il s'agisse d'un polymère conjugué ou d'un fullerène. Les spectres Raman semblent ainsi être incroyablement simples: juste quelques bandes très intenses dans la région de  $1000\text{-}2000\text{ cm}^{-1}$  et quelques autres modulations de second ordre (essentiellement : pic D  $\sim 1350\text{ cm}^{-1}$ , pic G  $\sim 1580\text{ cm}^{-1}$  et pic 2D  $\sim 2700\text{ cm}^{-1}$ ) ; cependant, leur forme, leur intensité et leurs positions permettent de distinguer un carbone amorphe dur d'un nanotube métallique, donnant autant d'informations que celles obtenues par une combinaison d'autres approches longues et destructrices. La dispersion particulière des électrons  $\pi$  (liaisons C=C) est la raison fondamentale pour laquelle la spectroscopie Raman dans les systèmes carbonés est toujours

résonnante et, par conséquent, représente une sonde puissante et efficace de leurs vibrations mais aussi de leurs propriétés électroniques [11,12].

Les mesures de spectroscopie micro-Raman ont été, dans ce travail, réalisées sur un système HORIBA LabRam HR micro-Raman associé à une diode laser à 473 nm comme source d'excitation. La lumière visible est focalisée par un objectif  $\times 100$ . La lumière diffusée est recueillie par le même objectif en configuration de rétrodiffusion ; la lumière est dispersée par un monochromateur de longueur focale de 1800 mm et détectée par une caméra CCD (figure II.12).



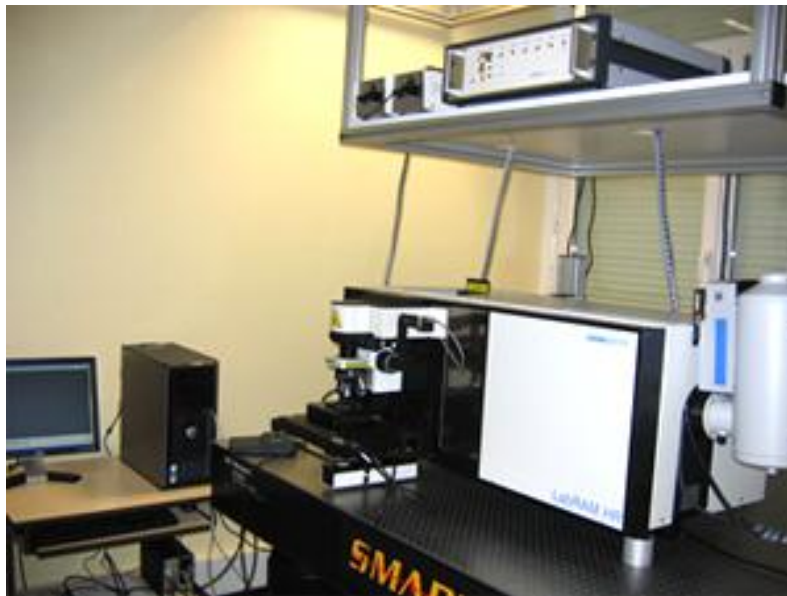
**Figure II.12** Illustration schématique de la spectroscopie Raman [13].

**Le spectromètre LabRam HR (figure II.13) est équipé :**

- d'un microscope confocal ouvert permettant de placer sous l'objectif des objets de grandes tailles,
- d'un spectrographe de 800 mm de focale ; plusieurs réseaux de diffraction peuvent être sélectionnés afin d'ajuster la résolution spectrale au type d'études à effectuer. Cet appareil de grande focale peut être couplé à un réseau à grand nombre de traits. On peut ainsi atteindre des dispersions spectrales de l'ordre de  $0.35 \text{ cm}^{-1}$  par pixel,
- d'un détecteur CCD  $1024 \times 256$  pixels (taille des pixels  $26 \mu\text{m}$ ) Chip MPP Back illuminated Deep Depleted refroidi à l'azote liquide,
- d'une platine motorisée XY qui permet de réaliser des cartographies Raman suivant ces 2 axes. (résolution de  $0,1 \mu\text{m}$  en X et Y),

- d'une table piézoélectrique XYZ permettant de réaliser des cartographies Raman avec des déplacements nanométriques ce qui permet d'accroître de façon significative la qualité de l'imagerie Raman en termes de positionnement et de reproductibilité des mesures. Ces platines offrent des déplacements typiques de 100x100x100 microns avec un pas pouvant atteindre le nanomètre si nécessaire selon ces trois directions.

Le spectromètre LabRam HR est parfois un système « multi excitations ». Il peut être couplé à trois lasers : un laser HeNe à 633 nm et deux lasers solides à 532 nm et à 473 nm. Ces sources peuvent être commutées très facilement permettant ainsi l'étude d'échantillons au même point de mesure à différentes longueurs d'onde.



**Figure II.13** Exemple de spectromètre Raman de marque « LabRam HR Visible » de la société Horiba Jobin Yvon [14].

### **II.9.2. Microscopie électronique à balayage (MEB)**

La microscopie électronique à balayage MEB permet une analyse morphologique, structurale et chimique de matériaux solides à l'échelle micrométrique – pour les MEB standards, et nanométrique - pour les MEB haute résolution.

Cette microscopie est fondée principalement sur la détection d'*électrons secondaires* arrachés à la matière de l'échantillon sous l'impact d'un faisceau très fin d'électrons primaires monocinétiques qui balaye la surface ; l'énergie des électrons secondaires est beaucoup plus faible que celle des électrons incidents. D'autres interactions ont lieu (figure II.14 et figure II.15) : les *électrons rétrodiffusés (RBS)* – d'énergie comparable à celle des électrons

incidents ; les *électrons Auger* – de très faible énergie et ne pouvant être étudiés que dans des conditions d’ultravide ; les *photons visibles* – cathodoluminescence spécifique de certains matériaux ou impuretés ; les *photons X* donnant accès à l’analyse de la composition atomique de l’échantillon [15,16].

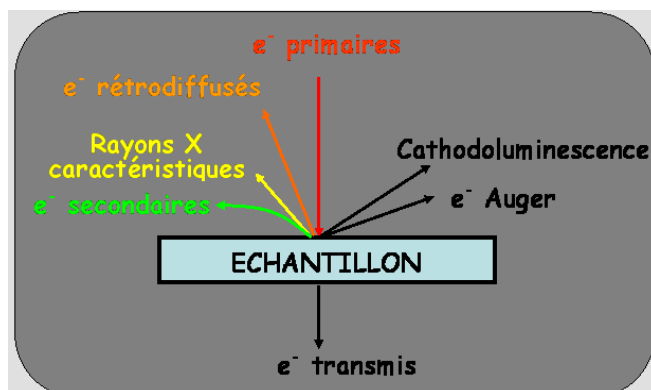


Figure II.14 Signaux produits par interaction d'un électron primaire avec l'échantillon [15].

La détection des *électrons secondaires* fournit une information sur la topographie de l'échantillon sur une profondeur de 10 nm. L'analyse de ces électrons permet d'obtenir une image caractéristique de la surface.

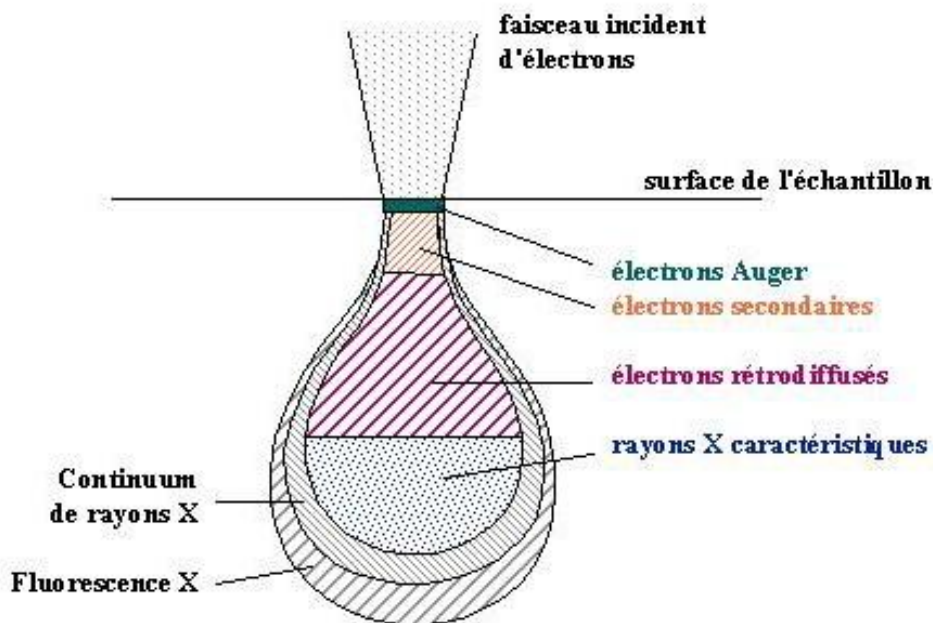


Figure II.15 Domaine d'émission des diverses interactions [17].

Les images SEM des films nanocomposite de ce travail de thèse ont été obtenues à l'aide d'un microscope électronique à balayage ULTRA 55 (Zeiss).

### **II.9.3. La spectroscopie UV-Visible**

Dans un spectrophotomètre UV-Visible un faisceau de lumière est divisé en deux : une moitié du faisceau (le faisceau d'échantillonnage) est dirigée vers une cellule transparente contenant une solution du composé à analyser, et une autre moitié (le faisceau de référence) est dirigée vers une cellule identique qui ne contient pas le composé, mais juste le solvant. L'instrument est conçu de manière à pouvoir procéder à une comparaison des intensités des deux faisceaux par un balayage de la région des longueurs d'onde souhaitées. Si le composé absorbe la lumière à une longueur d'onde donnée, l'intensité du faisceau d'échantillon ( $I_s$ ) sera inférieure à celle du faisceau de référence [18]. L'absorption du rayonnement par un échantillon est mesurée à différentes longueurs d'onde et tracée par un enregistreur pour donner un spectre ; celui-ci est une représentation graphique de l'absorption ( $A$ ) de la lumière en fonction de la longueur d'onde. La largeur de la bande interdite ( $E_g$ ) de l'échantillon peut être obtenue en traçant le graphe  $\alpha hv$  en fonction  $hv$ ,  $\alpha$  étant le coefficient d'absorption.

La spectrométrie ultraviolet et visible est souvent utilisée pour l'analyse quantitative; c'est-à-dire pour l'estimation de la quantité d'un composé présent en solution. La figure II.16 montre le spectrophotomètre UV-Visible (Evolution 600 de Thermo Scientific) utilisé dans ce travail.



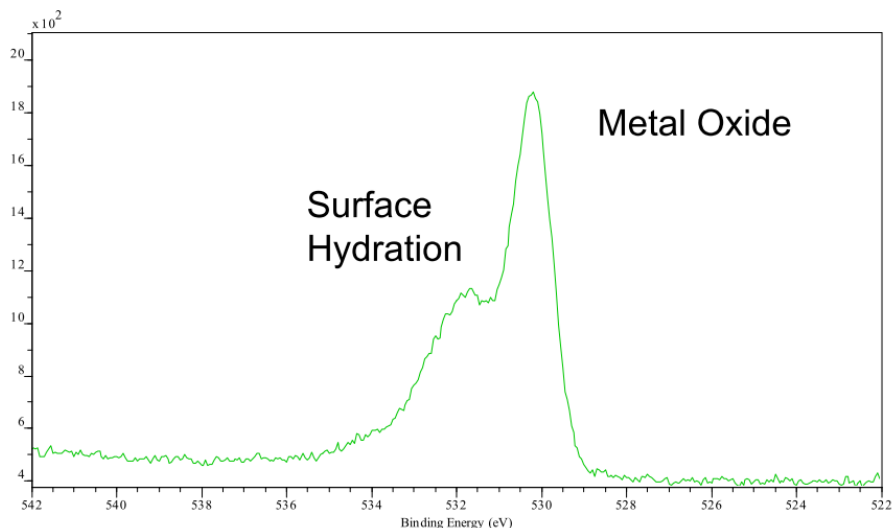
**Figure II.16** Spectrophotomètre UV-vis Evolution 600 de Thermo Scientific.

#### **II.9.4. La spectroscopie de photoélectrons de rayons X (XPS)**

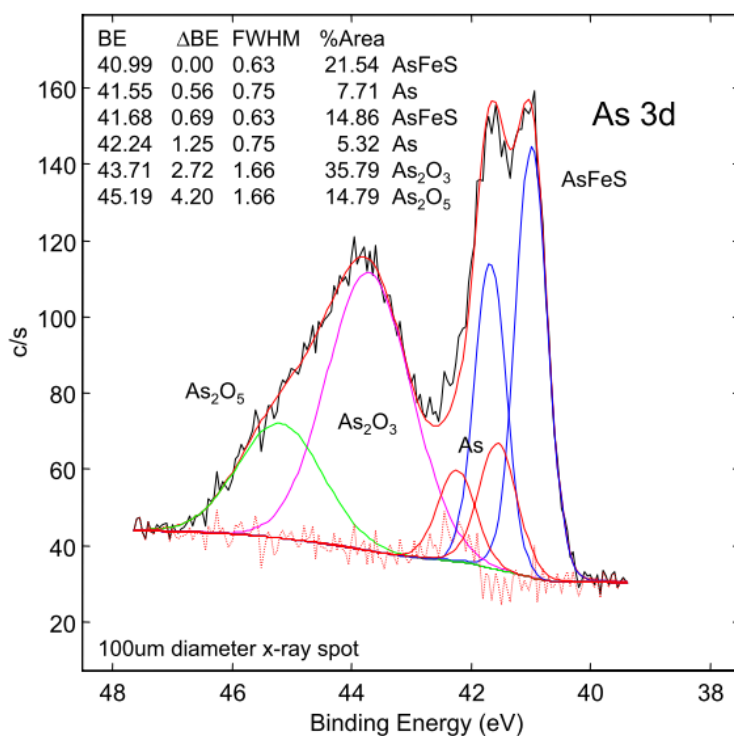
La spectroscopie des photoélectrons de rayons X (XPS, étant son acronyme en anglais) est une puissante technique d'analyse non destructive utilisée pour déterminer la composition chimique de surface pour les matériaux.

Elle utilise une source de rayons X mous, dont les sources standards sont les raies  $K\alpha$  d'aluminium (Al) et de magnésium (Mg), d'énergies de photon respectives de 1486.6 eV et 1253.6 eV.

Dans cette technique, la surface de l'échantillon est irradiée par un faisceau de rayons X qui pénètre dans le matériau ; un certain nombre d'électrons seront éjectés et leur énergie cinétique pourra alors être mesurée. En retranchant cette énergie cinétique de l'énergie initiale du photon X, on peut remonter à l'énergie de liaison de cet électron de cœur photoémis. Comme chaque élément chimique du tableau périodique a ses propres états énergétiques pour ses électrons de cœur, il suffit qu'un appareil puisse mesurer ces états énergétiques avec une bonne résolution pour qu'il soit possible d'identifier l'élément chimique correspondant. Mais, la technique XPS va encore plus loin, en effet la résolution des spectromètres actuels permet de déceler le "shift" ou décalage des états énergétiques de cœur en fonction de la liaison qu'a l'atome avec ses voisins ou encore en fonction de son degré d'oxydation (ceci est possible en mode haute résolution), les figures II.17 et II.18 illustrent ceci. Ainsi, on pourra par exemple, non seulement dire que tel état énergétique détecté correspond à la présence de l'élément chimique nickel (Ni), mais on peut aussi savoir si cet état correspond à Ni(0), c.-à-d. à l'atome de nickel avec un degré d'oxydation zéro (le nickel, dans ce cas, serait à l'état métallique) ou au Ni(II), ce qui signifie que nous avons pourrions avoir du Ni(OH)<sub>2</sub> ou NiO ; ou encore au Ni(III) qui peut être du NiOOH par exemple (bien sûr, un autre élément que l'oxygène pourrait induire ces degrés d'oxydation du nickel, mais ceci est aisément vérifiable par XPS). Notons que la technique XPS détecte tous les éléments du tableau périodique sauf l'hydrogène et l'hélium, car ils ne possèdent pas d'électrons de cœur fortement lié au noyau. Nous noterons aussi que l'XPS permet une analyse chimique très en surface (~10 nm) à cause du libre parcours moyen du photoélectron dans la matière.



**Figure II.17** Exemple de spectre XPS montrant l'état 1s de l'oxygène impliqué dans un oxyde métallique (pic de droite) et d'oxygène appartenant à des molécules d'eau adsorbées à la surface de l'échantillon (pic de gauche) [19].

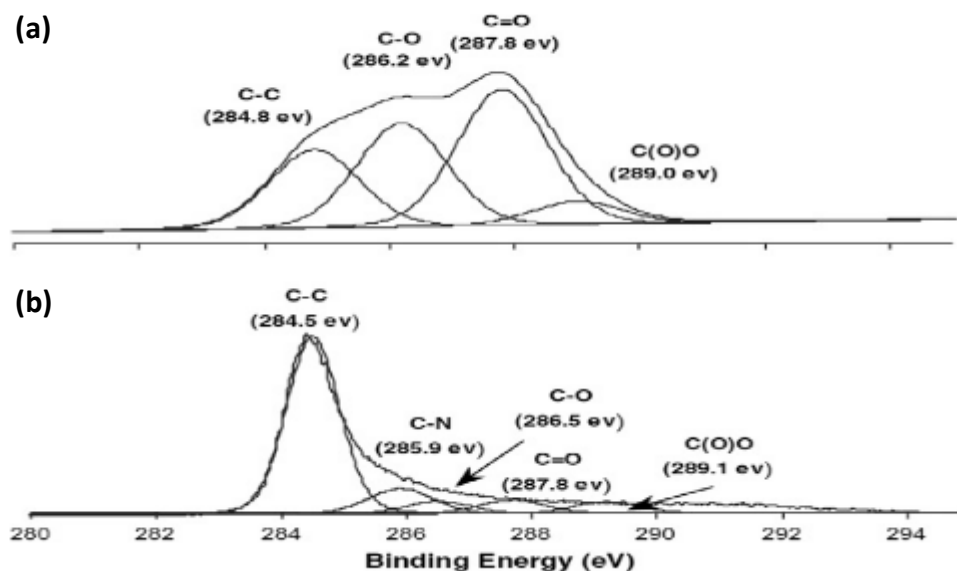


**Figure II.18** Cette image illustre la puissance de la technique XPS, dans cet exemple elle permet de distinguer quatre phases cristallines à partir du niveau énergétique 3d de l'arsenic [19].

La spectroscopie de photoélectrons X est largement utilisée pour la caractérisation de nouveaux matériaux tels que le graphène, les NTC (nanotubes de carbone), etc. Cette caractérisation permet par exemple de déterminer le rapport atomique du carbone à l'oxygène et l'énergie de liaison des groupes fonctionnels de carbone [20,21].



La figure II.19 représente un exemple de spectre XPS d'un film d'oxyde de graphène avant et après le processus de réduction. Sur la figure II.19 (a), plusieurs groupes fonctionnels sont identifiés à différentes énergies de liaison tels que C-C (~ 284,6 eV), C-O (~ 286,2 eV), C = O (~ 287,8 eV), et (O-C-O (289,1 eV). Dans le film d'oxyde de graphène réduit, l'intensité de ces pics est significativement réduite, et une appréciable augmentation de l'intensité des pics C-C est visible figure II.19 (b) [20,21].



**Figure II.19** Spectre XPS (a) film d'oxyde de graphène (b) film d'oxyde de graphène réduit [20,21]

Les mesures XPS présentés dans cette thèse ont été effectuées grâce à deux appareils : 1- un spectromètre PHI 5000 VersaProbe – Scanning ESCA Microprobe (ULVAC-PHI, Japan/USA), à une basse pression inférieure à  $5 \cdot 10^{-9}$  mbar et utilisant la raie Al K $\alpha$  (1486.6 eV). L'acquisition du spectre du niveau de cœur se fait à une énergie de transmission de 23.5 eV avec un pas d'énergie de 0.1 eV. Tous les spectres ont été acquis à un angle de 90° entre la source de rayons X et l'analyseur, ceci en utilisant des électrons de basse énergie ainsi que des ions d'argons de faible énergie pour la neutralisation des charges ; 2- un spectromètre ESCALAB 220 XL de Vacuum Generators comportant une source de rayons X Al K $\alpha$  monochromatique (1486,6 eV) et un analyseur d'énergie sphérique fonctionnant en mode CAE (constant analyzer energy) ; CAE = 100 eV pour les spectres complet et CAE = 40 eV pour les spectres haute résolution, en utilisant le mode de lentille électromagnétique. L'angle de détection des photoélectrons est de 30° par rapport à la surface de l'échantillon. L'Au $_{4f}$  à 84 eV a été utilisé pour calibrer les autres éléments.

Après la soustraction du signal de fond type Shirley, les spectres de niveau de coeur ont été décomposés en leurs constituants avec des lignes de forme Gaussiennes-Lorentziennes (30:70) en utilisant le logiciel CasaXPS. Les calculs de quantification ont été effectués en utilisant des facteurs de sensibilité fournis par PHI.

### **II.9.5. Mesure du potentiel Zeta**

Les particules dans une suspension colloïdale ou dans une émulsion portent habituellement une charge électrique. La charge est plus souvent négative que positive et elle peut se produire dans un certain nombre de cas de figure II.20. Dans certains cas, la surface des particules contient des groupes chimiques qui peuvent s'ioniser et produire une surface chargée. Parfois, la surface elle-même adsorbe préférentiellement les ions d'un signe de charges opposé. Dans d'autres cas il peut être ajouté des composés chimiques qui s'adsorbent préférentiellement sur la surface des particules pour les charger électriquement.

La quantité de charge électrique sur la surface des particules est une caractéristique importante de celles-ci, car elle détermine souvent la plupart des propriétés d'une suspension colloïdale.

Dans notre travail, on avait besoin de connaître la charge des particules colloïdales dans les solutions préparées pour pouvoir effectuer le dépôt électrophorétique (DEP) ; devait-il être cathodique ou anodique ? Si les particules sont positives, le DEP est nécessairement cathodique et si elles sont négatives le DEP sera anodique.

Les mesures du potentiel zêta ont été réalisées à l'aide d'un Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments S. A.,Worcestershire, U.K.), figure II.20.



**Figure II.20** Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments S. A.,Worcestershire, U.K.).

### II.9.6. Modèles Langmuir et BET - Surface spécifique et porosité

La « *surface spécifique* » nous indique la superficie réelle de la surface d'un matériau (par opposition à sa surface apparente), ceci par unité de masse de ce dernier ; elle s'exprime en général en  $\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ .

La surface spécifique est directement liée à la porosité (plus précisément la porosité ouverte). En effet, on distingue deux sortes de pores : les pores *fermés*, qui ne communiquent pas avec l'extérieur, et les pores *ouverts* qui sont reliés à l'extérieur. Les fluides peuvent diffuser dans les pores ouverts, qui participent ainsi à la surface spécifique.

La surface spécifique peut être déterminée par la mesure de l'adsorption d'un gaz (généralement l'azote<sup>13</sup>) sur la surface du matériau. La courbe obtenue est appelée *isotherme d'adsorption* car la prise de mesures est effectuée à une température constante. Il s'agit de tracer la quantité de molécules de gaz adsorbées à la surface du matériau en fonction de la pression P. Deux modèles sont les plus cités : le modèle de Langmuir et le modèle Brunauer, Emmett et Teller (communément appelé BET).

**Le modèle de Langmuir** date de 1918, il suppose que le gaz est adsorbé (par physisorption) en une seule monocouche, que les molécules de gaz interagissent avec la surface solide mais n'interagissent pas entre eux, que tous les sites d'adsorption sont identiques, et que l'adsorbat est présent en phase gazeuse sous la forme d'un gaz parfait (gaz sous faibles pressions). Ces hypothèses lui permettent de trouver une formule simple pour le **taux de recouvrement  $\theta$**  de la surface ( $\theta$  étant la quantité de molécules de gaz adsorbées ( $N_a$ ) sur la quantité de gaz correspondant à une monocouche recouvrant toute la surface solide ( $N_{am}$ ),  $\theta = N_a/N_{am}$  [22]:

$$\theta = \frac{bP}{1 + bP} \quad (\text{Eq II.1})$$

Avec, P la pression du gaz et b la constante d'équilibre de Langmuir ;  $b = k_a/k_d$ ,  $k_a$  étant la constante d'adsorption et  $k_d$  la constante de désorption des molécules de gaz. En remplaçant  $\theta$  par  $N_a/N_{am}$ , on obtient :

$$\frac{P}{N_a} = \frac{P}{N_{am}} + \frac{1}{bN_{am}} \quad (\text{Eq II.2})$$

Les relevés expérimentaux fournissent  $N_a$  pour chaque valeur de la pression d'équilibre P ; en traçant ( $P/N_a$ ) en fonction de P on peut trouver à partir de la pente de la droite obtenue la

---

<sup>13</sup> En général c'est l'azote qui est utilisé pour les isothermes d'adsorption ; dans certains cas spécifiques, comme les zéolites ou le charbon activé, l'utilisation d'argon ou de  $\text{CO}_2$  est préférée à l'azote ; quant aux échantillons à faible surface spécifique ( $\leq 1 \text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ ) l'adsorption de krypton est plus adéquate.

valeur de  $N_{am}$  ; connaissant  $S_G^{14}$  qui est la surface occupée par une molécule de gaz adsorbée on peut calculer la *Surface Spécifique* :

$$S_{Langmuir} = N_{am} \times S_G \quad (Eq II.3)$$

$S_{Langmuir}$  indique que c'est la *surface spécifique* est calculée à partir du modèle de Langmuir. Bien que très simple, le modèle de Langmuir (figure II.20(A)) représente correctement le phénomène d'adsorption dans un grand nombre d'applications visant la caractérisation de catalyseurs. L'équation est aussi parfois valable pour un adsorbat en phase liquide et elle est ainsi utilisée pour des procédés tels que la capture de polluants [23] ou l'adsorption de protéines sur un solide [24]. Ce modèle est cependant trop simple pour rendre compte de l'adsorption lorsqu'il y a des phénomènes plus complexes qui ont lieu : présence de plusieurs types de sites d'adsorption, interaction entre les molécules d'adsorbat dans la phase fluide, adsorption coopérative sur la surface, etc.

**Le modèle de Brunauer, Emmett et Teller (BET)** date de 1938, il est une extension de la théorie de Langmuir au cas où l'adsorption s'effectue en plusieurs couches ; ce modèle tient compte de l'énergie d'interaction entre les molécules du gaz dans les couches adsorbées et il l'a supposé égale à celle que ces molécules auraient à l'état liquide (Note : c'est pourquoi les mesures BET sont effectuées à une température d'équilibre liquide-gaz, autrement dit la température de liquéfaction du gaz utilisé).

Dans ce modèle, les molécules de gaz interagissent avec la surface solide mais aussi interagissent entre eux. Les interactions gaz-gaz et gaz-solide sont ainsi prises en considération et chaque molécule adsorbée dans une couche devient un site d'adsorption pour une molécule de la couche suivante. L'adsorption peut donc se faire aussi bien sur la surface du matériau que sur une couche déjà adsorbée (ce qui n'était pas le cas dans le modèle de Langmuir). Brunauer, Emmett et Teller ont alors appliqué la méthode de Langmuir à chacune des couches de molécules adsorbées, en considérant que les phénomènes d'adsorption et de désorption sont les mêmes pour toutes les couches sauf pour la première (celle directement liée à la surface solide) ; quand l'équilibre est établi, l'étendue de chaque couche restera constante. Ces hypothèses de calcul aboutissent à l'équation suivante pour le taux de recouvrement de surface  $\theta$  :

$$\frac{1}{\theta \left( \frac{P_0}{P} - 1 \right)} = \frac{1}{C} + \frac{C-1}{C} \frac{P}{P_0} \quad (Eq II.4)$$

---

<sup>14</sup> La molécule d'azote est occupée une surface de  $16,2 \text{ \AA}^2$ , celle du Krypton de  $20,2 \text{ \AA}^2$  et celle de l'argon de  $16,6 \text{ \AA}^2$ .

P étant la pression du gaz,  $P_0$  la pression de vapeur saturante du gaz à la température de l'expérience,  $P/P_0$  la pression relative; C est appelée constante BET et elle est caractéristique de l'interaction entre l'adsorbat (gaz) et l'adsorbant (surface solide),  $C \propto e^{(E_a - \Delta H_{vap})/kT}$  où  $E_a$  est l'énergie d'adsorption sur la surface solide et  $\Delta H_{vap}$  l'enthalpie de vaporisation du gaz.

En remplaçant  $\theta$  par  $N_a/N_{am}$ , on obtient [22] :

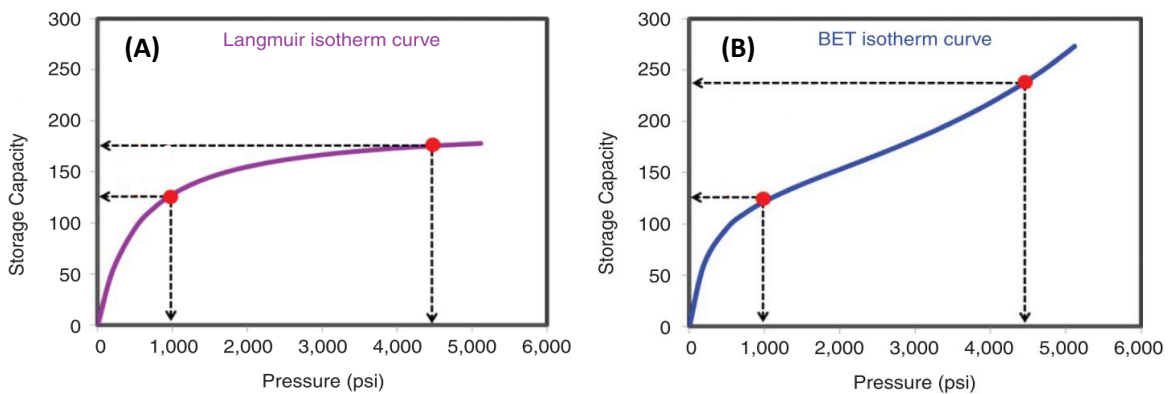
$$\frac{P}{N_a (P_0 - P)} = \frac{1}{N_{am} \cdot C} + \frac{C - 1}{N_{am} \cdot C} \frac{P}{P_0} \quad (Eq II.5)$$

En traçant  $P/N_a(P_0 - P)$  en fonction de  $P/P_0$  on obtient une droite. De la pente et de l'ordonnée à l'origine, on peut extraire C et  $N_{am}$ . Puis, comme cela a été fait dans le cas du modèle de Langmuir, en multipliant  $N_{am}$  par la surface occupée par une molécule de gaz, on obtient la surface spécifique qui sera noté cette fois-ci *Surface Spécifique BET* (car elle est estimée en utilisant le modèle BET).

Le modèle BET (figure II.20(B)) reste un modèle approché et tend à perdre sa validité à des pressions élevées (couche adsorbée épaisse-phénomènes de mouillage) ou à des pressions très basses. En pratique, on choisit généralement une plage de pression dans l'intervalle  $0.05 < P/P_0 < 0.30$ .

**Technique de mesure BET**

De manière très simplifiée, pour une mesure BET on procède comme suit : on met le matériau à l'intérieur d'une cellule, on procède à une étape de dégazage lui permettant d'éliminer tout contaminant ou adsorbat indésirable de sa surface ; puis on met la cellule avec l'échantillon dans un Dewar pour les maintenir à la température de liquéfaction de l'azote (77K) ; on impose alors un changement de la pression du gaz et une fois la pression d'équilibre P est atteinte on mesure la quantité de gaz adsorbé correspondante ; On répète cela pour différentes valeur de la pression ; puis, à partir des données de mesure ainsi recueillies, on calcule la surface spécifique BET comme indiqué précédemment.



**Figure II.21** Courbes caractéristiques (A) d'une isotherme de Langmuir, (B) d'une isotherme BET [25].

## Références

- [1]. W.S. Hummers, R.E. Offeman, *Journal of the American Chemical Society* 80(6) (1958) 1339.
- [2]. Qian Wang, Yao Ma, Xin Jiang, Nianjun Yang, Yannick Coffinier, **Hakim Belkhalifa**, **Nahed Dokhane**, Musen Li, Rabah Boukherroub, **Sabine Szunerits**, *Electroanalysis* 28,(2016),119.
- [3]. Florina Teodorescu, Laure Rolland, Viswanatha Ramarao, Amar Abderrahmani, Daniel Mandler, Rabah Boukherroub, **Sabine Szunerit**, *Chemical Communications* 51(75), (2015) 14167.
- [4]. **Hakim Belkhalifa**, Florina Teodorescu, Gurvan Quéniat, Yannick Coffinier, **Nahed Dokhan**, Sabrina Sam, Amar Abderrahmani, Rabah Boukherroub, **Sabine Szunerits**, *Sensors and Actuators B* 237 (2016) 693.5]. Kathryn E. Toghil, Richard G. Compton, *Int. J. Electrochem. Sci.* 5 (2010) 1246.
- [6].<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure>
- [7] A. Raisonier, F. Wright, Cours Biochimie « molécules informationnelles » ; Biochimie PCEM2/Biochimie métabolique et Régulations C1, CHUPS Jussieu (2002 – 2003).
- [8] Thèse Mohamed Badreddine Assouar, « Etude de dispositifs a ondes acoustiques de surface (saw) a structure multi couche nitrure d'aluminium / diamant : croissance de matériaux en couches minces et technologie de réalisation », Université Henri Poincaré – France, 2001.
- [9] Thèse Tayeb BROURI, « Élaboration et étude des propriétés électriques de couches minces et de nanofils de ZnO », Université Paris-Est – France, 2011.
- [10] Thèse Younes Henni, « Magneto Raman studies of multilayer graphene and graphene boron nitride heterostructures », Université de Grenoble-France, 2006.
- [11] Andrea C. Ferrari, *Solid State Communications* 143 (2007) 47.
- [12] Andrea Carlo Ferrari, John Robertson, *Phil. Trans. R. Soc. Lond. A* (362) 2004, 2477.
- [13] Andrew Downes, Alistair Elfick, *Sensors* 10(3), (1010) 1871.
- [14] [https://lasir.univ-lille1.fr/?page\\_id=2396](https://lasir.univ-lille1.fr/?page_id=2396)
- [15] Cours de M. Perrin « Microscopie Électronique à Balayage et Microanalyse », [http://www.cmeba.univ-rennes1.fr/Principe\\_MEB.html](http://www.cmeba.univ-rennes1.fr/Principe_MEB.html).
- [16] Zhou, W., Apkarian, R., Wang, Z. L., Joy, D., « Fundamentals of Scanning Electron Microscopy (SEM) », *Scanning Microscopy for Nanotechnology*, Springer New York (2006).

- [17] Cours Marie Paule BASSEZ, « Les microscopes électroniques », Université de Strasbourg, 2011-2012.
- [18] Thèse Jatani Ungula, « Growth and characterization of ZnO nanoparticles by sol-gel process », Université Free State – Afrique du Sud, 2015.
- [19] [mmrc.caltech.edu/SS\\_XPS/XPS\\_PPT/XPS\\_Slides.pdf](http://mmrc.caltech.edu/SS_XPS/XPS_PPT/XPS_Slides.pdf)
- [20] S. Pei, H.-M. Cheng, Carbon 50(9) (2012) 3210.
- [21] Thèse Fatimah Abdulbaqi Alussail, « Synthesis and Characterization of Reduced Graphene Oxide Films », Université de Waterloo – Canada, 1015.
- [22] Thèse Mohammed Abdelbassat SLASLI, « Modélisation de l'adsorption par les charbons microporeux : Approches théorique et expérimentale », Université de Neuchâtel-Suisse, 2002.
- [23] V. Meshko, L. Markovska M. Mincheva, A. E. Rodrigues, Water Research vol 35 (14) (2001) 3357.
- [24] J. C. Voegel, S. Behr, M. J. Mura, J. D. Aptel A. Schmitt, E.F. Bres, Colloids and Surfaces vol. 40 (1989) 307.
- [25] Wei Yu, Kamy Sepehrnoori, Tadeusz Patzek, SPE Journal 21 (02) (2016) 1.

---

*Chapitre III :*

***RESULTATS***

***EXPERIMENTAUX &***

***DISCUSSIONS***

---



## **Partie A :**

# ***Capteurs de glucose à base de RGO/ZnO***

### **Introduction**

Dans ce chapitre nous allons présenter les résultats du dépôt électrophorétique de nanostructures de ZnO (de dimension ne dépassant pas 50nm) et de nanofeuillets d'oxyde de graphène réduit (RGO) sur des électrodes en or ; ceci afin d'étudier la détection électrochimique non-enzymatique de glucose. Par la suite, l'insuline sera intégrée au couple ZnO-RGO (devenant du RGO/insulin/ZnO) et on étudiera l'effet de l'insertion d'insuline et on comparera les réponses électrochimiques avec et sans chargement de cette molécule.

### **III.A.1. Dépôt électrophorétique (DEP) des films RGO/ZnO et RGO/insuline/ZnO**

Le dépôt électrophorétique (DEP) a été effectué sur des couches d'or couvrant une lame de verre. Le DEP a été par la suite réalisé dans une cellule à deux électrodes ; ces dernières sont placées parallèlement l'une à l'autre et sont séparées par une distance de 1 cm. Une feuille de platine (1 x 2 cm<sup>2</sup>) constitue la cathode, et le substrat verre/Ti/Au constitue l'anode.

Pour la réalisation des électrodes modifiées de RGO/ZnO et RGO/insulin/ZnO, on a utilisé le rapport 1 pour 1 (0.5mg GO et 0.5mg de ZnO) et (1mg GO et 1mg de ZnO) et cela pour des potentiels suivants : 15V, 20V, 25V, 30V, 35V, 40V et 50V ; avec des temps de dépôt de 50s, 1 min, 3 min, 5 min, et 7 min.

La meilleure condition de dépôt pour l'élaboration de ces électrodes modifiées est un potentiel de 20V pour un temps de dépôt de cinq minutes (5 min) et pour des concentrations de 0.5mg de GO et 0.5mg de ZnO dans 1 ml de solution d'éthanol. Après le dépôt, les couches minces obtenues sont rincées trois fois à l'eau désionisée puis elles subissent un séchage sous un flux d'azote.

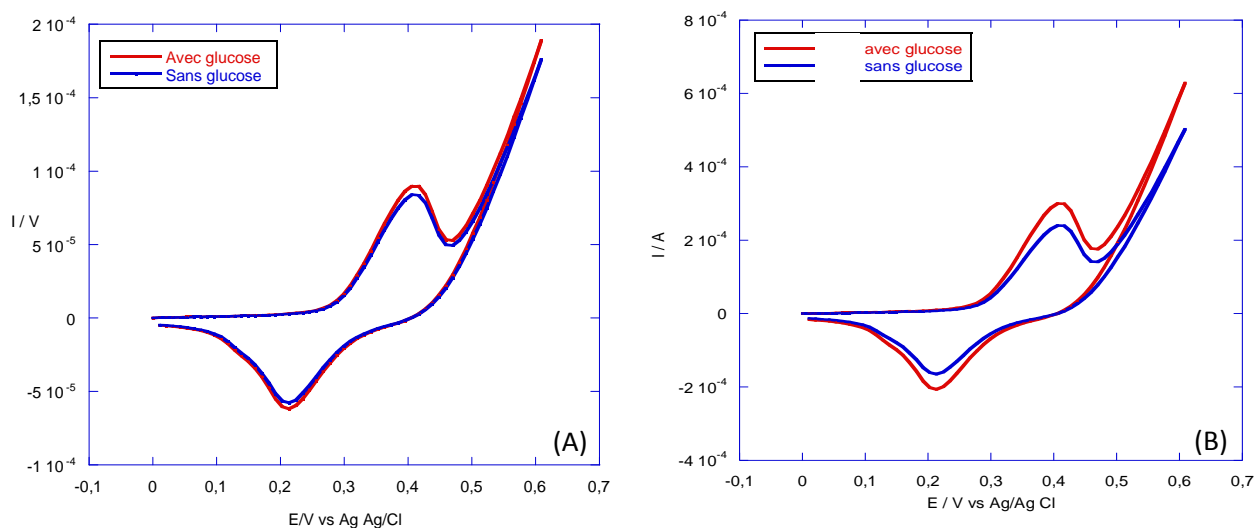
Dans le cas de la préparation de l'électrode avec insuline, la cellule électrophorétique a été remplie avec une solution de GO (0,5 mg/ml), d'insuline (0,1 mg/ml) et de nanoparticules de ZnO (0,5 mg/ml), dans de l'éthanol. Une tension de 20 V a été appliquée pendant 5 min. Comme précédemment, après dépôt les couches obtenues sont rincées avec de l'eau désionisée puis séchées sous flux d'azote.

Chaque électrode modifiée obtenue subit une électro-activation qui consiste à lui effectuer 300 cycles de voltammétrie cyclique entre 0 et 0,8 V vs. Ag/AgCl à 100 mV/s dans NaOH 0,1 M, afin d'activer la surface et optimiser la détection (cf. chapitre II, section II.6).

Le taux d'insuline humaine<sup>15</sup> effectivement chargé sur les électrodes durant le DEP est déterminé en mesurant la concentration d'insuline restante dans la solution après la fin du processus de dépôt ; cette mesure est effectuée en utilisant la spectrophotométrie UV-Visible ainsi que la courbe de calibration.

### III.A.2. Les tests de détection électrochimiques

Les *tests de détection par voltammétrie cyclique* ont été effectués dans une cellule à trois électrode : une électrode Ag/AgCl (électrode de référence), un fil de platine (contre-électrode) et l'électrode de travail qui sera d'abord l'électrode modifiée RGO/ZnO/Au puis RGO/insulin/ZnO/Au. Les mesures de voltammétrie cyclique sont effectuées dans une solution aqueuse de NaOH 0,1 M, en l'absence puis en présence de glucose et avec une vitesse de balayage de 50 mV/s ; la surface active étant de 0,5 cm<sup>2</sup>.



**Figure III.A.1.** Voltammogramme cyclique dans une solution de NaOH 0,1 M pour les électrodes modifiées avec 1mM de glucose (rouge) et sans glucose (bleu), (A) sans insuline, (B) avec insuline. Vitesse de balayage 50mV/s.

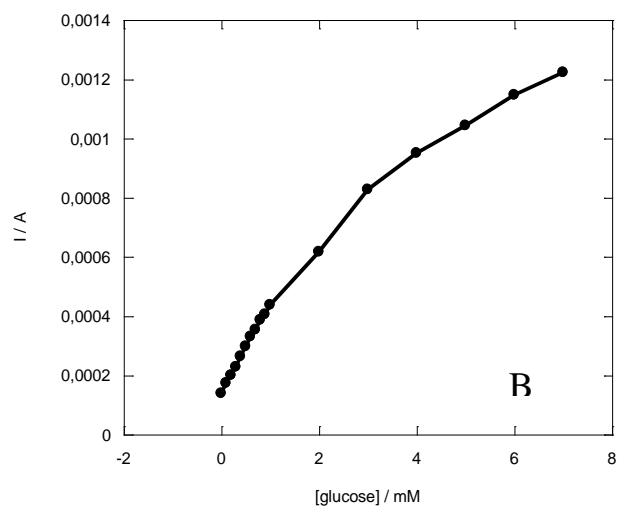
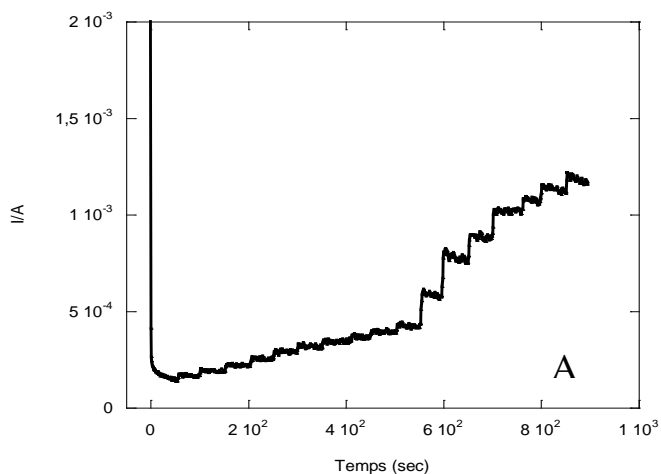
<sup>15</sup> On parle d'insuline « humaine » pour les insulines ayant une séquence d'aa (Acides Aminés) strictement identique à celle de l'insuline humaine ; les insulines dites « analogues » ont subi une ou des substitutions d'aa permettant de modifier les caractéristiques physico-chimiques et la cinétique de l'absorption.

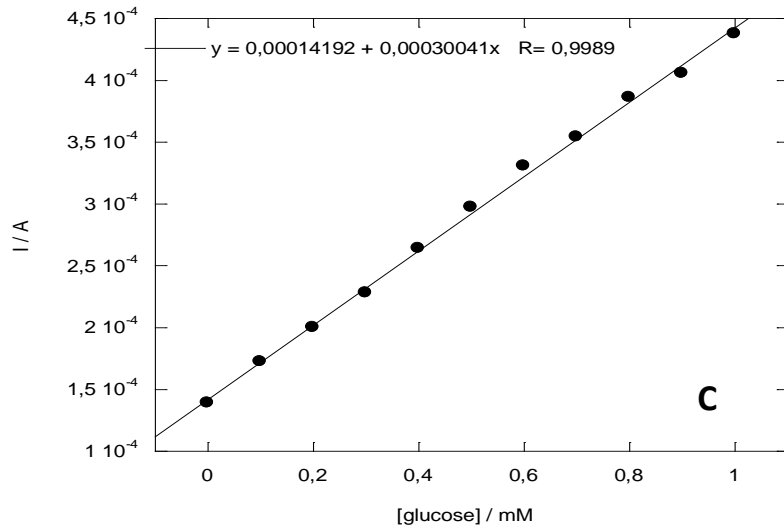
La figure III.A.1. (A) et (B) montre des voltamogrammes cycliques d'électrodes d'or modifiées par dépôt de RGO/ZnO et RGO/insulin/ZnO respectivement, dans NaOH (0,1 M) avec et sans glucose (1mM). On remarque d'après le voltamogramme (A) que l'addition de glucose induit une légère augmentation du courant anodique du couple redox  $Zn(OH)_2/ZnOOH$  (résultat de l'électro-activation) témoignant de l'oxydation rapide du glucose. Sur le voltamogramme (B) on remarque que le pic anodique devient plus accentué sur les électrodes chargées d'insuline. Visiblement, l'insuline stimule l'oxydation du glucose (en effet, la différence entre pic anodique avant et après ajout de glucose est plus importante pour les électrodes à insuline), et elle stimule aussi l'activité du couple redox  $Zn(OH)_2/ZnOOH$  (le pic anodique sans ajout de glucose étant plus accentué dans le cas des électrodes à insuline).

### III.A.2.1.Détection de glucose

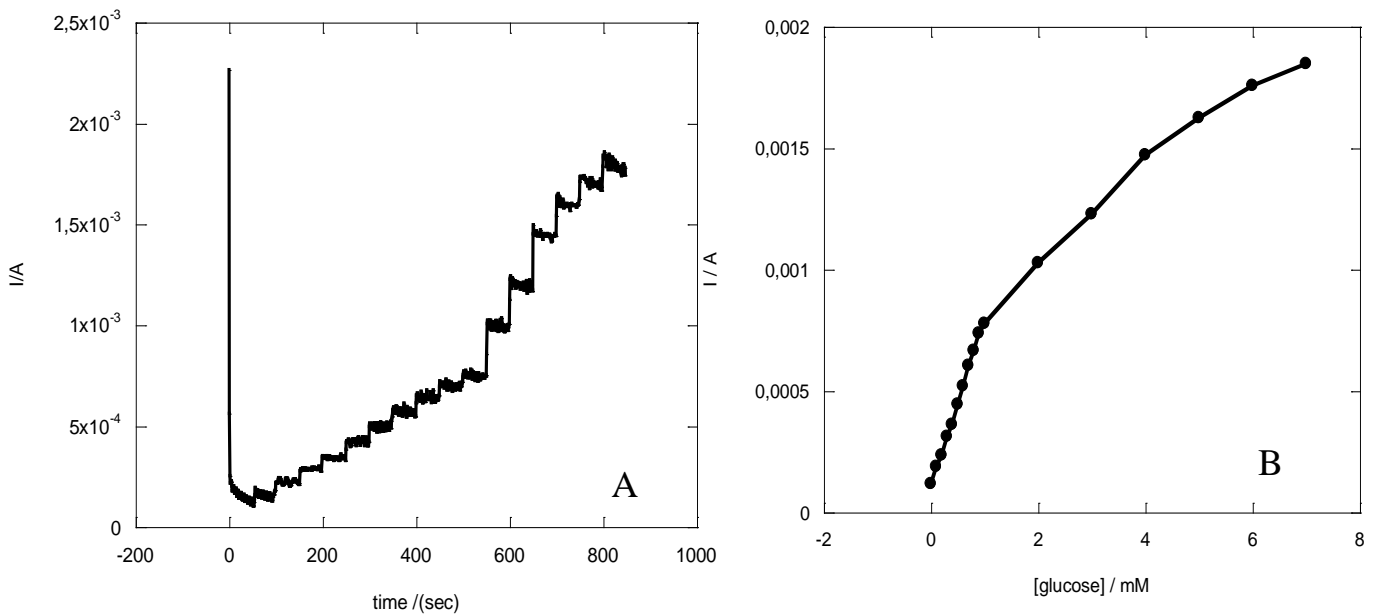
La *détection ampérométrique* du glucose sur les électrodes de RGO/ZnO/Au ou RGO/insulin/ZnO/Au a été effectuée dans une solution alcaline (NaOH 0,1 M) en appliquant à l'électrode de travail un potentiel constant de +0,4 V vs. Ag/AgCl.

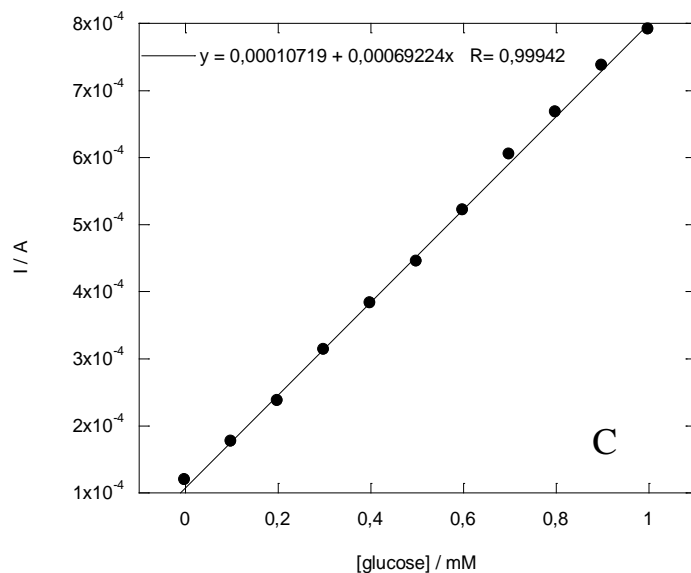
L'addition successive d'une quantité fixée de glucose a eu comme conséquence une augmentation du courant anodique, en raison de l'oxydation électro-catalytique rapide du glucose. Pour les films RGO/ZnO, après les additions successives du glucose, la réponse ampérométrique montre une augmentation en escalier avec un temps de réponse de ca. 7 s. De la courbe d'étalonnage, on a une zone linéaire avec un facteur de cohérence  $R^2= 0,9989$  qui s'étale sur la plage de concentration allant de 5  $\mu$ M à 1 mM. La limite de détection pour l'électrode RGO/ZnO est de 3  $\mu$ M.





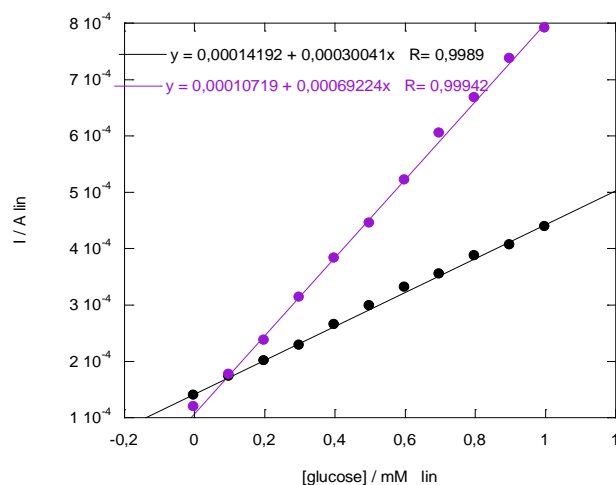
**Figure III.A.2.** (A) courbe de réponse ampérométrique de RGO/ZnO/Au, polarisée à +0,4 V vs. Ag/AgCl avec des additions successives de 0.1mM puis 1mM de glucose dans NaOH 0,1 M, (B) Courbe de calibration pour RGO/ZnO/Au, (C) Courbe de calibration pour RGO/ZnO/Au : zoom sur la zone linéaire.





**Figure III.A.3.** (A) courbe de réponse ampérométrique de l'électrode RGO/insulin/ZnO/Au, polarisée à +0,4 V vs Ag/AgCl avec des additions successives de glucose (d'abord des ajouts de 0,1mM puis de 1mM) dans NaOH 0,1 M; (B) Courbe de calibration pour RGO/insulin/ZnO/Au (C) Courbe de calibration pour RGO/insuline/ZnO/Or : zoom sur la zone linéaire.

Pour les films de RGO/insulin/ZnO, après additions successives de glucose à un potentiel d'électrode de +0,4 V vs. Ag/AgCl, la réponse ampérométrique montre une augmentation en escalier avec, là aussi, un temps de réponse de l'ordre de 7 s. De la courbe d'étalonnage, on a une zone linéaire – facteur de cohérence  $R^2 = 0,99942$  – sur une plage de concentrations allant de 5  $\mu\text{M}$  à 1 mM. La limite de détection de l'électrode RGO/insulin/ZnO est de 1  $\mu\text{M}$ .

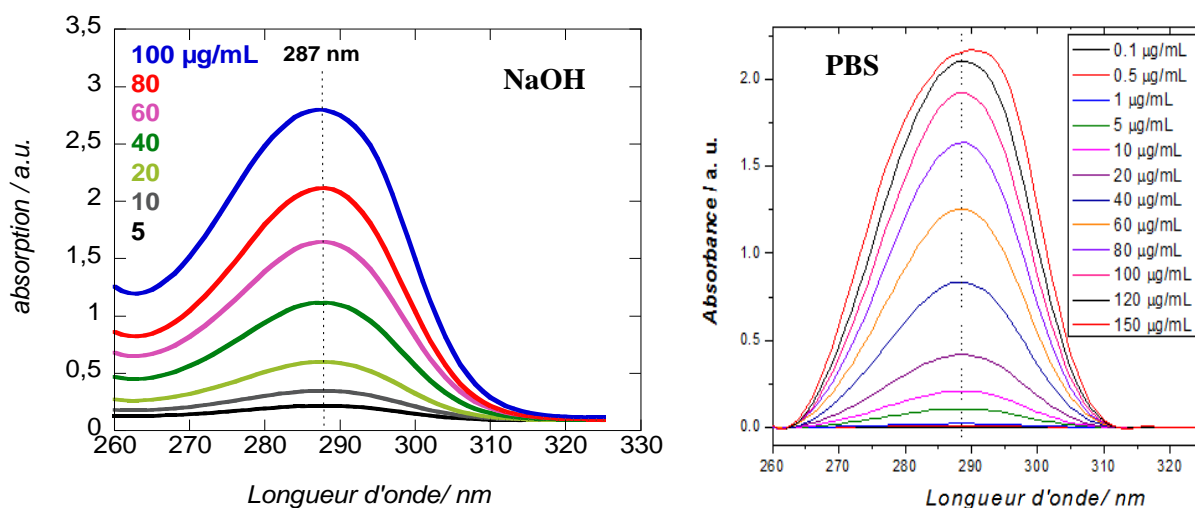


**Figure III.A.4.** Comparaison entre les courbes de calibration pour RGO/insuline/ZnO/Au (bleu) et RGO/ZnO/Au (noir) : zoom sur la zone linéaire.

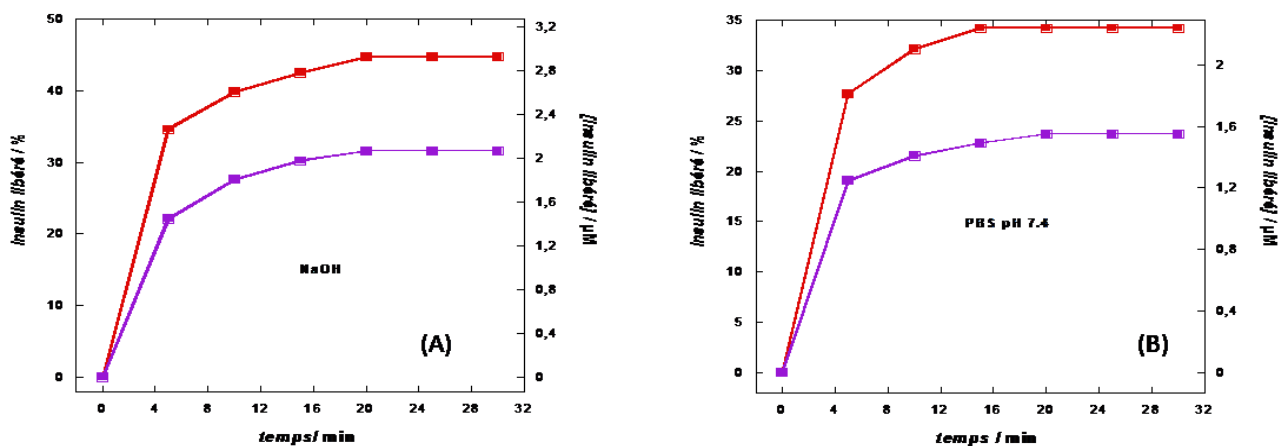
D'après la figure III.A.4, l'électrode RGO/insulin/ZnO est bien plus sensible ( $0.8 \text{ Mm} \cdot \text{mA}^{-1} \cdot \text{cm}^{-2}$ ) que l'électrode RGO/ZnO pour la détection du glucose ( $0.4 \text{ Mm} \cdot \text{mA}^{-1} \cdot \text{cm}^{-2}$ ). Ceci peut être dû à la nature poreuse du film induite par la présence de molécules d'insuline ; et cette porosité (qui augmente la surface spécifique en contact avec l'électrolyte) va favoriser l'activité du couple redox  $\text{Zn}(\text{OH})_2/\text{ZnOOH}$  ainsi que l'oxydation d'un plus grand nombre de molécules de glucose.

### III.A.2.2. Mesure de l'insuline larguée dans l'électrolyte

Dans une seconde étape de ce travail, nous avons testé la capacité des électrodes RGO/insulin/ZnO à larguer l'hormone protéique *insuline* lors de l'application d'une tension négative relativement à l'électrode de référence ; ceci dans l'objectif final de réaliser un système à double fonction : détection-régulation. On a ainsi mis les électrodes RGO/insulin/ZnO/Au dans le PBS (solution tampon phosphate salin, pH = 7,4) ou NaOH (0,1 M), et on a appliqué une tension de  $-0.8 \text{ V}$  vs. Ag/AgCl (cf. Chapitre II section II.8.3).



**Figure III.A.5** Les courbes d'étalonnage de l'insuline dans NaOH (0,1M) et PBS (pH7.4).



**Figure III.A.6** Cinétique de libération d'insuline à partir de l'électrode de RGO/insulin/ZnO/Au dans (A) NaOH (0,1 M) et (B) dans PBS (pH 7,4) aux potentiels  $-0,8$  V (rouge) et  $+0,4$  V (bleu) vs. Ag/AgCl.

La quantité d'insuline libérée dans l'électrolyte au cours du temps a été déterminée en utilisant la spectrophotométrie UV-Visible (cf. Chapitre II section II.8.3) ; la Figure III.A.5 montre les courbes d'absorption correspondantes dans NaOH (0,1M) et dans le PBS (pH 7,4). Ces courbes permettent de quantifier (soit en pourcentage soit en  $\mu\text{M}$ ) le taux d'insuline dans chaque électrolyte (NaOH ou PBS). Les figures III.A.6. (A) et (B) montrent, respectivement, la cinétique de libération d'insuline dans les solutions de NaOH et PBS suite à l'application des potentiels de régulation  $-0.8$  V ou de détection  $+0.4$  V, vs. Ag/AgCl. Les courbes indiquent clairement que la libération électrochimique est plus prononcée sous le potentiel négatif. Ainsi, l'application de ce dernier à l'électrode RGO/insulin/ZnO/Au a pour effet la désorption puis le largage des molécules d'insuline dans l'électrolyte. Notons toutefois qu'au potentiel de détection ( $+0,4$  V vs. Ag/AgCl) il y a aussi un largage d'insuline, mais il est en bien moindre quantité que celui larguée sous potentiel négatif.

### Conclusion

Dans cette partie du travail, des électrodes à base d'oxyde de graphène réduit (RGO) et de nanoparticules ZnO (dimension inférieure à 50 nm) ont été préparées et leur aptitude à la détection du glucose a été étudiée ; une linéarité de la réponse a été obtenue sur une plage de concentration du glucose allant de  $5 \mu\text{M}$  à  $10 \text{ mM}$  sous un potentiel de  $+0,4$  V vs. Ag/AgCl ; la limite de détection fut de  $3 \mu\text{M}$  et la sensibilité de l'électrode a été estimée à  $0.4 \text{ Mm} \cdot \text{mA}^{-1} \cdot \text{cm}^{-2}$ .

Les électrodes à base d'oxyde de graphène réduit, d'insuline et de nanoparticules ZnO ont été élaborées afin de quantifier l'effet de l'insertion d'insuline sur la détection du glucose et sur sa régulation. Sous le même potentiel d'électrode que précédemment (+0,4 V vs. Ag/AgCl), une meilleure sensibilité a été mise en évidence,  $0,8 \text{ Mm} \cdot \text{mA}^{-1} \cdot \text{cm}^{-2}$ . Comme l'objectif de l'incorporation d'insuline dans le matériau d'électrode était double : améliorer la détection tout en permettant le largage d'insuline pour la régulation du taux de glycémie, la libération d'insuline a pu être effectivement réalisée par application d'un potentiel négatif de -0,8 V vs. Ag/AgCl.

Même si les résultats obtenus avec le nanocomposite RGO/insulin/ZnO sont relativement encourageants, ils demeurent peu satisfaisants et ceci en dépit des efforts effectués pour leur amélioration. La suite du travail s'est donc orientée vers l'étude de deux hydroxydes métalliques ayant un plus fort potentiel électrocatalytique que ZnO, afin d'optimiser la détection non-enzymatique de glucose via les couples redox  $\text{M}(\text{OH})_2/\text{MOOH}$ , M étant l'atome de métal utilisé.



## **Partie-B**

### ***Capteurs de glucose à base de RGO/Ni(OH)<sub>2</sub>***

#### **III.B.1. Introduction**

Dans cette deuxième partie, nous présentons le travail de mise au point d'électrodes à base de RGO (oxyde de graphène réduit), d'insuline et de nanostructures d'hydroxyde de nickel Ni(OH)<sub>2</sub> formant le nanocomposite RGO/insulin/Ni(OH)<sub>2</sub> déposé sur une couche d'or ; ceci pour la détection et la régulation électrochimique de glucose.

La possibilité d'oxydation électrochimique du glucose via le couple redox Ni(OH)<sub>2</sub>/NiOOH, formé sur la surface de l'électrode en milieu alcalin, rend le nickel particulièrement intéressant [1-3]. Les excellentes propriétés électrocatalytiques du nickel combiné à son prix relativement bas font de ce matériau un candidat de choix pour le développement de capteurs non-enzymatique de glucose. La réalisation de nanocomposites à base de feuillets de graphène a permis l'obtention de matériaux d'électrodes présentant une plus grande surface active et un meilleur transfert/transport de charges électriques [4].

Au sein de la même équipe où a été effectué ce travail de thèse, il y a eu une élaboration réussie du nanocomposite RGO/Ni(OH)<sub>2</sub> par DEP [5] ; les électrodes obtenues ont montré un excellent comportement électrocatalytique pour l'oxydation du glucose en milieu alcalin, et la méthode de dépôt électrophorétique a été comparé à la méthode de dépôt par goutte (drop-cast) et s'est avérée nettement plus performante, car les électrodes obtenues avaient une bien meilleure stabilité. L'étalonnage de ces électrodes pour la détection de glucose a montré une zone linéaire allant de 15  $\mu\text{M}$  à 30 mM, avec une grande sensibilité au glucose ( $11,4 \pm 0 \text{ mA cm}^{-2} \text{ mM}^{-1}$ ).

Dans ce chapitre sera discutée surtout l'introduction d'insuline dans le nanocomposite, ainsi qu'une certaine amélioration des conditions de dépôt par rapport au précédent travail de l'équipe [5] (diminution importante du potentiel de dépôt) ; l'insuline fut incorporée afin d'explorer son effet sur la détection et surtout la possibilité de sa libération par un processus électrochimiquement déclenché. À la fin de ce travail sera effectué un test in vitro pour

s'assurer que l'activité métabolique de l'insuline électrochimiquement libérée a été bien préservée.

### **III.B.2. Dépôt électrophorétique du film RGO/insulin/Ni(OH)<sub>2</sub>**

#### **III.B.2.1. Préparation de la solution de DEP**

L'oxyde de graphène (OG), le chlorure de nickel hexahydraté (NiCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O) et l'insuline humaine ont été introduits dans de l'éthanol et ont été soumis à sonication durant 2h, puis ont été placés dans un agitateur magnétique durant 22h à température ambiante.

#### **III.B.2.2. Elaboration du matériau d'électrode par DEP**

La technique électrophorétique (DEP) a été utilisée pour déposer les films RGO/insulin/Ni(OH)<sub>2</sub> sur un substrat conducteur verre/Ti/Au. Le DEP a été réalisée dans une cellule à deux électrodes, placées parallèlement l'une à l'autre et séparées par une distance de 1 cm. Une feuille de platine (1 x 2 cm<sup>2</sup>) est utilisée comme contre-électrode (anode), et le substrat verre/Ti/Au constitue le substrat de dépôt polarisé négativement (cathode).

Pour réaliser ces électrodes modifiées RGO/insulin/Ni(OH)<sub>2</sub> on a introduit dans la solution d'éthanol le GO et le NiCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O en rapport massique 1:1 et ce pour deux concentrations différentes : 0.5mg/ml GO et 0.5mg/ml NiCl<sub>2</sub> ; 1mg/ml GO et 1mg/ml NiCl<sub>2</sub> ; cela a été effectué pour les potentiels de DEP de 15V, 20V, 25V, 30V, 35V et 40V avec des temps de dépôt de 50s, 1 min, 3 min, 5 min, 8 min et 10 min. La quantité d'insuline était chaque fois de 0,1 mg/ml.

Les plus intéressants échantillons correspondent à des dépôts sous un potentiel de 15 V et pour les concentrations GO et NiCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O de 0,5 mg.ml<sup>-1</sup> pour chacun, la concentration d'insuline étant toujours 0,1 mg.ml<sup>-1</sup>. Il nous a paru, à travers les multiples essais effectués, qu'il serait instructif d'étudier les propriétés de ces électrodes, élaborées sous le potentiel optimal, en fonction du **temps de dépôt** et du **pH** utilisé.

Après chaque dépôt, les couches obtenues sont rincées trois fois à l'eau désionisée suivi par un séchage sous azote. L'électro-activation de la surface de ces électrodes, afin d'enrichir le film nanocomposite en Ni(OH)<sub>2</sub>, a été réalisée dans une solution de NaOH 0,1 M entre 0 et +0,8 V vs. Ag/AgCl, selon les conditions indiquées au chapitre II section II.6.

Notons que l'oxyde de graphène GO a un potentiel zêta (traduisant la charge portée par les particules colloïdales dans la solution) de -35 mV, ce qui signifie que la surface de GO est chargée négativement ; si on veut effectuer un dépôt électrophorétique de ces particules, le

substrat devrait être placé à l'anode, comme cela a été effectivement réalisé au sein de la présente équipe de recherche [6,7] ; lorsqu'on a élaboré par DEP le nanocomposite GO/Ni(OH)<sub>2</sub>, la solution de départ qui contenait GO et Ni<sup>2+</sup>, après sonication et agitation de cette solution, les particules de GO initialement de charges négative vont changer de signe à cause des ions Ni<sup>2+</sup> qui vont s'ancrer à leur surface, et le potentiel zêta est devenu +14 mV ; compte-tenu de cette valeur, le DEP n'a pu être que cathodique.

Lorsqu'on rajoute de l'insuline humaine<sup>16</sup> à la solution précédente, et après l'avoir soumis aux ultrasons puis à l'agitation magnétique pendant plusieurs heures, l'attraction électrostatique entre les feuillets de GO, les ions Ni<sup>2+</sup> et l'insuline devrait a priori dépendre du pH. En effet, en introduisant l'insuline il nous faut tenir

+compte du point isoélectrique (PI) de cette molécule ; ce point est entre 5.3 et 5.4, ce qui signifie que la molécule d'insuline est positive pour les pH inférieurs à 5.3 et négative pour des pH supérieurs à 5.4 ; entre 5.3 et 5.4 l'insuline n'est plus hydrosoluble.

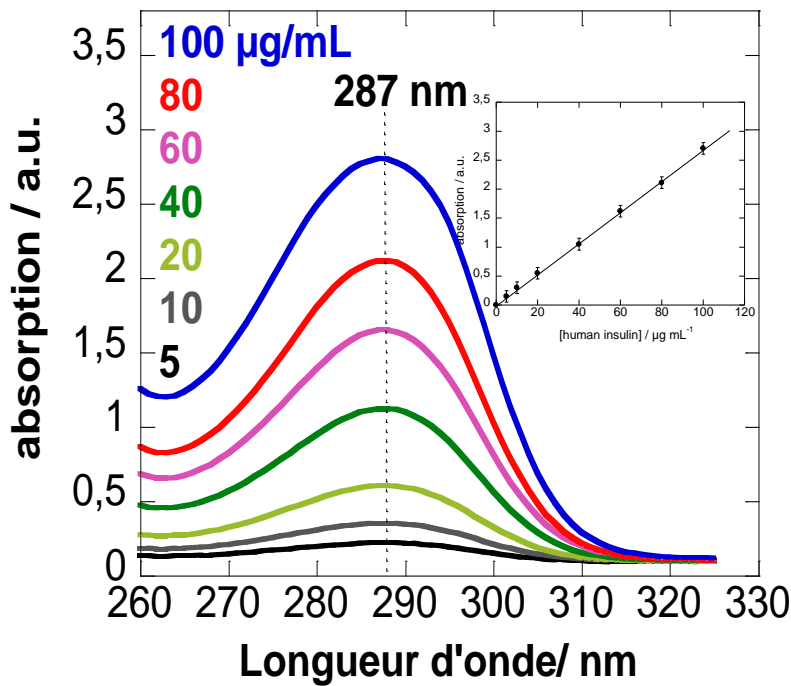
Si le pH de DEP est inférieur à 5.3, l'insuline de charge positive va être attirée par la surface négative de GO, de même pour les ions Ni<sup>2+</sup> ; il est alors attendu que dans ce cas les molécules d'insuline (de dimension moyenne de 2.2 nm) et les ions Ni<sup>2+</sup> (de dimension ~ 0.14 nm) vont se partager la surface de GO et vont occuper des emplacements distincts. Par contre, si le dépôt se fait à un pH supérieur à 5.4, les molécules d'insuline désormais négatives vont s'accrocher préférentiellement aux ions Ni<sup>2+</sup> eux-mêmes attirés à la surface négative de GO par les forces d'attraction électrostatique; nous nous attendons alors à voir les ions Ni<sup>2+</sup> et les molécules d'insuline occuper les mêmes zones sur la surface de GO et non pas des zones distinctes comme ce fut le cas précédemment. La validité de cette hypothèse sera vérifiée à travers l'ensemble des caractérisations qui vont suivre.

### **III.B.3. Mesure du taux d'insuline chargée dans le nanocomposite**

Le taux d'insuline humaine effectivement intégrée dans l'électrode est déterminé en mesurant la quantité d'insuline dans la solution de DEP avant et après dépôt, la différence étant l'insuline intégrée au sein du nanocomposite élaboré. Ainsi, après chaque dépôt, on mesure le taux d'insuline dans la solution restante en utilisant un spectrophotomètre UV/visible à 287 nm et une courbe de calibration (figure III.B.1).

---

<sup>16</sup> Voir Partie-A pour la définition de l'insuline humaine.



**Figure III.B.1:** Le spectre UV/Visible de l'insuline humaine à différentes concentrations dans l'eau Milli-Q avec la courbe correspondante de calibration.

La figure III.B.1 montre l'évolution du pic d'absorption en fonction de la concentration d'insuline ; à partir de ces données, on peut tracer une courbe de calibration qui va nous servir pour déterminer à chaque fois la quantité d'insuline chargée.

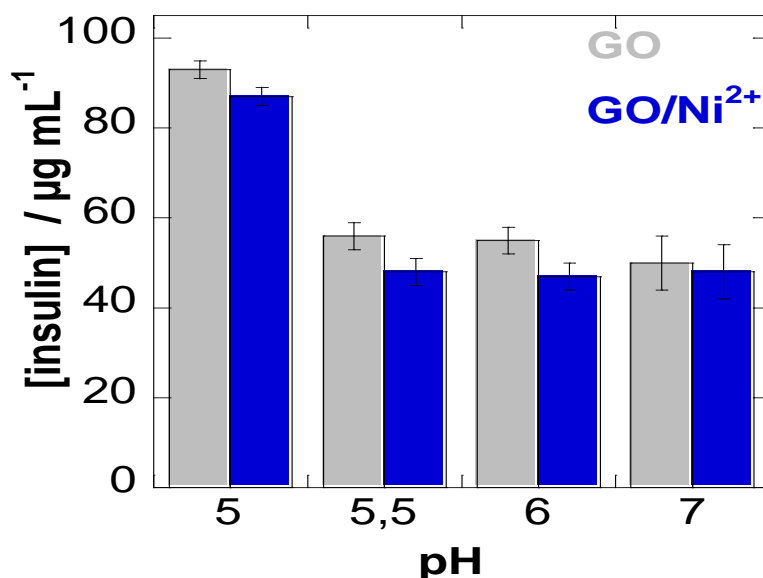
#### III.B.4. Variation du taux d'insuline chargée en fonction du pH

La quantité d'insuline intégrée au nanocomposite dépend du pH de la solution utilisée pour le dépôt, à cause du point isoélectrique de l'insuline discuté précédemment.

La série d'expériences effectuées est résumée à travers les histogrammes de la figure III.B.2, où on compare le taux d'insuline effectivement chargées au sein d'électrodes élaborées à partir de solution de DEP à base de Go ou de Go/Ni<sup>2+</sup>. Le taux d'insuline chargée à des pH < 5.4 est bien plus élevée qu'au pH 7 aussi bien pour le GO que pour le Go/Ni<sup>2+</sup> : au pH 5, 94 µg ml<sup>-1</sup> d'insuline (94%) est incorporée au pH 5 contre 48 µg.ml<sup>-1</sup> d'insuline (48%) incorporée au pH 7.

Même si à priori on pourrait opter pour ces pH acides lors du DEP, mais l'expérience a montré que le dégagement d'hydrogène est dans ce cas si important pour ce dépôt cathodique que cela empêche sérieusement la formation de films stables et reproductibles. Ainsi, les

meilleurs films ont été obtenus au pH7 avec un taux de charge d'insuline d'environ 48  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ .



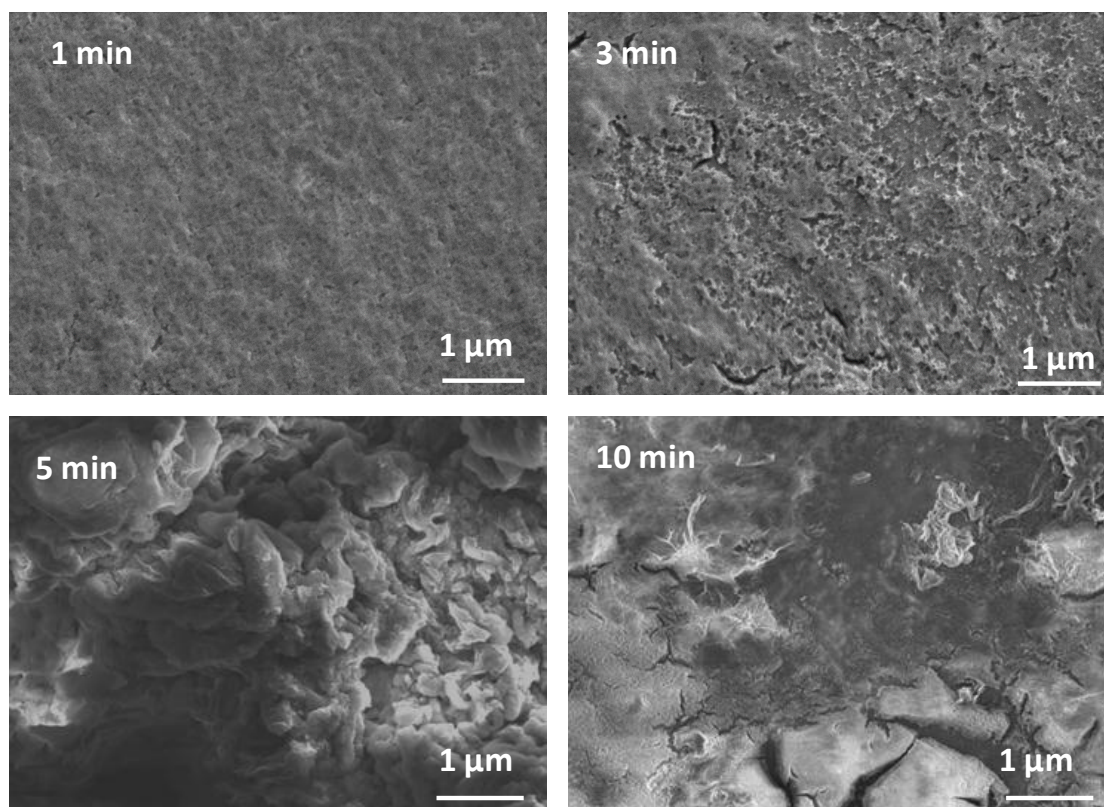
**Figure III.B.2** Insuline humaine chargée, en fonction du pH, dans le nanocomposite d'électrode durant le DEP à partir d'une solution de GO ( $0.5\text{ mg mL}^{-1}$ ) (gris) ou GO/Ni<sup>2+</sup> ( $0.5\text{ mg mL}^{-1}$ ) (bleu).

### III.B.5. Morphologie et cartographies X des films obtenus à différents temps de dépôt

Les images MEB de la Figure III.B.3 montrent les films de RGO/insuline/Ni(OH)<sub>2</sub> formés à différents temps de dépôt ; il est visible que d'importants changements morphologiques se produisent en fonction de la durée du dépôt.

En effet, lors de la préparation de la solution de DEP, et en dépit de tout le soin que nous prenons pour favoriser la « combinaison » des ions Ni<sup>2+</sup>, des particules négatives de GO et des molécules négatives d'insuline, il est évident que nous n'aurons jamais le cas idéal où la solution de DEP devient tout à fait exempt d'ions libres Ni<sup>2+</sup>, de molécules libre d'insuline (d'ailleurs pour celle-ci nous faisons bien une mesure pour savoir la quantité restante après DEP) ou de combinaison Ni<sup>2+</sup>-Insuline qui ne fait pas intervenir la particule de GO. Nous pensons que ce sont ces différentes possibilités qui modifient si visiblement la morphologie des dépôts en fonction du temps : en effet, quand on applique le potentiel de DEP (15 V pour notre cas ici), un champ électrique se met en place entre anode et cathode ; partant du point de vue de l'action du champ électrostatique sur les particules chargée (ions, molécules ou feuillet de GO), on peut que la force qui en résulte fournira à la particule une accélération proportionnelle à la charge mais inversement proportionnelle à la masse. Les particules légères auront alors tendance à atteindre la cathode dans les premiers temps de DEP, s'ensuivront les particules plus massives. Ainsi, la morphologie à t=1min montre l'aspect

lisse et homogène d'une réduction cathodique d'ions  $\text{Ni}^{2+}$  ou d'une association  $\text{N}^{2+}$ -Insuline (l'aspect plat du dépôt fait pencher qu'il n'y a pas encore de particules massives de  $\text{GO-Ni}^{2+}$  ou  $\text{GO-Ni}^{2+}$ -Insuline qui ont atteint la surface de la cathode). A  $t=3$  min, l'aspect devient moins lisse et des craquelures apparaissent, des particules un peu plus massives ont ainsi atteint la cathode, la formation du dépôt se fait avec de fortes tensions cristallines, et l'évacuation de cette tension se traduit par l'apparition de craquelures. A  $t=5$ min, l'aspect du film change drastiquement et une forme globulaire du dépôt nous révèle l'arrivée sur la cathode des particules de  $\text{Go-Ni}^{2+}$ -Insuline ; même après réduction de GO et des ions  $\text{Ni}^{2+}$  au niveau de la cathode et la formation de  $\text{RGO/Ni(OH)}_2$ , l'insuline n'est pas pour autant désorbée et elle reste visiblement bien positionnée aux sites qu'elle avait avant réduction au niveau de la cathode (cela sera visibles sur les cartographies X du paragraphes suivant). Après ce temps optimal de 5 min, l'aspect du dépôt semble se détériorer de nouveau et des craquelures réapparaissent. Rappelons que la décomposition de l'eau (cathode  $\rightarrow \text{OH}^-$  et  $\text{H}_2$ , anode  $\rightarrow \text{O}_2$  et  $\text{H}^+$ ) au niveau des électrodes durant le DEP n'est pas négligeable au potentiel de 15 V, et il est probable que ce phénomène contribue à la détérioration des films obtenus.



**Figure III.B.3** Images MEB du nanocomposite RGO/insuline/ $\text{Ni(OH)}_2$  formés par EPD à 15 V pour des durées de 1, 3, 5 et 10 min en utilisant une suspension de GO ( $0,5 \text{ mg ml}^{-1}$ ),  $\text{Ni}^{2+}$  ( $0,5 \text{ mg ml}^{-1}$ ) chargé avec  $48 \text{ µg ml}^{-1}$  d'insuline.

La cartographie EDX de la figure III.B4, obtenue grâce au MEB, consiste à compléter l'image "topographique" ou "morphologique" de la figure III.B.5 par des cartes "chimiques", c'est-à-dire des images MEB qui montrent, grâce à des colorations choisies, la répartition de certains éléments chimiques faisant partie du dépôt.

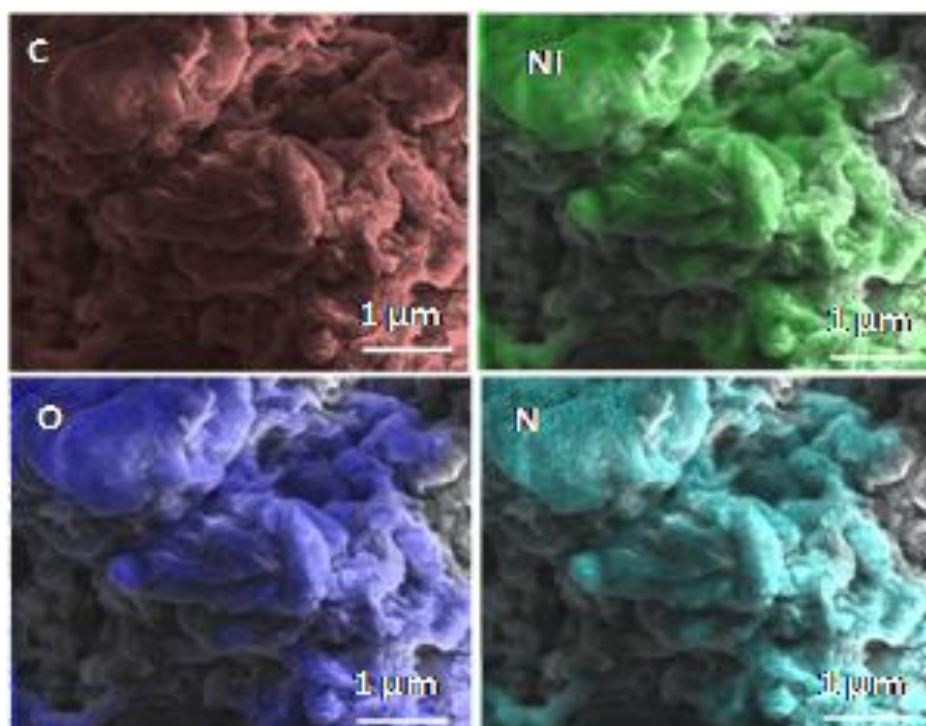
La Figure III.B.6 affiche une cartographie du film déposé à 15 V pendant 5 min à pH7. L'image où est visualisée la répartition du carbone traduit qu'il y a bien eu "arrivée" de GO sur la cathode ; reste à savoir si ce GO a été réduit au niveau de cette cathode afin de former le RGO; pour le savoir regardons la répartition de l'oxygène, celui-ci occupe certaines zone également occupée par le carbone mais d'autres parties qu'occupe le carbone ne montrent pas d'oxygène détectable : il est peu probable que cela corresponde à des feuillets de GO partiellement réduits. Regardons maintenant la répartition de nickel, elle semble coïncider précisément avec la répartition d'oxygène, ce qui traduit la formation probable des oxyhydroxydes de nickel suivant : NiO, Ni(OH)<sub>2</sub>, NiOOH, les deux premiers correspondent à un degré d'oxydation II du nickel, le dernier correspond à un degré d'oxydation III (l'analyse XPS permettra par la suite de trancher). Enfin, il reste à cartographier la répartition d'insuline. Comme il a été mentionné au Chapitre II section II.8, l'insuline a pour formule chimique C<sub>257</sub>H<sub>383</sub>O<sub>77</sub>N<sub>65</sub>S<sub>6</sub>, l'hydrogène n'étant pas détectable<sup>17</sup> par EDX (ou EDS) ; le soufre étant en très faible quantité dans la molécule d'insuline, le carbone étant commun au GO, l'oxygène se retrouve aussi dans l'oxyde ou hydroxyde de nickel, le seul éléments qui permettra d'identifier potentiellement l'insuline est l'azote N. La cartographie relative à la répartition d'azote va permettre de répondre à deux questions : la molécule d'insuline a-t-elle bien atteint la cathode ? En quels emplacements a-t-elle intégré le nanocomposite d'électrode ?

En étudiant la répartition de l'élément azote, on remarque que cette répartition coïncide précisément avec celle du nickel et de l'oxygène ; rappelons que dans la section III.B.2.2 nous avons dit que l'insuline étant négative au pH7 - utilisé pour notre DEP -, elle devrait être attirée par les ions Ni<sup>2+</sup> qui se trouvent à la surface des feuillets de GO et qui ont été attirés par les forces d'attraction électrostatiques de cette surface négative. La cartographie EDX semble confirmer cela, car l'azote se retrouve seulement aux endroits où le nickel et l'oxygène ont été décelés. Ce résultat indique aussi que l'insuline n'a pas été désorbée lors de la réduction de GO et la formation des oxydes ou hydroxydes de nickel au niveau de la

---

<sup>17</sup> En effet, n'ayant pas d'électrons de cœur, qui sont les électrons fortement liés à l'atome, et ayant un seul électron (1s) souvent impliqué dans des liaisons de valence, l'hydrogène n'émet pas de rayons X suite à l'impact du faisceau électronique de l'imagerie MEB ; ainsi il n'est pas détectable par EDX.

cathode. Les conditions expérimentales choisies semblent très favorables à la formation du nanocomposite RGO/insuline/Ni(OH)<sub>2</sub>.



**Figure III.B.4** Cartographie X de la répartition de carbone (C), d' nickel (Ni), d'oxygène (O) et d'azote (N) du film de RGO/insuline/Ni(OH)<sub>2</sub> formé à travers le DEP à 15 V pendant 5 min.

Le Tableau III.B.1 donne le pourcentage atomique des éléments chimiques : carbone, azote, nickel et oxygène, déterminés par EDX pour le nanocomposite RGO/Insulin/Ni(OH)<sub>2</sub> déposé en 5 min sous 15V.

Élément	At. %	Erreur
N	16.9	3.5
C	20.3	3.4
Ni	17.3	3.5
O	45.5	10

**Tableau III.B.1** : Pourcentage atomiques des éléments chimiques C, N, Ni et O estimés par EDX du nanocomposite RGO/insuline/Ni(OH)<sub>2</sub> élaboré sous 15 V en 5 min



### **III.B.6. Composition chimique des films de RGO/insuline/Ni(OH)<sub>2</sub>**

La composition chimique du nanocomposite élaboré à 15 V a ensuite été examinée par spectroscopie de photoélectrons X (XPS) en fonction de la durée de dépôt.

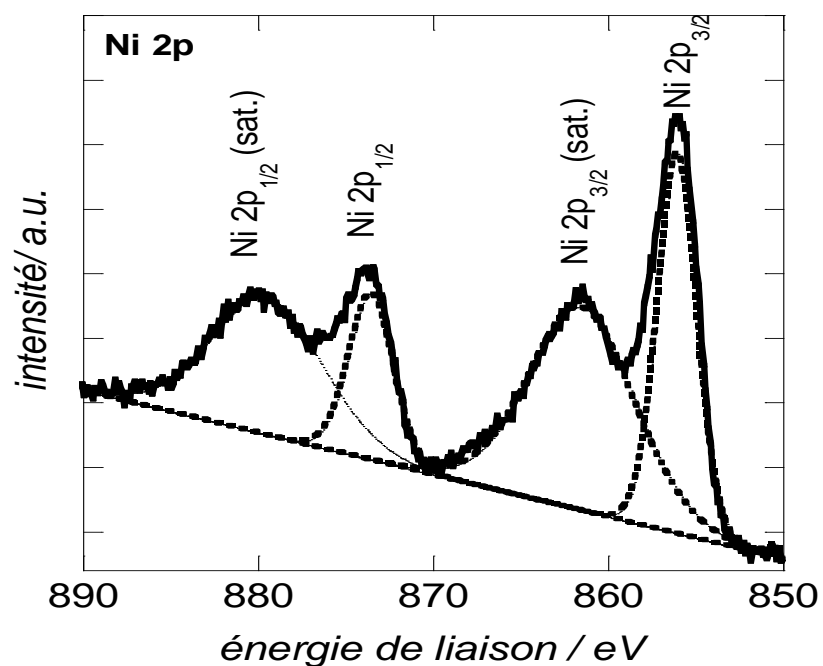
Un spectre XPS typique, illustré par la figure III.B.5, montre les pics caractéristiques des états Ni2p : deux pics majeurs centrés à 856,1 eV et 873,6 eV avec une séparation due à l'énergie de spin de 17,5 eV, correspondant à Ni2p<sub>3/2</sub> et Ni2p<sub>1/2</sub>. Ces bandes sont caractéristiques des phases de Ni(OH)<sub>2</sub>, ce qui est en accord avec d'autres travaux publiés dans la littérature [4,5].

Le **Tableau III.B.2** montre comment varie le pourcentage atomique de chacun des quatre éléments qui entrent dans la composition de notre nanocomposite. Pour le carbone C on remarque que son pourcentage décroissant en fonction du temps avec un minimum atteint à t=5 min ; l'oxygène ne connaît pas une grande variation en dépit d'une petite chute de pourcentage pour t=3 min ; le pourcentage d'azote est stationnaire autour de la valeur 11% jusqu'au temps t=5 min où il croît notablement, pour diminuer par la suite ; le nickel monte une augmentation soutenue en fonction du temps, jusqu'à un maximum à t=5 min, et connaît par la suite une légère baisse.

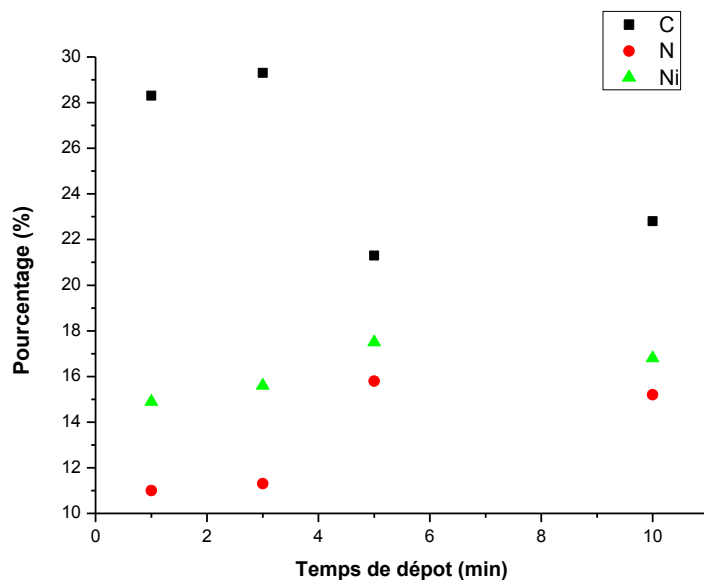
Ces résultats peuvent être interprétés de la façon suivante : au début du dépôt électrophorétique arrivent à la cathode les particules de GO portant bien plus de Ni<sup>2+</sup> que de molécules d'insuline ; rappelons que l'insuline est négative et qu'en s'accrochant au GO/Ni<sup>2+</sup> elle aura pour double effet de diminuer la charge positive globale de ces particules tout en augmentant leur masse, ce qui aura pour effet de retarder l'arrivée de ces particules à la cathode. On comprend alors qu'au premier temps de dépôt ce sont les particules peu chargées en insuline qui arrivent pour former le nanocomposite. La durée de dépôt de 5 min semble correspondre à l'arrivée sur la cathode de particules colloïdales bien chargée en insuline permettant au pourcentage d'azote de passer de ~11% à ~16% ; aussi, cette durée donne le plus fort pourcentage de Ni et le plus faible pourcentage de carbone, comme le montre les courbes de la figure III.B.6. Cette dernière composition du film semble être favorable à la détection/régulation de glucose car ce sont les électrodes élaborées pendant 5 min de DEP qui ont donné les meilleurs résultats.

Le temps de dépôt	C1s	O1s	N1s	Ni2p
1 min	28.3	45.8	11.0	14.9
3 min	29.3	43.8	11.3	15.6
5 min	21.3	45.4	15.8	17.5
10 min	22.8	45.2	15.2	16.8

**Tableau III.B.2:** La composition chimique (en pourcentage, %) déduites des spectres XPS des films de RGO/insuline/Ni(OH)<sub>2</sub> formés par EDP à 15 V pour différents temps de dépôt.



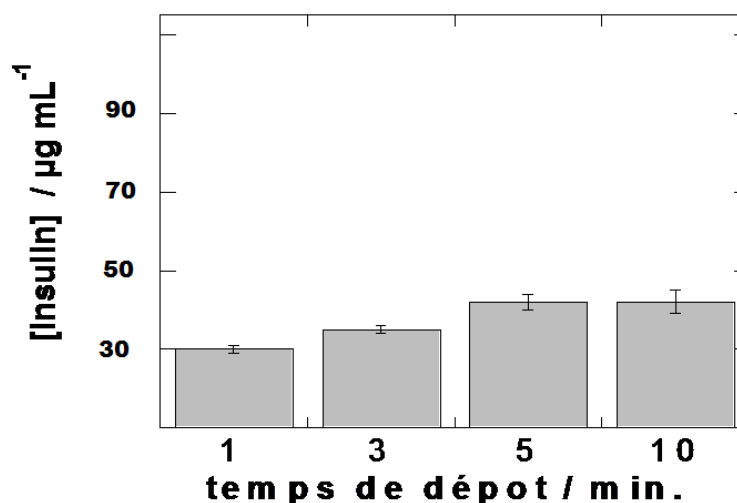
**Figure III.B.5** Spectres XPS haute résolution Ni2p typique des films de RGO/insuline/Ni(OH)<sub>2</sub>.



**Figure III.B.6** Variation du pourcentage de carbone C, d'azote N et de nickel Ni, dans le nanocomposite en fonction de la durée du dépôt.

### III.B.7. Quantité d'insuline chargée dans les films en fonction du temps de dépôt

La quantité d'insuline intégrée dans les divers films a été déterminée par les mesures de spectrophotométrie UV-Visible ; la figure III.B.7 illustre les résultats obtenus. Cette figure montre que le taux d'insuline chargée dans le nanocomposite est faible pour des courtes durées de dépôt et devient maximal après 5 min de temps de DEP. Ceci ne contredit pas les résultats XPS.



**Figure III.B.7** Quantité d'insuline chargée dans le film en fonction du temps de dépôt.

### **III.B.8. Voltammogramme cycliques des films formés à différents temps de dépôt**

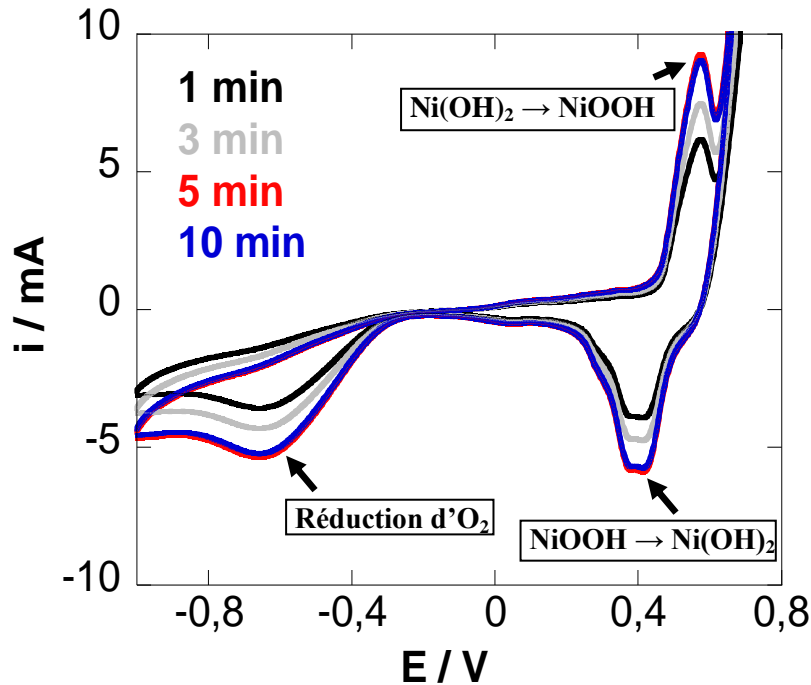
La voltammétrie cyclique des électrodes élaborées sous DEP à 15 V et pour des durées de 1 min, 3 min, 5 min et 10 min, ont été effectuées dans une solution alcaline de NaOH (0,1 M). La figure III.B.8 illustre les résultats obtenus ; les pics de courant d'oxydo-réduction observés à des potentiels anodiques correspond au couple redox Ni(OH)<sub>2</sub>/NiOOH. Les augmentations de courant de crête entre 1 et 5 minutes de temps de dépôt, reflètent un accroissement de la quantités de Ni(OH)<sub>2</sub> dans le nanocomposite en fonction du temps, ceci est en adéquation avec les résultats de l'analyse XPS (tableau III.B.1). Après 10 min d'EPD, une légère diminution des pics est observée.

Cette dernière diminution de Ni(OH)<sub>2</sub> dans le nanocomposite ne doit pas être confondue avec la diminution du pourcentage atomique de Ni révélé par l'XPS. En effet, quand en XPS on voit que le pourcentage atomique de Ni diminue entre 5 et 10 min, la quantité de nickel dans le nanocomposite ne diminue pas, c'est juste le pourcentage qui est réduit. Par contre, ce qui est révélé dans les voltammogrammes de la figure III.B.8, c'est que la quantité de Ni diminue entre 5 min et 10 min, ceci peut être expliqué de la manière suivante : le nickel déposé pendant les 5 premières minutes de DEP ne va en partie "quitter" le nanocomposite quand on prolonge le dépôt jusqu'à 10 minutes ; par contre, en augmentant le temps au-delà de 5 min, le film devient plus massif et dense (comme révélé qualitativement par les images MEB) ce qui a pour principal effet d'empêcher une bonne partie du Ni déposé d'être transformé ultérieurement en Ni(OH)<sub>2</sub> durant l'étape d'électro-activation (cf. chapitre II section II.6) que nous effectuons après chaque dépôt ; d'où cette diminution du pic d'oxydo-réduction durant la voltammétrie cyclique.

D'autre part, on remarque aussi sur les voltammogrammes un large pic cathodique à un potentiel de  $\sim -0.67$  V vs. Ag/AgCl. Selon toute vraisemblance, ce pic correspondrait à la réduction de l'insuline [8-10] qui a été incorporée dans le nanocomposite durant le DEP, une réduction qui induit sa désorption puis sa libération du matériau d'électrode. À ce large pic peut aussi contribuer la réaction de réduction électrocatalytique de l'oxygène, réduction directe à quatre électrons en milieu alcalin selon l'équation:



On remarque que ce pic suit la même variation que les pics d'oxydoréduction relatifs au couple redox Ni(OH)<sub>2</sub>/NiOOH ; et son intensité montre une valeur maximale pour t=5 min ; la réaction de désorption de l'insuline sous potentiels cathodiques semble être favorisée lorsque le nanocomposite est élaborée en une durée de 5 min.

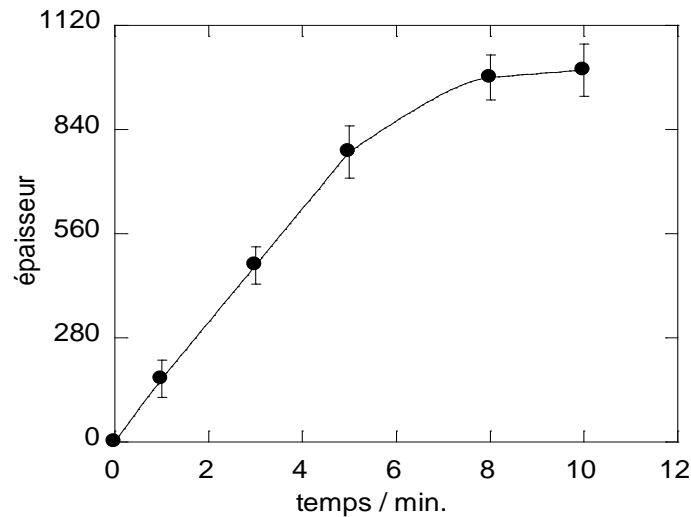


**Figure III.B.8** (A) Voltammogrammes cycliques dans NaOH (0,1 M) pour les films formés à 1 (noir), 3 (gris), 5 (rouge) et 10 min (bleu).

### III.B.9. Variation de l'épaisseur des films en fonction du temps de dépôt

La figure III.B.9 permet de voir la variation de l'épaisseur du film nanocomposite en fonction du temps de dépôt électrophorétique ; l'épaisseur passe de  $170 \pm 50$  nm pour 1 min de dépôt à  $987 \pm 80$  nm pour une durée de 10 min. Dans les 5 premières minutes, l'épaisseur du film augmente linéairement avec le temps de dépôt; après cela, le taux de dépôt ralentit et un film d'épaisseur maximale de  $\sim 1\mu\text{m}$  est atteint. Pour un temps de dépôt de 5 min l'épaisseur du film est de  $784 \pm 70$  nm.

L'épaisseur du film atteint une valeur limite, traduisant probablement l'épuisement des particules de GO/Ni<sup>2+</sup>/Insuline, globalement positives ; en effet, avec le temps, les particules de charge totale positive seront « consommées » et il ne restera que des particules pauvrement nantis en Ni<sup>2+</sup> de telle sorte que leur charge globale est négative ; le dépôt cathodique ne peut plus donc avoir lieu ; le film atteint ainsi son épaisseur limite même s'il reste encore des particules de GO, des Ni<sup>2+</sup> et des molécules d'insuline dans la solution.

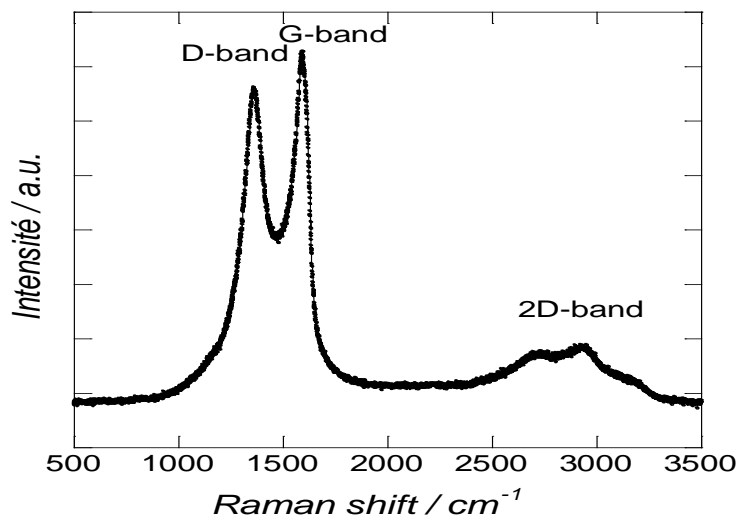


**Figure III.B.9** L'influence du temps de dépôt électrophorétique sur l'épaisseur (en nm) des films de rGO/insuline/Ni(OH)<sub>2</sub>.

### III.B.10. Analyse par spectroscopie Raman du film de RGO/insuline/Ni(OH)<sub>2</sub>

L'analyse par spectroscopie Raman du film de RGO/insuline/Ni(OH)<sub>2</sub> élaboré à 15 V en une durée de 5 min, illustré en figure II.B.10, montre une bande-D à 1350 cm<sup>-1</sup> due au mode de vibration A<sub>1g</sub> des cycles carbonés sp<sup>2</sup> constituant le feuillet de graphène, ce mode n'est activé qu'en présence de défauts/désordre (et son intensité augmente avec ces derniers). Une bande-G à 1580 cm<sup>-1</sup> due à la vibration E<sub>2g</sub> doublement dégénérée, correspondant aux vibrations d'étirement de liaisons sp<sup>2</sup> des cycles carbonés. De plus apparaît une large bande à 2700 cm<sup>-1</sup>, attribuée à la bande 2D qui est l'harmonique de la bande D ; le pic 2D étant très sensible à l'empilement des couches de graphène, il permet une distinction aisée entre le graphène monocouche et le graphène multicouche : pour le cas de ce travail, lorsque les feuillets de graphène sont en monocouche, ils affichent une bande 2D à 2679 cm<sup>-1</sup> sous forme d'un pic étroit ; pour les feuillets multicouches (en moyenne de 6 à 10 couches) la bande 2D apparaît comme un pic élargi avec un shift de 19 cm<sup>-1</sup> vers des nombres d'ondes plus élevés. Dans le cas du présent nanocomposite élaboré, la bande 2D se situe à ~2707 cm<sup>-1</sup>, ce qui indique que les feuillets de RGO sont en multicouches [11,12].

Le rapport d'intensité I<sub>D</sub>/I<sub>G</sub> est de 0,91 ce qui indique un fort taux de défauts/désordre des feuillets de RGO élaboré.



**Figure III.B.10:** Spectre Raman typique du film RGO/insulin/Ni(OH)<sub>2</sub> (15 V, 5 min).

### III.B.11. Oxydation électrocatalytique du glucose par le nano composite

#### RGO/insulin/Ni(OH)<sub>2</sub>

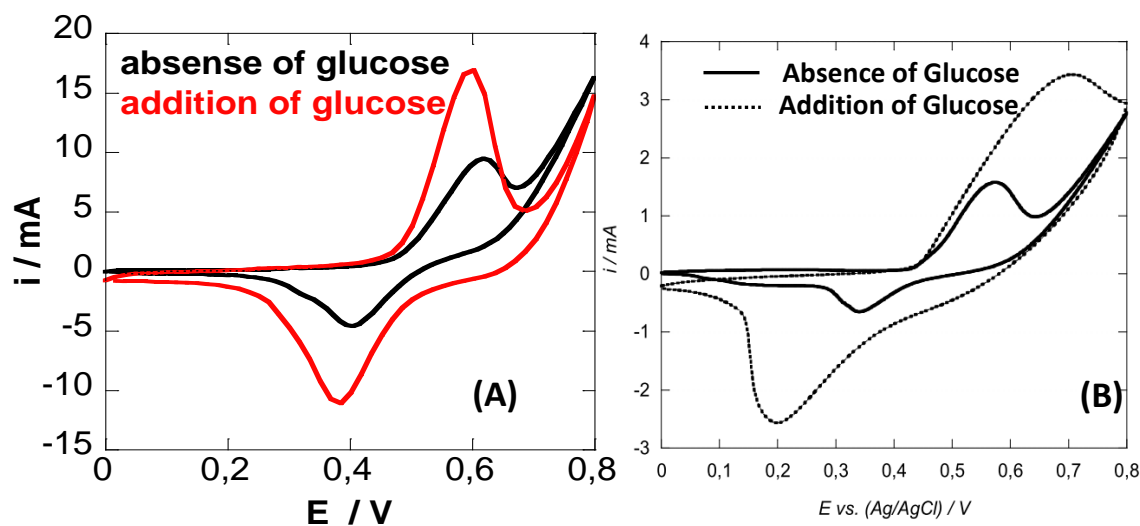
Les performances électrocatalytiques du film composite RGO/insulin/Ni(OH)<sub>2</sub> vis-à-vis de l'oxydation du glucose en milieu alcalin ont été étudiées par voltammétrie cyclique entre 0 V et +0.8 V vs. Ag/AgCl, comme le montre la figure III.B.11 (A) ; sur la même figure se trouve également une voltammétrie cyclique, effectuée dans les mêmes conditions, d'une électrode à base de RGO/Ni(OH)<sub>2</sub>, c'est-à-dire ne contenant pas d'insuline dans le nanocomposite (figure III.B.11 (B)).

La figure III.B.10 permet de comparer ces deux électrodes, on remarque déjà que l'intensité de courant du pic anodique relatif au couple redox Ni(OH)<sub>2</sub>/NiOOH qui était de l'ordre 1.6 mA pour le nanocomposite RGO/Ni(OH)<sub>2</sub> dépasse les 9 mA pour le nanocomposite RGO/insulin/Ni(OH)<sub>2</sub> (presque une augmentation d'un facteur 6) ; il nous paraît évident d'après ces résultats que les conditions d'élaboration du second nanocomposite sont plus favorables à un plus important dépôt de Ni(OH)<sub>2</sub> que les conditions du premier<sup>18</sup>, car rappelons que le pic anodique traduit l'oxydation de Ni(OH)<sub>2</sub> en NiOOH (c'est-à-dire plus on aura de "matière première" plus on aura la possibilité de l'oxyder).

L'effet des molécules d'insuline incorporées dans le second nanocomposite nous paraît affecter surtout le décalage du potentiel du pic anodique ; en effet, pour le nanocomposite

<sup>18</sup> Les conditions d'élaboration qui sont quelque peu différentes, comme le potentiel et le temps de DEP passant des valeurs 15V-5 min pour le RGO/insulin/Ni(OH)<sub>2</sub> à 50V-20 s pour RGO/Ni(OH)<sub>2</sub>, ainsi que la concentration des précurseurs passant de GO (0.5 mg/mL)/NiCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O (0.5 mg/mL) pour le RGO/insulin/Ni(OH)<sub>2</sub> à GO (0.6 mg/mL)/NiCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O (0.6 mg/mL) pour le RGO/Ni(OH)<sub>2</sub>. Les DEP sont toutes effectuées dans un mélange 1: 1 éthanol/eau [5].

RGO/Ni(OH)<sub>2</sub> le potentiel de ce pic passe de 0.57 V à 0.71 V vs. AgAgCl après ajout de glucose (un important décalage vers les potentiels plus anodiques) ; alors que pour le nanocomposite RGO/insulin/Ni(OH)<sub>2</sub> le potentiel de ce même pic passe de 0.62 V à 0.60 V vs. AgAgCl (un léger décalage vers les potentiels plus cathodiques). Ainsi, avec le second nanocomposite, l'oxydation catalytique du glucose paraît électrochimiquement plus favorable.



**Figure III.B.11** (A) Voltammogrammes Cycliques (VC) dans NaOH (0,1 M) avant et après addition de 1 mM de glucose des électrodes (A) RGO/insulin/Ni(OH)<sub>2</sub> formées par DEP à 15 V et en 5 min, (B) RGO/Ni(OH)<sub>2</sub> formées par DEP à 50V et en 20 s [3]; vitesse de balayage dans les deux cas: 50 mV/s.

Dans ce qui suit, nous proposons une description des principales étapes du mécanisme d'électro-oxydation catalytique du glucose sur notre nanocomposite RGO/insulin/Ni(OH)<sub>2</sub>.

Nous commencerons par rappeler qu'il est bien établi en littérature que l'espèce catalytique qui entre en jeu est l'oxyhydroxyde de Ni (III), car en solution alcaline et au potentiel avoisinant +0.6V vs. AgAgCl, il y a un changement du degré d'oxydation des atomes de Ni (qui passe de II à III) par l'oxydation du Ni(OH)<sub>2</sub> en NiOOH.

Lorsqu'on ajoute le glucose à la solution alcaline précédente, on remarque sur le voltamogramme cyclique obtenu que le potentiel d'oxydation du glucose correspond précisément au potentiel du couple redox Ni(OH)<sub>2</sub>/NiOOH<sup>19</sup>, avec un léger décalage vers les potentiels moins anodiques. Ce résultat permet déjà ainsi de noter qu'il n'y a pas une

<sup>19</sup> La plupart des composés organiques oxydables, y compris une large gamme d'alcools et d'amines, l'acide oxalique, l'éthylène glycol, le glycérol, le glucose, l'acide malonique et le mandélique acide, ont tous été trouvés à s'oxyder au même potentiel et ce potentiel a coïncidé exactement avec celui auquel la surface de l'anode de nickel s'oxyde [13].



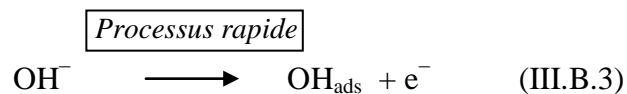
oxydation directe du glucose sur l'électrode, mais que cette oxydation est plutôt provoquée par la formation de NiOOH ; ceci nous permet de proposer le mécanisme suivant concernant le mode déroulement de cette oxydation électro-catalytique du glucose.

D'abord cette oxydation commence quand on atteint le potentiel anodique permettant au nickel de surface d'augmenter son degré d'oxydation, il se produit alors la même réaction que celle qui avait lieu en l'absence de glucose, à savoir :

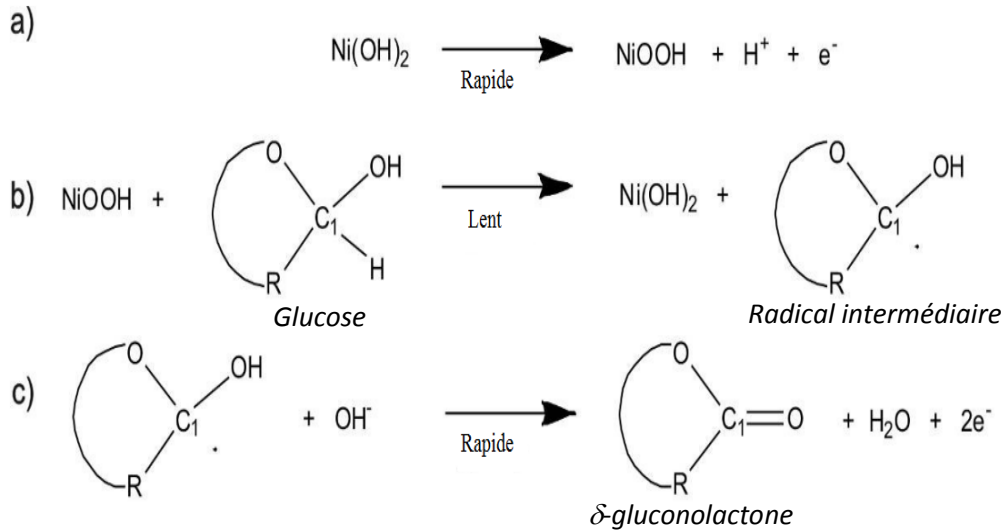


Cette réaction d'oxydation de l'hydroxyde de nickel de surface est considérée comme un *processus rapide*. L'oxydation du glucose au niveau de l'électrode intervient immédiatement après la formation de l'espèce Ni (III) et on a alors la formation du **radical intermédiaire** (figure III.B.12) lors de ce qui est appelé la première déshydrogénation du glucose (c'est-à-dire la libération de l'atome d'hydrogène lié au carbone C<sub>1</sub> – appelé carbone hémiacétalique – de la molécule de glucose) ; cette première déshydrogénation est considérée comme une **étape déterminante de la vitesse** du processus d'oxydation électrocatalytique du glucose.

Au cours de ce même processus, nous avons également une participation active des ions hydroxydes de la solution alcaline. Ceux-ci, quand ils atteignent la surface positive (anode) du matériau d'électrode, libèrent leurs électrons, puis adhèrent à la surface en devenant un **radical hydroxyle adsorbé**, communément noté OH<sub>ads</sub>, selon l'équation III.B.3 suivante :



Cette oxydation des anions OH<sup>-</sup> de la solution sur la surface du nanocomposite est considérée comme un processus rapide. Si le radical hydroxyle OH<sub>ads</sub> obtenu se trouve dans le proche voisinage d'un radical intermédiaire (c'est-à-dire le glucose déshydrogéné), ce dernier subit une seconde déshydrogénation le transformant en δ-gluconolactone. Ces processus sont illustrés de manière abrégée dans le schéma des réactions de la figure III.B.12.



**Figure III.B.12** Le mécanisme proposé pour l'oxydation électrocatalytique du glucose sur le nanocomposite RGO/insulin/Ni(OH)<sub>2</sub> en milieu alcalin: a) Ni(OH)<sub>2</sub> est oxydé en NiOOH catalytiquement actif ; b) le glucose subit une première déshydrogénation produisant le radical intermédiaire et régénérant l'espèce Ni(OH)<sub>2</sub>, c) les ions hydroxyle se déchargent tout en provoquant une déshydrogénation du radical intermédiaire pour donner la  $\delta$ -gluconolactone [3].

Certains auteurs considèrent que les ions hydroxyle de la solution alcaline ont un important rôle à jouer. Au départ, l'anion OH<sup>-</sup> se décharge sur le métal de transition en formant un OH<sub>ads</sub> considéré comme hautement actif et dont l'importance catalytique en ferait le médiateur de l'oxydation du glucose [14]. D'après les résultats expérimentaux de Fleischmann et al. [13], celui-ci conclut que la surface de nickel oxydée contient des radicaux hydroxyles «piégés» et, citant [15], il suppose que l'étape initiale de la réaction d'oxydation du glucose (ainsi que d'un certain nombre d'autres petites molécules organiques) est la production de radicaux hydroxyles au niveau de l'hydroxyde de nickel. Dans son article de Synthèse, Toghil et al. [3] note également que d'après de nombreuses publications il est évident que l'électro-oxydation du glucose coïncide avec l'apparition des OH<sub>ads</sub> adsorbés.

Pour Bockris et al. [16], les orbitales de liaison M<sup>z</sup>-OH (z étant le degré d'oxydation) sont facilement occupées par les électrons des espèces OH<sub>ads</sub> et les électrons provenant des orbitales d des métaux de transition de surface. Bockris établit que la force de liaison de M<sup>z</sup>-OH diminue à mesure que le nombre des électrons d dans le métal de transition augmente. Ainsi, la liaison OH-Ni(OH)<sub>2</sub> est plus faible que la liaison OH-NiOOH [16].

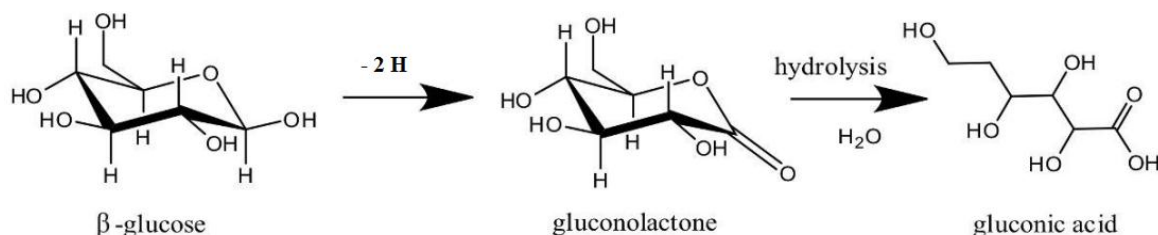
Ceci signifie que l'hydroxyle OH<sub>ads</sub> est plus fortement lié au NiOOH ; mais dès que ce dernier redevient Ni(OH)<sub>2</sub> – en capturant un hydrogène provenant d'une première déshydrogénation du glucose –, sa liaison avec OH<sub>ads</sub> s'affaiblit et celui-ci pourra alors plus facilement se désorber en capturant un hydrogène résultant d'une déshydrogénation du radical intermédiaire

(ou, ce qui revient au même, une seconde déshydrogénation de la molécule de glucose) ; le radical intermédiaire se transforme ainsi en  $\delta$ -gluconolactone, et l'hydroxyle  $\text{OH}_{\text{ads}}$  est désorbé en se transformant en molécule d'eau ( $\text{H}_2\text{O}$ ). Cette désorption de  $\text{OH}_{\text{ads}}$  aura l'avantage de libérer un site de surface pour qu'il puisse recevoir un autre anion  $\text{OH}^-$  apte à être oxydé [16].

Soulignons enfin que même si la réaction d'oxydation de l'anion  $\text{OH}^-$  est un processus rapide, la désorption des  $\text{OH}_{\text{ads}}$  ne l'est pas et elle est considérée, tout comme le processus de première déshydrogénation du glucose, comme une *étape déterminante de la vitesse* du processus d'oxydation électrocatalytique du glucose.

Le produit de la réaction d'électro-oxydation du glucose par l'intermédiaire du catalyseur Ni(III) est généralement considéré comme étant la  $\delta$ -gluconolactone, celle-ci donnera spontanément par hydrolyse de l'acide gluconique (Figure III.B.13).

Enfin nous noterons que, contrairement à ce qui a été observé pour les électrodes à base de Pt ou Au par exemple, l'adsorption du radical intermédiaire sur les électrodes à base de  $\text{Ni(OH)}_2$  n'a pas été confirmée expérimentalement ; ainsi, l'oxydation du glucose et du radical intermédiaire semble se produire principalement en solution plutôt qu'après adsorption de la molécule à la surface du matériau d'électrode [3].



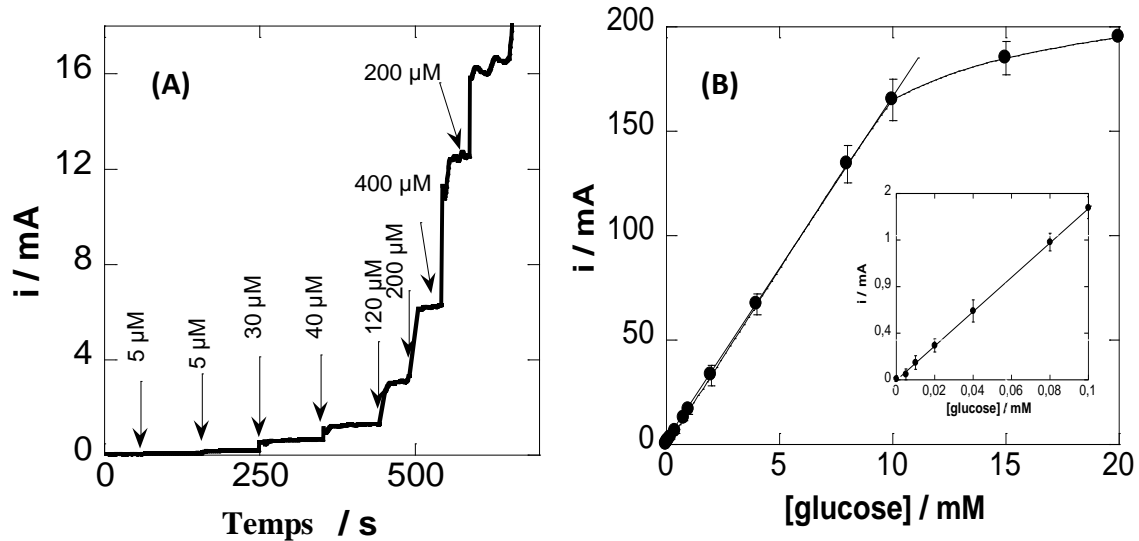
**Figure III.B.13** Molécule de  $\beta$ -D-glucose se transformant en  $\delta$ -gluconolactone puis en acide gluconique [3].

### III.B.12. Sensibilité et limite de détection en fonction du temps de dépôt

La figure III.B. 14 (A) représente Courbe typique de réponse ampérométrique d'électrodes RGO/insulin/Ni(OH)<sub>2</sub> formées par EPD à 15 V en 5 min sous une polarisation de +0,6 V vs. Ag/AgCl et après des additions successives de glucose dans NaOH (0,1 M).

Cette réponse ampérométrique montre une augmentation en escalier lors de l'addition du glucose avec un temps de réponse très rapide, ~7 secondes.

La courbe d'étalonnage de Figure III.B.14. (B) montre une très bonne linéarité ( $R^2 = 0,998$ ) sur un grand intervalle de concentrations (5  $\mu\text{M}$  à 10 mM) avec une pente de  $18,9 \pm 1,5 \text{ mA}\cdot\text{mM}^{-1}\cdot\text{cm}^{-2}$  et une limite de détection de 5  $\mu\text{M}$ .



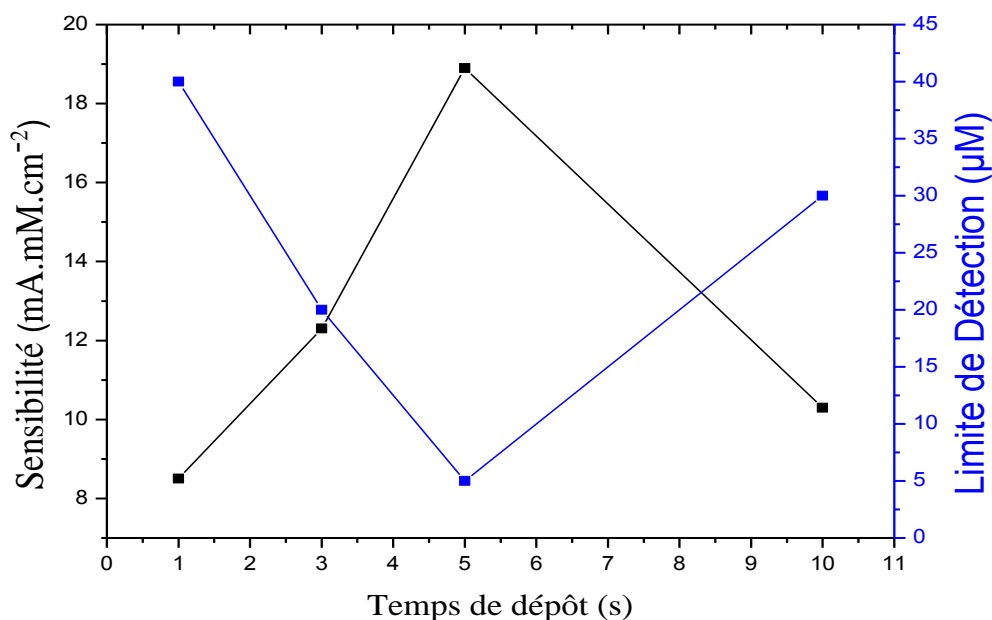
**Figure III.B. 14** (A) Courbe de réponse ampérométrique des électrodes RGO/insulin/Ni(OH)<sub>2</sub> formées par EPD à 15 V en 5 min, sous une polarisation de +0,6 V vs. Ag/AgCl et avec additions successives de glucose dans NaOH (0,1 M) ; (B) courbe d'étalonnage correspondante avec insertion d'un zoom sur les petites concentrations de glucose.

Les réponse ampérométriques des électrodes à base de RGO/insulin/Ni(OH)<sub>2</sub> élaborées par EPD à différentes durées de dépôt ont également été étudiées ; le tableau Tableau.III.B.3 résume les résultats obtenus : la sensibilité et la limite de détection dépendant clairement du temps du dépôt, et les meilleures performances analytiques sont bien celles du temps de dépôt de 5 min ; les courbes de la figure III.B.15 illustrent ces résultats.

Les performances obtenues du nanocomposite d'électrode RGO/insulin/Ni(OH)<sub>2</sub> élaboré sous 15V en 5 min sont par ailleurs très bien positionnées par rapport à ceux présentés dans la littérature, comme le montre le tableau III.B.4. Sur ce même tableau, on peut aussi remarquer l'amélioration des performances quand on est passé du nanocomposite RGO/Ni(OH)<sub>2</sub> élaboré par DEP à 50V-20s sans incorporation d'insuline au nanocomposite RGO/insulin/Ni(OH)<sub>2</sub> élaboré par DEP à 15V-5 min. On présume que cette amélioration est due, entre autres, à l'augmentation de la surface spécifique du nanocomposite résultant de l'accentuation de sa porosité suite à l'incorporation de molécules d'insuline.

Temps de depot (s)	Sensibilité (mA mM <sup>-1</sup> cm <sup>-2</sup> )	Limite de Détection (μM)
1	8.5±1.3	40±3
3	12.3 ±1.3	20±2
5	18.9±1.5	5±1
10	10.3 ±1.3	30±2

**Tableau III.B.3 :** Comparaison des performances analytiques des électrodes RGO/insuline/Ni(OH)<sub>2</sub> en fonction de la durée du DEP.

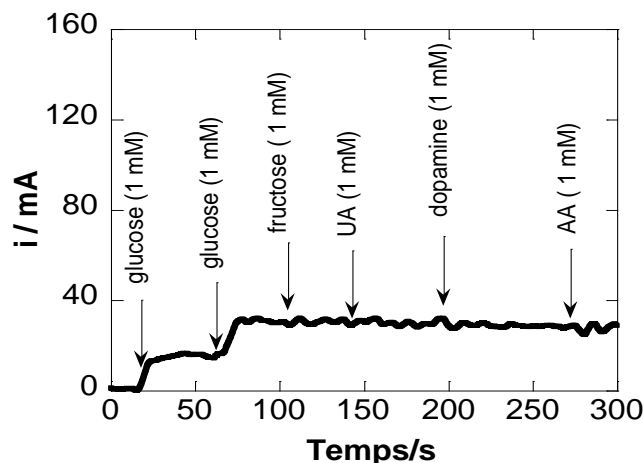


**Figure III.B. 15** Variation de la sensibilité de la limite de détection des électrodes RGO/insuline/Ni(OH)<sub>2</sub> en fonction de la durée de DEP.

Matériau	Domaine linéaire (mM)	Sensibilité (mA cm <sup>-2</sup> mM <sup>-1</sup> )	Limite de Détection (μM)
NiO/MWCNT	0.001 – 5	0.43	160
Nano NiO	0.001 - 0.1	5.59	0.16
NiONPs/GO/GCE	0.003 – 3	1.09	1
porous Ni networks/SPCE	0.0005 – 4	2.9	2.9
Ni(OH) <sub>2</sub> /rGO-MWCNT/GCE	0.01 - 1.5	2.04	2.7
rGO/Ni(OH) <sub>2</sub> (drop casting)	0.002 - 3.1	0.01	0.6
rGO/Ni(OH) <sub>2</sub>	0.02 – 30	11.4±0.3	15
rGO/insulin/Ni(OH) <sub>2</sub> (Elaboré dans ce travail)	0.005 – 10	18.9±1.5	5

**Tableau III.B.4:** Comparaison des performances analytiques des autres capteurs de glucose non-enzymatiques et enzymatiques (MWCNT : multiwalled carbon nanotube; SPCE :Screen-printed carbon electrode) [17].

La Figure III.B.16 montre un test qui est d'une importance capital pour la détection de glucose : c'est le test d'interférences avec les autres molécules organique présente dans le sang et qui peuvent parasiter la détection du glucose. Le résultat de ce test confirme les bonnes performances du nanocomposite RGO/insulin/Ni(OH)<sub>2</sub> élaboré, et aucune notable augmentation du courant anodique n'est décelée quand on ajoute du fructose (1 mM), d'acide urique (1 mM), de dopamine (1 mM) ou d'acide ascorbique (1 mM).



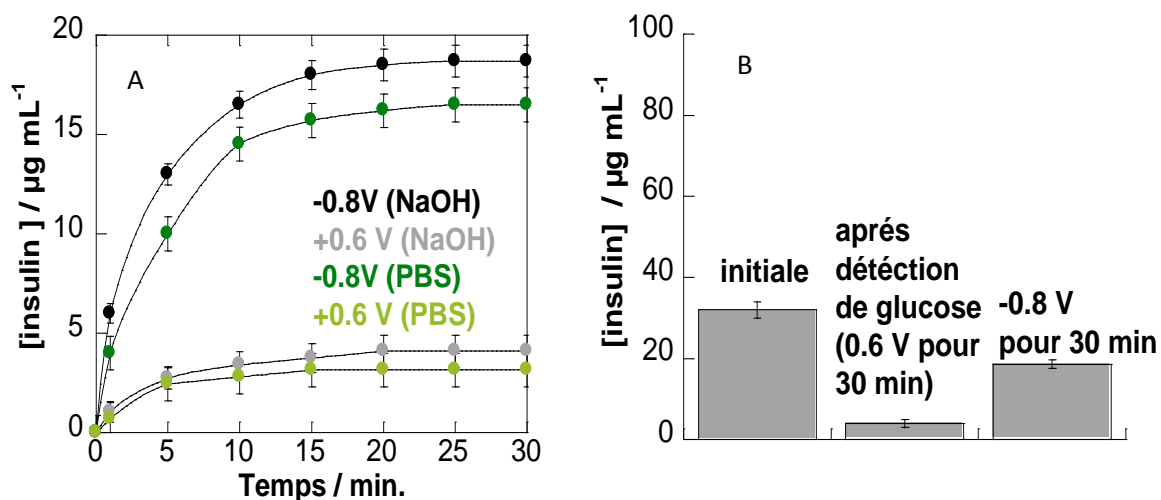
**Figure III.B.16** Test d'interférence du film de RGO/insulin/Ni(OH)<sub>2</sub> dans NaOH 0,1 M à +0,6 V avec 1 mM de glucose en présence de 1 mM de : fructose, glucose, acide urique (UA), dopamine et acide ascorbique (AA).

### III.B.13. Libération électrochimique d'insuline

Pour finir, nous avons étudié la capacité des électrodes élaborées à libérer l'insuline lors de l'application d'une tension négative. Pour ce faire, les électrodes RGO/insulin/Ni(OH)<sub>2</sub> ont été immergées dans le PBS (pH = 7,4) ou le NaOH (0,1 M) puis ont été soumises à un potentiel de  $-0.8$  V vs. Ag/AgCl. La quantité d'insuline relâchée au cours du temps était déterminée par spectrophotométrie UV-Visible et en utilisant les courbes d'étalonnage des Figures II.9 et II.10 (chapitre II). La figure III.B.17 (A) montre la cinétique de libération d'insuline dans des solutions de PBS (pH7.4) et de NaOH (0.1 M) suite à l'application de  $-0.8$  V et  $+0.6$  V vs. Ag/AgCl.

Cette figure indique clairement que la libération électrochimique est bien plus prononcée au potentiel négatif de régulation ( $-0,8$  V vs. Ag/AgCl) qu'au potentiel de détection de glucose ( $+0,6$  V vs. Ag/AgCl). En appliquant le potentiel  $+0,6$  V vs. Ag/AgCl, une plus faible partie de l'insuline est relâchée du matériau d'électrode ( $\sim 4$   $\mu\text{g/ml}$  dans NaOH et  $\sim 3$   $\mu\text{g/ml}$  dans PBS) ; en appliquant le potentiel  $-0,8$  V vs. Ag/AgCl, une importante quantité d'insuline est relâchée ( $\sim 18.75$   $\mu\text{g/ml}$  dans NaOH et  $\sim 16.50$   $\mu\text{g/ml}$  dans PBS). Ainsi, dans le PBS la

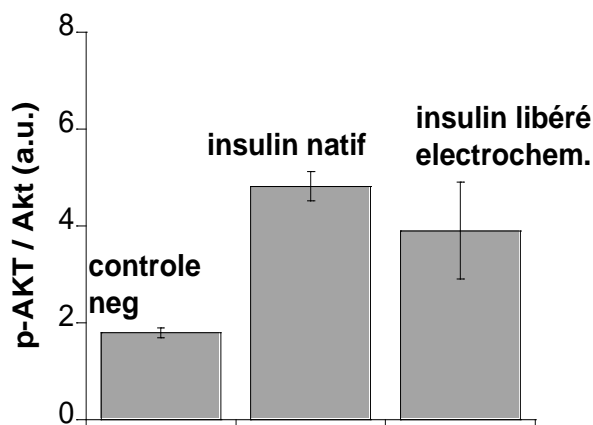
quantité d'insuline larguée est multipliée par un facteur 5.5 quand on passe du potentiel de détection au potentiel de régulation ; alors que dans NaOH elle est seulement multipliée par un facteur 4.7 ; ceci est bien illustrée par l'histogramme de la figure III.B.17 (B).



**Figure III.B.17** (A) Cinétique de libération d'insuline à partir de l'électrode de RGO/insulin/Ni(OH)<sub>2</sub> dans le PBS (pH 7,4) et NaOH (0,1 M) à un potentiel de -0,8 V et +0,6 V vs. Ag/AgCl; (B) histogramme montrant les proportions d'insuline libérée selon le potentiel appliqué à l'électrode.

Enfin, nous devons aussi vérifier que ni le dépôt électrophorétique, ni la libération électrochimique lors de la détection ou de la régulation, ne modifient l'action physiologique et métabolique de l'insuline. Pour cela nous avons utilisé des cellules hépatiques humaines HepG2 qui ont été cultivées en présence d'insuline native ou électrochimiquement libérée. L'insuline agit sur les cellules HepG2 par son récepteur qui, après liaison, induit une voie de signalisation conduisant à la phosphorylation de la protéine kinase B (p-Akt<sup>20</sup>). L'activation de cette celle-ci par l'insuline est une clé pour déclencher l'utilisation du glucose, la synthèse de glycogène et de lipides (acides gras et glycérol) par le foie.

<sup>20</sup> Akt: est la protéine kinase B, aussi appelée **PKB**.



**Figure III.B.18** L'activité de l'insuline exprimée par le rapport entre la p-Akt et l'Akt, pour l'insuline native et l'insuline libérée par voie électrochimique, par rapport à un témoin négatif (cellules sans traitement par l'insuline), déterminée sur des cellules HepG2. Les résultats sont exprimés par la moyenne d'au moins trois échantillons indépendants pour chaque groupe.

La figure III.B.18 montre l'augmentation de la phosphorylation d'Akt en réponse à l'insuline native. Akt est également activée par l'insuline libérée par voie électrochimique, un peu moins que par l'insuline native mais toujours de manière notable. Cela confirme que le dépôt électrophorétique et la libération électrochimique ont gardé une insuline non endommagée et non dénaturée.

### Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons élaboré un film nanocomposite fonctionnel constitué d'oxyde de graphène, Ni(OH)<sub>2</sub> et d'insuline déposé sur une fine couche d'or, en utilisant le dépôt électrophorétique (EPD). Les ions de nickel ont modifié le potentiel zêta de la solution colloïdale d'oxyde de graphène, rendant ce dernier chargé positivement ; l'intégration de l'insuline n'a pas modifié le signe de cette charge ce qui a permis le dépôt électrophorétique cathodique.

Des films avec une répartition assez homogène de RGO, Ni(OH)<sub>2</sub> et d'insuline ont été préparés avec succès, comme cela a été montré par les cartographies EDX. Le temps de déposition électrophorétique a été identifié comme un des facteurs essentiels dans la détermination de la morphologie des couches finales nanocomposites, ce qui a une influence directe sur les performances de ces films pour la détection non-enzymatique du glucose et pour le largage d'insuline.

Les films déposés pendant 5 minutes en utilisant un potentiel continu de 15 V ont montré le meilleur comportement électrocatalytique vis-à-vis du glucose. Bien que la limite de détection



est à environ 5  $\mu\text{M}$ , elle reste comparable à celle enregistrée sur les électrodes formées en l'absence d'insuline (RGO/Ni(OH)<sub>2</sub>) ; la sensibilité de ce capteur non-enzymatique de glucose est aussi élevée que  $18,9 \pm 1,5 \text{ mA mM}^{-1} \text{ cm}^{-2}$ . En outre, ces films peuvent être utilisés pour la régulation du glucose à travers le largage d'insuline au potentiels  $-0.8 \text{ V vs. AgAgCl}$ .

La possibilité de réaliser des revêtements multifonctionnels par EPD, incorporant des nanostructures catalytiques pouvant assurer le double rôle de détection et de régulation est un important résultat qui ouvre une voie prometteuse dans le domaine des biocapteurs de glucose.

## Références

- [1] Y. Mu, D. Jia, Y. He, Y. Mia, H.-L. Wu, *Biosens. Bioelectron.* 26 (2011) 2948.
- [2] A. Safavi, N. Maleki, E. Farjami, *Biosens. Bioelectron.* 24 (2009) 1655.
- [3] K. E. Toghill, L. Xiao, M. A. Phillips, R. G. Compton, *Sens. Actuators B* 147 (2010) 642.
- [4] Q. Wang, I. Kaminska, J. Niedziolka-Jonsson, M. Opallo, L. Musen, R. Boukherroub, S. Szunerits, *Biosens. Bioelectron.* 50 (2013) 331.
- [5] P. Subramanian, J. Niedziolka-Jonsson, A. Lesniewski, Q. Wang, M. Li, R. Boukherroub, S. Szunerits, *Journal of Materials Chemistry A*, 2(15) (2014) 5525.
- [6] P. Subramanian, A. Lesniewski, I Kaminska, A. Vlandas, A. Vasilescu, J. Niedziolka-Jonsson, E. Pichonat, H. Happy, R. Boukherroub, S. Szunerits, *Biosens. Bioelectron.* 50 (2013) 243.
- [7] P. Subramanian, F. Barka-Bouaifel, J. Bouckaert, N. Yamakawa, R. Boukherroub, S. Szunerits, *ACS Appl. Mater. Interfaces* 6 (2014) 5422.
- [8] Marian T. Stankovich, Allen J. Bard, *J. Electroanal. Chem.* 85 (1977) 73.
- [9] Zulkarnain, Fredy Kurniawan, Taslim Ersam, Suprpto, *ARPN Journal of Engineering and Applied Sciences* Vol. 11 no. 11 (2016) 6721.
- [10] Zulkarnain, Suprpto, Taslim Ersam, Fredy Kurniawan, *Indonesian Journal of Electrical Engineering and Computer Science* vol. 3 no. 3 (2016) 496.
- [11] D. Graf, F. Molitor, K. Ensslin, C. Stampfer, A. Jungen, C. Hierold, L. Wirtz, *Nano Letters* vol. 7 no. 2 (2007) 238.
- [12] Andrea C. Ferrari, *Solid State Communications* 143 (2007) 47.
- [13] M. Fleischmann, K. Korinek, D. Pletcher, *J. Electroanal. Chem.* 31 (1971) 39.
- [14] L. D. Burke, *Electrochimica Acta.* vol. 39 no. I1/12 (1994) 1841.
- [15] R. Konaka, S. Tera, K. Kuruma, *J. Org. Chem.* 34 (1969) 1334.
- [16] J. O'M. Bockris, Z. S. Minevski, *Electrochimica Acta* vol. 39 no.11/1 (1994) 1471.
- [17] Hakim Belkhalifa, Florina Teodorescu, Gurvan Quéniat, Yannick Coffinier, Nahed Dokhan, Sabrina Sam, Amar Abderrahmani, Rabah Boukherroub, Sabine Szunerits, *Sensors and Actuators B* 237 (2016) 693.

## **Partie-C**

# ***Capteurs de glucose à base de films CNFS / Co (OH)<sub>2</sub>***

### **III.C.1. Introduction**

Vu l'aptitude des nanostructures d'oxyde de cobalt à présenter des propriétés électrocatalytiques intéressantes pour la détection du glucose [1-3], nous avons consacré cette dernière partie de thèse à la synthèse d'un nouveau matériau nanocomposite à base de Co(OH)<sub>2</sub> et de nanofibres de carbone (NFC). Ces dernières ont été incorporées à l'électrode à cause des effets catalytiques synergiques déjà remarqués lorsque des nanostructures d'oxyde de cobalt étaient associées à du RGO (oxyde de graphène réduit), à des NTC (nanotubes de carbone) ou d'autres nanostructures carbonées [4-8]. La haute conductivité de ces nanostructures de carbone les rend idéales pour les applications de détection électrochimiques [9,10] d'autant plus qu'elles semblent être particulièrement bien adaptées pour l'ancrage des nanoparticules d'oxydes ou d'hydroxydes métalliques.

Ainsi, nous consacrons cette partie à l'élaboration et à l'étude du dépôt d'un film nanocomposite à base de NFC/Co(OH)<sub>2</sub> sur une couche d'or, par le procédé DEP (dépôt électrophorétique). L'activité électrocatalytique de l'électrode obtenue envers le glucose sera déterminée et ses performances analytiques relatives à la sensibilité, à la limite de détection, au temps de réponse et à la stabilité seront discutées.

### **III.C.2. Synthèse par DEP de nanocomposites du CNFS/Co(OH)<sub>2</sub>**

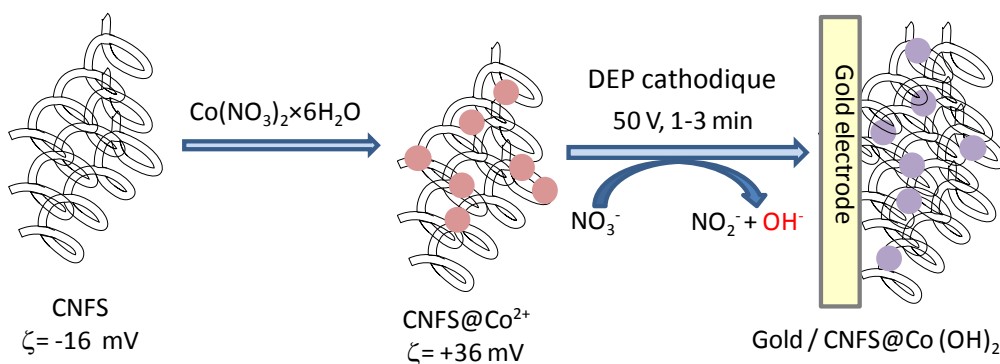
Avant le dépôt électrophorétique du nanocomposite CNFS/Co(OH)<sub>2</sub>, le potentiel zêta des NFC a été mesuré dans l'éthanol. Le potentiel mesuré était  $-16.2 \pm 1$  mV, ce qui indique une surface des NFC chargée négativement, ceci est idéal pour favoriser l'adsorption de cations métalliques se trouvant dans la solution. Le mélange NFC et Co(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O en rapport 2: 1 (200: 100 µg ml<sup>-1</sup> dans l'éthanol) donne un potentiel zêta total positif ( $\zeta = + 35.5 \pm 0.7$  mV), confirmant ainsi l'adsorption des ions Co<sup>2+</sup> sur la surface des NFC.

La déposition électrophorétique (DEP) a été effectuée en utilisant une cellule à deux électrodes, séparées par une distance de 1 cm. Une feuille de platine (1x2 cm<sup>2</sup>) a servi

d'anode et un substrat d'or (50 nm d'épaisseur) a servi de cathode. Pour les protocoles de DEP, une suspension de NFC (0,5 mg.ml<sup>-1</sup>) et de Co(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O est préparée dans l'eau désionisée, sous un potentiel de 50 V. Le rapport de concentration de NFC par rapport à Co(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O a été modifié comme suit: 1:1, 2:1 ou 1:2 et pour chaque rapport, trois durées ont été testées : 1min, 2min et 3 min. Après le dépôt, les échantillons ont été rincés avec de l'eau désionisée (trois fois), suivi d'un séchage sous un flux d'azote. Les conditions optimales retenues sont : 0,5 mg.ml<sup>-1</sup> Co(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O pour 0,5 mg.ml<sup>-1</sup> NFC, en appliquant un voltage continu de 50 V pendant 2 minutes.

### III.C.3. Processus de Formation du nanocomposite NFC/Co(OH)<sub>2</sub>

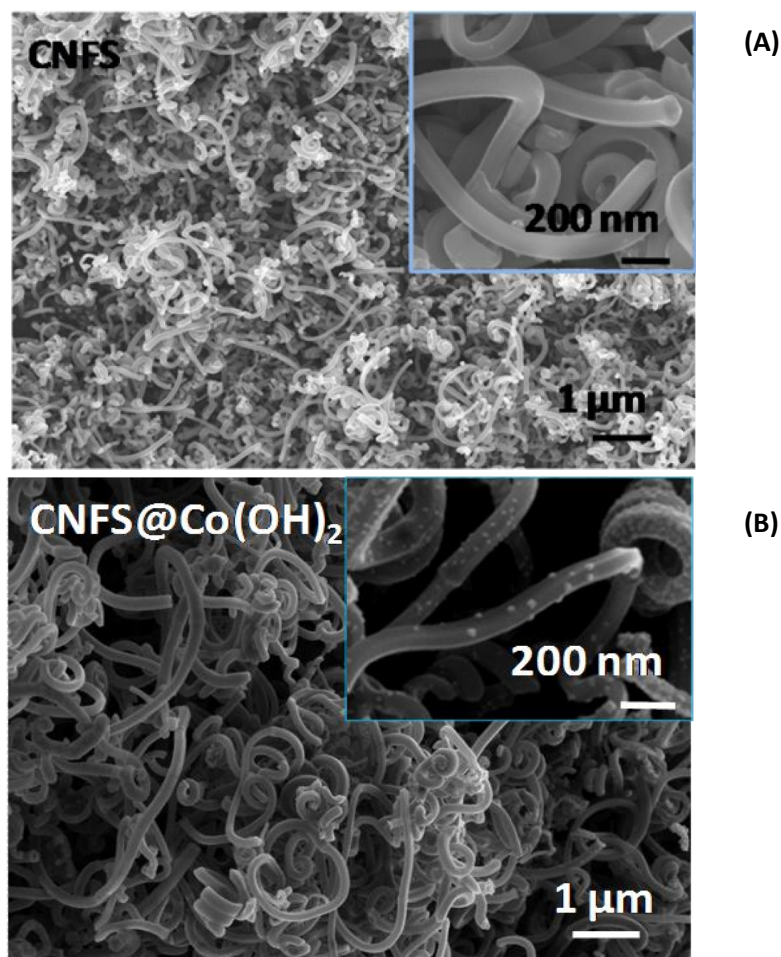
L'application d'une tension continue de 50 V à une solution aqueuse contenant des ions Co<sup>2+</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup> et des NFC sous forme colloïdale, aboutit à la formation cathodique du nanocomposite NFC/Co(OH)<sub>2</sub>. La figure III.C.1. représente schématiquement le déroulement du processus de DEP : la charge positive des NFC/Co<sup>2+</sup> permet aux particules colloïdales de se déplacer vers la cathode sous l'effet du champ électrique existant entre l'anode et la cathode. Les réactions électrochimiques envisagées sont comme suit:



**Figure III.C.1** Représentation schématique de la formation des films NFC/Co(OH)<sub>2</sub> par DEP.

### III.C.4. Morphologie des films obtenus

L'image MEB de la figure III.C.2.(A) représente un film de NFC déposé par goutte (*Drop-cast*) sur un film mince d'or; la figure III.C.2.(B) montre la micrographie MEB du nanocomposite NFC/Co(OH)<sub>2</sub> déposé selon les conditions précédemment citées en une durée de dépôt de deux minutes, sur un film mince d'or. On remarque qu'après ajout de Co(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O à la solution de DEP, la morphologie du réseau de NFC reste bien conservée, mais leur surface devient partiellement décorée avec des nanoparticules de 20-50 nm de diamètre, comme cela est visible sur l'encart de la figure III.C.2.B.



**Figure III.C.2** Images MEB (A) de films NFC déposés par goutte (*Drop-cast*) et (B) de films NFC/Co(OH)<sub>2</sub> formés par DEP à 50V pendant un temps de dépôt de 2 min.

### III.C.5. L'influence du temps de dépôt sur l'épaisseur du nanocomposite

La figure III.C.3 montre la dépendance de l'épaisseur du matériau nanocomposite avec le temps de dépôt. L'épaisseur est mesurée en utilisant un profilomètre de surface (Alphastep QI). On remarque une augmentation qui semble linéaire de l'épaisseur du nanocomposite pendant les 2 premières minutes de DEP, puis commence à atteindre un certain plateau.

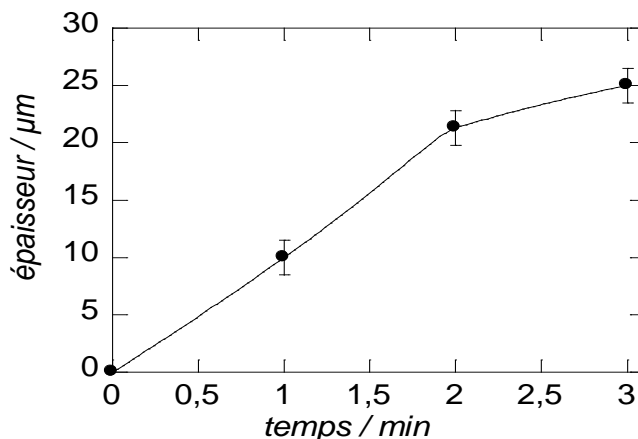


Figure III.C.3 Influence du temps de dépôt sur l'épaisseur du matériau nanocomposite.

### III.C.6. La composition chimique du composite CNFS @ Co(OH)<sub>2</sub>

La composition chimique du nanocomposite NFC/Co(OH)<sub>2</sub> a été examinée par spectroscopie de photoélectrons X (XPS), figure III.C.4. Le spectre XPS haute résolution de Co<sub>2p</sub> montre deux pics caractéristiques centrés à 781.2 et 797.1 eV, correspondant respectivement à Co<sub>2p<sub>3/2</sub></sub> et à Co<sub>2p<sub>1/2</sub></sub>. La position des bandes aussi que la séparation de la bande de 15,9 eV confirme que le Co existe principalement sous forme d'hydroxyde Co(OH)<sub>2</sub> [9,10]. Les bandes à 785,7 et 802,9 eV sont des bandes satellites de Co<sup>2+</sup> [9, 10]. Le pourcentage atomique de Co a été estimé à 12,5% avec un rapport atomique C/Co = 3,1. La figure III.C.4 montre aussi le spectre C1s du nanocomposite de NFC/Co(OH)<sub>2</sub>, le pic principal à 284,8 eV a été affecté au carbone sp<sup>2</sup> des nanofibres. Les autres pics peuvent être affectés au carbone sp<sup>3</sup> à 285,2 eV, à la liaison C-O à 286,4 eV, et à la liaison O-C=O à 289,9 eV [11].

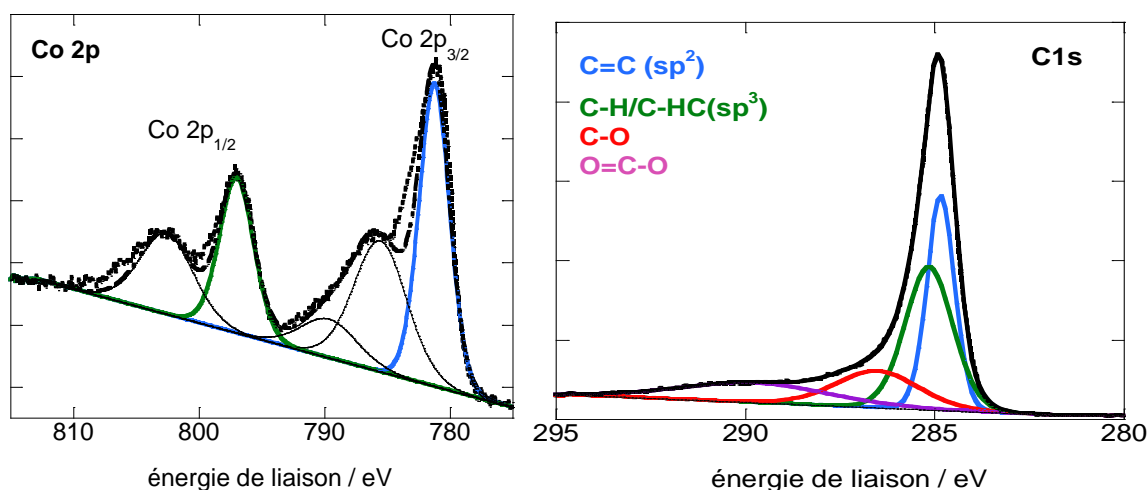


Figure III.C.4 Spectres XPS à haute résolution de Co<sub>2p</sub> et C1s des films de NFC/Co(OH)<sub>2</sub> déposés par DEP à 50 V pendant 2 min.

### III.C.7. Mesure de la surface spécifique de NFC/Co(OH)<sub>2</sub>

La surface spécifique de NFC/Co(OH)<sub>2</sub> a été déterminée par l'analyse d'isotherme d'adsorption-désorption d'azote (figure III.C.5). La surface spécifique a été calculée en utilisant le modèle de Langmuir et le modèle de Brunauer-Emmet-Teller (BET) (cf. Chapitre II section II.9.6), qui ont respectivement donné les valeurs de 68,9 m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup> et 98,8 m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup>. Ces valeurs sont comparables à celles des nanotubes de carbone qui ont des surfaces spécifiques théoriques de 50 à 1315 m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup>, selon leur structure [12].

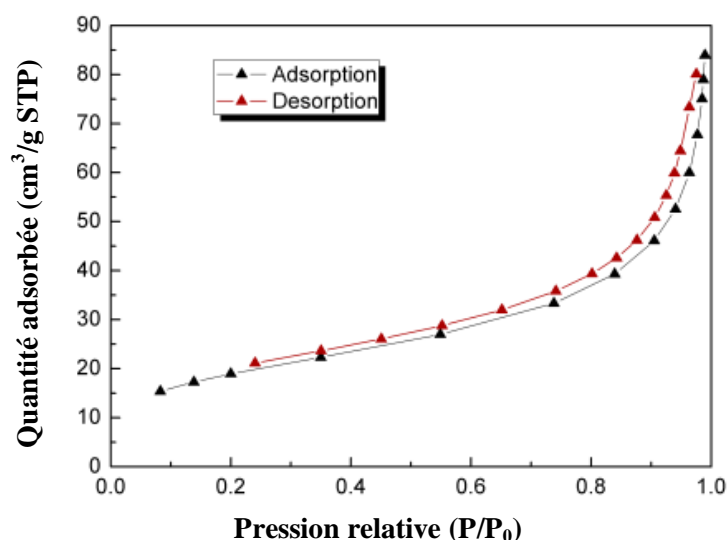


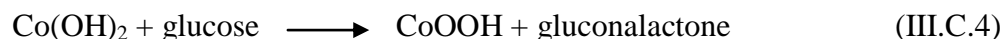
Figure III.C.5 Analyse d'isotherme d'adsorption-désorption d'azote des films NFC/Co(OH)<sub>2</sub> déposés par DEP à 50 V pendant 2 min.

### III.C.8. Oxydation électrocatalytique du glucose sur le nanocomposite NFC/Co(OH)<sub>2</sub>

La figure III.C.6 (A) montre le voltammogrammes cyclique (VC) dans une solution de NaOH de 0.1 M du nanocomposite NFC/Co(OH)<sub>2</sub> élaborée par DEP à 50 V pendant 2 min sur un film d'or (courbe en noir) ; sur cette même figure se trouve la voltammétrie cycliques de NFC déposés par drop-casting sur un film d'or (courbe en gris). Alors qu'aucune forme n'est observée sur le VC du film des NFC, le VC du composite NFC/Co(OH)<sub>2</sub> affiche une paire de pics d'oxydoréduction comprise entre 0,05V et 0,4 V vs. Ag/AgCl ; ces pics sont assignés respectivement à la transition réversible entre Co(OH)<sub>2</sub> et CoOOH [13,14] ; le courant anodique est d'environ 1,25 mA.

L'addition de glucose (1 mM), figure III.C.6 (B), n'a aucun effet décelable sur le VC du film de NFC alors qu'elle entraîne une augmentation importante du courant anodique pour le film

nanocomposite NFC/Co(OH)<sub>2</sub>; ceci est dû à l'oxydation électrocatalytique rapide du glucose par le biais du couple redox Co(OH)<sub>2</sub>/CoOOH, selon l'équation suivante<sup>21</sup>:



La figure III.C.6 (C) montre, pour une couche de Co(OH)<sub>2</sub> déposée dans les mêmes conditions mais sans NFC, le voltammogramme cyclique dans une solution alcaline sans (trait plein) et avec (trait pointillé) ajout de glucose. En comparant cette figure avec les figures III.C.6 (A) et (B), on peut remarquer deux améliorations, l'une faible et l'autre notable : d'abord l'introduction des NFC permet une légère augmentation de l'intensité du pic anodique (de ~48.5 à ~49.5 mA.cm<sup>-2</sup>), cela s'explique par l'amélioration du transfert de charges via les NFC qui ont de bonnes propriétés de conduction électrique; puis il y a l'importante amélioration de l'intensité du pic anodique lorsqu'on ajoute le glucose (de ~53.5 pour Co(OH)<sub>2</sub> à ~71 mA.cm<sup>-2</sup> pour NFC/Co(OH)<sub>2</sub>); ainsi, l'introduction de NFC semblent promouvoir l'effet catalytique de l'électro-oxydation du glucose par le couple redox Co(OH)<sub>2</sub>/CoOOH; c'est ce que l'on appelle l'effet synergique dû à la combinaison NFC-Co(OH)<sub>2</sub>.

D'autre part, on remarque aussi un décalage du potentiel du pic anodique vers des valeurs plus anodiques lorsqu'il y a ajout de glucose. Ainsi, pour le film de Co(OH)<sub>2</sub> ce potentiel passe de ~0.36 V à 0.43 V vs. AgAgCl (décalage de 70 mV), et pour le films NFC/Co(OH)<sub>2</sub> le potentiel passe de ~0.42 V à 0.55 V vs. AgAgCl (décalage de 130 mV). Le nanocomposite NFC/Co(OH)<sub>2</sub> montre visiblement un plus important décalage vers les potentiels plus anodiques ; rappelons que nous avons déjà rencontré un comportement semblable avec Ni(OH)<sub>2</sub> (partie III.B section III.B.11 et figure III.B.10) et nous avons alors remarqué qu'une modification des conditions de dépôt (passant d'un DEP à 50V 20 s à un DEP à 15 V 5 min) avait permis de passer d'un notable décalage vers les potentiel plus anodiques, lors de l'ajout de glucose, à un léger décalage vers les potentiels plus cathodiques (ceci constitue une voie possible d'amélioration à explorer dans un travail futur).

D'un autre côté, on remarque aussi que l'introduction de NFC dans le matériau d'électrode produit un décalage du potentiel du couple redox Co(OH)<sub>2</sub>/CoOOH ; en effet, ce potentiel passe de 0.36 V pour Co(OH)<sub>2</sub> à 0.42 V pour le film NFC/Co(OH)<sub>2</sub> (décalage de 60 mV).

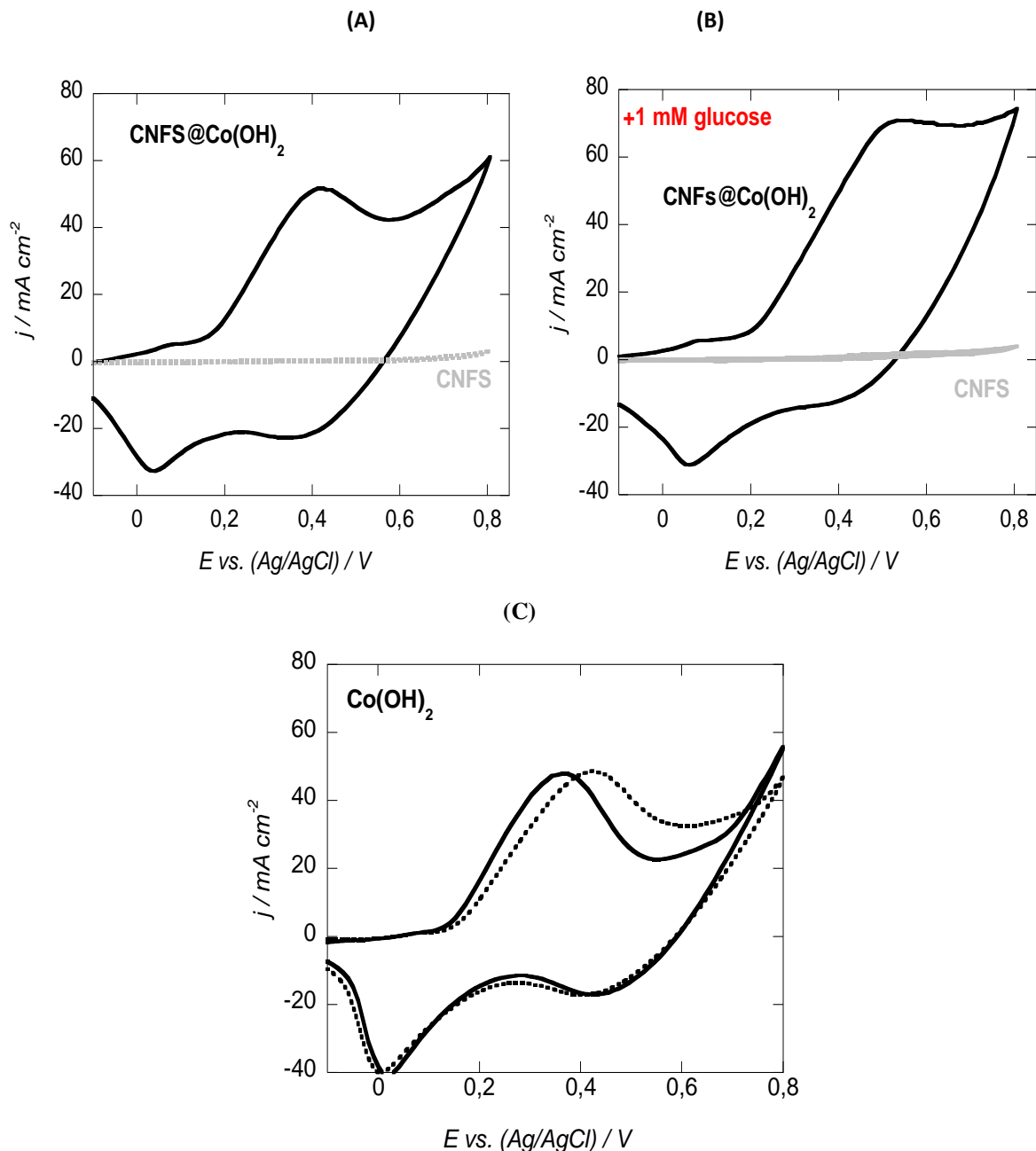
Ainsi, l'introduction de NFC dans le matériau d'électrode aussi bien que l'ajout de glucose dans la solution alcaline de détection, induisent une variation du potentiel du couple redox

---

<sup>21</sup> Pour une approche plus détaillée du processus, consulter la partie III.B section III.B.11.



Co(OH)<sub>2</sub>/CoOOH ; une influence de ces deux facteurs sur les niveaux d du métal de transition nous semble probable.



**Figure III.C.6** Voltammogrammes cycliques (VC) dans NaOH à 0,1 M avec une vitesse de balayage de  $50 \text{ mVs}^{-1}$  de (A) NFC/Co(OH)<sub>2</sub> déposé par DEP 50V 2 min (courbe noir) et NFC déposé par drop-casting (courbe grise), (B) mêmes films en présence de 1 mM de glucose, (C) VC d'un dépôt de Co(OH)<sub>2</sub> obtenus par DEP sur un film d'or sans (trait plein) et avec (trait pointillé) ajout de 1 mM de glucose.

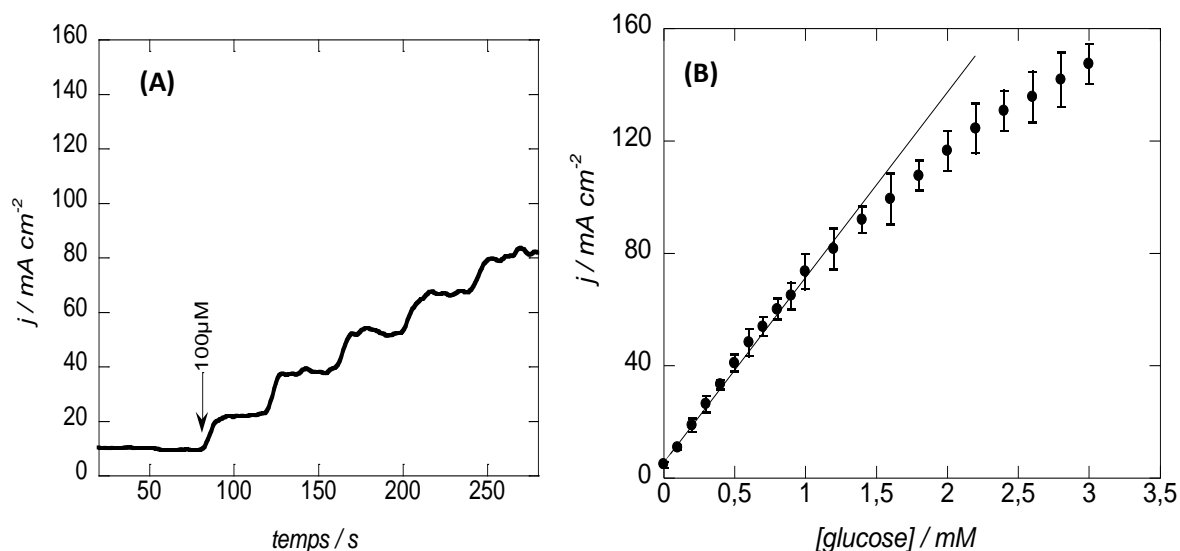
### **III.C.9. Détection ampérométrique**

Pour confirmer l'aptitude pour la détection du glucose en milieu alcalin d'électrodes d'or modifiées par dépôt électrophorétique de films nanocomposites NFC/Co(OH)<sub>2</sub>, une courbe de réponse ampérométrique à des additions successives de glucose a été réalisée. Cette détection chronoampérométrique est effectuée en solution alcaline (NaOH, 0.1 M) saturée en azote et sous agitation, en appliquant un potentiel constant de + 0,55 V vs. Ag/AgCl.

Pour chaque addition de glucose, le courant est mesuré une fois que le courant de fond est devenu stable (après ~100 s).

Comme on le voit sur la figure III.C.7(A), l'intensité du courant anodique montre une augmentation permanente lors de l'addition du glucose avec un temps de réponse très rapide (~5 s). Les valeurs du courant de l'état d'équilibre pour chaque palier ont été utilisées pour établir la courbe d'étalonnage. Comme le montre la figure III.C.7 (B), une excellente linéarité ( $R^2 = 0,999$ ) est observée sur une plage de concentration allant de 10  $\mu\text{M}$  à 0.12 mM, offrant une sensibilité de  $68 \text{ mA}\cdot\text{mM}^{-1}\cdot\text{cm}^{-2}$  (obtenue grâce à la droite d'étalonnage:  $j(\text{mA}\cdot\text{cm}^{-2}) = 5.3 + 68 \times [\text{concentration de glucose, mM}]$ ). La limite de détection de l'électrode a été estimée à ~5  $\mu\text{M}$  (signal/bruit = 3). Le tableau III.C.1 permet de comparer les performances analytiques des autres capteurs non-enzymatiques de glucose publiés depuis 2010 avec celui proposé dans ce travail. La sensibilité obtenue avec notre nanocomposite est tout à fait remarquable, et dépasse de très loin celles des autres capteurs même ceux utilisant des nanotubes de carbone. Reste à améliorer la plage de détection, comme par exemple pour le nanocomposite RGO-chitosan-Cu/Co [5] dont le domaine de linéarité arrive à atteindre 6.95 mM.

Aussi, la reproductibilité des performances de notre capteur a été étudiée en testant sa réponse ampérométrique à l'état stationnaire après ajout de 1 mM de glucose à quatre électrodes NFC/Co(OH)<sub>2</sub> préparées séparément mais de manière similaire ; un écart-type relatif de 5,3% de la réponse ampérométrique a été observé. La stabilité à long terme du capteur de glucose élaboré a également été évaluée, elle montre une perte de 1,5% dans la réponse ampérométrique (lors de l'essai avec une solution à 1 mM de glucose) après que l'électrode ait été stockée à température ambiante pendant un mois.



**Figure III.C.7** (A) La courbe chronoampérométrique de l'électrode d'or modifiée par DEP de film NFC/Co(OH)<sub>2</sub>, sous une polarisation de 0,55 V vs. Ag/AgCl et après des additions successives de glucose (100 μM puis 200 μM) dans le NaOH 0,1 M; (B) Courbe d'étalonnage correspondante.

**Tableau III.C.1.** Comparaison des performances analytiques de notre nanocomposite NFC/Co(OH)<sub>2</sub> avec d'autres capteurs non enzymatiques à base de Co.

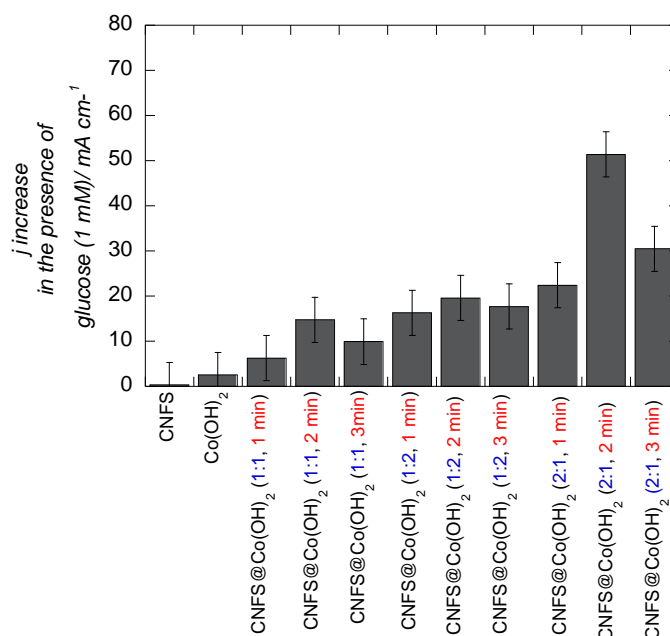
Matériau	Domaine linéaire (mM)	Sensibilité (mA cm <sup>-2</sup> mM <sup>-1</sup> )	Limite de Détection (μM)
Co <sub>3</sub> O <sub>4</sub> - carbone macroporeux ordonné	0.01-0.8	2.6	10
Co <sub>3</sub> O <sub>4</sub> nanofibres	Jusqu'à 2	0.034	0.97
CoO nanotiges	Jusqu'à 3.5	0.57	0.06
Graphène-Co <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	0.05 - 0.3	–	10
Mousse de Graphène-Co <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	Jusqu'à 0.1	3.4	0.025
Co <sub>3</sub> O <sub>4</sub> poreux 3D	0.01 – 0.3	0.47	0.1
Co <sub>3</sub> O <sub>4</sub> /PbO <sub>2</sub> Réseau Nanotiges	0.005 – 1.2	0.46	0.31
CNTs/CoO/Co(OH) <sub>2</sub>	Jusqu'à 4.5	0.162	2
RGO-chitosan-Cu/Co	0.015 – 6.95	1.92	10
<b>CNFS/Co(OH)<sub>2</sub></b> (Elaboré dans ce travail)	0.003 – 1.5	69	1

### III.C.10. Sensibilité de détection en fonction du temps de dépôt électrophorétique

Afin d'optimiser la détection de glucose, nous avons modifié certains paramètres expérimentaux, comme la durée du dépôt électrophorétique et le rapport de concentration entre NFC et Co(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O dans la solution de dépôt ; nous avons alors mesuré pour chaque électrode élaborée l'intensité du courant anodique après ajout de 1 mM de glucose dans la

solution alcaline (NaOH 0.1 M) de détection. La figure III.C.8 résume les résultats obtenus sous forme d'histogramme. Le plus fort comportement électrocatalytique est observé pour le nanocomposite NFC/Co(OH)<sub>2</sub> élaboré pendant une durée de 2 minutes à partir d'une solution aqueuse contenant des NFC et du Co(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O sous un rapport molaire 2:1.

Sur cette même figure on remarque que, quel que soit les paramètres d'élaboration du nanocomposite NFC/Co(OH)<sub>2</sub>, la réponse de ce dernier est toujours meilleure que celle de Co(OH)<sub>2</sub> seul (faible) ou de NFC seules (insignifiant). L'effet synergique est ainsi tout à fait visible.



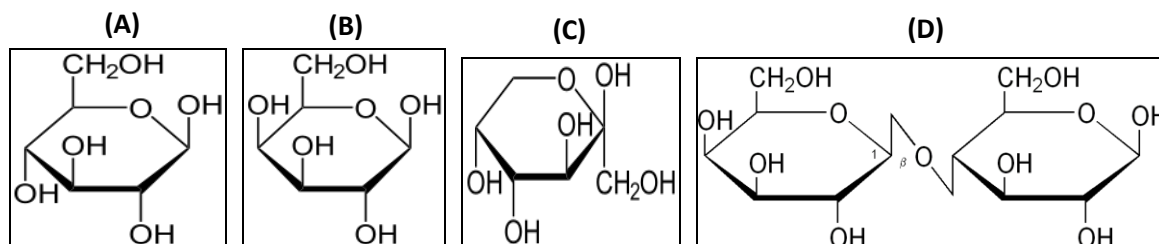
**Figure III.C.8** Comparaison de la réponse ampérométrique des films de NFC, de Co(OH)<sub>2</sub> et des films nanocomposite NFC/Co(OH)<sub>2</sub> formés par DEP en variant le rapport NFC/Co(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O et le temps de dépôt.

### III.C.11. Test d'interférence

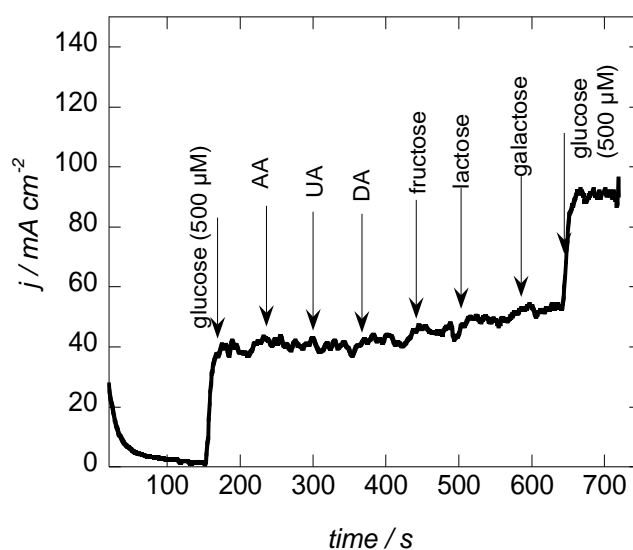
L'un des défis majeurs de la détection non-enzymatique de glucose est la spécificité, c'est-à-dire la capacité du détecteur à ne donner de réponse (ampérométrique, potentiométrique ou autre) notable qu'à la molécule cible (ici le glucose) et ceci en dépit de la coexistence d'autres molécules organiques parfois de même formule chimique (figure III.C.9).

La figure III.C.10 montre la réponse ampérométrique à des additions successives d'espèces communes interférentes, coexistant avec le glucose dans les échantillons réels de plasma humain, tels que l'acide ascorbique (AA), l'acide urique (AU) et la dopamine. Aucune

augmentation notable de courant n'a été observée lors de l'addition de ces espèces interférentes.



**Figure III.C.9** Molécule de glucose C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub> (A) ainsi que d'autres molécules pouvant interférer lors de la détection ampérométrique : galactose C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub> (B), fructose C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub> (C), lactose C<sub>12</sub>H<sub>22</sub>O<sub>11</sub> (D).



**Figure III.C.10** Réponse ampérométrique des électrodes de NFC/Co(OH)<sub>2</sub> polarisée à 0,55 V vs. Ag/AgCl suite à l'ajout de glucose (500  $\mu\text{M}$ ), de dopamine (DA, 50  $\mu\text{M}$ ), d'acide ascorbique (AA, 50  $\mu\text{M}$ ), d'acide urique (UA, 50  $\mu\text{M}$ ), de fructose (50  $\mu\text{M}$ ), de lactose (50  $\mu\text{M}$ ) et de galactose (50  $\mu\text{M}$ ). L'électrolyte est une solution de NaOH à 0,1 M.

## **Conclusion**

En résumé, nous avons prouvé expérimentalement que le dépôt électrophorétique est bien adapté à l'élaboration de films composites à base de nanostructures d'hydroxyde de cobalt  $\text{Co(OH)}_2$  et de nanofibres de carbone NFC, présentant d'intéressantes performances électrocatalytiques vis-à-vis de l'oxydation du glucose.

Des mesures électrochimiques faites sur des électrodes couvertes du nanocomposite  $\text{NFC/Co(OH)}_2$  ont montré uniquement des pics redox caractéristiques du comportement de l'électrode de cobalt dans les milieux alcalins, correspondant au couple  $\text{Co(OH)}_2/\text{CoOOH}$ . L'activité électrocatalytique de ces électrodes envers l'oxydation non-enzymatique du glucose a été examinée en milieu basique ( $\text{NaOH}$ , 0.1M). On a observé que le comportement électrocatalytique le plus prononcé a été obtenu pour les films  $\text{NFC/Co(OH)}_2$  élaborés pendant une durée de déposition de deux minutes dans un mélange de  $\text{NFC:Co(NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  en rapport 2:1. Ce nanocomposite a montré une sensibilité très élevée, atteignant  $69 \text{ mA mM}^{-1} \text{ cm}^{-2}$  sur une gamme linéaire allant jusqu'à 1,5 mM et présentant une limite de détection de 1  $\mu\text{M}$ .

Le capteur de glucose ainsi réalisé présentait également une bonne sélectivité vis-à-vis de l'oxydation du glucose en présence de diverses autres espèces potentiellement oxydables et présentes dans le sang telles que l'acide ascorbique, l'acide urique, la dopamine, le fructose, le galactose et le lactose.

Les bonnes propriétés électrocatalytiques des nanostructures de  $\text{Co(OH)}_2$  conjointement avec l'effet synergétique dû à la présence de NFC, rend cette catégorie d'électrodes d'un intérêt certain pour de futures applications dans les capteurs de glucose.

## Références

- [1] Y. Ding, Y. Wang, L. Su, M. Bellagamba, H. Zhang, Y. Lei, *Biosens. Bioelectron.*, **26**, (2010), 542.
- [2] C. W. Kung, C. Y. Lin, Y. H. Lai, R. Vittal, K. C. Ho, *Biosens. Bioelectron.*, **27**, (2011), 125.
- [3] L. Han, D.-P. Yang, A. Liu, *Biosens. Bioelectron.*, **63**, (2015), 145.
- [4] X.-C. Dong, H. Xu, X.-W. Wang, M. B. Chan-Park, H. Zhang, L.-H. Wang, W. Huang, P. Chen, *ACS Nano*, **6**, (2012), 3206.
- [5] L. Wang, Y. Zheng, X. Lu, Z. Li, L. Sun, Y. Song, *Sens. Actuators B*, **195**, (2014), 1.
- [6] H. Fang, S. Zhang, W. Liu, Z. Du, X. Wu, Y. Xiang, *Electrochim. Acta*, **108**, (2013), 651.
- [7] J. Yang, W.-d. Zhang, S. Gunasekaran, *Electrochim. Acta*, **56**, (2011), 5538.
- [8] T. Chen, X. Li, C. Qiu, W. Zhu, H. Ma, S. Chen, O. Meng, *Biosens. Bioelectron.*, **53**, (2014), 200.
- [09] Qian Wang, Yao Ma, Xin Jiang, Nianjun Yang, Yannick Coffinier, **Hakim Belkhalifa**, **Nahed Dokhane**, Musen Li, Rabah Boukherroub, and **Sabine Szunerits**, *Electroanalysis* **28**, (2016), 119 .
- [10] L. Li, H. Qian, J. Ren, *Chem. Commun.*, (2005) 4083.
- [11] C. R. Brundle, T. J. Chuang, D. W. Rice, *Surf. Sci.*, **60**, (1976), 286.
- [12] B. Singh, L. Murad, F. Laffir, C. Dickinson, E. Dempsey, *Nanoscale*, **3**, (2011), 3334.
- [13] J. Huang, Y. Liu, T. You, *Anal. Methods*, **2**, (2010), 202.
- [14] P. Subramanian, J. Niedziolka-Jonsson, A. Lesniewski, Q. Wang, M. Li, R. Boukherroub, S. Szunerits, *J. Mater. Chem A*, **2**, (2014), 5525

---

# *Conclusion Générale*

---



## **Conclusion Générale**

Dans ce travail, des électrodes constituées de nanomatériaux fonctionnalisés ont été réalisées pour la détection électrochimique non-enzymatique de glucose.

La couche détectrice de ces électrodes a été élaborée par dépôt électrophorétique de nanostructures de carbone (oxyde de graphène réduit (RGO) et nanofibre de carbone (NFC)) en y incorporant des nanostructures catalytiques d'oxyde et d'hydroxides métalliques (ZnO, Co(OH)<sub>2</sub>, Ni(OH)<sub>2</sub>); ce choix est justifié par l'important potentiel catalytique de ces matériaux, pouvant être exploité pour l'oxydation électrochimique du glucose.

Une nouveauté a été introduite dans ce travail, à savoir le chargement d'insuline au sein du nanocomposite de certaines couches élaborées; l'objectif était double: améliorer la sensibilité de la détection du glucose et étudier la possibilité du largage électrochimique d'insuline pour réguler le taux de glycémie.

Le présent travail était constitué de trois grandes parties. Dans une première partie, il y eu élaboration d'électrodes à base de RGO et de nanoparticules de ZnO (dimension inférieure à 50 nm); une bonne linéarité de la réponse de détection a été obtenue sur une plage de concentration du glucose allant de 5 µM à 10 mM sous un potentiel de +0,4 V vs. Ag/AgCl; la limite de détection a été de 3 µM. Des électrodes à base de RGO, d'insuline et de nanoparticules de ZnO ont également été élaborées afin de quantifier l'effet de l'insertion d'insuline sur la détection du glucose et par la suite sur son largage (dans un but de régulation). Sous le même potentiel d'électrode que dans le premier cas (+0,4 V vs. Ag/AgCl) une meilleure sensibilité a été mis en évidence. La libération d'insuline a pu être effectivement réalisée par application d'un potentiel négatif de -0,8 V vs. Ag/AgCl.

Dans la deuxième partie, a été élaboré un film nanocomposite fonctionnel constitué d'oxyde de graphène et d'hydroxyde de nickel Ni(OH)<sub>2</sub> avec et sans chargement d'insuline; ce film a été déposé en utilisant le procédé électrophorétique. Des films avec une répartition assez homogène de RGO, Ni(OH)<sub>2</sub> et d'insuline ont été réalisées avec succès, comme cela a été montré par les cartographies EDX. Le temps de déposition électrophorétique a été identifié comme un des facteurs essentiels dans la détermination de la morphologie des couches finales nanocomposites, ce qui a une influence directe sur les performances de ces films pour la détection non-enzymatique du glucose et pour le largage d'insuline. Les films déposés pendant 5 minutes en utilisant un potentiel continu de 15 V ont montré le meilleur

comportement électrocatalytique vis-à-vis du glucose. La sensibilité de ce capteur est aussi élevée que  $18,9 \text{ mA mM}^{-1} \text{ cm}^{-2}$  sur un large domaine linéaire s'étalant de  $5 \mu\text{M}$  à  $10 \text{ mM}$  avec une limite de détection de  $5 \mu\text{M}$  ; rappelons qu'un travail antérieur n'incluant pas l'insuline dans le nanocomposite a permis d'avoir une sensibilité de  $11,4 \text{ mA mM}^{-1} \text{ cm}^{-2}$  sur un domaine de linéarité allant de  $15 \mu\text{M}$  à  $30 \text{ mM}$ .

Dans une troisième et dernière partie, un dépôt électrophorétique de nanostructures d'hydroxyde de cobalt et de nanofibres de carbone a été réalisé. L'activité électrocatalytique de ces électrodes envers l'oxydation du glucose a été examinée sous conditions basiques. Il a été observé que le comportement électrocatalytique le plus prononcé correspond aux films NFC/Co(OH)<sub>2</sub> élaborés pendant une durée de 2 min dans un mélange de NFC:Co(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> en rapport 2 : 1. Cette électrode a montré une sensibilité élevée atteignant  $69 \text{ mA mM}^{-1} \text{ cm}^{-2}$  sur une gamme linéaire de  $30 \mu\text{M}$  à  $1,5 \text{ mM}$  et avec une limite inférieure de détection de  $1 \mu\text{M}$ . Le capteur ainsi réalisé présentait également une bonne sélectivité vis-à-vis de l'oxydation du glucose en présence de diverses autres espèces interférentes telles que l'acide ascorbique, la dopamine et d'autres molécules organiques. Les bonnes propriétés électrocatalytiques des nanostructures de Co(OH)<sub>2</sub> conjointement avec l'effet synergétique dû à la présence des NFC a été bien mis en évidence dans les résultats de cette dernière partie.

Un intéressant travail de recherche reste à faire, tout particulièrement pour le nanocomposite NFC/Co(OH)<sub>2</sub> et que l'achèvement de la période de thèse n'a pas permis d'effectuer. L'investigation de nouvelles conditions de dépôt électrophorétique pouvant aboutir, d'un côté à faire baisser le potentiel de détection vers des valeurs plus cathodiques (comme cela fut le cas pour le nanocomposite RGO/Ni(OH)<sub>2</sub>), et d'un autre côté à la possibilité d'élargir le domaine de linéarité du nanocomposite tout en maintenant sa très haute sensibilité.

Une autre exploration, non moins importante, serait d'introduire l'insuline dans le nanocomposite ; si la sensibilité n'est pas altérée et si le largage d'insuline est semblable à celui obtenu avec les électrodes RGO/Ni(OH)<sub>2</sub>, cela ferait probablement du nanocomposite NFC/Co(OH)<sub>2</sub> l'un des plus prometteurs pour la détection électrocatalytique non-enzymatique de glucose.

## Résumé

D'énormes efforts ont été mis dans le développement de méthodes efficaces et fiables pour la détection de Glucose. Cependant, à côté de la de détection de glucose, la mise au point d'une matrice qui peut en même temps être utilisé pour le traitement du diabète serait d'un grand intérêt. Dans ce travail on a montré la possibilité de libérer électrochimiquement de l'insuline à partir d'une interface modifiée d'oxyde de graphène réduit par application d'une impulsion de potentiel de Pulse de -0,8 V Pour 30 mn. Les électrodes de RGO/ZnO soumises à des tests électrocatalytiques qu'ont été effectués « avec » et « sans » incorporation d'insuline ; dans les deux cas, les résultats de détection non-enzymatique de glucose se sont avérés faibles et nous ont parus non réellement exploitables. Suite à ce résultat, notre travail de recherche s'est orienté vers deux hydroxydes,  $\text{Co}(\text{OH})_2$  et le  $\text{Ni}(\text{OH})_2$ , dont de récent travaux semblaient indiquer leur aptitude à montrer d'intéressantes activités électrocatalytiques ; restait à prouver leur efficacité dans la détection non-enzymatique de glucose ; ce fut l'objet de la suite de ce travail de recherche.

Les résultats obtenus dans le cas de ces deux derniers matériaux se sont avérés très satisfaisants, et ont fait l'objet de deux publications.

Mots Clés : Biocapteurs non enzymatiques, Hydroxydes métalliques, glucose, Oxyde de graphène réduit.

## Abstract

Huge efforts have been made in the development of efficient and reliable methods for the detection of glucose. However, next to the glucose detection, the development of a matrix that can simultaneously be used for the treatment of diabetes is of great interest. In this work we have shown the possibility of electrochemically release of insulin from a modified interface graphene oxide reduced by applying a pulse potential pulse of -0.8 V for 30 min. The Electrode RGO / ZnO exposed to electrocatalytic tests that were performed "with" and "without" insulin incorporation; in both cases, the results of non-enzymatic detection of glucose were not encouraging and we have appeared not actually usable. Following this result, our research was directed towards two hydroxides,  $\text{Co}(\text{OH})_2$  and  $\text{Ni}(\text{OH})_2$ , whose recent work seemed to indicate their ability to show interesting electrocatalytic activities; remained to prove their efficacy in non-enzymatic detection of glucose; it was the subject of the result of this research work. The results obtained in the case of the two latter materials have proven very satisfactory, and have been described in two.

Key Words: Biosensors non-enzymatic, hydroxides, glucose, graphene oxide reduced

## المخلص

جهود حثيثة قد بذلت في تطوير أساليب فعالة وموثوق بها للكشف عن الجلوكوز. و إلى جانب الكشف عن الجلوكوز، تم وضع مصفوفة يمكن استخدامها في نفس الوقت لعلاج مرض السكري حيث تعتبر ذات أهمية كبيرة. في هذا العمل أظهرنا إمكانية إفراز الأنسولين بطريقة الكترولوكيميائية بتعديل أكسيد الجرافين التي خفضت من خلال تطبيق نبضة كهربائية 0.8 فولت لمدة 30 دقيقة. الأقطاب (RGO/ZnO) خضعت لاختبارات التحفيز الكهربائي التي تم تنفيذها "مع" و "بدون" ادماج الأنسولين. في كلتا الحالتين، كانت نتائج الكشف عن أنزيمات الجلوكوز غير مشجعة، وهي غير قابلة للاستخدام في الواقع. وعقب هذه النتيجة، تم توجيه بحثنا نحو اثنين من هيدروكسيدات  $\text{Ni}(\text{OH})_2$  و  $\text{Co}(\text{OH})_2$  والذي يبدي للإشارة إلى قدرتها على إظهار الأنشطة الكترولوكيميائية مثيرة للاهتمام. بقي أن تثبت فعاليتها في كشف غير الأنزيمية من الجلوكوز، كان موضوع نتيجة لهذا العمل البحثي.

مفتاح الكلمات : اجهزة الاستشعار غير الأنزيمية, هيدروكسيدات, الجلوكوز, أكسيد الجرافين.