UNIVERSITÉ DE LORRAINE

AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4
Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10
http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php
http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm

UNIVERSITÉ DE LORRAINE

Résumé

Laboratoire de Chimie Physique et Microbiologie pour les Matériaux et l'Environnement (LCPME)

Doctorant en Chimie

Mésocanaux 1D fonctionnels pour les capteurs électrochimiques

par Himanshu MAHESHWARI

Au cours de cette thèse, nous avons étudié l'oxydation électrochimique de la cystéine, du glutathion et de l'homocystéine au niveau de l'ITO nu et des films minces de silice mésoporeuse orientés verticalement déposés sur l'ITO en utilisant le $\mathrm{Fc(MeOH)_2}$ comme médiateur dans un mécanisme EC′. Le mécanisme EC′ pour la réaction électrochimique concernée montre une dépendance de la concentration du catalyseur et de l'analyte, et de la vitesse de balayage sur la mesure CV.

L'oxydation directe de la cystéine à l'électrode d'ITO ou de carbone vitreux est affectée par un faible transfert de charge sur les électrodes et un grand surpotentiel de $\sim 1\,\mathrm{V}$ est observé. L'oxydation à un potentiel si élevé peut générer l'oxydation indésirable d'autres espèces moléculaires dans la solution et la passivation de la surface de l'électrode. Nous avons démontré l'oxydation électrochimique de la cystéine, du glutathion et de l'homocystéine sur les électrodes d'ITO par ($\mathrm{Fc(MeOH)_2}$) suivant le mécanisme de la EC′.

Un schéma général du diagramme de la zone cinétique a été introduit et les différentes régions de la zone cinétique représentant les différents niveaux de l'oxydation électrochimique ont été observées aux électrodes. La variation de la vitesse de balayage de $10\,\mathrm{mV\,s^{-1}}$ à $1000\,\mathrm{mV\,s^{-1}}$ pour l'oxydation électrochimique de la cystéine a révélé que la réaction d'oxydation catalytique dépendait de la vitesse de balayage de la mesure CV.

Le facteur i_f/i_r a été observé comme étant plus élevé pour la vitesse de balayage la plus lente et a diminué à une valeur proche de 1 à la vitesse de balayage la plus élevée, ce qui indique que l'oxydation électrochimique de la cystéine est limitée par le transfert d'électrons plus lent entre la cystéine et les molécules de

$\mathrm{Fc(MeOH)_2}$. Une dépendance du facteur i_f/i_r a été observée par la concentration de l'analyte et les vitesses de balayage.

On a observé que, comme la réaction génère un proton à l'électrode, il en résulte une diminution du pH à l'interface de l'électrode et une solution tampon de pH est nécessaire avec l'électrolyte pour maintenir les valeurs de pH. Dans l'absence d'un tel tampon, la réponse électrochimique a diminué, indiquant que la réaction n'était pas favorable. En comparant les types de tampon, le tampon bis-tris s'est avéré plus efficace pour la réaction que le tampon phosphate saline.

Les cinétiques de taux pour l'oxydation des différents aminothiols ont été calculées en portant le facteur d'excès, γ, à 100. A ce facteur d'excès, le système était dans la région KS de la zone cinétique et n'est pas limité par la diffusion des espèces à l'électrode. Les cinétiques de taux observables à l'ITO nu pour l'oxydation de la cystéine, du glutathion et de l'homocystéine en utilisant le $\mathrm{Fc(MeOH)_2^+}$ par le mécanisme EC' ont été calculées comme étant $(7{,}9 \pm 0{,}2)\,\mathrm{s}^{-1}$, $(2{,}2 \pm 0{,}1)\,\mathrm{s}^{-1}$ et $(16{,}8 \pm 0{,}1)\,\mathrm{s}^{-1}$ respectivement. Comme on peut l'observer à ces valeurs, la cinétique de vitesse de la cystéine est $\sim$ 3,6 fois plus élevée que pour le glutathion. Cependant, aux électrodes ITO déposées par le MSTF, nous avons observé une diminution du courant limite pour la cystéine, affectant directement les valeurs de k_{obs} du processus d'oxydation électrochimique, mais n'a pas été diminué pour le glutathion. Ceci s'explique par la cinétique déjà faible de l'oxydation du glutathion qui était en effet l'étape limitante du taux, non affectée par la présence ou l'absence de films minces de silice mésoporeuse.

La valeur 3,6 fois plus élevée de la cystéine a été exploitée au MSTF fonctionnalisé au ferrocène sur des électrodes ITO pour la détection sélective de la cystéine par rapport au glutathion. En combinaison avec les limitations de la diffusion de masse au MSTF fonctionnalisé au ferrocène, nous avons démontré la détection sans réactif de la cystéine par voltampérométrie cyclique dans une cellule à 3 électrodes, puis par ampérométrie dans un mode d'analyse par injection de flux. Expérimentalement, la plus faible concentration de cystéine détectée était de 3 µM et la sensibilité a été mesurée à $1{,}28\,\mathrm{mA\,M^{-1}}$ et $0{,}68\,\mathrm{mA\,M^{-1}}$ pour des concentrations de 3 à 20 µM et de 20 à 100 µM respectivement, en mode d'analyse par injection de flux. Un schéma de cette détection sélective est présenté à la Figure 1.

Dans le cas des films minces de silice mésoporeuse avec $\mathrm{CTA^+}$ présents dans les pores, nous avons observé une réponse électrochimique plus faible. Étant donné

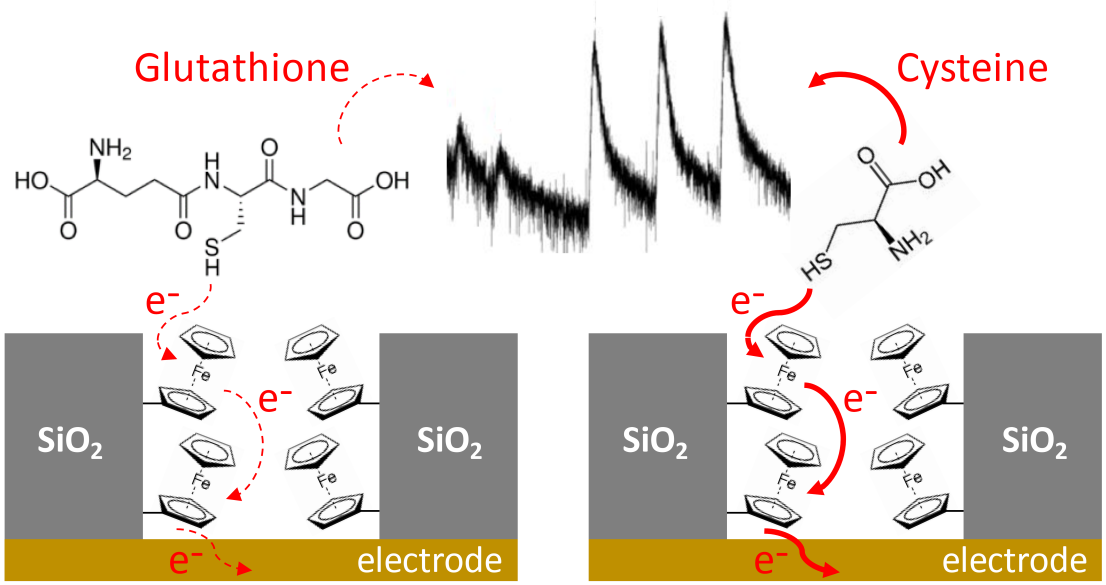

FIGURE 1 – Chronoamperogram showing the flow injection analysis of 50 µM of the thiol analytes at ferrocene functionalized MSTF; $E_{applied}$= 0.65 V; flow rate = 1 mL min^{-1}; Electrolyte = Bis − tris 0.1 M + NaCl 0.1 M; pH = 6.5

que seules les espèces moléculaires lipohiliques, soit $Fc(MeOH)_2$, peuvent se solubiliser dans la phase CTA^+ et que les autres espèces moléculaires ne peuvent pas se diffuser à travers les mésocanaux remplis de CTA^+, nous pouvons prédire que la réaction chimique se passe en extérieur des mésopores dans ce système, seule la diffusion de $Fc(MeOH)_2$ ayant lieu à travers la phase CTA^+. Dans ce système particulier, il n'y a pas non plus d'accumulation de $Fc(MeOH)_2^+$ en raison de la répulsion électrostatique. Ainsi, la seule raison de la réponse électrochimique inférieure observée dans ce système serait l'absence de diffusion de la cystéine à travers la phase CTA^+. Ceci nous amène à la conclusion que la diffusion de la cystéine dans les mésocanaux joue un rôle et que l'absence de diffusion de la cystéine dans les mésocanaux limite la réaction électrochimique globale. Ce résultat a été renforcé par des expériences de spectroscopie d'impédance électrochimique. Les résultats EIS ont décrit que les taux de réaction électrochimique aux électrodes d'ITO nu et de MSTF étaient similaires, mais un élément de résistance de diffusion était présent pour la deuxième. Ces deux résultats ont confirmé l'importance de la diffusion du catalyseur et de l'analyte à l'électrode et expliquent la diminution des k_{obs} pour l'oxydation de la cystéine aux électrodes ITO déposées par le MSTF.

Ensuite, nous avons concentré nos efforts sur le développement de microélectrodes, et nous avons réussi à fabriquer sur place des microélectrodes ITO en utilisant une méthode nouvelle, suivie d'un dépôt de MSTF. Cependant, la fabrication de microélectrodes ITO sans fissures et homogènes s'est montrée difficile, ce qui a entraîné un dépôt de MSTF non homogène, nous obligeant à nous concentrer sur les microélectrodes à base de carbone. Des ultramicroélectrodes reproductibles et de bonne qualité en fibre de carbone encapsulée dans du verre, de rayon $(5{,}5 \pm 2{,}4)$ µm, ont été fabriquées en contrôlant soigneusement le processus et elles ont été caractérisées électrochimiquement et micrographiées à l'aide d'un microscope optique. Les rayons des microélectrodes observés sous micrographie optique étaient cohérents avec ceux calculés à partir de la caractérisation électrochimique, conformant une bonne qualité de scellement empêchant toute fuite et fissure. Toute fuite ou fissure dans le scellement de l'électrode aurait entraîné un voltammogramme cyclique altéré avec une réponse en forme de pic au lieu d'un courant steady state. La bonne qualité des UME a également été confirmée par l'absence d'hystérésis dans les voltammogrammes cycliques.

Pour déposer des MSTF sur ces UME de carbone, la modification d'APTES s'est avérée impérative. Le processus de modification des UME de carbone avec APTES a été optimisé à 2 cycles de voltampérométrie cyclique à $100\,\mathrm{mV\,s^{-1}}$ dans 0,1 mM APTES. Il a été démontré qu'un dépôt plus long d'APTES entraîne un blocage des films et réduit l'accessibilité de l'électrode. On a ensuite déposé avec succès la silice mésoporeuse sur ces UMEs de carbone modifiées par APTES par la méthode de l'EASA en appliquant un potentiel constant de $-2\,\mathrm{V}$ pendant une durée fixe de 20 s. La co-déposition de la silice avec l'AzPTES a été réalisée avec succès pour des concentrations AzPTES de 5 % et 10 % dans le sol. Les films modifiés par l'AzPTES ont été fonctionnalisés avec de l'éthynylferrocène par une *réaction de cycloaddition de Huisgen alkyne-azide* catalysée par le cuivre(I). La caractérisation électrochimique de ces MSTF fonctionnalisés au ferrocène a déposé des UME au carbone dans une solution électrolytique à blanc de 0,1 M de KCl. Nous observons un voltampérogramme cyclique en forme de pic, contrôlé par diffusion, avec des pics de courant croissants en avant et en retour pour des vitesses de balayage plus élevées. Ces UME au carbone fonctionnalisées au ferrocène peuvent s'avérer des candidats potentiels pour la détection sensible de molécules.

Ce travail explore davantage la possibilité d'utiliser des films minces de silice

mésoporeuse pour la détection de molécules par la fonction de différence de taille et de taux de réaction, et cette méthodologie peut être intéressante pour détecter d'autres molécules d'intérêt analytique aux électrodes modifiées de silice mésoporeuse. Les différents paramètres de détection de la cystéine dans les films minces de silice mésoporeuse ont été pris en compte et l'étude décrit l'effet de diffusion des molécules à travers les mésocanaux. Ce travail peut être utilisé comme un exemple pour l'étude du mécanisme de la EC' à ces électrodes modifiées. Ensuite, la fabrication et la caractérisation des microélectrodes ITO et carbone, et leur modification avec de la silice mésoporeuse offrent de nombreuses perspectives en chimie électroanalytique en raison de la combinaison de leurs différents avantages établis. Les microélectrodes sont connues pour leur petite taille, leur haute sensibilité, leur diffusion élevée, leur réponse plus rapide, leur faible besoin en électrolytes, etc., tandis que la silice mésoporeuse offre des avantages tels que la protection des électrodes, le tamisage moléculaire, l'accumulation de cations qui permet d'améliorer la réponse électrochimique et l'électrochimiluminescence, le génosenseur, etc. La combinaison de ces deux systèmes avec des microélectrodes modifiées à la silice mésoporeuse offre un bon potentiel dans divers domaines.