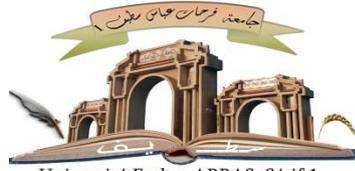


الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université Ferhat ABBAS Sétif 1

UNIVERSITÉ FERHAT ABBAS - SETIF1
FACULTÉ DE TECHNOLOGIE

THÈSE

Présentée au Département de Génie des procédés
Pour l'obtention du diplôme de
DOCTORAT

Domaine : Sciences et Technologie

Filière : Génie des procédés

**Option : Génie des procédés
pharmaceutiques**

Par

BENSANA Amira

THÈME

**Développement d'un Biocapteur pour la détection des polluants
organiques : étude expérimentale et modélisation.**

Soutenue le 30 /12/2020 devant le Jury :

BAITICHE Milad	Professeur Univ. Ferhat Abbas Sétif 1	Présidente
BOUGUETTOUCHA Abdallah	Professeur Univ. Ferhat Abbas Sétif 1	Directeur de thèse
CHEBLI Derradji	Professeur Univ. Ferhat Abbas Sétif 1	Co-Directeur
HENNI Abdellah	M.C.A. Univ. Kasdi-Merbah Ouargla	Examineur
SELLOUM Djamel	M.C.A. Univ. Kasdi-Merbah Ouargla	Examineur
ACHI Fethi	M.C.A. Univ. Kasdi-Merbah Ouargla	Invité

Remerciements

Je remercie tout d'abord ALLAH le tout puissant de m'avoir donné le courage, la volonté et la patience pour achever ce travail.

Je voudrais remercier mon directeur de thèse, le professeur BOUGUETTOUCHA Abdallah, et mon co-encadreur, le docteur CHEBLI Deradji pour leurs aides, leur encouragement, leurs conseils et leurs remarques précieuses.

Je remercie également tous les enseignants de département de génie des procédés à la faculté des sciences et technologie ainsi que toute l'équipe du laboratoire de génie des procédés chimiques de l'université Ferhat Abbas Sétif 1.

Un immense merci à mon père qui se déplace toujours avec ou sans moi pour m'aider à compléter les tâches administratives afin de s'inscrire à la formation de doctorat.

Je tiens à remercier particulièrement le docteur ACHI Fethi qui a su inspirer le titre de cette thèse, il a pris le temps de m'écouter et de me diriger. Ses remarques m'ont permises d'envisager mon travail sous un autre angle, ses conseils qui m'ont accompagnées tout au long de mon cursus.

Je tiens à remercier les membres jury pour avoir accepté de se déplacer de si loin et venir examiner de si près le contenu de ma thèse de Doctorat.

Je tiens à remercier également monsieur le directeur du laboratoire de valorisation des promotions sahariennes de l'université de Ouargla pour avoir accepté de m'accueillir au sein de son laboratoire sans oublier toute l'équipe de personnel et les doctorants.

Il m'est impossible d'oublier mes très chères amies et collègues « MANSSOURI Lamia, ZAOUT Samia et MENAA Sabah » pour leurs aides précieuses, je suis ravie d'avoir travaillé en leur compagnie, elles ont toujours été là pour me soutenir. Elles ont toujours fait tout leurs possible pour m'aider.

Je remercie mes amies et mes proches qui m'ont toujours encouragée durant toute la période de la formation de doctorat.

Je remercie toutes les personnes avec qui j'ai partagé mes études et notamment ces années de thèse. Je tiens à remercier très sincèrement tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la finalisation de ce travail.

Dédicaces

*Je dédie ce travail et cet événement marquant
de ma vie :*

A

mon honorable Maman

et à

mon très cher Père

A

Mon cher Epoux

et

à mes adorables sœurs : Zineb, Seloua et Meriem

A

Mon cœur à mon fils : Amine

A

Toute ma famille.

SOMMAIRE

SOMMAIRE.....	i
Liste des tableaux.....	iv
Liste des figures.....	v
Liste des abbréviations.....	viii
INTRODUCTION GÉNÉRALE.....	1

CHAPITRE I

1. Introduction.....	4
2. Définitions.....	5
2.1. (Bio)capteur.....	5
2.2. Analyte et récepteur.....	6
2.3. Transducteur.....	7
3. Mesures électrochimiques.....	8
3.1. Prétraitement de la surface de l'électrode de travail.....	8
3.2. Méthodes d'immobilisation des biorécepteurs.....	9
3.2.1. Réticulation.....	9
3.2.2. Adsorption physique.....	9
3.2.3. Couplage covalent.....	9
3.2.4. Piégeage.....	10
3.2.5. Encapsulation.....	10
3.3. Étude de la performance analytique des biocapteurs de phénols.....	12
3.3.1. Influence de la méthode d'immobilisation sur la réponse du biocapteur.....	13
3.3.2. Gamme linéaire et limite de détection.....	16
3.3.3. Sensibilité des biocapteurs.....	17
4. Réaction catalytique enzymatique pour la détection du phénol.....	18
4.1. Mécanisme d'oxydation des biorécepteurs.....	18
5. Fonctionnalisation de nanomatériaux colloïdaux.....	20

5.1.	Conception des biocapteurs bi (2D) - et tri (3D)-dimensionnelles	21
5.2.	Fonctionnalisation du graphène et des oxydes métalliques	23
5.3.	Plateformes à base des liquides ioniques et de polymères conducteurs	24
5.4.	Les plateformes basées sur les monocouches auto-assemblées	25
6.	Biocapteurs pour la détection des composés phénoliques	26
6.1.	Biocapteurs à tyrosinase	26
6.2.	Biocapteurs à laccases.....	28
6.3.	Biocapteurs à Peroxydase	30
6.4.	Biocapteurs multienzymatiques, d'hémoglobine et biomimétiques.....	31
6.4.1.	Biocapteurs à base d'Aptamère/ADN	31
7.	Conclusion	33
	Références.....	34

CHAPITRE II

1.	Introduction.....	55
2.	Modèle mathématique.....	57
2.1.	Paramètres adimensionnels	57
2.2.	Description physique du mécanisme de diffusion/réaction	58
2.3.	Équations du modèle mathématique	59
2.4.	Discrétisation des équations.....	60
3.	Simulation numérique.....	63
3.1.	Mesure ampérométrique du peroxyde d'hydrogène.....	63
3.2.	Influence de la constante de vitesse sur la réponse ampérométrique.....	63
3.3.	Influence de la constante de vitesse sur les profils de concentration.....	65
4.	Validation du modèle.....	66
4.1.	Mécanisme cinétique de transfert de charge	67
4.2.	Estimation du coefficient de diffusion du peroxyde d'hydrogène	68

4.3.	Effet de la matrice sur le coefficient de diffusion du peroxyde d'hydrogène	69
4.4.	Estimation de l'épaisseur de la membrane enzymatique.....	71
5.	Conclusion	73
	References.....	74

CHAPITRE III

1.	Introduction.....	79
2.	Capteur électrochimique à base d'oxyde de graphene pour la détection des composés phénoliques	81
2.1.	Méthode de synthèse d'oxyde de Graphene	81
2.1.1.	Réactifs	81
2.1.2.	Instrumentation	81
2.1.3.	Oxydation de Go par $K_2Cr_2O_7$ assistée par exfoliation	81
2.2.	Caractérisation d'oxyde de graphene par FTIR	82
2.3.	Application d'oxyde de graphene pour la détection du phénol	83
2.4.	Étapes de conception du capteur (GCE/MWCNTs-AuNPs-Go-Cs)	84
2.5.	Caractérisation des nanocomposites	86
2.6.	Détection des composés phénoliques par GCE/MWCNTs-AuNPs-Go-Cs.....	87
2.6.1.	Comportement électrochimique du catéchol	87
2.6.2.	Effet de la valeur du ph sur la réponse du MWCNTs-AuNPs-Go-Cs/GCE	88
2.6.3.	Etude de comportement électrochimique du phénol.....	91
2.7.	Performances analytiques du capteur GCE/MWCNTs-AuNPs-Go-Cs.....	96
3.	Conclusion	99
	Références.....	100
	Conclusion générale.....	104

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I.1. Stratégies de conception des bio-interfaces bidimensionnelles (2D) et tridimensionnelles (3D) pour la détection des composés phénoliques. Page (22)

Tableau I.2. Caractéristiques analytiques des biocapteurs à base de la tyrosinase pour la détection des composés phénoliques. Page (27)

Tableau I.3. Caractéristiques analytiques des biocapteurs à base de la laccase pour la détection des composés phénoliques. Page (29)

Tableau I.4. Caractéristiques analytiques des biocapteurs à base de la peroxydase (HRP) pour la détection des composés phénoliques. Page (30)

Tableau I.5. Caractéristiques analytiques des biocapteurs à base d'aptamer, hémoglobine, multienzymatiques pour la détection de composés phénoliques. Page (32)

Tableau II.1. Paramètres et variables utilisés dans le modèle. Page (58)

Tableau II.2. Variation de la constante de diffusion du peroxyde d'hydrogène en fonction de sa concentration et de la matrice enzymatique. Page (70)

Tableau III.1. Comparaison des paramètres de la performance des capteur électrochimiques pour la détection de catéchol et de phénol. Page (98)

LISTE DES FIGURES

- Figure I.1.** Représentation schématique des éléments constituant un (bio) capteur électrochimique. Page (5)
- Figure I.2.** Présentation des différents biorécepteurs utilisés. A) Nanomatériaux utilisés pour la préparation du capteur. B) Principe de l'interaction du (bio) récepteur (clef-serrure). Page (6)
- Figure I.3.** Représentation schématique des étapes de l'interaction du substrat (analyte) au site actif du récepteur. Page (6)
- Figure I.4.** Répartition des transducteurs électrochimiques utilisés pour la construction des biocapteurs pour la détection des composés phénoliques utilisés pendant la période (2008-2019). Page (7)
- Figure I.5.** Potentiostat utilisé pour les mesures électrochimiques (A). Cellule électrochimique à trois électrodes (B). Page (8)
- Figure I.6.** Représentation schématique d'une électrode de travail recouverte d'une gaine en teflon. Page (8)
- Figure I.7.** Méthodes d'immobilisation des nanomatériaux sur la surface d'une électrode. Page (10)
- Figure I.8.** Répartition des différentes techniques d'immobilisation des enzymes utilisés pour construire les biocapteurs des composés phénoliques développés pendant la période de 2008 jusqu'à 2019. Page (11)
- Figure I.9.** Réponses ampérométriques d'un capteur à base de (Pt/ ZnO/Nafion). (a) courbe de calibration (b) variation du courant en fonction du temps (ampérogramme) par l'ajout successif de (50 μ M) de phénol à 710 mV dans 0,1 M PBS (pH = 7.0). Page (12)
- Figure I.10.** Détermination graphique du paramètre d'affinité (K_m) par la courbe de calibration. Page (15)
- Figure I.11.** Structure chimique du nafion, chitosan et glutaraldehyde. Page (15)
- Figure I.12.** Répartition de l'utilisation des biorécepteurs pour le développement de biocapteurs à base de composés phénoliques pendant la période (2008-2019). Page (18)
- Figure I.13.** Mécanismes réactionnels des enzymes avec les composés phénoliques. A) Mécanisme d'oxydation du phénol par la tyrosinase. B) Mécanisme d'oxydation du phénol par l'enzyme laccase. C) Mécanisme d'oxydation du phénol avec la peroxydase. Page (19)
- Figure I.14.** Structure chimique des liquides ioniques les plus utilisés pour la préparation des nanocomposites. Page (24)
- Figure I.15.** Représentation schématique de la technique auto-assemblage d'une monocouche (A). Groupements fonctionnels les plus utilisés par la technique (B). Page (25)
- Figure II.1.** Configuration de biocapteur à peroxydase immobilisée, où S est H_2O_2 , HRP_{OX} et HRP_{RED} sont les formes oxydée et réduite de l'enzyme peroxydase, ($l_{diffusion}$) est l'épaisseur de la couche de diffusion et ($l_{membrane}$) l'épaisseur de la couche d'enzyme. Page (58)
- Figure II.2.** Effet de la résistance au transfert de charge interne sur la réponse ampérométrique. (A) Réponse utilisant deux vitesses d'agitation (300 et 60 tr/min) en présence de 15 mM de H_2O_2 ; 274 U/mg de HRP, $E = 0,15$ V vs. Ag/AgCl. (B) Réponse du biocapteur pour différentes valeurs de module de Thiele de (a) 7,51041, (b) 23,7500, (c) 33,5876, (d) 44,4322, (e) 82,2724, (f) 95, et (g) 106,213. Page (64)

Figure II.3. Évolution des profils de concentration du substrat (A) et de produit (B) dans la membrane enzymatique et dans la couche de diffusion pour différentes valeurs de la vitesse maximale catalytique (V_{max}) : (a) 0,01, (b) 0,1 (c) 0,2, (d) 2 et (e) 10 mM/s. Page (66)

Figure II.4. (A) Réponses ampérométrique du biocapteur à peroxydase pour la détection du peroxyde d'hydrogène. Les conditions opératoires sont : 274U/mg de peroxydase, potentiel de travail appliqué est 0,15 V vs. Ag / AgCl et le pH de la solution est égale à 6. (B) Courbes de calibration expérimentale et théorique du biocapteur. (C) Courbe expérimentale de Lineweaver-Burk ($y = 492,365.x - 1.8172$); coefficient de corrélation est de 0,998. (D) Courbe numérique de Lineweaver-Burk décrit par ($y = 482.432.x - 1.1648$) avec un coefficient de corrélation de 0,9991. Page (68)

Figure II.5. Réponses expérimentales (a) et théoriques (b, c, d) du biocapteur à peroxydase pour deux différentes concentrations de H_2O_2 : (A) $H_2O_2=5$ mM, (B) $H_2O_2=15$ mM. Page (69)

Figure II.6. Réponses expérimentales et numériques du biocapteur à peroxydase obtenues pour différentes valeurs du module de Thiele (ϕ): (a) électrode de carbone de 1% de (4-PVP) (b) électrode de carbone de 0,5% de (4-PVP) (c) électrode d'au et 0,5 % de BSA (d) $V_{max} = 2$ mM/s ; $\phi = 106,213$ (e) $V_{max} = 1,6$ mM/s ; $\phi = 95$ (f) $V_{max} = 1,2$ mM/s et $\phi = 82,2724$ (g) $V_{max} = 0,35$ mM/s ; $\phi = 44,4322$ (h) $V_{max} = 0,2$ mM/s ; $\phi = 33,5876$ (i) $V_{max} = 0,1$ mM/s ; $\phi = 23,7500$ (j) $V_{max} = 0,01$ mM/s ; $\phi = 7,51041$. Conditions : 274 U/mg de peroxydase ; $E = 0,15$ V vs. Ag/AgCl ; pH 6. Page (71)

Figure II.7. Résultats théoriques et réponse expérimentale du biocapteur à peroxydase. (A) Influence de l'épaisseur de la membrane enzymatique : (a) Courbe expérimentale, épaisseur de la membrane enzymatique (μm): (b) 9,5, (c) 7,5 et (d) 5,5. (B) Influence du coefficient de diffusion du peroxyde d'hydrogène dans la membrane de l'enzyme: (a) courbe expérimentale, les valeurs de coefficient de diffusion du peroxyde d'hydrogène dans la couche de diffusion (m^2/s) sont : (b) $0,09 \cdot 10^{-11}$, (c) $0,07 \cdot 10^{-11}$ et (d) $0,05 \cdot 10^{-11}$. Page (72)

Figure III.1. Spectre FTIR d'oxyde de graphène synthétisé par oxydation assisté à l'exfoliation. Page (82)

Figure III.2. Voltampérogrammes cycliques de 10 mM de phénol obtenues par l'électrode en carbone vitreux (GCE) et l'électrode modifiée par GCE/Go-Cs dans une PBS (0.1 M, pH 7), vitesse de balayage : 100 mV/s. Page (83)

Figure III.3. Réponse des électrodes (a) voltampérogrammes cycliques, (b) voltampérogrammes à ondes carrées : GCE/MWCNTs-Cs (vert), GCE / MWCNTs-AuNPs-Cs (bleu), GCE/MWCNTs-AuNPs-Go-Cs (rouge) dans : 10 mM de phénol dans une PBS (0,1 M, pH 7), vitesse de balayage : 100 mV/s. Page (85)

Figure III.4. Images de microscopie électronique à balayage des nanocomposites (A, B) MWCNTs-AuNPs- Cs. (C, D) MWCNTs-AuNPs-Go-Cs. Page (86)

Figure III.5. Réponse de l'électrode à base de GCE/MWCNTs-AuNPs-Go-Cs pour 10 mM de catéchol (a) voltampérométrie cyclique dans la gamme de potentiel de 0 à 400 mV avec une vitesse de balayage de 100 mV/s, dans 0,1 M PBS (pH 7,0), balayage en sens direct (bleu) et balayage à sens inverse (rouge), (b) balayage successif à cinq cycles. Page (87)

Figure III.6. Réponse de l'électrode à base de GCE/MWCNTs-AuNPs-Go-Cs pour 10 mM catéchol (a) Les voltampérogrammes cycliques à pH varié (5.0, 6.0, 7.0, 8.0, 9.0), vitesse de balayage = 0,1 V. (b) Relation entre le potentiel de pic (E_p) et les valeurs de pH. Page (89)

Figure III.7. Réponse de l'électrode à base de GCE/MWCNTs-AuNPs-Go-Cs pour 10 mM de catéchol (a) Voltampérogrammes cycliques à différentes vitesses de balayage (0.005, 0.01, 0.025, 0.05, 0.1 V/s). (b) Relation entre le courant de pic redox (I_p) et la racine carrée de la vitesse de balayage (v). (c) Relation entre le potentiel de pic (E_p) et le logarithme de la vitesse de balayage $\ln(v)$. Page (90)

Figure III.8. Réponse de l'électrode à base de GCE/MWCNTs-AuNPs-Go-Cs pour 10 mM de phénol (a) Voltampérométrie cyclique dans la gamme de potentiel de 0 à 900 mV avec une vitesse de balayage de 100 mV/s, dans 0,1 M PBS (pH 7,0), balayage en sens direct (bleu) et balayage à sens inverse (rouge), (b) balayage successif à cinq cycles sur GCE (c) balayage successif à cinq cycles sur GCE/MWCNTs-AuNPs-Go-Cs. Page (92)

Figure III.9. Réponse de l'électrode à base de GCE/MWCNTs-AuNPs-Go-Cs pour 10 mM de phénol (a) Voltampérogrammes cycliques à différentes valeurs de pH (5,0, 6,0, 7,0, 8,0, 9,0) à une vitesse de balayage 0,1 V. (b) Relation entre le courant de pic (I_p) et le pH. (c) Relation entre le potentiel de pic (E_p) et le pH. Page (94)

Figure III.10. Réponse de l'électrode à base de GCE/MWCNTs-AuNPs-Go-Cs pour 10 mM de phénol (a) Voltampérogrammes cycliques à différentes vitesses de balayage (0,005, 0,01, 0,025, 0,05 0,1 V / s). (b) Relation entre le courant de pic d'oxydation (I_p) de phénol et la racine carrée de la vitesse de balayage (v). (c) Relation entre le potentiel de pic (E_{pa}) et le logarithme de la vitesse de balayage (v). Page (95)

Figure. III.11. Réponse de l'électrode à base de GCE/MWCNTs-AuNPs-Go-Cs pour la détection de catéchol (a) Réponse de voltampérométrie linéaire pour différentes concentrations de catéchol (0,1 à 0,6 mM) à une vitesse de balayage 0,1 V, dans une PBS (0,1 M) à pH 7,0. (b) Droite d'étalonnage $I_p = f(C_{\text{catéchol}})$. Page (96)

Figure. III.12. Réponse électrochimique de l'électrode à base de GCE/MWCNTs-AuNPs-Go-Cs (a) Réponse chronoampérométrique de différentes concentrations de phénol (10, 20, 30, 40, 50, 100 μ M), dans une PBS (0,1 M) à pH 7,0. (b) courbe de calibration $I_p = f(C_{\text{Phénol}})$, (c) droite linéaire $I_p = f(C_{\text{Phénol}})$ de 10 à 60 μ M de phénol. Page (97)

LISTE DES ABBREVIATIONS

Liste des abréviations des matériaux et techniques utilisés dans le domaine de la recherche et du développement de (bio) capteurs de composés phénoliques.

(hep-H)	2-(2-Hydroxyethyl) Pyridine	coVFc₁₅	Co-Vinyl Ferrocene
@p-63	Thiolated DNA Sequence	CP	Chlorophenol
1-FP	1-Formylpyrene	CPE	Carbon Paste Electrode
2,4-DDMA	2,4-Dimethyl-N'-[1-(2,3-Dihydroxyphenyl)Methylidene	CPO	Chloroperoxidase
3-DIPC	Sodium Citrate-Derived Tree Dimensional Interconnected Porous Carbon	CRG24H	Partially Reduced Graphene Oxide
ABPE	Acetylene Black Paste Electrode	Cs	Chitosan
AC	Activated Carbon	CTAB	Cetyltrimethylammonium Bromide
Acc	Acid Treated Carbon Cloth	Cu(μ_2-hep)	Methalonic Copper Acetate Dihydrate
ACF	Acriflavine	CV	Cyclic Voltammetry
AChE	Acetylcholinesterase	Cys	Cysteine
AEP	Acetone-Extracted Propolis	CYST	Cysteamine
AO	Acridine Orange	CZUF	Crosslinked Zein Ultra Fine Fibers
AOX	Ascorbate Oxidase	DAAO	D-Amino Acid Oxidase
AP	Aminophenol	DCIL5	Dicationic Ionic Liquid
Apta	Aptamer	DCP	Dichlorophenol
APTES	3-Aminopropyltriethoxysilane	Den	Dendrimer
AWP	Azide-Unit Pendant Water-Soluble Photopolymer	DGS	Diglycerylsilane
BC	Bacterial Cellulose	DHP	Dihexadecylphosphate
BCA	Butyl Carbitol Acetate	DMcT	2,5-Dimercapto-1,3,4-Thiadiazole
BDD	Born-Doped Diamond	DMS	Disordered Mesoporous Silica
BDND	Born-Doped Nanocrystalline Diamond	DNA	Deoxyribonucleic Acid
BiOx	Bismuth Oxide	DPNS	Dendritic Platinum Nanoparticles
BMIM	1-Butyl-3-Methylimidazolium Hexafluorophosphate	DPPG	1,2-Dipalmitoyl-Sn-3-Glycero (Phosphor-Rac-(1-Glycerol)
BOMC	Born Doped Ordred Mesoporous Carbon	DPV	Differential Pulse Voltammetry
BPA	Bisphenol A	DTSP	Dithiobis-N-Succinimidyl Propionate
BPHR	Peroxidase From Brassica Napus Hairy Roots	DTTPS	Dithienotetraphenylsilane
BSA	Bovine Serum Albumine	EAPC	Enzyme Adsorption, Precipitation And Crosslinking
C₃(Amp₂)	1,1'-(Propane-1,3-Diyl)Bis(4-Aminopyridin-1-ium)	EB cells	Escherichia Coli Bioreporter
CA	Caffeic Acid	EDC	1-Ethyl-3-(3-Dimethyl-Aminopropyl)Carbodiimide
CB	Carbon Black	EG	Exfoliated Graphene
CBP	Carbon Black Powder	ELDH	Exfoliated Layred Double Hydroxide
CBPE	Carbon Black Paste Electrode	E-Matrix	Enzymatic Matrix
CC	Catechol	ESM	Eggshell Membrane
CdTe	Cadmium Telluride	F108	Polyethylene Oxide-Polyoxypropylene-Polyethylene Oxide
CE	Carbon Electrode	FAM	6-Fluorescein Amidite
Ce	Cerium	Fc	Ferrocene
CF	Carbon Felt	FeOx	Hydroxy Iron
CFG	Carboxyl-Functionalized Graphene	FePc	Iron Phtalocyanine
CFP	Carbon Fiber Paper	FESEM	Field Emission Scanning Electron Microscopy
ChO	Choline Oxidase	FeTsPc	Iron Tetrasulfonated Phtalocyanine
CMC	Carboxymethyl Cellulose	FSM7.0	Mesoporous Silica Powder (7.0 Nm)
CNFs	Carbon Nanofibers	FTO	F-Doped Tin Oxide
CNH	Carbon Nanohorn		
CNTs	Carbon Nanotubes		
coll	Colloide		
CoPC	Cobalt Phtalocyanine		

FYSSns	Flower-Shaped Yolk-Shell SiO ₂	MPS	3-Mercapto-1-Propanesulfonic Acid, Sodium Salt
G	Graphene	MTM	3-Methyl Thienyl Methacrylate
GA	Glutaraldehyde	MTPS	(3-Mercaptopropyl)-Trimethoxy Silane
GCE	Glassy Carbon Electrode	MWCNTs	Multi Walled Carbon Nanotubes
GCHs	Ground Cheery Husks	Mxene	Two Dimensional Transition Metal Carbides
GCs	Glycol Chitosan	N.R.	Not Reported
GE	Graphite Electrode	NAC	N-Acetyl-L-Cysteine
GMA	Glycidyl Methacrylate	NC	Nanocomposite
Go	Graphene Oxide	NCD	Nanocrystalline Diamond
GOX	Glucose Oxidase	Ncl	Nitrocellulose
g-PGE	Poly(Ethylene Glycol)	NCs	Nanocrystals
GR	Graphite	ND	Nanodiamond
Gs	Graphene Sheets	NDs	Nanodeeels
HA	Hydroxyapatite	NEs	Nanoellipsoids
Hb	Hemoglobin	NEt⁺₄-pyrrole	[12-(Pyrrole-1-Yl)Dodecyl] Triethylammonium Tetrafluoroborate
HB82	2-Hydroxyethyl Methacrylate (80,2%), Butyl Acrylate	NG	Hydrophilic Nanographene
HB91	2-Hydroxyethyl Methacrylate (90,1%), Butyl Acrylate	N-Gs	Nitrogen-Doped Graphene Sheets
HF	Hollow Fiber	NHS	N-Hydroxysulfosuccinimide Sodium Salt
His	Histidine	NiTPPS	Ni(II) Tetra Kis(4-Sulfonatophenyl)Porphyrin
HP	2-Hydroxypropyl	NMCS	Nitrogen-Doped Mesoporous Carbon Nanosheet
HQ	Hydroquinone	NPBimBr	1-[3-(N-Pyrrolyl)Propyl]-3-Butyl Midazolium Bromide
HRP	Horseradish Peroxidase	NPG	Nanoporous Gold
HSA	Human Serum Albumine	NPGF	Nanoporous Gold Film
HS-Calix-NH₂	5,17-Diamino-25,27-Bis(3-Thiol-1-Oxipropyl)-26,28-Dihydroxycalix[4]Arene	NPGL	Nanoporous Gold Leaf
h-SiO₂	Helical Silica	NPs	Nanoparticles
HT	Hydrogen-Terminated	NPt	Nanoplatelets
HTLc	Hydrotalcite-Like Compound	NQ	Naphtoquinone
IL	Ionic Liquid	NR	Nanoribbon
ITO	Indium Tin Oxide	NRs	Nanorods
Km	Michaelis-Menten Constant	Ns	Nanosheets
L.O.D.	Limit Of Detection	NT	Nitrophenol
L.R	Linear Range	NTAs	Nonotubes Arrays
Lac	Laccase	NWs	Nanowires
L-Arg	L-Arginine	NyM	Nylon Membrane
LbL	Layer-By-Layer	OMC	Ordered Mesoporous Carbon
LDHs	Layred Double Hydroxides	Osi	Organosilica
L-dopa	Levo-Dopa	P(Gly)	Poly(Glycine)
LSG	Laser Scribed Graphene	P(L-Arg)	Poly(L- Arginine)
LSV	Linear Sweep Voltammetry	P2AE	Poly(2-Anilinoethanol)
MAM	Melamine	P4VP	Poly(4-Vinyl Pyridine)
MAPLE	Matrix Assited Pulsed Laser Evaporation	PA	Phytic Acid
MB	Methylene Bleu	PAA	Poly(Acrylic Acid)
MBA	Graphite Microband Arrays	PAH	Poly(Allylamine Hydrochloride)
MCF	Cellulose Microfibers	Pal	Palygorskite
MCH	6-Mercapto-1-Hexanol	PAMAM	Poly(Amidoamine)
MCM-41	Mesoporous Silica Sieve	PANI	Poly(Aniline)
MEAs	Microelectrode Arrays	PASE	1-Pyrenbutanoic Acid Succinimidyl Ester
MI	Molecular Imprinting	PATT	Poly(4'-Pyrazine-2,2',5',2"-Terthiophene
MIPs	Molecular Imprinting Polymers	PB	Prussian Bleu
MnPc	Manganese Phtalocyanine	PBPIDS	Poly(1-Butyl-3-[3-(N-Pyrrol)Propyl] Imidazolium Dodecyl Sulfate
MNPs	Magnetic Nanoparticles		
MO	Mineral Oil		
MOFs	Metal-Organic Frameworks		
MOS₂	Molybdenum Disulfide		
MPA	3-Mercaptopropionic Acid		

PC	Phosphatidylcholine	PVIM	Poly(Vinylimidazolium)
Pc	Phtalocyanine	PVS	Poly(Vinyl Sulfonate)
PC	Porous Carbon	PVSA	Polyvinyl Sulphonic Acid
PCA	Poly(Citric Acid)	QDs	Quantum Dots
PDA	Poly(Dopamine)	rGo	Reduced Graphene Oxide
PDATT	Poly(3',4'-Diamine-2,2';5',2"-Terthiophene)	RhB	Rhodamine
PDm	Poly(L-Dopa)	Ru	Ruthenium
PDNPH	Poly(2,4-Dinitrophenylhydrazine)	S-	Thiol-Functionalized
PE	Plastic Electrode Graphite Bazed	SAMs	Self-Assembled Monolayers
PEDOT	Poly(3,4-Ethylenedioxy-Thiophene)	SBA-15	Mesoporous Silica Hybrid
PEG	Polyethylene Glycol	SbQ	Pyridinium Methyl Sulfate
PEI	Poly(Ethyneimine)	SC	Sinusoidal Currents
PF6	Hexafluoro Phosphate	SCs	Single Crystals
PGA	Poly(Glutaraldehyde)	SDBS	Sodium Dodecylbenzene Sulfonate
PGE	Pencil Graghte Electrode	SEM	Scanning Electron Microscopy
PGLA	Poly(Glutamic Acid)	SF	Silk Fibroin
PGluA	Poly(Glutamate Acid)	SIGS	Silica Sol-Gel
PGMA	Poly(Glycidylmethacrylate)	SITIMPs	Magnetic Silica/Titania Xérogel
PHEMA	Poly(2-Hydroxyethyl Methacrylate)	SNGC	Sonogel Carbon Electrode
PhOSubPc	Hexa-Phenoxy Born Subphtalocyanine	SP	Silk Peptide
PLT	Poly(L-Tyrosine)	SPE	Screen Printed Electrode
PMO	Poly(Methyl Orange)	SSDDNA	Single-Standed DNA
p-NPDS	Para-Nitrophenyl Diazonium Salt	SV	Sinusoidal Voltages
POM	Polyoxometalate	VIETLm⁺IBr⁻	1-Vinyl-3-Ethyl Imidazolium
POMA	Poly(O-Methoxyaniline)	WXX	Amino-Modified Carboxycellulose
PoX_{1β}	Peroxidase Enzyme	SWCNTs	Single Willed Carbon Nanotubes
PP	Polyphenol	SWV	Squar Wave Voltammetry
PPD	Poly(O-Phenylelediamine)	TCNQ	Tetracyanoquinodimethane
PPDA	N'-Phenyl-P-Phenylenediamine	TCP	Trichlorophenol
p-PDA	Para- Phenylene Diamine)	TEM	Transmission Electron Microscopy
PPEGA	Poly(Poly(Ethylene Glycol)Acrylate)	TESBA	Triethoxysilyl Butyraldehyde
pPhR	Poly(Phenol Red)	TLA	Thiolactic Acid
PPy	Poly(Pyrrrole)	TMO	Ternary Metal Oxide
PSS	Poly(Syrene-4-Sulfonate)	T-NH₂	Thiolactic Acid Amide
PTCA	3,4,9,10-Perylene-Tetracarboxylic Acid	TNT	Titanium Oxide Nanotubes
Pth	Poly(Thionine)	TPC	Total Phenolic Content
PTn	Poly(Thiophene)	TTF	Tetrathiafulvalene
PU	Poly(Urethane)	Tyr	Tyrosinase
PVA	Polyvinyl Alcohol	VFc	Vinylferrocene
PVC	Poly(Vinyl Chloride)	W-Lac D	Mutated Bacterial Laccase
PVF⁺	Poly(Vinylferrocenium) Perchlorate	XOD	Xanthine Oxidase
		β-CD	B-Cyclodextrin

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Le développement rapide de l'urbanisation et de l'industrialisation engendre des rejets qui perturbent l'écosystème et augmentent le nombre des polluants organiques pénétrants dans l'environnement ce qui contamine de manière directe ou indirecte les milieux aquatiques, menaçant la santé humaine et animale. Les composés phénoliques sont parmi les polluants organiques les plus dangereux fréquentés dans les rejets industriels et urbains dans les rivières, les fleuves, les eaux marines, même dans les nappes phréatiques. Aussi, on trouve les produits phytosanitaires, les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), les polychlorobiphényles (PCB), les organochlorés (DDT : dichlorodiphényl-trichloroéthane) et les polybromodiphényl-éthers (PBDE). Un certain nombre de composés phénoliques trouvés dans les eaux résiduaire issues de l'industrie (pétrochimique, pharmaceutique, papetière, plastique, agroalimentaire... etc.) sont classés parmi les polluants les plus nocifs ce qui nécessitent une action immédiate et utile afin de les éliminer. En plus, la toxicité de phénol qui se présente par leurs effets cancérogènes et mutagènes est l'un des sujets les plus étudiés en écotoxicologie. Donc il est très important de développer de nouvelles stratégies pour le contrôle de ses composés très toxiques.

Les techniques d'analyse conventionnelles sont souvent coûteuses, complexes et n'offrent pas des tests sur site en temps réel mais avec une durée d'analyse longue. Il serait donc obligatoire de disposer une méthode analytique adéquate, simple et facile pour déterminer ces polluants. Pendant ces dernières décennies la fabrication des capteurs a connu un avancement remarquable dans divers domaines, surtout dans le secteur biomédical, environnemental et agroalimentaire. Le capteur est considéré comme une solution alternative et intéressante grâce à son moindre coût et à sa petite taille qui facilite sa mobilité. Cet outil analytique peut offrir des mesures très rapides en temps réel, il se compose d'un système de transduction électrochimique qui assure le transfert de charge en le convertissant en un signal mesurable.

Actuellement, l'étude des caractéristiques électrochimiques des capteurs pour la détection des composés phénoliques dans l'environnement suscite un vif intérêt. On trouve dans la littérature plusieurs techniques innovantes largement appliquées pour améliorer la performance analytique des capteurs des phénols. Cette performance dépend de nombreux facteurs, notamment le protocole expérimental de la préparation

des matrices de détection, le type des matériaux. Aussi, le système de transduction électrochimique appliqué, le choix de la méthode de mesure et les paramètres physico-chimiques tels que la vitesse de diffusion de l'espèce électroactive vers la surface de l'électrode.

L'étude théorique par la modélisation de la réponse des biocapteurs est basée sur l'analyse du mécanisme de diffusion-réaction offrant l'avantage d'optimiser la conception du biocapteur en termes de sensibilité et de stabilité. Cette étude conduit à prévoir le comportement du système ce qui mène à indiquer l'étape limitante du mécanisme réactionnel. En outre, la nature de la couche des nanomatériaux ainsi que son épaisseur influencent fortement sur la réponse du capteur. En effet, la modélisation mathématique intervient pour estimer avec précision les paramètres cinétiques et physico-chimiques appropriés qui déterminent la performance du capteur. Dans ce travail, l'étude théorique s'effectue pour comprendre le mécanisme de l'interaction entre l'enzyme Horse Radish Peroxydase (HRP) envers son médiateur (H_2O_2).

De point de vue expérimentale, l'encrassement de l'électrode est un inconvénient majeur lors de la modification de sa surface. Il est dû principalement à des réactions de couplage des radicaux résultants de l'oxydation anodique des phénols pour former des dimères, puis des oligomères et enfin des polymères. L'utilisation des nanomatériaux améliore considérablement les paramètres analytiques du capteur et minimise l'effet de la passivation de la surface active par les films polymériques. A titre d'exemple, le graphène et ces dérivés sont des matériaux conformes aux exigences actuelles et futures dans le domaine électroanalytique. En plus, la conjugaison d'oxyde de graphène avec les nanoparticules métalliques ou avec les polymères conducteurs renforce le transfert électronique des charges et augmente la surface active ce qui offre une bonne conductivité en promouvant une meilleure sensibilité des capteurs. Le but de ce travail est de développer un capteur électrochimique plus fiable et performant à la détection des composés phénoliques dans un milieu aqueux en utilisant des nanocomposites à base de carbone et nanoparticules métalliques.

Ce mémoire est réparti en trois chapitres, le premier chapitre est une revue bibliographique sur la performance électroanalytique des biocapteurs pour la détection des composés phénoliques développés pendant la période de l'année 2008 jusqu'à 2019. La revue analyse la progression dans le domaine de la conception des biocapteurs en décrivant les meilleures stratégies de la préparation des nanocomposites utilisées pour développer des capteurs sensibles à la détection des composés phénoliques. Les aspects

importants pour l'optimisation des caractéristiques analytiques, y compris les avantages et les inconvénients des différents composites polymères-nanomatériaux ainsi que l'effet des éléments de reconnaissance sur la sensibilité des capteurs électrochimiques sont discutés en détail.

Le deuxième chapitre présente la modélisation mathématique de la réponse du biocapteur basée sur l'équation de Michaelis-Menten et de la seconde loi de Fick. Le modèle étudie l'influence des paramètres physico-chimiques et géométriques sur la performance des biocapteurs. La simulation numérique s'applique pour estimer l'épaisseur de la couche de diffusion et de la membrane enzymatique ainsi que les coefficients de diffusion de l'espèce électroactive.

L'étude expérimentale est détaillée au troisième chapitre qui est consacré à la synthèse d'oxyde de graphène. Le protocole expérimental suivi dans ce travail consiste à modifier la méthode de Hummers pour minimiser le temps de synthèse de l'oxyde de graphène. Le chapitre présente aussi la préparation du nanocomposite appliquée pour l'élaboration d'un capteur électrochimique performant à la détermination des polluants organiques tels que, le phénol et le catéchol. Le capteur est fabriqué par modification de la surface d'une électrode en carbone vitreux en utilisant les nanotubes de carbone à paroi multiple, d'oxyde de graphène, des nanoparticules d'Or et de la chitosane.

Le mémoire se termine par une conclusion générale qui résume les résultats essentiels obtenus durant la réalisation de cette thèse.

CHAPITRE I

(BIO) CAPTEURS POUR LA DÉTECTION DES PHÉNOLS : GÉNÉRALITÉS ET MÉTHODES DE CONCEPTION

1. INTRODUCTION

Les composés phénoliques sont des antioxydants bioactifs classés en plusieurs groupes en fonction du nombre d'atomes de carbones sur la molécule [1,2] mais un certain nombre de ces composés présentes une toxicité très élevée et menace la santé humaine et environnementale. Les approches classiques appliquées pour déterminer ces composés dans les eaux usées, comme l'extraction à contact multiples sont souvent complexes [3,4]. L'étude des caractéristiques électrochimiques des (bio) capteurs pour la détermination des composés phénoliques offre la possibilité de construire un outil analytique très performant [5].

Depuis le premier capteur développé par Schiller et al., 1978, plusieurs revues scientifiques ont décrit leur application pour la détection du polluants organiques comme le phénol [6-8]. Les capteurs sont largement appliqués dans divers domaines notamment dans l'analyse des aliments [9,10], dans le secteur médical [11-13], pour le diagnostic du cancer ou pour la détermination des pesticides ou des métaux lourds [14-18]. Des études récentes décrivent l'effet de différentes techniques électrochimiques sur la performance de ces outils analytiques [19,20]. L'étude de leur caractéristiques analytiques offre des dispositifs prêts à l'emploi pour la détection des substances dangereuses en temps réel [21].

Depuis la première utilisation des éléments biologiques dans le domaine de la détection électrochimique par Clark en 1962 [22], plusieurs techniques de construction des biocapteurs sont appliquées permettant la commercialisation des outils analytiques. Aussi, l'utilisation des variétés des nanomatériaux et de polymères conducteurs a bien élargit le domaine de la détection des substances chimiques à l'état de traces [23-27]. Cependant, un nombre croissant de facteurs affectant les performances électro-analytiques des (bio) capteurs, notamment le type de matériaux et le transducteur électrochimique [28,29], la méthode d'immobilisation et les conditions opératoires [30-33].

Dans ce chapitre nous avons décrit les techniques de construction des biocapteurs appliquées au cours de la période 2008-2019 afin d'étudier l'influence des paramètres analytiques sur la performance des biocapteurs des phénols. Notre objectif est de fournir une vue complète sur le progrès au domaine de la construction des biointerfaces pour la détection des composés phénoliques. Les aspects importants pour l'optimisation de leurs caractéristiques analytiques, y compris les avantages et les inconvénients de l'utilisation

des nanocomposites à base de polymères conducteurs, de colloïdes et de biomatériaux, sont discuté en détail.

2. DÉFINITIONS

2.1. (BIO)CAPTEUR

Le (bio) capteur est un dispositif analytique transforme une réaction (bio) chimique en un signal électrique quantifiable, il est constitué d'un (bio) récepteur (enzyme, anticorps, cellule, aptamer, ADN...) et d'un transducteur (optique, thermique, piézoélectrique, électrochimique). Le transducteur électrochimique assure le transfert de charge des électrons issus de la réaction électrochimique. Un conditionneur doit être lié au transducteur pour le traitement et l'amplification du signal (figure I.1).

Pour les biocapteurs commerciaux miniaturisés, des dispositifs électroniques assurent le traitement du signal (figure I.1A), contrairement à l'échèle laboratoire où le chercheur utilise une cellule électrochimique liée à un Potentiostat pour effectuer les mesures (figure I.1B).

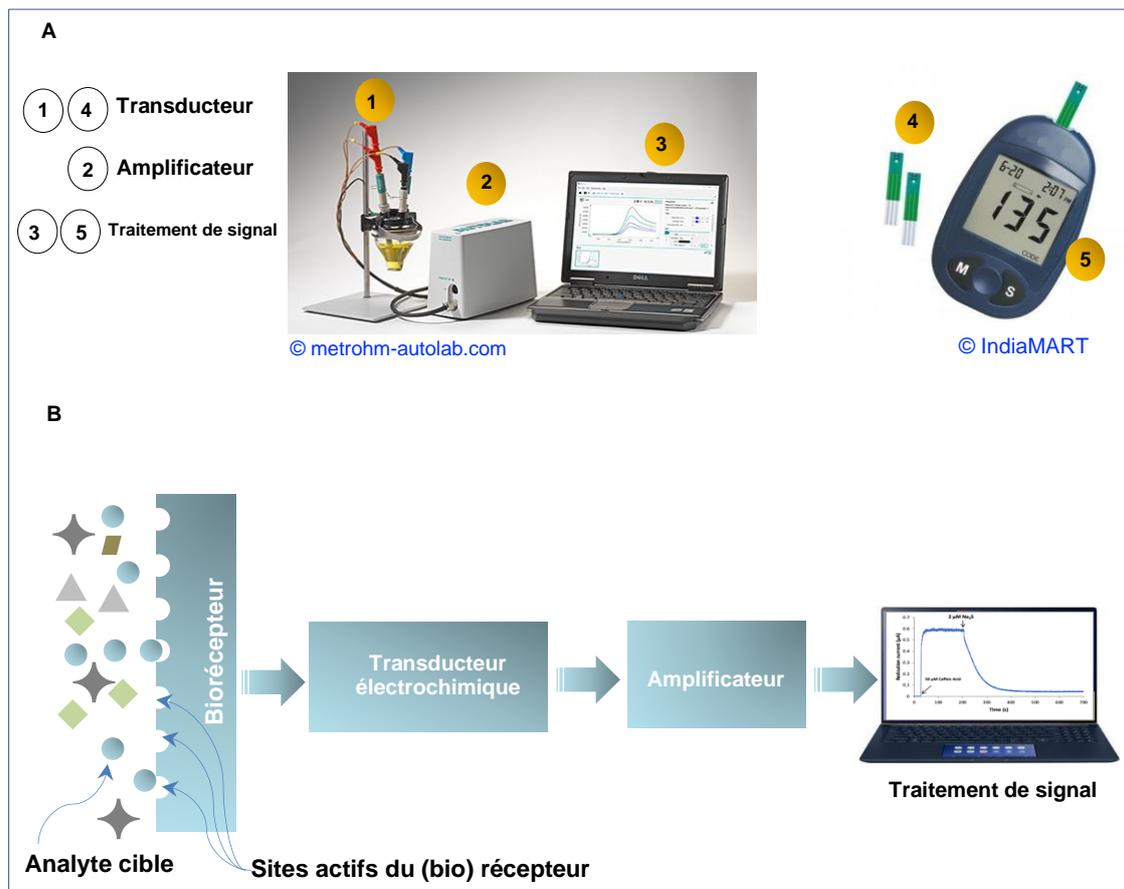


Figure I.1. Représentation schématique des éléments constituant un (bio) capteur électrochimique.

2.2. ANALYTE ET RÉCEPTEUR

L'analyte est une substance chimique ou biochimique susceptible de réagir à l'interface du (bio) récepteur. L'analyte cible est la substance qu'on désire détecter, elle doit avoir le même site actif du récepteur (figure I.2.B).

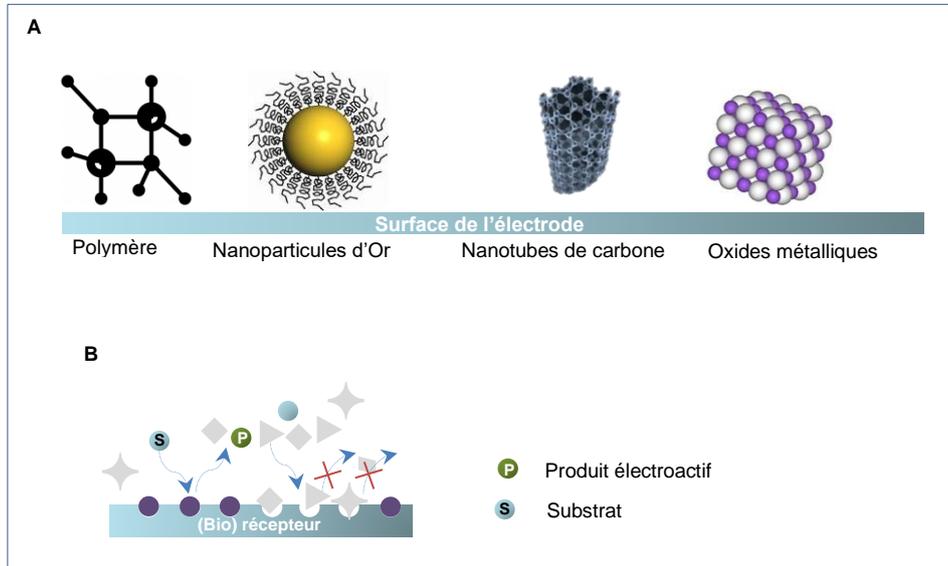


Figure I.2. Présentation des différents biorécepteurs utilisés. A) Nanomatériaux utilisés pour la préparation du capteur. B) Principe de l'interaction du (bio) récepteur (clef-serrure).

Le récepteur est une surface catalytique où se déroule la réaction (bio) chimique lorsqu'un substrat arrive à son site actif du biorécepteur immobilisé à la surface de l'électrode (figure I.3).

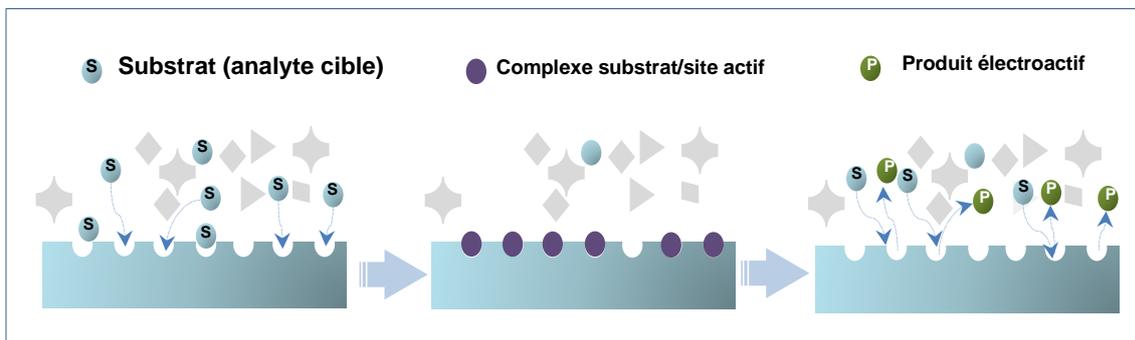


Figure I. 3. Représentation schématique des étapes de l'interaction du substrat (analyte) au site actif du récepteur.

2.3. TRANSDUCTEUR

C'est le composant d'un capteur qui détecte les changements physiques qui se produisent dans l'élément de reconnaissance moléculaire suite à la liaison de l'analyte et les convertit en un signal de sortie qui peut être amplifié, affiché et sauvegardé. Le transducteur agit en tant que détecteur, convertissant la reconnaissance moléculaire en un signal facilement mesurable.

La figure I.4 montre une analyse statistique effectuée sur les transducteurs électrochimiques utilisés pour la préparation des biocapteurs des composés phénoliques pendant la période de 2008 jusqu'à 2019. Les transducteurs électrochimiques les plus largement utilisés sont des électrodes en carbone vitreux contribuant à environ 41 %, suivies de 16 % pour chacune des électrodes sérigraphées et Or, des électrodes à base de carbone 8 %, du platine 7 % et enfin 3 % et 2 % pour les électrodes à base d'oxyde d'indium-étain et à base de diamant, respectivement.

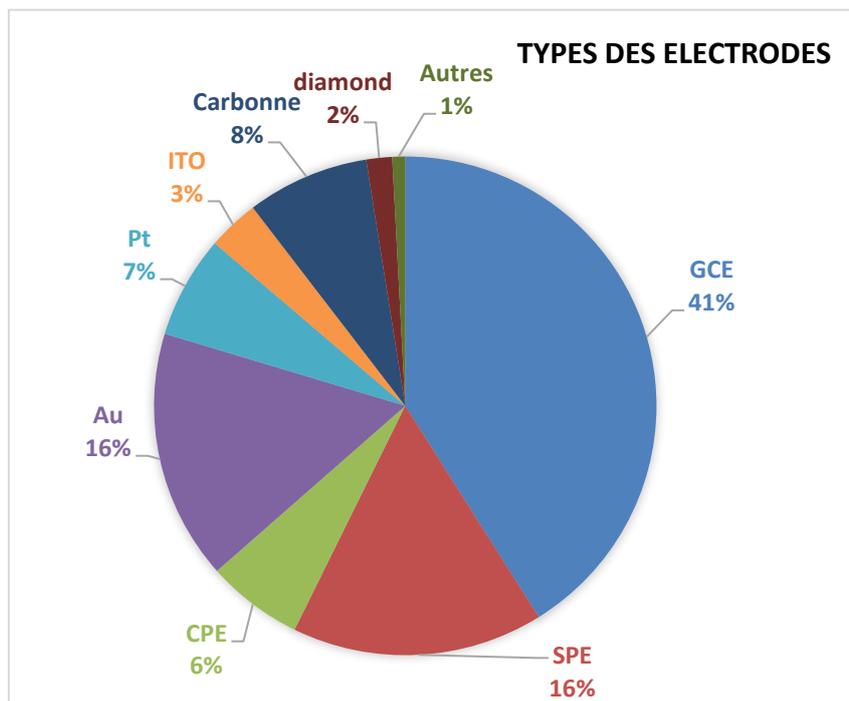


Figure I.4. Répartition des transducteurs électrochimiques utilisés pour la construction des biocapteurs pour la détection des composés phénoliques utilisés pendant la période (2008-2019).

3. MESURES ÉLECTROCHIMIQUES

Les mesures ampérométriques d'une substance électroactive s'effectuent dans une cellule électrochimique remplie d'une solution tampon de pH favorable à la réaction électrochimique et à un potentiel d'oxydation ou de réduction approprié. Le transfert d'électrons des espèces électroactives se déroule dans un système à trois électrodes comprenant une électrode auxiliaire, une électrode de référence, et une électrode de travail (figure I.5).

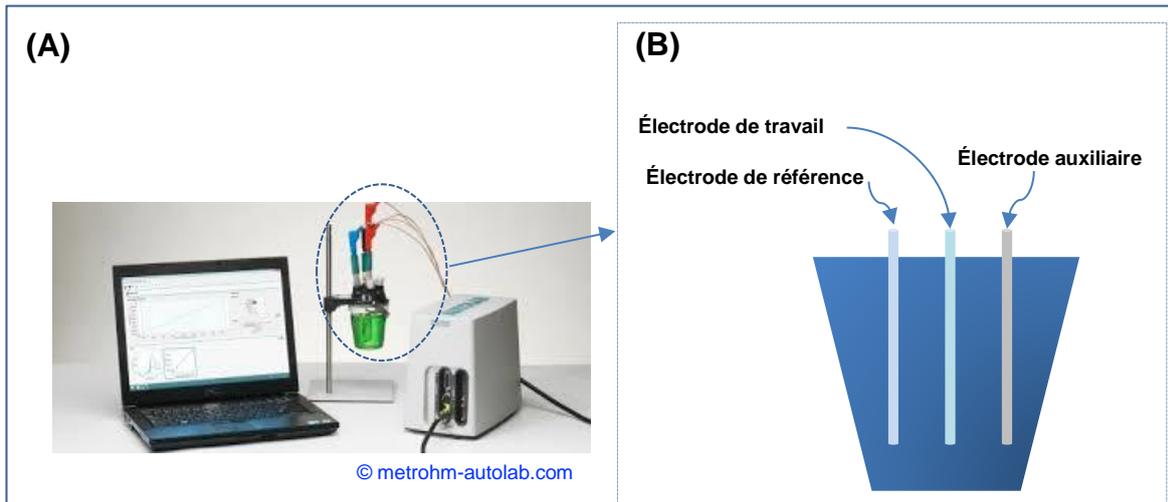


Figure I.5. Potentiostat utilisé pour les mesures électrochimiques (A). Cellule électrochimique à trois électrodes (B).

3.1. PRETRAITEMENT DE LA SURFACE DE L'ELECTRODE DE TRAVAIL

La surface de l'électrode de travail est constituée de matériaux inertes tels que le platine, l'argent ou l'or recouverts d'une gaine en téflon de 6 à 12 mm de diamètre est connecté avec un fil électrique (figure I.6).

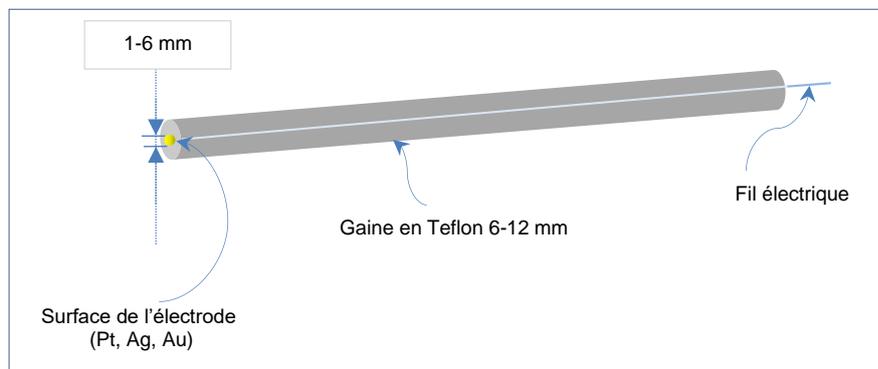


Figure I.6. Représentation schématique d'une électrode de travail recouvert d'une gaine en téflon.

Le polissage de la surface de l'électrode s'effectue de plusieurs manières comme le traitement par la méthode chimique ou mécanique ou par la technique électrochimique. Le polissage mécanique est réalisé à l'aide de nanoparticules d'alumine avant l'immobilisation de l'élément de biorecognition. La surface est lavée avec de l'éthanol ou de l'eau distillée et séchée à la température ambiante. Ensuite, l'enzyme est dissoute dans une solution tampon, puis déposée sur la surface de l'électrode. Enfin, l'électrode modifiée est maintenue à température ambiante pendant une heure puis stockée dans une solution tampon à 4 °C.

3.2. METHODES D'IMMOBILISATION DES BIORECEPTEURS

Les stratégies d'immobilisation des biorécepteurs sont utilisées pour construire des biocapteurs stables et prêt à l'utilisation. Ces méthodes sont choisies pour garder une meilleure stabilité de l'élément biologique et pour adapter une architecture appropriée à la détection des analytes. Ces méthodes sont basées sur la création des liaisons chimiques ou physiques pour attacher le biorécepteur (enzymes, anticorps, ADN, cellules ou tissus...) à la surface solide du transducteur. Les méthodes les plus couramment utilisées sont, la réticulation, le piégeage, le couplage covalent, l'adsorption et l'encapsulation (schéma I.6).

3.2.1. RÉTICULATION

Cette méthode utilise des agents pour la réticulation de l'élément biologique tels que le glutaraldéhyde, l'héxaméthylènediamine, le chitosan et le nafion ou encore le formaldéhyde qui peut aussi servir comme agent réticulateur (schéma I.6). La réticulation des enzymes diminue leur activité catalytique, en outre, le mécanisme réactionnel global est souvent limité par la diffusion interne. En revanche, la réponse des biocapteurs fabriqués par cette méthode est plus stable.

3.2.2. ADSORPTION PHYSIQUE

Cette méthode fixe les molécules du biorécepteur à la surface de l'électrode par des interactions électrostatiques faibles de type de Van der Waals. Cette méthode est simple à mise en œuvre mais les molécules fixées par cette méthode peuvent facilement se détacher par hydrolyse.

3.2.3. COUPLAGE COVALENT

Cette méthode était basée sur la pré-activation de la surface de l'électrode par des réactifs multifonctionnels avant le dépôt de l'enzyme tels que les groupements carboxyles, hydroxyles, amides, et amines qui pourraient être utilisés pour lier des molécules d'enzyme.

3.2.4. PIÉGEAGE

Il s'agit de piéger les molécules de l'enzyme dans un gel insoluble ou dans une matrice à base de polymère ou des nanomatériaux carbonés. La formation d'un réseau nanostructuré empêche la diffusion des molécules tout en permettant la diffusion des espèces électroactives.

3.2.5. ENCAPSULATION

Cette technique consiste à confiner l'enzyme dans un matériau perméable et flexible qui peut être un gel de polymère sous forme une capsule afin de protéger le biorécepteur et de lui isoler partiellement du milieu extérieur.

Autre nouvelles méthodes récemment appliquées montrent aussi une efficacité à l'immobilisation des enzymes tels que le revêtement (spin-coating), la méthode sol-gel, l'immobilisation par les charges électrostatiques, la méthode de monocouche auto-assemblée (Self-assembled monolayer S.A.M.) (figure I.7).

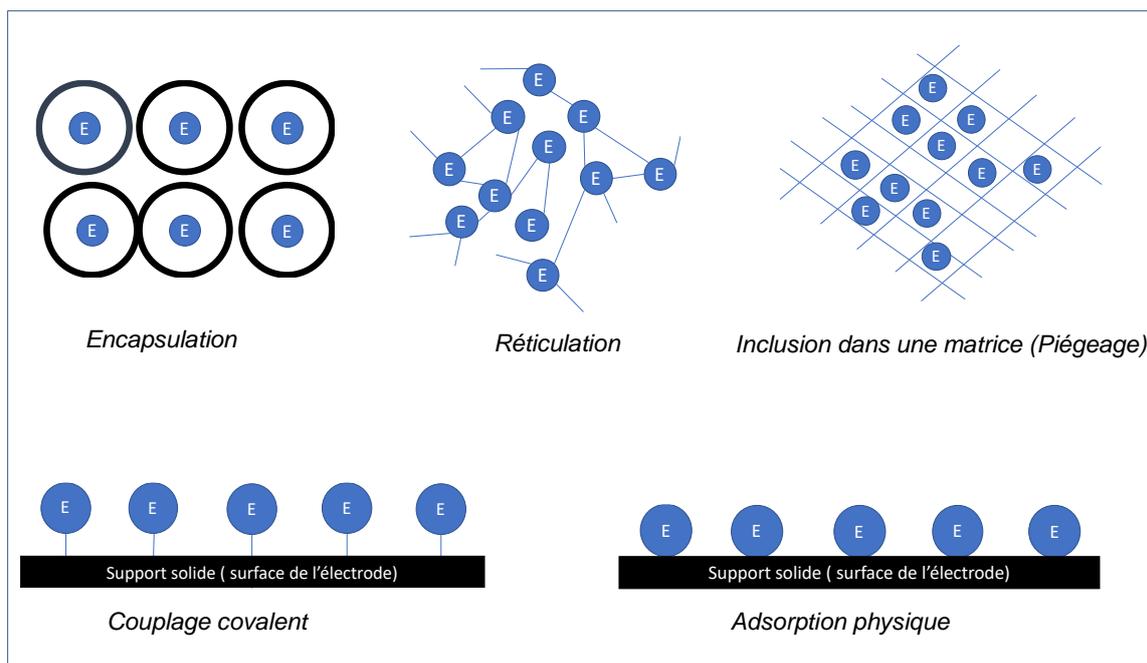


Figure I.7. Méthodes d'immobilisation des nanomatériaux sur la surface d'une électrode.

Nous avons mené une étude comparative sur les méthodes d'immobilisation d'enzyme utilisées durant la période de 2008 à 2019 pour concevoir des biocapteurs des composés phénoliques. L'étude montre que la technique la plus utilisée pour immobiliser la tyrosinase est la réticulation suivie par le piégeage, la liaison covalente, les nanotubes de carbone et la méthode sol-gel, respectivement. Cependant, les méthodes les moins utilisées à l'immobilisation de la tyrosinase sont l'adsorption et le revêtement. On peut voir que la méthode de piégeage suivie par la réticulation et la liaison covalente, respectivement, sont les techniques les plus utilisées pour l'immobilisation de la laccase, tandis que le piégeage, le couplage covalent et la réticulation sont respectivement, les méthodes les plus utilisées pour immobiliser l'enzyme peroxydase (figure I.8).

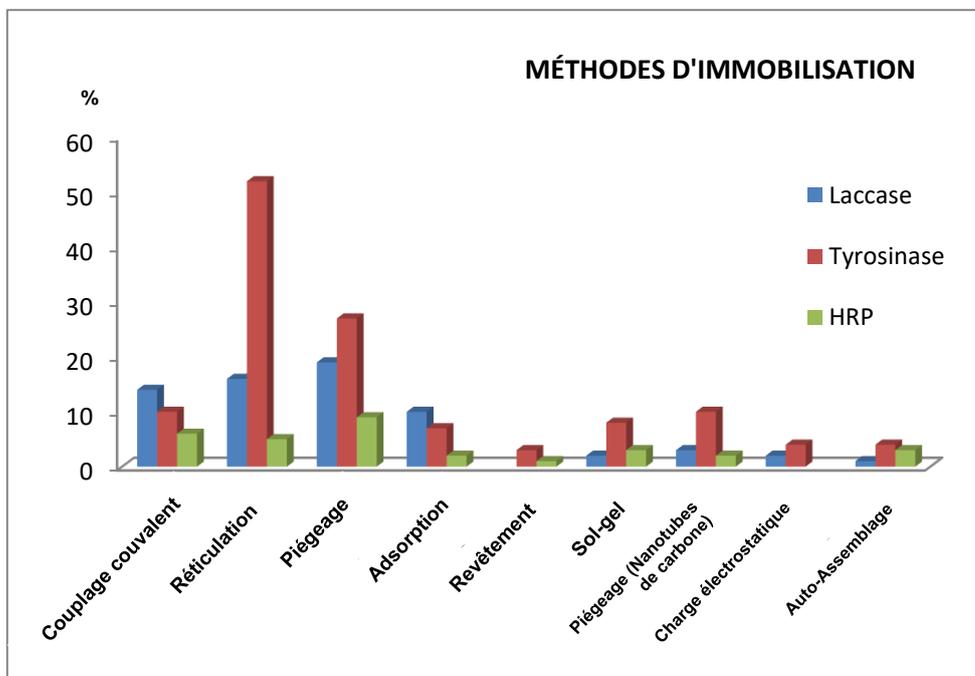


Figure I.8. Répartition des différentes techniques d'immobilisation des enzymes utilisés pour construire les biocapteurs des composés phénoliques développés pendant la période de 2008 jusqu'à 2019.

3.3. ÉTUDE DE LA PERFORMANCE ANALYTIQUE DES BIOCAPTEURS DE PHENOLS

Pour que le biocapteur soit performant à la détection de l'analyte désiré, une évaluation de quelques paramètres expérimentaux est nécessaire avant son utilisation. En effet, une courbe d'étalonnage est utilisée pour déterminer ces paramètres. Pour les mesures électrochimiques, la courbe de calibration représente la variation de la teneur en analyte (dans l'exemple de la figure ci-dessous) en fonction du signal électrique de sortie (figure I.9).

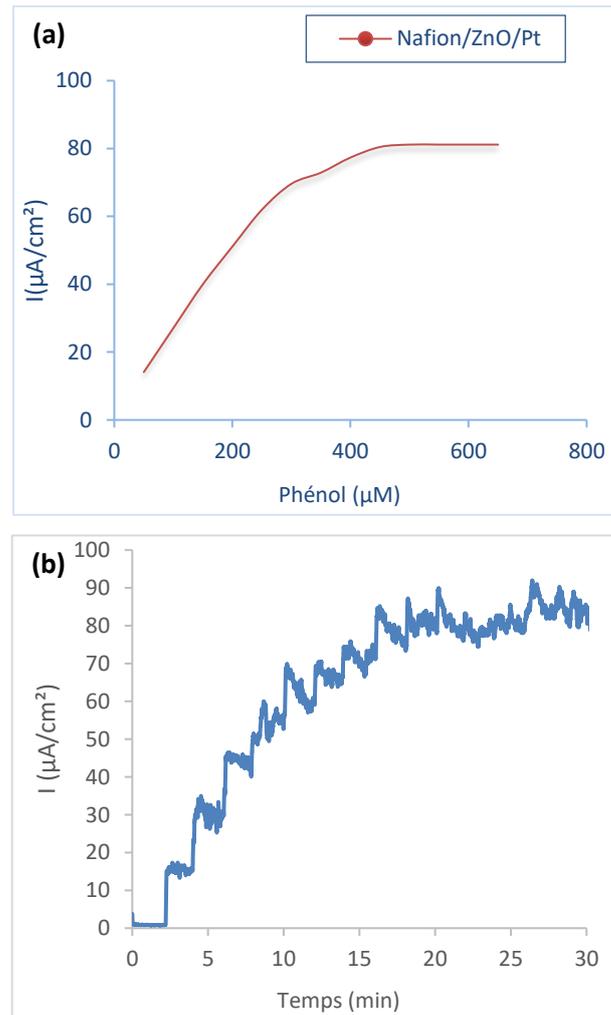


Figure I.9. Réponses ampérométriques d'un capteur à base de (Pt/ ZnO/Nafion). (a) courbe de calibration (b) variation du courant en fonction du temps (ampérogramme) par l'ajout successif de (50 μM) de phénol à 710 mV dans 0,1 M PBS (pH = 7.0).

Les principales caractéristiques générales des biocapteurs sont : *la sensibilité, la limite de détection, la gamme de linéarité, la reproductibilité, la sélectivité, le temps de réponse et la stabilité.*

Sensibilité : elle caractérise la capacité du biocapteur à détecter la variation de la grandeur à mesurer à très petite échelle, c'est la pente de la partie linéaire de la courbe d'étalonnage.

Temps de réponse : C'est la durée nécessaire pour atteindre 99 % de la pleine amplitude de l'intensité de courant du régime stationnaire.

Domaine de linéarité : C'est la zone dans laquelle la réponse du (bio) capteur varie linéairement, comprise entre la limite de détection et la concentration maximale saturante.

Sélectivité : C'est la capacité du biocapteur à mesurer une variation du signal due uniquement au seul analyte qu'on veut le détecter.

Reproductibilité : Ce paramètre caractérise la capacité du biocapteur à donner l'étroitesse d'accord entre les résultats de mesures successives dans des conditions différentes.

Limite de détection : C'est la plus petite concentration de substrat pouvant être détectée par le biocapteur.

Stabilité : Ce paramètre caractérise l'aptitude du biocapteur à offrir la même réponse au cours de son utilisation. On distingue deux types de stabilité, la stabilité opérationnelle (Répétabilité) et la stabilité due au stockage. La première traduit la capacité du biocapteur à donner des résultats voisines des mesures successives répétées d'une même grandeur effectuée dans les mêmes conditions et par le même expérimentateur. Elle est calculée en utilisant l'équation de l'erreur relative standard (RSD) tandis que la stabilité due au stockage décrit la variation de la réponse en fonction du temps de stockage du biocapteur sous des conditions bien définies.

3.3.1. INFLUENCE DE LA METHODE D'IMMOBILISATION SUR LA REPONSE DU BIOCAPTEUR

3.3.1.1. EFFET SUR LA STABILITE DES BIOCAPTEURS

La stabilité des biocapteurs est un paramètre déterminant, fortement influencé par la méthode d'immobilisation du biorécepteur. Dans cette section, on présente l'influence des stratégies d'immobilisation sur la performance des biocapteurs à base des trois enzymes les plus utilisées ; tyrosinase, laccase, peroxidase.

Le piégeage de la tyrosinase dans des films de polymère présente une excellente stabilité de 75 % après 4 mois d'utilisation [34-36] (tableau I.2). Aussi, elle peut être intégrée entre une couche de cystéamine et un film de nanotubes de carbone (MWCNTs) par du nafion ce qui donne une stabilité de 95,44 % après 30 jours [37]. La réticulation de la tyrosinase par la vapeur de glutaraldéhyde offre aussi une stabilité élevée de 94,2 % après un mois [38]. L'immobilisation de la laccase par réticulation dans une membrane de nylon avec du glutaraldéhyde ou par adsorption sur des particules d'oxyde de fer (Fe_2O_3) peut conserver son activité pendant plusieurs mois [39, 40].

L'immobilisation de l'enzyme peroxydase (HRP) par des liaisons covalentes sur une matrice polymère via des supports époxy ou l'utilisation de la technique d'assemblage couche par couche (LBL) garde son activité plus longtemps [35,41]. De plus, l'immobilisation de HRP par adsorption sur une matrice composée de nanoparticules d'alumine (Al_2O_3) et de chitosane conserve environ 80 % de son activité [42].

En plus, sa combinaison avec le dioxyde de titane (TiO_2) et les nanofibres de cuivre (CuCNF) améliore fortement sa stabilité [43]. Une excellente stabilité de 90 % de la réponse du biocapteur par le piégeage de la laccase dans une membrane de nafion combinée avec de la cellulose bactérienne et des nanoparticules d'or [44, 45].

L'immobilisation des biorécepteurs en gardant leur activité est encore un défi lors de la construction des biocapteurs stables à la détection des composés phénoliques. Les réactifs chimiques sont nocifs et compliquent le processus d'immobilisation causant une mauvaise stabilité et diminuant aussi l'activité biologique de l'enzyme immobilisée. Pour surmonter ces inconvénients, l'immobilisation des biorécepteurs par couplage covalent en utilisant des groupements fonctionnels peut maintenir la stabilité enzymatique.

3.3.1.2. EFFET SUR L'AFFINITÉ DE L'ENZYME

L'affinité de l'enzyme envers son substrat est fortement influencée par les nanomatériaux utilisés pour la fixation de l'enzyme sur la surface de l'électrode. Ce paramètre est déterminé par l'équation de Michaelis et Menten (K_m). L'affinité est grande pour des petites valeurs de (K_m), pour des valeurs importantes de (K_m) l'affinité de l'enzyme vers le substrat est très faible.

La figure I.10 montre que pour la même vitesse catalytique maximale (V_{\max}), on peut avoir deux différentes valeurs d'affinités du même biorécepteur vers son substrat ($K_{m1} < K_{m2}$). Ce qui montre clairement l'importance de la distribution des molécules du biorécepteur. L'utilisation des agents biocompatibles comme les biopolymères ou les protéines comme le bovine serum albumine peut élargir le site catalytique en augmentant l'affinité vers le substrat (faible valeur de k_m).

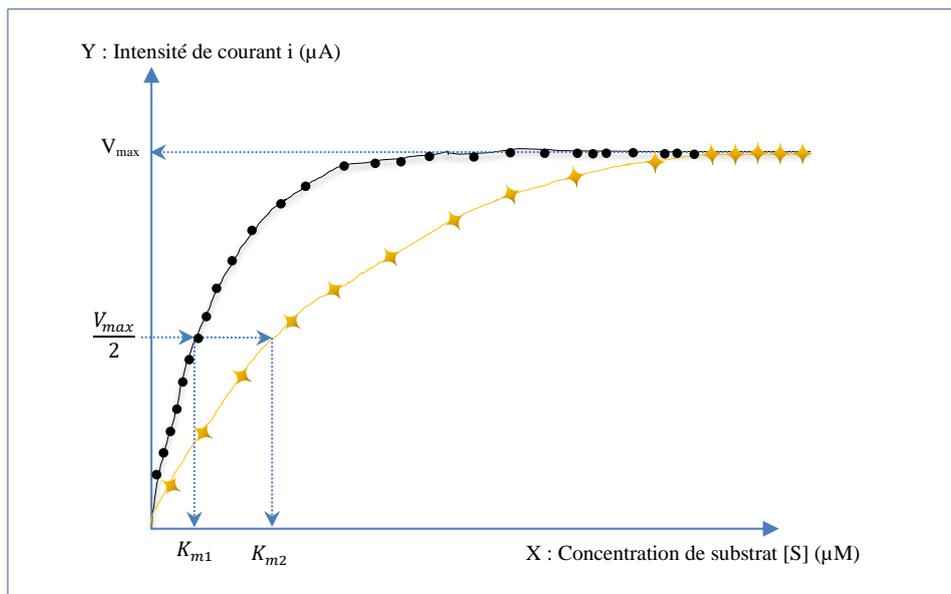


Figure I.10. Détermination graphique du paramètre d'affinité (K_m) par la courbe de calibration.

Comme le montre le [tableau I.2](#), l'affinité de la tyrosinase et de la laccase envers les polyphénols s'améliore considérablement en utilisant des films de nafion ou de polyaniline avec des nanoparticules d'oxyde métallique fonctionnalisées ($k_m \approx 1 \mu\text{M}$) [46-49]. Large utilisation du glutaraldéhyde (GA) comme agent de réticulation pour immobiliser des protéines, des enzymes ou des échantillons de tissus à la surface des électrodes [50, 51]. Cependant, l'activité catalytique de l'enzyme dépend fortement du rapport enzyme-glutaraldéhyde qui était approximativement fixé à 2,5% de glutaraldéhyde [52]. Il est intéressant de noter que les électrodes en pâte de carbone modifiées par réticulation de la tyrosinase avec du glutaraldéhyde offrent de meilleures performances analytiques que l'utilisation de la méthode de piégeage physique [53,54].

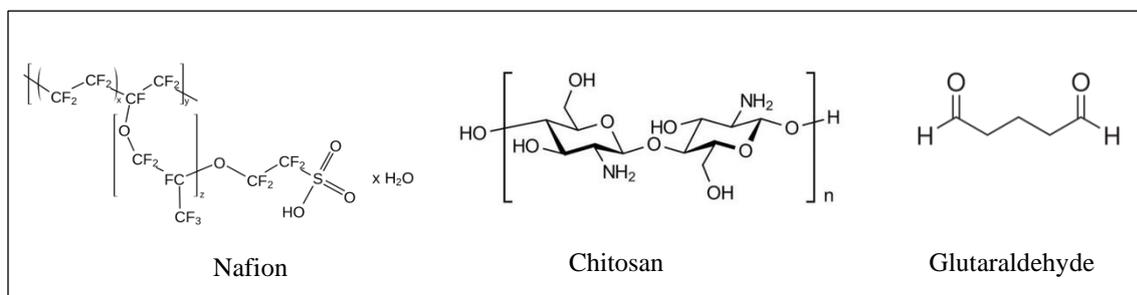


Figure I.11. Structure chimique du nafion, chitosan et glutaraldéhyde.

3.3.2. GAMME LINEAIRE ET LIMITE DE DETECTION

La linéarité de la réponse des biocapteurs indique que la proportionnalité entre les différentes concentrations de l'analyte et la réponse électrochimique. Différentes approches sont appliquées pour étendre la gamme linéaire de la réponse des biocapteurs tels que l'utilisation des médiateurs, l'augmentation de la perméabilité des analytes à travers la membrane ou l'utilisation d'électrodes multicouches enzymatiques [55,57]. Comme le montre le (tableau I.3), les nanoparticules inorganiques utilisés pour construire une matrice à laccase contenant des nanofibres de carbone (CNF) étendent la gamme linéaire de concentration de catéchol de 9,95 à 9760 μM [58]. En outre, de larges gammes de linéarité ont été obtenues en utilisant du glutaraldéhyde-co-pyrrole (2,5-750 μM) dans la plateforme à peroxydase (HRP) ou en présence des oxydes métalliques avec la tyrosinase [59, 61] (tableau I.2). La méthode de la tension sinusoïdale peut augmenter la quantité de tyrosinase piégée dans un polymère conducteur de poly (3,4-éthylènedioxy thiophène) (PEDOT) ce qui étend la gamme linéaire de concentration de dopamine de 10 à 300 μM [62, 63]. L'électrode à pâte de carbone modifiée par la méthode électrochimique avec un film polymère de glycine (Gly) présente une large gamme de linéarité de 15 à 865 μM pour la détection de dopamine [64]. Aussi, le dépôt de polyaniline (PANI) sur des microfibrilles électrofilées améliore la zone interfaciale mieux que son électrodéposition sur la surface de l'électrode en carbone vitreux à l'aide de glutaraldéhyde. La méthode fournit un microenvironnement favorable pour l'immobilisation de la laccase, ce qui élargit la gamme linéaire de concentrations de catéchol de 0,497 à 2277,8 μM [65, 66].

La limite de détection présente un intérêt particulier dans l'évaluation des performances analytiques des biocapteurs notamment pour la détermination des substances dangereuses. La stratégie d'immobilisation des biorécepteurs dans les nanocomposites organiques-inorganiques est efficace car elle offre des limites de détection très basses surtout en utilisant la tyrosinase comme biorécepteur (LOD=0,2 nM) [67]. La combinaison de nafion avec de la poly (L-DOPA) et de la tyrosinase permet la détermination des phénols à l'échelle nanomolaire (LOD = 2 nM) [46]. Ainsi, mélanger le polyaniline (PANI) avec les nanotubes de carbone (CNT) en utilisant les liquides ioniques est un procédé efficace pour détecter le phénol à l'état de trace (LOD = 0,1 nM) [68]. De même, l'immobilisation de la peroxydase (HRP) dans un nanocomposite à base d'agarose/CNT offre une détection à l'échelle nanomolaire du phénol et du catéchol [69].

3.3.3. SENSIBILITÉ DES BIOCAPTEURS

La sensibilité des biocapteurs pour la détection des composés phénoliques est un facteur clé qui affecte leurs performances analytiques. Le piégeage des enzymes dans des matrices polymères fait partie de plusieurs stratégies qui améliorent la sensibilité des biocapteurs [70]. En conséquence, le piégeage de la laccase dans une biocomposite de poly (3,4-éthylènedioxy-thiophène) (PEDOT) et de nano-feuilles d'oxyde de graphène (GoN) présente une sensibilité élevée de 3,417 $\mu\text{A}/\mu\text{M}$ [71]. De même, l'utilisation du tétraoxyde d'osmium dans un nanocomposite de poly 4-vinylpyridine, MWCNTs et le nafion améliore considérablement la sensibilité du biocapteur à laccase (3,82 nA/nM) [72]. De plus, le piégeage de l'enzyme peroxydase (HRP) par la méthode sol-gel en utilisant le gel de silice (SiSG) sur la surface de l'électrode à pâte de carbone (CPE) modifiée avec de la poly l-arginine poly (l-Arg) et des nanoparticules d'argent (AgNPs) fournit une sensibilité de 0,42 $\mu\text{A}/\mu\text{M}$ [73]. Une sensibilité ultra-élevée de 10 $\mu\text{A}/\mu\text{M}$ a été obtenue en utilisant des feuilles à base d'oxyde de titane ITO comme électrode jetable modifiée avec des sous-phthalocyanines (PhOSubPc) comme médiateur d'électrons [74,75].

4. REACTION CATALYTIQUE ENZYMATIQUE POUR LA DETECTION DU PHENOL

Le mécanisme de la réaction électrochimique pour la détection des composés phénoliques se distingue par le type de l'enzyme immobilisée à la surface du transducteur [76,77]. L'étude statistique réalisée au cours de la période (2008-2019) montre que l'enzyme tyrosinase est la plus utilisée avec (50 %) comme biorécepteur des composés phénoliques, suivie par la laccase (28 %) et HRP (11 %), tandis que les Aptamers et l'ADN ne représente que 5 % des biorécepteurs en raison de leur récente utilisation au cours des dernières années (figure. I.12).

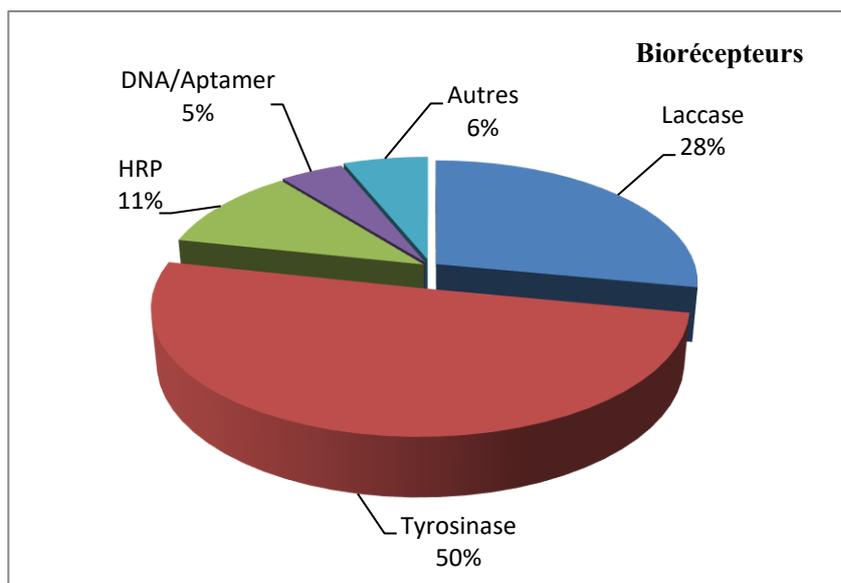


Figure I.12. Répartition de l'utilisation des biorécepteurs pour le développement de biocapteurs pour la détection de composés phénoliques pendant la période (2008-2019).

4.1. MÉCANISME D'OXYDATION DES BIORÉCEPTEURS

L'enzyme tyrosinase également appelée catéchol oxydase peut catalyser deux types de réactions selon le mécanisme d'oxydation des phénols en quinones. La première est l'activité de la crésolase dans laquelle la tyrosinase utilise des cations Cu^{2+} comme cofacteurs pour l'insertion d'oxygène en position ortho du groupe hydroxyle des monophénols pour obtenir des diphénols qui à leur tour se transforment en quinones par déshydrogénation [77]. Le deuxième type de réaction, appelé activité catécolase, dans lequel l'oxydation des o-diphénols en benzoquinones se produit avec l'abstraction de l'hydrogène [78] (schéma I.8.A).

L'enzyme laccase possède quatre atomes de cuivre et elle oxyde les composés phénoliques par les radicaux dans lequel les ions cuivre conduisent les électrons d'un substrat réducteur à l'oxygène (schéma I.8.B) [79].

L'oxydation du phénol catalysé par l'enzyme peroxydase (HRP) et le peroxyde d'hydrogène est similaire au mécanisme du ping-pong à trois substrats, si on considère les phénols comme deux substrats séparés et le peroxyde d'hydrogène comme médiateur [80-83] (figure I.13.C).

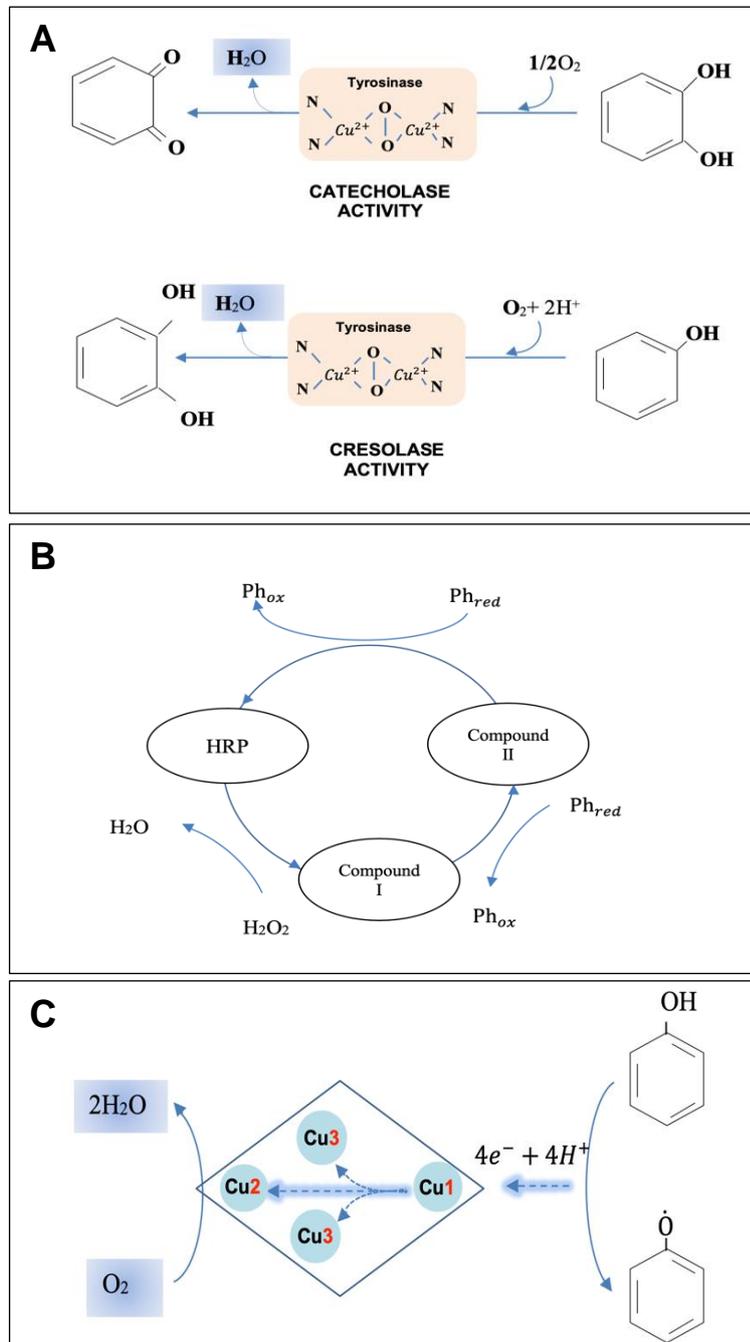


Figure I.13. Mécanismes réactionnels des enzymes avec les composés phénoliques. **A)** Mécanisme d'oxydation du phénol par la tyrosinase. **B)** Mécanisme d'oxydation du phénol par l'enzyme laccase. **C)** Mécanisme d'oxydation du phénol avec la peroxydase.

5. FONCTIONNALISATION DE NANOMATÉRIAUX COLLOÏDAUX

La fonctionnalisation de nanoparticules d'Or avec des enzymes améliore la sensibilité des biocapteurs car l'Or est un matériau très conducteur procurant un processus Red/Ox très rapide. Cependant, les biocapteurs à base de nanocomposite d'Or souffrent d'une instabilité colloïdale due à l'effet des cations salins sur la liaison thiol de l'Or [84,85]. L'électrodéposition de polymères conjugués à la surface des électrodes fournit une plateforme de microstructure solide pour immobiliser les éléments de biorecognition [86]. De plus, la fonctionnalisation de polymères avec des particules magnétiques fournit des interfaces biocompatibles avec une performance élevée de biocapteurs à laccase pour la détection du catéchol [87-89]. De même pour l'enzyme peroxydase (HRP) avec les matériaux carbonés comme le graphène qui améliore la biocompatibilité de l'interface surtout avec l'utilisation des dichalcogénures de métaux de transition [90, 91].

Récemment, une méthode basée sur la conjugaison des aptamères par liaison covalente entre les groupements carboxyle (-COOH) du peptide et les groupements amino (-NH₂) de l'aptamère est efficace pour construire une biointerface de détection [92]. La fonctionnalisation des nanoparticules d'Or avec des polymères conducteurs tels que le polyamidoamine (PAMAM) offre une interface de détection du catéchol très stable (95% après 2 mois) à l'échelle nanomolaire (2 nM) [93-96]. La fonctionnalisation et la dispersion des matériaux carbonés est difficile à mise en œuvre. Par exemple, l'immobilisation des enzymes directement sur la surface du graphène est difficile en raison de sa forte nature hydrophobe et de la présence seulement des atomes de carbone hybrides sp². De plus, l'activité catalytique est limitée par l'agrégation de nanoparticules lors de la synthèse. Ainsi, la fonctionnalisation du matériau carboné avec des solvants organiques évite l'agrégation et offre plus des sites catalytiques. De même, l'induction de matériaux hydrophiles pourrait empêcher efficacement l'agrégation du graphène et forme un composite très stable pour l'immobilisation enzymatique. Comme dans le cas de l'immobilisation de l'enzyme peroxydase (HRP) via des interactions avec le chélate de métal (90% après 60 jours) [97, 98,69].

5.1. CONCEPTION DES BIOCAPTEURS BI (2D) - ET TRI (3D)-DIMENSIONNELLES

La détermination électrochimique des composés phénoliques s'est effectuée récemment par des bio-interfaces catalytiques tridimensionnelles. Le matériau tridimensionnel (3D) possède plusieurs sites catalytiques et une stabilité élevée, comme dans le cas de l'immobilisation de la peroxydase (HRP) sur la structure tridimensionnelle de l'or nanoporeux (NPG) qui donne une stabilité de 98,2 % après 32 jours [99]. En outre, le matériau d'électrode fibreuse à base de silice et d'alcool polyvinylique offre certains avantages tels que la dispersion uniforme des nanoparticules à travers la silice, sa structure ouverte facilite l'incorporation d'une variété de substrats [100]. Aussi, l'utilisation de l'acide silice-phytique (h-SiO₂-PA) comme matériau décoratif des plates-formes possèdent plusieurs avantages à cause de son structure hélicoïdale tels que : une bonne biocompatibilité, une conductivité électrique élevée, une structure poreuse uniforme, une grande surface spécifique ainsi qu'un rapport surface/volume élevé [101-105]. Récemment, Li et al., 2018 ont synthétisé un noyau-coque avec une structure mésoporeuse comme support pour l'immobilisation de la laccase, le biocapteur a été appliqué pour la détection de la dopamine dans des échantillons pharmaceutiques (LOD = 0,17 µM) [106]. En outre, l'incorporation de nanoparticules de magnésium dans la silice mésoporeuse (MCM-4) contenant de l'alcool polyvinylique (PVA) est une méthode favorable pour l'immobilisation de la laccase [107]. La formation de la structure bidimensionnelle (2D) comme interface de détection en utilisant des métaux de transition comme le MXene (Ti₃AlC₂) exfolié peut immobiliser la tyrosinase avec une stabilité de 89 % après 6 semaines [108,109].

Pour assurer une distribution uniforme des nanomatériaux sur la surface de l'électrode tout en évitant leur agrégation, une nouvelle conception d'une structure 3D qui ressemble à la plante Aloès basée sur le traitement hydrothermal d'un composite d'oxyde de zinc et de nanoparticules d'or (AuNPs–ZnO) par deux méthodes différentes qui sont le revêtement par rotation (spin-coating) et le revêtement par immersion (dip-coating). Le biocapteur obtenu peut fonctionner à un faible potentiel de travail (0,25 V) en utilisant l'enzyme laccase pour la détection du catéchol dans l'eau (LOD = 25 nM) [110]. Les électrodes en diamant dopées au bore préparé par des matériaux en carbone encapsulés dans une matrice polymère utilisant la technique de l'impression moléculaire des polymères (MIP) peuvent

souffrir du manque de sensibilité même en présence des nanoparticules d'or [111] (tableau I.1).

Tableau I.1. Stratégies de conception des bio-interfaces bidimensionnelles (2D) et tridimensionnelles (3D) pour la détection des composés phénoliques.

(Bio) interfaces/stratégies de construction			Performance des (bio) capteurs			
Colloids Nanoparticules	Électrode	Processus de préparation	Tech.	Bio-élément Analyte	Caractéristiques analytiques	Ref.
CS-MWCNTs/Au NPs	BDD	Encapsulation de carbon nanotubes (CNT) et nanoparticules d'Or (AuNPs) dans un film de chitosan par la technique de polymères à empreintes moléculaires (MIP).	C.V.	- Catéchol	LOD= 36 µM L.R.= 75–1000 Sens. = 339.05 µA/mM.cm ²	[111]
Au-ZnO	ITO	Electrodéposition de nanoparticules d'Or (AuNPs) sur une nanostructure de ZnO. Forme Hexagonale obtenue par la méthode hydrothermique.	Amp.	Lac Catéchol	LOD= 25 nM L.R.= 75 nM to 1.1 mM Sens. = 31 µA/mM	[110]
PANI/MGr		Synthèse hydrothermique de nano-composites à base de graphène magnétique suivi par électropolymérisation de l'aniline.	Amp.	Lac HQ	LOD= 2.94 µM L.R.= 0.4–337.2 µmol Sens. = 36.47 µA/mM	[112]
PDA-NiCNFs		Nickel carbon nanofibres préparés par la technique de carbonisation à haute température.	Amp.	Lac Catéchol	LOD= 0.69 µM L.R.= 1 – 9100 µM Sens. = 25 µA/µM.cm ²	[113]
PDA/Fe ₃ O ₄ /Au		Préparation de nanostructures magnétique. Synthèse de Fe ₃ O ₄ par coprecipitation chimique en utilisant le gaz nitrogen.	Amp.	Lac HQ	LOD= 30 nM L.R.= 0.2 – 95 µM Sens. = 374 µA/mM.cm ²	[88]
Fe ₃ O ₄ @SiO ₂ @vmSiO ₂		Recouvrement de Fe ₃ O ₄ avec SiO ₂ par la méthode de Stober en utilisant le cetyltriméthylammonium chloride.	DPV.	Lac Dopamine	LOD= 0.177 µM L.R.=1.5 – 75 µM Sens. = 0.2209 µA/µM	[106]
Au@Fe ₂ O ₄ /MWCNTs	GCE	Incubation pour 1 h de la solution aptamer en 1 mM de tris-(2-carboxyethyl) phosphine hydrochloride (TCEP) pour couper les liaisons disulfide. Incubation de l'électrode de carbone vitreux dans une solution 10 mM de Tris-HCl (pH 7.6) contenant 1 mM d'aptamer et placée dans un environnement 100% humide pendant 17 h à 48 C°.	DPV.	Aptamer Bisphénol A	LOD= 25.2 pM L.R.= 0.05 – 9 nM	[160]
NI-OH-CNTs Agarose		Les ions Ni ²⁺ fortement liés aux groupements fonctionnels de l'enzyme HRP biointerface. Stabilité du biocapteur est de 90% 60 jours.	Amp.	HRP Catéchol	LOD= 3 nM L.R.= 0.02 – 4.5 µM Sens. = 0.42 µA/µM	[69]

MXene-Cs	Synthèse d'une nanostructure à base de MXene 2D par l'exfoliation de Ti_3AlC_2 avec l'acide hydrofluorique.	Amp.	Tyr Phénol	LOD= 12 nM L.R.= 0.05 –15.5 μ M Sens. = 414.4 mA/M	[109]
AuNPs-MoS ₂	Méthode hydrathermique suivie par réduction chimique pour la synthèse des couches bidimensionnelles à base de MoS ₂ fonctionnalisées par les nanoparticules d'Or.	DPV.	Lac Catéchol	LOD= 2 μ M L.R.= 2 – 2000 μ M Sens. = 16.3 μ A/mM	[115]

HQ : Hydroquinone, DPV : voltamétrie à impulsion différentielle, Amp. : Ampérométrie, C.V.: voltamétrie cyclique, Tyr: Tyrosinase, Lac: Laccase, HRP : Horse radish peroxydase.

5.2. FONCTIONNALISATION DU GRAPHENE ET DES OXYDES METALLIQUES

La fonctionnalisation du graphène peut empêcher son agrégation et augmente les sites catalytiques des nanointerfaces. Généralement, la fonctionnalisation s'effectue en utilisant des variétés de groupes fonctionnels comme le 1-formylpyrène (1-FP), l'ester succinimidyle d'acide et le 1-pyrènebutanoïque (PASE) [116,117]. Le graphène est utilisé aussi comme agent dispersant avec des microfibrilles de cellulose (CMF) pour agrandir la surface spécifique, particulièrement, en présence de monomère du pyrrole modifié par la cyclodextrine [118,119,98]. Les nanoplaquettes de graphène synthétisées par la méthode hydrothermique et fonctionnalisées avec des nanotubes de dioxyde de titane (TNT) présentent une bonne stabilité de 87,7 % après 4 semaines [120]. La combinaison de l'enzyme peroxydase (HRP) avec l'oxyde de graphène fonctionnalisés par les nanosphères d'Or améliore l'affinité de l'enzyme (HRP) ($K_m = 8,14$ nM) envers le Bisphenol A (BPA) avec une détection à l'état de trace (LOD = 2,6 pM) [121].

La lixiviation des enzymes immobilisées à la surface de l'électrode est souvent un problème pour la fabrication de biocapteurs de phénol. La rugosité de la surface des films à base d'oxydes métalliques augmente les sites actifs de l'enzyme sur le film et fournit un microenvironnement approprié qui empêche la lixiviation de l'enzyme immobilisée [122] [123]. Ainsi, les films d'oxydes métalliques augmentent la cinétique de transfert d'électrons au niveau de la surface des électrodes et améliorent leur conductivité [124]. Les biocapteurs à tyrosinase conjuguée avec les oxydes métalliques sont plus sensibles en utilisant des nanoparticules d'oxyde de titane, de fer ou de zinc mélangées avec du chitosane ou recouvertes avec de silice mésoporeuse ($Fe_3O_4@mSiO_2$) [125-128,59].

5.3. PLATEFORMES A BASE DES LIQUIDES IONIQUES ET DE POLYMERES CONDUCTEURS

Les liquides ioniques sont de bons solvants pour la synthèse de nombreux matériaux organiques et inorganiques en raison de leur stabilité thermique élevée comme le bromure d'imidazole ou le chlorure de 1-butyl-3-méthylimidazolium qui ont été potentiellement utilisés pour la fonctionnalisation des nanomatériaux [129,76] (figure I.14). La présence des solvants ioniques lors du processus d'électropolymérisation améliore ses propriétés cinétiques [1]. Comme dans le cas de la combinaison de la polyaniline (PANI) avec des nanotubes de carbone (CNT) en présence des liquides ioniques ce qui donne une stabilité de 94 % après 40 jours [130,131].

D'autre part, le chitosane comme biopolymère est largement utilisé pour l'immobilisation des enzymes en raison de sa biocompatibilité et de son excellente capacité à former des films [61]. Sa combinaison avec le graphène produit une structure microporeuse favorable à l'immobilisation des enzymes [132,133]. Aussi, un mélange de chitosane, tyrosinase et les nanoparticules de nickel (CNi) avec un rapport en volume de (1:2:1) conduit à détecter le catéchol à une concentration très basse de l'ordre de picomolaire (LOD = 83 pM) [134].

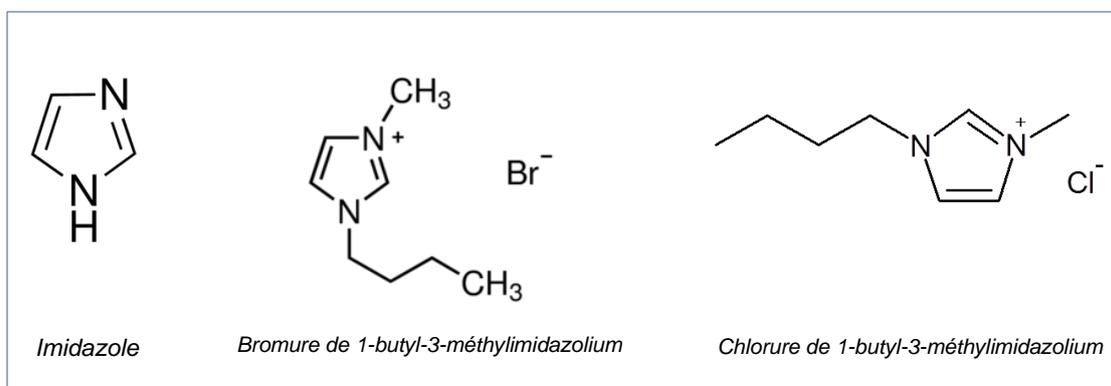


Figure I.14. Structure chimique des liquides ioniques les plus utilisés pour la préparation des nanocomposites.

5.4. LES PLATEFORMES BASEES SUR LES MONOCOUCHEES AUTO-ASSEMBLEES

Les monocouches auto-assemblées (SAM) sont l'une des techniques les plus importantes utilisées pour contrôler les propriétés des biointerfaces [135,136] (figure I.15). En particulier, la surface des électrodes modifiées par cette technique peut empêcher la diffusion d'espèces redox et, par conséquent, minimise l'effet de diffusion des espèces sur la réponse ampérométrique du biocapteur [137]. Sur la base de cette technique, plusieurs biocapteurs ont été développés en utilisant des groupes nitrophényle [138] ou en utilisant à la fois l'acide thiooctique (T-COOH) et l'acide thiooctique amide (T-NH₂) [139]. De même, Portaccio et al., 2010 ont mélangé de la tyrosinase et de la thionine avec de la poudre de graphite immobilisée sur une électrode en Or auto-assemblée à la cystéamine fournissant une bonne stabilité de 93 % après 1 mois [140].

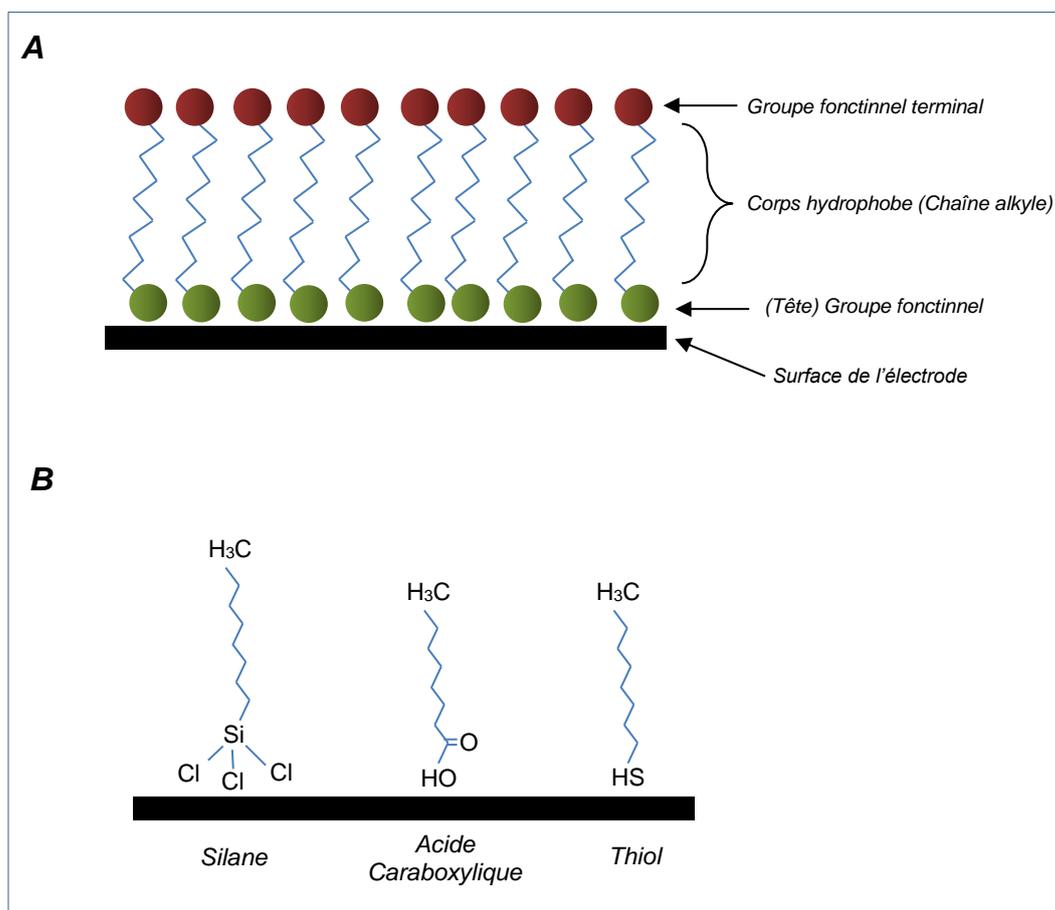


Figure I.15. Représentation schématique de la technique auto-assemblage d'une monocouche (A). Groupements fonctionnels les plus utilisés par la technique (B).

6. BIOCAPTEURS POUR LA DETECTION DES COMPOSES PHENOLIQUES

6.1. BIOCAPTEURS À TYROSINASE

L'enzyme tyrosinase est l'un des éléments de biorecognition les plus utilisés pour construire les biocapteurs pour la détection des composés phénoliques à cause de sa biocompatibilité avec variétés des nanocomposites [61,46,128]. De nombreuses stratégies se sont trouvées efficaces en utilisant cette enzyme pour la détection du phénol en la piégeant dans une nanostructure de matériaux conducteurs déposée à la surface du transducteur électrochimique. Les avantages de cette technique sont nombreux tels que : amélioration des caractéristiques analytiques des biocapteurs, augmentation de la sensibilité et la stabilité au stockage, ces caractéristiques sont résumées dans le [tableau I.2](#). Dans la première colonne de tous les tableaux de ce chapitre, le signe de tiret (-) a été utilisé entre les composites pour indiquer le mélange et le signe de barre oblique (/) a été utilisé pour souligner les couches.

En comparaison avec le système multienzymatique et d'autres enzymes utilisées pour la construction de biocapteurs de phénol, l'enzyme tyrosinase piégée dans des films polymères offre une affinité élevée avec une réponse très stable pour détecter certains composés phénoliques. Cependant, l'immobilisation d'enzymes de peroxydase ou de laccase dans certains types de films tels que le composite de type gomme d'agarose–guar améliore considérablement la stabilité du biocapteur de phénol.

Tableau I.2. Caractéristiques analytiques des biocapteurs à base de la tyrosinase pour la détection des composés phénoliques.

Biointerface/Électrode	Sensibilité	Gamme linéaire	L.O.D.	pH	Km	Stabilité (%)	Ref.
Tyr/PEDOT/AuNPs/S PCE	31.1 $\mu\text{A}/\text{mM}$	0.1 – 50 μM	20 nM	7.4	25 μM	80 % (50 uses)	[1]
NAC-AuNPs/Tyr/Cs/GCE	0.289 A/M	0.2 – 50 μM	80 nM	7.0	N.R.	71 % 1 month	[61]
Nafion/PD _M -Tyr/Au	5122 $\mu\text{A}/\text{mM}$	0.01–1.25 μM	2 nM	7.0	3.13 μM	78 % 4 weeks	[46]
Tyr/BiOx/GA/GCE	3.2 A/M.cm ²	0.01 – 8 μM	5 nM	6.0	0.319 mM	72 % 47 days	[141]
Nafion/Tyr/MWCNTs/CA/Au	82 nA/ μM	0.05 – 100 μM	3 nM	7.5	N.R.	95.44 % 30 days	[37]
Tyr/CeO ₂ /TiO ₂ /Cs/GC E	14.9 mA/M	1 – 8 μM	34 nM	6.5	0.799 mM	75 % 50 assays	[142]
Tyr/1.FP/rGo/SPE	113.1 $\mu\text{A}/\text{mM}$	0.5 –150 μM	0.17 μM	7.0	N.R.	85 % 1 month	[116]
Tyr/Fe ₃ O ₄ -Cs/GCE	0.225 A/M	0.083 – 83 μM	25 nM	6.5	159.5 μM	53 % 2 months	[59]
Tyr-Fe ₃ O ₄ @mSiO ₂ /MGCE	78 $\mu\text{A}/\text{mM}$	1 nM – 10 μM	1 nM	6.0	N.R.	87 % 1 month	[128]
QDs/Cs/Tyr/GCE	462 mA/M	6.5 nM – 30 μM	1 nM	6.5	5.13 μM	80 % 50 days	[133]
Tyr/PANI-IL-CNFs/GCE	253 A/M.cm ²	0.4 nM – 1.9 μM	0.1 nM	7.0	1.16 μM	94 % 40 days	[131]
BiNPs/Tyr/GA/SPE	14.025 nA/ μM	0 – 71 μM	62 nM	6.5	63 μM	N.R.	[51]
Tyr/CTAB-NCC/QDs	0.078 $\mu\text{A}/\mu\text{M}$	5 – 40 μM	0.082 μM	7.0	N.R.	75 % 5 weeks	[143]
Tyr/P4VP-b-PS/GCE	3 A.M ⁻¹ .cm ⁻²	0.02–35 μM	7 nM	6.0	0.17 mM	80 % 1 month	[144]
Tyr/GA/Go/GCE	0.34 $\mu\text{A}/\mu\text{M}$	0.05 – 50 μM	30 nM	7.0	169.9 μM	77 % 1 month	[145]
GNPt-TNT/(Demim)Br/Nafion/Tyr/GCE	0.15 $\mu\text{A}/\mu\text{M}$	0.3 – 110 μM	55 nM	6.5	N.R.	87.7 % 4 weeks	[120]
Tyr/AuNPs-DHP/GCE	115 mA/M	110.5 – 390 μM	55 nM	6.5	N.R.	87.7 % 4 weeks	[120]
Tyr/AuNPs-DHP/GCE	115 mA/M	2.5 – 95 μM	0.17 μM	6.0	0.20 mM	93 % 30 days	[95]
Tyr-Cs-CNi/GCE	514 $\mu\text{A}/\text{mM}$	0.25 nM – 27 μM	83 pM	6.5	59.31 μM	60.3 % 2 months	[134]
PhOSubPc-Tyr/ITO	10 $\mu\text{A}/\mu\text{M}$	0.5 – 4 μM	0.101 μM	7.0	1.9 mM	89 % 50 cycles	[75]
CBPE-Tyr/SP CBPE	1.72 $\mu\text{A}/\mu\text{M}.cm^2$	0.013 –150 μM	6 nM	6.5	N.R.	33 % 64 days	[54]
Tyr-IL-MWCNTs-DHP/GCE	32.8 mA/M	4.9 – 1100 μM	0.58 μM	7.0	190 μM	95 % 30 days	[146]
Tyr/TiO ₂ /Nafion-1/1/CE	2.84 $\mu\text{A}/\mu\text{M}$	0.22 –11.93 μM	56 nM	6.0	N.R.	80 % 20 days	[147]
Tyr-DMcT/NaAuCl ₄ /Au	6780 $\mu\text{A}/\text{mM}.cm^2$	0.2 nM –15 μM	0.2 nM	7.0	N.R.	85 % 15 days	[67]
Tyr-AuNPs/PASE-Go/SPE	160 mA/M	83 nM – 23 μM	24 nM	7.0	27 μM	54 % 2 months	[117]
Tyr/Den(AuNPs)/Poly-PATT/GCE	N.R.	5 nM – 120 μM	2 nM	7.0	N.R.	95 % 2 months	[96]
Tyr-PANI-GA/Pt	65.4 $\mu\text{A}/\text{mM}$	0.2 – 80 μM	> 0.1 μM	6.0	117 μM	80 % 4 months	[36]
Thionine-Tyr/CPE	139.6 nA/ μM	0.15 –75 μM	150 nM	6.5	N.R.	93 % 1 month	[140]
PVA-SbQ/Tyr/CFP	3.74 $\mu\text{A}/\mu\text{M}$	0.04 – 20 μM	20 nM	6.5	N.R.	N.R.	[21]

Tyr/EDC/NHS/SAMs/Au	392 $\mu\text{A}/\text{mM}$	0.2 – 73 μM	0.1 μM	6.0	38 μM	N.R.	[138]
Tyr/SAMs/Au	751.3 $\mu\text{A}/\text{mM}\cdot\text{cm}^2$	1.6 – 60 μM	N.R.	7.0	184.9 μM	N.R.	[139]
Tyr-Diazonium-MWCNTs/BDD	1.81 $\mu\text{A}/\mu\text{M}\cdot\text{cm}^2$	0.01 – 100 nM	10 pM	7.2	N.R.	80 % 7 weeks	[148]
Tyr/PEDOT:PSS-SPE	312 $\mu\text{A}/\text{mM}$	0.02 – 9 μM	19 nM	6.0	N.R.	100 % 1 month	[34]
Tyr/CoPC-SPE	188 $\mu\text{A}/\text{mM}$	0.08 – 6 μM	80 nM	6.0	N.R.		
Cu-MOFs-Tyr-Cs/GCE	0.2242 $\mu\text{A}/\mu\text{M}$	0.05 – 3 μM	13 nM	7.0	N.R.	90 % 3 weeks	[149]
SWCNTs-Polylysine-Tyr/GA/GCE	788 $\text{mA}/\text{M}\cdot\text{cm}^2$	4 nM – 11.5 μM	0.97 nM	6.0	N.R.	94.2 % 1 month	[38]
Tyr/GA/Amino-ZnO/BDND	339.3 $\mu\text{A}/\text{mM}$	1 – 150 μM	0.2 μM	7.0	N.R.	80 % 5 weeks	[123]
PEDOT-Tyr/Au-MEAs	2.4 $\text{nA}/\mu\text{M}$	20 – 300 μM	0.24 μM	7.0	11.1 μM	17.6 % 80 days	[62]
SC-Tyr-PEDOT/SNGC	3.7 $\text{nA}/\mu\text{M}$	20 – 300 μM	7.1 μM	7.0	69.05 μM	N.R.	[63]
BCNPs/Tyr/Nafion/GCE	0.5075 $\mu\text{A}/\mu\text{M}\cdot\text{cm}^2$	0.02 to 10 μM	3.18 nM	N.R.	1.13 μM	86.9 % 1 month	[150]

6.2. BIOCAPTEURS À LACCASES

Les biocapteurs à base de l'enzyme laccase pour la détection des monophénols tels que le gaïacol sont principalement construits par des polymères carbonés et des oxydes métalliques [151,143,144]. Ce type de ces nanoparticules n'a presque pas un effet sur les caractéristiques analytiques du biocapteur [154] (tableau I.3). Dans la littérature, la détection des polyphénols s'est effectuée sur une grande variété d'échantillons réels, y compris les produits pharmaceutiques, le plasma sanguin humain, les plantes, les jus de fruits, les eaux usées et les échantillons d'urine [155-159]. Les biocapteurs à laccase pour la détection des polyphénols construits avec des polymères conducteurs présentent une structure robuste comme le prépolymère de polyazétidine (PAP) qui offre aussi une bonne perméabilité aux médiateurs tout en conservant l'activité de la laccase [160,161]. Les biocapteurs pour la détection du catéchol préparées avec du dithiénylotétra-phénylsilane fixé à la surface de l'électrode en platine par liaison électrostatique offrent une stabilité de 92 % après 3 mois [162]. De même, l'utilisation de poly(chlorhydrate d'allylamine) (HAP) pour immobiliser la laccase avec des nanoparticules d'Or à la surface de l'électrode en pâte de carbone (CPE) améliore considérablement la stabilité du biocapteur de laccase pour la détection de la dopamine (95 % après 60 jours) [163].

Tableau I.3. Caractéristiques analytiques des biocapteurs à base de la laccase pour la détection des composés phénoliques.

	Biointerface/Électrode	Sensibilité	Gamme linéaire	L.O.D.	pH	Km	Stabilité (%)	Ref.
Guaiacol	Lac/NiNPs/MWCNTs/PANI/Au	0.694 $\mu\text{A}/\mu\text{M}\cdot\text{cm}^2$	0.1 – 500 μM	0.05 μM	5.5	N.R.	85 % 4 months (200 uses)	[164]
	Lac/CuNPs/Cs/MWCNTs/PANI/Au	N.R.	1 – 500 μM	0.156 μM	6.0	333.33 μM	80 % (7 months) (300 uses)	[152]
	Lac/MnO ₂ NPs/cMWCNTs/PANI/Au	5.578 $\mu\text{A}/\text{mM}$	0.1 – 500 μM	40 nM	5.5	N.R.	75 % 5 months (150 uses)	[165]
	Lac/AgNPs/cMWCNTs/PANI/Au	0.6938 $\mu\text{A}/\mu\text{M}$	0.1 – 500 μM	50 nM	5.5	307.69 μM	80 % 4 months (200 uses)	[154]
2,6-D.M.P.	Lac/BSA/NyM/Au	N.R.	5 – 80 μM	0.9 μM	6.8	N.R.	70 % 5 months	[39]
	Lac/Fe ₂ O ₃ Yolk-shell	452 $\mu\text{A}/\text{mM}\cdot\text{cm}^2$	0.025 – 750 μM	0.01 μM	4.5	N.R.	96.1 % 2 months	[40]
Catéchol	Lac/BSA-GA/rGo-MWCNTs/GCE	0.31 A/M.cm ²	Up to 300 μM	0.3 μM	4.5	N.R.	93.3 % 1 month	[159]
	Lac-FSM7.0/GCE	2.63 nA/ μM	2 – 100 μM	2 μM	5.0	51.5 μM	96 % 50 days	[105]
	Fe ₃ O ₄ -PANI/Lac/Cs/GPE	126 $\mu\text{A}/\text{mM}$	10 – 100 μM	0.4 μM	5.0	1.092 μM	90 % 60 days	[48]
	Lac/PVA-AWP/GR SPE	18.83 nA/ μM	0.5 – 175 μM	0.558 μM	4.7	N.R.	Life time > 6 months	[166]
	Lac/PVA/Mg-MCM-41/Au	16.9227 A/M	0.94 – 10.23 μM	5.31 nM	4.8	1.01 μM	91 % 30 days	[49]
	CNFs/Lac/Nafion/GCE	19.9 $\mu\text{A}/\text{mM}$	9.95 – 1130 μM	3.32 μM	6.0	N.R.	89.1 % 22 days	[58]
	Cu/CNFs/Lac/Nafion/GCE	33.1 $\mu\text{A}/\text{mM}$	9.95 – 9760 μM	1.18 μM	6.0	N.R.	95.9 % 22 days	[58]
	Cs/Lac/MWCNTs/MCPE	0.279 $\mu\text{A}/\mu\text{M}$	0.1 μM – 165 μM	33.4 nM	5.6	N.R.	90 % 45 days	[167]
	PEDOT-GoNs-Lac/GCE	29.81 $\mu\text{A}/\mu\text{M}$ 3.417 $\mu\text{A}/\mu\text{M}$	0.036 – 0.35 μM 0.35 – 2.5 μM	32 nM	6.0	0.486 mM	N.R.	[71]
	Lac/DTTSPt	2.86 $\mu\text{A}/\text{mM}$	5 – 160 μM	40 nM	5.25	N.R.	92 % 3 months	[162]
	Lac/NHS-EDC/MBA/S.P. MBA	1.35 A/M.cm ²	0.2 – 110 μM	9 nM	5.0	N.R.	Life time 1 month	[158]
	Nafion/Lac-TESBA-ITONPs-SPCE	6.93 nA/ μM	1.66 – 7 μM	0.836 μM	5.0	4.78 μM	75 % 1 month	[47]
	(Cu-OMC)/Lac/Cs/Au	0.104 A/M	0.67 – 15.75 μM	0.67 μM	5.0	40.2 μM	95 % 30 days	[103]
	Lac-OsO ₄ -CB-Nafion-P4VP-MWCNTs/GCE	3.82 nA/nM	3.98 – 16.71 nM	2.82 nM	4.7	N.R.	81 % 3 weeks	[72]
	Lac/GA/PANI/GCE	706.7 mA/M	3.2 – 19.6 μM	2.07 μM	5.0	95.5 μM	N.R.	[65]
	PPO/SrCuO ₂ /PPyNT/P-Gr	15.60 $\mu\text{A}/\mu\text{M}\cdot\text{cm}^2$	1–50 μM	0.15 μM	7.0	N.R.	81 % 18 days	[168]
Lac/PANI/CMC/Cellulose/GCE	15.4 nA/ μM	0.497 μM –2.27 mM	0.374 μM	4.5	1.74 mM	98 % 2 weeks	[66]	
WlacD-GCE	0.2154 $\mu\text{A}/\mu\text{M}$	0.5 – 300 μM	0.1 μM	3.0	N.R.	89.3 % 1 month	[169]	
Hydroquinone	Lac/PVA-AWP/GR SPE	9.44 nA/ μM	1.1 – 130 μM	1.071 μM	4.7	N.R.	Life time > 6 months	[157]
	Nafion/TiO ₂ /CuCNFs-Lac/GCE	24.6 $\mu\text{A}/\text{mM}$	1 – 89.8 μM	3.65 μM	6.0	N.R.	93.45 % 1 month	[43]
	Lac/Bc-AuNPs/Nafion/GCE	0.3029 $\mu\text{A}/\text{nM}$	30 – 100 nM	5.71 nM	5.0	N.R.	96 % 3 months	[44]
Acide catélique	Lac-Nafion/AuSPE	245.3 nA/ μM	3 – 15 μM	2.5 μM	4.5	6.6 μM	92 % 98 days	[45]
	Lac/PVA-AWP/GR SPE	24.91 nA/ μM	0.5 – 130 μM	0.524 μM	4.7	N.R.	Life time > 6 months	[157]
	Nafion/lac/rGo/Pt-NPs/SPCE	2.147 $\mu\text{A}/\mu\text{M}$	0.2 – 2 μM	90 nM	5.5	2.75 μM	87.4 % 6 weeks	[170]
Dopamine	Lac/h-SiO ₂ -PA/GCE	1.66 nA/ μM	0.99 – 138.4 μM	0.17 μM	6.0	N.R.	89 % 20 days	[101]
	Lac/SiO ₂ -PA NPs/GCE	1.57 nA/ μM	0.99 – 103.10 μM	0.26 μM	6.0	N.R.	80 % 40 days	[171]
	Lac/rGo/GCE	27.08 nA/ μM	0.1 – 3 μM	91 nM	7.0	N.R.	89.7 % 1 month	[172]
	Lac/PPy/MWCNTs/Pt	0.05 $\mu\text{A}/\mu\text{M}$	0.50 – 4.75 μM	0.14 μM	7.0	N.R.	90.4 % 60 days	[156]
	Au-MPA-LacAB SAM	0.0612 $\mu\text{A}/\mu\text{M}$	0.5 – 13 μM	29 nM	7.0	N.R.	N.R.	[155]
	AuNPs-PAH-LAC/CPE	0.0375 A/M	0.49 – 23 μM	0.26 μM	7.0	N.R.	95 % 60 days	[163]

6.3. BIOCAPTEURS À PEROXYDASE

Les biocapteurs à peroxydase présentent une faible affinité envers les composés phénoliques caractérisés par des grandes valeurs de la constante de Michaelis-Menten ($K_m > 0,1 \text{ mM}$) [173,174, 60] (tableau I.4). Cependant, l'enzyme peroxydase (HRP) est la plus utilisée pour la détection de certains polyphénols comme le bisphénol A, les dérivés du chlorophénol et les nitrophénols. La technique de l'auto-assemblage de l'enzyme (HRP) sur des matériaux en carbone peut assurer une détection de chlorophénols à l'échelle nanomolaire [175,176]. Une autre stratégie consiste à l'utilisation de tensioactifs qui peut bloquer le transfert direct d'électrons entre l'enzyme HRP et la surface de l'électrode, ce qui conduit à une amélioration significative de la sensibilité du biocapteur ($678 \mu\text{A}/\mu\text{M}$) pour la détermination du 2-chlorophénol [177]. A.K.M. Kafi et al., 2009 ont préparé un biocapteur de nitrophénol très stable (92 % après 45 jours) en utilisant du chitosane comme agent filmogène pour co-immobiliser le bleu de méthylène (MB) sur la surface d'un film mince d'Or et de nanotubes de dioxyde de titane (TiO_2) [178].

Tableau I.4. Caractéristiques analytiques des biocapteurs à base de la peroxydase (HRP) pour la détection des composés phénoliques.

	Biointerface/Électrode	Sensibilité	Gamme linéaire	L.O.D.	pH	K_m	Stabilité (%)	Ref.
Phénol	PGA/PPy/HRP/Au	600 nA/ μM	16 – 112 μM	87 nM	6.5	N.R.	70 % 1 month	[179]
	HRP/ Al_2O_3 /Cs/GCE	124.85 nA/ μM	0.1 – 80 μM	0.05 μM	6.0	N.R.	80 % 1 month	[42]
	MB-HRP/Au/Ti/ TiO_2	0.19 $\mu\text{A}/\mu\text{M}$	0.8 – 130 μM	0.195 μM	7.0	N.R.	92 % 45 days	[178]
P-cresol	PGA/PPy/HRP/Au	400 nA/ μM	8 – 160 μM	22 nM	6.5	N.R.	70 % 1 month	[179]
	MB-HRP/Au/Ti/ TiO_2	0.19 $\mu\text{A}/\mu\text{M}$	0.8 – 110 μM	0.19 μM	7.0	N.R.	92 % 45 days	[178]
4-AP	HRP/NPG/GCE	187.3 $\mu\text{A}/\text{mM}\cdot\text{cm}^2$	5 – 60 μM	0.11 μM	7.0	N.R.	98.2 % 32 days	[99]
2-CP	HRP/SDBS/HTLc/GCE	678 $\mu\text{A}/\mu\text{M}$	5 – 50 nM	2 nM	7.0	125 nM	95 % 2 weeks	[177]
N.P	MB-HRP-Cs/Au/Ti/ TiO_2	0.35 $\mu\text{A}/\mu\text{M}$	0.3 – 120 μM	90 nM	7.0	N.R.	92 % 45 days	[178]
BP A	HRP/AuNPs/S-rGo/GCE	7 nA/pM	20 pM – 1.18 nM	2.6 pM	7.0	8.14 nM	94.2 % 4 weeks	[121]
2,4-DCP	HRP-MWCNTs/GCE	0.05 $\mu\text{A}/\text{mM}$	1 – 100 μM	0.38 μM	6.8	5.95 μM	85 % 2 weeks	[175]
	HRP/G/GCE	5.95 $\mu\text{A}/\mu\text{M}\cdot\text{cm}^2$	0.01 – 13 μM	5 nM	7.0	N.R.	Lifetime 1 month	[176]
Catéchol	HRP/Poly(GA-co-PPy)/GCE	200 nA/mM	2.5 – 750 μM	N.R.	7.0	0.112 mM	60 % 40 days	[60]
	HRP/TLA/AuNPs/GCE	26 nA/M	6 – 46 μM	0.852 μM	6.5	0.43 mM	90 % 25 days	[174]
	HRP/ Al_2O_3 /Cs/GCE	309.53 nA/ μM	0.05 – 102 μM	0.02 μM	6.0	N.R.	80 % 1 month	[42]

HQ	HRP-SiSG/AgNPs /P(L-Arg)/CPE (HRP/MWCNTs-PAH) _n /PSS/PAH/MPS/Au	0.42 $\mu\text{A}/\mu\text{M}$	1 – 150 μM	0.57 μM	4.5	0.11 mM	88 % (50 cycles)	[73]
		165 nA/ μM	0.4 – 14 μM	0.05 μM	6.5	N.R.	84.7 % 90 days	[41]
Dopamine	Sol-Gel/HRP/MWCNTs-pPDA/GCE	35.5 $\mu\text{A}/\mu\text{M}$	0.1 – 1.9 μM	40 nM	7.0	1.55 μM	75 % 60 days	[173]
	HRP-MWCNTs SiSG/P(Gly)/CPE	0.76 $\mu\text{A}/\mu\text{M}$	15 – 865 μM	0.6 μM	7.0	0.5 mM	89 % 50 Cycles	[64]

6.4. BIOCAPTEURS MULTIENZYMATIQUES, D'HEMOGLOBINE ET BIOMIMETIQUES

La combinaison des enzymes lors de la construction des biocapteurs peut améliorer leur sensibilité en évitant l'inhibition des sites catalytiques du même enzyme par le substrat ou le produit. Cependant, ce système présente plusieurs inconvénients tels que : conditions expérimentales difficiles comme la méthode d'immobilisation, un temps de réponse très long et la performance du biocapteur est souvent limitée par l'activité de l'enzyme le moins stable [180]. Par conséquent, les biocapteurs multienzymiques pour la détection des composés phénoliques sont très limités (tableau I.5) [181,182]. Lanjunzi et al., 2018 ont construit un biocapteur sensible pour la détection du phénol (0,815 $\mu\text{A}/\mu\text{M}$) en combinant la tyrosinase (Tyr) et de la glucose oxydase (GOx) par la polymérisation catalytique de la L-tyrosine [183]. De même, l'immobilisation de la laccase et de la tyrosinase avec le chitosane ou dans une matrice sol-gel d'oxyde de titane améliore aussi la sensibilité du biocapteur [184,185] (tableau I.5).

L'hémoglobine (Hb) peut agir comme un élément de biorecognition offrant une sensibilité élevée, en particulier par le piégeage dans des films de nanographène ou de nanotiges de cuivre sulfureux (Cu_2S) [186,189]. La combinaison d'hémoglobine avec de la D-acide amino oxydase (DAAO) améliore aussi la sensibilité du biocapteur (12,801 $\mu\text{A}/\mu\text{M}$) [190].

6.4.1. BIOCAPTEURS À BASE D'APTAMÈRE/ADN

Comme le montre le tableau (tableau I.5), les biocapteurs électrochimiques à base d'aptamères peuvent facilement détecter le bisphénol A (BPA) à l'état de trace, notamment en présence des matrices carbonés décorés par les nanoparticules d'or [191-197,114]. Récemment, une nouvelle stratégie qui assure une détection sélective du BPA basée sur l'utilisation de la désoxynucléotidyl transférase comme biorécepteur [198]. L'application de la stratégie de l'empreinte moléculaire pour la construction des biocapteurs de BPA en utilisant le pyrrole atteint un niveau de détection très bas (LOD = 80 attomolaire). De même

pour l'électrodéposition de nanoparticules d'or (AuNPs) avec une séquence d'ADN (p-63) [199].

Tableau I.5. Caractéristiques analytiques des biocapteurs à base d'aptamer, hemoglobine, multienzymatiques pour la détection de composés phénoliques.

	Biointerfaces/Électrode	Sensibilité	L.R.	L.O.D.	pH	Km	Stabilité (%)	Ref.
<i>Biocapteurs à base d' Aptamer</i>	Apta/MCH/AuNPs/G/GCE	N.R.	0.01 – 10 μ M	5 nM	8.0	-	95 % 2 weeks	[200]
	Apta/NPGF/GCE	17 μ A/ μ M	0.1 nM – 0.1 μ M	56 pM	7.5	-	N.R.	[197]
	Apta-ACF/Au-PtNPs/CNTs-COOH/GCE	58.5 μ A/nM	10 pM – 500 μ M	0.035 pM	7.4	-	91 % 14 days	[193]
	Apta-NH ₂ -Fe ₃ O ₄ /AuNPs/CNTs/GA/GCE	N.R.	1 – 600 nM	300 pM	7.4	-	92 % 2 weeks	[201]
	ctDNA/SWNTs/Nafion n/GCE	0.722 A/M	10 nM – 20 μ M	5 nM	8.5	-	N.R.	[195]
	Apta-Cs/SPGE	N.R.	0.08 – 15 nM	15 pM	7.4	-	N.R.	[198]
	MCH/Apta/Au@Fe ₂ O ₄ /MWCNTs/GCE	86430 μ A/ μ M.cm ²	0.1 – 8 nM	0.03 nM	7.6	-	95 % 7 days	[114]
	MCH/Apta/Au/Cu Fe ₂ O ₄ /MWCNTs/GCE	-	0.05 – 9 nM	25.2 pM	7.6	-	96.1 % 7 days	[192]
	PPy/@p-63/AuNPs/GCE	N.R.	0.5 fM – 5 pM	80 aM	7.0	-	93 % 30 days	[199]
Ti ₃ C ₂ -DNA/Pd/Pt/GCE	1.05 μ A/ μ M.cm ²	0.2 μ M – 1 mM	30 nM	7.0	-	N.R.	[202]	
<i>Biocapteurs à base de Hemoglobine, hémim, biomimétique.</i>	Hb/Cu ₂ S NRs/Nafion/GCE	5.23 nA/ μ M	0.6 – 10 μ M	30 nM	7.8	N.R.	85 % 30 days	[189]
	Silica sol-gel/Hb/GCE	3.55 nA/ μ M	5 – 40 μ M	1.1 μ M	7.0	N.R.	80 % 30 days	[188]
		3.65 nA/ μ M	5 – 50 μ M	0.8 μ M				
	3.55 nA/ μ M	10 – 40 μ M	3.5 μ M					
<i>Biocapteurs multienzymatiques</i>	(C/(BSA-Lac/Tyr) ₂ /PU)/Pt	0.049 nA/ μ M	0.1 – 140 mM	1.59 μ M	7.4	2.572 mM	N.R.	[181]
	PLT-Tyr-GOX/Au	0.815 μ A/ μ M	0.05 – 10 μ M	17 nM	7.0	N.R.	N.R.	[204]
	AChE/ChO/PEI/Pt.Ir.	0.336 nA/ μ M	0 – 500 μ M	N.R.	12.85	635 μ M	N.R.	[182]
	Lac-Tyr-Cs-MWCNTs/ITO	138 μ A/mM	0.4 – 11 μ M	24.9 nM	5.5	16.6 μ M	90 % 12 uses	[184]
	Tyr-Lac/Titania gel/CE	5380 mA/M	0.20 – 23 μ M	0.13 μ M	6.0	N.R.	52 % 40 days	[185]

7. CONCLUSION

Ce chapitre s'intéresse à l'étude de l'effet des matériaux innovants et les stratégies appliquées pour construire des biocapteurs électrochimiques pour la détection des composés phénoliques. Cette étude présente une analyse complète de la performance analytique des biocapteurs pour la détection des composés phénoliques au cours de la dernière décennie et fournit une vision claire sur les stratégies innovantes appliquées pour construire les bio-interfaces de détection.

Il existe encore des inconvénients dans la préparation des biocapteurs de phénol, y compris l'encrassement de la bio-interface due à la polymérisation des radicaux et l'inactivation enzymatique par l'o-quinone générée. Par conséquent, les conditions expérimentales favorables ainsi que les techniques de mesure de l'activité électrochimique des matériaux colloïdaux doivent être soigneusement étudiées. D'un autre côté, certains articles se concentrent seulement sur l'analyse de l'écart-type relatif (RSD) pour décrire le paramètre de la stabilité opérationnelle. Cependant, la stabilité au stockage est l'un des facteurs les plus importants à considérer pour l'utilisation pratique des biocapteurs pour la détection des composés phénoliques. De plus, le contrôle de l'épaisseur du matériau biocomposite électrodéposé sur la surface de l'électrode reste un défi majeur. De plus, l'amélioration de la sensibilité des biocapteurs est un problème important, ce paramètre dépend du potentiel appliqué à l'électrode de travail. Ainsi, l'optimisation de la gamme de potentiels pour la détection des composés phénoliques en utilisant une concentration appropriée pourrait améliorer la sensibilité des biocapteurs.

Malgré les stratégies de préparation des capteurs conduisant à la détermination des composés phénoliques à l'état de traces, le développement d'un outil stable et très sensible à base de nanomatériaux et à faible coût reste l'un des plus grands défis. Le développement progressif des nouvelles plates-formes électrochimiques de biodétection mène à offrir des outils jetables, sensibles et stables à faible coût pour la détection des composés phénoliques en temps réel.

RÉFÉRENCES

- [1] V. Serafín, L. Agüí, P. Yáñez-Sedeño, J.M. Pingarrón, A novel hybrid platform for the preparation of disposable enzyme biosensors based on poly(3,4-ethylenedioxythiophene) electrodeposition in an ionic liquid medium onto gold nanoparticles-modified screen-printed electrodes, *Journal of Electroanalytical Chemistry*. 656 (2011) 152–158. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2010.11.038>.
- [2] M.-T. Huang, C.Y. Lee, C.-T. Ho, American Chemical Society, American Chemical Society, eds., *Phenolic compounds in food and their effects on health*, American Chemical Society, Washington, DC, 1992.
- [3] D. Puig, D. Barceló, Determination of phenolic compounds in water and waste water, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 15 (1996) 362–375. [https://doi.org/10.1016/0165-9936\(96\)00057-X](https://doi.org/10.1016/0165-9936(96)00057-X).
- [4] G. Marko-Varga, J. Emnéus, L. Gorton, T. Ruzgas, Development of enzyme-based amperometric sensors for the determination of phenolic compounds, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 14 (1995) 319–328. [https://doi.org/10.1016/0165-9936\(95\)97059-A](https://doi.org/10.1016/0165-9936(95)97059-A).
- [5] R. Maallah, A. Moutcine, C. Laghlimi, M.A. Smaini, A. Chtaini, Electrochemical bio-sensor for degradation of phenol in the environment, *Sensing and Bio-Sensing Research*. 24 (2019) 100279. <https://doi.org/10.1016/j.sbsr.2019.100279>.
- [6] J.G. Schiller, A.K. Chen, C.C. Liu, Determination of phenol concentrations by an electrochemical system with immobilized tyrosinase, *Analytical Biochemistry*. 85 (1978) 25–33. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(78\)90269-5](https://doi.org/10.1016/0003-2697(78)90269-5).
- [7] Polyphenol oxidase (PPO) based biosensors for detection of phenolic compounds: A Review, *J App Biol Biotech*. (2017). <https://doi.org/10.7324/JABB.2017.50313>.
- [8] F. Achi, A. Bensana, A. Bouguettoucha, C. Derradji, Recent advances in electrochemical modified Electrodes for sensing phenol derivatives, (2018) 6. <http://www.mbmscience.com/index.php/mbms/article/view/8>
- [9] L. Rotariu, F. Lagarde, N. Jaffrezic-Renault, C. Bala, Electrochemical biosensors for fast detection of food contaminants – trends and perspective, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 79 (2016) 80–87. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.12.017>.
- [10] J. Zhao, G. Chen, L. Zhu, G. Li, Graphene quantum dots-based platform for the fabrication of electrochemical biosensors, *Electrochemistry Communications*. 13 (2011) 31–33. <https://doi.org/10.1016/j.elecom.2010.11.005>.

- [11] N. Sanvicens, I. Mannelli, J.-P. Salvador, E. Valera, M.-P. Marco, Biosensors for pharmaceuticals based on novel technology, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 30 (2011) 541–553. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2011.01.006>.
- [12] K. Kerman, M. Saito, E. Tamiya, S. Yamamura, Y. Takamura, Nanomaterial-based electrochemical biosensors for medical applications, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 27 (2008) 585–592. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2008.05.004>.
- [13] M.M. Rodríguez-Delgado, G.S. Alemán-Nava, J.M. Rodríguez-Delgado, G. Dieck-Assad, S.O. Martínez-Chapa, D. Barceló, R. Parra, Laccase-based biosensors for detection of phenolic compounds, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 74 (2015) 21–45. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.05.008>.
- [14] J. Wang, Electrochemical biosensors: Towards point-of-care cancer diagnostics, *Biosensors and Bioelectronics*. 21 (2006) 1887–1892. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2005.10.027>.
- [15] M. Trojanowicz, M.L. Hitchman, Determination of pesticides using electrochemical biosensors, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 15 (1996) 38–45. [https://doi.org/10.1016/0165-9936\(96\)88036-8](https://doi.org/10.1016/0165-9936(96)88036-8).
- [16] J. Mehta, S.K. Bhardwaj, N. Bhardwaj, A.K. Paul, P. Kumar, K.-H. Kim, A. Deep, Progress in the biosensing techniques for trace-level heavy metals, *Biotechnology Advances*. 34 (2016) 47–60. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.12.001>.
- [17] F. Achi, S. Bourouina-Bacha, M. Bourouina, A. Amine, Mathematical model and numerical simulation of inhibition based biosensor for the detection of Hg(II), *Sensors and Actuators B: Chemical*. 207 (2015) 413–423. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2014.10.033>.
- [18] A. Mokhtarzadeh, R. Eivazzadeh-Keihan, P. Pashazadeh, M. Hejazi, N. Gharaatifar, M. Hasanzadeh, B. Baradaran, M. de la Guardia, Nanomaterial-based biosensors for detection of pathogenic virus, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 97 (2017) 445–457. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2017.10.005>.
- [19] W. Jin, G. Maduraiveeran, Nanomaterial-based environmental sensing platforms using state-of-the-art electroanalytical strategies, *J Anal Sci Technol*. 9 (2018) 18. <https://doi.org/10.1186/s40543-018-0150-4>.
- [20] Flavio Della Pelle, Dario Compagnone, Nanomaterial-Based Sensing and Biosensing of Phenolic Compounds and Related Antioxidant Capacity in Food, *Sensors*. 18 (2018) 462. <https://doi.org/10.3390/s18020462>.
- [21] C.-J. Yuan, C.-L. Wang, T.Y. Wu, K.-C. Hwang, W.-C. Chao, Fabrication of a carbon fiber paper as the electrode and its application toward developing a sensitive unmediated amperometric

- biosensor, *Biosensors and Bioelectronics*. 26 (2011) 2858–2863. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2010.11.023>.
- [22] L.C. Clark, C. Lyons, Electrode systems for continuous monitoring in cardiovascular surgery, *Annals of the New York Academy of Sciences*. 102 (2006) 29–45. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1962.tb13623.x>.
- [23] J. Wang, Nanomaterial-based electrochemical biosensors, *Analyst*. 130 (2005) 421. <https://doi.org/10.1039/b414248a>.
- [24] J. Wang, Carbon-Nanotube Based Electrochemical Biosensors: A Review, *Electroanalysis*. 17 (2005) 7–14. <https://doi.org/10.1002/elan.200403113>.
- [25] F.R.R. Teles, L.P. Fonseca, Applications of polymers for biomolecule immobilization in electrochemical biosensors, *Materials Science and Engineering: C*. 28 (2008) 1530–1543. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2008.04.010>.
- [26] M. Zhou, Y. Zhai, S. Dong, Electrochemical Sensing and Biosensing Platform Based on Chemically Reduced Graphene Oxide, *Anal. Chem.* 81 (2009) 5603–5613. <https://doi.org/10.1021/ac900136z>.
- [27] J.M. Pingarrón, P. Yáñez-Sedeño, A. González-Cortés, Gold nanoparticle-based electrochemical biosensors, *Electrochimica Acta*. 53 (2008) 5848–5866. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2008.03.005>.
- [28] N.J. Ronkainen, H.B. Halsall, W.R. Heineman, Electrochemical biosensors, *Chem. Soc. Rev.* 39 (2010) 1747. <https://doi.org/10.1039/b714449k>.
- [29] D.R. Thévenot, K. Toth, R.A. Durst, G.S. Wilson, Electrochemical biosensors: recommended definitions and classification, *Analytical Letters*. 34 (2001) 635–659. <https://doi.org/10.1081/AL-100103209>.
- [30] J. Wang, Sol-gel materials for electrochemical biosensors, *Analytica Chimica Acta*. 399 (1999) 21–27. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(99\)00572-3](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(99)00572-3).
- [31] W. Zhao, J.-J. Xu, H.-Y. Chen, Electrochemical Biosensors Based on Layer-by-Layer Assemblies, *Electroanalysis*. 18 (2006) 1737–1748. <https://doi.org/10.1002/elan.200603630>.
- [32] Z. Xu, X. Chen, S. Dong, Electrochemical biosensors based on advanced bioimmobilization matrices, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 25 (2006) 899–908. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2006.04.008>.
- [33] A. Bensana, F. Achi, A. Bouguettoucha, D. Chebli, Theoretical analysis and experimental investigation of the physicochemical parameters of amperometric biosensor for phenols detection, (2018) 3. <http://www.mbmscience.com/index.php/mbms/article/view/5>

- [34] E. Moczko, G. Istamboulie, C. Calas-Blanchard, R. Rouillon, T. Noguer, Biosensor employing screen-printed PEDOT:PSS for sensitive detection of phenolic compounds in water, *J. Polym. Sci. A Polym. Chem.* 50 (2012) 2286–2292. <https://doi.org/10.1002/pola.26009>.
- [35] S.K. Ozoner, F. Yilmaz, A. Celik, B. Keskinler, E. Erhan, A novel poly(glycine methacrylate-co-3-thienylmethyl methacrylate)-polypyrrole-carbon nanotube-horseradish peroxidase composite film electrode for the detection of phenolic compounds, *Current Applied Physics.* 11 (2011) 402–408. <https://doi.org/10.1016/j.cap.2010.08.010>.
- [36] P. Wang, M. Liu, J. Kan, Amperometric phenol biosensor based on polyaniline, *Sensors and Actuators B: Chemical.* 140 (2009) 577–584. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2009.05.005>.
- [37] E. Canbay, E. Akyilmaz, Design of a multiwalled carbon nanotube–Nafion–cysteamine modified tyrosinase biosensor and its adaptation of dopamine determination, *Analytical Biochemistry.* 444 (2014) 8–15. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2013.09.019>.
- [38] M. Han, Y. Qu, S. Chen, Y. Wang, Z. Zhang, M. Ma, Z. Wang, G. Zhan, C. Li, Amperometric biosensor for bisphenol A based on a glassy carbon electrode modified with a nanocomposite made from polylysine, single walled carbon nanotubes and tyrosinase, *Microchim Acta.* 180 (2013) 989–996. <https://doi.org/10.1007/s00604-013-1018-3>.
- [39] C. Sarika, K. Rekha, B. Narasimha Murthy, Immobilized laccase-based biosensor for the detection of disubstituted methyl and methoxy phenols – application of Box–Behnken design with response surface methodology for modeling and optimization of performance parameters, *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology.* 44 (2016) 1741–1752. <https://doi.org/10.3109/21691401.2015.1096793>.
- [40] S.K.S. Patel, M.Z. Anwar, A. Kumar, S.V. Otari, R.T. Pagolu, S.-Y. Kim, I.-W. Kim, J.-K. Lee, Fe₂O₃ yolk-shell particle-based laccase biosensor for efficient detection of 2,6-dimethoxyphenol, *Biochemical Engineering Journal.* 132 (2018) 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2017.12.013>.
- [41] L. Liu, F. Zhang, F. Xi, X. Lin, Highly sensitive biosensor based on bionanomultilayer with water-soluble multiwall carbon nanotubes for determination of phenolics, *Biosensors and Bioelectronics.* 24 (2008) 306–312. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2008.04.003>.
- [42] X. Liu, L. Luo, Y. Ding, Y. Xu, Amperometric biosensors based on aluminanoparticles-chitosan-horseradish peroxidase nanobiocomposites for the determination of phenolic compounds, *Analyst.* 136 (2011) 696–701. <https://doi.org/10.1039/C0AN00752H>.
- [43] J. Yang, D. Li, J. Fu, F. Huang, Q. Wei, TiO₂-CuCNFs based laccase biosensor for enhanced electrocatalysis in hydroquinone detection, *Journal of Electroanalytical Chemistry.* 766 (2016) 16–23. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2016.01.030>.

- [44] G. Li, K. Sun, D. Li, P. Lv, Q. Wang, F. Huang, Q. Wei, Biosensor based on bacterial cellulose-Au nanoparticles electrode modified with laccase for hydroquinone detection, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 509 (2016) 408–414. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2016.09.028>.
- [45] S.C. Litescu, S.A.V. Eremia, A. Bertoli, L. Pistelli, G.-L. Radu, Laccase-Nafion Based Biosensor for the Determination of Polyphenolic Secondary Metabolites, *Analytical Letters*. 43 (2010) 1089–1099. <https://doi.org/10.1080/00032710903518518>.
- [46] Y. Guan, L. Liu, C. Chen, X. Kang, Q. Xie, Effective immobilization of tyrosinase via enzyme catalytic polymerization of l-DOPA for highly sensitive phenol and atrazine sensing, *Talanta*. 160 (2016) 125–132. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2016.07.003>.
- [47] R. Penu, I. Vasilescu, S. Eremia, F. Gatea, G.-L. Radu, S.-C. Litescu, Development of a nanocomposite system and its application in biosensors construction, *Open Chemistry*. 11 (2013). <https://doi.org/10.2478/s11532-013-0222-7>.
- [48] S. Sadeghi, E. Fooladi, M. Malekaneh, A New Amperometric Biosensor Based on Fe₃O₄/Polyaniline/Laccase/Chitosan Biocomposite-Modified Carbon Paste Electrode for Determination of Catechol in Tea Leaves, *Appl Biochem Biotechnol*. 175 (2015) 1603–1616. <https://doi.org/10.1007/s12010-014-1380-6>.
- [49] Z. Dai, M.Q. Guo, X.J. Wang, H.F. Wang, W.Y. Chen, Development of Amperometric Laccase Biosensor through Immobilizing Enzyme in Magnesium-Containing Mesoporous Silica Sieve (Mg-MCM-41)/Polyvinyl Alcohol Matrix, *Journal of Nanomaterials*. 2014 (2014) 1–8. <https://doi.org/10.1155/2014/458245>.
- [50] Y. Wang, F. Zhai, Y. Hasebe, H. Jia, Z. Zhang, A highly sensitive electrochemical biosensor for phenol derivatives using a graphene oxide-modified tyrosinase electrode, *Bioelectrochemistry*. 122 (2018) 174–182. <https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2018.04.003>.
- [51] C.C. Mayorga-Martinez, M. Cadevall, M. Guix, J. Ros, A. Merkoçi, Bismuth nanoparticles for phenolic compounds biosensing application, *Biosensors and Bioelectronics*. 40 (2013) 57–62. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2012.06.010>.
- [52] I. Migneault, C. Dartiguenave, M.J. Bertrand, K.C. Waldron, Glutaraldehyde: behavior in aqueous solution, reaction with proteins, and application to enzyme crosslinking, *BioTechniques*. 37 (2004) 790–802. <https://doi.org/10.2144/04375RV01>.
- [53] S. Tembe, M. Karve, S. Inamdar, S. Haram, J. Melo, S.F. D'Souza, Development of electrochemical biosensor based on tyrosinase immobilized in composite biopolymeric film, *Analytical Biochemistry*. 349 (2006) 72–77. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2005.11.016>.

- [54] S. Nadifiyine, M. Haddam, J. Mandli, S. Chadel, C.C. Blanchard, J.L. Marty, A. Amine, Amperometric Biosensor Based on Tyrosinase Immobilized on to a Carbon Black Paste Electrode for Phenol Determination in Olive Oil, *Analytical Letters*. 46 (2013) 2705–2726. <https://doi.org/10.1080/00032719.2013.811679>.
- [55] H.C. Yoon, M.-Y. Hong, H.-S. Kim, Functionalization of a Poly(amidoamine) Dendrimer with Ferrocenyls and Its Application to the Construction of a Reagentless Enzyme Electrode, *Anal. Chem.* 72 (2000) 4420–4427. <https://doi.org/10.1021/ac0003044>.
- [56] M. Ferreira, P.A. Fiorito, O.N. Oliveira, S.I. Córdoba de Torresi, Enzyme-mediated amperometric biosensors prepared with the Layer-by-Layer (LbL) adsorption technique, *Biosensors and Bioelectronics*. 19 (2004) 1611–1615. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2003.12.025>.
- [57] W. Zhao, Extended-range glucose biosensor via layer-by-layer assembly incorporating gold nanoparticles, *Front Biosci.* 10 (2005) 1060. <https://doi.org/10.2741/1599>.
- [58] J. Fu, H. Qiao, D. Li, L. Luo, K. Chen, Q. Wei, Laccase Biosensor Based on Electrospun Copper/Carbon Composite Nanofibers for Catechol Detection, *Sensors*. 14 (2014) 3543–3556. <https://doi.org/10.3390/s140203543>.
- [59] S. Wang, Y. Tan, D. Zhao, G. Liu, Amperometric tyrosinase biosensor based on Fe₃O₄ nanoparticles–chitosan nanocomposite, *Biosensors and Bioelectronics*. 23 (2008) 1781–1787. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2008.02.014>.
- [60] S.K. Ozoner, M.Y. Can, B. Keskinler, E. Erhan, A Novel Poly(Glutaraldehyde-co-Pyrrole)/Horseradish Peroxidase Composite Film Electrode, *Analytical Letters*. 42 (2009) 3058–3072. <https://doi.org/10.1080/00032710903276489>.
- [61] W. Dong, J. Han, J. Shi, W. Liang, Y. Zhang, C. Dong, Amperometric Biosensor for Detection of Phenolic Compounds Based on Tyrosinase, *N*-Acetyl-*L*-cysteine-capped Gold Nanoparticles and Chitosan Nanocomposite, *Chin. J. Chem.* 35 (2017) 1305–1310. <https://doi.org/10.1002/cjoc.201600728>.
- [62] C. Lete, B. Lakard, J.-Y. Hihn, F.J. del Campo, S. Lupu, Use of sinusoidal voltages with fixed frequency in the preparation of tyrosinase based electrochemical biosensors for dopamine electroanalysis, *Sensors and Actuators B: Chemical*. 240 (2017) 801–809. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2016.09.045>.
- [63] J.J. García Guzmán, L.C. Aguilera, D.B. Milla, I.N. Rodríguez, C. Lete, J.M. Palacios Santander, S. Lupu, Development of Sonogel-Carbon based biosensors using sinusoidal voltages and currents methods, *Sensors and Actuators B: Chemical*. 255 (2018) 1525–1535. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2017.08.161>.

- [64] P. Raghu, T.M. Reddy, P. Gopal, K. Reddaiah, N.Y. Sreedhar, A novel horseradish peroxidase biosensor towards the detection of dopamine: A voltammetric study, *Enzyme and Microbial Technology*. 57 (2014) 8–15. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2014.01.002>.
- [65] M. Nazari, S. Kashanian, R. Rafipour, Laccase immobilization on the electrode surface to design a biosensor for the detection of phenolic compound such as catechol, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 145 (2015) 130–138. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2015.01.126>.
- [66] J. Fu, Z. Pang, J. Yang, F. Huang, Y. Cai, Q. Wei, Fabrication of polyaniline/carboxymethyl cellulose/cellulose nanofibrous mats and their biosensing application, *Applied Surface Science*. 349 (2015) 35–42. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2015.04.215>.
- [67] Y. Fu, P. Li, L. Bu, T. Wang, Q. Xie, J. Chen, S. Yao, Exploiting Metal-Organic Coordination Polymers as Highly Efficient Immobilization Matrixes of Enzymes for Sensitive Electrochemical Biosensing, *Anal. Chem.* 83 (2011) 6511–6517. <https://doi.org/10.1021/ac200471v>.
- [68] D. Zhang, Y. Peng, H. Qi, Q. Gao, C. Zhang, Application of multielectrode array modified with carbon nanotubes to simultaneous amperometric determination of dihydroxybenzene isomers, *Sensors and Actuators B: Chemical*. 136 (2009) 113–121. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2008.11.010>.
- [69] X. Tu, S. Luo, X. Luo, Y. Zhao, L. Feng, J. Li, Metal chelate affinity to immobilize horseradish peroxidase on functionalized agarose/CNTs composites for the detection of catechol, *Sci. China Chem.* 54 (2011) 1319–1326. <https://doi.org/10.1007/s11426-011-4298-7>.
- [70] C.I.L. Justino, A.C. Freitas, R. Pereira, A.C. Duarte, T.A.P. Rocha Santos, Recent developments in recognition elements for chemical sensors and biosensors, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 68 (2015) 2–17. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.03.006>.
- [71] N. Maleki, S. Kashanian, E. Maleki, M. Nazari, A novel enzyme based biosensor for catechol detection in water samples using artificial neural network, *Biochemical Engineering Journal*. 128 (2017) 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2017.09.005>.
- [72] P. Das, L. Barbora, M. Das, P. Goswami, Highly sensitive and stable laccase based amperometric biosensor developed on nano-composite matrix for detecting pyrocatechol in environmental samples, *Sensors and Actuators B: Chemical*. 192 (2014) 737–744. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2013.11.021>.
- [73] P. Raghu, T. Madhusudana Reddy, K. Reddaiah, L.R. Jaidev, G. Narasimha, A novel electrochemical biosensor based on horseradish peroxidase immobilized on Ag-nanoparticles/poly(l-arginine) modified carbon paste electrode toward the determination of

- pyrogallol/hydroquinone, *Enzyme and Microbial Technology*. 52 (2013) 377–385. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2013.02.010>.
- [74] E.B. Aydın, M.K. Sezgintürk, Indium tin oxide (ITO): A promising material in biosensing technology, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 97 (2017) 309–315. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2017.09.021>.
- [75] R. Gonzalez-Anton, M.M. Osipova, C. Garcia-Hernandez, T.V. Dubinina, L.G. Tomilova, C. Garcia-Cabezon, M.L. Rodriguez-Mendez, Subphthalocyanines as electron mediators in biosensors based on phenol oxidases: Application to the analysis of red wines, *Electrochimica Acta*. 255 (2017) 239–247. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2017.09.168>.
- [76] Y.-F. Li, Z.-M. Liu, Y.-L. Liu, Y.-H. Yang, G.-L. Shen, R.-Q. Yu, A mediator-free phenol biosensor based on immobilizing tyrosinase to ZnO nanoparticles, *Analytical Biochemistry*. 349 (2006) 33–40. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2005.11.017>.
- [77] N. Durán, E. Esposito, Potential applications of oxidative enzymes and phenoloxidase-like compounds in wastewater and soil treatment: a review, *Applied Catalysis B: Environmental*. 28 (2000) 83–99. [https://doi.org/10.1016/S0926-3373\(00\)00168-5](https://doi.org/10.1016/S0926-3373(00)00168-5).
- [78] A.M. Mayer, E. Harel, Polyphenol oxidases in plants, *Phytochemistry*. 18 (1979) 193–215. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(79\)80057-6](https://doi.org/10.1016/0031-9422(79)80057-6).
- [79] H. Claus, Laccases: structure, reactions, distribution, *Micron*. 35 (2004) 93–96. <https://doi.org/10.1016/j.micron.2003.10.029>.
- [80] D.-H. Fan, J.-Y. Sun, K.-J. Huang, Direct electrochemistry of horseradish peroxidase on Nafion/[bmim]PF₆/agarose composite film modified glassy carbon electrode, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 76 (2010) 44–49. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2009.10.007>.
- [81] D.J. Danner, P.J. Brignac, D. Arceneaux, V. Patel, The oxidation of phenol and its reaction product by horseradish peroxidase and hydrogen peroxide, *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 156 (1973) 759–763. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(73\)90329-9](https://doi.org/10.1016/0003-9861(73)90329-9).
- [82] A. Attar, A. Amine, F. Achi, S.B. Bacha, M. Bourouina, L. Cubillana-Aguilera, J.M. Palacios-Santander, A. Baraket, A. Errachid, A novel amperometric inhibition biosensor based on HRP and gold sononanoparticles immobilised onto Sonogel-Carbon electrode for the determination of sulphides, *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*. 96 (2016) 515–529. <https://doi.org/10.1080/03067319.2016.1172216>.
- [83] A. Bensana, F. Achi, A. Bouguettoucha, D. Chebli, Amperometric Determination of Hydrogen Peroxide and its Mathematical Simulation for Horseradish Peroxidase Immobilized on a Sonogel Carbon Electrode, *Analytical Letters*. 52 (2019) 1215–1235. <https://doi.org/10.1080/00032719.2018.1528614>.

- [84] S. Hwu, M. Garzuel, C. Forró, S.J. Ihle, A.M. Reichmuth, F. Kurdzesau, J. Vörös, An analytical method to control the surface density and stability of DNA-gold nanoparticles for an optimized biosensor, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 187 (2020) 110650. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2019.110650>.
- [85] D. Lupa, M. Oćwieja, N. Piergies, A. Baliś, C. Paluszkiwicz, Z. Adamczyk, Gold nanoparticles deposited on silica microparticles - Electrokinetic characteristics and application in SERS, *Colloid and Interface Science Communications*. 33 (2019) 100219. <https://doi.org/10.1016/j.colcom.2019.100219>.
- [86] E. Buber, S. Soylemez, Y.A. Udum, L. Toppare, Fabrication of a promising immobilization platform based on electrochemical synthesis of a conjugated polymer, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 167 (2018) 392–396. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2018.04.041>.
- [87] T. Tangchaikereee, D. Polpanich, A. Elaissari, K. Jangpatarapongsa, Magnetic particles for in vitro molecular diagnosis: From sample preparation to integration into microsystems, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 158 (2017) 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2017.06.024>.
- [88] Y. Li, C. Qin, C. Chen, Y. Fu, M. Ma, Q. Xie, Highly sensitive phenolic biosensor based on magnetic polydopamine-laccase-Fe₃O₄ bionanocomposite, *Sensors and Actuators B: Chemical*. 168 (2012) 46–53. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2012.01.013>.
- [89] Y. Pang, G. Zeng, L. Tang, Y. Zhang, Z. Li, L. Chen, Laccase biosensor using magnetic multiwalled carbon nanotubes and chitosan/silica hybrid membrane modified magnetic carbon paste electrode, *J. Cent. South Univ. Technol.* 18 (2011) 1849–1856. <https://doi.org/10.1007/s11771-011-0913-1>.
- [90] Y. Wang, J. Du, Y. Li, D. Shan, X. Zhou, Z. Xue, X. Lu, A amperometric biosensor for hydrogen peroxide by adsorption of horseradish peroxidase onto single-walled carbon nanotubes, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 90 (2012) 62–67. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2011.09.045>.
- [91] J. Yoon, J.-W. Shin, J. Lim, M. Mohammadniaei, G. Bharate Bapurao, T. Lee, J.-W. Choi, Electrochemical nitric oxide biosensor based on amine-modified MoS₂/graphene oxide/myoglobin hybrid, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 159 (2017) 729–736. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2017.08.033>.
- [92] S. Wang, Y. Ma, Y. Wang, M. Jiao, X. Luo, M. Cui, One-step electrodeposition of poly(m-aminobenzoic acid) membrane decorated with peptide for antifouling biosensing of Immunoglobulin E, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 186 (2020) 110706. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2019.110706>.

- [93] N. Wisniewski, M. Reichert, Methods for reducing biosensor membrane biofouling, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 18 (2000) 197–219. [https://doi.org/10.1016/S0927-7765\(99\)00148-4](https://doi.org/10.1016/S0927-7765(99)00148-4).
- [94] S. Singh, D.V.S. Jain, M.L. Singla, Sol–gel based composite of gold nanoparticles as matrix for tyrosinase for amperometric catechol biosensor, *Sensors and Actuators B: Chemical*. 182 (2013) 161–169. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2013.02.111>.
- [95] F. Campanhã Vicentini, L.L.C. Garcia, L.C.S. Figueiredo-Filho, B.C. Janegitz, O. Fatibello-Filho, A biosensor based on gold nanoparticles, dihexadecylphosphate, and tyrosinase for the determination of catechol in natural water, *Enzyme and Microbial Technology*. 84 (2016) 17–23. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2015.12.004>.
- [96] R.P. Singh, Retracted article: A catechol biosensor based on a gold nanoparticles encapsulated-dendrimer, *Analyst*. 136 (2011) 1216. <https://doi.org/10.1039/c0an00601g>.
- [97] E.B. Bahadır, M.K. Sezgintürk, Applications of graphene in electrochemical sensing and biosensing, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 76 (2016) 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.07.008>.
- [98] S. Palanisamy, S.K. Ramaraj, S.-M. Chen, T.C.K. Yang, P. Yi-Fan, T.-W. Chen, V. Velusamy, S. Selvam, A novel Laccase Biosensor based on Laccase immobilized Graphene-Cellulose Microfiber Composite modified Screen-Printed Carbon Electrode for Sensitive Determination of Catechol, *Sci Rep*. 7 (2017) 41214. <https://doi.org/10.1038/srep41214>.
- [99] C. Wu, Z. Liu, H. Sun, X. Wang, P. Xu, Selective determination of phenols and aromatic amines based on horseradish peroxidase-nanoporous gold co-catalytic strategy, *Biosensors and Bioelectronics*. 79 (2016) 843–849. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2016.01.026>.
- [100] D.A. Oriero, I.O. Gyan, B.W. Bolshaw, I.F. Cheng, D.E. Aston, Electrospun biocatalytic hybrid silica–PVA-tyrosinase fiber mats for electrochemical detection of phenols, *Microchemical Journal*. 118 (2015) 166–175. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2014.09.005>.
- [101] W. Zhao, K. Wang, Y. Wei, Y. Ma, L. Liu, X. Huang, Laccase Biosensor Based on Phytic Acid Modification of Nanostructured SiO₂ Surface for Sensitive Detection of Dopamine, *Langmuir*. 30 (2014) 11131–11137. <https://doi.org/10.1021/la503104x>.
- [102] W. Sun, Z. Sun, L. Zhang, X. Qi, G. Li, J. Wu, M. Wang, Application of Fe₃O₄ mesoporous sphere modified carbon ionic liquid electrode as electrochemical hemoglobin biosensor, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 101 (2013) 177–182. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2012.06.010>.
- [103] X. Xu, M. Guo, P. Lu, R. Wang, Development of amperometric laccase biosensor through immobilizing enzyme in copper-containing ordered mesoporous carbon (Cu-OMC)/chitosan

- matrix, *Materials Science and Engineering: C*. 30 (2010) 722–729. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2010.03.006>.
- [104] M. Hasanzadeh, N. Shadjou, M. Eskandani, M. de la Guardia, Mesoporous silica-based materials for use in electrochemical enzyme nanobiosensors, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 40 (2012) 106–118. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2012.06.007>.
- [105] T. Shimomura, T. Itoh, T. Sumiya, T. Hanaoka, F. Mizukami, M. Ono, Amperometric detection of phenolic compounds with enzyme immobilized in mesoporous silica prepared by electrophoretic deposition, *Sensors and Actuators B: Chemical*. 153 (2011) 361–368. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2010.10.048>.
- [106] Z. Li, Y. Zheng, T. Gao, Z. Liu, J. Zhang, G. Zhou, Fabrication of biosensor based on core-shell and large void structured magnetic mesoporous microspheres immobilized with laccase for dopamine detection, *J Mater Sci*. 53 (2018) 7996–8008. <https://doi.org/10.1007/s10853-018-2165-z>.
- [107] X. Xu, P. Lu, Y. Zhou, Z. Zhao, M. Guo, Laccase immobilized on methylene blue modified mesoporous silica MCM-41/PVA, *Materials Science and Engineering: C*. 29 (2009) 2160–2164. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2009.04.019>.
- [108] A. Sinha, Dhanjai, H. Zhao, Y. Huang, X. Lu, J. Chen, R. Jain, MXene: An emerging material for sensing and biosensing, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 105 (2018) 424–435. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.05.021>.
- [109] L. Wu, X. Lu, Dhanjai, Z.-S. Wu, Y. Dong, X. Wang, S. Zheng, J. Chen, 2D transition metal carbide MXene as a robust biosensing platform for enzyme immobilization and ultrasensitive detection of phenol, *Biosensors and Bioelectronics*. 107 (2018) 69–75. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2018.02.021>.
- [110] T. Liu, Q. Zhao, Y. Xie, D. Jiang, Z. Chu, W. Jin, In situ fabrication of aloe-like Au–ZnO micro/nanoarrays for ultrasensitive biosensing of catechol, *Biosensors and Bioelectronics*. 156 (2020) 112145. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2020.112145>.
- [111] C. Salvo-Comino, I. Rassas, S. Minot, F. Bessueille, M. Arab, V. Chevallier, M.L. Rodriguez-Mendez, A. Errachid, N. Jaffrezic-Renault, Voltammetric Sensor Based on Molecularly Imprinted Chitosan-Carbon Nanotubes Decorated with Gold Nanoparticles Nanocomposite Deposited on Boron-Doped Diamond Electrodes for Catechol Detection, *Materials*. 13 (2020) 688. <https://doi.org/10.3390/ma13030688>.
- [112] C. Lou, T. Jing, J. Zhou, J. Tian, Y. Zheng, C. Wang, Z. Zhao, J. Lin, H. Liu, C. Zhao, Z. Guo, Laccase immobilized polyaniline/magnetic graphene composite electrode for detecting

- hydroquinone, *International Journal of Biological Macromolecules*. 149 (2020) 1130–1138. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.01.248>.
- [113] D. Li, L. Luo, Z. Pang, L. Ding, Q. Wang, H. Ke, F. Huang, Q. Wei, Novel Phenolic Biosensor Based on a Magnetic Polydopamine-Laccase-Nickel Nanoparticle Loaded Carbon Nanofiber Composite, *ACS Appl. Mater. Interfaces*. 6 (2014) 5144–5151. <https://doi.org/10.1021/am500375n>.
- [114] M. Baghayeri, R. Ansari, M. Nodehi, I. Razavipanah, H. Veisi, Label-free Electrochemical Bisphenol A Aptasensor Based on Designing and Fabrication of a Magnetic Gold Nanocomposite, *Electroanalysis*. 30 (2018) 2160–2166. <https://doi.org/10.1002/elan.201800158>.
- [115] Y. Zhang, X. Li, D. Li, Q. Wei, A laccase-based biosensor on AuNPs-MoS₂ modified glassy carbon electrode for catechol detection, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 186 (2020) 110683. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2019.110683>.
- [116] Z. Hua, Q. Qin, X. Bai, X. Huang, Q. Zhang, An electrochemical biosensing platform based on 1-formylpyrene functionalized reduced graphene oxide for sensitive determination of phenol, *RSC Adv*. 6 (2016) 25427–25434. <https://doi.org/10.1039/C5RA27563F>.
- [117] W. Song, D.-W. Li, Y.-T. Li, Y. Li, Y.-T. Long, Disposable biosensor based on graphene oxide conjugated with tyrosinase assembled gold nanoparticles, *Biosensors and Bioelectronics*. 26 (2011) 3181–3186. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2010.12.022>.
- [118] M.N. Omar, A.B. Salleh, H.N. Lim, A. Ahmad Tajudin, Electrochemical detection of uric acid via uricase-immobilized graphene oxide, *Analytical Biochemistry*. 509 (2016) 135–141. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2016.06.030>.
- [119] C.I.L. Justino, A.R. Gomes, A.C. Freitas, A.C. Duarte, T.A.P. Rocha-Santos, Graphene based sensors and biosensors, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 91 (2017) 53–66. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2017.04.003>.
- [120] X. Liu, R. Yan, J. Zhu, J. Zhang, X. Liu, Growing TiO₂ nanotubes on graphene nanoplatelets and applying the nanocomposite as scaffold of electrochemical tyrosinase biosensor, *Sensors and Actuators B: Chemical*. 209 (2015) 328–335. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2014.11.124>.
- [121] A.T.E. Vilian, K. Giribabu, S.R. Choe, R. Muruganantham, H. Lee, C. Roh, Y.S. Huh, Y.-K. Han, A spick-and-span approach to the immobilization of horseradish peroxidase on Au nanospheres incorporated with a methionine/graphene biomatrix for the determination of endocrine disruptor bisphenol A, *Sensors and Actuators B: Chemical*. 251 (2017) 804–812. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2017.05.122>.

- [122] S.S. Bhat, A. Qurashi, F.A. Khanday, ZnO nanostructures based biosensors for cancer and infectious disease applications: Perspectives, prospects and promises, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 86 (2017) 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2016.10.001>.
- [123] J. Zhao, D. Wu, J. Zhi, A novel tyrosinase biosensor based on biofunctional ZnO nanorod microarrays on the nanocrystalline diamond electrode for detection of phenolic compounds, *Bioelectrochemistry*. 75 (2009) 44–49. <https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2009.01.005>.
- [124] P.-H. Lo, S.A. Kumar, S.-M. Chen, Amperometric determination of H₂O₂ at nano-TiO₂/DNA/thionin nanocomposite modified electrode, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 66 (2008) 266–273. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2008.07.003>.
- [125] N.P. Shetti, S.D. Bukkitgar, K.R. Reddy, Ch.V. Reddy, T.M. Aminabhavi, Nanostructured titanium oxide hybrids-based electrochemical biosensors for healthcare applications, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 178 (2019) 385–394. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2019.03.013>.
- [126] M. Muti, A. Erdem, A. Caliskan, A. Sinag, T. Yumak, Electrochemical behaviour of carbon paste electrodes enriched with tin oxide nanoparticles using voltammetry and electrochemical impedance spectroscopy, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 86 (2011) 154–157. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2011.03.034>.
- [127] S. Siddiquee, K. Rovina, N.A. Yusof, K.F. Rodrigues, S. Suryani, Nanoparticle-enhanced electrochemical biosensor with DNA immobilization and hybridization of *Trichoderma harzianum* gene, *Sensing and Bio-Sensing Research*. 2 (2014) 16–22. <https://doi.org/10.1016/j.sbsr.2014.06.002>.
- [128] S. Wu, H. Wang, S. Tao, C. Wang, L. Zhang, Z. Liu, C. Meng, Magnetic loading of tyrosinase-Fe₃O₄/mesoporous silica core/shell microspheres for high sensitive electrochemical biosensing, *Analytica Chimica Acta*. 686 (2011) 81–86. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2010.11.053>.
- [129] M. Erbedinger, A.J. Mesiano, A.J. Russell, Enzymatic Catalysis of Formation of Z-Aspartame in Ionic Liquid - An Alternative to Enzymatic Catalysis in Organic Solvents, *Biotechnol. Prog.* 16 (2000) 1129–1131. <https://doi.org/10.1021/bp000094g>.
- [130] H. Arslan, F. Arslan, Preparation of a Polypyrrole-Polyvinylsulphonate Composite Film Biosensor for Determination of Phenol Based on Entrapment of Polyphenol Oxidase, *Artificial Cells, Blood Substitutes, and Biotechnology*. 39 (2011) 341–345. <https://doi.org/10.3109/10731199.2011.585616>.
- [131] J. Zhang, J. Lei, Y. Liu, J. Zhao, H. Ju, Highly sensitive amperometric biosensors for phenols based on polyaniline–ionic liquid–carbon nanofiber composite, *Biosensors and Bioelectronics*. 24 (2009) 1858–1863. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2008.09.012>.

- [132] S. Benítez-Martínez, M. Valcárcel, Graphene quantum dots in analytical science, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 72 (2015) 93–113. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.03.020>.
- [133] E. Han, Y. Yang, Z. He, J. Cai, X. Zhang, X. Dong, Development of tyrosinase biosensor based on quantum dots/chitosan nanocomposite for detection of phenolic compounds, *Analytical Biochemistry*. 486 (2015) 102–106. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2015.07.001>.
- [134] L. Yang, H. Xiong, X. Zhang, S. Wang, A novel tyrosinase biosensor based on chitosan-carbon-coated nickel nanocomposite film, *Bioelectrochemistry*. 84 (2012) 44–48. <https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2011.11.001>.
- [135] M.M. Barsan, C.M.A. Brett, Recent advances in layer-by-layer strategies for biosensors incorporating metal nanoparticles, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 79 (2016) 286–296. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.11.019>.
- [136] A. Ulman, Formation and Structure of Self-Assembled Monolayers, *Chem. Rev.* 96 (1996) 1533–1554. <https://doi.org/10.1021/cr9502357>.
- [137] J.C. Love, L.A. Estroff, J.K. Kriebel, R.G. Nuzzo, G.M. Whitesides, Self-Assembled Monolayers of Thiolates on Metals as a Form of Nanotechnology, *Chem. Rev.* 105 (2005) 1103–1170. <https://doi.org/10.1021/cr0300789>.
- [138] L. Wang, Q. Ran, Y. Tian, S. Ye, J. Xu, Y. Xian, R. Peng, L. Jin, Covalent grafting tyrosinase and its application in phenolic compounds detection, *Microchim Acta*. 171 (2010) 217–223. <https://doi.org/10.1007/s00604-010-0433-y>.
- [139] X.P. Ji, X.R. Li, N. Wang, R.X. Ni, X.H. Liu, H.A. Xiong, Attachment of tyrosinase on mixed self-assembled monolayers for the construction of electrochemical biosensor, *Chinese Chemical Letters*. 21 (2010) 1239–1242. <https://doi.org/10.1016/j.ccllet.2010.05.022>.
- [140] M. Portaccio, D. Di Tuoro, F. Arduini, M. Lepore, D.G. Mita, N. Diano, L. Mita, D. Moscone, A thionine-modified carbon paste amperometric biosensor for catechol and bisphenol A determination, *Biosensors and Bioelectronics*. 25 (2010) 2003–2008. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2010.01.025>.
- [141] D. Shan, J. Zhang, H.-G. Xue, Y.-C. Zhang, S. Cosnier, S.-N. Ding, Polycrystalline bismuth oxide films for development of amperometric biosensor for phenolic compounds, *Biosensors and Bioelectronics*. 24 (2009) 3671–3676. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2009.05.038>.
- [142] J. Njagi, C. Ispas, S. Andreescu, Mixed Ceria-Based Metal Oxides Biosensor for Operation in Oxygen Restrictive Environments, *Anal. Chem.* 80 (2008) 7266–7274. <https://doi.org/10.1021/ac800808a>.

- [143] F.A.A. Manan, W.W. Hong, J. Abdullah, N.A. Yusof, I. Ahmad, Nanocrystalline cellulose decorated quantum dots based tyrosinase biosensor for phenol determination, *Materials Science and Engineering: C*. 99 (2019) 37–46. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.01.082>.
- [144] J. Li, J. Gao, T. Guo, X. Huang, X. Zhang, C. Xu, H. Xue, Hierarchically Porous Copolymer Film as Immobilization Matrix for Phenol Biosensor with High Sensitivity, *ACS Appl. Polym. Mater.* 1 (2019) 3148–3156. <https://doi.org/10.1021/acsapm.9b00795>.
- [145] Y. Wang, C. Li, T. Wu, X. Ye, Polymerized ionic liquid functionalized graphene oxide nanosheets as a sensitive platform for bisphenol A sensing, *Carbon*. 129 (2018) 21–28. <https://doi.org/10.1016/j.carbon.2017.11.090>.
- [146] F.C. Vicentini, B.C. Janegitz, C.M.A. Brett, O. Fatibello-Filho, Tyrosinase biosensor based on a glassy carbon electrode modified with multi-walled carbon nanotubes and 1-butyl-3-methylimidazolium chloride within a dihexadecylphosphate film, *Sensors and Actuators B: Chemical*. 188 (2013) 1101–1108. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2013.07.109>.
- [147] J. Kochana, Influence of Nafion in Titania Sol-gel Matrix on Analytical Characteristic of Amperometric Phenol Biosensor Based on Tyrosinase, *Acta Chim. Slov.* (2012) 6.
- [148] N. Zehani, P. Fortgang, M. Saddek Lachgar, A. Baraket, M. Arab, S.V. Dzyadevych, R. Kherrat, N. Jaffrezic-Renault, Highly sensitive electrochemical biosensor for bisphenol A detection based on a diazonium-functionalized boron-doped diamond electrode modified with a multi-walled carbon nanotube-tyrosinase hybrid film, *Biosensors and Bioelectronics*. 74 (2015) 830–835. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2015.07.051>.
- [149] X. Wang, X. Lu, L. Wu, J. Chen, 3D metal-organic framework as highly efficient biosensing platform for ultrasensitive and rapid detection of bisphenol A, *Biosensors and Bioelectronics*. 65 (2015) 295–301. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2014.10.010>.
- [150] Y. Liu, L. Yao, L. He, N. Liu, Y. Piao, Electrochemical Enzyme Biosensor Bearing Biochar Nanoparticle as Signal Enhancer for Bisphenol A Detection in Water, *Sensors*. 19 (2019) 1619. <https://doi.org/10.3390/s19071619>.
- [151] Neelam, A.K. Chhillar, J.S. Rana, Enzyme nanoparticles and their biosensing applications: A review, *Analytical Biochemistry*. 581 (2019) 113345. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2019.113345>.
- [152] S. Chawla, R. Rawal, C.S. Pundir, Fabrication of polyphenol biosensor based on laccase immobilized on copper nanoparticles/chitosan/multiwalled carbon nanotubes/polyaniline-modified gold electrode, *Journal of Biotechnology*. 156 (2011) 39–45. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2011.08.008>.
- [153] R. Rawal, S. Chawla, Devender, C.S. Pundir, An amperometric biosensor based on laccase immobilized onto Fe₃O₄NPs/cMWCNT/PANI/Au electrode for determination of phenolic

- content in tea leaves extract, *Enzyme and Microbial Technology*. 51 (2012) 179–185. <https://doi.org/10.1016/j.enzymictec.2012.06.001>.
- [154] R. Rawal, S. Chawla, C.S. Pundir, Polyphenol biosensor based on laccase immobilized onto silver nanoparticles/multiwalled carbon nanotube/polyaniline gold electrode, *Analytical Biochemistry*. 419 (2011) 196–204. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2011.07.028>.
- [155] R.K. Shervedani, A. Amini, Direct electrochemistry of dopamine on gold—*Agaricus bisporus* laccase enzyme electrode: Characterization and quantitative detection, *Bioelectrochemistry*. 84 (2012) 25–31. <https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2011.10.004>.
- [156] I. Cesarino, H.V. Galesco, F.C. Moraes, M.R.V. Lanza, S.A.S. Machado, Biosensor Based on Electrocodeposition of Carbon Nanotubes/Polypyrrole/Laccase for Neurotransmitter Detection, *Electroanalysis*. 25 (2013) 394–400. <https://doi.org/10.1002/elan.201200542>.
- [157] P. Ibarra-Escutia, J.J. Gómez, C. Calas-Blanchard, J.L. Marty, M.T. Ramírez-Silva, Amperometric biosensor based on a high resolution photopolymer deposited onto a screen-printed electrode for phenolic compounds monitoring in tea infusions, *Talanta*. 81 (2010) 1636–1642. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2010.03.017>.
- [158] A.N. Sekretaryova, A.V. Volkov, I.V. Zozoulenko, A.P.F. Turner, M.Y. Vagin, M. Eriksson, Total phenol analysis of weakly supported water using a laccase-based microband biosensor, *Analytica Chimica Acta*. 907 (2016) 45–53. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2015.12.006>.
- [159] Y. Vlamidis, I. Gualandi, D. Tonelli, Amperometric biosensors based on reduced GO and MWCNTs composite for polyphenols detection in fruit juices, *Journal of Electroanalytical Chemistry*. 799 (2017) 285–292. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2017.06.012>.
- [160] R. Jain, N. Jadon, A. Pawaiya, Polypyrrole based next generation electrochemical sensors and biosensors: A review, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 97 (2017) 363–373. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2017.10.009>.
- [161] C. Tortolini, S. Rea, E. Carota, S. Cannistraro, F. Mazzei, Influence of the immobilization procedures on the electroanalytical performances of *Trametes versicolor* laccase based bioelectrode, *Microchemical Journal*. 100 (2012) 8–13. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2011.08.001>.
- [162] J. Cabaj, A. Jędrychowska, D. Zając, S. Krawiec, J. Sołoducho, Phenolic Compounds Determination Using Laccase-based Electrode Modified with Conducting Polymer Support, *Int. J. Electrochem. Sci.* 11 (2016) 12.
- [163] T.R. Silva, I.C. Vieira, A biosensor based on gold nanoparticles stabilized in poly(allylamine hydrochloride) and decorated with laccase for determination of dopamine, *Analyst*. 141 (2016) 216–224. <https://doi.org/10.1039/C5AN01784J>.

- [164] S. Chawla, R. Rawal, S. Sharma, C.S. Pundir, An amperometric biosensor based on laccase immobilized onto nickel nanoparticles/carboxylated multiwalled carbon nanotubes/polyaniline modified gold electrode for determination of phenolic content in fruit juices, *Biochemical Engineering Journal*. 68 (2012) 76–84. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2012.07.008>.
- [165] R. Rawal, S. Chawla, P. Malik, C.S. Pundir, An amperometric biosensor based on laccase immobilized onto MnO₂NPs/cMWCNT/PANI modified Au electrode, *International Journal of Biological Macromolecules*. 51 (2012) 175–181. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2011.11.022>.
- [166] E. Rodríguez-Sevilla, M.-T. Ramírez-Silva, M. Romero-Romo, P. Ibarra-Escutia, M. Palomar-Pardavé, Electrochemical Quantification of the Antioxidant Capacity of Medicinal Plants Using Biosensors, *Sensors*. 14 (2014) 14423–14439. <https://doi.org/10.3390/s140814423>.
- [167] Y. Pang, G. Zeng, L. Tang, Y. Zhang, Z. Li, L. Chen, Laccase biosensor using magnetic multiwalled carbon nanotubes and chitosan/silica hybrid membrane modified magnetic carbon paste electrode, *J. Cent. South Univ. Technol.* 18 (2011) 1849–1856. <https://doi.org/10.1007/s11771-011-0913-1>.
- [168] S.R. Yashas, S. Sandeep, B.P. Shivakumar, N.K. Swamy, Potentiometric polyphenol oxidase biosensor for sensitive determination of phenolic micropollutant in environmental samples, *Environ Sci Pollut Res.* (2019). <https://doi.org/10.1007/s11356-019-05495-2>.
- [169] Z. Zhang, J. Liu, J. Fan, Z. Wang, L. Li, Detection of catechol using an electrochemical biosensor based on engineered *Escherichia coli* cells that surface-display laccase, *Analytica Chimica Acta*. 1009 (2018) 65–72. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2018.01.008>.
- [170] S.A.V. Eremia, I. Vasilescu, A. Radoi, S.-C. Litescu, G.-L. Radu, Disposable biosensor based on platinum nanoparticles-reduced graphene oxide-laccase biocomposite for the determination of total polyphenolic content, *Talanta*. 110 (2013) 164–170. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2013.02.029>.
- [171] K. Wang, P. Liu, Y. Ye, J. Li, W. Zhao, X. Huang, Fabrication of a novel laccase biosensor based on silica nanoparticles modified with phytic acid for sensitive detection of dopamine, *Sensors and Actuators B: Chemical*. 197 (2014) 292–299. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2014.03.002>.
- [172] N.A. Kohori, M.K.L. da Silva, I. Cesarino, Evaluation of graphene oxide and reduced graphene oxide in the immobilization of laccase enzyme and its application in the determination of dopamine, *J Solid State Electrochem.* 22 (2018) 141–148. <https://doi.org/10.1007/s10008-017-3738-5>.

- [173] Y. Shoja, A.A. Rafati, J. Ghodsi, Glassy carbon electrode modified with horse radish peroxidase/organic nucleophilic-functionalized carbon nanotube composite for enhanced electrocatalytic oxidation and efficient voltammetric sensing of levodopa, *Materials Science and Engineering: C*. 58 (2016) 835–845. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2015.09.028>.
- [174] R. Mossanha, C.A. Erdmann, C.S. Santos, K. Wohnrath, S.T. Fujiwara, C.A. Pessoa, Construction of a biosensor based on SAM of thiolactic acid on gold nanoparticles stabilized by silsesquioxane polyelectrolyte for catechol determination, *Sensors and Actuators B: Chemical*. 252 (2017) 747–756. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2017.06.001>.
- [175] S. Huang, Y. Qu, R. Li, J. Shen, L. Zhu, Biosensor based on horseradish peroxidase modified carbon nanotubes for determination of 2,4-dichlorophenol, *Microchim Acta*. 162 (2008) 261–268. <https://doi.org/10.1007/s00604-007-0872-2>.
- [176] Q. Xu, X. Li, Y. Zhou, H. Wei, X.-Y. Hu, Y. Wang, Z. Yang, An enzymatic amplified system for the detection of 2,4-dichlorophenol based on graphene membrane modified electrode, *Anal. Methods*. 4 (2012) 3429. <https://doi.org/10.1039/c2ay25423a>.
- [177] L. Fernández, I. Ledezma, C. Borrás, L.A. Martínez, H. Carrero, Horseradish peroxidase modified electrode based on a film of Co–Al layered double hydroxide modified with sodium dodecylbenzenesulfonate for determination of 2-chlorophenol, *Sensors and Actuators B: Chemical*. 182 (2013) 625–632. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2013.02.109>.
- [178] A.K.M. Kafi, A. Chen, A novel amperometric biosensor for the detection of nitrophenol, *Talanta*. 79 (2009) 97–102. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2009.03.015>.
- [179] S. Korkut, M.S. Kilic, E. Erhan, Modified Poly(pyrrole) Film Based Biosensors for Phenol Detection, 9 (2015) 4.
- [180] I.S. Kucherenko, O.O. Soldatkin, S.V. Dzyadevych, A.P. Soldatkin, Electrochemical biosensors based on multienzyme systems: Main groups, advantages and limitations – A review, *Analytica Chimica Acta*. 1111 (2020) 114–131. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2020.03.034>.
- [181] A. Barberis, A. Garbetta, A. Cardinali, G. Bazzu, I. D’Antuono, G. Rocchitta, A. Fadda, V. Linsalata, G. D’Hallewin, P.A. Serra, F. Minervini, Real-time monitoring of glucose and phenols intestinal absorption through an integrated Caco-2TC7cells/biosensors telemetric device: Hypoglycemic effect of fruit phytochemicals, *Biosensors and Bioelectronics*. 88 (2017) 159–166. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2016.08.007>.
- [182] P. Monti, G. Calia, S. Marceddu, M.A. Dettori, D. Fabbri, S. Jaoua, R.D. O’Neill, Q. Migheli, G. Delogu, P.A. Serra, Low electro-synthesis potentials improve permselectivity of polymerized natural phenols in biosensor applications, *Talanta*. 162 (2017) 151–158. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2016.10.019>.

- [183] L. Liu, X. Kang, C. Chen, H. Zhang, C. Chen, Q. Xie, L-tyrosine polymerization-based ultrasensitive multi-analyte enzymatic biosensor, *Talanta*. 179 (2018) 803–809. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2017.12.014>.
- [184] M. Diaconu, S.C. Litescu, G.L. Radu, Bionzymatic sensor based on the use of redox enzymes and chitosan–MWCNT nanocomposite. Evaluation of total phenolic content in plant extracts, *Microchimica Acta*. 172 (2011) 177–184. <https://doi.org/10.1007/s00604-010-0486-y>.
- [185] J. Kochana, P. Nowak, A. Jarosz-Wilkolazka, M. Bieroń, Tyrosinase/laccase bionzyme biosensor for amperometric determination of phenolic compounds, *Microchemical Journal*. 89 (2008) 171–174. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2008.02.004>.
- [186] L. Xie, Y. Xu, X. Cao, Hydrogen peroxide biosensor based on hemoglobin immobilized at graphene, flower-like zinc oxide, and gold nanoparticles nanocomposite modified glassy carbon electrode, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 107 (2013) 245–250. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2013.02.020>.
- [187] X.X. Xu, J.X. Zhang, F. Guo, W. Zheng, H.M. Zhou, B.L. Wang, Y.F. Zheng, Y.B. Wang, Y. Cheng, X. Lou, B.Z. Jang, A novel amperometric hydrogen peroxide biosensor based on immobilized Hb in Pluronic P123-nanographene platelets composite, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 84 (2011) 427–432. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2011.01.037>.
- [188] A.K.M. Kafi, D.-Y. Lee, S.-H. Park, Y.-S. Kwon, Potential application of hemoglobin as an alternative to peroxidase in a phenol biosensor, *Thin Solid Films*. 516 (2008) 2816–2821. <https://doi.org/10.1016/j.tsf.2007.04.123>.
- [189] M. Xu, L. Cui, R. Han, S. Ai, Amperometric biosensor based on hemoglobin immobilized on Cu₂S nanorods/nafion nanocomposite film for the determination of polyphenols, *Journal of Solid State Electrochemistry*. 16 (2012) 2547–2554. <https://doi.org/10.1007/s10008-012-1673-z>.
- [190] Y. Shoja, A.A. Rafati, J. Ghodsi, Polythiophene supported MnO₂ nanoparticles as nano-stabilizer for simultaneously electrostatically immobilization of d -amino acid oxidase and hemoglobin as efficient bio-nanocomposite in fabrication of dopamine bi-enzyme biosensor, *Materials Science and Engineering: C*. 76 (2017) 637–645. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2017.03.155>.
- [191] Wang, J. Electrochemical biosensing based on noble metal nanoparticles. *Microchim Acta*. 177 (2012) 245–270. <https://doi.org/10.1007/s00604-011-0758-1>
- [192] M. Baghayeri, R. Ansari, M. Nodehi, I. Razavipanah, H. Veisi, Voltammetric aptasensor for bisphenol A based on the use of a MWCNT/Fe₃O₄@gold nanocomposite, *Microchimica Acta*. 185 (2018). <https://doi.org/10.1007/s00604-018-2838-y>.

- [193] Z.S. Beiranvand, A.R. Abbasi, S. Dehdashtian, Z. Karimi, A. Azadbakht, Aptamer-based electrochemical biosensor by using Au-Pt nanoparticles, carbon nanotubes and acriflavine platform, *Analytical Biochemistry*. 518 (2017) 35–45. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2016.10.001>.
- [194] S. Beiranvand, A. Azadbakht, Electrochemical switching with a DNA aptamer-based electrochemical sensor, *Materials Science and Engineering: C*. 76 (2017) 925–933. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2017.03.028>.
- [195] X. Jiang, W. Ding, C. Luan, Q. Ma, Z. Guo, Biosensor for bisphenol A leaching from baby bottles using a glassy carbon electrode modified with DNA and single walled carbon nanotubes, *Microchimica Acta*. 180 (2013) 1021–1028. <https://doi.org/10.1007/s00604-013-1025-4>.
- [196] L. Zhou, J. Wang, D. Li, Y. Li, An electrochemical aptasensor based on gold nanoparticles dotted graphene modified glassy carbon electrode for label-free detection of bisphenol A in milk samples, *Food Chemistry*. 162 (2014) 34–40. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.04.058>.
- [197] Y. Zhu, C. Zhou, X. Yan, Y. Yan, Q. Wang, Aptamer-functionalized nanoporous gold film for high-performance direct electrochemical detection of bisphenol A in human serum, *Analytica Chimica Acta*. 883 (2015) 81–89. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2015.05.002>.
- [198] K. Abnous, N.M. Danesh, M. Ramezani, M. Alibolandi, S.M. Taghdisi, A novel electrochemical sensor for bisphenol A detection based on nontarget-induced extension of aptamer length and formation of a physical barrier, *Biosensors and Bioelectronics*. 119 (2018) 204–208. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2018.08.024>.
- [199] A.A. Ensafi, M. Amini, B. Rezaei, Molecularly imprinted electrochemical aptasensor for the attomolar detection of bisphenol A, *Microchimica Acta*. 185 (2018). <https://doi.org/10.1007/s00604-018-2810-x>.
- [200] L. Zhou, J. Wang, D. Li, Y. Li, An electrochemical aptasensor based on gold nanoparticles dotted graphene modified glassy carbon electrode for label-free detection of bisphenol A in milk samples, *Food Chemistry*. 162 (2014) 34–40. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.04.058>.
- [201] S. Beiranvand, A. Azadbakht, Electrochemical switching with a DNA aptamer-based electrochemical sensor, *Materials Science and Engineering: C*. 76 (2017) 925–933. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2017.03.028>.
- [202] J. Zheng, B. Wang, Y. Jin, B. Weng, J. Chen, Nanostructured MXene-based biomimetic enzymes for amperometric detection of superoxide anions from HepG₂ cells, *Microchim Acta*. 186 (2019) 95. <https://doi.org/10.1007/s00604-018-3220-9>.
- [203] Y. Shoja, A.A. Rafati, J. Ghodsi, Polythiophene supported MnO₂ nanoparticles as nano-stabilizer for simultaneously electrostatically immobilization of d-amino acid oxidase and hemoglobin as efficient bio-nanocomposite in fabrication of dopamine bi-enzyme biosensor,

Materials Science and Engineering: C. 76 (2017) 637–645.
<https://doi.org/10.1016/j.msec.2017.03.155>.

- [204] L. Liu, X. Kang, C. Chen, H. Zhang, C. Chen, Q. Xie, L-tyrosine polymerization-based ultrasensitive multi-analyte enzymatic biosensor, *Talanta*. 179 (2018) 803–809.
<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2017.12.014>.

CHAPITRE II

MODÉLISATION DE LA RÉPONSE AMPÉROMÉTRIQUE DU BIOCAPTEUR : CAS DE LA DÉTECTION DE PEROXYDE D'HYDROGÈNE

1. INTRODUCTION

Les (bio) capteurs sont des dispositifs analytiques qui convertissent les réactions biochimiques en un signal mesurable [1]. Le (bio) capteur se compose d'une partie sensible à la réaction biochimique et d'un système de transduction qui assure le transfert de charge [2]. L'étude théorique de la réponse des biocapteurs est basé sur l'analyse du mécanisme de diffusion-réaction. La modélisation de la réponse des biocapteurs offre l'avantage de prévoir le comportement du système afin de bien comprendre le mécanisme qui régit le phénomène de détection électrochimique [3-5].

Dans la littérature, plusieurs modèles mathématiques ont été développés pour la simulation de la réponse ampérométrique des biocapteurs à enzyme immobilisée [6-10]. Cet enzyme peut s'immobiliser sur la surface de l'électrode en couche par couche pour former un système multicouche enzymatique [11-15]. Ainsi, il peut être fixé soit entre deux membranes semi-perméables ou en utilisant une membrane perforée [16,17]. Plusieurs études théoriques s'intéressent à la simulation des paramètres influençant sur la réponse des biocapteurs multienzymatiques ou à deux substrats [18-22].

L'analyse des paramètres cinétiques de la réaction entre l'enzyme et le substrat est d'une grande importance, car cette étude mène à optimiser la conception du biocapteur pour améliorer leur performance en termes de sensibilité et de stabilité. Pour cela, la description du mécanisme cinétique de la réaction enzymatique qui se déroule au niveau de la surface de l'électrode fait l'objet de plusieurs travaux [14,23-30]. Ainsi, le transport de matière de différentes espèces influence fortement sur la réponse ampérométrique du biocapteur, car la détermination des paramètres physicochimiques indique l'étape limitante du mécanisme réactionnel du biocapteur [15,31]. En outre, la nature de la couche enzymatique ainsi que son épaisseur influencent fortement sur la réponse en courant du biocapteur, car les espèces électroactives se diffusent à travers cette couche pour s'oxyder ou se réduire au niveau de la surface de l'électrode. On trouve dans la littérature plusieurs travaux qui étudient l'effet de la diffusion des substances sur la réponse ampérométrique et sur la sensibilité du biocapteur [23, 32-35].

En effet, la modélisation mathématique intervient pour estimer avec précision les paramètres cinétiques et physico-chimiques appropriés qui déterminent la performance du biocapteur. La fiabilité du modèle dépend fortement du choix des paramètres expérimentaux [36]. Le premier modèle mathématique d'un biocapteur à enzyme immobilisée dans une matrice sol-gel a été développé par Blaedel et al. (1972) [37]. Ensuite, Bartlett et Pratt (1993) ont validé expérimentalement un modèle mathématique pour la simulation de la réponse des électrodes enzymatiques [38]. Tandis que Lyons et al. (1994) ont appliqué un modèle mathématique pour simuler la réponse des capteurs électrochimiques modifiés par des polymères conducteurs [39]. De même pour Gros et Bergel (1995) qui ont développé un modèle pour simuler la réponse d'une électrode modifiée par un mélange de polypyrrole et de glucose oxydase [7]. Autres modèles mathématiques ont été validés pour simuler la réponse des biocapteurs pour la détection du L-lactate ou d'urine [40, 41].

La problématique de la détection électrochimique du peroxyde d'hydrogène à fait l'objet de plusieurs études, notamment en utilisant de la peroxydase (HRP) comme élément biologique. Cette enzyme est mélangée avec plusieurs nanomatériaux et polymère conducteurs, afin de déterminer le peroxyde d'hydrogène à très basse concentration. A titre d'exemple, cette enzyme peut être mélangé soit avec le graphène à l'aide de chitosan [42], ou avec les nanotubes de carbone [43, 44], soit immobilisée dans un film de polymère [45]. Aussi, les nanomatériaux à base de dioxyde sont couramment utilisés pour construire des biocapteurs pour la détection du peroxyde d'hydrogène, tels que les nanoparticules de cuivre [46], les nanoparticules magnétiques d'oxyde de fer (Fe_3O_4) [47], ou en mélange avec du nanocomposite de dioxyde de titane dans une matrice de polymère [48].

Dans ce travail, une étude théorique sur la réponse du biocapteur à peroxydase pour la détection du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) est présenté. L'électrode modifiée choisie pour la validation du modèle mathématique est celle développée par Attar et al., (2016) à base de carbone sonogel modifiée par une membrane contenant l'enzyme peroxydase mélangée avec les nanoparticules d'Or et de poly (4-vinylpyridine) ou sérum albumine bovine qui sont réticulées avec du glutaraldéhyde [49]. La simulation numérique s'effectue pour analyser l'influence des paramètres géométriques du biocapteur permettant d'estimer l'épaisseur de la couche de diffusion et de la membrane enzymatique ainsi que les paramètres physico-chimiques comme les coefficients de diffusion. Le modèle est validé pour le cas de la détection

du peroxyde d'hydrogène, les résultats expérimentaux et théoriques délivrés par le modèle développé montrent une bonne accordance.

2. MODÈLE MATHÉMATIQUE

Le mécanisme de réaction pour la détection du peroxyde d'hydrogène par le biocapteur à peroxydase est basé sur le transfert direct d'électrons entre le site actif de l'enzyme et la surface de l'électrode sans aucun médiateur [50]. Par conséquent, l'équation du bilan massique du médiateur n'est pas considérée dans ce modèle, mais dans le cas de la détection des composés phénoliques où la présence d'un médiateur est nécessaire pour améliorer le transfert de charge, la cinétique de la réaction est suivie par le mécanisme est de type ping-pong où le médiateur affecte la cinétique de la réaction enzymatique [12,13, 16, 51, 36].

Dans ce travail, le modèle mathématique est formé par les équations de diffusion/réaction contenant le terme non linéaire lié à la cinétique de Michaelis–Menten. Les équations du bilan massique et les conditions aux limites appropriées sont décrites en fonction de la position de l'enzyme par rapport à la surface de l'électrode.

Hypothèses du modèle

Pour le développement du modèle mathématique, on suppose que la géométrie de l'électrode est symétrique et l'épaisseur de la couche enzymatique est uniforme. On suppose aussi que le processus de transport de toutes les espèces électrochimiques est unidimensionnel et que la cinétique enzymatique suit le mécanisme de Michales-Menten.

2.1. PARAMÈTRES ADIMENSIONNELS

Pour rendre le modèle plus simple, tous les paramètres et les variables sont adimensionnées en utilisant les trois paramètres suivants : la constante de Michaelis–Menten (k_m), l'épaisseur de la membrane (l_m) et le coefficient de diffusion du substrat (D_{sm}) [13, 51]. Le tableau II.1 regroupe les paramètres dimensionnels et adimensionnels utilisés dans ce modèle.

Tableau II.1. Paramètres et variables utilisées dans le modèle.

Paramètres /variables	Paramètres dimensionnels	Paramètres addimensionnels
Temps	t, s	$T = t \cdot D_{sm}/l_m^2$
Épaisseur de la Bio-membrane	$l_m, \mu m$	$\delta_m = l_m/l_m = 1$
Épaisseur de la couche de diffusion	$l_d, \mu m$	$\delta_d = l_d/l_m$
Distance à la surface de l'électrode	$x, \mu m$	$X = x/l_m$
Concentration initiale du substrat	$s_0, \mu M$	$S_0 = s_0/k_m$
Concentration du produit	$p, \mu M$	$P = p/k_m$
Concentration du substrat	$s, \mu M$	$S = s/k_m$
Concentration de l'enzyme active	$e_a, \mu M$	E_a
Constante de Michaelis-Menten	$k_m, \mu M$	$K_M = k_m/k_m = 1$
Constante d'activité catalytique	k_{cat}, s^{-1}	$K_{cat} = k_{cat} \cdot l_m^2/D_{sm}$
Diffusivité de substrat :		
- Dans la membrane	$D_{sm}, cm^2/s$	$\bar{D}_{sm} = 1$
- Dans la solution agitée	$D_{sd}, cm^2/s$	$\bar{D}_{sd} = D_{sd}/D_{sm}$
Diffusivité de produit :		
- Dans la membrane	$D_{pm}, cm^2/s$	$\bar{D}_{pm} = D_{pm}/D_{sm}$
- Dans la solution agitée	$D_{pd}, cm^2/s$	$\bar{D}_{pd} = D_{pd}/D_{sm}$
Activité catalytique maximale	$v_{max}, \mu M/s$	$V_{max} = v_{max} \cdot l_m^2/D_{sm} \cdot k_m$
Densité de courant	$i, A/cm^2$	$I = i \cdot l_m/(n \cdot e \cdot F \cdot D_{sm} \cdot k_m)$

2.2. DESCRIPTION PHYSIQUE DU MECANISME DE DIFFUSION/REACTION

Le système physique considéré dans ce modèle consiste en une électrode sur laquelle une membrane contenant l'enzyme est déposée sur la surface de l'électrode. On suppose qu'une couche de diffusion sépare la biomembrane de la solution (Figure II.1).

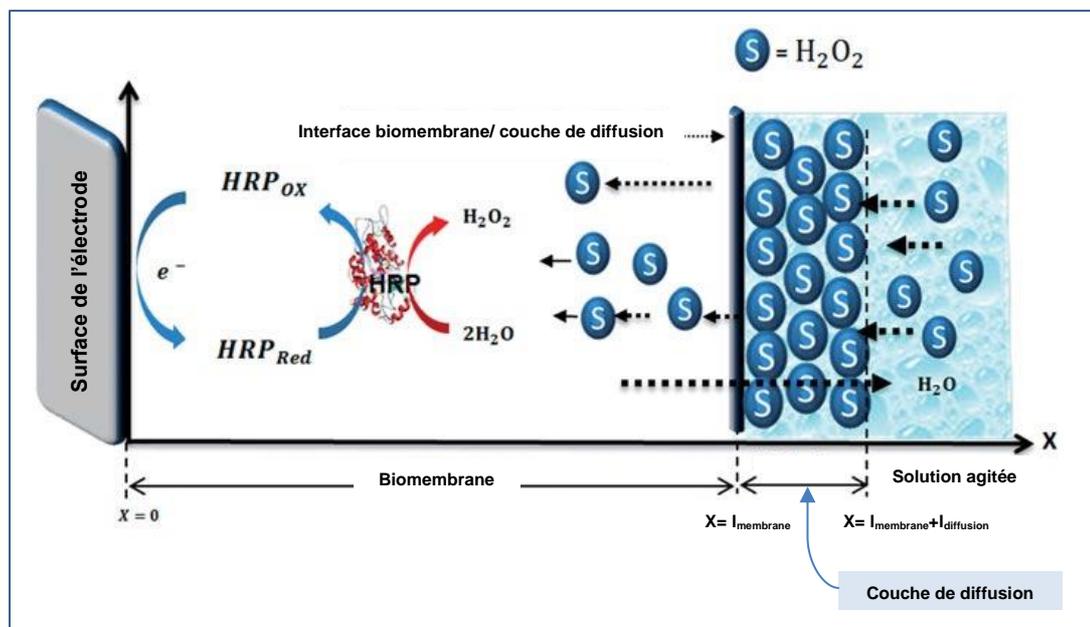


Figure II.1. Configuration de biocapteur à peroxydase immobilisée, où S est H_2O_2 , HRP_{Ox} et HRP_{Red} sont les formes oxydée et réduite de l'enzyme peroxydase, ($l_{diffusion}$) est l'épaisseur de la couche de diffusion et ($l_{membrane}$) l'épaisseur de la couche d'enzyme.

2.3. ÉQUATIONS DU MODÈLE MATHÉMATIQUE

Les équations du modèle décrivant le mécanisme de réaction et le système de diffusion dans les deux zones du biocapteur sont décrits par la seconde loi de Fick :

$$\begin{cases} \partial S/\partial T = \partial^2 S/\partial X^2 - V(S) \\ \partial P/\partial T = \bar{D}_{pm}(\partial^2 P/\partial X^2) + V(S) \end{cases} \quad (1. II)$$

Dans le cas où le médiateur est présent dans la solution électrolytique, nous ajoutons l'équation du médiateur pour décrire le transfert électrochimique indirect :

$$\partial M/\partial T = \partial^2 M/\partial X^2 - V(S, M)$$

Où $V(S)$ est le terme cinétique de réaction enzymatique :

$$V(S) = V_{max} \cdot S/(1 + S) \quad (2. II)$$

Où $V(S, M)$ est le terme cinétique de réaction enzymatique en présence du médiateur. Lorsque la réaction suit un mécanisme de ping-pong, l'équation de vitesse est la suivante :

$$V(S, M) = V_{max}/(1 + (K_S/S) + (K_M/M)) \quad (3. II)$$

où $V_{max} = K_{cat} \cdot E_T$

La vitesse enzymatique maximale adimensionnelle (V_{max}) est égale aux racines carrées du module de Thiele (Φ). Ce dernier exprime le rapport entre la vitesse de réaction enzymatique et le transfert de matière par diffusion des espèces électroactives.

$$V_{max} = \Phi^2 = v_{max} l_m^2/D_{sm} S_0 \quad (4. II)$$

A l'intérieur de la couche de diffusion, seul le transfert de masse par diffusion du substrat et du produit peut avoir lieu. Le système de diffusion pour chaque espèce est décrit par les équations suivantes :

$$\begin{cases} \partial S/\partial T = \bar{D}_{sd} (\partial^2 S/\partial X^2) \\ \partial M/\partial T = \bar{D}_{Md} (\partial^2 M/\partial X^2) \\ \partial P/\partial T = \bar{D}_{pd} (\partial^2 P/\partial X^2) \end{cases} \quad (5. II)$$

Les équations pour les conditions aux limites, la densité de flux du substrat et du médiateur à la surface de l'électrode est égale à zéro :

$$\begin{cases} \partial S/\partial X|_{X=0} = 0 \\ \partial M/\partial X|_{X=0} = 0 \end{cases} \quad (6. II)$$

La concentration du produit électroactif est réduite à zéro en raison du transfert de charge très rapide :

$$P(X = 0, T) = 0 \quad (7. II)$$

La densité de courant exprimée par les lois de Faraday et de Fick est directement proportionnelle au flux du produit à la surface de l'électrode ($X=0$) :

$$\Psi(T) = \bar{D}_{pm} \partial P / \partial X |_{X=0} \quad (8. II)$$

A l'interface membrane/couche de diffusion, les équations de conservation de bilan de masse sont les suivantes :

$$\begin{cases} \partial S / \partial X |_{X=1^-} = \bar{D}_{sd} \partial S / \partial X |_{X=1^+} \\ \partial M / \partial X |_{X=1^-} = \bar{D}_{Md} \partial M / \partial X |_{X=1^+} \\ \partial P / \partial X |_{X=1^-} = \bar{D}_{Pd} \partial P / \partial X |_{X=1^+} \end{cases} \quad (9. II)$$

A l'interface couche de diffusion/solution agitée, les concentrations sont égales à leurs valeurs initiales

$$\begin{cases} S(X = 1 + \delta, T) = S_0 \\ M(X = 1 + \delta, T) = M_0 \\ P(X = 1 + \delta, T) = 0 \end{cases} \quad (10. II)$$

Conditions initiales

$$\begin{cases} S(X, T = 0) = 0 \\ M(X, T = 0) = 0 \\ P(X, T = 0) = 0 \end{cases} \quad \text{for } 0 \leq X < 1 + \delta \quad (11. II)$$

$$\begin{cases} S(X, T = 0) = S_0 \\ M(X, T = 0) = M_0 \\ P(X, T = 0) = 0 \end{cases} \quad \text{for } X = 1 + \delta \quad (12. II)$$

2.4. DISCRETISATION DES EQUATIONS

La simulation numérique de la réponse du biocapteur a été réalisée à l'aide de la technique des différences finies implicites [52]. Cette méthode est appliquée pour résoudre les équations de substrat, de médiateur et de produit :

$$\begin{cases} \partial S / \partial T = \partial^2 S / \partial X^2 - V(S) \\ \partial M / \partial T = \partial^2 M / \partial X^2 - V(S, M) \\ \partial P / \partial T = \partial^2 P / \partial X^2 + V(S, M) \end{cases} \quad (13. II)$$

Où $V(S)$ et $V(S, M)$ sont discrétisées comme suit :

$$\begin{cases} V(S_i^{j+1}) = V_{max} \cdot S_i^{j+1} / (1 + S_i^{j+1}) \\ V(S_i^{j+1}, M_i^{j+1}) = V_{max} / (1 + (K_S / S_i^{j+1}) + (K_M / M_i^{j+1})) \end{cases} \quad (14. II)$$

L'équation (13. II) est l'équation du bilan de matière pour le substrat, le médiateur et le produit dans la biomembrane, qui contient trois termes (termes d'accumulation, de diffusion et de cinétique) discrétisés terme par terme et calculés au temps $T = (j + 1) \cdot \Delta T$. Les termes d'accumulation et de diffusion sont discrétisés comme suit :

$$\begin{cases} \partial S/\partial T = (S_i^{j+1} - S_i^j)/\Delta T + 0(\Delta X) \\ \partial^2 S/\partial X^2 = (S_{i-1}^{j+1} - 2S_i^{j+1} + S_{i+1}^{j+1})/\Delta X^2 + 0(\Delta X^2) \end{cases} \quad (15. II)$$

Le terme cinétique non linéaire est linéarisé par la série de Taylor comme suit :

$$\begin{cases} V_i^{j+1} = V_{\max}(S/1 + S)_i^{j+1} = V_{\max} f(S_i^{j+1}) \\ f_i^{j+1} = f_i^j + \partial f_i^j/\partial S_i^j \cdot (S_i^{j+1} - S_i^j) \\ f(S_i^{j+1}) = f(S_i^j) + \Delta S \cdot f'(S_i^j) \Rightarrow f(S_i^{j+1}) = f(S_i^j) + (\partial f(S_i^j)/\partial S_i^j) \cdot \Delta S \\ \text{avec: } \partial f(S_i^j)/\partial S_i^j = 1/(1 + S_i^j)^2 \text{ and } \Delta S = S_i^{j+1} - S_i^j \end{cases} \quad (16. II)$$

Si (f_0) est la valeur de (f) calculée à l'instant $(j \cdot \Delta T)$ le terme cinétique devient :

$$f(S_i^{j+1}) = f_0 S_i^j + f_0^2 S_i^{j+1} - f_0^2 S_i^j = (\mathbf{f}_0 - \mathbf{f}_0^2) \mathbf{S}_i^j + \mathbf{f}_0^2 \mathbf{S}_i^{j+1} \quad (17. II)$$

En réorganisant les équations (14.II) à (16.II), l'équation (13.II) est écrite sous forme discrétisée :

$$(S_i^{j+1} - S_i^j)/\Delta T = (S_{i-1}^{j+1} - 2 \cdot S_i^{j+1} + S_{i+1}^{j+1})/\Delta X^2 - f(S_i^{j+1}) = (\mathbf{1} - (\mathbf{f}_0^2 - \mathbf{f}_0) \cdot \Delta T) \cdot \mathbf{S}_i^j \quad (18. II)$$

Dans la couche de diffusion, l'approximation de l'équation de diffusion est donnée par l'équation suivante :

$$(S_i^{j+1} - S_i^j)/\Delta T = \bar{D}_{sd} (S_{i-1}^{j+1} - 2 \cdot S_i^{j+1} + S_{i+1}^{j+1})/\Delta X^2 \quad (19. II)$$

L'équation du substrat à l'interface membrane/couche de diffusion est discrétisée comme suit :

$$(S_{im}^{j+1} - S_{im-1}^{j+1})/\Delta X = \bar{D}_{sd} (S_{im+1}^{j+1} - S_{im}^{j+1})/\Delta X \quad (20. II)$$

Conditions aux limites, $(t > 0)$: Les équations des conditions aux limites sont discrétisées comme suit :

À la surface de l'électrode $(i = 0)$:

$$\begin{cases} \partial S/\partial X|_{X=0} = 0 \Rightarrow S_0^{j+1} - S_1^{j+1} = 0 \\ \partial M/\partial X|_{X=0} = 0 \Rightarrow M_0^{j+1} - M_1^{j+1} = 0 \\ P|_{X=0} = 0 \Rightarrow P_0^{j+1} = 0 \end{cases} \quad (21. II)$$

À l'interface couche diffusion/solution agitée :

$$\begin{cases} S(1 + \delta_d, T) = 1 \Rightarrow S_{id}^{j+1} = S_0 \\ M(1 + \delta_d, T) = 1 \Rightarrow M_{id}^{j+1} = M_0 \\ P(1 + \delta_d, T) = 0 \Rightarrow P_{id}^{j+1} = 0 \end{cases} \quad (22. II)$$

La densité de courant adimensionnelle $\{ I(t) \}$ est discrétisée comme suit :

$$(t) = \bar{D}_{pm} (P_1^{j+1}/\Delta X_1) \quad (23. II)$$

Nous avons réarrangé les équations (19.II)-(21.II) pour obtenir un système tri-diagonal résolu par l'algorithme de Thomas (Crank 1975) [53] :

$$\alpha_i C_{i-1}^{j+1} + \beta_i C_i^{j+1} + \gamma_i C_{i+1}^{j+1} = d_i^j (i = 1, id) \quad (24. II)$$

L'équation (24.II) permet de déterminer la concentration de chaque espèce (substrat, médiateur, produit) au temps $(j + 1)$ dans l'espace :

$$A_C^{(id,j)} \times [C]^{j+1} = [C]^j \quad (25.II)$$

Où (id) est le nombre maximal de la discrétisation spatiale de la couche enzymatique et du film liquide. La simulation numérique a été réalisée par le logiciel Fortran 4.0.

3. SIMULATION NUMÉRIQUE

Cette section est consacrée à l'étude théorique de l'effet des conditions opératoires sur la réponse ampérométrique du biocapteur pour la détermination du peroxyde d'hydrogène. La simulation numérique s'applique pour étudier l'effet du transport de masse par diffusion à travers la couche enzymatique, ainsi que pour analyser la cinétique enzymatique qui permet de déterminer l'étape limitante du mécanisme. Dans ce travail, la simulation de la réponse du biocapteur s'effectue en utilisant la technique des différences finies. La validation expérimentale du modèle mathématique a permis de comprendre le mécanisme de détection et aussi offre une estimation des paramètres géométriques et cinétiques du biocapteur de peroxydase.

3.1. MESURE AMPÉROMÉTRIQUE DU PEROXYDE D'HYDROGÈNE

La détection de peroxyde d'hydrogène s'est effectuée dans une cellule électrochimique contenant 10 ml de tampon d'acétate de sodium 50 mM (pH=6) à la température ambiante et à un potentiel fixe est égale à 0,15 V en utilisant une électrode de référence Ag/AgCl (KCl saturé) et un potentiostat relié à un ordinateur.

Le système électrochimique utilisé pour la détection du peroxyde d'hydrogène est un système à trois électrodes comprenant une électrode en carbone au sonogel (diamètre de 1,15 mm) comme électrode de travail, une électrode de référence Ag/AgCl (KCl saturé) et une tige en acier inoxydable comme électrode auxiliaire.

3.2. INFLUENCE DE LA CONSTANTE DE VITESSE SUR LA REPONSE AMPEROMETRIQUE

La figure II.2A montre la réponse ampérométrique du biocapteur pour deux vitesses d'agitation. Les résultats montrent que l'épaisseur de la couche de diffusion devient importante pour des faibles vitesses d'agitation, ce qui demande plus de temps pour atteindre le régime permanent. Pour étudier le facteur limitant de la réaction enzymatique sur la surface de l'électrode, on doit simuler l'influence de la résistance au transfert interne. Donc, on doit varier le rapport entre la vitesse de la réaction enzymatique et le flux de réactifs vers la surface de l'électrode par diffusion (module de Thiele).

La figure II.2B montre la variation de la réponse transitoire du biocapteur pour différentes valeurs du module de Thiele. La vitesse maximale de la réaction enzymatique est ensuite comparée à la vitesse de transfert de masse par diffusion. Les résultats montrent que la

résistance devient plus importante dans la biomembrane à mesure que la valeur du module de Thiele augmente. La vitesse globale du mécanisme est donc contrôlée par le processus de diffusion.

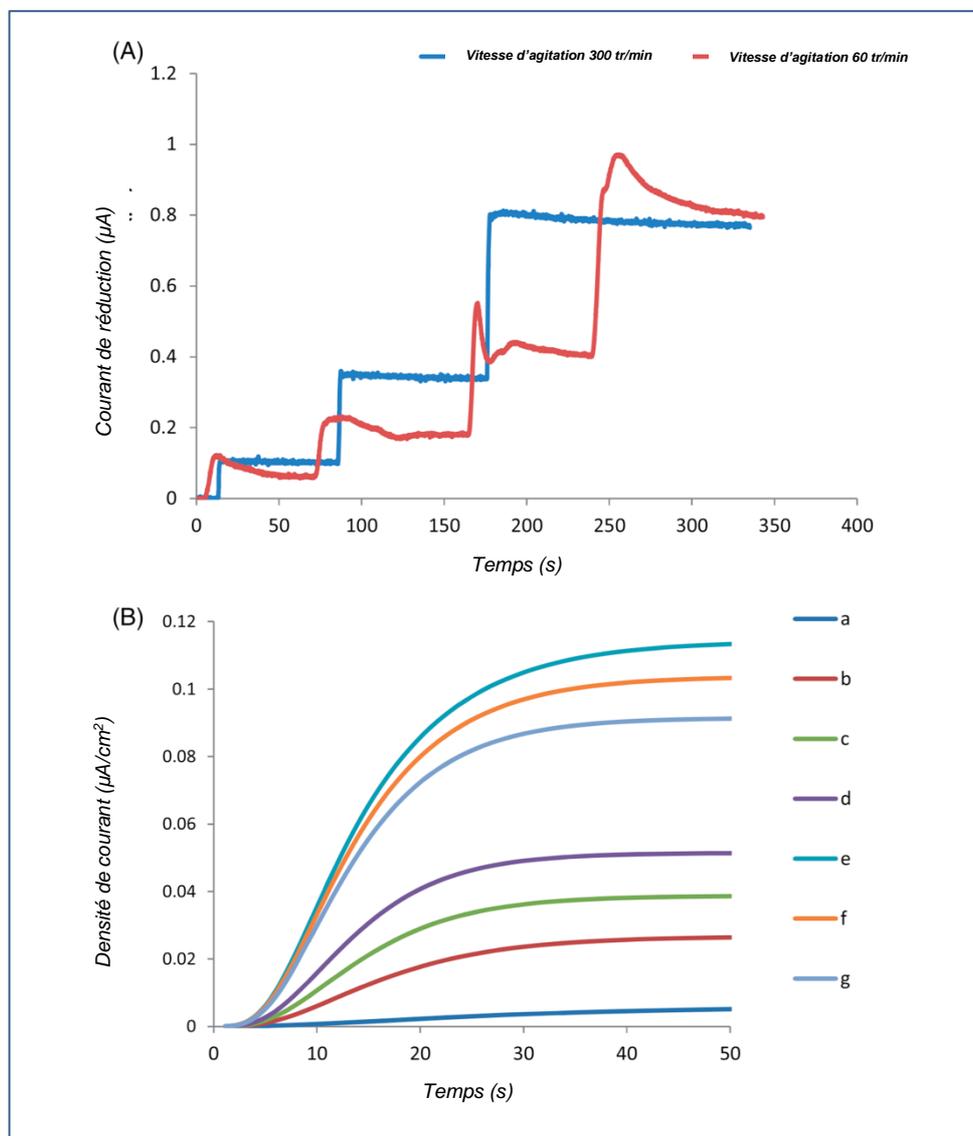


Figure II.2. Effet de la résistance au transfert de charge interne sur la réponse ampérométrique. **(A)** Réponse utilisant deux vitesses d'agitation (300 et 60 tr/min) en présence de $15 \mu\text{M}$ de H_2O_2 ; 274 U/mg de HRP, $E = 0,15 \text{ V}$ vs. Ag/AgCl. **(B)** Réponse du biocapteur pour différentes valeurs de module de Thiele de (a) 7,51041, (b) 23,7500, (c) 33,5876, (d) 44,4322, (e) 82,2724, (f) 95, et (g) 106,213.

3.3. INFLUENCE DE LA CONSTANTE DE VITESSE SUR LES PROFILS DE CONCENTRATION

Les figures II.3A et II.3B montrent la variation des profils de concentration du substrat et du produit dans la membrane et dans le film liquide. Nous remarquons que des faibles valeurs du module de Thiele ce qui correspond à une faible valeur de la constante de vitesse de transfert de charge, le substrat est consommé dans toute la membrane. Pour une résistance élevée au transfert de charge interne, la zone de réaction électroenzymatique est légèrement rétrécie car la couche mince de la zone de réaction du substrat est totalement consommée à l'interface membrane/couche de diffusion.

Les profils de substrat et de produit deviennent linéaires dans la membrane et dans le film liquide (couche de diffusion). L'activité enzymatique affecte l'évolution des profils de concentration. Ainsi, plus cette activité est importante, plus la consommation du substrat est rapide et, par conséquent, le taux de production de l'espèce électroactive devient plus élevé. Dans ce cas où les vitesses de réaction sont élevées, il est également nécessaire de corrélérer cette variation du gradient de concentration, en particulier dans la membrane, par l'augmentation de la résistance à la diffusion.

Les valeurs des paramètres utilisés dans la simulation sont : l'épaisseur de couche de diffusion est de 10 μm , l'épaisseur de membrane enzymatique est de 9,5 μm , le coefficient de diffusion du peroxyde d'hydrogène dans la couche de diffusion est égal à $0,35 \times 10^{-11} \text{ cm}^2/\text{s}$ la concentration de H_2O_2 est de 5 μM .

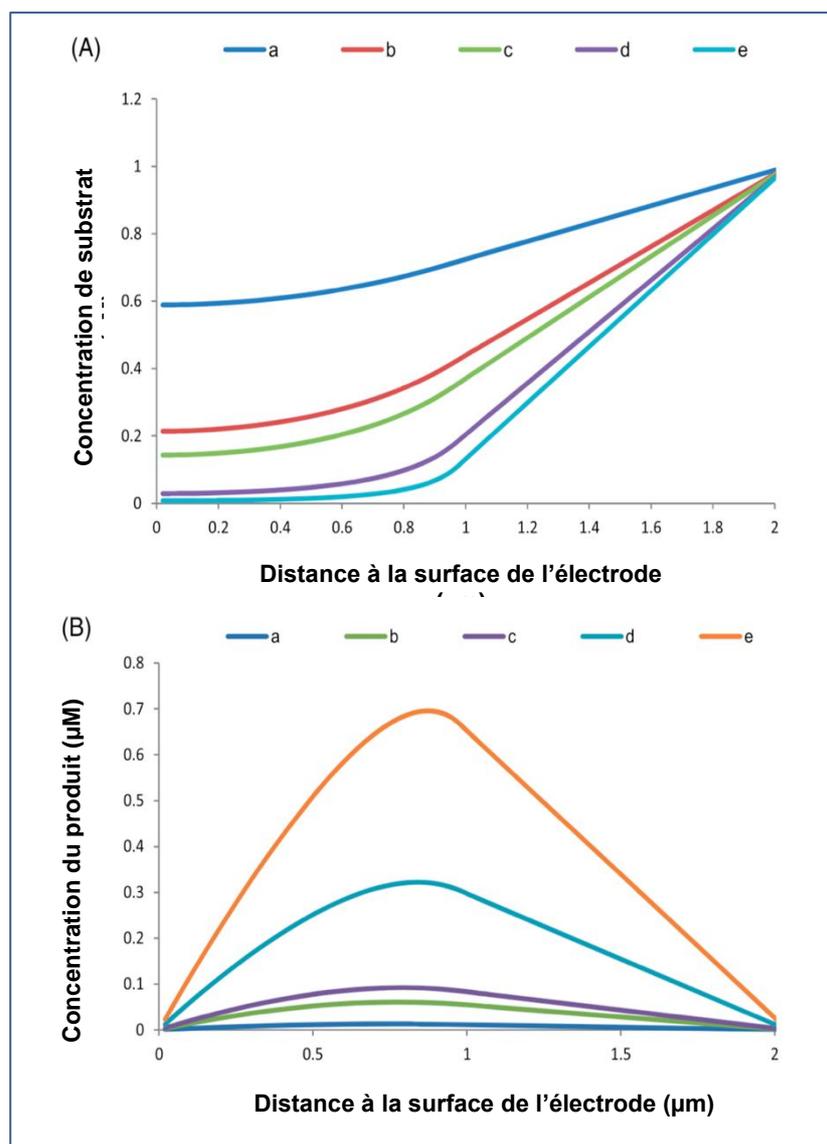


Figure II.3. Évolution des profils de concentration du substrat (A) et de produit (B) dans la membrane enzymatique et dans la couche de diffusion pour différentes valeurs de la vitesse maximale catalytique (V_{max}) : (a) 0,01, (b) 0,1 (c) 0,2, (d) 2 et (e) 10 $\mu\text{M/s}$.

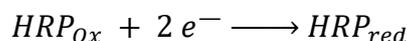
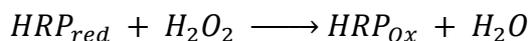
4. VALIDATION DU MODÈLE

La validation du modèle permettant d'estimer les paramètres cinétiques et physico-chimiques du biocapteur à peroxydase pour la détection du peroxyde d'hydrogène. Les figures II.4A et II.4B montrent la validation du modèle mathématique de la réponse du biocapteur à peroxydase pour des concentration de peroxydes d'hydrogène est égale à : 5,10,15 et 20 μM .

Les courbes de calibration de la réponse expérimentale et théorique montrent une relation linéaire entre l'intensité du courant et la concentration en peroxyde d'hydrogène. Les courbes coïncident lorsque l'épaisseur de la couche de diffusion est estimée entre 80 et 100 μm .

4.1. MECANISME CINETIQUE DE TRANSFERT DE CHARGE

Dans le cas de transfert de charge direct sans médiateur, le mécanisme électrocatalytique est exprimé par :



La constante de Michaelis-Menten (K_m) est calculée à partir de l'équation de Lineweaver-Burk comme suit :

$$1/I_{SS} = 1/I_{max} + K_m/(I_{max} \cdot [1/H_2O_2]) \quad (26. II)$$

Où :

(I_{SS}) est le courant permanent après l'ajout du substrat.

(I_{max}) est le courant maximal dans les conditions définies.

[H_2O_2] est la concentration du peroxyde d'hydrogène.

L'enzyme est convertie en sa forme oxydée qui est ensuite réduite à la surface de l'électrode par transfert direct d'électrons. Par conséquent, le courant de réduction a augmenté en présence de peroxyde d'hydrogène [54,55]. Les constantes de vitesse maximales (V_{max}) du transfert de charge entre les intermédiaires de peroxydase et l'électrode peuvent être calculées comme suit :

$$1/v = (K_m/K_1 \cdot [H_2O_2]) + (1/V_{max}) \quad (27. II)$$

Les figures II.3C et II.3D montrent la courbe de Lineweaver-Burk construit pour estimer la constante de Michaelis-Menten (k_m) et la valeur du courant cathodique (I_{max}) à partir des courbes d'étalonnage du peroxyde d'hydrogène. Les courbes théoriques et expérimentales de ($1/I_{max}$) en fonction de ($1/[H_2O_2]$) sont très linéaires avec des coefficients de corrélation de 0,998 et 0,9991, respectivement. Les valeurs de la vitesse de l'activité catalytique (V_{max}) expérimentale et numérique sont respectivement 0,010 $\mu\text{M/s}$ et 0,012 $\mu\text{M/s}$. La constante expérimentale de Michaelis-Menten est égale à 0,92 μM et la valeur numérique correspondante est de 0,98 μM .

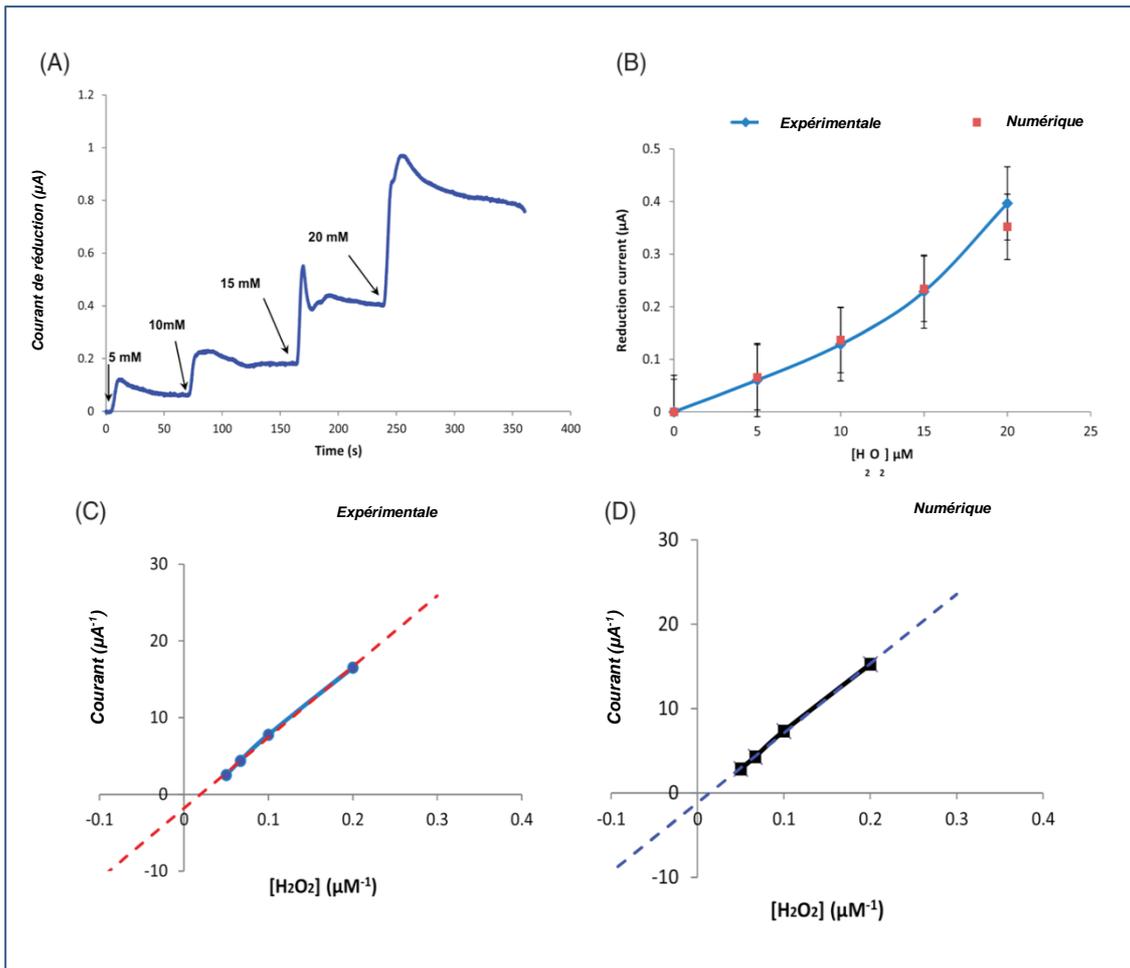


Figure II.4. (A) Réponses ampérométrique du biocapteur à peroxydase pour la détection du peroxyde d'hydrogène. Les conditions opératoires sont : 274U/mg de peroxydase, potentiel de travail appliqué est 0,15 V vs. Ag/AgCl et le pH de la solution est égale à 6. (B) Courbes de calibration expérimentale et théorique du biocapteur. (C) Courbe expérimentale de Lineweaver-Burk ($y = 492,365. x - 1.8172$); coefficient de corrélation est de 0,998. (D) Courbe numérique de Lineweaver-Burk décrit par ($y = 482,432. x - 1.1648$) avec un coefficient de corrélation de 0,9991.

4.2. ESTIMATION DU COEFFICIENT DE DIFFUSION DU PEROXYDE D'HYDROGENE

Pour déterminer les paramètres physico-chimiques, nous avons comparé les réponses expérimentales avec les résultats théoriques obtenus par le modèle (Figure II.5 A, II.5 B). Le coefficient de diffusion du peroxyde d'hydrogène dans la membrane enzymatique (D_{sm}) peut varier entre $3,2$ et $11 \cdot 10^{-12} \text{ m}^2/\text{s}$. Les réponses expérimentales ont été obtenues en utilisant 5 et $10 \mu\text{M}$ de peroxyde d'hydrogène. Les réponses numériques et expérimentales coïncident pour une valeur de coefficient de diffusion du peroxyde d'hydrogène est égale à $0,35 \cdot 10^{-11} \text{ m}^2/\text{s}$ dans la couche de diffusion (D_{sd}).

Pour la figure (II.5.A), la concentration du H_2O_2 est égale à $5 \mu M$, les courbes b, c, d sont les réponses théoriques pour différentes valeurs du coefficient de diffusion du H_2O_2 dans la membrane enzymatique en (m^2/s) allant de (b) 9.10^{-12} , (c) 11.10^{-12} et (d) 7.10^{-12} . Pour la figure (II.5.B), la concentration du H_2O_2 est égale à $10 \mu M$, les courbes b, c, d sont les réponses théoriques pour différentes valeurs du coefficient de diffusion du H_2O_2 dans la membrane enzymatique en (m^2/s) allant de (b) $7,210^{-12}$, (c) $3,2.10^{-12}$ et (d) $5,2.10^{-12}$. Les valeurs des autres paramètres utilisés dans la simulation sont l'épaisseur de la couche de diffusion qui est égale à $80 \mu m$ et l'épaisseur de la membrane enzymatique varie de $5,5$ à $5,9 \mu m$.

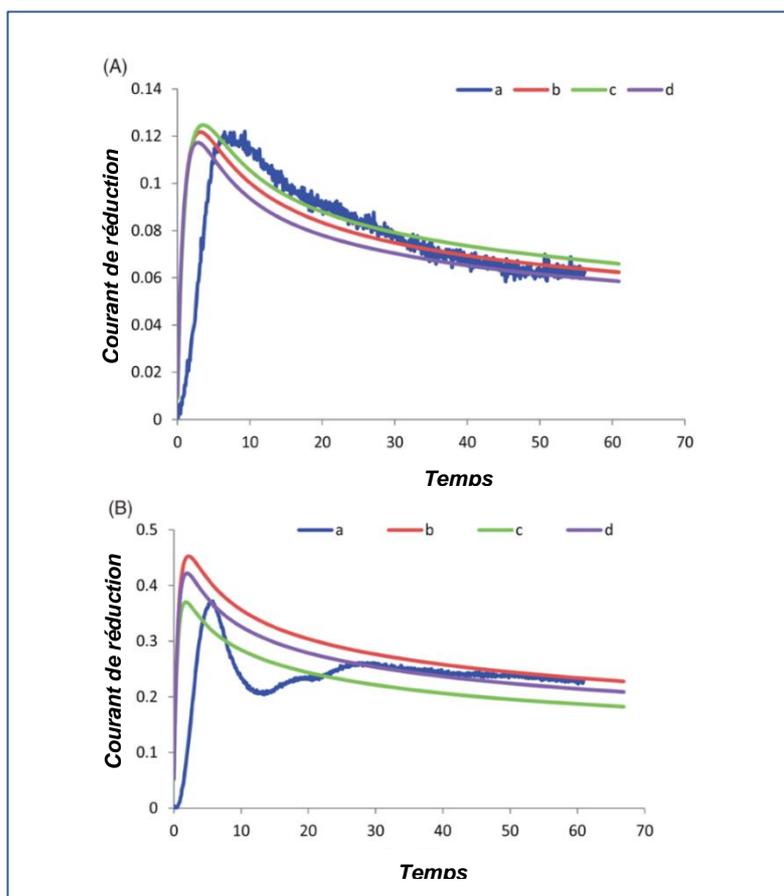


Figure II.5. Réponses expérimentales (a) et théoriques (b, c, d) du biocapteur à peroxydase pour deux différentes concentrations de H_2O_2 : (A) $H_2O_2 = 5 \mu M$, (B) $H_2O_2 = 10 \mu M$.

4.3. EFFET DE LA MATRICE SUR LE COEFFICIENT DE DIFFUSION DU PEROXYDE D'HYDROGENE

Plusieurs travaux étudient l'effet du type de la biomembrane sur la vitesse de diffusion du peroxyde d'hydrogène. La diffusion des espèces électroactives vers la surface de l'électrode forme un film liquide d'épaisseur (l_d). Par conséquent, le transport de masse par diffusion à travers cette couche limite la vitesse de processus globale, ce qui affecte ensuite la réponse en courant du biocapteur [36, 56].

Pour étudier la vitesse de diffusion du peroxyde d'hydrogène dans la solution tampon et dans différents types de gel, [15] utilisent plusieurs couches en gel de poly (alcool vinylique) avec différentes concentrations de glutaraldéhyde. Une autre étude expérimentale menée par Hall et al. (1998) montre que les paramètres cinétiques de transfert de charge varient avec le potentiel, le pH et la température [57]. L'influence de la teneur en argent (Ag) sur la réduction électrocatalytique du peroxyde d'hydrogène a été étudiée par Norazriena et al. (2017) [56]. Le tableau II.2 montre la variation du coefficient de diffusion du peroxyde d'hydrogène en fonction de la composition de la membrane.

Tableau II.2. Variation de la constante de diffusion du peroxyde d'hydrogène en fonction de sa concentration et de la matrice enzymatique.

Électrode	Coefficient de Diffusion	[H ₂ O ₂]	Matrice	Référence
Carbone vitreux	$1.584 \times 10^{-9} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$	1 mM – 0.2 M	Réduction de l'oxyde de graphène-argent @ oxyde de fer de manganèse	[56]
	$1.62 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$	100 nM–10 mM	Nanoparticules et nanoparticules réduites d'oxyde de graphène/oxyde de manganèse	[58]
Électrode à base de dioxyde de titane	$1.13 \times 10^{-3} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$		Nanotubes de dioxyde de titane carbonisés	[59]
Électrode de platine	$6.30 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$	$1.6 \times 10^{-4} \text{ M}$	Glucose oxydase immobilisée à la surface de l'électrode de platine	[57]
	$0.66 - 1.4 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$	0 – 80 mM		
Électrode sonogel de carbone	$1.43 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$	7– 8 mol. m ⁻³	Solution tampon	[15]
	$0.27 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$			
Électrode sonogel de carbone	$0.35 \times 10^{-8} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$	5 – 20 μM	Enzyme peroxydase sononano-particules d'or) / Électrode sonogel de carbone	[49]

Lorsque le transfert des électrons issus de la réaction enzymatique est couplé à la diffusion des espèces à travers la membrane, la vitesse globale du processus dépend du rapport des vitesses de réaction/diffusion. Ce rapport est défini par le module de Thiele (ϕ) qui indique le facteur limitant pour une réaction catalytique hétérogène. Il donne le rapport entre la vitesse de la réaction enzymatique et la vitesse de diffusion des analytes à travers la membrane.

Pour pouvoir estimer les paramètres cinétiques et physico-chimiques du biocapteur, nous avons utilisé deux membranes de compositions différentes. La première est préparée en utilisant un mélange de nanoparticules d'Or (AuNPs) et de poly (4-vinylpyridine) (4-PVP) de

concentration variée entre de 0,5 % et 1 %, tandis que la deuxième membrane contient de la bovine sérum albumine de (BSA=0,5 %). Dans chaque mélange, nous avons ajouté de la peroxydase réticulée avec le glutaralédéhyde (GA) sur la surface de l'électrode à base de sonogel de carbone.

Les réponses théoriques et expérimentales coïncident pour des nombres de Thiele égaux ($\phi = 95$ et $\phi = 44,43$) correspondants aux matrices composées de poly (4-vinylpyridine) à 1% et 0,5%, respectivement. La réponse expérimentale utilisant une matrice de sérum albumine bovine à 0,5 % coïncide pour un nombre de Thiele est égale à ($\phi = 82,27$). Ce qui indique que la vitesse globale de processus est limitée par la diffusion (Figure II.6).

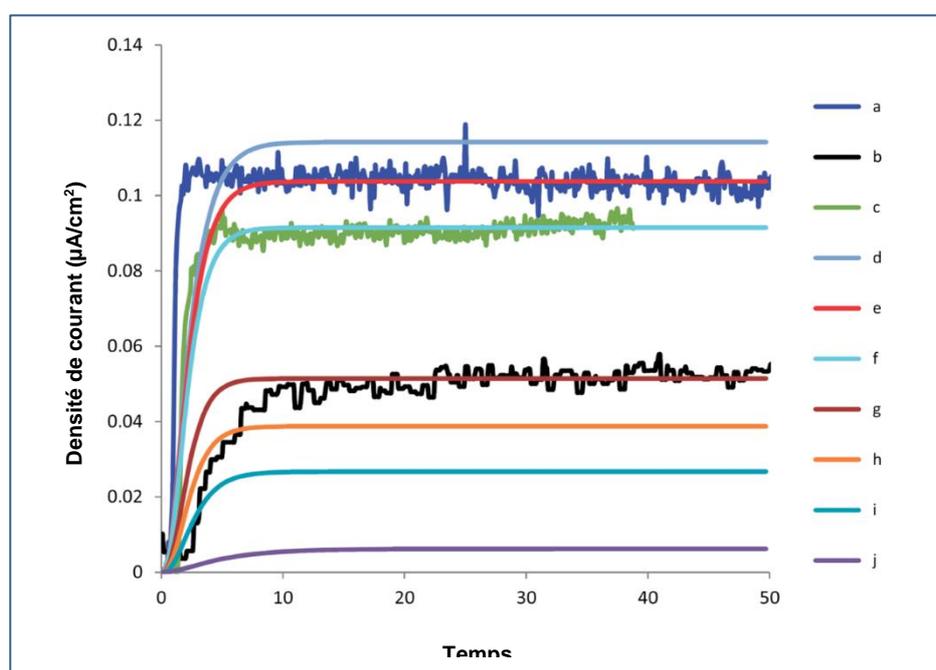


Figure II.6. Réponses expérimentales et numériques du biocapteur à peroxydase obtenues pour différentes valeurs du module de Thiele (ϕ): **(a)** électrode de carbone de 1% de (4-PVP) **(b)** électrode de carbone de 0,5% de (4-PVP) **(c)** électrode d' Au et 0,5 % de BSA **(d)** $V_{\max} = 2$ mM/s ; $\phi = 106,213$ **(e)** $V_{\max} = 1,6$ mM/s ; $\phi = 95$ **(f)** $V_{\max} = 1,2$ mM/s et $\phi = 82,2724$ **(g)** $V_{\max} = 0,35$ mM/s ; $\phi = 44,4322$ **(h)** $V_{\max} = 0,2$ mM/s ; $\phi = 33,5876$ **(i)** $V_{\max} = 0,1$ mM/s ; $\phi = 23,7500$ **(j)** $V_{\max} = 0,01$ mM/s ; $\phi = 7,51041$. Conditions : 274 U/mg de peroxydase ; E= 0,15 V vs. Ag/AgCl ; pH 6.

4.4. ESTIMATION DE L'ÉPAISSEUR DE LA MEMBRANE ENZYMATIQUE

La figure II.7A montre l'effet de l'épaisseur de la membrane enzymatique sur la réponse ampérométrique du biocapteur. L'estimation des paramètres géométriques du biocapteur s'effectue par la comparaison entre les réponses expérimentales et théoriques en utilisant des épaisseurs de la membrane enzymatique croissantes de 5.5, 7.5 et 9.5 μm . Les courbes théoriques et expérimentales coïncident pour une épaisseur est égale à 7,5 μm . Le coefficient

de diffusion correspondant (D_{sm}) est compris entre 60 et $56 \cdot 10^{-12} \text{ m}^2/\text{s}$. On peut clairement constater que l'épaisseur de la membrane enzymatique n'a pas d'influence sur l'intensité de courant dont la valeur reste presque constante est égal à $0,110 \mu\text{A}$. Comme le montre la figure II.7B, l'effet du coefficient de diffusion du peroxyde d'hydrogène dans la couche de diffusion (D_{sd}) sur la réponse du biocapteur est simulé en utilisant des valeurs comprises entre 0,05 et $0,09 \cdot 10^{-11} \text{ m}^2/\text{s}$. La variation de la vitesse de diffusion du H_2O_2 influence sur la réponse en courant du biocapteur. La concentration initiale de substrat est de $10 \mu\text{M}$ et le taux d'activité catalytique est égale à $0,31 \text{ mM/s}$. Les valeurs des autres paramètres utilisés dans la simulation comme la concentration initiale de peroxyde d'hydrogène est égale à $20 \mu\text{M}$, le taux d'activité catalytique est de $0,78 \text{ mM/s}$, l'épaisseur de couche de diffusion est de $100 \mu\text{m}$ et l'épaisseur de la membrane enzymatique est égale à $5,5$ à $9,5 \mu\text{m}$.

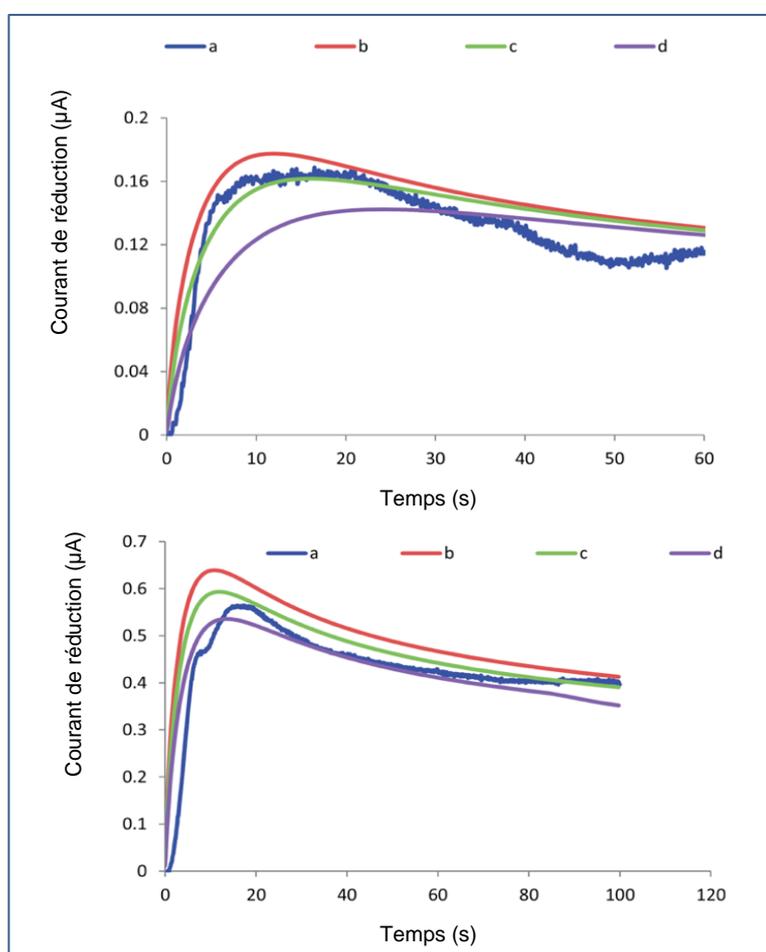


Figure II.7. Résultats théoriques et réponse expérimentale du biocapteur à peroxydase. (A) Influence de l'épaisseur de la membrane enzymatique : (a) Courbe expérimentale, épaisseur de la membrane enzymatique (μm): (b) 9,5 (c) 7,5 et (d) 5,5. (B) Influence du coefficient de diffusion du peroxyde d'hydrogène dans la membrane de l'enzyme: (a) courbe expérimentale, les valeurs de coefficient de diffusion du peroxyde d'hydrogène dans la couche de diffusion (m^2/s) sont : (b) $0,09 \cdot 10^{-11}$, (c) $0,07 \cdot 10^{-11}$ et (d) $0,05 \cdot 10^{-11}$.

5. CONCLUSION

Ce travail est une application d'un modèle mathématique pour biocapteur à peroxydase afin de simuler sa réponse ampérométrique pour la détection du peroxyde d'hydrogène. Le développement du modèle mathématique est basé sur la formulation des équations de la cinétique de Michaelis-Menten et de la deuxième loi de Fick. L'étude théorique vise à déterminer les paramètres physico-chimiques et géométriques du biocapteur comme les coefficients de diffusion du peroxyde d'hydrogène et l'épaisseur de la couche enzymatique. Les paramètres cinétiques du mécanisme réactionnel sont aussi déterminés par le modèle.

L'analyse théorique offre une estimation des paramètres affectant les performances du biocapteur, tels que le coefficient de diffusion du peroxyde d'hydrogène dans la biomembrane, d'une valeur estimée à 56.10^{-12} m²/s. La valeur de l'épaisseur de la couche de diffusion est estimée de 80 à 100 μm et celle de la biomembrane est égale à 7,5 μm. Les valeurs expérimentales et numériques des paramètres cinétiques sont respectivement égales à 0,92 et 0,98 μM pour les constantes de Michaelis–Menten et de 0,010 et 0,012 μM/s pour le taux de l'activité catalytique (V_{\max}). Ce qui montre que modèle est en bon accord avec le mécanisme expérimental

REFERENCES

- [01] D. Britz, R. Baronas, E. Gaidamauskait, F. Ivanauskas, Further comparisons of finite difference schemes for computational modelling of biosensors, *Nonlinear Anal-Model.* 14 (2009) 419–433.
- [02] A. Chaubey, B. D. Malhotra, Mediated biosensors, *Biosensors and Bioelectronics.* 17 (6–7)(2002) 441–456. doi:10.1016/S0956-5663(01)00313-X
- [03] J. Galceran, S. L. Taylor, P. N. Bartlett, Modelling the steady-state current at the inlaid disc microelectrode for homogeneous mediated enzyme catalysed reactions, *Journal of Electroanalytical Chemistry.* 506 (2) (2001) 65–81. doi:10.1016/S0022-0728(01)00503-4
- [04] J. J. Kulys, R. Baronas, Modelling of amperometric biosensors in the case of substrate inhibition, *Sensors* 6 (11) (2006) 1513–1522. doi:10.1007/s10910-009-9581-x
- [05] J. Muller, T. Zwing, An experimental verification of the theory of diffusion limitation of immobilized enzymes, *Biochimica Biophysica Acta.* 705 (1) (1982) 117–123. doi:10.1016/0167-4838(82)90343-0
- [06] L. D. Mell, J. T. Maloy, Model for the amperometric enzyme electrode obtained through digital simulation and applied to the immobilized glucose oxidase system, *Analytical Chemistry.* 47 (2) (1975) 299–307. doi:10.1021/ac60352a006
- [07] P. Gros, A. Bergel, Improved model of a polypyrrole glucose oxidase modified electrode, *Journal of Electroanalytical Chemistry.* 386 (1–2) (1995) 65–73. doi:10.1021/ac60352a006
- [08] N. Martens, A. Hindle, E. A. H. Hall, An assessment of mediators as oxidants for glucose oxidase in the presence of oxygen, *Biosensors and Bioelectronics.* 10 (3–4) (1995) 393–403. doi: 10.1016/0956-5663(95)96857-U
- [09] B. M. Patre, V. G. Sangam, Mathematical model of an amperometric biosensor for the design of an appropriate instrumentation system, *Journal of Medical Engineering & Technology.* 31 (5) (2007) 351–360. doi:10.1080/03091900600926898
- [10] A. Bensana, F. Achi, A. Bouguettoucha, D. Chebli, Theoretical analysis and experimental investigation of the physicochemical parameters of amperometric biosensor for phenols detection, *Materials and Biomaterials Science.* 1(2018) 16–18.
- [11] M. Alvarez-Lcaza, U. Bilitewski, Mass production of biosensors, *Analytical Chemistry.* 65 (1993) 525–533. doi:10.1021/ac00059a001
- [12] S. Bacha, A. Bergel, M. Comtat, Transient response of multilayer electroenzymic biosensors, *Analytical Chemistry.* 67 (10) (1995) 1669–1678. doi:10.1021/ac00106a004

- [13] S. Bacha, M. Montagne, A. Bergel, Modeling mass transfer with enzymatic reaction in electrochemical multilayer microreactors, *AIChE Journal*. 42 (10) (1996) 2967–2976. doi:10.1002/aic.690421024
- [14] A. Bergel, M. Comtat, Theoretical evaluation of transient responses of an amperometric enzyme electrode, *Analytical Chemistry*. 56 (14)(1984) 2904–2909. doi:10.1021/ac00278a064
- [15] S. A. M. van Stroe-Biezen, F. M. Everaerts, L. J. J. Janssen, R. A. Tacken, Diffusion coefficients of oxygen, hydrogen peroxide and glucose in a hydrogel, *Analytica Chimica Acta*. 273 (1–2) (1993) 553–560. doi:10.1016/0003-2670(93)80202-V
- [16] M. R. Romero, A. M. Baruzzi, F. Garay, Mathematical modeling and experimental results of a sandwich-type amperometric biosensor, *Sensors and Actuators B: Chemical*. 162 (1) (2012) 284–291. doi:10.1016/j.snb.2011.12.079
- [17] T. Schulmeister, D. Pfeiffer, Mathematical modelling of amperometric enzyme electrodes with perforated membranes. *Biosensors and Bioelectronics*. 8 (2) (1993) 75–79. doi:10.1016/0956-5663(93)80055-T
- [18] T. Schulmeister, F. Scheller, Mathematical treatment of concentration profiles and anodic current for amperometric enzyme electrodes, *Analytica Chimica Acta*. 171 (1985) 111–118. doi: 10.1016/S0003-2670(00)85022-9
- [19] J. J. Kulys, V. V. Sorochinskii, R. A. Vidziunaite, Transient response of bienzyme electrodes, *Biosensors*. 2 (3) (1986) 135–146. doi:10.1016/0265-928X(86)80001-3
- [20] V. V. Sorochinskii, B. I. Kurganov, Steady-state kinetics of cyclic conversions of substrate in amperometric bienzyme sensors, *Biosensors and Bioelectronics*. 11 (3) (1996) 225–238. doi: 10.1016/0956-5663(96)88409-0
- [21] J. K. Leypoldt, D. A. Gough, Model of a two-substrate enzyme electrode for glucose, *Analytical Chemistry*. 56 (14) (1984) 2896–2904. doi:10.1021/ac00278a063
- [22] N. Martens, E. A. H. Hall, Model for an immobilized oxidase enzyme electrode in the presence of two oxidants, *Analytical Chemistry*. 66 (17)(1994) 2763–2770. doi:10.1021/ac00089a026
- [23] P. N. Bartlett, K. F. E. Pratt, Theoretical treatment of diffusion and kinetics in amperometric immobilized enzyme electrodes part I: Redox mediator entrapped within the film, *Journal of Electroanalytical Chemistry*. 397(1–2) (1995) 61–78. doi:10.1016/0022-0728(95)04236-7
- [24] L. Goldstein, Methods in Enzymology Kinetic behavior of immobilized enzyme systems, *Methods in Enzymology*. 44 (1976) 397–443. https://doi.org/10.1016/S0076-6879(76)44031-4
- [25] J. M. Cooper, M. Alvarez-Icaza, C. J. McNeil, P. N. Bartlett, A kinetic study of an amperometric enzyme electrode based on immobilised cytochrome C peroxidase,

- Journal of Electroanalytical Chemistry 272 (1–2) (1989) 57–70. doi:10.1016/0022-0728(89)87068-8
- [26] N. F. Sheppard, D. J. Mears, A. Guiseppi-Elie, Model of an immobilized enzyme conductimetric urea biosensor, *Biosensors and Bioelectronics*. 11 (10) (1996) 967–979. doi:10.1016/0956-5663(96)87656-1
- [27] M. Somasundrum, A. Tongta, M. Tanticharoen, K. Kirtikara, A kinetic model for the reduction of enzyme-generated H₂O₂ at a metal-dispersed conducting polymer film, *Journal of Electroanalytical Chemistry*. 440 (1–2) (1997) 259–264. doi:10.1016/S0022-0728(97)80064-2
- [28] K. Yokoyama, Y. Kayanuma, Cyclic voltammetric simulation for electrochemically mediated enzyme reaction and determination of enzyme kinetic constants, *Analytical Chemistry*. 70 (16) (1998) 3368–3376. doi:10.1021/ac9711807
- [29] T. Rincken, Determination of kinetic constants and enzyme activity from a biosensor transient signal, *Analytical Letters*. 36 (8) (2003) 1535–1545. doi:10.1081/AL-120021535
- [30] M. Puida, A. Malinauskas, F. Ivanauskas, Modeling of electrocatalysis at conducting polymer modified electrodes: nonlinear current-concentration profiles, *Journal of Mathematical Chemistry*. 49 (6) (2011) 1151–1162. doi:10.1007/s10910-011-9802-y
- [31] P. S. Stewart, Diffusion in biofilms, *Journal of Bacteriology*. 185 (5) (2003) 1485–1491. doi:10.1128/JB.185.5.1485-1491. 2003
- [32] A. Cambiaso, L. Delfino, M. Grattarola, G. Verreschi, D. Ashworth, A. Maines, P. Vadgama, Modelling and simulation of a diffusion limited glucose biosensor, *Sensors Actuators B Chemical*. 33 (1–3) (1996) 203–207. doi:10.1016/0925-4005(96)80099-2
- [33] M. E. G. Lyons, Modelling the transport and kinetics of electroenzymes at the electrode/ solution interface, *Sensors*. 6 (12)(2006) 1765–1790. doi:10.3390/s6121765
- [34] S. Loghambal, L. Rajendran, Mathematical modeling of diffusion and kinetics in amperometric immobilized enzyme electrodes, *Electrochimica Acta* 55 (18) (2010) 5230–5238. doi: 10.1016/j.electacta.2010.04.050
- [35] G. Rahamathunissa, P. Manisankar, L. Rajendran, K. Venugopal, Modeling of nonlinear boundary value problems in enzyme-catalyzed reaction diffusion processes, *Journal of Mathematical Chemistry*. 49 (2) (2011) 457–474. doi:10.1007/s10910-010-9752-9
- [36] V. Aseris, R. Baronas, K. Petrauskas, Computational modelling of three-layered biosensor based on chemically modified electrode, *Computational and Applied Mathematics*. 35 (2) (2016) 405–421. doi:10.1007/s40314-014-0197-9
- [37] W. J. Blaedel, T. R. Kissel, R. C. Boguslaski, Kinetic behavior of enzymes immobilized in artificial membranes, *Analytical Chemistry*. 44 (12)(1972) 2030–2037. doi:10.1021/ac60320a021

- [38] P. N. Bartlett, K. F. E. Pratt, Modelling of processes in enzyme electrodes, *Biosensors and Bioelectronics*. 8 (9–10)(1993) 451–462. doi:10.1016/0956-5663(93)80030-S
- [39] M. E. G. Lyons, C. H. Lyons, C. Fitzgerald, P. N. Bartlett, Conducting-polymer-based electrochemical sensors: theoretical analysis of the transient current response, *Journal of Electroanalytical Chemistry*. 365(1–2)(1994) 29–34. doi:10.1016/0022-0728(93)03057-V
- [40] N. F. Sheppard, R. C. Tucker, C. Wu, Electrical conductivity measurements using microfabricated interdigitated electrodes, *Analytical Chemistry*. 65 (9) (1993) 1199–1202. doi:10.1021/ ac00057a0161
- [41] M. Comtat, H. Durliat, A. Bergel, S. Bacha, M. Montagne, Theoretical and experimental aspects for improvement of electrochemical biosensors by various kinds of immobilization. In *Uses of immobilized biological compounds*, ed. G. G. Guilbault and M. Mascini, (1993) 35–45. NATO ASI Series. Norwell, MA: Kluwer Academic Publishers.
- [42] K. Zhou, Y. Zhu, X. Yang, J. Luo, C. Li, S. Luan, A novel hydrogen peroxide biosensor based on Au–graphene–HRP–chitosan biocomposites, *Electrochimica Acta*. 55 (9) (2010) 3055–3060. doi:10.1016/j.electacta.2010.01.035
- [43] S. Zong, Y. Cao, H. Ju, Amperometric biosensor for hydrogen peroxide based on myoglobin doped multiwalled carbon nanotube enhanced grafted collagen matrix, *Analytical Letters*. 40 (8) (2007) 1556–1568. doi:10.1080/00032710701380442
- [44] Y. Chang, J. Qiao, Q. Liu, L. Shanguan, X. Ma, S. Shuang, C. Dong, Electrochemical behavior of hydrogen peroxide at a glassy carbon electrode modified with nickel hydroxide–decorated multiwalled carbon nanotubes, *Analytical Letters*. 41 (17) (2008) 3147–3160. doi:10.1080/ 00032710802462982
- [45] C. X. Lei, L. P. Long, Z. L. Cao, An H₂O₂ biosensor based on immobilization of horseradish peroxidase labeled Nano-Au in silica Sol-Gel/alginate composite film, *Analytical Letters*. 38 (11) (2005)1721–1734. doi:10.1080/00032710500207762
- [46] J. Liang, M. Wei, Q. Wang, Z. Zhao, A. Liu, Z. Yu, and Y. Tian, Sensitive electrochemical determination of hydrogen peroxide using copper nanoparticles in a polyaniline film on a glassy carbon electrode, *Analytical Letters*. 51 (4) (2018) 512–522. doi:10.1080/00032719.2017.1343832
- [47] J. Qu, Y. Dong, T. Lou, X. Du, Determination of hydrogen peroxide using a novel sensor based on Fe₃O₄ magnetic nanoparticles, *Analytical Letters*. 47 (11) (2014)1797–1807. doi: 10.1080/00032719.2014.888733
- [48] M. Hamtak, L. Fotouhi, M. Hosseini, M. R. Ganjali, Sensitive nonenzymatic electrochemilumin-escence determination of hydrogen peroxide in dental products using a polypyrrole/polyluminol/titanium dioxide nanocomposite, *Analytical Letters*. 52:4 (2018) 633–648. doi:10.1080/ 00032719.2018.1483940

- [49] A. Attar, A. Amine, F. Achi, S. B. Bacha, M. Bourouina, L. Cubillana-Aguilera, J. M. Palacios- Santander, A. Baraket, A. Errachid, A novel amperometric inhibition biosensor based on HRP and gold sononanoparticles immobilised onto Sonogel-Carbon electrode for the determination of sulphides, *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*. 96 (6) (2016) 515–529. doi:10.1080/03067319.2016.1172216
- [50] T. Q. N. Do, M. Varnicic, R. Hanke-Rauschenbach, T. Vidakovic-Koch, K. Sundmacher, Mathematical modeling of a porous enzymatic electrode with direct electron transfer mechanism, *Electrochimica Acta*. 137 (2014) 616–626. doi:10.1016/j.electacta.2014.06.031
- [51] F. Achi, S. Bourouina-Bacha, M. Bourouina, A. Amine, Mathematical model and numerical simulation of inhibition based biosensor for the detection of Hg(II), *Sensors and Actuators B Chemical*. 207 (2015) 413–423. doi:10.1016/j.snb.2014.10.033
- [52] J. D. Hoffman, S. Frankel, *Numerical methods for engineers and scientists*. 2nd ed. New York: McGraw-Hill. Kuly, J. J. 1981. Development of new analytical systems based on biocatalysers, *Enzyme and Microbiol Technology*. 3 (4) (1992)344–352. doi:10.1016/0141-0229(81)90012-0
- [53] J. Crank, 1975. *The mathematics of diffusion*, 2nd ed. Bristol: Oxford University Press.
- [54] G. Zhang, N. Yang, Y. Ni, J. Shen, W. Zhao, X. Huang, A H₂O₂ electrochemical biosensor based on biocompatible pnipam-g-P (NIPAM-co-St) nanoparticles and multi-walled carbon nanotubes modified glass carbon electrode, *Sensors and Actuators B: Chemistry*. 158 (1) (2011) 130–137. doi:10.1016/j.snb.2011.05.055
- [55] A. J. S. Ahammad, Hydrogen peroxide biosensors based on horseradish peroxidase and hemoglobin, *Biosens and Bioelectronics*. 9 (2013) 11. doi:10.4172/2155-6210.S9-001
- [56] Y. Norazriena, R. Perumal, S. M. Muhammad, P. Alagarsamy, L. H. Wah, H. N. Ming, Ternary nanohybrid of reduced graphene oxide-nafion@silver nanoparticles for boosting the sensor performance in non-enzymatic amperometric detection of hydrogen peroxide, *Biosensors and Bioelectronics*. 87(2017) 1020–1028. doi:10.1016/j.bios.2016.09.045.
- [57] S. B. Hall, E. A. Khudaish, A. L. Hart, Electrochemical oxidation of hydrogen peroxide at platinum electrodes. Part 1. An adsorption-controlled mechanism, *Electrochimica Acta* 43 (14–15) (1998) 2015–2024. doi:10.1016/S0013-4686(97)00125-4
- [58] T.R. Madhura, P. Viswanathan, G. Gnana kumar, R. Ramaraj, Nanosheet-like manganese ferrite grown on reduced graphene oxide for non-enzymatic electrochemical sensing of hydrogen peroxide, *Journal of Electroanalytical Chemistry*. 792 (2017) 15–22. doi:10.1016/j.jelechem.2017.03.014
- [59] C. Guoa, F. Huac, C. M. Li, P. K. Shen, Direct electrochemistry of hemoglobin on carbonized titania nanotubes and its application in a sensitive reagentless hydrogen peroxide biosensor, *Biosensors and Bioelectronics*. 24 (4)(2008) 819–824. doi:10.1016/j.bios.2008.07.007

CHAPITRE III

DÉVELOPPEMENT D'UN CAPTEUR ÉLECTROCHIMIQUE POUR LA DÉTECTION DES COMPOSÉS PHÉNOLIQUES

1. INTRODUCTION

Ces dernières années plusieurs techniques innovantes ont été appliquées pour améliorer les performances analytiques des capteurs de phénol qui dépend de nombreux facteurs comme le type de matériaux, le système de transduction électrochimique ainsi que le protocole expérimental pour la préparation des nanocomposites [1].

Le graphène est l'un des matériaux les plus largement utilisé pour la modification des électrodes. Les dérivés du graphènes sont des matériaux aux caractéristiques conformes aux exigences actuelles et futures dans la plupart des domaines scientifiques et industriels. Il représente un matériel clé prometteur dans de nombreux domaines d'application, tels que l'électronique [2], le stockage et la conversion d'énergie [3], les batteries [4,5], les piles à combustible [6-9], les cellules solaires [10,11], et les biotechnologies [12-16].

En outre, l'oxyde de graphène possède des propriétés électroniques excellentes, il s'adapte avec plusieurs matériaux offrant une meilleure fonctionnalisation du nanocomposite. Ce matériau de faible coût est largement utilisé pour la détection électrochimique [17-19]. La modification de la surface des électrodes par l'oxyde de graphène améliore la performance analytique du capteur et minimise le problème de la passivation de sa surface. De nombreux travaux dans la littérature ont développé des capteurs à base d'oxyde de graphène pour la détection de composés phénoliques par conjugaison d'oxyde de graphène avec les nanoparticules métalliques, les nanotubes de carbone ou avec les polymères [20-22]. L'oxyde de graphène est synthétisé par différentes méthodes chimiques. Les méthodes d'oxydation les plus largement appliquées sont : (i) la méthode de Brodie. KClO_3 , fumés d'acide nitrique, (ii) la méthode de Hoffman : acide nitrique concentré, acide sulfurique concentré et KClO_3 , (iii) la méthode de Staudenmaier : fumés d'acide nitrique, d'acide sulfurique concentré et de KClO_3 , (iv) et la méthode de Hummers : acide sulfurique concentré en présence de NaNO_3 et KMnO_4 [23-26].

L'oxydation anodique des phénols engendre des radicaux provoquant des réactions de couplage ce qui forme les dimères, puis les oligomères et enfin des polymères conduisant à l'encrassement des électrodes [27,28]. Le choix du solvant et des nanomatériaux, l'étude de la

polarisation anodique de l'électrode ainsi que l'utilisation d'une méthode de nettoyage non-destructive conduit à minimiser l'encrassement de la surface des électrodes [29-32].

Dans ce chapitre, notre travail consiste à synthétiser l'oxyde de graphène par la modification de la méthode de Hummers afin de minimiser le temps de synthèse. Le matériau synthétisé est utilisé pour la préparation d'un capteur électrochimique pour la détection du phénol et du catéchol. L'étude du comportement électrochimique de ces deux substances est effectuée en utilisant un nanocomposite préparé spécialement pour minimiser la passivation de la surface de l'électrode en carbone vitreux. Ce qui améliore les performances analytiques en termes de sensibilité et de limite de détection.

2. CAPTEUR ELECTROCHIMIQUE A BASE D'OXYDE DE GRAPHENE POUR LA DETECTION DES COMPOSES PHENOLIQUES

2.1. METHODE DE SYNTHESE D'OXYDE DE GRAPHENE

2.1.1. RÉACTIFS

Poudre de graphite ultra-pure (<50 µm) (Merk Germany), acide sulfurique (98%), dichromate de potassium (98%), peroxyde d'hydrogène (30%), acide chlorhydrique (37%), eau ultra pure.

2.1.2. INSTRUMENTATION

Bain à ultrasons (Elma), montage de filtration sous vide, plaque chauffante à agitation magnétique, balance analytique et pH-mètre.

2.1.3. OXYDATION DE GO PAR $K_2Cr_2O_7$ ASSISTEE PAR EXFOLIATION

On disperse une quantité de 0,25 g de graphite ultrapure dans un bécher contenant 15 ml d'acide sulfurique concentré (H_2SO_4) placé dans un bain à ultrasons rempli de glace. Puis, on ajoute progressivement une quantité de 1,88 g de dichromate de potassium ($K_2Cr_2O_7$), légèrement agitée pendant quelques secondes. Après 35 min, le mélange jaune est placé sur un agitateur magnétique à 70 °C pour dissoudre les cristaux de $K_2Cr_2O_7$, après 15 minutes d'agitation, le mélange est à nouveau placé dans le bain à ultrasons à 70 °C pendant une heure (1h) ce qui donne une suspension jaune foncé. Ensuite, le mélange est placé une deuxième fois sur l'agitateur magnétique et 35 ml d'eau ultrapure sont ajoutés lentement. Après un temps de réaction de 30 minutes, on ajoute 2,5 ml de la solution de H_2O_2 (30%) et de 200 ml d'eau ultra pure pour assurer l'achèvement de la réaction ce qui provoque une violente effervescence et une augmentation de la température. La suspension de couleur marron est lavée puis filtrée sous vide avec 5 mL de solution d'HCl (0,1 M) pour éliminer les ions métalliques. Finalement, la solution est rincée plusieurs fois jusqu'à ce que le pH soit neutre. Après filtration, le graphène solide récupéré est séché à 50 °C.

2.2. CARACTERISATION D'OXYDE DE GRAPHENE PAR FTIR

L'oxyde de graphène synthétisé a été caractérisé par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier par un spectrophotomètre (cary 660 FTIR, Aligent Technologies) dans une gamme de longueur d'onde de 400 à 4000 cm^{-1} en mode de transmission en utilisant une pastille KBr. Pour l'identification des groupements fonctionnels du graphène synthétisé, le spectre FTIR confirme la présence de diverses bandes de transmission correspondants aux fonctions oxygénées hydroxyles, carbonyles, carboxyles et époxydes sur le plan et les bordures du squelette carboné figure (III.1). La bande de 1084.81 cm^{-1} est attribué en vibration d'étirement C-O des groupes alcoxy et époxy, les bandes en 874.52 et 974.66 cm^{-1} sont attribués peut-être aux cycles oxiranes et des étirements C-H hors plan (position para). La présence de trois bandes de transmission à 2940.69, 1974.07 et 3020.8 cm^{-1} qu'ils réfèrent aux liaisons C-H sp^3 indiquant que le produit est synthétisé en milieu acide ce qui prouve l'existence des fonctions de l'acide carboxylique dans le matériau. Ainsi qu'aux associations des groupes hydroxyles adsorbés de l'eau contenue dans le composé ou bien aux hydroxyles phénoliques. Le pic autour de 3367.96 et 3621.63 cm^{-1} peut être attribué aux bandes de vibration et de déformation de OH. La lecture 1739.04 cm^{-1} signifie la présence d'étirement C=O des groupes carboxyles ou carbonyles. De forts pics de transmission ont été observés à 1441.87, 1368.54 et 1221.67 cm^{-1} , en raison de bandes de vibration et de déformation plane des C-OH des éthers aromatiques et des hydroxyles carboxyliques.

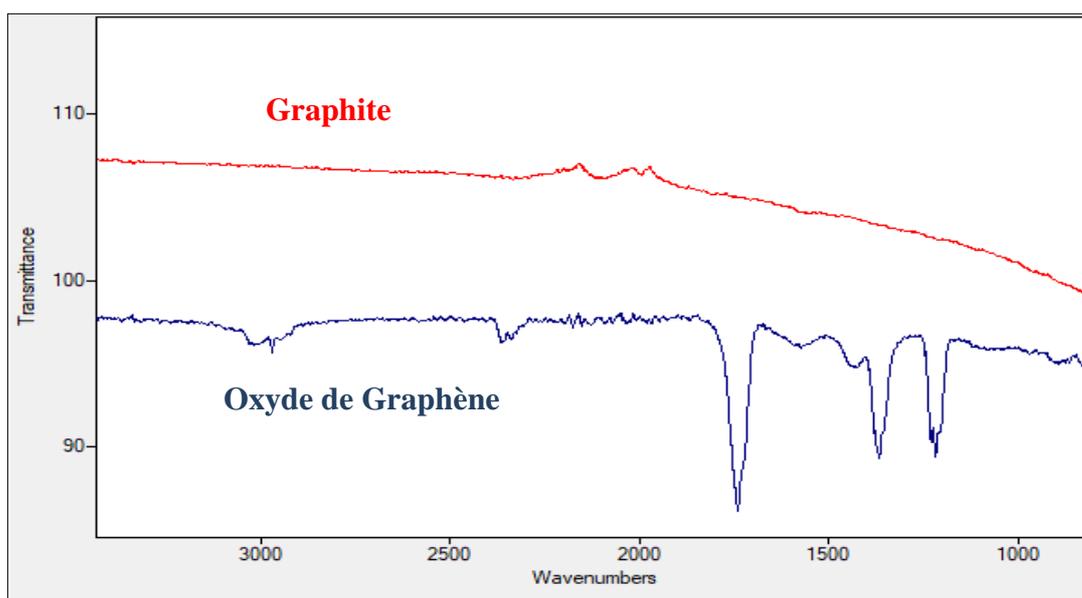


Figure III.1. Spectre FTIR d'oxyde de graphène synthétisé par oxydation assisté à l'exfoliation en comparant avec le spectre de graphite.

2.3. APPLICATION D'OXYDE DE GRAPHENE POUR LA DETECTION DU PHENOL

Avant de passer à la détection, on fait un polissage mécanique à la surface de l'électrode en carbone vitreux en utilisant les particules d'alumine de différentes tailles, 1 et 0.05 μm , respectivement. Puis on lave la surface avec de l'eau désionisée pour la déposition d'oxyde de graphène. Tout d'abord, on prépare une suspension de 1 mg d'oxyde de graphène dans 300 μl de chitosan en solution (1 mg chitosan dans 1 ml de (0,1 M) d'acide acétique) avec une sonication de 30 minutes. Une aliquote de 2 μl d'oxyde de graphène en suspension a été déposée sur la surface de l'électrode, puis on laisse sécher à l'air ambiant la couche formée avant de déposer une deuxième aliquote de même volume. Toutes les expériences voltampérométriques ont été réalisées dans une cellule électrochimique thermostatée (volume 10 à 50 mL) avec un montage à trois électrodes, liée à un potentiostat (VoltaLab PGZ 301, Dynamic-EIS- Voltammetry) de Radiomètre piloté par le logiciel VoltaMaster 4.

La figure III.2. montre la réponse de la voltampérométrie cyclique de l'électrode en carbone vitreux modifiée par le composite Go-Cs à une vitesse de balayage de $100 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ dans un intervalle de potentiel de 0 à 1200 mV. On constate que le pic d'oxydation de phénol est de 5.36 fois plus élevée que le signal obtenu par l'électrode en carbone vitreux avec une accélération du transfert de charge présenté par une déviation du potentiel de pic de 750 mV pour l'électrode en carbone vitreux vers une valeur plus basse après la modification. Ce comportement pourrait être attribué à la bonne conductivité de l'oxyde de graphène et à sa grande surface spécifique ainsi à la nature cationique de chitosan.

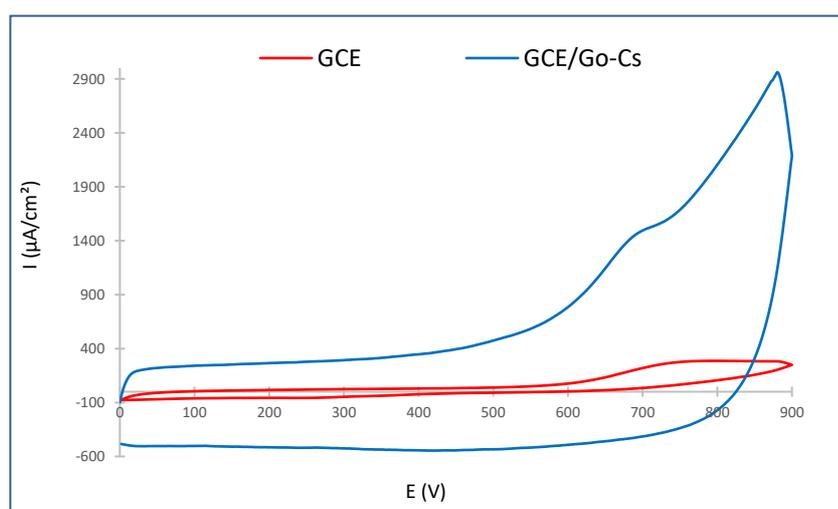


Figure III.2. Voltampérogrammes cycliques de 10 mM de phénol obtenues par l'électrode en carbone vitreux (GCE) et l'électrode modifiée par GCE/Go-Cs dans une PBS (0.1 M, pH 7), vitesse de balayage : 100 mV/s.

2.4. ÉTAPES DE CONCEPTION DU CAPTEUR (GCE/MWCNTs-AuNPs-Go-Cs)

Le nanocomposite à base de MWCNTs-AuNPs-Go-Cs a été synthétisé selon les étapes schématisées dans le schéma III.1. Un mélange contient 0,5 mg de chitosane et 200 μ l d'acide acétique (0,05 M) a été préparé et soniqué pendant dix minutes, ensuite, 3 mg des nanotubes de carbone à paroi multiples et 1 mg de nanoparticules d'or (préparé dans un 10 μ l d'éthanol) ont été ajoutés dans ce mélange, puis homogénéisés par sonication pendant une heure. Ensuite, 1 mg d'oxyde de graphène a été ajouté au mélange obtenu précédemment suivi par sonication pendant 30 minutes. Le polissage de la surface de l'électrode de carbone vitreux (GCE) s'effectue comme décrit précédemment, on utilise les nanoparticules d'alumina de taille 1,0 μ m et 0,05 μ m, respectivement suivi par un lavage avec de l'eau distillée dans un bain à ultrasons. Ensuite, on prélève un volume de 8 μ L de la suspension obtenue (MWCNTs-AuNPs-Go-Cs) pour le déposer à la surface de l'électrode en carbone vitreux puis on le sèche à température ambiante.

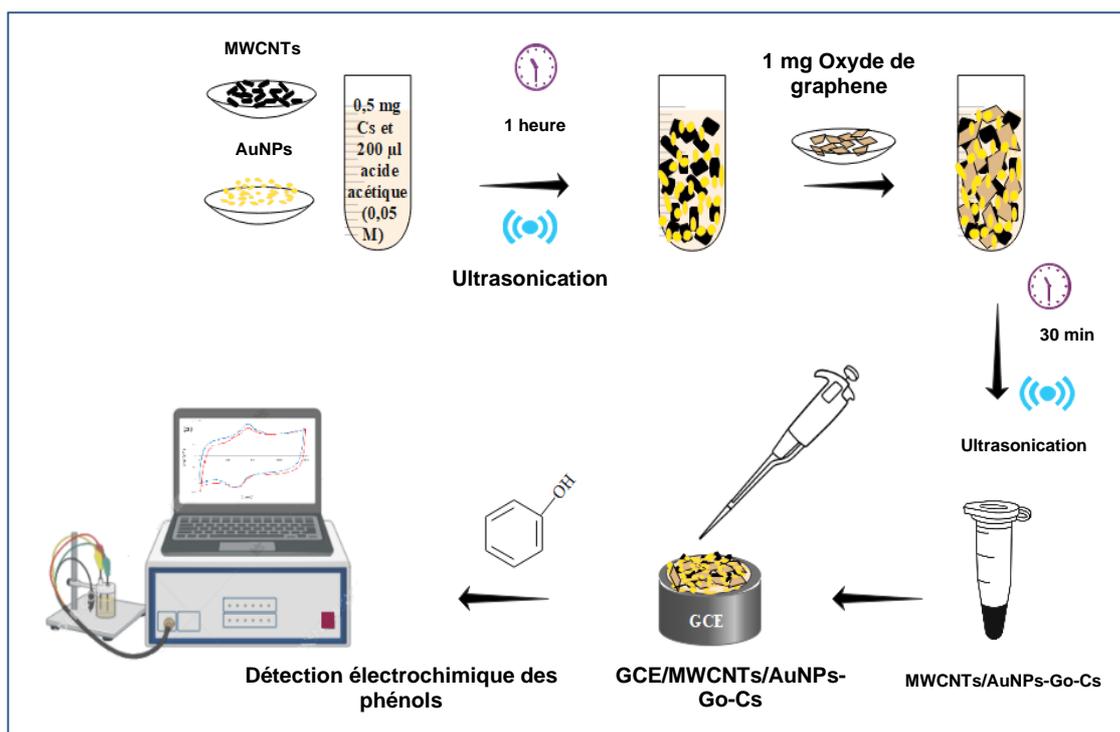


Schéma III.1. Étapes de fabrication du capteur à base de GCE/MWCNTs-AuNPs-Go-Cs pour la détection du phénol et du catéchol.

La figure (III.3 (a)) montre la réponse électrochimique des différentes électrodes modifiées pour la détection de phénol par voltampérométrie cyclique et par voltampérométrie à ondes carrées. L'intensité de courant d'oxydation du phénol obtenue en utilisant (GCE/MWCNTs-AuNPs-Cs) est plus élevée que celle obtenue par l'électrode modifiée avec (GCE/MWCNTs-Cs). En effet, l'assemblage des nanotubes de carbone à paroi multiples (MWCNTs) avec les nanoparticules d'Or (AuNPs) présente des propriétés électriques et mécaniques excellentes ce qui améliore la stabilité des nanoparticules et facilite encore le transfert direct l'électron entre les molécules de substrat et la surface d'électrode modifiée. Un pic de courant plus significatif de 6.872 mA/cm² situé à 680 mV a également été observé en utilisant un nanocomposite de (GCE/MWCNTs-AuNPs-Go-Cs). Cette augmentation est due à l'excellente conductivité des nanotubes de carbone et de l'oxyde de graphène, et due aussi à leur grande surface de contact.

Cependant, les voltampérométries à ondes carrées confirment les résultats précédents mais avec des valeurs des courants d'oxydation remarquablement inférieures par rapport à la voltampérométrie cyclique de 19.2%, 32% et 34.6% pour (GCE/MWCNTs-Cs), (GCE/MWCNTs-AuNPs-Cs) et (GCE/MWCNTs-AuNPs-Go-Cs), respectivement (fig. III.3 (b)). La netteté du pic montre clairement que la composite MWCNTs-AuNPs-Go-Cs utilisée est efficace pour améliorer la cinétique du processus électrochimique grâce à l'effet synergique des nanotubes de carbone, de nanoparticules d'Or (AuNPs) et de l'oxyde de graphène.

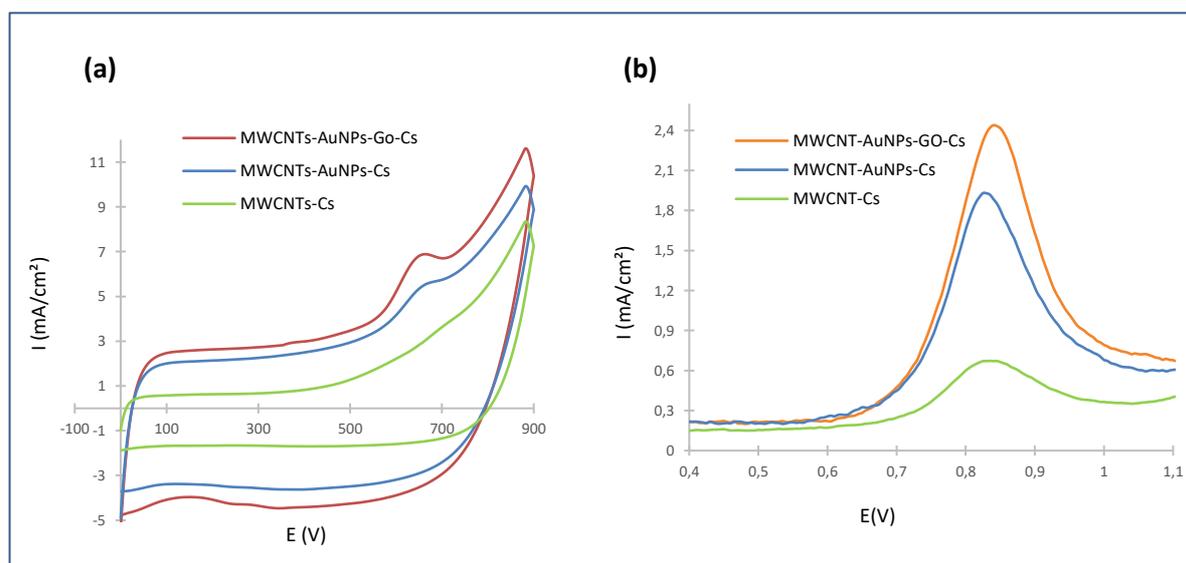


Figure III.3. Réponse des électrodes (a) voltamogrammes cycliques, (b) voltamogrammes à ondes carrées : GCE/MWCNTs-Cs (vert), GCE / MWCNTs-AuNPs-Cs (bleu), GCE/MWCNTs-AuNPs-Go-Cs (rouge) dans : 10 mM de phénol dans une PBS (0,1 M, pH 7), vitesse de balayage : 100 mV/s.

2.5. CARACTERISATION DES NANOCOMPOSITES

L'analyse de la structure et de la morphologie du nanocomposite à base de MWCNTs-AuNPs -Go-Cs est effectuée par une microscopie à balayage électronique (ZEISS EVO15) avec un faisceau d'électrons de 25 kV. Le grossissement typique utilisé pour le microscope à balayage était compris entre 50 x et 1,35 Kx. Les figures (III.4.A.B) montrent que le nanocomposite à base de MWCNTs-AuNPs-Cs possède une texture rugueuse et possessif d'agglomérats distincts. En plus, les nanotubes de carbone à parois multiples sont compacts et bien intégrés et dispersés. Aussi, la structure est poreuse (taille des pores environ 23 à 72 μm) ce qui offre une grande surface assurant une meilleure distribution des nanoparticules d'Or (AuNPs). Comme observé dans la figure (III.4.D), de nombreuses nanoparticules d'or brillantes sont uniformément répartis. Aussi, l'oxyde de graphène présente une structure de feuille qui couvre entièrement les nanotubes de carbone (III.4.C).

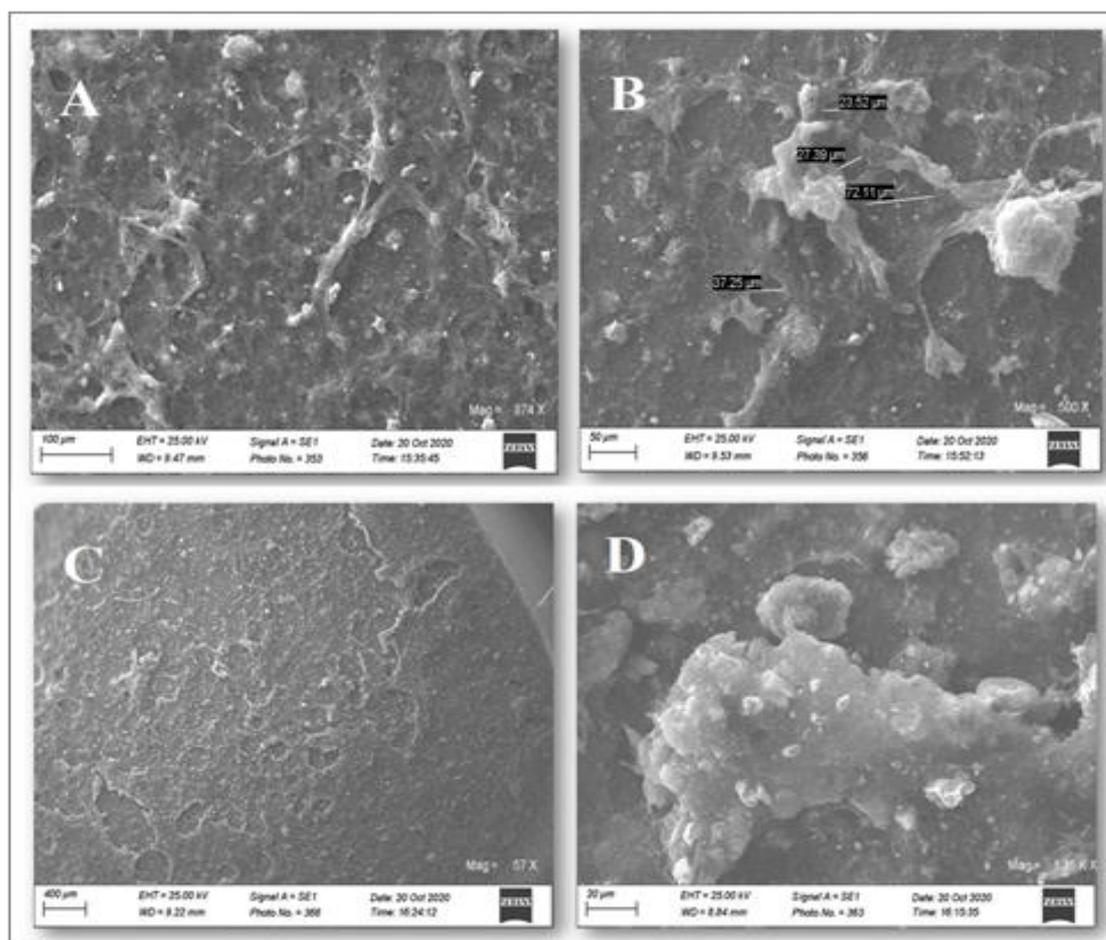


Figure III.4. Images de microscopie électronique à balayage des nanocomposites (A, B) MWCNTs-AuNPs- Cs. (C, D) MWCNTs-AuNPs-Go-Cs.

2.6. DETECTION DES COMPOSES PHENOLIQUES PAR GCE/MWCNTs-AuNPs-Go-Cs

2.6.1. COMPORTEMENT ELECTROCHIMIQUE DU CATECHOL

La figure (III.5.a) montre les voltampérogrammes cycliques de l'électrode modifiée dans un PBS 0,1 M (pH 7,0). Une paire de pics redox bien définis du catéchol a été observée. Le potentiel de pointe des pics d'oxydation de catéchol était à 184 mV et celle de réduction était à 135 mV. De plus, le balayage inverse confirme la stabilité du couple rédox ce qui indique la réversibilité des réactions électrochimiques du catéchol au niveau de l'électrode modifiée GCE/MWCNTs-AuNPs-Go-Cs.

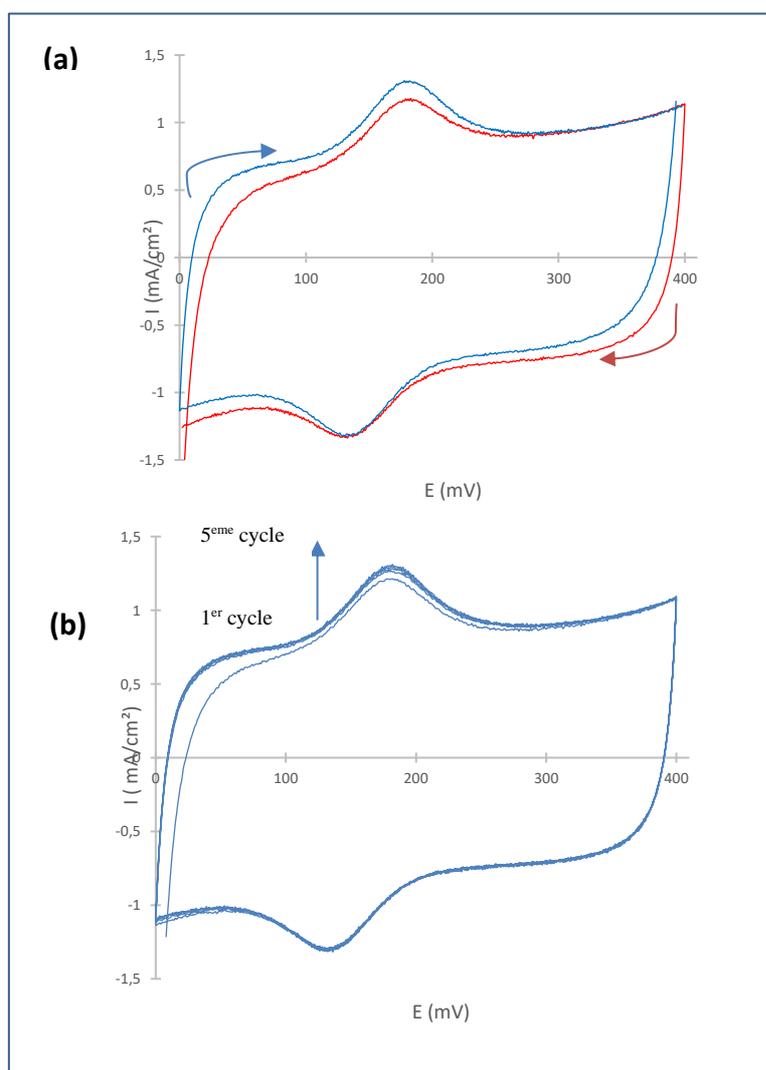


Figure III.5. Réponse de l'électrode à base de GCE/MWCNTs-AuNPs-Go-Cs pour 10 mM de catéchol (a) voltampérométrie cyclique dans la gamme de potentiel de 0 à 400 mV avec une vitesse de balayage de 100 mV/s, dans 0,1 M PBS (pH 7,0), balayage en sens direct (bleu) et balayage à sens inverse (rouge), (b) balayage successif à cinq cycles.

La courbe obtenue possède une forme gaussienne donc la largeur à mi-hauteur du pic est définie par la relation :

$$W_{(1/2)} = 3,52. RT/nF$$

Avec $W_{(1/2)}$: largeur à mi-hauteur en V

A partir de cette mesure réalisée sur un pic unique, il est possible de déterminer le nombre d'électron échangés au cours de la réaction électrochimique.

Le balayage successif à cinq cycles ne montre aucune diminution du courant des pics redox ce qui signifie que les produits résultants de la réaction d'oxydoréduction de catéchol sont stables et ne forme aucun film passivant à la surface de l'électrode (Fig.III.5.b).

2.6.2. EFFET DE LA VALEUR DU PH SUR LA REPOSE DU MWCNTs-AUNPs-Go-Cs/GCE

L'effet de la valeur du pH sur le comportement électrochimique de catéchol par l'électrode modifiée avec (MWCNTs-AuNPs-Go-Cs/GCE) a été étudié par voltampérométrie cyclique dans l'intervalle de pH de 5,0 à 9,0. Selon la figure (III.6.a), on peut voir que les courants de pics anodiques descendent pour des valeurs de pH de 5,0 à 6,0 atteignant une valeur maximale de l'oxydation de catéchol à pH 7,0 puis les pics diminuent encore pour des valeurs de pH de 8 à 9,0.

Les paires des pics redox se décalent vers des valeurs de potentiel de pic inférieures en augmentant le pH, indiquant que des protons ont été impliqués dans la réaction d'électrode. Les équations linéaires du potentiel de pics en fonction de pH sont : $E_{pa} = 0,047 \text{ pH} + 0,516 \text{ (V, R} = 0,9981)$ et $E_{pc} = -0,052 \text{ pH} + 0,378 \text{ (V, R} = 0,9975)$ (Fig. III.6.b). Nous avons noté que les pentes sont proches de la valeur théorique de Nernst (0,5 mV / pH), démontrant que le transfert d'électrons s'accompagne d'un nombre égal de protons et était égale à deux. Le pH 7,0 PBS a été choisie comme condition expérimentale optimale [33]. Dans le cas de la réaction de réduction la meilleure valeur de courant cathodique celle correspondante au pH 5,0.

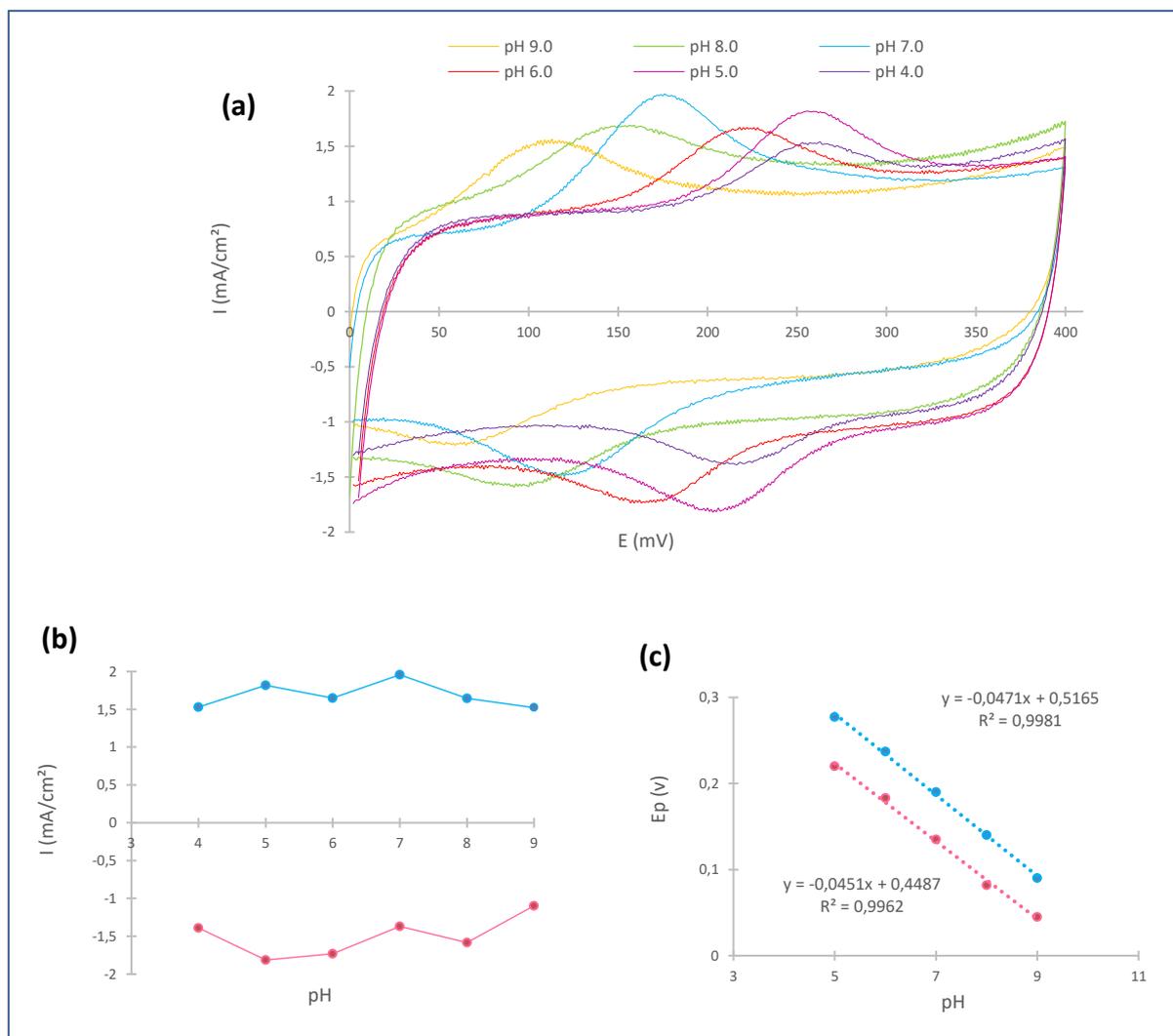


Figure III.6. Réponse de l'électrode à base de GCE/MWCNTs-AuNPs-Go-Cs pour 10 mM catéchol (a) Les voltampérogrammes cycliques à pH varié (5.0, 6.0, 7.0, 8.0, 9.0), vitesse de balayage = 0,1 V. (b) Relation entre le potentiel de pic (E_p) et les valeurs de pH.

2.6.2.1. EFFET DE LA VITESSE DE BALAYAGE

Comme le montre la figure (III.7.a), le courant des pics redox a augmenté progressivement avec l'augmentation de la vitesse de balayage et donnant une valeur maximale en termes de densité de courant avec la vitesse 100 mV. Les courants des pics d'oxydation (I_{pa}) et de réduction (I_{pc}) de catéchol ont changé linéairement avec la racine carrée des taux de balayage ($v^{1/2}$) dans la gamme de 5 à 100 mVs^{-1} , les droites $I_p = f(v^{1/2})$ ne passe pas par l'origine ce qui signifié que le système réactionnel n'est pas rapide, ainsi, les potentiels des pics anodiques et cathodiques se déplacent positivement et négativement, respectivement, et les différences ΔE_p augmentent en augmentant la vitesse de balayage, indiquant que le processus

d'électrode est devenu plus quasi-réversible. Selon la figure (III.7.b), les équations de régression linéaire étaient $I_{pa} \text{ (mA/cm}^2\text{)} = -0,161 + 0,1404 v^{1/2} \text{ (mVs}^{-1}\text{)}$ avec un coefficient de corrélation ($R = 0,9909$) et $I_{pc} \text{ (mA/cm}^2\text{)} = -0,295 + 0,1594 v^{1/2} \text{ (mVs}^{-1}\text{)}$ ($R=0,9964$), respectivement, indiquant que les réactions de catéchol sur l'électrode modifiée GCE/MWCNTs-AuNPs-Go-Cs sont des processus contrôlés par la diffusion.

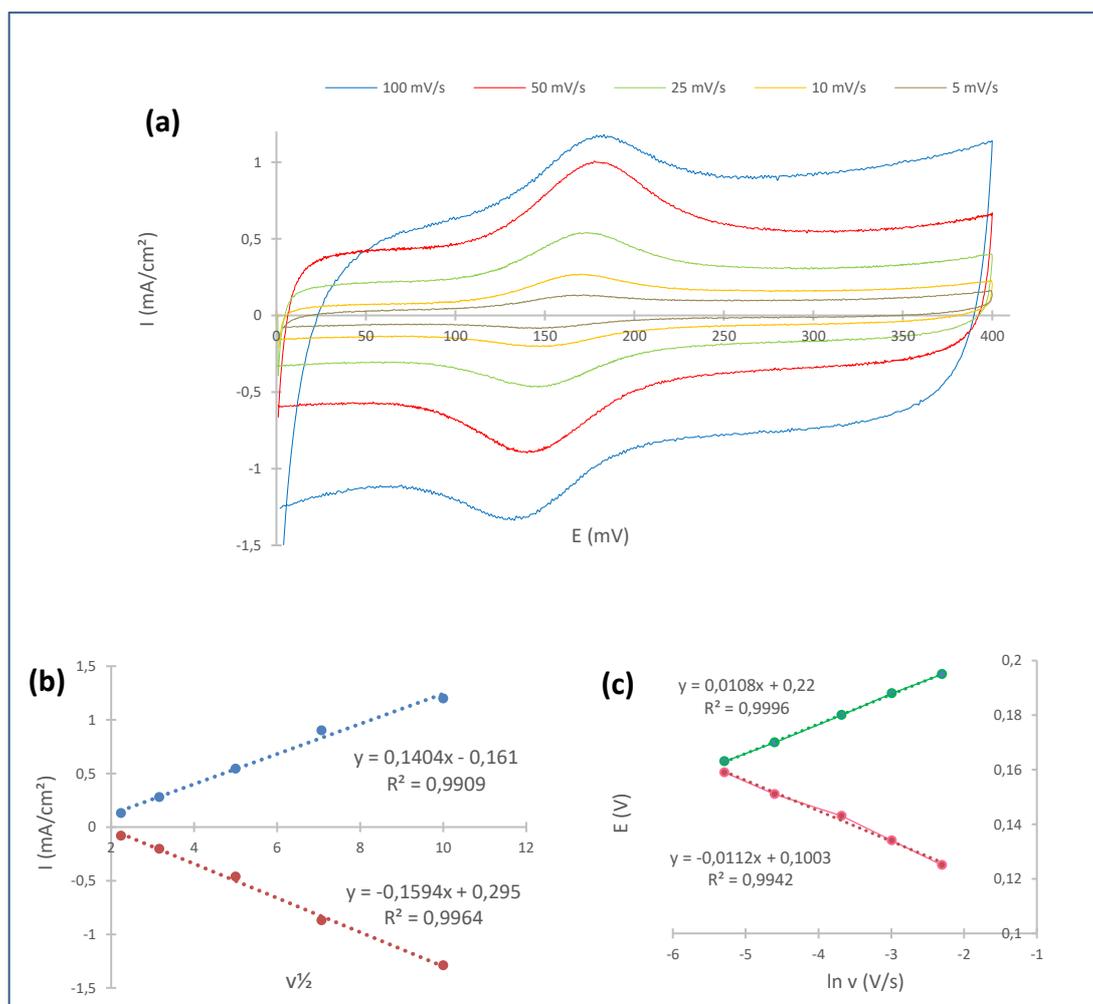


Figure III.7. Réponse de l'électrode à base de GCE/MWCNTs-AuNPs-Go-Cs pour 10 mM de catéchol (a) Volampérogrammes cycliques à différentes vitesses de balayage (0.005, 0.01, 0.025, 0.05, 0.1 V/s). (b) Relation entre le courant de pic redox (I_p) et la racine carrée de la vitesse de balayage (v). (c) Relation entre le potentiel de pic (E_p) et le logarithme de la vitesse de balayage $\ln(v)$.

Le potentiel de pic anodique (E_{pa}) et cathodique (E_{pc}) du catéchol est représenté dans la figure (III.7.c). Les courbes sont linéaires par rapport à $\ln v$ et les différences ΔE_p sont supérieures à 30 mV se qui montre qu'ils sont en accord avec la relation de laviron [34]:

$$\begin{cases} E_{pa} = \beta_a + \delta_a \ln(v) \\ E_{pc} = \beta_c - \delta_c \ln(v) \end{cases} \quad (1. III)$$

Sachant que :

$$\begin{cases} \beta_a = E^\circ + \left(\frac{RT}{(1-\alpha)nF} \right) \ln \left(\frac{RT}{(1-\alpha)nFK_s} \right) \\ \delta_a = \frac{RT}{(1-\alpha)nF} \end{cases} \quad (2. III)$$

$$\begin{cases} \delta_c = -\frac{RT}{\alpha nF} \\ \beta_c = E^\circ + \left(\frac{RT}{\alpha nF} \right) \cdot \ln \left(\frac{RT}{\alpha nFK_s} \right) \end{cases} \quad (3. III)$$

Le coefficient de transfert d'électron α était calculée à partir du rapport des pentes des droites E_{pa} et E_{pc} en fonction de $\ln v$: $\delta_a/\delta_c = \alpha/(1-\alpha)$ et elle est estimée à être égale à 0,49. L'intensité de courant des pics d'oxydation (I_{pa}) pour une réaction quasi-réversible contrôlée par diffusion est calculé selon la formule de Randles – Sevcik [35] :

$$I_{pa} = 2,69 \cdot 10^5 \cdot n^{3/2} \cdot A \cdot D^{1/2} \cdot C \cdot v^{1/2} \quad (4. III)$$

Où

D est le coefficient de diffusion du réactif (cm^2/s), A est la surface électroactive égale à $0,314 \text{ cm}^2$, n est le nombre de transfert d'électrons, v est la vitesse de balayage égale à $0,1 \text{ (V/s)}$, C est la concentration du réactif égale à $0,01 \text{ (mol/L)}$ et I_{pa} est le courant de pic anodique (A) remplacé par la valeur de la pente de E_{pc} en fonction de ($\ln v$).

$$0,014 \cdot 10^{-3} = 2,69 \cdot 10^5 \cdot (2)^{3/2} \cdot 0,314 \cdot D^{1/2} \cdot 0,01 \cdot (0,1)^{1/2} \quad (5. III)$$

La diffusion de catéchol dans $0,1 \text{ M}$ de PBS à pH 7.0 a été trouvée de valeur $D = 4,3 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^2/\text{s}$.

2.6.3. ETUDE DE COMPORTEMENT ELECTROCHIMIQUE DU PHENOL

Selon le balayage en sens direct sur l'électrode à base de GCE/MWCNTs-AuNPs-Go-Cs (Fig. III.8.a), un pic d'oxydation est apparu à 680 mV correspond à l'oxydation du phénol en marquant l'absence d'un pic de retour. Ainsi, deux autres pics cathodiques de réduction à $E_{pc} = + 0,40 \text{ V}$ et $E_{pc} = + 0,29 \text{ V}$ sont apparus relatifs aux réductions des deux produits d'oxydation du phénol, l'ortho-quinone en ortho-phénol (catéchol) et para-quinone en para-phénol (hydroquinone), respectivement. Le deuxième scan de sens inverse, dans la même solution et sans nettoyage de la surface de l'électrode confirme l'irréversibilité de l'oxydation

du phénol et a montré deux pics anodiques à $E_{pa} = + 0,43 \text{ V}$ et $E_{pa} = + 0,33 \text{ V}$, la différence entre les potentiels des pics anodique et cathodique, $| E_{pa} - E_{pc} | = 40 \text{ mV}$ et $| E_{pa} - E_{pc} | = 30 \text{ mV}$ d'hydroquinone et du catéchol, respectivement, sont proches de la valeur théorique de 30 mV pour une réaction réversible à deux électrons.

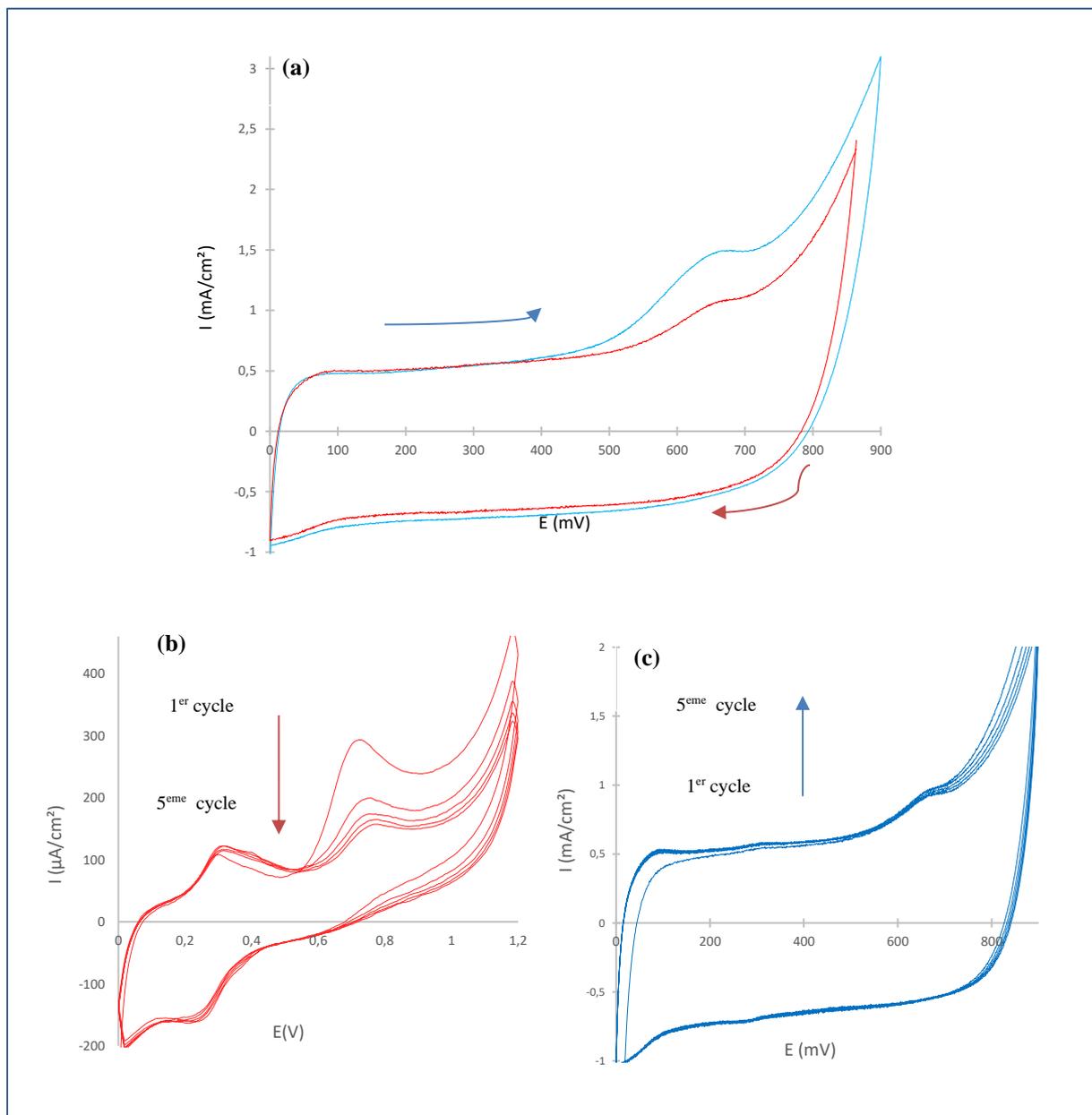


Figure III.8. Réponse de l'électrode à base de GCE/MWCNTs-AuNPs-Go-Cs pour 10 mM de phénol (a) Voltampérométrie cyclique dans la gamme de potentiel de 0 à 900 mV avec une vitesse de balayage de 100 mV/s , dans $0,1 \text{ M PBS}$ ($\text{pH } 7,0$), balayage en sens direct (bleu) et balayage à sens inverse (rouge), (b) balayage successif à cinq cycles sur GCE (c) balayage successif à cinq cycles sur GCE/MWCNTs-AuNPs-Go-Cs.

Figure (III.8.b) présente l'effet du nanocomposite préparée sur la vitesse de transfert d'électrons et sur l'encrassement de la surface de l'électrode. Les voltamogrammes cycliques ont montré que l'électrode en carbone vitreux présente une perte rapide de l'activité pour l'oxydation de phénol suite à un encrassement de surface vu par la diminution brutale du courant d'oxydation lors de premier scan (Fig. III.8.c). Il est important de noter qu'après cinq balayages cycliques successifs effectués aux électrodes GCE et GCE/MWCNTs-AuNPs-Go-Cs, les courants des pics anodiques n'entraîne aucune diminution de la hauteur du pic d'oxydation du phénol situé environ à 680 mV pour le GCE/MWCNTs-AuNPs-Go-Cs contrairement, au GCE qui a marqué une diminution de 46,2 % du courant des pics situé environ à 710 mV, indiquant que le nanocomposite à base de GCE/MWCNTs-AuNPs-Go-Cs est beaucoup plus résistante à la passivation de la surface de l'électrode. La déviation du potentiel de pic observée ($\Delta E = 710 - 680 = 30$ mV), signifie que la vitesse de transfert d'électrons augmente remarquablement en raison des bonnes propriétés électriques et de l'effet synergique de MWCNTs et de Go.

2.6.3.1. EFFET DE LA VALEUR DU pH

Les résultats de la voltampérométrie cyclique confirment que le phénol n'a qu'un seul pic d'oxydation (Fig.III.9. a). De plus, les pics des courants anodiques ont augmenté avec l'augmentation du pH atteignant un maximum à 7.0, puis ont diminué avec l'augmentation de pH à 9.0, figure (III.9.b). La variation du potentiel avec le pH est linéaire selon la relation $\{E_p (V) = 0,026 - 0,0531 \cdot \text{pH}\}$ figure (III.9.c). La pente est égale à 53 mV par unité de pH, a montré que l'oxydation du phénol en milieu aqueux, implique le même nombre d'électrons et de protons. Prise en compte de la largeur du pic à sa mi-hauteur qui est proche à 100 mV, on peut conclure que le processus d'oxydation du phénol implique le transfert d'un électron et d'un proton. La valeur de pH 7.0 a été choisie comme condition expérimentale optimale pour la détection du phénol.

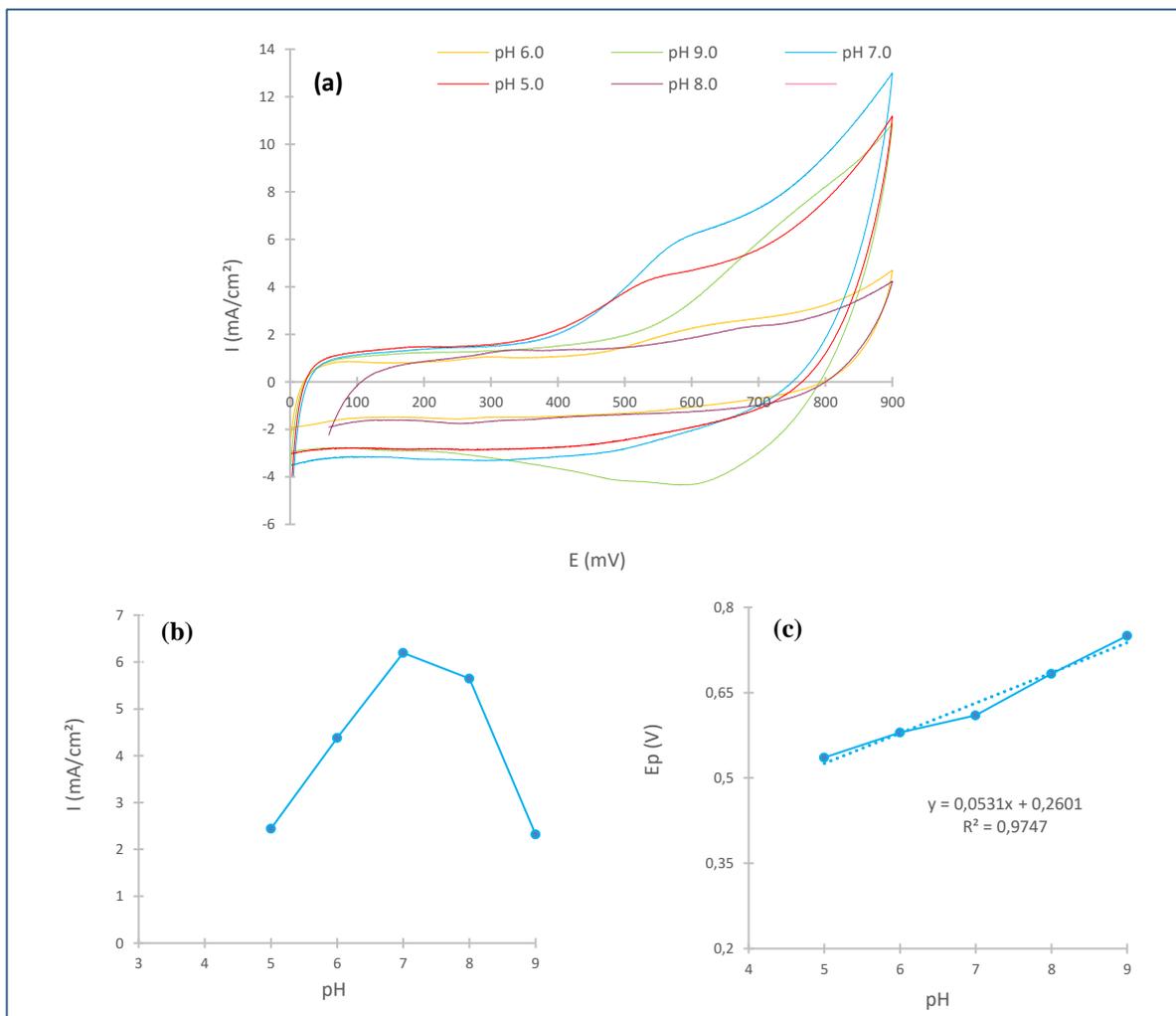


Figure III.9. Réponse de l'électrode à base de GCE/MWCNTs-AuNPs-Go-Cs pour 10 mM de phénol (a) Volampérogrammes cycliques à différentes valeurs de pH (5,0, 6,0, 7,0, 8,0, 9,0) à une vitesse de balayage 0,1 V. (b) Relation entre le courant de pic (I_p) et le pH. (c) Relation entre le potentiel de pic (E_p) et le pH.

2.6.3.2. EFFET DE LA VITESSE DE BALAYAGE

La figure (III.10. a) montre que le courant de pic anodique du phénol augmente continuellement avec l'augmentation de la vitesse de balayage. Une relation linéaire est observée entre le courant de pic et la racine carrée de la vitesse $\{I_{pa} \text{ (mA)} = -0,274 + 0,1648 v^{1/2} \text{ (mVs}^{-1})^{1/2}\}$ ($R = 0,9958$). Ce qui indique que la réaction d'oxydation du phénol est lente contrôlée par le processus de diffusion (Fig.III.10. b). L'équation de régression linéaire montrée sur la figure (III.10. c) de formule ; $\{E_p \text{ (V)} = 0,047 \log v \text{ (Vs}^{-1}) + 0,699\}$ est utilisée pour le calcul du coefficient du transfert d'électron de l'oxydation irréversible de phénol (α). Pour cela, l'équation peut s'écrire sous la forme $\{E_p = (0,03/\alpha) \log v \text{ (Vs}^{-1}) \pm \text{constante}\}$, la valeur du coefficient de transfert d'électron (α) de la réaction d'oxydation du phénol est égale à 0,63.

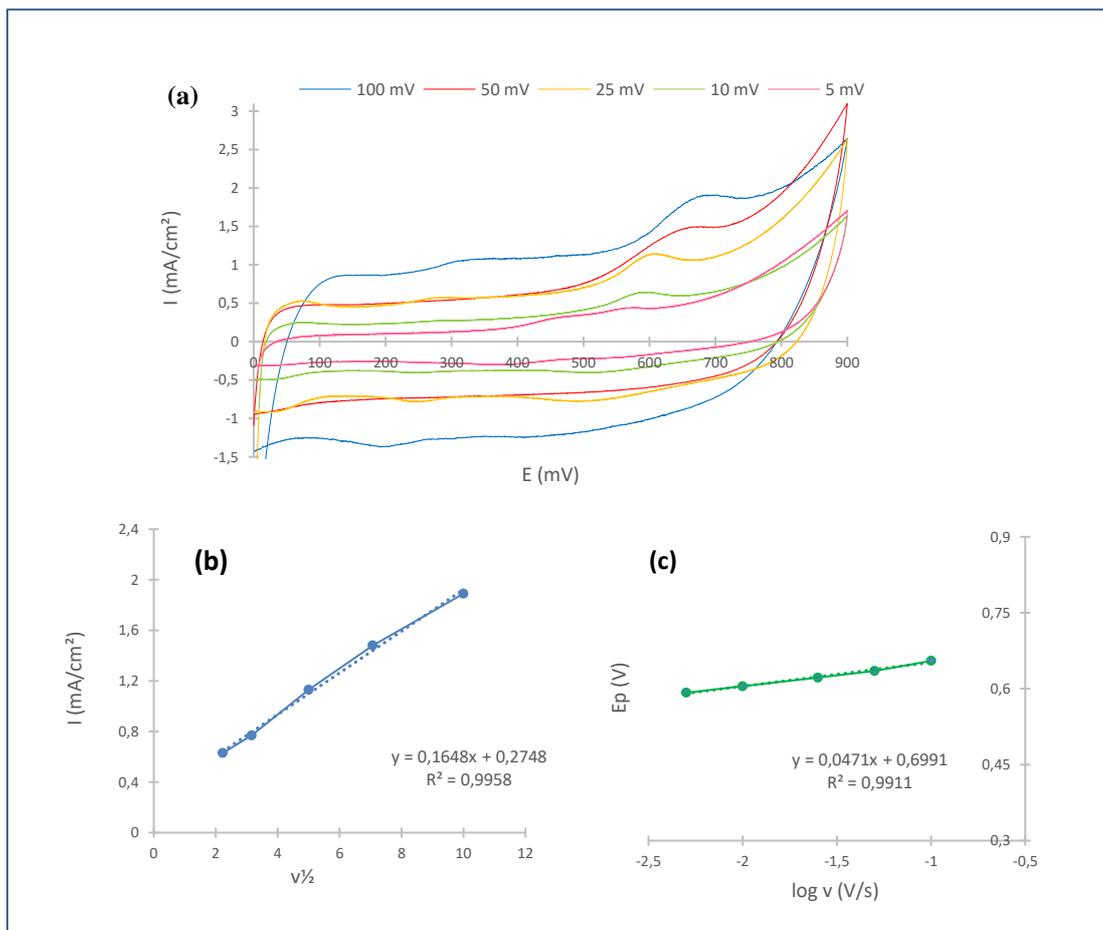


Figure III.10. Réponse de l'électrode à base de GCE/MWCNTs-AuNPs-Go-Cs pour 10 mM de phénol (a) Volampérogrammes cycliques à différentes vitesses de balayage (0,005, 0,01, 0,025, 0,05 0,1 V/s). (b) Relation entre le courant de pic d'oxydation (I_p) de phénol et la racine carrée de la vitesse de balayage (v). (c) Relation entre le potentiel de pic (E_{pa}) et le logarithme de la vitesse de balayage (v).

La formule de l'équation de Sevcik–Randles pour une réaction irréversible contrôlée par la diffusion est comme suite :

$$I_{pa} = 2,99 \cdot 10^5 \cdot n^{3/2} \cdot A \cdot D^{1/2} \cdot C \cdot v^{1/2} \tag{6. III}$$

Tel que $n=1$, $C= 0,01$ M, $v = 0,1$ V est $A= 0,314$ cm². Le coefficient de diffusion de phénol dans 0,1 M de PBS à pH 7.0 a été trouvé de valeur $D = 8,3 \cdot 10^{-4}$ cm²/s.

Pour calculer la constante de vitesse k_s , on utilise l'équation de Laviron pour un système irréversible :

$$E_p = E^\circ + (2,303RT/nF) \cdot \log (RTk_s/nF) + (2,303RT/\alpha nF) \log v \tag{7. III}$$

La valeur de E° estimé à être 0,699 qui était l'interception du tracé de E_p vs $\log v$ extrapolé à $v =0$. Ainsi, la valeur de la constante de vitesse k_s était de $4,57 \cdot 10^2$ cm/s.

2.7. PERFORMANCES ANALYTIQUES DU CAPTEUR GCE/MWCNTs-AuNPs-Go-Cs

Pour évaluer la performance analytique du capteur GCE/MWCNTs-AuNPs-Go-Cs pour la détermination du catéchol, la voltampérométrie linéaire a été utilisée à une vitesse de balayage de $0,1 \text{ Vs}^{-1}$ dans une solution de $0,1 \text{ M}$ PBS (pH = 7,0) avec différentes concentrations de catéchol (Fig. III.11. a). Il a été constaté que le courant de pic a augmenté avec l'augmentation de la concentration du catéchol ajoutée dans la solution. La relation entre les concentrations de catéchol et le courant de pic d'oxydation est donnée par l'équation linéaire : $\{I_{pa} (\mu\text{A}/\text{cm}^2) = 0,162 [\text{Catéchol}] (\mu\text{M}) + 134,97\}$ ($R = 0,9993$) (Fig.III.11.b). Le capteur GCE/MWCNTs-AuNPs-Go-Cs a montré une excellente capacité de détection du catéchol avec une large gamme de linéarité de 100 à $600 \mu\text{M}$ et une sensibilité de $0,162 \mu\text{A}/\mu\text{M}\cdot\text{cm}^2$ ($0,0508 \mu\text{A}/\mu\text{M}$) et une limite de détection est égale à $7,3 \mu\text{M}$ ($S/N = 3$).

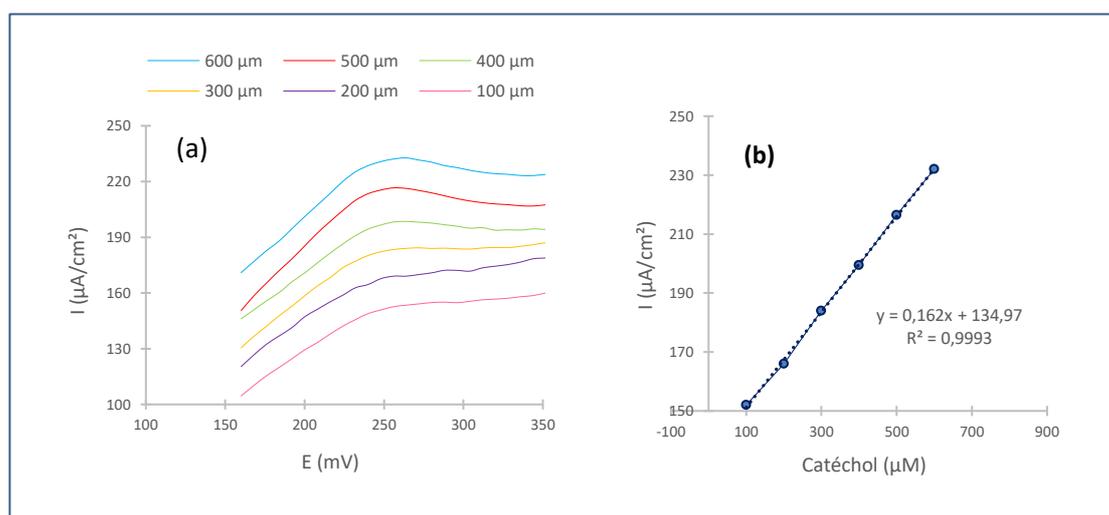


Figure. III.11. Réponse de l'électrode à base de GCE/MWCNTs-AuNPs-Go-Cs pour la détection de catéchol (a) Réponse de voltampérométrie linéaire pour différentes concentrations de catéchol ($0,1$ à $0,6 \text{ mM}$) à une vitesse de balayage $0,1 \text{ V}$, dans une PBS ($0,1 \text{ M}$) à pH $7,0$. (b) Droite d'étalonnage $I_p = f(C_{\text{catéchol}})$.

Dans les mêmes conditions, nous avons déterminé la concentration de phénol par chronoampérométrie à un potentiel fixé à 680 mV . La densité de courant augmente linéairement et de manière proportionnelle avec la concentration de phénol dans la gamme de 10 à $60 \mu\text{M}$, (Fig.III.12. a). On remarque une réponse remarquable à chaque addition de concentration de phénol et le courant a atteint un état relativement stable dans deux secondes, indiquant que le temps de réponse du capteur est court pour la détermination du phénol.

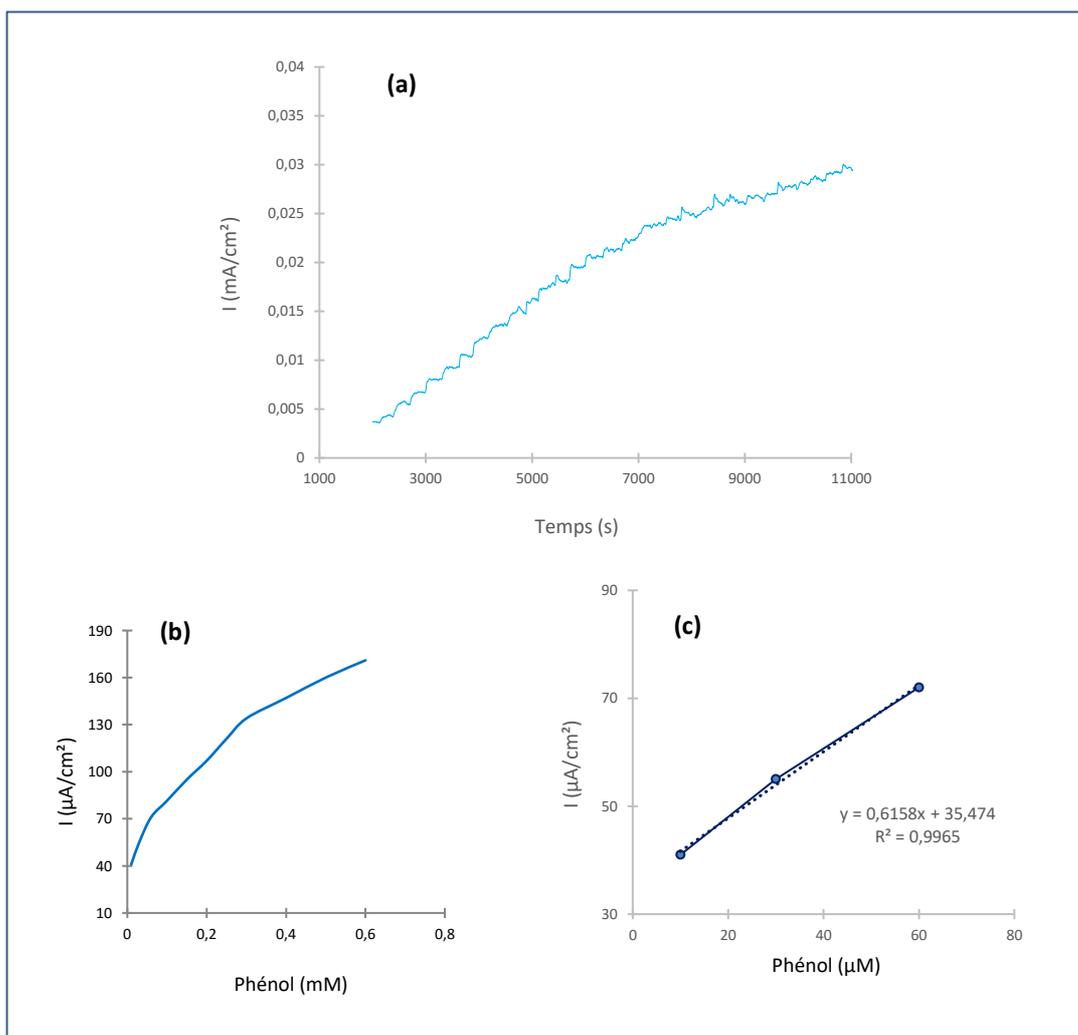


Figure. III.12. Réponse électrochimique de l'électrode à base de GCE/MWCNTs-AuNPs-Go-Cs (a) Réponse chronoampérométrique de différentes concentrations de phénol (10, 20, 30, 40, 50, 100 μM), dans une PBS (0,1 M) à pH 7,0. (b) courbe de calibration $I_p = f(C_{\text{Phénol}})$, (c) droite linéaire $I_p = f(C_{\text{Phénol}})$ de 10 à 60 μM de phénol.

Le paramètre de la sensibilité du capteur est calculé à partir de la partie linéaire de la courbe d'étalonnage (fig III.12.b), la limite de détection est calculée selon le rapport signal/bruit est égale à 3 ($S/N = 3$). La pente a été calculée selon l'équation linéaire (Fig III.12.c) $\{y$ (μA/cm²) = 0,6158 [phénol] (μM) + 35,47} avec un coefficient de corrélation ($R = 0,9965$). La valeur de la sensibilité est de 0,61 μA/μM.cm² (0,191 μA / μM) et celle de la limite de détection est égale à 1 μM.

Le tableau (III.1) montre une comparaison de la performance analytique du capteur développé dans ce travail pour la détermination du phénol avec les résultats des autres capteurs récemment publiés dans la littérature. On constate que le capteur pour la détection du phénol possède une sensibilité très élevée par rapport aux autres avec une limite de détection très basse. De même pour la détection du catéchol, le capteur montre une performance analytique très supérieure en termes de sensibilité et de gamme de linéarité, seulement la limite de détection n'est pas encore atteinte l'échelle nanomolaire.

Tableau III.1. Comparaison de la performance analytique des capteurs développés pour la détection de catéchol et de phénol.

CAPTEUR	TECHNIQUE	ANALYTE	SENSIBILITÉ	GAMME DE LINÉARITÉ	L.O.D	REF.	
Go-ZnO/GCE	SWV	Phénol	0.048 $\mu\text{A}/\mu\text{M}$	5 – 155 μM	2.2 nM	[36]	
AuNCs-MNP/GCE	C.V. & Amp.		0.0002 $\mu\text{A}/\mu\text{M}$	0.1 – 10 mM	1 μM	[37]	
Fe ₃ O ₄ /MWCNTs/GCE	DPV.		0.4812 $\mu\text{A}/\mu\text{M.cm}^2$	5 – 235 μM	4.83 μM	[38]	
GCE/MWCNTs-AuNPs-Go-Cs	Amp.		0,61 $\mu\text{A}/\mu\text{M.cm}^2$ 0,191 $\mu\text{A}/\mu\text{M}$	10 μM – 60 μM	1 μM	Présent travail	
NMC-G/GCE	DPV	Catéchol	0.07552 $\mu\text{A}/\mu\text{M}$	1 – 300 μM	0.3 μM	[39]	
AgCst-CNTs/GCE	DPV		0.0263 $\mu\text{A}/\mu\text{M}$	0.2 – 280 μM	40 nM	[40]	
CU-MOF-G/GCE	DPV		0.05 $\mu\text{A}/\mu\text{M}$	1 μM – 1 mM	0.33 μM	[41]	
POLY(crystal violet) MGPE	DPV		0.0441 $\mu\text{A}/\mu\text{M}$	10.37 – 109.1 μM	27.76 nM	[42]	
GCE/MWCNTS-AUNPs-Go-Cs	I.V.			0,162 $\mu\text{A}/\mu\text{Mcm}^2$ 0,0508 $\mu\text{A}/\mu\text{M}$	100 – 600 μM	7.3 μM	Présent travail

Le tableau III.1. indique que les résultats obtenus par ce capteur se sont avérés être très prometteurs pour la détection des composés phénoliques. En plus, la comparaison confirme l'aptitude et la fiabilité du capteur développé dans ce travail à détecter de faibles concentrations en phénol [37,38]. La comparaison montre aussi l'efficacité du nanocomposite préparée (GCE/MWCNTs-AuNPs-Go-Cs) envers la détection du catéchol [39-42].

3. CONCLUSION

Ce chapitre présente la synthèse d'un nanocomposite à base des nanoparticules d'or fonctionnalisées par les nanotubes de carbone à paroi multiples et d'oxyde de graphène en présence de chitosan en milieu acide (MWCNTs-AuNPs-Go-Cs). Les nanomatériaux choisis possèdent des caractéristiques avantageuses telles que : propriétés électriques et mécaniques élevées, stabilité chimique, bonne résistance thermique.

Nous avons étudié dans ce chapitre les conditions expérimentales influençant sur le comportement électrochimique des substances à détecter telles que le phénol et le catéchol. La méthode de préparation du nanocomposite était très facile et simple à mise en œuvre. Le nanocomposite préparée est utilisée pour le développement des dispositifs sensibles à la détection du catéchol et du phénol. Le capteur développé montre de larges gammes de linéarité comprise de 10 μM à 60 μM et de 100 μM à 600 μM avec des limites de détection basses de 1 μM et 7,3 μM pour la détection du phénol et du catéchol, respectivement. Les résultats obtenus montrent que le capteur à base de GCE/MWCNTs-AuNPs-Go-Cs pouvait être un outil analytique efficace pour la détection électrochimique rapide des composés phénoliques.

RÉFÉRENCES

- [1] A. Bensana, F. Achi, Analytical performance of functional nanostructured biointerfaces for sensing phenolic compounds, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 196 (2020) 111344. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2020.111344>.
- [2] J. Hass, W.A. de Heer, E.H. Conrad, The growth and morphology of epitaxial multilayer graphene, *J. Phys.: Condens. Matter*. 20 (2008) 323202. <https://doi.org/10.1088/0953-8984/20/32/323202>.
- [3] M.D. Stoller, S. Park, Y. Zhu, J. An, R.S. Ruoff, Graphene-Based Ultracapacitors, *Nano Lett.* 8 (2008) 3498–3502. <https://doi.org/10.1021/nl802558y>.
- [4] E. Yoo, J. Kim, E. Hosono, H. Zhou, T. Kudo, I. Honma, Large Reversible Li Storage of Graphene Nanosheet Families for Use in Rechargeable Lithium Ion Batteries, *Nano Lett.* 8 (2008) 2277–2282. <https://doi.org/10.1021/nl800957b>.
- [5] D. Wang, D. Choi, J. Li, Z. Yang, Z. Nie, R. Kou, D. Hu, C. Wang, L.V. Saraf, J. Zhang, I.A. Aksay, J. Liu, Self-Assembled TiO₂ –Graphene Hybrid Nanostructures for Enhanced Li-Ion Insertion, *ACS Nano*. 3 (2009) 907–914. <https://doi.org/10.1021/nn900150y>.
- [6] B. Seger, P.V. Kamat, Electrocatalytically Active Graphene-Platinum Nanocomposites. Role of 2-D Carbon Support in PEM Fuel Cells, *J. Phys. Chem. C*. 113 (2009) 7990–7995. <https://doi.org/10.1021/jp900360k>.
- [7] R. Kou, Y. Shao, D. Wang, M.H. Engelhard, J.H. Kwak, J. Wang, V.V. Viswanathan, C. Wang, Y. Lin, Y. Wang, I.A. Aksay, J. Liu, Enhanced activity and stability of Pt catalysts on functionalized graphene sheets for electrocatalytic oxygen reduction, *Electrochemistry Communications*. 11 (2009) 954–957. <https://doi.org/10.1016/j.elecom.2009.02.033>.
- [8] E. Yoo, T. Okata, T. Akita, M. Kohyama, J. Nakamura, I. Honma, Enhanced Electrocatalytic Activity of Pt Subnanoclusters on Graphene Nanosheet Surface, *Nano Lett.* 9 (2009) 2255–2259. <https://doi.org/10.1021/nl900397t>.
- [9] Y. Si, E.T. Samulski, Exfoliated Graphene Separated by Platinum Nanoparticles, *Chem. Mater.* 20 (2008) 6792–6797. <https://doi.org/10.1021/cm801356a>.
- [10] X. Wang, L. Zhi, N. Tsao, Ž. Tomović, J. Li, K. Müllen, Transparent Carbon Films as Electrodes in Organic Solar Cells, *Angew. Chem. Int. Ed.* 47 (2008) 2990–2992. <https://doi.org/10.1002/anie.200704909>.

- [11] J. Wu, H.A. Becerril, Z. Bao, Z. Liu, Y. Chen, P. Peumans, Organic solar cells with solution-processed graphene transparent electrodes, *Appl. Phys. Lett.* 92 (2008) 263302. <https://doi.org/10.1063/1.2924771>.
- [12] Z. Liu, J.T. Robinson, X. Sun, H. Dai, PEGylated Nanographene Oxide for Delivery of Water-Insoluble Cancer Drugs, *J. Am. Chem. Soc.* 130 (2008) 10876–10877. <https://doi.org/10.1021/ja803688x>.
- [13] H. Chen, M.B. Müller, K.J. Gilmore, G.G. Wallace, D. Li, Mechanically Strong, Electrically Conductive, and Biocompatible Graphene Paper, *Adv. Mater.* 20 (2008) 3557–3561. <https://doi.org/10.1002/adma.200800757>.
- [14] C. Shan, H. Yang, J. Song, D. Han, A. Ivaska, L. Niu, Direct Electrochemistry of Glucose Oxidase and Biosensing for Glucose Based on Graphene, *Anal. Chem.* 81 (2009) 2378–2382. <https://doi.org/10.1021/ac802193c>.
- [15] G. Zeng, Y. Xing, J. Gao, Z. Wang, X. Zhang, Unconventional Layer-by-Layer Assembly of Graphene Multilayer Films for Enzyme-Based Glucose and Maltose Biosensing, *Langmuir.* 26 (2010) 15022–15026. <https://doi.org/10.1021/la102806v>.
- [16] C.-H. Lu, H.-H. Yang, C.-L. Zhu, X. Chen, G.-N. Chen, A Graphene Platform for Sensing Biomolecules, *Angew. Chem. Int. Ed.* 48 (2009) 4785–4787. <https://doi.org/10.1002/anie.200901479>.
- [17] W. Wang, G. Xu, X.T. Cui, G. Sheng, X. Luo, Enhanced catalytic and dopamine sensing properties of electrochemically reduced conducting polymer nanocomposite doped with pure graphene oxide, *Biosensors and Bioelectronics.* 58 (2014) 153–156. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2014.02.055>.
- [18] Y. Song, Y. Luo, C. Zhu, H. Li, D. Du, Y. Lin, Recent advances in electrochemical biosensors based on graphene two-dimensional nanomaterials, *Biosensors and Bioelectronics.* 76 (2016) 195–212. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2015.07.002>.
- [19] Y. Wang, Y. Shao, D.W. Matson, J. Li, Y. Lin, Nitrogen-Doped Graphene and Its Application in Electrochemical Biosensing, *ACS Nano.* 4 (2010) 1790–1798. <https://doi.org/10.1021/nn100315s>.
- [20] T. Lai, W. Cai, H. Du, J. Ye, Fe₃O₄ Microspheres and Graphene Oxide Encapsulated with Chitosan: A New Platform for Sensitive Determination of Hydroquinone and Catechol, *Electroanalysis.* 26 (2014) 216–222. <https://doi.org/10.1002/elan.201300444>.
- [21] S. Yang, M. Yang, Q. Liu, X. Wang, H. Fa, Y. Wang, C. Hou, An Ultrasensitive Electrochemical Sensor Based on Multiwalled Carbon Nanotube@Reduced Graphene Oxide Nanoribbon Composite for Simultaneous Determination of Hydroquinone,

- Catechol and Resorcinol, *J. Electrochem. Soc.* 166 (2019) B547–B553. <https://doi.org/10.1149/2.0011908jes>.
- [22] S. Eroglu, S.Z. Bas, M. Ozmen, S. Yildiz, A new electrochemical sensor based on Fe₃O₄ functionalized graphene oxide-gold nanoparticle composite film for simultaneous determination of catechol and hydroquinone, *Electrochimica Acta.* 186 (2015) 302–313. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2015.10.174>.
- [23] XIII. On the atomic weight of graphite, *Phil. Trans. R. Soc.* 149 (1859) 249–259. <https://doi.org/10.1098/rstl.1859.0013>.
- [24] L. Staudenmaier, Verfahren zur Darstellung der Graphitsäure, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* 31 (1898) 1481–1487. <https://doi.org/10.1002/cber.18980310237>.
- [25] U. Hofmann, E. König, Untersuchungen über Graphitoxyd, *Z. Anorg. Allg. Chem.* 234 (1937) 311–336. <https://doi.org/10.1002/zaac.19372340405>.
- [26] W.S. Hummers, R.E. Offeman, Preparation of Graphitic Oxide, *J. Am. Chem. Soc.* 80 (1958) 1339–1339. <https://doi.org/10.1021/ja01539a017>.
- [27] M. Gattrell, D.W. Kirk, A Fourier Transform Infrared Spectroscopy Study of the Passive Film Produced during Aqueous Acidic Phenol Electro-oxidation, *J. Electrochem. Soc.* 139 (1992) 2736–2744. <https://doi.org/10.1149/1.2068972>.
- [28] M. Gattrell, D.W. Kirk, A Study of the Oxidation of Phenol at Platinum and Preoxidized Platinum Surfaces, *J. Electrochem. Soc.* 140 (1993) 1534–1540. <https://doi.org/10.1149/1.2221598>.
- [29] L. Papouchado, G. Petrie, R.N. Adams, Anodic oxidation pathways of phenolic compounds, *Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry.* 38 (1972) 389–395. [https://doi.org/10.1016/S0022-0728\(72\)80349-8](https://doi.org/10.1016/S0022-0728(72)80349-8).
- [30] R.C. Koile, D.C. Johnson, Electrochemical removal of phenolic films from a platinum anode, *Anal. Chem.* 51 (1979) 741–744. <https://doi.org/10.1021/ac50042a037>.
- [31] S. Lupu, Voltammetric determination of phenol at platinum electrodes modified with polypyrrole doped with ferricyanide, *Revue Roumaine de Chimie.* 54(5) (2009) 351–357
- [32] J. Park, C. Eun, Electrochemical Behavior and Determination of Salicylic Acid at Carbon-fiber Electrodes, *Electrochimica Acta.* 194 (2016) 346–356. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2016.02.103>.
- [33] H. Qi, C. Zhang, Simultaneous Determination of Hydroquinone and Catechol at a Glassy Carbon Electrode Modified with Multiwall Carbon Nanotubes, *Electroanalysis.* 17 (2005) 832–838. <https://doi.org/10.1002/elan.200403150>.

- [34] E. Laviron, General expression of the linear potential sweep voltammogram in the case of diffusionless electrochemical systems, *Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry*. 101 (1979) 19–28. [https://doi.org/10.1016/S0022-0728\(79\)80075-3](https://doi.org/10.1016/S0022-0728(79)80075-3).
- [35] *Inorganic Electrochemistry: Theory, Practice and Application*, Royal Society of Chemistry, Cambridge, 2007. <https://doi.org/10.1039/9781847551146>.
- [36] T. Arfin, S.N. Rangari, Graphene oxide–ZnO nanocomposite modified electrode for the detection of phenol, *Anal. Methods*. 10 (2018) 347–358. <https://doi.org/10.1039/C7AY02650A>.
- [37] S.-R. Kim, S. Cho, M.I. Kim, Highly Efficient Electrochemical Detection of Phenolic Compounds Utilizing Superior Catalytic Activity of Nanohybrids Consisting of Magnetic Nanoparticles and Gold Nanoclusters, *J Nanosci Nanotechnol*. 18 (2018) 1246–1250. <https://doi.org/10.1166/jnn.2018.14878>.
- [38] J. Wang, Y. Wang, Z. Yao, C. Liu, Y. Xu, Z. Jiang, Preparation of Fe₃O₄/MWCNT nanohybrid and its application as phenol sensor, *Mater. Res. Express*. 5 (2018) 075003. <https://doi.org/10.1088/2053-1591/aace38>.
- [39] C. Peng, Z. Li, X. Zhang, S. Zhou, W. Zhang, X. Liu, P. Zhao, Simultaneous Determination of Hydroquinone, Catechol and Resorcinol with High Selectivity Based on Hollow Nitrogen-Doped Mesoporous Carbon Spheres Decorated Graphene, *J. Electrochem. Soc.* 165 (2018) B212–B219. <https://doi.org/10.1149/2.0801805jes>.
- [40] N. Butwong, S. Srijaranai, J.D. Glennon, J.H.T. Luong, Cysteamine Capped Silver Nanoparticles and Single-walled Carbon Nanotubes Composite Coated on Glassy Carbon Electrode for Simultaneous Analysis of Hydroquinone and Catechol, *Electroanalysis*. 30 (2018) 962–968. <https://doi.org/10.1002/elan.201700704>.
- [41] J. Li, J. Xia, F. Zhang, Z. Wang, Q. Liu, An electrochemical sensor based on copper-based metal-organic frameworks-graphene composites for determination of dihydroxybenzene isomers in water, *Talanta*. 181 (2018) 80–86. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.01.002>.
- [42] P.S. Ganesh, B.E. Kumara Swamy, O.E. Fayemi, E.-S.M. Sherif, E.E. Ebenso, Poly(crystal violet) modified pencil graphite electrode sensor for the electroanalysis of catechol in the presence of hydroquinone, *Sensing and Bio-Sensing Research*. 20 (2018) 47–54. <https://doi.org/10.1016/j.sbsr.2018.08.001>.

CONCLUSION GENERALE

Le travail que nous avons entrepris dans le cadre de cette thèse s'est focalisé, d'une part sur l'optimisation et la modélisation des paramètres influençant sur la fiabilité et la performance analytique des (bio) capteurs électrochimiques et d'autre part, sur le développement d'un outil de détection fiable et sensible pour la détermination des polluants organiques de type phénoliques en milieux aqueux.

Dans ce contexte, nous avons présenté une analyse bibliographique très détaillée sur le progrès effectué au cours de la dernière décennie au domaine de l'utilisation des nanomatériaux innovants pour la préparation des plateformes sensibles à la détection des composés phénoliques. En effet, l'amélioration de la performance analytique de ces outils ne se limite pas sur l'influence d'un seul paramètre, en plus la spécification de chaque stratégie de construction aussi bien que chaque nanocomposite nécessite une étude bien approfondie pour fixer les conditions expérimentales favorables. Les capteurs électrochimiques développés pour détecter certains composés phénoliques souffrent encore du problème de l'encrassement qui est due à la polymérisation des radicaux au niveau de la surface de l'électrode ce qui cause l'inactivation des molécules de l'enzyme par l'o-quinone résultant.

Face à cette limitation, la description mathématique du système qui régit la réponse électrochimique des (bio) capteurs offre l'avantage de contrôler plusieurs paramètres influençant sur la performance analytique afin de prévoir le comportement des capteurs. A titre d'exemple, la détermination des paramètres cinétiques de la réaction catalytique dévoile l'étape limitante qui contrôle la vitesse globale du mécanisme. De même pour les paramètres physico-chimiques et géométriques du biocapteur comme les coefficients de diffusion des espèces électrochimiques mises en jeu. Par conséquent, nous avons appliqué un modèle mathématique basé sur les équations de la cinétique de Michaelis-Menten pour modéliser les réactions catalytiques. Le modèle utilise la deuxième loi de Fick pour décrire le phénomène de diffusion des substances de la solution électrolytique vers la surface de l'électrode. La simulation de la réponse du biocapteur à peroxydase est appliquée dans le cas de la détection du peroxyde d'hydrogène qui est le médiateur le plus favoris des oxydo-réducteurs utilisés dans les réactions électrochimiques.

Un autre objectif de ce travail est réalisé consiste à construire un capteur performant pour l'analyse des composés phénoliques tels que le phénol et le catéchol. Le nanocomposite utilisée est à base de nanoparticules d'or, nanotubes de carbone à paroi multiple, d'oxyde de

graphène et de chitosane immobilisée sur la surface d'une électrode en carbone vitreux. La méthode de synthèse d'oxyde de graphène basée sur la modification de la méthode de Hummers se montre efficace, simple à mettre en œuvre notamment, par l'utilisation du dichromate de potassium ($K_2Cr_2O_7$) comme oxydant fort assisté par l'exfoliation à ultrason. Le comportement électrochimique des différentes électrodes préparées (MWCNTs-Cs, MWCNTs-AuNPs-Cs et MWCNTs-AuNPs-Go-Cs) est évalué par les techniques de voltampérométrie cyclique et à ondes carrée.

Il s'avère, d'après ces analyses, que le nanocomposite MWCNTs-AuNPs-Go-Cs élaboré possède d'excellentes propriétés électroanalytiques. Les conditions expérimentales sont optimisées pour le bon fonctionnement du capteur ce qui permet d'avoir une réponse linéaire (de $10\ \mu\text{M}$ à $60\ \mu\text{M}$ et de $100\ \mu\text{M}$ à $600\ \mu\text{M}$) pour des faibles concentrations de catéchol et de phénol ($1\ \mu\text{M}$ et $7,3\ \mu\text{M}$), respectivement. Les résultats obtenus par voltampérométrie cyclique indiquent clairement que le processus de détection de catéchol et de phénol est un transfert de charge contrôlé par la diffusion avec un transfert électronique de deux électrons pour le catéchol et un électron pour le phénol. Les caractéristiques analytiques du capteur fabriqué à base de (GCE/MWCNTs-AuNPs-Go-Cs) ont ensuite été déterminées par voltampérométrie linéaire pour le catéchol ($0,162\ \mu\text{A}/\mu\text{M}\cdot\text{cm}^2$) et par chronoampérométrie pour le phénol ($0,61\ \mu\text{A}/\mu\text{M}\cdot\text{cm}^2$).

Ce travail se considère comme une approche expérimentale bien approfondie pour l'objectif d'améliorer les caractéristiques analytiques des capteurs électrochimiques pour la détection des composés phénoliques. Plusieurs autres protocoles expérimentaux seront réalisés pour réduire encore les limitations dues aux conditions expérimentales compliqués. La possibilité de développer des méthodes écologiques de préparation des capteurs en une seule étape, sans recours aux agents chimiques agressifs pour la fonctionnalisation des nanomatériaux s'imposent maintenant comme des nouveaux défis et des perspectives futures.

PUBLICATIONS INTERNATIONALES

2018	A Bensana, F Achi, A Bouguettoucha, D Chebli, Amperometric Determination of Hydrogen Peroxide and its Mathematical Simulation for Horseradish Peroxidase Immobilized on a Sonogel Carbon Electrode . Analytical Letters, 1215-1235 https://doi.org/10.1080/00032719.2018.1528614
2020	A Bensana, F Achi, Analytical performance of functional nanostructured biointerfaces for sensing phenolic compounds . Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 111344 https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2020.111344
2020	F Achi, A Bensana, A Bouguettoucha, D Chebli, Nanobiosensors for Detection of Phenolic Compounds . Nanosensor Technologies for Environmental Monitoring, 275-307 https://doi.org/10.1007/978-3-030-45116-5_10

SÉMINAIRES INTERNATIONALES

Année /date	Auteurs/ Intitulé du Séminaire /lieu :
Sétif 2-3 Décembre 2017	A. Bensana, F. Achi, A. Bouguettoucha, D. Chebli. " Optimization des conditions expérimentales d'un biocapteur pour la détection des polluants organiques " International workshop on chemical engineering (IWCE 2017), 2-3 Décembre 2017, Sétif.
Boumerdes 19-21 Mars 2018	A. Bensana, F. Achi, A. Bouguettoucha, Derradji Chebli " étude de l'influence des conditions expérimentales sur la réponse des biocapteurs pour la détection des polluants organiques dans le milieu aquatique ". International symposium on materials chemistry (ISyMC 2018). Mars 2018, Boumerdes.

SÉMINAIRES NATIONALES

Année /date	Auteurs/Intitulé du Séminaire/ lieu :
constantine 23-24 Avril 2018	A. Bensana, F. Achi, A. Bouguettoucha, D. Chebli. " Analyse cinétique et étude physico-chimique de la réponse d'un biocapteur ampérométrique pour la détection des polluants organiques " 5 ^{ième} journée du jeune chercheur. 23-24 Avril 2018, Constantine.
Ouargla 21 Octobre 2019	A. Bensana, S. Menaa, F. Achi, A. Bouguettoucha, D. Chebli. " Elaboration d'un capteur ampérométrique pour la détection des composés phénoliques dans les milieux aquatiques " première journée des jeunes chercheurs en génie des procédés (JCGP 2019), 21 Octobre 2019, Ouargla.

Résumé : Les capteurs électrochimiques sont constitués d'un transducteur qui assure le transfert de charge et d'une couche sensible où la réaction catalytique se déroule. Ces outils sont fabriqués en utilisant une variété des nanomatériaux et de polymères conducteurs et différentes méthodes de synthèse des nanocomposites sont appliquées pour développer un outil analytique robuste et sensible à la détection de l'analyte dans différents sites de mesure. Le choix des nanomatériaux et de la stratégie de la synthèse détermine la performance analytique de ces capteurs électrochimiques. La préparation d'une couche de nanomatériaux poreuse et très conductrice assure un transfert de charge très rapide ce qui améliore la sensibilité du capteur. Dans ce travail, les paramètres expérimentaux influençant sur la performance analytique des (bio) capteurs pour la détection des composés phénoliques sont étudiés. La simulation numérique est appliquée pour prévoir le comportement analytique du biocapteur à peroxidase pour la détection du peroxyde d'hydrogène comme un médiateur dans les réactions électrochimiques. La description mathématique du mécanisme qui régit le biocapteur permet la détermination des paramètres physico-chimiques et géométriques du biocapteur. Une approche expérimentale est proposée consiste à synthétiser l'oxyde de graphène par la modification de la méthode de Hummers en utilisant le dichromate de potassium ($K_2Cr_2O_7$) comme oxydant fort assisté par l'exfoliation à ultrason. Le matériau est ensuite utilisé pour la préparation du nanocomposite à base de nanoparticules d'or, nanotubes de carbone à paroi multiple, d'oxyde de graphène et de chitosane immobilisée sur la surface d'une électrode en carbone vitreux (MWCNTs-AuNPs-Go-Cs/GCE). L'analyse par les techniques électrochimiques montre que le capteur préparé est sensible pour la détection du catéchol ($0,162 \mu A/\mu M.cm^2$) et du phénol ($0,61 \mu A/\mu M.cm^2$).

Mots clefs : Capteurs électrochimiques, composés phénoliques, nanocomposite, modélisation, oxyde de graphène, polluants organiques, simulation numérique.

المخلص: تتكون المستشعرات الكهروكيميائية من محوّل يضمن نقل الشحنة الكهربائية وطبقة حساسة حيث يحدث التفاعل الكهروكيميائي. يتم تصنيع هذه الأدوات باستخدام مجموعة متنوعة من المواد النانوية والبوليمرات ذات ناقلية كبيرة ويتم تطبيق طرق تحضير المركبات النانوية المختلفة لتطوير أداة تحليلية جديّة حساسة للكشف عن المركبات الكيميائية في مختلف المواقع. يحدّد اختيار المواد النانوية واستراتيجية تحضير المركبات الأداء التحليلي لهذه المستشعرات الكهروكيميائية. كما أنّ طريقة تحضير طبقة حساسة ذات مسامات تضمن نقل سريع للشحنات الناتجة عن التفاعل مما يحسن من حساسية المستشعرات خاصة إذا كانت من مواد نانوية عالية الناقلية. تم في هذا العمل دراسة العوامل التجريبية المؤثرة على الأداء التحليلي لأجهزة الاستشعار للكشف عن المركبات الفينولية كملوثات عضوية. تم محاكاة إستجابة جهاز الاستشعار الحيوي للكشف عن بيروكسيد الهيدروجين كوسيط في التفاعلات الكهروكيميائية. تسمح النمذجة بتحديد العوامل الفيزيائية والكيميائية والهندسية لجهاز الاستشعار البيولوجي. كما تم اقتراح طريقة بسيطة لتحضير مركب أكسيد الجرافين عن طريق تعديل طريقة هامرز باستخدام ثنائي كرومات البوتاسيوم ($K_2Cr_2O_7$) كمؤكسد قوي بمساعدة التقشير بالموجات فوق الصوتية ثم يتم استخدام المادة لتحضير المركب النانوي باستعمال الجسيمات النانوية الذهبية، والأنابيب النانوية الكربونية متعددة الجدران، وأكسيد الجرافين والكيبتوزان المثبتين على سطح مسبار من مادة الكربون (MWCNTs-AuNPs-Go-Cs/GCE). أظهرت تقنيات التحليل الكهروكيميائي أن جهاز الاستشعار الذي تم تحضيره حساس للكشف عن الكاتيكول (0.162 ميكرو أمبير / ميكرومتر سم²) والفينول (0.61 ميكرو أمبير / ميكرومتر سم²).

الكلمات المفتاحية: المستشعرات الكهروكيميائية، المركبات الفينولية، المواد النانوية، النمذجة، أكسيد الجرافين، الملوثات العضوية، المحاكاة العددية.

Abstract: Electrochemical sensors are composed with electrochemical transducer to provide fast charge transfer and a sensitive layer where the catalytic reaction takes place. These tools are prepared using a variety of nanomaterials and conductive polymers and different synthesis methods are applied to develop a robust and sensitive analytical tool for the detection of the analyte at different working sites. The type of nanomaterials and the synthesis method of nanocomposites affect the analytical performance of the electrochemical sensors. The preparation of a porous sensing interface with conductive nanomaterials provides fast charge transfer which improves the sensitivity of the sensor. In this work, the experimental parameters influencing the analytical performance of (bio) sensors for the detection of phenolic compounds are studied. Numerical simulation is applied to predict the analytical behavior of the peroxidase biosensor for the detection of hydrogen peroxide as mediator in electrochemical reactions. The mathematical description of the mechanism that controls the biosensor response allows the determination of the physico-chemical and geometric parameters of the biosensor. An experimental approach is proposed to synthesize graphene oxide by modification of the Hummers method using potassium dichromate ($K_2Cr_2O_7$) as a strong oxidant assisted by ultrasonic exfoliation. The material is then used for the preparation of the nanocomposite based on gold nanoparticles, multi-walled carbon nanotubes, graphene oxide and chitosan immobilized on the surface of a glassy carbon electrode (MWCNTs-AuNPs-Go-Cs/GCE). Electrochemical techniques show that the prepared sensor is sensitive for the detection of catechol ($0.162 \mu A/\mu M.cm^2$) and phenol ($0.61 \mu A/\mu M.cm^2$).

Keywords: Electrochemical sensors, phenolic compounds, nanocomposite, modeling, graphene oxide, organic pollutants, numerical simulation.



Amperometric Determination of Hydrogen Peroxide and its Mathematical Simulation for Horseradish Peroxidase Immobilized on a Sonogel Carbon Electrode

Amira Bensana, Fethi Achi, Abdallah Bouguettoucha & Derradji Chebli

To cite this article: Amira Bensana, Fethi Achi, Abdallah Bouguettoucha & Derradji Chebli (2018): Amperometric Determination of Hydrogen Peroxide and its Mathematical Simulation for Horseradish Peroxidase Immobilized on a Sonogel Carbon Electrode, Analytical Letters, DOI: [10.1080/00032719.2018.1528614](https://doi.org/10.1080/00032719.2018.1528614)

To link to this article: <https://doi.org/10.1080/00032719.2018.1528614>



Published online: 20 Dec 2018.



Submit your article to this journal [↗](#)



View Crossmark data [↗](#)



Amperometric Determination of Hydrogen Peroxide and its Mathematical Simulation for Horseradish Peroxidase Immobilized on a Sonogel Carbon Electrode

Amira Bensana^a, Fethi Achi^b, Abdallah Bouguettoucha^a, and Derradji Chebli^a

^aDépartement de Génie des Procédés, Faculté de Technologie, Ferhat Abbas – SETIF-1-University, Setif, Algeria; ^bDépartement de Génie des Procédés, Faculté de Sciences Appliquées, Kasdi Merbah University, Ouargla, Algeria

ABSTRACT

A mathematical model of a horseradish peroxidase biosensor was applied to simulate the amperometric response for the detection of hydrogen peroxide. The development of the mathematical model was based on the Michaelis–Menten equation and Fick's Second Law. The theoretical study is based on the determination of physico-chemical and geometric parameters of a horseradish peroxidase biosensor as well as the kinetic parameters of reaction mechanism such as diffusion coefficients of hydrogen peroxide, the thickness of enzymatic layer, and the Michaelis–Menten kinetic constant. The theoretical analysis provides an accurate estimate of parameters affecting the biosensor performance such as the diffusion coefficient of hydrogen peroxide in the biomembrane that was estimated to be $56 \times 10^{-12} \text{ m}^2/\text{s}$. The thickness of diffusion layer was estimated to be 80–100 μm and the biomembrane 7.5 μm . The experimental and numerical values of kinetic parameters were 0.92 and 0.98 μM for the Michaelis–Menten constants and 0.010 and 0.012 $\mu\text{M}/\text{s}$ for the catalytic activity rates. The model was validated for hydrogen peroxide detection and exhibited a good agreement with the experimental measurements.

ARTICLE HISTORY

Received 11 August 2018
Accepted 23 September 2018

KEYWORDS

Amperometry; diffusion-reaction system; horseradish peroxidase; hydrogen peroxide; kinetic parameters; modeling; numerical simulation; sonogel carbon electrode

Introduction

Biosensors are analytical devices that convert biochemical recognition reactions into measurable signals (Britz et al. 2009). Electrochemical biosensors measure the changes in the output current on the working electrode due to the oxidation or direct reduction of the products of a biochemical reaction. Amperometric measurement is the most widely used in electrochemical type of detection. This measurement is based on the variation of the current intensity with the concentration of the substrate at the fixed potential (Chaubey and Malhotra 2002).

Many efforts have been made for the mathematical description of the amperometric response of the modified enzymatic electrode (Mell and Maloy 1975; Gros and Bergel 1995; Martens, Hindle, and Hall 1995; Patre and Sangam 2007; Bensana et al. 2018).

CONTACT Fethi Achi  achifethi@hotmail.fr  Département de Génie des procédés, Faculté de Sciences Appliquées, Kasdi Merbah University, Ouargla 30000, Algeria.

Color versions of one or more of the figures in the article can be found online at www.tandfonline.com/lanl.

Important types include the multilayer electro-enzymatic biosensors (Bergel and Comtat 1984; van Stroey-Beizen et al. 1993; Bacha et al. 1995; Bacha et al. 1996; Ašeris et al. 2016) and biosensors with sandwich type membrane (Romero et al. 2012) and those with an additional perforated membrane (Schulmeister and Pfeiffer 1993). Several papers are devoted to the theoretical study of the transient response of an amperometric biosensor using a multiple enzyme system (Kulys 1981; Schulmeister and Scheller 1985; Kulys and Baronas 1986; Sorochinskii and Kurganov 1996) and of biosensors using a two-substrate enzyme electrode (Leypoldt and Gough 1984; Martens and Hall 1994).

The characterization of the enzymatic reaction mechanism is generally carried out by the determination of kinetic parameters of the biochemical reaction which are very important in the design and optimization of electro-enzymatic biosensors in terms of sensitivity and stability. The biokinetic behavior of the amperometric response of biosensor has been reported in various studies (Bergel and Comtat 1984; Cooper et al. 1989; Bartlett and Pratt 1995; Sheppard et al. 1996; Somasundrum et al. 1997; Yokoyama and Kayanuma 1998; Rinken 2003; Puida et al. 2011). Moreover, the mass transport of species has a very important effect on the amperometric biosensor response because the determination of the physicochemical parameters indicates the limiting step of the reaction mechanism of biosensor (van Stroey-Beizen et al. 1993). It has been shown that the diffusion process has a considerable influence on the biological mechanism (Stewart 2003). Several reports have described the diffusion effect on the amperometric response and on the sensitivity of the biosensor (Bartlett and Pratt 1995; Cambiaso et al. 1996; Kulys, Sorochinskii, & Vidziunaite 2006; Lyons 2006; Loghambal and Rajendran 2010; Rahamathunissa et al. 2011).

The appropriate kinetic and physico-chemical parameters which determine the performance of biosensor can be accurately estimated using mathematical model by the variation of theoretical measurements. The latter is strongly dependent on the choice of experimental parameters (Alvarez-Lcaza and Bilitewski 1993). Some published papers that are not cited here were focused only on the theoretical analysis and simulation study but are experimentally unconfirmed. In addition, their theoretical analysis was based on the same parameters, which makes these models very limited.

The first original mathematical models devoted to simulate the enzyme electrodes behavior with real system simulations or theory were discussed and analyzed by Bartlett and Pratt (1993). A theoretical study of the immobilized enzyme kinetics using fixed enzymes in gels was presented by Blaedel et al. (1972) that was verified by an experimental essay of the system of partial equations for their developed biosensor. Gros and Bergel (1995) developed an improved model of a polypyrrole glucose oxidase modified electrode. Lyons et al. (1994) validated a mathematical model for an ascorbate sample at a polypyrrole electrode.

Galceran et al. (2001) applied a model for a disc microelectrode for homogeneous mediated enzyme catalyzed reactions to understand the real mechanism. Comtat et al. (1993) constructed a biosensor for the detection of L-lactate, D-lactate and L-glutamate to validate their mathematical model developed especially to simulate in the cases of monoenzyme electrodes with the enzyme in solution confined by a semi-permeable membrane. Sheppard et al. (1993) developed a model to predict the response of conductimetric urea biosensor. They validated their approach experimentally using well-defined

concentration range of urea from 10 to 5 mM. An experimental study of the diffusion limitation process of an immobilized orthophosphoric-monoester phosphohydrolase using different concentrations of *p*-nitrophenyl phosphate was carried out by Muller and Zwing (1982).

Several efforts have been made for sensing hydrogen peroxide by utilizing horseradish peroxidase (HRP) as the biological element mixed with graphene using chitosan (Zhou et al. 2010), immobilized in alginate composite film (Lei et al. 2005), or mixed with multiwalled carbon nanotubes (Zong et al. 2007; Chang et al. 2008). Dioxide nanomaterials have been commonly used for sensing hydrogen peroxide such as copper nanoparticles (Liang et al. 2018), iron oxide pigment black magnetic nanoparticles (Fe_3O_4) (Qu et al. 2014), or using a titanium dioxide nanocomposite mixed with a polymer matrix (Hamtak et al. 2018). The modified electrode in this work consisted of a sonogel carbon electrode which had deposited on its surface a membrane containing the horseradish peroxidase enzyme mixed with gold sononanoparticles and poly (4-vinylpyridine) or bovine serum albumin and cross-linked with glutaraldehyde. A diffusion layer separated the biomembrane from the bulk solution.

The reaction mechanism for hydrogen peroxide detection by the horseradish peroxidase biosensor is based on the direct electron transfer between the active site of enzyme and the electrode surface without any mediator (Do et al. 2014). Therefore, the mass balance equation of the mediator is not considered in this model, but for the case of the detection of phenolic compounds where the presence of a mediator is necessary to enhance the charge transfer, the reaction kinetics is followed the ping-pong mechanism (Bacha et al. 1995; Bacha et al. 1996; Romero et al. 2012; Achi et al. 2015; Ašeris et al. 2016), where the mediator affect the reaction rate of the whole kinetic system.

In this article, a mathematical model has been developed to optimize the configuration of a horseradish peroxidase biosensor for the detection of hydrogen peroxide and to describe the effect of diffusion parameters on the biosensor response. The model is based on diffusion/reaction equations containing a nonlinear term related to Michaelis–Menten kinetics. The mass balance equations and the appropriate boundary conditions are described as a function of enzyme position toward the electrode surface.

Numerical simulation has been applied to study the effect of mass transport and diffusion through the enzymatic layer and also to analyze the enzymatic kinetics which allows the determination of the rate limiting steps at which the reaction rate of the whole mechanism is controlled. The simulation of the biosensor response was performed using the finite difference technique. The mathematical model developed in this work was validated experimentally to simulate the diffusion reaction system and to predict the geometric and kinetic parameters of the non-mediated horseradish peroxidase biosensor.

Therefore, the present work is theoretical analysis compared with our previous work (Attar et al. 2016) which describes a new experimental method to construct a novel horseradish peroxidase biosensor. To the best of our knowledge, there is no published paper devoted to the design and kinetic analysis for the horseradish peroxidase biosensor using a mathematical model. This article is intended to be the first that formally compares experimental and theoretical parameters affecting the horseradish peroxidase biosensor response for the detection of hydrogen peroxide.

Table 1. Normalized parameters and variables used in the model.

Dimensional parameters	Dimensionless parameters
t, s	$T = t \cdot D_{sm} / l_m^2$
$l_{\text{membrane}}, \mu\text{m}$	$\delta_m = l_m / l_m = 1$
$l_{\text{diffusion}}, \mu\text{m}$	$\delta_d = l_d / l_m$
$x, \mu\text{m}$	$X = x / l_m$
$s_0, \mu\text{M}$	$S_0 = s_0 / k_m$
$p, \mu\text{M}$	$P = p / k_m$
$s, \mu\text{M}$	$S = s / k_m$
$k_m, \mu\text{M}$	$K_M = k_m / k_m = 1$
k_{cat}, s^{-1}	$K_{\text{cat}} = k_{\text{cat}} \cdot l_m^2 / D_{sm}$
$D_{sm}, \text{cm}^2 / s$	$\bar{D}_{sm} = 1$
$D_{sd}, \text{cm}^2 / s$	\bar{D}_{sd}
$D_{pm}, \text{cm}^2 / s$	\bar{D}_{pm}
$D_{pd}, \text{cm}^2 / s$	\bar{D}_{pd}
$v_{\text{max}}, \mu\text{M} / s$	$V_{\text{max}} = v_{\text{max}} \cdot l_m^2 / D_{sm} \cdot k_m$
$i, A / \text{cm}^2$	$I = i \cdot l_m / (n \cdot e \cdot F \cdot D_{sm} \cdot k_m)$

Note: (t) is time, (l_{membrane}) is the biomembrane thickness, ($l_{\text{diffusion}}$) is the diffusion layer thickness, (x) is the distance to the electrode surface, (S_0) is the initial concentration of substrate, (P) is the concentration of product, (S) is the concentration of substrate, (k_m) is the Michaelis–Menten constant, (k_{cat}) is the catalytic rate, (D_{sm}) is the substrate diffusivity in the membrane, (D_{sd}) is the substrate diffusivity in bulk solution, (D_{pm}) is the product diffusivity in the membrane, (D_{pd}) is the product diffusivity in the bulk solution, (v_{max}) is the catalytic activity, and (i) is the current density.

Theoretical model

Assumptions

For the development of the mathematical model it is assumed that the geometry of the electrode is symmetrical. The bio-membrane layer of biosensor is of uniform thickness with homogeneous distribution of immobilized enzyme. It is further assumed that the transport process of all species is defined to be one-dimensional in space and that the enzyme kinetics follow the Michaelis–Menten mechanism.

Normalized parameters

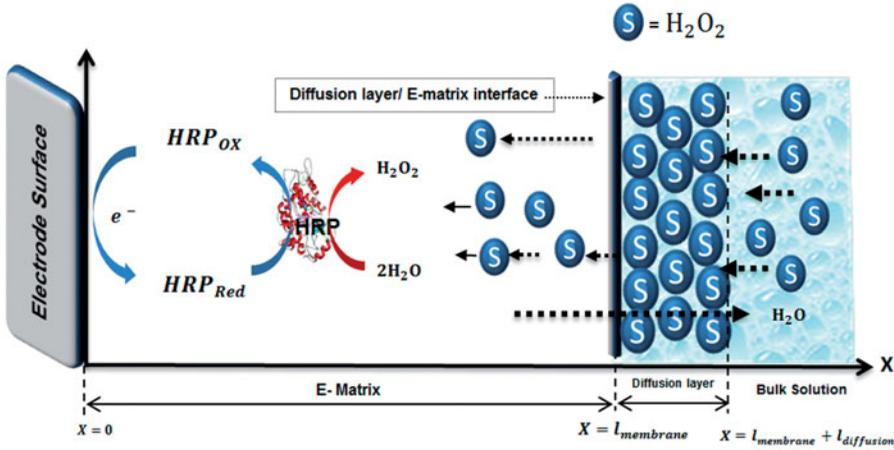
All parameters of the model were normalized to be dimensionless using three reference parameters: the Michaelis–Menten constant (K_m), the membrane thickness (l_m), and the substrate diffusion coefficient (D_{sm}) (Bacha et al. 1996; Achi et al. 2015). Table 1 summarizes the dimensionless parameters used in this model.

Physical description of the diffusion/reaction mechanism

The physical system considered in this model consists of an electrode on which a membrane containing the immobilized enzyme has been deposited. A diffusion layer is assumed to separate the biomembrane from the solution (Scheme 1).

Governing equations

Here the equations of the model describing the reaction mechanism and the diffusion system in the two zones of the biosensor are presented. In the enzymatic membrane, the diffusion/reaction mechanism of the biosensor which is considered to be one-dimensional in space can be described according to Fick's second Law by:



Scheme 1. Biosensor configuration using the immobilized horseradish peroxidase enzyme, where S is H_2O_2 , HRP_{OX} and HRP_{RED} are the oxidized and reduced form of horseradish peroxidase enzyme, ($l_{diffusion}$) is the diffusion layer thickness, and ($l_{membrane}$) is the enzyme layer thickness.

$$\begin{cases} \partial S / \partial T = \partial^2 S / \partial X^2 - V(S) \\ \partial P / \partial T = \bar{D}_{pm} (\partial^2 P / \partial X^2) + V(S) \end{cases} \quad (1)$$

In the case where the horseradish peroxidase biosensor needs soluble electron mediator, we add the equation of the mediator to describe electrochemical indirect electron transfer:

$$\partial M / \partial T = \partial^2 M / \partial X^2 - V(S, M)$$

where $V(S)$ is the kinetic term of enzyme reaction in the case of direct electron transfer:

$$V(S) = V_{max} \cdot S / (1 + S) \quad (2)$$

where $V(S, M)$ is the kinetic term of enzyme reaction for the horseradish peroxidase-mediated biosensor. When the reaction follows a ping-pong mechanism, the rate equation is:

$$V(S, M) = V_{max} / (1 + (K_s / S) + (K_M / M)) \quad (3)$$

where $V_{max} = K_{Cat} \cdot E_T$. The reaction rate V is expressed as a function of the maximum dimensionless enzymatic velocity (V_{max}) which is the square of the Thiele Modulus (Φ) that compares the maximum reaction rate to the maximum diffusion rate through the biomembrane:

$$V_{max} = \Phi^2 = v_{max} l_m^2 / D_{sm} s_0 \quad (4)$$

Inside the diffusion layer, only the mass transfer by diffusion of the substrate and product takes place. The diffusion system for each species can be described by the following equations:

$$\begin{cases} \partial S/\partial T = \bar{D}_{sd}(\partial^2 S/\partial X^2) \\ \partial M/\partial T = \bar{D}_{Md}(\partial^2 M/\partial X^2) \\ \partial P/\partial T = \bar{D}_{pd}(\partial^2 P/\partial X^2) \end{cases} \quad (5)$$

The equations for boundary conditions include that at the electrode surface, the flux density of the substrate is equal to zero:

$$\begin{cases} \partial S/\partial X|_{X=0} = 0 \\ \partial M/\partial X|_{X=0} = 0 \end{cases} \quad (6)$$

The concentration of the electroactive product is reduced to zero due to the rapid charge transfer:

$$P(X = 0, T) = 0 \quad (7)$$

The current density measured as an amperometric response of biosensor is directly proportional to the flux of the product concentration at the electrode surface ($X = 0$) and can be obtained explicitly according to Faraday's and Fick's laws:

$$\Psi(T) = \bar{D}_{pm}\partial P/\partial X_{X=0} \quad (8)$$

At the membrane/diffusion layer interface, the conservation of mass balance equations are:

$$\begin{cases} \partial S/\partial X|_{X=1^-} = \bar{D}_{sd}\partial S/\partial X|_{X=1^+} \\ \partial M/\partial X|_{X=1^-} = \bar{D}_{Md}\partial M/\partial X|_{X=1^+} \\ \bar{D}_{pm}\partial P/\partial X|_{X=1^-} = \bar{D}_{pd}\partial P/\partial X|_{X=1^+} \end{cases} \quad (9)$$

At diffusion layer/bulk solution interface, the concentrations are equals to their initial values:

$$\begin{cases} S(X = 1 + \delta, T) = S_0 \\ M(X = 1 + \delta, T) = M_0 \\ P(X = 1 + \delta, T) = 0 \end{cases} \quad (10)$$

Initial conditions

$$\begin{cases} S(X, T = 0) = 0 \\ M(X, T = 0) = 0 \\ P(X, T = 0) = 0 \end{cases} \quad \text{for } 0 \leq X < 1 + \delta \quad (11)$$

$$\begin{cases} S(X, T = 0) = S_0 \\ M(X, T = 0) = M_0 \\ P(X, T = 0) = 0 \end{cases} \quad \text{for } X = 1 + \delta \quad (12)$$

Numerical methods

The numerical simulation of biosensor response was carried out using the implicit finite difference technique (Hoffman and Frankel 1992). This method is applied to solve substrate, mediator and product equations:

$$\begin{cases} \partial S/\partial T = \partial^2 S/\partial X^2 - V(S) \\ \partial M/\partial T = \partial^2 M/\partial X^2 - V(S, M) \\ \partial P/\partial T = \partial^2 P/\partial X^2 + V(S, M) \end{cases} \quad (13)$$

where $V(S)$ and $V(S, M)$ are discretized as follows:

$$\begin{cases} V(S_i^{j+1}) = V_{\max} \cdot S_i^{j+1} / (1 + S_i^{j+1}) \\ V(S_i^{j+1}, M_i^{j+1}) = V_{\max} / \left(1 + \left(K_M / M_i^{j+1} \right) + \left(K_S / S_i^{j+1} \right) \right) \end{cases} \quad (14)$$

Equation (12) is the mass balance equation of substrate, mediator and product in the bio-membrane that contain three terms (accumulation, diffusion and kinetic terms) which were discretized term by term and calculated at time $T = (j + 1) \cdot \Delta T$. The accumulation and the diffusion terms are discretized as follows:

$$\begin{cases} \partial S/\partial T = (S_i^{j+1} - S_i^j) / \Delta T + 0(\Delta X) \\ \partial^2 S/\partial X^2 = (S_{i-1}^{j+1} - 2S_i^{j+1} + S_{i+1}^{j+1}) / \Delta X^2 + 0(\Delta X^2) \end{cases} \quad (15)$$

The kinetic term is non-linear, which can be linearized using Taylor's series for the substrate (S_i^j):

$$\begin{cases} V_i^{j+1} = V_{\max} (S/1 + S)_i^{j+1} = V_{\max} f(S_i^{j+1}) \\ f_i^{j+1} = f_i^j + \partial f_i^j / \partial C_i \cdot (S_i^{j+1} - S_i^j) \\ f(S_i^{j+1}) = f(S_i^j) + \Delta S \cdot f'(S_i^j) \quad f(S_i^{j+1}) = f(S_i^j) + (\partial f(S_i^j) / \partial S_i^j) \cdot \Delta S \\ \text{With : } \partial f(S_i^j) / \partial S_i^j = 1 / (1 + S_i^j)^2 \quad \text{and } \Delta S = S_i^{j+1} - S_i^j \end{cases} \quad (16)$$

If f_0 is the value of (f) calculated at time $(j \cdot \Delta T)$, the kinetic term becomes:

$$f(S_i^{j+1}) = f_0 S_i^j + f_0^2 S_i^{j+1} - f_0^2 S_i^j = (f_0 - f_0^2) S_i^j + f_0^2 S_i^{j+1} \quad (17)$$

By rearranging Equations (14)–(16), Equation 12 is written in discretized form as

$$(S_i^{j+1} - S_i^j) / \Delta T = (S_{i-1}^{j+1} - 2S_i^{j+1} + S_{i+1}^{j+1}) / \Delta X^2 - f(S_i^{j+1}) = (1 + (f_0^2 - f_0) \cdot \Delta T) S_i^j \quad (18)$$

In the diffusion layer, the approximation of the diffusion equation is given by

$$(S_i^{j+1} - S_i^j) / \Delta T = \bar{D}_{sd} (S_{i-1}^{j+1} - 2S_i^{j+1} + S_{i+1}^{j+1}) / \Delta X^2 \quad (19)$$

The approximation of the substrate equation at the membrane/diffusion layer interface is described by

$$(S_{im}^{j+1} - S_{im-1}^{j+1}) / \Delta X = \bar{D}_{sd} (S_{im+1}^{j+1} - S_{im}^{j+1}) / \Delta X \quad (20)$$

Boundary conditions ($t > 0$): The equations of the boundary conditions are discretized as follows:

At the electrode surface ($i = 0$);

$$\begin{cases} \partial S / \partial X|_{X=0} = 0 \Rightarrow S_0^{j+1} - S_1^{j+1} = 0 \\ \partial M / \partial X|_{X=0} = 0 \Rightarrow M_0^{j+1} - M_1^{j+1} = 0 \\ P|_{X=0} = 0 \Rightarrow P_0^{j+1} = 0 \end{cases} \quad (21)$$

At the diffusion layer/bulk solution interface, the approximation gives

$$\begin{cases} S(1 + \delta_d, T) = 1 \Rightarrow S_{id}^{j+1} = S_0 \\ M(1 + \delta_d, T) = 1 \Rightarrow M_{id}^{j+1} = M_0 \\ P(1 + \delta_d, T) = 0 \Rightarrow P_{id}^{j+1} = 0 \end{cases} \quad (22)$$

The dimensionless current density of the biosensor $I(t)$ can be approximated as follows:

$$I(t) = \bar{D}_{pm} \left(P_1^{j+1} / \Delta X_1 \right) \quad (23)$$

We rearrange the approximate equations (19)–(21) to obtain a tri-diagonal system which can be resolved using a literature algorithm (Crank 1975):

$$\alpha_i C_{i-1}^{j+1} + \beta_i C_i^{j+1} + \gamma_i C_{i+1}^{j+1} = d_i^j (i = 1, id) \quad (24)$$

The obtained equation (23) using the implicit finite difference scheme allows the determination of the concentration of each species where S is the substrate, M is the mediator, and P is the product at time $(j + 1)$ in space:

$$A_C^{(id,j)} \times [C]^{j+1} = [C]^j \quad (25)$$

where (id) is the maximal number of discrete grids for space. The numerical simulation was performed using Fortran power station 4.0.

Materials and methods

Reagents and apparatus

Sodium acetate buffer solution was prepared from sodium acetate (Riedel-Haën, USA) and acetic acid (50 mM, pH 6.0). The sodium acetate buffer was used as supporting electrolyte for all the electrochemical measurements. Horseradish peroxidase (E.C. 1.11.1.7, 274 U/mg), poly(4-vinylpyridine) (molecular weight: 160.000), glutaraldehyde (25% (v/v) in water) and bovine serum albumin were purchased from Sigma. Hydrogen peroxide 30% (w/w) was purchased from Riedel-Haën. All chemicals were of analytical grade and used as received without further purification.

The synthesis of the sonogel carbon materials as well as the ultrasonic synthesis of gold sononanoparticles (AuNPs) was carried out by sonicating with a high-power ultrasonic generator, Sonicator 3000 (Misonix, Farmingdale, NY, USA). Graphite powder

natural was obtained from Alfa Aesar (Johnson Matthey GmbH, Germany). Glass capillary tubes, i.d. 1.15 mm (area of 0.0415 cm^2), were used as the bodies for the composite electrodes.

Preparation of the sonogel carbon electrode

The preparation of sonogel carbon electrode was discussed in detail in our previous paper (Attar et al. 2016). A mixture of 500 μL of methyltrimethoxysilane and 100 μL of 0.1 M HCl was prepared and sonicated for 10 s. 0.5 g of graphite powder were added to the mixture and a glass tube was filled with the obtained material. About 24 h later, the surface of the electrodes was polished with emery paper to remove extra composite material, thoroughly washed with distilled water, and allowed to dry at room temperature. Finally, a copper wire was inserted inside the glass tube to provide the electrical contact.

Synthesis of gold sononanoparticles

Gold sononanoparticles were synthesized using an aqueous solution of potassium tetrachloroaurate (KAuCl_4) sonicated for 1.5 min with a high-power ultrasound generator followed by addition of dihydrate sodium citrate aqueous solution. After 4 min of sonication, the dark red wine color of the solution was obtained, indicating the formation of gold sononanoparticles.

Enzyme immobilization on the sonogel carbon electrode surface

The biosensor developed in this study was obtained by the immobilization of a mixture of horseradish peroxidase enzyme, gold sononanoparticles, and poly(4-vinylpyridine) on the sonogel carbon electrode surface. A mixture of horseradish peroxidase with gold sononanoparticles, poly(4-vinylpyridine) and glutaraldehyde was prepared. The enzyme mixture contained 5 μL of poly(4-vinylpyridine) (0.5%), 17 μL of horseradish peroxidase solution (1 mg mL^{-1} of horseradish peroxidase dissolved in 5.4 μL of distilled water), 11.6 μL of gold sononanoparticles, 25 μL of gold sononanoparticles and 5 μL of glutaraldehyde (0.5% in water). Then 4.1 μL of this mixture was dispersed over the sonogel carbon electrode surface and was dried at room temperature for 1 h. In order to improve affinity of sulfide anions, poly(4-vinylpyridine) was combined with gold sononanoparticles to enhance the electron transfer reaction.

Amperometric measurement of hydrogen peroxide

Amperometric measurements were performed in an electrochemical cell containing 10 mL of 50 mM stirred sodium acetate buffer (pH 6) at room temperature and at a fixed applied potential of -0.15 V vs. Ag/AgCl (saturated KCl) using a PalmSens potentiostat interfaced to a computer. A conventional three-electrode system comprising a sonogel carbon electrode (1.15 mm diameter) as the working electrode, a Ag/AgCl (saturated KCl) as the reference electrode, and a stainless-steel rod as the auxiliary electrode

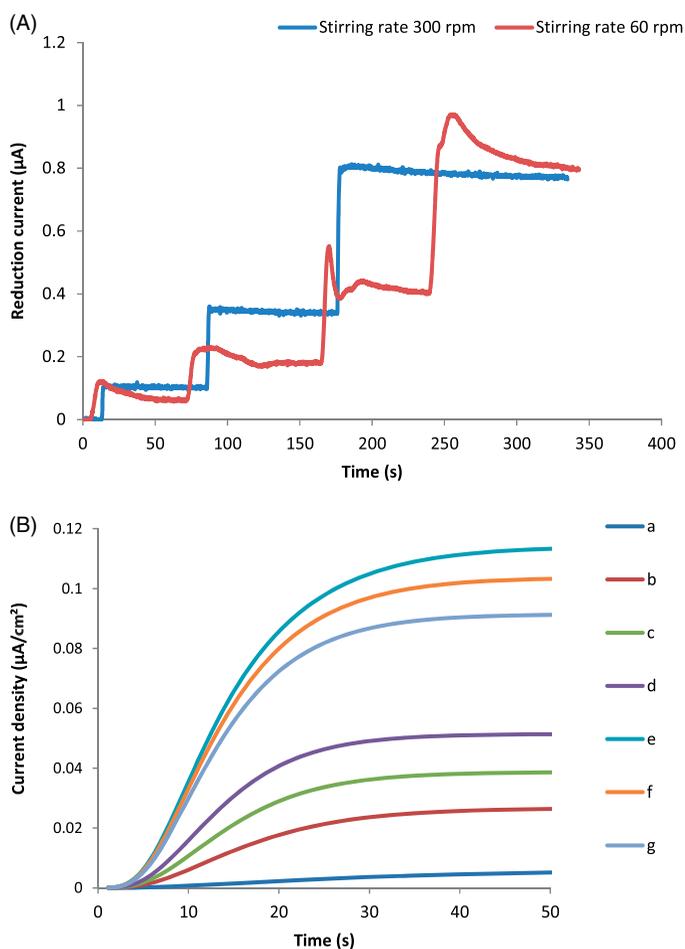


Figure 1. Dependence of the charge transfer rate constant on the amperometric response. (A) Response using stirring rates of 300 and 60 rpm in presence of 15 mM hydrogen peroxide: 274 U/mg horseradish peroxidase, working potential of -0.15 V vs. Ag/AgCl in saturated KCl, and pH 6. (B) Response of the biosensor for low values of the charge transfer rate constant with Thiele modulus values of (a) 7.51041, (b) 23.7500, (c) 33.5876, (d) 44.4322, (e) 82.2724, (f) 95, and (g) 106.213.

was used. The amperometric detection of hydrogen peroxide by the (horseradish peroxidase + gold sononanoparticles)/sonogel carbon electrode was investigated by sequentially increasing the concentration of hydrogen peroxide.

Numerical simulation

This section is devoted to the theoretical study of the effect of operating conditions on the amperometric biosensor response for the determination of hydrogen peroxide. For an accurate theoretical analysis, it is necessary to use the true values of the parameters of the mathematical model. These are the kinetic parameters of the enzymatic rate in the presence of substrate (Michaelis–Menten parameters), the physico-chemical

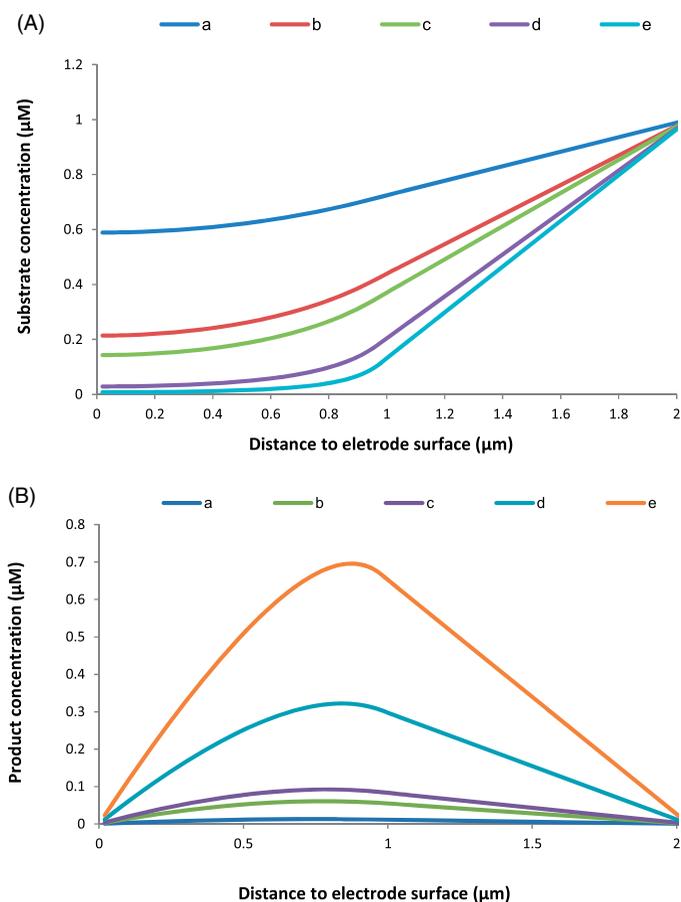


Figure 2. Influence of the low charge transfer rate on the profiles of (A) substrate and (B) product concentration in the enzyme membrane and in the diffusion layer for catalytic rate values of (a) 0.01, (b) 0.1, (c) 0.2, (d) 2, and (e) 10 $\mu\text{M/s}$. The values of parameters used in the simulation were a diffusion layer thickness of 10 μm , an enzyme membrane thickness of 9.5 μm , a diffusion coefficient of hydrogen peroxide in diffusion layer of $0.35 \times 10^{-11} \text{ cm}^2/\text{s}$, and 5 mM initial concentration of hydrogen peroxide.

properties of the different species in solution or in the enzyme matrix (diffusion coefficients), and geometries of the sensor (thickness of biofilm).

Influence of low charge transfer rate constant on the amperometric response

Figure 1 shows the influence of low charge transfer rate constant on the amperometric response of biosensor using different values of stirring rate (Figure 1A). The results show that more time is required to achieve the steady state current that is slightly affected by diffusion layer thickness. Figure 1B shows the variation of the transient biosensor response for different values of the Thiele modulus. The maximum rate of enzymatic reaction is later compared with the maximum rate of mass transfer by diffusion. The results show that the resistance becomes more important in the biomembrane as the value of Thiele modulus is increased. The overall rate is then controlled by diffusion characterized by high concentration gradients in the biomembrane.

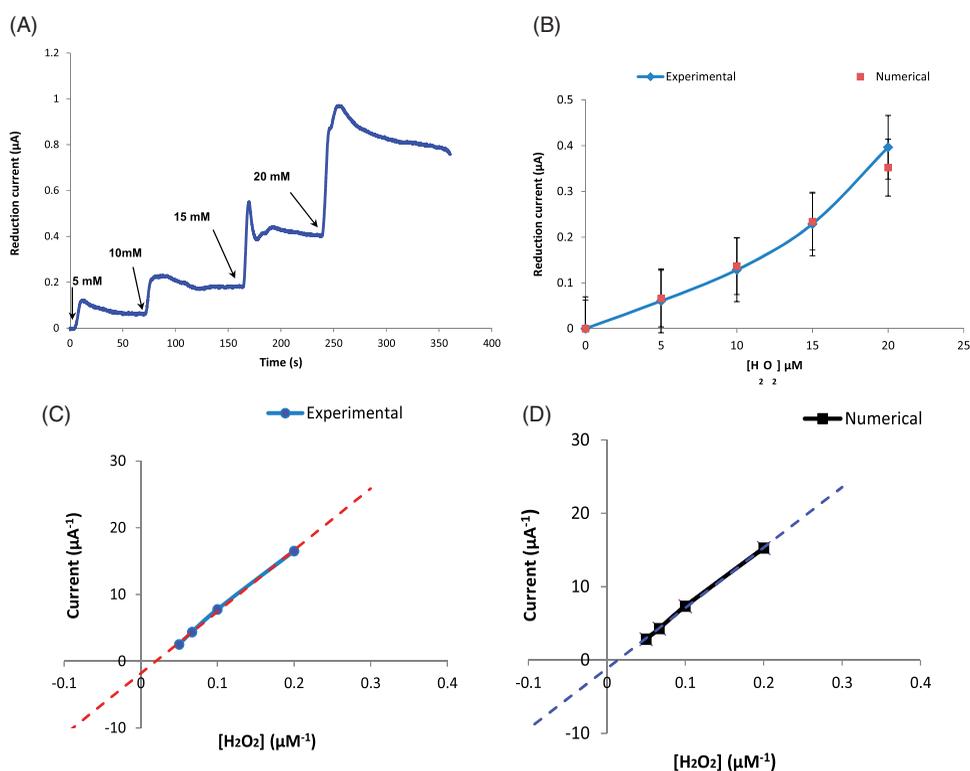


Figure 3. (A) Amperometric horseradish peroxidase biosensor response to 20 mM hydrogen peroxide. Conditions: 274 U/mg horseradish peroxidase, working potential -0.15 V vs. Ag/AgCl, and pH 6. (B) Experimental and theoretical calibration curves of the biosensor. (C) Experimental Lineweaver-Burk plot described by $y = 92.365x - 1.8172$; correlation coefficient of 0.998. (D) Numerical Lineweaver-Burk plot described by $y = 82.432x - 1.1648$ with a correlation coefficient of 0.9991.

Influence of low charge transfer rate constant on the concentration profiles

Figure 2A,B shows the concentration profiles of substrate and product in the membrane and in the liquid film at different times. For different enzymatic rates and for the low values of the Thiele modulus corresponding to a low charge transfer rate constant, the substrate is consumed throughout the membrane. For a high resistance to internal charge transfer (large Thiele's modulus), the electroenzymatic reaction zone is slightly narrowed as the thin layer of reaction zone the substrate is totally consumed at the membrane/diffusion layer interface. The substrate and product profiles become linear in the membrane and in the liquid film (diffusion layer). The enzymatic activity affects the evolution of concentration profiles. Thus, the greater this activity, the more rapid consumption of the substrate and therefore, the production rate of the electroactive species becomes higher. In this case, it is also necessary to correlate this variation of the concentration gradient, particularly in the membrane, with the increase of the diffusion resistance for the high reaction rates.

Validation of the model

Here is provided an estimate of the kinetic and physico-chemical parameters of the horseradish peroxidase biosensor for the detection of hydrogen peroxide. As previously

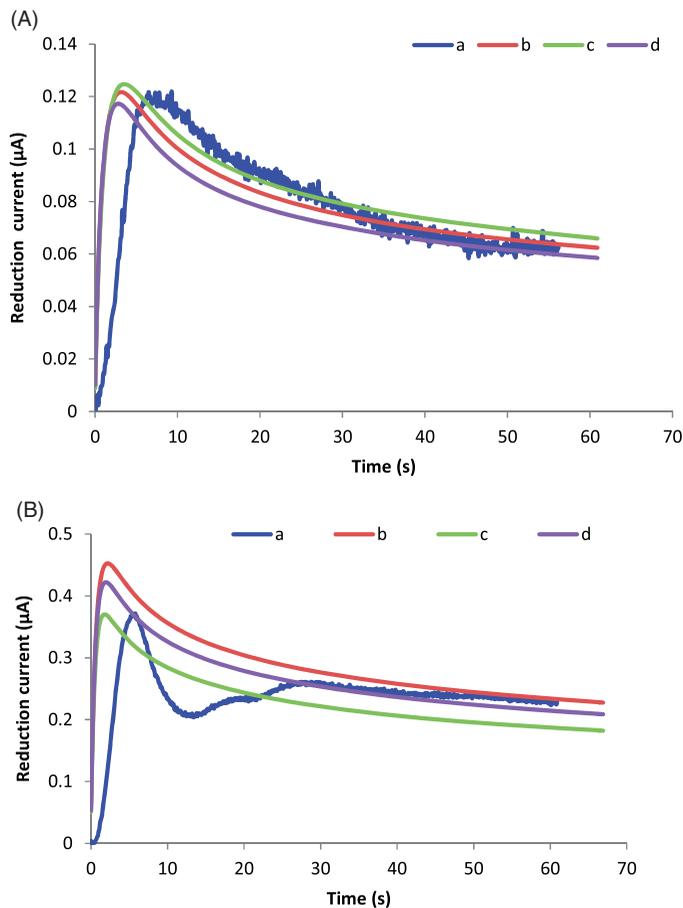
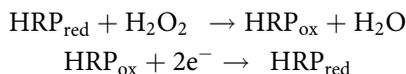


Figure 4. Theoretical results and the experimental response of the horseradish peroxidase biosensor. Influence of the hydrogen peroxide diffusion coefficient in the enzyme membrane for two hydrogen peroxide concentrations. (A) Initial concentration of hydrogen peroxide: 5 mM, diffusion coefficient of hydrogen peroxide in diffusion layer $0.036 \times 10^{-11} \text{ m}^2/\text{s}$, and catalytic activity rate $0.9 \mu\text{M}/\text{s}$. (a) Experimental curve for the diffusion coefficient of hydrogen peroxide in enzyme membrane (m^2/s) of (b) 9×10^{-12} , (c) 11×10^{-12} , and (d) 7×10^{-12} . (B) Initial concentration of hydrogen peroxide 15 mM, diffusion coefficient of hydrogen peroxide in diffusion layer $0.35 \times 10^{-11} \text{ m}^2/\text{s}$, and maximal catalytic rate $0.54 \mu\text{M}/\text{s}$. The values of other parameters used in simulation are diffusion layer thickness of $80 \mu\text{m}$ and enzyme membrane thickness from 5.5 to $5.9 \mu\text{m}$. (a) Experimental curve for the diffusion coefficient of hydrogen peroxide in enzyme membrane (m^2/s) (b) 7.2×10^{-12} , (c) 3.2×10^{-12} , and (d) 5.2×10^{-12} .

discussed, the validation of the developed model is an important step in mathematical modeling by which the limitations of the model can be determined. Figure 3A,B shows the validation of the mathematical model of the horseradish peroxidase biosensor response for 5,10,15, and 20 mM hydrogen peroxide. The calibration curves of the experimental and theoretical response show a linear relationship between the current intensity and hydrogen peroxide concentration. The curves coincide when the thickness of diffusion layer is estimated to be between 80 and 100 µm.

Kinetic mechanism of direct electron transfer

In this case of the direct electron transfer of enzyme, the electrocatalytic mechanism may be expressed by



The apparent Michaelis–Menten constant (K_m) was calculated from the Lineweaver–Burk equation:

$$1/I_{\text{ss}} = 1/I_{\text{max}} + K_m/(I_{\text{max}} \cdot [\text{H}_2\text{O}_2]) \quad (26)$$

where (I_{ss}) is the steady-state current after the addition of substrate, (I_{max}) is the maximum current under the steady stated conditions, and $[\text{H}_2\text{O}_2]$ is the bulk concentration of the substrate. The maximum rate constants of charge transfer (V_{max}) between the horseradish peroxidase intermediates and the electrode can be calculated by

$$1/v = (K_m/k_1 \cdot [\text{H}_2\text{O}_2]) + (1/V_{\text{max}}) \quad (27)$$

The enzyme is efficiently converted to its oxidized form which is then reduced at the electrode surface by direct electron transfer. Therefore, the reductive current increased in the presence of hydrogen peroxide (Zhang et al. 2011; Ahammad 2013). Figure 3C,D shows the Lineweaver–Burk plot constructed to estimate the Michaelis–Menten constant (K_m) and the saturation value of the cathode current (I_{max}) from the hydrogen peroxide calibration curves.

The plot of $1/I_{\text{max}}$ vs. $1/[\text{H}_2\text{O}_2]$ gives a good linear fit with correlation coefficients of 0.998 and 0.9991 with the experimental and numerical measurements, respectively. The catalytic activity rate is equal to $0.010 \mu\text{M/s}$ experimentally and $0.012 \mu\text{M/s}$ numerically by the model. The experimental Michaelis–Menten constant is equal to $0.92 \mu\text{M}$, and its corresponding numerical value was $0.98 \mu\text{M}$.

Estimate of diffusion coefficient of hydrogen peroxide in the enzyme membrane

The experimental and numerical responses of biosensor were compared as shown in Figure 4 to determine the kinetic and physico-chemical parameters. The amperometric biosensor response was studied under the effect of diffusion coefficient of hydrogen peroxide in the enzyme membrane (D_{sm}) (Figure 4A,B), which may vary between (3.2 and $11 \times 10^{-12} \text{ m}^2/\text{s}$). The investigation of the numerical current response as function of time was performed using two concentrations of hydrogen peroxide. The experimental responses were obtained using 5 and 10 mM of hydrogen peroxide as shown in Figure 4A,B, respectively. The diffusion coefficient of hydrogen peroxide in diffusion layer (D_{sd}) was evaluated at the point where the numerical and experimental responses coincide to be $0.35 \times 10^{-11} \text{ m}^2/\text{s}$.

Effect of matrix on the diffusion coefficient of hydrogen peroxide

Here is characterized the effect of the type of biomembrane on the diffusion rate of hydrogen peroxide. After introduction of the substrate into the bulk solution, a stagnant

Table 2. Dependence of the diffusion constant of hydrogen peroxide as functions of its concentration and the enzyme matrix.

Electrode	Diffusion coefficient	[H ₂ O ₂]	Matrix	Reference
Glassy Carbon	$1.584 \times 10^{-9} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$	1 mM–0.2 M	Reduced graphene oxide-nafion@silver6	Norazriena et al. (2017)
	$1.62 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$	100 nM–10 μ M	Manganese iron oxide nanoparticles and reduced graphene oxide/manganese iron oxide nanoparticles	Madhura et al. (2017)
Metal oxide materials (titanium dioxide)	$1.13 \times 10^{-3} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$	$1.60 \times 10^{-4} \text{ M}$	Carbonized titanium dioxide nanotubes	Guoa et al. (2008)
	$6.30 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$		Glucose oxidase at platinum electrode surface	Hall et al. (1998)
Platinum	$0.66\text{--}1.4 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$	0–80 mM	Buffer	van Stroe-Biezen et al. (1993)
	$1.43 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$	7–8 mol.m ⁻³	Platinum electrode covered with four hydrogel layers	
	$0.27 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$		Horseradish peroxidase + gold sononanoparticles/sonogel carbon electrode	Present work

layer is formed with a thickness (l_d) which depends on the liquid movement at the surface of the electrode. Consequently, the mass transport to the electrode surface is controlled by diffusion through this layer (Alvarez-Lcaza and Bilitewski 1993). This process later affects the electrocatalytic ability to reduce hydrogen peroxide (Norazriena et al. 2017).

The diffusion of hydrogen peroxide in buffer solution and in different types of gel was studied by van Stroe-Biezen et al. (1993) who reported that the diffusion coefficient varies with the number of layers covered. They used several poly(vinyl alcohol) gel layers with different concentration of glutaraldehyde to investigate the diffusion of hydrogen peroxide. An experimental investigation by Hall et al. (1998) of the electron transfer of hydrogen peroxide used a platinum rotating disk electrode in the presence of calcium ions with Michaelis–Menten kinetics. They employed a model to examine the kinetic behavior of the oxidation of hydrogen peroxide and demonstrated that the charge transfer kinetic parameters vary with potential, pH and temperature. The influence of silver (Ag) content on the electrocatalytic reduction of hydrogen peroxide was investigated by Norazriena et al. (2017). Table 2 shows the variation of constant rate of hydrogen peroxide diffusion according to the type of matrix.

In the present experimental work, the mechanism is more complicated due to the presence of horseradish peroxidase enzyme and other additional substances. The theoretical model provides an accurate kinetic and physico-chemical analysis to describe the electrode reaction when electroenzymatic transfer is coupled with diffusion. It can also provide the thickness of diffusion layer and biomembrane (Figure 5).

The effect of the thickness of the enzymatic matrix on the horseradish peroxidase biosensor response was evaluated experimentally by the construction of two different matrices. The first was formed using poly(4-vinylpyridine) mixed with gold sononanoparticles. The second matrix was obtained using 0.5% bovine serum albumin. Each

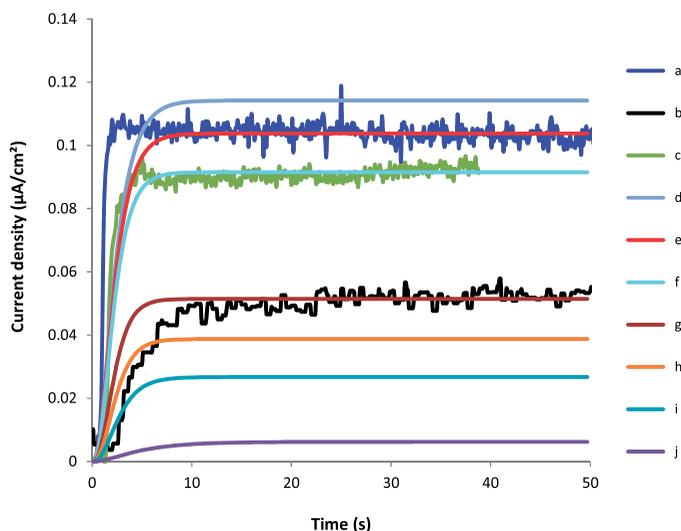


Figure 5. Experimental and numerical responses of horseradish peroxidase biosensor. Theoretical response obtained for different values of the Thiele modulus: (a) sonogel carbon electrode and 1% poly(4-vinylpyridine), (b) sonogel carbon electrode and 0.5% poly(4-vinylpyridine), (c) Au electrode and 0.5% bovine serum albumin, (d) v_{\max} of $2 \mu\text{M/s}$ and Thiele modulus of 106.213, (e) v_{\max} of $1.6 \mu\text{M/s}$ and Thiele modulus of 95, (f) v_{\max} of $1.2 \mu\text{M/s}$ and Thiele modulus of 82.2724, (g) v_{\max} of $0.35 \mu\text{M/s}$ and Thiele modulus of 44.4322 (h) v_{\max} $0.2 \mu\text{M/s}$ and Thiele modulus of 33.5876, (i) v_{\max} of $0.1 \mu\text{M/s}$ and Thiele modulus of 23.7500, and (j) v_{\max} of $0.01 \mu\text{M/s}$ and Thiele modulus of 7.51041. Conditions: 274 U/mg horseradish peroxidase, working potential of -0.15 V vs. Ag/AgCl, and pH 6.

mixture was added to the horseradish peroxidase and cross-linked with glutaraldehyde at a sonogel carbon or gold electrode. In order to change the thickness of the biomembrane, we used 0.5% and 1% concentrations of poly(4-vinylpyridine).

The theoretical and experimental responses coincide for Thiele numbers equal to 95 and 44.43 corresponding to the 1% and 0.5% poly(4-vinylpyridine) matrices, respectively. The experimental response using a 0.5% bovine serum albumin matrix was comparable with theoretical results for a Thiele number of 82.27, indicating that the overall rate of reaction of hydrogen peroxide was limited by diffusion.

Determination of the thickness of the enzymatic membrane of the horseradish peroxidase biosensor

Figure 6A shows the effect of the thickness of the matrix on the amperometric response of horseradish peroxidase biosensor. The geometric parameters (l_m) were simulated and compared to the experimental response using increasing matrix thicknesses of 5.5, 7.5, and $9.4 \mu\text{m}$. The experimental biosensor curve coincides with numerical plot for a matrix thickness (l_m) of $7.5 \mu\text{m}$. The corresponding diffusion coefficient in the matrix (D_{sm}) is between 60 and $56 \times 10^{-12} \text{ m}^2/\text{s}$. The thickness of enzyme membrane has no influence on the steady state current. The latter is unchanged and equal to $0.1130 \mu\text{A}$. Figure 6B shows the effect of diffusion coefficient of hydrogen peroxide in the diffusion layer on the amperometric biosensor response with values between 0.05 and $0.09 \times 10^{-11} \text{ m}^2/\text{s}$.

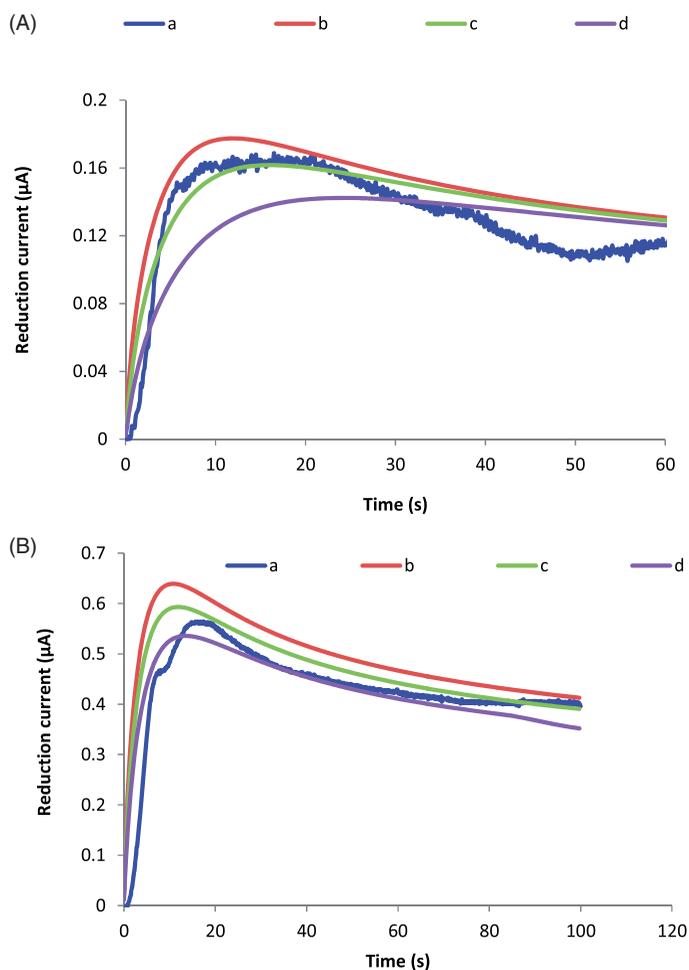


Figure 6. Theoretical results and experimental response of the horseradish peroxidase biosensor. (A) Influence of enzyme membrane thickness: (a) Experimental curve, thickness of enzyme membrane (μm): (b) 9.5, (c) 7.5, and (d) 5.5. The initial concentration of substrate was 10 mM and catalytic activity rate was $0.31 \mu\text{M/s}$. (B) Influence of the diffusion coefficient of hydrogen peroxide in the enzyme membrane: (a) experimental curve, diffusion coefficient of hydrogen peroxide in diffusion layer (m^2/s) of (b) 0.09×10^{-11} , (c) 0.07×10^{-11} , and (d) 0.05×10^{-11} . The values of other parameters used in simulation include an initial hydrogen peroxide concentration of 20 mM, a catalytic activity rate of $0.78 \mu\text{M/s}$, a diffusion layer thickness of $100 \mu\text{m}$, and an enzyme membrane thickness from 5.5 to $9.5 \mu\text{m}$.

Conclusion

A mathematical model for estimating the kinetic performance of horseradish peroxidase biosensor for hydrogen peroxide detection was developed. The validation of theoretical and experimental measurements provides a good description of diffusion-reaction mechanism of substrate and electro-active product species. The proposed mathematical model exhibited good agreement between the experimental and numerical results with excellent analytical performance (0.92 and $0.98 \mu\text{M}$) for experimental and numerical values of Michaelis–Menten constant (K_m), respectively, and (0.010 and $0.012 \mu\text{M/s}$) for

the experimental and numerical values of the catalytic activity rate, respectively. Hence the numerical simulation provides an accurate analysis of biosensor response for hydrogen peroxide detection under the influence of geometric, physico-chemical, and biokinetic parameters.

Acknowledgments

The authors are grateful to the Algerian Ministry of Research. The authors are also extremely grateful to the Mr Aziz Amine and Mrs Aisha Attar for their help with the experimental work in this article.

References

- Achi, F., S. Bourouina-Bacha, M. Bourouina, and A. Amine. 2015. Mathematical model and numerical simulation of inhibition based biosensor for the detection of Hg(II). *Sensors and Actuators B Chemical Journal* 207:413–423. doi:10.1016/j.snb.2014.10.033
- Ahammad, A. J. S. 2013. Hydrogen peroxide biosensors based on horseradish peroxidase and hemoglobin. *Biosens and Bioelectronics* 9:11. doi:10.4172/2155-6210.S9-001
- Alvarez-Lcaza, M., and U. Bilitewski. 1993. Mass production of biosensors. *Analytical Chemistry* 65:525–533. doi:10.1021/ac00059a001
- Ašeris, V., R. Baronas, and K. Petrauskas. 2016. Computational modelling of three-layered biosensor based on chemically modified electrode. *Computational and Applied Mathematics* 35 (2):405–421. doi:10.1007/s40314-014-0197-9
- Attar, A., A. Amine, F. Achi, S. B. Bacha, M. Bourouina, L. Cubillana-Aguilera, J. M. Palacios-Santander, A. Baraket, and A. Errachid. 2016. A novel amperometric inhibition biosensor based on HRP and gold sononanoparticles immobilised onto Sonogel-Carbon electrode for the determination of sulphides. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* 96 (6): 515–529. doi:10.1080/03067319.2016.1172216
- Bacha, S., A. Bergel, and M. Comtat. 1995. Transient response of multilayer electroenzymic biosensors. *Analytical Chemistry* 67 (10):1669–1678. doi:10.1021/ac00106a004
- Bacha, S., M. Montagné, and A. Bergel. 1996. Modeling mass transfer with enzymatic reaction in electrochemical multilayer microreactors. *AIChE Journal* 42 (10):2967–2976. doi:10.1002/aic.690421024
- Bartlett, P. N., and K. F. E. Pratt. 1993. Modelling of processes in enzyme electrodes. *Biosensors and Bioelectronics* 8 (9–10):451–462. doi:10.1016/0956-5663(93)80030-S
- Bartlett, P. N., and K. F. E. Pratt. 1995. Theoretical treatment of diffusion and kinetics in amperometric immobilized enzyme electrodes part I: Redox mediator entrapped within the film. *Journal of Electroanalytical Chemistry* 397(1–2):61–78. doi:10.1016/0022-0728(95)04236-7
- Bensana, A., F. Achi, A. Bouguettoucha, and D. Chebli. 2018. Theoretical analysis and experimental investigation of the physicochemical parameters of amperometric biosensor for phenols detection. *Materials and Biomaterials Science* 1:16–18.
- Bergel, A., and M. Comtat. 1984. Theoretical evaluation of transient responses of an amperometric enzyme electrode. *Analytical Chemistry* 56 (14):2904–2909. doi:10.1021/ac00278a064
- Blaedel, W. J., T. R. Kissel, and R. C. Boguslaski. 1972. Kinetic behavior of enzymes immobilized in artificial membranes. *Analytical Chemistry* 44 (12):2030–2037. doi:10.1021/ac60320a021
- Britz, D., R. Baronas, E. Gaidamauskait, and F. Ivanauskas. 2009. Further comparisons of finite difference schemes for computational modelling of biosensors. *Nonlinear Anal-Model* 14: 419–433.
- Cambiaso, A., L. Delfino, M. Grattarola, G. Verreschi, D. Ashworth, A. Maines, and P. Vadgama. 1996. Modelling and simulation of a diffusion limited glucose biosensor. *Sensors Actuators B and Chemical Journal* 33 (1–3):203–207. doi:10.1016/0925-4005(96)80099-2

- Chang, Y., J. Qiao, Q. Liu, L. Shangguan, X. Ma, S. Shuang, and C. Dong. 2008. Electrochemical behavior of hydrogen peroxide at a glassy carbon electrode modified with nickel hydroxide-decorated multiwalled carbon nanotubes. *Analytical Letters* 41 (17):3147–3160. doi:10.1080/00032710802462982
- Chaubey, A., and B. D. Malhotra. 2002. Mediated biosensors. *Biosensors and Bioelectronics* 17 (6–7):441–456. doi:10.1016/S0956-5663(01)00313-X
- Comtat, M., H. Durliat, A. Bergel, S. Bacha, and M. Montagné. 1993. Theoretical and experimental aspects for improvement of electrochemical biosensors by various kinds of immobilization. In *Uses of immobilized biological compounds*, ed. G. G. Guilbault and M. Mascini, 35–45. NATO ASI Series. Norwell, MA: Kluwer Academic Publishers.
- Cooper, J. M., M. Alvarez-Icaza, C. J. McNeil, and P. N. Bartlett. 1989. A kinetic study of an amperometric enzyme electrode based on immobilised cytochrome C peroxidase. *Journal of Electroanalytical Chemistry* 272 (1–2):57–70. doi:10.1016/0022-0728(89)87068-8
- Crank, J. 1975. *The mathematics of diffusion*. 2nd ed. Bristol: Oxford University Press.
- Do, T. Q. N., M. Varničić, R. Hanke-Rauschenbach, T. Vidaković-Koch, and K. Sundmacher. 2014. Mathematical modeling of a porous enzymatic electrode with direct electron transfer mechanism. *Electrochimica Acta* 137:616–626. doi:10.1016/j.electacta.2014.06.031
- Galceran, J., S. L. Taylor, and P. N. Bartlett. 2001. Modelling the steady-state current at the inlaid disc microelectrode for homogeneous mediated enzyme catalysed reactions. *Journal of Electroanalytical Chemistry* 506 (2):65–81. doi:10.1016/S0022-0728(01)00503-4
- Gros, P., and A. Bergel. 1995. Improved model of a polypyrrole glucose oxidase modified electrode. *Journal of Electroanalytical Chemistry* 386 (1–2):65–73. doi:10.1021/ac60352a006
- Guoa, C., F. Huac, C. M. Li, and P. K. Shen. 2008. Direct electrochemistry of hemoglobin on carbonized titania nanotubes and its application in a sensitive reagentless hydrogen peroxide biosensor. *Biosensors and Bioelectronics* 24 (4):819–824. doi:10.1016/j.bios.2008.07.007
- Hall, S. B., E. A. Khudaish, and A. L. Hart. 1998. Electrochemical oxidation of hydrogen peroxide at platinum electrodes. Part 1. An adsorption-controlled mechanism. *Electrochimica Acta* 43 (14–15):2015–2024. doi:10.1016/S0013-4686(97)00125-4
- Hamtak, M., L. Fotouhi, M. Hosseini, and M. R. Ganjali. 2018. Sensitive nonenzymatic electrochemiluminescence determination of hydrogen peroxide in dental products using a polypyrrole/polyluminal/titanium dioxide nanocomposite. *Analytical Letters*. doi:10.1080/00032719.2018.1483940
- Hoffman, J. D., and S. Frankel. 1992. *Numerical methods for engineers and scientists*. 2nd ed. New York: McGraw-Hill.
- Kulys, J. J. 1981. Development of new analytical systems based on biocatalysers. *Enzyme and Microbiol Technology* 3 (4):344–352. doi:10.1016/0141-0229(81)90012-0
- Kulys, J. J., and R. Baronas. 2006. Modelling of amperometric biosensors in the case of substrate inhibition. *Sensors* 6 (11):1513–1522. doi:10.1007/s10910-009-9581-x
- Kulys, J. J., V. V. Sorochinskii, and R. A. Vidziunaite. 1986. Transient response of bienzyme electrodes. *Biosensors* 2 (3):135–146. doi:10.1016/0265-928X(86)80001-3
- Lei, C. X., L. P. Long, and Z. L. Cao. 2005. An H₂O₂ biosensor based on immobilization of horseradish peroxidase labeled Nano-Au in silica Sol-Gel/alginate composite film. *Analytical Letters* 38 (11):1721–1734. doi:10.1080/00032710500207762
- Leyboldt, J. K., and D. A. Gough. 1984. Model of a two-substrate enzyme electrode for glucose. *Analytical Chemistry* 56 (14):2896–2904. doi:10.1021/ac00278a063
- Liang, J., M. Wei, Q. Wang, Z. Zhao, A. Liu, Z. Yu, and Y. Tian. 2018. Sensitive electrochemical determination of hydrogen peroxide using copper nanoparticles in a polyaniline film on a glassy carbon electrode. *Analytical Letters* 51 (4):512–522. doi:10.1080/00032719.2017.1343832
- Loghambal, S., and L. Rajendran. 2010. Mathematical modeling of diffusion and kinetics in amperometric immobilized enzyme electrodes. *Electrochimica Acta* 55 (18):5230–5238. doi:10.1016/j.electacta.2010.04.050
- Lyons, M. E. G. 2006. Modelling the transport and kinetics of electroenzymes at the electrode/solution interface. *Sensors* 6 (12):1765–1790. doi:10.3390/s6121765

- Lyons, M. E. G., C. H. Lyons, C. Fitzgerald, and P. N. Bartlett. 1994. Conducting-polymer-based electrochemical sensors: theoretical analysis of the transient current response. *Journal of Electroanalytical Chemistry* 365(1–2):29–34. doi:10.1016/0022-0728(93)03057-V
- Madhura, T.R., P. Viswanathan, G. Gnana kumar, and R. Ramaraj. 2017. Nanosheet-like manganese ferrite grown on reduced graphene oxide for non-enzymatic electrochemical sensing of hydrogen peroxide. *Journal of Electroanalytical Chemistry* 792:15–22. doi:10.1016/j.jelechem.2017.03.014
- Martens, N., and E. A. H. Hall. 1994. Model for an immobilized oxidase enzyme electrode in the presence of two oxidants. *Analytical Chemistry* 66 (17):2763–2770. doi:10.1021/ac00089a026
- Martens, N., A. Hindle, and E. A. H. Hall. 1995. An assessment of mediators as oxidants for glucose oxidase in the presence of oxygen. *Biosensors and Bioelectronics* 10 (3–4):393–403. doi:10.1016/0956-5663(95)96857-U
- Mell, L. D., and J. T. Maloy. 1975. Model for the amperometric enzyme electrode obtained through digital simulation and applied to the immobilized glucose oxidase system. *Analytical Chemistry* 47 (2):299–307. doi:10.1021/ac60352a006
- Muller, J., and T. Zwing. 1982. An experimental verification of the theory of diffusion limitation of immobilized enzymes. *Biochimica Biophysica Acta* 705 (1):117–123. doi:10.1016/0167-4838(82)90343-0
- Norazriena, Y., R. Perumal, S. M. Muhammad, P. Alagarsamy, L. H. Wah, and H. N. Ming. 2017. Ternary nanohybrid of reduced graphene oxide-nafion@silver nanoparticles for boosting the sensor performance in non-enzymatic amperometric detection of hydrogen peroxide. *Biosensors and Bioelectronics* 87:1020–1028. doi:10.1016/j.bios.2016.09.045.
- Patre, B. M., and V. G. Sangam. 2007. Mathematical model of an amperometric biosensor for the design of an appropriate instrumentation system. *Journal of Medical Engineering & Technology* 31 (5):351–360. doi:10.1080/03091900600926898
- Puida, M., A. Malinauskas, and F. Ivanauskas. 2011. Modeling of electrocatalysis at conducting polymer modified electrodes: nonlinear current-concentration profiles. *Journal of Mathematical Chemistry* 49 (6):1151–1162. doi:10.1007/s10910-011-9802-y
- Qu, J., Y. Dong, T. Lou, and X. Du. 2014. Determination of hydrogen peroxide using a novel sensor based on Fe₃O₄ magnetic nanoparticles. *Analytical Letters* 47 (11):1797–1807. doi:10.1080/00032719.2014.888733
- Rahamathunissa, G., P. Manisankar, L. Rajendran, and K. Venugopal. 2011. Modeling of nonlinear boundary value problems in enzyme-catalyzed reaction diffusion processes. *Journal of Mathematical Chemistry* 49 (2):457–474. doi:10.1007/s10910-010-9752-9
- Rinken, T. 2003. Determination of kinetic constants and enzyme activity from a biosensor transient signal. *Analytical Letters* 36 (8):1535–1545. doi:10.1081/AL-120021535
- Romero, M. R., A. M. Baruzzi, and F. Garay. 2012. Mathematical modeling and experimental results of a sandwich-type amperometric biosensor. *Sensors and Actuators B: Chemical Journal* 162 (1):284–291. doi:10.1016/j.snb.2011.12.079
- Schulmeister, T., and D. Pfeiffer. 1993. Mathematical modelling of amperometric enzyme electrodes with perforated membranes. *Biosensors and Bioelectronics* 8 (2):75–79. doi:10.1016/0956-5663(93)80055-T
- Schulmeister, T., and F. Scheller. 1985. Mathematical treatment of concentration profiles and anodic current for amperometric enzyme electrodes. *Analytica Chimica Acta* 171:111–118. doi:10.1016/S0003-2670(00)85022-9
- Sheppard, N. F., D. J. Mears, and A. Guiseppi-Elie. 1996. Model of an immobilized enzyme conductimetric urea biosensor. *Biosensors and Bioelectronics* 11 (10):967–979. doi:10.1016/0956-5663(96)87656-1
- Sheppard, N. F., R. C. Tucker, and C. Wu. 1993. Electrical conductivity measurements using microfabricated interdigitated electrodes. *Analytical Chemistry* 65 (9):1199–1202. doi:10.1021/ac00057a0161
- Somasundrum, M., A. Tongta, M. Tanticharoen, and K. Kirtikara. 1997. A kinetic model for the reduction of enzyme-generated H₂O₂ at a metal-dispersed conducting polymer film. *Journal of Electroanalytical Chemistry* 440 (1–2):259–264. doi:10.1016/S0022-0728(97)80064-2

- Sorochinskii, V. V., and B. I. Kurganov. 1996. Steady-state kinetics of cyclic conversions of substrate in amperometric bienzyme sensors. *Biosensors and Bioelectronics* 11 (3):225–238. doi:[10.1016/0956-5663\(96\)88409-0](https://doi.org/10.1016/0956-5663(96)88409-0)
- Stewart, P. S. 2003. Diffusion in biofilms. *Journal of Bacteriology* 185 (5):1485–1491. doi:[10.1128/JB.185.5.1485-1491](https://doi.org/10.1128/JB.185.5.1485-1491). 2003
- van Stroe-Biezen, S. A. M., F. M. Everaerts, L. J. J. Janssen, and R. A. Tacken. 1993. Diffusion coefficients of oxygen, hydrogen peroxide and glucose in a hydrogel. *Analytica Chimica Acta* 273 (1–2):553–560. doi:[10.1016/0003-2670\(93\)80202-V](https://doi.org/10.1016/0003-2670(93)80202-V)
- Yokoyama, K., and Y. Kayanuma. 1998. Cyclic voltammetric simulation for electrochemically mediated enzyme reaction and determination of enzyme kinetic constants. *Analytical Chemistry* 70 (16):3368–3376. doi:[10.1021/ac9711807](https://doi.org/10.1021/ac9711807)
- Zhang, G., N. Yang, Y. Ni, J. Shen, W. Zhao, and X. Huang. 2011. A H₂O₂ electrochemical biosensor based on biocompatible pnipam-g-P (NIPAM-co-St) nanoparticles and multi-walled carbon nanotubes modified glass carbon electrode. *Sensors and Actuators B: Chemistry Journal* 158 (1):130–137. doi:[10.1016/j.snb.2011.05.055](https://doi.org/10.1016/j.snb.2011.05.055)
- Zhou, K., Y. Zhu, X. Yang, J. Luo, C. Li, and S. Luan. 2010. A novel hydrogen peroxide biosensor based on Au–graphene–HRP–chitosan biocomposites. *Electrochimica Acta* 55 (9):3055–3060. doi:[10.1016/j.electacta.2010.01.035](https://doi.org/10.1016/j.electacta.2010.01.035)
- Zong, S., Y. Cao, and H. Ju. 2007. Amperometric biosensor for hydrogen peroxide based on myoglobin doped multiwalled carbon nanotube enhanced grafted collagen matrix. *Analytical Letters* 40 (8):1556–1568. doi:[10.1080/00032710701380442](https://doi.org/10.1080/00032710701380442)