

# Matériaux moléculaires d'électrode : catalyse et analyse

Jean-Claude Moutet (coordonnateur)

## Introduction

La manipulation chimique de la surface d'une électrode est une étape importante vers le contrôle de la structure de l'interface électrode/électrolyte, avec comme objectifs améliorer la réactivité et la sélectivité des réactions électrochimiques, voire même accéder à de nouvelles réactions. Une réaction d'électrode peut être orientée dans le sens souhaité grâce à l'immobilisation à sa surface de l'espèce catalytique appropriée. En d'autres termes, il est possible de construire sur mesure une électrode modifiée pour l'application envisagée. A côté des propriétés catalytiques, qui sont d'un intérêt général lorsqu'on s'adresse à des processus de transfert d'électron, il est également envisageable de doter une surface conductrice ou semi-conductrice de propriétés chimiques et physico-chimiques particulières, comme par exemple des propriétés complexantes, électrochromes, photochimiques ou électroniques.

Limitée dans les années 70 à la fonctionnalisation par adsorption ou accrochage covalent de monocouches d'un réactif, la modification d'électrodes par le dépôt de multicouches est à l'origine de l'intérêt accru qui a été porté à ces systèmes dès le début des années 80. Les électrodes modifiées sont alors réalisées à partir de films de polymères organiques ou de matériaux minéraux fonctionnalisés. On a ainsi accès à de véritables matériaux moléculaires d'électrode, qui présentent comme caractéristique essentielle une forte concentration en espèces actives réparties dans un réseau tridimensionnel, au voisinage immédiat de la source d'électrons.

En catalyse, le gain en réactif électrochimique, qui n'est plus dispersé dans toute la phase électrolytique, est très impor-

tant et sa concentration sur l'électrode peut atteindre la mole par litre, avec comme résultat un effet électrocatalytique très important pour une faible quantité de catalyseur. Les problèmes liés à la récupération du catalyseur et à la purification du mélange réactionnel sont simplifiés, ainsi que ceux que peuvent poser la solubilisation de certains réactifs chimiques, notamment en milieu aqueux. Il est aussi possible de construire sur la surface d'une électrode des systèmes catalytiques sophistiqués, associant par exemple un médiateur redox à un catalyseur, ou même deux catalyseurs ayant chacun leur spécificité.

En analyse, l'objectif principal de la manipulation de surface est le développement de capteurs originaux, grâce à l'apport des propriétés remarquables de reconnaissance et de complexation, ou simplement d'accélération du transfert d'électron, d'espèces organiques, inorganiques ou biologiques.

A l'évidence, les progrès des recherches sur ces nouveaux matériaux d'électrode ne peuvent être faits qu'en faisant appel à d'autres domaines, comme la chimie organique et inorganique, la biochimie, la chimie des polymères et celle des matériaux minéraux, ainsi que l'analyse des surfaces. L'apport de l'électrochimie reste cependant primordial pour sa puissance analytique. C'est aussi un excellent outil synthétique pour le dépôt par électropolymérisation ou électroprécipitation de polymères et autres matériaux sur les surfaces conductrices.

Nous présentons ici quelques exemples significatifs relatifs à l'élaboration de matériaux moléculaires d'électrode dérivés de catalyseurs chimiques et d'espèces biologiques, qui ont des applications potentielles pour l'activation de petites molécules dans un but de synthèse et pour l'électroanalyse.

Fethi Bedioui, URA 216 CNRS, Laboratoire d'Electrochimie et de Chimie Analytique, ENSCP, 11 rue Pierre et Marie Curie, 75231 Paris Cedex 05. Tel : 01 44 27 66 94 ; Fax : 01 44 27 67 50.

Christian Bourdillon, UPRES-A N° 6022, Laboratoire de Technologie Enzymatique, Université de Technologie de Compiègne, BP 20529, 60205 Compiègne Cedex. Tel : 03 44 23 44 05 ; Fax : 03 44 20 39 10 ; E-mail : christian.bourdillon@utc.fr

Chantal Degrand, UMR 6504 CNRS, Laboratoire de Synthèse, Electrosynthèse et Etude de Systèmes à Intérêt Biologique, Université de Clermont-Ferrand, 24 Avenue des Landais, 63177 Aubière Cedex. Tel : 04 73 40 71 59 ; Fax : 04 73 27 44 43 ; E-mail : Degrand@cicsun.univ-bpclermont.fr

Jacques Devynck, URA 216 CNRS, Laboratoire d'Electrochimie et de Chimie Analytique, ENSCP, 11 rue Pierre et Marie Curie, 75231 Paris Cedex 05. Tel : 01 44 27 66 94 ; Fax : 01 44 27 67 50 ; E-mail : devynck@ext.jussieu.fr

Pierre Labbe, UMR 5630 CNRS, Laboratoire d'Electrochimie Organique et de Photochimie Redox, Université Joseph Fourier, BP 53, 38041 Grenoble Cedex 9. Tel : 04 76 51 47 18 ; Fax : 04 76 51 42 67 ; E-mail : pierre.labbe@ujf-grenoble.fr

Claude Lamy, UMR 6503 CNRS, Laboratoire de Chimie 1, Electrochimie et Interactions, Université de Poitiers, 40 Avenue du Recteur Pineau, 86022 Poitiers Cedex. Tel : 05 49 45 36 28 ; Fax : 05 49 45 35 80 ; E-mail : lamy@hermes.univ-poitiers.fr

Jean-Michel Léger, UMR 6503 CNRS, Laboratoire de Chimie 1, Electrochimie et Interactions, Université de Poitiers, 40 Avenue du Recteur Pineau, 86022 Poitiers Cedex. Tel : 05 49 45 36 28 ; Fax : 05 49 45 35 80.

Jacques Moiroux, UMR 7591 CNRS, Laboratoire d'Electrochimie Moléculaire, Université de Paris 7 - Denis Diderot, 2 place Jussieu, 75251 Paris Cedex 05. Tel : 01 44 27 28 01 ; Fax : 01 44 27 76 25 ; E-mail : moiroux@paris7.jussieu.fr

Jean-Claude Moutet, UMR 5630 CNRS, Laboratoire d'Electrochimie Organique et de Photochimie Redox, Université Joseph Fourier, BP 53, 38041 Grenoble Cedex 9. Tel : 04 76 51 44 81 ; Fax : 04 76 51 42 67 ; E-mail : jean-claude.moutet@ujf-grenoble.fr

## I - Electrocatalyse : activation de petites molécules

### I-1. Oxygène moléculaire : oxydations d'hydrocarbures catalysées par des métalloporphyrines immobilisées sur une électrode

Fethi Bedioui, Jacques Devynck

#### I-1.1. Introduction

Les oxydations d'hydrocarbures par l'oxygène moléculaire à la température ambiante sont des réactions souvent thermodynamiquement réalisables mais cinétiquement très défavorisées. Elles nécessitent donc de bons catalyseurs, dont les meilleurs prennent comme modèle les systèmes biologiques du type cytochrome P-450. Les plus fréquemment proposés sont des métalloporphyrines qui mettent en jeu les systèmes oxydoréducteurs du fer (comme le cytochrome P-450) ou du manganèse. Ces catalyseurs, dont l'efficacité est bien établie lorsque les oxydants sont des composés du type hypochlorite ou iodosylbenzène [1], sont beaucoup moins efficaces en présence d'oxygène moléculaire.

De nombreux travaux ont été entrepris au cours des dix dernières années pour tenter d'augmenter l'efficacité des systèmes catalytiques modèles de cytochrome P-450. Parmi les améliorations possibles figurent en bonne place la mise en œuvre des méthodes électrochimiques et, plus particulièrement l'utilisation d'électrodes modifiées [2].

L'oxydation par l'oxygène avec des électrodes modifiées vise ainsi à résoudre plusieurs problèmes :

- tenter d'accélérer et d'orienter les échanges électroniques en réalisant une, ou plusieurs étapes du cycle catalytique par voie électrochimique;
- augmenter la sélectivité en créant, à la surface de l'électrode, un environnement favorable autour du site catalytique.

Le schéma de la *figure 1* a été proposé pour la catalyse par le cytochrome P450 de l'oxydation des hydrocarbures par l'oxygène. Le processus comporte :

- Une réduction préalable de l'ion métallique central;
- La fixation de l'oxygène et l'activation du complexe formé;
- La réduction du complexe activé P-450-Fe(V) = O<sup>+</sup> qui conduit au transfert de l'oxygène sur le substrat.

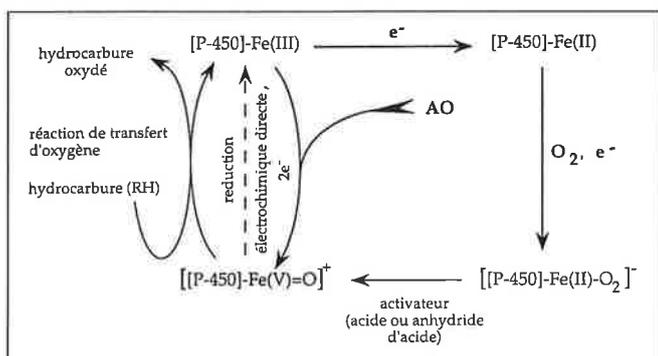


Figure 1 - Schéma simplifié du cycle catalytique de l'oxydation d'un hydrocarbure RH par l'oxygène moléculaire en présence de cytochrome P-450; AO : oxydant chimique.

Cette dernière réduction peut être réalisée par un réducteur chimique, mais il a été montré qu'une meilleure efficacité pouvait être observée, dans certains cas, si la réduction est effectuée par voie électrochimique à une électrode appropriée.

L'efficacité des systèmes utilisant les porphyrines synthétiques peut être également considérablement augmentée par le contrôle de l'environnement du site catalytique, en utilisant comme modèles les sites actifs de réactions enzymatiques, en phase homogène ou en phase hétérogène.

De nombreuses approches, mises en place dès les années 60, ont consisté à synthétiser des structures supramoléculaires de complexes solubles dans lesquels l'environnement stérique du site catalytique est adapté à la molécule d'oxygène. C'est ce qui est réalisé, par exemple, avec les porphyrines à anse de panier, ou encore avec les porphyrines cofaciales [3].

D'autres approches, plus récentes, visent à créer le site catalytique en phase hétérogène. L'objectif est alors de mimer l'encombrement de l'enveloppe protéique de l'enzyme naturelle par une matrice minérale ou organique. L'avantage attendu résulte du fait que la matrice minérale ou polymère peut reproduire un site parfaitement défini, stable, évitant en particulier l'auto-destruction du catalyseur au cours des réactions catalytiques. Les polymères conducteurs du type polypyrrole, polythiophène ou polyaniline ont été fréquemment proposés comme supports de catalyseurs [4]. En ce qui concerne les structures minérales, les structures-hôte sont les structures lamellaires du type montmorillonite, ou les structures-cage du type zéolithe [5].

#### I-1.2. Elaboration d'électrodes modifiées par des films catalytiques à base de métalloporphyrines

La polymérisation électrochimique est une méthode élégante et de mise en œuvre facile pour immobiliser des métalloporphyrines, à la surface d'une électrode [6]. Le principe est fondé sur l'oxydation (ou la réduction) électrochimique d'un monomère du complexe possédant un groupement électropolymérisable. Le polymère se dépose à la surface de l'électrode. Il a été montré que le complexe conserve, dans le polymère, les propriétés électrochimiques du monomère en solution, donc, a priori, les propriétés catalytiques qui lui sont liées.

Les groupements fonctionnels électropolymérisables, préalablement fixés sur le cycle porphyrinique, sont le plus couramment des groupements pyrrole, phénol, aniline ou vinyle. Il est également possible d'incorporer des porphyrines possédant des groupements fonctionnels électriquement chargés comme ions compensateurs de charge lors de l'électropolymérisation, ou encore de les fixer par échange d'ions sur des polymères possédant eux-mêmes des groupements échangeurs d'ions.

La *figure 2* montre, à titre d'exemple, quelques porphyrines de manganèse possédant un ou plusieurs groupements pyrrole électropolymérisables, utilisées pour la catalyse de l'oxydation d'alcane par l'oxygène. Ces porphyrines sont

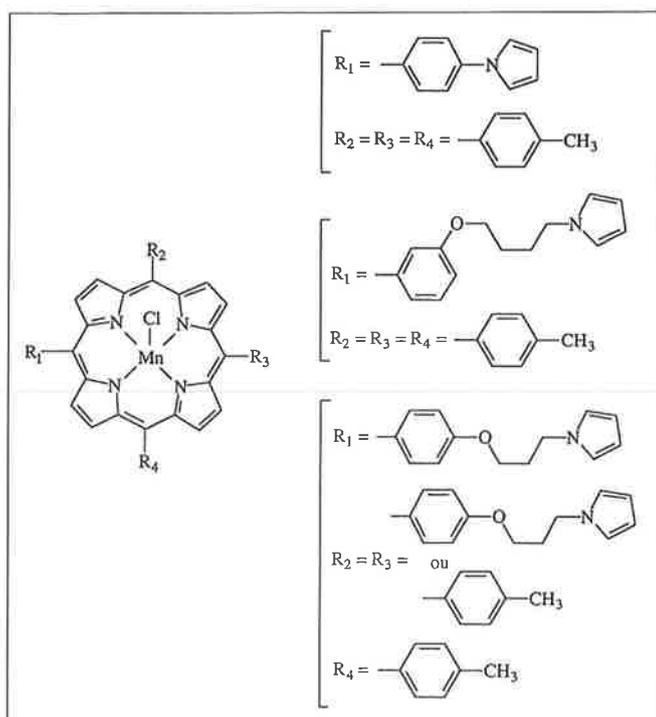


Figure 2 - Structure de quelques porphyrines substituées électropolymérisables.

électropolymérisées par oxydation (balayage de potentiel ou potentiel contrôlé) d'une solution du monomère dans un solvant comme l'acétonitrile. La polymérisation peut être suivie par le tracé de voltammogrammes cycliques sur lesquels apparaît le système caractéristique du couple Mn(II)/Mn(III). L'analyse des voltammogrammes indique également la quantité de porphyrine électroactive déposée. On trouve dans la littérature déjà citée la description d'électrodes modifiées, préparées à partir de grilles de platine, de feutre de graphite ou de toiles de carbone, de superficie suffisante (quelques dizaines de cm<sup>2</sup>) pour réaliser des électrolyses préparatives.

### I-1.3. Oxydations biomimétiques par l'oxygène moléculaire catalysées par des films de métalporphyrines électropolymérisées

Le mécanisme de la catalyse électroassistée reporté sur la figure 1 a fait l'objet de nombreuses études analytiques, mais il n'existe que peu d'exemples d'application d'électrodes modifiées à l'échelle préparative. Les réactions développées à l'échelle préparative concernent l'oxydation et plus particulièrement l'époxydation d'alcènes [6] ; un exemple concerne l'oxydation de dérivés du type thioacétamide d'intérêt pharmaceutique [7] (figure 3). Le catalyseur est, dans tous les cas, une porphyrine de manganèse; l'oxydation passe par un composé du manganèse de valence élevée, « Mn(V) = O<sup>+</sup> », formellement comparable à la forme active du cytochrome P-450 correspondant.

La réaction se déroule en milieu non aqueux (dichlorométhane ou acétonitrile), en présence d'un électrolyte support (perchlorate de tétraalkylammonium), en solution saturée d'oxygène à la pression atmosphérique. Le potentiel de

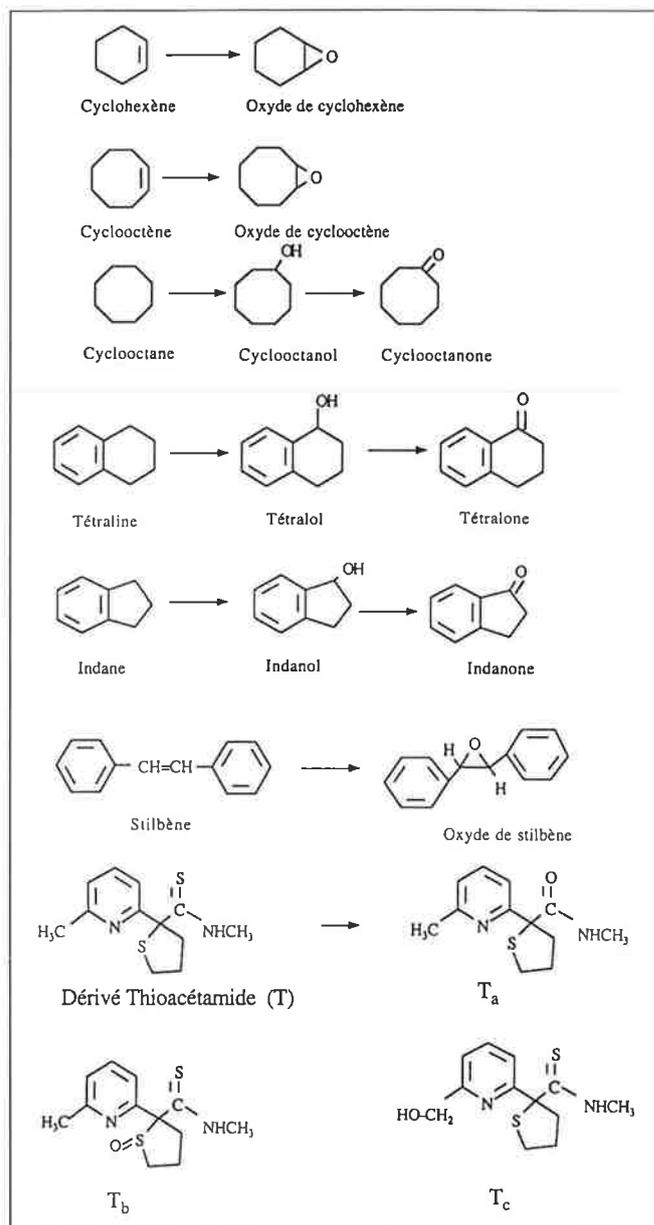


Figure 3 - Réactions d'oxydation par l'oxygène moléculaire catalysées par diverses porphyrines de manganèse électropolymérisées sur une électrode de feutre de carbone.

réduction est d'environ -0,5 V/SCE, les électrodes sont des toiles de graphite ou de feutre de carbone modifiées. Les concentrations de substrat sont de l'ordre de 0,1 M, le rapport catalyseur/substrat étant de 1/1000.

Les résultats des électrolyses à des électrodes modifiées ont été comparés à ceux obtenus avec le catalyseur en solution. Ceux-ci dépendent de nombreux facteurs, en particulier du type d'activateur impliqué dans la formation du complexe activé mais, d'une façon générale, l'utilisation d'électrodes modifiées conduit à la formation des produits d'oxydation indiqués sur la figure 3 avec une plus grande efficacité lorsque le catalyseur est supporté :

- toutes choses égales par ailleurs, la quantité de catalyseur nécessaire est beaucoup plus faible (de l'ordre de 1/10);
- le « turnover horaire » du catalyseur (rapport du nombre de molécules de substrat transformé par molécule de catalyseur) est sensiblement plus élevé;

– le rendement faradique (nombre de molécules du produit d'oxydation/quantité d'électricité) peut être très élevé et approcher, dans certains cas, 100 %.

Cette meilleure efficacité a été expliquée par le confinement du catalyseur au contact de l'électrode, mais aucune différence significative de sélectivité, liée à une éventuelle configuration particulière du site catalytique, n'a été observée jusqu'à présent dans les exemples proposés.

Ces premiers exemples de catalyse d'oxydation par l'oxygène moléculaire à l'aide de catalyseurs modèles de cytochrome P-450 incorporés dans des électrodes modifiées montrent que le catalyseur fonctionne généralement de façon plus efficace que lorsqu'il est en solution. L'électrochimie s'avère être une bonne méthode pour assurer les transferts électroniques, et le confinement du catalyseur dans le film polymère est un facteur favorable dans la mesure où il assure à la fois une meilleure stabilité et une plus grande concentration efficace.

Des progrès dans la sélectivité des réactions passent par un meilleur contrôle de l'environnement moléculaire du site catalytique dans le film déposé à l'électrode. Un tel contrôle pourrait être assuré en utilisant, comme support de catalyseur, de nouveaux composés électropolymérisables décrits par ailleurs.

## I-2. Réduction électrocatalytique de l'oxygène moléculaire

Claude Lamy, Jean-Michel Léger

### I-2.1. Films de polymères contenant des microparticules métalliques

La réduction électrocatalytique de l'oxygène a également été étudiée à des électrodes de polymères organiques conducteurs (polyaniline, polypyrrole...) modifiés par l'inclusion de particules métalliques (Pt, Pd...).

Holdcroft et Funt ont étudié la réduction de l'oxygène sur un disque tournant de carbone vitreux modifié par des films de polypyrrole de différentes épaisseurs (0,08 à 0,8  $\mu\text{m}$ ) dans lesquels ils ont dispersé de faibles quantités de platine (0,8 à 30  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ). Ils ont mis en évidence une déviation de la linéarité des courbes de Levich pour de faibles masses de Pt et de faibles épaisseurs de films, qui serait due à une faible perméabilité des films à l'oxygène [8]. Cet effet n'a pas été trouvé par d'autres auteurs [9, 10] qui ont obtenu des droites de Koutecky-Levich, à partir desquelles ils ont évalué le nombre  $n$  d'électrons impliqués :  $n$  augmente de 2 (production d'eau oxygénée) à 4 (production de  $\text{H}_2\text{O}$ ) lorsque la quantité de platine augmente. Cependant le film de polypyrrole peut participer à la réduction de l'oxygène avec production d'eau oxygénée [10, 11], ce qui conduit à la dégradation du film par oxydation et à une diminution de l'activité électrocatalytique. D'autres matériaux (Pd dispersé dans le polythiophène [12], le polypyrrole [13], ou la polyaniline [14]) ont été utilisés pour la réduction de l'oxygène. En particulier, Yassar *et al.* [12] ont obtenu des activités spécifiques élevées pour la réduction de l'oxygène en contrôlant la taille des particules par la durée des impulsions de potentiel utilisées pour le dépôt du Pd (160 A/g pour des tailles de l'ordre de 6 nm).

### I-2.2. Films de métalloporphyrines et de phthalocyanines

Des porphyrines de cobalt [15] ou des phthalocyanines de fer [16] tétrasulfonées ont été introduites dans des films de polypyrrole comme contre-ions pendant le processus d'électropolymérisation. Ces électrodes ainsi modifiées ont une bonne activité électrocatalytique pour la réduction de l'oxygène, donnant lieu à un processus à 4 électrons (production d'eau) avec la phthalocyanine de fer [17]. Par exemple, l'activité électrocatalytique, pour la réduction de l'oxygène, de différentes électrodes modifiées par des films de polymères conducteurs contenant des porphyrines ou des phthalocyanines de fer ou de cobalt est résumée dans la figure 4. Cependant, la stabilité des films de polymères ainsi modifiés n'est pas excellente, les macrocycles tétrasulfonés pouvant être expulsés du film aux potentiels plus négatifs où se produit la réduction de l'oxygène [18, 19]. Pour ces raisons la voie d'approche consistant à électropolymériser un complexe dont le macrocycle est substitué par des groupes électropolymérisables (voir le paragraphe I-1 et la référence 6, par exemple) est plus attractive. Ainsi l'électropolymérisation de la tétramino-phthalocyanine de cobalt et de la tétra(*o*-aminophényl)porphyrine de cobalt ou de fer en milieu organique conduit à des polymères (CoTAPc, CoTAPP, FeTAPP) relativement stables en milieux aqueux acides. Leur activité électrocatalytique pour la réduction de l'oxygène à 4 électrons est importante, en particulier avec la poly(tétramino-phthalocyanine) de cobalt [20].

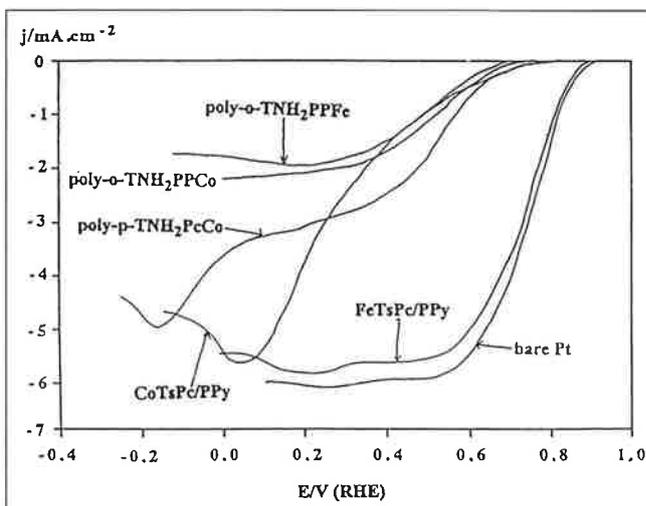


Figure 4 - Réduction électrocatalytique de l'oxygène à différentes électrodes modifiées à base de macrocycles de fer ou de cobalt dispersés dans le polypyrrole (PPy), ou électropolymérisés ( $\text{H}_2\text{SO}_4$  0,5 M,  $T = 25^\circ\text{C}$ ;  $v = 2 \text{ mV s}^{-1}$ ;  $\Omega = 2500 \text{ tour min}^{-1}$ ); MTsPc = phthalocyanine tétrasulfonée; polyTNH<sub>2</sub>(PPM) ou (PcM) = tétraaminophényl porphyrine ou tétraamino phthalocyanine.

## I-3. Activation électrochimique du dioxyde de carbone

J.-C. Moutet

Le gaz carbonique, sous forme de carbonates et de dioxyde de carbone, est une source de carbone très abondante et bon marché. Cependant, sa grande stabilité nécessite une activation réductrice très efficace, telle que le procédé Fisher-Tropsch, pour convertir cette forme la plus oxydée du

carbone en combustibles et autres produits à haute valeur ajoutée (*schéma 1*), ou dans un but de dépollution. D'une manière générale, la réduction électrochimique du  $\text{CO}_2$  sur des électrodes métalliques massives est peu sélective (*schéma 2*), passivante et nécessite l'application de surtensions importantes [21]. Les cathodes catalytiques qui conjuguent l'activité et la sélectivité de catalyseurs moléculaires avec les avantages liés à leur immobilisation sur une électrode, sont une approche très attractive pour atteindre à plus ou moins long terme l'objectif de mettre au point une activation efficace du dioxyde de carbone.

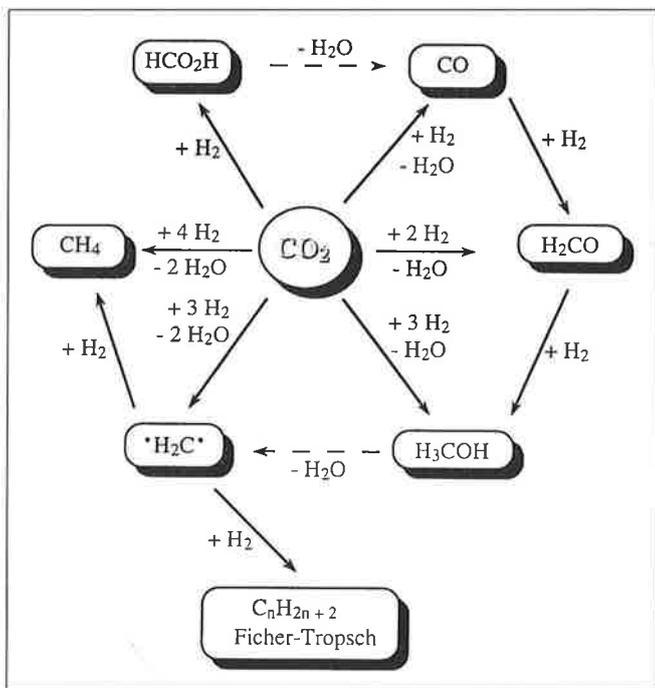


Schéma 1 - Activation réduction du dioxyde de carbone par l'hydrogène moléculaire.

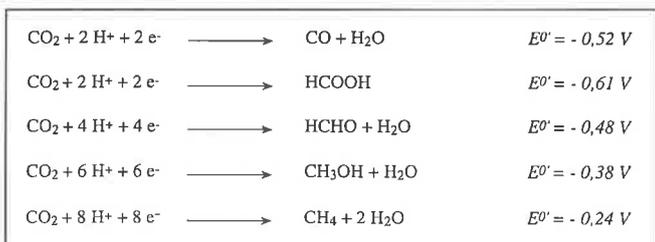


Schéma 2 - Réduction électrochimique du dioxyde de carbone en milieu aqueux (potentiels vs ENH) [22].

Un grand nombre de systèmes photo- et électrocatalytiques, utilisant en particulier comme catalyseurs homogènes des complexes macrocycliques (porphyrines, phtalocyanines, azaannulènes), polypyridiniques ou phosphorés de métaux de transition et des clusters fer-soufre, ont été étudiés pour la réduction électrocatalytique du dioxyde de carbone en milieu homogène et sur électrodes modifiées [22]. A côté des avantages inhérents à leur immobilisation à la surface d'une électrode (voir l'introduction de ce chapitre), nous verrons que les électrodes modifiées ont permis de concevoir des systèmes électrocatalytiques plus sophistiqués associant plusieurs composants, ou faisant appel à des maté-

riaux n'ayant pas leur équivalent en catalyse homogène. Enfin, dans ce domaine l'électrochimie est là encore un important outil synthétique pour l'élaboration, par électropolymérisation, de cathodes catalytiques.

### I-3.1. Cathodes modifiées par des catalyseurs classiques

Le transfert de l'activité de ces catalyseurs moléculaires de la phase homogène à la phase supportée a pu être très simplement réalisé par leur adsorption en monocouche sur électrode, comme dans le cas de phtalocyanines de cobalt et de nickel [23]. Par contre, l'électropolymérisation de complexes du type  $\text{Re}(\text{bpy})(\text{CO})_3\text{Cl}$  [24] et  $[\text{Co}(\text{terpy})_2]^{2+}$  [25] (bpy = 2,2'-bipyridine, terpy = 2,2':6',2''-terpyridine) dont les ligands azotés sont substitués par des groupes vinyle ou pyrrole, ou leur incorporation dans une membrane de Nafion [26], est une voie d'accès à des matériaux catalytiques tridimensionnels. De ces études conduites en milieu organique et aqueux, il ressort que l'immobilisation de ces catalyseurs sur électrode s'accompagne d'une augmentation significative de leur stabilité en fonctionnement. Enfin, seuls des produits issus d'une réduction biélectronique du  $\text{CO}_2$  ont pu être obtenus sur ces cathodes, à savoir le monoxyde de carbone et l'acide formique (*schéma 3*). Ce dernier composé est plus particulièrement formé en milieu aqueux faiblement acide.

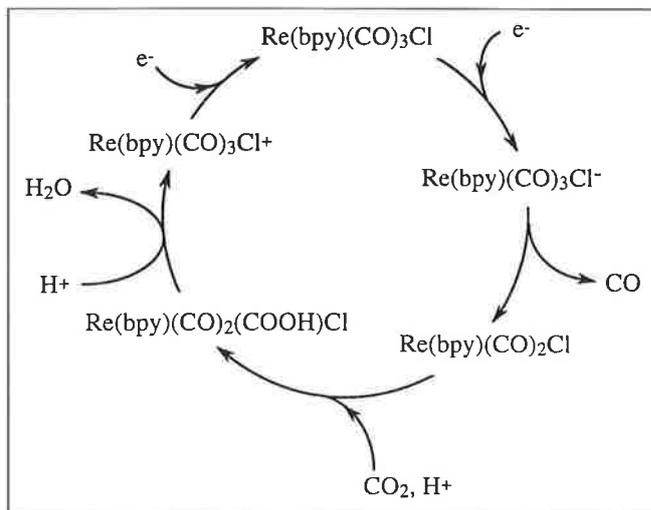


Schéma 3 - Réduction biélectronique du  $\text{CO}_2$  en  $\text{CO}$  catalysée par un complexe du rhénium en milieu hydro-organique.

### I-3.2. Un électropolymère organométallique

La polymérisation électrochimique de complexes métalliques est aussi une voie d'accès à des polymères originaux très actifs pour l'activation du dioxyde de carbone. Par exemple, la réduction du complexe  $\text{Ru}(\text{bpy})(\text{CO})_2\text{Cl}_2$  conduit au dépôt quantitatif sur électrode d'un matériau polymère insoluble (*figure 5A*) caractérisé par un enchaînement de liaisons métal-métal [27]. Ce polymère organométallique peut être synthétisé par électroréduction au cœur d'un film de polypyrrole fonctionnalisé par le complexe monomère [28], conduisant à un véritable polymère « organo-inorganique » à la stabilité accrue (*figure 5B*). Ces nou-

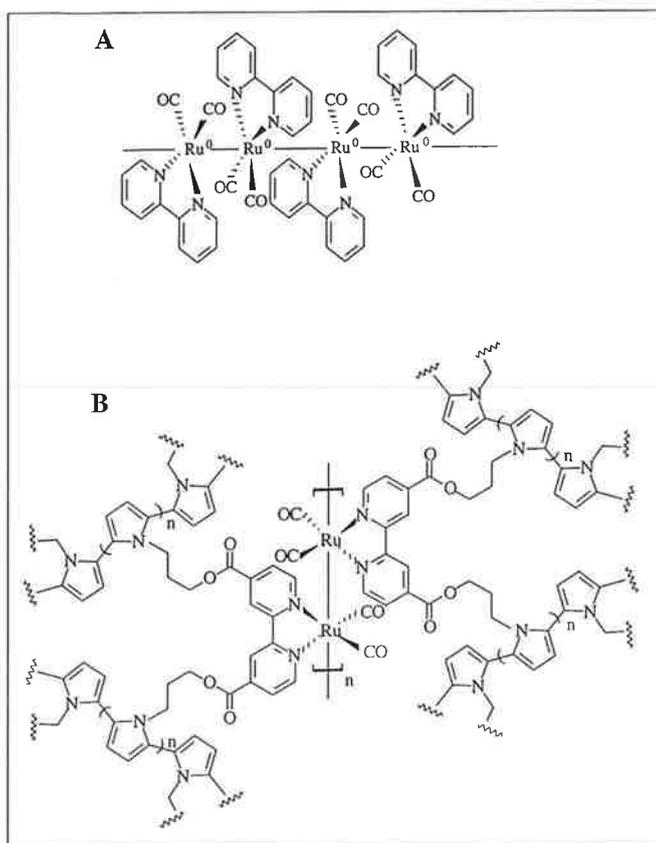


Figure 5 - Polymère organométallique obtenu par électroréduction d'un complexe carbonyle du ruthénium (A) en solution et (B) préalablement immobilisé dans un film de polypyrrole.

veaux matériaux sont les prototypes de nouvelles cathodes moléculaires actives pour la réduction du  $\text{CO}_2$  en CO et en formiate, en milieu organique ou aqueux.

### I-3.3. Réduction multiélectronique du $\text{CO}_2$ : systèmes catalytiques multi-composants

La réduction du dioxyde de carbone pour synthétiser des dérivés tels que le méthanol ou les alcanes nécessite le développement de procédés plus sophistiqués capables de transférer 6 à 8  $e^-$  par molécule de  $\text{CO}_2$  (schéma 2). Par exemple, l'électroréduction en milieu aqueux du dioxyde de carbone sur des électrodes modifiées par un film inorganique (sel d'Everitt, bleu de Prusse, porphyrine métallique) ou organique (quinone) et en présence d'un complexe du cobalt ou du fer comme catalyseur, permet de produire du méthanol et même des composés en  $\text{C}_2$  ou  $\text{C}_3$ , avec il est vrai de faibles rendements chimiques et électriques [29]. Un système « tout solide », constitué d'une bicouche de bleu de Prusse et de polyaniline dans laquelle est incorporé le catalyseur, a même été décrit [29c]. Le rôle du film recouvrant l'électrode est multiple : adsorption du catalyseur, médiation du transfert d'électron et limitation du dégagement concurrentiel d'hydrogène.

Les matériaux composés d'un simple polymère redox du type polyviologène incorporant des microparticules de palladium métallique sont actifs pour la réduction en milieu aqueux du  $\text{CO}_2$  en formiate, avec une faible surtension (- 0,7 V ECS) et de bons rendements électriques [30]. La

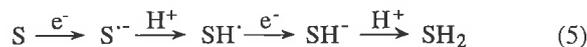
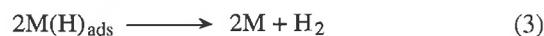
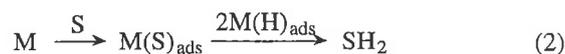
réduction a pu être conduite jusqu'au méthanol dans le cas d'un composite poly(mercapto-quinone)-ruthénium [31]; la forme exacte du ruthénium dans le film, complexe ou agrégats métalliques, n'ayant pas été clairement établie.

L'approche la plus attractive est donc a priori un système à deux composants catalytiques. Son intérêt a été démontré dans le cas d'un film de poly[Rh(bpy)(cyclooctadiène)]<sup>+</sup> contenant une dispersion de rhodium métallique [32], qui a permis de réduire en milieu organique ou hydro-organique le dioxyde de carbone en méthanol et en hydrocarbures, dont la distribution permet de voir en cette catalyse un véritable « Fisher-Tropsch » électrochimique. Très schématiquement, le  $\text{CO}_2$  réduit en CO par le complexe de rhodium est ensuite hydrogéné par l'hydrogène produit par réduction des protons sur les particules de rhodium métallique. L'optimisation de tels matériaux catalytiques nécessite cependant un choix judicieux des différents catalyseurs et des conditions opératoires pour atteindre un juste équilibre entre réduction du  $\text{CO}_2$  et production d'hydrogène, améliorer les rendements et limiter la surtension.

## I-4. Hydrogénation électrocatalytique

### J.-C. Moutet

L'hydrogénation électrocatalytique (HEC) de substrats organiques insaturés peut être vue comme l'analogue électrochimique de l'hydrogénation catalytique classique [33]. Ce procédé électrochimique correspond en effet à la réaction de l'hydrogène, produit par réduction de l'eau ou de protons puis adsorbé sur une électrode métallique M (eq. 1), avec une molécule insaturée S également adsorbée (eq. 2). L'efficacité du processus est déterminée par sa compétition avec le dégagement d'hydrogène (eq. 3 et 4). Enfin l'HEC doit être distinguée de la plus classique réaction de réduction - protonation (eq. 5), qui le plus souvent nécessite l'application de potentiels plus négatifs et conduit à une sélectivité différente.



Ce procédé d'électrosynthèse n'a jamais connu le même succès que l'hydrogénation classique utilisant des catalyseurs hétérogènes ou homogènes, malgré les avantages qu'on peut lui reconnaître. En particulier, l'hydrogène est produit *in situ*, en quantité contrôlée et sous une forme déjà activée, ce qui permet de conduire les hydrogénations dans des conditions de pression et de température plus douces qu'en hydrogénation catalytique. La principale limitation de l'HEC est essentiellement liée à la faible activité catalytique des électrodes conventionnelles, comme, en particulier,

celles en platine ou platine-platiné. Des progrès significatifs ont été réalisés avec l'utilisation de cathodes obtenues par dépôt électrochimique de métaux catalytiques (métaux nobles, nickel) sur des plaques métalliques ou sur carbone [34-36]. Une avancée majeure a été l'introduction du nickel de Raney, en poudre [37] ou immobilisé sur une plaque de nickel [38], comme matériau d'électrode. On peut aussi attendre un regain d'intérêt pour ce procédé d'électrosynthèse avec le développement de matériaux moléculaires d'électrode constitués soit de dispersions de microparticules de métaux catalytiques dans des films de polymères, soit de polymères dérivés de catalyseurs homogènes du type complexes de métaux de transition [39]. Ces deux derniers points sont développés dans la suite de ce paragraphe.

#### 1-4.1. Microparticules métalliques dispersées dans des films de polymères

L'intérêt de disperser des particules de métaux catalytiques dans des matrices polymériques est d'augmenter la surface spécifique du catalyseur, donc d'améliorer l'efficacité catalytique du système. Un aspect non négligeable est la diminution des coûts, grâce à une importante réduction des quantités de métaux nécessaires pour obtenir un effet catalytique important. L'adsorption d'un polymère à la surface de microparticules métalliques a aussi un effet stabilisant à long terme, en prévenant leur aggrégation en particules de plus grande taille moins actives et en limitant les pertes de catalyseur par dégradation chimique ou physique.

On trouve dans la littérature une quantité importante de résultats relatifs à l'incorporation de platine et d'autres métaux nobles dans diverses matrices polymériques, ainsi qu'à l'application de ces matériaux à la réduction électrocatalytique de l'eau en hydrogène. Les polymères utilisés peuvent être isolants (Nafion en particulier [40]), conducteurs redox (poly viologène [41, 42]), ou conducteurs électroniques (poly(3-méthylthiophène) [43] et polyaniline [44], par exemple). Ces polymères « dopés » par des métaux à propriétés catalytiques ont également montré leur activité pour l'hydrogénation électrocatalytique de composés organiques insaturés, en milieu aqueux ou hydroorganique. On peut citer comme exemples caractéristiques d'électrosynthèse, à l'échelle du laboratoire, l'hydrogénation de l'éthylène sur palladium déposé sur une membrane poreuse de polytétrafluoroéthylène [45] et celle d'énones sur un film de Nafion contenant des microparticules de nickel [46].

La polymérisation électrochimique de dérivés du pyrrole a été appliquée à la synthèse de cathodes catalytiques stables, par dépôt de films sur des supports de grande surface, comme des feutres de carbone, dans lesquels sont ensuite électroprécipitées des microparticules de métaux nobles [47, 48]. Ces polymères échangeurs d'anions du type poly(pyrrole-alkylammonium) conduisent à une bonne répartition du métal dans toute la matrice polymérique, par incorporation par échange d'ions de complexes métalliques anioniques ( $\text{PtCl}_4^{2-}$ ,  $\text{PdCl}_4^{2-}$ ,  $\text{RhCl}_6^{3-}$ , par exemple) suivie de leur électroréduction [47]. L'activité de ces matériaux peut

être encore améliorée en associant au catalyseur métallique un médiateur redox assurant un transport d'électrons efficace dans le film à un potentiel correspondant à celui de la réduction des protons [42, 49] (schéma 4). Ces cathodes sont stables et efficaces pour l'HEC sélective de doubles et triples liaisons C-C conjuguées avec un noyau aromatique ou un groupe carbonyle, même en utilisant de faibles quantités de métaux (quelques  $\mu\text{moles}$  par  $\text{cm}^2$ ). Leur activité est modulable, car il est possible de jouer sur la nature et la quantité de catalyseur incorporé dans le polymère, voire même d'utiliser des catalyseurs bi-métalliques [50].

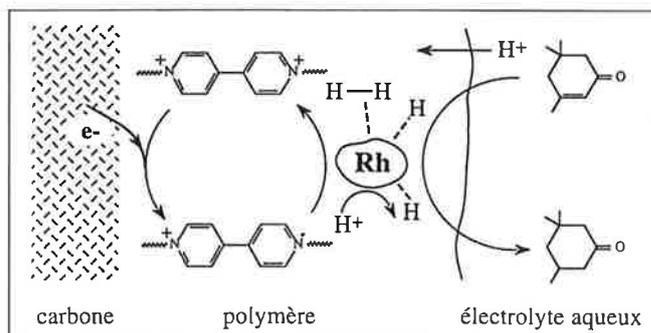


Schéma 4 - Hydrogénation électrocatalytique d'une énone sur un film de poly(pyrrole-viologène) contenant une dispersion de microparticules d'un métal noble.

Des électrodes composites réalisées par dépôt de métaux nobles (Au, Pt, Au-Pt) sur les deux faces d'une membrane de Nafion ont également été utilisées dans un système d'électrolyse moins conventionnel du type *spe* (« solid polymer electrolyte »), dont le principe de fonctionnement est décrit dans le schéma 5 [51]. Les protons formés dans le compartiment anodique migrent à travers la membrane pour être réduits en hydrogène sur l'autre face, où est alors hydrogénée une oléfine par exemple. Malgré des rendements électriques peu élevés, même à de faibles densités de courant ( $5 \text{ mA/cm}^2$ ), cette technique présente l'avantage de simplifier la séparation et la purification des produits qui se trouvent en milieu non électrolytique.

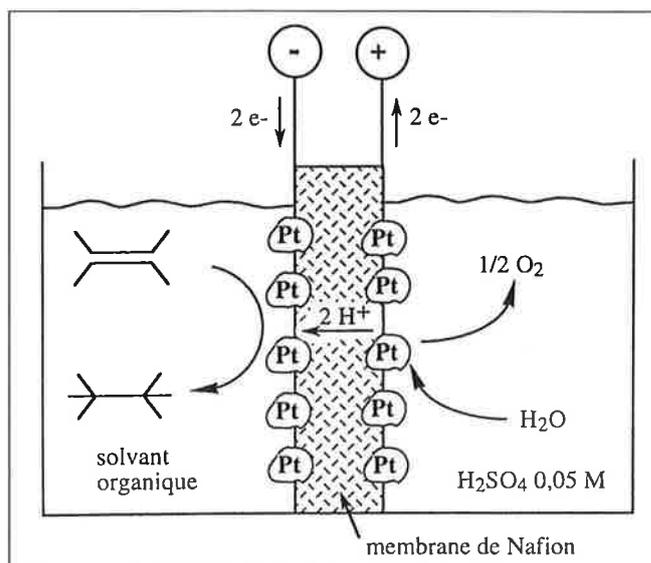


Schéma 5 - Hydrogénation électrocatalytique d'une oléfine par la méthode *spe*.

#### I-4.2. Matériaux d'électrode purement moléculaires

Les différentes cathodes décrites dans le paragraphe précédent sont dérivées de catalyseurs de type hétérogène. L'utilisation en HEC de catalyseurs homogènes tels que des complexes de métaux de transition est, a priori, un approche encore plus attractive, si on considère la grande activité et l'importante sélectivité (régio- et stéréosélectivité) qu'on peut atteindre avec ces catalyseurs. Alors que de nombreux complexes métalliques ont été étudiés comme catalyseurs pour diverses activations électrochimiques, il est surprenant de constater que leur utilisation en HEC n'a été que très récemment abordée, quoique leur application dans le domaine de l'électroréduction et de la photoréduction des protons en hydrogène soit maintenant bien établie [52].

C'est dans ce contexte qu'ont été récemment développés et appliqués en hydrogénation électrocatalytique des matériaux moléculaires d'électrode, obtenus par électropolymérisation de complexes polypyridiniques du rhodium (III) [53-55] et du palladium (II) [56] substitués par des groupes pyrrole. Ces films de polymères, déposés sur carbone, se sont révélés stables et actifs pour l'hydrogénation d'oléfines et de cétones, avec des rendements et des nombres de cycles élevés. Un aspect important est que ces matériaux fonctionnent dans des électrolytes aqueux ou hydro-organiques, l'immobilisation des catalyseurs sur électrode permettant de s'affranchir des problèmes que pourraient poser leur solubilité et leur stabilité dans ces milieux. Le mécanisme de la réaction peut être considéré comme l'activation électrochimique d'une hydrogénation par transfert d'hydrogène, le donneur étant simplement l'eau et l'intermédiaire catalytique clef étant un complexe métal-hydrure (schéma 6).

Ces cathodes catalytiques sont aussi un moyen de construire des interfaces électrode-électrolyte chirales à partir de catalyseurs optiquement actifs. Cette possibilité a été tout récemment démontrée [57] avec une électrode modifiée synthétisée à partir d'un complexe électropolymérisable du rhodium contenant un ligand chiral. Cette cathode présente la sélectivité du complexe métallique immobilisé et a permis d'hydrogéner des cétones prochirales avec des excès énantiomériques significatifs. Cette expérience démontre la vali-

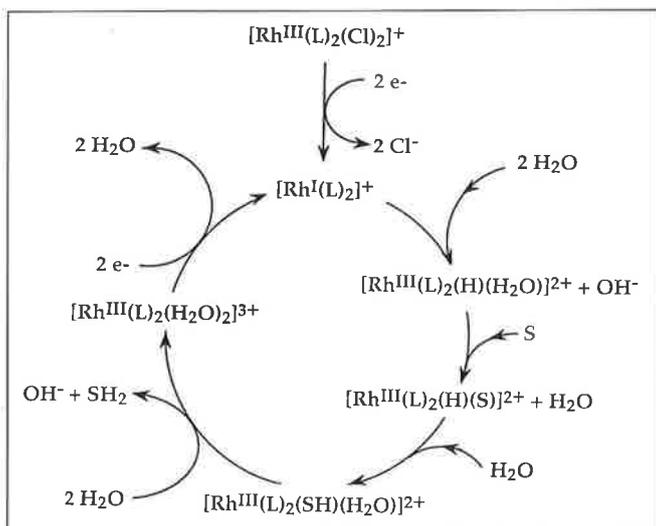


Schéma 6 - Cycle proposé pour l'hydrogénation électrochimique d'un substrat S en produit  $\text{SH}_2$  catalysée par un complexe du rhodium.

dité de cette approche pour la mise au point de synthèses électrochimiques asymétriques, un aspect de l'électrochimie moléculaire qui reste à développer malgré les multiples tentatives qui ont pu être faites.

#### I-5. Oxydation d'alcools et de petites molécules à des électrodes de polymères conducteurs modifiés par l'insertion de métaux catalytiques

Claude Lamy, Jean-Marie Léger

##### I-5.1. Oxydation d'alcools

L'oxydation de petites molécules organiques sur métaux nobles est l'objet de nombreux travaux depuis plusieurs années, particulièrement dans le cas du méthanol [58], pour son intérêt comme carburant dans une pile à combustible à oxydation directe [59]. L'idée d'utiliser des polymères organiques conducteurs est apparue relativement récemment [44, 60]. L'inclusion de métaux (Pt, Pd, Ru...) à l'intérieur d'une matrice de polymère conducteur électronique (polyaniline, polypyrrole, polythiophène...) est en effet un moyen intéressant pour disperser un catalyseur ou un électrocatalyseur à l'échelle moléculaire [61]. Chaque site catalytique peut alors être accessible aux molécules réagissantes, si bien que l'activité (électro)catalytique est fortement augmentée. De plus, les propriétés catalytiques peuvent être modifiées, soit par interaction du catalyseur avec le substrat conducteur électronique, soit par formation d'agrégats métalliques de structure particulière. Enfin, le processus d'activation électrocatalytique se produit à l'intérieur de la matrice polymère, si bien que la réaction électrochimique perd son caractère hétérogène et relève plutôt de la catalyse homogène. Cela conduit à la notion d'électrodes volumiques, où la surface développée accessible à la réaction (électro)catalytique devient importante. L'insertion de métaux à l'état divisé est usuellement réalisée par réduction électrochimique d'un sel précurseur ( $\text{H}_2\text{PtCl}_6$ ,  $\text{PdCl}_4$ ,  $\text{RuCl}_3$ ...), soit à potentiel contrôlé (constant, impulsif...), soit à intensité constante.

Les premiers travaux de Kost *et al.* [44] et de Ocon-Esteban *et al.* [60] ont montré que des quantités de platine très faibles (de l'ordre de quelques dizaines de  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) dispersées dans un film de polyaniline électrodéposé sur un support inactif (électrode d'or ou de carbone vitreux) sont suffisantes pour activer fortement l'oxydation du méthanol (densité de courant apparente au moins 100 fois plus grande que sur le platine lisse). De plus, le platine dispersé a un comportement différent du platine massif, notamment en ce qui concerne l'empoisonnement par le monoxyde de carbone issu de la chimisorption dissociative du méthanol [62]. En effet, les techniques de spectroscopie infrarouge de réflexion *in situ* ont permis de constater la quasi-absence de la bande d'absorption IR (vers  $2050 \text{ cm}^{-1}$ ) associée à CO linéairement adsorbé [63]. Cela pourrait résulter de la structure particulière des monocristallites de platine (taille de quelques nanomètres), car l'oxydation électrocatalytique du méthanol a été montrée être très sensible à la structure [64]. Une autre possibilité résulterait d'interactions particulières entre certains sites du polymère conducteur et les atomes de platine dans la cristallite.

D'autres polymères conducteurs, tels le polypyrrole [65, 66], le polythiophène [67], ou la polyméthoxyaniline [68], ont été modifiés par du platine dispersé pour oxyder le méthanol, mais dans certains cas (polythiophène) l'interaction des cristallites de Pt avec la matrice polymère conductrice conduit à une diminution du courant d'oxydation [69] (figure 6).

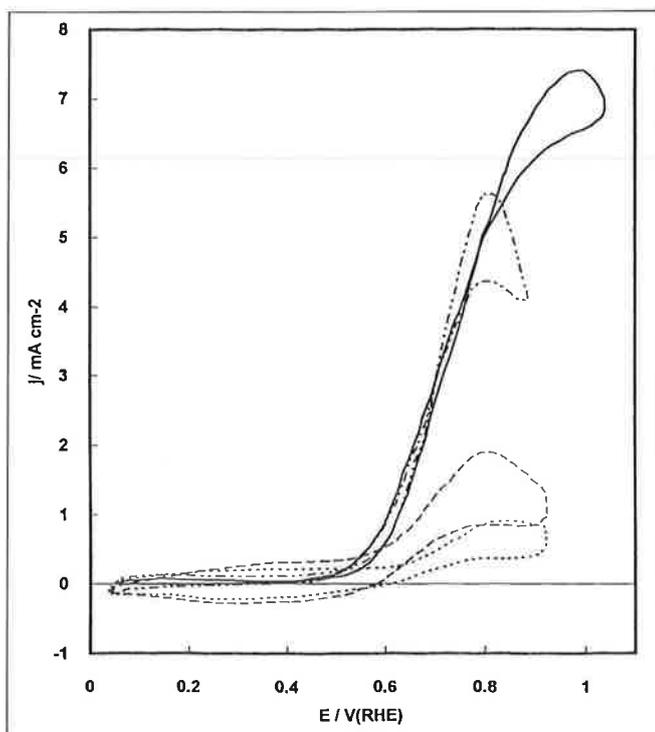


Figure 6 - Oxydation électrocatalytique de  $\text{CH}_3\text{OH}$  0,1 M dans  $\text{HClO}_4$  0,1 M à une électrode d'or recouverte de différents polymères conducteurs modifiés par 0,1  $\text{mg cm}^{-2}$  de platine dispersé ( $v = 5 \text{ mV s}^{-1}$ ;  $T = 25^\circ\text{C}$ ) : (—) polyaniline ; (---) polypyrrole ; (- - -) poly(3-méthylthiophène) ; (....) copolymère de pyrrole-dithiophène.

Afin de diminuer l'empoisonnement des catalyseurs par CO et d'augmenter l'activité électrocatalytique, des alliages à base de platine ont été considérés. Les systèmes Pt/Ru et Pt/Sn donnent les meilleurs résultats [70]. De tels systèmes catalytiques ont été également dispersés dans des polymères conducteurs, notamment la polyaniline [71, 72] et le poly-3-méthylthiophène [73]. Cependant, les meilleurs résultats ont été obtenus avec la polyaniline ou le polypyrrole, le polyméthylthiophène conduisant à des densités de courant d'oxydation du méthanol plus faibles [74]. Des alliages Pt/Sn, Pt/Ru et Pt/Ru/Sn dispersés dans la polyaniline conduisent tous à une diminution des surtensions d'oxydation du méthanol par suite du déplacement important (de l'ordre de 150 mV par rapport au platine pur) des caractéristiques courant-tension vers les potentiels plus négatifs [74-76].

L'oxydation électrocatalytique d'autres alcools (éthanol, alcool benzylique...) a également été considérée. Dans le cas de l'éthanol, des catalyseurs à base de platine (platine pur, alliages Pt/Ru et Pt/Sn) ont été dispersés dans la polyaniline [72, 74]. La modification du platine par alliage avec l'étain a un effet remarquable, puisque les courbes intensité-potential sont déplacées de plus de 200 mV vers les potentiels plus négatifs, l'oxydation de l'éthanol débutant à 0,2 V/ERH. Les densités de courant sont aussi multipliées par un facteur 2.

Par ailleurs, des électrodes modifiées, préparées à partir de complexes polypyridiniques du ruthénium substitués par des groupes pyrrole, ont permis l'oxydation de l'alcool benzylique en benzaldéhyde et du 1-phényléthanol en acétophénone respectivement, avec des rendements faradiques élevés (supérieurs à 80 %) [77, 78]. Les états de valence du ruthénium supérieurs à (III) constituent des électrocatalyseurs particulièrement efficaces pour oxyder les molécules organiques. Ainsi, des particules de tétraoxyde de ruthénium,  $\text{RuO}_2$ , insérées dans des films de poly-[ $\text{Ru}(2,2'$ -bipyridine) $_3$ ] $^{2+}$  ont une activité catalytique importante pour l'électrooxydation de divers alcools primaires et secondaires (« turn over » dépassant 10 000 dans certains cas) [79, 80]. Enfin, l'oxydation de l'alcool cinnamique conduit non seulement au cinnamaldéhyde, mais également à du glyoxal et du benzaldéhyde par un processus à 6 électrons [80].

### 1-5.2. Oxydation du monoxyde de carbone et de l'acide formique

A côté des alcools, l'oxydation d'autres petites molécules organiques ( $\text{HCOOH}$ ,  $\text{HCHO}$ ...) et du monoxyde de carbone (CO) a été étudiée à des électrodes de platine et de ses alliages dispersés dans un polymère organique conducteur. L'oxydation de l'acide formique a été particulièrement considérée. Les premières études de Gholamian *et al.* [81] ont montré que l'insertion de 100  $\mu\text{g/cm}^2$  de Pt dans la polyaniline permettait d'accroître fortement (d'un facteur 10) les courants d'oxydation, tout en diminuant sensiblement les phénomènes d'empoisonnement. Ces résultats ont été

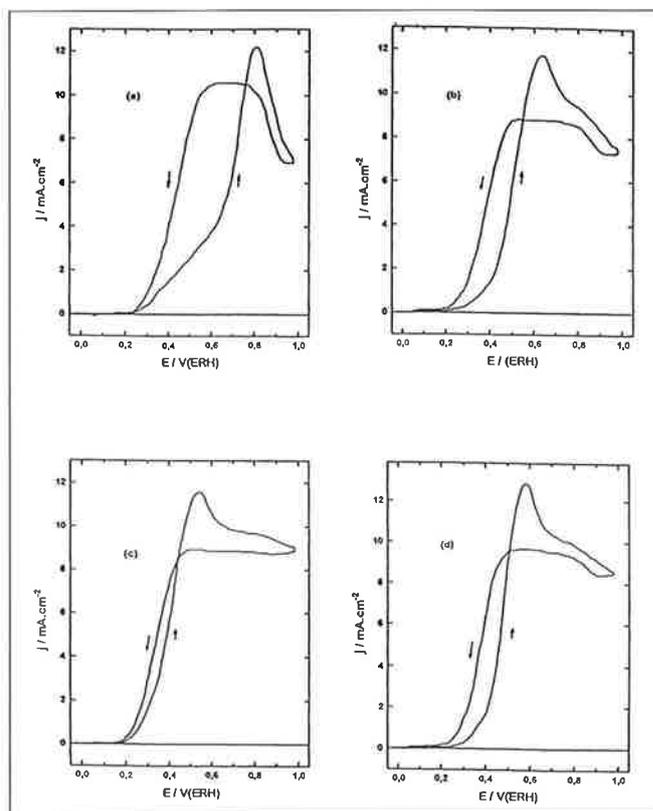


Figure 7 - Voltammogrammes d'électrodes à base de platine dispersé ( $m_{\text{Pt}} = 0,1 \text{ mg cm}^{-2}$ ) dans la polyaniline (PAni), enregistrés à  $5 \text{ mV s}^{-1}$  et à la température ambiante, en milieu  $\text{HClO}_4$  0,1 M +  $\text{HCOOH}$  0,1 M : (a) PAni/Pt ; (b) PAni/Pt-Ru ; (c) PAni/Pt-Sn ; (d) PAni/Pt-Ru-Sn.

confirmés par Laborde *et al.* [63, 67, 75]. D'autres polymères organiques conducteurs (poly-*o*-toluidine [82], polythiophène [83]) ont été utilisés pour disperser les catalyseurs Pt et alliages Pt/Ru [75], Pt/Pb [83] et Pt/Sn [76]. La présence de Pb [83] et surtout d'étain [76] diminue fortement l'empoisonnement des électrodes par les résidus d'adsorption de l'acide formique (espèces poisons vraisemblablement de type CO), tout en déplaçant les courbes intensité-potentiel vers les potentiels plus cathodiques (diminution de la surtension, par rapport au Pt seul, de 100 mV en-dessous de 4 mA/cm<sup>2</sup> et de plus de 300 mV pour des densités de courant plus élevées) (figure 7). Un comportement similaire a été trouvé pour l'oxydation de l'aldéhyde formique HCHO [76].

Les alliages Pt/Sn dispersés dans la polyaniline ont des propriétés remarquables pour diminuer les surtensions d'oxydation de HCOOH, HCHO et, surtout, de CO. Dans ce dernier cas, les courbes intensité-potentiel sont déplacées négativement de 600 mV, si bien que l'oxydation de CO débute à bas potentiel (autour de 0,2 V/ERH) et surtout il apparaît un courant limite de transport par diffusion de CO au sein de la solution [84]. Dans ces conditions, l'électrode n'est plus bloquée par une chimisorption forte. Une étude des courants de diffusion à l'électrode tournante a permis de déterminer avec précision le coefficient de diffusion de CO au sein d'une solution d'acide perchlorique ( $D \approx 2,1 \cdot 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ ) (figure 8).

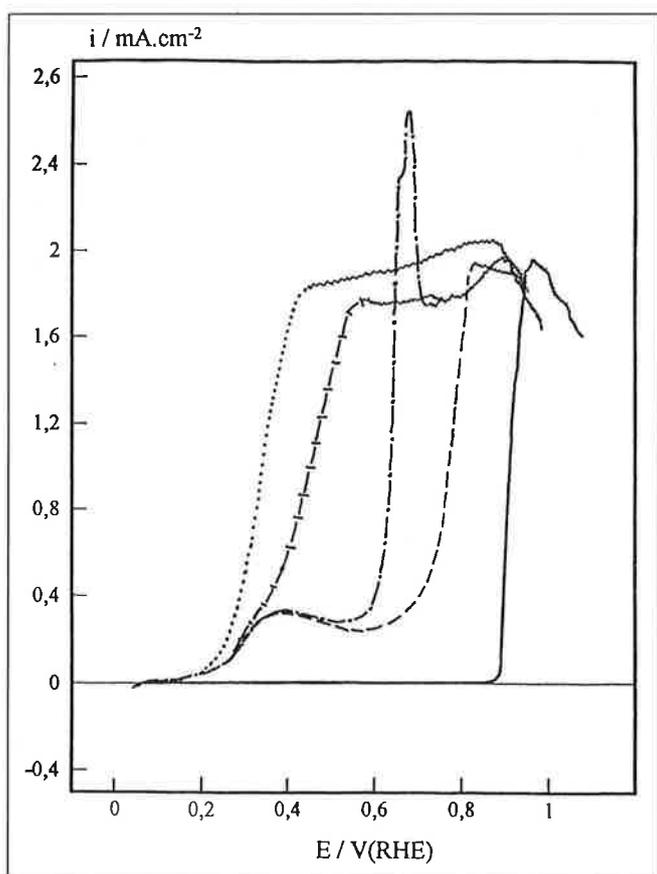


Figure 8 - Oxydation électrocatalytique de CO dissous à saturation dans HClO<sub>4</sub> 0,1 M à une électrode or/polyaniline modifiée par différents catalyseurs dispersés à base de platine ( $m_{\text{Pt}} = 0,1 \text{ mg cm}^{-2}$ ;  $v = 5 \text{ mV s}^{-1}$ ;  $T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$ ): (—) platine lisse massive; (---) platine dispersé; (— · —) Pt/Ru dispersé; (.....) Pt/Sn dispersé; (-|-|-) Pt/Ru/Sn dispersé.

## II - Electroanalyse et capteurs

Les nouveaux besoins en outils analytiques, dans des domaines comme ceux de l'environnement, du médical et du contrôle qualité en particulier, ont créé une demande croissante en capteurs qui doivent être sensibles, stables, rapides, sélectifs et simples d'utilisation. Ce cahier des charges peut être rempli par un capteur électrochimique constitué par une couche « sensible » déposée à la surface d'une électrode. Cet exposé restera essentiellement restreint aux capteurs ampérométriques, qui sont a priori rapides, très sensibles et ne demandent qu'une instrumentation simple. Dans ce domaine également, l'électrochimie moléculaire est un excellent outil pour caractériser, mais aussi pour synthétiser ces couches sensibles.

Une espèce chimique ou biologique peut, dans de nombreux cas, être simplement détectée par son oxydation ou sa réduction à un potentiel bien défini. Cependant, la sensibilité et la sélectivité d'une électrode peuvent être largement améliorées grâce à la modification chimique de sa surface. Un simple médiateur redox accélèrera le transfert d'électron avec le substrat à détecter. La sélectivité du capteur sera encore améliorée avec l'utilisation d'un catalyseur très spécifique de la molécule cible. Une membrane ionique permettra de concentrer à l'électrode une espèce électroactive, une membrane perm-sélective de diminuer les interférences parasites. La détection électrochimique d'une espèce électroinactive est même possible, grâce aux perturbations des propriétés électrochimiques d'une couche sensible interagissant spécifiquement avec l'espèce cible. Ces différents cas de figure sont illustrés dans ce paragraphe par quelques exemples caractéristiques.

### II-1. Capteurs électrochimiques pour le dosage du monoxyde d'azote NO

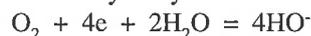
Jacques Devynck, Fethi Bedioui

L'analyse directe du monoxyde d'azote au moyen de capteurs électrochimiques est de mise au point assez récente. Son développement a accompagné l'explosion des travaux sur cette petite molécule, dont les implications dans les systèmes biologiques sont extrêmement variées. On se reportera, en particulier pour les études de caractérisation, à une récente mise au point [85].

Les systèmes mis en œuvre reposent initialement sur certaines analogies de comportement avec l'oxygène moléculaire :

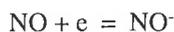
— O<sub>2</sub> et NO sont électriquement neutres et de petite taille, ce qui leur permet de franchir par simple diffusion toutes les « barrières » comme les membranes artificielles ou les membranes cellulaires;

— La détection met en jeu des propriétés redox simples, rendant les capteurs électrochimiques (directs ou indirects) bien adaptés à leur détermination. Le principe de l'électrode de Clark, utilisée pour le dosage de l'oxygène, repose sur sa réduction directe en ion hydroxyle.



Dans le cas de NO, la réaction est soit une oxydation,  
 $\text{NO} - e = \text{NO}^+$

soit une réduction.



Ces réactions sont réalisées dans des conditions où la détection est, a priori, très peu sélective. La sélectivité est introduite de deux façons : soit par l'interposition d'une membrane adaptée entre le milieu de mesure et l'électrode, soit par un traitement chimique ou électrochimique des électrodes. Les capteurs à NO utilisent, comme l'électrode à oxygène, la possibilité de limiter les interférences par une protection de l'électrode à l'aide de membranes sélectives. Dans le cas de NO, on verra qu'un traitement chimique de la surface comme l'électropolymérisation de composés moléculaires, peut améliorer considérablement les qualités des capteurs.

### II-1.1. Oxydation directe de NO : électrode du type Clark

Le premier capteur de NO décrit est une électrode de Clark modifiée (figure 9). Le capteur comprend un fil de platine de 150 à 250  $\mu\text{m}$ , placé dans un compartiment contenant KCl+HCl (pH 3,5), séparé de la solution à analyser par une membrane de néoprène (perméable à NO). La mesure est une simple ampérométrie à différence de potentiel constante (0,9 V, ref.: Ag/AgCl). La sensibilité, très variable selon l'électrode, est de l'ordre de 3 à 100 pA/ $\mu\text{M}$  [86]. Les premières mesures in vivo ont été réalisées avec cette électrode, pour mettre en évidence la libération de NO dans le cerveau de rat. D'autres applications ont été décrites, en particulier dans le domaine vasculaire.

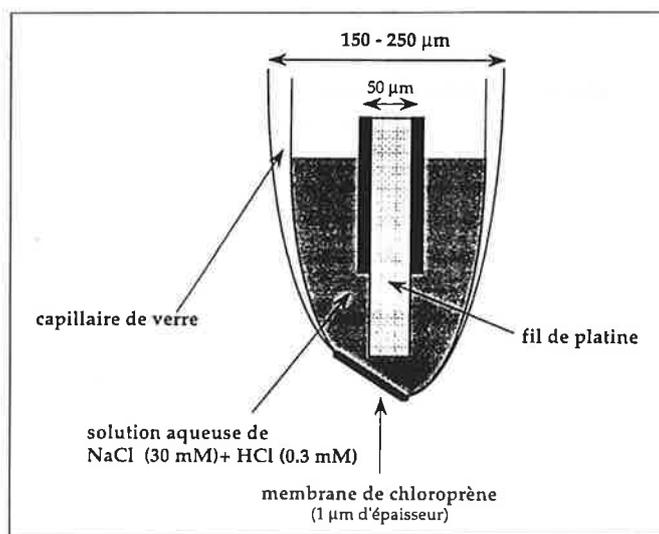


Figure 9 - Capteur à NO dérivé d'une électrode de Clark.

Une variante « tout solide » a été proposée ultérieurement par Ichimori [87] (figure 10). Une électrode de platine irradié de 200  $\mu\text{m}$  est recouverte de trois membranes : une première de KCl, une seconde de nitrocellulose et une troisième de silicone. La seconde électrode est une simple fibre de carbone. La mesure est une ampérométrie à potentiel contrôlé (0,4 V). La gamme de concentrations accessibles annoncée est de l'ordre de 6 nM à 1 mM.

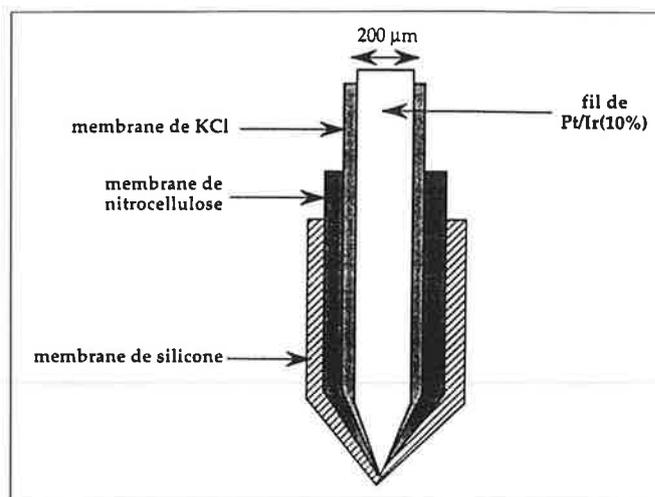


Figure 10 - Capteur à NO « tout solide ».

Ces deux capteurs sont actuellement commercialisés, le premier par WPI (Word Precision Instrument (Sarsota, USA), le second par Inter Medical Company (Nagoya, Japon).

### II-1.2. Réduction directe de NO

Un capteur de NO mettant à profit la réduction directe de NO à -1,2 V/Ag-AgCl à une ultramicroélectrode de graphite a été proposé [88]. Il n'a pas été développé du fait de sa faible sensibilité liée aux interférences des autres espèces réductibles en milieu biologique, en particulier de l'oxygène.

### II.1.3. Oxydation catalytique de NO à une électrode modifiée

Le capteur, initialement décrit par Malinski et Taha [89], constitue une excellente application des tentatives pour améliorer à la fois la sensibilité et la sélectivité en utilisant une électrode modifiée par électropolymérisation d'une métalloporphyrine. Le processus d'élaboration de l'électrode est décrit sur la figure 11 : une microfibre de carbone de quelques micromètres de diamètre (1 à 30  $\mu\text{m}$ ) est recouverte d'un film de porphyrine de nickel déposé par électropolymérisation d'une solution dans NaOH de tétrakis (3-méthoxy-4-hydroxyphényl)porphyrine de nickel. La polymérisation est effectuée par balayage du potentiel, entre 0 V et 1 V/ECS et la formation du film peut être suivie par le tracé des voltammogrammes sur lequel apparaît le couple Ni(II)/Ni(III) (figure 11A). L'électrode est ensuite recouverte d'un film de Nafion qui limite les interférences des anions, en particulier celles des ions nitrites souvent présents en même temps que NO en milieu biologique. Un voltammogramme de l'électrode ainsi recouverte permet de qualifier l'électrode ainsi préparée (figure 11C). La présence de NO est alors caractérisée par un pic à 0,7 V/ECS, avec et sans ions nitrite (figure 11D).

Plusieurs facteurs contribuent à améliorer les performances de ce capteur et à le rendre compatible avec les caractéristiques spécifiques des milieux biologiques :

- un choix judicieux des techniques analytiques, comme la voltammétrie différentielle à impulsions (VDI) ou l'ampé-

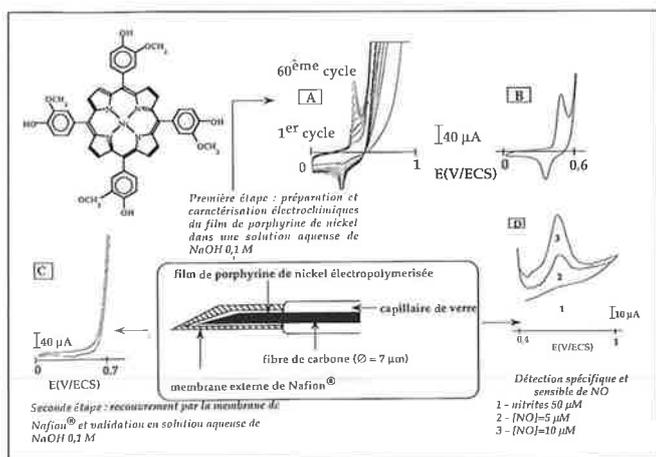


Figure 11 - (A) Synthèse, (B, C) caractérisation et (D) application à la détection du NO d'une électrode modifiée par un film de porphyrine de nickel.

rométrie différentielle à impulsions constantes (ADI) permet une très grande sensibilité et améliore la stabilité de l'électrode;

– l'utilisation d'ultramicroélectrodes sur lesquelles on observe un effet d'amplification dû à la prépondérance de la composante sphérique de la diffusion; le gain de sensibilité ajouté à celui qui résulte de l'utilisation des techniques impulsives est alors suffisant pour les applications biologiques dans le domaine vasculaire, où les concentrations de NO à mettre en évidence sont de l'ordre de 10 nM [90]. La réduction de la taille permet par ailleurs la mise en œuvre des techniques analytiques à l'échelle monocellulaire [89].

Compte tenu des performances des électrodes à porphyrine, sensiblement supérieures à celles des électrodes précédemment décrites, des variantes ont été proposées par plusieurs équipes, pour tenter en particulier d'amplifier l'effet catalytique du film de porphyrine de nickel. Cet effet catalytique est contesté [90], mais la présence de complexe de nickel apparaît indispensable au bon fonctionnement de l'électrode [91].

Les applications proposées concernent principalement, jusqu'à présent, le domaine biologique et médical, où la caractérisation *in situ* de NO est un élément déterminant dans l'étude de son rôle physiologique. Des exemples particulièrement significatifs ont été décrits en neurologie, dans le domaine cardiovasculaire et en immunologie [85, 92].

## II-2. Electrodes modifiées par un polymère échangeur d'ions pour l'analyse ou l'immunoanalyse de traces dans les milieux aqueux ou biologiques

Chantal Degrand

Les premières études sur la possibilité de préconcentrer des espèces, par échange ionique, à la surface d'une électrode modifiée par un film de polymère échangeur d'ions datent des années 1980 [93, 94]. Elles furent à l'origine d'une nouvelle technique analytique appelée voltammétrie par échange ionique (VEI) [95], dont les applications sont encore en plein développement. Cette technique a d'abord utilisé des électrodes solides (carbone vitreux, graphite pyro-

lytique, platine, or). A partir de 1984 [96, 97] sont apparues des électrodes modifiées dans leur masse (électrodes à pâte de carbone) et, très récemment, des électrodes sérigraphiées modifiées par un échangeur d'ions [98]. Dans tous les cas, l'étape de préconcentration par échange ionique est suivie d'une détection voltammétrique, le signal électrique enregistré dépendant de la concentration de l'espèce ionique électroactive incorporée.

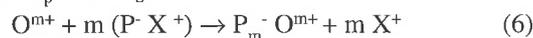
Parallèlement à l'utilisation des polymères organiques s'est développée celle des matériaux minéraux échangeurs d'ions tels que les zéolithes [99], qui peuvent être compétitifs d'un point de vue performances analytiques avec les polymères organiques. Les électrodes à pâte de graphite imprégnées de monomères ioniques, tels que des tensioactifs [100] sont également très prometteuses.

Cependant, cette section se limitera aux polymères échangeurs d'ions. Elle n'examinera pas le cas où le polymère échangeur d'ions est mélangé à un ligand capable d'interagir spécifiquement avec les espèces en solution, en particulier les cations métalliques (préconcentration par complexation) car, dans ces cas là, le polymère a un rôle secondaire.

Cet exposé s'attachera à souligner l'apport de sensibilité que procure la VEI pour l'analyse ou l'immunoanalyse de traces organiques dans les milieux aqueux ou biologiques. Il insistera sur la place privilégiée du Nafion, ionomère perfluoré polyanionique porteur de sites  $\text{SO}_3^-$ . Il tire parti de deux excellentes mises au point très récentes sur les applications analytiques des électrodes modifiées par des polymères organiques, en surface [101] ou en volume [102]. Seules seront citées quelques références parues ultérieurement.

### II-2.1. Facteurs influençant la réponse électrochimique

Considérons par exemple la préconcentration et la détection cathodique d'une espèce cationique  $\text{O}^{m+}$  à une électrode modifiée par un film polyanionique, tel que le Nafion. Le pouvoir extracteur du film dépend de l'équilibre (6) d'échange de l'espèce électroactive cationique  $\text{O}^{m+}$  et des contre-ions  $\text{X}^+$  non électroactifs présents en solution ou déjà incorporés dans le film au niveau de ses sites anioniques d'échanges P. Il est exprimé par le coefficient de sélectivité  $K_X^{\text{O}}$  auquel est associé le coefficient de distribution  $k_D = (\text{O}^{m+})_p / (\text{O}^{m+})_s$ .



$$K_X^{\text{O}} = (\text{O}^{m+})_p (\text{X}^+)_s^m / (\text{O}^{m+})_s (\text{X}^+)_p^m \quad (7)$$

Les indices p et s indiquent les concentrations dans le polymère polyanionique et en solution. La figure 12 représente l'allure typique d'une isotherme de partition. Au pied de la courbe, la pente de la partie linéaire correspond à  $k_D$ . Aux concentrations élevées, tous les sites échangeables P du polymère sont occupés et  $(\text{O}^{m+})_p$  tend vers une valeur limite.

Si on considère le cas où l'espèce électroactive  $\text{O}^{m+}$  préconcentrée se réduit à l'interface polymère/électrode, le courant de réduction mesuré est fonction de la concentration de  $\text{O}^{m+}$  incorporé et de sa vitesse de transport dans le film. Lorsqu'on utilise la voltammétrie linéaire ou cyclique, les courbes de calibration reliant le courant de pic  $(I_p)_p$  à  $(\text{O}^{m+})_s$  présentent une allure semblable à l'isotherme schématisée

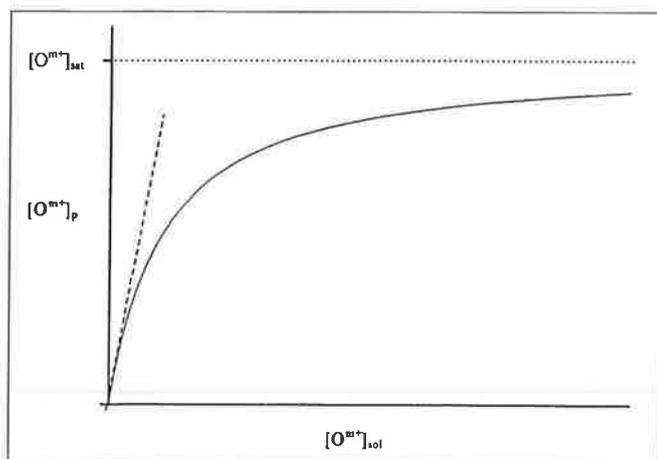


Figure 12 - Isotherme de partition d'une espèce cationique entre solution et film de Nafion.

figure 12. Le courant de pic ( $I_p$ )<sub>p</sub> varie linéairement avec ( $O^{m+}$ )<sub>p</sub> aux faibles concentrations, tandis qu'il tend vers une limite aux fortes concentrations. Aux faibles concentrations, il est classique d'observer des courants de pics voltammétriques 100 fois plus élevés sur électrode modifiée que sur électrode nue.

### II-2.2. Choix du polymère échangeur d'ions et du type d'électrode

Le choix du polymère doit tenir compte de ses propriétés échangeuses d'ions, mais également de la simplicité et de la reproductibilité du procédé de fabrication de l'électrode modifiée. Celle-ci doit être stable, conduire à des résultats analytiques sensibles, reproductibles et éventuellement spécifiques et, dans la mesure du possible, l'électrode doit être réutilisable.

Le plus populaire de tous les polymères est certainement le Nafion en raison non seulement de sa stabilité et de sa manipulation aisée, mais également en raison de sa perméabilité remarquable [95]. Les gros cations hydrophobes s'accumulent préférentiellement aux petits cations hydrophiles et son caractère polyanionique constitue une barrière contre les anions indésirables. D'autre part, sa microstructure constituée de canaux étroits empêche la pénétration des molécules volumineuses telles que les protéines, d'où la possibilité d'utiliser des capteurs électrochimiques modifiés par du Nafion dans les milieux biologiques complexes [103]. Les cations organiques hydrophobes ont tendance à s'accumuler irréversiblement dans les films de Nafion, ce qui rend souvent les électrodes à usage unique. Deux solutions pour pallier cet inconvénient sont l'utilisation d'une électrode à pâte de graphite imprégnée de Nafion, dont la surface est aisément renouvelable [104], ou l'utilisation d'une électrode sérigraphiée recouverte d'un film de Nafion, de très faible coût et jetable [105], qui présente en outre la propriété intéressante de donner des courants résiduels capacitifs beaucoup plus faibles que les électrodes classiques, apportant ainsi un gain de sensibilité. Les trois types d'électrodes modifiées conduisent à une bonne reproductibilité des résultats analytiques (déviations standard relatives de l'ordre de 5 %).

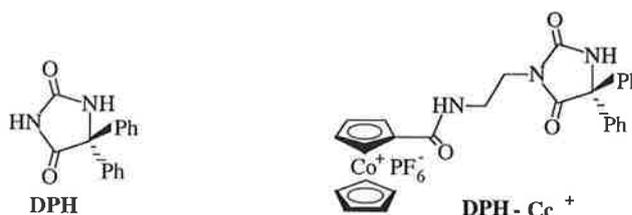
Parmi les autres polymères utilisés, ceux de la série Kodak AQ sont des polyesters aromatiques substitués par des groupes  $SO_3^-$ , dont les propriétés sont voisines de celles du Nafion. Dans la série des polymères échangeurs d'anions, le Tosflex est l'analogue du Nafion actuellement le plus utilisé en analyse de traces [106]. Signalons également les formes protonée et quaternisée de la poly(4-vinylpyridine) et les dérivés anioniques et cationiques du pyrrole électropolymérisés.

Les polymères de Nafion, Tosflex et Kodak AQ sont très hydrophobes en raison de leurs poids équivalents élevés et de la présence parsemée des sites d'échange ionique. Le dépôt de quelques microgouttes d'une solution du polymère sur la surface d'une électrode de carbone ou de graphite pyrolytique conduit en général après séchage ou cuisson à des films stables et reproductibles. Les matériaux polymériques de poids équivalents faibles ont tendance à se comporter comme des polyélectrolytes et il peut être nécessaire de les stabiliser par réticulation. Une autre méthode très efficace pour obtenir des films stables est l'électropolymérisation de motifs monomères électroactifs.

### II-2.3. Exemples d'électroanalyses en présence de polymères échangeurs d'ions

En raison de leur caractère hydrophobe anionique, les électrodes modifiées par du Nafion ou du Kodak AQ sont particulièrement bien adaptées au dosage de molécules organiques protonées aux pH physiologiques. L'adénine a été ainsi détectée avec une limite de détection de  $8 \times 10^{-8}$  M (carbone vitreux + film de Nafion) et la dopamine *in vivo* avec une limite de détection de  $10^{-9}$  M à une fibre de carbone recouverte de Nafion. Le rôle de ce dernier est également d'inhiber par répulsion électrostatique la détection anodique parasite de l'acide ascorbique. Le méthyl viologène dicationique, un pesticide puissant, a pu être détecté jusqu'à une concentration de  $4 \times 10^{-10}$  M sur une électrode modifiée par un film Kodak AQ 55D.

La détection sensible sur électrode modifiée par du Nafion de médicaments marqués par un système redox cationique tel que le cobalticinium (celui-ci se réduit réversiblement en cobaltocène vers -1 V) a permis de mettre au point une nouvelle technique d'immunoanalyse du type compétitif en phase homogène, selon le concept schématisé figure 13 [103]. Cette technique a été appliquée au dosage de la phénytoïne DPH, un antiépileptique d'index thérapeutique compris entre  $2 \times 10^{-5}$  M et  $8 \times 10^{-5}$  M, dans 5  $\mu$ l d'échantillon clinique (dilution 1/200). Le dosage du médicament marqué DPH-Cc<sup>+</sup> resté libre après immunoréaction est effectué par exemple sur une électrode à pâte de graphite imprégnée de Nafion (limite de détection  $10^{-8}$  M par voltamétrie à vague carrée) [104].



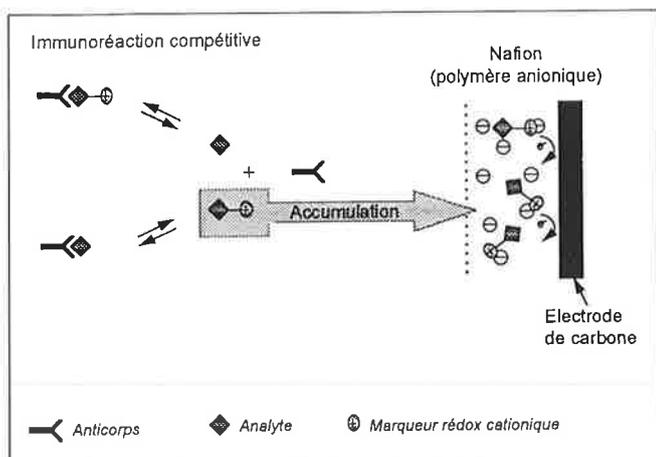


Figure 13 - Principe de la détection électrochimique d'anticorps sur une électrode modifiée par un film de Nafion.

La modification d'une électrode par un film de Nafion permet également d'accroître la sensibilité des immunodosages enzymatiques, lorsque le marqueur est l'enzyme phosphatase alcaline (AP) et lorsque le couple substrat / produit est choisi de telle façon que le substrat soit anionique ( $S^-$ ) et le produit d'hydrolyse de la réaction enzymatique soit électroactif et cationique ( $P^+$ ) [107]. Dans ces conditions, seul  $P^+$  est en mesure de s'accumuler puis d'être détecté. Le dosage de la phénytoïne a pu être ainsi réalisé dans 1  $\mu$ l d'échantillon clinique par la technique ELISA [108], dont la figure 14 schématise l'étape finale. A partir du substrat ci-dessous marqué au cobalticinium, la limite de détection de l'AP peut atteindre  $4 \times 10^{-16}$  M après une heure d'hydrolyse enzymatique, avec accumulation simultanée de  $P^+$  sur une électrode sérigraphiée modifiée par un film de Nafion [105].

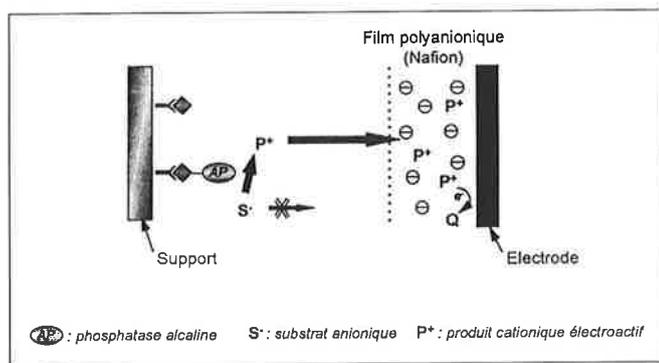
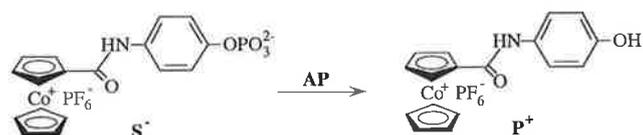


Figure 14 - Immunodosage enzymatique à l'aide d'une électrode modifiée par un film de Nafion.

### II-2.4 Conclusion

En associant VEI et immunoanalyse ou immunodosage enzymatique, on dispose de nouvelles techniques d'analyses tout terrain qui allient sensibilité et spécificité et qui sont en passe de rivaliser avec des techniques de laboratoire beau-

coup plus sophistiquées. La réalisation de capteurs sérigraphiés, de très faible coût et par conséquent jetables, ne peut que contribuer au développement de ces méthodes pour le dosage, par exemple, de polluants dans l'environnement, de médicaments dans le domaine de la santé, etc. Certains marqueurs organométalliques redox tels que le cobalticinium se sont révélés très adaptés aux dosages, car les échanges redox ne sont pas accompagnés d'échanges de protons qui ralentissent le processus électrochimique global. Les techniques pulsées telles que la voltammétrie à vague carrée sont très sensibles dans ces conditions et conduisent à un gain de sensibilité de 10 à 15 par rapport à la voltammétrie linéaire.

### II-1.3. Complexants, complexant redox et reconnaissance moléculaire

Jean-Claude Moutet

#### II-1.3.1. Préconcentration d'ions métalliques dans des polymères complexants

L'analyse de traces peut être largement améliorée grâce à la préconcentration d'espèces électroactives à la surface d'électrodes modifiées par des films de polymères échangeurs d'ions (voir le paragraphe précédent), ou par des microstructures chimiques complexantes. Ce deuxième cas sera abordé dans ce paragraphe. La détection électrochimique qui suit l'étape de préconcentration peut être tout à fait semblable à la technique classique de redissolution anodique. De multiples réactifs complexants ont été étudiés dans cette optique. On peut citer comme exemples caractéristiques la détection d'ions uranyle sur des électrodes modifiées par un oxyde de phosphine [109], le dosage de sels de nickel, cobalt et cadmium avec l'utilisation de polyaminoacides [110], la détection de traces de cuivre avec des films de poly(pyrrole-dithiocarbamate) [111] (figure 15) et celle de traces de nickel sur électrode de pâte de carbone modifiée par la diméthylglyoxime [112].

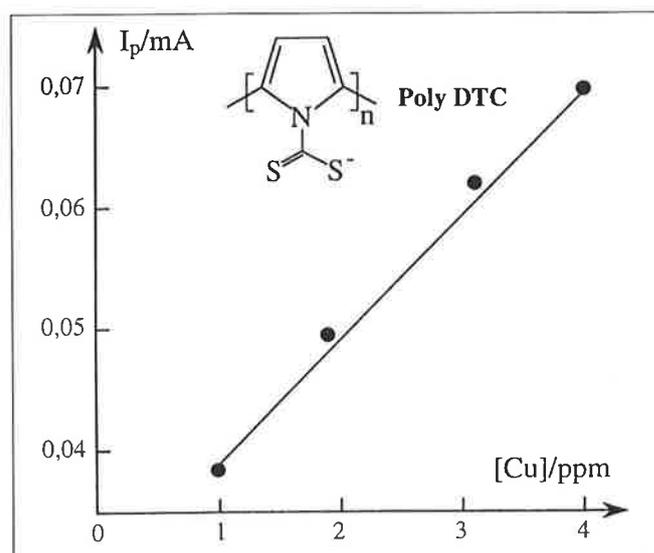


Figure 15 - Courbe de calibration de  $Cu^{2+}$  obtenue en solutions diluées par voltammétrie cyclique sur une électrode modifiée par un film de polyDTC [111].

Il est évident qu'un gain important en sélectivité peut être obtenu si le sel métallique forme sur l'électrode un complexe présentant un couple redox caractéristique et bien défini, plutôt qu'un simple pic irréversible de redissolution. Les remarquables propriétés de coordination des ligands polypyridiniques vis-à-vis des métaux de transition ont été en particulier largement appliquées pour l'analyse de cations métalliques, ces ligands étant utilisés sous forme de films de polymères [113-116] ou mélangés à une pâte de carbone [117].

### 11.1.3.2. Reconnaissance électrochimique par des systèmes complexants redox

#### a) Récepteurs moléculaires redox

L'utilisation en électroanalyse d'espèces redox présentant des propriétés spécifiques de complexation et dont l'activité électrochimique est perturbée de façon significative à la suite de son interaction avec une molécule cible est une approche moins conventionnelle, qui a prouvé son intérêt pour la détection d'espèces chimiques électroinactives ou qui ne peuvent former de complexes présentant une électroactivité caractéristique.

C'est en particulier le cas de nombreux matériaux d'électrode dérivés de complexes de métaux de transition, dont l'électroactivité est très sensible à la coordination spécifique du centre métallique avec une espèce chimique. Un exemple illustratif est fourni par la détection d'halogénures d'alkyle RX sur électrode de graphite modifiée par un polymère époxy de la vitamine B<sub>12</sub> [118]. L'addition oxydative d'un RX sur le complexe de Co(I) conduit à un complexe {R-Co(III)} dont la réduction électrochimique irréversible est caractéristique et, de plus, permet la régénération du capteur par régénération dans le film de la forme active Co(I) du complexe.

La complexation peut aussi concerner un site de la molécule proche mais indépendant du site redox. On a alors un récepteur redox-actif, capable de reconnaître une espèce cible grâce aux perturbations (interactions à travers l'espace, contraintes stériques) créées par sa complexation. De nombreux prototypes ont été étudiés en phase homogène. Ce sont en particulier des métallocènes-ester couronne ou cryptands, pour la détection électrochimique des ions alcalins et alcalino-terreux [119]. La différence de potentiel entre les formes libres ( $E_1^0$ ) et complexées ( $E_c^0$ ) d'un ligand redox L dépend en particulier de la stabilité du complexe dans ses états oxydé et réduit, avec, par exemple, un cation métallique  $M^+$ . Elle est du type  $E_c^0 - E_1^0 = (RT/F) \ln (K_{red}/K_{ox})$ , où  $K_{red}$  et  $K_{ox}$  sont les constantes de stabilité du complexe réduit et oxydé (schéma 7). L'utilisation de ces récepteurs redox pour le développement de capteurs passe par leur immobilisation sur électrode sans perte de leur propriétés de reconnaissance électrochimique. La validité de cette approche a été récemment démontrée [120] dans le cas du ferrocène-éther couronne  $L_1$  (figure 16). Ce ligand redox électropolymérisable complexe sélectivement et reconnaît les cations baryum parmi les autres cations des groupes 1 et 2. Avec les électrodes modifiées par des films de poly  $L_1$ , la différence entre le potentiel d'oxydation de ce ferro-

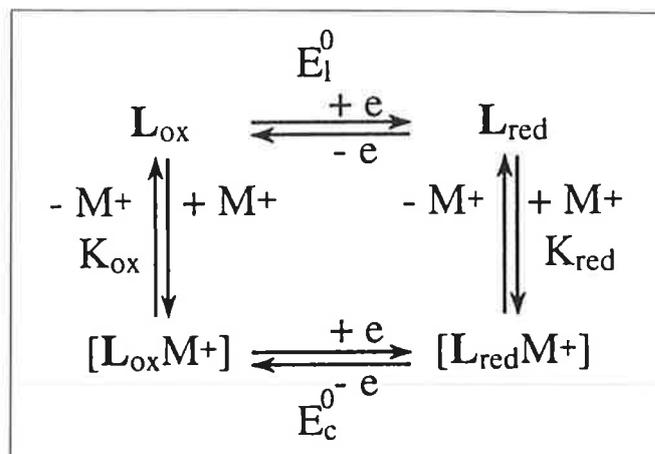


Schéma 7 - Équilibres de complexation et réactions redox pour un récepteur redox-actif.

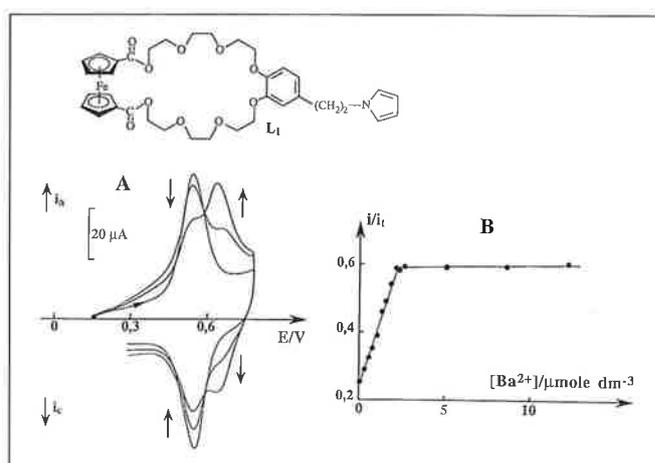


Figure 16 - (A) Evolution de la réponse électrochimique en milieu acétonitrile d'une électrode modifiée Pt/poly $L_1$ , en présence de quantités croissantes d'ions baryum; (B) courbe de calibration correspondante [120].

cène libre et complexé ( $E_c - E_1 = 170$  mv) est remarquable (figure 16A). La détection sélective des ions  $Ba^{2+}$  à des concentrations micromolaires (figure 16B) est alors possible. De plus, la déstabilisation du complexe par oxydation s'accompagne de l'expulsion des cations baryum et permet donc la régénération du capteur.

#### b) Polymères conducteurs fonctionnalisés

La variation de la réponse électrochimique d'un polymère conducteur fonctionnalisé à la suite de son interaction spécifique avec un élément externe est également une voie d'approche vers le développement de couches sensibles et de nouveaux capteurs électrochimiques [121]. En particulier, la détection des ions alcalins grâce à la perturbation de l'électroactivité de films de polypyrrole [122] et de polythiophène [123-126] fonctionnalisés par des groupes du type polyester ou éther-couronne, ainsi que celle de matériaux polymères obtenus par électropolymérisation de dibenzoéthères couronne [127], a été largement démontrée. Un exemple remarquable est présenté dans la figure 17. La modification de l'électroactivité de ces polymères conducteurs est probablement le résultat de facteurs stériques et électroniques.

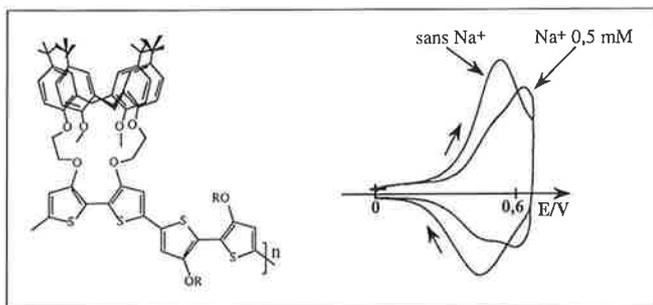


Figure 17 - Courbes de voltammétrie cyclique en milieu acétonitrile pour un copolymère poly(alkylthiophène-calixarènebithiophène) en absence et en présence d'ions sodium [126].

Les multiples fonctionnalisations qu'on peut envisager pour ces matériaux permettent d'imaginer de nombreuses applications en analyse. La reconnaissance énantiosélective est en particulier un objectif important. Dans ce contexte, il a été montré que des polythiophène [128] et polypyrrole [129] chiraux, obtenus par électropolymérisation de monomères substitués par des groupes optiquement actifs, présentent une variation significative de leur activité électrochimique en fonction de la configuration des anions de l'électrolyte (figure 18). Ce phénomène, qui peut s'expliquer par une différence de diffusion des contre-ions optiquement actifs dans un environnement chiral au cours du processus de « dopage-dédopage » du polymère conducteur [129], rend possible la reconnaissance énantiosélective de ces anions.

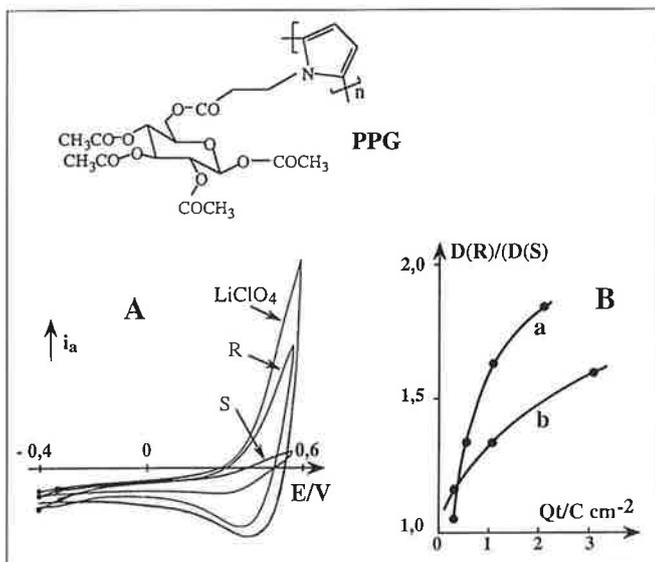


Figure 18 - Evolution du voltampérogramme en milieu aqueux d'un film de poly(pyrrole-glucose) en fonction de l'électrolyte support : R = (1R)-(-)-10-camphorsulphonate, S = (1S)-(+)-10-camphorsulphonate. (B) Rapport entre les taux de dopage selon la configuration R ou S de l'anion en fonction de l'épaisseur du film, en milieu (a) aqueux et (b) organique [129].

## II-4. Les biocapteurs électrochimiques

Pierre Labbé, Jacques Moiroux, Christian Bourdillon

Un biocapteur est un outil de mesure comprenant un élément biologique doué de propriétés de reconnaissance moléculaire étroitement couplé à un transducteur physique chargé

de convertir le signal biologique de reconnaissance en une information quantifiable [130] (figure 19). Dans la nature un grand nombre de molécules sont douées de fonctions de reconnaissance moléculaire : ces biomolécules permettent aux organismes vivants de métaboliser (enzymes), de se reproduire (ADN), de traiter l'information et de communiquer (neurotransmetteurs, hormones, récepteurs), ou de se protéger (mécanismes de défense immunitaire, anticorps). La reconnaissance moléculaire correspond au regroupement des parties complémentaires de la biomolécule et de sa molécule cible : enzyme-substrat, anticorps-antigène, récepteur-hormone, séquences d'ADN complémentaires. Ces associations se caractérisent par une grande spécificité et les biocapteurs mettent à profit cette capacité des biomolécules à reconnaître une substance unique dans un milieu en contenant plusieurs.

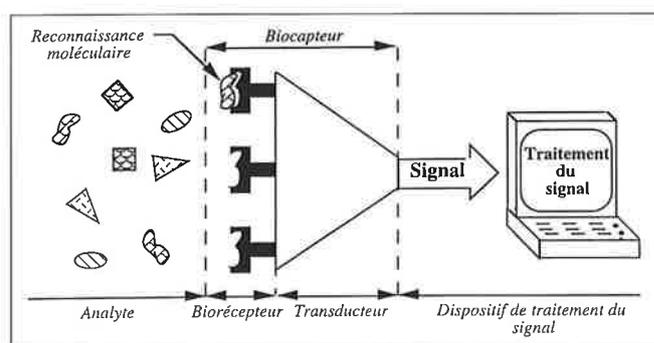


Figure 19 - Principe d'une chaîne de mesure utilisant un biocapteur.

Dans tous les cas, l'immobilisation du matériel biologique à la surface du transducteur constitue une étape déterminante dans la construction du biocapteur. L'arrangement spatial des biomolécules doit permettre une reconnaissance optimale de la molécule cible avec un minimum de contraintes diffusionnelles, tout en autorisant le suivi efficace de la réaction par le transducteur.

Les biocapteurs électrochimiques associent l'élément biologique de reconnaissance avec une électrode qui joue le rôle de transducteur. Il devient alors possible de mettre à profit l'ensemble des techniques analytiques de l'électrochimie (ampérométrie, potentiométrie, impédancemétrie, conductimétrie, etc.) reconnues depuis fort longtemps pour leur facilité de mise en œuvre et leur extrême sensibilité. Ce concept permet en outre d'accéder à l'ensemble des méthodes de l'électrochimie moléculaire, non seulement pour caractériser le matériau biomoléculaire fixé à la surface de l'électrode, mais également pour mettre en œuvre de nouvelles méthodes de biofonctionnalisation de surfaces conductrices ou de transduction du signal biologique. Cette combinaison d'avantages est à l'origine d'un nombre considérable de recherches dans le domaine des biocapteurs électrochimiques et le nombre de congrès internationaux ainsi que d'articles dans les revues scientifiques montrent bien l'intérêt que suscitent ces biocapteurs. L'activité française dans ce domaine est bien structurée en particulier via plusieurs associations telles que le Club Microcapteurs Chimiques CMC2 [131] et le Groupe Français de Bioélectrochimie GFB [132].

Dans la pratique, les biocapteurs électrochimiques et plus généralement les biocapteurs peuvent être classés en deux catégories. La première concerne les électrodes enzymatiques dans lesquelles un système enzymatique ou multi-enzymatique catalyse sélectivement la transformation d'un substrat S en produit P. Cette catalyse est associée à la détection électrochimique de l'un des produits P ou réactifs S de la catalyse enzymatique (figure 20A). Ces biocapteurs métaboliques présentent l'avantage d'une autorégénération de leur structure de reconnaissance. Le cas le plus courant est celui de la formation d'un complexe enzyme-substrat qui se décompose en libérant le produit de la réaction enzymatique : l'enzyme est alors disponible pour un nouveau cycle catalytique. La réponse du biocapteur sera fonction de la concentration en substrat S *via* les caractéristiques cinétiques du mécanisme enzymatique. Les enzymes étant souvent incluses dans un film déposé à la surface de l'électrode, la réponse sera également conditionnée par les processus de diffusion des substrats jusqu'à l'enzyme et des substances électroactives jusqu'à la surface de l'électrode. Dans le cas d'un capteur ampérométrique, le signal de transduction dépendra aussi de la cinétique des transferts d'électron impliqués dans le fonctionnement du capteur et donc du potentiel imposé à l'électrode.

La deuxième catégorie de biocapteurs concerne les systèmes basés sur la transduction du signal biologique issu de la seule réaction d'affinité entre la biomolécule immobilisée et la molécule cible complémentaire. On parle alors de capteurs d'affinité (figure 20B). La réaction d'affinité (qui n'implique pas dans ce cas la transformation chimique de la molécule cible) se traduit cependant par une modification de

l'interface électrode solution (par exemple permittivité, perméabilité, potentiel de surface, etc.) qui peut alors être détectée électrochimiquement par ampérométrie, impédancemétrie ou mesure capacitive, par exemple. Cette catégorie, qui englobe les immunocapteurs (basé sur les réactions antigène-anticorps) ou les sondes à ADN (basé sur les réactions d'hybridation entre deux séquences d'ADN complémentaires), connaît actuellement un développement sans précédent. En effet ces capteurs permettent de diversifier très largement la gamme des substrats détectés. Ils se caractérisent en outre par une puissante sélectivité qui correspond à des besoins sans cesse croissants, tant dans le domaine de la biologie clinique pour le diagnostic précoce de maladies héréditaires ou infectieuses que dans celui de l'environnement pour la détection quantitative et sélective de polluants. Ces capteurs rapides, simples d'utilisation et économiques constituent une alternative potentielle aux méthodes classiques de détection (test ELISA, hybridation radio-isotopique) souvent lourdes à mettre en œuvre, longues et coûteuses. L'importance des enjeux analytiques et, bien évidemment, celle des retombées économiques est à l'origine de l'intense activité de recherche dans ce domaine.

Les paragraphes suivants ont pour objectif d'illustrer de manière non exhaustive les développements récents relatifs aux biocapteurs électrochimiques et les nouveaux concepts rendus possibles par les progrès conjoints de l'ingénierie moléculaire et des biotechnologies. Un paragraphe sera également consacré plus spécialement à l'apport de l'électrochimie moléculaire aux biocapteurs.

#### II-4.1. Electrodes enzymatiques

Depuis la proposition d'un tel capteur par Updike et Hicks [133] en 1967, les électrodes enzymatiques n'ont cessé de recevoir une attention considérable. Les applications concernent toujours essentiellement la détection de métabolites dans les fluides biologiques (glucose, lactate, cholestérol, créatinine, amino-acides, etc.) [134] et continuent de s'élargir à d'autres domaines comme le contrôle de qualité, l'environnement [135] ou la sécurité civile et militaire [136]. Le lecteur pourra se référer aux mises au point récentes [134-140] et aux références citées pour une bibliographie plus exhaustive des travaux récents. Ces travaux ont essentiellement porté sur l'amélioration des systèmes existant *via* la mise en œuvre de nouveaux relais d'électrons pour la connection électrique d'enzymes, de nouvelles membranes ou autres stratégies pour améliorer la spécificité des électrodes, sur la microfabrication d'électrodes à usage unique et de systèmes miniatures, ainsi que sur la mise au point de nouvelles méthodes d'immobilisation et de stabilisation d'enzymes. On assiste parallèlement au développement de nouvelles électrodes enzymatiques basées sur des conceptions, stratégies de mesure et méthodes d'immobilisation innovantes.

Les études bioélectrochimiques des métalloprotéines et des enzymes pour la mise au point de biocapteurs ampérométriques nécessitent très souvent un contact électrique efficace entre l'électrode et la protéine redox. La fixation contrôlée de molécules biologiques doit ainsi permettre la

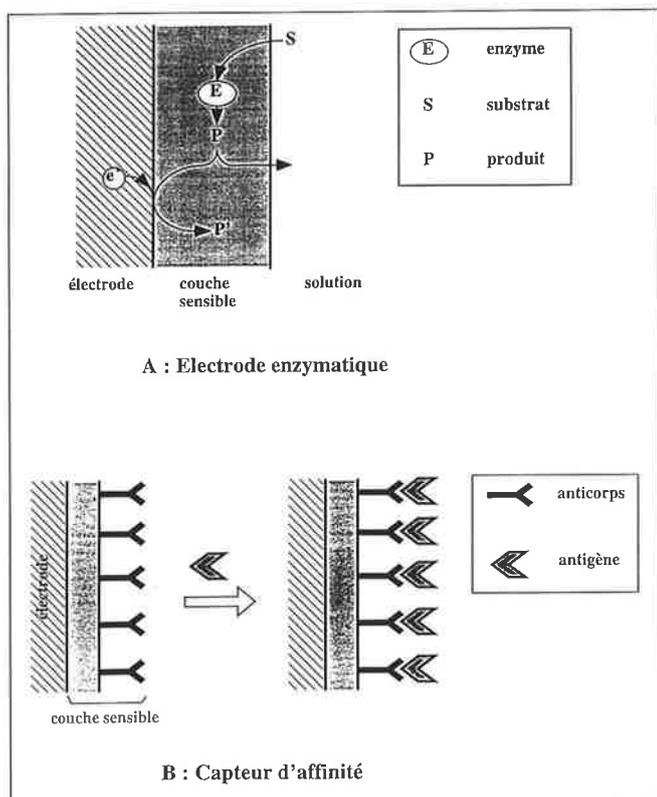


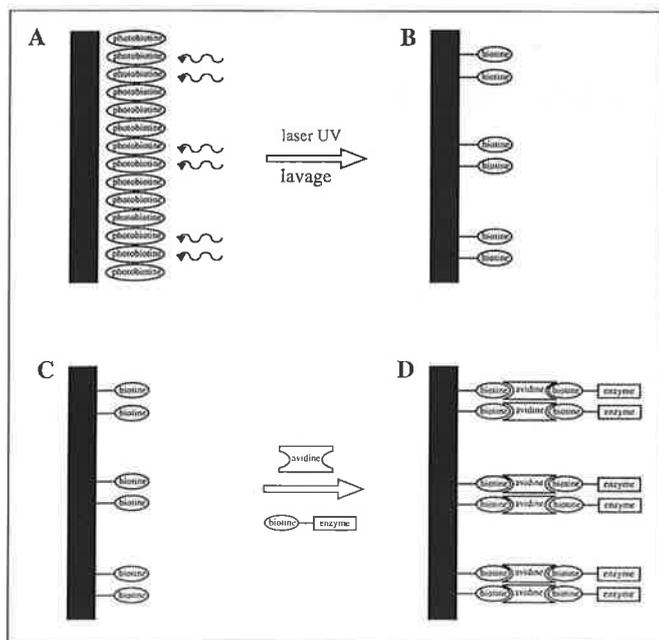
Figure 20 - Principe de fonctionnement (A) d'une électrode enzymatique à détection ampérométrique et (B) d'un biocapteur électrochimique d'affinité.

préparation non dénaturante d'une forte densité surfacique d'enzymes actives, caractérisées par un accès facilité du substrat au site actif et une connexion électrique optimale entre le site redox actif de la protéine et la surface de l'électrode.

Une possibilité pour atteindre cet objectif réside dans le contrôle, au niveau moléculaire, de la construction couche par couche d'une interface bioélectrochimique. Cet assemblage organisé de biomolécules à la surface d'une électrode a été entrepris suivant plusieurs stratégies : une première voie prometteuse réside dans l'utilisation de systèmes d'association par affinité basés soit sur la formation de complexes avidine-biotine [141-143] soit sur celle de complexes anticorps-antigène [144, 145]. Cette dernière stratégie est décrite plus en détail dans le paragraphe II-4.4.

Une seconde voie, particulièrement élégante, met en œuvre l'assemblage autoorganisé de molécules amphiphiles sous forme de monocouches ou de bicouches, qui peuvent alors servir pour l'ancrage contrôlé de biomolécules à la surface de l'électrode. Une approche similaire est basée sur la réactivité importante de l'or [146] ou du platine [147] vis-à-vis de composés thioalkyles, qui entraîne la formation spontanée d'une couche monomoléculaire bien structurée, stable et aisément caractérisable. L'interface ainsi fournie et, si nécessaire, fonctionnalisée permet une immobilisation contrôlée des biomolécules.

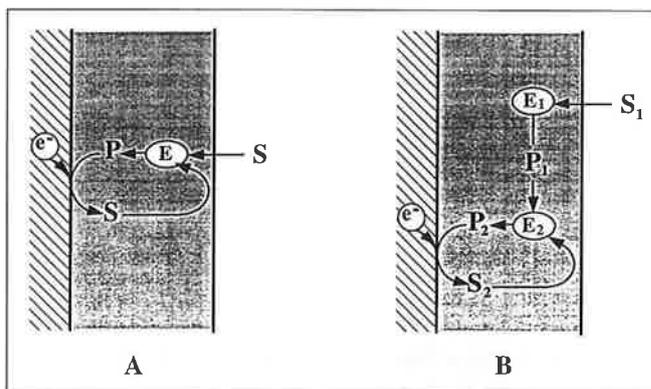
De nombreuses combinaisons de ces différentes stratégies peuvent être imaginées et la *figure 21* illustre la sophistication remarquable des assemblages qui peuvent être réalisés à la surface d'une électrode [148]. Le protocole présenté dans cet exemple permet ainsi de contrôler à la surface d'une même électrode la répartition spatiale des sites utilisés pour



**Figure 21** - Immobilisation d'enzymes au moyen d'une fonctionnalisation photochimique basée sur la photobiotine. A) La photobiotine déposée à la surface d'une électrode de carbone vitreux est irradiée par un réseau de diffraction au moyen d'un rayonnement laser UV; la photobiotine se greffe sur les zones de la surface irradiée par le réseau de diffraction. B) la photobiotine non irradiée n'a pas réagi et peut être éliminée par lavage. C) Réaction de la surface d'électrode biotinylée avec l'avidine et l'enzyme biotinylée. D) L'enzyme se fixe uniquement sur le réseau des zones fonctionnalisées par la biotine [148].

immobiliser l'enzyme de ceux réservés au transfert d'électron. Il est ainsi possible de conserver intactes les caractéristiques de transfert électronique des zones non fonctionnalisées de la surface de l'électrode et donc de maintenir une sensibilité importante du capteur ampérométrique.

Les besoins modernes de l'analyse environnementale ou clinique nécessitant des mesures extrêmement sensibles et très rapides, de nombreux efforts ont porté sur l'amélioration des limites de détection des électrodes enzymatiques. Le recyclage électrochimique du substrat ou cosubstrat d'un système enzymatique constitue dans ce contexte un moyen particulièrement bien adapté pour obtenir des sensibilités très élevées par amplification électroenzymatique du signal. Dans ces systèmes, la molécule recyclée peut être la substance à détecter (*figure 22A*), mais elle peut également être produite par une réaction enzymatique complémentaire (*figure 22B*). Ces systèmes ont été appliqués avec succès à la détection nanomolaire de dérivés du phénol et du catéchol [149,150], de flavines [151], ou du salicylate à des doses thérapeutiques [152]. Des modèles cinétiques [153,154] ont été élaborés afin d'identifier les étapes limitatives du processus d'amplification et d'optimiser les paramètres du biocapteur en vue d'une amplification maximale.



**Figure 22** - Principe de l'amplification électroenzymatique de la réponse d'un biocapteur ampérométrique monoenzymatique (A) ou bienzymatique (B).

Une autre stratégie d'amplification consiste à co-immobiliser deux systèmes enzymatiques, de telle sorte que le produit généré à partir du substrat par le premier système serve de substrat au deuxième système pour générer un produit qui, à son tour, constitue le substrat du premier système. Par un phénomène de recyclage répétitif, la formation d'un produit (ou coproduit) peut être réalisée au-delà des limitations stœchiométriques. Par ce moyen, la sensibilité de la détection d'un substrat, d'un produit ou d'un coproduit, peut être augmentée de façon considérable [155]. Un tel système est illustré par la *figure 23*, par la co-immobilisation d'une glucose déshydrogénase et de la polyphénol oxydase à la surface d'une électrode de Clark. Ce capteur, qui permet la détection rapide et sélective du phénol à 10 nM (facteur d'amplification de 350), a été appliqué avec succès à la réalisation de tests immunoenzymatiques compétitifs basés sur un marqueur enzymatique : la phosphatase alcaline. L'utilisation d'un biocapteur permet de réduire à quelques minutes une analyse qui nécessite plusieurs heures dans les conditions standard [156].

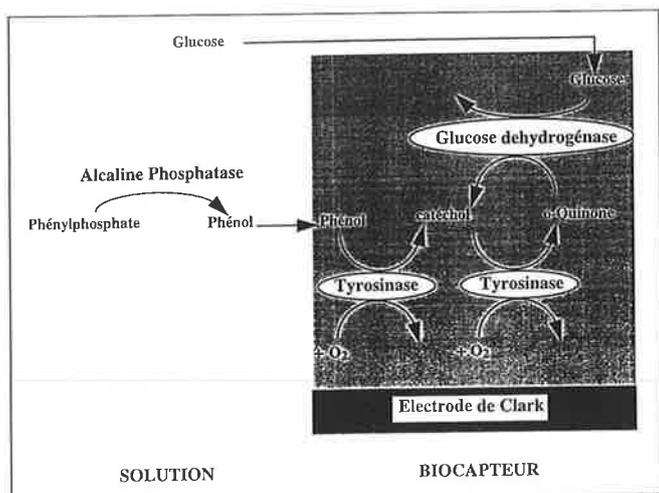


Figure 23 - Utilisation d'un biocapteur à phénol pour la réalisation de tests immunoenzymatiques compétitifs basés sur un marqueur enzymatique : l'alcaline phosphatase; le biocapteur à phénol, basé sur la coimmobilisation de la tyrosinase et de la glucose déshydrogénase à la surface d'une électrode de Clark met en jeu le recyclage enzymatique du catéchol [156].

#### II-4.2. Immunocapteurs

La grande spécificité des interactions anticorps-antigène, ainsi que la possibilité de produire des anticorps monoclonaux pour une variété de matériel non biologique ou pour des fragments synthétiques d'antigènes biologiques complexes, ont ouvert la voie au développement d'immunocapteurs pour des applications dans les domaines du diagnostic clinique, de l'étude des polluants dans l'environnement ou de l'analyse des aliments. La détection électrochimique des interactions anticorps-antigène a fait l'objet de nombreuses recherches en raison de sa simplicité de mise en œuvre et de sa rapidité de mesure.

Une première approche est basée sur la détection ampérométrique indirecte d'interactions anticorps-antigène dans le cadre de dosages immunologiques compétitifs, *via* l'utilisation d'anticorps (ou d'antigènes) fonctionnalisés par un groupe redox et leur association compétitive à la surface d'une électrode fonctionnalisée par l'antigène (ou l'anticorps) correspondant en présence de l'analyte visé : l'anticorps (ou l'antigène) [157].

Une approche similaire est basée sur l'utilisation d'anticorps ou d'antigènes modifiés par une enzyme redox, leur association compétitive sur la surface d'une électrode fonctionnalisée (par l'antigène ou l'anticorps correspondant) et la transduction ampérométrique du signal biologique *via* la réaction bioélectrocatalytique caractérisant l'enzyme utilisée [158, 159].

La détection directe des associations anticorps-antigène a également motivé un nombre important de travaux. La mesure des changements de capacité induits à l'interface électrode-électrolyte par suite de la formation de complexes antigène-anticorps a constitué une première voie d'élaboration d'immunocapteurs [160].

Plus récemment, des immunocapteurs ampérométriques directs ont également été proposés. La détection d'un anticorps en solution est assurée au moyen d'une électrode modifiée par une couche monomoléculaire de l'antigène. La formation du complexe anticorps-antigène à la surface de

l'électrode abaisse la perméabilité de la couche sensible vis-à-vis d'une sonde redox moléculaire présente en solution (par exemple  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ ) [161]. Cependant des signaux faibles ont été obtenus et la réponse de l'électrode en présence de l'anticorps dépend très fortement de la qualité de la couche d'antigène greffé (en particulier l'existence de défauts et de trous). L'utilisation d'une enzyme redox comme sonde bioélectrocatalytique a permis de s'affranchir de l'existence de ces défauts, tout en permettant une amplification bioélectrocatalytique du phénomène d'isolation de la surface de l'électrode par formation du complexe anticorps-antigène [162]. Le fonctionnement de ce capteur décrit dans la figure 24 est basé sur la connection électrique de la glucose oxydase.

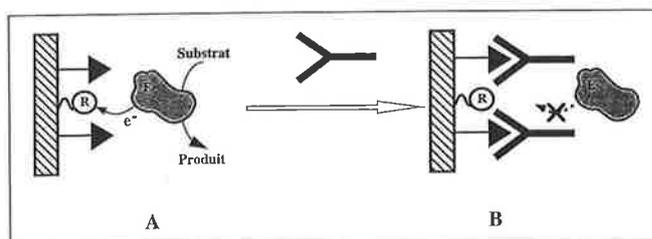


Figure 24 - Exemple d'un immunocapteur ampérométrique. La surface de l'électrode est fonctionnalisée par l'antigène et un médiateur redox capable de connecter électriquement l'enzyme E présente en solution. L'association de l'anticorps avec les antigènes greffés crée des contraintes stériques qui inhibent la connexion électrique de l'enzyme. Le phénomène d'inhibition, qui peut être détectée ampérométriquement en présence du substrat de l'enzyme, est directement dépendant du taux d'association anticorps-antigène obtenu [162].

#### II-4.3. Sonde à ADN

La détection des séquences d'acides nucléiques correspond à des besoins potentiels énormes pour le diagnostic clinique de pathologies infectieuses, héréditaires ou acquises [134]. Depuis quatre ans environ, une activité de recherche intense se développe pour mettre au point des biocapteurs à ADN basés sur une transduction optique ou électrochimique. Le principe de fonctionnement de ces capteurs consiste généralement à immobiliser à la surface du transducteur (par exemple une électrode) un simple brin d'ADN en mesure de s'associer avec le brin complémentaire présent dans la solution d'analyse. Le phénomène de reconnaissance entre les deux brins complémentaires (processus d'hybridation) est souvent détecté par association d'un indicateur d'hybridation approprié avec le double brin d'ADN formé lors de la reconnaissance.

Un indicateur d'hybridation est un composé qui interagit de différentes façons quantifiables avec un simple ou un double brin d'ADN. Un certain nombre de petites molécules interagissent réversiblement avec les doubles brins d'ADN, soit par intercalation soit par liaisons électrostatiques dans des sites de fixation spécifiques. Les sondes d'hybridation les plus courantes sont des colorants hétérocycliques (anthracylines, phénothiazines, dérivés de l'acridine [163]), ou des complexes de métaux de transition (Pt, Ru, Co, Fe) comportant des ligands aromatiques bi- ou tridentés, comme par exemple les complexes tris(1,10-phénanthroline) et tris(2,2'-bipyridine) du ruthénium(II) [164]. Du fait de l'électroacti-

té de la plupart de ces indicateurs d'hybridation, l'électrochimie constitue un mode de détection de l'événement de reconnaissance particulièrement bien adapté. Plusieurs systèmes basés sur une transduction ampérométrique ou chronopotentiométrique ont été récemment appliqués avec succès à la détection spécifique de séquences d'ADN [165]. Les exemples décrits dans la littérature concernent par exemple le dépistage du virus HIV ou la détection de modifications de l'ADN induites par des radiations. Les avantages de ce type de reconnaissance moléculaire, par rapport à d'autres biorécepteurs comme les anticorps sont multiples : grande stabilité de l'élément de reconnaissance moléculaire, réversibilité du processus d'hybridation, possibilité de synthèse des séquences d'acides nucléiques en laboratoire.

Outre la reconnaissance de séquences d'ADN, une application nouvelle et prometteuse des biocapteurs à ADN est basée sur l'exploitation des interactions moléculaires qui peuvent intervenir entre l'ADN immobilisé sur une surface et certaines drogues ou substances toxiques, de façon à réaliser un dépistage rapide de ces produits. Cette stratégie a été appliquée avec succès pour la détection de polluants tels que des composés aromatiques [166] ou des dérivés de l'hydrazine [167].

L'utilisation d'acides nucléiques comme élément de reconnaissance d'un biocapteur n'en est qu'à ses débuts. On peut néanmoins prédire un développement futur important pour ce type de biocapteurs en raison des différents mécanismes d'interaction de l'ADN et des possibilités variées de transduction du signal de reconnaissance moléculaire.

#### II-4.4. Apports de l'électrochimie moléculaire aux biocapteurs

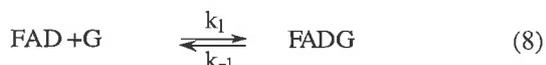
##### II-4.4.1. Outil analytique

Le premier apport de l'électrochimie moléculaire dans le domaine des biocapteurs a d'abord concerné l'analyse mécanistique.

##### a) Cinétique électroenzymatique

Dans le cas de figure le plus fréquemment rencontré il faut considérer les différentes étapes permettant le transfert d'électrons entre l'électrode et l'enzyme redox par l'intermédiaire d'un médiateur. L'électrocatalyse enzymatique impliquant la glucose oxydase constitue un exemple typique.

L'oxydation du glucose (G) par un cosubstrat oxydant monoélectronique (Q), électrochimiquement généré, peut être catalysée par la glucose oxydase dont le groupe prosthétique est FAD (flavine adénine diphosphoribonucléotide). Le processus met en jeu la séquence des réactions suivantes:



FAD symbolise la forme oxydée de la glucose oxydase, FADH<sub>2</sub> la forme totalement réduite, FADG le complexe précurseur formé entre G et l'enzyme, GL la gluconolactone et P la forme réduite du médiateur (ou cosubstrat).

La voltammétrie cyclique peut être utilisée pour l'analyse du processus catalytique, P, G et l'enzyme étant les seules espèces introduites dans la solution tamponnée. P est un dérivé du ferrocène, Q est généré à l'électrode de travail. Le couple P/Q présente un comportement pratiquement nernstien (potentiel standard: E°<sub>P/Q</sub>). Cette approche est particulièrement bien adaptée aux cas où Q n'est pas assez stable pour pouvoir être isolé. Les caractéristiques cinétiques de l'enzyme, k<sub>3</sub>, k<sub>2</sub> et k<sub>red</sub> = k<sub>1</sub>k<sub>2</sub>/(k<sub>-1</sub>+k<sub>2</sub>) peuvent alors être déterminées [168]. La constante de vitesse k<sub>3</sub> est obtenue lorsque la concentration en médiateur est suffisamment faible pour que la consommation de Q par l'enzyme puisse être prise comme une réaction de pseudo premier ordre. Dans la littérature électrochimique, il existe de nombreuses publications qui assimilent systématiquement cette consommation de Q par l'enzyme comme une réaction de pseudo premier ordre dès que G est présent en excès, quelle que soit la concentration en médiateur [169]. C'est une approximation abusive qui provoque une sous estimation de k<sub>3</sub> pouvant atteindre deux ordres de grandeur.

La réaction globale (10) consiste en fait en des transferts séquentiels de 2 électrons et de 2 protons. FADH<sub>2</sub> et le radical intermédiaire FADH• peuvent notamment être déprotonés. L'étude cinétique montre qu'il n'existe aucune corrélation entre k<sub>3</sub> et E°<sub>P/Q</sub>, c'est-à-dire entre k<sub>3</sub> et la force motrice des transferts d'électrons. Par contre, k<sub>3</sub> augmente de manière tout à fait significative avec le pH pour atteindre un plateau à pH ≥ 8. Cependant, ce maximum demeure au moins 100 fois plus faible que celui que donnerait un processus seulement contrôlé par la diffusion de Q vers l'enzyme et la valeur de ce maximum dépend, de façon remarquable, de la charge électrique globale portée par Q.

La formation d'un complexe précurseur entre Q et le site prostétique doit alors être prise en compte [168]. La structure cristalline de la glucose oxydase étant connue [170], tous les résultats conduisent à formuler la conclusion suivante. Il y a, en quelque sorte, reconnaissance moléculaire de Q par l'enzyme, cette reconnaissance opère de manière négative et fait intervenir l'interaction électrostatique entre Q et la flavine réduite [171].

Il est également intéressant de souligner que, comme dans de nombreux autres exemples, l'activité de l'enzyme peut être supérieure lorsqu'elle fonctionne avec un cosubstrat artificiel plutôt qu'avec son cosubstrat naturel, le dioxygène dans le cas des oxydases. C'est à pH ≥ 8 que la glucose oxydase présente son maximum d'activité vis-à-vis d'un cosubstrat monoélectronique alors que cette activité décroît très sensiblement au-delà de pH 7 avec le dioxygène [172] du fait de la chimie particulière du système dioxygène/flavine en milieu basique.

##### (b) Modélisation du fonctionnement

d'une « électrode à enzyme »

obtenue par immobilisation d'enzymes

à la surface d'une électrode, avec contrôle

de la distribution spatiale des sites d'activité enzymatique

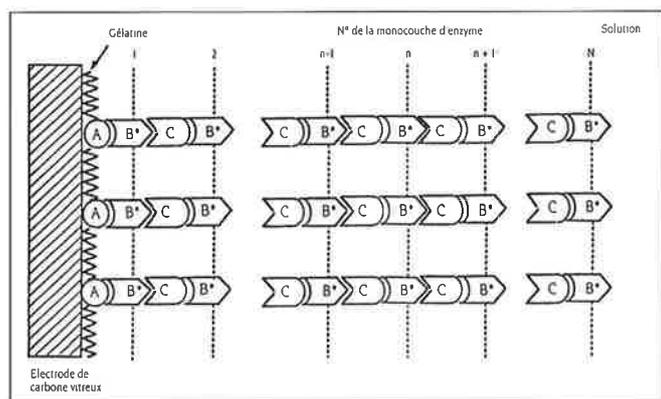
Le comportement d'« électrodes à enzyme » obtenues par emprisonnement d'enzymes au sein de polymères ou de gels déposés ou générés à la surface d'électrodes ne peut être

analysé quantitativement de manière exhaustive par manque de maîtrise expérimentale de plusieurs paramètres, tels que la vitesse du déplacement des électrons ou des transporteurs d'électrons entre la surface de l'électrode et le site enzymatique, la répartition spatiale des protéines immobilisées et la proportion d'enzymes ayant conservé leur activité après immobilisation.

Une technique permettant la construction d'une « électrode à enzyme » par immobilisations successives de monocouches moléculaires d'enzymes avec sauvegarde intégrale de leur activité a été récemment mise au point [145]. La fixation pas à pas d'une nouvelle monocouche sur la monocouche précédente résulte de la reconnaissance moléculaire par un réactif immunologique. Une liaison antigène/anticorps est établie conformément à la représentation schématique de la *figure 25*.

En absence de glucose, c'est-à-dire en absence de catalyse enzymatique, il est possible d'atteindre, en voltammétrie cyclique, des vitesses de balayage linéaire du potentiel assez grandes pour que l'épaisseur de la couche de diffusion du médiateur devienne comparable à celle de l'édifice protéique immobilisé sur l'électrode. Dans ces conditions, la partition de P et de Q entre la solution et l'édifice protéique d'une part, et la diffusion de P et de Q au sein de cet édifice protéique d'autre part, peuvent être caractérisées quantitativement [145].

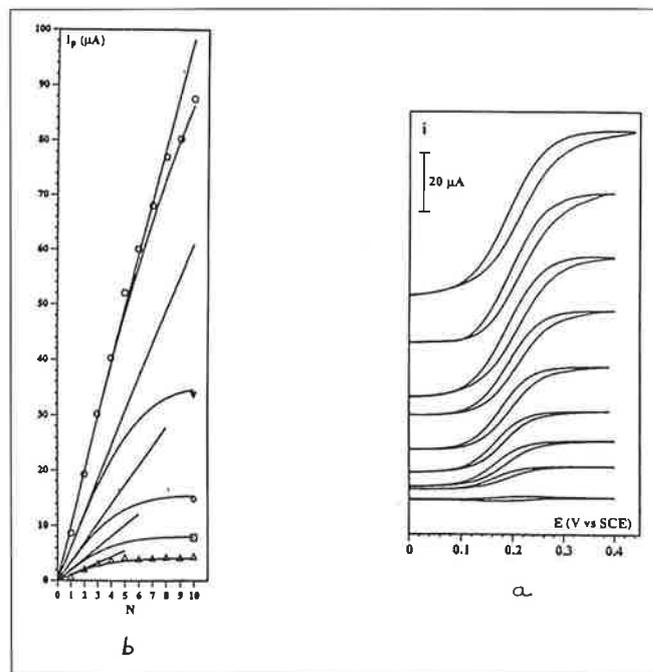
A concentration en médiateur suffisamment élevée, l'« électrode à enzyme » fonctionne sous le seul contrôle cinétique de la réaction enzymatiquement catalysée. Le nombre d'enzymes actives immobilisées peut alors être aisément déterminé à partir du courant de plateau obtenu en voltammétrie cyclique (voir *figure 26*) [145]. La *figure 25* met également en évidence la nature discrète, pas à pas, de la construction. A chaque pas une nouvelle monocouche, comportant autant d'enzymes actives que la précédente, est immobilisée. Typiquement, la concentration superficielle en sites actifs dans une monocouche est  $\Gamma_E^0 = 2,5 \cdot 10^{-12} \text{ mol/cm}^2$ . Un marquage radioactif de la protéine par  $^{125}\text{I}$  permet une évaluation indépendante du nombre total d'enzymes immobilisées, actives et non actives. Il apparaît que l'activité enzy-



**Figure 25** - Représentation schématique de l'immobilisation de  $N$  monocouches de glucose oxydase sur l'électrode. (A) IgG de souris adsorbé; la gélatine est ensuite déposée afin d'éviter l'adsorption non spécifique des réactifs ultérieurement ajoutés de manière séquentielle. (B) Conjugué glucose oxydase IgG anti-souris. (C) Anticorps monoclonal anti-glucose oxydase produit chez la souris. Les étoiles \* indiquent la position approximative des sites enzymatiques.

matique est intégralement préservée lors de ce type d'immobilisation par mise en jeu de réactions immunologiques et que les caractéristiques cinétiques de l'enzyme immobilisée sont identiques à celle de l'enzyme en solution [144].

A concentration en médiateur suffisamment faible, la diffusion du médiateur au sein de l'édifice protéique participe au contrôle cinétique du fonctionnement de l'« électrode à enzyme », ce phénomène cause les déviations par rapport à la linéarité observables dans la *figure 26b*. Comme les caractéristiques de cette diffusion sont connues, nous avons accès à la valeur moyenne de la distance séparant deux monocouches successives de sites enzymatiquement actifs (voir *figure 26*).



**Figure 26** - (a) Voltammétrie cyclique de la catalyse de l'oxydation du glucose en fonction du nombre ( $N$ ) de monocouches de glucose oxydase immobilisées sur le disque de carbone vitreux (diamètre: 3 mm) en présence de glucose 0,5 M et de ferrocène méthanol 0,1 mM. Tampon phosphate pH 8, force ionique 0,1 M, température: 25 °C, vitesse de balayage linéaire du potentiel: 0,04 V s<sup>-1</sup>. Du bas vers le haut:  $N = 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7$  et 8. Pour chaque voltammogramme, le zéro de courant est donné par l'horizontale au pied de la vague. (b) Courants de plateau  $i_p$  en fonction de  $N$  pour différentes concentrations en ferrocène méthanol: 0,2 mM (°), 0,05 mM (▼), 0,02 mM (◇), 0,01 mM (⊙) et 0,005 mM (Δ). Les droites indiquent la proportionnalité attendue en absence de contrôle cinétique par la diffusion du médiateur, les courbes correspondent à la simulation de l'interférence de cette diffusion.

Cette approche est évidemment généralisable à l'immobilisation d'autres oxydases, après acquisition des matériaux biologiques adéquats. Elle est également généralisable à la construction et à l'étude du fonctionnement de systèmes pluri-enzymatiques organisés, par exemple avec deux enzymes en compétition vis-à-vis d'un même substrat, ou avec une enzyme utilisant comme substrat le produit de l'autre. Il suffit que l'une des deux enzymes consomme le médiateur, la réaction catalysée par l'autre pouvant ne pas être une réaction redox. L'électrode peut donc servir simultanément de support pour la construction de structures enzymatiques complexes présentant une activité spatialement contrôlée, de déclencheur pour la mise en fonctionnement du système et de capteur pour l'analyse de son comportement.

#### II-4.4.2. Outil synthétique

L'électropolymérisation est une approche simple et attrayante pour l'immobilisation de biomolécules à la surface d'une électrode. C'est en outre une méthode parfaitement adaptée à la fabrication de microbioélectrodes. Son principe est basé sur l'oxydation ou la réduction électrochimique d'un monomère en solution, qui génère à la surface de l'électrode un film de polymère insoluble dans lequel sont piégées physiquement des biomolécules présentes en solution.

Dans le cas de polymères non conducteurs, tels que le polyindole, le polyphénol ou le poly(*o*-phénylènediamine), le phénomène de polymérisation est rapidement stoppé, ne produisant que des films extrêmement fins et ne contenant que des quantités très faibles de biomolécules. Dans le cas des polymères conducteurs, le film formé sur l'électrode peut croître de façon importante et régulière grâce à sa conductivité électronique et le contrôle de la coulométrie permet de moduler l'épaisseur du polymère électrogénéré.

Différents polymères conducteurs ont été utilisés pour l'immobilisation de biomolécules : la polyaniline, le polythiophène et, surtout, le polypyrrole. L'inconvénient majeur des monomères aniline et thiophène est qu'ils ne polymérisent bien que dans des milieux organiques, dans lesquels les biomolécules sont insolubles et susceptibles de subir une forte dénaturation. Depuis les premiers travaux apparus en 1986 sur l'immobilisation de la glucose oxydase dans le polypyrrole [173], la prédominance de ce polymère pour la réalisation de biocapteurs s'explique par sa capacité à être électrogénéré en milieu aqueux. Outre des conditions douces et non dénaturantes de mise en œuvre pour l'immobilisation de biomolécules, les films de polypyrrole présentent l'avantage de pouvoir être facilement fonctionnalisés par des groupements chimiques capables soit de former des liaisons avec des biomolécules, soit d'être utilisés comme médiateurs redox. Les caractéristiques de cette méthode attrayante d'élaboration de biocapteurs sont à l'origine de nombreux travaux résumés dans plusieurs mises au point [137, 174-176].

Une autre approche est basée sur une nouvelle classe de dérivés amphiphiles du pyrrole, qui ont la propriété de s'adsorber sur une électrode, puis d'être électropolymérisés dans cet état adsorbé en milieu aqueux [177]. L'élaboration de couches sensibles par adsorption, puis électropolymérisation d'un film de monomère amphiphile dans lequel est piégée une biomolécule constitue une méthode originale de construction de biocapteurs [178].

Les films de polymères électrogénérés ont également été utilisés pour améliorer la sélectivité des biocapteurs ampérométriques et pour réduire les interférences résultant de la présence, dans le milieu d'analyse, de substances électroactives au potentiel de travail du biocapteur. Une solution simple consiste à utiliser une membrane d'exclusion interne (entre la couche sensible et l'électrode) ou externe (entre la solution d'analyse et la couche sensible), ou une combinaison de ces deux types de membranes. Ces membranes mettent en jeu des phénomènes d'exclusion stérique et/ou de répulsion électrostatique. Les membranes classiquement utilisées sont obtenues par électrodéposition de polypyrrole suroxydé [179], de polyphénol [180], ou de polydiaminobenzène [181].

## Conclusion

Au cours de ces 20 dernières années, l'intense activité qui s'est développée autour de la modification des surfaces d'électrode a ouvert un vaste champ d'applications potentielles, en particulier en électrosynthèse et en électroanalyse. Nous avons voulu présenter ici quelques exemples illustratifs des recherches menées dans ce domaine en France et dans le monde.

Cet aspect original de l'électrochimie moléculaire a eu comme premier mérite de créer de nouvelles et nombreuses passerelles entre l'électrochimie, la chimie organique et inorganique, la photochimie, la chimie des polymères et la physico-chimie des surfaces.

Les électrodes modifiées ont déjà trouvé quelques applications remarquables dans le domaine des capteurs et démontré leur intérêt potentiel en électrocatalyse. Le développement de nouveaux matériaux stables, actifs et sélectifs, ainsi que la mise au point de techniques de modification de surface simples, reproductibles et se prêtant à une fabrication en série devrait permettre de multiplier leurs applications pratiques en catalyse et en analyse.

## Références

- [1] (a) D. Mansuy, P. Battioni, *Bioinorganic Catalysis*, J. Reedijk (Ed.), Marcel Dekker, New-York (1993). (b) B. Meunier, *Chem. Rev.*, **1992**, 92, 1411.
- [2] F. Bedioui, J. Devynck, C. Bied-Charreton, *J. Mol. Cat. A : Chemical*, **1996**, 113, 3.
- [3] J.P. Collman, X. Zhang, V.J. Lee, U.S. Uffelman, J.J. Brauman, *Science*, **1993**, 261, 1404 et références citées.
- [4] A. Deronzier, J.C. Moutet, *Coord. Chem. Rev.*, **1996**, 147, 339.
- [5] (a) N. Herron, *J. Coord. Chem.*, **1988**, 19, 25. (b) F. Bedioui, *Coord. Chem. Rev.*, **1995**, 144, 39.
- [6] F. Bedioui, J. Devynck, C. Bied-Charreton, *Acc. Chem. Res.*, **1995**, 28, 30.
- [7] G. Cauquis, S. Cosnier, A. Deronzier, B. Galland, D. Limosin, J.-C. Moutet, J. Bizot, D. Deprez, J.-P. Pulicani, *J. Electroanal. Chem.*, **1993**, 352, 181.
- [8] S. Holdcroft, B.L. Funt, *J. Electroanal. Chem.*, **1988**, 240, 89.
- [9] F.T.A. Vork, E. Barendrecht, *Electrochim. Acta*, **1990**, 35, 135.
- [10] C.C. Chen, C.S.C. Bose, K. Rajeshwar, *J. Electroanal. Chem.*, **1993**, 350, 161.
- [11] R.C.M. Jakobs, L.J.J. Janssen, E. Barendrecht, *Electrochim. Acta*, **1985**, 30, 1433.
- [12] A. Yassar, J. Roncali, F. Garnier, *J. Electroanal. Chem.*, **1988**, 255, 53.
- [13] A. Leone, W. Marino, B.R. Scharifker, *J. Electrochem. Soc.*, **1992**, 139, 438.
- [14] H.S. Li, M. Josowicz, D.R. Baer, M.H. Engelhard, J. Janata, *J. Electrochem. Soc.*, **1995**, 142, 798.
- [15] K. Okabayashi, O. Ikeda, H. Tamura, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1993**, 684.
- [16] R.A. Bull, F.R. Fan, A.J. Bard, *J. Electrochem. Soc.*, **1984**, 131, 687.
- [17] A. Elzing, A. Van Der Putten, W. Visscher, E. Barendrecht, *J. Electroanal. Chem.*, **1987**, 233, 113.
- [18] A. El Hourch, S. Belcadi, P. Moisy, P. Crouigneau, J.-M. Léger, C. Lamy, *J. Electroanal. Chem.*, **1992**, 339, 1.
- [19] C. Coutanceau, P. Crouigneau, J.-M. Léger, C. Lamy, *J. Electroanal. Chem.*, **1994**, 379, 389.
- [20] O. El Mouahid, C. Coutanceau, E.M. Belgsir, P. Crouigneau, J.-M. Léger, C. Lamy, *J. Electroanal. Chem.*, sous presse.
- [21] La réduction monoélectronique du CO<sub>2</sub> sur platine ne se produit qu'à partir de -2 V : J. Augustynski, *Chimia*, **1988**, 42, 172.
- [22] J.-P. Collin, J.-P. Sauvage, *Coord. Chem. Rev.*, **1989**, 93, 245.
- [23] (a) M. Meshitsuka, M. Ichikawa, K. Tamara, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1974**, 158. (b) N. Nakazawa, Y. Mizobe,

- Y. Matsumoto, Y. Uchida, M. Tesuka, M. Hidai, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **1986**, 59, 809. (c) C.M. Leiber, N.S. Lewis, *J. Am. Chem. Soc.*, **1984**, 106, 5033.
- [24] (a) T.R. O'Toole, B.P. Sullivan, L.D. Margerum, R.W. Murray, T.J. Meyer, *J. Electroanal. Chem.*, **1989**, 279, 217. (b) C.R. Cabrera, H.D. Abruna, *J. Electroanal. Chem.*, **1986**, 209, 101. (c) S. Cosnier, A. Deronzier, J.-C. Moutet, *J. Mol. Cat.*, **1988**, 45, 381.
- [25] (a) A.R. Guadalupe, D.A. Usifer, K.T. Potts, H.C. Hurell, A.-E. Mogstad, H.D. Abruna, *J. Am. Chem. Soc.*, **1988**, 110, 3462. (b) T. Yoshida, T. Iiada, T. Shirasagi, R.J. Lin, M. Kaneko, *J. Electroanal. Chem.*, **1993**, 344, 355.
- [26] T. Yoshida, K. Tsusumida, S. Teratani, K. Yasufuku, M. Kaneko, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1993**, 631.
- [27] M.-N. Collomb Dunand-Sauthier, A. Deronzier, R. Ziessel, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1994**, 189.
- [28] M.-N. Collomb Dunand-Sauthier, A. Deronzier, R. Ziessel, *J. Phys. Chem.*, **1993**, 97, 5973.
- [29] (a) K. Ogura, C.T. Migita, K. Wadaka, *J. Mol. Cat.*, **1991**, 67, 161. (b) K. Ogura, M. Fujita, *J. Mol. Cat.*, **1987**, 41, 303. (c) K. Ogura, K. Mine, J. Yano, H. Sugihara, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1993**, 20.
- [30] C.J. Stalder, S. Chao, M.S. Wrighton, *J. Am. Chem. Soc.*, **1984**, 106, 3676.
- [31] G. Arai, T. Harashima, J. Yasumori, *Chem. Lett.*, **1989**, 1215.
- [32] T.R. O'Toole, T.J. Meyer, B.P. Sullivan, *Chem. Mat.*, **1989**, 1, 574.
- [33] F. Beck, *Int. Chem. Eng.*, **1979**, 19, 1.
- [34] K. Junghans, *Chem. Ber.*, **1974**, 107, 3191.
- [35] L.L. Miller et L. Christensen, *J. Org. Chem.*, **1978**, 43, 2059.
- [36] M.J. Lain et D. Pletcher, *Electrochim. Acta*, **1987**, 32, 109.
- [37] T. Chiba, M. Okimoto, H. Nagai, Y. Takata, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **1983**, 56, 719.
- [38] G. Belot, S. Desjardins, J. Lessard, *Tetrahedron Lett.*, **1984**, 25, 5347.
- [39] J.-C. Moutet, *Org. Prep. Proc. Int.*, **1992**, 24, 309.
- [40] K. Itaya, H. Takahashi, I. Uchida, *J. Electroanal. Chem.*, **1986**, 208, 373.
- [41] R.N. Dominey, N.S. Lewis, J.A. Bruce, D.C. Bookbinder, N.S. Wrighton, *J. Am. Chem. Soc.*, **1982**, 104, 467.
- [42] L. Coche, J.-C. Moutet, *J. Am. Chem. Soc.*, **1987**, 109, 6887.
- [43] G. Tourillon, F. Garnier, *J. Phys. Chem.*, **1984**, 88, 5281.
- [44] K.M. Kost, D.E. Bartak, B. Kazee, T. Kuwana, *Anal. Chem.*, **1986**, 60, 2379.
- [45] G.P. Sakellaropoulos, S.H. Langer, *J. Cat.*, **1981**, 67, 77.
- [46] T. Yamada, T. Osa, T. Matsue, *Chem. Lett.*, **1987**, 1611.
- [47] I.M.F. De Oliveira, J.-C. Moutet, S. Hamar-Thibault, *J. Mater. Chem.*, **1992**, 2, 167.
- [48] N. Takano, Y. Kawakami, N. Takeno, *Chem. Lett.*, **1996**, 589.
- [49] L. Coche, B. Ehui, D. Limosin, J.-C. Moutet, *J. Org. Chem.*, **1990**, 55, 5905.
- [50] J.-C. Moutet, Y. Ouenoughi, A. Ourari, S. Hamar-Thibault, *Electrochim. Acta*, **1995**, 40, 1827.
- [51] Z. Ogumi, K. Nishio, S. Yoshizawa, *Electrochim. Acta*, **1981**, 26, 1779.
- [52] U. Koëlle, *New J. Chem.*, **1992**, 16, 157.
- [53] I.M.F. de Oliveira, J.-C. Moutet, *J. Mol. Cat.*, **1993**, 81, L 19.
- [54] S. Chardon-Noblet, I.M.F. de Oliveira, J.-C. Moutet, S. Tingry, *J. Mol. Cat. A*, **1995**, 99, 13.
- [55] H. Cano-Yelo Bettega, J.-C. Moutet, S. Tingry, *J. Electroanal. Chem.*, **1995**, 391, 51.
- [56] A. Deronzier, J.-C. Moutet, E. Saint-Aman, *J. Electroanal. Chem.*, **1992**, 327, 147.
- [57] J.-C. Moutet, C. Duboc-Toia, S. Ménage, S. Tingry, *Adv. Mat.*, **1998**, 10, 665.
- [58] B. Beden, C. Lamy, J.-M. Léger, *Modern Aspects of Electrochemistry*, J.O'M. Bockris, B.E. Conway, R. White (Eds.), Vol. 22, pp. 97-264, Plenum Press, New-York (1992).
- [59] J.-M. Léger, C. Lamy, *Ber. Bunsenges. Phys. Chem.*, **1990**, 94, 1021.
- [60] P. Ocon-Esteban, J.-M. Léger, C. Lamy, E.M. Geniès, *J. Appl. Electrochem.*, **1989**, 19, 462.
- [61] C. Lamy, J.-M. Léger, F. Garnier, *Handbook of Organic Conductive Molecules and Polymers*, H. Nalwa (Ed.), Vol. 3, pp. 471-496, John Wiley & Sons, Chichester (1997).
- [62] B. Beden, C. Lamy, «*Spectroelectrochemistry, Theory and Practice*», R.J. Gale (Ed.), Chap.5, pp. 149-262, Plenum Press, New York (1988).
- [63] H. Laborde, J.-M. Léger, C. Lamy, *J. Appl. Electrochem.*, **1994**, 24, 219.
- [64] C. Lamy, J.-M. Léger, J. Clavilier, R. Parsons, *J. Electroanal. Chem.*, **1983**, 150, 71.
- [65] M. Ulmann, R. Kostecki, J. Augustynski, D.J. Strike, M. Koudelka-Hep, *Chimia*, **1992**, 46, 138.
- [66] M. Hepel, M. Yi-Chen, U. Stimming, *Proceedings of the First International Symposium on New Materials for Fuel Cell Systems*, O. Savadogo, P.R. Roberge, T.N. Veziroglu (Eds.), pp. 629-657, Ecole Polytechnique, Montréal (1995).
- [67] H. Laborde, J.-M. Léger, C. Lamy, F. Garnier, A. Yassar, *J. Appl. Electrochem.*, **1990**, 20, 524.
- [68] P. Olivi, V. P. Nunes, 20<sup>ème</sup> Réunion de la Société Brésilienne de Chimie, Résumé n° EQ-85, Vol. 3 (1997).
- [69] H. Laborde, Thèse de Doctorat de l'Université de Poitiers (1992).
- [70] M.M.P. Janssen, J. Moolhuysen, *Electrochim. Acta*, **1976**, 21, 869.
- [71] C.T. Hable, M.S. Wrighton, *Langmuir*, **1991**, 7, 1305.
- [72] H. Laborde, A. Rezzouk, J.-M. Léger, C. Lamy, *Proceedings of the Symposium on Electrode Materials and Processes for Energy Storage and Conversion*, S. Srinivasan, D.D. McDonald, A.C. Khandkar (Eds.), Vol. 94-23, pp. 275-293, The Electrochemical Soc., Inc., Pennington (1994).
- [73] S. Swathirajan, Y. M. Mikhail, *J. Electrochem. Soc.*, **1992**, 139, 2105.
- [74] C.T. Hable, M.S. Wrighton, *Langmuir*, **1993**, 9, 3284.
- [75] H. Laborde, J.-M. Léger, C. Lamy, *J. Appl. Electrochem.*, **1994**, 24, 1019.
- [76] W.T. Napporn, H. Laborde, J.-M. Léger, C. Lamy, *J. Electroanal. Chem.*, **1996**, 404, 153.
- [77] S. Cosnier, A. Deronzier, A. Llobet, *J. Electroanal. Chem.*, **1990**, 280, 213.
- [78] W.F. De Giovanni, A. Deronzier, *J. Electroanal. Chem.*, **1992**, 337, 285.
- [79] S. Cosnier, A. Deronzier, J.-C. Moutet, *Inorg. Chem.*, **1988**, 27, 2398.
- [80] S. Cosnier, A. Deronzier, J.-F. Rolland, *J. Mol. Cat.*, **1992**, 71, 303.
- [81] M. Gholamian, J. Sundaram, A.Q. Contractor, *Langmuir*, **1987**, 3, 741.
- [82] P. Herrasti, R. Diaz, P. Ocon, *New J. Chem.*, **1993**, 17, 279.
- [83] R. Schrebler, M.A. Del Valle, H. Gomez, C. Veas, R. Cordova, *J. Electroanal. Chem.*, **1995**, 380, 219.
- [84] W.T. Napporn, J.-M. Léger, C. Lamy, *J. Electroanal. Chem.*, **1996**, 408, 141.
- [85] *Methods in Nitric Oxide Science*, M. Feelich, J.S. Stamler (Eds.), Wiley, New York (1996).
- [86] K. Shibuki, *Neuroscience Research*, **1990**, 9, 69.
- [87] K. Ichimori, H. Ishida, M. Fukahori, H. Nakazawa, E. Murakami, *Rev. Science Instr.*, **1994**, 65, 2714.
- [88] A. Meulemans, *Neuroscience Letters*, **1993**, 157, 7.
- [89] T. Malinski, Z. Taha, *Nature*, **1992**, 358, 676.
- [90] Lantoine, S. Trevin, F. Bedioui, J. Devynck, *J. Electroanal. Chem.*, **1995**, 392, 85.
- [91] S. Trevin, F. Bedioui, J. Devynck, *Talanta*, **1996**, 43, 303.
- [92] F. Bedioui, S. Trevin, J. Devynck, F. Lantoine, A. Brunet, M.A. Devynck, *Biosens. Bioelectron.*, **1997**, 12, 205.
- [93] N. Oyama, F.C. Anson, *J. Electrochem. Soc.*, **1980**, 127, 247.
- [94] I. Rubinstein, A.J. Bard, *J. Am. Chem. Soc.*, **1980**, 102, 6641.
- [95] M.W. Espenscheid, A.R. Ghatak-Roy, R.B. Moore III, R.M. Penner, M.N. Szentirmay, C.R. Martin, *J. Chem. Soc. Faraday Trans 1*, **1986**, 82, 1051.
- [96] J. Wang, B. Greene, C. Morgan, *Anal. Chim. Acta*, **1984**, 158, 15.
- [97] K. Kalcher, *Electroanalysis*, **1990**, 2, 419.
- [98] C.G. Neuhold, J. Wang, X. Cai, K. Kalcher, *Analyst*, **1995**, 120, 2377.
- [99] A. Walcarius, *Electroanalysis*, **1996**, 8, 971.
- [100] K. Digua, J.M. Kauffmann, M. Khodari, *Electroanalysis*, **1994**, 6, 459.
- [101] P. Ugo, L.M. Moretto, *Electroanalysis*, **1995**, 7, 1105.
- [102] K. Kalcher, J.M. Kauffmann, J. Wang, I.S. Van Cara, K. Vytras, C. Neuhold Z. Yang, *Electroanalysis*, **1995**, 7, 5.

- [103] A. Le Gall La Salle, B. Limoges, S. Rapicault, C. Degrand, P. Brossier, *Anal. Chim. Acta.*, **1995**, 311, 301.
- [104] S. Rapicault, B. Limoges, C. Degrand, *Anal. Chem.*, **1996**, 68, 930.
- [105] O. Bagel, B. Limoges, C. Degrand, **1997**, 69, 000.
- [106] P. Ugo, L.M. Moretto, G.A. Mazzochin, *Anal. Chim. Acta*, **1995**, 305, 74.
- [107] S. Rapicault, B. Limoges, C. Degrand, *Electroanalysis*, **1996**, 8, 880.
- [108] A. Le Gall La Salle, B. Limoges, C. Degrand, *Anal. Chem.*, **1995**, 67, 1245.
- [109] K.H. Lubert, M. Schnurrbusch, A. Thomas, *Anal. Chim. Acta*, **1982**, 144, 123.
- [110] L. Piszczek, A. Ignatowicz, J. Kielbava, *J. Chem. Educ.*, **1988**, 65, 171.
- [111] O'Riordan, G.G. Wallace, *Anal. Chem.*, **1986**, 58, 128.
- [112] K.N. Thomsen, L. Kryger, R.P. Baldwin, *Anal. Chem.*, **1988**, 60, 151.
- [113] A.P. Guadalupe, H.D. Abruna, *Anal. Chem.*, **1985**, 57, 142
- [114] F. Daire, F. Bedioui, J. Devynck, *J. Electroanal. Chem.*, **1986**, 205, 309.
- [115] G. Bidan, B. Divisia-Blohorn, M. Lapkowski, J.-M. Kern, J.-P. Sauvage, *J. Am. Chem. Soc.*, **1992**, 114, 5986.
- [116] M.N. Collomb Dunand-Sauthier, A. Deronzier, J.-C. Moutet, S. Tingry, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, **1996**, 2503.
- [117] S.V. Prabhu, R.-P. Baldwin, L. Kryger, *Anal. Chem.*, **1987**, 59, 107.
- [118] A. Ruhe, L. Walder, R. Scheffold, *Makromol. Chem., Makromol. Symp.*, **1987**, 8, 225.
- [119] P.D. Beer, *Adv. Inorg. Chem.*, **1992**, 39, 79.
- [120] A. Ion, I. Ion, A. Popescu, M. Ungureanu, J.-C. Moutet et E. Saint-Aman, *Adv. Mat.*, **1997**, 9, 711.
- [121] F. Garnier, *Adv. Mat.*, **1989**, 1, 117.
- [122] M.-G. Minett, J.-R. Owen, *Synth. Met.*, **1989**, 28, C 211.
- [123] J. Roncali, R. Garreau, D. Delabouglise, F. Garnier, M. Lemaire, *Synth. Met.*, **1989**, 28, C 341.
- [124] P. Bäuerle, S. Scheib, *Adv. Mat.*, **1993**, 5, 848.
- [125] M.J. Marsella, T.M. Swager, *J. Am. Chem. Soc.*, **1993**, 115, 12214.
- [126] M.J. Marsella, R.J. Newlan, P.J. Carroll, T.M. Swager, *J. Am. Chem. Soc.*, **1995**, 117, 9842.
- [127] V. Le Berre, L. Angely, N. Simonet-Guegen, J. Simonet, *J. Electroanal. Chem.*, **1986**, 206, 115.
- [128] M. Lemaire, D. Delabouglise, R. Garreau, A. Guy, J. Roncali, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1988**, 658.
- [129] J.-C. Moutet, E. Saint-Aman, F. Tran-Van, P. Angibeaud, J.P. Utile, *Adv. Mat.*, **1992**, 4, 511.
- [130] A.P.F. Turner, *Biosensors, Fundamentals and Applications*, A.P.F. Turner, I. Karube, I. Karube, G.S. Wilson (Eds.), p. 5, Oxford University Press (1987).
- [131] Club Microcapteurs Chimiques CMC2, Président : N. Jaffrezic, IFOS/LPCI/CMC2, Ecole Centrale de Lyon, BP 163, 69131 Ecully Cedex.
- [132] Groupe Français de Bioélectrochimie GFB, Président : P. Leduc, URA 400 CNRS, Université René Descartes, 45 rue des Saints Pères, 75270 Paris cedex 06.
- [133] S.J. Updike, G.P. Hicks, *Nature*, **1967**, 214, 986.
- [134] J. Wang, *Anal. Chem.*, **1997**, 69, 184R.
- [135] K.R. Rogers, L.R. Williams, *Trends Anal. Chem.*, **1995**, 14, 289.
- [136] B.M. Paddle, *Biosens. Bioelectron.*, **1996**, 11, 1079.
- [137] P.N. Bartlett, J.M. Cooper, *J. Electroanal. Chem.*, **1993**, 362, 1.
- [138] M. Alvarez-Icaza, U. Bilitewski, *Anal. Chem.*, **1993**, 65, 525 A.
- [139] A.P. Turner, *Analisis*, **1993**, 21, M 17.
- [140] G. Harwood, C. Ponton, *Adv. Drug. Delivery Rev.*, **1996**, 18, 163.
- [141] T. Hoshi, J.I. Anzai et T. Osa, *Anal. Chem.*, **1995**, 67, 770.
- [142] P. Pantano, T.H. Morton, W.G. Kuhr, *J. Am. Chem. Soc.*, **1991**, 113, 1832.
- [143] S. Lee, J. Anzai, T. Osa, *Sensors & Actuators B*, **1993**, 12, 153.
- [144] C. Bourdillon, C. Demaille, J. Gueris, J. Moiroux, J.M. Saveant, *J. Am. Chem. Soc.*, **1993**, 115, 12264.
- [145] C. Bourdillon, C. Demaille, J. Moiroux, J.M. Saveant, *J. Am. Soc.*, **1995**, 117, 11499.
- [146] J.M. Kaufmann (Ed.) *Bioelectrochem. Bioenerg. Special Issue*, **1977**, 42, 1.
- [147] X.D. Dard, J. Lu, C. Cha, *Bioelectrochem., Bioenerg.*, **1995**, 36, 73.
- [148] N. Dontha, W.B. Nowall, W.G. Kuhr, *Anal. Chem.*, **1997**, 69, 2619.
- [149] (a) S. Cosnier, C. Innocent, *Bioelectrochem. Bioenerg.*, **1993**, 31, 147. (b) J.-L. Besombes, S. Cosnier, P. Labbé, G. Reverdy, *Anal. Lett.*, **1995**, 28, 405.
- [150] (a) J. Kulis, R.D. Schmid, *Anal. Lett.*, **1990**, 23, 589. (b) H. Kott, B. Grundig, K.-D. Strehlitz, U. Stottmeister, *Anal. Chem.*, **1995**, 67, 65.
- [151] S. Cosnier, M. Fontecave, D. Limosin, V. Nivière, *Anal. Chem.*, **1997**, 69, 3095.
- [152] T. J. Moore, M. J. Joseph, B. W. Allen, L. A. Coury Jr, *Anal. Chem.*, **1995**, 67, 1896.
- [153] E. Burestedt, A. Narvaez, T. Ruzgas, L. Gorton, J. Emmneus, E. Dominguez, G. Marko-Varga, *Anal. Chem.*, **1996**, 68, 1605.
- [154] V. Desprez, P. Labbé, *J. Electroanal. Chem.*, **1996**, 415, 191.
- [155] A. Mawer, A. V. Eremenko, K. Streffer, U. Wollenberger, F. W. Scheller, *J. Chem. Tech. Biotechnol.*, **1996**, 65, 39.
- [156] C. G. Bauer, A. V. Eremenko, E. Ehrentreich-Forster, F. F. Bier, A. Makower, H. B. Heineman, F. W. Scheller, *Anal. Chem.*, **1996**, 68, 2453.
- [157] J.M. Doyl, K.R. Wehmeyer, W.R. Heineman, H.B. Hallsall, *Electrochemical Sensors in Immunological Analysis*; T.T. Ngo (Ed.), pp. 87-102, Plenum Press, New York (1987).
- [158] W.O. Ho, D. Athey, C.J. Mc Neil, *Biosens. Bioelectron.*, **1995**, 10, 683.
- [159] J. Rishpon, L. Soussan, I. Rosen Margalit, E. Hadas, *Immunoassays*, **1992**, 13, 231.
- [160] H.S. Bresler, M.J. Lenkevich, J.F. Murdock, A.L. Newman, R.O. Robbin, *Biosensors Design and Application*, P.R. Mathewson, J.W. Finley (Eds.), pp.89-104, ACS Symposium Series, Vol. 511, American Chemical Society, Washington D.C. (1992).
- [161] I. Willner, R. Blonder, A. Dagan, *J. Am. Chem. Soc.*, **1994**, 116, 9365.
- [162] R. Blonder, E. Katz, Y. Cohen, N. Itzhak, A. Riklin, I. Wilner, *Anal. Chem.*, **1996**, 68, 3151.
- [163] J.M. Kelly, M.E.G. Lyons, W.J.M. Van der Putten, *Electrochemistry, Sensor and Analysis*, M.R. Smith, J.G. Vos (Eds.), p. 205, Elsevier, New York (1986).
- [164] R.S. Mikkelsen, *Electroanalysis*, **1996**, 8, 15 et références citées.
- [165] (a) D. Johnston, K. Glasgow, H.H. Thorp, *J. Am. Chem. Soc.*, **1995**, 117, 8933. (b) J. Wang, E. Palecek, P. Nielsen, G. Rivas, X. Cai, H. Shiraishi, N. Dontha, D. Luo, P. Farias, *J. Am. Chem. Soc.*, **1996**, 118, 7667. (c) J. Wang, X. Cai, G. Rivas, H. Shiraishi, *Anal. Chim. Acta*, **1996**, 326, 141. (d) J. Wang, X. Cai, G. Rivas, H. Shiraishi, P. Farias, N. Dartha, *Anal. Chem.*, **1996**, 68, 2629. (e) J. Wang, X. Cai, B. Tian, H. Shiraishi, *Analyst*, **1996**, 121, 965. (f) X.M. Millau et R.S. Mikkelsen, *Anal. Chem.*, **1993**, 65, 2317.
- [166] P.C. Pandey et H.H. Weetall, *Anal. Chem.*, **1994**, 66, 1236.
- [167] J. Wang, M. Chicharro, G. Rivas, X. Cai, N. Dartha, P. Farias, H. Shiraishi, *Anal. Chem.*, **1996**, 68, 2251.
- [168] C. Bourdillon, C. Demaille, J. Moiroux, J. M. Savéant, *J. Am. Chem. Soc.*, **1993**, 115, 2.
- [169] A. E. G. Cass, G. Davis, G. D. Francis, H. A. O. Hill, W. J. Aston, I. J. Higgins, E. V. Plotkin, L. D. L. Scott, A. P. F. Turner, *Anal. Chem.*, **1984**, 56, 667.
- [170] H. J. Hecht, H. M. Kalisz, J. Hendle, R. D. Schmid, D. Schomburg, *J. Mol. Biol.*, **1993**, 229, 153.
- [171] C. Bourdillon, C. Demaille, J. Moiroux, J. M. Savéant, *Acc. Chem. Res.*, **1996**, 29, 529.
- [172] M. K. Weibel, H. J. Bright, *J. Biol. Chem.*, **1971**, 246, 2734.
- [173] M. Umana, J. Waller, *Anal. Chem.*, **1986**, 58, 2979.
- [174] G. Bidan, *Sensors & Actuators B*, **1992**, 6, 45.
- [175] P.N. Bartlett, P.R. Birkin, *Anal. Chem.*, **1993**, 65, 1118.
- [176] M.V. Deshpande, D.P. Amalnerkar, *Prog. Polym. Sci.*, **1993**, 18, 623.
- [177] L. Coche-Guérente, A. Deronzier, B. Galland, P. Labbé, J.-C. Moutet, G. Reverdy, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1991**, 386.
- [178] S. Cosnier, *Electroanalysis*, **1997**, 9, 894.
- [179] D.J. Strike, N.F. De Rooij, M. Koudelka-Hep, *Sensors & Actuators B*, **1993**, 13, 61.
- [180] I.M. Christie, P. Vadgama, S. Lloyd, *Anal. Chim. Acta*, **1993**, 274, 191.
- [181] S.V. Sasso, R.J. Walla, A.M. Yacynych, *Anal. Chem.*, **1990**, 62, 1111.