

Applications analytiques des films minces de mercure protégés par du fibrinogène pour la détermination du plomb et du cadmium dans des échantillons d'eaux usées et d'eaux de mer

Adraoui Imane¹, El Rhazi Mama^{1*}, M. M. Amine Aziz² et Mariame Coulibaly³

¹Laboratoire d'électrochimie et de chimie physique

²Laboratoire des analyses chimiques et des biocapteurs, Faculté des sciences et techniques, BP 146, Mohammedia, Maroc

³Laboratoire des sciences physiques fondamentales et appliquées, Ecole Normale Supérieure, BP 10 Abidjan 08, Côte d'Ivoire

(Reçu le 14 Juillet 2006, accepté le 20 Septembre 2006)

* Correspondance, courriel : elrhazim@hotmail.com

Résumé

L'objectif de ce travail est le développement d'un capteur électrochimique à base d'un film mince de mercure protégé par du fibrinogène (Fbg). La préparation, l'optimisation, la caractérisation et l'application des électrodes à film mince de mercure modifiées par du fibrinogène sont étudiées.

L'électrode de travail est une électrode à pâte de carbone modifiée par simple adsorption du fibrinogène contenu dans une solution aqueuse en quantité adéquate. Le film de mercure est électrodéposé à des potentiels négatifs sur l'électrode modifiée. Les paramètres expérimentaux tels que la concentration du fibrinogène, le temps de déposition et le potentiel de préconcentration sont étudiés. Les performances de cette électrode sont ensuite évaluées pour la détermination simultanée du plomb et du cadmium en présence de différents surfactants tels que la gélatine, l'albumine, le SDS et le Tween 20. Les limites de détection obtenues sont de 5.10^{-9} mol.L⁻¹ et 2.10^{-8} mol.L⁻¹ pour le plomb et le cadmium, respectivement.

Les électrodes recouvertes par un film de fibrinogène et un film mince de mercure ont ensuite été appliquées avec succès pour la détermination du plomb et du cadmium dans des échantillons réels d'eaux usées et d'eau de mer.

Mots-clés : *fibrinogène, film mince de mercure, voltammétrie par redissolution anodique, surfactant.*

Abstract

Analytical application of fibrinogen-coated mercury film electrodes for the detection of lead and cadmium in water samples

The aim of this study was the development of sensor based on fibrinogen (Fbg) coated mercury film electrodes at carbon paste electrode in the perspective of in-field stripping analysis of heavy metals in complex matrix. The preparation, optimization and characterization of coatings of Fibrinogen (Fbg) for the modification of thin mercury film electrodes and its application for the detection of trace metals have been described.

The modified carbon paste electrode was prepared by a simple adsorption of fibrinogen from an aqueous solution containing an adequate quantity of fibrinogen. The Mercury film was then prepared by electrodeposition through the fibrinogen coating. The experimental parameters such as concentration of fibrinogen, deposition time and deposition potential were investigated. The performance of this electrode is evaluated in a presence of different surfactants such as gelatine, albumin, SDS and Tween 20, while lead and cadmium were employed as test metal ions. Using selected conditions the limits of detection were $5 \cdot 10^{-9}$ mol.L⁻¹ and $2 \cdot 10^{-8}$ mol.L⁻¹ for lead and cadmium, respectively.

Since fibrinogen coated mercury film showed the best performance and increased efficiency against surfactants when comparing to the conventional mercury film, it was used for the analysis of trace metals in environmental samples of waters and industrial effluents.

Keywords : *fibrinogen, mercury film electrode, square wave anodic stripping voltammetry, surfactant.*

1. Introduction

Pour affronter les nouveaux défis liés aux problèmes analytiques, il y a un grand besoin d'effectuer plusieurs analyses simultanément et rapidement dans les mêmes échantillons, par une méthode analytique performante avec une haute sensibilité et une haute sélectivité. Les techniques électrochimiques offrent l'avantage d'être rapide, sensible et facile à mettre en œuvre. Différentes techniques électroanalytiques ont été employées pour la détermination des métaux lourds à l'état de trace, à savoir la voltammétrie par redissolution anodique à onde carrée (DPASV) et la potentiométrie par redissolution anodique (PSA). Ces techniques offrent une excellente sensibilité et permettent la détermination simultanée de plusieurs éléments.

Grâce à leur grande sensibilité, les électrodes à film mince de mercure (EFMM) sont souvent les plus utilisées pour toute analyse électrochimique et se sont largement

développées durant ces deux dernières décades [1,2]. Les électrodes à film mince de mercure (EFMM) sont préparées par l'électrodéposition des ions Hg^{2+} sur la surface de l'électrode à partir d'une solution mercurique. Les ions du métal à analyser présents à l'état de trace dans la solution forment un amalgame avec le mercure et sont accumulés dans le film de mercure par réduction électrochimique. La redissolution est ensuite réalisée par le retour des ions métalliques amalgamés avec le mercure vers la solution. Le Plomb, le Cadmium, le Cuivre et d'autres métaux lourds qui forment un amalgame avec le mercure peuvent être détectés à l'état de trace. En plus, l'électrode à film mince de mercure a été largement utilisée, combinée avec la voltammétrie par redissolution anodique (ASV) pour la détermination des métaux lourds à l'état de trace [3-7].

L'électrode à film mince de mercure peut être formée sur plusieurs substrats tels que le platine [8,9], l'or [10] et des fibres du carbone [11,12]. Les électrodes à pâte de carbone (EPCs) sont souvent utilisées comme capteurs dans le domaine analytique [13,14]. Plusieurs groupes ont montré que l'électrode à pâte de carbone peut être utilisée comme un support à un film mince de mercure pour la détermination simultanée du plomb, du cadmium et du cuivre [15,16]. En effet, les électrodes à pâte de carbone occupent actuellement une place importante dans le domaine électroanalytique tant pour leur faible coût et leur mise en œuvre aisée que pour leurs performances électrochimiques en analyse organique et inorganique [17].

Cependant, l'électrode à film mince de mercure (EFMM) souffre de la présence des surfactants en solution qui affectent l'étape de déposition et diminuent l'intensité du pic, avec un changement du potentiel des pics [6]. Plusieurs approches, basées principalement sur différentes procédures (par exemple, irradiation UV, digestion par acide, ...), ont été suggérées pour minimiser l'adsorption des surfactants et les problèmes de chevauchements des pics.

Récemment, il a été suggéré que la protection de la surface d'une électrode de carbone vitreux modifiée avec un film de mercure peut être combinée avec des membranes polymériques [18-22]. L'utilisation du Nafion sur une électrode de carbone vitreux modifiée avec un film du mercure par Merkoçi et ses collaborateurs a augmenté la sensibilité du film mince de mercure pour la détermination des traces du Pb^{2+} et du Cu^{2+} [23].

La protection de la surface de l'électrode contre l'effet des interférents organiques qui sont habituellement présents dans des échantillons réels, et qui affectent l'allure des voltammogrammes suite à une adsorption irréversible [24], est extrêmement importante dans l'analyse des échantillons environnementaux en l'occurrence les effluents. Plusieurs groupes ont utilisé des agents complexant sur la surface d'une électrode à film mince de mercure afin d'adsorber le plomb (II), le cadmium (II) [25] et le chrome (IV) dans des effluents naturels [26]. Wang et ses collaborateurs [27] ont rapporté qu'il y'a une

augmentation de la sensibilité pour la détermination du plomb et du cadmium en utilisant le cellulose d'acétate pour couvrir la surface d'une électrode à film mince de mercure. Palchetti et ses collaborateurs ont aussi rapporté l'usage des électrodes sérigraphiées de carbone modifiées par un sel de mercure piégé dans des membranes voire (Nafion[®], l'Estmat Kodak AQ29[®] (polymères du persulfonate), et Methocel[®] (un dérivé cellulosique) pour la détermination électrochimique des métaux lourds [28]. Plusieurs auteurs ont utilisé des polymères, à savoir le Nafion, la polyaniline, poly (sodium-4-styrenesulfonate) et le poly (ethyl-3-thiophene acétate), pour couvrir des électrodes à film mince de mercure afin de caractériser et de déterminer des ions tels que Cd²⁺ et Pb²⁺ dans la matrice de l'échantillon en présence de plusieurs surfactants [29-34]. L'usage d'un film mince de mercure protégé avec du Nafion a permis la détermination du cuivre dans l'eau de mer, riche en matière organique comme la baie de San Francisco [35]. La détermination simultanée des concentrations du cuivre, cadmium, et plomb dans des échantillons biologiques voire le sang, l'urine, et la sueur a été rapportée par Hoyer et ses collaborateurs [36].

Vu les grandes similitudes qui existent entre des membranes polymériques tels que le Nafion et le fibrinogène, nous allons étudier dans ce travail les performances analytiques d'une électrode à film mince de mercure modifiée par du Fibrinogène.

Le fibrinogène (Fbg) est une protéine du plasma sanguin qui a un rôle indispensable dans la coagulation et a une forte capacité d'adhésion aux plaquettes. Le fibrinogène est présent à une concentration de 3 mg mL⁻¹, possède un poids moléculaire de 340 KDa et possède un point isoélectrique qui est égal à 5.5. Cette protéine, dite fibreuse, est insoluble dans l'eau mais soluble dans les milieux salins, elle montre une haute ressemblance aussi bien avec les polyelectrolytes qu'avec les polystyrenesulfonates. Par conséquent, l'étude de l'adsorption des protéines sur des surfaces solides constitue un champ de recherche très important, et un phénomène qui s'implique dans différents processus [37-41].

L'adsorption du fibrinogène sur différentes surfaces a été étudiée par différents groupes [42-45]. Salzer et ses collaborateurs ont montré que les propriétés d'adsorption du fibrinogène sur la surface change en fonction de l'hydrophobicité du substrat utilisé [44]. En plus, l'adsorption peut être décrite par des forces d'attraction électrostatique entre la charge électrique de l'électrode et celle de la protéine. L'adsorption s'est révélée plus importante sur le carbone que sur le platine et sur une surface négative que sur une surface positive. Les techniques d'impédance ont été utilisées par El Rhazi et ses collaborateurs pour étudier l'adsorption du fibrinogène sur une électrode à pâte de carbone [46].

Les principaux avantages que présente l'utilisation du fibrinogène sont :

- La simplicité et la rapidité de la préparation des électrodes sans utiliser de solvants organiques.
- La stabilité du fibrinogène adsorbé sur l'électrode à pâte de carbone.

Le but du présent travail, est l'étude et la caractérisation de l'électrode à film mince de mercure protégée avec un film de fibrinogène à des fins analytiques. La sensibilité et la reproductibilité de cette électrode seront examinées en détail. L'apport du film du fibrinogène sera aussi examiné, en particulier en présence des surfactants tels que le Tween 20, le sodium dodécylsulfate (SDS) et les protéines (albumine (BSA) et gélatine). La technique utilisée est la voltammétrie par redissolution anodique à ondes carrées (SWASV).

Le capteur réalisé sera utilisé pour la détermination du plomb et du cadmium dans un échantillon d'eau de mer et dans des échantillons des eaux usées.

2. Partie expérimentale

2-1. Appareillage

La voltammétrie par redissolution anodique à ondes carrées (SWASV) est réalisée à l'aide d'un système Autolab PSTAT 10 (Ecochimie, Netherland) contrôlé par un logiciel GPES 4.8. Les électrodes à pâte de carbone modifiées ont été utilisées comme une électrode de travail (\varnothing 3 mm) (ET); l'électrode à calomel saturé (SCE) comme une électrode de référence (ER) et une électrode de platine a été utilisée comme contre électrode (EC). L'agitation a été effectuée au cours de l'étape de préconcentration et de nettoyage.

Les électrodes sérigraphiées de carbone (ESC), avec une électrode de référence en argent, une contre électrode de graphite et une électrode de travail en graphite (\varnothing 3 mm), sont préparées à l'aide de DEK Model 245 screen-printer (Weymouth, England), en utilisant les différentes encres provenant de Acheson Italien (Milan, Italie). Les électrodes sérigraphiées sont préparées par le laboratoire du Professeur Mascini (Université de Florence, Italie).

2-2. Réactifs

Toutes les solutions ont été préparées avec l'eau distillée. Les solutions standards ont été préparées à partir du chlorure de mercure, du nitrate de cadmium 3-hydrate et du nitrate du plomb, ces produits ont été achetés de (RIEDEL-DEHAEN) et sont tous de qualité analytique.

Une concentration de 0.1 mol L⁻¹ d'acide chlorhydrique a servi comme électrolyte support. Les solutions mères des surfactants ont été préparées en diluant 500 mg L⁻¹ de sulfate de

dodecyl du sodium (BOULANGER CHEMICAL), Tween 20[®] (LABOSI), albumine (SIGMA) et Gélatine (BRECKLAND SCIENTIFIQUE VIVRES) dans l'eau distillée. Le fibrinogène (Fraction I, type I-S: du Plasma Bovin) a été obtenu de SIGMA. La poudre du graphite ($\varnothing < 0.1$ mm) a été obtenue de FLUKA. Le ferri-ferrocyanure de potassium $K_4Fe(CN)_6$ / $K_3Fe(CN)_6$ commercialisé par (FLUKA) est préparé dans une solution de 0.1 mol L^{-1} de KCl.

Le tampon phosphate de pH égal à 7.4 est préparé à partir de $10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ des réactifs NaH_2PO_4 / Na_2HPO_4 en présence de 1 mol L^{-1} de NaCl. Le pH est ajusté à l'aide d'une solution de NaOH diluée. Toutes les mesures sont effectuées à température ambiante à $25 \pm 1^\circ \text{ C}$.

2-3. Préparation des électrodes

2-3-1. Préparation d'une électrode à pâte de carbone modifiée par du fibrinogène

L'électrode à pâte de carbone a été préparée en mélangeant 1 g de poudre du graphite et 300 μL d'huile de paraffine dans un petit mortier jusqu'à l'obtention d'une pâte homogène. Par la suite, la pâte a été insérée manuellement dans la cavité cylindrique du corps de l'électrode et la surface a été lissée sur un papier propre et lisse.

L'électrode à pâte de carbone a été immergée dans une solution 0.5 mg mL^{-1} de fibrinogène (Fbg), préparée dans un tampon phosphate (pH=7.4). L'adsorption est réalisée à circuit ouvert pendant 10 min [46].

2-3-2. Electrodeposition d'un film mince de mercure

L'électrode à pâte de carbone modifiée avec du fibrinogène a été immergée dans une solution qui contient $10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ $HgCl_2$ dans 0.1 mol L^{-1} d'acide chlorhydrique et le film du mercure a été déposé en appliquant un potentiel de -1.1 V pour 120 s.

L'électrode à film mince de mercure a été modifiée de la même façon hormis l'étape d'adsorption du fibrinogène. Après avoir enregistré les voltammogrammes, l'électrode a été régénérée dans 0.1 mol L^{-1} HCl à -0.2 V pendant 30 s afin d'enlever les contaminants pouvant être co-déposés avec le mercure.

Les électrodes sérigraphiées (ESC) ont été utilisées également comme un support pour les films minces de mercure et de fibrinogène. Nous signalons que la modification des électrodes a été faite selon la même procédure.

2-4. Procédure analytique

Pour la détermination des métaux lourds dans les échantillons d'eau, les électrodes à film mince de mercure (EFMM) et les électrodes à film mince de mercure modifiées avec du fibrinogène (EFMM-Fbg) ont été préparées de la même façon décrite auparavant. L'électrode a été rincée avec soin, et placée dans l'échantillon où les analyses ont été effectuées avec la technique SWASV.

Les trois électrodes ont été immergées dans une cellule électrochimique, de 50 mL de volume, contenant 0.1 mol L^{-1} d'acide chlorhydrique et les métaux à analyser. Tous les pics des courants cités sont la moyenne de six répétitions.

La déposition des métaux est faite à -1.1V/ECS pendant 120 s sous agitation (300 rpm) et ensuite un temps d'équilibre de 30 s. L'onde carrée a une amplitude de 28 mV, un pas de 3 mV et une fréquence de 15 Hz.

2-5. Préparation des échantillons

Les échantillons des eaux usées ont été prélevés près de la zone industrielle de Mohammedia (L'Oued El maleh) et filtrés à travers une membrane de filtration de $0.45\text{-}\mu\text{m}$ (Millipore). De la même façon, les échantillons d'eau de mer ont été prélevés de la plage de la ville de Mohammedia (Maroc).

Pour la détermination des métaux lourds, les échantillons ont été acidifiés à $\text{pH}=2$ avec $\text{HCl } 0.1 \text{ mol L}^{-1}$ et gardés à 4°C . Les électrodes de EFMM-Fbg et EFMM ont été utilisées pour la détermination simultanée du Pb^{2+} et Cd^{2+} dans l'eau de mer et dans les eaux usées par SWASV dans les conditions optimisées en utilisant la méthode des ajouts dosés.

3. Résultats et discussion

3-1. Comportement électrochimique de la surface d'une électrode à pâte de carbone modifiée avec du fibrinogène en présence de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-/3-}$

La caractérisation du film du fibrinogène déposé sur la surface d'une électrode à pâte de carbone a été développée par El Rhazi et ses collaborateurs [46]. Le film du fibrinogène peut être déposé sur la surface de l'électrode par voltammétrie cyclique ou bien par une simple adsorption.

Afin de prouver la formation du film sur la surface de l'électrode, nous avons étudié le comportement des électrodes nues et modifiées avec du fibrinogène par une simple adsorption en présence du $10^{-3} \text{ mol L}^{-1} \text{ Fe}(\text{CN})_6^{4-/3-}$. La voltammétrie cyclique a été réalisée

dans une solution de 0.1 mol L^{-1} KCl qui contient $10^{-3} \text{ mol L}^{-1} \text{ Fe(CN)}_6^{4-/3-}$. La **Figure 1** montre les voltammogrammes obtenus sur la surface d'une électrode nue et sur une électrode modifiée avec du fibrinogène avant et après l'analyse.

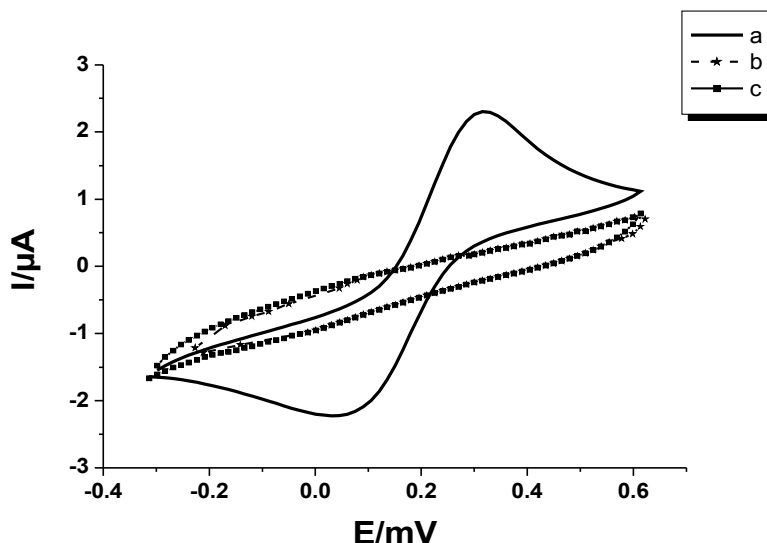


Figure 1: Les voltammogrammes réalisés sur la surface des électrodes nue et modifiée avec du fibrinogène en présence du ferri-ferrocyanure $10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ à 50 mV/s (a) l'électrode nue, (b) l'électrode modifiée avant l'analyse, et (c) l'électrode modifiée après l'analyse

La réponse du Ferri -Ferrocyanure sur l'électrode à pâte de carbone nue montre un système réversible avec deux pics redox, néanmoins, cette réponse disparaît complètement quand l'expérience a été réalisée avec une électrode modifiée. Des résultats comparables ont été publiés dans la littérature avec des membranes de type Nafion contenant des groupements sulfoniques. Ainsi Monterroso et ses collaborateurs ont montré les propriétés de permselectivité du poly (styrenesulfonate) vis-à-vis de nombreux composés [32,34].

La disparition de la réponse du ferri-ferrocyanure peut être expliquée par des répulsions électrostatiques entre les charges négatives. Ces résultats suggèrent que le film de fibrinogène manifeste des propriétés de permselectivité et modifie le transfert de masse vers la surface active et confirme que le film du fibrinogène formé sur la surface de l'électrode est un film non conducteur qui bloque la surface de l'électrode.

L'électrode à film mince de mercure protégée avec du fibrinogène (EFMM-Fbg) a été utilisée pour la détermination simultanée du plomb et du cadmium. Comme la

détermination est réalisée à un potentiel négatif de -1.1 V pendant 2 min, il nous a paru nécessaire de vérifier la réponse de l'électrode à film mince de mercure protégée avec du fibrinogène en présence du $10^{-3} \text{ mol L}^{-1} \text{ Fe(CN)}_6^{4-/3-}$. Les résultats obtenus montrent que l'application d'un potentiel négatif ne détruit pas le film du fibrinogène. En effet, l'absence des deux pics redox est maintenue, ce qui indique la stabilité du film sous un potentiel négatif.

3-2. Détermination du plomb et du cadmium sur EFMM-Fbg

Les performances analytiques de cette électrode pour la détermination du Cd^{2+} et du Pb^{2+} dans un milieu acide ont été évaluées. La **Figure 2** montre le voltammogramme obtenu pour la détermination du $10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ du plomb et du cadmium en utilisant les deux électrodes soit (a) EFMM et (b) EFMM-Fbg. Les deux électrodes montrent deux pics bien séparés après 120 s de déposition. Les pics d'oxydation du cadmium et du plomb apparaissent respectivement à des potentiels de -0.73 V/ECS et -0.53 V/ECS sur EFMM et de -0.74 V/ECS et -0.54 V/ECS sur Fbg-EFMM. Une petite variation du potentiel de l'ordre de 10 mV/ECS a été observée avec le EFMM- Fbg. Cependant, la présence du film du fibrinogène offre une amélioration considérable au niveau de la sensibilité lorsqu' on le compare à l'électrode à film mince du mercure.

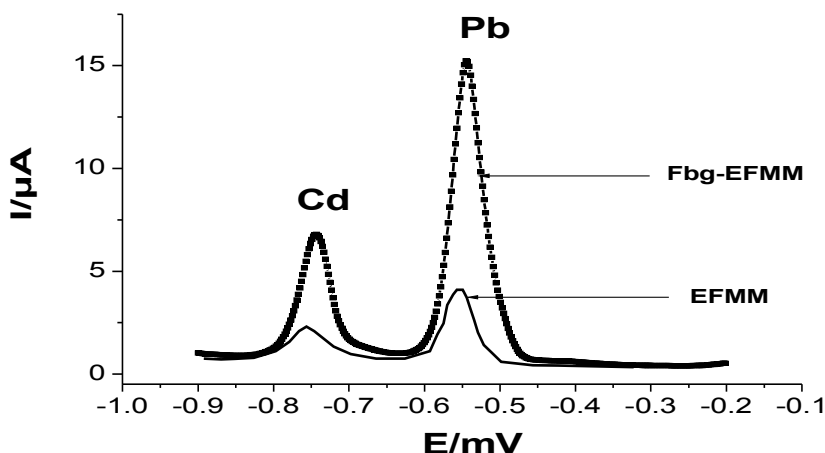


Figure 2: Les voltammogrammes de la détermination du $10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ du plomb et du cadmium en utilisant (a) EFMM et (b) Fbg-EFMM. Conditions: $E_{dep.} -1.1\text{V/ECS}$, $t_{dep.} 120 \text{ s}$, t_{eq} de 30 s ; Electrolyte de support : $\text{HCl } 0.1 \text{ mol L}^{-1}$.

La comparaison des résultats obtenus avec EFMM et EFMM-Fbg indique que la sensibilité du Fbg-TMFE pour la préconcentration, respectivement des ions Pb^{2+} et Cd^{2+} , a été

relevée par un facteur de l'ordre de 4.5 et de 3.7. Différents auteurs qui ont déjà utilisé le Nafion ou bien d'autres polymères ont montré que ces polymères présentent des comportements semblables [31,32].

3-3. Optimisation des conditions d'analyse du plomb (II) et du cadmium (II)

3-3-1. Effet de la concentration du fibrinogène (Fbg)

Le premier paramètre étudié est l'effet de la concentration du Fbg sur la sensibilité de la méthode proposée. Le fibrinogène a été utilisé pour stabiliser mécaniquement la phase du mercure et prévenir la surface de l'électrode contre l'effet de la matière organique qui se trouve dans la solution à analyser et à assurer la reproductibilité de la surface active de l'électrode. La concentration de Fbg a été testée dans la gamme qui varie de 0.2 mg mL⁻¹ à 2.5 mg mL⁻¹. La **Figure 3** montre l'influence de la concentration du modificateur sur la détermination simultanée du 10⁻⁶ mol L⁻¹ du Pb²⁺ et du Cd²⁺.

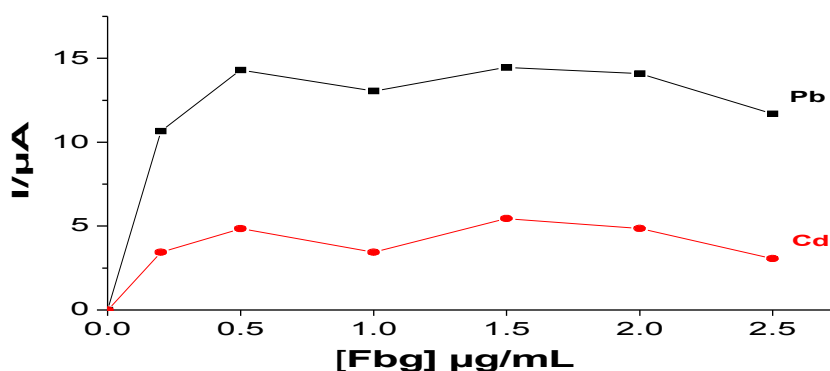


Figure 3: L'influence de la concentration du fibrinogène sur la détermination simultanée 10⁻⁶ mol L⁻¹ du Pb²⁺ et du Cd²⁺. $E_{dep} : -1.1V/ECS$, $t_{dep} : 120 s$, t_{eq} de 30 s ; Electrolyte de support : HCl 0.1 mol L⁻¹.

Les résultats obtenus montrent que les intensités du pic du Cd²⁺ et du Pb²⁺ atteignent des valeurs maximales quand la concentration du Fbg est de 0.5 mg mL⁻¹. Cette concentration a été sélectionnée comme une concentration optimale pour la suite du travail.

3-3-2. Effet du potentiel de préconcentration

Le potentiel de préconcentration est un paramètre important pour les techniques d'analyse, et possède une influence non négligeable sur la sensibilité de la détermination des métaux lourds. L'effet du potentiel de déposition sur l'intensité du pic du plomb et du cadmium a été examiné dans la gamme de potentiel qui varie entre -0.7 V/ECS et -1.3 V/ECS. La **Figure 4** montre l'effet du potentiel de préconcentration sur l'intensité du pic. Les résultats obtenus montrent qu'il y a une augmentation significative de l'intensité du pic quand le potentiel est balayé vers les potentiels les plus négatifs pour le plomb. Le courant reste sensiblement le même pour le cadmium quelque soit le potentiel appliqué. -1.1 V/ECS a été choisi comme potentiel de préconcentration dans la suite du travail.

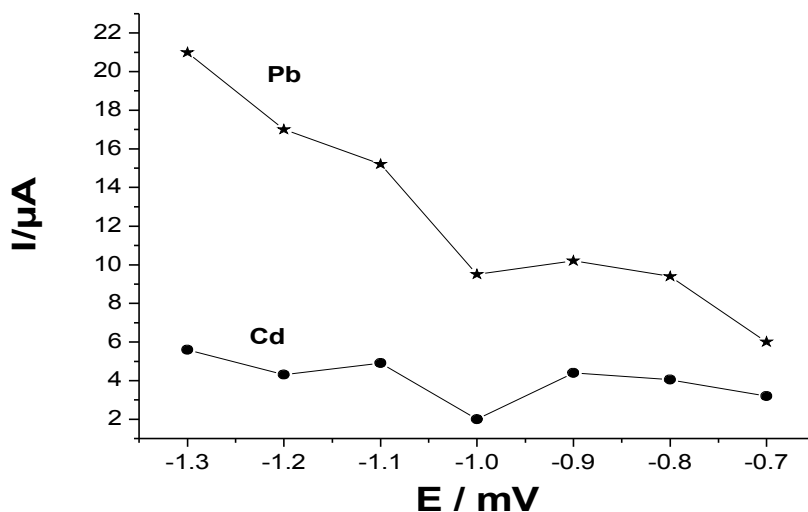


Figure 4: L'effet du potentiel de préconcentration sur l'intensité du pic du 10^6 mol L^{-1} du plomb et du cadmium. $E_{dep} : -1.1 \text{ V/ECS}$, $t_{dep} : 120 \text{ s}$, t_{eq} de 30 s ; Electrolyte support : $\text{HCl } 0.1 \text{ mol L}^{-1}$.

3-3-3. Effet du temps de préconcentration

La voltammétrie par redissolution anodique à ondes carrées montre une corrélation entre l'intensité du pic et le temps de préconcentration d'une concentration de 100 ppb du plomb et du cadmium dans un milieu acide dans la gamme comprise entre 20 s et 180 s. Les résultats obtenus sont présentés dans la **Figure 5**. Nous observons, une augmentation de l'intensité du pic en fonction de l'augmentation du temps de

préconcentration indiquant une augmentation de la concentration des ions à la surface de l'électrode. Pour les deux métaux, on observe une augmentation de l'intensité du pic qui progresse jusqu'à 120 s et devient constante par la suite. Le temps de préconcentration de 120 s a été employé pour le reste du travail.

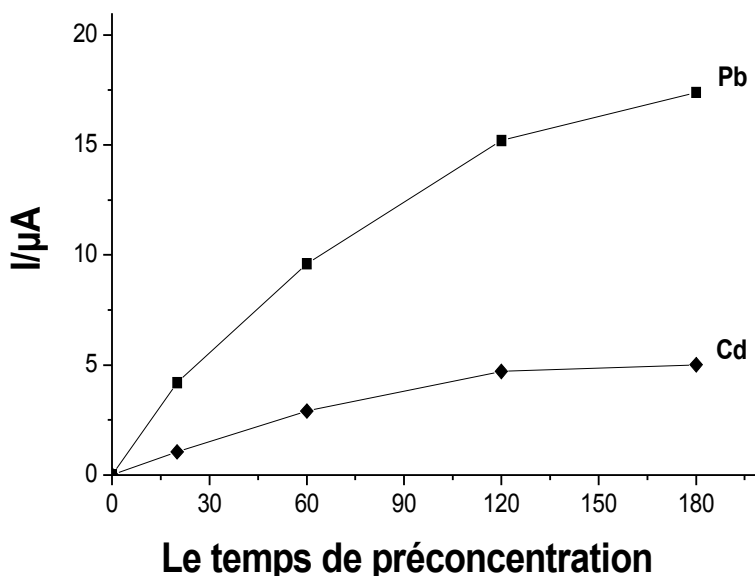


Figure 5: L'effet du temps de déposition sur l'intensité du pic du 10^{-6} mol L⁻¹ du plomb et du cadmium. $E_{dep} = -1.1V/ECS$, $t_{dep} : 120$ s, t_{eq} de 30 s ; Electrolyte de support: HCl 0.1 mol L⁻¹.

3-3-4. Les courbes de calibration

Les courbes de calibration ont été réalisées pour la détermination simultanée du Pb²⁺ et du Cd²⁺ par voltammétrie à redissolution anodique à ondes carrées SWASV en utilisant l'électrode à film mince de mercure sous les conditions optimisées décrites auparavant dans la gamme de concentration qui varie entre $2 \cdot 10^{-9}$ et 10^{-7} mol L⁻¹.

Les équations de corrélation ont été respectivement :

$$y (\mu A) = 43.3 \times (\mu mol L^{-1}) + 2.1 \quad (r = 0.999, n = 6) \tag{1a}$$

et

$$y (\mu A) = 39.2 \times (\mu mol L^{-1}) + 0.12 \quad (r = 0.997, n = 6) \tag{1b}$$

Les limites de détection sont 7.10^{-8} mol L⁻¹ pour le plomb et 5.10^{-7} mol L⁻¹ pour le cadmium. Les valeurs de DSR pour les pentes des courbes de calibration du Pb²⁺ et du Cd²⁺ étaient respectivement 5.4 % et 4.7 %.

Le rapport entre les concentrations du courant des pics d'oxydation du plomb et du cadmium a aussi été examiné avec EFMM-Fbg par la SWASV dans la concentration qui varie entre 5.10^{-9} et 10^{-7} mol L⁻¹. Les équations obtenues sont respectivement :

$$y (\mu A) = 84.8 x (\mu mol L^{-1}) - 0.4 \quad (r = 0.999, n = 6) \quad (2a)$$

et

$$y (\mu A) = 79.8 x (\mu mol L^{-1}) + 0.17 \quad (r = 0.999, n = 6) \quad (2b)$$

Les limites de détection sont 5.10^{-9} mol L⁻¹ pour le plomb et 2.10^{-8} mol L⁻¹ pour le cadmium. Les valeurs de DSR pour les pentes des courbes de calibration du Pb²⁺ et pour du Cd²⁺ étaient respectivement 4.8 % et 5.3 %.

Suite à une étude comparative entre les pentes des courbes de calibration des deux électrodes nous constatons que l'augmentation de la pente au niveau du EFMM-Fbg est due à la présence du fibrinogène confirmant aussi la haute sensibilité de cette électrode.

3-4 L'effet des surfactants sur le comportement analytique de l'électrode à film mince de mercure protégée avec du fibrinogène

La protection de la surface d'une électrode à film de mercure par des polymères tels que le Nafion, a été utilisée afin d'éliminer l'effet des surfactants présents dans la matrice de l'échantillon à analyser. Nous avons donc réalisé une étude basée sur l'influence des surfactants sur la réponse du plomb et du cadmium. Pour cela, la protection de l'électrode à film mince de mercure avec du fibrinogène contre l'effet des surfactants a été évaluée et comparée avec celle obtenue avec l'électrode à film mince de mercure, en présence de diverses concentrations des surfactants à savoir :

- Le Tween 20 qui est un surfactant non ionique,
- Le sodium dodécylsulfate (SDS) qui est un surfactant anionique,
- La gélatine qui est un surfactant cationique,
- L'albumine

La présence des substances organiques dans la matrice des échantillons a un effet notable sur la réponse obtenue à la surface de l'électrode, ceci est dû à l'adsorption de tels composés sur la surface du film mince de mercure. En principe, la présence des surfactants affecte en même temps l'intensité du pic et le potentiel des pics, le **Tableau 1** montre les résultats qui correspondent à l'intensité des courants des pics d'oxydation du plomb en présence de plusieurs surfactants à une concentration fixe. Nous observons, en présence des surfactants cationiques et non ioniques, qu'il y'a une diminution de l'intensité du pic d'oxydation du plomb avec un déplacement du potentiel des pics vers le potentiel positif lorsqu'on les compare avec ceux obtenus en absence des surfactants.

Cependant, en présence des surfactants anioniques, on note une grande diminution de l'intensité du pic accompagnée par un changement du potentiel vers le potentiel le plus négatif. Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par différents auteurs, lorsqu'ils ont développé une méthode basée sur un film mince de mercure déposé sur une électrode de carbone vitreux protégée par une membrane, pour la détermination du plomb et du cadmium en présence des surfactants [32,48].

Tableau 1: *Variation de l'intensité des pics et le potentiel des pics d'oxydation du plomb en présence de plusieurs surfactants.*

Surfactants	EFMM		Fbg-EFMM	
	potentiel du pic d'oxydation (V)	Courant du pic d'oxydation (µA)	potentiel du pic d'oxydation (V)	Courant du pic d'oxydation (µA)
Absence de surfactant	-0.48	3.4	-0.52	15.3
surfactants Anioniques SDS	-0.43	0.97	-0.45	7.44
surfactants Cationiques BSA	-0.56	1.24	-0.58	9.42
Gelatine		1.46		11.4
surfactants Non-ioniques Tween 20	-0.52	0.27	-0.53	5.26

L'effet de la matrice peut être minimisé ou en grande partie éliminé par l'utilisation d'un film de fibrinogène. Afin de vérifier, l'effet des surfactants sur l'intensité du pic d'oxydation du plomb et du cadmium, une étude détaillée a été réalisée avec les deux électrodes en variant les concentrations des différents surfactants, sous les mêmes conditions en utilisant la voltammétrie à redissolution anodique à onde carrée (SWASV) afin d'obtenir une comparaison directe. La variation des courants des pics anodiques du plomb et du cadmium a été étudiée en présence de différentes concentrations des surfactants qui varient entre 5 ppm et 60 ppm de la gélatine, albumine, SDS et Tween 20. Les résultats obtenus ont été illustrés dans la **Figure 6** sur les deux électrodes EFMM (A) et le EFMM-Fbg (B).

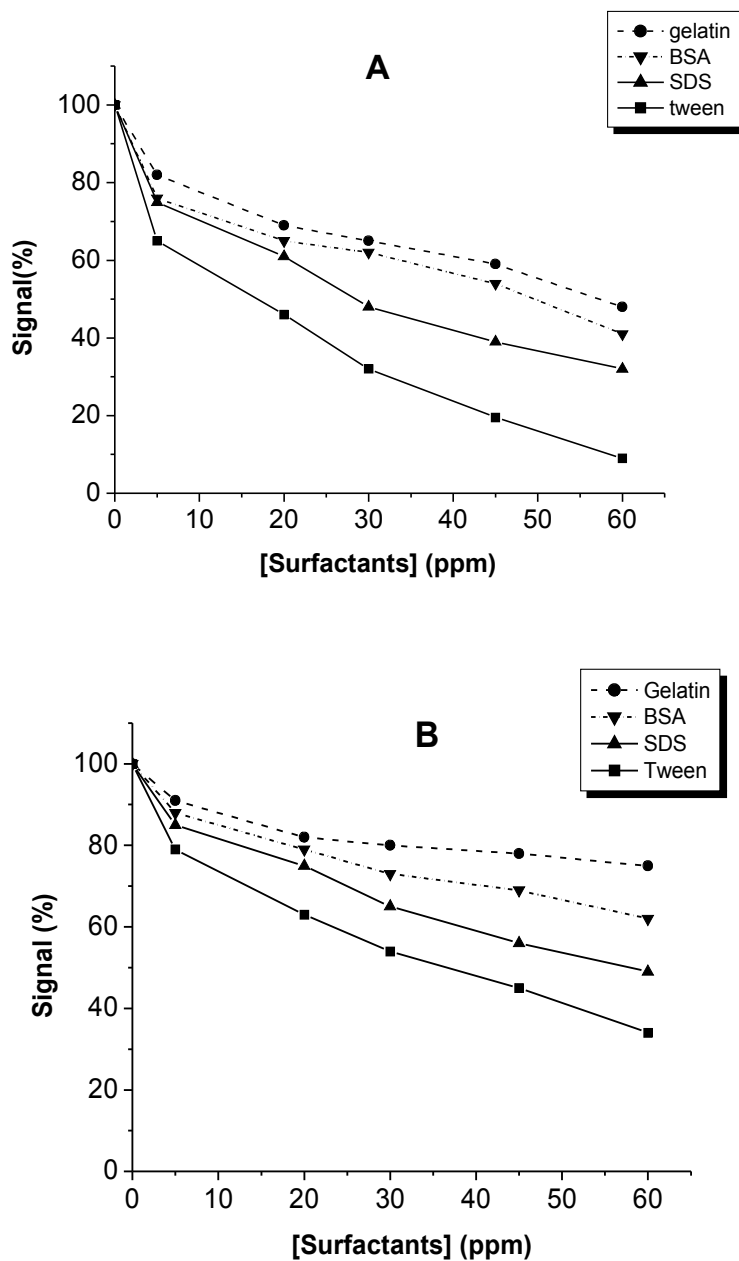


Figure 6: Variation du rapport des courants des pics anodiques du plomb en présence de différentes concentrations de la gélatine, l'albumine, le SDS et le Tween 20. En utilisant EFMM (A) EFMM- Fbg (B).

La **Figure 6 (A)** présente les résultats obtenus sur un film mince de mercure. Le pourcentage du signal (I %) étudié en fonction de la variation de la concentration des surfactants est définie par l'équation :

$$I \% = I_p / I_{p\ max} \times 100 \quad (3)$$

où I_p : Le courant du pic après l'ajout du surfactant.

$I_{p\ max}$: Le courant du pic avant l'ajout du surfactant.

En présence de gélatine (60 ppm), le courant enregistré sur la surface de l'électrode à film mince de mercure diminue et atteint une valeur de 48 % par rapport à sa valeur initiale avant l'ajout de 60 ppm. De même, en présence de la même quantité d'albumine, le rapport des courants diminue et atteint une valeur de 41 % (**Figure 6 A**). Le sodium dodécylsulfate est un surfactant anionique (MW, 288) et a un caractère de lipide polaire. Les additions successives de ce surfactant à la cellule d'analyse montre qu'il a une influence prononcée sur les courants des pics. En effet, à 60 ppm de SDS, il ne reste que 30 % du signal. Enfin, à une concentration de 60 ppm de Tween 20, le courant enregistré sur la surface de l'électrode à film mince de mercure diminue de façon très prononcée il ne reste que 9 % du signal.

Nous pouvons conclure d'après cette première étude que l'effet le plus marqué est enregistré avec le Tween 20. L'effet des surfactants sur l'intensité du pic relatif à la détermination du plomb et du cadmium peut être classé dans l'ordre suivante : *Tween 20 > SDS > BSA > gélatine*.

La protection de la surface de l'électrode avec un film de fibrinogène présente des propriétés intéressantes en présence des quatre surfactants. Les résultats obtenus avec Fbg-EFMM (**Figure 6 B**) montrent une faible baisse du courant en présence des surfactants, lorsqu' on les compare avec ceux obtenus avec le film mince de mercure. En plus, l'effet des surfactants est classé dans le même ordre : *Tween 20 > SDS > BSA > gélatine*.

Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés dans la littérature [49].

En présence de 60 ppm de la gélatine, on récupère 75 % du signal en courant au lieu de 48 % en absence de fibrinogène. Pour une concentration de 60 ppm d'albumine le pourcentage du courant résultant est de 61 %. A une concentration de 60 ppm de sodium dodécylsulfate, le courant restant est de 50 %. Enfin , en présence de la même quantité de Tween 20 le pourcentage du courant est nettement amélioré sur une électrode à film mince de mercure protégé par du fibrinogène et le rapport des courants est 34 % au lieu de 9 %.(**Figure 6 B**).

On peut déduire que la présence du fibrinogène est très importante pour la protection de la surface de l'électrode à film mince de mercure vis-à-vis des surfactants. Alors, le EFMM- Fbg est plus résistant au surfactant que le EFMM, il permet aussi la détermination

des métaux même en présence d'une forte concentration de surfactants, la **Figure 7** montre les histogrammes relatifs aux résultats obtenus en présence de 60 ppm de chaque surfactants.

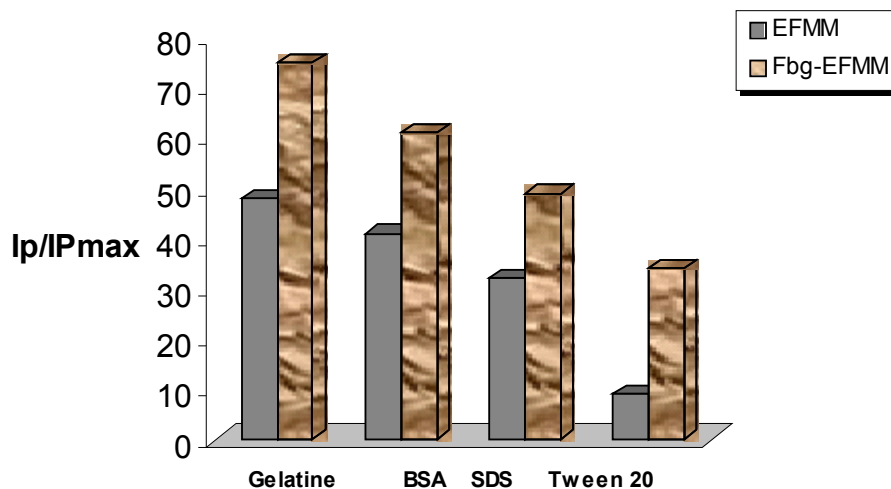


Figure 7: Histogramme comparatif des effets de 60 ppm des surfactants sur la réponse du EFMM et du EFMM- Fbg

3-5. Etude de la répétitivité du film

Pour étudier les performances du EFMM- Fbg, un ensemble d'expérience a été fait pour évaluer la répétitivité de la méthode en présence de surfactants.

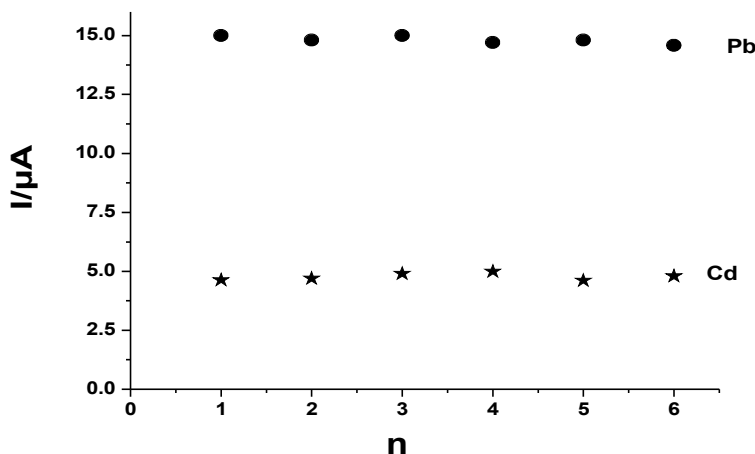


Figure 8: Les répétitions $n = 6$ dans la même solution contenant 10^6 mol L^{-1} du plomb et du cadmium. $E_{dep} : -1.1V/ECS$, $t_{dep} : 120 \text{ s}$, t_{eq} de 30 s; dans un milieu acide.

Des répétitions de l'ordre de 6 fois dans la même solution contenant 10^{-6} mol L⁻¹ du plomb et du cadmium ont été réalisées. La **Figure 8** montre les résultats obtenus, la déviation relative standard (DSR) du plomb et du cadmium a été respectivement de 3.6 % et de 5.2 %.

La stabilité de l'électrode à film mince de mercure protégée avec du fibrinogène a été évaluée sur une électrode gardée dans un tampon phosphate et stockée à 4 °C pendant 6 semaines. Ensuite, les mesures sont effectuées dans les mêmes conditions citées auparavant. Les résultats obtenus ne montrent aucun changement notable sur la réponse analytique. En plus, le film formé peut être réutilisé pendant plus d'un mois.

4. Application analytique

L'applicabilité de ces deux électrodes EFMM et EFMM-Fbg a été évaluée pour la détermination des traces du plomb et du cadmium dans des échantillons de l'eau de mer et de l'eau usée.

Les échantillons de l'eau de mer

L'analyse du plomb et du cadmium dans les échantillons a été réalisée en utilisant la méthode des ajouts dosés, de 1 µL et de 0.1 µL, après dilution de l'échantillon à analyser. Les résultats obtenus par la méthode proposée sont résumés dans le **Tableau 2**, et indiquent que le taux de recouvrement obtenu est très satisfaisant (95 % - 106 %).

Tableau 2 : *Résultats de l'analyse d'un échantillon de l'eau de mer*

	Ajoutée / (mol L ⁻¹)	Trouvée / (mol L ⁻¹)	Taux de Recouvrement / (%)
Cd ²⁺	1	1.01	101
	0.1	0.095	95
Pb ²⁺	1	0.98	98
	0.1	0.106	106

Les échantillons des eaux usées

La même méthode a été appliquée pour l'analyse du plomb et du cadmium dans un échantillon d'eau usée, qui est riche en matière organique (DCO 622 mg L⁻¹). En fait, une concentration de surfactants anioniques d'environ 9 mg L⁻¹ [50] a été mesurée. L'interférence est possible du fait de la complexité de la matrice. Pour cette raison l'échantillon a été analysé en utilisant la méthode des ajouts dosés.

Une dilution de 1/10 a été faite dans l'échantillon avec 0.1 mol L⁻¹ d'HCL, ensuite deux ajouts standards de 0.1 μmol L⁻¹ et de 0.2 μmol L⁻¹ du Cd²⁺ et du Pb²⁺ ont été ajoutés à l'échantillon d'eau usée. Les différentes courbes obtenues sur EFMM et sur EFMM-Fbg ont été illustrées dans le **Tableau 3**.

Tableau 3 : Les équations de corrélation de deux électrodes EFMM et EFMM-Fbg

	EFMM	Fbg-EFMM	P _{Fbg-EFMM} / P _{EFMM}
Pb ²⁺	Y _{μA} = 4.2 + 4.3 X _{μmol L⁻¹} (r = 0.995)	Y _{μA} = 29.5 + 33 X _{μmol L⁻¹} (r = 0.999).	7.6
Cd ²⁺	Y _{μA} = 4.2 + 0.5 X _{μmol L⁻¹} (r = 0.995)	Y _{μA} = 9.4 + 2.2 X _{μmol L⁻¹} (r = 0.999).	4.4

La sensibilité de la détermination du plomb et du cadmium avec du EFMM- Fbg a augmenté respectivement par un facteur de 7.6 et 4.4 par rapport au EFMM. Une quantification de la concentration du plomb et du cadmium dans les échantillons originaux est faite grâce à la courbe établie des ajouts dosés.

5. Vers des capteurs électrochimiques disponibles : les électrodes sérigraphiées

Les électrodes sérigraphiées (ESC) ont été également utilisées pour évaluer les performances analytiques obtenues auparavant avec l'électrode à pâte de carbone (EPC). L'électrode sérigraphiée modifiée avec un film mince de mercure protégé avec du fibrinogène (ESFMM-Fbg) a été appliquée pour la détermination simultanée du plomb et du cadmium.

Les courbes de calibration ont été réalisées en utilisant ESFMM-Fbg sous les mêmes conditions optimisées auparavant. Les résultats obtenus dans la gamme 4.10⁻⁸ à 10⁻⁶ mol L⁻¹ pour la détermination simultanée du plomb et du cadmium dans un milieu acide de 0.1 mol L⁻¹ de HCl en utilisant SWASV comme technique électroanalytique, sont résumés dans le **Tableau 4**. La déviation standard relative calculée est de 2.5 %, pour des expériences répétée six fois sur la même électrode en utilisant une solution de 0.1 μmol L⁻¹ du plomb. En plus, la DSR est de l'ordre de 8.5 % avec six différentes électrodes (n= 6). Nous pouvons en conclure que ce type d'électrode couplé avec des potentiostat portables (type palmsens) peut être utilisé sur le terrain pour la détermination du plomb et du cadmium dans des matrices complexes.

Tableau 4 : Les résultats obtenus par la détermination simultanée du plomb (II) et du cadmium (II) avec ESFMM-Fbg

Type d'électrode	Métal	les équations de corrélation	Coefficient de corrélation	L'intervalle (mol L ⁻¹)	Limite de détection (mol L ⁻¹)
Fbg-ESFMM	Pb ²⁺	Y= 82.7 X+ 0.33	0.997	4.10 ⁻⁸ – 10 ⁻⁶	4.10 ⁻⁸
	Cd ²⁺	Y= 30.2 X+ 0.12	0.998	6.10 ⁻⁸ – 10 ⁻⁶	6.10 ⁻⁸

6. Conclusion

Au cours de ce travail, nous avons développé un nouveau capteur électrochimique, permettant l'analyse simultanée de plusieurs éléments à l'état de traces, en utilisant une électrode à pâte de carbone modifiée par un film de mercure protégé par une protéine le fibrinogène (Fbg).

L'originalité de nos résultats réside dans le fait que le fibrinogène se comporte comme un polyélectrolyte qui empêche l'accès à la surface de l'électrode des molécules de taille volumineuses. Nous avons dans un premier temps étudié les caractéristiques du fibrinogène en présence d'un marqueur redox et démontré que l'application d'un potentiel négatif ne détruit par le film. L'application de ce type d'électrode pour la détermination simultanée du plomb et du cadmium a été ensuite testée avec succès dans différentes matrices complexes comme les eaux usées et l'eau de mer.

Nous avons par ailleurs, montré que les électrodes sérigraphiées modifiées peuvent aussi être utilisées pour la détermination du plomb et du cadmium. Ce type d'électrode peut être couplée avec un potentiostat portable et sont alors susceptibles d'être utilisés dans toutes les expériences réalisées sur le terrain.

Références

- [1] - D. K Roe, J. E. A. Toni, *Anal. Chem*, 37 (1965) 1503.
- [2] - T. M. Florence, *J. Electroanal. Chem*, 27 (1970) 273.
- [3] - J. Wang. *Stripping Analysis Principles*, VCH Publishers, Deerfield Beach, DL (1985).
- [4] - J. Wang. *Analytical Electrochemistry*. Second ed, Wiley-VCH, New York (2000).
- [5] - E. P. Achterberg, C. Braungardt, *Anal. Chim. Acta*, 400 (1999) 397.
- [6] - R. Metelka, K. Vytras, A. Bobrowski, *J. Solid. State. Electrochem*, 4 (2000) 348.

- [7] - M. E. Abdelsalam, G. Denuault, S. Daniele, *Anal. Chim. Acta*, 452 (2002) 75.
- [8] - B. T. Tay, S. B. Khoo, S. G. Ang, *Analyst*, 114 (1989) 1271.
- [9] - C. L. Colyer, D. Luscombe, K. B. Oldham, *J. Electroanal. Chem*, 283 (1990) 379.
- [10] - A. S. Baranski, H. Quan, *Anal. Chem*, 58 (1986) 407.
- [11] - K. R. Wehmeyer, R. M. Wightman, *Anal. Chem*, 57 (1985) 1989.
- [12] - A. S. Baranski, *Anal. Chem*, 59 (1987) 662.
- [13] - K. Kalcher, J.-M. Kauffman, J. Wang, I. Svancara, K. Vytras, C. Neuhold, Z.-P. Young, *Electroanalysis*, 7 (1995) 22.
- [14] - I. Svancara, K. Vytras, J. Barek, J. Zima, *Crit. Rev. Anal. Chem*, 31 (2001) 345.
- [15] - J. Konvalina, E. Khalid, K. Vytras, *Coll. Czech. Chem. Comm*, 65 (2000) 1054.
- [16] - S. B. Khoo, S. X. Guo, *Electroanalysis*, 14 (2002) 822.
- [17] - I. Svancara, B. Ogorevc, S. B. Hocevar, K. Vytras, *Analytical Science*, 18 (2002) 305.
- [18] - B. Hoyer, N. Jensen, *Talanta*, 41 (1994) 453.
- [19] - J. Wang, Z. Taha, *electroanalysis*, 2 (1990) 383.
- [20] - B. Hoyer, M. T. Florence, G. E. Batly, *Anal. Chem*, 59 (1987) 1608.
- [21] - B. Hoyer, M. T. Florence, *Anal. Chem*, 24 (1987) 2839.
- [22] - E. Lojou, P. Bianco, *Talanta*, 51 (2000) 1086.
- [23] - A. Merkoçi, M. Vasjari, E. Fàbregas, S. Alegret, *Mikrochim. Acta*, 135 (2000) 33.
- [24] - B. Hoyer, M. T. Florence, *Anal. Chem*, 59 (1987) 2842.
- [25] - A. A. Ensafi, T. Khayamian, A. Benvidi, E. Mirmomtaz, *Anal. Chim. Acta*, 561 (2006) 232.
- [26] - A. Safavi, N. Maleki, H. R. Shahbaazi, *Talanta*, 68 (2006) 1119.
- [27] - J. Wang, *Anal. Chem*, 58 (1986) 407.
- [28] - I. Palchetti, S. Majid, A. Kicela, G. Marrazza, M. Mascini, *Inter. J. Environ. Anal. Chem*, 83 (2003) 711.
- [29] - C. M. A. Brett, D. A. Fungaro, J. M. Morgado, M. H. Gil, *J. Electroanal. Chem*, 468 (1999) 33.
- [30] - D. A. Fungaro, *Biosensors*, 1 (2001) 214.
- [31] - C. M. A. Brett, D. A. Fungaro, *Talanta*, 50 (2000) 1231.
- [32] - S. C. C. Monterroso, H. M. Carapua, A. C. Duarte, *Electroanalysis*, 15 (2003) 1883.
- [33] - J. Murimboh, M. T. Lam, N. M. Hassan, C. L. Chakrabarti, *Anal. Chim. Acta*, 423 (2000) 126.
- [34] - S. C. C. Monterroso, H. M. Carapuça, A. C. Duarte, *Talanta*, 65 (2005) 653.
- [35] - M. P. Hurst, K. W. Bruland, *Anal. Chim. Acta*, 546 (2005) 78.
- [36] - B. Hoyer, T.M. Florence, *Anal. Chem*, 59 (1987) 2839.
- [37] - J. L. Brash, T. A. horbett, *American Chemical Symposium Series*, 62 (1995) 23.
- [38] - J. D. Andrade, V. Hlady, *Polym. Sci*, 79 (1968) 1.
- [39] - J. L. Brash, T. A. horbett, *American Chemical Symposium Series*, 62 (1995) 1.

- [40] - J. McGuire, V. Krisdhasima, M. C. Wahlgren, T. Arnebrant, in: J. L. Brash, T. A. horbett, *American Chemical Symposium Series*, 62 (1995) 65.
- [41] - Y. Yong, J. J. Gang. *Colloid. Interface. Science*, 268 (2003) 292.
- [42] - S. Tunc, M. F. Maitz, G. Steiner, L. Vasquez, M. T. Pham, R. Salzer, *Colloids and surfaces B. Biointerfaces*, 42 (2005) 225.
- [43] - Y. Yu, G. Jin, *Journal of colloid and interface Science*, 268 (2003) 292.
- [44] - S. Tunc, M. F. Maitz, G. Steiner, L. Vazquez, M. T. Pham, R. Sazer , *Coll. Surface B : Biointerfaces*, 42 (2005) 225.
- [45] - J. A. Reynaud, B. Malfoy, A. Bere, *Bioelectrochem and Bioenerg*, 5 (1980) 595.
- [46] - M. El Rhazi, H. N. Randriamahazaka, J. M. Nigretto, *Electoanalysis*, 9 (1997) 409.
- [47] - N. Motta, A. R. Guadalupe, *Anal. Chem*, 66 (1994) 566.
- [48] - J. Wang, R. P. Deo, S. T. Hongngamadee, B. Ogorevc, *Electroanalysis*, 13 (2001) 1156.
- [49] - C. M. A. Brett, A. M. Oliveira Brett, F. M. Matysik, S. Matysik, S. Kumbhat, *Talanta*, 43 (1996) 2022.
- [50] - Norme AFNOR, Tome 2 (1997) NF T90-101.