

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي



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

جامعة سعد دحلب البلدية 1

UNIVERSITE DE SAAD DAHLAB DE BLIDA 1



كلية العلوم - دائرة الفيزياء

Faculté des Sciences

Département de Physique

MEMOIRE DE PROJET DE FIN D'ETUDES POUR L'OBTENTION DU DIPLOME  
DE :

MASTER EN PHYSIQUE

Option : Physique Appliquée aux Microsystèmes

THEME :

**Simulation De L'adsorption Des Biomolécules Sur La Surface  
Des Microélectrodes Dans Un Canal Microfluidique**

Présenté par :

DJELLAL Naziha

&

DRIOUECH Soumia

Le jury est composé de :

H.TAHI

maitre de grade A. CDTA

Président

C.BOUASLA

maitre de recherche B. CDTA

Encadreur

S.AOUDJ

Docteur. Université Blida 1

Examineur

Promotion : 2016/2017

## Résumé

L'étude principale de ce travail porte sur la simulation par la méthode des éléments finis de l'adsorption des biomolécules (ADN et BSA) sur la surface des microélectrodes interdigitées en or fonctionnalisées par des molécules organiques.

On utilise le logiciel de simulation COMSOL Mutiphysics 5.2.

Nous avons étudié l'influence des différents paramètres à savoir : le temps, la concentration initiale, la vitesse maximale, la concentration des sites d'adsorption, la hauteur du micro canal et la géométrie des électrodes sur la cinétique et le mécanisme d'adsorption. Les résultats obtenus montrent que la concentration des biomolécules dans la solution et à l'interface liquide -solide augmentent avec l'évolution de la concentration initiale, la concentration des sites d'adsorption et l'épaisseur de l'électrolyte.

Nous avons montré aussi que :

- La géométrie et la surface de l'électrode jouent un rôle très important sur le mécanisme et la cinétique d'adsorption de BSA.
- L'adsorption de BSA est plus rapide (une saturation rapide des sites d'adsorption disponibles) que celle des séquences d'ADN.

**Mots clés : biomolécule ; microélectrodes ; microfluidique ; comsol.**

## Abstract

The main study of this work concerns the simulation by the finite element method of the adsorption of biomolecules (DNA and BSA) on the surface of gold interdigitated microelectrodes functionalized by organic molecules. The simulation software COMSOL Mutiphysics 5.2 is used.

We studied the influence of the different parameters: time, initial concentration, maximum velocity, adsorption site concentration, micro channel height and electrode geometry on kinetics and adsorption mechanism

The results obtained show that the concentration of the biomolecules in the solution and at the liquid-solid interface increases with the evolution of the initial concentration, the concentration of the adsorption sites and the thickness of the electrolyte.

We have also shown that:

- The geometry and the surface of the electrode play a very important role on the mechanism and the adsorption kinetics of BSA.
- Adsorption of BSA is faster (rapid saturation of available adsorption sites) than that of DNA sequences.

**Key words: biomolecule; Microelectrodes; Microfluidic; COMSOL.**



## ملخص

الدراسة الرئيسية لهذا العمل شواغل المحاكاة اسلوب عنصر بطول بترسب الجزيئات الحيوية (DNA / BSA) على سطح الميكرو الكترود الذهبي للموظفة بالجزيئات العضوية.

نستعمل برنامج المحاكاة COMSOL 5.2

درسنا تأثير مختلف الاعدادات أي: الوقت، التركيز الابتدائي، الحد الأقصى للسرعة، تركيز مواقع الاترسب، ارتفاع القناة، وهندسة الالكترودات على حركية وألية الترسيب. النتائج المتحصل عليها تعرض تركيز الجزيئات الحيوية في المحلول وفي واجهة سائل-صلب ترتفع زيادة مع تطور التركيز الابتدائي، و تركيز مواقع الترسيب وارتفاع القناة.

أظهرنا أيضا ما يلي:

- ✓ الهندسة والمساحة الالكترودات تلعب دورا مهما على حركية وألية ترسيب BSA.
- ✓ ترسيب BSA أسرع من ترسيب ADN.

الكلمات الرئيسية: جزيء حيوي، ميكرو الكترود، COMSOL

## REMERCIEMENTS

Ce travail de master a été mené au centre de recherche de développement des nouvelles technologies avancées CDTA, dans le projet « puce microfluidique avec des micros valve et des micro mélangeurs »

Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce Modeste travail.

Ce mémoire n'aurait pas été possible sans l'intervention, consciente, d'un grand nombre de personnes.

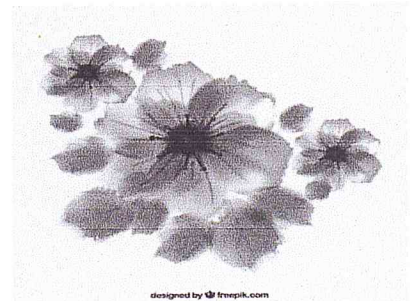
Nous souhaitons ici les en remercier.

Nous exprimons toute notre gratitude et notre reconnaissance au recteur, administration, le chef département de physique et l'ensemble de corps des enseignements de université de Blida1 durant les années des études et l'aboutissement de ce titre MASTER 2.

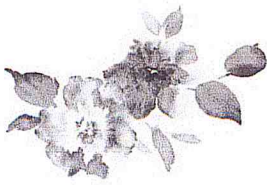
Nous tenons à remercier est notre encadrant Madame : Dr.Chafia Bouasla (maitre de recherche B), pour l'orientation, la confiance, la patience qui ont constitué un apport considérable sans lequel ce travail n'aurait pas pu être mené au bon port. Qu'il trouve dans ce travail un hommage vivant à sa haute personnalité.

Je remercie monsieur Salahuddin Aoudj, et monsieur Hakim Tahy pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Merci vraiment docteur Hassein Bey Chef d'option/ MEMS au département de physique a université de Blida pour ces effort et ces conseils et les informations durant mes années des études.







## Dédicace

*Je dédie cette thèse à...*

*À ma très chère mère Faiza*

*Affable, honorable, aimable : Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Ta prière et la bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études.*

*À mon chère père Fodhil*

*Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation.*

*À mon mari Ibrahim qui m'a encouragé, aussi à toute ma belle-famille (Toubal).*

*À mes chères Mahmoud et Imad frères et ma sœur Chourouk je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite.*

*À ma cousine Warda qui je l'aime beaucoup que du bonheur et réussite pour elle Inshallah.*

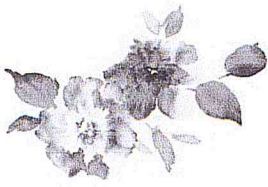
*À tous les membres de ma famille, petits et grands Veuillez trouver dans ce modeste travail l'expression de mon affection.*

*À mes amies : Nesrine et Latifa*

*Et sans oublier ma sœur et binôme : Driouech Soumia qui je l'aime beaucoup et à tous les collègues de spécialité.*

*Naziha Djellal*





## *Dédicace*

*Je dédie ce mémoire à ...*

*Mes parents :*

*Ma chère mère Meriem, qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.*

*Mon cher père Brahim, qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie. Puisse Dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit ; Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de toi.*

*Ma chère sœur, Richa et mes frères pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral,*

*Ma chère, grand-mère qui je l'aime et je lui souhaite la santé et une longue vie.*

*Mes chères amies : Hanane, Meriem*

*Ma chère amie et ma sœur et binôme Djellal Naziha qui je l'aime beaucoup et je lui souhaite une belle vie et tous les bonheurs.*

*Toute ma famille pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire,*

*Mon Encadreuse : Docteure Chafia Bouasla maitre de recherche B à CDTA et mes professeurs de l'université de saad dahleb blida1*

*Toute la promotion de MEMS : 2016-2017*

*Merci d'être toujours là pour moi.*

*Dricuech Soumia*





## Table des matières

Résumé .....	I
ملخص .....	II
Remercîment .....	III
Dédicace.....	IV
Tableau de matières.....	VI
Liste des figures et tableau.....	X
Introduction général .....	1

### CHAPITRE I

#### ETUDE BIBLIOGRAPHIE

I.1 INTRODUCTION .....	3
I.2 LES BIOMOLECULES .....	3
I.2.1 les protéines.....	3
I.2.1.1 Structure des protéines.....	4
I.2.1.1.1 Les acides aminés.....	4
I.2.1.1.2 La liaison peptidique.....	4
I.2.1.2 Les différentes structures de protéine .....	5
I.2.1.2.1 La structure primaire (I) .....	5
I.2.1.2.2 La structure secondaire (II).....	6
I.2.1.2.3 La structure tertiaire (III) .....	7
I.2.1.2.4 La structure quaternaire (IV) .....	7
I.2.1.3 Dénaturation .....	8
I.2.1.4 L'albumine .....	8

I.2.1.4.1	Structure biochimique de l'albumine .....	9
I.2.1.4.2	Dosage de l'albumine dans le sang .....	9
I.2.1.4.3	Variations physiologiques de l'albumine .....	10
I.2.1.4.4	Variations pathologiques de l'albumine .....	10
I.2.2	ADN .....	11
I.2.2.1	Définition .....	11
I.2.2.2	Les bases nucléiques .....	12
I.2.2.3	La structure en double hélice.....	12
I.3	LES BIOCAPTEURS .....	13
I.3.1	Définition .....	13
I.3.2	Le biorécepteur .....	15
I.3.3	Le transducteur .....	16
I.3.3.1	Transducteur optique .....	16
I.3.3.2	Transducteur Mécanique .....	17
I.3.3.3	Le transducteur électrochimique .....	17
I.3.4	Techniques d'immobilisations des biorécepteurs .....	17
I.3.4.1	La réticulation ou "Cross-linking" .....	18
I.3.4.2	Les assemblages supramoléculaires.....	19
I.3.4.3	Le greffage covalent (chimie-adsorption).....	20
I.3.4.4	L'inclusion dans une matrice.....	23
I.3.4.5	Adsorption (physis-adsorption).....	24
I.4	ADSORPTION .....	25
I.4.1	Cinétique d'adsorption.....	26
I.4.1.1	Migration en solution .....	26



I.4.1.2 Diffusion dans le film .....	26
I.4.1.3 Diffusion interne ou diffusion dans les pores.....	26
I.4.2 Isotherme d'adsorption.....	28
I.4.2.1 Modèles d'isotherme d'adsorption .....	29
I.5 ASPECTS MICROFLUIDIQUES .....	30

## CHAPITRE II

### MODELISATION NUMERIQUE DE L'ADSORPTION DES BIOMOLECULES SUR UNE ELECTRODE INTERDIGITEE

II.1 INTRODUCTION.....	33
II.2 LES BIOMOLECULES.....	34
II.2.1 L'albumine de sérum bovin (BSA).....	34
II.2.2 l'ADN.....	35
II.3 LA SURFACE D'ADSORPTION (ADSORBANT).....	36
II.4 Définition du model.....	37
II.4.1 Géométrie des électrodes.....	37
II.4.2 Paramètres Numériques.....	39
II.4.3 Domaine de validité de l'équation.....	40
II.4.3.1 Modélisation de l'adsorption.....	40
II.4.3.2 Modélisation de la diffusion.....	40
II.4.3.3 Conditions aux limites.....	41
II.5 RESULTATS DE LA SIMULATION DE L'ADSORPTION DES BIOMOLECULES SUR UNE ELECTRODE INTERDIGITEE .....	41
II.5.1 Maillage de la structure à modéliser.....	41
II.5.2 Effet des différents paramètres sur l'adsorption.....	42

II.5.2.1 Profils du gradient de concentration à différents temps.....	42
II.5.2.2 Influence de la concentration initiale de BSA.....	46
II.5.2.3 Influence de la vitesse maximale.....	49
II.5.2.4 Influence de la concentration des sites d'adsorption.....	50
II.5.2.5 Influence de l'épaisseur de l'électrolyte.....	54
II.5.2.6 Adsorption de BSA sur une électrode interdigitée de forme rectangulaire.....	59
II.5.3 Etude de l'adsorption de l'ADN.....	64
II.6.CONCLUSION.....	66
<b>Conclusion général.....</b>	<b>67</b>
<b>Références Bibliographies.....</b>	<b>68</b>

## ANNEXE

ANNEXE A.....	70
ANNEXE B.....	77



## Liste des figures et tableaux

### CHAPITRE I

#### ETUDE BIBLIOGRAPHIE

Figure I.1 : Structure des acides L- $\alpha$ -aminés.	4
Figure I.2 : Formation d'une liaison peptidique.	5
Figure I.3 : La structure primaire (I).	5
Figure I.4 : La structure secondaire (II) (L'hélice alpha).	6
Figure I.5 : La structure secondaire (II) (Brins bêta et le feuillet bêta).	6
Figure I.6 : Différents modes de représentation de la structure tertiaire (III) .	7
Figure I.7 : La structure quaternaire (IV).	7
Figure I.8 : Structure tridimensionnelle de l'albumine avec ses 3 domaines et ses ponts disulfures.	9
Figure I.9 : Représentation schématique de la composition chimique d'un nucléotide.	11
Figure I.10 : Les bases nucléiques de l'ADN.	12
Figure I.11: Conformations canoniques de l'ADN.	13
Figure I.12: Représentation schématique du Principe de fonctionnement d'un biocapteur.	14
Figure I.13 : Familles de biorécepteurs et de transducteurs.	15
Figure I.14 : Représentation schématique des différents biorécepteurs.	16
Figure I.15 : réticulation et Co-réticulation des enzymes.	19
Figure I.16 : Électrode fonctionnalisée avec un biorécepteur immobilisé <i>via</i> des interactions supramoléculaires (A) Dépôt couche par couche biotine/avidine/biomolécule portant une étiquette tag biotine (B) interaction adamantane/biomolécule portant une étiquette tag cyclodextrine et (C) Complexe nitrilotriacétique (NTA)/Cu <sup>2+</sup> /biomolécule portant une étiquette tag histidine.	20
Figure I.17 : Principe simplifié d'immobilisation covalente sur la surface d'une électrode <i>via</i> la formation d'un lien amide à partir de la réaction	

d'un ester activé N-Hydroxysuccinimide (NHS) et d'un groupement amine de la biomolécule.	21
Figure I.18 : Principe simplifié d'immobilisation covalente sur la surface d'une électrode d'une biomolécule suite à la réaction d'un résidu cystéine avec un groupement maléimide pour former une liaison thioéther.	21
Figure I.19 : Principe simplifiée d'immobilisation covalente sur la surface d'une électrode suite à la réaction d'un résidu nucléophile sur l'entité biologique avec un groupement époxy sur surface (X = NH d'une lysine ou S d'une cystéine).	22
Figure I.20 : Principe simplifiée d'immobilisation covalente sur surface d'électrode suite à (A) une réaction de cycloaddition de Huisgen catalysée au cuivre entre un alcyne immobilisé et une biomolécule modifié avec un groupement azido et (B) réaction de Diels-Alder entre une surface portant un accepteur et une biomolécule portant un donneur.	22
Figure I.21 : Encapsulation des enzymes	23
Figure I.22 : adsorption des enzymes sur un support.	24
Figure I.23 : Structure d'un bon adsorbant	26
Figure I.24 : différent isotherme d'adsorption	28
Figure I.25 : Schéma représentant un écoulement laminaire dans une structure en H.	30

## CHAPITRE II

### MODELISATION NUMERIQUE DE L'ADSORPTION DES BIOMOLECULES SUR UNE ELECTRODE INTERDIGITEE

Figure II.1 : structure de L'albumine de sérum bovin (BSA).	35
Figure II.2 : Séquence d'ADN de 21 oligonucléotides.	36
Figure II.3 : Surface d'adsorption (adsorbant).	37
Figure II.4 : Représentation schématique des électrodes interdigitées a) forme circulaire, b) forme rectangulaire.	38
Figure II.5: Représentation schématique du domaine réactionnel de	

l'adsorption des biomolécules en 2D.	39
Figure II.6 : maillage de la structure d'électrode	41
Figure II.7 : Profils de concentration de BSA dans la solution à différents temps.	42
Figure II.8 : Profils de concentration de BSA dans la solution à différents temps pour $x$ compris entre $(430\mu\text{m} < x < 465\mu\text{m})$ .	43
Figure II.9 : Profils de concentration de BSA à l'interface liquide-solide à différents temps pour $x$ compris entre $(435\mu\text{m} < x < 465\mu\text{m})$ .	44
Figure II.10 : Cartographies de la concentration de BSA à différents temps (5,15, 40s).	45
Figure II.11 : Profils de concentration de BSA dans la solution à différentes concentrations initiales pour un temps de 20s.	46
Figure II.12 : Profils de concentration de BSA dans l'interface liquide-solide à différentes concentrations initiales pour un temps de 20s.	47
Figure II.13 : Cartographies de la concentration de BSA à différentes concentrations initiales de BSA.	48
Figure II.14 : Profils de concentration de BSA dans l'interface liquide-solide à différentes vitesses maximales pour un temps de 20s.	49
Figure II.15 : Profils de concentration de BSA dans la solution à différentes vitesses maximales pour un temps de 20s.	50
Figure II.16 : Profils de concentration de BSA dans la solution à différentes concentrations des sites d'adsorption et à différents temps pour $x$ compris entre $(430\mu\text{m} < x < 465\mu\text{m})$ .	51
Figure II.17 : Profils de concentration de BSA dans l'interface liquide-solide à différentes concentrations des sites d'adsorption et à différents temps pour $x$ compris entre $(430\mu\text{m} < x < 465\mu\text{m})$ .	52
Figure II.18 : Profils de concentration de BSA dans la solution à différentes concentrations des sites d'adsorption pour un temps de 20s.	53
Figure II.19 : Profils de concentration de BSA dans l'interface liquide-solide à différentes concentrations des sites d'adsorption pour un temps de 20s.	54
Figure II.20 : Profils de concentration de BSA dans la solution à différentes hauteurs du micro canal pour $x$ compris entre $(-250\mu\text{m} < x <$	



50 $\mu\text{m}$ ; t=20s).	54
Figure II.21 : Profils de concentration de BSA dans l'interface liquide-solide à différentes hauteur du micro canal pour x compris entre (-250 $\mu\text{m}$ < x < 50 $\mu\text{m}$ ; t=20s).	55
Figure II.22 : Cartographies de la concentration de BSA dans la solution à différentes hauteur du micro canal.	57
Figure II.23 : Cartographies de la concentration de BSA dans la solution et dans l'interface liquide- solide à différentes hauteurs du micro canal.	58
Figure II.24 : Cartographies de la concentration de BSA dans la solution et dans l'interface liquide-solide pour différents temps.	60
Figure II.25 : Profils de concentration de BSA dans la solution pour différentes concentrations initiales pour un temps de 20s	61
Figure II.26 : Profils de concentration de BSA dans l'interface liquide solide pour différentes concentrations initiales pour un temps de 20s.	61
Figure II.27 : Profils de concentration de BSA dans la solution pour différentes concentrations des sites d'adsorption (t=20s).	62
Figure II.28 : Profils de concentration de BSA dans l'interface liquide solide pour différentes concentrations des sites d'adsorption (t=20s).	62
Figure II.29 : Profils de concentration de BSA dans la solution pour différentes hauteurs du micro canal pour un temps de 20s.	63
Figure II.30 : Profils de concentration de BSA dans l'interface liquide- solide pour différentes hauteurs du micro canal (t=20s).	63
Figure II.31 : Cartographies de la concentration de l'ADN dans la solution et dans l'interface liquide-solide	64
Figure II.32 : Cartographies de la concentration de (a) ADN dans la solution, (b) BSA dans la solution.	65
Tableau I.1 : Valeurs normales de l'albumine dans le sang	10
Tableau II.1 : Description des différents paramètres du modèle pour ADN.	39

# **INTRODUCTION GENERALE**

## INTRODUCTION GENERALE

L'adsorption est le phénomène qui consiste à l'accumulation d'une substance à l'interface de deux phases (gaz-solide, gaz-liquide, liquide-solide, liquide-liquide, solide-solide). Il a son origine dans les forces d'attraction intermoléculaires, de nature et d'intensité variées, qui sont responsables de la cohésion des phases condensées, liquides ou solides.

Le domaine de recherche de l'adsorption des biomolécules sur les surfaces semble être aussi populaire que jamais. Au cours de la dernière année, plusieurs centaines de documents publiés ont abordé des problèmes allant des aspects fondamentaux des interactions surface protéique aux problèmes appliqués de la compatibilité de l'immobilisation de la surface protéinée d'une part et d'autre part, l'intérêt grandissant pour les biotechnologies (lab-on-chip,  $\mu$ TAS, Biocapteur).

Les biocapteurs sont des dispositifs souvent simples et compacts transformant le signal (bio) chimique en un signal électrique facilement exploitable. Ils sont pour la plupart issus des techniques de la microélectronique. Ils sont en général seulement constitués d'une partie biosélective (couche sensible), et d'un système transducteur transformant en signal électrique les modifications physicochimiques induites par la reconnaissance dans la couche sensible. Ils disposent aussi d'un environnement d'exploitation qui permet notamment le traitement électrique des signaux.

Dans le cas où le biocapteur est intégré dans un canal microfluidique, on a besoin d'une adsorption spécifique des biomolécules particulières pour obtenir une surface bien caractérisée qui est réactive envers des espèces biologiques spécifiques.

L'étude principale de ce travail porte sur la simulation par la méthode d'élément fini de l'adsorption des biomolécules (ADN et BSA) sur la surface des microélectrodes inter digitées en or fonctionnalisées par des molécules organiques. On utilise le logiciel de simulation COMSOL Mutiphysics 5.2.

Ce mémoire est structuré de deux chapitres

Le premier chapitre est consacré à la bibliographie. Il comporte quatre sections. La première est consacrée aux structures des protéines et de l'ADN,



propriétés physico-chimique de l'albumine et leur effet sur la santé. La seconde section illustre les biocapteurs, le bio récepteur, les transducteurs et les techniques d'immobilisations des biorécepteurs. La troisième section montre les notions d'adsorption, la cinétique et les isothermes d'adsorption. Dans la dernière section, nous présentons l'écoulement laminaire.

Le deuxième chapitre est consacré aux résultats obtenus lors de la simulation de l'adsorption de BSA et ADN sur des électrodes en or fonctionnalisées par des molécules organiques. L'influence des différents paramètres tels que le temps, la concentration initiale, la vitesse maximale, la concentration des sites d'adsorption, la hauteur du micro canal et la géométrie des électrodes ont été de même étudiés.

Enfin, nous terminons notre mémoire par les conclusions ainsi que les nouvelles perspectives de recherche qu'on va envisager.

**CHAPITRE I**  
**ETUDE BIBLIOGRAPHIE**

# CHAPITRE I

## ETUDE BIBLIOGRAPHIE

### I.1 INTRODUCTION

Ce chapitre rassemble des données bibliographiques générales sur les biomolécules, Les biocapteurs, l'adsorption et l'écoulement microfluidique.

La première partie sera consacrée aux biomolécules (les protéines et l'ADN). Les structures et les propriétés physico-chimiques des protéines et de l'ADN sont rappelées. La structure biochimique de l'albumine, Dosage de l'albumine dans le sang ainsi que leur variations physiologiques et pathologiques sont présentés.

La deuxième partie concerna les biocapteurs, les biorécepteurs, les transducteurs et les techniques d'immobilisations des biorécepteurs sont particulièrement détaillés.

La troisième partie est consacrée à la cinétique d'adsorption, les isothermes d'adsorption et le modèle de Langmuir.

Enfin, l'écoulement microfluidique et l'écoulement laminaire sont exposés.

### I.2 LES BIOMOLECULES

#### I.2.1 les protéines

Les protéines sont des macromolécules biologiques présentes dans toutes les cellules vivantes. Elles sont formées d'une ou de plusieurs chaînes polypeptidiques. Chacune de ces chaînes est constituée de l'enchaînement de résidus d'acides aminés liés entre eux par des liaisons peptidiques. [1]

Les protéines assurent une multitude de fonctions au sein de la cellule vivante et dans les tissus. Ce sont des protéines enzymatiques (enzymes) qui catalysent les réactions chimiques de synthèse et de dégradation nécessaires au métabolisme de la cellule. [1]

### I.2.1.1 Structure des protéines

Les protéines sont des macromolécules constituées d'un enchaînement d'acides aminés unis par des liaisons peptidiques. [2]

#### I.2.1.1.1 Les acides aminés

Chez l'homme, ainsi que chez de nombreuses espèces, il existe vingt acides aminés différents qui composent les protéines. Un acide aminé est une substance organique contenant un carbone tétraédrique central ( $\alpha$ ) sur lequel sont fixés une fonction amine, une fonction acide carboxylique, un hydrogène et un groupement variable appelé chaîne latérale (R) (Figure I.1). . [2]

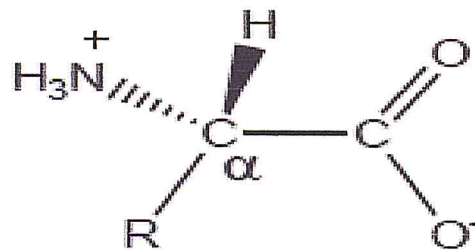


Figure I.1 : Structure des acides L- $\alpha$ -aminés [2].

#### I.2.1.1.2 La liaison peptidique

La liaison peptidique est la liaison entre deux acides aminés, Elle se forme par une réaction de condensation entre le groupe  $\alpha$  carboxyle d'un acide aminé et le groupe  $\alpha$ -amine d'un autre acide aminé donnant lieu à une liaison amide. Il en résulte une chaîne d'acides aminés constituant des peptides ou des protéines suivant le nombre d'acides aminés impliqués. . [2]

Le terme protéine désigne les chaînes polypeptidiques dont le nombre de 19 résidus est supérieur à 100. Lorsque le nombre de résidus est inférieur à 50, on parle de peptides, entre 50 et 100, on parle indifféremment de peptides, de petites protéines ou de polypeptides. Les groupes libres situés aux extrémités opposées d'une chaîne peptidique sont appelés le groupe N-terminal pour le groupe amine et le groupe C-terminal pour le groupe carboxyle (Figure I.2). . [2]



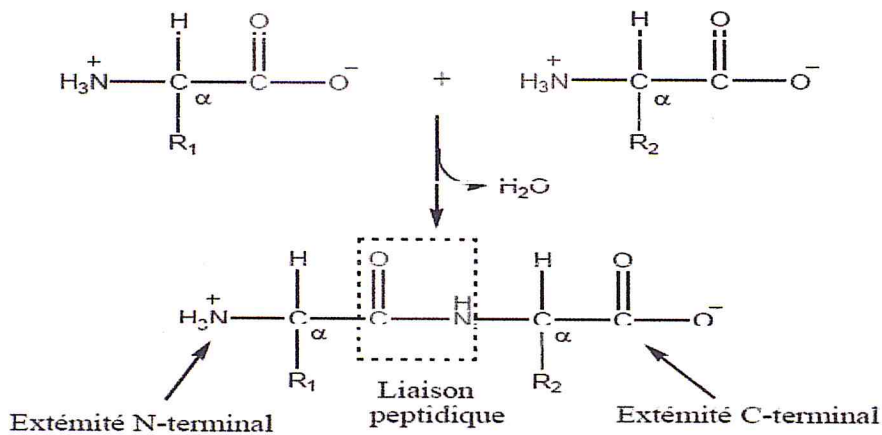


Figure I.2 : Formation d'une liaison peptidique [2].

### I.2.1.2 Les différentes structures de protéine

Les protéines présentent différents niveaux de structure au sein de l'organisme. Ces niveaux varient suivant le type de protéine (i.e. suivant la séquence en acides aminés de la protéine définissant sa fonctionnalité), le niveau de maturation d'une protéine, ou encore suivant le milieu dans lequel la protéine se trouve. [2]

On distingue ainsi 4 niveaux de structure :

#### a- La structure primaire (I)

Qui correspond à la séquence proprement dite de la protéine, c'est -à- dire à l'enchaînement des acides aminés (Figure I.3). [2]

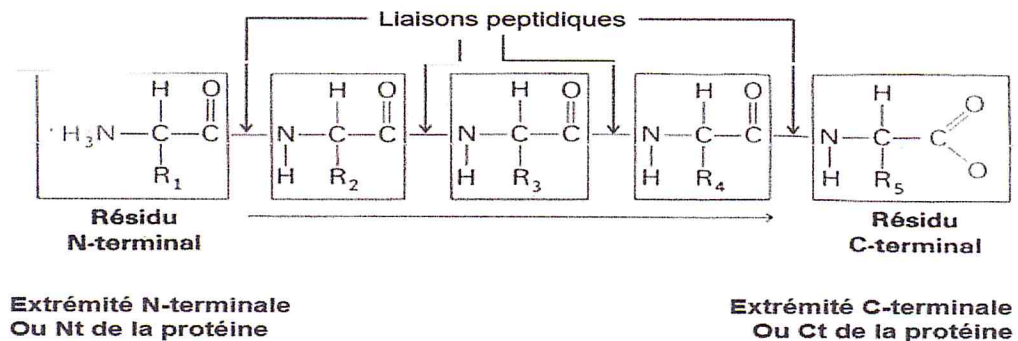


Figure I.3 : La structure primaire (I) [3].

**b- La structure secondaire (II)**

Qui décrit le premier niveau de repliement de l'enchaînement peptidique. Elle est assurée par des interactions de type liaisons hydrogène entre les acides aminés voisins et se caractérise par une conformation répétitive localisée. Il existe deux types de structure secondaire : l'hélice  $\alpha$  et le feuillet  $\beta$  (figure I.4 et I.5). [2]

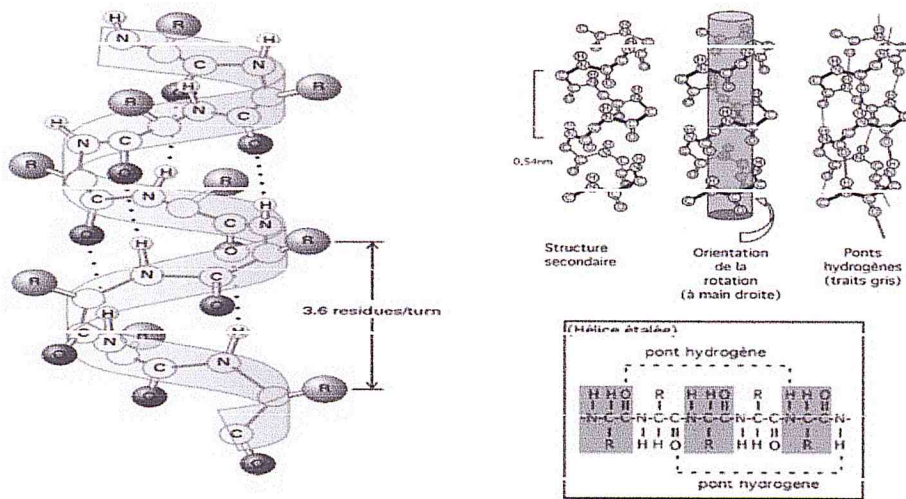


Figure I 4 : La structure secondaire (II) (l'hélice alpha) [3]

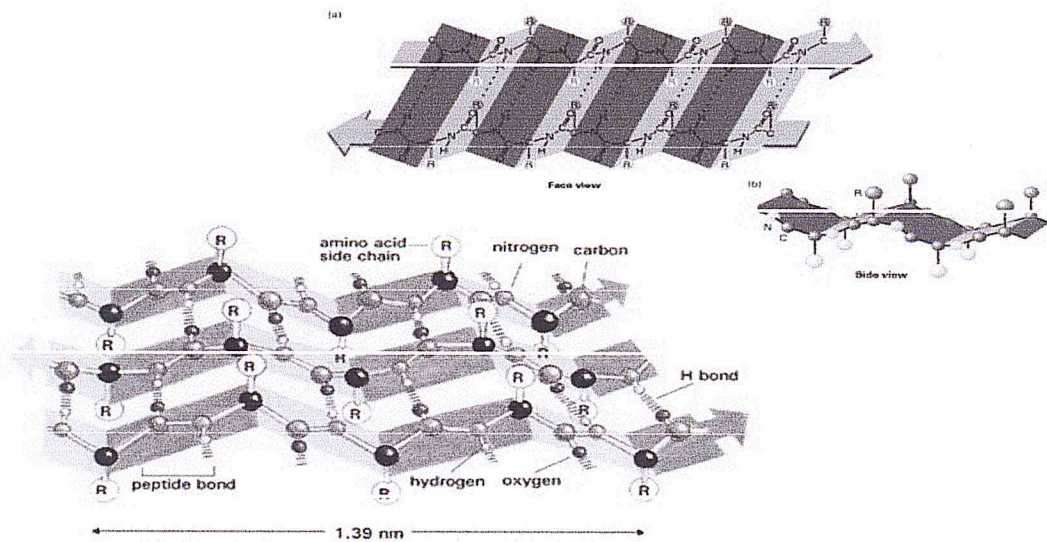


Figure I.5 : La structure secondaire (II) (Brins bêta et le feuillet bêta) [3].

**c- La structure tertiaire (III)**

Correspond au repliement et à l'assemblage en domaine des différents éléments de la structure secondaire. Il s'agit de la structure tridimensionnelle de la protéine. Elle est stabilisée par des interactions hydrophobes, des liaisons hydrogène, des liaisons ioniques ou encore des ponts disulfures (S-S), véritable liaison covalente formée par oxydation entre les fonctions thiols de deux cystéines (Figure I.6). [2]

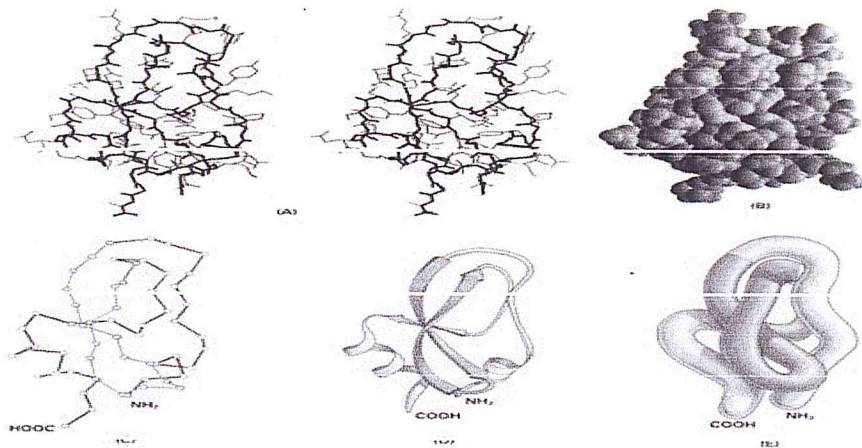


Figure I.6 : Différents modes de représentation de la structure tertiaire (III) [3].

**d- La structure quaternaire (IV)**

Concerne les protéines constituées de plusieurs chaînes polypeptidiques et correspond à l'association de celles-ci par des interactions semblables à celles établies à l'intérieur d'une chaîne polypeptidique, c'est-à-dire des interactions hydrophobes, des liaisons hydrogène et dans certains cas, des ponts disulfures (Figure I.7). [2]

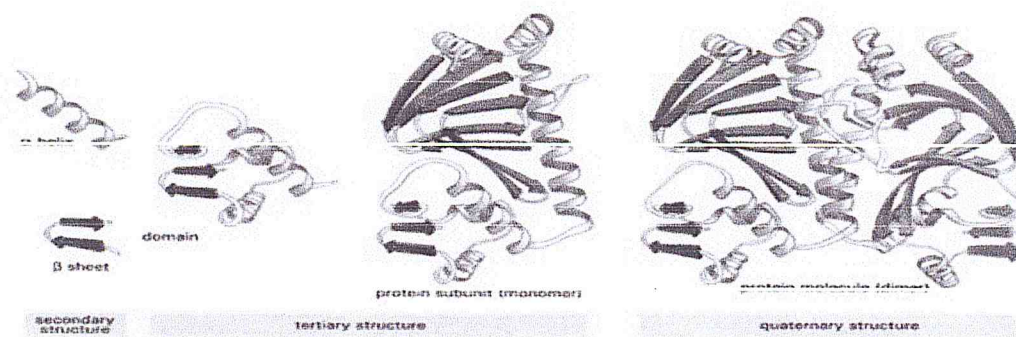


Figure I.7 : La structure quaternaire (IV) [3].



### I.2.1.3 Dénaturation

La forme finale qu'adopte la protéine, sa structure tertiaire (ou quaternaire pour celles formées de plusieurs chaînes), dépend des forces responsables des liaisons reliant les radicaux des acides aminés constituant sa structure primaire.[4]

Dans certaines conditions, ces liaisons peuvent se défaire et alors la protéine perd sa structure tridimensionnelle, sa conformation chimique et ainsi sa structure pliée caractéristique. La fonction biologique d'une protéine étant intimement liée à sa forme, la protéine modifiée ne peut plus, généralement, assurer sa fonction. Elle est alors dite dénaturée. [4]

Les trois principaux facteurs pouvant provoqué la dénaturation d'une protéine sont : [4]

- ✓ **La chaleur**, l'agitation thermique ayant pour effet de briser les faibles liaisons hydrogène reliant les radicaux de la chaîne.
- ✓ **Un pH extrême**, la plupart des protéines se dénaturant en milieu trop acide Ou trop alcalin.
- ✓ **Un milieu très concentré en ions.**

Des protéines peuvent être dénaturées aux niveaux structuraux secondaire, tertiaire et quaternaire, mais pas au niveau structural primaire. Lors du processus de dénaturation, la protéine peut se déplier (s'étaler) en totalité ou partiellement. L'étalement est un phénomène brusque qui a lieu dans une gamme limitée de conditions. [4]

### I.2.1.4 L'albumine

L'albumine est une protéine plasmatique produite par le foie, l'intervalle normal de concentration en albumine dans le sang est 35 à 50 g/l, et elle représente habituellement environ 60% des protéines plasmatiques, toutes les autres protéines du plasma sont désignées collectivement sous le nom de globulines. L'albumine est essentielle pour le maintien de la pression oncotique indispensable pour la bonne répartition des liquides entre les vaisseaux sanguins et les tissus. [2]



#### I.2.1.4.1 Structure biochimique de l'albumine

Le sérum albumine humaine est une protéine monocaténaire de 585 résidus ayant un poids moléculaire de 68000 daltons. La séquence polypeptidique a été depuis confirmée par la séquence génomique. Une étude de la séquence en acides aminés a permis de dénombrer 35 cystéines dont la position influence sur la structure tertiaire de la molécule en le stabilisant par 17 ponts sulfure. L'organisation de la molécule en domaines et boucles a été confirmée par les études de fragmentation de l'albumine, en particulier, l'action du bromure de cyanogène. Celle-ci a permis l'obtention de trois fragments A, B et C résultant d'une coupure au niveau des résidus méthionines 123 et 198 localisés sur les brins reliant les boucles (Figure I.8) [2].

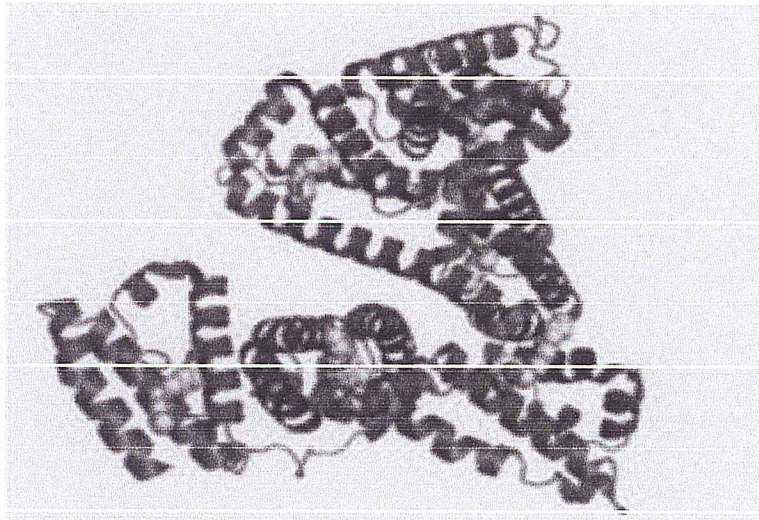


Figure I.8 : Structure tridimensionnelle de l'albumine avec ses 3 domaines et ses ponts disulfures [2].

#### I.2.1.4.2 Dosage de l'albumine dans le sang

Le dosage sanguin de l'albumine permet de détecter une perte de liquide (déshydratation) ou une malnutrition. [5]

Tableau I.1 : Valeurs normales de l'albumine dans le sang [5].

	Hommes (g/L)	Femmes (g/L)
<b>Nouveau-né</b>	34-42	34-42
<b>1mois-3ans</b>	38-47	38-47
<b>4-16ans</b>	39-49	39-49
<b>17-50ans</b>	40-50	38-48
<b>51-80ans</b>	37-47	35-45
<b>&gt;80ans</b>	37-47	35-45

#### **i.2.1.4.3 Variations physiologiques de l'albumine**

Valeurs plus faibles en cas : [5]

- ✓ De grossesse (- 25 %),
- ✓ De régime végétarien (- 10 %)
- ✓ De prélèvements hyperlipémiques et hémolysés (à éviter).

#### **i.2.1.4.4 Variations pathologiques de l'albumine**

##### **a) Causes d'albumine basse dans le sang**

- Dénutrition (anorexie mentale, alcoolisme, tumeurs).
- Insuffisance hépato-cellulaire.
- Inflammations sévères.
- Syndrome néphrotique, glomérulonéphrite.
- Entéropathies exsudatives (maladie de Crohn, maladie cœliaque, intolérances protéiques).
- Gammopathies monoclonales (maladie de Kahler, maladie de Waldenström).
- Brûlures étendues.
- Analbuminémie congénitale.

##### **b) Causes d'albumine élevée dans le sang**

- Déshydratation.

- Pertes liquidiennes.
- Diabète insipide.

## I.2.2 ADN

### I.2.2.1 Définition

L'acide désoxyribonucléique (ADN) est une macromolécule que l'on retrouve dans tous les organismes vivants, et qui constitue le support de l'information génétique. L'ADN est donc responsable de toutes les fonctions internes des organismes, étant donné qu'il code pour les ARN et les protéines. La pérennité de chaque espèce vivante est assurée par la stabilité et la fidélité de transmission de l'information génétique portée par l'ADN. Cependant, l'information portée par l'ADN peut se modifier au cours du temps, à cause d'erreurs lors de sa réplication ou de recombinaisons génétiques, ce qui permet l'évolution des espèces. [6]

L'ADN est un polymère constitué de quatre nucléotides qui sont répétés de façon non aléatoire, donnant ainsi la séquence nucléotidique de l'ADN.

Les nucléotides sont constitués de trois parties liées covalentement entre elles. [6]

- Un groupement phosphate qui est responsable de la charge négative de l'ADN(en rouge/ (Figure I.9).
- Un sucre, le 2'-désoxy-β-D-ribose ou désoxyribose(en vert/ (Figure I.9).
- Une base nucléique(en noire/ (Figure I.9).

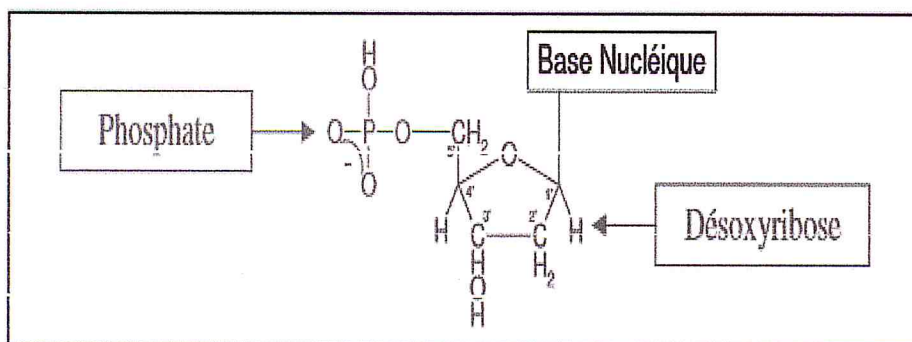


Figure I.9 : Représentation schématique de la composition chimique d'un nucléotide [6].



### I.2.2.2 Les bases nucléiques

Les bases nucléiques sont présentes au nombre de quatre dans l'ADN, deux bases puriques, la guanine (G) et l'adénine (A), et deux bases pyrimidiques, la cytosine (C) et la thymine (T). [6]

La position de la liaison avec le désoxyribose dans l'ADN est indiquée en vert (Figure I.10).

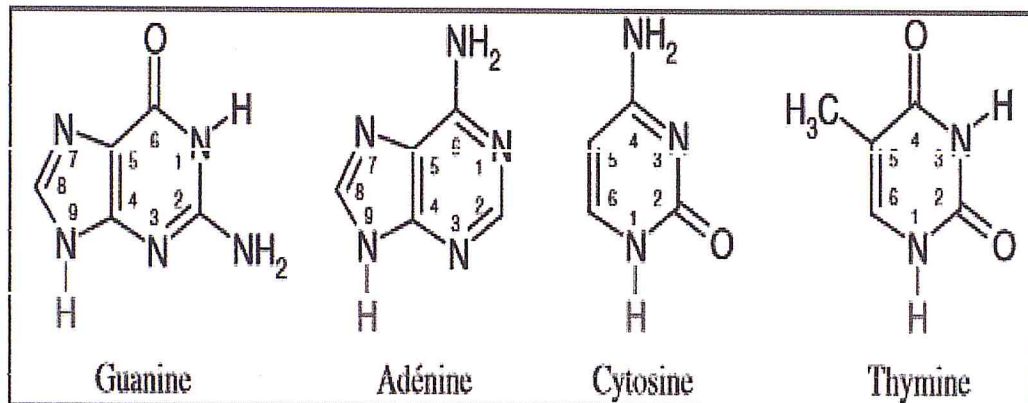


Figure I.10 : Les bases nucléiques de l'ADN [6].

### I.2.2.3 La structure en double hélice

Les deux brins de la double hélice sont orientés de manière antiparallèle. Ils s'arrangent dans des directions opposées chimiquement et s'enroulent l'un autour de l'autre pour adopter une structure en double hélice. [7]

La structure en double hélice est caractérisée par son sens d'enroulement (droite ou gauche) et son nombre de bases par pas d'hélice. La double hélice peut exister sous différentes formes (Figure I.11) : [7]

- L'ADN B, qui est la forme la plus commune de l'ADN, et qui présente un grand et un petit sillon.
- L'ADN A, qui correspond à la forme de l'ADN quand celui-ci est apparié à un ARN lors de la transcription, ou lorsque l'on déshydrate la forme B de l'ADN.
- L'ADN Z, seule forme de l'ADN à posséder une hélice gauche, relativement rare dans l'ADN et dont la fonction est encore floue [7].

La forme la plus courante en solution est la forme B. Dans cette forme, le squelette phosphatique des deux brins forme une hélice droite d'un diamètre de 20 Å. Le squelette est à l'extérieur de l'hélice alors que les bases sont à l'intérieur. Les bases sont dans des plans presque perpendiculaires à l'axe de l'hélice. Les mesures cristallographiques donnent un résultat de 10 paires de bases par tour d'hélice. Chaque paire de bases est ainsi tournée de 36° par rapport aux voisines. Un pas d'hélice correspond à 34 Å. Les mesures en solution donnent les mêmes dimensions pour le pas, mais il y a 10 paires de bases par tour d'hélice. [7]

Les bases de l'ADN sont aromatiques. Dans la structure en double hélice, sur un même brin, les bases s'empilent par interaction  $\pi$ . Cet empilement permet de stabiliser la structure en double hélice. [7]

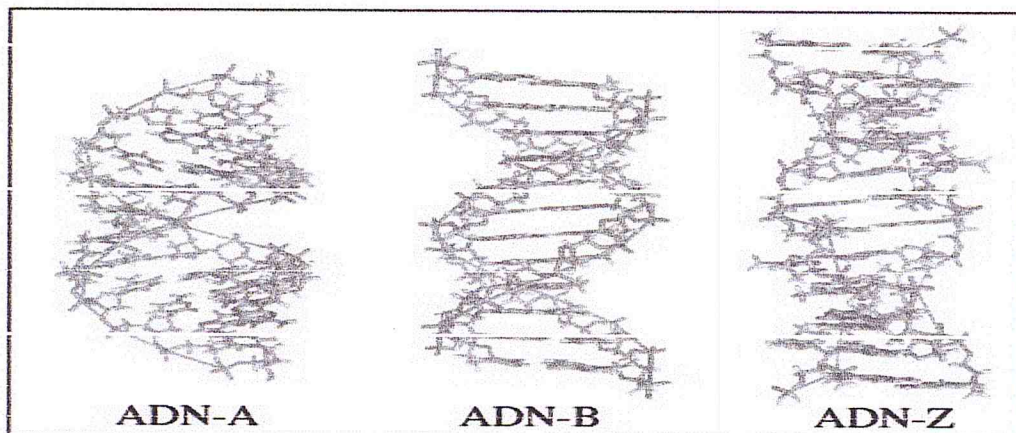


Figure I.11: Conformations canoniques de l'ADN [7].

### I.3 LES BIOCAPTEURS

#### I.3.1 Définition

On peut considérer, en général, que le biocapteur est une combinaison d'un composant biologique appelé biorecepteur et d'un transducteur qui représente en fait le mode de détection, afin d'assurer la transformation du phénomène biologique en signal électrique (fig.I-12) [8].



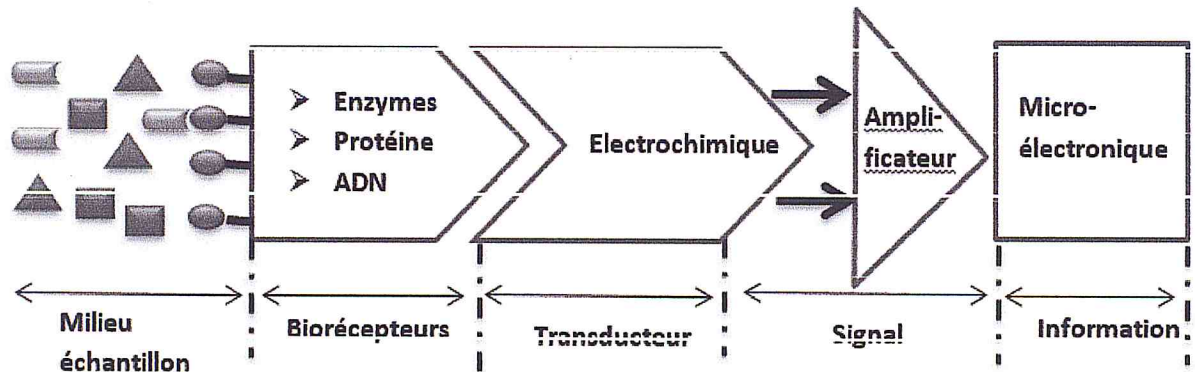


Figure I.12: Représentation schématique du Principe de fonctionnement d'un biocapteur.

Un biocapteur est défini par plusieurs caractéristiques [9] :

- **La sélectivité** : le biocapteur se doit de reconnaître uniquement les biomolécules d'intérêt. Cela est d'autant plus vrai lorsque les biomolécules se trouvent dans un milieu complexe (plasma sanguin, eaux, ...) contenant plusieurs molécules différentes.
- **La limite de détection** : cette valeur correspond à la concentration minimale réelle qui peut être détecté par le biocapteur. Elle doit être trois fois plus importante que le bruit généré par le système.
- **Le domaine de linéarité** : La détermination du domaine de linéarité offre la possibilité de doser la biomolécule en question se trouvant dans un échantillon inconnu. Le domaine de linéarité est obtenu après le tracé d'une courbe d'étalonnage (ajout de concentrations croissantes la biomolécule). En général, le domaine de linéarité est compris entre la valeur de la limite de détection et la valeur où la sonde est saturée par la cible.
- **La sensibilité** : Cette valeur correspond à la pente obtenue dans le domaine de linéarité du capteur. Elle correspond à la variation du signal mesuré par unité de concentration de la biomolécule.
- **le temps de réponse** : c'est le temps nécessaire pour obtenir une réponse du biocapteur. Pour être attrayant, un biocapteur doit pouvoir réaliser une mesure en temps réel.



Il existe un grand nombre de biorécepteurs et de transducteurs dans la littérature. Le choix est fait en fonction de l'application finale du biocapteur et des contraintes du problème. La figure (Figure I.13) suivante représente les différents types de biorécepteurs et de transducteurs [10].

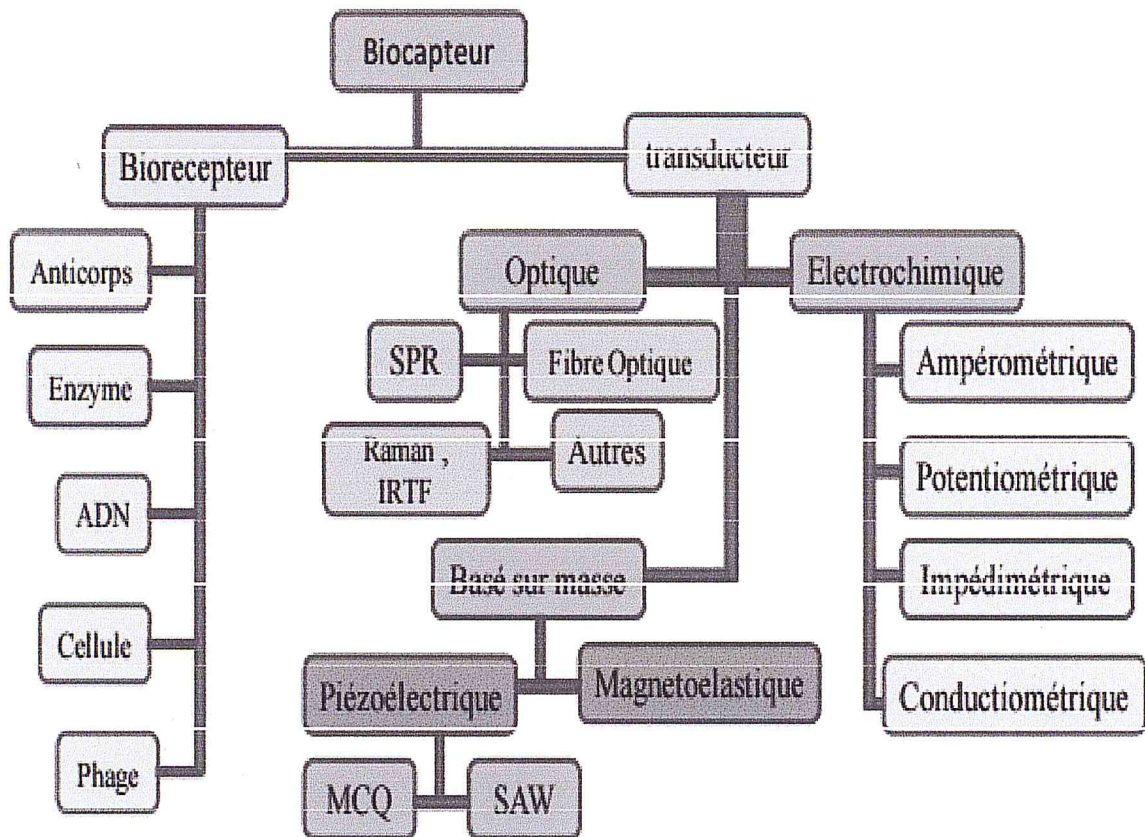


Figure I.13 : Familles de biorécepteurs et de transducteurs [10].

### I.3.2 Le biorécepteur

Le fonctionnement des biocapteurs nécessite l'utilisation d'un composant biologique, le biorécepteur, dont dépend le signal biologique émis. Le choix du biorécepteur est également lié à celui du transducteur selon la nature du signal biologique émis (modifications physico-chimiques, fluorescence, ...). De plus, le biorécepteur doit répondre à un certain nombre d'exigences telles que la stabilité de son signal ou sa facilité d'immobilisation (Figure I.14). [11]

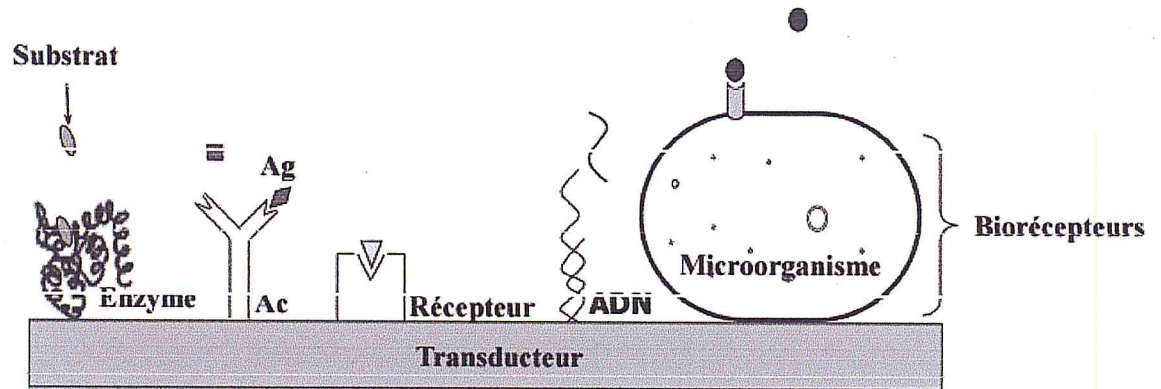


Figure I.14 : Représentation schématique des différents biorécepteurs [11].

### I.3.3 Le transducteur

Représente l'autre élément du biocapteur. Il sert à exploiter la modification biochimique du substrat par le biorécepteur pour la transformer en signal électrique [8].

Différents systèmes de transduction, basés sur des principes différents, sont généralement utilisés afin de convertir la reconnaissance moléculaire en un signal électrique exploitable. D'une part, des transducteurs non spécifiques et applicables peuvent être employés, indiquant des paramètres généraux tels que l'enthalpie de réaction (thermistance), le changement de la masse (cristal piézoélectrique), ou l'épaisseur de couche (réflectométrie). D'autre part, une indication spécifique peut être réalisée avec les électrodes potentiométriques ou ampérométriques pour des espèces comme  $H^+$ ,  $OH^-$ ,  $NH_3$ ,  $CO_2$  ou  $H_2O_2$  [12].

#### I.3.3.1 Transducteur optique

Ces transducteurs sont basés sur certains phénomènes : l'effet des molécules biologiques sur l'absorption de la lumière, la fluorescence, la variation de l'indice de réfraction, ou d'autres paramètres optiques. Ces transducteurs sont devenus de plus en plus populaires au cours de ces dernières années avec beaucoup de dispositifs commercialement disponibles.[12]

a) - Capteur à fibre optique.



- b) - Interféromètre Mach- Zender.
- c) - Capteur à Résonance plasmonique de surface (SPR).

### **I.3.3.2 Transducteur Mécanique**

Différentes méthodes mécaniques ont été utilisées en tant que systèmes de détection de biocapteurs. Ces transducteurs sont devenus de plus en plus populaires au cours des dernières années. [13]

- a) - Transducteur basé sur l'effet piézoélectrique.
- b) - Transducteur à Poutre AFM.
- c) - BioMEMS.

### **I.3.3.3 Le transducteur électrochimique**

Sont très répandus dans le domaine de la détection biochimique. La détection électrochimique a pour principe l'oxydation ou la réduction de molécules électroactives cible se traduisant par un échange d'électrons à la surface de l'électrode. Il en résulte un signal électrique utile et exploitable. Il existe trois types principaux de transducteurs électrochimiques [13].

La sélectivité de ces types de capteurs, ou électrode, dépend de leur nature chimique ; ainsi un capteur conducteur électronique inattaquable (platine, carbone...) sera sensible aux équilibres d'oxydo-réduction ; un capteur conducteur ionique sera sensible aux espèces qui acceptent ou fournissent des ions, mobiles dans le matériau dont est constitué l'élément sensible de ce capteur [14].

Les biocapteurs électrochimiques peuvent être :

- a) - Les transducteurs conductimétriques.
- b) - Les transducteurs ampérométriques.
- c) Les transducteurs potentiométriques.
- d)- les transducteurs impédimétriques.

### **I.3.4 Techniques d'immobilisations des biorécepteurs**

L'immobilisation de l'élément biologique est une étape clé dans la fabrication des biocapteurs. En effet, la méthode d'immobilisation doit être efficace,

reproductible, garantir une bonne homogénéité des plots, une densité de sondes élevée et surtout une immobilisation stable dans les conditions d'utilisation ultérieures. Selon les propriétés de la surface et des biomolécules, différents types d'interaction peuvent être mis en œuvre. De ce fait, différentes procédures d'immobilisation du biorécepteur ont été développées dans le but d'avoir une immobilisation efficace et stable des biomolécules actives sur la surface du transducteur, permettant de ce fait, une utilisation à long terme de l'enzyme tout en maintenant son activité biologique, de maintenir complément les propriétés biologiques des biomolécules actives et garantir une accessibilité et une réactivité maximales du biorécepteur. La sélection d'une méthode d'immobilisation appropriée dépend de la nature de la molécule biologique, du type de transducteur utilisé, propriété physicochimiques de l'analyte et des conditions opératoires du biocapteur [15].

On trouve dans la littérature cinq grandes familles d'immobilisation :

- 1) Immobilisation par "Cross-linking".
- 2) Immobilisation par assemblages supramoléculaires.
- 3) Immobilisation par le greffage covalent (chimie-sorption).
- 4) Immobilisation par L'inclusion dans une matrice.
- 5) Immobilisation par adsorption (physi-sorption).

Nous nous attacherons à décrire les avantages et inconvénients de ces différentes approches.

#### **I.3.4.1 La réticulation ou "Cross-linking" [15]**

La réticulation repose sur l'utilisation d'agents dit réticulant qui va permettre de lier les enzymes entre elles par des liaisons chimiques. Il existe deux méthodes de réticulation, soit les enzymes sont reliées entre elles par des agents réticulant de façon directe, soit en plus de l'agent réticulant une protéine inerte peut être utilisée afin de faciliter ou améliorer la réticulation, on parle alors co-réticulation. (Figure I.15).



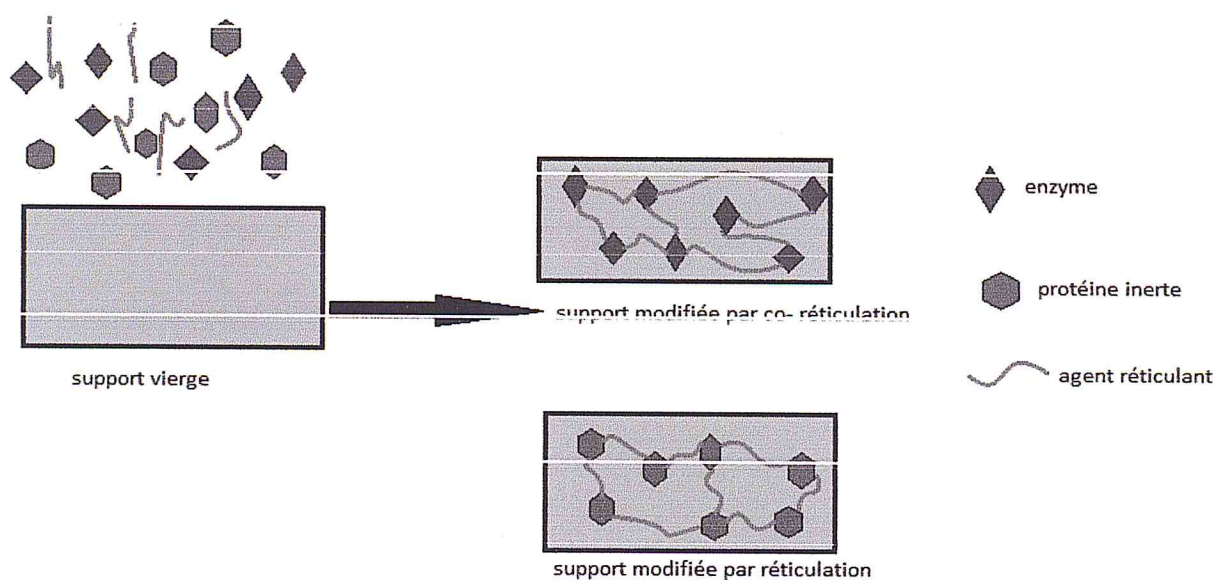


Figure I.15 : réticulation et Co-réticulation des enzymes [15].

#### I.3.4.2 Les assemblages supramoléculaires [9]

Cette technique consiste à utiliser l'affinité que certaines molécules ont entre elles afin de les immobiliser sur une électrode. Il existe différents systèmes. Le système (strept) avidine / biotine est l'un des systèmes d'affinité les plus connus. La (strept) avidine est capable de fixer quatre biotines (Figure I.16) et possède une constante d'association élevée de l'ordre de  $10^{15} \text{ L.mol}^{-1}$ .

Le système adamantane / cyclodextrine est également utilisé pour réaliser des assemblages supramoléculaires et possède une constante d'association de l'ordre de  $10^5 \text{ L.mol}^{-1}$ . Les cyclodextrines permettent une forte reconnaissance avec certains types de substrats en s'insérant à l'intérieur de leur cavité hydrophobe. De nombreuses publications décrivent notamment l'interaction entre des dérivés ferrocène et adamantane (Figure I.16) avec les cyclodextrines.

Une autre méthode consiste en la formation d'un complexe de coordination autour d'un cation cuivre ou nickel avec un résidu nitrilotriacétique (NTA). Ce complexe de coordination est capable d'immobiliser des biomolécules fonctionnalisées avec une étiquette tag histine ou biotine (Figure I.16)

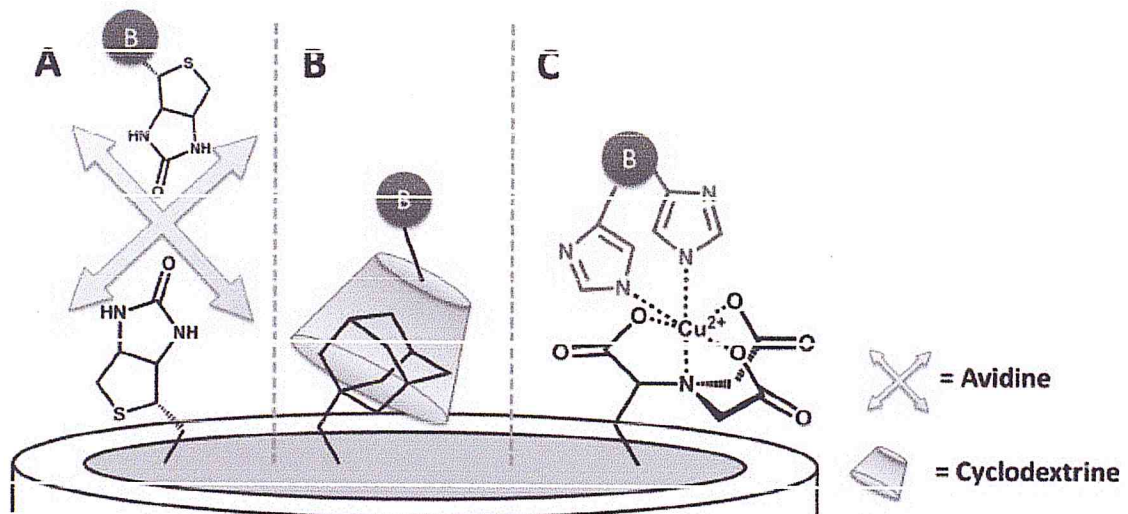


Figure I.16 :Électrode fonctionnalisée avec un biorécepteur immobilisé *via* des interactions supramoléculaires (A) Dépôt couche par couche biotine/avidine/biomolécule portant une étiquette tag biotine (B) interaction adamantane/biomolécule portant une étiquette tag cyclodextrine et (C) Complexe nitrilotriacétique (NTA)/Cu<sup>2+</sup>/biomolécule portant une étiquette tag histidine [9].

#### I.3.4.3 Le greffage covalent (chimie-adsorption)

L'immobilisation covalente d'une biomolécule consiste à former une liaison covalente entre la biomolécule et la surface de l'électrode. Pour cela, la liaison covalente est formée à partir d'un groupement fonctionnel de l'enzyme, qui n'est pas impliqué dans l'activité catalytique de celle-ci, et une surface préalablement activée. [9]

Dans la littérature, on trouve un grand nombre d'articles décrivant l'utilisation de certains acides aminés, présents à la surface des protéines, pouvant former une liaison covalente avec une surface active. Donc cette technique ne demande aucune modification de la biomolécule au préalable, puisque cette technique repose sur les groupements déjà présents dans la protéine. [9]

Une des méthodes de ligation les plus largement utilisées fait intervenir la réactivité du groupement  $-NH_2$  des résidus lysine sur des fonctions N-hydroxysuccinimide (NHS) ester activé donnant lieu à la formation d'un amide (Figure I.17). Les lysines peuvent également réagir avec des aldéhydes pour former une amine. [9]



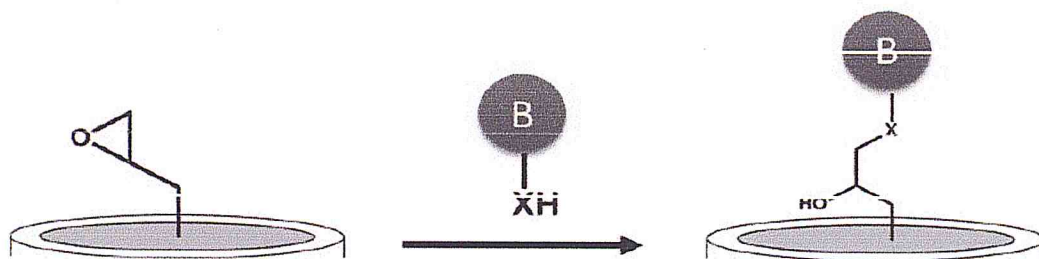


Figure I.19 : Principe simplifiée d'immobilisation covalente sur la surface d'une électrode suite à la réaction d'un résidu nucléophile sur l'entité biologique avec un groupement époxy sur surface ( $X = NH$  d'une lysine ou  $S$  d'une cystéine) [9].

Il est possible de modifier les biomolécules afin d'inclure des groupements chimiques spécifiques. Les ligations chimiosélectives les plus utilisées pour greffer des entités biologiques sur surface sont, entre autre : la cyclo addition 1,3-dipolaire de Huisgen (Figure I.20), la ligation de Staudinger ainsi que la cyclo addition de Diels-Alder (Figure I.20). [9]

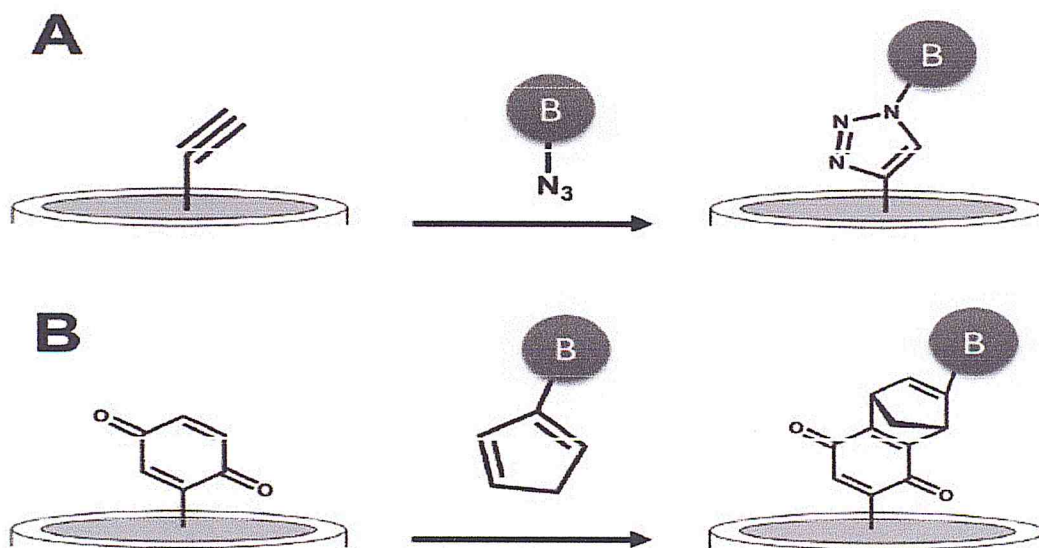


Figure I.20 : Principe simplifiée d'immobilisation covalente sur surface d'électrode suite à (A) une réaction de cycloaddition de Huisgen catalysée au cuivre entre un alcyne immobilisé et une biomolécule modifiée avec un groupement azido et (B) réaction de Diels-Alder entre une surface portant un accepteur et une biomolécule portant un donneur [9].



L'immobilisation de biomolécules sur des électrodes *via* une liaison covalente permet une immobilisation efficace et théoriquement irréversible de la biomolécule. Un autre avantage de cette technique est de ne pas former de barrière de diffusion. Par contre, une diminution de l'activité de l'enzyme peut être observée. [9]

#### I.3.4.4 L'inclusion dans une matrice

Cette méthode consiste à capturer le biorécepteur, en général une protéine dans une matrice 3D. Cette matrice peut être un polymère comme le chitosan, le nafion ou un polymère conducteur électrogénéré tels que le poly-pyrrole, le poly-thiphène ou la polyaniline, plus amplement décrits dans la section III (Figure I.21).[15]

Aucune réaction chimique n'a lieu entre la biomolécule et le polymère, donc cette méthode ne dénature pas l'enzyme. Un film de polymère peut immobiliser différents types de biomolécules ainsi qu'une quantité d'élévée de biomolécules. Par contre, la présence du polymère génère une barrière de diffusion, ce qui peut augmenter le temps de réponse dans le cas d'un biocapteur. [15]

D'autres techniques d'inclusion de biomolécules dans une matrice existent telles que l'inclusion dans une matrice amphiphile de PDMS (polydiméthyle siloxane), de photopolymère, des gels de silice, des polysacharrides, des pâtes de carbone ou des matrices inorganiques biocompatibles (couches double hydroxy lamellaires, nanoparticules de carbonate de calcium, etc.). [15]

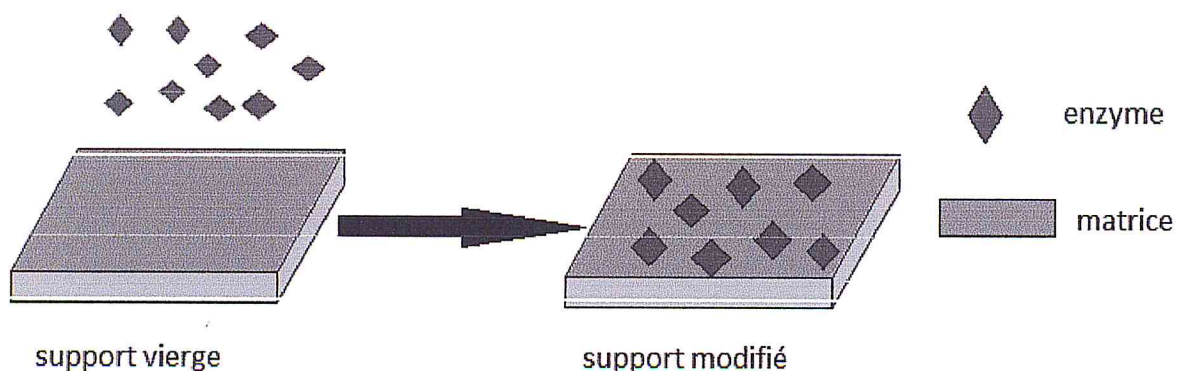


Figure I.21 : Encapsulation des enzymes [15].

### I.3.4.5 Immobilisation par adsorption (physi-sorption)

L'adsorption des protéines sur une surface solide est un évènement important dont l'étude permet d'apprécier les qualités du matériau et consiste à répondre à certaines questions essentielles telles que la qualité des protéines adsorbées, la nature et la force des interactions et à estimer l'affinité de la protéine pour la surface avec laquelle elle entre en contact (Figure I.22). [2]

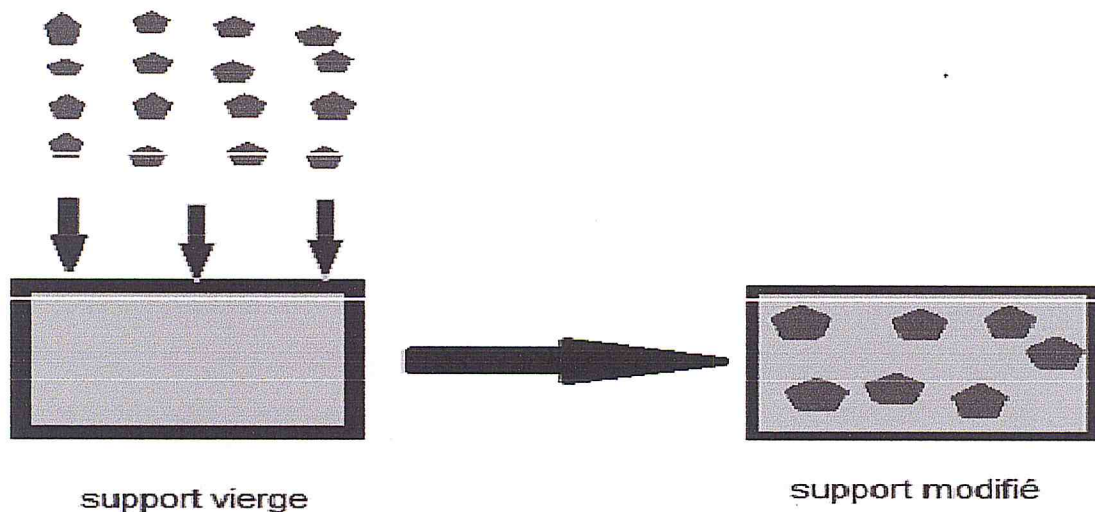


Figure I.22 : adsorption des enzymes sur un support [15].

La nature chimique de la surface solide joue également un rôle important puisque elle-même peut présenter plusieurs domaines de liaisons et d'interactions qui contribuent à la formation de complexes entre protéines et la surface du solide.

Tout atome ou molécule qui s'approche d'une surface subit une attraction qui peut conduire à la formation d'une liaison entre la molécule et la surface ; ce phénomène constitue l'adsorption, à ne pas confondre avec l'absorption qui se produit lorsque les molécules adsorbées pénètrent au cœur du solide ou du liquide adsorbant [2].



#### I.4. ADSORPTION

L'adsorption, à ne pas confondre avec l'absorption, est un phénomène de surface par lequel des molécules de gaz ou de liquides se fixent sur les surfaces solides des adsorbants. Les molécules ainsi adsorbées constituent l'adsorbat. Si les conditions énergétiques ou cinétiques permettent à la molécule de pénétrer au sein de la phase adsorbant, il y a absorption [16].

L'adsorption repose sur la propriété qu'ont les surfaces solides de fixer certaines molécules de manière réversible, par des liaisons faibles de type Van der Waals. Cette propriété est liée à la structure même du solide où subsistent, en surface, des forces non équilibrées par suite des dissymétries dans la répartition des atomes : la formation d'une couche de molécules adsorbées compense en partie ce déséquilibre [16].

Selon la nature des interactions qui retiennent l'adsorbat sur la surface de l'adsorbant, l'adsorption peut être classée en deux familles [17] :

- l'adsorption physique ou **physisorption** met en jeu des liaisons faibles, du type forces de van der Waals entre les espèces chimiques adsorbées et l'adsorbant. Ces liaisons sont analogues à celles qui sont impliquées lors d'une liquéfaction. Elle se produit bien avant que le gaz n'atteigne une pression égale à sa pression de vapeur saturante, à des températures assez basses et voisines du point d'ébullition de la phase adsorbée. Elle est en général réversible et on peut la comparer au dépôt de buée sur une paroi froide. L'équilibre est obtenu lorsque les vitesses d'évaporation et de condensation sont égales. L'adsorption physique est donc favorisée par une baisse de la température.
- l'adsorption chimique ou **chimisorption** met en jeu des énergies de liaison importantes, du type liaisons covalentes, ioniques ou métalliques entre les espèces chimiques adsorbées et l'adsorbant. Elle s'accompagne d'une profonde modification de la répartition des charges électroniques des molécules adsorbées. Elle est souvent irréversible (ou difficilement réversible) et engendre une couche monomoléculaire.



## I.4.1 Cinétique d'adsorption

### I.4.1.1 Migration en solution

Le soluté doit être transporté jusqu'à la surface de l'adsorption. Ce déplacement dépend de la taille de la particule autant que de l'agitation qui règne dans la solution, mais il est généralement rapide. [18]

### I.4.1.2 Diffusion dans le film

Le soluté doit encore diffuser à travers le film d'eau qui enveloppe la particule adsorbant. La vitesse du transfert de matière à travers le film d'eau est directement proportionnelle à la taille de chacune de celles-ci. [18]

### I.4.1.3 Diffusion interne ou diffusion dans les pores

La substance adsorbée à la surface d'une particule peut l'être au sein même des pores de la particule. Il y a, en effet, diffusion à travers le film vers la surface de la particule mais aussi dans les pores de celle-ci (Figure I.23). [18]

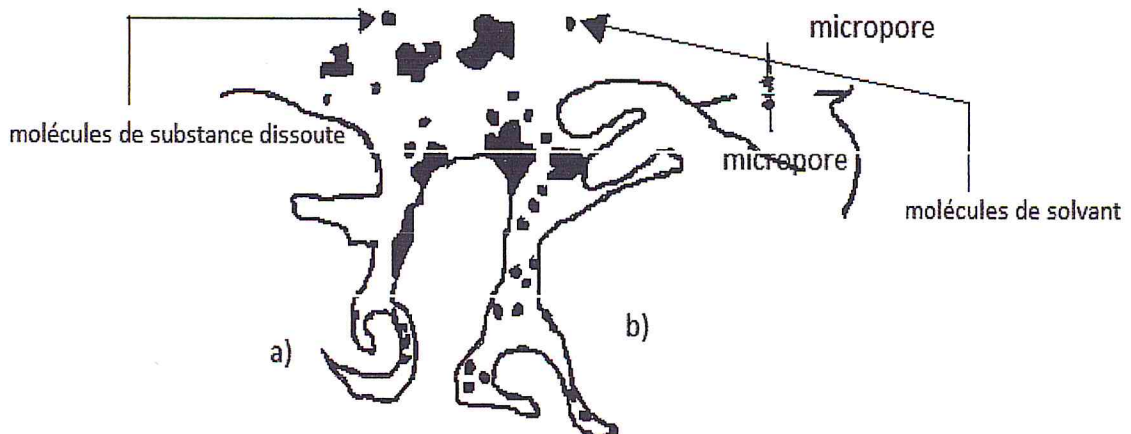


Figure I.23 : Structure d'un bon adsorbant [18].

- a) Zone accessible aux molécules de solvant et aux molécules dissoutes.
- b) Zone accessible seulement aux molécules de solvant.

Les mécanismes d'adsorption peuvent être décomposés en plusieurs étapes faisant appel à des processus diffusionnels, en particulier quatre phases peuvent être distinguées : [18]

- 1) Transport de matière de la solution vers la couche limite entourant la particule.
- 2) Transfert de la couche limite vers la surface adsorbante (diffusion externe).
- 3) Transfert de la surface vers les sites d'adsorption (diffusion intraparticulaire dans le solide et dans les micropores et les macropores).
- 4) Fixation, complexation ou précipitation des solutés.

La vitesse d'adsorption est d'autant plus grande que :

- la concentration du soluté est élevée.
- La granulométrie de l'adsorbant est faible.
- La surface spécifique de l'adsorbant est élevée.
- La taille des molécules adsorbables est faible.

La vitesse d'adsorption est gouvernée par : [18]

- 1) La diffusion des molécules vers la surface de l'adsorbant à travers le film liquide.
- 2) La diffusion des molécules au sein des micropores de l'adsorbant et l'adsorption sur les sites internes.

Du fait que les deux étapes contrôlant le processus global d'adsorption sont le transport externe et la diffusion intraparticulaire, trois différentes situations peuvent donc être considérées : [18]

- Le transport externe est supérieur du transfert interne ou la vitesse globale d'adsorption est gouvernée par la diffusion intraparticulaire.
- Le transport externe est inférieur du transfert interne ou la vitesse globale d'adsorption est gouvernée par la diffusion à travers la couche limite.
- Les transports externe et interne ont des grandeurs comparables, cette situation est beaucoup moins probable.

### I.4.2 Isotherme d'adsorption

On peut décrire un processus d'adsorption à l'aide d'une isotherme d'adsorption, une telle isotherme est une courbe qui représente la relation entre la quantité de soluté adsorbé par unité de masse d'adsorbant à l'équilibre  $q_e$  et la concentration de soluté en solution à l'équilibre  $c_e$ . [18]

Certains auteurs ont compilé de nombreuses isothermes de Langmuir et ont constaté qu'ils présentaient quatre types (Figure I.24), qui ont été reliés assez précisément à divers modes de fixations. [18]

1. **Type S** : Indique une adsorption verticale de molécules monofonctionnelles polaires, sur un adsorbant polaire et dans un solvant polaire (exemple : phénol sur alumine).
2. **Type L** : Langmuir normal, indique l'adsorption à plat de molécules bifonctionnelles.
3. **Type H** : commence d'une valeur positive mais pas de zéro, indique une haute affinité, c'est-à-dire que l'adsorption est totale aux faibles concentrations.
4. **Type C** : la ligne droite signifie qu'il y'a compétition entre le soluté et le solvant pour occuper les sites avec toujours le même partage, concerne des molécules flexibles pouvant pénétrer loin dans les pores pour y déplacer le solvant.

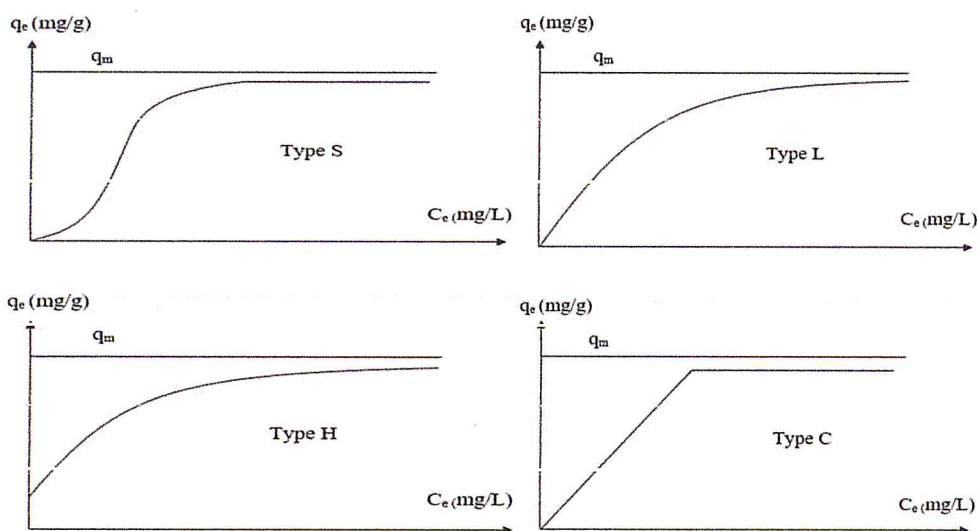


Figure I.24 : différents isothermes d'adsorption [18].



### I.4.2.1 Modèles d'isotherme d'adsorption [18]

D'assez nombreux auteurs ont proposé des modèles, théorique ou empirique, pour décrire la relation entre la masse d'adsorbat fixée à l'équilibre et la concentration sous laquelle a lieu. Il s'agit de relation non cinétique que l'on nomme isotherme. En pratique, on observe qu'une masse d'adsorbant ne peut fixer une quantité illimitée de substance, elle se sature. Ce phénomène de saturation n'est pas expliqué par toutes les formules, dont nous n'exposerons que les plus utilisées.

#### Modèle de Langmuir

Lorsque l'adsorption se produit en une seule couche, dans des sites d'adsorption énergétiquement équivalents qui ne peuvent contenir qu'une seule molécule par site, et qu'il n'y pas d'interactions entre les molécules adsorbées, nous avons l'un des modèles d'isotherme les plus connus, celui de Langmuir :

$$\frac{q_e}{q_m} = \frac{bc_e}{1+bc_e} \quad (I-1)$$

$q_e$  : quantité adsorbée à l'équilibre (mg/g).

$q_m$  : quantité maximal adsorbée à la saturation de la monocouche ou capacité maximale d'adsorption (mg/g).

$c_e$  : concentration à l'équilibre (mg/g).

$b$  : constant reliée à l'énergie libre d'adsorption ( $b = a e^{-\Delta G/RT}$ ), (L/mg).

Ce modèle est compatible avec la saturation. Son point faible est de supposer une monocouche. Ce qui n'est pas toujours vrai.

## I.5 ASPECTS MICROFLUIDIQUE [19]

L'utilisation de dispositifs microfluidiques, outre le fait de pouvoir déplacer de faibles quantités de liquide et de particules, permet d'obtenir des effets physiques différents de ceux que l'on obtient habituellement avec des dispositifs de taille macroscopique. Ces effets peuvent être aussi bien bénéfiques que désavantageux, suivant la situation. Dans cette partie, nous allons voir comment tirer parti de ces effets pour la mesure unitaire de cellules, ainsi que la réalisation des mesures elles-mêmes.

### Écoulement laminaire

Les écoulements microfluidiques présentent beaucoup de différences avec les écoulements classiques. Ceux-ci sont notamment dus au rapport surface de contact/volume qui augmente considérablement à mesure que les dimensions diminuent, au rapport entre les forces inertielles et de viscosité, et au rapport des effets de capillarité par rapport à la gravité. [19]

Les écoulements fluidiques à l'échelle macroscopique sont très généralement de type turbulent. C'est-à-dire que le fluide en déplacement subit un remous/mélange permanent le gradient des molécules/particules est globalement orienté dans la direction d'écoulement, mais ce n'est pas le cas d'une molécule/particule isolée. Dans le cas de la microfluidique, l'écoulement est la plupart du temps de type laminaire, c'est-à-dire que toutes les molécules/particules composant le liquide suivent presque parfaitement le gradient de vitesse global du fluide. La principale manifestation de ce phénomène se traduit par le fait que deux liquides différents, mis en contact lors d'un écoulement, ne vont pas se mélanger sur une grande distance. L'expérience la plus démonstrative consiste à faire se rencontrer deux liquides en écoulement microfluidique dans une structure en H, comme celle de la (Figure I.25). Les deux liquides vont entrer en contact dans la zone centrale, sans se mélanger, puis repartent chacun de leur côté. [19]

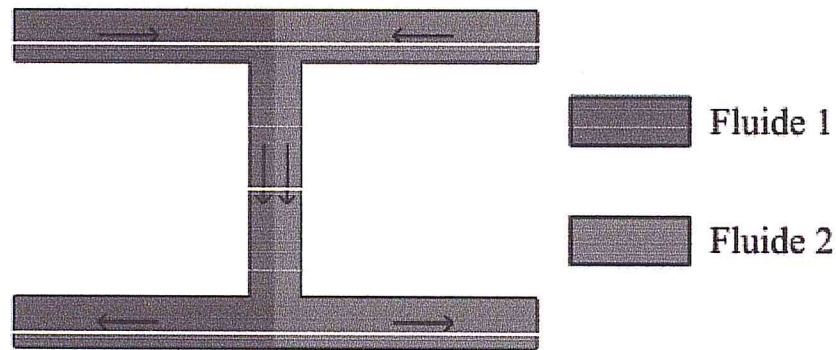


Figure I.25 : Schéma représentant un écoulement laminaire dans une structure en H [19].

On peut déterminer le comportement de fluide par le calcul si il est laminaire ou non en fonction de nombre de Reynolds. Ce nombre est sans dimension représente le rapport entre la force d'inertie et la force visqueuse. Il est fonction de la vitesse caractéristique du fluide  $U_0$ , de sa viscosité cinématique  $\nu$  (viscosité dynamique divisée par la densité), et de la dimension caractéristique du conduit  $L_0$  comme décrit dans l'équation. [19]

$$Re = \frac{U_0 L_0}{\nu} \quad (I-2)$$

La dimension caractéristique correspond à la plus petite dimension de la section du conduit, soit le diamètre pour un tube ou la hauteur pour un canal. Il existe deux valeurs clés du nombre de Reynolds : [19]

- Si  $Re$  est inférieur à 2000, l'écoulement est laminaire.
- Si  $Re$  est supérieur à 3000, l'écoulement est turbulent.
- Si  $Re$  est compris entre 2000 et 3000, l'écoulement est transitoire.

Pour un microcanal de  $100\mu\text{m}$  de dimension caractéristique, l'écoulement sera laminaire pour de l'eau si la vitesse du fluide est inférieure à  $20\text{m/s}$ . Les écoulements dans des microcanaux sont donc presque toujours laminaires, sauf dans certain cas extrêmes. Un moyen visuel permet de valider la laminarité de l'écoulement. Il suffit pour cela de faire déplacer une petite quantité de liquide dans un canal, de façon à ne pas le remplir



complètement. Les extrémités du liquide en contact avec l'air présentent alors des formes elliptiques. [19]

La longueur capillaire  $L_c$  est un autre nombre caractéristique en microfluidique. Il s'agit de la taille caractéristique d'un fluide à partir de laquelle les forces de gravité sont prédominantes par rapport aux forces de capillarité. Les forces de gravité doivent aussi rester faibles devant celles de capillarité pour que leurs effets sur les fluides et particules qui les composent puissent être négligés. Celle-ci s'exprime pour un liquide donné en fonction de sa tension de surface  $\gamma$ , de sa densité  $\rho$  et de la gravité  $g$  par la relation suivante: [19]

$$L_c = \sqrt{\frac{\gamma}{\rho g}} \quad (I-3)$$

Pour l'eau, avec une tension de surface avec l'air de  $73 \text{ g/s}^2$ , et une densité de  $1 \text{ g/cm}^3$  on obtient une longueur capillaire de 2,73 mm environ. Cette longueur étant bien supérieure aux dimensions de microcanaux, l'effet de la gravité dans le déplacement des fluides pourra être négligé. [19]

**CHAPITRE II**

**MODELISATION NUMERIQUE DE**

**L'ADSORPTION DES**

**BIOMOLECULES SUR UNE**

**ELECTRODE INTERDIGITEE**

## CHAPITRE II

### MODELISATION NUMERIQUE DE L'ADSORPTION DES BIOMOLECULES SUR UNE ELECTRODE INTERDIGITEE

#### II.1.INTRODUCTION

Comme nous l'avons vu dans l'introduction générale, l'étude principale de ce travail porte sur la modélisation de l'adsorption des biomolécules (ADN et BSA) par la méthode d'élément fini. On utilise le logiciel de simulation COMSOL Mutiphysics 5.2. Cette méthode permet de résoudre d'une manière discrète un système d'équations EDP dont on cherche une solution approchée. Elle consiste à diviser le domaine étudié en un nombre fini de mailles dans chacune d'elle, les variables sont approchées par une fonction d'interpolation polynomiale dont les coefficients doivent être déterminés. La maille couplée avec son interpolation est appelée élément du domaine.

Ce travail a été effectué d'une part dans le but fondamental de comprendre les interactions qui existent in vivo avec les protéines ou les membranes qui composent la cellule. D'autre part, l'intérêt grandissant pour les biotechnologies, dans des cas spéciaux tels que les biocapteurs. On a besoin d'une adsorption spécifique des biomolécules particulières pour obtenir une surface bien caractérisée qui est réactive envers des espèces biologiques spécifiques. La nature de la couche adsorbée dépend aussi bien des caractéristiques de la molécule et de la surface que des conditions dans lesquelles l'adsorption s'effectue.

Dans ce chapitre nous avons présenté les résultats de simulation de l'adsorption de BSA et ADN sur des électrodes d'or fonctionnalisées par des molécules organiques. L'influence des différents paramètres tels que le temps d'adsorption, la concentration initiale, la vitesse maximale, la concentration des sites d'adsorption, la hauteur du micro canal et la géométrie des électrodes ont été étudiées.



## II.2 LES BIOMOLECULES

### II.2.1 L'albumine de sérum bovin (BSA)

Nous avons commencé notre étude sur l'adsorption des protéines par la réalisation de l'adsorption de la BSA (bovine serumalbumin) sur la surface d'or fonctionnalisée par des molécules organiques ; la BSA est généralement utilisée comme protéine modèle dans plusieurs domaines de recherche, comme entre autres, la biologie moléculaire, la médecine, l'agro-alimentaire et l'environnement. Son faible coût, sa bonne caractérisation et sa grande solubilité dans l'eau en font une protéine de choix pour l'étude des interactions dans un système modèle. De plus, sa séquence est très proche de son équivalent humain (HSA). [20]

La BSA est souvent utilisée en biologie in vitro pour ses propriétés d'interactions avec la plupart des surfaces. Elle permet, par exemple, d'empêcher l'adhésion de certains types cellulaires sur des parois en verre ou en matière plastique. [20]

L'une des propriétés les plus spectaculaire de cette protéine est sa capacité à se lier avec un grand nombre de molécules et/ou de substrats comme les acides gras, la lysolécithine, la bilirubine, la warfarine, le tryptophane et d'autre. [20]

La structure primaire de BSA est celle d'une chaîne polypeptidique de 582 acides aminés et sa séquence d'acides aminés est bien connue. Le poids moléculaire est de 66430 daltons. La BSA est composée de 100 chaînes latérales acides avec les résidus Asp (41) et Glu (59) et 99 chaînes latérales basiques avec 23 Arg, 59Lys, et 17His. La structure secondaire est formée de 67% d'hélice  $\alpha$  de six tours et 17 ponts disulfures et entre 16 et 18% de feuillets  $\beta$ . [20]

L'adsorption de la BSA sur une surface solide a été beaucoup étudiée essentiellement pour résoudre les problèmes de biocompatibilité durant les greffes ou dans l'hémodialyse [21] [22].

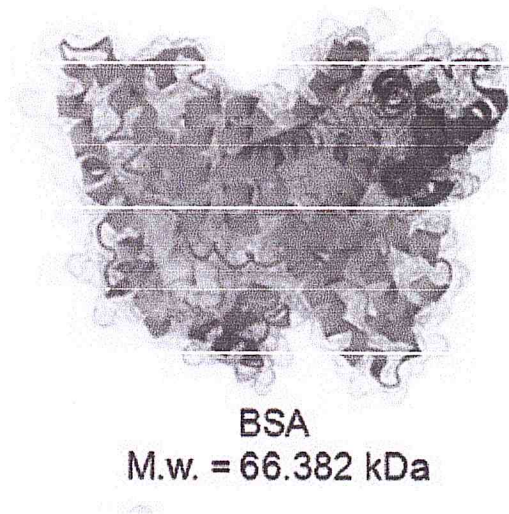


Figure II.1 : structure de L'albumine de sérum bovin (BSA)

### II.2.1 l'ADN

L'ADN est un polymère chargé. Les groupements phosphates  $\text{PO}_4^{3-}$  qui constituent le squelette sont chargés négativement : l'ADN est un polyélectrolyte.

Un brin d'ADN (ADN simple brin) est constitué d'un squelette qui est une alternance de désoxyribooses (sucres) et de phosphates. Ce squelette porte des bases qui sont des groupements aromatiques planaires : des purines et des pyrimidines. [23]

Elles sont attachées au squelette phosphatique par une liaison avec le sucre. L'ensemble constitué d'une base, d'un sucre et d'un phosphate est appelé nucléotide. Il existe 4 sortes de bases : deux purines qui sont l'adénine (A) et la guanine (G) et deux pyrimidines qui sont la thymine (T) et la cytosine (C). Le carbone du sucre lié à la base est numéroté 10. Ce sont les carbones 30 et 50 de deux nucléotides successifs qui sont reliés par une liaison phosphodiester pour former le squelette. La séquence des nucléotides est donc orientée : il existe une extrémité 50 et une extrémité 30 (figure II.2). [23]

Dans ce travail nous avons utilisé des séquences d'ADN 21 oligonucléotides (Figure II.2) qui ont été conçues pour détecter un pathogènes de plantes de serre *Botrytis cinerea*



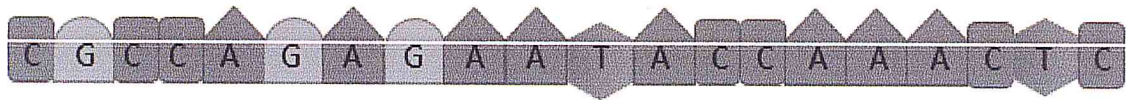


Figure II.2 : Séquence d'ADN de 21 oligonucléotides.

**Botrytis cinerea** :attaque au moins 270 espèces de plantes sauvages, notamment des Rosacées, mais aussi un nombre de plantes cultivées (Vitaceae, Solanaceae, Cucurbitaceae, Rosaceae et Fabaceae). La viticulture, le maraîchage, l'arboriculture et la floriculture sont concernés par la pourriture grise. Pour le maraîchage nous citons : la tomate, la framboise, la fraise, l'abricot, le concombre, la salade... essentiellement des dicotylédones.

Parmi les monocotylédones, les graminées sont considérées comme peu sensibles à la différence des bulbes (comme les oignons). La culture du cannabis et des fleurs est aussi touchée, puisque les roses, gerberas, pivoines, œillets, lis et chrysanthèmes sont vulnérables au botrytis. Le *Botrytis cinerea* est donc un champignon **polyphage** ne présentant pas à priori de spécificité d'hôte. Il peut se nourrir comme parasite, des tissus vivants de centaines de plantes sauvages et cultivées, mais ses capacités saprophytiques lui permettent en outre de survivre sur des débris végétaux tombés au sol [24].

### II.3 LA SURFACE D'ADSORPTION (ADSORBANT)

La nature chimique de la surface solide joue également un rôle important puisqu' elle-même peut présenter plusieurs domaines de liaisons et d'interactions qui contribuent à la formation de complexes entre Biomolécule et surface du solide.

Au cours de ce chapitre, nous avons étudié l'adsorption sur des surfaces en or fonctionnalisées par des monocouches auto- assemblées (SAM) qui présentent une fonction thiol pour l'accrochage sur la surface en or et à l'autre extrémité une fonction azoture (Figure II.3).



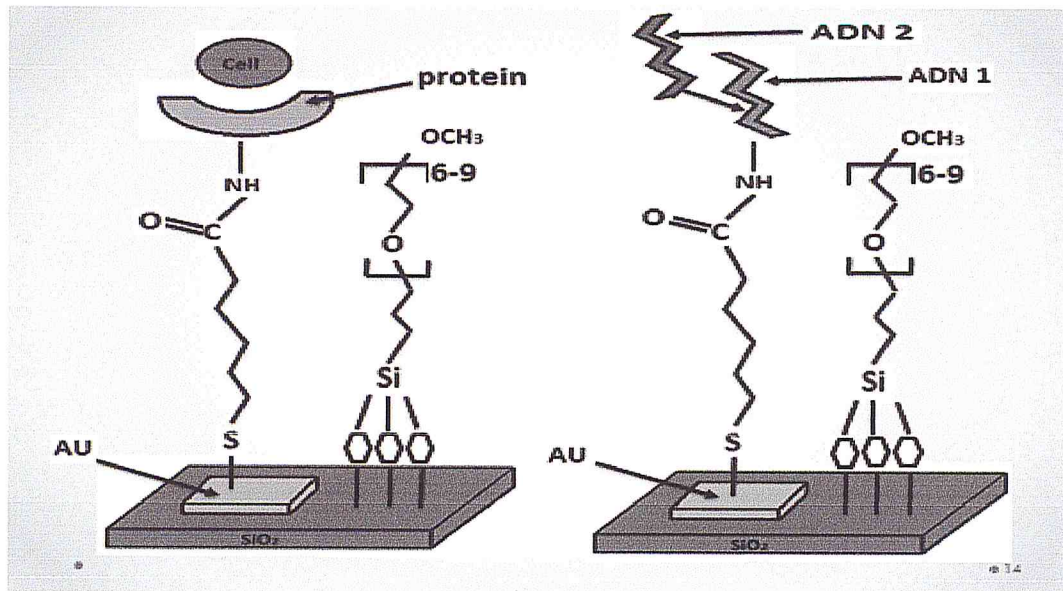


Figure II.3 : Surface d'adsorption (adsorbant).

## II.4 DEFINITION DU MODEL

Nous présentons ici un modèle qui décrit l'adsorption des biomolécules : Des séquences d'acide Désoxyribonucléique (ADN) de 21 oligonucléotides et bovine sérum albumine (BSA) sur des électrodes interdigitées (circulaires et rectangulaires). L'adsorption des biomolécules est obtenue par la résolution du système d'équation non linéaire tridimensionnel (3D) et est gouvernée par deux lois :

- Loi d'adsorption : Langmuir premier ordre
- Loi de diffusion : loi de Fick

### II.4.1 Géométrie des électrodes

Deux électrodes interdigitées de géométries différentes (circulaires et rectangulaires) seront simulées. Les paramètres géométriques retenus pour nos simulations sont illustrés en (Figure II.4). Nous fixerons aussi pour toute la suite de ce mémoire, l'axe x suivant la direction au canal, l'axe y suivant la largeur de l'électrode, et l'axe z suivant la verticale pour la géométrie de l'électrode interdigitée circulaire et pour la géométrie rectangulaire : l'axe x suivant la largeur d'électrode, l'axe y suivant la direction au canal et l'axe z suivant la verticale.

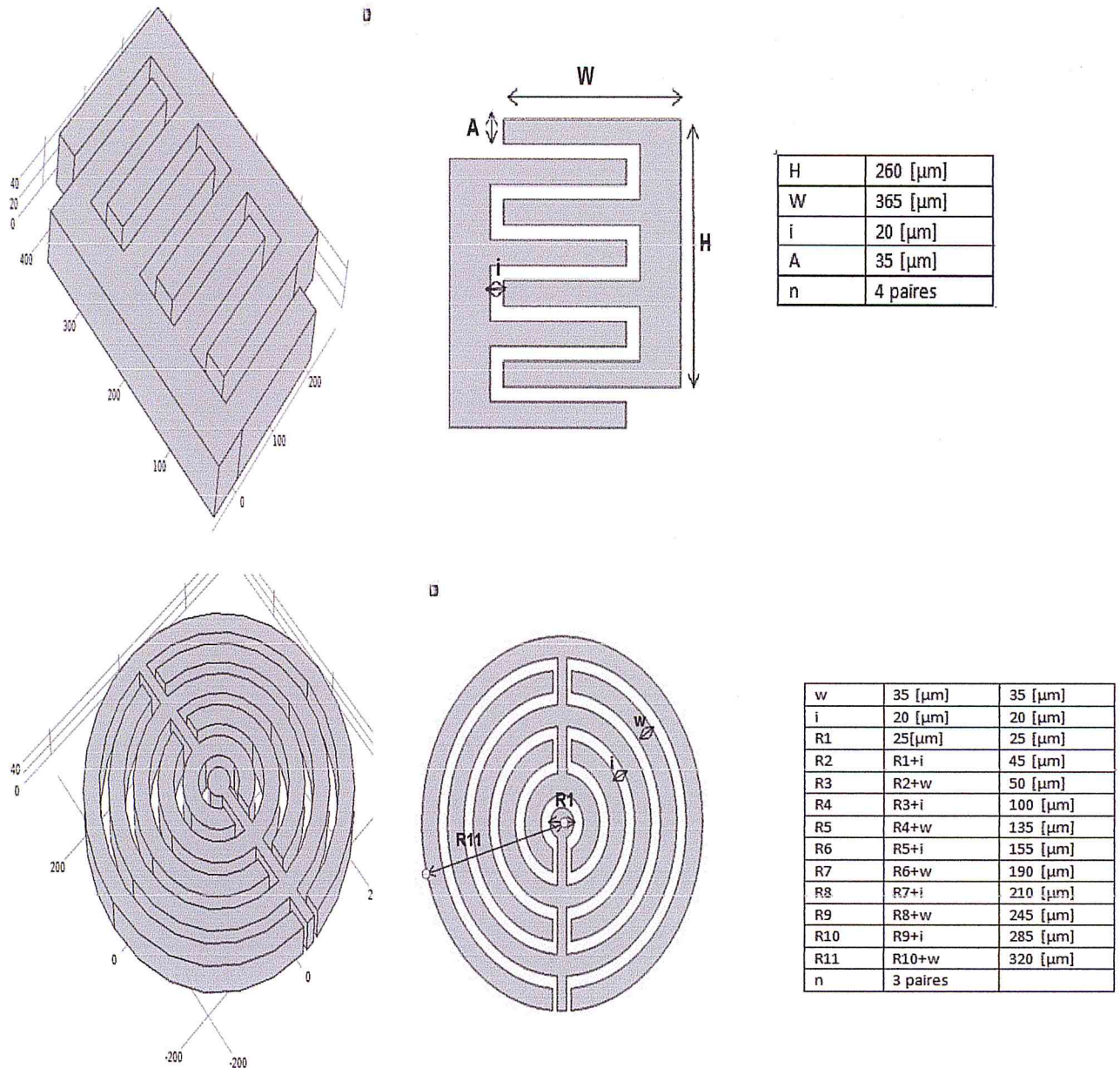


Figure II.4 : Représentation schématique des électrodes interdigitées a) forme circulaire, b) forme rectangulaire.

L'électrolyte est représenté par une géométrie 2D (Figure II.5). Nous considérons ici : L'épaisseur de l'électrolyte au-dessus du plan des électrodes égale à environ 100 ; 200 ; 300μm. L'électrolyte est une solution aqueuse avec des séquences d'ADN 21 oligonucléotide ou des molécules de BSA, la concentration est variée dans un intervalle compris entre 1e-8 et 1e-6 mol/L.



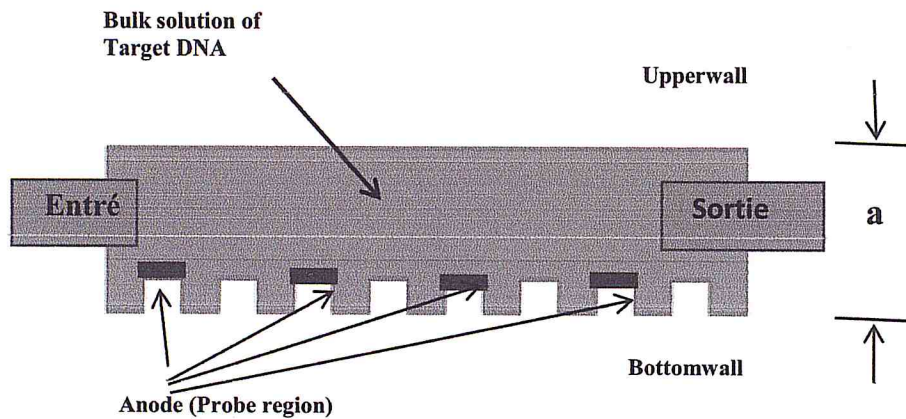


Figure II.5 : Représentation schématique du domaine réactionnel de l'adsorption des biomolécules en 2D.

#### II.4.2 Paramètres Numériques

Les paramètres nécessaires à la modélisation de l'adsorption des biomolécule (ADN et ABS) sur des micros-électrodes interdigitées sont regroupés dans le tableau (II.1)

Tableau II.1 : Description des différents paramètres du modèle pour ADN.

Name		Expression BSA	Expression ADN
c0	Concentration initiale	1e-8[M]	1e-8[M]
k_ads	Constante d'adsorption	1.2e5[L/(mol*s)]	3e1[L/(mol*s)]
k_des	Constante de désorption	1e-9[1/s]	0.3[1/s]
Gamma_s	Concentration des sites d'adsorption	1e-9[mol/(L*mm)]	1e-9[mol/(L*mm)]
Ds	Diffusion de surface	1e-11[m^2/s]	5e-13[mm^2/s]
D	Coefficient de diffusion	6e-5[m^2/s]	5e-5[mm^2/s]
v_max	Vilocité maximale	0.05[mm/s]	0.05[mm/s]
Delta	hauteur du micro cannal	200[μm]	200[μm]



### II.4.3 Domaine de validité de l'équation

#### II.1.3.1 Modélisation de l'adsorption

➤ **Cinétique en absence de cible non spécifique**

- Réaction de surface



- Vitesse d'hybridation

$$R_{\text{spec}} = K_a \cdot C_A \cdot C_H - K_d \cdot C_{AH} \quad (II-2)$$

➤ **Cinétique d'hybridation en présence de cible non spécifique**

- Réaction de surface



- Compétition « Concurrence » sur la sonde

$$C_H = C_{H,\text{max}} - C_{AH} - C_{BH} \quad (II-5)$$

- Vitesses d'hybridation

$$R_{\text{spec}} = K_{a,\text{spec}} \cdot C_A \cdot C_H - K_{d,\text{spec}} \cdot C_{AH} \quad (II-6)$$

$$R_{\text{non,spec}} = K_{a,\text{nonspec}} \cdot C_B \cdot C_H - K_{d,\text{nonspec}} \cdot C_{BH} \quad (II-7)$$

#### II.4.3.2 Modélisation de la diffusion

La diffusion est régie par les équations suivantes :

$$\frac{\partial C_i}{\partial t} = \nabla \cdot (-D_i C_i) + \mu \cdot \nabla C_i = R_i \quad (II-8)$$

$$N_i = -D_i \nabla C_i + \mu C_i \quad (II-9)$$

Où :  $C_i$  est la concentration,  $D_i$  est le coefficient de diffusion, et  $R_i$  la vitesse de Réaction.

#### II.4.3.3 Conditions aux limites

- 1- **Concentration** : On peut considérer que la concentration initiale loin de la surface des électrodes est homogène ( $c = c_0$ ) et la concentration initiale à la surface de l'anode est nulle

$$2\text{- Flux} \quad -nN_i = N_{0,i} \quad (II - 10)$$

$$3\text{- Outflow} \quad -n.D_i \nabla C_i = 0 \quad (II - 11)$$

$$4\text{- Symmetry} \quad -nN_i = 0 \quad (II - 12)$$

## II.5 RESULTATS DE LA SIMULATION DE L'ADSORPTION DES BIOMOLECULES SUR UNE ELECTRODE INTERDIGITEE

### II.5.1 Maillage de la structure à modéliser

Le principe de la simulation par éléments finis repose sur le maillage. Le choix de ce dernier est primordial dans la mesure où la précision de la solution en dépend.

Le code de calcul Mutiphysics (comsol) peut utiliser un maillage non régulier sur tout le système étudié (maillage free tetrahedral, size : maximal élément size 10 $\mu\text{m}$ , minimal élément size 5 $\mu\text{m}$ ). Le maillage peut être resserré près des endroits d'intérêt (dans notre cas la surface de l'électrode) (Figure II.6).

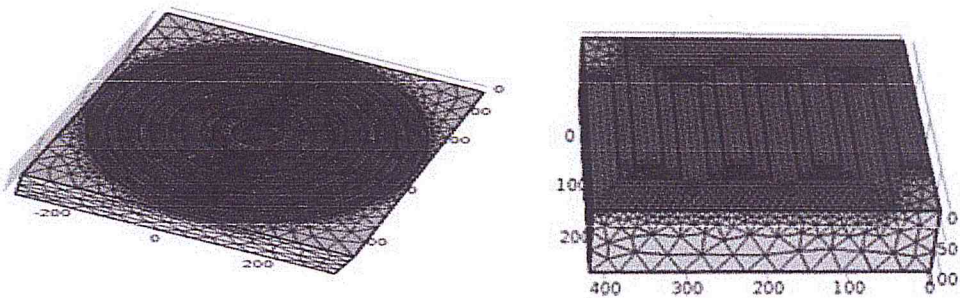


Figure II.6 : maillage de la structure d'électrode.

## II.5.2 Effet des différents paramètres sur l'adsorption

Dans cette simulation, nous considérons que l'adsorption de l'ADN et BSA ont lieu à la surface des électrodes en or fonctionnalisées par des molécules organiques.

### II.5.2.1 Profils du gradient de concentration à différents temps

Pour simuler la cinétique d'adsorption de BSA sur des électrodes interdigitées, nous avons tracé les profils et les gradients de concentration de BSA dans la solution et à l'interface liquide-solide pour différents temps suivants 5, 20, 40, et 60s (Figure II.7).

D'après ces résultats, on remarque que :

- La concentration de BSA dans la solution diminue de  $0,4 \cdot 10^{-4}$  à  $0,3 \cdot 10^{-4} \text{ mol/m}^3$  lorsque le temps évolue de 5 à 60s.
- La concentration de BSA est inversement proportionnelle à la distance suivant x. L'adsorption est une portion d'hyperbole.
- Dans la zone entre les interdigitées, il y a une quantité de BSA qui s'est adsorbée sur la surface suivant un autre mécanisme.

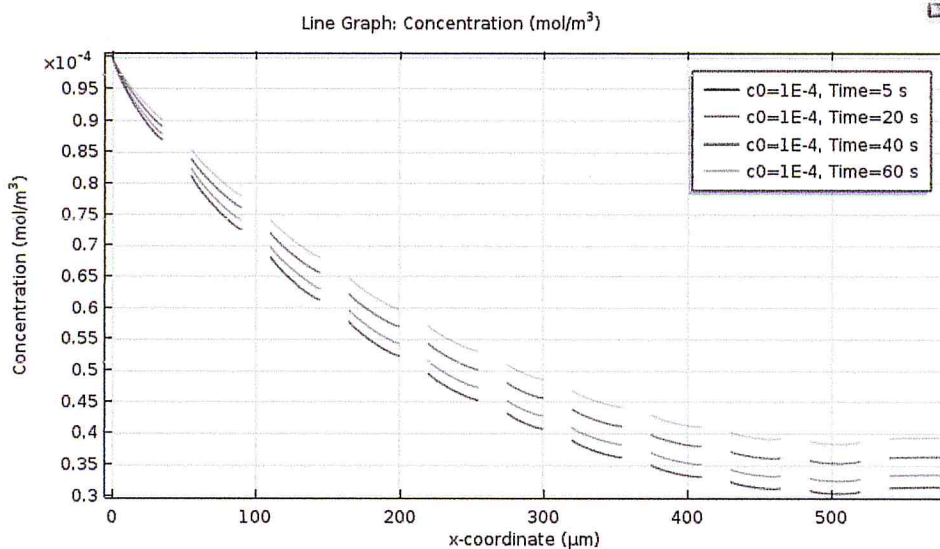


Figure II.7 : Profils de concentration de BSA dans la solution à différents temps.



Pour bien voir et comprendre le mécanisme d'adsorption de BSA, nous avons tracé les graphes : concentration de BSA dans la solution pour  $x$  compris entre 430 et 465  $\mu\text{m}$ , et la concentration  $C_s$  de BSA à l'interface liquide-solide dans la même zone (Figure II.8 ; II.9) à différents temps suivants (5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60s). D'après ces graphes on observe que :

- La concentration de BSA adsorbée augmente de  $3,15 \cdot 10^{-5}$  à  $3,95 \cdot 10^{-5}$   $\text{mol}/\text{m}^3$  quand le temps croît de 5 à 60 s.
- La concentration ( $C_s$ ) de BSA à l'interface liquide-solide augmente aussi de  $(0,2 \cdot 10^{-4}$  à  $2 \cdot 10^{-4}$   $\text{mol}/\text{m}^3$ ) avec le temps.
- Les profils de concentration de BSA dans la solution et à l'interface liquide-solide sont parallèles ce qui montre que la cinétique d'adsorption est identique pour tous les temps.

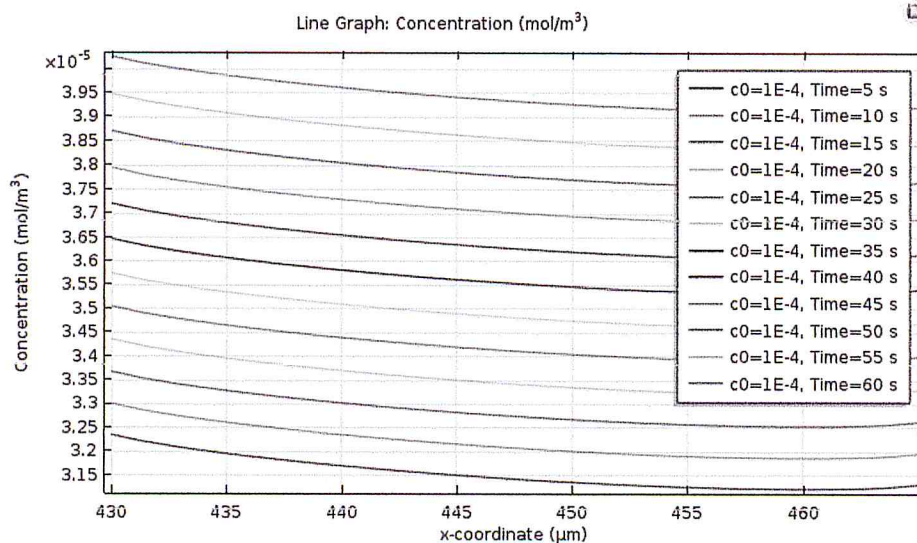


Figure II.8 : Profils de concentration de BSA dans la solution à différents temps pour  $x$  compris entre ( $430\mu\text{m} < x < 465\mu\text{m}$ ).

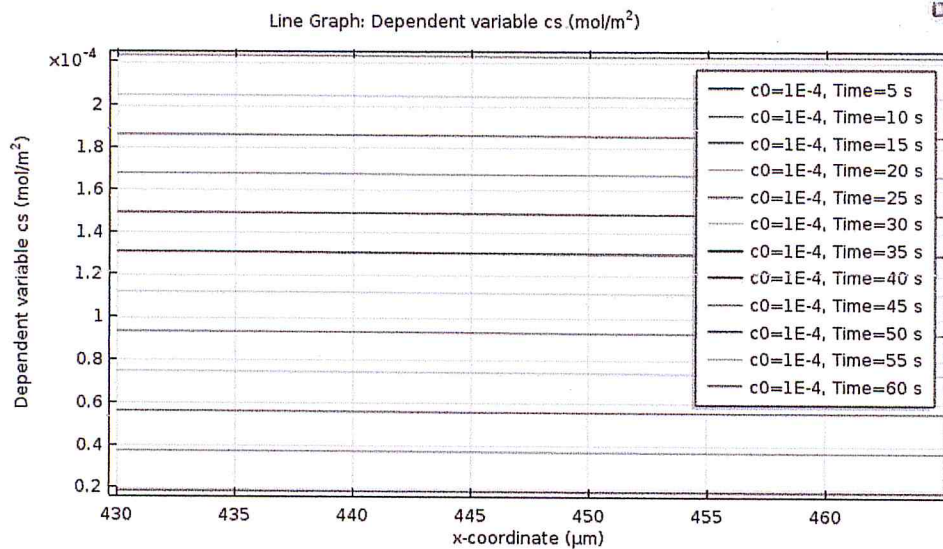


Figure II.9 : Profils de concentration de BSA à l'interface liquide-solide à différents temps pour  $x$  compris entre  $(435\mu\text{m} < x < 465\mu\text{m})$ .

Nous avons aussi tracé les cartographies qui présentent la concentration de BSA dans la solution et à l'interface liquide -solide à différents temps.

Sur les cartographies (Figure II.10), la concentration de BSA dans la solution et la concentration ( $C_s$ ) de BSA à l'interface liquide-solide sont indiquées par un code de couleur allant du bleu foncé (concentration minimale) au rouge (concentration maximale atteinte).

D'après les résultats obtenus, nous constatons que :

- La concentration ( $C_s$ ) de BSA à l'interface liquide-solide pour les temps 5, 15 et 40s varie dans les intervalles suivants  $[3.10^{-6} \text{ mol/m}^3, 5,5.10^{-6} \text{ mol/m}^3]$ ,  $[0,9.10^{-5} \text{ mol/m}^3, 1,6.10^{-5} \text{ mol/m}^3]$  et  $[2,2.10^{-5} \text{ mol/m}^3, 4,2.10^{-5} \text{ mol/m}^3]$  respectivement, ce qui montre que la concentration  $C_s$  augmente lorsque le temps croît.
- Au début du canal et pour  $x$  variant entre  $-200$  et  $0\mu\text{m}$ , la concentration de BSA dans la solution et la concentration ( $C_s$ ) de BSA à l'interface liquide solide sont très élevées ( $x$  variant entre  $0$  et  $200\mu\text{m}$ ).

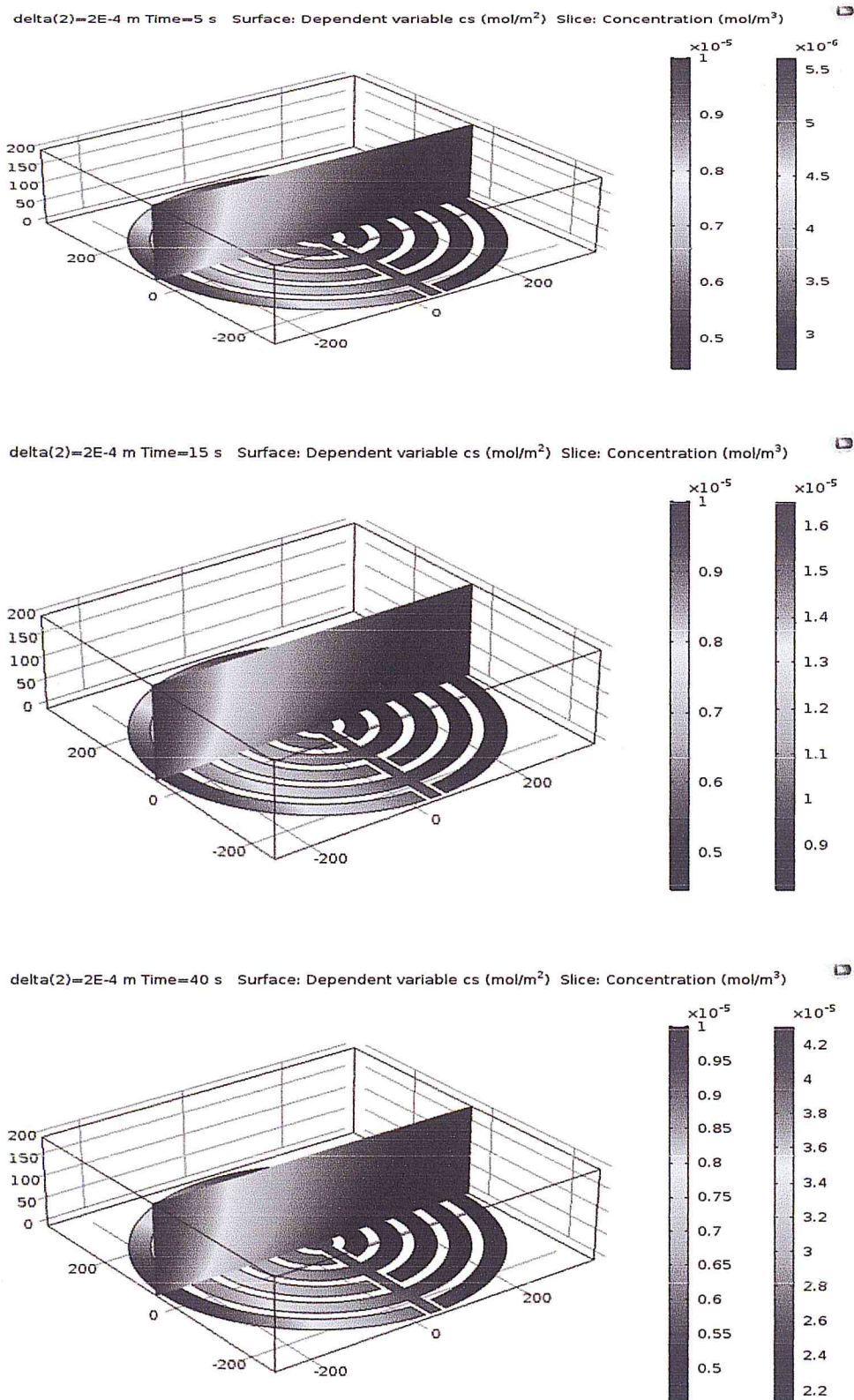


Figure II.10 : Cartographies de la concentration de BSA à différents temps (5,15, 40s)



### II.5.2.2 Influence de la concentration initiale de BSA

Afin d'examiner l'adsorption de BSA lorsque sa concentration initiale dans la solution change nous avons choisi arbitrairement de travailler avec trois concentrations initiales différentes à savoir :  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  et  $10^{-4}$  mol/m<sup>3</sup>

La figure (II.11) montre un effet marqué de la concentration initiale de BSA sur l'adsorption dans un temps de 20s. Nous constatons que l'augmentation de la concentration de BSA de  $10^{-6}$  à  $10^{-4}$  mol/m<sup>3</sup> induit une augmentation de la capacité d'adsorption. Ceci signifie que le taux de saturation n'est pas atteint.

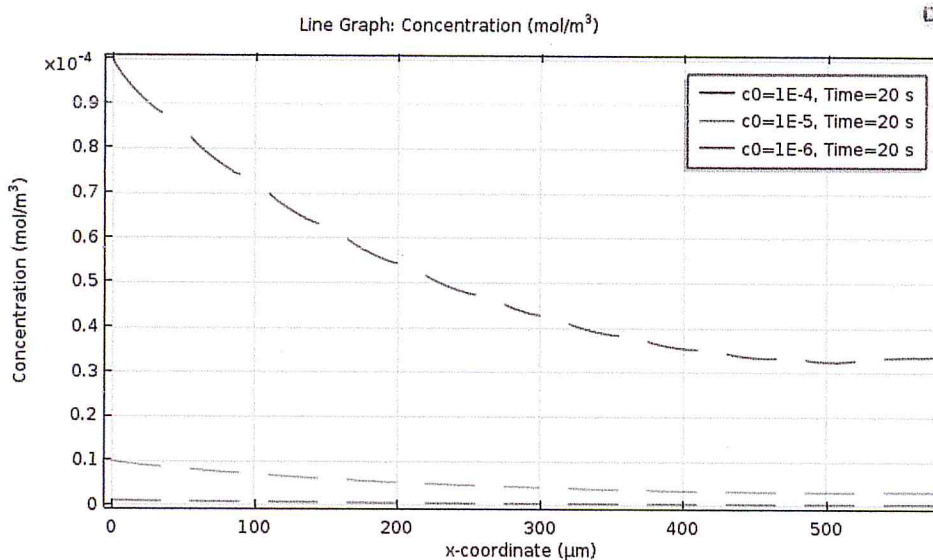


Figure II.11 : Profils de concentration de BSA dans la solution à différentes concentrations initiales pour un temps de 20s.

D'après les résultats de la figure (II.12), on constate que l'augmentation de la concentration initiale en substrat (BSA), entraîne un accroissement appréciable de sa quantité adsorbée à l'interface liquide-solide. Dans ce cas, les résultats obtenus semblent indiquer que si la concentration de BSA dans la solution est élevée, il y aura donc plus de molécules qui vont diffuser vers la surface des sites des particules du support et par conséquent la rétention devient plus importante.

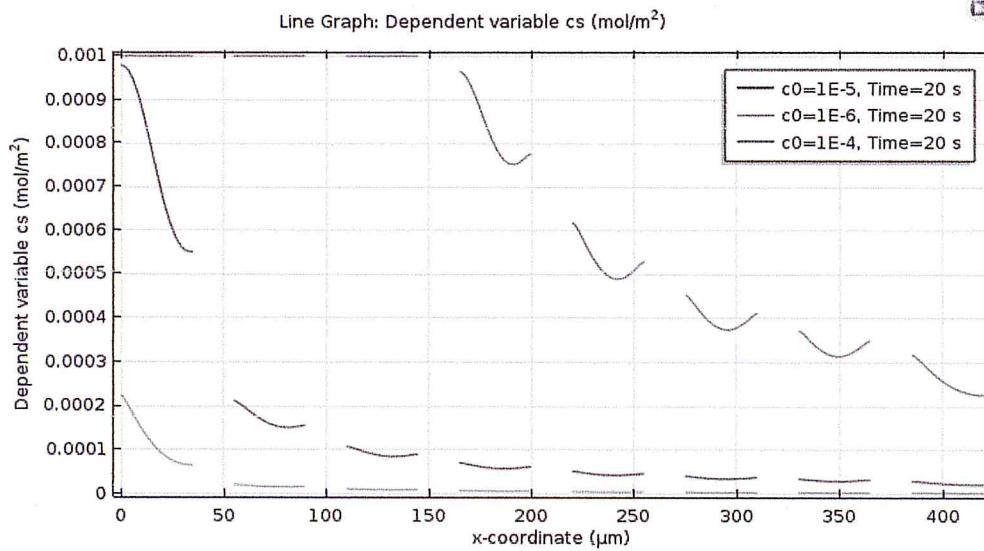


Figure II.12 : Profils de concentration de BSA dans l'interface liquide-solide à différentes concentrations initiales pour un temps de 20s.

D'après les résultats obtenus sur les cartographies (Figure II.13), nous remarquonsque:

- La concentration ( $C_s$ ) de BSA à l'interface liquide-solide pour les différentes concentrations initiales suivantes ( $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$  et  $10^{-6}$  mol/m<sup>3</sup>) de BSA dans la solution varie dans les intervalles  $[0, 1.10^{-3}$  mol/m<sup>3</sup>,  $1.10^{-3}$  mol/m<sup>3</sup>],  $[1.10^{-4}$  mol/m<sup>3</sup>,  $8.10^{-4}$  mol/m<sup>3</sup>] et  $[0, 1.10^{-4}$  mol/m<sup>3</sup>,  $1.10^{-4}$  mol/m<sup>3</sup>] respectivement. D'une manière générale, plus on augmente la concentration initiale de BSA dans la solution, plus la concentration ( $C_s$ ) de BSA à la interface liquide solide évolue.
- Au début du canal et pour la concentration initiale de BSA égale à  $10^{-4}$  mol/m<sup>3</sup> et  $x$  variant entre  $-200$  et  $0\mu\text{m}$ , la concentration de BSA dans la solution et la concentration ( $C_s$ ) de BSA à l'interface liquide-solide sont très élevées ( $x$  variant entre  $0$  et  $200\mu\text{m}$ ).

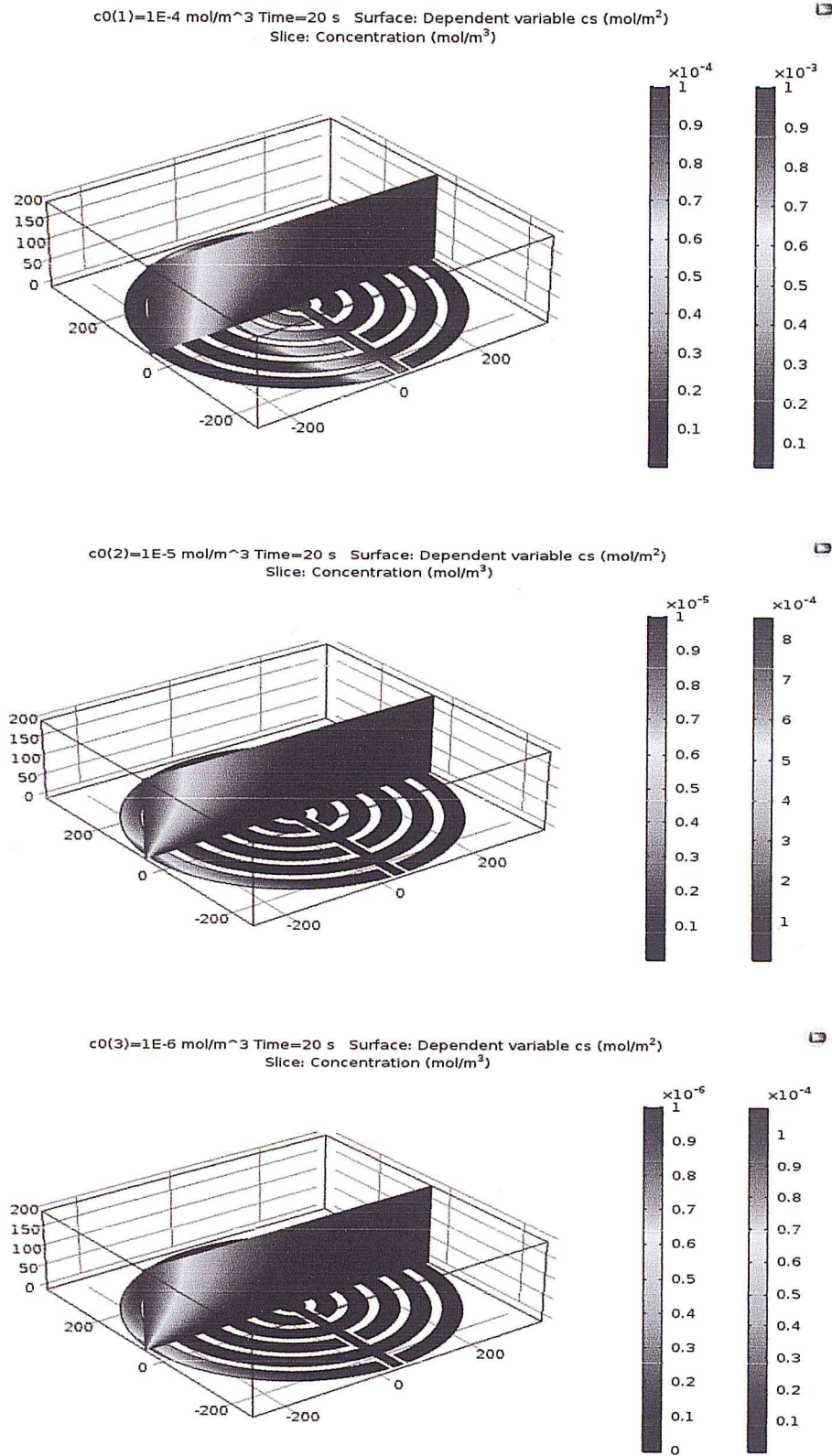


Figure II.13 : Cartographies de la concentration de BSA à différentes concentrations initiales de BSA.



### II.5.2.3 Influence de la vitesse maximale

Un champ de vitesse du fluide (vitesse) peut avoir une action perturbatrice sur la cinétique d'adsorption. Pour voir l'effet de la vitesse sur le profil de la concentration de BSA, la simulation de l'adsorption de BSA en fonction de la vitesse a été réalisée. Sur les figures (II.14 et II.15), nous présentons une simulation de la concentration de BSA dans la solution et à l'interface liquide-solide  $C_s$

D'après ces résultats, nous constatons que :

- La concentration de BSA dans la solution diminue clairement avec l'augmentation de la vitesse.
- La concentration de BSA à l'interface liquide-solide est identique pour les deux vitesses  $5 \cdot 10^{-6}$  et  $10^{-5}$  mm/s.
- Les concentrations maximale de BSA dans la solution et à l'interface liquide-solide est égale à  $0,2 \cdot 10^{-16}$  mol/m<sup>3</sup> pour la valeur de vitesse égale à  $5 \cdot 10^{-5}$  mm/s.

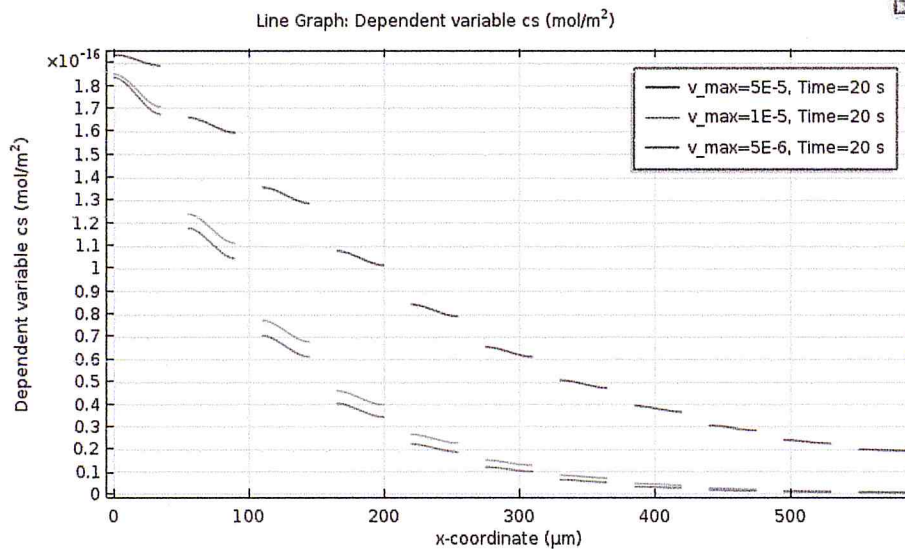


Figure I.14 : Profils de concentration de BSA dans l'interface liquide-solide à différentes vitesses maximales pour un temps de 20s.

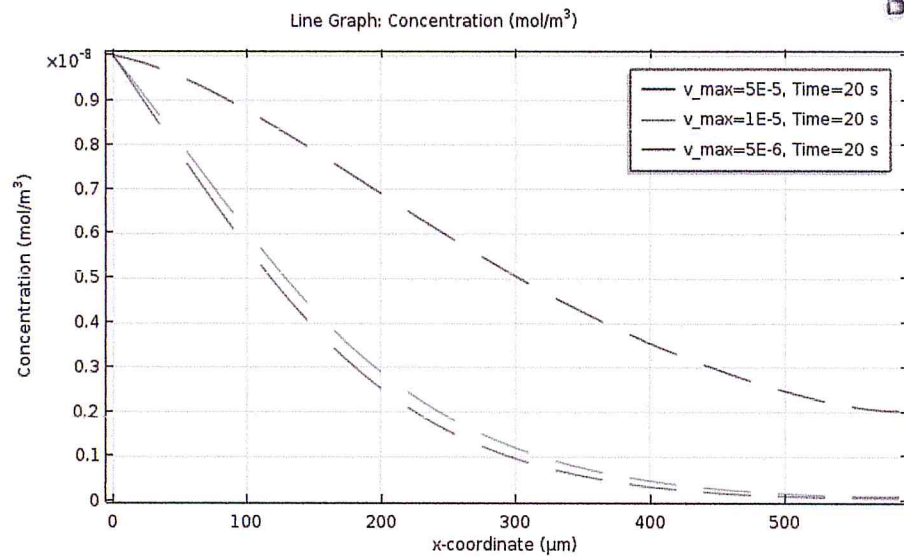
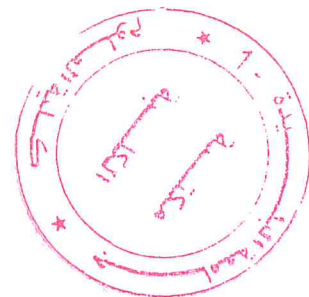


Figure II.15 : Profils de concentration de BSA dans la solution à différentes vitesses maximales pour un temps de 20s.

#### II.5.2.4 Influence de la concentration des sites d'adsorption

Pour évaluer l'influence de la concentration des sites d'adsorption (la concentration de molécules organiques qui sont fonctionnalisées sur la surface d'électrode) sur la cinétique d'adsorption de BSA.

Les résultats sont illustrés sur les graphes (II.16 et II.17)



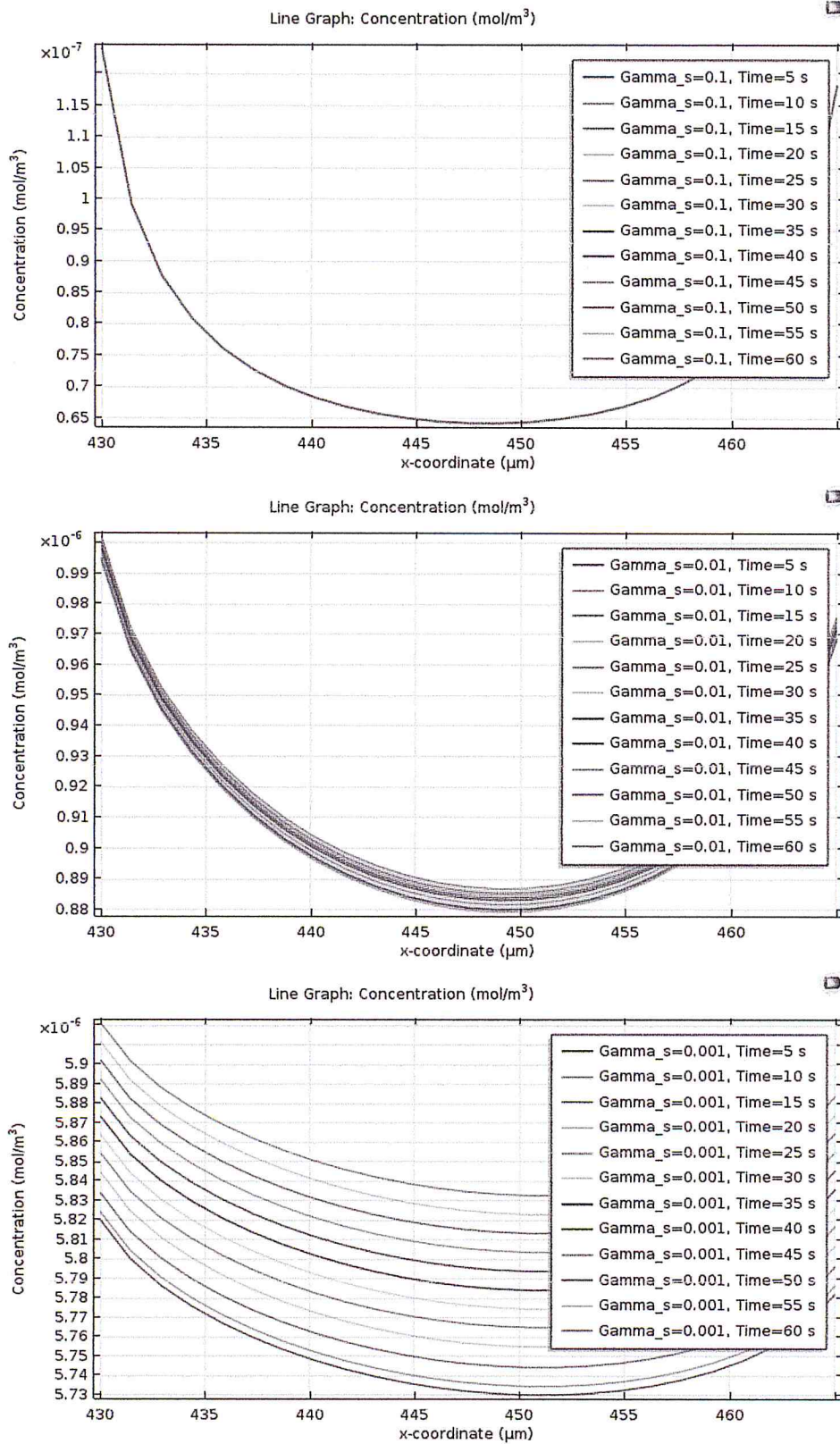


Figure II.16 : Profils de concentration de BSA dans la solution à différentes concentrations des sites d'adsorption et à différents temps pour  $x$  compris entre ( $430\mu\text{m} < x < 465\mu\text{m}$ ).



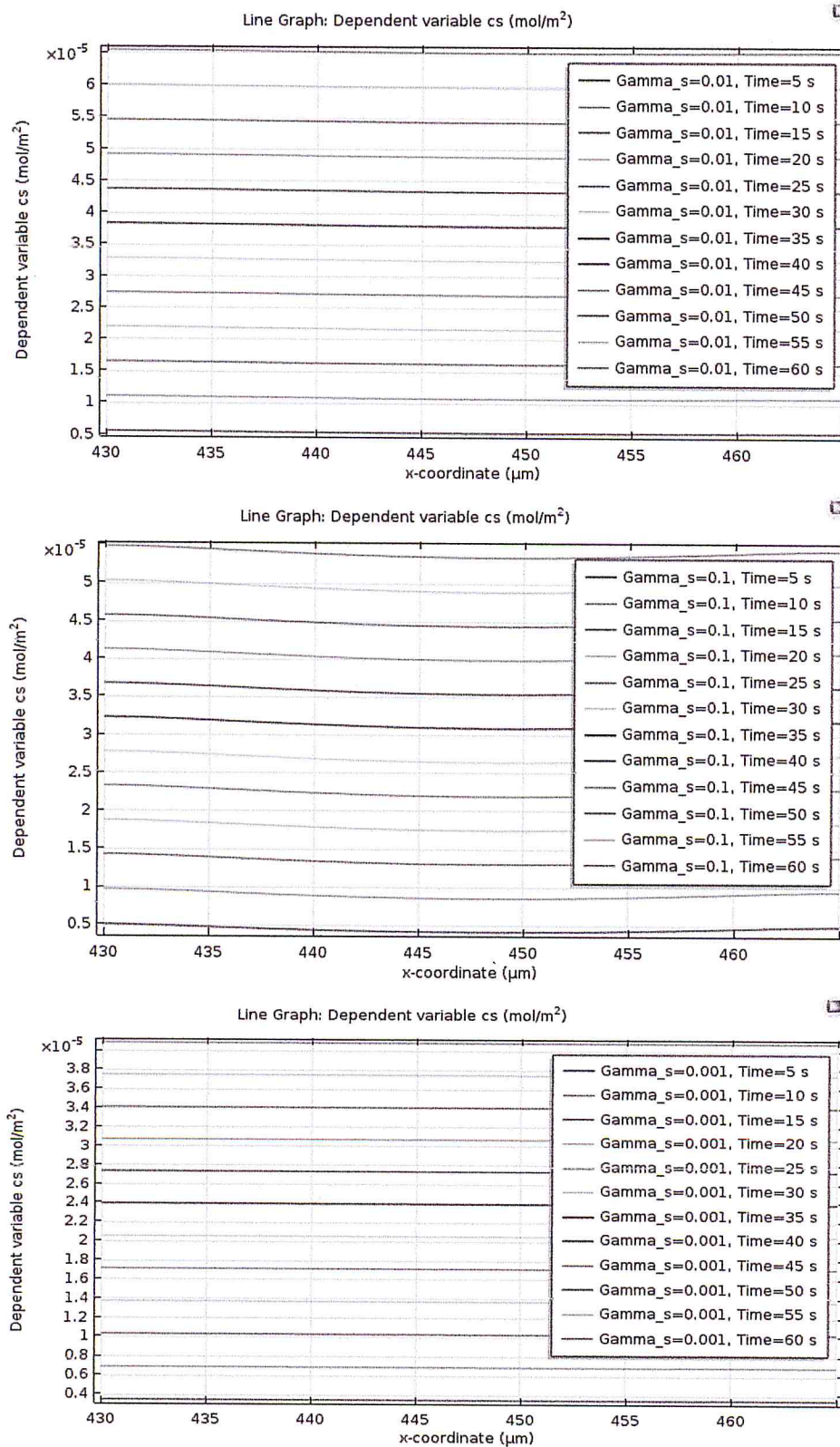


Figure II.17 : Profils de concentration de BSA dans l'interface liquide-solide à différentes concentrations des sites d'adsorption et à différents temps pour  $x$  compris entre  $(430\mu\text{m} < x < 465\mu\text{m})$ .

D'après ces graphes on constate que :

- Pour  $x$  compris entre 430 et 465 micromètres (Figures (II.16 et II.17)),
  - la concentration maximale ( $5.9 \cdot 10^{-6} \text{ mol/m}^3$ ) de BSA dans la solution est obtenue pour une concentration des sites d'adsorption égale à  $0,001 \text{ mol/m}^3$
  - Pour les concentrations des sites d'adsorption égales à  $0,1$  et  $0,01 \text{ mol/m}^3$  les concentrations de BSA dans la solution sont identiques quand le temps varie jusqu'à  $60\text{s}$ , ce qui montre que les sites d'adsorption sont plus élevés que la concentration de BSA dans la solution. Donc on peut dire que l'adsorption se fait avec un même mécanisme sans concurrence entre les molécules.
  - La concentration de BSA dans la solution et à l'interface solide-liquide croît avec l'augmentation du temps.
- Pour  $x$  compris entre  $0$  et  $600\mu\text{m}$ 
  - La concentration de BSA dans la solution augmente quand les sites d'adsorption croissent. Cela veut dire que la cinétique d'adsorption évolue avec l'augmentation des sites d'adsorption.
  - Les concentrations de BSA à l'interface liquide-solide sont identiques à partir de  $x$  est égale à  $200\mu\text{m}$  pour les trois concentrations des sites d'adsorption.

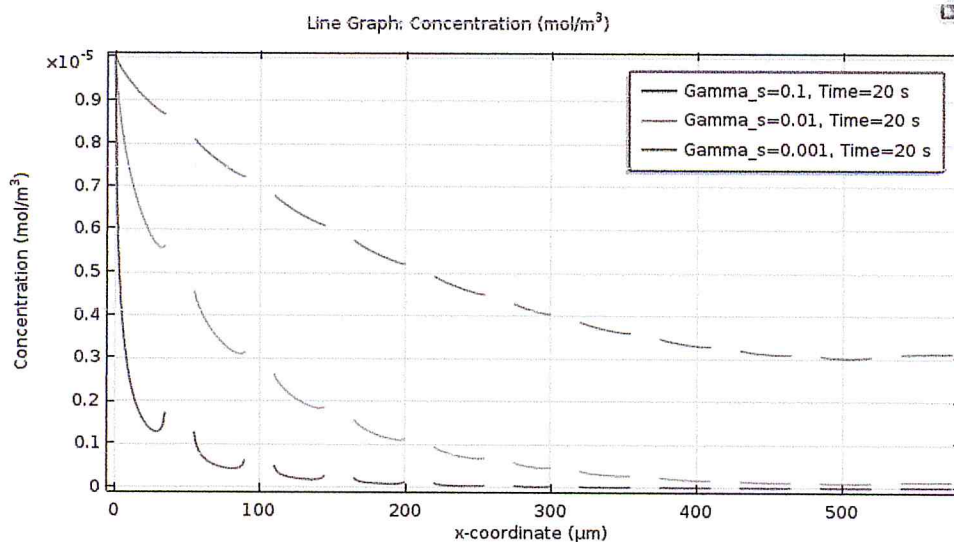


Figure II.18 : Profils de concentration de BSA dans la solution à différentes concentrations des sites d'adsorption pour un temps de 20s.



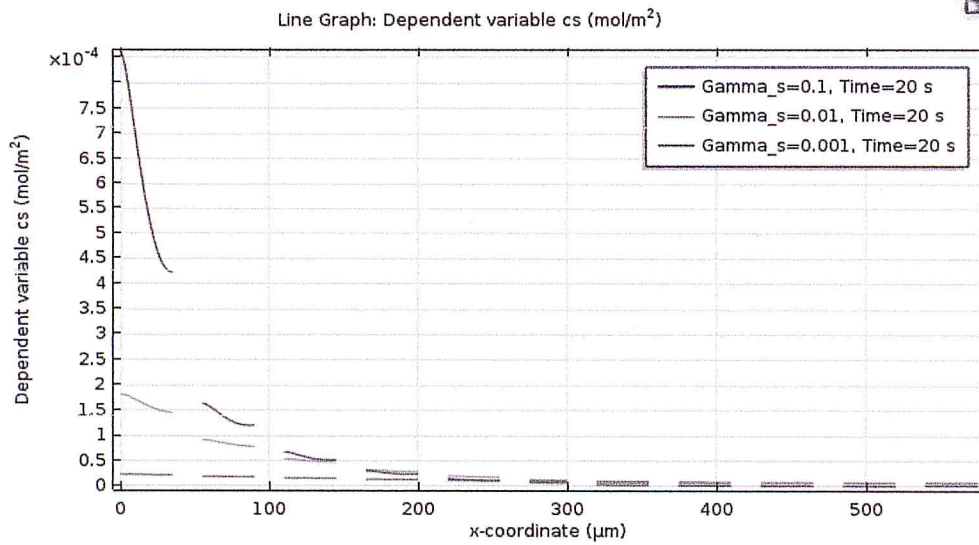


Figure II.19 : Profils de concentration de BSA dans l'interface liquide-solide à différentes concentrations des sites d'adsorption pour un temps de 20s.

#### II.5.2.5 Influence de l'épaisseur de l'électrolyte

Dans cette partie, nous mettons en évidence l'influence de l'épaisseur de l'électrolyte (la solution) sur l'adsorption de BSA sur l'électrode. Pour réaliser cette simulation, les différents microcanaux ont été comparés en faisant varier à chaque fois un seul paramètre géométrique qui est la hauteur du micro canal. La concentration de BSA, la concentration des sites d'adsorption et la vélocité ont été fixés. Les résultats sont illustrés dans les graphes et les figures (II.20 et II.21).

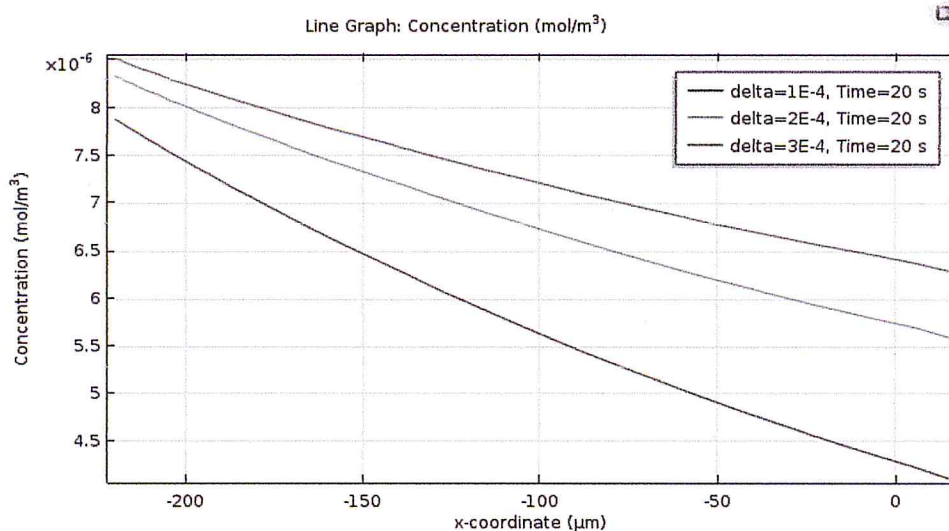


Figure II.20 : Profils de concentration de BSA dans la solution à différentes hauteurs du micro canal pour  $x$  compris entre  $(-250\mu\text{m} < x < 50\mu\text{m})$  ;  $t=20\text{s}$ .



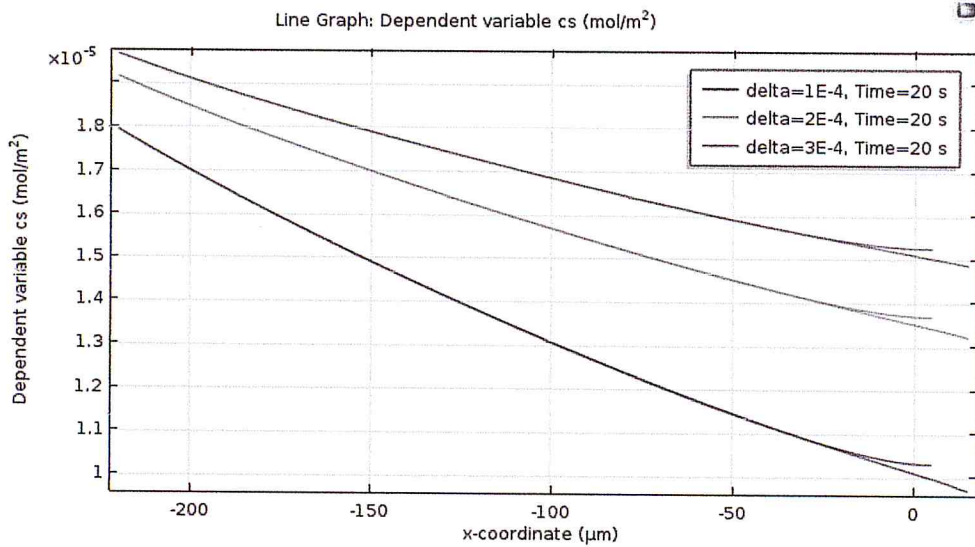


Figure II.21 : Profils de concentration de BSA dans l'interface liquide-solide à différentes hauteur du micro canal pour  $x$  compris entre  $(-250\mu\text{m} < x < 50\mu\text{m})$  ;  $t=20\text{s}$ ).

D'après les courbes on peut tirer les interprétations suivantes :

- La concentration de BSA dans la solution et la concentration de BSA à l'interface liquide-solide augmentent quand l'épaisseur de l'électrolyte devient épaisse.

Toutes ces observations concernant l'effet de l'épaisseur de l'électrolyte sur l'adsorption de BSA nous mènent aux considérations suivantes :

- ✓ Le taux de conversion est plus élevé dans le micro canal le plus haut.
- ✓ En effet, pour un débit donné, le volume de canal 1 d'hauteur égale à  $3 \cdot 10^{-4} \mu\text{m}$  est plus grand que celui des canaux 2 et 3 d'hauteurs égales à  $2 \cdot 10^{-4}$  et  $10^{-4} \mu\text{m}$ , et par conséquent le nombre de molécules de BSA dans la solution du canal 1 est plus grand que celui de canaux 2 et 3.
- ✓ L'adsorption des molécules se déroule par des vitesses cinétiques de diffusion, ce qui implique que la concentration de BSA dans la solution est limitée par le phénomène de diffusion des molécules de BSA vers l'électrode. Ce qui montre que le phénomène est régi par la diffusion.

Nous pouvons représenter la concentration de BSA dans la solution et dans l'interface liquide-solide dans les cartographies (II.22 et II.23). C'est-à-dire les deux concentrations à la fois. Cette représentation est plus explicite car elle nous permet de d'élucider clairement comment s'adsorbe le BSA sur l'électrode. D'une manière générale, plus on augmente la hauteur de micro canal, plus la concentration ( $C_s$ ) de BSA à la interface liquide solide croît.

D'après les résultats obtenus sur les cartographies, nous remarquons que :

La concentration ( $C_s$ ) de BSA à l'interface liquide-solide pour les différentes hauteurs de micro canal ( $10^{-4}$ ,  $2.10^{-4}$  et  $3.10^{-4}$  mol/m<sup>3</sup>) varie dans les intervalles [ $0,6.10^{-5}$  mol/m<sup>3</sup>,  $1,7.10^{-5}$  mol/m<sup>3</sup>], [ $0,9.10^{-5}$  mol/m<sup>3</sup>,  $1,7.10^{-5}$  mol/m<sup>3</sup>] et [ $1.10^{-5}$  mol/m<sup>3</sup>,  $1,7.10^{-5}$  mol/m<sup>3</sup>] respectivement.

- Variation des hauteurs du micro canal dans les intervalles [ $0,3.10^{-5}$  mol/m<sup>3</sup>,  $1.10^{-5}$  mol/m<sup>3</sup>], [ $0,5.10^{-5}$  mol/m<sup>3</sup>,  $1.10^{-5}$  mol/m<sup>3</sup>] et [ $0,55.10^{-5}$  mol/m<sup>3</sup>,  $1.10^{-5}$  mol/m<sup>3</sup>] respectivement.





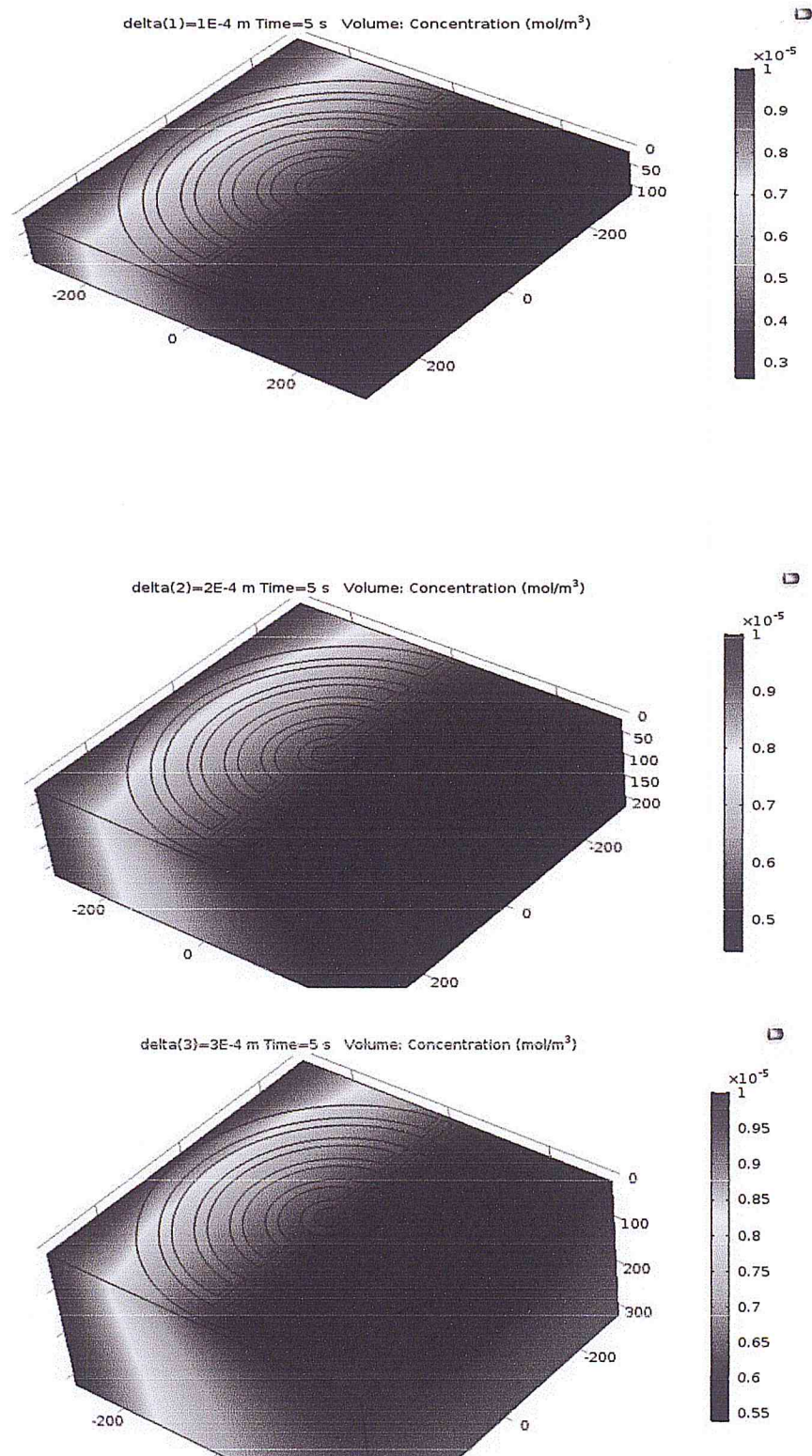


Figure II.22 : Cartographies de la concentration de BSA dans la solution à différentes hauteur du micro canal.

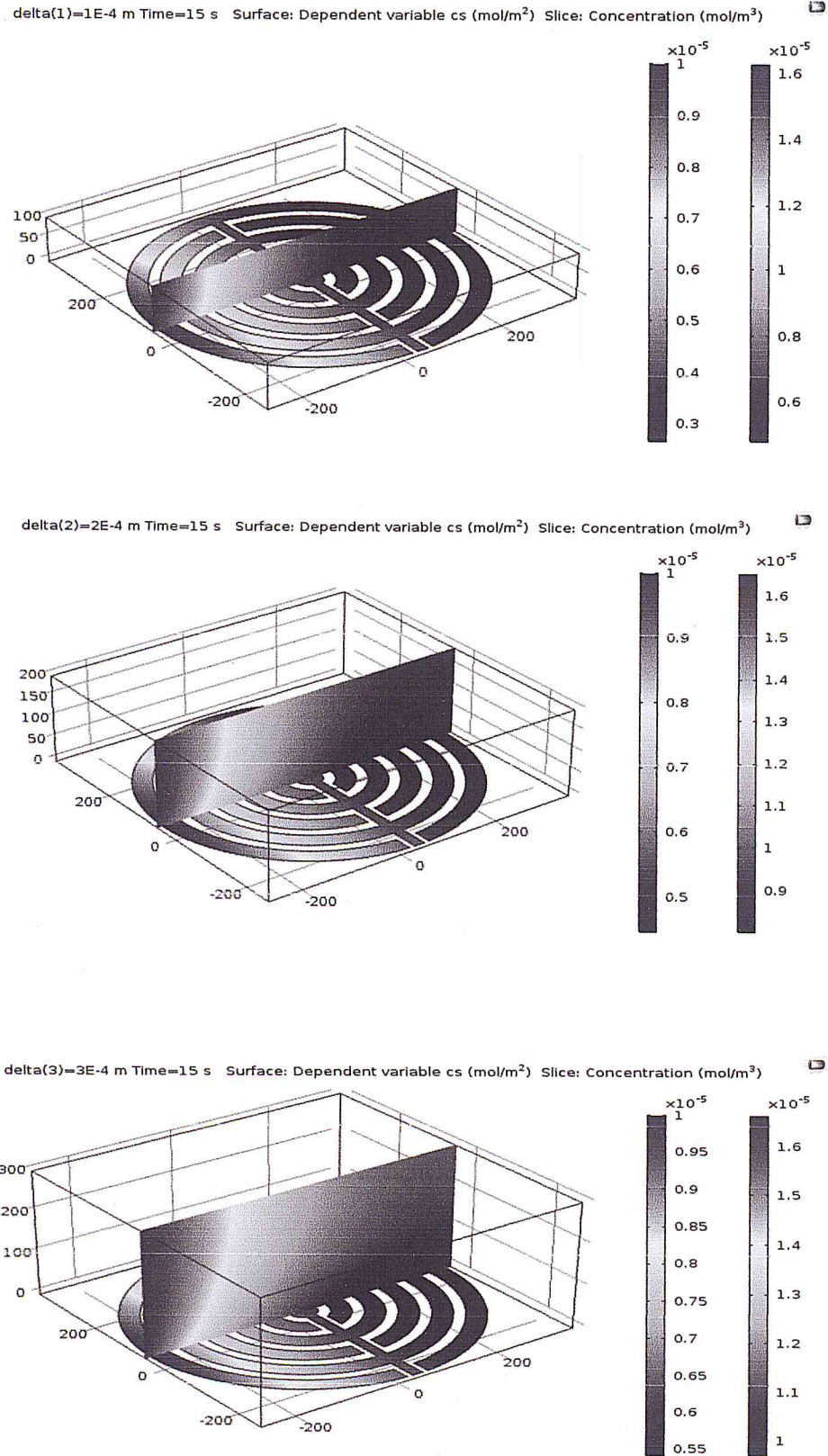


Figure II.23 : Cartographies de la concentration de BSA dans la solution et dans l'interface liquide- solide à différentes hauteurs du micro canal.

### **II.5.2.6 Adsorption de BSA sur une électrode interdigitée de forme rectangulaire**

Dans ce paragraphe nous avons étudié l'adsorption de BSA sur une électrode interdigitée de forme rectangulaire afin de mettre en évidence l'influence de la géométrie de l'électrode sur la cinétique de l'adsorption. Nous avons simulé les effets du temps, la concentration initiale de BSA, la concentration des sites d'adsorption et l'épaisseur de l'électrolyte.

Les résultats sont regroupés dans les figures (II.24, II.25, II.26, II.27, II.28, II.29, II.30).

D'après les cartographies (Figure II.24) on remarque que :

- La concentration de BSA à l'interface liquide- solide maximale est de l'ordre de  $10^{-10}$  mol/m<sup>3</sup> par contre pour la première électrode la concentration maximale est de l'ordre de  $10^{-5}$  mol/m<sup>3</sup>. D'où la concentration de BSA à l'interface liquide-solide pour cette électrode est relativement faible comparativement à la première électrode (électrode interdigitée de forme circulaire)
- La concentration de BSA dans la solution est élevée (la zone rouge est grande) par rapport à la première électrode, ce qui montre que l'adsorption est faible.

Il apparait clairement à partir des courbes (Figure II.25, II.26, II.27, II.28, II.29, II.30) que la concentration initiale de BSA, la concentration des sites d'adsorption et l'épaisseur de l'électrolyte ont un effet très prononcé sur la concentration de BSA dans la solution, la concentration de BSA à l'interface solide-liquide et la cinétique d'adsorption.



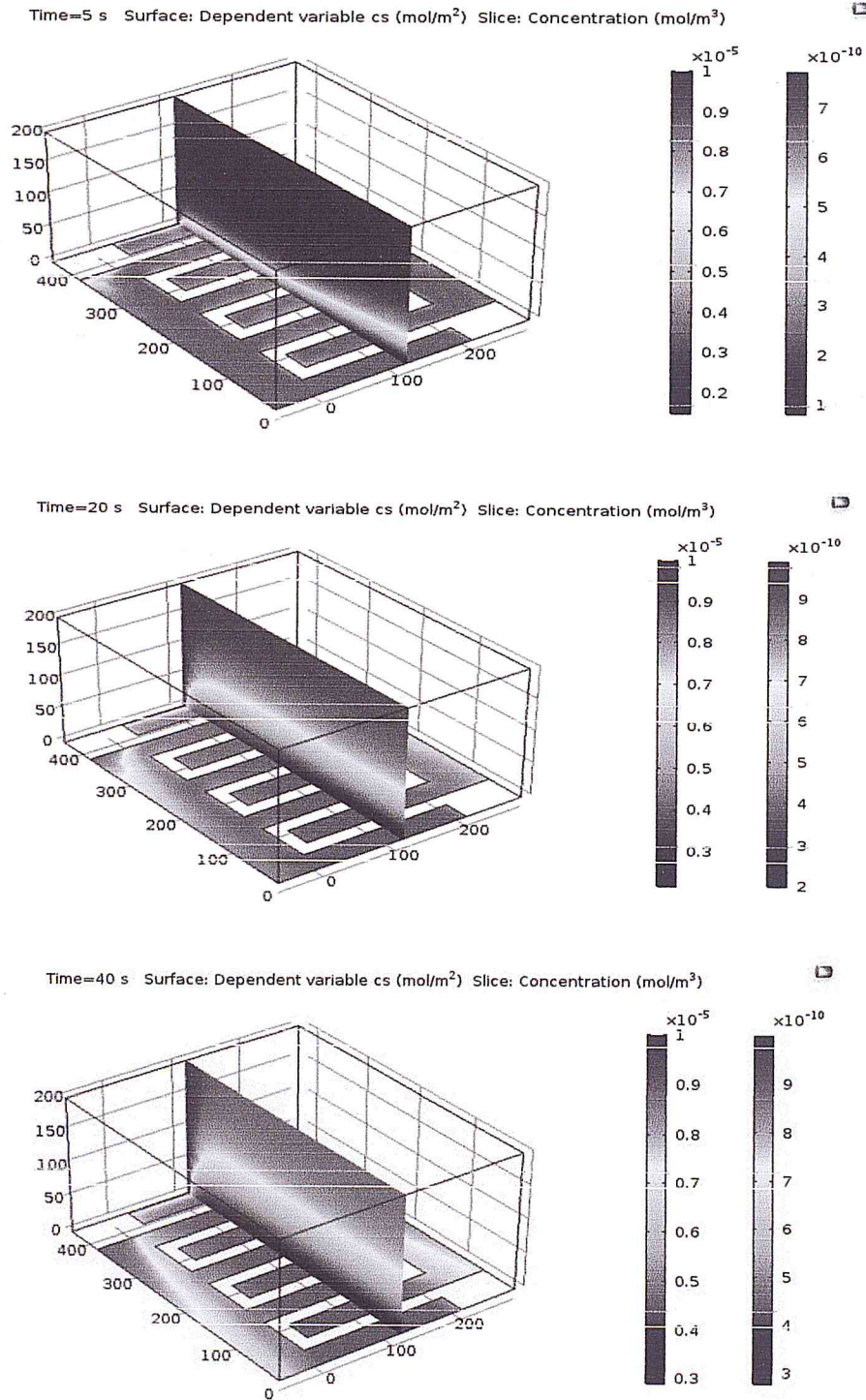


Figure II.24 : Cartographies de la concentration de BSA dans la solution et dans l'interface liquide-solide pour différents temps.

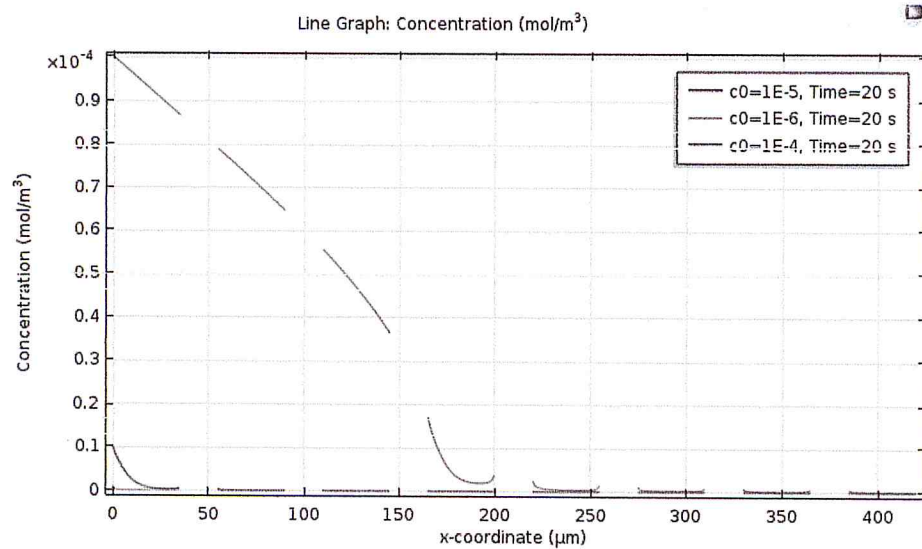


Figure II.25 : Profils de concentration de BSA dans la solution pour différentes concentrations initiales pour un temps de 20s.

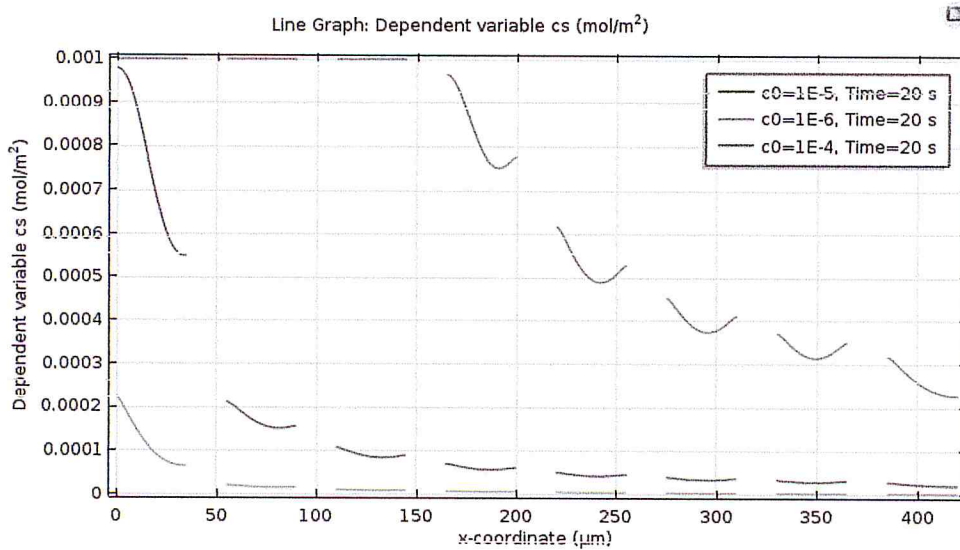


Figure II.26 : Profils de concentration de BSA dans l'interface liquide solide pour différentes concentrations initiales pour un temps de 20s.

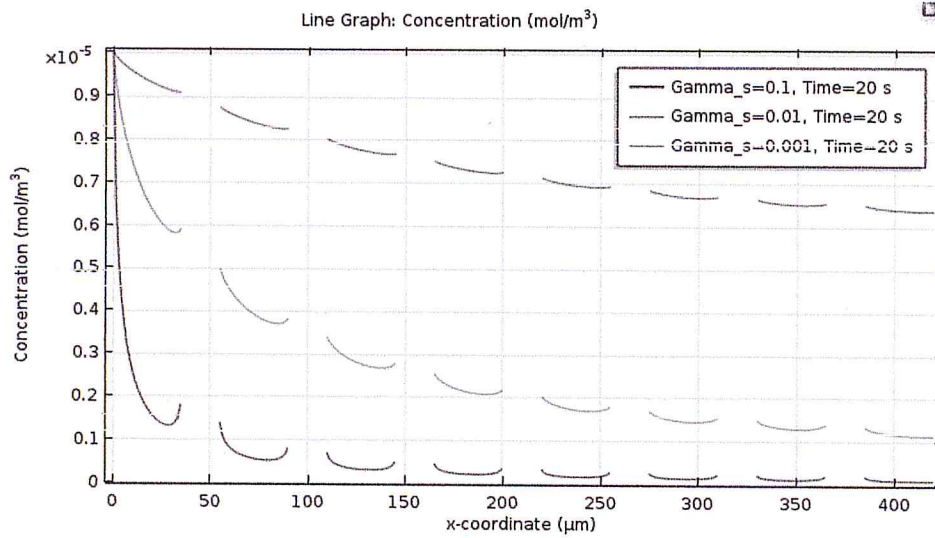


Figure II.27 : Profils de concentration de BSA dans la solution pour différentes concentrations des sites d'adsorption ( $t=20$ s).

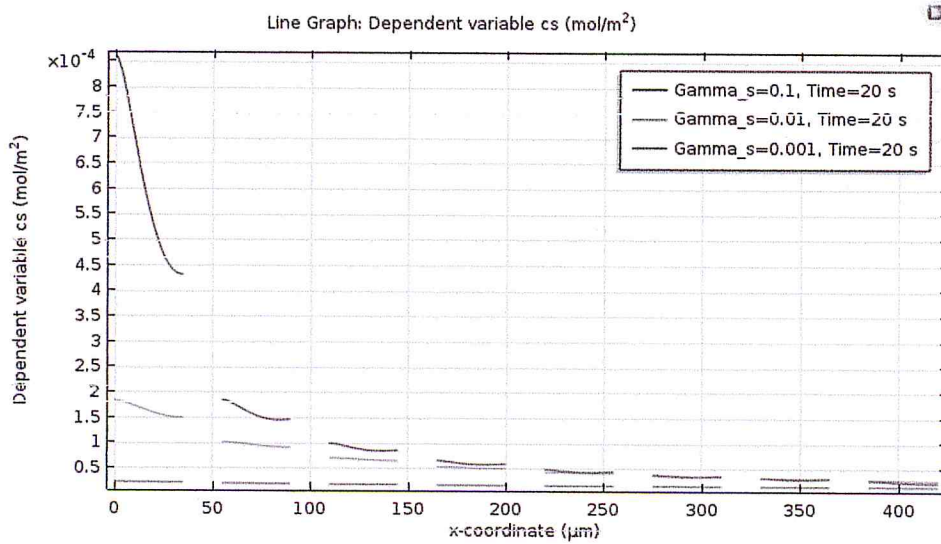


Figure II.28 : Profils de concentration de BSA dans l'interface liquide solide pour différentes concentrations des sites d'adsorption ( $t=20$ s).



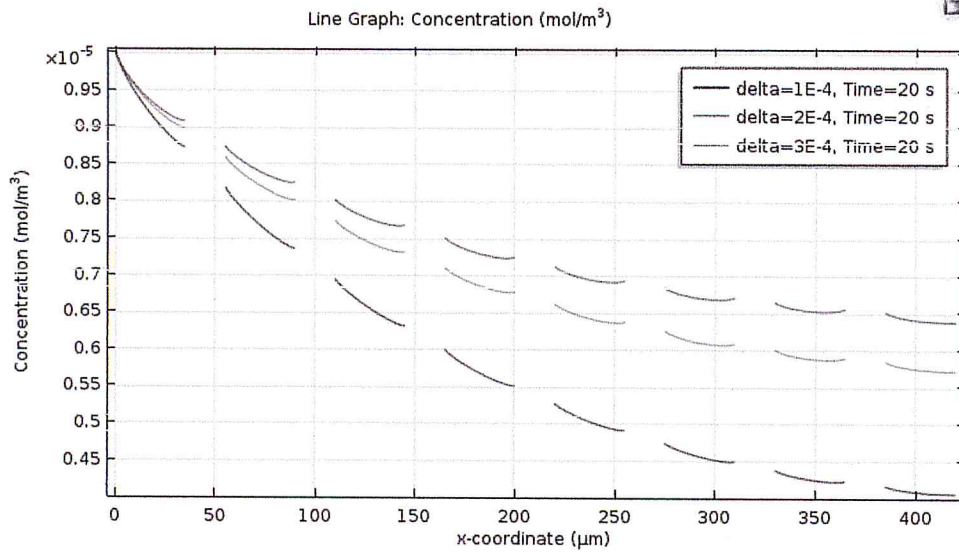


Figure II.29 : Profils de concentration de BSA dans la solution pour différentes hauteurs du micro canal pour un temps de 20s.

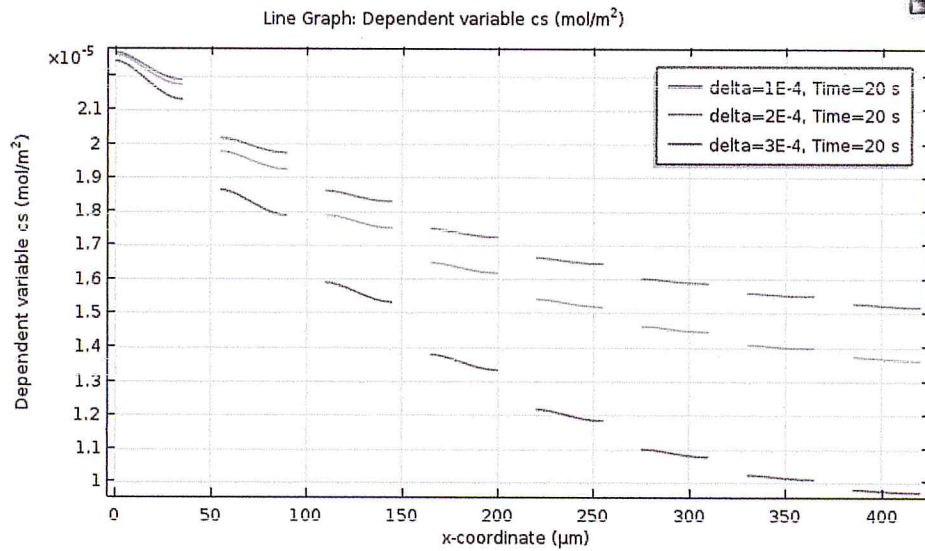


Figure II.30 : Profils de concentration de BSA dans l'interface liquide- solide pour différentes hauteurs du micro canal (t=20s).

On constate aussi sur les mêmes courbes que :

- Pour  $x$  compris entre 250 et 400 $\mu\text{m}$  les concentrations de BSA dans la solution sont identiques pour les trois concentrations initiales ( $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  et  $10^{-4}$  mol/m<sup>3</sup>).
- La concentration minimale de BSA dans la solution est obtenue pour la concentration des sites d'adsorption est égale à 0,001 mol/m<sup>3</sup>
- Les concentrations maximales de BSA dans la solution et à l'interface solide-liquide sont obtenues pour une épaisseur d'électrolyte est égale à  $3.10^{-4}$   $\mu\text{m}$

D'après ces résultats on peut dire que la géométrie et la surface de l'électrode jouent un rôle très important et très favorable sur le mécanisme et la cinétique de l'adsorption de BSA.

### II.5.3 Etude de l'adsorption de l'ADN

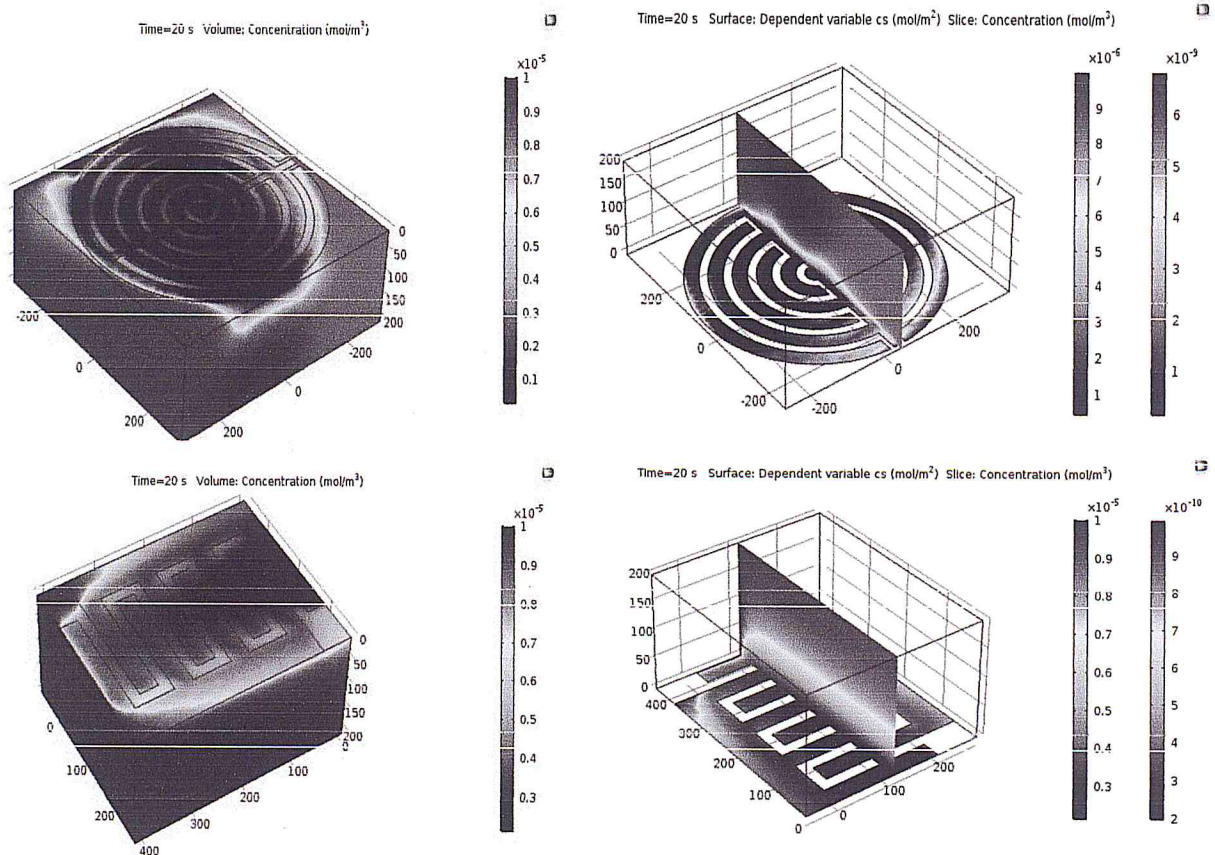


Figure II.31 : Cartographies de la concentration de l'ADN dans la solution et dans l'interface liquide-solide.

Afin de corroborer et d'assimiler le mécanisme et la cinétique d'adsorption des biomolécules sur les surfaces des électrodes interdigitées en or fonctionnalisées par des molécules organiques, nous avons étudié aussi l'adsorption des séquences d'ADN de 21 oligonucléotide sur les deux électrodes (circulaire et rectangulaire). Les cartographies représentant l'adsorption des séquences d'ADN sur les deux électrodes sont illustrées sur la figure (II.31).

D'après ces résultats on constate que :

- La concentration des séquences d'ADN dans la solution est très élevée pour les deux électrodes.
- Pour les deux électrodes la concentration des séquences d'ADN à l'interface liquide solide est très faible.

Nous avons essayé de comparer l'adsorption de l'ADN et BSA pour les deux électrodes interdigitées circulaire et rectangulaire, il apparait d'après les cartographies (Figure II.32) que :

- l'adsorption de BSA est plus rapide (une saturation rapide des sites d'adsorption disponibles) que celle des séquences d'ADN.

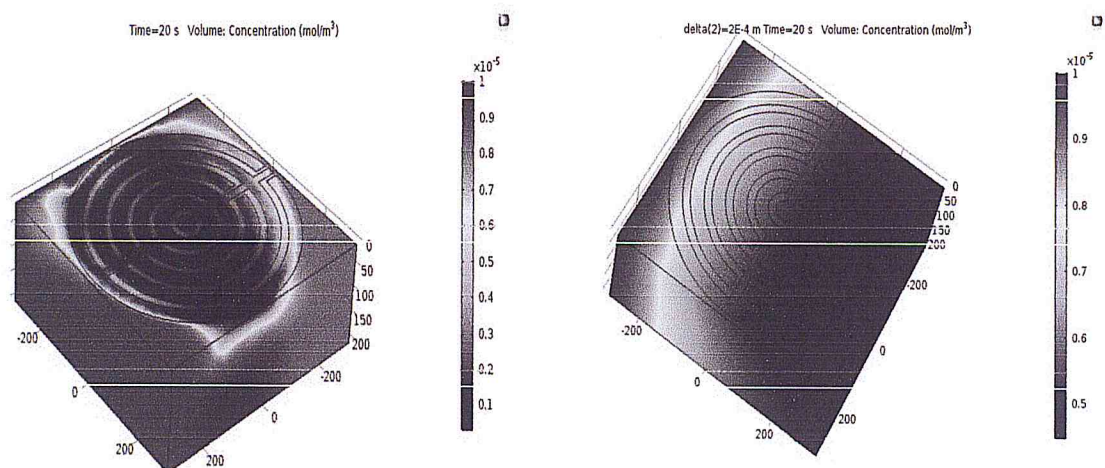


Figure II.32 : Cartographies de la concentration de (a) ADN dans la solution, (b) BSA dans la solution.



## II.6.CONCLUSION

Le travail de ce chapitre a pour objectif de simuler l'adsorption des biomolécule ADN et BSA par la méthode d'élément fini. L'adsorption est réalisée sur des surfaces en or fonctionnalisées par des monocouches auto-assemblées (SAM) qui présentent une fonction thiol pour l'accrochage sur la surface en or et à l'autre extrémité une fonction azoture.

Nous avons étudié l'influence des différents paramètres à savoir : le temps, la concentration initiale, la vélocité maximale, la concentration des sites d'adsorption, la hauteur du micro canal et la géométrie des électrodes sur la cinétique et le mécanisme d'adsorption.

Les résultats que nous avons trouvé montre que la concentration des biomolécules dans la solution et à l'interface liquide-solide augmentent avec l'évolution de la concentration initiale, la concentration des sites d'adsorption et l'épaisseur de l'électrolyte.

Nous avons montré aussi que :

- La géométrie et la surface de l'électrode jouent un rôle très important sur le mécanisme et la cinétique d'adsorption de BSA.
- L'adsorption de BSA est plus rapide (une saturation rapide des sites d'adsorption disponibles) que celle des séquences d'ADN.

# **CONCLUSION GENERALE**

## CONCLUSION GENERALE

L'intérêt des biocapteurs électrochimiques ne cesse de croître, stimulé par leurs nombreuses applications. Grace à leurs rapidités, leurs simplicités, leurs petites dimensions et leurs faibles coûts par rapport aux techniques lourdes telles que les analyses biologiques et biochimiques.

Dans le cas où le biocapteur est intégré dans un canal microfluidique, on a besoin d'une adsorption spécifique des biomolécules particulières pour obtenir une surface bien caractérisée qui est réactive envers des espèces biologiques spécifiques.

L'étude principale de ce travail porte sur la simulation par la méthode d'élément fini de l'adsorption des biomolécules (ADN et BSA) sur la surface des microélectrodes inter digitées en or fonctionnalisées par des molécules organiques. On utilise le logiciel de simulation COMSOL Mutiphysics 5.2.

Nous avons étudié l'influence des différents paramètres à savoir : le temps, la concentration initiale, la vitesse maximale, la concentration des sites d'adsorption, la hauteur du micro canal et la géométrie des électrodes sur la cinétique et le mécanisme d'adsorption.

Les résultats obtenus montrent que la concentration des biomolécules dans la solution et à l'interface liquide-solide augmentent avec l'évolution de la concentration initiale, la concentration des sites d'adsorption et l'épaisseur de l'électrolyte.

Nous avons montré aussi que :

- La géométrie et la surface de l'électrode jouent un rôle très important sur le mécanisme et la cinétique d'adsorption de BSA.
- L'adsorption de BSA est plus rapide (une saturation rapide des sites d'adsorption disponibles) que celle des séquences d'ADN.

En perspective, nous voulons simuler l'adsorption d'autres biomolécules sous l'action d'un champ électrique avec d'autres électrodes à géométries et à surfaces différentes.



**REFERECES**  
**BIBLIOGRAPHIQUES**

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1]. <https://fr.wikipedia.org/wiki/Prot%C3%A9ine>
- [2].MEKHALIF Tahar, synthèse et caractérisation de résines fonctionnalisées et étude de leur affinité vis-à-vis de l'albumine humaine « hsa », thèse de doctorat, Université Ferhat Abbas Sétif 1, 2011.
- [3]. Professeur Michel SEVE Chapitre 4 Les Protéines : définitions et Structures, Université Joseph Fourier de Grenoble, 2011-2012.
- [4].LARTUNDO-ROJAS Luis, influence de l'adsorption de protéine (BSA) sur le comportement électrochimique et la composition de surface d'un alliage Fe-17 Cr en solution aqueuse, Thèse de doctorat, l'université pierre et marie curie (paris VI), 13 juillet 2007.
- [5]. [http://www.doctissimo.fr/html/sante/analyses/ana\\_proteines04.htm](http://www.doctissimo.fr/html/sante/analyses/ana_proteines04.htm)
- [6].YANN-VAÏ le bihan, Étude structurale et fonctionnelle de la reconnaissance et de la métabolisation de lésions Puriques et pyrimidiques dans l'ADN par la FormamidopyrimidineADN glycosylase. École doctorale sciences et technologies laboratoire centre de biophysique moléculaire, 11 Mai 2009.
- [7].DOUARCH Carine, Étude de l'adsorption de l'ADN simple brin et double brinaux interfaces,Thèse de doctorat, Université de Lille 1 – USTL, 12 mars 2007.
- [8].SILVIA Fabiano, application à la réalisation de biocapteurs ampérométriques pour le dosage du glucose et des composés phénolique, thèse de doctorat, l'université Claud Bernard Lyon 1, 23 mai 2002.
- [9].HADDACH Fatima Haddach, Conception de biocapteurs à ADN photoélectrochimiques et impédancemétriques à base de polymères électrogénérés thèse de doctorat, l'université Grenoble Alpes, 08 décembre 2015.
- [10]. KENGNE - MOMO Rosine Pélégie, Mise en œuvre des surfaces spécifiques en vue de la détection de bactéries pathogènes par diffusion Raman, thèse de doctorat, université de yaounde i - université du maine, 06 mai 2011.
- [11].CHOUTEAU Céline, Développement d'un biocapteur conductimétrique bi-enzymatique à cellules algales, thèse de doctorat, Ecole Doctorale : Chimie de Lyon (Chimie, Procédés, Environnement), 15 novembre 2004.
- [12].HAFAID Imene, Etudes physico-chimique de capteurs à base de nanomatériaux pour des applications biomédicales, thèse de doctorat, université d'INSA Lyon, 26 juin 2009.
- [13].MANAI Raafa, Réseaux de biocapteurs de type MEMS en diamant pour la reconnaissance d'odeurs, thèse de doctorat, l'université Claud Bernard Lyon 1, 09 décembre 2014.
- [14].ZOUGAR Saida, élaboration de capteurs à membranes indicatrices d'ions –application à la détection des ions  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$  et  $\text{Pb}^{2+}$  - thèse de doctorat, université badji mokhtarannaba, 2011.

[15].BAALI souad, immobilisation d'enzymes dans des membranes organiques en vue d'élaborer des capteurs biologiques pour la détection d'un polluant organique : le diclofopméthyle, thèse de doctorat, université badji mokhtar-annaba, 2014.

[16].<http://www.futura-sciences.com/sciences/definitions/chimie-adsorption-3468/>

[17].<https://fr.wikipedia.org/wiki/Adsorption>

[18].NOURI loubna, Elimination des ions métalliques à partir de solution aqueuse par le son de ble : influence de l'irradiation ultrasonore /mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de magister, université badji mokhtar- Annaba, 30 juin 2017

[19].CLAUDEL Julien, Spectroscopie d'impédance électrique par biocapteur à microélectrodes : application à la cytométrie de flux de cellules sanguines, thèse de doctorat, université de Lorraine, 09 décembre 2013.

[20].FAIROUZ DEKKICHE, Etude de l'adsorption des protéines à l'interface solide/liquide et des propriétés des membranes phospholipidiques supportées, université Mentouri Constantine, 2011

[21].Laura E. Valenti a, Pablo A. Fiorito b, Carlos D. García, c, Carla, E. Giacomelli  
The adsorption–desorption process of bovine serum albumin on carbon nanotubes. *Journal of Colloid and Interface Science* 307 (2007) 349–356.

[22].Peng Du, Jian Zhao, Hamid Mashayekhi, and Baoshan Xing, Adsorption of Bovine Serum Albumin and Lysozyme on Functionalized Carbon Nanotubes. *J. Phys. Chem. C* 2014, 118, 22249–22257.

[23].Carine Douarche, Étude de l'adsorption de l'ADN simple brin et double brin aux interfaces, Université de Lille 1 - USTL Université de Lille 1 – USTL. 12 mars 2007

[24].[https://fr.wikipedia.org/wiki/Botrytis\\_cinerea](https://fr.wikipedia.org/wiki/Botrytis_cinerea)



# **ANNEXES**

## ANNEXE A

### ETAPES DE SIMULATION PAR COMSOL DE L'ADSORPTION D' ADN ET BSA

From the **File** menu, choose **New**.

#### NEW

1) In the **New** window, click **Model Wizard**.

#### MODEL WIZARD

1) In the **Model Wizard** window, click **3D**.

2) In the **Select physics** tree, select **Chemical Species Transport**>**Transport of Diluted**

**Species (tds)**.

3) Click **Add**.

4) In the **Select physics** tree, select **Mathematics**>**PDE Interfaces**>**Lower Dimensions**>**General Form Boundary PDE (gb)**.

5) Click **Add**.

6) In the **Dependent variables** table, enter the following settings:

cs
----

7) Click **Study**.

8) In the **Select study** tree, select **Preset Studies for Selected Physics Interfaces**>**Time**

**Dependent**.

9) Click **Done**.

#### GLOBAL DEFINITIONS

A set of model parameters is available in a text file.

#### Parameters

1) On the **Home** toolbar, click **Parameters**.

Name	Expression	Value	Description
c0	1e-8[M]	1E-5	Initial concentration
k_des	1e-9[1/s]	1E-9	Backword rate constant
Gamma_s	1e-9[mol/(L*mm)]	0.001	Active site concentration
Ds	1e-11[m^2/s]	1E-11	Surface diffusivity
D	6e-5[m^2/s]	6E-5	Maximum velocity
v_max	0.05[mm/s]	5E-5	Maximum velocity
Delta	100[μm]	1E-4	Channel width
k_ads	1.2e5[m^3/(mol*s)]	1.2E5	Forward rate constante

## GEOMETRY 1

- 1) In the **Model Builder** window, under **Component 1** (comp1) click **Geometry 1**.
- 2) In the **Settings** window for Geometry, locate the **Units** section.
- 3) From the **Length unit** list, choose  $\mu\text{m}$ .

### Work Plane 1 (wp1)

- 1) On the **Geometry** toolbar, click Work Plane 1

### Rectangle 1 (R1)

- 1) On the **work plane** toolbar, click **rectangle**.
- 2) In the **Settings** window for Rectangle, locate the **Size** section.
- 3) In the **Width** text field, type 200.
- 4) In the **Height** text field, type 35.

### Rectangle 2 (R2)

- 1) On the **work plane** toolbar, click **rectangle**.
- 2) In the **Settings** window for Rectangle, locate the **Size** section.
- 3) In the **Width** text field, type 200.
- 4) In the **Height** text field, type 35.
- 5) Locate the **Position** section. In the **xw** text field, type 20.
- 6) Locate the **Position** section. In the **yw** text field, type 55.

### Rectangle 3 (R3)

- 1) On the **work plane** toolbar, click **rectangle**.
- 2) In the **Settings** window for Rectangle, locate the **Size** section.
- 3) In the **Width** text field, type 200.
- 4) In the **Height** text field, type 35.
- 5) Locate the **Position** section. In the **xw** text field, type 0.
- 6) Locate the **Position** section. In the **yw** text field, type 110.

### Rectangle 4 (R4)

- 1) On the **work plane** toolbar, click **rectangle**.
- 2) In the **Settings** window for Rectangle, locate the **Size** section.
- 3) In the **Width** text field, type 200.
- 4) In the **Height** text field, type 35.
- 5) Locate the **Position** section. In the **xw** text field, type 20.
- 6) Locate the **Position** section. In the **yw** text field, type 165.

### Rectangle 5 (R5)

- 1) On the **work plane** toolbar, click **rectangle**.



- 2) In the **Settings** window for Rectangle, locate the **Size** section.
- 3) In the **Width** text field, type 200.
- 4) In the **Height** text field, type 35.
- 5) Locate the **Position** section. In the **xw** text field, type 0.
- 6) Locate the **Position** section. In the **yw** text field, type 220.

#### **Rectangle 6 (R6)**

- 1) On the **work plane** toolbar, click **rectangle**.
- 2) In the **Settings** window for Rectangle, locate the **Size** section.
- 3) In the **Width** text field, type 200.
- 4) In the **Height** text field, type 35.
- 5) Locate the **Position** section. In the **xw** text field, type 20.
- 6) Locate the **Position** section. In the **yw** text field, type 275.

#### **Rectangle 7 (R7)**

- 1) On the **work plane** toolbar, click **rectangle**.
- 2) In the **Settings** window for Rectangle, locate the **Size** section.
- 3) In the **Width** text field, type 200.
- 4) In the **Height** text field, type 35.
- 5) Locate the **Position** section. In the **xw** text field, type 0.
- 6) Locate the **Position** section. In the **yw** text field, type 330.

#### **Rectangle 8 (R8)**

- 1) On the **work plane** toolbar, click **rectangle**.
- 2) In the **Settings** window for Rectangle, locate the **Size** section.
- 3) In the **Width** text field, type 200.
- 4) In the **Height** text field, type 35.
- 5) Locate the **Position** section. In the **xw** text field, type 20.
- 6) Locate the **Position** section. In the **yw** text field, type 385.

#### **Rectangle 9 (R9)**

- 1) On the **work plane** toolbar, click **rectangle**.
- 2) In the **Settings** window for Rectangle, locate the **Size** section.
- 3) In the **Width** text field, type 60.
- 4) In the **Height** text field, type 365.
- 5) Locate the **Position** section. In the **xw** text field, type -60.
- 6) Locate the **Position** section. In the **yw** text field, type 0.

#### **Rectangle 10 (R10)**

- 1) On the **work plane** toolbar, click **rectangle**.
- 2) In the **Settings** window for Rectangle, locate the **Size** section.
- 3) In the **Width** text field, type 60.
- 4) In the **Height** text field, type 365.
- 5) Locate the **Position** section. In the **xw** text field, type 220.
- 6) Locate the **Position** section. In the **yw** text field, type 55.

#### **Union 1 (uni1)**

- 1) On the **work plane** toolbar, click **Booleans and partitions** and choose **union**.
- 2) In the **settings** window for union, locate **union** section.
- 3) Clear **keep input objects**.
- 4) On **input objects** selection select **r1, r3, r5, r7** and **r9**.
- 5) Click **build all object** button.

#### **Union 2 (uni2)**

- 1) On the **work plane** toolbar, click **Booleans and partitions** and choose **union**.
- 2) In the **settings** window for union, locate **union** section.
- 3) Clear **keep input objects**.
- 4) On **input objects** selection select **r2, r4, r6, r8** and **r10**.
- 5) Click **build all object** button.

#### **Block 1 (blk1)**

- 1) Right click geometry 1, click **block**.
- 2) In the **settings** window for block, **width** text field 340.
- 3) In the **settings** window for block, **depth** text field 420.
- 4) In the **settings** window for block, **height** text field delta

### **TRANSPORT OF DILUTED SPECIES (TDS)**

#### **Transport Properties 1**

- 1) In the **Model Builder** window, under **Component 1 (comp1)>Transport of Diluted Species (tds)** click **Transport Properties 1**.
- 2) In the **Settings** window for Transport Properties, locate the **Diffusion** section.
- 3) In the **Dc** text field, type D.

#### **Initial Values 1**

- 1) In the **Model Builder** window, under **Component 1 (comp1)>Transport of DilutedSpecies (tds)** click **Initial Values 1**.

- 2) In the **Settings** window for Initial Values, locate the **Initial Values** section.
- 3) In the c text field, type **c0**.

#### **Reactions 1**

- 1) On the **Physics** toolbar, click **Domains** and choose **Reactions**.
- 2) Select domain **1** only.

#### **Concentration 1**

- 1) On the **Physics** toolbar, click **Boundaries** and choose **Concentration**.
- 2) Select Boundary **1** only.
- 3) In the **Settings** window for Concentration, locate the **Concentration** section.
- 4) Select the **Species c** check box.
- 5) In the c0,c text field, type c0.

#### **Flux 1**

- 1) On the **Physics** toolbar, click **Boundaries** and choose **Flux**.
- 2) In the **Settings** window for Flux, locate the **Inward Flux** section.
- 3) Select the **Species c** check box.
- 4) In the N0,c text field, type -R.

#### **Outflow 1**

- 1) On the **Physics** toolbar, click **Boundaries** and choose **Outflow**.
- 2) Select Boundary **8** only.

#### **Symmetry 1**

- 1) On the **Physics** toolbar, click **Boundaries** and choose **Symmetry**.
- 2) Select Boundaries **5** only.

#### **GENERAL FORM BOUNDARY PDE (GB)**

- 1) In the Model **Builder** window, under **Component 1 (comp1)** click **General Form Boundary PDE (gb)**.
- 2) In the **Settings** window for General Form Boundary PDE, locate the **Boundary Selection** section.
- 3) Locate the **Units** section. Find the **Dependent variable quantity** subsection. From the list, choose **None**.
- 4) In the **Unit** text field, type mol/m<sup>2</sup>.
- 5) Find the **Source term quantity** subsection. In the **Unit** text field, type mol/(m<sup>2</sup>\*s).

#### **General Form PDE 1**

- 1) In the Model **Builder** window, under **Component 1 (comp1)**>**General Form BoundaryPDE (gb)**click **General Form PDE 1**.



2) In the **Settings** window for General Form PDE, click to expand the **Equation** section.

3) Locate the **Conservative Flux** section. Specify the  $\Gamma$  vector as

4) Locate the **Source Term** section. In the ftext field, type R

### **Mesh 1**

Free tetrahedral 1

In the **Model Builder** window, under **Component 1 (comp1)** right-click **Mesh 1** and choose **Free tetrahedral**.

### **Size 1**

1) In the **Model Builder** window, under **Component 1 (comp1)**>**Mesh 1** right-click **Free tetrahedral 1** and choose **Size**.

2) In the **Settings** window for Size, locate the **Geometric Entity Selection** section.

3) Locate the **Element Size** section. Click the **Custom** button.

4) Locate the **Element Size Parameters** section. Select the **Maximum element size** checkbox.

5) Locate the **Element Size Parameters** section. Select the **Minimum element size** checkbox.

6) Click **Built All** button

### **STUDY 1**

#### **Step 1: Time Dependent**

1) In the **Model Builder** window, expand the **Study 1** node, then click **Step 1: Time Dependent**.

2) In the **Settings** window for Time Dependent, locate the **Study Settings** section.

3) In the **Times** text field, type range (0,5,60).

4) On the **Home** toolbar, click **Compute**.

#### **1D Plot Group 3**

1) On the **Home** toolbar, click **Add Plot Group** and choose 1D Plot Group.

2) In the **Settings** window for 1D Plot Group, locate the **Data** section.

3) From the **Time selection** list, choose **From list**.

4) In the **Times (s)** list, select 60.

5) On the **1D Plot Group 3** toolbar, click **Line Graph**.

6) Select Boundary 14 only.

7) In the **Settings** window for Line Graph, click **Replace Expression** in the upper-right

corner of the **x-axis data** section. From the menu, choose **Geometry>Coordinate>x-x-coordinate**.

8 On the **1D Plot Group 3** toolbar, click **Plot**.

#### **1D Plot Group 4**

1 In the **Model Builder** window, right-click **1D Plot Group 3** and choose **Duplicate**.

2 In the **Settings** window for **1D Plot Group**, locate the **Data** section.

3 In the Times (s) list, choose 20.

4 In the **Model Builder** window, expand the **1D Plot Group 4** node, then click **Line Graph1**.

5 In the **Settings** window for Line Graph, click **Replace Expression** in the upper-right corner of the **y-axis data** section. From the menu, choose **Component 1>General FormBoundary PDE >cs - Dependent variable cs**.

6 On the **1D Plot Group 4** toolbar, click **Plot**.

## ANNEXE B

### DOUBLE COUCHE ELECTRIQUE [25]

Un métal peut être considéré comme un composé globalement neutre formé d'ions positifs occupant les positions du réseau cristallin et d'électrons mobiles. Malgré cette mobilité, les électrons ne peuvent s'éloigner à une trop grande distance du cristal car les noyaux positifs exercent une force d'attraction. Toutefois, en l'absence de milieu extérieur, la surface d'un matériau métallique peut être considérée comme la superposition de deux couches minces, l'une de charge positive située sous la surface du solide et l'autre, de charge négative, adjacente à la surface. Cette zone de séparation des charges constitue la double couche électrique (Figure A.1).

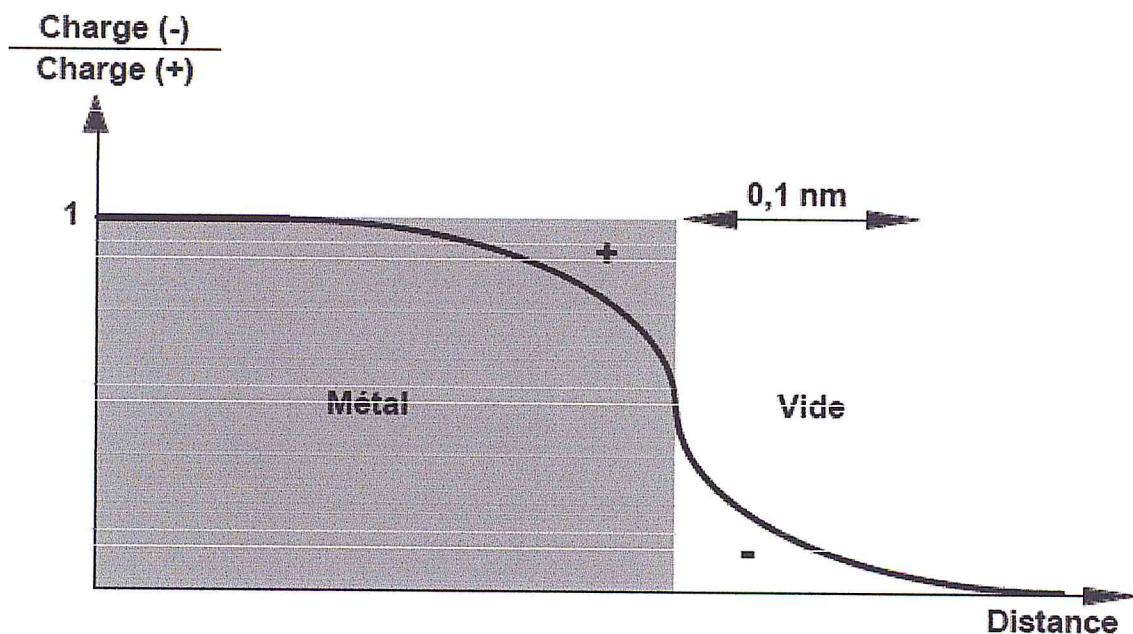


Figure A.1 : Double couche électrique à la surface d'un métal

A la surface du métal, une barrière de potentiel retient les électrons. Toutefois, l'effet tunnel leur confère une probabilité de traverser cette barrière et de se placer au voisinage immédiat de la surface. La distribution des électrons hors du solide dépend entre autres des propriétés électroniques du matériau et des caractéristiques de la barrière de potentiel.

Lorsqu'un métal est en contact avec un électrolyte, on observe aussi une séparation des charges électriques. Leur distribution à l'interface dépend alors en



plus de l'adsorption de molécules d'eau ou de cations hydratés ainsi que de l'adsorption chimique d'anions à la surface du métal. Suivant le potentiel éventuellement appliqué, la charge du métal peut être positive ou négative par rapport à celle de l'électrolyte. La composition de la double couche dépend donc aussi de ce potentiel, mais la condition de neutralité électrique est toujours respectée.

L'eau étant formée de molécules dipolaires, ces dernières vont, lors de leur adsorption à la surface d'un métal, s'orienter en fonction des charges présentes à la surface. Les cations dissous étant généralement hydratés, ils ne pourront pas approcher la surface à une distance inférieure au rayon de la sphère qu'ils forment avec leurs molécules d'eau associées (sphère d'hydratation). Les anions sont par contre rarement hydratés. Ils peuvent s'adsorber chimiquement à la surface du métal, même si cette dernière est de charge négative, et remplacer ainsi des molécules d'eau.

Un exemple de ce type d'interface est illustré à la Figure A.2.

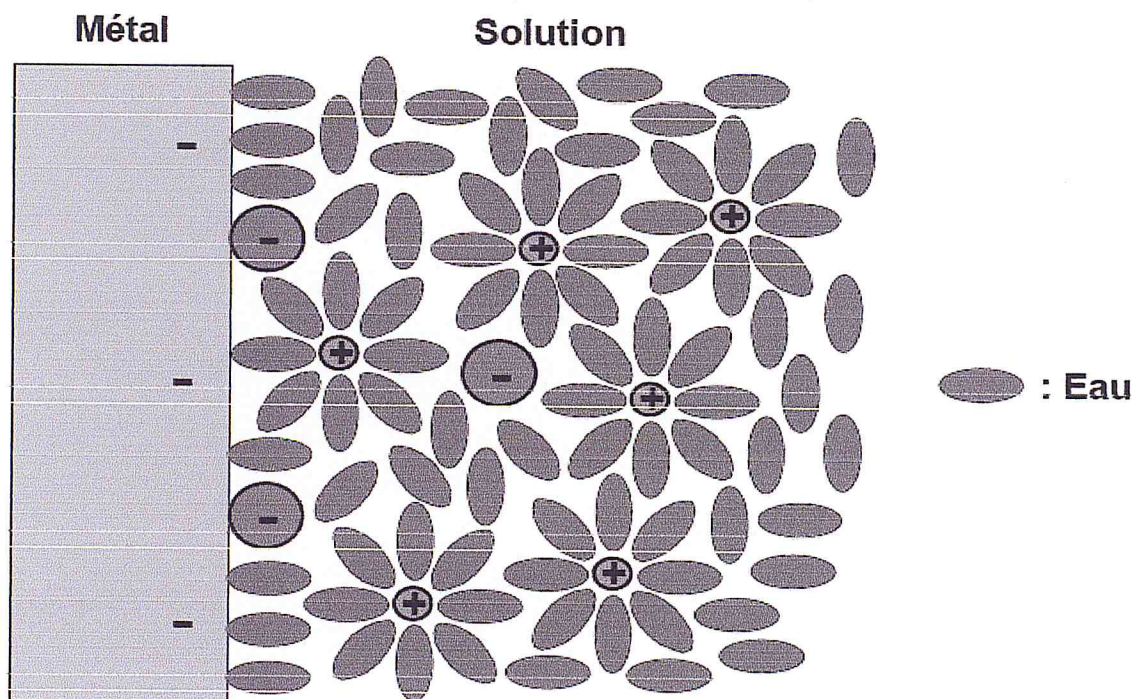


Figure A.2 : Double couche schématique à l'interface métal – solution

### Analogie électrique de la double couche :

La double couche correspond par définition à l'interface électrode - électrolyte où se produit une séparation des charges. Son comportement électrique peut être assimilé à celui d'une capacité  $C$  (appelée capacité de double couche) en parallèle avec une résistance  $R_t$  (appelée résistance de transfert) selon le schéma simple ci-dessous.

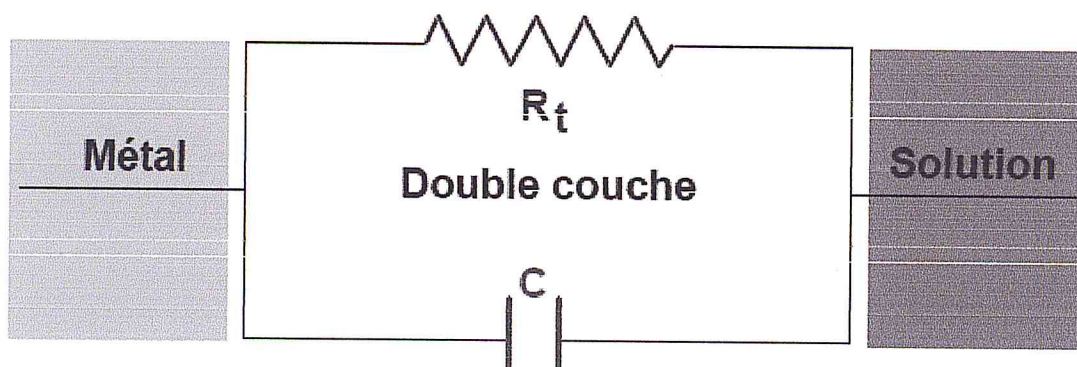


Figure A.3 : Circuit électrique équivalent à l'interface métal – solution

Le schéma de la Figure A.3 montre qu'un courant continu peut traverser l'interface

métal-solution. Ce courant, appelé courant de transfert de charge ou courant faradique traduit la réaction électrochimique qui se produit à l'interface, ainsi que nous le verrons au chapitre suivant.

Certains couples métal-solution (par exemple Hg / NaCl) ne contiennent toutefois pratiquement pas d'espèces réactives et permettent donc de faire varier la différence de potentiel aux bornes du circuit équivalent sans qu'aucun courant ne le traverse. Ce cas correspond à une valeur de  $R_t$  infinie dans le schéma de la Figure A.3 et le système qui possède cette propriété est une électrode idéalement polarisable, le mot électrode englobant ici le matériau et la solution.

### Modélisation de la double couche :

Plusieurs modèles théoriques ont été développés pour rendre compte des propriétés électriques de la double couche. Nous examinerons brièvement les modèles de Helmholtz, de Gouy-Chapman, et de Stern.

Modèle de Helmholtz :



Dans ce modèle, la double couche est assimilée à un condensateur plan dont la capacité  $C_H$  peut être calculée selon la relation :

$$C_H = \frac{dq}{d\Delta\Phi} = \frac{\varepsilon_{H_2O} \varepsilon_0}{L_H} \quad (1)$$

Où  $\varepsilon_{H_2O}$  représente le constant diélectrique de l'eau adsorbée,  $\varepsilon_0$  la constante de permittivité ( $F.m^{-1}$ ),  $q$  la densité de charges dans la double couche ( $C.m^{-2}$ ),  $\Delta\Phi$  la différence de potentiel (V) aux bornes de la double couche ( $\Delta\Phi = \Phi_m - \Phi_s$ ) et  $L_H$  son épaisseur (m), suivant le schéma de La Figure A.4.

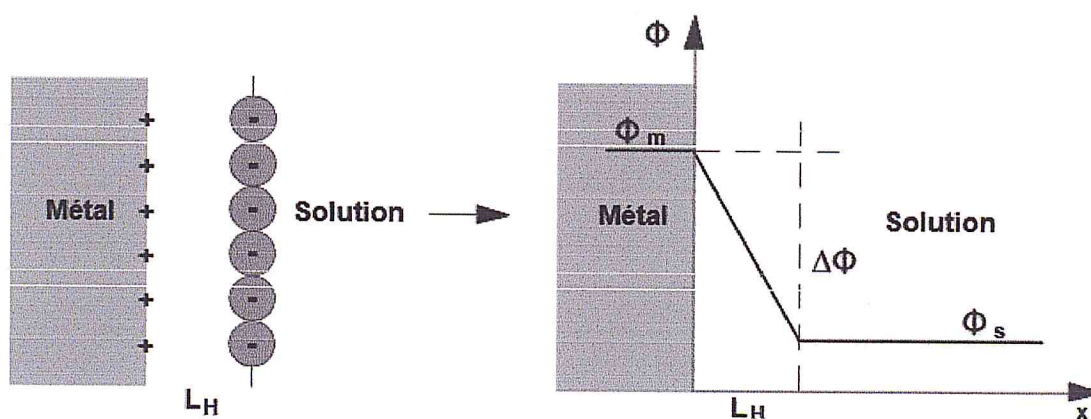


Figure A.4 : Modèle de Helmholtz de la double couche

D'après la relation [1], on voit que la différence de potentiel et la densité de charges étant liées, la capacité de double couche du modèle de Helmholtz ne dépend ni du potentiel ni des espèces en solution. Avec  $\varepsilon_0 \approx 9 \cdot 10^{-12} F.m^{-1}$ ,  $\varepsilon_{H_2O} \approx 78$  à  $25^\circ C$  et en admettant que  $L_H \approx 1 nm$ , On obtient pour  $C_H$  une valeur de  $0,7 F.m^{-2}$  soit  $70 \mu F.cm^{-2}$ .

#### Modèle de Gouy-Chapman :

Contrairement à ce que nous venons de voir dans le cadre du modèle de Helmholtz, la capacité de double couche peut dans certains cas dépendre de la concentration des ions dans l'électrolyte.

Ce comportement, particulièrement observé pour les solutions faiblement concentrées, résulte de l'agitation thermique des ions.

En effet, contrairement à la Figure A.4 ci-dessus, les ions en solution n'occupent pas une position fixe dans un plan.



Ils sont en réalité répartis selon une distribution statistique de Boltzmann dans une zone située à proximité de la surface du métal appelée double couche diffuse ou couche de Gouy-Chapman (Figure A.5). La largeur de cette zone LGC peut être de l'ordre de 30 nm, dépassant donc largement la double couche de Helmholtz.

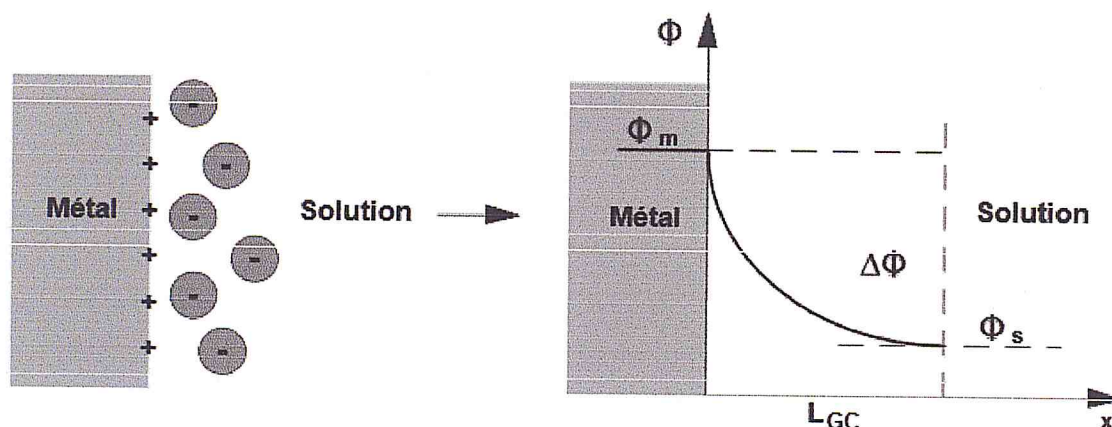


Figure A.5 : Modèle de Gouy-Chapman de la double couche

En considérant une répartition des ions selon une statistique de Boltzmann, on obtient pour la capacité de double couche :

$$C_{GC} = \left( \frac{\epsilon_{H_2O} \epsilon_0}{L_{GC}} \right) \cosh \left( \frac{zF\Delta\Phi}{2RT} \right) \quad (2)$$

Avec :

$$L_{GC} = \left( \frac{\epsilon_{H_2O} \epsilon_0 RT}{2F^2 Z^2 c} \right)^{1/2} \quad (3)$$

Où  $z$  et  $c$  représentent la charge et la concentration des ions en solution, et  $F$  la charge d'une mole d'électrons (96500 C).

L'évolution du potentiel à l'intérieur de la couche est représentée par :

$$\phi(x) = \phi_m \exp\left(-\frac{x}{L_{GC}}\right) \quad (4)$$

Cette théorie de Gouy-Chapman s'applique également aux matériaux isolants. Au lieu du potentiel  $\phi_m$  correspondant à la valeur  $x = 0$ , on parle alors de "potentiel zeta"  $\zeta$ .

Contrairement au potentiel du métal, on ne peut pas faire varier le potentiel zeta en appliquant une tension électrique.

### Modèle de Stern :

Ce modèle, schématisé à la Figure A.6, est en fait une combinaison des deux modèles précédents.

La différence de potentiel  $D\phi$  entre le métal et la solution comprend donc deux termes, l'un,  $D\phi_H$ , dû à une couche compacte de type Helmholtz, et l'autre,  $D\phi_{GC}$ , rendant compte d'une couche diffuse de type Gouy-Chapman :  $D\phi = D\phi_H + D\phi_{GC}$ .

Par analogie avec un circuit électrique contenant deux condensateurs en série, on obtient, pour la capacité de double couche, la relation suivante :

$$\frac{1}{C} = \frac{1}{C_H} + \frac{1}{C_{GC}}$$

La capacité résultante dépend donc essentiellement de la plus petite des capacités.

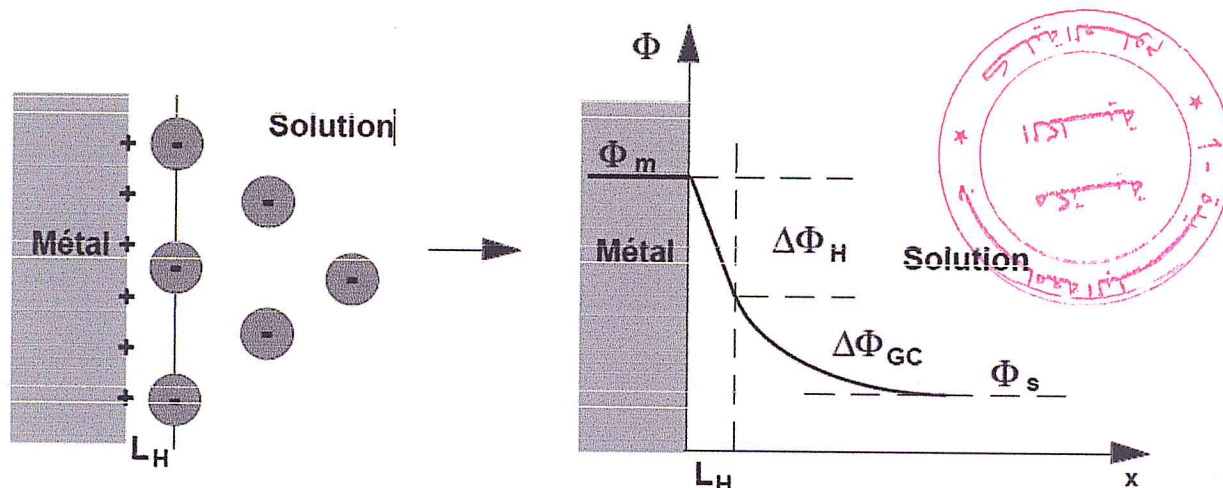


Figure A.6 : Modèle de Stern de la double couche

Le modèle de Stern donne une bonne description du comportement électrique de l'interface métal-solution pour de nombreux systèmes, mais il ne permet pas de rendre compte de manière satisfaisante de l'influence de la nature chimique des anions et de l'orientation cristalline de la surface du métal sur la capacité de double couche.

D'autres modèles plus élaborés, basés sur des considérations de la mécanique quantique, permettent de rendre compte des différences observées en fonction de l'orientation cristalline par une prise en compte de la distribution des électrons.