

**Ecole doctorale 305 « Energie Environnement »**

**AVIS DE PRESENTATION DE TRAVAUX  
EN VUE DE L'OBTENTION DU DOCTORAT**

**Madame Lynn MOUAWAD EPOUSE : Mouawad soutiendra sa thèse le 26 novembre 2024 à h00 à Amphithéâtre IUT, Bâtiment A, 66100 Perpignan., salle Amphithéâtre IUT, Bâtiment A, un doctorat de l'Université de Perpignan Via Domitia, spécialité Chimie.**

**TITRE DE LA THESE :** Développement de biocapteurs à cholinestérases pour la détection sélective d'ammoniums quaternaires biocides

**RESUME :** La mise en œuvre de réglementations de plus en plus strictes en matière de sécurité alimentaire et environnementale a suscité l'intérêt pour les technologies des capteurs. Ces dispositifs analytiques permettent la détection rapide d'une large gamme de biomarqueurs (pathogènes, contaminants chimiques, etc.) comme alternatives aux techniques conventionnelles qui font face à diverses limitations. Les travaux présentés dans ce manuscrit ont porté sur le développement d'un biocapteur électrochimique basé sur l'inhibition des cholinestérases pour la détection des biocides, principalement le chlorure de benzalkonium (BAC) et le chlorure de didécyltriméthylammonium (DDAC). Dans un premier temps, un essai colorimétrique miniaturisé basé sur la réaction d'Ellman a été développé pour déterminer les effets inhibiteurs du BAC et du DDAC sur quatre cholinestérases issues de drosophile (DM AChE), d'anguille électrique (EE AChE), d'érythrocytes de boeuf (BE AChE), et de sérum de cheval (BChE). Ces composés ont inhibé les quatre enzymes de manière compétitive, à l'exception du BAC qui a inhibé la DM AChE de manière non compétitive. D'autre part, un docking moléculaire a été réalisé pour étudier les interactions structurales entre les cibles et les enzymes et pour corrélérer les résultats théoriques et expérimentaux. Dans un deuxième temps, diverses approches d'optimisation, telles que la détermination de la quantité optimale d'enzyme immobilisée à la surface de l'électrode, la température optimale de fonctionnement de l'enzyme et le type de cholinestérase le plus sensible, etc. ont été réalisées pour la détection sensible du BAC et du DDAC dans les eaux de lavage conformément aux normes imposées par l'Union européenne (UE). Ces résultats ont montré que les capteurs à base de BChE et de DM AChE ayant une concentration enzymatique de 0.9 mU par électrode étaient les plus sensibles au BAC et au DDAC, respectivement, à une température de 30°C. Cependant, les limites de détection enregistrées par les biocapteurs les plus sensibles de 0.32 µM pour le BAC et de 0.038 µM pour le DDAC n'étaient pas compatibles avec le seuil réglementaire pour les eaux de lavage, fixé à 0.028 µM. Par conséquent, une étape de préconcentration par extraction en phase solide a été nécessaire pour atteindre les normes imposées par l'UE. Les insecticides organophosphorés étant de puissants inhibiteurs des cholinestérases, leur présence éventuelle dans les eaux de lavage peut induire des réponses faussement positives des biocapteurs. Nous avons donc mis au point une méthode permettant de s'affranchir de ce problème en utilisant l'enzyme phosphotriestérase (PTE), qui hydrolyse efficacement les organophosphorés et améliore donc la sélectivité du biocapteur. Dans une troisième étape, les biocapteurs optimisés ont été utilisés pour détecter les cibles (BAC et DDAC) directement dans des échantillons de lait, conformément à la valeur limite de 0.28 µM imposée par l'UE. Cependant, en raison de la présence d'effets de matrice causés par la phase lipidique et d'autres macromolécules présentes dans le lait, une extraction liquide-liquide permettant d'éliminer ces substances a dû être réalisée en amont de l'analyse par biocapteur. Mots clés : biocapteurs électrochimiques, cholinestérases, biocides, colorimétrie, docking moléculaire, phosphotriestérase.

**Directeur de thèse :**

Thierry NOGUER, Laboratoire de Biodiversité et Biotechnologies Microbiennes - Université de Perpignan Via Domitia

**Laboratoire où la thèse a été préparée :** Laboratoire de Biodiversité et Biotechnologies Microbiennes

**Le jury sera composé de :**

Mme Beatriz PRIETO SIMÓN, Professeur, Institut Català d'Investigació Química (**Rapporteur**)  
M. Bastien DOUMECHE, Maître de conférences, Université Claude Bernard Lyon 1 (**Rapporteur**)  
M. Thierry NOGUER, Professeur, Université de Perpignan Via Domitia (**Directeur de thèse**)  
Mme Gaëlle CATANANTE, Maître de conférences, Université de Perpignan Via Domitia (**Co-encadrant de these**)  
Mme Béatrice LECA BOUVIER, Maître de conférences, Université Claude Bernard Lyon 1 (**Examineur**)  
Mme Carole BLANCHARD, Professeur, Université de Perpignan Via Domitia (**Examineur**)