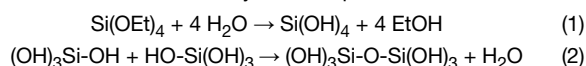


# Mésosstructuration d'interfaces et immobilisation de protéines et de bactéries par électrogénération sol-gel pour des applications analytiques

Mathieu Etienne et Grégoire Herzog

- Résumé** Le principe de l'électrogénération sol-gel est présenté. Ce procédé a été appliqué à la mésosstructuration de surfaces d'électrodes et de micro-interfaces liquide-liquide, à la modification d'électrodes nanostructurées, à l'immobilisation de protéines redox et de bactéries. Des applications analytiques ont été considérées à ces différentes étapes de développement, pour la détection d'ions de métaux lourds et de molécules biologiques en milieu aqueux.
- Mots-clés** Silice mésoporeuse, protéine redox, bactérie, capteur, biocapteur, biosenseur, interface liquide-liquide.
- Abstract** **Mesostructuring of interfaces and protein and bacteria immobilization by sol-gel electrogeneration for analytical applications**  
The principle of sol-gel electrogeneration is described. This process has been applied to electrode surfaces and liquid-liquid interfaces mesostructuring, to the immobilization of redox proteins and bacteria. Analytical applications have been considered at these different stages of research, for the detection of heavy metals ions and biological molecules in aqueous media.
- Keywords** **Mesoporous silica, redox proteins, bacteria, sensor, biosensor, liquid-liquid interface.**

La synthèse de silice par voie sol-gel est largement basée sur des précurseurs synthétiques, les alcoxydes de silicium, en particulier parce qu'ils permettent la fabrication de matériaux hybrides organiques-inorganiques en utilisant des molécules dérivées de type organoalcoxyasilane [1]. Cette réaction sol-gel est représentée de façon schématique dans les équations suivantes en prenant l'exemple de la réaction du tétraéthoxysilane en présence d'eau :



L'équation (1) décrit la réaction d'hydrolyse qui se produit dans ce sol, conduisant à la formation d'acide silicique et d'éthanol. Cette espèce peut ensuite réagir selon l'équation (2) par formation d'une liaison siloxane et libération d'une molécule d'eau. La succession de ces réactions de condensation conduit alors à une gélification. La réaction d'hydrolyse est rapide en milieu légèrement acide (pH 3). Mais dans ces mêmes conditions, la réaction de condensation est lente. Il est alors possible d'accélérer cette phase de gélification en augmentant le pH à une valeur supérieure à 9.

Ce changement de pH peut être obtenu par électrochimie [2]. En effet, les ions  $\text{OH}^-$  peuvent être générés par électrolyse cathodique du sol à un potentiel suffisamment réducteur. Cette production locale du catalyseur de gélification par réaction électrochimique permet alors de confiner la transition sol-gel sur une épaisseur limitée à proximité de la surface d'électrode. D'un point de vue pratique, cette électrolyse est conduite pendant quelques secondes ou dizaines de secondes seulement. La *figure 1* présente différents développements menés au Laboratoire de chimie physique et microbiologie pour l'environnement sur la base de ce dépôt électrochimique de silice par voie sol-gel. Il s'agissait d'introduire des motifs de tailles de l'ordre du nm, de la dizaine de nm et enfin de la centaine de nm, pour donner une fonction analytique à ce film déposé sur électrode.

## Mésosstructuration induite par électrogénération sol-gel

Les travaux ont été initiés par l'électrogénération de la couche de silice en présence de tensioactifs de type alkylammonium [3].

Cette molécule était introduite dans un milieu hydro-alcoolique à une concentration suffisante pour former des micelles. Par application du potentiel d'électrolyse pendant quelques secondes ou dizaines de secondes, le sol préparé en milieu acide et constitué d'oligomères de silice va rapidement gélifier. Dans le même temps, la tension appliquée à l'électrode, typiquement -1,3 V vs Ag/AgCl, induit une orientation préférentielle du système micellaire et conduit par auto-organisation à la formation d'un film hybride mésoporeux à la surface de l'électrode. L'épaisseur du film dépend du temps d'électrolyse et de la concentration en précurseur de silice. Après stabilisation de la matrice, l'extraction du tensioactif permet de libérer des mésopores dont la taille varie entre 1,3 et 3,3 nm en fonction du tensioactif utilisé [4]. L'incorporation de fonctions amine par co-condensation entre le tétraéthoxysilane et l'aminopropyltriéthoxysilane conduit à un matériau poreux et fonctionnel applicable à la préconcentration chimique des ions  $\text{Cu}^{II}$  d'une solution aqueuse avant leur détection électrochimique jusqu'à une limite de détection de  $3 \times 10^{-9}$  M [5].

## Immobilisation de protéines redox et modification d'électrodes nanostructurées

La taille des protéines redox qui ont ensuite été immobilisées par ce procédé d'électrogénération sol-gel est de l'ordre d'une dizaine de nm. L'objet de cette étude était d'abord de montrer que la protéine redox conservait, après son immobilisation par électrogénération dans un gel de silice, une activité catalytique utilisable pour l'élaboration d'un capteur ou d'un bioprocédé d'électrosynthèse. Nous voulions ensuite montrer que l'électrochimie pouvait autoriser un contrôle très fin de la croissance du film pour modifier de façon optimale une électrode nanostructurée. Un exemple est donné dans la *figure 1* pour l'obtention d'une électrode biofonctionnelle composée de fibres de platine ayant un diamètre d'environ 60 nm qui ont été recouvertes d'une couche mince de silice contenant la glucose oxydase. Cette protéine redox catalyse l'oxydation du  $\beta$ -D-glucose en D-glucono-1,5-lactone en produisant du  $\text{H}_2\text{O}_2$  qui peut alors être détecté par les nanofibres de platine pour former un capteur glucose

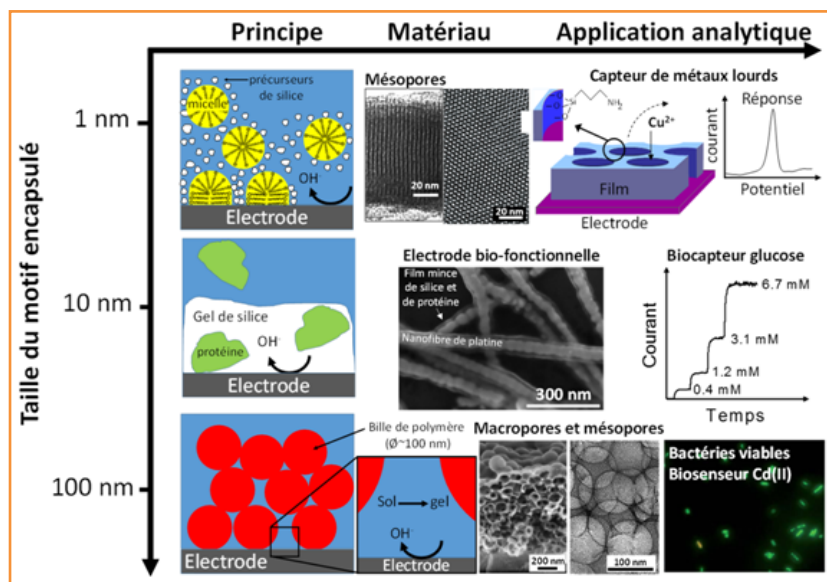


Figure 1 - Illustrations du principe d'électrogénération sol-gel, du matériau obtenu et de l'application analytique en fonction de la taille du motif encapsulé (micelles, protéines, particules ou bactéries). Les applications analytiques sont la détection de métaux lourds par redissolution anodique (Cu<sup>II</sup>, en haut) ou par bioluminescence (Cd<sup>II</sup>, en bas) et la détection de glucose (milieu).

dont la réponse en courant est ici dépendante de la concentration en glucose de 0,4 à 6,7 mM [6].

## Macrostructuration et immobilisation de bactéries

Des objets plus grands, de l'ordre de la centaine de nm, peuvent enfin être recouverts ou immobilisés par la silice électrogénérée. Si l'électrogénération sol-gel est conduite en présence de tensioactifs et de billes de polystyrène, la calcination de ces agents texturants produit une double porosité, macroporeuse (~ 100 nm) et mésoporeuse (~ 3 nm) [7]. Si des bactéries viables sont utilisées, l'électrogénération sol-gel menée en présence de silicate de sodium conduit à la formation sur l'électrode d'un matériau hybride dans lequel les bactéries conservent une viabilité et sont utilisées comme biosenseur environnemental [8]. Les bactéries expriment dans cet exemple une fluorescence en présence de 10<sup>-6</sup> M d'ions Cd<sup>II</sup>.

## Modification de l'interface liquide-liquide par de la silice mésoporeuse

La silice mésoporeuse peut aussi être générée par électrochimie à l'interface formée entre deux solutions non miscibles. Pour ce type d'électrochimie inhabituelle, l'électrode de travail, où d'ordinaire ont lieu les transferts d'électrons, est remplacée par l'interface formée entre une phase organique et une phase aqueuse. Les événements électrochimiques à l'interface liquide-liquide sont les transferts d'ions, contrôlés par la différence de potentiel appliquée entre les deux phases et donnant lieu à des variations de courant [9]. En appliquant le potentiel adéquat, le tensioactif est transféré de la phase organique vers la phase aqueuse, catalysant la condensation de la silice autour des micelles de tensioactif. Les conditions de dépôts telles que la concentration initiale de tensioactif dans la phase organique et la quantité de tensioactif transférée influent sur la morphologie du dépôt tant à l'échelle microscopique qu'à l'échelle mésoscopique [10]. Les dépôts de silice ont été caractérisés en étudiant le transfert à l'interface liquide-liquide modifiée de six ions modèles. L'impact de la présence de la silice mésoporeuse à l'interface liquide-liquide varie en fonction de la taille et de la charge des ions étudiés,

offrant la possibilité future d'utiliser ces dépôts de silices comme filtres moléculaires à des fins analytiques.

## Conclusion

L'orientation remarquable des pores obtenue sous potentiel électrolytique par auto-assemblage de micelles tensioactives et de précurseurs de silice est un bon exemple de l'apport de l'électrochimie dans ce monde des matériaux nanostructurés. La richesse de la chimie sol-gel vient de la grande diversité des matériaux hybrides pouvant être préparés et nous avons voulu montrer ici que des protéines ou même des cellules vivantes pouvaient être immobilisées par électrogénération sol-gel, ouvrant la voie à l'élaboration de dispositifs bioélectrochimiques pour l'analyse ou l'électrosynthèse enzymatique ou microbienne. Enfin, l'extension de ces différents concepts pour conduire des expériences à l'interface liquide-liquide contribuera certainement dans les années à venir à la dynamique de ce domaine de recherche.

## Références

- [1] Sanchez C., Rozes L., Ribot F., Laberty-Robert C., Grosso D., Sassoie C., Boissière C., Nicole L., "Chimie douce": a land of opportunities for the designed construction of functional inorganic and hybrid organic-inorganic nanomaterials, *Comptes Rendus Chimie*, **2010**, *13*, p. 3.
- [2] Shacham R., Avnir D., Mandler D., Electrodeposition of methylated sol-gel films on conducting surfaces, *Adv. Mater.*, **1999**, *11*, p. 384.
- [3] Walcarius A., Sibottier E., Etienne M., Ghanbaja J., Electrochemically assisted self-assembly of mesoporous silica thin films, *Nat. Mater.*, **2007**, *6*, p. 602.
- [4] Etienne M., Guillemin Y., Grosso D., Walcarius A., Electrochemical approaches for the fabrication and/or characterization of pure and hybrid templated mesoporous oxide thin films: a review, *Anal. Bioanal. Chem.*, **2013**, *405*, p. 1497.
- [5] Etienne M., Goux A., Sibottier E., Walcarius A., Oriented mesoporous organosilica films on electrode: a new class of nanomaterials for sensing, *J. Nanosci. Nanotechnol.*, **2009**, *9*, p. 2398.
- [6] Mazurenko I., Etienne M., Ostermann R., Smarsly B.M., Tananaiko O., Zaitsev V., Walcarius A., Controlled electrochemically-assisted deposition of sol-gel biocomposite on electrospun platinum nanofibers, *Langmuir*, **2011**, *27*, p. 7140.
- [7] Etienne M., Sallard S., Schröder M., Guillemin Y., Mascotto S., Smarsly B.M., Walcarius A., Electrochemical generation of thin silica films with hierarchical porosity, *Chem. Mater.*, **2010**, *22*, p. 3426.
- [8] Ghach W., Etienne M., Billard P., Jorand F.P.A., Walcarius A., Electrochemically assisted bacteria encapsulation in thin hybrid sol-gel films, *J. Mater. Chem. B*, **2013**, *1*, p. 1052.
- [9] Arrigan D.W.M., Herzog G., Scanlon M.D., Strutwolf J., Bioanalytical applications of electrochemistry at liquid-liquid micro-interfaces, In *Electroanalytical Chemistry*, Vol. 25, A.J. Bard, C.G. Zoski (eds), CRC Press, **2013**, p. 105-178.
- [10] Poltorak L., Herzog G., Walcarius A., Electrochemically assisted generation of silica deposits using a surfactant template at liquid/liquid micro-interfaces, *Langmuir*, **2014**, *30*, p. 11453.



M. Etienne

**Mathieu Etienne** (auteur correspondant) et **Grégoire Herzog** sont chargés de recherche au CNRS, Laboratoire de chimie physique et microbiologie pour l'environnement, UMR 7564 CNRS, Université de Lorraine\*.



G. Herzog

\* Laboratoire de chimie physique et microbiologie pour l'environnement, UMR 7564 CNRS, Université de Lorraine, 405 rue de Vandœuvre, F-54600 Villers-lès-Nancy.  
Courriels : mathieu.etienne@univ-lorraine.fr ;  
gregoire.herzog@univ-lorraine.fr