

Chimie de la matière condensée

M. Jacques LIVAGE, membre de l'Institut
(Académie des Sciences), professeur

Les matériaux nanostructurés

L'élaboration de matériaux par l'homme remonte à la découverte du feu. Nous avons progressivement réussi à maîtriser le feu de façon à obtenir des températures de plus en plus élevées. Ceci nous a permis de passer de l'âge du cuivre et du bronze, à celui du fer. Aujourd'hui, à l'ère du silicium et de l'informatique, nous cherchons à élaborer des matériaux nanostructurés répondant aux exigences des nanotechnologies modernes.

Dans ce domaine, le vivant nous offre des exemples remarquables qui remontent souvent au début du Cambrien. Le but de ce cours était de montrer comment des micro-organismes pouvaient intervenir dans l'élaboration de matériaux nanostructurés. Pour cela, nous avons développé les exemples suivants.

1. Les diatomées, des biomatériaux nanostructurés

Les diatomées, micro-algues unicellulaires, élaborent des exosquelettes de silice (frustules) qui les protègent tout en laissant passer la lumière nécessaire à leur activité photosynthétique. Ces frustules, dont le diamètre est de l'ordre de quelques microns, présentent une structure poreuse tout à fait remarquable couramment utilisée pour la réalisation de filtres ou de supports de catalyseurs. Il est en fait possible d'utiliser directement ces frustules dans la conception de dispositifs électroniques. C'est ainsi, qu'en mettant à profit la conductivité ou les propriétés de luminescence des frustules de silice, on peut réaliser des micro-capteurs capables de détecter des traces de certains gaz. La porosité régulière et hiérarchisée de ces frustules présente même des propriétés de cristal photonique. On a montré récemment que la silice pouvait être modifiée chimiquement sans altérer la morphologie des frustules. On forme ainsi des nano-matériaux à base d'oxydes

MgO, TiO₂ ou BaTiO₃. Il est même possible de réduire toute la silice en silicium élément de base de l'électronique moderne.

2. Matériaux nanostructurés et polypeptides

Les peptides peuvent être utilisés pour lier entre-elles, de façon contrôlée, un ensemble de nanoparticules minérales (métaux, oxydes, semi-conducteurs). Les nanoparticules s'associent pour former nanostructures en chaînes, réseaux carrés, voire même des édifices 3D. Les peptides présentent souvent des structures tubulaires que l'on peut utiliser comme templates pour élaborer des nanotubes. Un choix judicieux des acides aminés constituant le peptide permet d'initier la précipitation d'un composé choisi à la surface, intérieure ou extérieure du peptide. C'est ainsi que l'équipe animée par Franck Artzner a utilisé un polypeptide, le lanréotide, pour élaborer des nanotubes de silice. On peut aussi réaliser des nanotubes métalliques (Au, Cu, Pt,...) et les déposer entre deux électrodes pour réaliser des nanocircuits électroniques. Les chaperons moléculaires, qui se présentent sous forme d'anneaux peuvent être utilisés pour déposer de façon régulière, des nanoparticules semi-conductrices qui pourraient intervenir comme nanocomposants dans les mémoires flash des clés USB !

3. De l'ADN aux transistors

L'ADN, molécule de base de la vie, a été abondamment étudiée comme template pour la réalisation de nanocomposants dans les circuits électroniques. Des ions métalliques peuvent être insérés entre les deux brins de l'ADN ou fixés à leur surface via les groupements phosphates, puis réduits in situ pour donner des nanofils conducteurs ou semi-conducteurs. On peut jouer sur la complémentarité des deux brins d'ADN pour associer les nano-composants et réaliser de véritables circuits tels que des transistors à effet de champ !

4. Virus et nanomatériaux

De nombreux virus ont été utilisés pour élaborer des nanomatériaux. Le contrôle de l'information génétique (ARN ou ADN) permet de contrôler la nature de l'enveloppe protéique qui les recouvrent et dans laquelle certains acides aminés peuvent servir de germe pour nucléer la croissance de nanoparticules. Deux types de virus ont été pris comme exemples dans le cours.

- Le virus de la mosaïque du tabac, qui se présente sous forme d'un bâtonnet de 300 nm de long. Il permet d'élaborer des nanotubes d'oxydes (SiO₂, Fe₃O₄) de semi-conducteurs (PbS, CdS) de métaux (Co, Cu, Ni, Pd, ...) et même de polymères (polyaniline). Des dispositifs de commutation ont même été publiés récemment dans lesquels les virus, recouverts de nanoparticules métalliques sont insérés entre deux électrodes. Une commutation réversible d'un état isolant (OFF) à un état conducteur (ON) est observée au-dessus d'une tension seuil.

- Le bactériophage M13 a aussi été largement utilisé pour l'élaboration de nanomatériaux, en particulier par l'équipe d'Angela Belcher aux USA. Ce virus, plus long que le précédent (880 nm), possède un manteau protéique plus complexe. Cinq familles de peptides différentes peuvent être génétiquement modifiées ce qui ouvre de vastes perspectives. La plus belle réalisation est sans aucun doute l'élaboration de nanofils d'oxyde de cobalt Co_3O_4 qui peuvent servir d'électrode réversible dans des nanobatteries au lithium.

5. Les bactéries

Par rapport aux exemples précédents, les bactéries sont des objets vivants dont le métabolisme peut être mis à profit pour réaliser la synthèse de nanoparticules minérales. L'exemple des magnéto-bactéries qui élaborent des chaînes de nanocristaux d'oxyde de fer magnétique Fe_3O_4 est bien connu. On peut, simplement en introduisant des ions étrangers dans le milieu de culture, transformer ces particules en spinelles, MFe_2O_4 ($\text{M} = \text{Co}, \text{Zn}, \text{Mn}, \dots$). Les cultures de bactéries vivant dans des milieux extrêmes permettent de précipiter des sphères creuses de ZnS , des nanosphères de sélénium, des nanocristaux de CdS et même des nanotubes de sulfure d'arsenic. Une application originale consiste à utiliser des bactéries, recouvertes de nanoparticules d'or, comme capteur d'humidité. Le gonflement réversible de la membrane de peptidoglycane modifie la distance entre particules métalliques et donc la résistivité du bio-composant.

Les séminaires

6 séminaires ont accompagné le cours afin de l'illustrer.

- Micro-algues et, nanomatériaux par Roberta Brayner (Itodis, Paris VII)
- Nanoparticules organométalliques : chimie de surface, contrôle de forme et propriétés physiques par Bruno Chaudret (Chimie de coordination – Toulouse)
- La tectonique moléculaire, des molécules aux architectures périodiques par Mir Wais Hosseini (chimie de coordination organique – Strasbourg)
- Les nano-médicaments, une nouvelle approche thérapeutique des maladies graves par Patrick Couvreur (Pharmacie – Chatenay Malabry)
- Matériaux hybrides nano-structurés par Clément Sanchez (Chimie de la matière condensée – Paris VI)
- Molécules, surface et symétrie, un mariage à trois par Denis Fichou (Nanostructures – CEA)

Cours et séminaires à l'étranger

Cette année nous avons présenté deux séries de cours et séminaires à l'étranger :

- A Tunis, les 26 et 27 février 2008 sur la synthèse et les propriétés d'oxydes de vanadium ;
- A Uppsala, deux cours 'the sol-gel process' et un séminaire 'vanadium oxide gels, versatile precursors for nanostructured materials'.

Activités de recherche 2007-2008

Notre démarche vise à explorer les domaines d'interface entre la biologie et les sciences des matériaux. Cette démarche s'articule selon trois thématiques principales :

- l'étude des phénomènes de biominéralisation ;
- l'élaboration de matériaux et nanomatériaux bio-composites à visées médicales ou biotechnologiques ;
- la compréhension des conditions de survie d'organismes vivants au sein de structures minérales synthétique.

Biominéralisation de la silice : approche analytique et modèles chimiques

Les processus biologiques intervenant dans la formation de la silice chez les êtres vivants, en particulier chez les diatomées, sont encore mal connus. Un certain nombre de molécules associées à la silice biogénique ont pu être identifiées mais l'étude de leur interaction vis-à-vis de la minéralisation ne permet pas encore de reproduire in vitro la complexité des organisations minérales observées in vivo. D'autre part, les traitements nécessaires à l'extraction de ces molécules peuvent entraîner leur dégradation. Aussi une étude directe du matériau biologique est elle nécessaire.

Dans ce cadre, nous avons étudié par RMN à l'état solide la coquille siliceuse des diatomées, après leur culture puis en fonction de différents traitements chimiques. Ce travail a été effectué en collaboration avec V. Martin-Jézéquel (Université de Nantes) Afin de pouvoir mener une étude simultanée des parties minérales et organiques, ces diatomées ont été cultivées en présence de substrats enrichis en ^{29}Si , ^{13}C et ^{15}N et étudiées selon des méthodes de polarisation croisée. Cette technique nous a permis de discriminer des molécules rigides et mobiles, c'est-à-dire associées ou non au réseau de silice. Nous avons ainsi pu démontrer que même après des traitements chimiques intensifs, la coquille contenait encore des carbohydrates, des protéines mais aussi des lipides. Ce dernier résultat est particulièrement intéressant car il suggère que le rôle des lipides dans la formation de la silice chez les diatomées a été sous-évalué jusqu'à maintenant.

Actuellement, ces études sont poursuivies à travers l'établissement de cartes de corrélation bi-dimensionnelle qui devrait nous permettre d'identifier les connectivités entre la matière organique et le réseau minéral.

En parallèle, nous avons cette année abordé un nouvel aspect lié à la biominéralisation chez les plantes supérieures. Il est en effet connu que la silice est présente à des taux de 1 % à 10 % en masse chez certaines plantes. Cette silice joue un rôle de gestion des stress biotiques et abiotiques mais les mécanismes associés sont encore mal connus. Nous cherchons donc à mimer des tissus végétaux silicifiés en élaborant des matériaux hybrides cellulose/silice et à évaluer leur impact sur la stabilisation de systèmes enzymatiques liés à la gestion du stress oxydatif. Ce travail est effectué dans le cadre d'une thèse en co-encadrement avec l'USTHB (Algérie). Nous avons d'ores et déjà pu montrer que la présence de la silice permettait de stabiliser des solutions de carboxyméthylcellulose, modifiant ainsi leurs propriétés de diffusion. L'étude actuelle porte sur l'encapsulation de catalase dans ces matériaux à teneur variable en silice et à l'étude de stress hydrique, thermique et photochimique sur leur activité enzymatique.

Matériaux et nanomatériaux biocomposites

Depuis quelques années, nous cherchons à associer des macromolécules biologiques et des phases inorganiques, afin de créer une synergie entre la complexité structurale et la biocompatibilité des premiers avec les propriétés physiques (optiques, magnétiques,...) des seconds. En particulier, dans le cadre du poste d'ATER du Collège de France de F. Carn, nous avons poursuivi l'étude concernant l'association entre des macromolécules de gélatine et des clusters polyoxovanadates de type décavanadate $[\text{H}_2\text{V}_{10}\text{O}_{28}]^{4-}$ connus pour être impliqués dans la formation des rubans de V_2O_5 .

En collaboration avec M. Djabourov (ESPCI), nous avons établi le diagramme de phase du système [gélatine-vanadate] à 40 °C et pH acide. Nous avons ainsi mis en évidence l'existence d'une séparation de phase en deux temps laissant apparaître trois régions distinctes : liquide homogène, dispersion colloïdale métastable, domaine macroscopiquement biphasique (une phase visqueuse riche en gélatine en équilibre avec une phase diluée). Sur la base d'une étude détaillée de chaque région (RMN liquide et solide du ^{51}V , diffusion de la lumière), nous avons proposé un mécanisme de formation de ces phases fondé sur un processus de coacervation complexe déjà décrit pour des systèmes comprenant deux espèces polyélectrolytes de charges opposées. Nous avons poursuivi les mesures de rhéologie dans le domaine liquide homogène que l'on a combiné à celles de μ -DSC dans le but de sonder l'influence d'espèces vanadate fortement chargées négativement sur le changement de conformation de la gélatine. Nous avons mis en évidence une faible influence des clusters inorganiques sur la formation des triples hélices de gélatine à température ambiante et en revanche, un impact très significatif sur le processus de fusion des

triples hélices. Ce résultat surprenant a été discuté et comparé au comportement « modèle » d'une solution de collagène natif (100 % de triples hélices).

Enfin, nous avons effectué une caractérisation détaillée de la phase visqueuse obtenue dans le domaine bi-phasique après retour à l'ambiante (ATG, DSC, RMN solide ^{51}V , DRX, comportement mécanique en traction). Les mesures en traction ont été effectuées en collaboration avec B. Fayolle (ENSAM, Paris). Nous avons mis en évidence notamment que ce matériau hybride possède une stœchiométrie bien déterminée. Il peut être facilement mis sous forme de film et se comporte mécaniquement comme un élastomère avec une contribution significative du réseau de triples hélices. L'influence de la matrice organique sur la croissance d'un réseau de V_2O_5 a également été montrée.

La spectroscopie RMN du solide est une technique intéressante pour caractériser des matériaux hybrides désordonnés. Elle suppose cependant la connaissance de la réponse spectrale de composés modèles. C'est pourquoi, nous avons continué notre approche consistant à coupler des expériences RMN à des calculs *ab-initio* sur le décavanadate de césium et des phases lamellaires de type CsV_3O_8 . Ce travail a été effectué en collaboration avec R. Hajjar, Y. Millot et P. Man (SIEN, UPMC) et L. Trufflandier, F. Boucher, M. Paris et C. Payen (IMN). Outre le noyau ^{51}V , d'autres noyaux comme ^{133}Cs ont également été étudiés et nous avons pu attribuer de façon claire les signaux RMN aux sites vanadium et césium des structures cristallographiques et préciser la localisation des sites OH du cluster inorganique. Nous avons également effectué des expériences ^{133}Cs - ^1H HETCOR CP MAS qui n'ont jamais été reportées dans la littérature. Ces expériences permettent de sonder l'espace interfoliaire des phases CsV_3O_8 ou les connectivités spatiales entre les ions Cs^+ et le réseau de liaisons hydrogène du décavanadate de césium.

En parallèle, nous avons approfondi notre connaissance des systèmes nanoparticulaires hybrides associant un biopolymère et la silice. Dans un premier temps, nous avons cherché à optimiser notre approche de synthèse de nanocomposites gélatine/silice par nano-émulsion afin de réduire la dispersité en taille des particules obtenues, cette dispersité ayant un très fort impact sur la délivrance de médicaments *in vivo*. Dans un deuxième temps, nous avons cherché à encapsuler une molécule antibiotique, la nitrofurantoïne, au sein de ces particules. Nous avons pu ainsi vérifier que ce médicament restait présent tout au long de la synthèse au sein des nanocomposites. Cette même molécule a été encapsulée dans des nanoparticules combinant acide alginique et silice obtenues par voie aérosol. Dans ce cas, nous avons pu observer un départ très rapide mais partiel de la molécule lors de sa dispersion en milieu aqueux, et ce indépendamment de la composition (rapport silice/alginate) de la particule. Ceci suggère qu'une fraction du médicament est adsorbée à la surface des nanocomposites et non encapsulée. Ces résultats nous permettent de mieux appréhender les conditions optimales pour la mise au point de nanovecteurs hybrides afin de pouvoir étendre notre stratégie à d'autres biopolymères de structure et de charge différente.

Encapsulation cellulaire en milieu minéral

Le futur développement de nouveaux dispositifs biotechnologiques utilisant des activités cellulaires va dépendre des possibilités d'intégrer des organismes vivants au sein de matériaux fonctionnels. Nous avons déjà démontré qu'il était possible d'immobiliser des bactéries au sein de gels de silice, de conserver leur activité métabolique pendant un mois et de les utiliser pour synthétiser des molécules d'intérêt thérapeutique. Notre démarche actuelle vise à étendre ce procédé à d'autres hôtes minéraux.

La principale difficulté est de mettre au point une voie de synthèse de la matrice minérale qui soit compatible avec la survie cellulaire. Un nombre important de cations métalliques étant cytotoxique, nous avons exploré la possibilité de former des gels inorganiques par une voie colloïdale, c'est-à-dire à partir de nanoparticules préformées. Cette approche nous a permis de réaliser la première encapsulation cellulaire par voie sol-gel dans une matrice d'alumine. Nous avons observé une perte importante (60 %) de viabilité lors de l'encapsulation, probablement due à un temps de gel trop rapide (quelques dizaines de secondes pour l'alumine contre 3-4 minutes pour la silice), qui induit un stress important sur les bactéries *Escherichia coli*. Cependant, un taux de viabilité de 50 % est obtenu pour une durée d'un mois, en présence de glycérol. Ce résultat est similaire à celui obtenu pour les gels de silice et suggère que ces matrices d'alumine constituent un environnement favorable à la survie des bactéries. En suivant une approche similaire, nous avons cherché à encapsuler des bactéries *E. coli* dans des gels de zircone. Dans ce cas, une lyse cellulaire a été observée lors d'une mise en contact prolongé des cellules avec les colloïdes inorganiques.

Ces résultats indiquent que le succès de l'encapsulation dépend non seulement des paramètres chimiques de la synthèse mais aussi de facteurs physiques liés à la contrainte mécanique imposée par la formation du gel et/ou à l'interaction colloïdes/paroi cellulaire. Afin de vérifier cette dernière hypothèse, nous cherchons actuellement à encapsuler des micro-algues au sein de gels inorganiques, afin d'évaluer la capacité des poly-saccharides extra-cellulaires de ces organismes à protéger les cellules des stress physiques induits par l'encapsulation. Ce travail s'effectue en collaboration avec R. Brayner (ITODYS, Paris VII) et A. Couté (MNHN, Paris), dans le cadre d'une thèse en co-encadrement financée par le réseau C'nano IdF et le CNRS. En parallèle, nous étudions actuellement l'effet de la transition sol-gel sur le comportement et la survie de micro-algues présentant une importante motilité.

PUBLICATIONS 2007-2008

- Macrocyclic polysiloxane immobilized ligand system and its structural characterization, N.M. El-Ashgar, I.M. El-Nahal, M.M. Chehimi, C. Connan, F. Babonneau, J. Livage, J. Dispersion Sci. Technol. 28 (2007) 445-453.
- A new route synthesis of immobilized-polysiloxane iminodiacetic ligand system, its characterization and applications, N.M. El-Ashgar, I.M. El-Nahal, M.M. Chehimi, F. Babonneau, J. Livage, Mater. Lett. 61 (2007) 4553-4558.
- Designing nanotextured vanadium oxide-based macroscopic fibers : application as alcoholic sensors, C.M. Leroy, M.F. Achard, O. Babot, N. Steunou, P. Masse, J. Livage, L. Binet, N. Brun, R. Backov, Chem. Mater. 19 (2007) 3988-3999.
- Aqueous Silicates in Biological Sol-Gel : New Perspectives for Old Precursors, T. Coradin, J. Livage, Acc. Chem. Res. 40 (2007) 819.
- Potentialities of silica/alginate nanoparticles as HYbrid MAgnetic Carriers, M. Boissière, J. Allouche, C. Chanéac, R. Brayner, J.M. Devoisselle, J. Livage, T. Coradin, Int. J. Pharm. 344 (2007) 128-134.
- Sol-gel encapsulation of cells is not limited to silica : bacteria long-term viability in alumina matrices, M. Amoura, N. Nassif, C. Roux, J. Livage, T. Coradin, Chem. Commun. (2007) 4015-4017.
- Design of iron oxide/silica/alginate HYbrid MAgnetic Carriers (HYMAC), M. Boissière, J. Allouche, R. Brayner, C. Chanéac, J. Livage, T. Coradin, J. Nanosci. Nanotechnol. 7 (2007) 4649-4654.
- Hydrothermal synthesis of amorphous MoS₂ nanofiber bundles via acidification of ammonium molybdate tetrahydrate. G. Nagaraju, C.N. Tharamani, G.T. Chandrappa, J. Livage, Nanoscale Res. Lett. 2 (2007) 461-468.
- First Example of Biopolymer-Polyoxometalate Complex Coacervation in Gelatin-Decavanadate Mixtures, F. Carn, N. Steunou, M. Djabourov, T. Coradin, F. Ribot, J. Livage, Soft Matter 4 (2008) 735-738.
- Organically modified porous hydroxyapatites : a comparison between alkylphosphonate grafting and citrate chelation, L. El-Hammari, H. Marroun, A. Laghzizil, A. Saoiabi, C. Roux, J. Livage, T. Coradin, J. Solid State Chem. 181 (2008) 848-854.
- Contribution of multi-nuclear solid state NMR to characterization of the *Thalassiosira pseudonana* diatom cell wall., B. Tesson, S. Masse, G. Laurent, J. Maquet, J. Livage, V. Martin-Jezequel, T. Coradin. Anal. Bioanal. Chem. 390 (2008) 1889-1898.
- Biomimetic dual templating of silica by poly-saccharide/protein assemblies, C. Gautier, N. Abdoul-Arabi, C. Roux, P.J. Lopez, J. Livage, T. Coradin, Colloids Surf. B, 65 (2008) 140-148.
- From diatoms to bio-inspired materials... and back, T. Coradin, R. Brayner, C. Gautier, M. Hémadi, P.J. Lopez, J. Livage, dans Biomineralization : from Paleontology to Materials Science ; J.L. Arias, M.S. Fernandez, eds ; Editorial Universitaria (2007) p. 419-430.
- Bio-controlled growth of oxides and metallic nanoparticles, T. Coradin, R. Brayner, F. Fiévet, J. Livage, dans Bio-inorganic Hybrid Nanomaterials ; E. Ruiz-Hitzky, K. Ariga, Y. Lvov, eds. Wiley-VCH (2007) p. 159-192.