

Étude colloïdale de l'interaction entre le nano-TiO₂ et les nanotubes de carbone avec le lysozyme afin d'examiner les effets des co-composants in vivo et in vitro

Anna Laguta

Département de chimie physique
Université nationale V. N. Karazin de Kharkiv
Kharkiv, Ukraine
laguta@karazin.ua

Résumé — La stabilité colloïdale définit les applications des nanoparticules dans les systèmes aqueux et non aqueux, les fluides biologiques constituant un cas particulier. Le concept d'oxydation de surface ou de revêtement non covalent des nanoparticules pour une application réussie dans les fluides aqueux a un coût en termes de pollution, de devenir et de toxicité. Les composants coexistants in vitro ou in vivo peuvent influencer le comportement colloïdal des nanoparticules et affecter leur transport. La décoration des nanoparticules par le lysozyme crée une combinaison des propriétés électriques, mécaniques, thermiques et optiques des nanotubes de carbone avec l'activité antibactérienne inhérente au lysozyme. Par exemple, Horn et al. ont rapporté l'existence de fibres antimicrobiennes constituées de nanotubes de carbone recouverts de lysozyme et présentant une résistance quatre fois supérieure à celle de la soie d'araignée. L'interaction entre le nano-TiO₂ et les nanotubes de carbone à paroi simple oxydés avec le lysozyme dans un système aqueux est examinée à l'aide de la diffusion dynamique et électrophorétique de la lumière. Les dispersions obtenues ont été soumises à une coagulation avec des électrolytes afin d'examiner les effets des co-composants in vivo et in vitro. Les données empiriques fournissent une justification pour les stratégies de revêtement de surface visant à faciliter leur stabilité, leur biocompatibilité et leur respect de l'environnement, ainsi que pour une conjugaison ultérieure avec d'autres molécules telles que des molécules cibles, des médicaments, des polymères, etc.

Mot clés — nanotube, nano-TiO₂, lysozyme, coagulation, potentiel zêta, diffusion dynamique de la lumière.

I. INTRODUCTION

L'intérêt pour les nanotubes de carbone, NTC, repose sur leurs propriétés physiques et chimiques uniques ainsi que sur leurs nombreuses applications commerciales et industrielles [1]. Les NTC sont bien connus pour leurs propriétés morphologiques, physiques, électriques et magnétiques exceptionnelles. Ils ouvrent la voie à de nombreuses applications, notamment dans le domaine médical pour l'administration de médicaments, dans les dispositifs de stockage de données et dans les batteries lithium-ion. De plus, les NTC possèdent des caractéristiques mécaniques extraordinaires, des propriétés thermiques élevées et d'excellentes propriétés optiques [2, 3].

Le TiO₂ a démontré un potentiel prometteur dans le domaine du génie biologique, notamment dans les domaines suivants : antimicrobiens, agents d'administration de médicaments, thérapie photodynamique, biocapteurs et biomatériaux. Il est largement utilisé comme complément alimentaire et cosmétique, ainsi que dans le traitement des eaux usées. En particulier, le TiO₂ est reconnu comme un photocatalyseur potentiel [4]. L'absorption de la lumière par les électrons dans

la bande de valence du TiO₂ génère des paires électron-trou : l'électron excité saute vers la bande de conduction, formant ainsi un trou dans la bande de valence. Par exemple, deux de ces électrons peuvent favoriser la réduction de l'oxygène et les trous peuvent oxyder l'eau adsorbée [5]. Les polymorphes de TiO₂ en vrac ont des bandes interdites couvrant une petite gamme de photons solaires à énergie relativement élevée (≥ 3 eV) [6], ce qui entraîne de faibles rendements photovoltaïques (seulement ~ 10 % des photons du rayonnement solaire atteignant la surface de la Terre) [7]. La génération de défauts intrinsèques tels que des lacunes d'oxygène tout en conservant l'activité intrinsèque du matériau a conduit à des nanomorphologies cœur-coquille présentant de nouvelles propriétés physiques dues à la géométrie confinée de la propagation des excitations quantiques. Ces nano espèces « noir TiO₂ » à base d'anatase ont des bandes interdites réduites en raison de l'élargissement des bords de bande induit par la couche externe, ce qui leur confère également une photoactivité améliorée [7].

L'application du nano-TiO₂ et des nanotubes de carbone stimule leur production à grande échelle. La production mondiale annuelle de TiO₂ à des fins scientifiques et industrielles devrait atteindre 2,5 millions de tonnes en 2025, contre plusieurs milliers de tonnes pour les nanotubes de carbone, par exemple [8-10]. La production de nanoparticules entraîne inévitablement leur rejet dans des systèmes principalement aquatiques. Par exemple, aux États-Unis, on estime que le dentifrice contribue chaque année à hauteur de 4 100 tonnes de TiO₂ aux eaux usées [11]. La toxicité des nanotubes a été abordée dans Réf. [12]. Les processus environnementaux peuvent modifier l'état des nanoparticules, affectant leur transport, leur devenir et leur toxicité.

La large application du TiO₂ en médecine et en cosmétologie repose sur ses propriétés particulières et son inertie chimique. Cependant, la toxicité des nanoparticules peut augmenter considérablement ou apparaître lors d'une modification de surface, ciblée ou non, en raison d'interactions avec des composants de sécrétions biologiques. Sous forme nanométrique, un excès d'énergie de surface génère des effets qui doivent être pris en compte dans le concept d'application et d'utilisation. Les composants coexistants in vitro ou in vivo peuvent influencer le comportement colloïdal des nanoparticules et affecter leur transport.

La stabilité colloïdale et la coagulation du nano-TiO₂ et des nanotubes à paroi simple recouverts de lysozymes liés de manière non covalente sont étudiées. Les échantillons de nanotubes de carbone à paroi simple oxydés (D15L1-5-

COOH, NanoLab, Inc., États-Unis) ont une longueur de 1 à 5 mm, un diamètre de 1,5 nm, une teneur en groupes COOH de 2 à 7 % en poids et une surface spécifique de 220 m²/g ; et la nanopoudre de TiO₂ utilisée dans l'expérience a une taille de particules (BET) < 100 nm et une teneur en métaux traces de 99,5 % selon les informations fournies par le fournisseur (Sigma-Aldrich, code produit : 677469).

Le lysozyme, LSZ, se caractérise par un point isoélectrique ~11 [13, 14]. Dans l'eau distillée avec un pH de 5,7, le LSZ porte une charge positive formelle. À une concentration de LSZ de 2 à 5 mg/ml, les nanotypes de taille hydrodynamique 1,2±0,2 nm, déterminée par diffusion dynamique de la lumière (DLS), et de mobilité électrophorétique 1,3±0,1 μm×cm×V⁻¹×s⁻¹ existent [15].

En ce qui concerne l'approche de recherche, l'analyse du comportement colloïdal sera basée sur la taille hydrodynamique des particules et le potentiel zêta, qui constituent de bons indices de l'ampleur de l'interaction entre les particules colloïdales, ainsi que sur les interactions entre les nanoparticules et l'électrolyte, basées sur les données cinétiques de coagulation.

La diffusion dynamique de la lumière et l'électrophorèse laser Doppler ont été réalisées à l'aide d'un appareil Zetasizer Nano ZS Malvern Instrument. Le contexte est l'application de ces méthodes à l'étude des systèmes hydrophobes des nanodiamants de détonation, des nanoparticules de manganite de perovskite La-Sr et de l'argile [16-18].

Le concept repose sur le fait que les interactions avec les sécrétions biologiques et les électrolytes provoquent (i) une répulsion stérique empêchant le contact entre les surfaces des nanoparticules à courte distance et (ii) une coagulation électrolytique par compression de l'épaisseur de la double couche électrique.

Les co-composants peuvent provoquer une coagulation indésirable. Un cas particulier se produit lorsque le passage d'un système biphasique à un système colloïdal sous l'influence des sécrétions biologiques peut entraîner la diffusion des nanoparticules dans tout le corps, ce qui peut produire des effets imprévisibles. Les résultats seront également utiles dans la stratégie de développement des bio-implants à base de titane en fournissant des données sur l'interaction de la surface du TiO₂ avec les composants biologiques.

II. RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

Contrairement aux nanotubes de carbone décorés de groupes COO⁻, le nano-TiO₂ est colloïdalement instable dans l'eau distillée à un pH = 5,7 [19, 20]. La stabilité colloïdale des nanotubes de carbone oxydés est due aux charges négatives à la surface dans l'eau distillée.

La taille des particules et le potentiel zêta dans les systèmes aqueux de TiO₂ de différentes valeurs de pH dans la Ref [19], attribuent la faible stabilité colloïdale au faible potentiel zêta et à l'agglomération des particules à un pH compris entre 4 et 7 [19, 20] ; la taille des particules positives et négatives à un pH de 3 et 10, respectivement, est restée inchangée après un mois d'observation [19]. Le potentiel ζ des nanotubes d'un diamètre équivalent à celui d'une sphère

d'environ 190 nm est de -48 mV à un pH aqueux de 5,7. En termes de théorie DLVO (Derjaguin, Landau, Verwey et Overbeek), le potentiel électrique et l'épaisseur de la double couche électrique ainsi que les constantes de Hamaker de TiO₂-TiO₂ (2,5-10 × 10⁻²⁰ J [21, 22]), nanotube-nanotube (4÷60×10⁻²⁰ J [23, 24]) et eau-eau (3,7÷5,5×10⁻²⁰ J [25]) déterminent principalement la hauteur de la barrière énergétique ; à son maximum, la répulsion dépasse l'attraction. Autour du point de charge zéro, l'énergie superficielle des particules après dispersion n'est pas stabilisée par l'énergie cinétique thermique et l'énergie d'interaction avec l'eau, et est compensée par la réduction de la surface spécifique due à la cohésion des nanoparticules.

L'autre mode affectant la stabilité de la dispersion colloïdale hydrophobe est l'encombrement stérique impliquant un revêtement de surface pour empêcher les particules de se rapprocher à des distances où l'attraction prévaut. De cette manière, le LSZ a été injecté dans le système biphasé « nanoparticules + eau » à un pH = 5,7 avant un traitement par ultrasons. En plus du revêtement, le LSZ génère une charge superficielle et contribue à la formation de la double couche.

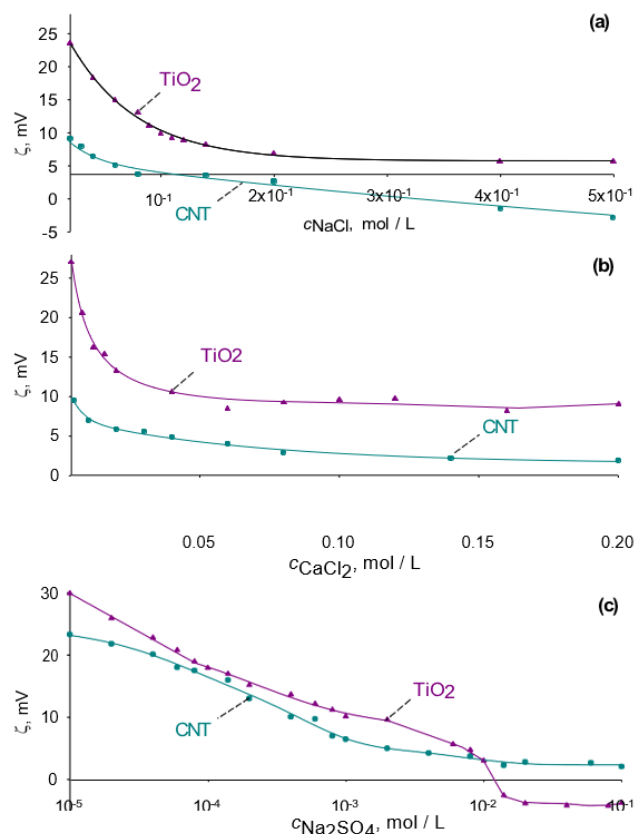


Figure. 1. Dépendances du potentiel zêta en fonction des concentrations de NaCl (a), CaCl₂ (b) et Na₂SO₄ (c) dans des dispersions aqueuses de TiO₂ (triangle) et de NTC (cercle) avec du lysozyme.

La taille des particules dans le système «TiO₂+LSZ» était $Z_{ave} = 138 \pm 2$ nm (indice de polydispersité 0,17±0,02), d (par intensité) = 142±5 nm, d (par volume) = 164±7 nm, d (par nombre de particules) = 79±2 nm. L'échantillon initial de TiO₂ était caractérisé par une taille de 74 nm d'après les images de microscopie électronique en transmission et de 75 nm (par nombre de particules, diffusion dynamique de la lumière) avec $\zeta = -52$ mV à pH ~7 [5]. Le coefficient de diffusion des

nanotubes de carbone augmente également légèrement, correspondant à Z_{ave} de 225 ± 15 nm (indice de polydispersité $0,29 \pm 0,01$). La diffusion électrophorétique de la lumière a indiqué un changement de direction de la migration des nanoparticules dans l'électrophorèse, correspondant à un ζ de $+29 \pm 3$ mV et $+27 \pm 3$ mV (+ est inséré pour distinction) pour le TiO_2 et le NTC, respectivement. Cela indique une modification efficace des nanotubes par revêtement de la surface avec l'enzyme.

Les effets de l'électrolyte sur le comportement colloïdal ont été étudiés en détail (Fig. 1 et 2). À certaines concentrations, le NaCl, le $CaCl_2$ et le Na_2SO_4 déstabilisent les systèmes et induisent une coagulation. Les concentrations critiques de coagulation pour le NaCl, le $CaCl_2$ et le Na_2SO_4 sont plus élevées dans le système « TiO_2 +LSZ » que dans le système « NTC+LSZ ». L'effet de l'électrolyte correspond à l'influence de la force ionique sur la compression de la double couche électrique, à la faible influence du Ca^{2+} et à une certaine adsorption du SO_4^{2-} résultant d'une diminution de la diffusion des contre-ions dans la phase volumique, ce qui réduit la valeur du potentiel zêta et la répulsion des particules.

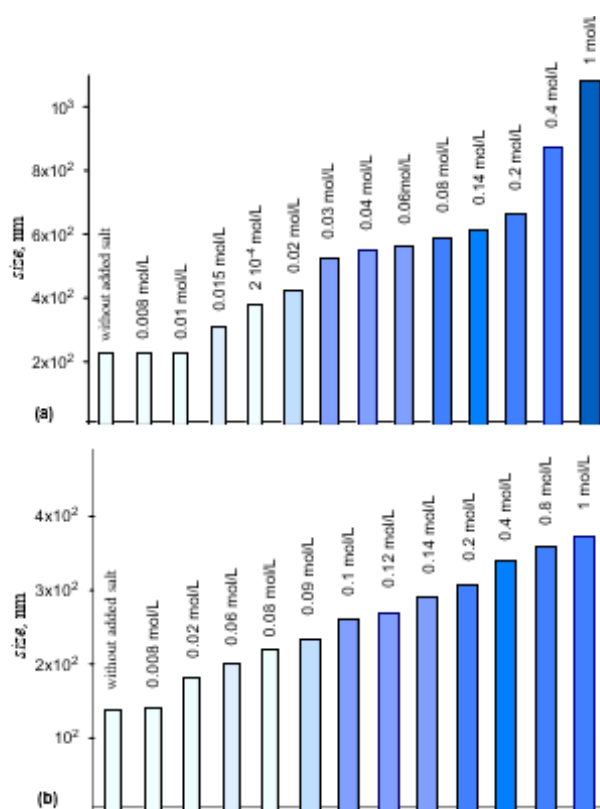


Figure 2. Taille des particules dans une suspension aqueuse de (a) CNT et (b) TiO_2 avec modification de la concentration en NaCl (3 minutes après création ; analyse cumulative des données de diffusion dynamique de la lumière, Zetasizer Nano ZS Malvern). Les valeurs indiquées représentent des nombres relativement arbitraires obtenus à partir d'une dispersion aqueuse instable. Le Z dépend fortement du temps et manque de reproductibilité.

Les concentrations critiques de coagulation pour le NaCl dans le système NTC avec lysozyme par rapport au système NTC d'origine indiquent une diminution de la stabilité colloïdale. La surface initiale des nanotubes est oxydée, dans cet état, les concentrations critiques de coagulation pour le NaCl sont considérées comme élevées. Compte tenu de la structure du LSZ avec 129 résidus, la conclusion était que dans l'état natif, 83 % de la surface est hydrophobe [26, 27]. Les

groupes carboxyles des nanotubes peuvent interagir avec le groupe fonctionnel du LSZ, exposant ainsi la partie hydrophobe à l'interface. Cela peut réduire la stabilité colloïdale des nanotubes oxydés [28]. Cela explique également la capacité réduite à suspendre les NTC dans le LSZ aqueux [29].

La mobilité électrophorétique négative pour la dispersion de nanotubes avec LSZ après 0,4 mol/L de NaCl correspond à la concentration en sel à laquelle l'agrégation susmentionnée a été observée dans le système LSZ natif.

CONCLUSION

Les nanotubes de carbone hydrophobes sont oxydés intentionnellement pour permettre leur utilisation dans un système aqueux. La stabilité du nano- TiO_2 dépend du pH. À l'état colloïdal, elles subissent d'autres modifications en interagissant avec les composants du système. In vivo, les nanoparticules sont exposées à toute une série de protéines, et ce sont les complexes de nanoparticules avec des polypeptides, plutôt que les nanoparticules natives, qui déterminent le comportement du colloïde. Diverses modifications de surface trouvent leur application d'une manière ou d'une autre, par exemple, la modification covalente et non covalente avec du lysozyme conduit à des structures uniques ayant des propriétés antimicrobiennes ; la compression de l'épaisseur de la couche double électrolytique par des électrolytes inorganiques qui réduisent la stabilité colloïdale est utilisée pour la sédimentation des ions métalliques lourds et radioactifs ; etc. L'application rationnelle des nanotubes modifiés dans les systèmes aqueux nécessite de prendre en compte et de contrôler la morphologie de l'interface et les effets qu'ils génèrent.

Le lysozyme est adsorbé de manière non covalente sur la surface des nanotubes in vitro. La modification de la surface a été observée empiriquement en surchargeant la surface des particules en dispersion, qui est restée stable au niveau colloïdal pendant plusieurs semaines d'observation. Ainsi, changer la direction de la migration des nanoparticules dans un système contenant du lysozyme, par exemple, est essentiel dans les applications d'électrophorèse ; la charge formelle positive de la surface modifiée est utile pour charger des formes anioniques de métaux de transition, de médicaments, etc. L'encombrement stérique de la surface revêtue suggère généralement une protection contre l'attraction à courte portée des nanoparticules. Cependant, les concentrations critiques de coagulation étaient inférieures à celles du système sans lysozyme. Ce résultat est prévisible si l'on accepte le fait que 83 % du lysozyme natif est hydrophobe et que l'interaction avec les groupes carboxyles des nanotubes dirige la partie hydrophobe vers l'interface.

REMERCIEMENTS

L'auteur exprime sa gratitude au ministère ukrainien de l'éducation et de la science pour son soutien financier partiel dans le cadre du projet 0124U000968.

RÉFÉRENCES

- [1] Lawal A. T. Recent application of carbon nanotubes in energy storage and conversion devices. *Carbon Trends* 19 (2025) 100470, <https://doi.org/10.1016/j.cartre.2025.100470>.
- [2] Tong Z., Lv C., Bai G. D., Yin Z. W., Zhou Y., Li J. T. A review on applications and challenges of carbon nanotubes in lithium-ion battery. *Carbon Energy* 7(2) (2025) e643, <https://doi.org/10.1002/cey2.643>.
- [3] Shabnum S. S., Siranjeevi R., Raj C. K., Nivetha P., Benazir, K. A

- comprehensive review on recent progress in carbon nanotubes for biomedical application. *Environmental Quality Management* 34(3) (2025) e70040, <https://doi.org/10.1002/tqem.70040>.
- [4] Guo Q., Zhou C., Ma Z., Yang X. Fundamentals of TiO₂ Photocatalysis: Concepts, Mechanisms, and Challenges. *Advanced Materials* 31(50) (2019) 1901997, <https://doi.org/10.1002/adma.201901997>.
 - [5] Usenko E., Glamazda A., Valeev V., Svidzerska A., Laguta A., Petrushenko S., Karachevtsev V. Effect of TiO₂ nanoparticles on the thermal stability of native DNA under UV irradiation. *Applied Physics A* 128(10) (2022) 900, <https://doi.org/10.1007/s00339-022-06043-5>.
 - [6] Scanlon D. O., Dunnill C. W., Buckridge J., Shevlin S. A., Logsdail A. J., Woodley S. M., Catlow C. R. A., Powell M. J., Palgrave R. G., Parkin I. P. Band alignment of rutile and anatase TiO₂. *Nature materials* 12(9) (2013) 798-801, <https://doi.org/10.1038/nmat3697>.
 - [7] Morales-García Á., Macià Escatllar A., Illas F., Bromley S.T. Understanding the interplay between size, morphology and energy gap in photoactive TiO₂ nanoparticles. *Nanoscale* 11(18) (2019) 9032-9041, 10.1039/C9NR00812H.
 - [8] Chang H., Wang Q., Meng X., Chen X., Deng Y., Li L., Yang Y., Song G., Jia H. Effect of titanium dioxide nanoparticles on mammalian cell cycle in vitro: a systematic review and meta- analysis. *Chemical Research in Toxicology* 35(9) (2022) 1435-1456, <https://doi.org/10.1021/acs.chemrestox.1c00402>.
 - [9] Dedman C. J., King A. M., Christie-Oleza J. A., Davies G.-L. Environmentally relevant concentrations of titanium dioxide nanoparticles pose negligible risk to marine microbes. *Environmental Science: Nano* 8(5) (2021) 1236-1255, <https://doi.org/10.1039/d0en00883d>.
 - [10] Kim M., Goerzen D., Jena P. V., Zeng E., Pasquali M., Meidl R. A., Heller D. A. Human and environmental safety of carbon nanotubes across their life cycle. *Nat. Rev. Mater.* 9(1) (2024) 63-81, <https://doi.org/10.1038/s41578-024-00670-5>.
 - [11] Khan M. E., Khan M. M., Min B.-K., Cho M. H. Microbial fuel cell assisted band gap narrowed TiO₂ for visible light- induced photocatalytic activities and power generation. *Scientific Reports* 8(1) (2018) 1723, <https://doi.org/10.1038/s41598-018-19617-2>.
 - [12] Zhao J., Wang Z., White J. C., Xing B. Graphene in the aquatic environment: adsorption, dispersion, toxicity and transformation. *Environ. Sci. Technol.* 48(17) (2014) 9995-10009, <https://doi.org/10.1021/es5022679>.
 - [13] Ibáñez R., Almécija M. C., Guadix A., Guadix E. M. Dynamics of the ceramic ultrafiltration of model proteins with different isoelectric point: comparison of β -lactoglobulin and lysozyme. *Sep. Purif. Technol.* 57(2) (2007) 314-320, <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2007.05.001>.
 - [14] Tomita S., Yoshikawa H., Shiraki K. Arginine controls heat- induced cluster-cluster aggregation of lysozyme at around the isoelectric point. *Biopolymers* 95(10) (2011) 695-701, <https://doi.org/10.1002/bip.21637>.
 - [15] Laguta A. Colloidal Behavior of Oxidized and Lysozyme- Coated Single-Walled Carbon Nanotubes. Analysis via Dynamic and Electrophoretic Light Scattering. *Kharkiv University Bulletin. Chemical Series* 44 (2025) 34-42, <https://doi.org/10.26565/2220-637X-2025-44-03>.
 - [16] Laguta A., Shiknazarov A. Colloidal Stability of Aqueous Suspensions of Bentonite Clays from the Krantau Deposit. Analysis via Dynamic Light Scattering. *Industrial & Engineering Chemistry Research* (2025), <https://doi.org/10.1021/acs.iecr.5c00944>.
 - [17] Laguta A., Mchedlov-Petrosyan N., Kovalenko S., Voloshina T., Haidar V., Filatov D. Y., Trostyanko P., Karbivski V., Bogatyrenko S., Xu L. Stability of aqueous suspensions of COOH-decorated carbon nanotubes to organic solvents, esterification, and decarboxylation. *J. Phys. Chem. Lett.* 13(43) (2022) 10126-10131, <https://doi.org/10.3390/liquids2030013>.
 - [18] Dukhopelnikov E., Blyzniuk I., Berezhnyak E., Gladkovskaya N., Vakula A., Sova K., Laguta A., Kaman O., Kubičková L., Pashchenko M. Proflavine binding to La-Sr perovskite manganite nanoparticles at temperatures above and below the Curie temperature. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 704 (2025) 135465, <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2024.135465>.
 - [19] Joo N.-Y., Lee J., Kim S. J., Park H. M., Yun W. S., Yoon M., Song N. W. Preparation of an aqueous suspension of stabilized TiO₂ nanoparticles in primary particle form. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology* 13(9) (2013) 6153-6159, <https://doi.org/10.1166/jnn.2013.7637>.
 - [20] Li S., Sun W. A comparative study on aggregation/sedimentation of TiO₂ nanoparticles in mono- and binary systems of fulvic acids and Fe (III). *Journal of Hazardous Materials* 197 (2011) 70-79, <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2011.09.059>.
 - [21] Visser J. On Hamaker constants: A comparison between Hamaker constants and Lifshitz-van der Waals constants. *Advances in colloid and interface science* 3(4) (1972) 331-363, [https://doi.org/10.1016/0001-8686\(72\)85001-2](https://doi.org/10.1016/0001-8686(72)85001-2).
 - [22] Bergström L. Hamaker constants of inorganic materials. *Adv. Colloid Interface Sci.* 70 (1997) 125-169, [https://doi.org/10.1016/S0001-8686\(97\)00003-1](https://doi.org/10.1016/S0001-8686(97)00003-1).
 - [23] Maeno Y., Ishikawa A., Nakayama Y. Adhesive behavior of single carbon nanotubes. *Appl. Phys. Express.* 3(6) (2010) 065102, <https://doi.org/10.1143/APEX.3.065102>.
 - [24] Akita S., Nishijima H., Nakayama Y. Influence of stiffness of carbon-nanotube probes in atomic forcemicroscopy. *J. Phys. D: Appl. Phys.* 33(21) (2000) 2673, <https://doi.org/10.1088/0022-3727/33/21/301>.
 - [25] Israelachvili J. N. Intermolecular and surface forces. Academic press 2011.
 - [26] Cao J., Pham D., Tonge L., Nicolau D. Predicting surface properties of proteins on the Connolly molecular surface. *Smart Mater. Struct.* 11(5) (2002) 772, <https://doi.org/10.1088/0964-1726/11/5/323>.
 - [27] Blake C., Koenig D., Mair G., North A., Phillips D., Sarma V. Structure of hen egg-white lysozyme: a three-dimensional Fourier synthesis at 2 Å resolution. *Nature.* 206(4986) (1965) 757-761, <https://doi.org/10.1038/206757a0>.
 - [28] Du P., Zhao J., Mashayekhi H., Xing B. Adsorption of bovine serum albumin and lysozyme on functionalized carbon nanotubes. *J. Phys. Chem. C* 118(38) (2014) 22249-22257, <https://doi.org/10.1021/jp5044943>.
 - [29] Horn D. W., Tracy K., Easley C. J., Davis V. A. Lysozyme dispersed single-walled carbon nanotubes: interaction and activity. *J. Phys. Chem. C* 116(18) (2012) 10341-10348, <https://doi.org/10.1021/jp300242a>.