



HAL
open science

Création et immobilisation de fonctions chloramine et/ou bromamine sur une anode de dioxyde d'étain en eau de mer

Catherine Debiemme, Sanae Haskouri, J. L Duval, Hubert Cachet

► **To cite this version:**

Catherine Debiemme, Sanae Haskouri, J. L Duval, Hubert Cachet. Création et immobilisation de fonctions chloramine et/ou bromamine sur une anode de dioxyde d'étain en eau de mer. *Matériaux & Techniques*, 2006, 94, pp.433 - 439. 10.1051/mattech:2007018 . hal-01729195

HAL Id: hal-01729195

<https://hal.sorbonne-universite.fr/hal-01729195>

Submitted on 12 Mar 2018

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Création et immobilisation de fonctions chloramine et/ou bromamine sur une anode de dioxyde d'étain en eau de mer

C. Debiemme-Chouvy¹, S. Haskouri¹, J.L. Duval² et H. Cachet¹

¹ CNRS-UPR 15, Laboratoire Interfaces et Systèmes Electrochimiques (LISE), Université Pierre et Marie Curie – Paris, France

² UMR CNRS 6600 – Université de Technologie de Compiègne, Laboratoire de Biomécanique et Génie Médical, Compiègne, France
e-mail : huc@ccr.jussieu.fr

Mots-clés :

Dioxyde d'étain ; protéines ; film antibactérien ; chloramine

Résumé – Les agents oxydants sont utilisés couramment pour prévenir la formation de bio-salissures. Ils peuvent être injectés au voisinage de la surface à protéger ou mieux, immobilisés sur cette surface. Dans ce travail, nous montrons le caractère antibactérien acquis par le dépôt organique formé par modification chimique d'une protéine, l'albumine du sérum bovin (BSA), par de l'acide hypochloreux et/ou hypobromeux, électrogénérés à la surface d'une anode de dioxyde d'étain. Les milieux électrolytiques considérés sont des solutions de chlorure de sodium et d'eau de mer naturelle. Les études électrogravimétriques, les observations par microscopie électronique à balayage, complétées par des analyses de surface, montrent la présence d'un film organique épais contenant les éléments chlore et/ou brome, suivant le milieu. Dans ce film, la BSA conserve sa structure primaire, mais subit des modifications chimiques. La stabilité du film organique est améliorée par la présence de cations bivalents comme Ca^{2+} et Mg^{2+} . Il a été montré antérieurement que les éléments Cl et Br étaient incorporés sous forme de fonctions chloramine et/ou bromamine. L'efficacité antibactérienne a été établie en observant la non colonisation de la surface de SnO_2 traitée, par une souche de bactéries *Escherichia coli*, par microscopie à fluorescence.

Key words:

Tin dioxide; proteins; antibacterial film; chloramine

Abstract – Creation and immobilisation of chloramine and/or bromamine groups on tin dioxide anodes in seawater. Oxidising agents are currently used to prevent bio-fouling in two ways, either by injection near the surface to be protected, or better, to be immobilized on the very surface. In this work, it is shown that the organic deposit formed by chemical oxidation of a protein, the bovin serum albumin (BSA), by hypochlorous and/or hypobromous acids, electrogenerated at a tin dioxide anode, presents antibacterial properties. Sodium chloride or natural seawater have been considered as reaction media. Electrogravimetric measurements, scanning electron microscopy observations completed by surface analyses, point out that a chlorine and/or bromine containing, thick organic deposit is formed at the SnO_2 surface. In the film, BSA molecules keep their primary structure but undergo chemical modifications. Film stability was found to be improved in the presence of bivalent cations as Ca^{2+} and Mg^{2+} . It was shown previously that Cl and Br elements are incorporated as chloramine and bromamine groups, respectively. The antibacterial efficiency was demonstrated by observing the surface colonisation by *Escherichia coli* bacteria with fluorescence microscopy, in the presence or not of the chlorinated (brominated) BSA deposit.

P our limiter le développement de bio-salissures, on a recours à des produits chimiques, toxiques vis-à-vis des bactéries et autres micro-organismes. Parmi ces produits biocides, se trouvent les agents oxydants qui agissent chimiquement sur la paroi cellulaire des micro-organismes en perturbant leur métabolisme. Comme biocides oxydants [1], on peut citer le chlore (Cl_2) et ses dérivés (acide hypochloreux, hypochlorite de sodium, hypochlorite de calcium, monochloramine, dichloroisocyanurate de sodium), le brome et ses dérivés (acide hypobromeux, hypobromite et bromamine), dioxyde de chlore (ClO_2) et l'ozone (O_3).

La formule générale des chloramines est $>\text{N}-\text{Cl}$: l'atome de chlore possède un caractère oxydant puisqu'il est au degré d'oxydation (+I) [2].

Texte reçu le 12 juin 2007
accepté le 20 juin 2007

Les chloramines diffusent lentement le chlore, entraînant une désinfection moins agressive que celle produite par l'acide hypochloreux, HOCl. Lorsque le chlore est utilisé comme désinfectant, l'odeur et la saveur de l'eau ont ainsi été améliorées grâce à l'utilisation de chloramines. Les chloramines sont aussi utilisées pour la désinfection des eaux usées, pour celle de l'eau de consommation, et pour la prévention des biofilms dans les systèmes de refroidissement. Les travaux de Momba et al. [3, 4] montrent le rôle important des chloramines pour le traitement des eaux et son efficacité pour empêcher la croissance et l'accrochage des bactéries.

Les chloramines peuvent être formées lors d'une réaction entre de la matière organique se trouvant dans le milieu et l'acide hypochloreux. De très nombreuses études, dans le domaine biomédical, se sont intéressées à l'interaction entre HOCl et les protéines. Cette interaction serait, en particulier, à l'origine des premiers stades de développement de l'athérosclérose. En effet, la myéloperoxidase (enzyme produite par les polynucléaires neutrophiles) catalyse la réaction entre H_2O_2 et les ions chlorure, conduisant à la formation de HClO [5–7], lequel, en excès, peut provoquer des lésions des tissus [8]. Winterbourn et al. [9], puis Hawkins et al. [10–12] ont montré que l'oxydation de protéines par HClO entraîne notamment la formation de groupements chloramine. Ces auteurs ont également montré que l'acide hypochloreux interagit préférentiellement avec les chaînes latérales contenant des fonctions amine primaire, par exemple la lysine, créant des liaisons N-Cl conduisant donc à la formation de groupements chloramine portés par le squelette de la protéine, eux mêmes pouvant évoluer vers la formation de radicaux centrés sur un atome d'azote. Il est à noter que le brome joue un rôle analogue à celui du chlore, l'interaction avec la matière organique conduisant à la formation de groupements bromamine ayant des propriétés oxydantes analogues à celles des chloramines.

Dans ce travail, nous nous intéressons à la formation et à l'action antibactérienne de groupements chloramine et bromamine, en vue d'empêcher la formation d'un biofilm sur une fenêtre de verre immergée en milieu marin. Nous avons montré antérieurement que la formation de tels groupements oxydants pouvait être obtenu à la surface d'un film transparent de dioxyde d'étain ayant

été polarisé à +1,5 V/ECS, au contact d'un milieu contenant des ions chlorure et des protéines comme l'albumine du sérum bovin (BSA) [13]. Dans ces conditions de polarisation, de l'acide hypochloreux est produit par oxydation électrochimique des ions chlorure. Il réagit chimiquement avec les protéines. Ces dernières s'agrègent à la surface de SnO_2 et, en même temps, des fonctions amine portées par des chaînes latérales sont modifiées en fonctions chloramine [14]. Dans cet article, nous présentons plus particulièrement les résultats obtenus en eau de mer naturelle, l'aspect des surfaces modifiées après traitement électrochimique en présence de BSA et l'efficacité biocide de la chloration du film organique ainsi formé vis-à-vis d'une souche bactérienne d'*Escherichia coli*.

Conditions expérimentales

Les films de dioxyde d'étain sont synthétisés par pyrolyse d'un aérosol sur des lames de verre ou sur des quartz piézoélectriques pour les mesures d'électrogravimétrie (coupe AT – 6 MHz – coefficient de sensibilité fréquence/masse : $-75 \text{ Hz } \mu\text{g}^{-1} \text{ cm}^2$ [15]). Dans le contexte des applications antisalissures, les films SnO_2 sont constitués d'une sous-couche dopée au fluor, recouverte d'une couche dopée à l'antimoine, chaque couche ayant une épaisseur de 300 nm [16]. La résistance carré est de l'ordre de 10 ohms. Selon les expériences, nous avons solubilisé de la BSA (Sigma) (masse moléculaire : 66 kD, taille : $14 \times 4 \times 4 \text{ nm}^3$) dans une solution aqueuse de NaCl 0,5 M, ou dans de l'eau de mer naturelle, à des concentrations variant de 0,05 à 0,5 %. Les mesures électrochimiques et électrogravimétriques ont été effectuées dans une cellule à trois électrodes de volume 20 cm^3 . Tous les potentiels sont mesurés par rapport à une électrode de référence au calomel en solution saturée de KCl (ECS).

Les surfaces traitées ont été imagées à l'aide d'un microscope électronique à balayage LEO Stereoscan 440 couplé à un dispositif EDX d'analyse en énergie des rayons X réémis (PGT - Spirit).

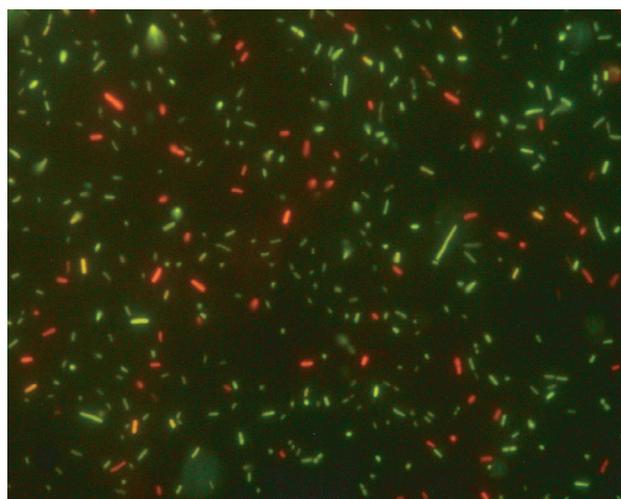
L'étude de l'adhésion et de la croissance bactérienne a été effectuée à l'aide d'une souche d'*Escherichia coli* (*E. coli*) [17]. Les cultures ont été réalisées dans des boîtes de Pétri de diamètre 90 mm, sur lamelles de verre recouvertes par un film de SnO_2 . La concentration bactérienne initiale est de

l'ordre de 2 à 5×10^7 bactéries par mL dans NaCl 0,5 M. Le volume de suspension bactérienne est de 21 mL/boîte. Après 17 heures d'incubation, les lames de verre ont été rincées trois fois à la verticale avec NaCl 0,5 M, puis égouttées en vue des observations par microscopie à fluorescence. La solution bactérienne est préparée dans un bouillon de culture en solubilisant dans de l'eau distillée 8 g/L de peptone (Nutrient Broth de « DIFCO » Réf. 234 000), puis mise à l'autoclave, ajout d'une suspension d'*E. coli* décongelée à raison de 5–8 mL/500 mL de bouillon, puis incubation 17 h à 37 °C.

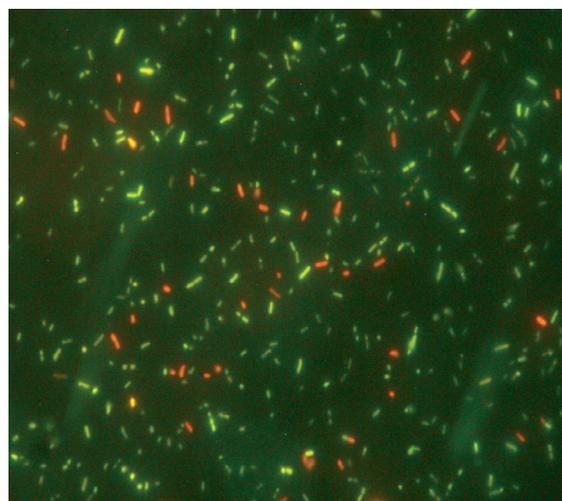
Le principe d'identification des bactéries mortes ou vivantes repose sur l'incorporation sélective de sondes fluorescentes qui marquent l'ADN des bactéries. Selon l'état des parois, la sonde pénètre ou pas. Deux sondes ont été utilisées. La première est l'iodure de propidium. Il est excitable à 488 nm et réémet de la fluorescence rouge. La seconde est l'acridine orange. Il est excitable à 490 nm et réémet de la fluorescence verte. Les observations s'effectuent après l'ajout de volumes égaux des solutions d'acridine orange et d'iodure de propidium. Le microscope à fluorescence utilisé est de type Leica DMLB, équipé d'un appareil photo numérique Nikon Coolpix 995.

Viabilité des bactéries sur le film SnO₂ après polarisation anodique en l'absence de BSA

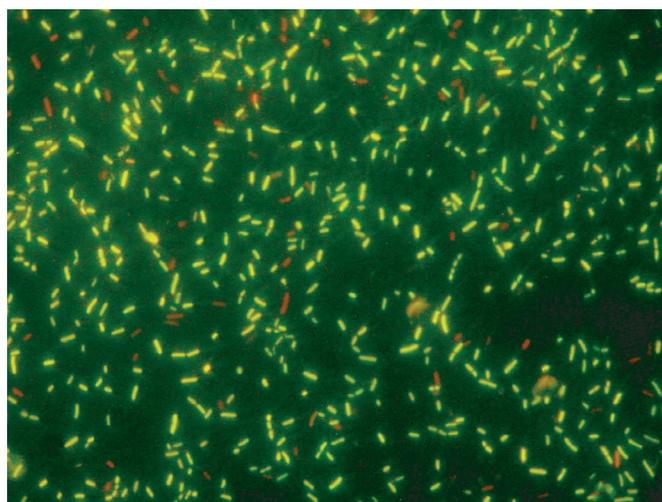
Sous polarisation anodique et en l'absence de BSA, le dégagement d'acide hypochloreux protège en continu la surface du film SnO₂ contre les bio-salissures. Il s'agit là d'un mode de protection actif lié à la production même de HOCl. Toutefois, cette étape ne confère pas à la surface de SnO₂ des propriétés antisalissures comme le montre la figure 1, quel que soit le milieu, artificiel ou naturel. Les images de coloration ont été obtenues par microscopie à fluorescence après 17 heures d'incubation dans un milieu nutritif en présence de 5×10^7 bactéries/mL, sur des surfaces SnO₂ polarisées à + 1,5 V/ECS pendant 1h30 dans NaCl 0,5 M (Fig. 1a) et dans de l'eau de mer naturelle (Fig. 1b). Les deux surfaces de film SnO₂ ayant subi une polarisation anodique ne montrent aucun caractère anti-bactérien, en les comparant avec une surface non traitée (Fig. 1c). La densité bactérienne est sensiblement la même quel que soit l'échantillon.



(a)



(b)



(c)

Fig. 1. Images de bactéries *E. coli* obtenues par microscopie à fluorescence : a) NaCl 0,5 M 1h30, b) eau de mer 1h30 et c) témoin SnO₂.

Fig. 1. Fluorescence microscopy images of *E. coli* bacteria: a) NaCl 0.5 M 1h30; b) natural seawater 1h30; c) SnO₂ reference sample.

Réponses électrogravimétriques de films SnO₂ en présence de BSA

Comme le montre la figure 2, les molécules de BSA s'adsorbent spontanément sur la surface d'un film SnO₂ au potentiel d'abandon. L'exemple présenté ici se réfère au cas de l'eau de mer naturelle. L'adsorption a lieu dès la première minute de mise en contact, la variation de masse du film SnO₂ atteignant 0,8 µg/cm². En faisant l'hypothèse que la structure tertiaire de la BSA est conservée, la quantité théorique de BSA pour former une monocouche est de $1,8 \times 10^{12}$ molécules par cm², soit 0,2 µg.cm⁻² pour une adsorption parallèle à la surface, et de $6,25 \times 10^{12}$ molécules par cm², soit 0,7 µg.cm⁻², pour une adsorption perpendiculaire à la surface. Ainsi, en milieu eau de mer naturelle, les molécules de BSA seraient plutôt organisées perpendiculairement à la surface, la quantité adsorbée restant de l'ordre de la monocouche. Une telle organisation en milieu eau de mer naturelle pourrait provenir de la présence des cations bivalents (Mg²⁺ et Ca²⁺) connus comme éléments stabilisants de la couche protéique adsorbée sur substrat en acier inoxydable [18]. Cet effet stabilisant est bien mis en évidence dans les réponses chronoélectrogravimétriques illustrées dans les figures 3a–c. La figure 3a montre la formation du film organique de BSA lorsque le potentiel de l'électrode est maintenu à +1,5 V/ECS en milieu NaCl 0,5 M + BSA à 0,3 %. Après coupure de la polarisation, on observe une perte de masse régulière indiquant un manque de stabilité de la couche protéique déposée. La situation est différente en présence des cations Ca²⁺ (Fig. 3b) ou Mg²⁺ (Fig. 3c). Les réponses chronoélectrogravimétriques ont été enregistrées dans des solutions NaCl + CaCl₂ et NaCl + MgCl₂, aux concentrations respectives existant dans l'eau de mer, en présence de BSA à 0,3 %. Il n'y a plus perte de masse après coupure du potentiel anodique. Le film organique apparaît stabilisé par la présence de cations bivalents comme ceux présents dans l'eau de mer. Ce résultat peut expliquer la stabilité remarquable obtenue pour le film de BSA formé en eau de mer naturelle [13], propriété cruciale pour des applications antifouling.

En complément de ces études, on a constaté que la quantité de matière protéique déposée sur une électrode de SnO₂ polarisée à +1,5 V/ECS dépendait de la concentration volumique en BSA et de la valeur

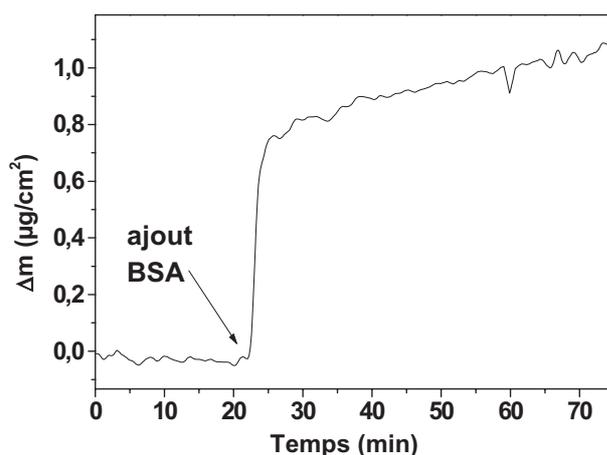


Fig. 2. Variation en fonction du temps de la masse d'une électrode SnO₂ simplement immergée dans de l'eau de mer naturelle en présence de 0,5 % de BSA.

Fig. 2. Time evolution of mass of a SnO₂ electrode simply immersed in seawater in the presence of 0.5% BSA.

de la densité du courant anodique au point de fonctionnement. Des expériences menées jusqu'à présent, on peut conclure qu'il faut maintenir un rapport des concentrations [HClO]/[BSA] suffisamment élevé pour que les molécules de protéines puissent interagir efficacement avec celles de HClO produites électrochimiquement.

Propriétés des films de BSA électrodéposés

L'aspect des films organiques formés de BSA ayant interagi avec HClO produit électrochimiquement est illustré par les images obtenues par microscopie électronique à balayage (Fig. 4). Les images correspondent à un film SnO₂ polarisé dans de l'eau de mer naturelle pendant six heures en présence de BSA. La séparation entre surface traitée et non traitée est nette. Il y a formation d'un film mince mais bien couvrant, à la surface duquel on voit la présence d'agrégats répartis de manière plus ou moins régulière. Le spectre EDX révèle la présence des pics des éléments chlore, brome et magnésium (Fig. 5). A noter l'importance du signal dû au brome par rapport à celui du chlore, alors que les concentrations respectives de ces éléments dans l'eau de mer sont de $7,7 \times 10^{-4}$ et $0,47 \text{ mol.kg}^{-1}$. Concernant le calcium, il n'est pas possible de conclure quant à sa présence ou non, car le pic correspondant est masqué par le signal de l'étain (3,7 keV). On trouve également les pics du carbone et du soufre, qui sont la signature de la matière organique agglomérée à la surface. La détection

de l'élément brome dans le film déposé provient de l'oxydation des ions bromure naturellement présents dans l'eau de mer. Vis-à-vis de l'interaction avec les protéines, les ions bromure et chlorure jouent un rôle symétrique via la formation des espèces HOCl et HOBr, qui selon la littérature, peuvent réagir avec les protéines pour former des liaisons de type >N-Cl [19,20] et >N-Br [21,22]. L'oxydation des ions bromure, via la formation de HBrO, peut conduire à la formation de groupements bromamine dans la matière organique à la surface, comme le font les ions chlorure avec la formation de fonctions chloramine. La présence simultanée d'ions bromure et chlorure dans l'eau de mer permet d'envisager la formation simultanée de fonctions chloramine et bromoamine [23], situation favorable au renforcement d'un possible effet antibactérien.

La réactivité de HOCl et HOBr vis-à-vis des chaînes latérales des acides aminés formant les protéines a fait l'objet de nombreux travaux décrits dans une revue récente [24]. Les acides hypohalogéneux réagissent principalement avec des acides aminés soufrés, tels que la cystéine et la méthionine [25], et avec ceux portant des fonctions amine, tels que la lysine [26]. Les études cinétiques montrent, pour la plupart des systèmes étudiés, des vitesses de réaction beaucoup plus élevées pour HOBr que pour HOCl [24]. La plus grande réactivité de HOBr par rapport à HOCl fait du premier un candidat de choix pour modifier chimiquement des protéines. Du fait de sa composition, l'oxydation électrochimique de l'eau de mer conduit naturellement à la co-production de HOCl et HOBr, combinant ainsi l'action oxydante des deux acides.

Pour montrer le caractère antibactérien d'une surface SnO₂ ainsi modifiée [27], nous présentons ici les observations effectuées par microscopie à fluorescence sur des échantillons de films SnO₂ polarisés anodiquement dans de l'eau de mer naturelle additionnée ou non de protéines. À titre de comparaison, la figure 6a montre la colonisation d'une surface de SnO₂ par *E. coli*, surface initialement polarisée à +1,5 V/ECS en l'absence de BSA. L'image obtenue est très semblable à celle d'un film SnO₂ non traitée (Fig. 1c), montrant une forte colonisation. La polarisation anodique en l'absence de BSA n'est pas suffisante pour produire un effet antibactérien. C'est ce que démontre la figure 6b, pour laquelle, après polarisation à +1,5 V/ECS dans de l'eau de mer en pré-

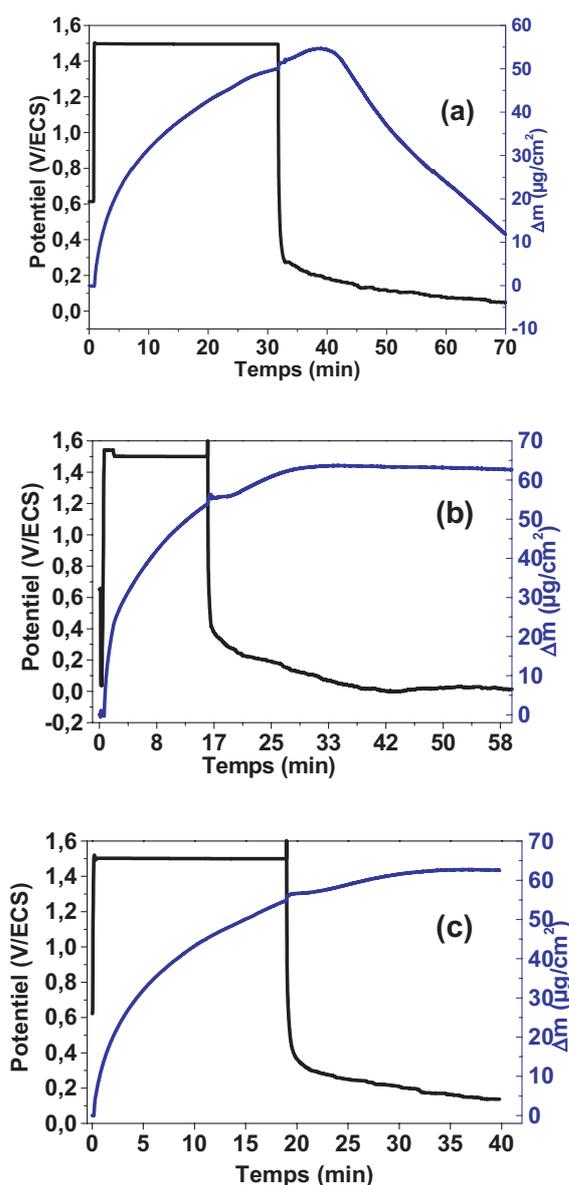


Fig. 3. Réponses chronoélectrogravimétriques d'un film SnO₂ en circuit ouvert, puis maintenu à +1,5 V/ECS, puis à nouveau en circuit ouvert, en présence de BSA à 0,3 % dans : a) 0,5 M NaCl, b) NaCl + CaCl₂ (34,85 g/L + 1,15 g/L), c) NaCl + MgCl₂ (30,8 g/L + 5,2 g/L).

Fig. 3. Mass variation vs. time of a SnO₂ film in open circuit, then held at +1.5 V/SCE, then again in open circuit, in the presence of 0.3% BSA in: a) 0.5M NaCl, b) NaCl + CaCl₂ (34.85 g/L + 1.15 g/L), c) NaCl + MgCl₂ (30.8 g/L + 5.2 g/L).

sence de 0,1 % de BSA (1 mg/mL), la surface est exempte presque totalement de bactéries. Ainsi, dans l'eau de mer, on bénéficie de l'effet conjoint des groupements chloramine et bromamine vis-à-vis des bactéries.

Conclusion

Les résultats présentés ici démontrent que l'anodisation d'un film de SnO₂ dans un milieu chloruré, comme l'eau de mer naturelle,

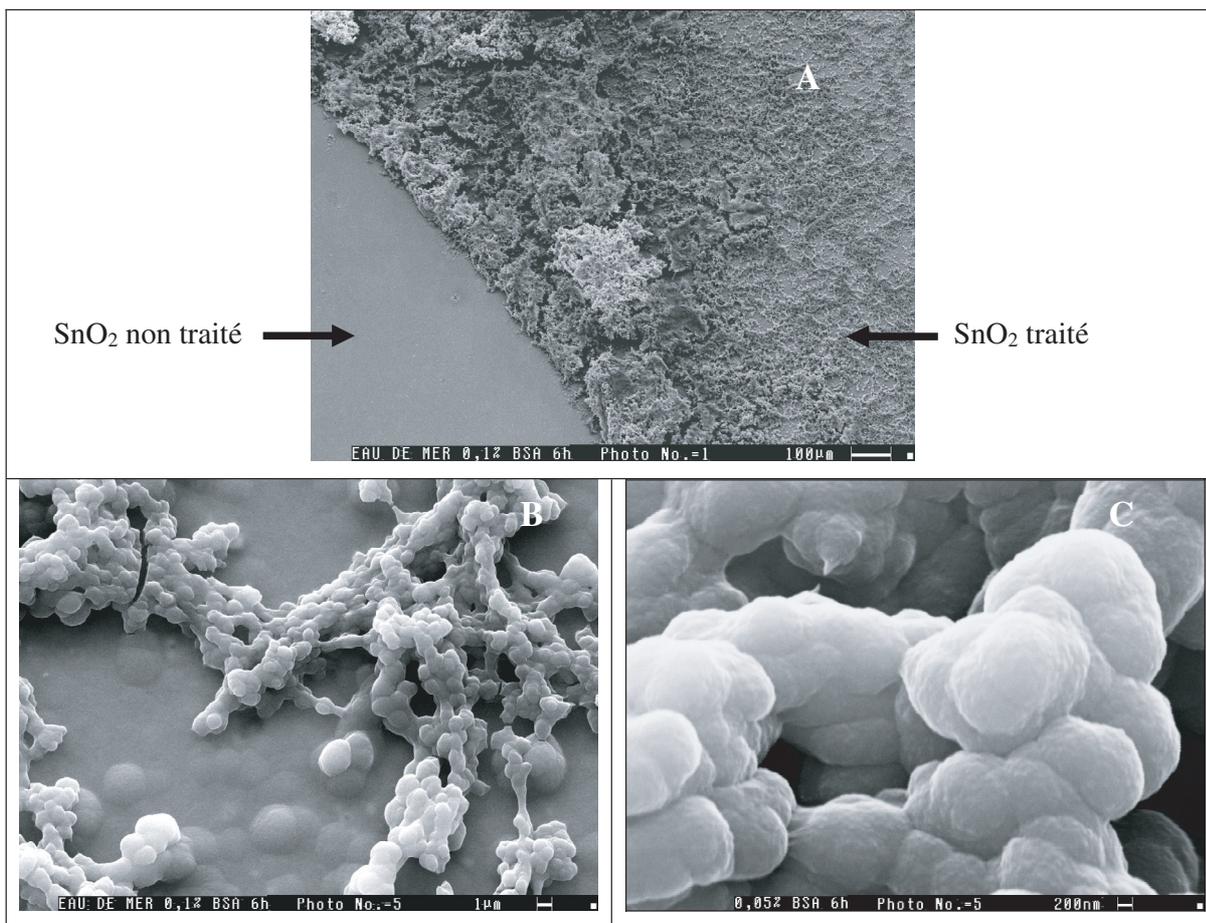


Fig. 4. Observations par microscopie électronique à balayage de la surface de SnO_2 polarisée dans l'eau de mer naturelle pendant 6 heures en présence de BSA à la concentration de 0,1 % a) et b), de 0,05 % c).

Fig. 4. Scanning electron microscopy images of a SnO_2 surface polarised for 6 hours in natural seawater in the presence of 0.1% BSA a) and b), 0.05% BSA c).

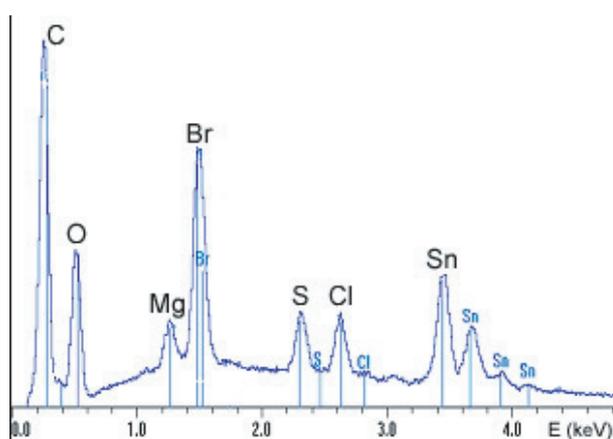


Fig. 5. Spectre EDX d'un film SnO_2 polarisé à +1,5 V/ECS pendant 6 heures dans de l'eau de mer naturelle en présence de BSA à 0,1 %.

Fig. 5. EDX spectrum of a SnO_2 film polarised at +1.5 V/SCE for 6 hours in natural seawater in the presence of 0.1% BSA.

tection antibactérienne. Le film organique formé sur la surface n'acquiert un caractère antibactérien qu'après une étape de polarisation anodique en présence de protéines. L'agrégation et le dépôt en quantité des molécules de BSA ayant fixé du chlore et/ou du brome résultent de la production des acides hypochloreux et hypobromeux par oxydation électrochimique des ions chlorure et bromure, présents dans l'eau de mer. La modification chimique de la BSA, au niveau des chaînes latérales de certains acides aminés, est d'autant plus efficace que la quantité de BSA au voisinage de l'électrode est petite devant les quantités de HClO et HBrO produites.

Les résultats obtenus prouvent clairement que la croissance d'*Escherichia coli* sur la surface de SnO_2 électrochimiquement modifiée en présence de la protéine BSA et d'ions chlorure et/ou bromure est très inférieure à celle obtenue sur les échantillons traités électrochimiquement en absence de

en présence de l'albumine BSA constitue un traitement efficace pour obtenir une pro-

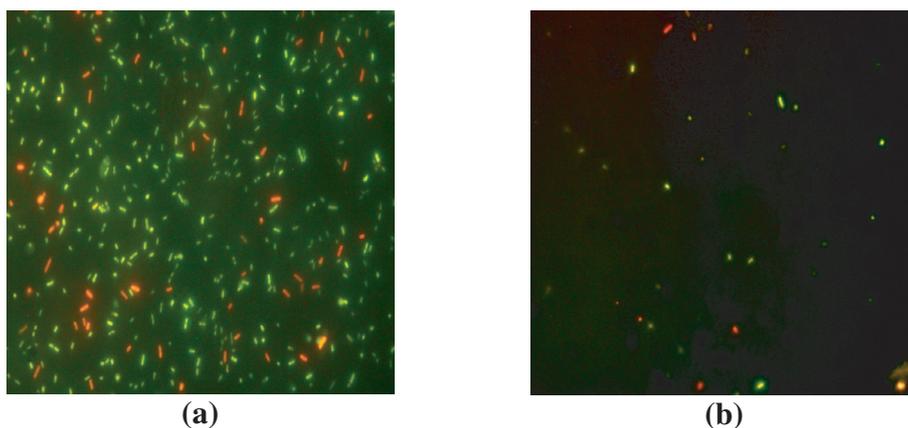


Fig. 6. a) Image de *E. coli* obtenue par microscopie à fluorescence pour un film SnO_2 polarisé dans l'eau de mer à +1,5 V/ECS, en l'absence de BSA, pendant 1h30 ; b) Image obtenue par microscopie à fluorescence après 2 heures de polarisation à +1,5 V/ECS dans l'eau de mer en présence de BSA à 0,1 %.

Fig. 6. a) Fluorescence microscopy images of *E. coli* of a SnO_2 film, polarised at +1.5 V/SCE in seawater for 1h30 in the absence of BSA; b) After being polarised at +1.5 V/SCE for 2 hours in seawater in the presence of 0.1% BSA.

l'albumine et sur ceux simplement immergés dans une solution contenant de l'albumine et des ions chlorure et bromure. Ces résultats précisent les propriétés antibactériennes acquises par ces surfaces de SnO_2 traitées électrochimiquement en eau de mer naturelle ; ces propriétés peuvent être attribuées à la présence conjointe de fonctions chloramine et bromamine immobilisées au sein du dépôt organique.

Remerciements

Ce travail a été réalisé dans le cadre du programme PNIR « Biofilms » du CNRS.

Références

- [1] F. Moran, *Matér. Tech.* **9-10** (2002) 9
- [2] E.L. Thomas, M.B. Grisham, M.M. Jefferson, *Meth. Enzymol.* **132** (1986) 569
- [3] M.N.B. Momba, T.E. Cloete, S.N. Venter, R. Kfir, *Water Res.* **33** (1999) 2937
- [4] M.N.B. Momba, T.E. Cloete, S.N. Venter, R. Kfir, *Water Sci. Technol.* **38** (1998) 283
- [5] A.V. Peskin, C.C. Winterbourn, *Free Rad. Biol. Med.* **40** (2006) 45
- [6] A.V. Peskin, C.C. Winterbourn, *Free Rad. Biol. Med.* **35** (2003) 1252
- [7] A.V. Peskin, C.C. Winterbourn, *Free Rad. Biol. Med.* **30** (2001) 572
- [8] A.L.P. Chapman, R. Senthilmohan, C.C. Winterbourn, A.J. Kettle, *Arch. Biochem. Biophys.* **377** (2000) 95
- [9] C.C. Winterbourn, S.O. Brennan, *Biochem. J.* **326** (1997) 87
- [10] C.L. Hawkins, M.J. Davies, *Biochem. J.* **332** (1998) 617
- [11] C.L. Hawkins, M.J. Davies, *Biochem. J.* **340** (1999) 539
- [12] C.L. Hawkins, M.D. Rees, M.J. Davies, *FEBS Lett.* **510** (2002) 41
- [13] S. Haskouri, H. Cachet, C. Debiemme-Chouvy, R. Warocquier-Clerout, M.D. Nagel, *Matér. Tech.* **93** (7-9) (2005) 135
- [14] C. Debiemme-Chouvy, S. Haskouri, G. Folcher, H. Cachet, *Langmuir* **23** (2007) 3873
- [15] K. Bizet, C. Gabrielli, H. Perrot, *Appl. Biochem. Biotech.* **89** (2000) 139
- [16] H. Cachet, S. Haskouri, G. Folcher, B. Tribollet, D. Festy, *Matér. Tech.* **7-8** (2004) 9
- [17] S. Haskouri, H. Cachet, J.L. Duval, C. Debiemme-Chouvy, *Electrochem. Comm.* **8** (2006) 1115
- [18] C. Poleunis, C. Rubio, C. Compère, P. Bertrand, *Appl. Surf. Sci.* **203-204** (2003) 693
- [19] A.V. Peskin, C.C. Winterbourn, *Free Rad. Biol. Med.* **40** (2006) 45
- [20] C.L. Hawkins, M.J. Davies, *Chem. Res. Toxicol.* **18** (2005) 1600
- [21] A.C. Carr, J.J.M. van den Berg, C.C. Winterbourn, *Biochim. Biophys. Acta* **1392** (1998) 254
- [22] W. Wu, Y. Chen, A. d'Avignon, S.L. Hazen, *Biochemistry* **38** (1999) 3538
- [23] C. Debiemme-Chouvy, S. Haskouri, H. Cachet, *Appl. Surf. Sci.* **253** (2007) 5506
- [24] D.I. Pattison, M.J. Davies, *Curr. Medic. Chem.* **13** (2006) 3271
- [25] C.L. Hawkins, M.J. Davies, *Free Rad. Biol. Med.* **39** (2005) 900
- [26] C.L. Hawkins, M.J. Davies, *Biochem. J.* **332** (1998) 617
- [27] S. Haskouri, H. Cachet, J.L. Duval, C. Debiemme-Chouvy, *Electrochem. Comm.* **8** (2006) 1115