

Université de Montréal

Département de Chimie, Faculté des Arts et des Sciences

Cette thèse intitulée

Assemblage moléculaire d'amphiphiles ioniques induit par une réaction d'appariement ionique générée par un système rédox confiné en surface

Présentée par

Ons Hmam

A été évaluée par un jury composé des personnes suivantes

Patrick Hayes

Président-rapporteur

Antonella Badia

Directeur de recherche

Suzanne Giasson

Membre du jury

Louis Cuccia

Examineur externe

Université de Montréal

**Assemblage moléculaire d'amphiphiles ioniques induit par une réaction d'appariement
ionique générée par un système rédox confiné en surface**

Par Ons Hmam

Département de Chimie

Faculté des Arts et des Sciences

Thèse présentée à la Faculté des études supérieures et postdoctorales

en vue de l'obtention du grade de Philosophiae Doctor (Ph.D.)

en Chimie

Avril 2022

© Ons Hmam, 2022

Résumé

Les membranes cellulaires naturelles sont des structures complexes et posent de nombreux problèmes lorsqu'elles sont étudiées dans leur forme native. Par conséquent, des systèmes modèles lipidiques plus simples sont souhaitables pour étudier les composants des membranes cellulaires et leur interaction avec les molécules biologiques. Immobiliser ces modèles lipidiques sur des surfaces solides métalliques, pour former des bicouches biomimétiques supportées (SLB pour *Supported Lipid Bilayer* en anglais), est encore plus avantageux grâce leur adaptabilité à de nombreuses techniques de caractérisation de surface, telles que la microscopie de force atomique (AFM), la spectroscopie de résonance des plasmons de surface (SPR), l'électrochimie et les spectroscopies vibrationnelles (IR, Raman). Former ces bicouches lipidiques supportées par fusion des vésicules a toujours été la technique la plus adaptée vue sa simplicité et son efficacité. Cependant, cette technique exige des conditions expérimentales critiques comme la nécessité de surfaces planes lisses et hydrophiles (mica, verre...), des vésicules à base de phospholipides zwitterioniques en phase fluide, une concentration élevée en lipides, et une longue durée d'incubation (>1h).

Dans cette thèse, nous visons à développer une nouvelle méthode simple, rapide et polyvalente permettant de former une large gamme de bicouches biomimétiques supportées, de type zwitterionique et anionique, en phase gel et fluide sur un substrat d'or. Cette nouvelle approche consiste en l'utilisation des réactions d'appariement ionique générées par un système rédox confiné en surface pour induire l'assemblage de phospholipides et former la bicouche lipidique.

Le premier objectif de cette thèse est d'étudier le comportement électrochimique d'une monocouche auto-assemblée de ferrocényldodécane-thiolates ($\text{FcC}_{12}\text{SAu}$) en présence de molécules amphiphiles avec des groupes anioniques de types carboxyle (sel d'acide gras) et phosphate (groupes qu'on trouve dans les phospholipides) et une simple chaîne hydrocarbonée. Dans le même contexte, nous viserons également l'utilisation des réactions d'appariement ionique pour induire l'assemblage des surfactants *n*-alkyl carboxylate et *n*-alkyl phosphate à l'interface SAM/électrolyte.

Le second objectif de ce travail de thèse consiste en l'utilisation du système rédox confiné en surface pour déclencher par appariement ionique l'assemblage des phospholipides (molécules amphiphiles à double chaînes hydrocarbonées) pour former des bicouches biomimétiques supportées

sur une surface d'or, à partir de vésicules unilamellaires, à température ambiante et en quelques minutes. La couverture de surface en ferrocènes et l'hydrophobicité/hydrophilicité de la surface seront altérées par la suite pour investiguer l'effet sur la formation des bicouches lipidiques supportées.

Mots-clés : membrane supportée, phospholipide, surfactant anionique, assemblage moléculaire, monocouche auto-assemblée électroactive, ferrocène, oxydoréduction, appariement ionique, fusion des vésicules.

Abstract

Natural cell membranes are complex structures and may present many problems when studied in their native form. It is therefore desirable to have simpler lipid bilayer systems to study the components of cell membranes and their interaction with biological molecules. Immobilizing these lipid membranes on metallic solid surfaces, to form Supported Lipid Bilayers (SLB), is more advantageous due to the integrity with a wide range of surface-sensitive characterization techniques, such as atomic force microscopy (AFM), surface plasmon resonance spectroscopy (SPR), electrochemistry and vibrational spectroscopies (IR, Raman). The preparation of SLBs by vesicle fusion has always been the most suitable technique due to its simplicity and efficiency, but it requires critical experimental conditions such as the need for smooth and hydrophilic flat surfaces (mica, glass...), vesicles based on zwitterionic phospholipids in fluid phase, high lipid concentration, and lengthy SLB preparation times (>1h).

In this thesis, we aim to develop a new simple, fast, and versatile method to form a wide range of supported biomimetic bilayers using zwitterionic and anionic phospholipid vesicles in gel and fluid phase on a gold substrate. This new approach consists in the use of ionic pairing reactions generated by a surface-confined redox system to induce the assembly of phospholipids and form the lipid bilayer.

The first part of this thesis focuses on studying the electrochemical behavior of a self-assembled monolayer of ferrocenyldodecanethiolates ($\text{FcC}_{12}\text{SAu}$) in the presence of amphiphilic molecules containing a carboxyl (fatty acid salt) and phosphate anionic group and a single hydrocarbon chain. This part will also focus on the use of ion-pairing reactions to induce the assembly of *n*-alkyl carboxylate and *n*-alkyl phosphate surfactants at the SAM/electrolyte interface.

The second and main objective of this thesis work was subsequently devoted to the use of the surface-confined redox system to trigger by ion-pairing the assembly of phospholipids (amphiphilic molecules with double hydrocarbon chains) to form biomimetic bilayers supported on a gold surface from unilamellar vesicles at room temperature and within minutes. The surface coverage of ferrocenes and the hydrophobicity/hydrophilicity of the surface will be altered later to investigate the effect on the formation of supported lipid bilayers.

Keywords: Supported membrane, phospholipid, anionic surfactant, molecular assembly, electroactive self-assembled monolayer, ferrocene, redox reaction, ion-pairing, vesicle fusion.

Table des matières

Résumé.....	i
Abstract.....	iii
Table des matières	v
Liste des tableaux.....	ix
Liste des figures	x
Liste des sigles et abréviations.....	xxii
Remerciements.....	xxiv
Chapitre 1 – INTRODUCTION GÉNÉRALE	1
1.1 Objectifs et structure de la thèse.....	1
1.2 Monocouches Auto-Assemblées	6
1.2.1 Structure et préparation	6
1.2.2 Monocouches auto-assemblées électroactives	12
1.2.3 Caractérisation électrochimique des SAMs de ferrocénylalkanethiolates.....	13
1.3 Molécules Amphiphiles.....	20
1.3.1 Surfactants et micellisation.....	20
1.3.2 Paramètre d'empilement.....	22
1.3.3 Adsorption des surfactants aux surfaces.....	23
1.3.4 Appariements ioniques des surfactants avec les ferrocéniums.....	25
1.4 Bicouches Lipidiques Modèles.....	26
1.4.1 Structure de la membrane plasmique	26
1.4.2 Composition lipidique et propriétés physiques des membranes.....	28
1.4.2.1 Les phospholipides	29
1.4.2.2 Transition de phase dans les dispersions aqueuses de phospholipides.....	30
1.4.3 Membranes lipidiques supportées modèles	31

1.4.3.1	Formation par transfert Langmuir-Blodgett/Langmuir-Schaeffer (LB/LS).....	33
1.4.3.2	Formation par fusion de vésicules.....	34
1.5	Techniques d'étude utilisées.....	36
1.5.1	Spectroscopie de résonance des plasmons de surface (SPR)	36
1.5.2	Microscopie à force atomique	41
1.6	Mesure des angles de contacts et énergies de surface	46
1.7	Références	50
Chapitre 2	– Redox-Induced Aggregation of <i>n</i> -Alkyl Anionic Surfactants at Ferrocene-Terminated Self-Assembled Monolayer/Aqueous Interfaces: The Role of Specific Ion-Pairing Interactions	63
2.1	Mise en contexte.....	63
2.2	Abstract.....	64
2.3	Introduction	65
2.4	Experimental Section.....	67
2.5	Results and Discussion.....	70
2.5.1	FcC ₁₂ SAu SAM Electrochemistry in Aqueous Solutions of Anionic Surfactants ...	70
2.5.2	Effect of the Potential Scan Rate on FcC ₁₂ SAu SAM Electrochemistry in Solutions of <i>n</i> -Alkyl Carboxylates	74
2.5.3	Effect of the Alkyl Chain Length of C _{<i>n</i>-1} CO ₂ Na on the FcC ₁₂ SAu SAM Electrochemistry.....	76
2.5.4	Relative Ion-pairing Ability of C _{<i>n</i>-1} CO ₂ Na	79
2.5.5	AFM Imaging of the Redox-Induced <i>n</i> -Alkyl Carboxylate and Phosphate Surface Adsorbate	81
2.5.6	Origin of Specific Ion Interactions of the FcC ₁₂ SAu SAM and Irreversible Adsorption of Alkyl Carboxylate and Phosphate.....	85
2.6	Conclusions	86

2.7 Acknowledgments	87
2.8 Supporting Information	88
2.9 References	94
Chapitre 3 – Metal-Supported Phospholipid Bilayers Formed by Redox Command.....	98
3.1 Mise en contexte.....	99
3.2 Abstract.....	99
3.3 Introduction	100
3.4 Experimental Section.....	101
3.5 Results and Discussions	102
3.5.1 Proof of Principle using Dialkyl Phosphatidylserines.....	102
3.5.2 Other Phospholipids	109
3.5.3 Mechanism for SLB Formation by Redox-Induced Vesicle Fusion	112
3.6 Conclusions	114
3.7 Acknowledgements	115
3.8 Supporting Information	115
3.8.1 Materials and Methods	115
3.8.2 Additional Data	122
3.9 References	133
Chapitre 4 – Gold-Supported Lipid Membranes Formed by Redox-Triggered Vesicle Fusion on Binary Self-Assembled Monolayers: Surface Hydrophilicity Helps When Ion-Pairing is Low....	140
4.1 Mise en contexte.....	140
4.2 Abstract.....	141
4.3 Introduction	142
4.4 Experimental Section.....	146
4.5 Results and Discussions	153

4.5.1 Molecular Heterogeneity of the Binary SAMs versus Ferrocene Surface Coverage	153
4.5.2 Wettability of the Binary SAMs versus Ferrocene Surface Coverage	158
4.5.3	160
Redox-Induced Adsorption of Phospholipid	160
4.5.4 Redox-Induced Supported Lipid Bilayer (SLB) Formation	164
4.5.5 Surface Hydrophilicity Matters	169
4.5.6 Influence of the Phospholipid Phase State and Headgroup	170
4.6 Conclusions	171
4.7 Acknowledgements	171
4.8 Supporting Information	172
4.9 References	177
Chapitre 5 – Conclusions Générales	184
5.1 Conclusions	184
5.2 Perspectives	190
5.3 Références	192

Liste des tableaux

Table 2. 1. Redox Properties of FcC ₁₂ SAu SAMs and Oxidation-Induced Resonance Angle Change in Aqueous Solutions of C ₁₂ SO ₄ Na, C ₁₂ SO ₃ Na, C ₁₁ CO ₂ Na, and C ₁₂ PO ₄ Na ₂ near the cmc at 25 °C.	73
Table 2. 2. Redox Properties of FcC ₁₂ SAu SAMs and Oxidation-Induced Resonance Angle Change in Aqueous Solutions of C _{<i>n</i>-1} CO ₂ Na homologues near the cmc at 25°C. Potential scan rate is 10 mV s ⁻¹ and (1 V s ⁻¹).	79
Table 3. 1. Characteristics of the SLBs Formed by Potential Step-Hold at 25 °C ^a	103
Table 3. S1. Fresnel Layer Model and Optical Parameters Used to calculate the Change in Resonance Angle with Adsorbed Lipid SUVs.....	121
Table 4. 1. Fresnel Layer Model and Optical Parameters Used to Calculate the Change in Resonance Angle with Adsorbed Phospholipid Layer Thickness ($\partial Q_{\min} / \partial d$)	152
Table 4. 2. Thicknesses of SLBs Formed by Potential Step-Hold Determined by AFM ^a and SPR ^b	168
Table 4. S1. Solution mole fraction of ferrocene ($\chi_{\text{Fc soln}}$), anodic peak potential (E_{pa}), ferrocene surface coverage ($\chi_{\text{Fc surf}}$), and surface coverages of the anodic peaks I and II ferrocenium populations for SAMs formed by the co-adsorption of FcC ₁₁ SH and CH ₃ C ₁₁ SH. Values are the mean value and standard deviation of 3 independent SAMs.	172
Table 4. S2. Solution mole fraction of ferrocene ($\chi_{\text{Fc soln}}$), anodic peak potential (E_{pa}), ferrocene surface coverage ($\chi_{\text{Fc surf}}$), and surface coverages of the anodic peaks I and II ferrocenium populations for SAMs formed by the co-adsorption of FcC ₁₁ SH and HOC ₁₁ SH. Values are the mean value and standard deviation of 3 independent SAMs.	172
Table 4. S3. Static water contact angle (θ_w) and corresponding cosine ($\cos \theta_w$).....	173

Liste des figures

- Figure 1. 1.** Représentation schématique du processus d'assemblage moléculaire induit par les réactions d'appariement ionique entre l'anion en solution et le groupement de ferrocénium.....2
- Figure 1. 2.** Illustration d'une monocouche auto-assemblée d'un dérivé ω -alcanethiolates sur une surface d'or.6
- Figure 1. 3.** Illustration des étapes de préparation d'une SAM par adsorption passive d'alcanethiolates sur un substrat recouvert d'un film d'or.8
- Figure 1. 4.** (a) Représentation schématique de l'arrangement d'une SAM d'alcanethiolates sur des monocristaux d'or Au(111). Les cercles blancs et foncés représentent les atomes d'or et les chaînes alkyles, respectivement. Le petit losange montre le réseau Au(111), le plus grand losange montre une maille élémentaire commensurable correspondante à $(3 \times 3)R30^\circ$ ($a = b = 0,497$ nm), et le rectangle représente un super-réseau $c(4 \times 2)$ avec une cellule unitaire rectangulaire composée de quatre molécules distinctes sur la surface Au(111). (b) Représentation schématique de l'arrangement d'une SAM de ferrocénylcanethiolates (FcC_3SAu) sur une surface Au(111). Les cercles et les parallélogrammes oranges représentent les réseaux de soufre et les cellules unitaires de la SAM sans une terminaison ferrocène, respectivement. Les cercles et les parallélogrammes jaunes et verts représentent les réseaux de soufre et les cellules unitaires d'une SAM à terminaison ferrocène (cercles pointillés bleus), respectivement, montrant la distorsion du réseau par rapport à la structure cristalline (flèches bleues). (c) Vue de profil de la SAM de FcC_3SAu sur la surface Au(111), montrant le décalage de la distance entre les atomes de soufre (0,58 nm) et entre les groupes ferrocènes (0,67 nm). Figures tirées des références 65 et 66..... 10
- Figure 1. 5.** Illustration schématique du processus d'appariement ionique des anions en solution avec les groupements de ferrocéniums et la réorientation moléculaire qui l'accompagne selon les données de mesures par spectroscopie infra-rouge. Figure inspirée de la référence 94..... 13
- Figure 1. 6.** Cas idéal d'un voltampérogramme cyclique pour une espèce rédox attachée à une électrode : isotherme de type Langmuir où toutes les espèces rédox adsorbées ont un environnement équivalent et ne subissent aucune forme d'interaction.¹⁰² 16
- Figure 1. 7.** Exemples de voltampérogrammes cycliques dans 100 mM NaClO_4 dans (A) une SAM pure de $\text{Fc}(\text{CH}_2)_{12}\text{SAu}$ et (B) une SAM mixte de $\text{Fc}(\text{CH}_2)_{12}\text{S-CH}_3(\text{CH}_2)_{11}\text{SAu}$ où le $\text{Fc}(\text{CH}_2)_{12}\text{SH}$

est la composante minoritaire dans le système. Les groupements de ferrocènes sont représentés par des sphères rouges.	18
Figure 1. 8. Illustration des régimes dynamiques d'un tensioactif qui amène à la formation de micelles dans une solution aqueuse.	20
Figure 1. 9. Concentration des monomères X_1 libre en solution et des monomères X_N en forme d'agrégats en fonction de la concentration totale $X_1 + X_N$, avec N est la taille de l'agrégat (micelle). Figure modifiée de la référence 121.	21
Figure 1. 10. Diagramme de phase d'un surfactant ionique en solution aqueuse. Figure modifiée de la référence 122.	22
Figure 1. 11. Structures des auto-assemblages de molécules amphiphiles en solution prédites par le paramètre d'empilement P . Figure tirée et modifiée des références 129 et 130.	23
Figure 1. 12. Exemples d'organisations possibles de molécules amphiphiles sur des surfaces solides : (a) monocouches et bicouches, (b) hémimicelles et micelles sphériques, et (c) hémimicelles et micelles cylindriques. Figure inspirée de la référence 131.	24
Figure 1. 13. Image de microscopie à force atomique (AFM) électrochimique d'un film de dodécylsulfate adsorbé sur une électrode d'or durant une application de potentiel. La flèche rouge indique la direction du balayage de la pointe AFM synchronisée avec celle du balayage du potentiel appliqué à l'électrode montrant ainsi le passage d'une organisation hémicylindriques à une bicouche plane. Image AFM (b) tirée de la référence 136.	25
Figure 1. 14. (b) Voltampérogrammes cycliques d'une SAM de $\text{Fc}(\text{CH}_2)_{12}\text{SH}$ dans des solutions de n -alkyl sulfate de sodium (NaC_nSO_4) avec $n = 6$ (surfactants avec les sphères violettes) et 12 (surfactants avec les sphères vertes) pures et mélangées. Les illustrations schématiques indiquent le processus d'appariement ionique (a \rightarrow c) entre les groupes polaires anioniques des tensioactifs en solution et les groupements de ferrocéniums en surface menant à une monocouche interdigitée. Figure tirée de la référence 139.	26
Figure 1. 15. Structure d'une membrane biologique présentée selon le modèle de la mosaïque fluide. Figure tirée et modifiée de la référence 145.	27
Figure 1. 16. Structure chimique d'un phospholipide : suivant la nature du groupe R attaché au groupement phosphate, on différenciera la phosphatidylcholine (PC), la phosphatidyléthanolamine (PE), la phosphatidylsérine (PS), et le phosphatidylglycérol (PG).	29

Figure 1. 17. Représentation schématique des phases gel et fluide d'une bicouche de phospholipides, respectivement avant (conformation quasi toute trans) et après la température de transition T_m (conformation cis et diminution de l'épaisseur).....	31
Figure 1. 18. Illustrations des différentes architectures de bicouches lipidiques supportées (SLBs) : a) SLB libre (<i>free standing</i>), b) SLB attachée à la surface, c) SLB coussinée par des polymères (<i>cushioned SLB</i>), et d) membrane lipidique supportée par une monocouche auto-assemblée (SAM). Figure inspirée des références 183 et 185.....	32
Figure 1. 19. Formation des bicouches lipidiques supportées par A) transfert Langmuir-Blodgett, B) transfert Langmuir-Blodgett/Langmuir-Schaeffer, C) transfert Langmuir-Blodgett suivi de fusion de vésicules, et D) fusion de vésicules. Figure tirée de la référence 195.	34
Figure 1. 20. Les différentes étapes de la formation des bicouches supportées par fusion de vésicules. Figure retirée de la référence 198.	35
Figure 1. 21. (a) Illustration de la configuration ATR/Kretschmann pour l'excitation des plasmons de surface (b) Illustration du champ électromagnétique associé à la propagation des plasmons de surface à l'interface metal/diélectrique. Figure tirée de la référence 214.....	37
Figure 1. 22. Instrument SPR dans la configuration de Kretschmann. (A) Longueur d'onde fixe et interrogation de l'angle incident. (B) Angle incident fixe et variation de la longueur d'onde.....	38
Figure 1. 23. Courbe SPR de réflectivité en fonction d'angle d'incidence (θ) montrant le déplacement du pic SPR suite à l'adsorption de molécules à la surface ($\Delta\theta_{\min}$).	39
Figure 1. 24. Illustration du montage de la spectroscopie de résonance des plasmons de surface combinée avec l'électrochimie (ESPR). Figure reproduite de la référence 216.....	40
Figure 1. 25. (a) Représentation schématique du principe de fonctionnement de l'AFM. (b) Diagramme illustrant les variations dans la déflexion du levier (en volts) en fonction de la distance entre la pointe de l'AFM et la surface. Figures tirées de la référence 223.	42
Figure 1. 26. Représentations schématiques du mode contact (a) et du mode tapping (b). Figures tirées de la référence 224.	44
Figure 1. 27. Diagrammes illustrant une courbe de force lors d'un cycle d'approche-retrait avec le mode PFT. (i) représente le mouvement de la pointe, (ii) représente la déflexion du levier (en volts) en fonction du temps (incluant (A) point rétractée, (B) contact pointe-surface, (C) force maximale appliquée, (D) adhésion pointe-surface et (E) pointe retirée), (iii) représente la déflexion du levier (en volts) en fonction de la position verticale en z du piézo-électrique, et (iv) représente la force	

verticale du levier (en newtons) en fonction de la distance pointe-surface. Figures tirées de la référence 223.45

Figure 1. 28. Schéma représentant les forces appliquées sur une goutte d'eau posée sur un substrat solide.....47

Figure 2. 1. Schematic representation of the oxidation-induced ion pairing of anionic surfactants to a gold-supported FcC₁₂SAu SAM surface.....66

Figure 2. 2. Current density j and resonance angle change $\Delta\Theta_{\min}$ vs. applied potential E for FcC₁₂SAu SAMs recorded at 25°C in aqueous solutions of sodium n -alkyl surfactants at concentrations near the cmc; 10 mM for n -dodecyl sulfate (C₁₂SO₄Na), 10 mM for n -dodecyl sulfonate (C₁₂SO₃Na), 10 mM for sodium dodecyl phosphate (C₁₂PO₄Na₂), and 30 mM sodium dodecanoate (C₁₁CO₂Na). Potential scan rate = 10 mV s⁻¹.71

Figure 2. 3. Cyclic voltammograms (A) and (B) as a function of the potential scan rate ν and corresponding data (C), (D), (E), and (F) for FcC₁₂SAu SAMs in aqueous solutions of sodium octanoate (C₇COONa) at concentration near the cmc (350 mM) and 25 °C. (C and D) Anodic j_a and cathodic j_c peak densities vs. ν . Linear fit of j_a data: $r^2= 0.998$, slope = 0.209 for (D). Linear fit of j_c data: $r^2= 0.9989$, slope = -0.232 for (D). (Insets) Variation of the anodic E_{pa} and cathodic E_{pc} peak potentials as a function of ν . Anodic and cathodic peak areas vs ν . Linear fit of the anodic peak area data: $r^2= 0.9996$, slope = 0.026 for (F). Linear fit of the cathodic peak area data: $r^2= 0.9997$, slope = 0.025 for (F). (Insets) Plot of the anodic Q_a and cathodic Q_c charge densities vs ν . Dashed lines in the insets of (E) and (F) represent the average of each data set.75

Figure 2. 4. Electrochemistry of FcC₁₂SAu SAMs recorded at 25 °C in aqueous solutions of sodium n -alkanoates (C _{$n-1$} CO₂Na) at concentration near the cmc. Bulk concentration of 30 mM for $n = 12$, 100 mM for $n = 10$, 350 mM for $n = 8$, and 1 M for $n = 6$. CVs are acquired at $\nu =$ (A) 10 mV s⁻¹ and (B) 1 V s⁻¹. (Insets) Plots and linear regressions of the anodic peak potential (E_{pa} , $r^2= 0.9156$ for 10 mV s⁻¹ and 0.9896 for 1 V s⁻¹), cathodic peak potential (E_{pc} , $r^2= 0.9876$ for 1 V s⁻¹), and the apparent redox potential of the FcC₁₂SAu SAM (E'_{SAM} , $r^2= 0.9967$ for 1 V s⁻¹) vs. the number of carbons n in the alkanoate chain.77

Figure 2. 5. Current density j vs. applied potential E for FcC₁₂SAu SAMs recorded at 25 °C in aqueous solutions of 50 mM C₇CO₂Na, with and without added electrolyte. Added electrolyte is (A) 10 mM sodium perchlorate (ClO₄Na), (B) 10 mM sodium tetrafluoroborate (BF₄Na), and (C) 10 mM

sodium fluoride (NaF). (Insets) Corresponding resonance angle change $\Delta\Theta_{\min}$ vs. time t . Potential scan rate = 10 mV s^{-1}80

Figure 2. 6. AFM height images recorded under water at ambient temperature and line sections of the $\text{FcC}_{12}\text{SAu}$ SAM surface after one oxidation/reduction cycle at 10 mV s^{-1} in $\text{C}_{11}\text{CO}_2\text{Na}_{(\text{aq})}$ at $25 \text{ }^\circ\text{C}$ (Top images) and $40 \text{ }^\circ\text{C}$ (Top images) at concentrations of 10 mM (A) and (C) and 125 mM (B) and (D).81

Figure 2. 7. AFM height images recorded under water at ambient temperature and line sections of the $\text{FcC}_{12}\text{SAu}$ SAM surface after one oxidation/reduction cycle in 5 mM $\text{C}_{11}\text{CO}_2\text{Na}_{(\text{aq})}$ at $25 \text{ }^\circ\text{C}$. v of (A) 1 mV s^{-1} , (B) 10 mV s^{-1} , (C) 100 mV s^{-1} , and (D) 1 V s^{-1}82

Figure 2. 8. AFM height images recorded under water at ambient temperature and line section of the $\text{FcC}_{12}\text{SAu}$ SAM surface after one oxidation/reduction cycle at 10 mV s^{-1} in $\text{C}_9\text{CO}_2\text{Na}_{(\text{aq})}$ at $25 \text{ }^\circ\text{C}$ and concentration of 100 mM . (A) Before and (B) after nano-shaving.84

Figure 2. 9. AFM height images recorded under water at ambient temperature and line sections of the $\text{FcC}_{12}\text{SAu}$ SAM surface after one oxidation/reduction cycle at 10 mV s^{-1} and 25°C in $\text{C}_{12}\text{PO}_4\text{Na}_{2(\text{aq})}$ of concentration of (A) 2.5 mM , (B) 8 mM and (C) 40 mM85

Figure 2. S1. AFM height images (A) thermally-evaporated gold used for ESPR and (B) template-stripped gold employed for AFM imaging. The root-mean-square roughness is (A) $1.9 \pm 0.3 \text{ nm}$ for areas of $2 \times 2 \text{ } \mu\text{m}^2$ and $0.6 \pm 0.1 \text{ nm}$ inside gold grains, and (B) $0.3 \pm 0.1 \text{ nm}$ over areas of $2 \times 2 \text{ } \mu\text{m}^2$88

Figure 2. S2. Current density j and resonance angle change $\Delta\Theta_{\min}$ vs. time t recorded over 4 oxidoreduction cycles of $\text{FcC}_{12}\text{SAu}$ SAMs, in aqueous solutions of sodium n -alkyl surfactants at $25 \text{ }^\circ\text{C}$ and concentrations half the cmc (black), near the cmc (red), and 4 times higher the cmc (blue); (A) sodium dodecyl sulfate ($\text{C}_{12}\text{SO}_4\text{Na}$), (B) sodium dodecyl sulfonate ($\text{C}_{12}\text{SO}_3\text{Na}$), (C) sodium dodecanoate ($\text{C}_{11}\text{CO}_2\text{Na}$), and (D) sodium dodecyl phosphate ($\text{C}_{12}\text{PO}_4\text{Na}_2$). Potential scan rate = 10 mV s^{-1}89

Figure 2. S3. XPS spectra of the $\text{FcC}_{12}\text{SAu}$ SAM before and after one oxidoreduction cycle at $25 \text{ }^\circ\text{C}$ in 30 mM $\text{C}_{11}\text{CO}_2\text{Na}_{(\text{aq})}$. Fe 2p and S 2p region.90

Figure 2. S4. Cyclic voltammograms of $\text{FcC}_{12}\text{SAu}$ SAMs recorded over 4 successive oxidoreduction cycles at $25 \text{ }^\circ\text{C}$ in 350 mM $\text{C}_7\text{CO}_2\text{Na}_{(\text{aq})}$ at potential scan rates of (A) 10 mV s^{-1} , (B) 1 V s^{-1} , and (C) 5 V s^{-1}90

Figure 2. S5. Cyclic voltammograms recorded for bare gold surfaces at 25 °C. (A) 30 mM $C_{11}CO_2Na$. (B) 1 mM $FcMeOH_{(aq)}$ versus 30 mM $C_{11}CO_2Na_{(aq)}$ and 1.0 mM $FcMeOH_{(aq)}$. Potential scan rate = 10 $mV s^{-1}$. AFM height images captured in deionized-distilled water at ambient temperature of template-stripped bare gold surfaces after one oxidoreduction cycle at 25 °C in (C) 30 mM $C_{11}CO_2Na_{(aq)}$ and (D) 30 mM $C_{11}CO_2Na_{(aq)}$ and 1.0 mM $FcMeOH_{(aq)}$91

Figure 2. S6. AFM images of the height (top) and adhesion force (bottom) recorded at ambient temperature in deionized-distilled water of $FcC_{12}SAu$ SAM surfaces after 1 oxidation/reduction cycle at 10 $mV s^{-1}$ in $C_{11}CO_2Na$ at 25 °C at concentrations below, near, and above the cmc. The maximum surface coverage of adsorbate is obtained near the cmc (surface coverages of 32%, 80%, and 57% from solutions of $C_{11}CO_2Na$ concentrations of 10, 26 and 125 mM, respectively). Above the cmc (125 mM), the surface coverage was lower, but the aggregates were bigger in size (28 ± 3 nm).....92

Figure 2. S7. Current density j and resonance angle change $\Delta\Theta_{min}$ vs. applied potential E for $FcC_{12}SAu$ SAMs recorded at 40°C in aqueous solution of 30 mM sodium dodecanoate ($C_{11}CO_2Na$). Potential scan rate = 10 $mV s^{-1}$93

Figure 2. S8. AFM images of the height (left) and adhesion force (right) recorded at ambient temperature in deionized-distilled water following the passive incubation (open circuit) for 20 min of the $FcC_{12}SAu$ SAM in (A) and (B) 30 mM $C_{11}CO_2Na$, and (C) and (D) 10 mM $C_{12}PO_4Na_2$ at 25 °C. Images show insignificant adsorption.93

Figure 3. 1. Current density j and resonance angle change $\Delta\Theta_{min}$ vs. applied potential E for $FcC_{12}SAu$ SAMs in 50 mM $NaF_{(aq)}$ solutions of SUVs of (A) DMPS and (B) POPS at 25°C. (C) 50 mM $NaF_{(aq)}$. Potential scan rate = 10 $mV s^{-1}$102

Figure 3. 2. Current density j and resonance angle change $\Delta\Theta_{min}$ versus applied potential E for $FcC_{12}SAu$ SAMs at 25°C. 50 mM $NaClO_{4(aq)}$ solution with (A) and without (B) SUVs of DMPS. Phosphate buffer solution consisting of 50 mM KH_2PO_4 and 50 mM K_2HPO_4 with (C) and without (D) SUVs of DMPS. Potential scan rate = 10 $mV s^{-1}$104

Figure 3. 3. (A) Resonance angle change $\Delta\Theta_{min}$ vs. time t for the interaction of SUVs of DMPS and POPS with $FcC_{12}SAu$ SAMs in 50 mM $NaF_{(aq)}$ at 25°C. Open circuit at $t = 0-10$ min, $E = 0.04$ V vs. $Ag/AgCl$ at $t = 10-15$ min, and $E = 0.64$ V at $t = 15-20$ min. Open circuit at $t = 20-25$ min. AFM height images acquired at ambient temperature of the $FcC_{12}SAu$ SAM surfaces after different potential hold times at 0.64 V and rinsing with ultrapure water: (B) DMPS and (C) POPS.106

Figure 3. 4. (A) Force–distance curves for the approach and retraction of an AFM probe to/from SLBs of DMPS and POPS. (B) Depth histograms and (C) scatter plot of the breakthrough vs. adhesion force extracted from the curves (Figure 3.S9, Supporting Information). 108

Figure 3. 5. AFM height images at ambient temperature in ultrapure water with corresponding film thickness histograms generated by force spectroscopy for SLBs formed by holding the FcC₁₂SAu SAM at 0.64 V and 25 °C for 2–5 min in 50 mM NaF_(aq) solutions of SUVs of (A) DLPA, (B) POPG, (C) DPPC, and (D) DOPC. 110

Figure 3. 6. (A) Resonance angle change $\Delta\Theta_{\min}$ vs. time t for the interaction of SUVs of DPPC with FcC₁₂SAu SAMs in phosphate buffer solution (50 mM KH₂PO₄ and 50 mM K₂HPO₄) at 25 °C. Open circuit at $t = 0$ –5 min, $E = 0.64$ V (vs. Ag/AgCl) at $t = 5$ –10 min, and open circuit at $t = 10$ –15 min. (B) AFM height images at ambient temperature and line sections of the FcC₁₂SAu SAM surfaces after different potential hold times at 0.64 V (2 and 5 min) and rinsing with ultrapure water. 111

Figure 3. 7. Schematic representation (not to scale) of possible pathways for the formation of SLBs by redox-induced vesicle fusion on the ferrocenium-terminated SAM surface. (A) Adsorption of SUVs on the SAM surface is driven by ion pairing of the carboxylate or phosphate of the phospholipid headgroup with the electrogenerated ferrocenium. (B) Stress (deformation) induced by the ion-pairing interactions causes isolated SUVs to rupture. (C) Two neighboring vesicles can fuse together before rupturing. (D) The high energy edge of a supported bilayer patch formed by the rupture of a vesicle can cause the rupture of a neighboring vesicle or the collective action of several adjacent vesicles first leads to the rupture of one vesicle (at critical vesicle coverage) whose exposed edge then triggers the rupture of adjacent vesicles.²⁷ 112

Figure 3. S1. 2 $\mu\text{m} \times 2 \mu\text{m}$ AFM height images in ultrapure water of FcC₁₂SAu SAM on (A) thermally-evaporated gold used for ESPR and (B) template-stripped gold employed for AFM imaging of SLBs. The root-mean-square roughness is (A) 1.9 ± 0.3 nm for areas of $2 \times 2 \mu\text{m}^2$ and 0.6 ± 0.1 nm inside gold grains, and (B) 0.3 ± 0.1 nm over areas of $2 \times 2 \mu\text{m}^2$ 116

Figure 3. S2. Current density (j) versus applied potential (E) for thermally-evaporated, bare gold thin film electrodes at 25 °C in (A) 50 mM NaF_(aq) versus SUVs of DMPS in 50 mM NaF_(aq) and (B) 1 mM FcMeOH versus SUVs of DMPS and 1.0 mM FcMeOH in 50 mM NaF_(aq). Potential scan rate = 10 mV s⁻¹. AFM height images in ultrapure water and ambient temperature of template-stripped bare gold thin films after one oxidoreduction cycle at 25 °C in (C) SUVs of DMPS in 50 mM NaF_(aq) and (D) SUVs of DMPS and 1.0 mM FcMeOH in 50 mM NaF_(aq). 122

Figure 3. S3. AFM height images (left) and corresponding adhesion maps (right) at ambient temperature in ultrapure water with line section profiles after 1 cyclic voltammogram in a solution of 50 mM NaF_(aq) without SUVs (A and B) and containing SUVs of DMPS (C and D) and POPS (E and F) at 25 °C. The height profile of the FcC₁₂SAu SAM is indicated in red in C and E 124

Figure 3. S4. AFM images of the height (top) and adhesion force (bottom) at ambient temperature in ultrapure water of FcC₁₂SAu SAM surfaces after 6 oxidoreduction cycles in a solution of 50 mM NaF_(aq) containing SUVs of (A, C) DMPS and (B, D) POPS liposomes at 25 °C. A smooth continuous SLB could not be obtained with multiple oxidoreduction cycles..... 125

Figure 3. S5. AFM images of the height (left) and adhesion force (right) at ambient temperature in ultrapure water following (A,B) passive incubation (open circuit) of the FcC₁₂SAu SAM in a suspension of SUVs of DMPS in 50 mM NaF_(aq) for 20 min and (C,D) applying a potential of 0.04V (vs. Ag/AgCl) for 5 min (bottom) at 25 °C..... 126

Figure 3. S6. $\Delta\Theta_{\min}$ vs. time for the interaction of FcC₁₂SAu SAMs at 25°C with solutions of (A) 50 mM NaClO₄, (B) 50 mM NaF_(aq), and (C) 50 mM KH₂PO₄/ 50 mM K₂HPO₄ with or without SUVs of DMPS. Open circuit ($t = 0-5$ min), $E = 0.64$ V vs. Ag/AgCl ($t = 5-10$ min), and return to open circuit ($t = 10-15$ min). Inset in (C): AFM height image at ambient temperature in ultrapure water with line section profile of the nanoshaved SLB formed after a potential hold of 5 min..... 127

Figure 3. S7. AFM images of the height (top) and adhesion force (bottom) of a FcC₁₂SAu SAM surface following hold times at 0.64 V (vs. Ag/AgCl) of (A,E) 5 s, (B, F) 1 min, (C,G) 3 min, and (D,H) 5 min in a suspension of SUVs of DMPS in 50 mM NaF_(aq) at 25 °C. This time series experiment yields an estimate of the time required to obtain an almost complete coverage of the SAM surface with phospholipid. All images were acquired in ultrapure water at ambient temperature. 128

Figure 3. S8. AFM images of the height (top) and adhesion force (bottom) of a FcC₁₂SAu SAM surface following hold times at 0.64 V (vs. Ag/AgCl) of (A,E) 5 s, (B, F) 1 min, (C,G) 3 min, and (D,H) 5 min in a suspension of SUVs of POPS in 50 mM NaF_(aq) at 25 °C. 128

Figure 3. S9. Typical force–distance curve for the rupture of the SLB bilayer in ultrapure water. 129

Figure 3. S10. AFM height images acquired at ambient temperature in ultrapure water with line section profiles of nanoshaved SLBs formed in 50 mM NaF_(aq) by applying a potential of 0.64V for 5 min at 25 °C. (A) DMPS and (B) POPS. 130

Figure 3. S11. Current density j and resonance angle change $\Delta\Theta_{\min}$ vs. applied potential E recorded for FcC₁₂SAu SAMs in 50 mM NaF_(aq) suspensions of SUVs of (A) DLPA, (B) POPG, (C) DPPC, and (D) DOPC at 25 °C. Potential scan rate = 10 mV s⁻¹. 130

Figure 3. S12. $\Delta\Theta_{\min}$ vs. time t measured at 25 °C upon exposing FcC₁₂SAu SAMs to SUVs of DLPA, POPG, DPPC, and DOPC suspended in 50 mM NaF_(aq). The stability of Θ_{\min} in 50 mM NaF_(aq) was first monitored for 5 min before injection of the SUV suspension (indicated by arrow). Θ_{\min} was monitored for 5 min at open circuit (OC) before applying a potential of 0.04 V (vs. Ag/AgCl) at $t = 10$ min and 0.64 V (vs. Ag/AgCl) at $t = 15$ min. The potential was removed at $t = 20$ min and the SUV suspension was exchanged for 50 mM NaF_(aq). AFM height images of the SAM surface are shown following different hold times at 0.64 V and rinsing with ultrapure water. 131

Figure 3. S13. AFM images of the height (left) and adhesion force (right) at ambient temperature in ultrapure water following the passive incubation (open circuit) of the FcC₁₂SAu SAM in a suspension of SUVs of DPPC in 50 mM NaF_(aq) for 5 min (top) and after applying a potential of 0.04V (vs. Ag/AgCl) for 5 min (bottom) at 25 °C. 132

Figure 3. S14. Current density j and resonance angle change $\Delta\Theta_{\min}$ vs. applied potential E recorded for FcC₁₂SAu SAMs in a suspension of SUVs of DPPC in 50 mM KH₂PO₄/50 mM K₂HPO₄ at 25 °C. Potential scan rate = 10 mV s⁻¹. 132

Figure 4. 1. Schematic representation of the formation of SLBs by redox-induced vesicle fusion on FcC₁₁S/CH₃C₁₁SAu and FcC₁₁S/HOC₁₁SAu SAM surfaces. 144

Figure 4. 2. (A) Chemical structures of the phospholipids employed to form SLBs with their corresponding gel-to-fluid phase transition temperature (T_m). Schematic illustrations of the proposed structures of (B) single-component FcC₁₁SAu SAM and (C) binary FcC₁₁SAu/XC₁₁SAu SAM, where X = CH₃ or OH. Peaks I and II represent respectively (B) FcC₁₁S molecules at gold defect sites and close-packed in domains and (C) phases of dispersed and clustered FcC₁₁S molecules in the binary SAM. 149

Figure 4. 3. Cyclic voltammograms of binary SAMs formed from solutions containing different mole fractions of FcC₁₁SH and (A) CH₃C₁₁SH or (C) HOC₁₁SH. Electrolyte is in 0.100 M NaClO_{4(aq)}. Scan rate is 10 mV s⁻¹ and temperature is 25 °C. Plots of the surface mole fraction of FcC₁₁SAu ($\chi_{\text{Fc surf}}$) as a function of the mole fraction of FcC₁₁SH in the incubation solution ($\chi_{\text{Fc soln}}$): (B) CH₃C₁₁SH and (D) HOC₁₁SH. Dashed lines indicate a 1:1 relation. 154

Figure 4. 4. Mathematical deconvolutions of the anodic peaks of the binary SAMs of different $\chi_{\text{Fc surf}}$ using Gaussian-Lorentzian functions. Left-hand side corresponds to Fc/CH₃ SAMs and right-hand side displays the Fc/OH SAMs. $\chi_{\text{Fc soln}}$ from top to bottom: 1.00, 0.75, 0.50, 0.25, 0.20, 0.10, and 0.05. The black symbols are the data points. The Gaussian and Lorentzian fits are shown in green and blue, respectively, and the sum is in red. 155

Figure 4. 5. Results of the anodic peak deconvolutions. Plot of the percentage contribution of each peak to the total anodic charge versus $\chi_{\text{Fc surf}}$: (A) Fc/CH₃ and (B) Fc/OH. Plot of the anodic peak potential (E_{pa}) versus $\chi_{\text{Fc surf}}$: (C) Fc/CH₃ and (D) Fc/OH. Filled green circles represent peak I and open blue circles are peak II. Values presented are the mean value and standard deviation of three independently prepared SAMs. 158

Figure 4. 6. Plots of the static water contact angle θ_w and corresponding cosine ($\cos \theta_w$) as function of $\chi_{\text{Fc surf}}$ for binary SAMs. (A) and (C) Fc/CH₃. (B) and (D) Fc/OH. Dashed lines in (A) and (B) indicate the 90° lower limit above which surfaces are designated as hydrophobic. Values presented in (A) and (B) are the mean value and standard deviation of θ_w measured for 3–4 droplets per SAM surface. 159

Figure 4. 7. Current density j and resonance angle change $\Delta\Theta_{\text{min}}$ versus applied potential E for cyclic voltammetry sweeps of binary SAMs of different $\chi_{\text{Fc surf}}$ in 50 mM NaF_(aq) solutions containing SUVs of (A) DMPS and (B) POPS at 25°C. Potential scan rate = 10 mV s⁻¹. FcC₁₁S/CH₃C₁₁SAu (left-hand side) and FcC₁₁S/HOC₁₁SAu (right-hand side). 161

Figure 4. 8. Current density j and resonance angle change $\Delta\Theta_{\text{min}}$ versus applied potential E for cyclic voltammetry sweeps of binary SAMs of different $\chi_{\text{Fc surf}}$ in 50 mM NaF_(aq) solutions containing SUVs of POPG at 25°C. Potential scan rate = 10 mV s⁻¹. FcC₁₁S/CH₃C₁₁SAu (left-hand side) and FcC₁₁S/HOC₁₁SAu (right-hand side). 162

Figure 4. 9. Current density j and resonance angle change $\Delta\Theta_{\text{min}}$ versus applied potential E for cyclic voltammetry sweeps of binary SAMs of different $\chi_{\text{Fc surf}}$ in 50 mM NaF_(aq) solutions containing SUVs of (A) DPPC and (B) DOPC at 25°C. Potential scan rate = 10 mV s⁻¹. FcC₁₁S/CH₃C₁₁SAu (left-hand side) and FcC₁₁S/HOC₁₁SAu (right-hand side). 163

Figure 4. 10. Resonance angle change $\Delta\Theta_{\text{min}}$ (black square) after 5 min of potential hold time at 0.64 V and stabilization at open circuit ($t = 15$ min in the corresponding sensograms, **Figure 4. S4**) of (A) FcC₁₁S/CH₃C₁₁SAu and (B) FcC₁₁S/HOC₁₁SAu SAMs of different $\chi_{\text{Fc surf}}$ in 50 mM NaF_(aq) solutions of SUVs of DMPS at 25°C. AFM surface coverage (%) measured over areas of $2 \times 2 \mu\text{m}^2$

(blue hashed bar) (C) FcC₁₁S/CH₃C₁₁SAu and (D) FcC₁₁S/HOC₁₁SAu. Corresponding AFM height images acquired at ambient temperature and line sections. *Height (z) is 12 nm full scale. 165

Figure 4. 11. Resonance angle change $\Delta\Theta_{\min}$ (black square) after 5 min of potential hold time at 0.64 V and stabilization at open circuit ($t = 15$ min in the corresponding sensograms, **Figure 4. S4**) of (A) FcC₁₁S/CH₃C₁₁SAu and (B) FcC₁₁S/HOC₁₁SAu SAMs of different $\chi_{\text{Fc surf}}$ in 50 mM NaF_(aq) solutions of SUVs of POPS at 25°C. AFM surface coverage (%) measured over areas of $2 \times 2 \mu\text{m}^2$ (blue hashed bar) (C) FcC₁₁S/CH₃C₁₁SAu and (D) FcC₁₁S/HOC₁₁SAu. Corresponding AFM height images acquired at ambient temperature and line sections. 165

Figure 4. 12. Resonance angle change $\Delta\Theta_{\min}$ (black square) after 5 min of potential hold time at 0.64 V and stabilization at open circuit ($t = 15$ min in the corresponding sensograms, **Figure 4. S4**) of (A) FcC₁₁S/CH₃C₁₁SAu and (B) FcC₁₁S/HOC₁₁SAu SAMs of different $\chi_{\text{Fc surf}}$ in 50 mM NaF_(aq) solutions of SUVs of POPG at 25°C. AFM surface coverage (%) measured over areas of $2 \times 2 \mu\text{m}^2$ (blue hashed bar) (C) FcC₁₁S/CH₃C₁₁SAu and (D) FcC₁₁S/HOC₁₁SAu. Corresponding AFM height images acquired at ambient temperature and line sections. 166

Figure 4. 13. Resonance angle change $\Delta\Theta_{\min}$ (black square) after 2 min of potential hold time at 0.64 V and stabilization at open circuit ($t = 10$ min in the corresponding sensograms, **Figure 4. S4**) of (A) FcC₁₁S/CH₃C₁₁SAu and (B) FcC₁₁S/HOC₁₁SAu SAMs of different $\chi_{\text{Fc surf}}$ in 50 mM NaF_(aq) solutions of SUVs of DPPC at 25°C. AFM surface coverage (%) measured over areas of $2 \times 2 \mu\text{m}^2$ (blue hashed bar) (C) FcC₁₁S/CH₃C₁₁SAu and (D) FcC₁₁S/HOC₁₁SAu. Corresponding AFM height images acquired at ambient temperature and line section. *Height (z) is 12 nm full scale. 167

Figure 4. 14. Resonance angle change $\Delta\Theta_{\min}$ (black square) after 2 min of potential hold time at 0.64 V and stabilization at open circuit ($t = 10$ min in the corresponding sensograms, **Figure 4. S4**) of (A) FcC₁₁S/CH₃C₁₁SAu and (B) FcC₁₁S/HOC₁₁SAu SAMs of different $\chi_{\text{Fc surf}}$ in 50 mM NaF_(aq) solutions of SUVs of DOPC at 25°C. AFM surface coverage (%) measured over areas of $2 \times 2 \mu\text{m}^2$ (blue hashed bar) (C) FcC₁₁S/CH₃C₁₁SAu and (D) FcC₁₁S/HOC₁₁SAu. Corresponding AFM height images acquired at ambient temperature and line sections. 167

Figure 4. S1. $2 \mu\text{m} \times 2 \mu\text{m}$ AFM height images in deionized-distilled water of FcC₁₂SAu SAM on (A) thermally-evaporated gold used for ESPR and (B) template-stripped gold employed for AFM imaging of SLBs. The root-mean-square roughness is (A) 1.9 ± 0.3 nm for areas of $2 \times 2 \mu\text{m}^2$ and 0.6 ± 0.1 nm inside gold grains, and (B) 0.3 ± 0.1 nm over areas of $2 \times 2 \mu\text{m}^2$ 173

Figure 4. S2. Images of water droplets deposited onto binary SAMs composed of FcC₁₁SAu and CH₃C₁₁SH (left-hand side) or HOC₁₁SH (right-hand side) of different $\chi_{\text{Fc surf}}$ and used for static contact angle (θ_w) measurements. 174

Figure 4. S3. Anodic peak current (j , green) and resonance angle change ($D\Theta_{\text{min}}$, black) extracted at the end of the cathodic segment of the cyclic voltammogram and plotted as function of $\chi_{\text{Fc surf}}$ for binary SAMs of FcC₁₁SAu and CH₃C₁₁SAu (circles) or HOC₁₁SH (squares) in 50 mM NaF_(aq) solutions of SUVs of (A) DMPS, (B) POPS, (C) POPG, (D) DPPC, and (E) DOPC at 25 °C. Potential scan rate = 10 mV s⁻¹. 175

Figure 4. S4. Resonance angle change ($\Delta\Theta_{\text{min}}$) versus time (t) for the interaction of 50 mM NaF_(aq) solutions of SUVs of (A) DMPS, (B) POPS, (C) POPG, (D) DPPC, and (E) DOPC with FcC₁₁S/CH₃C₁₁SAu and FcC₁₁S/HOC₁₁SAu SAM surfaces of different $\chi_{\text{Fc surf}}$ at 25 °C. (A), (B), and (C) open circuit at $t = 0-5$ min, $E = 0.64$ V (vs. Ag/AgCl) at $t = 5-10$ min, and return to open circuit at $t = 10-15$ min. (D) and (E) open circuit at $t = 0-4$ min, $E = 0.64$ V (vs. Ag/AgCl) at $t = 4-6$ min, and return to open circuit at $t = 6-10$ min. 176

Liste des sigles et abréviations

SAM : monocouche auto-assemblée (*self-assembled monolayer*).

FcC₁₂SAu : ferrocényldodécane-thiolate adsorbé sur un substrat d'or.

Fc/Fc⁺ : ferrocène/ferrocénium.

X⁻ : contre-ion (anion).

Å : angstrom.

CMC : concentration micellaire critique (*critical micellar concentration*).

SPR : spectroscopie de résonance des plasmons de surface (*surface plasmon resonance*).

ESPR : spectroscopie de résonance des plasmons de surface couplée à l'électrochimie (*electrochemical surface plasmon resonance*).

Θ_{\min} : angle de résonance minimum.

$\Delta\Theta_{\min}$: changement d'angle de résonance minimum.

$E^{\circ'}$: potentiel redox apparent.

ϵ : constante diélectrique.

d : épaisseur.

t : temps.

SUVs : vésicules unilamellaires petites (*small unilamellar vesicles*).

SLB : bicouche lipidique supportée (*supported lipid bilayer*)

DMPS : 1,2-dimyristoyl-sn-glycéro-3-phospho-L-sérine.

POPS : 1-palmitoyl-2-oléoyl-sn-glycéro-3-phospho-L-sérine.

DPPE : 1,2-dipalmitoyl-sn-glycéro-3-phosphocholine.

DOPC : 1,2-dioléoyl-sn-glycéro-3-phosphocholine.

POPG : 1-palmitoyl-2-oléoyl-sn-glycéro-3-phosphoglycérol.

DLPA : 1,2-dilauroyl-sn-glycero-3-phosphate.

L_{α} : phase fluide.

L_{β} : phase gel.

T_M : température de transition de phase (*melting temperature*).

AFM : microscopie à force atomique (*atomic force microscopy*).

NaClO_4 : perchlorate de sodium.

$\text{C}_{12}\text{SO}_4\text{Na}$: dodécyl sulfate de sodium ou lauryl sulfate de sodium

$\text{C}_{12}\text{SO}_3\text{Na}$: dodécyl sulfonate de sodium

$\text{C}_{11}\text{CO}_2\text{Na}$: dodécanoate de sodium ou laurate de sodium

$\text{C}_9\text{CO}_2\text{Na}$: décanoate de sodium

$\text{C}_7\text{CO}_2\text{Na}$: octanoate de sodium

$\text{C}_5\text{CO}_2\text{Na}$: hexanoate de sodium

$\text{C}_{12}\text{PO}_4\text{Na}_2$: monododécyl phosphate de sodium

NaF : fluorure de sodium.

KH_2PO_4 : dihydrogénophosphate de potassium.

K_2HPO_4 : hydrogénophosphate de potassium.

FcMeOH : hydroxyméthyl de ferrocène.

H_2SO_4 : acide sulfurique.

H_2O_2 : peroxyde d'hydrogène.

PDI : indice de polydispersité (*polydispersity index*).

Remerciements

À travers cette thèse, je souhaite remercier toutes les personnes qui m'ont accompagnée, de près comme de loin, et m'ont soutenue tout au long de ce projet jusqu'à sa concrétisation finale.

Mes vifs remerciements sont d'abord adressés à ma directrice de recherche Antonella. Merci pour votre soutien, votre suivi continu, et votre bienveillance. J'ai acquis dans votre laboratoire une formation solide et polyvalente, et j'ai appris la discipline, la persévérance, et la volonté. Merci aussi d'avoir cru en moi, de m'avoir encouragée et écoutée dans les moments les plus difficiles.

Je tiens également à exprimer une reconnaissance à mon jury de thèse : Patrick Hayes, Suzanne Giasson et Louis Cuccia. Merci d'avoir accepté d'évaluer mon travail et de veiller au bon déroulement de la thèse.

Ce travail ne serait pas aussi riche et instructif sans l'aide de Patricia Moraille. Je la remercie pour la qualité de son encadrement exceptionnel sur l'imagerie des bicouches lipidiques, pour sa patience, sa rigueur et sa disponibilité lors de mes expériences. Je remercie également Michel Lafleur de m'avoir accueillie au début de mon projet dans son laboratoire et d'avoir mis à disposition les équipements et produits nécessaires à la préparation des solutions lipidiques. Merci aussi à Vincent Lemelin pour son temps investi sur les analyses XPS dans le laboratoire de Richard Martel que je tiens à remercier de me permettre d'y avoir accès.

J'ai également une pensée à mes collègues membres de notre laboratoire ; Éric Dionne, Fadwa Ben Amara, Laurianne Gravel-Tatta et Ilknur Eryilmaz. Merci pour votre soutien moral et pour tous les échanges instructifs. J'adresse aussi mon remerciement à Félix Côté-Dubuc, qui a effectué un stage d'été au sein de notre laboratoire et qui m'a permis de bien avancer sur mon dernier projet grâce à la qualité de son travail et sa rigueur. Je tiens à remercier également le corps enseignant du département de chimie de Montréal avec lesquels j'ai partagé une expérience enrichissante en enseignement.

Je remercie Dieu le tout puissant de m'avoir donnée la santé et la volonté d'entamer et de terminer cette thèse. Je remercie du fond du cœur ma mère, mon père, ma sœur et mes deux frères pour leurs encouragements constants qui ne peuvent que me pousser en avant. Merci pour votre amour inconditionnel, votre soutien et vos prières à mon égard. C'est le dernier à mentionner mais c'est la

personne à qui je dois le plus de remerciements, mon cher mari, tu as toujours été à mes côtés, tu as cru en moi et tu m'as soutenue dans les moments les plus difficiles. Je termine par dire à mon fils que tu es ma joie, ma plus grande fierté et ma raison d'exister.

Chapitre 1 – INTRODUCTION GÉNÉRALE

1.1 Objectifs et structure de la thèse

Les membranes cellulaires sont essentielles à la vie de la cellule. La membrane biologique entoure la cellule, définit ses limites et forme une barrière physique et dynamique entre les compartiments intra- et extracellulaires. Elle joue un rôle essentiel dans la communication entre les cellules, la transduction des signaux et le transport ionique.^{1, 2} La membrane biologique est un système très complexe composé d'une bicouche phospholipidique dans laquelle une variété de protéines est intégrée ou ancrée. Saisir la complexité de cette interface entre l'intérieur et l'extérieur des cellules est une tâche ardue et, à ce jour, l'étude des membranes biologiques demeure encore l'un des plus grands défis de la biophysique actuelle. Chaque membrane est composée de dizaines de différents types de lipides et de protéines et chaque type de membrane possède un contenu caractéristique de ses différents constituants. Avoir une bicouche lipidique modèle avec un contrôle sur la composition et la nature est la clé pour surmonter le défi. Les principes biophysiques de la formation des membranes étant très simples (grâce au caractère amphiphilique des lipides), un seul type de lipide suffit pour former des bicouches membranaires dans un environnement aqueux. Ces membranes modèles sont largement utilisées pour étudier les propriétés biophysiques qui sont représentatives de la plupart des systèmes membranaires. Lorsqu'elles sont immobilisées en surface pour former des bicouches biomimétiques supportées (SLB pour *Supported Lipid Bilayer* en anglais), elles forment un système robuste et attrayant grâce à l'intégrité qu'il offre à de nombreuses techniques de caractérisation de surface, telles que la microscopie de force atomique (AFM), la spectroscopie de résonance des plasmons de surface (SPR), l'électrochimie et les spectroscopies vibrationnelles (IR, Raman).³⁻⁸ De ce fait, des progrès significatifs ont été réalisés au fil des années afin de pouvoir développer des méthodes simples et rigoureuses qui permettent de créer des bicouches biomimétiques supportées sur un large éventail de surface et en particulier les surfaces métalliques dont l'or vient au sommet de la liste grâce à sa stabilité chimique et son adaptabilité aux techniques de caractérisations mentionnées auparavant. Parmi ces méthodes, la fusion des vésicules sur la surface cible a toujours été la technique la plus populaire vue sa simplicité et son efficacité, mais elle exige des conditions expérimentales critiques comme la nécessité de surfaces planes lisses et hydrophiles comme le mica⁹, le verre^{10, 11}, et les oxydes métalliques (SiO₂, TiO₂)^{3, 12}, et une longue

durée d'incubation (>1h). En contrepartie, les vésicules ne s'adsorbent généralement pas ou restent intactes sur les surfaces métalliques avantageuse comme l'or, puisque l'énergie d'adhésion vésicule-substrat n'est pas suffisamment forte.^{3, 13-15} A cet égard, plusieurs travaux de recherches ont été investies sur le développement de méthodes qui permettent de contourner ces problèmes. Parmi ces méthodes, on trouve la fusion de vésicules sur des surfaces métalliques fonctionnalisées par une monocouche auto-assemblée d'alcanethiols (SAM) ou une couche de polymère,¹⁶⁻²⁰ la fusion de vésicules assistée par échange de solvants,^{15, 21, 22} et l'approche de fusion de vésicules induite par les peptides^{23, 24}. Néanmoins, ces méthodes requièrent toujours des paramètres spécifiques tels que des vésicules lipidiques de nature zwitterioniques en phase fluide, une concentration élevée en lipides, l'utilisation de solvants organiques qui ne sont pas compatibles pour les protéines membranaires, et un temps de préparation de bicouches long.²⁵ Par conséquent, la recherche d'une méthode polyvalente et simple est toujours en cours.

Par la présente thèse, nous souhaitons développer une nouvelle approche rapide, simple et solide qui permet de former un large éventail de bicouches biomimétiques supportées en phase gel et fluide sur un substrat d'or. Cette nouvelle approche consiste en l'utilisation des réactions d'appariement ionique générées par un système rédox confiné en surface pour induire l'assemblage de phospholipides et former la bicouche lipidique (**Figure 1. 1**).

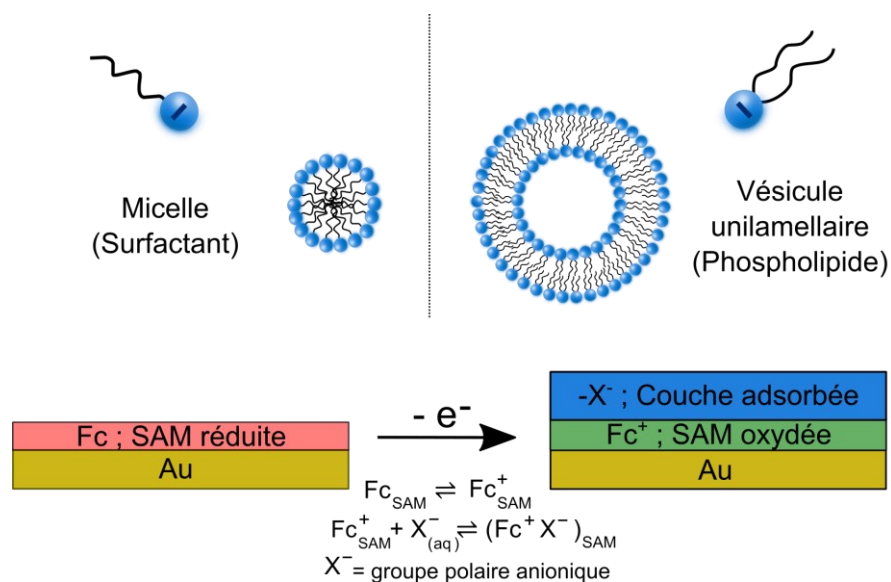


Figure 1. 1. Représentation schématique du processus d'assemblage moléculaire induit par les réactions d'appariement ionique entre l'anion en solution et le groupement de ferrocénium.

Les monocouches auto-assemblées (SAMs pour *Self-Assembled Monlayers* en anglais) de ferrocénylalkanethiolates (FcC_nSAu) constituent une plateforme attrayante pour un large éventail d'applications dans divers domaines de la nanotechnologie et de l'industrie énergétique, tels que les capteurs chimiques et biologiques,²⁶⁻²⁸ la biotechnologie,^{29, 30} les dispositifs électroniques moléculaires,³¹⁻³³ l'électrochimie³⁴ et les transistors à effet de champ organiques.³⁵ L'oxydation électrochimique de l'espèce rédox ferrocène (Fc) en ferrocénium (Fc^+) implique des réactions de transfert d'électron et d'appariement ionique avec l'anion en solution ; $\text{Fc}^+_{(\text{SAM})} + \text{X}^-_{(\text{aq})} \rightleftharpoons (\text{Fc}^+\text{X}^-)_{(\text{SAM})}$.³⁶ Cet appariement ionique est nécessaire afin de stabiliser les cations oxydés et neutraliser l'excès de charges positives créées à l'interface SAM/électrolyte. Vu la nature hydrophobe de l'environnement du ferrocène, les anions monovalents faiblement hydratés (tels que PF_6^- , ClO_4^- , et BF_4^-) s'associent plus efficacement avec le ferrocénium oxydé.³⁷⁻³⁹

1) Dans un premier temps, nous souhaitons étudier le comportement électrochimique de la SAM électroactive de ferrocényldodécane-thiolates ($\text{FcC}_{12}\text{SAu}$) en présence de tensioactifs amphiphiles avec un groupe anionique de type carboxyle (sel d'acide gras ; *fatty acid soap*) et de type phosphate. Ces types de surfactants partagent avec les phospholipides le caractère amphiphile (tête polaire et chaîne(s) hydrocarbonée(s) hydrophobe(s)) et la présence de groupes carboxyle et phosphate. Pour cette raison, une série de surfactants est utilisée ayant la même longueur de chaîne alkyle mais des groupes polaires différents; *n*-dodécyl sulfate ($\text{C}_{12}\text{SO}_4\text{Na}$), *n*-dodécyl sulfonate ($\text{C}_{12}\text{SO}_3\text{Na}$), *n*-dodécyl carboxylate ($\text{C}_{11}\text{CO}_2\text{Na}$) et *n*-dodécyl phosphate ($\text{C}_{12}\text{PO}_4\text{Na}_2$). Ces différents tensioactifs permettront d'avoir une meilleure comparaison de l'effet de la nature du groupe anionique sur le comportement électrochimique de la SAM de ferrocène, et ce en utilisant la voltampérométrie cyclique combinée à la spectroscopie de résonance des plasmons de surface (SPR). Par la suite, les réactions d'appariement ioniques seront utilisées pour induire l'assemblage des surfactants *n*-alkyl carboxylate et *n*-alkyl phosphate à l'interface SAM/électrolyte (**Figure 1. 1**) et la microscopie à force atomique (AFM) sera également utilisée pour détecter la présence de ces assemblages.

2) Les bicouches lipidiques supportées feront l'objet des chapitres 3 et 4.

Le troisième chapitre sera une preuve de concept et une étude complète d'une nouvelle approche qui permet de former des bicouches biomimétiques supportées sur une surface d'or à partir de vésicules unilamellaires. L'approche qu'on présente est une avancée conceptuelle dans la préparation des bicouches supportées. Elle est simple, rapide, compatible avec les phospholipides

chargés négativement et zwitterioniques, insensible à l'état de phase du phospholipide (gel ou fluide), et n'est pas limitée aux surfaces hydrophiles. Plusieurs lipides sont utilisés dans cette étude (DMPS, POPS, DPPC, DOPC, POPG, et DLPA) qui incluent des phospholipides chargés négativement (PS, PG, et PA) et ceux avec une charge globale neutre (PC), ainsi que des phospholipides qui se trouvent à la température ambiante sous forme gel (DMPS, DPPC, et DLPA) et sous forme fluide (POPS, DOPC, et POPG). La voltampérométrie cyclique combinée à la spectroscopie de résonance des plasmons de surface (SPR) sont utilisées pour étudier le comportement électrochimique de la SAM de ferrocényldodécane-thiols (FcC₁₂SAu) en présence de vésicules lipidiques. Des solutions de vésicules unilamellaires petites (SUVs pour *Small Unilamellar Vesicles* en anglais) sont préparées et la fusion de vésicules en surface est déclenchée en appliquant un potentiel, auquel la concentration en surface du ferrocénium électrogénéré est maximale, et le maintenir pendant une durée allant seulement de 2 à 5 minutes avant de retourner au circuit ouvert. Afin de caractériser les bicouches lipidiques obtenues, la spectroscopie de résonance des plasmons de surface (SPR), la microscopie à force atomique (AFM), et la spectroscopie de force sont utilisées.

Enfin, dans le quatrième chapitre, nous explorons les effets de la couverture de surface en ferrocènes et de l'hydrophobicité/hydrophilicité de la surface sur la formation des bicouches lipidiques supportées en utilisant l'approche électrochimique afin de résoudre l'importance relative des interactions d'appariement ionique par rapport à la densité de charge de la surface. La réduction dans la couverture de surface en ferrocènes par l'introduction de molécules diluants non électroactives dans le SAM permet d'atténuer l'encombrement stérique des têtes de ferrocènes dans la SAM, de faciliter ainsi les interactions d'appariement ionique entre les groupes de ferrocènes et les groupes polaires des lipides, et de produire une mobilité plus élevée aux bicouches lipidiques, notamment en présence d'un diluant hydrophile. Pour ce fait, des SAMs binaires, avec différentes concentrations en ferrocènes ($\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}}$), sont préparées par coadsorption du ferrocénylalkanethiols avec un alcanethiol électrochimiquement inerte à terminaison hydroxyle ou méthyle, tout en gardant le même nombre d'unités de méthylènes. Les SAMs de FcC₁₁S/CH₃C₁₁SAu révélera l'influence de la concentration en surface du ferrocène sur des surfaces ayant une hydrophobicité quasi-constante. Les SAMs de FcC₁₁S/HOC₁₁SAu révélera l'effet de la diminution de la concentration de ferrocènes et de l'augmentation simultanée de l'hydrophilicité de la surface sur la fusion des vésicules induite par l'appariement ionique. Les conditions expérimentales, telles que ; la taille et la concentration des

vésicules, la température et la concentration de l'électrolyte de base sont maintenues constantes, et l'adsorption induite par l'application du potentiel est suivie en temps réel par ESPR.

Cette thèse se compose des cinq chapitres suivants ;

Chapitre 1 : Ce chapitre présentera les concepts de base nécessaires pour comprendre le contenu des chapitres des projets de thèse. Il portera sur les points suivants : Les monocouches auto-assemblées électroactives, les molécules amphiphiles et le processus de leur assemblage en solution et en surface, et les bicouches lipidiques modèles supportées ainsi que les méthodes de formation.

Chapitre 2 : Hmam O., Badia A. ; Redox-Induced Aggregation of *n*-Alkyl Anionic Surfactants at Ferrocene-Terminated Self-Assembled Monolayer/Aqueous Interfaces: The Role of Specific Ion-Pairing Interactions. **Article en préparation pour soumission au journal *Electrochimica Acta*.**

Chapitre 3 : Hmam O., Badia A. ; Metal-Supported Phospholipid Bilayers Formed by Redox Command. *Advanced Materials Interfaces*, 2022, 9, 2101289.

Chapitre 4 : Hmam O., Côté-Dubuc F., Badia A. ; Gold-Supported Lipid Membranes Formed by Redox-Triggered Vesicle Fusion on Binary Self-Assembled Monolayers: Surface Hydrophilicity Helps When Ion-Pairing is Low. **Article soumis dans *ACS Applied Materials and Interfaces*, révision demandée.**

Chapitre 5 : Ce chapitre contient les principales conclusions générales de ce travail de thèse et fournit les différentes perspectives pour des nouveaux travaux futurs.

1.2 Monocouches Auto-Assemblées

1.2.1 Structure et préparation

Les monocouches auto-assemblées (self-assembled monolayers ou SAMs) se forment par l'adsorption chimique spontanée d'adsorbats organiques, sur des surfaces métalliques ou semi-conducteurs solides (Au, Ag, Pt, Cu, Hg), donnant des structures organisées, compactes et stables.⁴⁰ L'auto-assemblage moléculaire est l'une des approches les plus populaires pour la fonctionnalisation et la modification des propriétés interfaciales des surfaces qui a attiré une attention considérable durant les deux dernières décennies. Elles sont ultraminces (1–3 nm d'épaisseur) et sont considérées comme un enjeu fondamental dans plusieurs applications telles que l'électronique moléculaire,³¹⁻³³ les cellules solaires,⁴¹ le stockage d'énergie, la catalyse et les processus biologiques.^{27, 28}

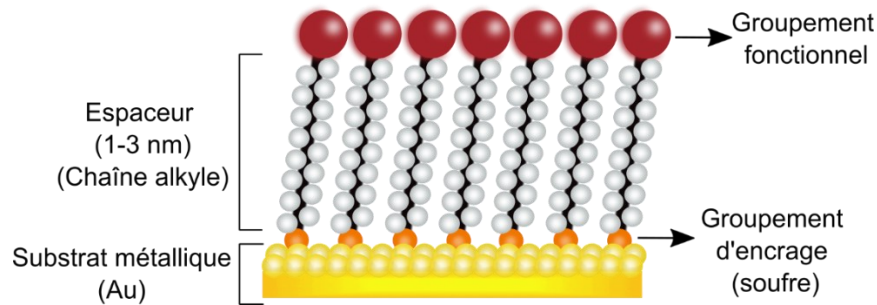


Figure 1. 2. Illustration d'une monocouche auto-assemblée d'un dérivé ω -alcanethiolates sur une surface d'or.

La **Figure 1. 2** montre une illustration typique d'une monocouche formée sur une surface d'or et ses différentes composantes. Les monocouches possèdent toutes une structure similaire et sont composées de trois parties distinctes peu importe le substrat métallique sous-jacent utilisé :

- i. Un groupement ligand ou d'encrage, ayant une grande affinité avec le substrat, qui donne la force motrice initiale de l'assemblage et qui stabilise les molécules en surface par des réactions largement covalentes, très robustes et réversibles (40–50 kcal/mol), ce qui permet aux molécules de s'interagir pour arriver à une structure compacte. Des exemples de paires adsorbat-substrat couramment utilisées pour générer des SAMs incluent : (i) les acides carboxyliques sur l'oxyde d'aluminium ou l'argent, (ii) les alcools, les amines et les isonitriles sur le platine, (iii) les dérivés d'alkylsilane sur les surfaces hydroxylées, (iv) les sulfures de

- dialkyle et les disulfures de dialkyle sur l'or, et (v) les alcanethiols sur les métaux tels que l'or, l'argent et le cuivre, et les non-métaux tels que le GaAs, l'InP et l'oxyde d'indium et d'étain.⁴²
- ii. Un groupe espaceur, qui est généralement une chaîne alkyle, qui confère à la monocouche son épaisseur et permet le changement de la conductivité électrique et les propriétés optiques locaux. Les chaînes alkyles contribuent à la stabilité et l'organisation au sein de la monocouche grâce aux interactions van der Waals inter-chaînes. La variation des interactions dans cette région peut modifier considérablement les propriétés de la monocouche.
 - iii. Un groupement chimique fonctionnel terminal qui permet de contrôler les propriétés interfaciales de la surface comme la mouillabilité,⁴³ la friction/lubrification⁴⁴, l'adhésion^{45, 46}, et la protection contre la corrosion^{47, 48}. Ce groupe dirige les propriétés physico-chimiques de la surface et définit la structure finale de la monocouche grâce aux interactions van der Waals, forces électrostatiques ou ponts hydrogènes entre les groupements terminaux tels que –OH et –COOH. Le vaste choix des groupes fonctionnels confère aux SAMs leur grande versatilité.

Toutes les composantes d'une SAM jouent un rôle essentiel dans son ordre, son orientation, sa densité moléculaire de surface et sa réactivité par rapport à l'environnement externe.

Les SAMs à base d' ω -alcanethiolates (ω signifie que le groupement fonctionnel est lié à l'extrémité de la molécule) sont très connues par leur stabilité et haute solidité sur les surfaces métalliques à l'air ambiant et en milieu liquide. Elles sont faciles à former et l'épaisseur ainsi que les propriétés de surface, que génèrent ces films, peuvent être aisément ajustées. Afin d'avoir une stabilité similaire mais de switcher à une surface hydrophile, le groupement méthyle terminal peut être changé à un groupement polaire (amine, alcool, ...). Depuis un certain temps, la recherche sur les SAMs s'est concentrée sur la conception d'un système qui peut changer de propriétés en réagissant à des stimuli externes (*switchable systems*), tels qu'un potentiel électrique, un photon lumineux, un changement de température ou changement chimique. Ces systèmes dynamiques jouent un rôle essentiel dans la composition des dispositifs microfluidiques, électromécaniques et optoélectroniques.³³

La formation spontanée des monocouches hautement ordonnées par auto-assemblage à l'interface liquide-solide a été découverte par Zisman en 1946, qui a démontré que diverses molécules organiques polaires (telles que le n-icosanol) dissoutes dans différents solvants organiques pouvaient s'adsorber sur du platine pour former des couches d'une molécule d'épaisseur.⁴⁹ Cette technique a

pris plus d'attention avec les travaux de Sagiv, et est considérée depuis, la technique fondamentale de fonctionnalisation de surface.^{50, 51} En 1983, Nuzzo et Allara ont démontré la formation spontanée d'un groupement thiolate (RS^-) des organosulfures (thiol ou disulfure) au contact de l'or et l'obtention d'une monocouche stable à base d'alcanthiols sur des substrats recouverts d'une mince couche d'or.⁵² Cette découverte a rendu des SAMs un des sujets les plus abordés dans les recherches scientifiques vue que l'or est un métal qui attire l'attention grâce à son inertie chimique sous les conditions atmosphériques, ce qui enlève le risque de formation d'oxydes qui peuvent nuire à la formation d'une structure stable, et vue la grande affinité et la stabilité chimique entre le soufre et l'or ($146-210 \text{ kJ/mol}$)^{53, 54} ce qui permet l'utilisation de ce métal sans traitement ni fonctionnalisation préalable. Les couches minces d'or sont aussi compatibles avec plusieurs techniques de caractérisation de surface, telles que la spectroscopie IR, la spectroscopie des plasmons de surface et l'électrochimie.

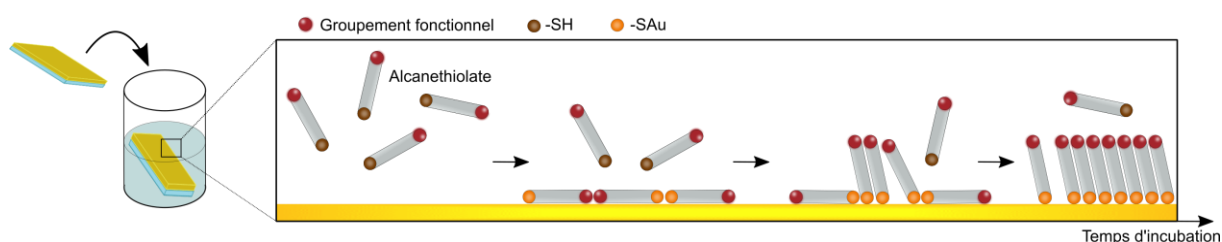


Figure 1. 3. Illustration des étapes de préparation d'une SAM par adsorption passive d'alcanethiols sur un substrat recouvert d'un film d'or.

Contrairement à d'autres techniques (Langmuir-Blodgett), la méthode de préparations des monocouches par auto-assemblage est très simple et ne nécessite aucun instrument spécifique. La surface d'un substrat solide (tel que le verre, le silicium, le mica) est recouverte d'un mince film d'or déposé par évaporation ohmique, par déposition physique en phase vapeur, par faisceau électronique (*e-beam*), ou par pulvérisation cathodique (*sputtering*).⁴⁰ Le substrat est incubé par la suite dans une solution d'alcanethiols dissous dans un solvant organique (éthanol) à une concentration diluée (0.2–2 mM) durant 6 à 12 heures à température ambiante et à l'abri de la lumière. Le substrat est ensuite rincé avec le solvant utilisé pour l'incubation pour éliminer les molécules physisorbées, de l'eau pour vérifier la mouillabilité de la surface, et finalement, séché par un gaz inerte (azote ou argon).

L'auto-assemblage des molécules organiques en surface est un processus de chimisorption/physisorption complexe et complètement dirigée par la thermodynamique. Plusieurs facteurs peuvent induire l'imperfection au sein d'une monocouche; la propreté du substrat et la morphologie du film métallique (qui peut créer des défauts intrinsèques), la pureté de la solution d'incubation, sa concentration,^{55, 56} le choix du solvant d'incubation,⁵⁷ la température,⁵⁸ et le temps d'immersion (qui peuvent créer des défauts extrinsèques : facteurs externes). Ces différents paramètres ainsi que les différentes interactions latérales non covalentes (par exemple, les interactions de van der Waals) peuvent être maîtrisés afin de contrôler aussi la cinétique du processus de la formation des SAMs.⁵⁴ Ce processus suit approximativement le modèle d'adsorption de Langmuir dans lequel la vitesse de dépôt est proportionnelle à l'espace libre disponible en surface.^{40, 59} Bain et ses collègues ont été les premiers à étudier la cinétique de l'adsorption des monocouches à base de thiol sur l'or. Ils ont vérifié ce modèle en mesurant l'épaisseur ellipsométrique et les angles de contact des SAM à différents temps d'incubation.^{55, 60-62} Les résultats démontrent que le processus de formation de la monocouche (**Figure 1. 3**) peut être caractérisé par deux régimes : (1) la première adsorption permet une couverture rapide et dense des adsorbats pendant les premières millisecondes à minutes (~80–90%) et sa vitesse est fortement dépendante de la concentration de la solution d'incubation. (2) L'adsorption subséquente est un processus lent durant lequel se produisent une expulsion de solvant ainsi qu'une réorganisation de l'ordre de quelques heures pour maximiser l'ordre structurel et minimiser les défauts dans le système. Il a été démontré qu'une chaîne alkyle plus longue permet une réorganisation des alcanethiols plus rapide qu'une chaîne courte, car il y a plus d'interactions de van der Waals.^{55, 63, 64} Des conditions expérimentales appropriées permettent d'obtenir de manière reproductible des interfaces organiques présentant le comportement fonctionnel souhaité.

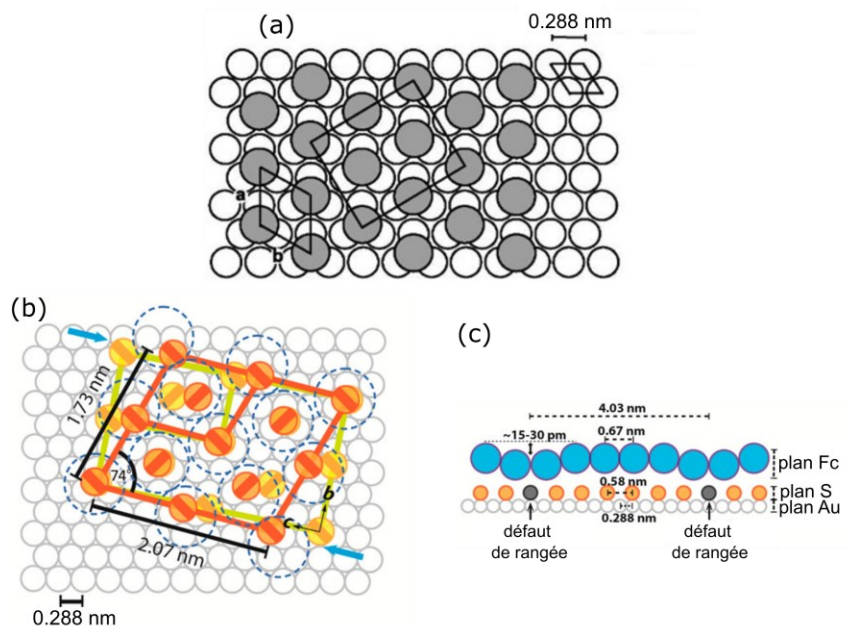


Figure 1. 4. (a) Représentation schématique de l'arrangement d'une SAM d'alkanethiolates sur des monocristaux d'or Au(111). Les cercles blancs et foncés représentent les atomes d'or et les chaînes alkyles, respectivement. Le petit losange montre le réseau Au(111), le plus grand losange montre une maille élémentaire commensurable correspondante à $(\sqrt{3}\times\sqrt{3})R30^\circ$ ($a = b = 0,497$ nm), et le rectangle représente un super-réseau $c(4\times 2)$ avec une cellule unitaire rectangulaire composée de quatre molécules distinctes sur la surface Au(111). (b) Représentation schématique de l'arrangement d'une SAM de ferrocénylalkanethiolates (FcC_3SAu) sur une surface Au(111). Les cercles et les parallélogrammes oranges représentent les réseaux de soufre et les cellules unitaires de la SAM sans une terminaison ferrocène, respectivement. Les cercles et les parallélogrammes jaunes et verts représentent les réseaux de soufre et les cellules unitaires d'une SAM à terminaison ferrocène (cercles pointillés bleus), respectivement, montrant la distorsion du réseau par rapport à la structure cristalline (flèches bleues). (c) Vue de profil de la SAM de FcC_3SAu sur la surface Au(111), montrant le décalage de la distance entre les atomes de soufre (0,58 nm) et entre les groupes ferrocènes (0,67 nm). Figures tirées des références 65 et 66.

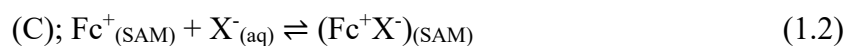
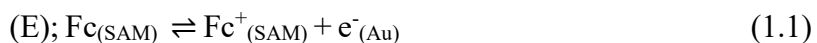
La densité de recouvrement et le paquetage de la SAM (entassement des chaînes alkyles) qui se traduit par la séparation intermoléculaire (distance S··S) dépendent du réseau métallique sous-jacent ainsi que du groupe terminal (**Figure 1. 4**). La structure des SAMs de type $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n\text{SAu}$ a

été étudiée par un vaste éventail de techniques et les études effectuées en utilisant la diffraction He,⁶⁷ la diffraction des électrons^{68, 69} et la diffraction des rayons X⁷⁰ démontrent que les chaînes alkyles forment des réseaux hexagonaux commensurables avec un espacement S··S de l'ordre de 4,99 Å. La surface occupée par chaque chaîne alkyle dans cette structure est de l'ordre de 21,7 Å²/molécule.^{52, 59, 71} Comme l'espacement entre les sulfures adjacents dans les SAM d'alcanethiolates est plus grand que la distance entre les chaînes alkyles dans une configuration compacte (4,24 Å), les chaînes sont typiquement inclinées à un angle ~30° de la normale à la surface afin de maximiser leurs interactions de van der Waals (arrangement confirmé par spectroscopie IR).⁷²⁻⁷⁴ Les mesures ellipsométriques confirment également que les chaînes alkyles tournent autour de la chaîne axiale d'un angle (angle de torsion) d'environ 52° sur la surface des cristaux d'au (111). Les chaînes alkyles sont dans la configuration tout *trans* avec très peu de défauts gauches et pour des monocouches bien ordonnées de CH₃(CH₂)_nSAu (111), le recouvrement maximale de surface est de 7,5 x 10⁻¹⁰ mol cm⁻² ce qui correspond à 4,5 molécules nm⁻².^{75, 76} La microscopie à effet tunnel (STM pour *Scanning Tunneling Microscopy* en anglais) vient s'ajouter aux techniques utilisées pour la caractérisation structurale de la SAM sur l'or et impose un plus grand impact en donnant une représentation visuelle du système à l'échelle atomique. Les études STM révèlent que les atomes de soufre sont liés aux sites creux entre trois atomes d'or (*3-fold hollow sites*),^{60, 62, 77-80} et qu'ils sont liés d'une façon proportionnée (*commensurate*) à la structure cristallographique de la surface Au (111), dans laquelle l'alcanethiolate forme un réseau hexagonal avec une maille élémentaire correspondant à ($\sqrt{3} \times \sqrt{3}$)R30° (avec R = rotation).^{40, 54, 59, 69, 74, 81, 82} Des rapports ultérieurs ont indiqué l'existence d'un ordonnancement secondaire des chaînes correspondant à un super-réseau c(4×2) qui est également observé par diffraction des rayons X aux angles rasants sous ultraviolet et suggéré par le dédoublement du mode de cisaillement du méthylène observé par spectroscopie IR à basse température, puis identifié par STM en examinant le profil de hauteur qui révèle que la moitié des taches (thiolate) a une hauteur différente de l'autre moitié (~0.05 nm).⁸³⁻⁸⁶ Par comparaison, la présence d'un groupe terminal volumineux (exemple; ferrocènes **Figure 1. 4b et c**) crée un décalage de distance entre les atomes d'encrage de soufre (0,58 nm) et entre les groupes terminaux ferrocènes (0,67 nm). Ceci résulte en une distorsion (de 60°) du réseau par rapport à la structure cristalline.⁶⁶ Essentiellement, les organisations des groupements d'encrage de soufre, des espaceurs de méthylène et des groupes fonctionnels de queue sont toutes nécessaires pour déterminer la structure d'une SAM sur l'or.

1.2.2 Monocouches auto-assemblées électroactives

La conception de plateformes qui réagissent à des stimuli externes fait l'objet de diverses recherches. Le but est de réaliser des surfaces possédant des propriétés interfaciales commutables suite à une excitation environnementale. Les SAMs qui répondent à un stimulus électrique sont appelées SAMs électroactives et les SAMs à base de ferrocénylalkanethiolates font le cœur de cette recherche grâce aux caractéristiques distinguées que possède le ferrocène. En appliquant un potentiel électrique, il est possible de permettre la commutation de la SAM entre deux états discrets : un état oxydé et un état réduit, ayant deux propriétés interfaciales différentes. Ces deux états se comparent aux états « ouvert » et « fermé » d'un commutateur. En appliquant une plage de potentiel appropriée, il est possible de contrôler la quantité d'espèces qui sont dans chaque état. L'équipe de Whitesides a montré qu'il est possible de modifier la mouillabilité d'une SAM de FcC_nSAu suite à l'application d'un potentiel. La surface de l'électrode, retenant une goutte d'eau, est initialement hydrophobe et lorsque les ferrocènes sont oxydés, la surface démontre un caractère hydrophile et permet à la solution aqueuse de s'écouler.⁸⁷ Cette différence de mouillabilité peut être utilisée pour contrôler le transport de liquide dans les dispositifs électroanalytiques.

Le ferrocène est considéré comme candidat de choix, en tant que groupement terminal, vu les propriétés électrochimiques intéressantes qu'il présente, telles qu'une cinétique de transfert d'électron rapide et réversible, un potentiel d'oxydation relativement bas, ainsi que deux formes rédox stables (le ferrocène comme forme neutre et le ferrocénium comme forme oxydée).⁸⁸⁻⁹⁰ Grâce à ses propriétés rédox Nernstiennes, les SAMs à terminaison ferrocène font objets de plusieurs études sur le transfert électronique, le transport et le stockage de charges, le traitement de l'information et la rectification du courant à l'interface liquide-solide.⁸⁸⁻⁹⁰ L'oxydation du groupement ferrocène (Fc) en ferrocénium (Fc^+) implique un mécanisme de transfert électronique de type EC et se fait en deux étapes (**Figure 1. 5** et équations 1.1 et 1.2) tel que décrit par Rowe et Creager³⁶. La première étape consiste en un transfert d'un seul électron générant une espèce instable (réaction sur l'électrode (E)). En deuxième étape, afin de neutraliser l'excès de charge créée à l'interface et stabiliser les cations oxydés issus de la première étape, un appariement ionique (processus chimique (C)) entre le ferrocénium et un anion monovalent (X^-) en solution est nécessaire durant cette réaction.^{36-38, 91, 92}



Seuls les anions monovalents faiblement hydratés (tels que PF_6^- , ClO_4^- , et BF_4^-) s'associent efficacement avec le ferrocénium électrogénéré dans un environnement typiquement non polaire. Dans le cas des anions qui se solvatent bien en milieu aqueux (tels que Cl^- , F^- , SO_4^- , NO_3^-), le processus d'oxydation tend vers la non-réversibilité et le groupement ferrocène est sous risque de démétallisation.^{36-39,93} La capacité de l'anion de l'électrolyte à s'associer avec le ferrocénium lié à la SAM affecte la thermodynamique de la réaction rédox interfaciale et la réponse électrochimique de la SAM. Une mauvaise capacité d'association des ions peut entraîner : un potentiel rédox formel apparent plus élevé ($E^{\circ'}$), un élargissement des pics anodique et cathodique, une concentration de ferrocénium en surface plus faible (déterminée à partir de la densité de charge anodique) et une stabilité rédox pendant des cycles de potentiel répétés.³⁶⁻³⁸

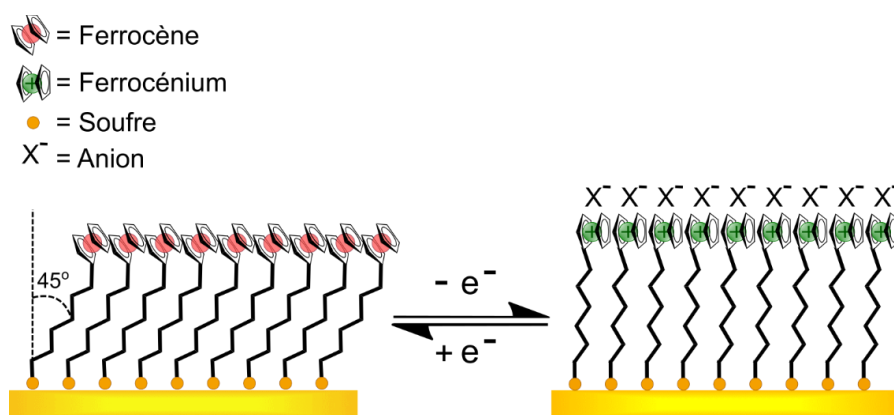


Figure 1. 5. Illustration schématique du processus d'appariement ionique des anions en solution avec les groupements de ferrocéniums et la réorientation moléculaire qui l'accompagne selon les données de mesures par spectroscopie infra-rouge. Figure inspirée de la référence 94.

1.2.3 Caractérisation électrochimique des SAMs de ferrocénylcanethiolates

Les monocouches de ferrocénylcanethiolates ont été largement employées dans les études de transfert électronique de surface à travers une couche diélectrique. Les configurations couramment employées en électrochimie pour étudier la cinétique du transfert d'électrons à travers des électrodes modifiées par SAM comprennent : (i) des SAMs épaisses et hydrophobes pour empêcher une espèce rédox de diffuser vers l'électrode,⁶⁴ et (ii) des SAMs mixtes avec au moins un alcanethiol composé d'un groupe terminal électroactif (le ferrocène) pour minimiser les effets de diffusion.^{93, 95, 96} La modification chimique d'une électrode avec des alcanethiols ayant une terminaison électrosensible

permet d'immobiliser l'espèce rédox sur l'électrode elle-même tout en générant une couche barrière diélectrique qui empêche la diffusion libre d'espèces électroactives ou d'ions vers la surface de l'électrode.⁹⁷ Différentes techniques électrochimiques ont été utilisées dans les études du transfert électronique, avec des SAMs de ferrocénylalkanethiolates ayant des longueurs de chaîne alkyle qui s'étendent entre 7 et 18 atomes de carbone, incluant la voltampérométrie cyclique (VC)^{36, 98, 99}, la voltampérométrie à courant alternatif¹⁰⁰, et la chronoampérométrie^{93, 98, 101}. Ces techniques permettent aussi, en premier lieu, d'évaluer la stabilité et l'intégrité de la monocouche préparée ainsi que son comportement d'isolation.

Ce projet doctoral consiste à utiliser des SAMs électroactives à terminaisons ferrocènes pures ou diluées avec des alcanethiols électrochimiquement neutres (à terminaisons méthyles ou hydroxyles). La motivation initiale pour immobiliser des molécules rédox sur des surfaces métalliques n'était pas l'étude du transfert interfacial d'électrons, mais plutôt l'utilisation de leur pouvoir d'appariement ionique (réactions faradique) dans le contrôle d'adsorption de molécules amphiphiles à l'interface Au-SAM/électrolyte. La force de la liaison métal-soufre (210 kJ/mol pour Au-S)⁵⁴ et les interactions chaîne-chaîne stabilisantes dans les SAMs leur permettent de conserver leur intégrité structurale dans une fenêtre de potentiels d'électrode appliqués (-0,5 V–0,85 V par rapport à Ag/AgCl) et rendent les mesures électrochimiques possibles, en particulier dans les électrolytes aqueux. Afin de quantifier la concentration en surface en espèces rédox (ferrocéniums) et d'évaluer le comportement électrochimique de la SAM en présence de molécules amphiphiles, la voltampérométrie cyclique (VC) a été utilisée comme méthode électroanalytique. Par la suite, afin de déclencher l'adsorption des liposomes induite par l'appariement ionique, une méthode de chronoampérométrie a été utilisée.

Peu importe la méthode électroanalytique choisie, une expérience électrochimique se réalise généralement dans une cellule électrochimique munie de trois électrodes : une électrode de travail (la surface d'or modifiée avec la SAM de ferrocénylalkanethiolates sur laquelle se déroule le processus d'échange d'électron), une électrode de référence (une demi-cellule de Ag/AgCl insérée dans une chambre à jonction double dans 3 M NaCl et possédant un potentiel interne connu et fixe), ainsi qu'une contre électrode (fil de platine torsadé). Les trois électrodes plongent dans une solution contenant des ions non-électroactifs permettant le transport de charge au sein de la cellule électrochimique et d'y diminuer la résistance (électrolyte de support) et qui peut aussi contenir le couple rédox à étudier.

➤ La voltampérométrie cyclique appliquée aux espèces rédox confinées en surface

La caractérisation électrochimique par voltampérométrie cyclique (VC) est une méthode reconnue par sa simplicité et sa fiabilité dans la détection et la quantification des réactions faradiques des SAMs électroactives.¹⁰² La VC est un prolongement de la voltampérométrie à balayage linéaire, durant laquelle, une rampe de potentiel linéaire (entre deux potentiels E_i ; initial et E_f ; final) est appliquée à l'électrode de travail à une vitesse linéaire fixe qui génère un courant à cette électrode. Durant le balayage anodique ($E_i \rightarrow E_f$), la rampe de potentiel appliquée est croissante et plus le potentiel augmente plus le nombre d'espèces oxydées augmente. En retournant vers E_i durant le balayage cathodique ($E_f \rightarrow E_i$), la rampe de potentiel appliquée est décroissante et plus le potentiel diminue plus le nombre d'espèces oxydées qui retourne à leur état réduit augmente.¹⁰² Les paramètres électrochimiques importants à extraire d'un voltampérogramme cyclique à la suite d'un processus d'oxydoréduction sont les courants anodique (i_a), cathodique (i_c), les potentiels des pics anodique ($E_{p,a}$) et cathodique ($E_{p,c}$) et le potentiel rédox apparent ($E^{\circ'}$) (équation 1.3).

$$E^{\circ'} = (E_{p,a} + E_{p,c}) / 2 \quad (1.3)$$

Le potentiel rédox apparent ($E^{\circ'}$) est un paramètre d'une grande importance qui permet d'évaluer le niveau d'énergie d'un groupement électroactif confiné en surface et la faisabilité du processus rédox. Dans le cas du couple ferrocène/ferrocénium (Fc/Fc^+), le $E^{\circ'}$ est sensible à la densité moléculaire et l'organisation au sein la SAM d'un côté, et au degré de solvation et de la concentration de l'anion de la solution électrolytique d'un autre côté. Un déplacement des pics vers les potentiels plus négatifs signifie que le processus d'oxydoréduction est plus favorable, tandis que le contraire signifie qu'il nécessite plus d'énergie pour oxyder le groupement terminal de la surface puisqu'il est plus difficile de lui faire céder son électron.

Les aires sous les pics d'oxydation/réduction est aussi un paramètre important à extraire d'un voltampérogramme cyclique (**Figure 1. 6**). L'intégration sous le pic faradique, après une soustraction du courant capacitif (non faradique), donne la quantité de charge en surface (Q) (équation 1.4) qui donne accès à la densité de recouvrement de surface en ferrocène, tout en considérant l'air de l'électrode (A). La concentration de surface (Γ_{Fc^+}) est exprimée en mol/cm^2 et peut être calculée en utilisant l'équation suivante :

$$\Gamma_{\text{Fc}^+} = Q_{\text{anodic}}/nFA \quad (1.4)$$

La **Figure 1. 6** montre un VC typique d'une monocouche idéale d'espèces rédox adsorbées sur la surface d'une électrode, tel que développé par Hubbard et Anson¹⁰³. Un cas est considéré idéal lorsque tous les sites sont équivalents et aucune interaction entre eux n'est présente (conditions de l'isotherme de Langmuir). Pour un système Nernstien idéal, la séparation entre le pic anodique et cathodique (ΔE_p) est nulle (0 mV), et le pic anodique est l'image miroir du pic cathodique par rapport à l'axe des potentiels.

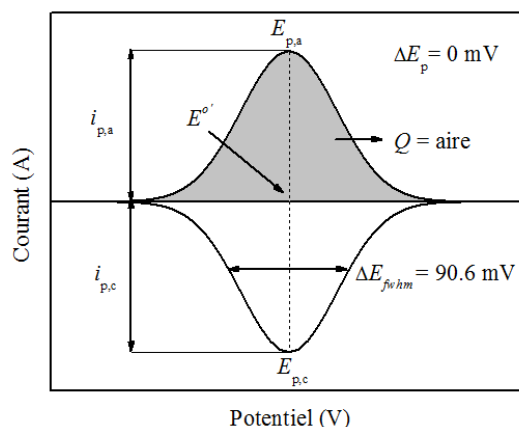


Figure 1. 6. Cas idéal d'un voltampérogramme cyclique pour une espèce rédox attachée à une électrode : isotherme de type Langmuir où toutes les espèces rédox adsorbées ont un environnement équivalent et ne subissent aucune forme d'interaction.¹⁰²

La séparation entre le pic anodique et cathodique (ΔE_p) se calcule comme suit :

$$\Delta E_p = |E_{p,a} - E_{p,c}| \quad (1.5)$$

On peut aussi attribuer l'idéalité à un système lorsque la largeur à mi-hauteur (ΔE_{fwhm}) des deux pics symétriques anodique et cathodique est équivalente à :

$$\Delta E_{fwhm} = 3.53 RT / nF = 90,6 / n \text{ mV à } 25^\circ\text{C}^{102} \quad (1.6)$$

Expérimentalement, comme l'espèce est confinée en surface, le ΔE_p peut être près de zéro à des basses vitesses de balayage (1–5 mV/s), mais peut augmenter à des plus grandes vitesses. Les différentes interactions latérales (répulsives ou attractives), ainsi que l'hétérogénéité de

l'environnement des groupements rédox dans la SAM sont aussi les causes principales de l'écart de ΔE_{fwhm} de sa valeur théorique et de l'idéalité. La mesure de ΔE_{fwhm} permet d'évaluer la magnitude des interactions qui peuvent exister entre les sites électroactifs ; une valeur de $\Delta E_{fwhm} > 90,6$ mV est un signe de repulsions électrostatiques et une valeur de $\Delta E_{fwhm} < 90,6$ mV est un signe d'interactions attractives entre les sites rédox.

Une SAM pure de ferrocénylalkanethiolates est un système de caractéristiques loin de l'idéalité. Les sites rédox de ferrocènes, qui se situent dans un environnement encombrant, sont constamment en état d'interactions. De plus, les défauts morphologiques mènent à la création de différents micro-environnements rédox ce qui engendre l'élargissement du pic faradique et l'apparition de pics rédox supplémentaires (**Figure 1. 7A**).⁹¹ En effet, la tête du ferrocène possède un diamètre de $0,66$ nm^{95, 104}, ce qui mène aux chaînes alkyles de s'incliner à $\sim 45^\circ$ par rapport à la normale afin de maximiser les interactions de van der Waals ($0,424$ nm) (**Figure 1. 5**).¹⁰⁵ Ceci résulte en une plus petite densité de recouvrement que celle trouvée dans le cas de groupement terminal méthyle ($\Gamma = 4,6 \times 10^{-10}$ mol/cm²,^{91, 93, 95, 99, 106} versus $7,8 \times 10^{-10}$ mol/cm²^{75, 76}). Vue la diminution de nombre de molécule en surface et de force de van der Waals, la SAM de ferrocénylalkanethiolates est moins organisée qu'une SAM d'alkanethiols.

En exploitant de plus près le VC typique montré dans la **Figure 1. 7A** d'une SAM composée de 100% Fc(CH₂)₁₂SAu cyclée dans une solution électrolyte de perchlorate (NaClO₄) 100 mM, on peut déduire que le système dévie de l'isotherme de Langmuir pour se rapprocher de l'isotherme de Frumkin. Le ClO₄⁻, un anion inorganique très peu solvato, est couramment utilisé comme anion électrolyte dans les études électrochimiques des SAMs à terminaison ferrocène en raison de sa forte propension à former des paires d'ions à contact unique (fort) avec les ferrocéniums chargés positivement avec une stœchiométrie 1:1.^{36-38, 81} Le VC montre la présence de deux sets de pics rédox qui sont asymétriques et d'une valeur de $\Delta E_{fwhm} > 90,6$ mV. Le premier pic à un potentiel plus faible provient de ferrocènes situés aux limites de domaines et aux sites de défauts, où l'interaction latérale entre les têtes est réduite par le désordre structurel ("ferrocènes isolés"). Le deuxième pic à un potentiel plus élevé provient des ferrocènes à forte interaction situés à l'intérieur des domaines, pour lesquels la répulsion électrostatique entre les ferrocéniums proximaux rend la réaction d'oxydoréduction plus défavorable ("ferrocènes groupés").^{99, 107}

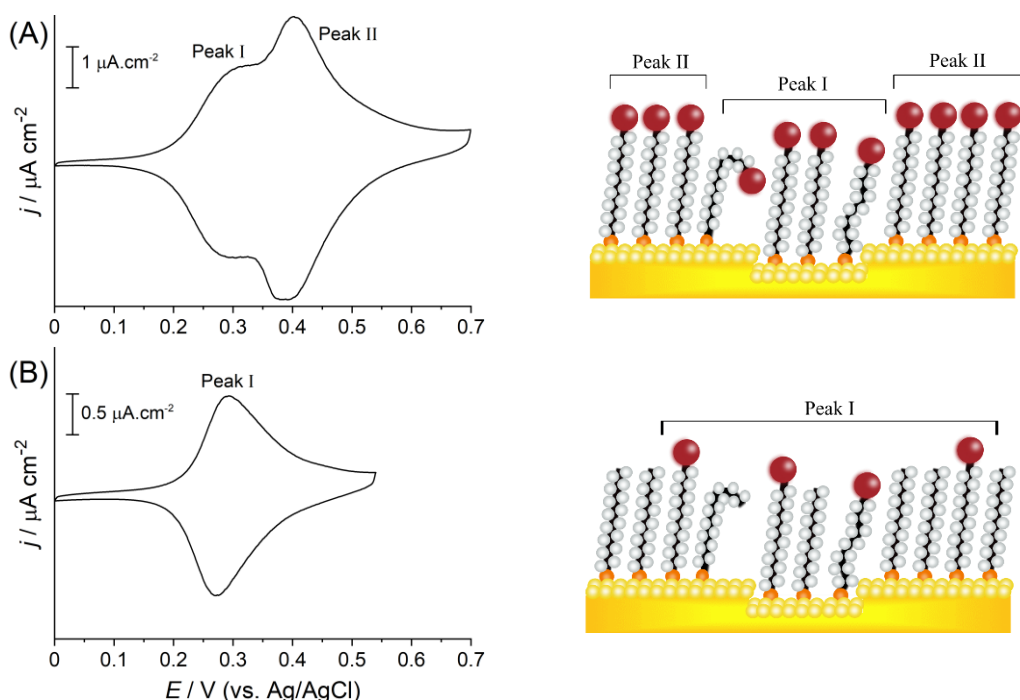


Figure 1. 7. Exemples de voltampérogrammes cycliques dans 100 mM NaClO₄ dans (A) une SAM pure de Fc(CH₂)₁₂SAu et (B) une SAM mixte de Fc(CH₂)₁₂S-CH₃(CH₂)₁₁SAu où le Fc(CH₂)₁₂SH est la composante minoritaire dans le système. Les groupements de ferrocènes sont représentés par des sphères rouges.

Cette déviation du comportement idéal avec des pics asymétriques/multiples et un élargissement du pic pourrait être interprétée différemment. Certaines des principales interprétations sont les différences dans la densité d'emballage/structuration locale ou les interactions intermoléculaires des ferrocénylalcane-thiols, les ferrocènes enterrés dans la SAM par rapport à ceux exposés à l'électrolyte, causés par le décalage entre les terminaisons Fc plus volumineuses et la chaîne alkyle (**Figure 1. 4b et c**), et les effets de double couche, qui font référence aux effets de la distribution spatiale des ions interfaciaux sur la réaction rédox interfaciale.^{81, 107-111}

Introduire un élément (i.e., un alcane-thiolate) inerte électrochimiquement et non encombrant dans la monocouche permet de réduire ces interactions et de pousser le système plus vers la quasi-idéalité. En minimisant l'interaction ferrocène-ferrocène, le deuxième set de pic n'est plus présent et un seul set de pic à un potentiel plus faible est observé (**Figure 1. 7B**). Malgré la dilution du groupement rédox, la forme du VC n'est toujours pas identique au celui idéal avec une séparation

de pic > 0 mV et une largeur à mi-hauteur $> 90,6$ mV ainsi que la présence d'un courant de double couche (non faradique). La soustraction de la ligne de base permet d'éliminer cette contribution non faradique dans le processus d'intégration des pics voltammétriques afin de calculer la charge et le recouvrement de surface en ferrocénium. Ainsi, la quantité du nombre de groupement électrochimiquement actif peut être mesurée avec précision tout en évaluant l'organisation au sein de la SAM sans avoir recours à des méthodes complexes.⁹⁹

Dû à l'encombrement stérique^{99, 112-114}, des changements d'orientation moléculaire, au sein de la SAM de ferrocénylalkanethiolates, accompagnent le processus d'oxydation du ferrocène en ferrocénium afin d'effectuer l'appariement avec l'anion. En effectuant des mesures voltammétriques sur des SAMs de $\text{Fc}(\text{CH}_2)_{11}\text{SAu}$ sous différentes pressions hydrostatiques (0–5 kbar), Cruaños *et al.* ont montré que la monocouche subit une expansion de volume (10–20 ml/mol) durant le balayage oxydatif.¹¹² En effet, à une pression de 0 kbar, le courant généré est presque deux fois plus élevé qu'à 5 kbar. Ces résultats démontrent que les groupements ferrocènes doivent de redresser pour s'oxyder. Le couplage de la voltampérométrie cyclique à des techniques spectroscopiques de surface, pour donner suite aux travaux de Cruaños *et al.*, a permis d'investiguer de plus proche ces phénomènes de réarrangements moléculaires. La spectroscopie de plasmon de surface¹¹⁵ et d'ellipsométrie^{116, 117} ont démontré des changements d'épaisseur de couche (0,09–0,3 nm) durant l'oxydation des SAMs de ferrocénylalkanethiolates. La spectroscopie IR⁹⁴ a permis de suggérer que ce changement d'épaisseur est causé par un redressement non seulement des têtes de ferrocènes mais aussi des chaînes alkyles. Badia *et al.* ont montré par la suite que ces mouvements de réorientation peuvent être transformés en travail mécanique.^{106, 118} En effet, une tension appliquée à un microlevier qui est fonctionnalisé d'un côté avec une SAM de ferrocénylalkanethiolates déclenche une modification de l'état d'oxydo-réduction des molécules d'adsorbat, ce qui entraîne une expansion ou une contraction moléculaire et un changement de contrainte de surface auquel le microlevier répond par flexion. La déviation résultante provient de la réorientation moléculaire lors de l'oxydation qui est à l'origine de l'expansion du volume.

1.3 Molécules Amphiphiles

1.3.1 Surfactants et micellisation

Un tensioactif, ou encore surfactant, ou encore agent de surface (pour *surface active* en anglais) est une molécule amphiphile comportant deux parties de polarités différentes : une chaîne alkyle hydrophobe et une tête polaire hydrophile. Dépendamment de la concentration, ces molécules vont se localiser aux interfaces liquide-liquide, liquide-air ou bien liquide-solide afin d'éviter le contact des queues hydrophobes avec le milieu polaire et abaisser ainsi l'énergie libre de la solution (**Figure 1. 8**). Ce comportement particulier des surfactants conduit à la modification des propriétés du liquide, en particulier la tension superficielle.¹¹⁹ Au fur et à mesure que le nombre de monomère de surfactant augmente en solution et à partir d'une certaine concentration, les tensioactifs s'auto-assemblent en forme de micelles de manière que les têtes polaires soient localisées à la surface de la micelle et donc exposées à la solution aqueuse pour cacher les queues hydrophobes dans le cœur de cette micelle. Cette concentration est connue sous le nom de concentration micellaire critique (CMC) et la formation des micelles est un processus dynamique entièrement spontané (**Figure 1. 9**). À partir de la CMC, l'augmentation du nombre de tensioactifs en solution ne feront qu'augmenter le nombre de micelles alors que la concentration en unimères (tensioactifs) reste quasi-constante.¹²⁰ En bas de la CMC, la solution se comporte comme une solution idéale où la concentration en unimères et en contre-ions (ions sodiums) est identique. Alors qu'au-delà de la CMC, la solution perd ce caractère idéal avec l'apparition des micelles. Dans ce cas, la concentration en contre-ions libres plafonne puisqu'afin d'équilibrer les charges négatives autour des micelles nouvellement formées, une quantité plus importante en contre-ions doit être présente.

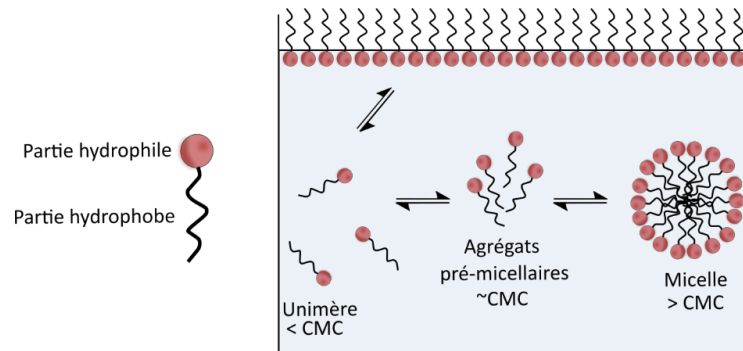


Figure 1. 8. Illustration des régimes dynamiques d'un tensioactif qui amène à la formation de micelles dans une solution aqueuse.

Les tensioactifs peuvent avoir une partie polaire anionique avec une charge négative, cationique avec une charge positive, zwitterionique avec une charge globale neutre ou encore non ionique avec aucune charge. Dans le cadre de ce projet de recherche, les tensioactifs utilisés sont de la classe anionique et sont les suivants ; *n*-dodécyl sulfate ($C_{12}SO_4Na$), *n*-dodécyl sulfonate ($C_{12}SO_3Na$), *n*-alkyl carboxylate (C_nCO_2Na), et *n*-dodécyl phosphate ($C_{12}PO_4Na_2$).

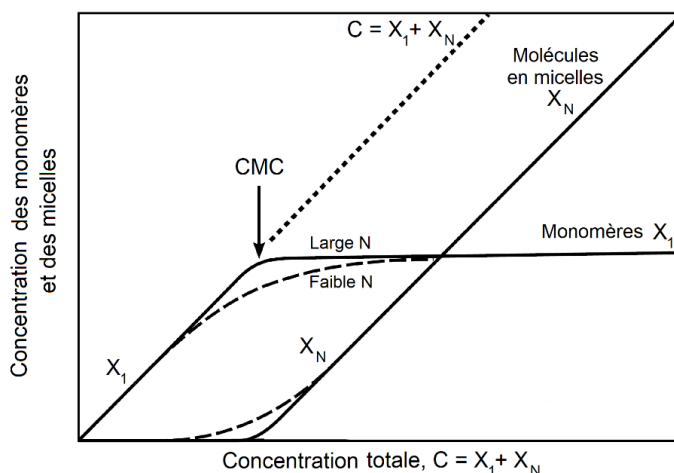


Figure 1. 9. Concentration des monomères X_1 libre en solution et des monomères X_N en forme d'agrégats en fonction de la concentration totale $X_1 + X_N$, avec N est la taille de l'agrégat (micelle). Figure modifiée de la référence 121.

Outre la concentration, la température de la solution a également un effet important sur le processus de micellisation. En regardant la courbe de solubilité dans la **Figure 1. 10**, à faible température, les tensioactifs se trouvent en forme de cristaux s'ils se trouvent à une concentration élevée, et la solubilité augmente progressivement d'une façon quasi linéaire avec la température. Une augmentation brutale de la dissolution est observée à une température (ou plus précisément, une plage de température étroite) qui s'appelle température de Krafft, point Krafft, ou aussi température de micelle critique. À cette température, la formation des micelles devient possible dans la solution.^{121, 122} La température de Krafft peut être considérée aussi comme le point où la solubilité du tensioactif est égale à la CMC et augmente ensuite fortement. Il correspond au point triple avec coexistence de trois phases ; la solution d'unimères, la solution micellaire et la solution des cristaux.¹²³

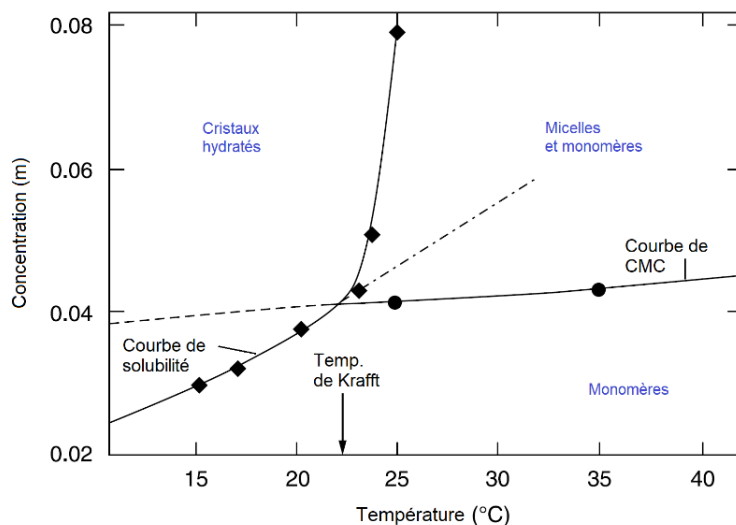


Figure 1. 10. Diagramme de phase d'un surfactant ionique en solution aqueuse. Figure modifiée de la référence 122.

La température de Krafft d'un surfactant ionique dépend de (i) la nature du groupe polaire, (ii) la nature du contre-ion, et (iii) la nature de la chaîne alkyle. À titre d'exemple, pour une même chaîne alkyle et un même contre-ion, les carboxylates ont des températures de Krafft plus élevées que les sulfates correspondants (16 °C pour le dodécylsulfate de sodium et 25–34 °C pour le dodécylcarboxylate de sodium). Pour la même tête polaire et le même contre-ion, la température de Krafft augmente systématiquement avec la longueur de la chaîne alkyle, puisqu'il faut plus d'apport calorifique pour briser les interactions hydrophobes.¹²⁴⁻¹²⁷ La chaîne alkyle a également un effet important sur la CMC. Une micelle forme plus facilement lorsque les chaînes alkyles sont plus longues, puisqu'il y a plus d'interactions hydrophobes (van de Waals), réduisant ainsi la CMC. La présence de contre-ions en surplus réduit la répulsion entre les têtes polaires, ce qui abaisse la CMC.

1.3.2 Paramètre d'empilement

L'empilement et la forme finale des structures auto-assemblées par les molécules amphiphiles sont directement liés à leur géométrie moléculaire. Ils peuvent ainsi s'organiser sous forme de micelles (sphériques ou cylindriques), de bicouches (phase lamellaire), ou de phase hexagonale inverse. Un terme connu sous le nom de paramètre d'empilement (ou géométrique) permet de prédire la forme que prendra l'amphiphile en fonction de la proportionnalité des tailles de ses composants (**Figure 1. 11**). Ce terme a été introduit par Israelachvili^{71, 128} et peut être défini comme suit : $P = v/a_0.l_c$; avec v est le volume occupé par les chaînes hydrocarbonées, l_c est la longueur critique de la

chaîne et a_0 est l'aire optimale occupée par la tête polaire. En effet, ce terme peut refléter également l'aspect des interactions hydrophiles qui peuvent modifier l'empilement.¹²⁹ Ainsi, une plus forte répulsion entre les têtes polaires entraînera une augmentation de a_0 et donc une diminution de P .

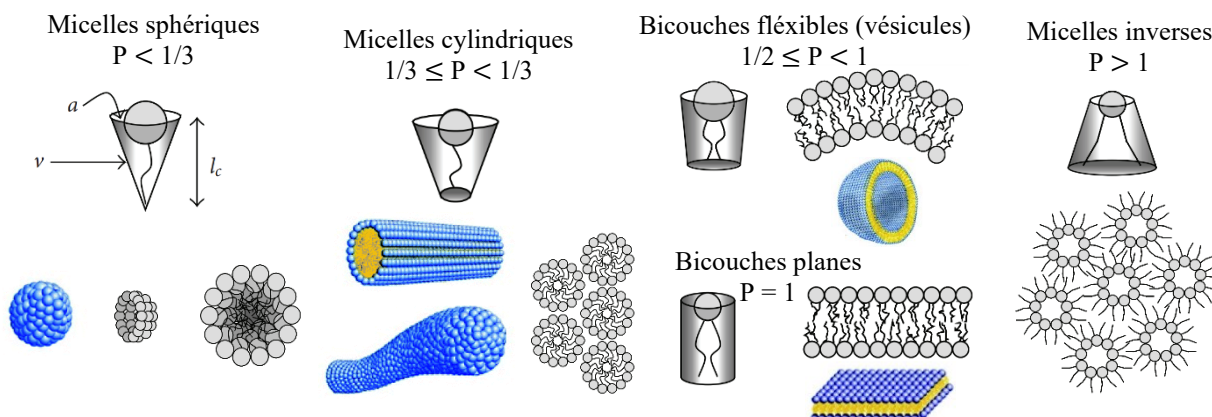


Figure 1. 11. Structures des auto-assemblages de molécules amphiphiles en solution prédites par le paramètre d'empilement P . Figure tirée et modifiée des références 129 et 130.

Dans le cas des surfactants, ils se trouvent généralement sous forme de micelle en solution avec $P < 1/3$. Dans le cas des lipides, les phospholipides portant les fonctions choline, sérine ou glycérol ont un paramètre d'empilement proche de 1, ce qui permet donc aux lipides d'adopter la phase lamellaire et former des bicouches relativement flexibles en solution aqueuse (sous forme de vésicules) ou bien en surface sous forme de bicouches supportées.

1.3.3 Adsorption des surfactants aux surfaces

Le comportement et l'assemblage des molécules amphiphiles en solution est différent de leur arrangement sur des surfaces solides. Les tensioactifs ioniques ont tendance à s'agréger aux interfaces solide/liquide et dépendamment des propriétés de la surface (hydrophobicité/hydrophobicité et densité de charge) ils peuvent adopter différentes structures.^{131,}

¹³² Ces structures en surface peuvent aller de films monocouches et bicouches à différentes structures micellaires (sphériques, hémisphériques, cylindriques ou hémicylindriques) (**Figure 1. 12**). Si la surface est hydrophobe, l'adsorption des surfactants aura lieu grâce à des forces de van de Waals

avec les chaînes alkyls. Dans le cas où la surface possède un caractère hydrophile, l'adsorption se fait par interaction électrostatiques avec les têtes polaires.

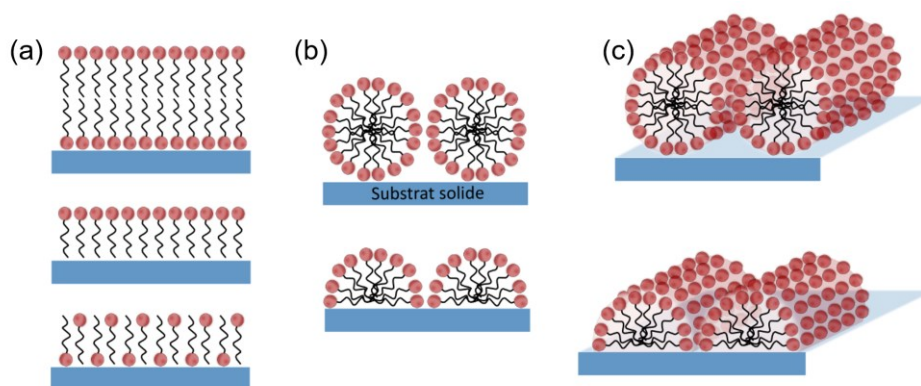


Figure 1. 12. Exemples d'organisations possibles de molécules amphiphiles sur des surfaces solides : (a) monocouches et bicouches, (b) hémimicelles et micelles sphériques, et (c) hémimicelles et micelles cylindriques. Figure inspirée de la référence 131.

Plusieurs recherches ont été également axées sur l'adsorption de tensioactifs ioniques sur des surfaces chargées. Le groupe de recherche du Lipkowski a observé le comportement d'un surfactant anionique (dodécylsulfate de sodium) sur la surface d'une électrode en or (**Figure 1. 13**).¹³³⁻¹³⁵ En appliquent une charge entre -10 et $7 \mu\text{C cm}^{-2}$ à la surface d'or, les tensioactifs s'adsorbent en hémimicelles demi-cylindriques (en stries) avec une distance entre les stries de $4,5 \pm 0,5$ nm et une épaisseur de 1,37 nm. Un changement de densité de charge en surface appliqué pour donner entre 33 et $40 \mu\text{C cm}^{-2}$ a provoqué la transformation de la configuration en un film condensé sous forme de bicouches. Ces mécanismes découlent de la propension des tensioactifs à s'organiser pour minimiser les interactions défavorables avec les charges de la surface.¹³¹

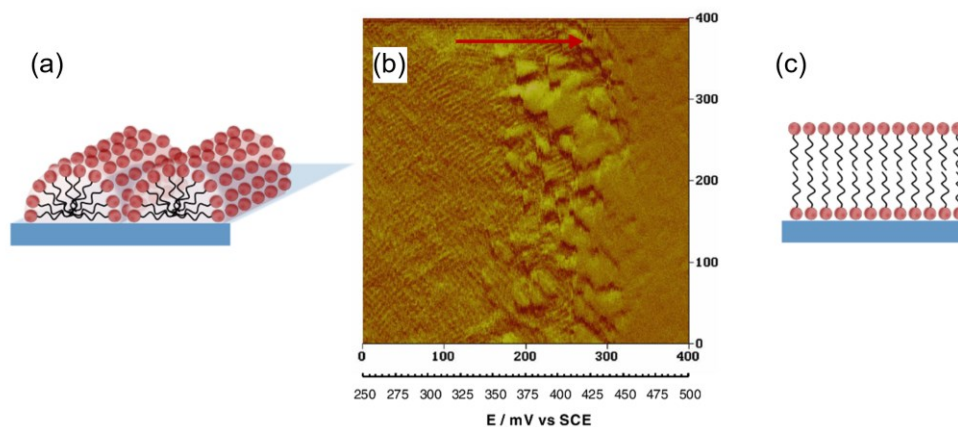
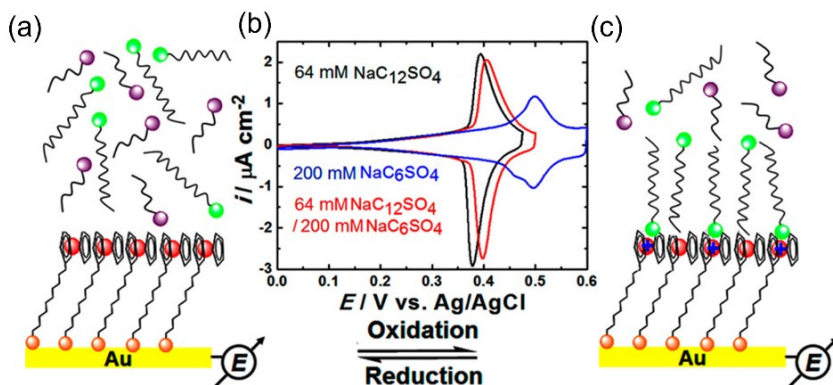


Figure 1. 13. Image de microscopie à force atomique (AFM) électrochimique d'un film de dodécylsulfate adsorbé sur une électrode d'or durant une application de potentiel. La flèche rouge indique la direction du balayage de la pointe AFM synchronisée avec celle du balayage du potentiel appliqué à l'électrode montrant ainsi le passage d'une organisation hémicylindriques à une bicouche plane. Image AFM (b) tirée de la référence 136.

1.3.4 Appariements ioniques des surfactants avec les ferrocéniums

Le groupe de recherche de Badia a étudié l'adsorption des tensioactifs anioniques à la surface d'une électrode en or suite à l'oxydation des SAMs de ferrocénylalkanethiolates. L'idée est de combiner la tendance des tensioactifs ioniques à s'agréger aux interfaces solides/liquides¹³⁷ avec la préférence des ferrocéniums liés à la SAM de s'associer à des anions peu hydratés.^{36-38, 138} L'oxydation de ferrocène confiné en surface en présence de surfactants en solution est associée d'un appariement ionique entre le ferrocénium chargé positivement et le groupe anionique polaire du tensioactif. L'appariement induit par l'oxydoréduction à partir d'une solution aqueuse d'une série homologue de tensioactifs à base de *n*-alkyl sulfate de sodium (NaC_nSO_4) de 6, 8, 10 et 12 atomes de carbone avec des SAMs de $\text{Fc}(\text{CH}_2)_{12}\text{SH}$ liées à l'or était étudié par voltampérométrie cyclique combinée à la spectroscopie de résonance plasmonique de surface (SPR). L'électrochimie de la SAM est réversible sur plusieurs cycles et les épaisseurs des couches adsorbées ainsi que les couvertures de surface sont cohérentes avec la formation d'une monocouche de C_nSO_4 à l'interface oxydée SAM de $\text{FcC}_{12}\text{SAu/solution}$ aqueuse. Une comparaison de la densité de charge anodique avec les données SPR indique qu'environ 60% des tensioactifs adsorbés sont appariés avec les ferrocéniums, suggérant une structure de monocouche interdigitée (**Figure 1. 14**). De plus, une comparaison des

capacités d'appariement ioniques des *n*-alkyl sulfates a été effectuée et il a été constaté qu'une chaîne alkyle plus longue augmente l'hydrophobicité globale de l'anion C_nSO_4 , augmentant ainsi sa capacité à s'apparier avec le ferrocénium et à le stabiliser dans l'environnement non polaire de la SAM.¹³⁹



1.4 Bicouches Lipidiques Modèles

1.4.1 Structure de la membrane plasmique

Dans la nature, les cellules vivantes utilisent une membrane cellulaire pour séparer et protéger ses compartiments intérieurs de l'environnement extérieur. La membrane biologique est un feuillet à double couches constitué de molécules lipidiques (les phospholipides) hautement dynamiques et ordonnées et décoré avec un large éventail de biomolécules (les protéines). Cette interface dynamique complexe est cruciale pour le fonctionnement cellulaire, comme le transport ionique et les processus complexes de signalisation intracellulaire.^{1, 2} En 1972, Singer et Nicholson ont décrit ce système comme étant un « modèle de mosaïque fluide ».¹⁴⁰ Dans ce modèle, la bicouche lipidique

est considérée comme un liquide orienté bidimensionnel dans lequel les protéines et les lipides peuvent se déplacer librement (**Figure 1. 15**). Il a été constaté que les membranes cellulaires naturelles sont équipées d'une grande variété de lipides avec un haut niveau de complexité et d'organisation d'où le terme « mosaïque », et de protéines présentant un haut degré de dynamique latérale et de flexibilité d'où le terme « fluide ».^{141, 142} Plus tard, le « modèle de mosaïque fluide » a été mis à jour pour inclure des petits domaines fonctionnels distincts avec une occupation protéique plus élevée que le reste de la membrane et une dynamique bien spécifique que l'on appelle les radeaux lipidiques (*rafts*).^{1, 2, 143, 144} Ces radeaux lipidiques, d'une dimension qui peut varier du nanomètre au micron, s'impliquent dans plusieurs fonctions importantes au sein de la membrane, telles que la réorganisation latérale au sein de la membrane et l'accueil/sécrétion de molécules qui s'impliquent dans la transmission de signaux cellulaires.

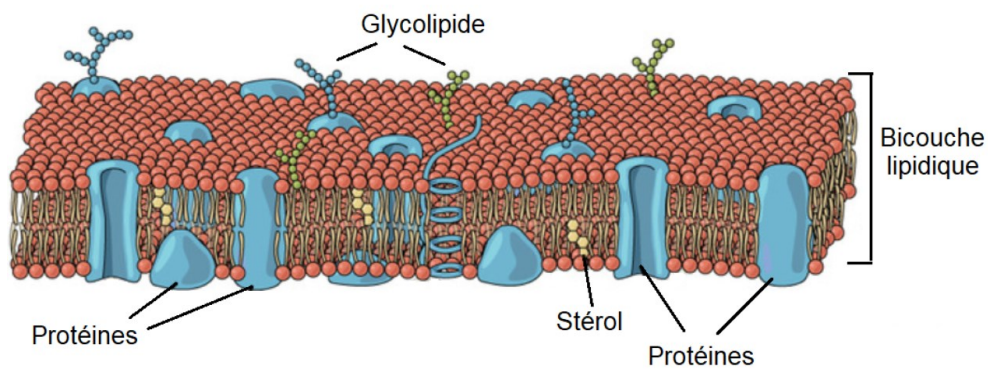


Figure 1. 15. Structure d'une membrane biologique présentée selon le modèle de la mosaïque fluide. Figure tirée et modifiée de la référence 145.

Outre la dynamique latérale, la translocation transversale (*Flip-flop* en anglais) des lipides entre les deux feuillettes est cruciale pour la fonction biologique.^{146, 147} Le processus de *flip-flop* des lipides est médié par des enzymes spécifiques piégeant les lipides dans l'un des feuillettes.¹⁴⁸ L'asymétrie membranaire qui en résulte est essentielle dans une variété de processus cellulaires comme la fusion cellulaire, les processus de coagulation et l'apoptose.¹⁴⁹ Saisir la complexité de cette interface entre l'intérieur et l'extérieur des cellules est une tâche ardue et, à ce jour, il reste difficile d'adapter les propriétés dynamiques des cellules vivantes à des matériaux synthétiques, malgré les progrès impressionnants de la science des matériaux.

1.4.2 Composition lipidique et propriétés physiques des membranes

Les membranes biologiques sont des molécules lipidiques disposées en une double couche continue d'environ 4–6 nm d'épaisseur. Les lipides représentent le composant essentiel de cette bicouche lipidique. Ils ont un caractère amphiphile et servent de barrière relativement imperméable au passage de la plupart des molécules hydrosolubles. Cette ambivalence provient de leurs structures moléculaires : ils possèdent un group polaire en extrémité que l'on appelle « tête » et d'une ou de plusieurs chaînes hydrocarbonées hydrophobes que l'on appelle « queue(s) ». Grâce au caractère d'ambivalence, en solution aqueuse, ces molécules ont tendance à s'auto-assembler de manière spontanée de sorte que leurs queues hydrophobes soient enfouies et que leurs têtes hydrophiles soient exposées à l'eau pour servir de barrière relativement imperméable au passage de la plupart des molécules hydrosolubles. Selon leur géométrie respective de la tête/chaîne(s), les lipides peuvent s'auto-assembler de manières différentes sous forme de micelles ou liposomes sphériques avec les queues vers l'intérieur, ou sous forme de feuillet superposés (des bicouches) avec les queues prises en sandwich entre les têtes polaires (voir **Figure 1. 11** et discussion).¹⁵⁰ Ces organisations visent à diminuer le contact des chaînes apolaires avec l'eau et donc de diminuer le désordre entropique dans la solution aqueuse. Les lipides qu'on trouve dans les membranes biologiques sont essentiellement les phospholipides, et en deuxième lieux les sphingolipides (comme la sphingomyéline) et les stérols (le cholestérol est le seul stérol présent dans la membrane plasmique des mammifères).¹⁵¹

Bien que la structure de base des membranes biologiques soit assurée par la bicouche lipidique, la plupart des fonctions spécifiques sont assurées par les protéines. Certaines protéines servent de liens structurels qui relient la membrane au cytosquelette et/ou à la matrice extracellulaire ou encore à une cellule adjacente, tandis que d'autres servent de récepteurs pour détecter et transporter des signaux chimiques dans l'environnement de la cellule. Les quantités et les types de protéines dans une membrane sont très variables. A titre d'exemples, les protéines constituent moins de 25% de la masse membranaire dans la membrane de myéline, qui sert principalement d'isolation électrique pour les axones des cellules nerveuses, alors que dans les membranes impliquées dans la transduction d'énergie (comme les membranes internes des mitochondries et des chloroplastes), environ 75% de la masse membranaire sont des protéines. La membrane plasmique habituelle se situe quelque part entre les deux, avec environ 50 % de sa masse constituée de protéines. Comme la taille des molécules de lipides est petite par rapport à celle des protéines, on trouve toujours beaucoup plus de molécules de lipides que de molécules de protéines dans les membranes.¹⁵²⁻¹⁵⁵ La composition des feuillet

extérieure et intérieure des membranes cellulaires en lipides et en protéines diffèrent l'une de l'autre de manière à refléter les différentes fonctions exercées sur les deux surfaces de la membrane.

Dans cette thèse, des bicouches lipidiques modèles composées entièrement de phospholipides sont étudiées. De ce fait, la nature des phospholipides et leur transition de phase en milieux aqueux seront discutées plus en détails.

1.4.2.1 Les phospholipides

Les phospholipides sont les lipides les plus abondants dans la membrane biologique. Ils possèdent un groupe phosphate lié à un squelette de glycérol auquel sont greffés deux chaînes hydrocarbonées hydrophobes (sauf pour les lysophospholipides qui n'en possèdent qu'une) qui sont généralement des acides gras dont les longueurs peuvent varier avec 14–24 atomes de carbone. Une queue peut généralement comporter une ou plusieurs doubles liaisons cis (insaturée), tandis que l'autre queue n'en comporte pas (saturée). Les différences de longueur et de saturation des chaînes hydrocarbonées sont importantes car elles influencent la capacité des molécules de phospholipides à s'entasser les unes contre les autres ce qui affecte la fluidité de la membrane.

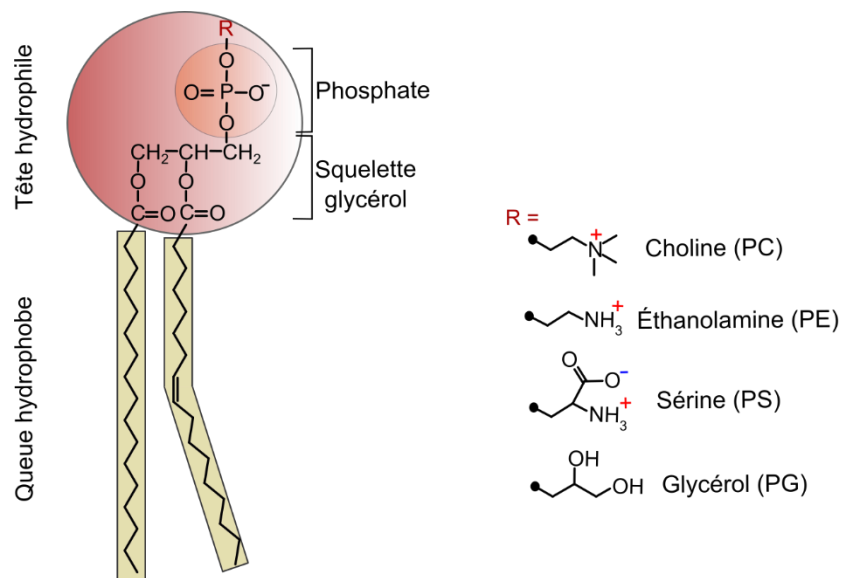


Figure 1. 16. Structure chimique d'un phospholipide : suivant la nature du groupe R attaché au groupement phosphate, on différenciera la phosphatidylcholine (PC), la phosphatidyléthanolamine (PE), la phosphatidylsérine (PS), et le phosphatidylglycérol (PG).

Les phospholipides peuvent différer non seulement par leurs chaînes hydrocarbonées, mais principalement par le groupement qui fonctionnalise le phosphate et définit ainsi la tête polaire du lipide (**Figure 1. 16**). Les phosphatidylcholines (PC) sont en tête de la liste des phospholipides les plus abondants dans les membranes plasmiques.¹⁵¹ Elles possèdent un groupement phosphate et une choline, qui sont respectivement chargés négativement et positivement, ce qui confère aux PC le caractère zwitterionique avec une charge globale neutre. D'autres phospholipides abondants dans la membrane plasmique des cellules eucaryotes sont la phosphatidyléthanolamine (PE) et la phosphatidylsérine (PS), avec des charges globales neutre et négative, respectivement. Un autre phospholipide à mentionner est le phosphatidylglycérol (PG) qui est spécifique aux cellules procaryotes et possède une charge globale négative. Dans les systèmes biologiques, la grande majorité des chaînes comportent seize et dix-huit carbones. Lorsqu'une chaîne de seize carbones est complètement saturée, elle est nommée palmitoyle et lorsqu'une chaîne de dix-huit atomes de carbones possède une instauration cis entre les carbones 9 et 10, elle est dite oléoyole. Un phospholipide possédant ces deux types de chaînes hydrocarbonées se caractérise par les lettres « PO » précédant les lettres qui décrivent sa partie polaire.

1.4.2.2 Transition de phase dans les dispersions aqueuses de phospholipides

La fluidité des membranes cellulaires est importante sur le plan biologique. Elle définit la mobilité latérale et transversale des lipides au sein de la bicouche ainsi que la rigidité/flexibilité de la membrane.¹⁵⁶ La fluidité d'une bicouche lipidique dépend à la fois de sa composition et de la température de son environnement, comme le démontrent aisément les études sur les bicouches synthétiques. Une membrane plasmique peut se trouver dans plusieurs types d'état de fluidité. L'état gel ou solide ordonné est une conformation lamellaire partiellement ordonnée qui peut être soit inclinée ($L_{\beta'}$) ou non inclinée (L_{β}), où les chaînes alkyles sont rigides, complètement étendues (conformation quasi toute trans) et peu mobiles (diffusion latérale, $D \sim 10^{-11} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$)¹⁵⁷. Cet état se caractérise par un arrangement compact et hautement ordonné grâce aux interactions de van der Waals maximisées entre les chaînes (**Figure 1. 17**). Au contraire, un état fluide est un état qui implique une phase lamellaire désordonnée (L_{α}) où les chaînes alkyles sont en forme de coudes (conformation cis). Les diffusions latérale et rotationnelle sont plus élevées dans cet état ($D \sim 10^{-8} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$)¹⁵⁸. On trouve dans la littérature également les termes liquide-cristallin (l_c) et liquide-désordonné (l_d) qui servent à caractériser une phase fluide.

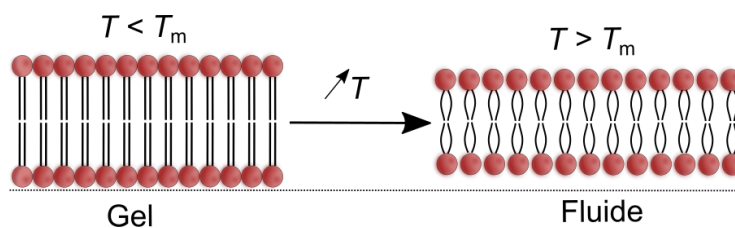


Figure 1. 17. Représentation schématique des phases gel et fluide d'une bicouche de phospholipides, respectivement avant (conformation quasi toute trans) et après la température de transition T_m (conformation cis et diminution de l'épaisseur).

En générale, au-dessus d'une certaine température qui est caractéristique à chaque système ou sous une influence combinée de température, de milieux aqueux et de composition, les chaînes alkyles d'un phospholipide subissent une transition de phase de l'état gel à l'état fluide. Une expansion dans l'aire moléculaire interfaciale de 15 à 30% ainsi qu'une diminution dans l'épaisseur de la membrane sont détectés lors de la transition conformationnelle d'un état gel à fluide. La température à laquelle ce passage se fait s'appelle température de transition (T_m pour *melting temperature* en anglais). Cette température varie en fonction de la longueur de la chaîne alkyle et du nombre d'insaturation, ainsi que la nature du groupement polaire. Pour les phospholipides ayant le même groupe polaire, une chaîne plus longue augmente la tendance des queues hydrocarbonées à interagir entre elles, ce qui nécessite plus d'énergie pour effectuer la transition de phase et ce qui augmente la T_m . D'autre part, la présence d'insaturation cause la présence de coudes dans les chaînes alkyles et les rend plus difficiles à assembler, ce qui abaisse la T_m .¹⁵⁹

1.4.3 Membranes lipidiques supportées modèles

Étant donné que les membranes cellulaires sont des systèmes complexes, les membranes synthétiques modèles simplifiées, composées essentiellement de phospholipides, constituent une plateforme attrayante pour imiter les processus cellulaires, tels que les interactions ligand-récepteur¹⁵⁵ et les événements de signalisation cellulaire^{160, 161}. De plus, les membranes lipidiques modèles permettent une meilleure compréhension de ces processus en offrant la possibilité de contrôler certaines caractéristiques telles que la composition, la mobilité, et la rigidité de la bicouche. Les premiers modèles membranaires ont été développés par Mueller et ses collègues en 1962.¹⁶² Ils ont développé des systèmes permettant d'étudier les propriétés électriques d'une bicouche appelée "membrane lipidique noire", qui consistait en des molécules de phospholipides déposées à une interface liquide-liquide à travers un trou de 1 mm de diamètre entre deux chambres de solutions.

Cependant, les membranes modèles ne sont devenues plus courantes qu'avec l'introduction des membranes lipidiques déposées directement sur des supports solides au milieu des années 80 par McConnell et ses collègues.^{163, 164} Ces bicouches biomimétiques supportées (SLB pour *Supported Lipid Bilayer* en anglais) ont permis de capturer des caractéristiques clés des membranes naturelles, telles que la mobilité latérale des lipides et des ligands associés. Une variété de matériaux synthétiques dynamiques modèles ont également été développés en solution pour l'analyse des interactions cellulaires, tels que les liposomes et les vésicules unilamellaires géantes (GUV), les bicelles et les nanodisques.^{165, 166} Cependant, l'immobilisation de bicouches lipidiques sur une surface solide plane constitue une plateforme attractive en raison de leur facilité de préparation, leur robustesse et leur adaptabilité à de nombreuses techniques de caractérisation de surface, telles que la microscopie de force atomique (AFM), la spectroscopie de résonance des plasmons de surface (SPR), l'électrochimie et les spectroscopies vibrationnelles (IR, Raman).³⁻⁸ Les membranes supportées par une surface peuvent aussi offrir une diffusion latérale semblable à celle des liposomes en solution et sont utilisées dans une large gamme d'applications comme l'étude de la délivrance et résistance aux médicaments,¹⁶⁷⁻¹⁷¹ la bio-détection,¹⁷²⁻¹⁷⁷ et la nanotechnologie^{178-180, 181-184}.

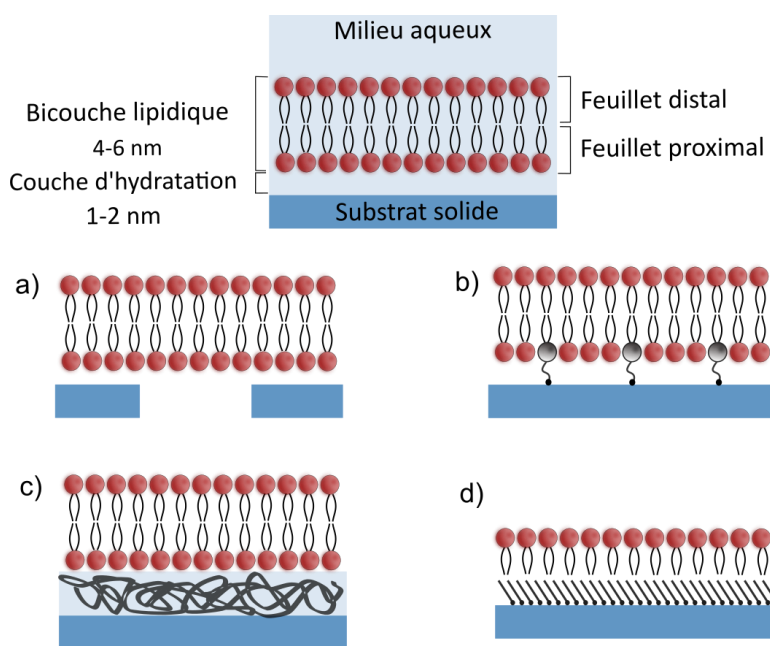


Figure 1. 18. Illustrations des différentes architectures de bicouches lipidiques supportées (SLBs) : a) SLB libre (*free standing*), b) SLB attachée à la surface, c) SLB coussinée par des polymères (*cushioned SLB*), et d) membrane lipidique supportée par une monocouche auto-assemblée (SAM). Figure inspirée des références 183 et 185.

À l'interface bicouche biomimétique supportée/support solide, le feuillet proximal de la bicouche (directement en contact avec le support) est généralement soumis à une combinaison de forces de van der Waals, de forces d'hydratation, d'interactions électrostatiques, et de forces stériques pour assurer la stabilité de la membrane.¹⁸⁶⁻¹⁸⁸ Au niveau de cette interface se trouve une couche d'hydratation (1–3 nm d'épaisseur) qui garantit la conservation d'une certaine fluidité et de mobilité latérale.^{10, 189, 190} La formation de bicouches supportées continues et uniformes nécessitent l'utilisation de surfaces planes lisses et hydrophiles comme le mica⁹, le verre^{10, 11}, et les oxydes métalliques (SiO₂, TiO₂)^{3, 12} ou encore des surfaces métalliques fonctionnalisées par une monocouche auto-assemblée d'alcanethiols (SAM) ou une couche de polymère (**Figure 1. 18**).^{3, 13, 14, 183, 185}

Plusieurs méthodes sont aujourd'hui utilisées pour former des bicouches supportées, dont on citera les plus couramment employées :

1.4.3.1 Formation par transfert Langmuir-Blodgett/Langmuir-Schaeffer (LB/LS)

La méthode classique utilisée pour préparer des monocouches et bicouches auto-assemblées est la technique de Langmuir-Blodgett (LB). Irving Langmuir était le premier à fournir une compréhension moderne de la structure des monocouches que forme l'huile à la surface de l'eau au niveau moléculaire (en 1917).¹⁹¹ Plus tard, Katherine Blodgett et Langmuir ont montré que la monocouche d'adsorbats de Langmuir pouvait être transférée sur un support solide pour générer des mono, bi ou multicouches uniformes et complètes physisorbées sur un support solide.¹⁹² Le développement de ces films de Langmuir-Blodgett (LB) était d'une grande importance car ils démontrent que les propriétés interfaciales des surfaces solides peuvent être influencées par la simple adsorption d'un mince film organique.^{192, 193}

Cette technique consiste en la distribution des molécules de phospholipides (dissous dans un solvant très volatil) à la surface d'un bain d'eau. À l'interface eau-air, les phospholipides se placent alors avec les têtes hydrophiles plongeant dans la phase aqueuse et les queues hydrophobes exposées à l'air. Des barrières d'asservissement situées de part et d'autre de la cuve sont utilisées pour tasser et mettre en contact les phospholipides et former ainsi la monocouche. Un support solide, initialement placé dans la cuve de manière verticale, est soulevé lentement.¹⁹⁴ En sortant le support de la cuve, les phospholipides interagissent avec la surface hydrophile et la monocouche est transférée sur le substrat. Une deuxième monocouche peut être déposée sur la première soit en

redescendant verticalement le support dans la cuve soit en amenant le support horizontalement selon la méthode de Langmuir/Schaeffer (LS), ou encore par fusion de vésicules (**Figure 1. 19**).

Les techniques LB/LS offrent la possibilité de contrôler la composition des deux feuillettes de la bicouche dans le but de former des membranes asymétriques, ainsi que la pression de surface à laquelle se fait le transfert.

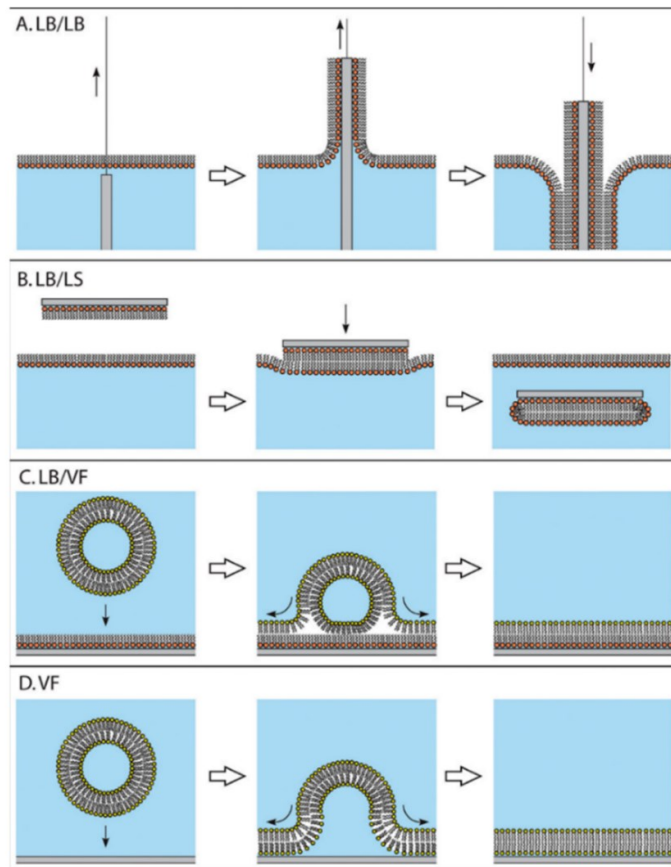


Figure 1. 19. Formation des bicouches lipidiques supportées par A) transfert Langmuir-Blodgett, B) transfert Langmuir-Blodgett/Langmuir-Schaeffer, C) transfert Langmuir-Blodgett suivi de fusion de vésicules, et D) fusion de vésicules. Figure tirée de la référence 195.

1.4.3.2 Formation par fusion de vésicules

La technique de formation de bicouches supportées par fusion de vésicules est la plus souvent utilisée en raison de sa facilité, sa rapidité et sa simplicité. Cette méthode ne nécessite pas l'utilisation d'équipements spécifiques, contrairement aux méthodes de LB/LS, et permet également d'obtenir des bicouches de qualité (très peu de défaut et bon recouvrement de surface). Elle consiste tout

d'abord à préparer une suspension de vésicules lipidiques unilamellaires, puis de la déposer sur une surface solide hydrophile. C'est un procédé de formation qui est purement spontané et entièrement contrôlé par la thermodynamique.

Un des mécanismes de formation par fusion de vésicules possible^{6, 14, 196-199} est représenté dans la **Figure 1. 20**, montrant les différentes étapes. Durant la première étape (A–B), les vésicules commencent par diffuser vers la surface pour s'y adsorber et adhérer. Une fois adsorbées, elles se déforiment et si cette déformation est assez suffisante, les vésicules se rompent et forment les premiers patches lipidiques (C–E). L'étape qui suit est l'étape de croissance durant laquelle les bords des disques, qui sont hydrophobes donc thermodynamiquement instables²⁰⁰, fusionnent pour former des bicouches de plus en plus étendues (F). Des interactions de type hydrophobes se produisent entre les bords de la bicouche et les vésicules nouvellement adsorbées (G). Enfin les vésicules en excès déposées sur la surface de la bicouche sont désorbées par simple rinçage (H).

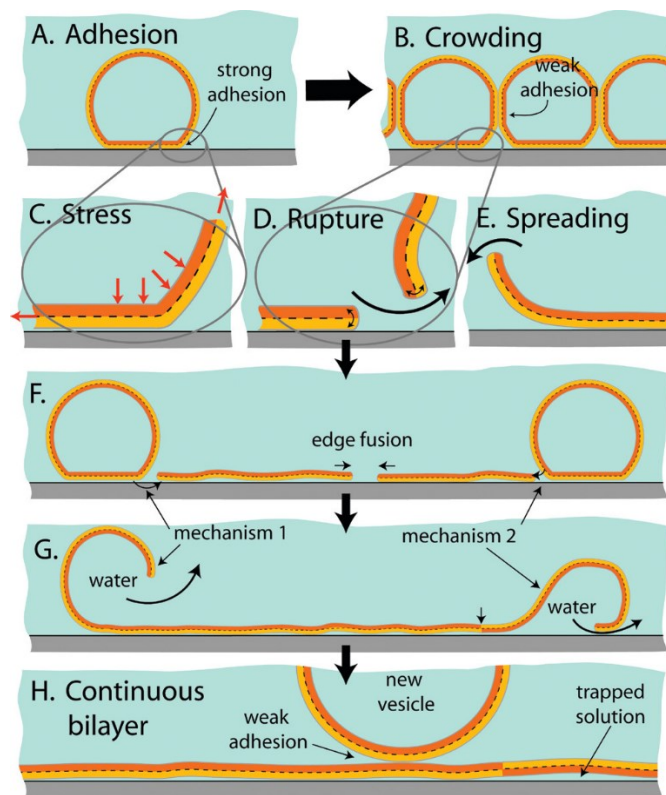


Figure 1. 20. Les différentes étapes de la formation des bicouches supportées par fusion de vésicules. Figure retirée de la référence 198.

De nombreux paramètres peuvent néanmoins intervenir pour la préparation d'une bicouche continue et uniforme qui doivent être maîtrisés et optimisés. Les facteurs influençant la rupture et la fusion de vésicules sont essentiellement : la nature du lipide, les caractéristiques physico-chimiques de la surface (charge, rugosité), la concentration en vésicules ainsi que la taille, la nature de l'environnement aqueux (pH, force ionique, la valence des ions), et la température.^{4, 14, 186-188, 199, 201, 202} Dans des conditions non favorables, les vésicules peuvent ne pas s'adsorber, ou peuvent former une bicouche incomplète ou encore s'adsorber en une couche de vésicules intacts.¹⁴

1.5 Techniques d'étude utilisées

1.5.1 Spectroscopie de résonance des plasmons de surface (SPR)

La spectroscopie de résonance des plasmons de surface (« SPR *spectroscopy* » pour « *Surface Plasmon Resonance spectroscopy* ») est connue depuis les travaux pionniers de Kretschman, Raether et Otto à la fin des années 1960, qui ont démontré la possibilité d'exciter des électrons à l'interface d'une surface diélectrique et conductrice (métallique) par de la lumière polarisée ou en utilisant un réseau de diffraction métallique, ce qui a rapidement été appliqué à la détermination des constantes optiques des métaux.²⁰³⁻²⁰⁵ Les plasmons de surface sont l'une des propriétés les plus remarquables des nanostructures métalliques. Ils consistent en une oscillation collective des électrons qui peut se produire à l'interface de deux milieux ayant des constantes électriques de signes opposés, comme un métal (généralement de l'or et de l'argent) et un milieu diélectrique.²⁰⁶ En raison de ses nombreux avantages, comme la haute sensibilité, le suivi en temps réel et la détection sans recours aux marqueurs (*label-free*), la SPR s'est simplement imposée comme une technique puissante dans les études des capteurs chimiques et biologiques en phase liquide, telles que les interactions bimoléculaires²⁰⁷⁻²⁰⁹, les mesures quantitatives^{210, 211} et l'étude des membranes lipidiques^{212, 213}. Le principe de détection en SPR repose sur les variations d'indices de réfraction du milieu adjacent au métal, d'où son utilisation importante comme sonde pour l'étude des phénomènes moléculaires.

Suite à l'envoi d'une lumière p-polarisée (perpendiculairement au plan du substrat) à un angle précis (θ_{incident}) vers un substrat couvert d'une couche métallique/diélectrique, une composante de la lumière incidente, correspondant à l'énergie du plasmon, pénètre dans la couche métallique et provoque l'excitation des électrons libres du métal. L'absorption de cette énergie induit la création

d'une onde évanescente électromagnétique et l'oscillation ondulatoire des électrons libres qui est connue sous le nom de la résonance des plasmons. L'onde évanescente se dégrade d'une façon exponentielle partant du métal vers le milieu diélectrique. Les plasmons de surfaces sont considérés comme des ondes électromagnétiques qui se propagent parallèlement à l'interface métal/diélectrique (dans le plan XY, **Figure 1. 21**) et dont l'intensité (le vecteur du champ) est maximale à l'endroit où l'excitation s'est produite mais diminue exponentiellement en s'éloignant de ce point d'origine.

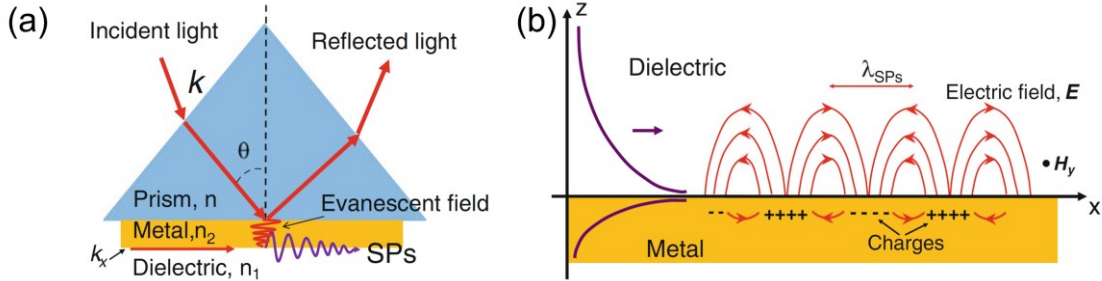


Figure 1. 21. (a) Illustration de la configuration ATR/Kretschmann pour l'excitation des plasmons de surface (b) Illustration du champ électromagnétique associé à la propagation des plasmons de surface à l'interface metal/diélectrique. Figure tirée de la référence 214.

La mesure de la constante diélectrique (par conséquent l'indice de réfraction) à la surface d'un film métallique fait la base de la détection en SPR. Un bon métal plasmonique est un métal qui possède une constante diélectrique avec une faible partie imaginaire positive (ϵ'') et une grande partie réelle négative (ϵ').

$$\epsilon_m = \epsilon' + i\epsilon'' \quad (1.7)$$

Afin que la résonance du plasmon se produise, il est nécessaire que la valeur absolue de la constante diélectrique du métal soit plus grande que celle de la solution en contact ($|\epsilon_m| > |\epsilon_s|$) et que le vecteur d'onde du plasmon de surface (k_{sp}) ainsi que le vecteur d'onde de la lumière incidente polarisée en réflexion totale interne dans la direction de l'axe des X (k_x) soient égaux. Ces deux valeurs peuvent être décrites selon les équations suivantes:

$$k_{sp} = \frac{2\pi}{\lambda} \left(\frac{\epsilon_m \epsilon_s}{\epsilon_m + \epsilon_s} \right)^{\frac{1}{2}} \quad (1.8)$$

$$k_x = \frac{2\pi}{\lambda} \eta_D \sin\theta_{inc} \quad (1.9)$$

Dans ces équations ; n_D est l'indice de réfraction du prisme et θ_{inc} est l'angle de la lumière incidente. Deux paramètres dans ces équations peuvent être variés; l'angle d'incidence de la lumière polarisée θ_{inc} et la longueur d'onde de la lumière λ . Afin d'exploiter le phénomène des plasmons de surface, il est nécessaire de maintenir l'une de ces variables constante; soit observer le changement de l'angle à laquelle le plasmon est formé en utilisant une lumière monochromatique (λ fixe ; **Figure 1. 22A**), ou bien observer le rapport des intensités de la lumière polarisée en p et en s (perpendiculaire et parallèle, respectivement) selon la longueur d'onde en maintenant une lumière blanche incidente à un angle donné (θ_{inc} fixe ; **Figure 1. 22B**).

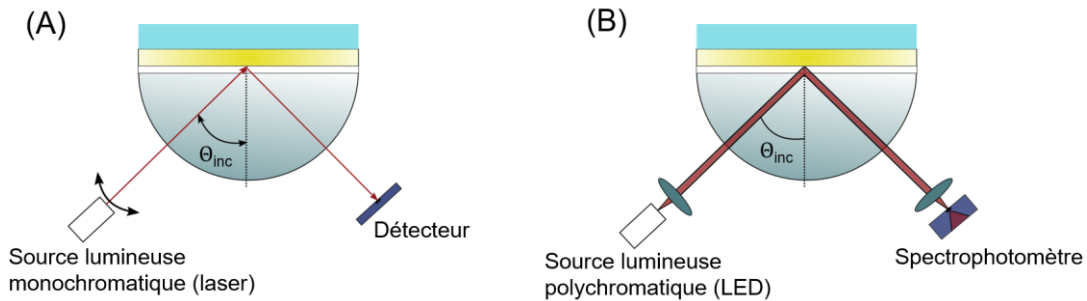


Figure 1. 22. Instrument SPR dans la configuration de Kretschmann. (A) Longueur d'onde fixe et interrogation de l'angle incident. (B) Angle incident fixe et variation de la longueur d'onde.

Plusieurs modèles de dispositifs SPR sont couramment utilisés dans les laboratoires, dont on trouve la configuration de Kretschmann la plus employée (**Figure 1. 22**). Cette configuration est plus connue sous le nom ATR/Kretschmann, puisque le capteur SPR est couplé à un prisme à réflexion totale atténuée (ATR).²⁰⁶ Le prisme, qui est couplé à l'endos du substrat couvert de la couche métallique, doit posséder un indice de réfraction élevé (BK7, saphir, LaSFN9, SF10) et la configuration suit la loi de Snell où $n_1 \cdot \sin\theta_1 = n_2 \cdot \sin\theta_2$.²¹⁵ La lumière se propage dans un milieu d'indice de réfraction n_1 (le prisme) sous un angle θ_1 ($\theta_1 = \theta_{inc}$) et frappe l'interface du deuxième milieu ayant un indice de réfraction n_2 plus petit. Une réflexion totale interne est possible lorsque l'angle d'incidence θ_{inc} est plus grand qu'un angle bien déterminé qui est l'angle critique $\theta_{critique}$ (où $n_1 > n_2$).²¹⁴

$$\theta_{critique} = \sin^{-1} \left(\sqrt{\epsilon'_{diélectrique} - \epsilon'_{prisme}} \right) \quad (1.10)$$

L'intensité de la lumière réfléchi est mesurée en fonction de l'angle d'incidence Θ_{inc} . Au fur et à mesure que Θ_{inc} se rapproche de $\Theta_{critique}$, une énergie progressivement améliorée s'accumule dans le faisceau réfléchi, et la réflectivité atteint son maximum à la valeur critique. Au-delà de $\Theta_{critique}$, une diminution dans la réflectivité est détectée suite à l'absorption de l'énergie du faisceau lumineux et un minimum de réflectivité, Θ_{min} , est atteint où le champ évanescent est couplé aux plasmons de la surface (**Figure 1. 23**). Un déplacement dans ce minimum est observé lorsque l'indice de réfraction du milieu change ($\Delta\Theta_{min}$).²¹⁴ Les capacités de biodétection de la SPR reposent sur le fait que les couches minces de biomolécules, les monocouches ou les sous-monocouches atténuent fortement les conditions d'excitation du plasmon de surface, ce qui peut être mesuré par un changement de l'angle ou de la longueur d'onde de résonance.

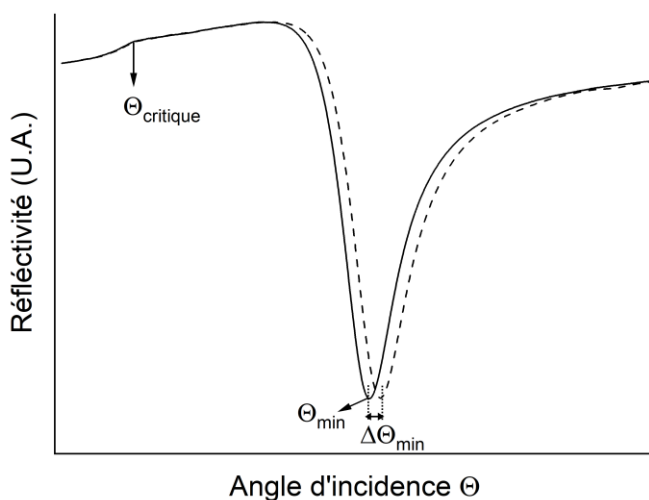


Figure 1. 23. Courbe SPR de réflectivité en fonction d'angle d'incidence (Θ) montrant le déplacement du pic SPR suite à l'adsorption de molécules à la surface ($\Delta\Theta_{min}$).

Le système SPR utilisé dans cette thèse est un montage équipé d'un faisceau lumineux monochromatique (un laser avec une longueur d'onde fixée à 780 ± 10 nm) permettant d'interroger simultanément des angles d'incidence de 48 à 66°. La courbe de réflexion est enregistrée en utilisant un faisceau monochromatique focalisé et un détecteur à barrettes de diode (CCD), dont les cellules se voient attribuer une valeur d'angle d'incidence avec une distribution de 15 degrés. Une relation angulaire entre la position de la lumière réfléchi sur le CCD et son angle d'incidence a été établie

par notre groupe de recherche.²¹⁶ Un étalonnage est effectué en mesurant les positions correspondant à la réflexion totale interne (Θ_{critique}) et à la résonance des plasmons de surface (Θ_{min}) pour une surface d'or dans des solutions d'éthylène glycol et eau de différents indices de réfraction. Ensuite, en utilisant le modèle de multiples couches de Fresnel, les valeurs expérimentales de Θ_{critique} exprimées en nombre de pixels du CCD sont converties en angles d'incidences. La relation pixel-angle d'incidence obtenue avec Θ_{critique} est comparée avec celle pour Θ_{min} ce qui permet les analyses quantitatives dont le calcul de la densité moléculaire de surface de la couche.

La couche métallique doit avoir une épaisseur de 45 à 50 nm pour que le couplage soit efficace afin de générer des plasmons de surface. Si elle est trop épaisse, l'onde évanescente créée à l'interface prisme/métal ne pourra pas atteindre l'interface métal/diélectrique et si elle est trop mince, l'oscillation des électrons est amortie en raison des effets de confinement.^{214, 217} La spectroscopie SPR est assez sensible pour détecter de très petits changements d'indice de réfraction en solution (jusqu'à 200-400 nm en profondeur partant de la surface du capteur), ainsi que des changements d'épaisseur subtils (Δd_{film} de $\sim 1-2 \text{ \AA}$ ou ng de matière adsorbée).

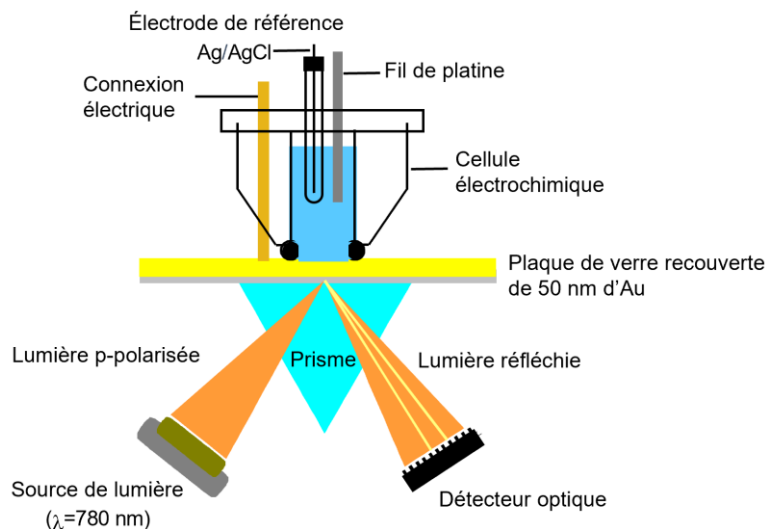


Figure 1. 24. Illustration du montage de la spectroscopie de résonance des plasmons de surface combinée avec l'électrochimie (ESPR). Figure reproduite de la référence 216.

Afin de suivre en temps réel les divers phénomènes physico-chimiques qui impliquent un transfert d'électrons aux interfaces solide-liquide, il est possible de coupler la technique de la SPR avec

l'électrochimie (**Figure 1. 24**).^{139, 218, 219} Ce couplage permet l'étude d'un large éventail de processus tels que l'adsorption/désorption moléculaire induit par le transfert de charge, la protonation/déprotonation, le changement d'orientation d'un adsorbat, l'électropolymérisation et l'électrodéposition moléculaire. En combinant les deux techniques d'analyse, l'étude des interfaces électrosensibles et la mesure des changements des propriétés optiques de la surface de l'électrode sont possibles par simple application de potentiel. Les processus électrochimiques peuvent être analysés en suivant simultanément la réponse du courant électrique et celle du signal SPR.^{139, 218, 219} Dans cette thèse, cette technique est utilisée pour étudier le changement d'épaisseur à la surface suite à l'assemblage de molécules amphiphiles induit par une réaction d'oxydoréduction. En suivant le $\Delta\theta_{\min}$ en fonction du temps d'application de potentiel, il est possible de quantifier l'adsorption irréversible des amphiphiles ainsi que sa stabilité.

1.5.2 Microscopie à force atomique

La microscopie à force atomique (AFM, pour *Atomic Force Microscopy*) est une technique de microscopie à sonde locale. Elle a été inventée en 1986 par Binnig, Quate et Gerber comme une application alternative la microscopie à effet tunnel (STM pour *Scanning Tunneling Microscopy*) afin de pouvoir cartographier la topographie des échantillons non conducteurs à l'échelle atomique²²⁰, et elle est rapidement devenue populaire parmi les biologistes. La raison de son invention était le potentiel de l'instrument à "observer", avec une résolution verticale et latérale sans précédent ($< 1 \text{ \AA}$ et 30 \AA , respectivement), des systèmes biologiques immergés dans un fluide (c'est-à-dire dans des conditions quasi-physiologiques). La microscopie à force atomique offre un certain nombre d'avantages qui en font un partenaire puissant des techniques optiques utilisées dans les nouvelles biologies. Elle ne nécessite pas de déshydratation, de marquage de l'échantillon ou de revêtement de surface, fonctionne bien dans les liquides et sur les cellules vivantes, et peut détecter au niveau de la molécule unique.^{5, 221, 222}

➤ Principe de fonctionnement

Le principe de fonctionnement de l'AFM peut être résumé comme suit. Une pointe très pointue, fixée à l'extrémité d'un microlevier flexible (cantilevier ou *cantilever* en anglais), balaie la surface d'un échantillon. Pendant le balayage, les forces d'interaction entre les atomes de l'échantillon et les atomes de la pointe provoque le pliage du levier. Cette déflexion verticale du levier est corrélée par calcul avec les coordonnées X et Y de la pointe pour donner la topographie tridimensionnelle de

l'échantillon (XYZ). Le déplacement du levier est assuré par un dispositif de balayage piézo-électrique (*scanners*) extrêmement précis. La pointe et le cantilevier sont composés de silicium ou de nitrure de silicium et sont disponibles dans différentes tailles et formes et avec différentes constantes de raideur. Typiquement, les pointes ont une forme pyramidale avec une longueur de base d'environ 5 μm et une courbure radiale apicale de moins de 15 nm. Les leviers peuvent aussi avoir une forme triangulaire ou rectangulaire, avec des longueurs de côté les plus longues allant de 200 μm maximum à 3 mm. Les cantileviers aux dimensions les plus réduites sont utilisés pour l'imagerie AFM à grande vitesse.

Un large éventail de forces d'interaction peut exister entre les atomes de l'échantillon et les atomes de la pointe, telles que; les forces de van der Waals, les forces coulombiennes, les forces capillaires et les forces magnétiques (si la pointe est revêtue d'un matériau magnétique). En milieu liquide, la pointe est complètement immergée et les forces capillaires disparaissent. Ce sont ainsi les forces électrostatiques entre la pointe et l'échantillon qui prédominent. Étant donné que ces différentes forces n'ont pas toutes la même amplitude, leur présence dépend de la distance entre la surface et la pointe. On trouve ; les forces de van der Waals qui dominent à longue distance (jusqu'à 10 nm de distance de l'échantillon), et les interactions coulombiennes qui apparaissent lorsque la pointe est près ou en contact avec la surface. La somme de toutes ces forces contribue à la déflexion de la pointe.

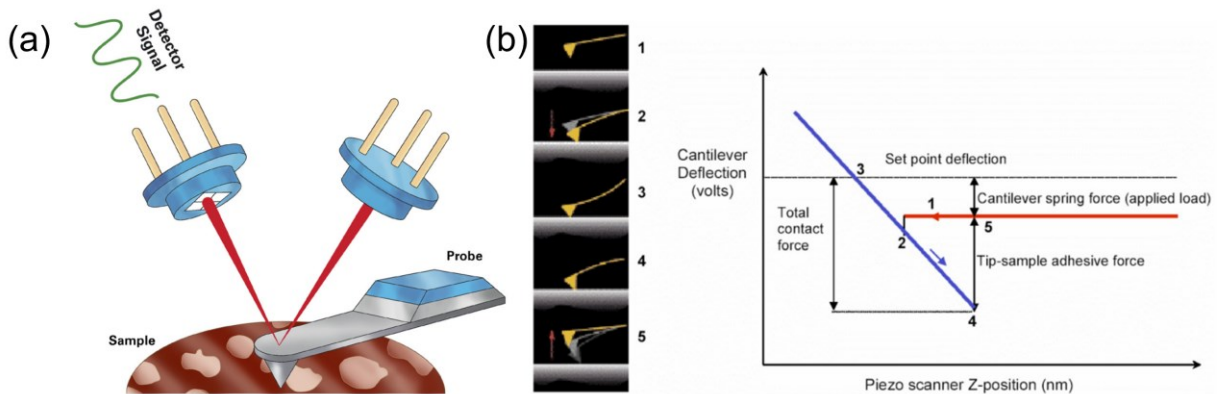


Figure 1. 25. (a) Représentation schématique du principe de fonctionnement de l'AFM. (b) Diagramme illustrant les variations dans la déflexion du levier (en volts) en fonction de la distance entre la pointe de l'AFM et la surface. Figures tirées de la référence 223.

Afin de tracer chaque mouvement de déflexion, un faisceau laser est focalisé sur le dos de l'extrémité du levier et sa réflexion est détectée par un quadrant à diodes photoélectriques segmentées (généralement en quatre quadrants) qui convertit la position du laser en voltage (**Figure 1. 25**). Une déflexion verticale du levier lors de son déplacement sur l'échantillon résulte en une déviation du faisceau réfléchi. Une boucle de rétrocontrôle assure le maintien constant de la déflexion globale et ajuste également la position verticale de la pointe lors du balayage. Cela permet de mesurer la hauteur du levier en tout point, d'extraire d'amples informations essentielles sur l'échantillon (propriétés adhésives, module d'élasticité, déformation...), mais aussi de préserver l'intégrité du levier ainsi que celle de l'échantillon. Le balayage de la surface ligne par ligne permet de reproduire le profil de hauteur de l'échantillon et en reconstituer l'image de topographie.²²⁴

Selon la nature des signaux exploités, il existe trois principaux modes d'imagerie utilisés pour établir la topographie d'un échantillon.

➤ Mode contact

Ce mode d'imagerie est un mode statique qui était le premier mode à être développé. Durant un mode contact, la pointe balaie la surface de l'échantillon tout en maintenant le contact avec ses atomes (**Figure 1. 26A**). Lors du balayage, on peut contrôler la force exercée par la pointe et par conséquent, le dispositif de balayage piézo-électrique ajuste la hauteur du levier. Malgré la simplicité de ce mode, il ne se trouve pas adapté à tous les échantillons. Même si la force appliquée par la pointe est à son minimum, le mode contact peut causer la déformation irréversible de certains matériaux fragiles tels que les échantillons biologiques, ainsi que celle de la pointe par les matériaux rigides.²²⁵

➤ Mode contact intermittent (ou *tapping mode* en anglais)

Ce mode a été conçu afin de pallier les limites du mode contact et éviter les forces de friction et de cisaillement entre la pointe et le substrat. La sonde est en oscillation continue tout au long de l'analyse de la surface, ce qui minimise le temps de contact entre la pointe et l'échantillon et réduit ainsi sa déformation élastique (**Figure 1. 26B**).²²⁶ En effet, le dispositif de balayage piézo-électrique conduit le levier à vibrer verticalement (en z) proche de sa fréquence de résonance lorsque la pointe n'est pas en contact avec la surface. Une fois la pointe s'approche vers la surface, l'amplitude de l'oscillation est réduite due à la perte d'énergie par cet obstacle, ce qui illumine un

endroit différent sur le détecteur et mène à une représentation topographique de la surface. Chaque levier possède sa propre amplitude d'oscillation ainsi que sa propre fréquence de résonance. Les changements d'amplitude de vibration sont mesurés par rapport à la fréquence de résonance de la pointe.²²⁶⁻²²⁸

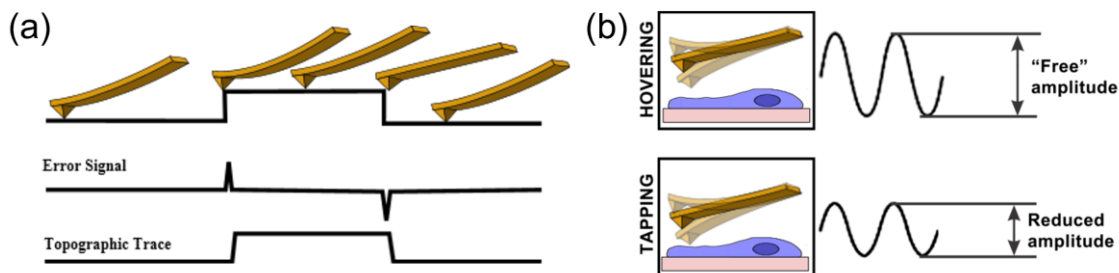


Figure 1. 26. Représentations schématiques du mode contact (a) et du mode tapping (b). Figures tirées de la référence 224.

➤ Mode nanomécanique (PFT pour *Peak Force Tapping*)

Ce mode est considéré comme la technologie la plus récente. Depuis 1992, il a été démontré que, en plus de l'imagerie topographique, l'instrument était capable de sonder également les propriétés mécaniques d'un échantillon, ou son affinité pour des molécules attachées à la pointe. Les nouvelles modalités de l'AFM fournissent des données quantitatives pertinentes ainsi qu'une nanosonde contrôlable permettant de manœuvrer les structures cellulaires, d'appliquer des stimuli mécaniques précis et de mesurer des interactions, à très faible force, à un niveau moléculaire.^{156, 229} Ce type de mesure est basé sur l'enregistrement en chaque point la force en fonction de la distance pointe/surface sous forme d'une courbe dite courbe de force-distance (**Figure 1. 27**).²²⁵ Ce mode permet d'adapter en permanence la déviation exercée par la pointe en fonction de la position verticale du levier, ce qui donne la possibilité de contrôler précisément la force exercée avec une grande sensibilité. Ces courbes représentent la déformation du levier pendant son approche et son retrait de la surface de l'échantillon. Les propriétés mécaniques de l'échantillon, tels que le module d'élasticité, l'adhésion, et la déformation, sont explorées en enfonçant la pointe dans l'échantillon, ce qui provoque son indentation, et en enregistrant la déformation du cantilever pendant le processus.

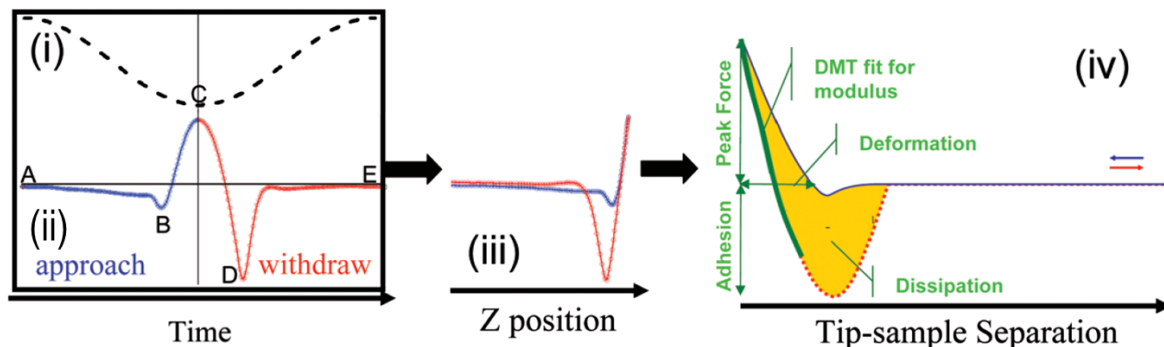


Figure 1. 27. Diagrammes illustrant une courbe de force lors d'un cycle d'approche-retrait avec le mode PFT. (i) représente le mouvement de la pointe, (ii) représente la déflexion du levier (en volts) en fonction du temps (incluant (A) point rétractée, (B) contact pointe-surface, (C) force maximale appliquée, (D) adhésion pointe-surface et (E) pointe retirée), (iii) représente la déflexion du levier (en volts) en fonction de la position verticale en z du piézo-électrique, et (iv) représente la force verticale du levier (en newtons) en fonction de la distance pointe-surface. Figures tirées de la référence 223.

Un exemple de courbe de force lors d'un cycle d'approche et de retrait de la pointe est présenté dans la **Figure 1. 27iv**. Durant le cycle d'approche, le cantilevier s'approche progressivement de la surface et la distance pointe-surface devient de plus en plus faible jusqu'à ce que les forces attractives mènent la pointe à être en contact direct avec le substrat. Le levier applique ensuite une force croissante avant que le piézo-électrique se retire de la surface. Durant le cycle de retrait, des forces d'adhésion maintiennent la pointe en contact avec la surface, ce qui cause sa déviation vers le bas, jusqu'à atteindre un point de détachement complet et un retour du levier à sa position verticale initiale. En connaissant la constante de raideur du cantilevier, il est alors possible de calculer la valeur de la force d'adhésion, qui est la force nécessaire pour détacher la pointe de la surface ou pour rompre la liaison entre les molécules attachées à la pointe et les molécules de la surface.

Ces courbes de force sont enregistrées successivement pour chaque pixel qui compose l'ensemble de l'échantillon pour fournir des images en temps réel des différentes propriétés mécaniques. De telles courbes peuvent être aussi enregistrées séparément en choisissant l'emplacement afin de quantifier les forces mécaniques souhaitées à l'échelle nanométrique. Les entités biologiques sont

continuellement exposées à des contraintes mécaniques. Par conséquent, de nombreuses structures résistant aux forces exercées font encore l'objet de recherches intensives. Heureusement, les courbes de force offrent aujourd'hui la possibilité d'explorer les assemblages biologiques à différentes échelles.

Le potentiel de l'AFM a été largement exploité ces dernières années pour comprendre de nombreux phénomènes moléculaires dans les domaines de la biologie et de la biophysique, tels que le repliement des protéines et l'affinité ligand-récepteur.²²⁹ Dans le cadre de la thèse, nous avons principalement utilisé l'AFM en mode *Peak Force Tapping* afin de caractériser l'assemblage de molécules amphiphiles en surface induit par réaction rédox. Ce mode est parfaitement adapté à l'étude des agrégats de surfactants ainsi que des bicouches lipidiques obtenus en milieux aqueux, en plus d'obtenir les images d'adhésion et les courbes de forces.

1.6 Mesure des angles de contacts et énergies de surface

➤ Mouillage de la surface

Le mouillage est la capacité d'un liquide à maintenir contact avec une surface solide. Il est le résultat d'un ensemble d'interactions intermoléculaires et se détermine par un équilibre entre les forces adhésives (entre le liquide et la surface solide) et cohésives (au sein du liquide). Lorsque les forces adhésives prédominent, la goutte de liquide s'étale facilement sur la surface et on parle de mouillabilité. Le paramètre de mouillage/mouillabilité, largement étudié depuis plusieurs décennies, est fondamental dans l'étude des phénomènes interfaciaux et dans un grand nombre d'applications industrielles (textiles, automobiles, adhésifs, ...). En posant une goutte de liquide sur un substrat solide, un angle se forme au niveau de leur ligne de contact au point où se croisent les trois phases (solide-liquide-gaz), qui s'appelle angle de contact (θ_c). Plus le produit liquide s'étale sur la surface, plus cet angle s'affaiblit. Ainsi, l'angle de contact fournit une mesure inverse de la mouillabilité. Cet angle est lié aux différentes tensions interfaciales mises en jeu et comme le montre la **Figure 1. 28**, à l'équilibre, la force exercée par la surface solide est égale à la différence entre les tensions superficielles solide-gaz (γ_S) et solide-liquide (γ_{SL}). Cette relation est décrite par l'équation de Young-Dupré qui est la suivante :

$$\gamma_L \cos\theta_c = \gamma_S - \gamma_{SL} \quad (1.11)$$

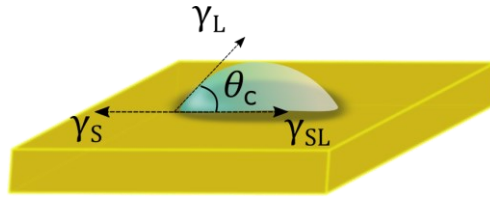


Figure 1. 28. Schéma représentant les forces appliquées sur une goutte d'eau posée sur un substrat solide.

La détermination de l'angle de contact consiste généralement à analyser une goutte de liquide déposée sur une surface solide d'une façon statique, qui respecte l'équation de Young (aucun changement de la forme ni du volume de la goutte), ou dynamique (modification de la forme et du volume de la goutte). Un goniomètre d'angle de contact, équipé d'un sous-système optique, est utilisé dans les deux cas afin de capturer des images à hautes résolutions de la goutte à analyser. En utilisant les mesures d'angles de contact, une prédiction sur l'hydrophobicité/hydrophilicité de la surface peut être obtenue;²³⁰

- $\theta_c = 0^\circ$; mouillage totale (mouillabilité absolue)
- $\theta_c < 90^\circ$; mouillabilité élevée ; surface hydrophile (surface superhydrophile pour $10^\circ < \theta_c \leq 20^\circ$)
- $\theta_c > 90^\circ$; faible mouillabilité ; surface hydrophobe (surface superhydrophobe pour $\theta_c \geq 145^\circ$)
- $\theta_c = 180^\circ$; mouillage nul

➤ Énergie de surface/Tension de surface

L'énergie de surface existe au niveau de toute interface (entre deux milieux non miscibles) et correspond à l'énergie qu'il faut fournir afin de garder les deux milieux séparés. Elle représente alors une quantité d'énergie par unité de surface ($J.m^{-2}$ ou $N.m^{-1}$). C'est une propriété entièrement relative à la nature du solide et les surfaces solides peuvent être divisées en solides à haute énergie et à basse énergie. Lorsqu'un solide se caractérise par des fortes liaisons chimiques (covalentes, ioniques ou métalliques) qui tiennent fort ses molécules ensemble, tels que les métaux, les verres et les céramiques, une grande quantité d'énergie est nécessaire pour briser ces solides. La plupart des liquides atteignent un mouillage complet avec ces surfaces à haute énergie. En contrepartie, les

solides constitués de cristaux moléculaires faibles tels que les hydrocarbures, où des forces physiques (van der Waals) maintiennent leur assemblage, une faible quantité d'énergie est nécessaires pour les briser. Dépendamment du liquide utilisé, ces surfaces peuvent permettre un mouillage complet ou partiel.

La mesure de l'angle de contact permet de mesurer l'énergie superficielle du liquide ou du solide, mais dans l'équation de Young seules γ_L et θ_c sont mesurables. Par conséquent, il est nécessaire d'avoir des relations supplémentaires afin d'estimer l'inconnue γ_S . Dans ce contexte, plusieurs modèles ont été développés;

- Zisman^{231, 232} a observé que le $\cos\theta_c$ augmente linéairement avec la diminution de la tension de surface du liquide (γ_L), établissant ainsi une fonction linéaire entre ces deux paramètres selon l'équation suivante :

$$\cos\theta_c = -1 + 2\sqrt{\gamma_S^d} \left(\frac{\sqrt{\gamma_L^d}}{\gamma_L} \right) \quad (1.12)$$

avec γ_S^d et γ_L^d sont les composantes dispersives de la surface et du liquide, respectivement. La courbe de $\cos\theta_c$ en fonction de $(\sqrt{\gamma_L^d}/\gamma_L)$ est une ligne droite dont $(2\sqrt{\gamma_S^d})$ est la pente de la courbe. Puisque l'ordonné à l'origine est fixé (-1), une seule mesure d'angle de contact (un seul liquide) est suffisante pour la détermination de la composante dispersive de l'énergie de surface recherchée. C'est donc une méthode simple à un paramètre mais qui ne tient pas compte des interactions spécifiques polaires entre le liquide et la surface.

- Le modèle de Owens, Wendt, Rabel et Kaelble (modèle de OWRK)²³³ a été développé pour tenir en compte les interactions spécifiques. Selon Owens/Wendt, l'énergie de surface est composée de deux éléments : un élément dispersif et un élément polaire ($\gamma = \gamma^d + \gamma^p$). La composante polaire provient des interactions dipôle-dipôle, dipôle induit-dipôle, liaisons hydrogènes et autres interactions spécifiques. La composante dispersive représente théoriquement les interactions de types van der Waals et autres interactions non spécifiques. Il s'agit ainsi d'un modèle à deux paramètres et il est basé sur l'équation suivante :

$$\frac{\gamma_L(1+\cos\theta)}{2\sqrt{\gamma_L^d}} = \sqrt{\gamma_S^p} \left(\sqrt{\frac{\gamma_L^p}{\gamma_L^d}} \right) + \sqrt{\gamma_S^d} \quad (1.12)$$

avec γ_S^p et γ_L^p sont les composantes polaires de la surface et du liquide, respectivement, et γ_S^d et γ_L^d sont les composantes dispersives de la surface et du liquide, respectivement.

La courbe de cette équation est une droite linéaire avec $\sqrt{\gamma_S^p}$ comme pente de la droite et $\sqrt{\gamma_S^d}$ comme ordonné à l'origine, dont l'ensemble donne l'énergie de surface globale. Afin d'avoir la meilleure régression linéaire et donc une mesure exacte, plusieurs liquides doivent être utilisés (3 à 5). C'est une théorie qui fonctionne très bien pour les surfaces de polarité modérée, mais qui demande généralement beaucoup de travail.

- Le modèle de Fowkes²³¹ est un modèle mathématiquement équivalent au modèle de OWRK mais qui ne nécessite pas le traçage de courbe, ce qui en fait le modèle le plus largement utilisé. La première étape dans la détermination de l'énergie de surface d'un solide à l'aide de la théorie de Fowkes consiste à tester l'angle de contact du solide avec un liquide dont la tension de surface ne comporte qu'une composante dispersive (donc, $\gamma_L^d = 0$ et $\gamma_L = \gamma_L^p$) (comme l'hexane et le diiodométhane). Dans ce cas, l'équation se réduit à :

$$\gamma_S^d = \frac{\gamma_L(1+\cos\theta)^2}{4} \quad (1.13)$$

La deuxième étape consiste en l'utilisation d'un autre liquide dont la tension de surface comporte à la fois la composante dispersive et polaire. Avec ces deux paramètres ainsi que la composante dispersive de la surface solide trouvée dans la première étape, l'équation de OWRK (1.12) peut mener à la composante polaire du solide (γ_S^p), ce qui donne l'énergie de surface globale ($\gamma_S = \gamma_S^d + \gamma_S^p$).

Dans le contexte de cette thèse, des angles de contact statiques ont été mesurés à l'aide d'une installation composée d'une seringue micrométrique, pour distribuer des gouttelettes de 2,0 μl du liquide sur la surface d'or modifiée par la SAM, et d'un microscope numérique USB pour capturer les images des gouttes déposées sur la surface. Par la suite, les composantes polaires et dispersives des énergies de surfaces ont été déterminées par la méthode de Fowkes en mesurant les angles de contact formés par de l'eau ultrapure et du diiodométhane.

1.7 Références

1. Jacobson, K.; Sheets Erin, D.; Simson, R., Revisiting the Fluid Mosaic Model of Membranes. *Science* **1995**, *268* (5216), 1441-1442.
2. Maxfield, F. R., Plasma membrane microdomains. *Curr. Opin. Cell Biol.* **2002**, *14* (4), 483-487.
3. Keller, C. A.; Kasemo, B., Surface specific kinetics of lipid vesicle adsorption measured with a quartz crystal microbalance. *Biophys. J.* **1998**, *75* (3), 1397-1402.
4. Jackman, J. A.; Cho, N.-J., Supported Lipid Bilayer Formation: Beyond Vesicle Fusion. *Langmuir* **2020**, *36* (6), 1387-1400.
5. Dufrêne, Y. F.; Lee, G. U., Advances in the characterization of supported lipid films with the atomic force microscope. *Biochim. Biophys. Acta Biomembr.* **2000**, *1509* (1), 14-41.
6. Richter, R.; Mukhopadhyay, A.; Brisson, A., Pathways of lipid vesicle deposition on solid surfaces: a combined QCM-D and AFM study. *Biophys. J.* **2003**, *85* (5), 3035-3047.
7. Richter, R. P.; Brisson, A. R., Following the Formation of Supported Lipid Bilayers on Mica: A Study Combining AFM, QCM-D, and Ellipsometry. *Biophys. J.* **2005**, *88* (5), 3422-3433.
8. Matyszewska, D.; Bilewicz, R.; Su, Z.; Abbasi, F.; Leitch, J. J.; Lipkowski, J., PM-IRRAS Studies of DMPC Bilayers Supported on Au(111) Electrodes Modified with Hydrophilic Monolayers of Thioglucose. *Langmuir* **2016**, *32* (7), 1791-1798.
9. Attwood, J. S.; Choi, Y.; Leonenko, Z., Preparation of DOPC and DPPC Supported Planar Lipid Bilayers for Atomic Force Microscopy and Atomic Force Spectroscopy. *Int. J. Mol. Sci.* **2013**, *14* (2), 3514-3539.
10. Cremer, P. S.; Boxer, S. G., Formation and Spreading of Lipid Bilayers on Planar Glass Supports. *J. Phys. Chem. B* **1999**, *103* (13), 2554-2559.
11. Schönherr, H.; Johnson, J. M.; Lenz, P.; Frank, C. W.; Boxer, S. G., Vesicle Adsorption and Lipid Bilayer Formation on Glass Studied by Atomic Force Microscopy. *Langmuir* **2004**, *20* (26), 11600-11606.
12. Reimhult, E.; Zäch, M.; Höök, F.; Kasemo, B., A Multitechnique Study of Liposome Adsorption on Au and Lipid Bilayer Formation on SiO₂. *Langmuir* **2006**, *22* (7), 3313-3319.
13. Rush, M. N.; Coombs, K. E.; Hedberg-Dirk, E. L., Surface chemistry regulates valvular interstitial cell differentiation in vitro. *Acta Biomater.* **2015**, *28*, 76-85.
14. Richter, R. P.; Bérat, R.; Brisson, A. R., Formation of Solid-Supported Lipid Bilayers: An Integrated View. *Langmuir* **2006**, *22* (8), 3497-3505.
15. Tabaei, S. R.; Choi, J.-H.; Haw Zan, G.; Zhdanov, V. P.; Cho, N.-J., Solvent-Assisted Lipid Bilayer Formation on Silicon Dioxide and Gold. *Langmuir* **2014**, *30* (34), 10363-10373.
16. Sackmann, E.; Tanaka, M., Supported Membranes on Soft Polymer Cushions: Fabrication, Characterization and Applications. *Trends Biotechnol.* **2000**, *18* (2), 58-64.
17. Silin, V. I.; Wider, H.; Woodward, J. T.; Valincius, G.; Offenhausser, A.; Plant, A. L., The Role of Surface Energy on the Formation of Hybrid Bilayer Membranes. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 14676-14683.
18. Marquês, J. T.; de Almeida, R. F. M.; Viana, A. S., Lipid bilayers supported on bare and modified gold – Formation, characterization and relevance of lipid rafts. *Electrochim. Acta* **2014**, *126*, 139-150.
19. Frasconi, M.; Mazzei, F.; Ferri, T., Protein immobilization at gold–thiol surfaces and potential for biosensing. *Anal. Bioanal. Chem.* **2010**, *398* (4), 1545-1564.

20. Twardowski, M.; Nuzzo, R. G., Molecular Recognition at Model Organic Interfaces: Electrochemical Discrimination Using Self-Assembled Monolayers (SAMs) Modified via the Fusion of Phospholipid Vesicles. *Langmuir* **2003**, *19* (23), 9781-9791.
21. Tabaei, S. R.; Jackman, J. A.; Kim, S.-O.; Zhdanov, V. P.; Cho, N.-J., Solvent-Assisted Lipid Self-Assembly at Hydrophilic Surfaces: Factors Influencing the Formation of Supported Membranes. *Langmuir* **2015**, *31* (10), 3125-3134.
22. Ferhan, A. R.; Yoon, B. K.; Park, S.; Sut, T. N.; Chin, H.; Park, J. H.; Jackman, J. A.; Cho, N.-J., Solvent-Assisted Preparation of Supported Lipid Bilayers. *Nat. Protoc.* **2019**, *14* (7), 2091-2118.
23. Cho, N.-J.; Cho, S.-J.; Cheong, K. H.; Glenn, J. S.; Frank, C. W., Employing an Amphipathic Viral Peptide to Create a Lipid Bilayer on Au and TiO₂. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129* (33), 10050-10051.
24. Zan, G. H.; Jackman, J. A.; Cho, N.-J., AH Peptide-Mediated Formation of Charged Planar Lipid Bilayers. *J. Phys. Chem. B* **2014**, *118* (13), 3616-3621.
25. Andersson, J.; Bilotto, P.; Mears, L. L. E.; Fossati, S.; Ramach, U.; Köper, I.; Valtiner, M.; Knoll, W., Solid-supported lipid bilayers – A versatile tool for the structural and functional characterization of membrane proteins. *Methods* **2020**, *180*, 56-68.
26. Crooks, R. M.; Ricco, A. J., New Organic Materials Suitable for Use in Chemical Sensor Arrays. *Acc. Chem. Res.* **1998**, *31* (5), 219-227.
27. Flink, S.; van Veggel, F. C. J. M.; Reinhoudt, D. N., Sensor Functionalities in Self-Assembled Monolayers. *Adv. Mater.* **2000**, *12* (18), 1315-1328.
28. Willner, I.; Katz, E., Integration of Layered Redox Proteins and Conductive Supports for Bioelectronic Applications. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39* (7), 1180-1218.
29. Deng, L.; Mrksich, M.; Whitesides, G. M., Self-Assembled Monolayers of Alkanethiolates Presenting Tri(propylene sulfoxide) Groups Resist the Adsorption of Protein. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118* (21), 5136-5137.
30. Mrksich, M.; Chen, C. S.; Xia, Y.; Dike, L. E.; Ingber, D. E.; Whitesides, G. M., Controlling cell attachment on contoured surfaces with self-assembled monolayers of alkanethiolates on gold. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1996**, *93* (20), 10775.
31. Tour, J. M., Molecular Electronics. Synthesis and Testing of Components. *Acc. Chem. Res.* **2000**, *33* (11), 791-804.
32. Joachim, C.; Gimzewski, J. K.; Aviram, A., Electronics using hybrid-molecular and mono-molecular devices. *Nature* **2000**, *408* (6812), 541-548.
33. Pease, A. R.; Jeppesen, J. O.; Stoddart, J. F.; Luo, Y.; Collier, C. P.; Heath, J. R., Switching Devices Based on Interlocked Molecules. *Acc. Chem. Res.* **2001**, *34* (6), 433-444.
34. Lud, S. Q.; Steenackers, M.; Jordan, R.; Bruno, P.; Gruen, D. M.; Feulner, P.; Garrido, J. A.; Stutzmann, M., Chemical Grafting of Biphenyl Self-Assembled Monolayers on Ultrananocrystalline Diamond. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128* (51), 16884-16891.
35. Liu, D.; Miao, Q., Recent progress in interface engineering of organic thin film transistors with self-assembled monolayers. *Mater. Chem. Front.* **2018**, *2* (1), 11-21.
36. Rowe, G. K.; Creager, S. E., Redox and Ion-Pairing Thermodynamics in Self-Assembled Monolayers. *Langmuir* **1991**, *7* (10), 2307-2312.
37. Ju, H.; Leech, D., Effect of Electrolytes on the Electrochemical Behaviour of 11-(Ferrocenylcarbonyloxy)Undecanethiol SAMs on Gold Disk Electrodes. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **1999**, *1* (7), 1549-1554.

38. Valincius, G.; Niaura, G.; Kazakevičienė, B.; Talaikytė, Z.; Kažemėkaitė, M.; Butkus, E.; Razumas, V., Anion Effect on Mediated Electron Transfer through Ferrocene-Terminated Self-Assembled Monolayers. *Langmuir* **2004**, *20* (16), 6631-6638.
39. De Long, H. C.; Buttry, D. A., Ionic interactions play a major role in determining the electrochemical behavior of self-assembling viologen monolayers. *Langmuir* **1990**, *6* (7), 1319-1322.
40. Love, J. C.; Estroff, L. A.; Kriebel, J. K.; Nuzzo, R. G.; Whitesides, G. M., Self-Assembled Monolayers of Thiolates on Metals as a Form of Nanotechnology. *Chem. Rev.* **2005**, *105* (4), 1103-1170.
41. Qiao, R.; Zuo, L., Self-assembly monolayers boosting organic-inorganic halide perovskite solar cell performance. *J. Mater. Res.* **2018**, *33* (4), 387-400.
42. Ulman, A., SELF-ASSEMBLED MONOLAYERS. In *An Introduction to Ultrathin Organic Films*, Ulman, A., Ed. Academic Press: San Diego, 1991; pp 237-304.
43. Bain, C. D.; Whitesides, G. M., Depth Sensitivity of Wetting: Monolayers of *w*-Mercaptoethers on Gold. *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 5897-5898.
44. Xiao, X.; Hu, J.; Charych, D. H.; Salmeron, M., Chain Length Dependence of the Frictional Properties of Alkylsilane Molecules Self-Assembled on Mica Studied by Atomic Force Microscopy. *Langmuir* **1996**, *12* (2), 235-237.
45. Kim, S.; Choi, G. Y.; Ulman, A.; Fleischer, C., Effect of Chemical Functionality on Adhesion Hysteresis. *Langmuir* **1997**, *13* (25), 6850-6856.
46. Kidoaki, S.; Matsuda, T., Adhesion Forces of the Blood Plasma Proteins on Self-Assembled Monolayer Surfaces of Alkanethiolates with Different Functional Groups Measured by an Atomic Force Microscope. *Langmuir* **1999**, *15* (22), 7639-7646.
47. Scherer, J.; Vogt, M. R.; Magnussen, O. M.; Behm, R. J., Corrosion of Alkanethiol-Covered Cu(100) Surfaces in Hydrochloric Acid Solution Studied by in-Situ Scanning Tunneling Microscopy. *Langmuir* **1997**, *13* (26), 7045-7051.
48. Santos, G. M.; Baldelli, S., Monitoring Localized Initial Atmospheric Corrosion of Alkanethiol-Covered Copper Using Sum Frequency Generation Imaging Microscopy: Relation between Monolayer Properties and Cu₂O Formation. *J. Phys. Chem. C* **2013**, *117* (34), 17591-17602.
49. Bigelow, W. C.; Pickett, D. L.; Zisman, W. A., Oleophobic monolayers: I. Films adsorbed from solution in non-polar liquids. *J. Colloid Sci.* **1946**, *1* (6), 513-538.
50. Polymeropoulos, E. E.; Sagiv, J., Electrical conduction through adsorbed monolayers. *J. Chem. Phys.* **1978**, *69* (5), 1836-1847.
51. Sagiv, J., Organized monolayers by adsorption. 1. Formation and structure of oleophobic mixed monolayers on solid surfaces. *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102* (1), 92-98.
52. Nuzzo, R. G.; Allara, D. L., Adsorption of bifunctional organic disulfides on gold surfaces. *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105* (13), 4481-4483.
53. Nuzzo, R. G.; Zegarski, B. R.; Dubois, L. H., Fundamental studies of the chemisorption of organosulfur compounds on gold(111). Implications for molecular self-assembly on gold surfaces. *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109* (3), 733-740.
54. Dubois, L. H.; Nuzzo, R. G., Synthesis, Structure, and Properties of Model Organic Surfaces. *Annu. Rev. Phys. Chem.* **1992**, *43* (1), 437-463.
55. Bain, C. D.; Troughton, E. B.; Tao, Y.-T.; Evall, J.; Whitesides, G. M.; Nuzzo, R. G., Formation of Monolayer Films by the Spontaneous Assembly of Organic Thiols from Solution onto Gold. *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 321-335.

56. Bensebaa, F.; Voicu, R.; Huron, L.; Ellis, T. H.; Kruus, E., Kinetics of Formation of Long-Chain n-Alkanethiolate Monolayers on Polycrystalline Gold. *Langmuir* **1997**, *13* (20), 5335-5340.
57. Peterlinz, K. A.; Georgiadis, R., In Situ Kinetics of Self-Assembly by Surface Plasmon Resonance Spectroscopy. *Langmuir* **1996**, *12* (20), 4731-4740.
58. Kawasaki, M.; Sato, T.; Tanaka, T.; Takao, K., Rapid Self-Assembly of Alkanethiol Monolayers on Sputter-Grown Au(111). *Langmuir* **2000**, *16* (4), 1719-1728.
59. Schreiber, F., Structure and growth of self-assembling monolayers. *Prog. Surf. Sci.* **2000**, *65* (5), 151-257.
60. Bain, C. D.; Whitesides, G. M., A Study by Contact Angle of the Acid-Base Behavior of Monolayers Containing w-Mercaptocarboxylic Acids Adsorbed on Gold: An Example of Reactive Spreading. *Langmuir* **1989**, *5*, 1370-1378.
61. Bain, C. D.; Whitesides, G. M., Correlation between Wettability and Structure in Monolayers in Alkanethiols Adsorbed on Gold. *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 3665-3666.
62. Bain, C. D.; Evall, J.; Whitesides, G. M., Formation of Monolayers by the Coadsorption of Thiols on Gold: Variation in the Head Group, Tail Group, and Solvent. *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 7155-7164.
63. Ulman, A., Formation and Structure of Self-Assembled Monolayers. *Chem. Rev.* **1996**, *96* (4), 1533-1554.
64. Porter, M. D.; Bright, T. B.; Allara, D. L.; Chidsey, C. E. D., Spontaneously organized molecular assemblies. 4. Structural characterization of n-alkyl thiol monolayers on gold by optical ellipsometry, infrared spectroscopy, and electrochemistry. *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109* (12), 3559-3568.
65. Stroeve, P., Self-Assembled Monolayers: Adsorption and Desorption from Alkanethiols on Gold. *Structure* **2009**, *3* (R30).
66. Nerngchamnon, N.; Wu, H.; Sotthewes, K.; Yuan, L.; Cao, L.; Roemer, M.; Lu, J.; Loh, K. P.; Troadec, C.; Zandvliet, H. J. W.; Nijhuis, C. A., Supramolecular Structure of Self-Assembled Monolayers of Ferrocenyl Terminated n-Alkanethiolates on Gold Surfaces. *Langmuir* **2014**, *30* (44), 13447-13455.
67. Strong, L.; Whitesides, G. M., Structures of self-assembled monolayer films of organosulfur compounds adsorbed on gold single crystals: electron diffraction studies. *Langmuir* **1988**, *4* (3), 546-558.
68. Camillone, N. I. E., P; Leung, T Y.B.; Schwartz, P; Scoles, G [1]; Poirier, G E; Tarlov, M J New monolayer phases of [ital n]-alkane thiols self-assembled on Au(111): Preparation, surface characterization, and imaging. *J. Chem. Phys.* **1994**, *101* (12), 11031-11036.
69. Ghosh, M.; Yang, D.-S., Structures of self-assembled n-alkanethiols on gold by reflection high-energy electron diffraction. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2020**, *22* (30), 17325-17335.
70. Schoenenberger, C.; Jorritsma, J.; Sondag-Huethorst, J. A. M.; Fokkink, L. G. J., Domain Structure of Self-Assembled Alkanethiol Monolayers on Gold. *J. Phys. Chem.* **1995**, *99* (10), 3259-3271.
71. Israelachvili, J. N., Intermolecular and Surface Forces. Academic Press: *New York*, 1991.
72. Ulman, A.; Eilers, J. E.; Tillman, N., Packing and molecular orientation of alkanethiol monolayers on gold surfaces. *Langmuir* **1989**, *5* (5), 1147-1152.
73. Bareman, J. P.; Klein, M. L., Collective tilt behavior in dense, substrate-supported monolayers of long-chain molecules: a molecular dynamics study. *J. Phys. Chem.* **1990**, *94* (13), 5202-5205.
74. Chidsey, C. E. D.; Loiacono, D. N., Chemical functionality in self-assembled monolayers: structural and electrochemical properties. *Langmuir* **1990**, *6* (3), 682-691.

75. Nicholas Camillone, C. E. D. C., Gang-yu Liu, Putvinski, T. M., Giacinto Scoles, Surface structure and thermal motion of n-alkane thiols self-assembled on Au(111) studied by low energy helium diffraction. *J. Chem. Phys.* **1991**, *94* (12), 8493-8502.
76. Schlenoff, J. B.; Li, M.; Ly, H., Stability and Self-Exchange in Alkanethiol Monolayers. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117* (50), 12528-12536.
77. Poirier, G. E.; Tarlov, M. J., The c(4X2) Superlattice of n-Alkanethiol Monolayers Self-Assembled on Au(111). *Langmuir* **1994**, *10* (9), 2853-2856.
78. Bucher, J.-P.; Santesson, L.; Kern, K., Thermal Healing of Self-Assembled Organic Monolayers: Hexane- and Octadecanethiol on Au(111) and Ag(111). *Langmuir* **1994**, *10* (4), 979-983.
79. Schoenenberger, C.; Sondag-Huethorst, J. A. M.; Jorritsma, J.; Fokkink, L. G. J., What Are the "Holes" in Self-Assembled Monolayers of Alkanethiols on Gold? *Langmuir* **1994**, *10* (3), 611-614.
80. Widrig, C. A.; Alves, C. A.; Porter, M. D., Scanning tunneling microscopy of ethanethiolate and n-octadecanethiolate monolayers spontaneously absorbed at gold surfaces. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113* (8), 2805-2810.
81. Finklea, H. O., Electrochemistry of Organized Monolayers of Thiols and Related Molecules on Electrodes. In *Electroanalytical Chemistry: A Series of Advances*, Bard, A. J.; Rubinstein, I., Eds. Marcel Dekker: New York, 1996; Vol. 19, pp 109–335.
82. Poirier, G. E., Characterization of Organosulfur Molecular Monolayers on Au(111) using Scanning Tunneling Microscopy. *Chem. Rev.* **1997**, *97* (4), 1117-1128.
83. Camillone, N.; Chidsey, C. E. D.; Liu, G. y.; Scoles, G., Superlattice structure at the surface of a monolayer of octadecanethiol self-assembled on Au(111). *J. Chem. Phys.* **1993**, *98* (4), 3503-3511.
84. Nuzzo, R. G.; Korenic, E. M.; Dubois, L. H., Studies of the temperature-dependent phase behavior of long chain n-alkyl thiol monolayers on gold. *J. Chem. Phys.* **1990**, *93* (1), 767-773.
85. Müller-Meskamp, L.; Lüssem, B.; Karthäuser, S.; Waser, R., Rectangular ($3 \times 2\sqrt{3}$) Superlattice of a Dodecanethiol Self-Assembled Monolayer on Au(111) Observed by Ultra-High-Vacuum Scanning Tunneling Microscopy. *J. Phys. Chem. B* **2005**, *109* (23), 11424-11426.
86. Guo, Q.; Li, F., Self-assembled alkanethiol monolayers on gold surfaces: resolving the complex structure at the interface by STM. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2014**, *16* (36), 19074-19090.
87. Abbott, N. L.; Whitesides, G. M., Potential-Dependent Wetting of Aqueous Solutions on Self-Assembled Monolayers Formed from 15-(Ferrocenylcarbonyl)pentadecanethiol on Gold. *Langmuir* **1994**, *10* (5), 1493-1497.
88. Welker, M. E., Ferrocenes as Building Blocks in Molecular Rectifiers and Diodes. *Molecules* **2018**, *23* (7), 1551.
89. Chen, X.; Roemer, M.; Yuan, L.; Du, W.; Thompson, D.; Del Barco, E.; Nijhuis, C. A., Molecular Diodes with Rectification Ratios Exceeding 10⁵ Driven by Electrostatic Interactions. *Nat. Nanotechnol.* **2017**, *12* (1748-3395 (Electronic)), 797-803.
90. Fabre, B., Ferrocene-Terminated Monolayers Covalently Bound to Hydrogen-Terminated Silicon Surfaces. Toward the Development of Charge Storage and Communication Devices. *Acc. Chem. Res.* **2010**, *43* (12), 1509-1518.
91. Uosaki, K.; Sato, Y.; Kita, H., Electrochemical Characteristics of a Gold Electrode Modified with a Self-Assembled Monolayer of Ferrocenylalkanethiols. *Langmuir* **1991**, *7* (7), 1510-1514.

92. Yokota, Y.; Yamada, T.; Kawai, M., Ion-Pair Formation between Ferrocene-Terminated Self-Assembled Monolayers and Counteranions Studied by Force Measurements. *J. Phys. Chem. C* **2011**, *115* (14), 6775-6781.
93. Chidsey Christopher, E. D., Free Energy and Temperature Dependence of Electron Transfer at the Metal-Electrolyte Interface. *Science* **1991**, *251* (4996), 919-922.
94. Ye, S.; Sato, Y.; Uosaki, K., Redox-Induced Orientation Change of a Self-Assembled Monolayer of 11-Ferrocenyl-1-undecanethiol on a Gold Electrode Studied by in Situ FT-IRRAS. *Langmuir* **1997**, *13* (12), 3157-3161.
95. Chidsey, C. E. D.; Bertozzi, C. R.; Putvinski, T. M.; Mujsce, A. M., Coadsorption of ferrocene-terminated and unsubstituted alkanethiols on gold: electroactive self-assembled monolayers. *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112* (11), 4301-4306.
96. Tran, E.; Rampi, M. A.; Whitesides, G. M., Electron Transfer in a Hg-SAM//SAM-Hg Junction Medicated by Redox Centers. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 3835-3839.
97. Chidsey Christopher, E. D.; Murray Royce, W., Electroactive Polymers and Macromolecular Electronics. *Science* **1986**, *231* (4733), 25-31.
98. Robinson, D. B.; Chidsey, C. E. D., Submicrosecond Electron Transfer to Monolayer-Bound Redox Species on Gold Electrodes at Large Overpotentials. *J. Phys. Chem. B* **2002**, *106* (41), 10706-10713.
99. Lee, L. Y. S.; Sutherland, T. C.; Rucareanu, S.; Lennox, R. B., Ferrocenylalkylthiolates as a Probe of Heterogeneity in Binary Self-Assembled Monolayers on Gold. *Langmuir* **2006**, *22* (9), 4438-4444.
100. Sumner, J. J.; Creager, S. E., Redox Kinetics in Monolayers on Electrodes: Electron Transfer Is Sluggish for Ferrocene Groups Buried within the Monolayer Interior. *J. Phys. Chem. B* **2001**, *105* (37), 8739-8745.
101. Ma, F.; Lennox, R. B., Potential-Assisted Deposition of Alkanethiols on Au: Controlled Preparation of Single- and Mixed-Component SAMs. *Langmuir* **2000**, *16* (15), 6188-6190.
102. Bard, A. J.; Faulkner, L. R., *Electrochemical Methods : Fundamentals and Applications*. Wiley: *New York*, 1980.
103. Hubbard, A. T.; Anson, F. C., Linear Potential Sweep Voltammetry in Thin Layers of Solution. *Anal. Chem.* **1966**, *38* (1), 58-61.
104. Marcus, R. A., Electrostatic Free Energy and Other Properties of States Having Nonequilibrium Polarization. I. *J. Chem. Phys.* **1956**, *24* (5), 979-989.
105. Watcharinyanon, S.; Moons, E.; Johansson, L. S. O., Mixed Self-Assembled Monolayers of Ferrocene-Terminated and Unsubstituted Alkanethiols on Gold: Surface Structure and Work Function. *J. Phys. Chem. C* **2009**, *113* (5), 1972-1979.
106. Norman, L. L.; Badia, A., Redox Actuation of a Microcantilever Driven by Self-Assembled Ferrocenylundecanethiolate Monolayer: An Investigation of the Origin of the Micromechanical Motion and Surface Stress. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131* (6), 2328-2337.
107. Fujii, S.; Kurokawa, S.; Murase, K.; Lee, K.-H.; Sakai, A.; Sugimura, H., Self-assembled mixed monolayer containing ferrocenylthiol molecules: STM observations and electrochemical investigations. *Electrochim. Acta* **2007**, *52* (13), 4436-4442.
108. Tian, H.; Xiang, D.; Shao, H.; Yu, H.-Z., Electrochemical Identification of Molecular Heterogeneity in Binary Redox Self-Assembled Monolayers on Gold. *J. Phys. Chem. C* **2014**, *118* (25), 13733-13742.
109. Nerngchamnong, N.; Thompson, D.; Cao, L.; Yuan, L.; Jiang, L.; Roemer, M.; Nijhuis, C. A., Nonideal Electrochemical Behavior of Ferrocenyl-Alkanethiolate SAMs Maps the Microenvironment of the Redox Unit. *J. Phys. Chem. C* **2015**, *119* (38), 21978-21991.

110. Smith, C. P.; White, H. S., Theory of the interfacial potential distribution and reversible voltammetric response of electrodes coated with electroactive molecular films. *Anal. Chem.* **1992**, *64* (20), 2398-2405.
111. Wong, R. A.; Yokota, Y.; Wakisaka, M.; Inukai, J.; Kim, Y., Probing consequences of anion-dictated electrochemistry on the electrode/monolayer/electrolyte interfacial properties. *Nat. Commun.* **2020**, *11* (1), 4194.
112. Cruanes, M. T.; Drickamer, H. G.; Faulkner, L. R., Characterization of Charge Transfer Processes in Self-Assembled Monolayers by High-Pressure Electrochemical Techniques. *Langmuir* **1995**, *11* (10), 4089-4097.
113. Calvente, J. J.; Andreu, R.; Molero, M.; López-Pérez, G.; Domínguez, M., Influence of Spatial Redox Distribution on the Electrochemical Behavior of Electroactive Self-Assembled Monolayers. *J. Phys. Chem. B* **2001**, *105* (39), 9557-9568.
114. Collard, D. M.; Fox, M. A., Use of electroactive thiols to study the formation and exchange of alkanethiol monolayers on gold. *Langmuir* **1991**, *7* (6), 1192-1197.
115. Yao, X.; Wang, J.; Zhou, F.; Wang, J.; Tao, N., Quantification of Redox-Induced Thickness Changes of 11-Ferrocenylundecanethiol Self-Assembled Monolayers by Electrochemical Surface Plasmon Resonance. *J. Phys. Chem. B* **2004**, *108* (22), 7206-7212.
116. Abrantes, L. M.; Kalaji, M.; Viana, A. S., In situ Ellipsometric Study of Redox Induced Orientation of a Short Chained Ferrocenylalkylthiol Monolayer Self-Assembled on Gold. *Russ. J. Electrochem.* **2002**, *38* (1), 39-43.
117. Ohtsuka, T.; Sato, Y.; Uosaki, K., Dynamic Ellipsometry of a Self-Assembled Monolayer of a Ferrocenylalkanethiol during Oxidation-Reduction Cycles. *Langmuir* **1994**, *10* (10), 3658-3662.
118. Norman, L. L.; Badia, A., Microcantilevers Modified with Ferrocene-Terminated Self-Assembled Monolayers: Effect of Molecular Structure and Electrolyte Anion on the Redox-Induced Surface Stress. *J. Phys. Chem. C* **2011**, *115* (5), 1985-1995.
119. Lombardo, D.; Kiselev, M. A.; Magazù, S.; Calandra, P., Amphiphiles Self-Assembly: Basic Concepts and Future Perspectives of Supramolecular Approaches. *Adv. Condens. Matter Phys.* **2015**, *2015*, 151683.
120. Nesměrák, K.; Němcová, I., Determination of Critical Micelle Concentration by Electrochemical Means. *Anal. Lett.* **2006**, *39* (6), 1023-1040.
121. Blanco, E.; González-Pérez, A.; Ruso, J. M.; Pedrido, R.; Prieto, G.; Sarmiento, F., A comparative study of the physicochemical properties of perfluorinated and hydrogenated amphiphiles. *J. Colloid Interface Sci.* **2005**, *288* (1), 247-260.
122. Tadros, T. F., Applied Surfactants: Principles and Applications. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim: 2005.
123. Zieliński, R., Novel Structural Increments for Estimating the Krafft Temperature of Ionic Surfactants in Aqueous Solutions. *J. Surfactants Deterg.* **2020**, *23* (6), 1087-1098.
124. Yang, P. W.; Mantsch, H. H., The critical micellization temperature and its dependence on the position and geometry of the double bond in a series of sodium octadecenoates. *J. Colloid Interface Sci.* **1986**, *113* (1), 218-224.
125. Klein, R.; Touraud, D.; Kunz, W., Choline carboxylate surfactants: biocompatible and highly soluble in water. *Green Chem.* **2008**, *10* (4), 433-435.
126. Klein, R.; Kellermeier, M.; Drechsler, M.; Touraud, D.; Kunz, W., Solubilisation of stearic acid by the organic base choline hydroxide. *Colloids Surf. A Physicochem. Eng. Asp.* **2009**, *338* (1), 129-134.

127. Stanley, F. E.; Warner, A. M.; Schneiderman, E.; Stalcup, A. M., Rapid determination of surfactant critical micelle concentrations using pressure-driven flow with capillary electrophoresis instrumentation. *J. Chromatogr. A* **2009**, *1216* (47), 8431-8434.
128. Israelachvili, J. N.; Mitchell, D. J.; Ninham, B. W., Theory of self-assembly of lipid bilayers and vesicles. *Biochim. Biophys. Acta Biomembr.* **1977**, *470* (2), 185-201.
129. Parshad, B.; Prasad, S.; Bhatia, S.; Mittal, A.; Pan, Y.; Mishra, P. K.; Sharma, S. K.; Fruk, L., Non-ionic small amphiphile based nanostructures for biomedical applications. *RSC Adv.* **2020**, *10* (69), 42098-42115.
130. Balazs, D. A.; Godbey, W. T., Liposomes for Use in Gene Delivery. *J. Drug Deliv.* **2011**, *2011*, 326497.
131. Levchenko, A. A.; Argo, B. P.; Vidu, R.; Talroze, R. V.; Stroeve, P., Kinetics of Sodium Dodecyl Sulfate Adsorption on and Desorption from Self-Assembled Monolayers Measured by Surface Plasmon Resonance. *Langmuir* **2002**, *18* (22), 8464-8471.
132. Manne, S.; Gaub Hermann, E., Molecular Organization of Surfactants at Solid-Liquid Interfaces. *Science* **1995**, *270* (5241), 1480-1482.
133. Burgess, I.; Jeffrey, C. A.; Cai, X.; Szymanski, G.; Galus, Z.; Lipkowski, J., Direct Visualization of the Potential-Controlled Transformation of Hemimicellar Aggregates of Dodecyl Sulfate into a Condensed Monolayer at the Au(111) Electrode Surface. *Langmuir* **1999**, *15* (8), 2607-2616.
134. Zamlynny, V.; Burgess, I.; Szymanski, G.; Lipkowski, J.; Majewski, J.; Smith, G.; Satija, S.; Ivkov, R., Electrochemical and Neutron Reflectivity Studies of Spontaneously Formed Amphiphilic Surfactant Bilayers at the Gold–Solution Interface. *Langmuir* **2000**, *16* (25), 9861-9870.
135. Leitch, J. J.; Collins, J.; Friedrich, A. K.; Stimming, U.; Dutcher, J. R.; Lipkowski, J., Infrared Studies of the Potential Controlled Adsorption of Sodium Dodecyl Sulfate at the Au(111) Electrode Surface. *Langmuir* **2012**, *28* (5), 2455-2464.
136. Chen, M.; Burgess, I.; Lipkowski, J., Potential controlled surface aggregation of surfactants at electrode surfaces – A molecular view. *Surf. Sci.* **2009**, *603* (10), 1878-1891.
137. Rosen, M. J., Surfactants and Interfacial Phenomena, 3rd Edition. John Wiley and Sons: Inc.: Hoboken, NJ, 2004.
138. Rowe, G. K.; Creager, S. E., Interfacial Solvation and Double-Layer Effects on Redox Reactions in Organized Assemblies. *J. Phys. Chem.* **1994**, *98* (21), 5500-5507.
139. Nguyen, K.-L.; Dionne, E. R.; Badia, A., Redox-Controlled Ion-Pairing Association of Anionic Surfactant to Ferrocene-Terminated Self-Assembled Monolayers. *Langmuir* **2015**, *31* (23), 6385-6394.
140. Singer, S. J.; Nicolson Garth, L., The Fluid Mosaic Model of the Structure of Cell Membranes. *Science* **1972**, *175* (4023), 720-731.
141. Engelman, D. M., Membranes are more mosaic than fluid. *Nature* **2005**, *438* (7068), 578-580.
142. Coskun, Ü.; Simons, K., Cell Membranes: The Lipid Perspective. *Structure* **2011**, *19* (11), 1543-1548.
143. Simons, K.; Ikonen, E., Functional rafts in cell membranes. *Nature* **1997**, *387* (6633), 569-572.
144. Lingwood, D.; Simons, K., Lipid Rafts As a Membrane-Organizing Principle. *Science* **2010**, *327* (5961), 46-50.
145. Boundless Fluid Mosaic Model, 2022 (cité en Mars 2022). disponible sur: <https://bio.libretexts.org/@go/page/12739>

146. Devaux, P. F., Protein Involvement in Transmembrane Lipid Asymmetry. *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* **1992**, *21* (1), 417-439.
147. Devaux, P. F., Static and dynamic lipid asymmetry in cell membranes. *Biochem.* **1991**, *30* (5), 1163-1173.
148. Daleke, D. L., Regulation of transbilayer plasma membrane phospholipid asymmetry. *J. Lipid Res.* **2003**, *44* (2), 233-242.
149. Fadeel, B.; Xue, D., The ins and outs of phospholipid asymmetry in the plasma membrane: roles in health and disease. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* **2009**, *44* (5), 264-277.
150. Zhao, H.; Lappalainen, P., A simple guide to biochemical approaches for analyzing protein–lipid interactions. *Mol. Biol. Cell* **2012**, *23* (15), 2823-2830.
151. Ingólfsson, H. I.; Melo, M. N.; van Eerden, F. J.; Arnarez, C.; Lopez, C. A.; Wassenaar, T. A.; Periole, X.; de Vries, A. H.; Tieleman, D. P.; Marrink, S. J., Lipid Organization of the Plasma Membrane. *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136* (41), 14554-14559.
152. Dürr, U. H. N.; Gildenberg, M.; Ramamoorthy, A., The Magic of Bicelles Lights Up Membrane Protein Structure. *Chem. Rev.* **2012**, *112* (11), 6054-6074.
153. Muller, M. P.; Jiang, T.; Sun, C.; Lihan, M.; Pant, S.; Mahinthichaichan, P.; Trifan, A.; Tajkhorshid, E., Characterization of Lipid–Protein Interactions and Lipid-Mediated Modulation of Membrane Protein Function through Molecular Simulation. *Chem. Rev.* **2019**, *119* (9), 6086-6161.
154. Phillips, R.; Ursell, T.; Wiggins, P.; Sens, P., Emerging roles for lipids in shaping membrane-protein function. *Nature* **2009**, *459* (7245), 379-385.
155. Jung, H.; Robison, A. D.; Cremer, P. S., Detecting Protein–Ligand Binding on Supported Bilayers by Local pH Modulation. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131* (3), 1006-1014.
156. Picas, L.; Rico, F.; Scheuring, S., Direct measurement of the mechanical properties of lipid phases in supported bilayers. *Biophys. J.* **2012**, *102* (1), L01-L3.
157. Alecio, M. R.; Golan, D. E.; Veatch, W. R.; Rando, R. R., Use of a fluorescent cholesterol derivative to measure lateral mobility of cholesterol in membranes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1982**, *79* (17), 5171-5174.
158. Mouritsen, O. G., Theoretical models of phospholipid phase transitions. *Chem. Phys. Lipids* **1991**, *57* (2), 179-194.
159. Israelachvili, J. N., Interactions of Biological Membranes and Structures. In *Intermolecular and Surface Forces (Third Edition)*, Academic Press: San Diego, 2011; pp 577-616.
160. Stoddart, A.; Dykstra, M. L.; Brown, B. K.; Song, W.; Pierce, S. K.; Brodsky, F. M., Lipid Rafts Unite Signaling Cascades with Clathrin to Regulate BCR Internalization. *Immunity* **2002**, *17* (4), 451-462.
161. Qi, S. Y.; Groves, J. T.; Chakraborty, A. K., Synaptic pattern formation during cellular recognition. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2001**, *98* (12), 6548-6553.
162. Mueller, P.; Rudin, D. O.; Ti Tien, H.; Wescott, W. C., Reconstitution of Cell Membrane Structure in vitro and its Transformation into an Excitable System. *Nature* **1962**, *194* (4832), 979-980.
163. Tamm Lk Fau - McConnell, H. M.; McConnell, H. M., Supported phospholipid bilayers. *Biophys. J.* **1985**, *47* (1), 105-113.
164. Brian, A. A.; McConnell, H. M., Allogeneic Stimulation of Cytotoxic T Cells by Supported Planar Membranes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1984**, *81* (19), 6159-6163.
165. Warschawski, D. E.; Arnold, A. A.; Beaugrand, M.; Gravel, A.; Chartrand, É.; Marcotte, I., Choosing membrane mimetics for NMR structural studies of transmembrane proteins. *Biochim. Biophys. Acta Biomembr.* **2011**, *1808* (8), 1957-1974.

166. McLean, M. A.; Gregory, M. C.; Sligar, S. G., Nanodiscs: A Controlled Bilayer Surface for the Study of Membrane Proteins. *Annu. Rev. biophys.* **2018**, *47*, 107-124.
167. Zhu, X.; DeGraaf, J.; Winnik, F. M.; Leckband, D., pH-Dependent Mucoadhesion of a Poly(N-isopropylacrylamide) Copolymer Reveals Design Rules for Drug Delivery. *Langmuir* **2004**, *20* (24), 10648-10656.
168. Nussio, M. R.; Sykes, M. J.; Miners, J. O.; Shapter, J. G., Kinetics Membrane Disruption Due to Drug Interactions of Chlorpromazine Hydrochloride. *Langmuir* **2009**, *25* (2), 1086-1090.
169. Pieta, P.; Majewska, M.; Su, Z.; Grossutti, M.; Wladyka, B.; Piejko, M.; Lipkowski, J.; Mak, P., Physicochemical Studies on Orientation and Conformation of a New Bacteriocin BacSp222 in a Planar Phospholipid Bilayer. *Langmuir* **2016**, *32* (22), 5653-5662.
170. Balhara, V.; Schmidt, R.; Gorr, S.-U.; DeWolf, C., Membrane Selectivity and Biophysical Studies of the Antimicrobial Peptide GL13K. *Biochim. Biophys. Acta Biomembr.* **2013**, *1828* (9), 2193-2203.
171. Redondo-Morata, L.; Lea Sanford, R.; Andersen, Olaf S.; Scheuring, S., Effect of Statins on the Nanomechanical Properties of Supported Lipid Bilayers. *Biophys. J.* **2016**, *111* (2), 363-372.
172. Su, H.; Liu, H.-Y.; Pappa, A.-M.; Hidalgo, T. C.; Cavassin, P.; Inal, S.; Owens, R. M.; Daniel, S., Facile Generation of Biomimetic-Supported Lipid Bilayers on Conducting Polymer Surfaces for Membrane Biosensing. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2019**, *11* (47), 43799-43810.
173. Park, Y.; Kang, B.; Ahn, C. H.; Cho, H. K.; Kwon, H.; Park, S.; Kwon, J.; Choi, M.; Lee, C.; Kim, K., Bionanoelectronic Platform with a Lipid Bilayer/CVD-Grown MoS₂ Hybrid. *Biosens. Bioelectron.* **2019**, *142*, 111512.
174. Liu, Y.; Cheng, Q., Detection of Membrane-Binding Proteins by Surface Plasmon Resonance with an All-Aqueous Amplification Scheme. *Anal. Chem.* **2012**, *84* (7), 3179-3186.
175. Soler, M.; Li, X.; John-Herpin, A.; Schmidt, J.; Coukos, G.; Altug, H., Two-Dimensional Label-Free Affinity Analysis of Tumor-Specific CD8 T Cells with a Biomimetic Plasmonic Sensor. *ACS Sens.* **2018**, *3* (11), 2286-2295.
176. Liu, C.; Huang, D.; Yang, T.; Cremer, P. S., Simultaneous Detection of Multiple Proteins that Bind to the Identical Ligand in Supported Lipid Bilayers. *Anal. Chem.* **2015**, *87* (14), 7163-7170.
177. Neumann, J.; Hennig, M.; Wixforth, A.; Manus, S.; Rädler, J. O.; Schneider, M. F., Transport, Separation, and Accumulation of Proteins on Supported Lipid Bilayers. *Nano Lett.* **2010**, *10* (8), 2903-2908.
178. Seo, J.; Kim, S.; Park, H. H.; Choi, D. Y.; Nam, J.-M., Nano-Bio-Computing Lipid Nanotablet. *Sci. Adv.* **2019**, *5* (2), eaau2124.
179. Avakyan, N.; Conway, J. W.; Sleiman, H. F., Long-Range Ordering of Blunt-Ended DNA Tiles on Supported Lipid Bilayers. *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, *139* (34), 12027-12034.
180. Sekula, S.; Fuchs, J.; Weg-Remers, S.; Nagel, P.; Schuppler, S.; Fragala, J.; Theilacker, N.; Franzreb, M.; Wingren, C.; Ellmark, P.; Borrebaeck, C. A.; Mirkin, C. A.; Fuchs, H.; Lenhart, S., Multiplexed Lipid Dip-Pen Nanolithography on Subcellular Scales for the Templating of Functional Proteins and Cell Culture. *Small* **2008**, *4* (10), 1785-93.
181. Castellana, E. T.; Cremer, P. S., Solid Supported Lipid Bilayers: From Biophysical Studies to Sensor Design. *Surf. Sci. Rep.* **2006**, *61*, 429-444.
182. Kiessling, V.; Domanska, M. K.; Murray, D.; Wan, C.; Tamm, L. K., Supported Lipid Bilayers. In *Wiley Encyclopedia of Chemical Biology*, Begley, T. P., Ed. John Wiley & Sons, Inc.: Hoboken, NJ, 2008; Vol. 4, pp 411-422.

183. van Weerd, J.; Karperien, M.; Jonkheijm, P., Supported Lipid Bilayers for the Generation of Dynamic Cell–Material Interfaces. *Adv. Healthcare Mater.* **2015**, *4* (18), 2743-2779.
184. Sackmann, E., Supported Membranes: Scientific and Practical Applications. *Science* **1996**, *271* (5245), 43-48.
185. Wang, L.; Roth, J. S.; Han, X.; Evans, S. D., Photosynthetic Proteins in Supported Lipid Bilayers: Towards a Biokleptic Approach for Energy Capture. *Small* **2015**, *11* (27), 3306-3318.
186. Reimhult, E.; Höök, F.; Kasemo, B., Intact Vesicle Adsorption and Supported Biomembrane Formation from Vesicles in Solution: Influence of Surface Chemistry, Vesicle Size, Temperature, and Osmotic Pressure. *Langmuir* **2003**, *19* (5), 1681-1691.
187. Dacic, M.; Jackman, J. A.; Yorulmaz, S.; Zhdanov, V. P.; Kasemo, B.; Cho, N.-J., Influence of Divalent Cations on Deformation and Rupture of Adsorbed Lipid Vesicles. *Langmuir* **2016**, *32* (25), 6486-6495.
188. Tero, R., Substrate Effects on the Formation Process, Structure and Physicochemical Properties of Supported Lipid Bilayers. *Materials* **2012**, *5* (12), 2658-2680.
189. Bayerl, T. M.; Bloom, M., Physical properties of single phospholipid bilayers adsorbed to micro glass beads. A new vesicular model system studied by ²H-nuclear magnetic resonance. *Biophys. J.* **1990**, *58* (2), 357-362.
190. Kiessling, V.; Tamm, L. K., Measuring distances in supported bilayers by fluorescence interference-contrast microscopy: polymer supports and SNARE proteins. *Biophys. J.* **2003**, *84* (1), 408-418.
191. Langmuir, I., The Shapes of Group Molecules Forming the Surfaces of Liquids. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1917**, *3* (4), 251-257.
192. Blodgett, K. B.; Langmuir, I., Built-Up Films of Barium Stearate and Their Optical Properties. *Phys. Rev.* **1937**, *51* (11), 964-982.
193. Blodgett, K. B., Films Built by Depositing Successive Monomolecular Layers on a Solid Surface. *J. Am. Chem. Soc.* **1935**, *57* (6), 1007-1022.
194. Wales, D. J.; Kitchen, J. A., Surface-based molecular self-assembly: Langmuir-Blodgett films of amphiphilic Ln(III) complexes. *Chem. Cent. J.* **2016**, *10* (1), 72.
195. Sondhi, P.; Lingden, D.; Stine, K. J., Structure, Formation, and Biological Interactions of Supported Lipid Bilayers (SLB) Incorporating Lipopolysaccharide. *Coatings* **2020**, *10* (10).
196. Richter, R. P.; Him, J. L. K.; Brisson, A., Supported lipid membranes. *Mater. Today* **2003**, *6* (11), 32-37.
197. Leonenko, Z. V.; Carnini, A.; Cramb, D. T., Supported planar bilayer formation by vesicle fusion: the interaction of phospholipid vesicles with surfaces and the effect of gramicidin on bilayer properties using atomic force microscopy. *Biochim. Biophys. Acta Biomembr.* **2000**, *1509* (1), 131-147.
198. Anderson, T. H.; Min, Y.; Weirich, K. L.; Zeng, H.; Fygenson, D.; Israelachvili, J. N., Formation of Supported Bilayers on Silica Substrates. *Langmuir* **2009**, *25* (12), 6997-7005.
199. Hardy, G. J.; Nayak, R.; Zauscher, S., Model cell membranes: Techniques to form complex biomimetic supported lipid bilayers via vesicle fusion. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **2013**, *18* (5), 448-458.
200. Weirich, K. L.; Israelachvili, J. N.; Fygenson, D. K., Bilayer edges catalyze supported lipid bilayer formation. *Biophys. J.* **2010**, *98* (1), 85-92.
201. Attwood, S.; Choi, Y.; Leonenko, Z., Preparation of DOPC and DPPC Supported Planar Lipid Bilayers for Atomic Force Microscopy and Atomic Force Spectroscopy. *Int. J. Mol. Sci.* **2013**, *14* (2), 3514-3539.

202. Cho, N.-J.; Frank, C. W.; Kasemo, B.; Höök, F., Quartz Crystal Microbalance with Dissipation Monitoring of Supported Lipid Bilayers on Various Substrates. *Nat. Protoc.* **2010**, *5* (6), 1096-1106.
203. Kretschmann, E.; Raether, H., Notizen: Radiative Decay of Non Radiative Surface Plasmons Excited by Light. *Z. Naturforsch. A* **1968**, *23* (12), 2135-2136.
204. Ritchie, R. H.; Arakawa, E. T.; Cowan, J. J.; Hamm, R. N., Surface-Plasmon Resonance Effect in Grating Diffraction. *Phys. Rev. Lett.* **1968**, *21* (22), 1530-1533.
205. Otto, A., Excitation of nonradiative surface plasma waves in silver by the method of frustrated total reflection. *Z. Phys., A Hadrons nucl.* **1968**, *216* (4), 398-410.
206. Homola, J.; Yee, S. S.; Gauglitz, G., Surface plasmon resonance sensors: review. *Sens. Actuators B Chem.* **1999**, *54* (1), 3-15.
207. Lin, M.-S.; Chiu, H.-M.; Fan, F.-J.; Tsai, H.-T.; Wang, S. S. S.; Chang, Y.; Chen, W.-Y., Kinetics and enthalpy measurements of interaction between β -amyloid and liposomes by surface plasmon resonance and isothermal titration microcalorimetry. *Colloids Surf. B* **2007**, *58* (2), 231-236.
208. Critchley, P.; Kazlauskaitė, J.; Eason, R.; Pinheiro, T. J. T., Binding of prion proteins to lipid membranes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2004**, *313* (3), 559-567.
209. Malmsten, M., Studies of serum protein adsorption at phospholipid surfaces in relation to intravenous drug delivery. *Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Asp.* **1999**, *159* (1), 77-87.
210. Masson, J.-F.; Battaglia, T. M.; Khairallah, P.; Beaudoin, S.; Booksh, K. S., Quantitative Measurement of Cardiac Markers in Undiluted Serum. *Anal. Chem.* **2007**, *79* (2), 612-619.
211. Taylor, A. D.; Ladd, J.; Etheridge, S.; Deeds, J.; Hall, S.; Jiang, S., Quantitative detection of tetrodotoxin (TTX) by a surface plasmon resonance (SPR) sensor. *Sens. Actuators B Chem.* **2008**, *130* (1), 120-128.
212. Du, X.; Wang, Y., Directed Assembly of Binary Monolayers with a High Protein Affinity: Infrared Reflection Absorption Spectroscopy (IRRAS) and Surface Plasmon Resonance (SPR). *J. Phys. Chem. B* **2007**, *111* (9), 2347-2356.
213. Boncheva, M.; Vogel, H., Formation of stable polypeptide monolayers at interfaces: controlling molecular conformation and orientation. *Biophys. J.* **1997**, *73* (2), 1056-1072.
214. Serrano Rubio, A., Introduction: Surface Plasmons. In *Modified Au-Based Nanomaterials Studied by Surface Plasmon Resonance Spectroscopy*, Serrano Rubio, A., Ed. Springer International Publishing: Cham, 2015; pp 1-27.
215. Hecht, E.; Zajac, A., Optics. Addison-Wesley Pub. Co.: Reading, Mass., 1974.
216. Badia, A.; Chen, C.-I.; Norman, L. L., Calibration of a fan-shaped beam surface plasmon resonance instrument for quantitative adsorbed thin film studies—No metal film thickness or optical properties required. *Sens. Actuators B* **2013**, *176*, 736-745.
217. Raether, H., Surface plasmons on smooth surfaces. In *Surface Plasmons on Smooth and Rough Surfaces and on Gratings*, Raether, H., Ed. Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, 1988; pp 4-39.
218. Norman, L. L.; Badia, A., Electrochemical Surface Plasmon Resonance Investigation of Dodecyl Sulfate Adsorption to Electroactive Self-Assembled Monolayers via Ion-Pairing Interactions. *Langmuir* **2007**, *23* (20), 10198-10208.
219. Dionne, E. R.; Sultana, T.; Norman, L. L.; Toader, V.; Badia, A., Redox-Induced Ion Pairing of Anionic Surfactants with Ferrocene-Terminated Self-Assembled Monolayers: Faradaic Electrochemistry and Surfactant Aggregation at the Monolayer/Liquid Interface. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135* (46), 17457-17468.

220. Binnig, G.; Quate, C. F.; Gerber, C., Atomic Force Microscope. *Phys. Rev. Lett.* **1986**, *56* (9), 930-933.
221. Picas, L.; E., M. P.; Hernández-Borrell, J., Atomic force microscopy: a versatile tool to probe the physical and chemical properties of supported membranes at the nanoscale. *Chem. Phys. Lipids* **2012**, *165* (8), 845-860.
222. Giocondi, M.-C.; Yamamoto, D.; Lesniewska, E.; Milhiet, P.-E.; Ando, T.; Le Grimmelc, C., Surface topography of membrane domains. *Biochim. Biophys. Acta Biomembr.* **2010**, *1798* (4), 703-718.
223. Kaemmer, S. Introduction to Bruker's ScanAsyst and PeakForce Tapping AFM Technology, 2022 (cité en Mars 2022). disponible sur: <https://www.bruker.com>
224. Maver, U.; Maver, T.; Perain, Z.; Mozeti, M.; Vesel, A.; Gabesb ek, M.; Stana-Kleinschek, K. In *Polymer Characterization with the Atomic Force Microscope*, 2013.
225. Xu, K.; Sun, W.; Shao, Y.; Wei, F.; Zhang, X.; Wang, W.; Li, P., Recent development of PeakForce Tapping mode atomic force microscopy and its applications on nanoscience. *Nanotechnol. Rev.* **2018**, *7* (6), 605-621.
226. Zhong, Q.; Inness, D.; Kjoller, K.; Elings, V. B., Fractured polymer/silica fiber surface studied by tapping mode atomic force microscopy. *Surf. Sci.* **1993**, *290* (1), L688-L692.
227. Putman, C. A.; van der Werf, K. O.; de Groot, B. G.; van Hulst, N. F.; Greve, J., Viscoelasticity of living cells allows high resolution imaging by tapping mode atomic force microscopy. *Biophys. J.* **1994**, *67* (4), 1749-1753.
228. Magonov, S. N.; Elings, V.; Whangbo, M. H., Phase imaging and stiffness in tapping-mode atomic force microscopy. *Surf. Sci.* **1997**, *375* (2), L385-L391.
229. Rico, F.; Su, C.; Scheuring, S., Mechanical Mapping of Single Membrane Proteins at Submolecular Resolution. *Nano Lett.* **2011**, *11* (9), 3983-3986.
230. Law, K.-Y., Definitions for Hydrophilicity, Hydrophobicity, and Superhydrophobicity: Getting the Basics Right. *J. Phys. Chem.* **2014**, *5* (4), 686-688.
231. Fowkes, F. M., ATTRACTIVE FORCES AT INTERFACES. *Ind. Eng. Chem.* **1964**, *56* (12), 40-52.
232. Zisman, W. A., Relation of the Equilibrium Contact Angle to Liquid and Solid Constitution. In *Contact Angle, Wettability, and Adhesion*, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY: 1964; Vol. 43, pp 1-51.
233. Owens, D. K.; Wendt, R. C., Estimation of the surface free energy of polymers. *J. Appl. Polym. Sci.* **1969**, *13* (8), 1741-1747.

Chapitre 2 – Redox-Induced Aggregation of n-Alkyl Anionic Surfactants at Ferrocene-Terminated Self-Assembled Monolayer/Aqueous Interfaces: The Role of Specific Ion-Pairing Interactions

Ons Hmam, Antonella Badia

Département de chimie, Centre québécois sur les matériaux fonctionnels/Quebec Centre for Advanced Materials and Regroupement québécois sur les matériaux de pointe, Université de Montréal, Complexe des sciences, C.P. 6128, succursale Centre-ville, Montréal, QC H3C 3J7, Canada

antonella.badia@umontreal.ca

Ce chapitre a été rédigé sous forme d'article qui est en voie de soumission dans *Electrochimica Acta*.

2.1 Mise en contexte

L'oxydation électrochimique de l'espèce rédox ferrocène (Fc) en ferrocénium (Fc⁺) est accompagnée par un transfert électronique et par une réaction d'appariement ionique avec l'anion en solution ; $\text{Fc}^+_{(\text{SAM})} + \text{X}^-_{(\text{aq})} \rightleftharpoons (\text{Fc}^+\text{X}^-)_{(\text{SAM})}$.¹ Cet appariement ionique est nécessaire afin de stabiliser les cations électrogénérés et neutraliser l'excès de charges positives créées à l'interface SAM/électrolyte. Vu la nature hydrophobe de l'environnement où se trouve le ferrocène, les ferrocéniums oxydés s'apparient plus efficacement avec les anions faiblement hydratés (tels que PF₆⁻, ClO₄⁻, et BF₄⁻).²⁻⁴ En présence de surfactants anioniques, l'appariement ionique se fait via la tête anionique polaire de la molécule amphiphile et résulte en leur adsorption à l'interface SAM/électrolyte. L'appariement induit par oxydoréduction à partir d'une solution aqueuse d'une série homologue de tensioactifs à base de n-alkyl sulfate de sodium (NaC_nSO₄) (avec n = 6, 8, 10 et 12) avec des SAMs de ferrocényldodécane-thiolates (FcC₁₂SAu) était étudié par voltampérométrie cyclique combinée à la spectroscopie de résonance des plasmons de surface (SPR). Le comportement électrochimique de la SAM est réversible sur plusieurs cycles et les épaisseurs des couches adsorbées

ainsi que les couvertures de surface sont cohérentes avec la formation d'une monocouche interdigitée de C_nSO_4 à l'interface $FcC_{12}SAu$ /électrolyte.⁵

Dans cet article, nous souhaitons étudier le comportement électrochimique de la SAM électroactive de $FcC_{12}SAu$ en présence d'une série de tensioactifs amphiphiles ayant la même longueur de chaîne alkyle mais des groupes anioniques polaires différents ; *n*-dodécyl sulfate ($C_{12}SO_4Na$), *n*-dodécyl sulfonate ($C_{12}SO_3Na$), *n*-dodécyl carboxylate ($C_{11}CO_2Na$), et *n*-dodécyl phosphate ($C_{12}PO_4Na_2$). Les deux derniers tensioactifs, qui sont de type carboxyle (sel d'acide gras ; *fatty acid soap*) et de type phosphate, partagent avec les phospholipides le caractère amphiphile et la présence de groupes carboxyle et phosphate. Cela permettra d'étudier l'effet de la nature du groupe anionique sur le comportement électrochimique de la SAM de ferrocène (anion chaotrope versus kosmotrope) ainsi que de mieux visualiser la possibilité d'utiliser les réactions d'appariement ionique pour induire l'assemblage des phospholipides en surface. Les réactions d'appariements ioniques seront également utilisées pour induire l'assemblage des surfactants *n*-alkyl carboxylate et *n*-alkyl phosphate à l'interface SAM/électrolyte.

Toutes les expériences menant aux résultats présentés dans l'étude ont été réalisées par moi-même. J'ai également effectué le traitement des données, la préparation des figures et la rédaction du manuscrit. Antonella Badia a aidé à corriger et parfaire le manuscrit.

2.2 Abstract

Self-assembled monolayers (SAMs) of ferrocenyldodecanethiolate on gold ($FcC_{12}SAu$) exhibit ion-specific, interfacial redox electrochemistry that follows the Hofmeister series in the presence of anionic surfactants. The SAM-bound ferrocene undergoes reversible oxidoreduction in aqueous solutions of the chaotropic *n*-alkyl sulfates and *n*-alkyl sulfonates and irreversible electrochemistry in the presence of the kosmotropic *n*-alkyl carboxylates and *n*-alkyl phosphates. The oxidation of the $FcC_{12}SAu$ SAM in solutions of alkyl carboxylates and alkyl phosphates accumulates surfactant within the SAM/aqueous interfacial region giving rise to an abnormal increase in the surface charge density compared to alkyl sulfates and alkyl sulfonates. This difference could be due to the pronounced surface hydration ability of carboxylates and phosphates. Increasing the scan rate shows the transition between three distinct regimes of redox behavior in case of *n*-alkyl carboxylates;

irreversible ($0.005\text{--}0.05\text{ V s}^{-1}$), quasi-reversible ($0.1\text{--}0.4\text{ V s}^{-1}$) and reversible electrochemistry at higher rates ($\geq 0.8\text{ V s}^{-1}$). At slower scan rates, sufficient time elapses between the initiation of the ion-pairing association of *n*-alkyl carboxylates to the oxidized ferroceniums and the accumulation of surfactant within the surface Stern layer. The irreversible Faradaic electrochemistry of the FcC₁₂SAu SAM is used to drive the interfacial assembly of anionic surfactants from bulk solution to form single bilayers of *n*-alkyl carboxylate and *n*-alkyl phosphate.

Keywords: self-assembled monolayer, ferrocenylalkanethiolate, ion pairing, anionic surfactant, redox-induced molecular assembly.

2.3 Introduction

The adsorption or aggregation of surfactant molecules onto solid surfaces is a phenomenon of great importance in many research and industrial fields, including colloidal stabilization, detergency, cosmetics, oil recovery, and corrosion inhibition.⁶ While surfactant aggregation and micelle formation in solution are well understood, these processes remain ambiguous with respect to how the aggregate shape and size are affected by the presence of a solid substrate. Surfactant adsorption is highly dependent on electrostatic and hydrophilic/hydrophobic parameters (i.e., charged surfactants readily adsorb on hydrophilic surfaces of opposite charge through electrostatic interactions).⁷ Various factors strongly influence the adsorption of surfactant molecules on a surface and their efficiency as surface-active agents, such as the nature of the head group, molecular geometry, surface charge density, temperature, and salt concentration.^{7, 8} The interaction between the polar group of the surfactant and the surface can change the spacing between the head groups, and thus their surface area, thereby affecting the packing parameter (i.e. a prediction of the final assembly form defined as $P = v/a_0.l_c$, where v and l_c are the volume and the critical length of the surfactant tail and a_0 is the surface area occupied by the head group).^{9, 10} Therefore, the shape of surface-adsorbed surfactant aggregates may differ from the shape in the bulk.^{11, 12} Manne and Gaub reported in 1995 the first evidence using atomic force microscopy (AFM) that surfactants adsorb either as micelles or hemimicelles at solid/liquid interfaces, depending on the hydrophilicity/hydrophobicity of the solid surface.⁸ Since the electrical state of a substrate is critical in determining metallic surface charge densities, Lipkowski et al. reported evidence of electric field-induced structural transformations for anionic dodecyl sulfate adsorbed to gold, from

hemicylindrical micelles at positive or low negative charge density (-10 – $7 \mu\text{C cm}^{-2}$) to a smooth liquid-crystalline bilayer at a positive charge density of $\sim 33 \mu\text{C cm}^{-2}$.^{13, 14}

Herein, we investigate the interfacial aggregation of different classes of anionic surfactants induced by a surface-confined redox reaction using ferrocenyldodecanethiolate (FcC_{12}S) self-assembled monolayers (SAMs) chemisorbed to gold. Ferrocene-terminated redox-active SAMs are promising systems in many application fields, including molecular electronics, transistors, and storage/transfer information due to the attractive electrochemical properties of ferrocene (facile electron transfer, low oxidation potential, and two stable redox states).¹⁵⁻¹⁷ The electrochemical oxidation of the SAM-bound ferrocene (Fc) to ferrocenium (Fc^+) proceeds via one electron transfer and ion pairing interfacial reactions: $\text{Fc}_{\text{SAM}} + \text{X}^-_{(\text{aq})} \rightleftharpoons (\text{Fc}^+\text{X}^-)_{\text{SAM}} + \text{e}^-$.^{1-3, 18} Solution counteranions (X^-) pair with the electrogenerated ferroceniums to neutralize the excess positive charge at the SAM/electrolyte solution interface and stabilize the ferrocenium (**Figure 2. 1**).^{1-3, 18, 19} The ability of the anion to pair with the ferrocenium in the nonpolar and sterically-crowded SAM environment affects the thermodynamics of the interfacial redox reaction and its electrochemical response (formal redox potential, number of oxidized ferrocenes, and redox stability under repeated potential cycling).¹⁻³ Weakly hydrated monovalent anions (e.g., PF_6^- , BF_4^- , and ClO_4^-) exhibit a higher ability to ion pair with the ferrocenium than strongly hydrated ones (eg., Cl^- and F^-).^{2, 3}

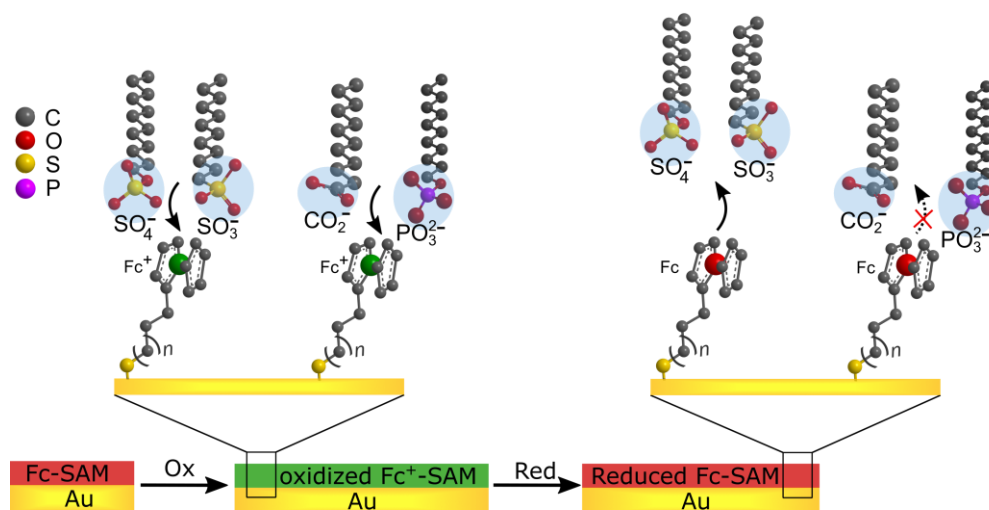


Figure 2. 1. Schematic representation of the oxidation-induced ion pairing of anionic surfactants to a gold-supported $\text{FcC}_{12}\text{SAu}$ SAM surface.

We previously reported the reversible Faradaic electrochemistry of SAMs of FcC₁₂SAu in aqueous solutions of a homologous series of sodium *n*-alkyl sulfates (C_{*n*}SO₄Na) of different chain lengths and showed that the redox response of the SAM depends on the surfactant chain length, concentration, and aggregation state in solution (monomers versus micelles).^{5, 20-22} Ion-pairing of the sulfate headgroup with the SAM-bound ferrocenium drives the reversible association of the surfactant with the SAM surface.^{7, 23} In this work, we show using *n*-alkyl surfactants that the chemical nature of the anionic head group strongly influences the reversibility of the interfacial redox reaction.

2.4 Experimental Section

Chemicals. 12-Ferrocenyl-1-dodecanethiol (FcC₁₂SH) was synthesized and purified as described in ref²¹. The FcC₁₂SH powder was stored at 4 °C in a sealed vial to prevent oxidation to disulfide. The following reagents were purchased from Sigma-Aldrich Ontario Canada and used without further purification: sodium *n*-dodecyl sulfate (C₁₂SO₄Na, SDS, 99% purity), *n*-dodecyl sulfonate (C₁₂SO₃Na, ≥99% purity), sodium dodecanoate (C₁₁CO₂Na, 99–100% purity), sodium decanoate (C₉CO₂Na, 99–100% purity), sodium octanoate (C₇CO₂Na, 99–100% purity), sodium hexanoate (C₅CO₂Na, 99–100% purity), sodium monododecyl phosphate (C₁₂PO₄Na₂, 99-100% purity), sodium perchlorate (NaClO₄, >99% purity), and ferrocenemethanol (FcMeOH, >97% purity). The aqueous solutions of the surfactants were prepared immediately before the electrochemical measurements with deionized-distilled water (resistivity of 18.2 MΩ cm and total organic carbon ≤ 5 ppb) that had been bubbled with nitrogen gas at least 20 min.

Preparation of FcC₁₂SAu SAM-Gold Substrates. Thin gold films supported on glass slides were used for surface plasmon resonance. Glass slides 10 mm × 20 mm × 1 mm (Fisherbrand™ Premium Plain Glass Microscope Slides, Fisher Scientific) were cleaned thrice by immersion in piranha solution (3:1 v/v concentrated H₂SO₄/30% H₂O₂) for 10 min each at room temperature. The glass slides were then rinsed thoroughly using deionized-distilled water, sonicated three times for 10 min each in deionized-distilled water to completely remove traces of sulfuric acid, and sonicated once in absolute ethanol. The glass slides were finally dried under a stream of nitrogen

gas and transferred to the metal evaporator chamber. The glass slides were coated with 2 nm of titanium (99.99%) at a rate of $\sim 0.01 \text{ nm s}^{-1}$, followed by 50 nm of gold (99.99%) at a rate of $\sim 0.1 \text{ nm s}^{-1}$ using resistive thermal evaporation. Metal thicknesses and deposition rates were monitored using a calibrated quartz crystal microbalance. The pressures in the deposition chamber at the beginning and end of the metal evaporations were $\sim 1 \times 10^{-7}$ Torr and $\sim 2 \times 10^{-6}$ Torr, respectively, and the temperature reached $\sim 160 \text{ }^\circ\text{C}$ due to radiant heating from the evaporation sources. Once the temperature inside the evaporation chamber dropped below $30 \text{ }^\circ\text{C}$, the vacuum was broken by introducing nitrogen into the chamber. The rms roughness of the gold films was determined by AFM to be $1.9 \pm 0.3 \text{ nm}$ for areas of $2 \times 2 \text{ } \mu\text{m}^2$ and about $0.6 \pm 0.1 \text{ nm}$ inside a grain (**Figure 2. S1A** of the Supporting Information).

Template-stripped gold films were employed as ultraflat surfaces for AFM analyses.²⁴ Prime-grade polished silicon wafers (particles of <10 at $0.3 \text{ } \mu\text{m}$, thickness of $500 - 550 \text{ } \mu\text{m}$, WaferNet Inc.) were first sonicated in absolute ethanol for 10 min and then dried under a stream of nitrogen gas. Once the vacuum in the evaporator chamber reached $\sim 1 \times 10^{-7}$ Torr, the wafer was heated at $200 \text{ }^\circ\text{C}$ for 30 min and then coated with 75 nm of gold while maintaining a substrate temperature of $200 - 220 \text{ }^\circ\text{C}$. The heating was then removed, and 5 nm of titanium was evaporated onto the gold. The temperature inside the evaporator chamber at the end of the titanium evaporation was $130 - 140 \text{ }^\circ\text{C}$. The vacuum was broken by introducing nitrogen into the chamber once the temperature dropped below $30 \text{ }^\circ\text{C}$. A drop ($\sim 50 \text{ } \mu\text{L}$) of an optical adhesive (NOA, Norland Products Inc.) was used to glue clean glass pieces (size of $10 \text{ mm} \times 20 \text{ mm}$) to the metal-coated silicon wafer and adhesive was cured under UV light (100 W, B-100, Ted Pella Inc.) for about 30 s. The glass pieces were stripped off the silicon wafer template just before use. The rms roughness of the template-stripped gold determined by AFM is $0.3 \pm 0.1 \text{ nm}$ for areas of $2 \times 2 \text{ } \mu\text{m}^2$ (**Figure 2. S1B**).

Immediately after preparation, the gold-coated substrates were immersed in a 0.2 mM solution of FcC_{12}SH in absolute ethanol for 8–12 h at room temperature and the sealed incubation vials were kept in the dark. Prior to use, the $\text{FcC}_{12}\text{SAu}$ SAM-modified gold surface was rinsed copiously with absolute ethanol, followed by ultrapure water, and dried with nitrogen. If water wet the SAM surface instead of beading, the substrate was discarded.

Cyclic Voltammetry. All cyclic voltammograms were performed in a custom-built, one-compartment three-electrode Teflon cell using an SP-150 potentiostat (BioLogic Science Instruments). The FcC₁₂S SAM-modified Au-coated substrate served as the working electrode. The counter and reference electrodes were a coiled platinum wire (99.99%, Kitco Metals, Inc) and an Ag/AgCl electrode (3 M NaCl, electrode inserted in a double junction chamber, BASi), respectively. Cyclic voltammograms were performed at a potential scan rate of 10 mVs⁻¹ at 25 °C.

At a high scan rate (1 V s⁻¹, **Figure 2. 4B**), the cell resistance (R_{Ω}) was determined by impedance measurement using a frequency of 100 kHz and a test potential of 0 V versus the reference electrode. The Ohmic potential (iR) drop between the working and the reference electrode was compensated then during cyclic voltammetry by applying an electronic positive feedback correction at 85% of R_{Ω} .

The surface concentration of electrogenerated ferrocenium (Γ_{Fc^+}) was calculated from the charge associated with ferrocene oxidation (Q_{anodic}) measured by cyclic voltammetry using eq 1:

$$\Gamma_{\text{Fc}^+} = Q_{\text{anodic}}/nFA \quad (2.1)$$

where n represents the number of electrons transferred ($n = 1$ for the oxidation of Fc to Fc⁺), F is the Faraday constant (96 485 C mol⁻¹), and A is the area of the SAM-modified Au surface exposed to the electrolyte solution (0.46 cm²). The anodic sweeps of the cyclic voltammograms were integrated to give Q_{anodic} after a sigmoidal baseline correction for the charging/capacitive current.

Electrochemical Surface Plasmon Resonance (ESPR). ESPR measurements were carried out in the Kretschmann-type ATR configuration with a SR7000 single-channel instrument ($\lambda = 780 \pm 10$ nm, Reichert Inc.).²⁵ A Peltier device allows the temperature at the gold-coated substrate/solution interface to be controlled to within ± 0.015 °C of the set temperature between 10 °C and 90 °C. A custom-built electrochemical cell fitted with reference (Ag/AgCl, 3 M NaCl) and counter (Pt wire) electrodes was mounted onto the SAM-modified gold-coated surface of the glass slide (working electrode) in optical contact with the prism (Cargille immersion oil type A liquid, $n_D^{23} = 1.5150$). All experiments were carried out under stationary solution conditions at 25.0 °C. The resonance angle change ($\Delta\Theta_{\text{min}}$) and current density (j) as a function of the applied potential were recorded during cyclic voltammetry at a scan rate of 10 mV s⁻¹.

Atomic Force Microscopy (AFM). AFM imaging was conducted in deionized-distilled water at ambient temperature (~ 21 °C) using a Dimension Icon (Bruker Nano) in PeakForce Tapping QNM mode (PF-QNM) (NanoScope version 9.1 software). An AFM probe with a nominal tip radius of 20 nm, spring constant of 0.7 N m^{-1} , and resonance frequency of 150 kHz was used (ScanAsyst-Fluid, Bruker AFM Probes). The cantilevers were calibrated using the thermal noise method²⁶⁻²⁸ before each experiment (calibration tool implemented in NanoScope software version 9.1) to determine real spring constants. Height images were acquired in ultrapure water at a scan rate of 0.977 Hz and image resolution was of 512×512 pixels. AFM height images were then processed and analyzed using NanoScope Analysis version 1.80 software (Bruker Nano).

2.5 Results and Discussion

2.5.1 FcC₁₂SAu SAM Electrochemistry in Aqueous Solutions of Anionic Surfactants

The first cyclic voltammograms (CVs) and corresponding resonance angles Θ_{\min} of the FcC₁₂SAu SAM recorded in aqueous solutions of sodium salts of surfactants consisting of 12 carbons and different anionic headgroups: sodium *n*-dodecyl sulfate C₁₂SO₄Na, sodium *n*-dodecyl sulfonate C₁₂SO₃Na, sodium *n*-dodecanoate C₁₁CO₂Na, and sodium dodecyl phosphate C₁₂PO₄Na₂ are shown in **Figure 2. 2** and the data is summarized in **Table 2. 1**. It is important to note that the solutions do not contain supporting electrolyte to ensure that the surfactant anions are the only ion-pairing species. These ESPR experiments were performed at surfactant concentrations near the critical micelle concentration (cmc) because surface adsorption isotherms potentiometric measurements respectively show that the maximum surfactant adsorption and highest free monomer anion concentration²⁹ are reached at the cmc.^{6, 21, 30}

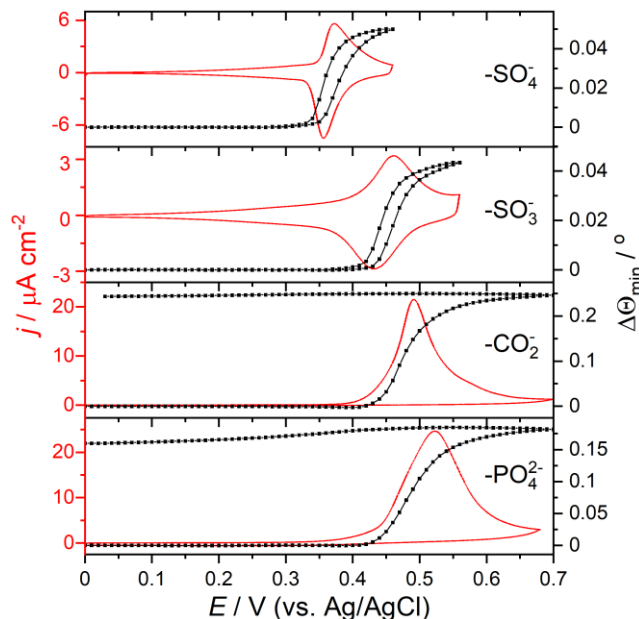


Figure 2. 2. Current density j and resonance angle change $\Delta\Theta_{\min}$ vs. applied potential E for FcC₁₂SAu SAMs recorded at 25°C in aqueous solutions of sodium n -alkyl surfactants at concentrations near the cmc; 10 mM for n -dodecyl sulfate (C₁₂SO₄Na), 10 mM for n -dodecyl sulfonate (C₁₂SO₃Na), 10 mM for sodium dodecyl phosphate (C₁₂PO₄Na₂), and 30 mM sodium dodecanoate (C₁₁CO₂Na). Potential scan rate = 10 mV s⁻¹.

The ferrocene-terminated SAM exhibits reversible electrochemistry in aqueous solutions of C₁₂SO₄Na and C₁₂SO₃Na. The CVs present single sets of redox peaks that are stable over multiple successive cycles (**Figure 2. S2** of the Supporting Information), as previously reported by Dionne et al.²¹ Despite similar cmc's (8–9 mM) and the same salt concentration in solution, the apparent redox potential of the SAM (E°_{SAM}) in C₁₂SO₃Na_(aq) of 448 ± 8 mV is ~80 mV higher than that in C₁₂SO₄Na_(aq) of 365 ± 8 mV, indicating a lower ability of the C₁₂SO₃⁻ to ion pair with the ferrocenium² compared to C₁₂SO₄⁻. Electrochemical oxidation of the SAM-bound ferrocene to ferrocenium causes Θ_{\min} to increase by $0.050 \pm 0.005^{\circ}$ in C₁₂SO₄Na_(aq) and $0.044 \pm 0.003^{\circ}$ in C₁₂SO₃Na_(aq). This increase in Θ_{\min} is attributed to the ion-pair association of the surfactant anions to the ferrocenium electrogenerated during the anodic potential.^{5, 20} Reduction of the SAM-bound ferrocenium back to ferrocene produces a decrease of Θ_{\min} of same magnitude, indicating the dissociation of the ion pair. The changes in Θ_{\min} are fully reversible over multiple oxidation–reduction cycles (**Figure 2. S2** of the Supporting Information). The average anodic charge densities

(surface concentration of electrogenerated ferrocenium) are $26 \pm 2 \mu\text{C cm}^{-2}$ in $\text{C}_{12}\text{SO}_4\text{Na}_{(\text{aq})}$ and $16 \pm 1 \mu\text{C cm}^{-2}$ for $\text{C}_{12}\text{SO}_3\text{Na}_{(\text{aq})}$. These values are significantly lower than the charge density generated by the oxidation of the $\text{FcC}_{12}\text{SAu}$ SAM in presence of perchlorate anions of $45 \pm 3 \mu\text{C cm}^{-2}$, corresponding to a ferrocenium surface coverage of $4.7 (\pm 0.3) \times 10^{-10} \text{ mol cm}^{-2}$ (versus $4.5 \times 10^{-10} \text{ mol cm}^{-2}$ estimated from the cross-sectional area of ferrocene of 0.34 nm^2)³¹. The quantity of ferrocenium generated depends on the formation of ion pairs, which is in turn affected by the nature and the size of the electrolyte anion.³²⁻³⁴ The small size (ionic radius 2.40 \AA)³⁵ and low degree of hydration (hydration free energy of -259 kJ mol^{-1})³⁵ of ClO_4^- enables it to form 1:1 contact ion pairs with the ferroceniums, resulting in the oxidation of all the surface-available ferrocenes.^{1, 36} By contrast, a fraction of the SAM-bound ferrocenes are oxidized in the presence of $\text{C}_{12}\text{SO}_4^-$ and $\text{C}_{12}\text{SO}_3^-$, despite the application of a sufficiently oxidizing potential due to the physical crowding of the SAM-bound ferrocenes and steric constraints involved with the oxidation and ion pairing of every ferrocene with the larger surfactant anion.^{5, 20, 23} From the anodic charge density, which reflects the quantity of ferrocenium generated and ion paired with surfactant anion ($2.7 \times 10^{-10} \text{ mol cm}^{-2}$, assuming 1:1 ion pairing stoichiometry), and $\Delta\Theta_{\text{min}}$, which reflects the total quantity of adsorbed surfactant anion ($5.0 \times 10^{-10} \text{ mol cm}^{-2}$), we previously assigned a condensed interdigitated monolayer structure for $\text{C}_{12}\text{SO}_4^-$.⁵ Every second ferrocene is oxidized to ferrocenium and ion paired to the sulfate head of one $\text{C}_{12}\text{SO}_4^-$, while the alkyl chains of the remaining $\text{C}_{12}\text{SO}_4^-$ are inserted between the ion-paired $\text{C}_{12}\text{SO}_4^-$ and have their headgroups oriented towards the aqueous environment.

The ferrocene-terminated SAM is irreversibly oxidized in aqueous solutions of the less chaotropic $\text{C}_{11}\text{CO}_2\text{Na}$ and $\text{C}_{12}\text{PO}_4\text{Na}_2$ (**Figure 2. 2**). Oxidation peaks are present at $490 \pm 8 \text{ mV}$ for $\text{C}_{11}\text{CO}_2\text{Na}$ and $523 \pm 9 \text{ mV}$ for $\text{C}_{12}\text{PO}_4\text{Na}_2$ in the first anodic potential sweeps but no reduction peaks are detected during the reverse cathodic potential sweeps. No redox peaks are observed in subsequent sweeps (**Figure 2. S2C,D**). An XPS analysis of the $\text{FcC}_{12}\text{SAu}$ SAM after cycling in $\text{C}_{11}\text{CO}_2\text{Na}_{(\text{aq})}$ shows the presence of Fe 2p and S 2p peaks (**Figure 2. S3**), allowing us to eliminate the loss of electrochemical activity due demetallization of the SAM-bound ferrocenes upon their oxidation to ferrocenium or desorption of the SAM as the cause of the irreversible redox behavior. The average anodic charge densities are unusually high, $190 \pm 20 \mu\text{C cm}^{-2}$ in $\text{C}_{11}\text{CO}_2\text{Na}_{(\text{aq})}$ and $99 \pm 13 \mu\text{C cm}^{-2}$ in $\text{C}_{12}\text{PO}_4\text{Na}_2_{(\text{aq})}$. Oxidation of the ferrocene-terminated SAM in $\text{C}_{11}\text{CO}_2\text{Na}_{(\text{aq})}$ and

C₁₂PO₄Na₂(aq) yields changes in Θ_{\min} of $0.27 \pm 0.03^\circ$ and $0.16 \pm 0.01^\circ$, respectively. These changes are 4–5 times larger than $\Delta\Theta_{\min}$ generated in C₁₂SO₄Na(aq) and C₁₂SO₃Na(aq). Additionally, Θ_{\min} does not return to its original value during the end of the cathodic potential sweep, signaling the irreversible adsorption of material to the surface. The Fe 2p_{3/2} and 2p_{1/2} peaks of the pristine FcC₁₂SAu SAM and FcC₁₂SAu SAM cycled in C₁₁CO₂Na(aq) are both at 707.9 eV and 720.7 eV, respectively (**Figure 2. S3**), binding energy corresponding to the reduced Fe(II) state, ruling out the formation of a stable ferrocenium–surfactant anion complex (binding energy of ~709 eV and ~723 eV for the oxidized Fe(III) state).³⁴

Table 2. 1. Redox Properties of FcC₁₂SAu SAMs and Oxidation-Induced Resonance Angle Change in Aqueous Solutions of C₁₂SO₄Na, C₁₂SO₃Na, C₁₁CO₂Na, and C₁₂PO₄Na₂ near the cmc at 25 °C.

Anion, [concentration] / mM	cmc / mM lit. (25 °C)	T_K / °C lit.	E_{pa} / mV	E_{pc} / mV	E_{SAM}° / mV	Q_a / μC cm^{-2}	$\Delta\Theta_{\min}$ / °
C ₁₂ SO ₄ ⁻ / 10	8 ³⁷	15-16 ^{38,} 39	373 ± 7	356 ± 8	365 ± 8	26 ± 2	0.050 ± 0.005
C ₁₂ SO ₃ ⁻ / 10	9 ⁴⁰	32–33 ³⁹	462 ± 8	434 ± 8	448 ± 8	16 ± 1	0.044 ± 0.003
C ₁₂ PO ₄ ⁻ / 10	9–60 ^{41, 42}	20 ^{39, 42}	523 ± 9	-	-	99 ± 13	0.16 ± 0.01
C ₁₁ CO ₂ ⁻ / 30	25–29 ^{40, 43,} 44	13–34 ^{38,} 39, 43, 45, 46	490 ± 8	-	-	190 ± 20	0.27 ± 0.03

2.5.2 Effect of the Potential Scan Rate on FcC₁₂SAu SAM Electrochemistry in Solutions of *n*-Alkyl Carboxylates

To elucidate the origin of the irreversible electrochemistry of the SAM-bound ferrocenes in the presence of sodium *n*-alkyl carboxylate, CVs were acquired at different potential scan rates using 350 mM sodium octanoate (C₇CO₂Na). The shorter-chain C₇CO₂Na was used in place of C₁₁CO₂Na for the potential scan dependence studies because its ten-fold higher cmc (**Table 2. 2**) yields an aqueous solution of higher ionic conductivity, resulting in less distortion of the CV at higher scan rates due to Ohmic potential drop. The CVs recorded at different scan rates (ν) indicate three distinct regimes of behavior (**Figure 2. 3A,B**). At $\nu \leq 50 \text{ mV s}^{-1}$ the interfacial redox electrochemistry is irreversible. An anodic peak is present in the forward sweep, but no cathodic peak is detected in the reverse sweep and the anodic peak potential (E_{pa}) increases with ν (**Figure 2. 3C**). The SAM-bound ferrocenes undergo a quasi-reversible redox reaction at $\nu = 100\text{--}400 \text{ mV s}^{-1}$. A cathodic peak of lower current density and area is observed in the reverse sweep (**Figure 2. 3C,E**). Finally, reversible electrochemistry, characterized by constant anodic and cathodic peak potentials, anodic and cathodic peak current densities and areas of equal magnitude and that vary linearly with ν ,^{47, 48} is observed at $\nu \geq 800 \text{ mV s}^{-1}$ (**Figure 2. 3D,F**). Redox peaks of near-constant peak current densities are observed over multiple successive cycles (**Figure 2. S4B,C**). The anodic charge densities calculated from the peak areas are highly dependent on ν and decrease exponentially from $187 \mu\text{C cm}^{-2}$ at 5 mV s^{-1} to $25 \pm 2 \mu\text{C cm}^{-2}$ at $\nu = 800 \text{ mV s}^{-1}$ – 10 V s^{-1} .

1 47, 48

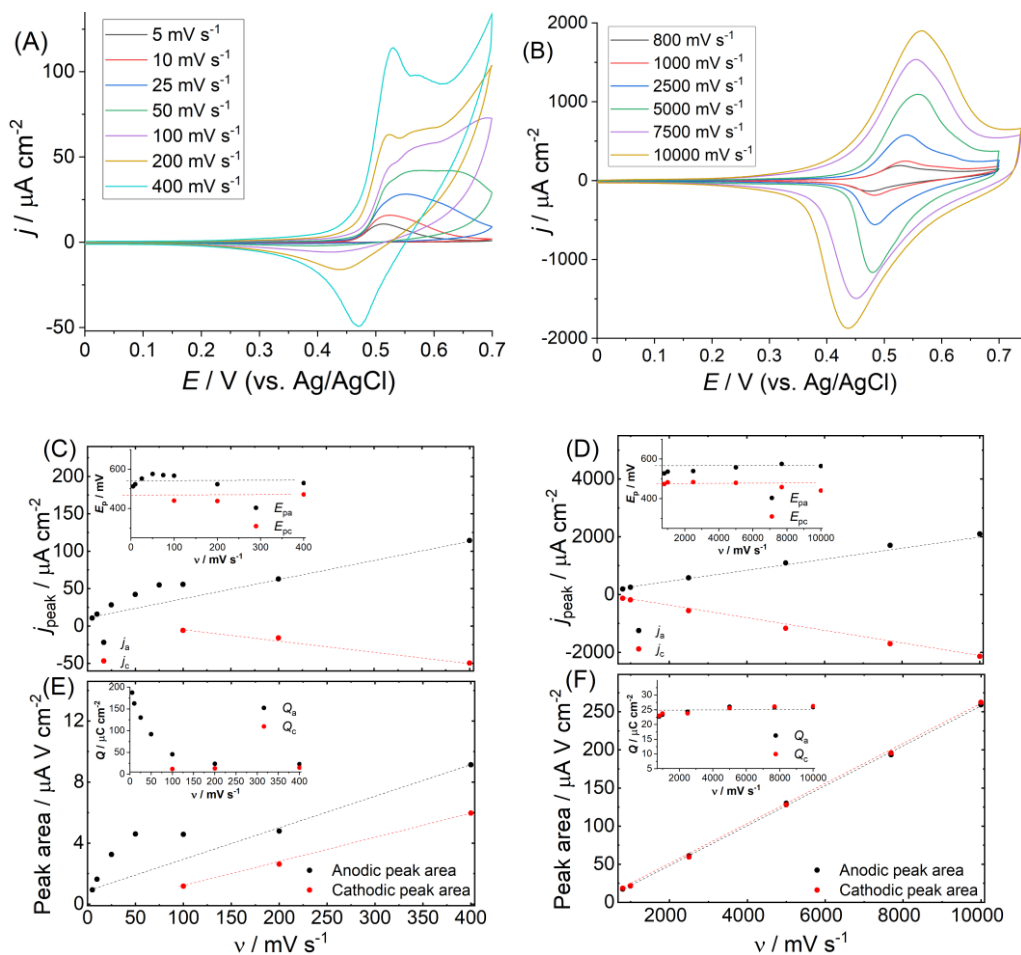


Figure 2. 3. Cyclic voltammograms (A) and (B) as a function of the potential scan rate ν and corresponding data (C), (D), (E), and (F) for FcC₁₂SAu SAMs in aqueous solutions of sodium octanoate (C₇COONa) at concentration near the cmc (350 mM) and 25 °C. (C and D) Anodic j_a and cathodic j_c peak densities vs. ν . Linear fit of j_a data: $r^2= 0.998$, slope = 0.209 for (D). Linear fit of j_c data: $r^2= 0.9989$, slope = -0.232 for (D). (Insets) Variation of the anodic E_{pa} and cathodic E_{pc} peak potentials as a function of ν . Anodic and cathodic peak areas vs ν . Linear fit of the anodic peak area data: $r^2= 0.9996$, slope = 0.026 for (F). Linear fit of the cathodic peak area data: $r^2= 0.9997$, slope = 0.025 for (F). (Insets) Plot of the anodic Q_a and cathodic Q_c charge densities vs ν . Dashed lines in the insets of (E) and (F) represent the average of each data set.

The scan rate dependence of the CV signature is reminiscent of a E_rC_i mechanism, whereby an electrochemically reversible electron transfer reaction (E_r) is followed by a chemically irreversible homogeneous reaction (C_i) to form an electrochemically inactive product within the scanned potential window.⁴⁷ As v increases, less redox species is chemically transformed and is available at the electrode surface to undergo the reverse electron transfer reaction in the reverse potential sweep. Hence, the intensity of the cathodic peak would increase with increasing v .⁴⁷ To rule out a E_rC_i mechanism in the case of oxidoreduction of the ferrocene-terminated SAM when alkylcarboxylates are used as the electrolyte anion, cyclic voltammetry was performed using bare gold and an aqueous solution of ferrocenemethanol without and with $C_{11}CO_2Na$ (**Figure 2. S5**). The presence of $C_{11}CO_2^-$ does not change the CV of the ferrocenemethanol, indicating that the electrogenerated ferrocenium does not oxidize or chemically react with $C_{11}CO_2^-$. We therefore hypothesize that at slower scan rate, sufficient time elapses after the ion-pair association of the $C_nCO_2^-$ to the SAM-bound ferrocenium to accumulate surfactant at the SAM/electrolyte solution interface which then completely blocks the redox process. At fast scan rates, the time between the oxidation of the ferrocene and subsequent reduction of the ferrocenium is not long enough for surfactant to build up at the interface and the redox reaction is reversible.

2.5.3 Effect of the Alkyl Chain Length of $C_{n-1}CO_2Na$ on the $FcC_{12}SAu$ SAM Electrochemistry

To ascertain whether the alkyl chain length influences the reversibility of the oxidoreduction of the $FcC_{12}SAu$ SAM in the presence of n -alkylcarboxylates, CVs were recorded in aqueous solutions of $C_{n-1}CO_2Na$ homologues, where $n = 6, 8, 10,$ and 12 , at bulk concentrations around the cmc of each surfactant rather than at a fixed concentration so that the free surfactant anion concentration in solution is at its highest,⁴⁹ namely at 1 M for $n = 6$, 350 mM for $n = 8$, 100 mM for $n = 10$, and 30 mM for $n = 12$.^{40, 43, 44, 50-52}

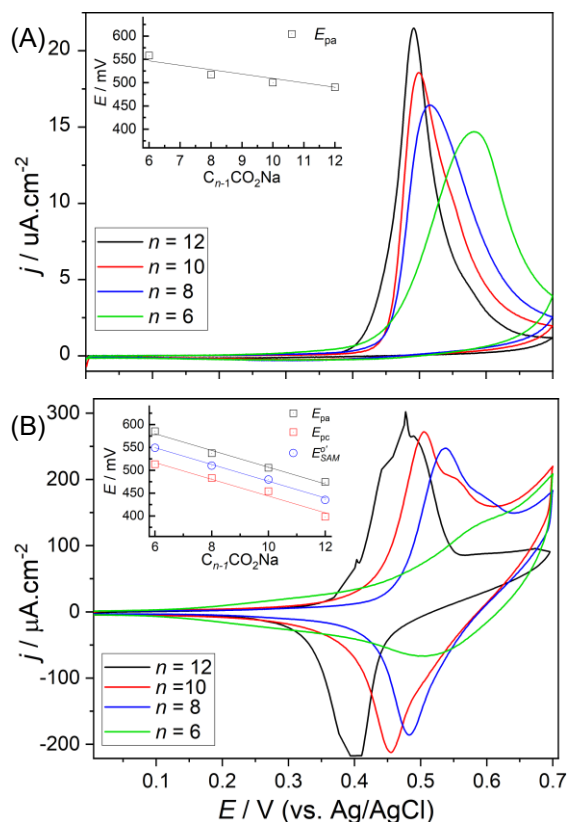


Figure 2. 4. Electrochemistry of FcC₁₂SAu SAMs recorded at 25 °C in aqueous solutions of sodium *n*-alkanoates (C_{*n*-1}CO₂Na) at concentration near the cmc. Bulk concentration of 30 mM for *n* = 12, 100 mM for *n* = 10, 350 mM for *n* = 8, and 1 M for *n* = 6. CVs are acquired at *v* = (A) 10 mV s⁻¹ and (B) 1 V s⁻¹. (Insets) Plots and linear regressions of the anodic peak potential (*E*_{pa}, *r*²= 0.9156 for 10 mV s⁻¹ and 0.9896 for 1 V s⁻¹), cathodic peak potential (*E*_{pc}, *r*²= 0.9876 for 1 V s⁻¹), and the apparent redox potential of the FcC₁₂SAu SAM (*E*^o_{SAM}, *r*²= 0.9967 for 1 V s⁻¹) vs. the number of carbons *n* in the alkanolate chain.

At *v* = 10 mV s⁻¹ (**Figure 2. 4A**), the oxidoreduction of the FcC₁₂SAu SAM is irreversible and a single peak (oxidative) is observed for all *n*. The anodic potential peak *E*_{pa} decreases linearly with increasing chain length (**Figure 2. 4A**, inset). The apparent redox potential of the ferrocene-terminated SAM exhibits the same linear dependence on the chain length of C_{*n*}SO₄Na.²⁰ The Nernst equation for the coupled electron transfer-ion pairing reaction:

$$E^{o'}_{\text{SAM}} = E^o_{\text{SAM}} - (0.05916\text{V}) \cdot \log \frac{\Gamma_{\text{Fc}K}}{\Gamma_{\text{Fc}^+\text{X}^-}} - (0.05916\text{V}) \cdot \log a_{\text{X}^-} \quad (2.2)$$

indicates that the apparent redox potential (E°_{SAM}) depends on both the ion-pair formation constant K and the activity of the anion a_{X^-} in solution.^{1, 2, 18} The linear variation of E_{pa} on n suggests that the redox potential value near the cmc is dominated by the ion-pairing ability of the $C_{n-1}\text{CO}_2^-$ anion rather than its activity. The average anodic charge density generated increases from $157 \pm 16 \mu\text{C cm}^{-2}$ in C_5CO_2^- to $190 \pm 15 \mu\text{C cm}^{-2}$ in $\text{C}_{11}\text{CO}_2^-$ (**Table 2. 2**), consistent with the greater surface activity exhibited by the longer chain surfactants, and which leads to higher amounts of surfactant adsorbed at the SAM/aqueous solution interface.⁶ The anodic charge densities generated by the oxidation of the $\text{FcC}_{12}\text{SAu}$ SAM in the solutions of $C_{n-1}\text{CO}_2\text{Na}_{(\text{aq})}$ are abnormally higher than the charge density generated in the presence of ClO_4^- , even for the shorter alkyl chain ($n = 6$).

At $v = 1 \text{ V s}^{-1}$, the oxidoreduction of the $\text{FcC}_{12}\text{SAu}$ SAM switches from irreversible to reversible, and a single set of anodic and cathodic peaks is observed. The peak potentials decrease linearly with increasing chain length (**Figure 2. 4B**, inset). The average anodic charge density increases from $22 \pm 2 \mu\text{C cm}^{-2}$ in C_5CO_2^- to $28 \pm 2 \mu\text{C cm}^{-2}$ in $\text{C}_{11}\text{CO}_2^-$ (**Table 2. 2**), which is consistent with the greater surface activity found at 10 mV s^{-1} .⁶ The anodic charge densities generated by the oxidation of the $\text{FcC}_{12}\text{SAu}$ SAM in the $C_{n-1}\text{CO}_2\text{Na}_{(\text{aq})}$ solutions at 1 V s^{-1} are similar to the charge densities generated in presence of n -alkyl sulfate (**Table 2. 1**).²¹

The redox behavior of the SAM-bound ferrocenes is the same at low and at high scan rates in the presence of n -alkylcarboxylates of different chain length. This suggests that the reversibility of the Faradaic electrochemistry is dictated by the nature of the surfactant anion headgroup that ion pairs with the ferrocenium rather than the length of the alkyl chain.

Table 2. 2. Redox Properties of FcC₁₂SAu SAMs and Oxidation-Induced Resonance Angle Change in Aqueous Solutions of C_{*n*-1}CO₂Na homologues near the cmc at 25°C. Potential scan rate is 10 mV s⁻¹ and (1 V s⁻¹).

Anion, [concentration] / mM	cmc / mM lit. (25 °C)	T _K / °C lit.	E _{pa} / mV	E ^o _{SAM} / mV	Q _a / μC cm ⁻²	ΔΘ _{min} / °
C ₁₁ CO ₂ ⁻ / 30	25–29 ^{40, 43, 44}	13–34 ^{38, 39, 43, 45, 46}	490 ± 8 (474 ± 9)	- (438 ± 9)	190 ± 15 (28 ± 2)	0.27 ± 0.03 (0.048 ± 0.001)
C ₉ CO ₂ ⁻ / 100	80–110 ^{43, 52}	2–14 ^{38, 43}	500 ± 6 (505 ± 6)	- (480 ± 7)	179 ± 10 (26 ± 2)	0.19 ± 0.04 (0.048 ± 0.001)
C ₇ CO ₂ ⁻ / 350	280–390 ⁵²	-	517 ± 6 (537 ± 7)	- (510 ± 8)	166 ± 14 (24 ± 2)	0.13 ± 0.03 (0.044 ± 0.001)
C ₅ CO ₂ ⁻ / 1000	900–1000 ^{50, 51}	-	558 ± 4 (585 ± 9)	- (549 ± 8)	157 ± 16 (22 ± 2)	0.07 ± 0.02 (0.043 ± 0.001)

2.5.4 Relative Ion-pairing Ability of C_{*n*-1}CO₂Na

The inorganic anions ClO₄⁻, BF₄⁻, and F⁻ were added as a supporting electrolyte to an aqueous solution of 50 mM C₇CO₂Na at a concentration of 10 mM to assess the relative ion-pairing ability of *n*-alkyl carboxylates to FcC₁₂SAu SAMs. The ion-pairing abilities of these inorganic anions depend on their degree of hydration. The addition of NaClO₄ results in non-ideal reversible electrochemistry and a ten-fold smaller reversible resonance angle change (**Figure 2. 5A**). The anodic charge density decreases from 148 ± 8 μC cm⁻² in 50 mM C₇CO₂Na_(aq) to 49 ± 2 μC cm⁻² in 50 mM C₇CO₂Na_(aq) and 10 mM NaClO_{4(aq)}. Θ_{min} decreases from 0.099 ± 0.030° to 0.024 ± 0.002°, respectively. These values are similar to those found in case of 10 mM NaClO_{4(aq)}: 46 ± 2 μC cm⁻² and 0.024 ± 0.002°. ^{1, 36} ClO₄⁻ is one of the weakly-hydrated anions with the strongest tendency to form single, specific ion pairs with the SAM-bound ferrocenium.¹⁻³ Likewise, the addition of NaBF₄ results in a non-ideal reversible electrochemistry (**Figure 2. 5B**). The anodic charge density and ΔΘ_{min} decrease to 45 ± 2 μC cm⁻² and 0.015 ± 0.002° after the addition of 10 mM NaBF₄. These values are similar to those found in case of pure 10 mM NaBF₄ (42 ± 2 μC cm⁻² and 0.015 ± 0.002°). BF₄⁻ is also one of the poorly solvated anions that pairs with the SAM-bound ferrocenium but less effectively than ClO₄⁻.¹⁻³ Thus, the greater ion-pairing abilities of ClO₄⁻ and BF₄⁻ compared to C₇CO₂⁻ prevents the surfactant anion from associating with the SAM-bound ferrocenium and these anions dominate the SAM electrochemistry.

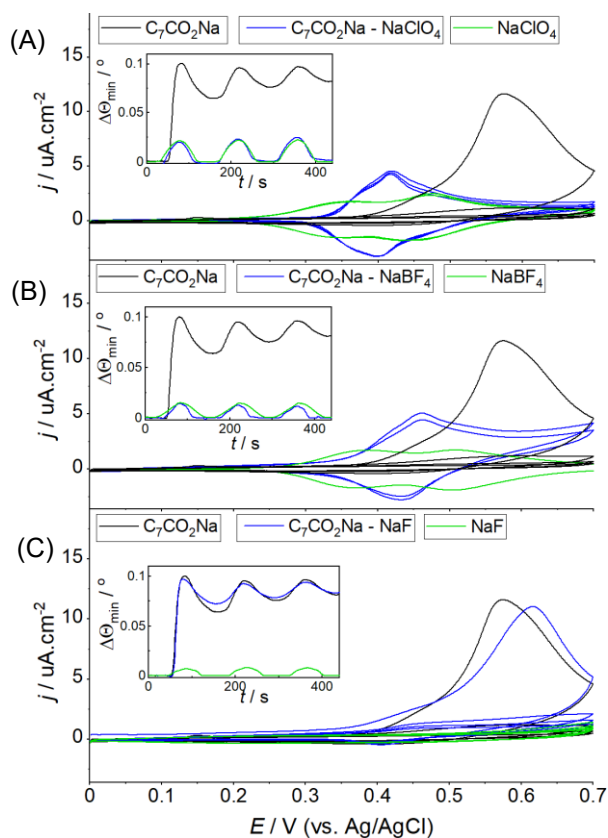


Figure 2. 5. Current density j vs. applied potential E for FcC₁₂SAu SAMs recorded at 25 °C in aqueous solutions of 50 mM C₇CO₂Na, with and without added electrolyte. Added electrolyte is (A) 10 mM sodium perchlorate (ClO₄Na), (B) 10 mM sodium tetrafluoroborate (BF₄Na), and (C) 10 mM sodium fluoride (NaF). (Insets) Corresponding resonance angle change $\Delta\Theta_{\min}$ vs. time t . Potential scan rate = 10 mV s⁻¹.

When NaF is added to the C₇CO₂Na_(aq) solution, no changes in the irreversible electrochemistry and resonance angle are observed (**Figure 2. 5C**). The anodic charge density is $145 \pm 6 \mu\text{C cm}^{-2}$ and Θ_{\min} is $0.097 \pm 0.02^\circ$ in a solution of 50 mM C₇CO₂Na_(aq) and 10 mM NaF_(aq) compared to $14 \pm 3 \mu\text{C cm}^{-2}$ and $0.007 \pm 0.002^\circ$ in 10 mM NaBF_{4(aq)}. The hydrophilic nature F⁻ confers it a very poor ion-pairing ability (no redox peaks are observed in 10 mM NaF_(aq))^{2, 3} which favors pairing of the amphiphilic C₇CO₂⁻ with the ferrocenium. These results point to ion pair formation driving the irreversible adsorption of *n*-alkyl carboxylates to the FcC₁₂SAu SAM.

2.5.5 AFM Imaging of the Redox-Induced *n*-Alkyl Carboxylate and Phosphate Surface Adsorbate

AFM imaging the FcC₁₂SAu SAM surface following one oxidoreduction cycle at 25 °C and exchanging the surfactant solution for deionized-distilled water confirmed the presence of surfactant adsorbate on the SAM. The height (topography) images (**Figure 2. 6A,B** and **Figure 2. S6**, Supporting Information) show that C₁₁CO₂Na adsorbed from a bulk solution concentration equivalent to 0.3–0.4×cmc forms linear nanoaggregates of height of 15 ± 3 nm. The adsorbate aggregate structure transitions from linear structures below the cmc to spheres of similar height at solution concentrations ≥ cmc and the surface coverage increases with solution concentration, consistent with surfactant adsorption isotherms.

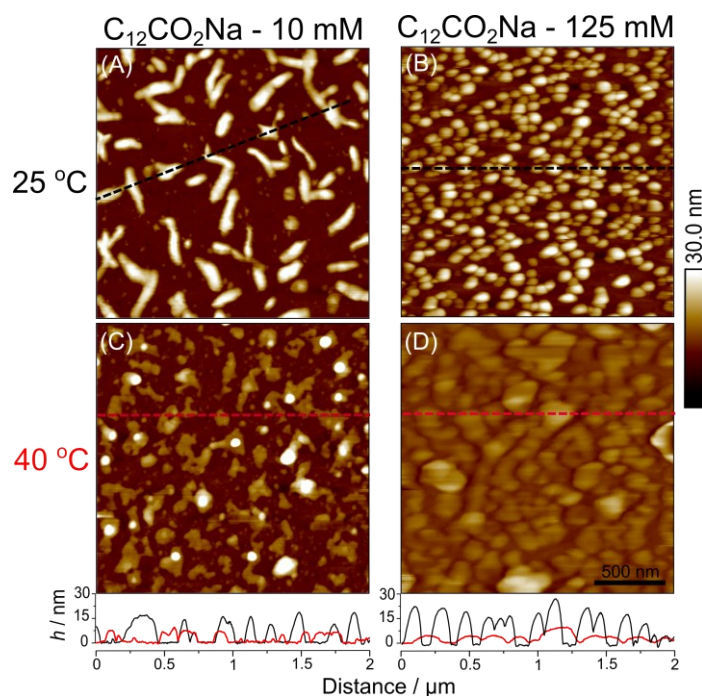


Figure 2. 6. AFM height images recorded under water at ambient temperature and line sections of the FcC₁₂SAu SAM surface after one oxidation/reduction cycle at 10 mV s⁻¹ in C₁₁CO₂Na_(aq) at 25 °C (Top images) and 40 °C (Top images) at concentrations of 10 mM (A) and (C) and 125 mM (B) and (D).

The potential scan rate employed in cyclic voltammetry to trigger and drive the surfactant anion adsorption influences the aggregate size and surface coverage at a fixed solution concentration (**Figure 2. 7**). For example, at a concentration of 5 mM ($\sim 0.2 \times \text{cmc}$), where linear aggregates of 21 nm height coexist with flat islands of 3–8 nm thickness at the usual v of 10 mV s^{-1} (i.e., regime of irreversible electrochemistry), lowering v to 1 mV s^{-1} results in longer and thicker hemicylinders of 28 nm height (**Figure 2. 7A and B**, 43% and 41% of surface coverage for 10 mV s^{-1} and 1 mV s^{-1} , respectively). The thickness of the flat patches remains unchanged. Increasing v to 100 mV s^{-1} decreases the surface coverage and height of the hemi-cylindrical aggregates to 21% and 10 nm (**Figure 2. 7C**). At 1 V s^{-1} , i.e., a scan rate that produces reversible electrochemistry, the height image shows no surfactant aggregate (**Figure 2. 7D**).

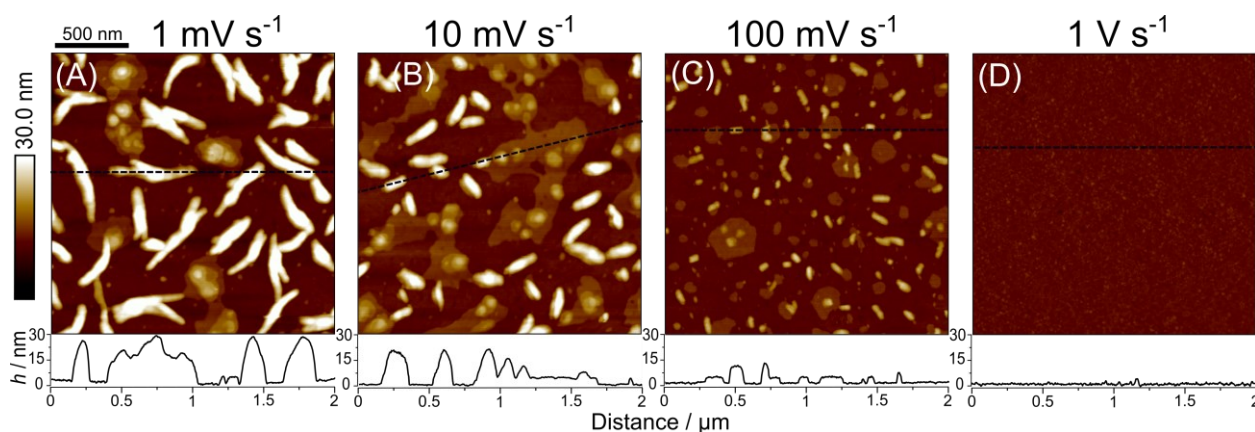


Figure 2. 7. AFM height images recorded under water at ambient temperature and line sections of the $\text{FcC}_{12}\text{SAu}$ SAM surface after one oxidation/reduction cycle in 5 mM $\text{C}_{11}\text{CO}_2\text{Na}_{(\text{aq})}$ at 25 °C. v of (A) 1 mV s^{-1} , (B) 10 mV s^{-1} , (C) 100 mV s^{-1} , and (D) 1 V s^{-1} .

The shape of the nanoaggregates observed at 25 °C and scan rate of 10 mV s^{-1} could be related to the Krafft temperature (or Krafft point) of $\text{C}_{11}\text{CO}_2\text{Na}$. The Krafft temperature (T_K) is the minimum temperature from which the formation of micelles takes place. It is a point of phase change below which the surfactant remains in crystalline form in aqueous solution. At temperatures below T_K , the maximum solubility of the surfactant will be lower than the cmc and micellization will not occur. For a homologous series of ionic surfactants, T_K varies with the alkyl

chain length,⁴³ chain structure,³⁸ and counterion^{45, 46}. There are extremely large discrepancies between the T_K values published by different research groups for sodium salts of longer chain carboxylates. Reported T_K values for $C_{11}CO_2Na$ are 13 °C,⁴³ 25 °C,^{45, 46} and 31–34 °C^{38, 39}. Because T_K could be higher than the temperature of 25 °C at which we carried out the electrochemistry and SPR experiments, we performed cyclic voltammetry at 40 °C (at least 6 °C higher than the highest reported T_K value) to investigate the effect of temperature on the surface aggregate size and shape. Increasing the working temperature results in a significant change in both the aggregate morphology and surface coverage (**Figure 2. 6C,D**) but no significant change in the voltametric behavior (**Figure 2. S7**, Supporting Information). Below the cmc (10 mM), where linear aggregates dominate at 25 °C (**Figure 2. 6A**), flat islands/domains of thickness of 5.3 ± 0.4 nm are detected at 40 °C. The adsorbate coverage increases from 32% to 45%. At a solution concentration equivalent to 4–5×cmc (125 mM), islands are observed at 40 °C in place of the spheres present at 25 °C (**Figure 2. 6B**) and the adsorbate coverage increases from 47% to 85%. The island thickness of 3.8 ± 0.3 nm corresponds to a single bilayer.⁵³⁻⁵⁵ Some domains have a multilayer thickness of 7.4 ± 0.5 nm. This marked difference in the adsorbate morphology at higher temperature suggests that T_K of $C_{11}CO_2Na > 25$ °C and that the structure of the surface adsorbates at 25 °C result from solubility issues.

To confirm this hypothesis, we imaged by AFM the morphology of C_9CO_2Na adsorbate (**Figure 2. 8**), whose T_K is at least 10 °C below room temperature (i.e., reported T_K value varies from 2 °C⁴³ to 15 °C³⁸), so that no heating of the bulk $C_9CO_2Na_{(aq)}$ solution is necessary. After one CV in 100 mM $C_9CO_2Na_{(aq)}$ (near cmc) at v of 10 mV s⁻¹ at 25 °C, a flat layer covers roughly 90% of the SAM surface. The thickness of the dodecanoate adsorbate layer determined by nanoshaving⁵⁶ (**Figure 2. 8B**) of 2.7 ± 0.3 nm is consistent with the expected thickness of a single bilayer. The similar morphology of the adsorbate layers of the longer-chain $C_{11}CO_2Na$ and shorter-chain C_9CO_2Na formed at 40 °C and 25 °C, respectively, indicate that soluble *n*-alkylcarboxylates ion pair with the SAM-bound ferroceniums and aggregate to form planar structures whose surface coverage depends on the bulk solution concentration.

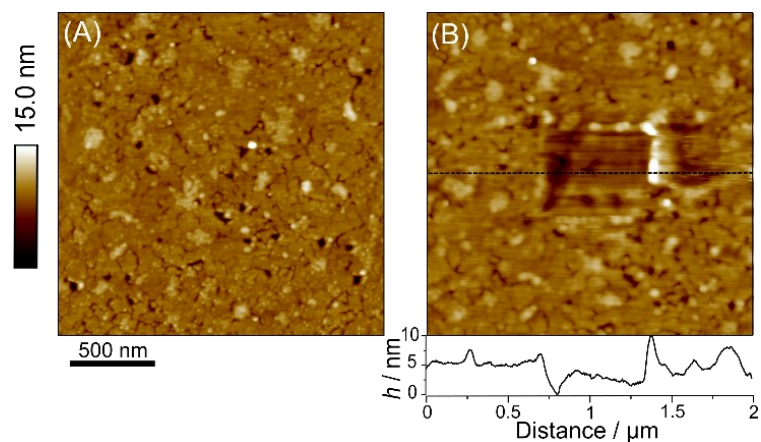


Figure 2. 8. AFM height images recorded under water at ambient temperature and line section of the FcC₁₂SAu SAM surface after one oxidation/reduction cycle at 10 mV s⁻¹ in C₉CO₂Na_(aq) at 25 °C and concentration of 100 mM. (A) Before and (B) after nano-shaving.

AFM imaging of the redox-induced surface adsorption was expanded to C₁₂PO₄Na₂ (**Figure 2. 9**). The T_K of C₁₂PO₄Na₂ is reported to be around 20 °C^{39,42} so that heating the bulk solution above room temperature is not necessary. AFM height images show that after one oxidoreduction cycle at v of 10 mV s⁻¹ and 25 °C in a solution of concentration (2.5 mM) below the cmc of C₁₂PO₄Na₂ (**Table 2. 1**), up to 48% of the FcC₁₂SAu SAM surface is covered with patches of two distinct heights, 3.3 ± 0.3 nm, and 6.4 ± 0.4 nm, corresponding to a single and double bilayer, respectively. At a concentration (8 mM) near the cmc, a homogeneous layer of 3.4 ± 0.3 nm thickness covers $>\sim 93\%$ of the SAM surface, corresponding to a single bilayer. Increasing the concentration above the cmc to 40 mM, a rough layer of 6.6 ± 0.5 nm thickness covers $>\sim 92\%$ of the SAM surface.

Passive incubation (open circuit) of the FcC₁₂S SAM-modified gold surface in aqueous solutions of C₁₁CO₂Na and C₁₂PO₄Na₂ at bulk concentrations around the cmc for up to 20 min results in insignificant adsorption (**Figure 2. S8**), proving the important role of the redox trigger. The surface-confined redox and ion-pairing reactions drive the assembly of anionic surfactant films onto the electroactive SAM-modified gold surface within minutes.

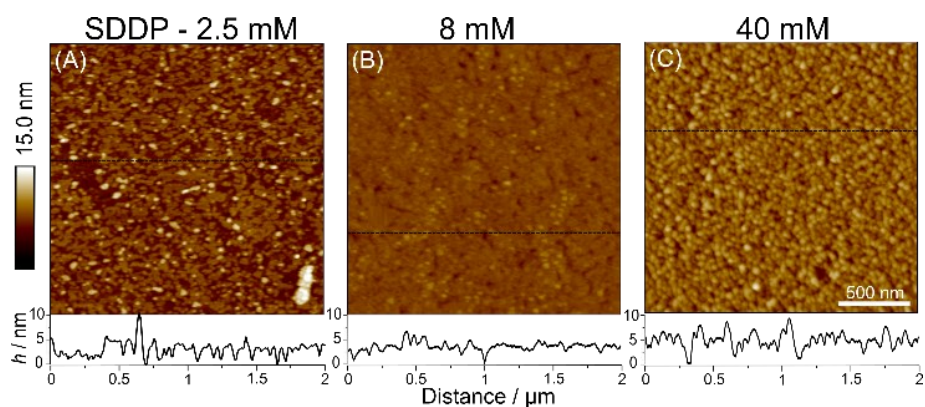


Figure 2. 9. AFM height images recorded under water at ambient temperature and line sections of the FcC₁₂SAu SAM surface after one oxidation/reduction cycle at 10 mV s⁻¹ and 25°C in C₁₂PO₄Na_{2(aq)} of concentration of (A) 2.5 mM,(B) 8 mM and (C) 40 mM.

2.5.6 Origin of Specific Ion Interactions of the FcC₁₂SAu SAM and Irreversible Adsorption of Alkyl Carboxylate and Phosphate

Many researchers have classified anionic surfactants according to nature of the headgroups, and the chaotropicity of surfactant charged headgroups increases along the series: carboxylate < phosphate < sulfate < sulfonate.⁵⁷⁻⁵⁹ This classification is known under the name of the “Hofmeister series” and is mainly based on the ions degree of hydration and their effect on the water structure. Ions of smaller radii are strongly hydrated and move slowly since they carry several water molecules, which makes them water structure makers or “kosmotropes”, whereas bigger poorly hydrated ions move faster in solution and are structure breakers and called “chaotropes”.⁵⁹⁻⁶¹ The bulk thermodynamic behavior of amphiphilic molecules in the presence of specific ions has been extensively studied including the effect on the CMC, the solubility, the surface tension, the phase behavior of surfactants, and the dynamic transition of the aggregates.^{57, 62, 63} Yet, this study is still not well understood in presence of solid surfaces. The chemical nature of ions and the degree of their hydration strongly affects their affinity to surfaces, their distribution in the electric double layer and their electrophoretic mobility. Furthermore, the ions affinity to surfaces is highly dependent on the nature of the involved surface (surface charge, polarity, hydrophilic or hydrophobic nature, etc.), the type of electrolyte, pH, temperature, and other conditions of the

experiment. Depending on the used parameters, the ordering of the ions within the Hofmeister series can be direct, indirect or partially altered.⁶⁴

In this work, we showed that the redox behavior of the SAM-bound ferrocenes follows the chaotropicity of the surfactant headgroup and thereby the direct Hofmeister series, where chaotropic (soft) alkyl sulfate and sulfonate yield reversible ion pairing reactions and kosmotropic (hard) alkyl carboxylate and phosphate yield irreversible ion pairing reactions. According to Collins' *law of matching water affinity* (LMWA), cations and anions form stable ion pairs if their respective hydration degree matches (e.g. kosmotropic cation likes kosmotropic anion), which implies the assumption that the SAM-bound ferrocene is a hard cation.⁶⁵ This direct ion–surface matching affinity and the subtle interplay of surfactant head group hydration in bulk result in surfactant accumulation and depletion at the SAM/electrolyte interface.⁶⁶⁻⁶⁸ The resulting hydration/dehydration of the surface will be the key parameter in determining the position of the shear plane of surfaces and electric double layer thickness. Sulphate ions has found to exhibit pronounced dehydration ability.⁶⁴ They destroy the hydrate layers adherent to the surface and move the shear plane toward the surface. This explain why the electron transfer and the ion-pairing reaction are easily reversible through the oxidation/reduction of the surface-confined ferrocenes. Oppositely, more hydrated ions (carboxylates and phosphates) result in the shift of the slip plane toward solution resulting in an increase in the concentration of adsorbed surfactants, their accumulation in the Stern layer and a corresponding abnormal increase in the surface charge density (**Table 2. 1**).^{57, 64} This electrochemically-triggered stable accumulation of alkyl carboxylate and phosphate allows the formation of stable molecular assemblies at slow scan rates.

2.6 Conclusions

We investigated using cyclic voltammetry the Faradaic electrochemistry of ferrocenyldodecanethiolate SAMs chemisorbed to gold in the presence of *n*-alkyl chain surfactants with different anionic headgroups: sulfate, sulfonate, carboxylate, and phosphate. The redox behavior of the SAM-bound ferrocenes in aqueous solutions of the anionic surfactants generally follows the chaotropicity (softness) of the headgroup. The chaotropic alkyl sulfate and sulfonate yield reversible electron transfer and ion pairing reactions. The SAM-bound ferrocenes are

oxidized at higher potential in the presence of the kosmotropic (hard) alkyl carboxylate and phosphate and exhibit irreversible behavior. The reversibility of the redox process and the anodic charge density notability depends on the potential scan rate. The SAM exhibits irreversible redox electrochemistry and surfactant adsorption at scan rates $\leq 50 \text{ mV s}^{-1}$, quasi-reversible electrochemistry at scan rates between 100 mV s^{-1} and 400 mV s^{-1} , and reversible oxidoreduction and surfactant association at scan rates $\geq 800 \text{ mV s}^{-1}$. The oxidation potential decreases as the number of carbons in the surfactant molecule increases for both chaotropic and kosmotropic head groups.

The addition of ClO_4^- and BF_4^- anions which have good ion-pairing abilities to aqueous solutions of alkyl carboxylate prevents the latter from ion-pairing with the SAM-bound ferroceniums and the voltammetric signature is the same as that in solutions containing ClO_4^- or BF_4^- . The F^- anion with poor ion-pairing ability has no effect on the irreversible oxidation of the ferrocenes, confirming that the irreversible adsorption of the kosmotropic carboxylate on the SAM surface is initiated by ion pairing association of head group with the electrogenerated ferrocenium.

The ability to tailor the reversibility of the redox-induced adsorption/aggregation of surfactants at modified electrode surfaces through the chaotropicity/kosmotropicity of the surfactant's anionic head group is powerful for the preparation of organic molecular assemblies using an electrochemical trigger.

2.7 Acknowledgments

This research was supported by the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada through Discovery grant no. RGPIN-2019-04883 (A.B.) and a Postgraduate Graduate Scholarship – Doctoral (O.H.).

2.8 Supporting Information

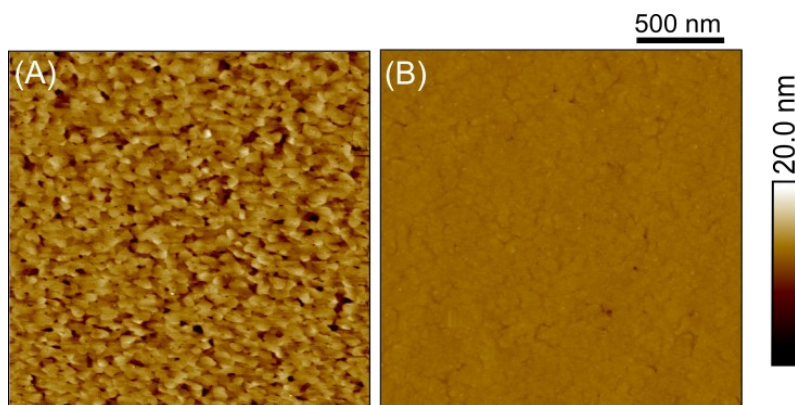


Figure 2. S1. AFM height images (A) thermally-evaporated gold used for ESPR and (B) template-stripped gold employed for AFM imaging. The root-mean-square roughness is (A) 1.9 ± 0.3 nm for areas of $2 \times 2 \mu\text{m}^2$ and 0.6 ± 0.1 nm inside gold grains, and (B) 0.3 ± 0.1 nm over areas of $2 \times 2 \mu\text{m}^2$.

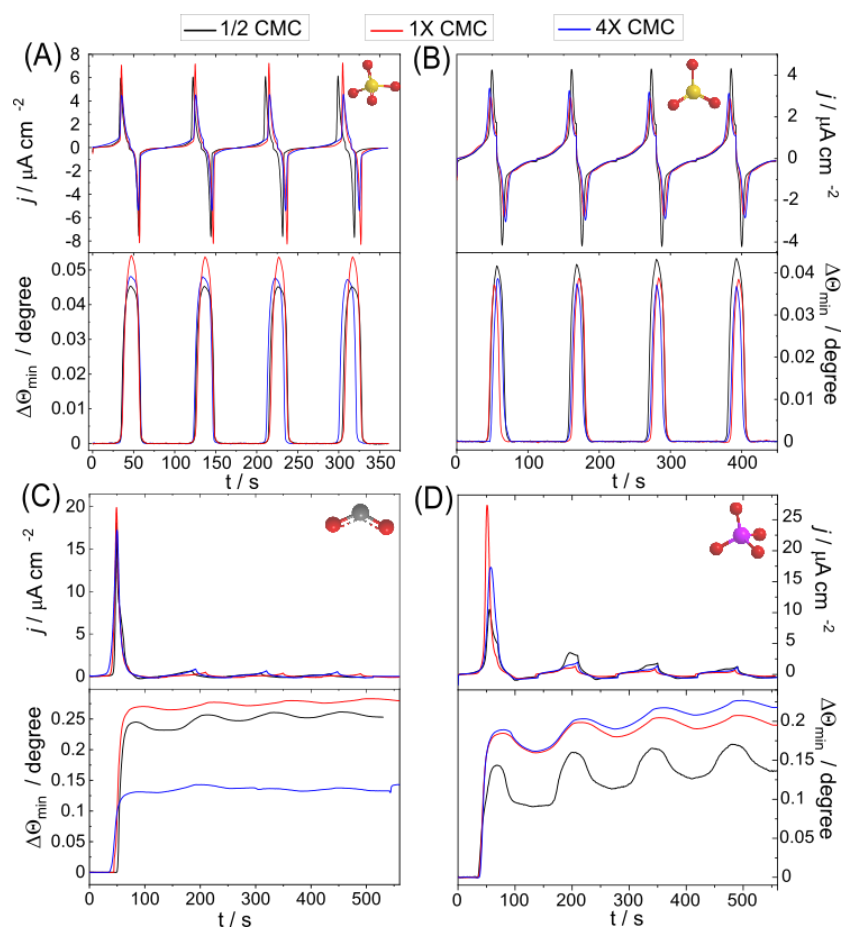


Figure 2. S2. Current density j and resonance angle change $\Delta\Theta_{\min}$ vs. time t recorded over 4 oxidoreduction cycles of $\text{FcC}_{12}\text{SAu}$ SAMs, in aqueous solutions of sodium n -alkyl surfactants at at $25 \text{ }^\circ\text{C}$ and concentrations half the cmc (black), near the cmc (red), and 4 times higher the cmc (blue); (A) sodium dodecyl sulfate ($\text{C}_{12}\text{SO}_4\text{Na}$), (B) sodium dodecyl sulfonate ($\text{C}_{12}\text{SO}_3\text{Na}$), (C) sodium dodecanoate ($\text{C}_{11}\text{CO}_2\text{Na}$), and (D) sodium dodecyl phosphate ($\text{C}_{12}\text{PO}_4\text{Na}_2$). Potential scan rate = 10 mV s^{-1} .

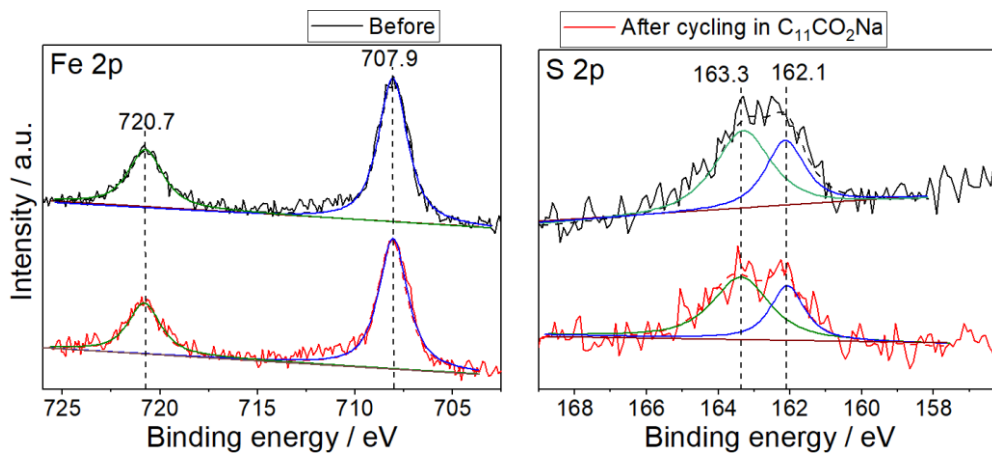


Figure 2. S3. XPS spectra of the FcC₁₂SAu SAM before and after one oxidoreduction cycle at 25 °C in 30 mM C₁₁CO₂Na_(aq). Fe 2p and S 2p region.

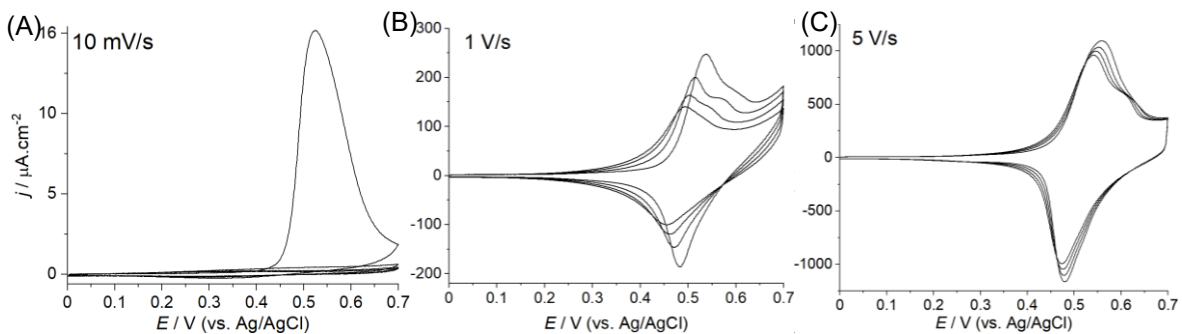


Figure 2. S4. Cyclic voltammograms of FcC₁₂SAu SAMs recorded over 4 successive oxidoreduction cycles at 25 °C in 350 mM C₇CO₂Na_(aq) at potential scan rates of (A) 10 mV s⁻¹, (B) 1 V s⁻¹, and (C) 5 V s⁻¹.

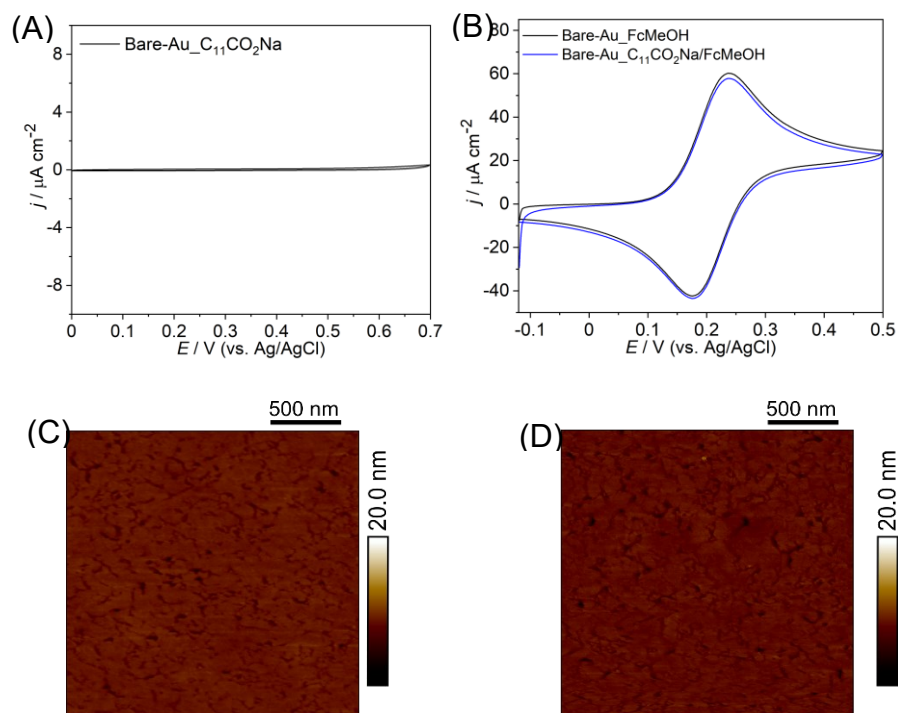


Figure 2. S5. Cyclic voltammograms recorded for bare gold surfaces at 25 °C. (A) 30 mM C₁₁CO₂Na. (B) 1 mM FcMeOH_(aq) versus 30 mM C₁₁CO₂Na_(aq) and 1.0 mM FcMeOH_(aq). Potential scan rate = 10 mV s⁻¹. AFM height images captured in deionized-distilled water at ambient temperature of template-stripped bare gold surfaces after one oxidoreduction cycle at 25 °C in (C) 30 mM C₁₁CO₂Na_(aq) and (D) 30 mM C₁₁CO₂Na_(aq) and 1.0 mM FcMeOH_(aq).

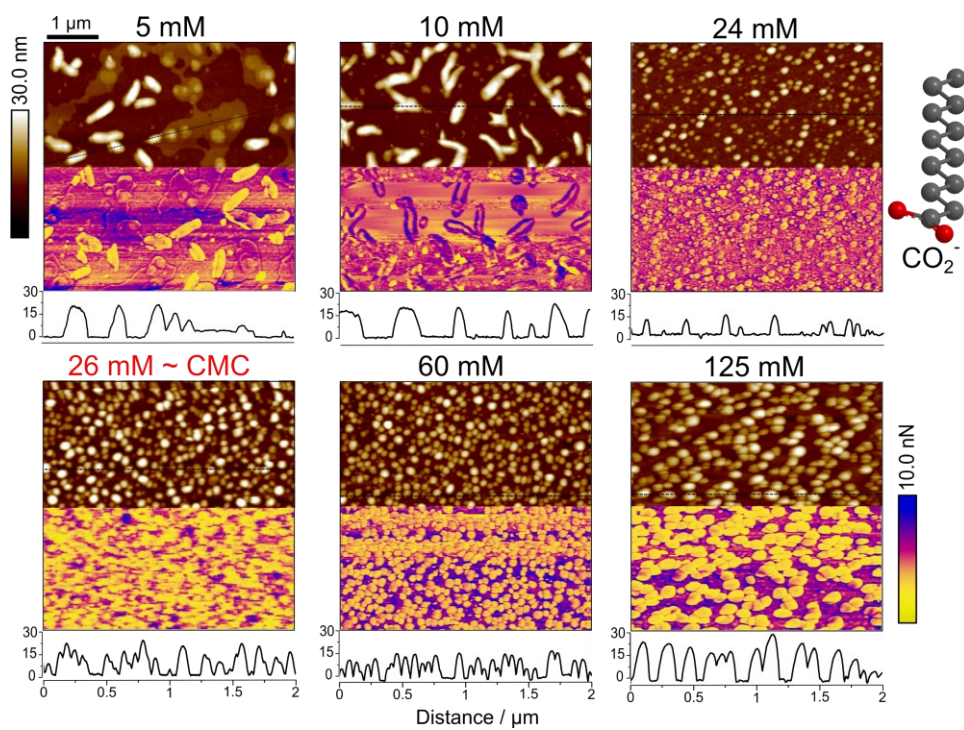


Figure 2. S6. AFM images of the height (top) and adhesion force (bottom) recorded at ambient temperature in deionized-distilled water of FcC₁₂SAu SAM surfaces after 1 oxidation/reduction cycle at 10 mV s⁻¹ in C₁₁CO₂Na at 25 °C at concentrations below, near, and above the cmc. The maximum surface coverage of adsorbate is obtained near the cmc (surface coverages of 32%, 80%, and 57% from solutions of C₁₁CO₂Na concentrations of 10, 26 and 125 mM, respectively). Above the cmc (125 mM), the surface coverage was lower, but the aggregates were bigger in size (28 ± 3 nm).

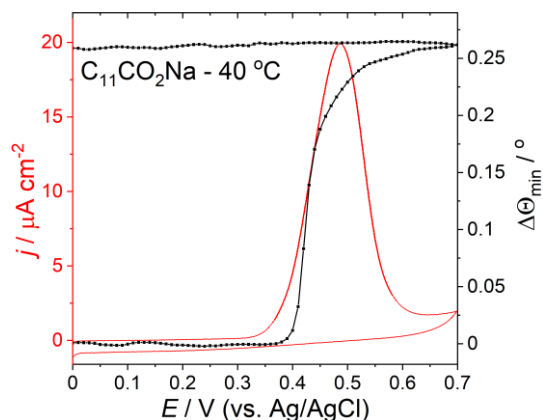


Figure 2. S7. Current density j and resonance angle change $\Delta\Theta_{\min}$ vs. applied potential E for $\text{FcC}_{12}\text{SAu}$ SAMs recorded at 40°C in aqueous solution of 30 mM sodium dodecanoate ($\text{C}_{11}\text{CO}_2\text{Na}$). Potential scan rate = 10 mV s^{-1} .

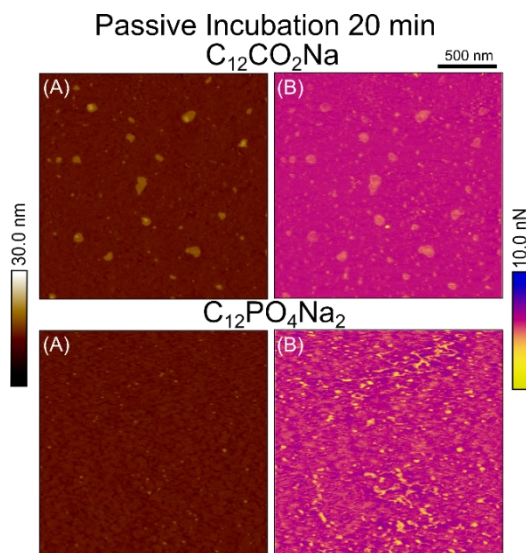


Figure 2. S8. AFM images of the height (left) and adhesion force (right) recorded at ambient temperature in deionized-distilled water following the passive incubation (open circuit) for 20 min of the $\text{FcC}_{12}\text{SAu}$ SAM in (A) and (B) 30 mM $\text{C}_{11}\text{CO}_2\text{Na}$, and (C) and (D) 10 mM $\text{C}_{12}\text{PO}_4\text{Na}_2$ at 25°C . Images show insignificant adsorption.

2.9 References

1. Rowe, G. K.; Creager, S. E., Redox and Ion-Pairing Thermodynamics in Self-Assembled Monolayers. *Langmuir* **1991**, *7* (10), 2307-2312.
2. Ju, H.; Leech, D., Effect of Electrolytes on the Electrochemical Behaviour of 11-(Ferrocenylcarbonyloxy)Undecanethiol SAMs on Gold Disk Electrodes. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **1999**, *1* (7), 1549-1554.
3. Valincius, G.; Niaura, G.; Kazakevičienė, B.; Talaikytė, Z.; Kažemėkaitė, M.; Butkus, E.; Razumas, V., Anion Effect on Mediated Electron Transfer through Ferrocene-Terminated Self-Assembled Monolayers. *Langmuir* **2004**, *20* (16), 6631-6638.
4. De Long, H. C.; Buttry, D. A., Ionic interactions play a major role in determining the electrochemical behavior of self-assembling viologen monolayers. *Langmuir* **1990**, *6* (7), 1319-1322.
5. Nguyen, K.-L.; Dionne, E. R.; Badia, A., Redox-Controlled Ion-Pairing Association of Anionic Surfactant to Ferrocene-Terminated Self-Assembled Monolayers. *Langmuir* **2015**, *31* (23), 6385-6394.
6. Paria, S.; Khilar, K. C., A review on experimental studies of surfactant adsorption at the hydrophilic solid-water interface. *Adv. Colloid Interface Sci.* **2004**, *110* (0001-8686 (Print)), 75-95.
7. Levchenko, A. A.; Argo, B. P.; Vidu, R.; Talroze, R. V.; Stroeve, P., Kinetics of Sodium Dodecyl Sulfate Adsorption on and Desorption from Self-Assembled Monolayers Measured by Surface Plasmon Resonance. *Langmuir* **2002**, *18* (22), 8464-8471.
8. Manne, S.; Gaub Hermann, E., Molecular Organization of Surfactants at Solid-Liquid Interfaces. *Science* **1995**, *270* (5241), 1480-1482.
9. Israelachvili, J. N.; Mitchell, D. J.; Ninham, B. W., Theory of self-assembly of lipid bilayers and vesicles. *Biochim. Biophys. Acta Biomembr.* **1977**, *470* (2), 185-201.
10. Parshad, B.; Prasad, S.; Bhatia, S.; Mittal, A.; Pan, Y.; Mishra, P. K.; Sharma, S. K.; Fruk, L., Non-ionic small amphiphile based nanostructures for biomedical applications. *RSC Adv.* **2020**, *10* (69), 42098-42115.
11. Lamont, R. E.; Ducker, W. A., Surface-Induced Transformations for Surfactant Aggregates. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120* (30), 7602-7607.
12. Tulpar, A.; Ducker, W. A., Surfactant Adsorption at Solid–Aqueous Interfaces Containing Fixed Charges: Experiments Revealing the Role of Surface Charge Density and Surface Charge Regulation. *J. Phys. Chem. B* **2004**, *108* (5), 1667-1676.
13. Burgess, I.; Jeffrey, C. A.; Cai, X.; Szymanski, G.; Galus, Z.; Lipkowski, J., Direct Visualization of the Potential-Controlled Transformation of Hemimicellar Aggregates of Dodecyl Sulfate into a Condensed Monolayer at the Au(111) Electrode Surface. *Langmuir* **1999**, *15* (8), 2607-2616.
14. Chen, M.; Burgess, I.; Lipkowski, J., Potential controlled surface aggregation of surfactants at electrode surfaces – A molecular view. *Surf. Sci.* **2009**, *603* (10), 1878-1891.
15. Welker, M. E., Ferrocenes as Building Blocks in Molecular Rectifiers and Diodes. *Molecules* **2018**, *23* (7), 1551.
16. Chen, X.; Roemer, M.; Yuan, L.; Du, W.; Thompson, D.; Del Barco, E.; Nijhuis, C. A., Molecular Diodes with Rectification Ratios Exceeding 10⁵ Driven by Electrostatic Interactions. *Nat. Nanotechnol.* **2017**, *12* (1748-3395 (Electronic)), 797-803.

17. Fabre, B., Ferrocene-Terminated Monolayers Covalently Bound to Hydrogen-Terminated Silicon Surfaces. Toward the Development of Charge Storage and Communication Devices. *Acc. Chem. Res.* **2010**, *43* (12), 1509-1518.
18. Uosaki, K.; Sato, Y.; Kita, H., Electrochemical Characteristics of a Gold Electrode Modified with a Self-Assembled Monolayer of Ferrocenylalkanethiols. *Langmuir* **1991**, *7* (7), 1510-1514.
19. Yokota, Y.; Yamada, T.; Kawai, M., Ion-Pair Formation between Ferrocene-Terminated Self-Assembled Monolayers and Counteranions Studied by Force Measurements. *J. Phys. Chem. C* **2011**, *115* (14), 6775-6781.
20. Dionne, E. R.; Sultana, T.; Norman, L. L.; Toader, V.; Badia, A., Redox-Induced Ion Pairing of Anionic Surfactants with Ferrocene-Terminated Self-Assembled Monolayers: Faradaic Electrochemistry and Surfactant Aggregation at the Monolayer/Liquid Interface. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135* (46), 17457-17468.
21. Dionne, E. R.; Badia, A., Electroactive Self-Assembled Monolayers Detect Micelle Formation. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2017**, *9* (6), 5607-5621.
22. Tauzin, A.; Dionne, E. R.; Badia, A., The aggregation and micellization of ionic surfactants in aqueous solution detected using surface-confined redox and ion-pairing reactions. *Electrochim. Acta* **2019**, *326*, 134991.
23. Norman, L. L.; Badia, A., Electrochemical Surface Plasmon Resonance Investigation of Dodecyl Sulfate Adsorption to Electroactive Self-Assembled Monolayers via Ion-Pairing Interactions. *Langmuir* **2007**, *23* (20), 10198-10208.
24. Jiang, L.; Wang, T.; Nijhuis, C. A., Fabrication of ultra-flat silver surfaces with sub-micrometer scale grains. *Thin Solid Films* **2015**, *593*, 26-39.
25. Badia, A.; Chen, C.-I.; Norman, L. L., Calibration of a fan-shaped beam surface plasmon resonance instrument for quantitative adsorbed thin film studies—No metal film thickness or optical properties required. *Sens. Actuators B* **2013**, *176*, 736-745.
26. Butt, H. J.; Jaschke, M., Calculation of thermal noise in atomic force microscopy. *Nanotechnology* **1995**, *6* (1), 1-7.
27. Cook, S. M.; Lang, K. M.; Chynoweth, K. M.; Wigton, M.; Simmonds, R. W.; Schäffer, T. E., Practical implementation of dynamic methods for measuring atomic force microscope cantilever spring constants. *Nanotechnology* **2006**, *17* (9), 2135-2145.
28. Butt, H.-J.; Cappella, B.; Kappl, M., Force measurements with the atomic force microscope: Technique, interpretation and applications. *Surf. Sci. Rep.* **2005**, *59* (1), 1-152.
29. Kale, K. M.; Cussler, E. L.; Evans, D. F., Characterization of micellar solutions using surfactant ion electrodes. *J. Phys. Chem.* **1980**, *84* (6), 593-598.
30. Sigal, G. B.; Mrksich, M.; Whitesides, G. M., Using Surface Plasmon Resonance Spectroscopy To Measure the Association of Detergents with Self-Assembled Monolayers of Hexadecanethiolate on Gold. *Langmuir* **1997**, *13* (10), 2749-2755.
31. Chidsey, C. E. D.; Bertozzi, C. R.; Putvinski, T. M.; Mujisce, A. M., Coadsorption of ferrocene-terminated and unsubstituted alkanethiols on gold: electroactive self-assembled monolayers. *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112* (11), 4301-4306.
32. Sun, Q.-W.; Murase, K.; Ichii, T.; Sugimura, H., Anionic effect of ionic liquids electrolyte on electrochemical behavior of ferrocenylthiol/alkanethiol binary SAMs. *J. Electroanal. Chem.* **2010**, *643* (1), 58-66.
33. Jalkh, J.; Leroux, Y. R.; Lagrost, C.; Hapiot, P., Comparative Electrochemical Investigations in Ionic Liquids and Molecular Solvents of a Carbon Surface Modified by a Redox Monolayer. *J. Phys. Chem. C* **2014**, *118* (49), 28640-28646.

34. Wong, R. A.; Yokota, Y.; Wakisaka, M.; Inukai, J.; Kim, Y., Probing consequences of anion-dictated electrochemistry on the electrode/monolayer/electrolyte interfacial properties. *Nat. Commun.* **2020**, *11* (1), 4194.
35. Chen, D. P.; Yu, C.; Chang, C. Y.; Wan, Y.; Frechet, J. M.; Goddard, W. A., 3rd; Diallo, M. S., Branched polymeric media: perchlorate-selective resins from hyperbranched polyethyleneimine. *Environ. Sci. Technol.* **2012**, *46* (19), 10718-26.
36. Lee, L. Y. S.; Sutherland, T. C.; Rucareanu, S.; Lennox, R. B., Ferrocenylalkylthiolates as a Probe of Heterogeneity in Binary Self-Assembled Monolayers on Gold. *Langmuir* **2006**, *22* (9), 4438-4444.
37. Israelachvili, J. N., Interactions of Biological Membranes and Structures. In *Intermolecular and Surface Forces (Third Edition)*, Academic Press: San Diego, 2011; pp 577-616.
38. Yang, P. W.; Mantsch, H. H., The critical micellization temperature and its dependence on the position and geometry of the double bond in a series of sodium octadecenoates. *J. Colloid Interface Sci.* **1986**, *113* (1), 218-224.
39. Zieliński, R., Novel Structural Increments for Estimating the Krafft Temperature of Ionic Surfactants in Aqueous Solutions. *J. Surfactants Deterg.* **2020**, *23* (6), 1087-1098.
40. Mukerjee, P.; Mysels, K. J., Critical Micelle Concentrations of Aqueous Surfactant Systems. Washington, D.C. : U.S. National Bureau of Standards: 1971; p 230.
41. Arakawa, J.; Pethica, B. A., Micellization in aqueous solutions of monoalkyl phosphate salts. *J. Colloid Interface Sci.* **1980**, *75* (2), 441-450.
42. Imokawa, G.; Tsutsumi, H.; Kurosaki, T., Surface activity and cutaneous effects of monoalkyl phosphate surfactants. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1978**, *55* (11), 839-843.
43. Blanco, E.; González-Pérez, A.; Ruso, J. M.; Pedrido, R.; Prieto, G.; Sarmiento, F., A comparative study of the physicochemical properties of perfluorinated and hydrogenated amphiphiles. *J. Colloid Interface Sci.* **2005**, *288* (1), 247-260.
44. Rodríguez-Pulido, A.; Casado, A.; Muñoz-Úbeda, M.; Junquera, E.; Aicart, E., Experimental and Theoretical Approach to the Sodium Decanoate–Dodecanoate Mixed Surfactant System in Aqueous Solution. *Langmuir* **2010**, *26* (12), 9378-9385.
45. Klein, R.; Touraud, D.; Kunz, W., Choline carboxylate surfactants: biocompatible and highly soluble in water. *Green Chem.* **2008**, *10* (4), 433-435.
46. Klein, R.; Kellermeier, M.; Drechsler, M.; Touraud, D.; Kunz, W., Solubilisation of stearic acid by the organic base choline hydroxide. *Colloids Surf. A Physicochem. Eng. Asp.* **2009**, *338* (1), 129-134.
47. Bard, A. J.; Faulkner, L. R., *Electrochemical Methods : Fundamentals and Applications*. Wiley: *New York*, 1980.
48. Finklea, H. O., Electrochemistry of Organized Monolayers of Thiols and Related Molecules on Electrodes. In *Electroanalytical Chemistry: A Series of Advances*, Bard, A. J.; Rubinstein, I., Eds. Marcel Dekker: New York, 1996; Vol. 19, pp 109–335.
49. Kale, K. M.; Cussler, E. L.; Evans, D. F., Surfactant ion electrode measurements of sodium alkylsulfate and alkyltrimethylammonium bromide micellar solutions. *J. Solution Chem.* **1982**, *11* (8), 581-592.
50. Lee, S. Y.; Welbourn, R.; Clarke, S. M.; Skoda, M. W. A.; Clifton, L.; Zorbakhsh, A., Adsorption of sodium hexanoate on α -alumina. *J. Colloid Interface Sci.* **2013**, *407*, 348-353.
51. Ödberg, L.; Svens, B.; Danielsson, I., The association of short chain alkanoates as studied by NMR methods. *J. Colloid Interface Sci.* **1972**, *41* (2), 298-304.

52. Stanley, F. E.; Warner, A. M.; Schneiderman, E.; Stalcup, A. M., Rapid determination of surfactant critical micelle concentrations using pressure-driven flow with capillary electrophoresis instrumentation. *J. Chromatogr. A* **2009**, *1216* (47), 8431-8434.
53. Israelachvili, J. N., Intermolecular and Surface Forces. Academic Press: *New York*, 1991.
54. Nagarajan, R.; Ruckenstein, E., Theory of surfactant self-assembly: a predictive molecular thermodynamic approach. *Langmuir* **1991**, *7* (12), 2934-2969.
55. Danov, K. D.; Kralchevsky, P. A.; Stoyanov, S. D.; Cook, J. L.; Stott, I. P.; Pelan, E. G., Growth of wormlike micelles in nonionic surfactant solutions: Quantitative theory vs. experiment. *Adv. Colloid Interface Sci.* **2018**, *256*, 1-22.
56. Matyszewska, D.; Sek, S.; Bilewicz, R., Electrochemical and Microscopic Characteristics of Thiolipid Layers as Simple Models of Cell Membranes. *Langmuir* **2012**, *28* (11), 5182-5189.
57. Vlachy, N.; Drechsler, M.; Verbavatz, J.-M.; Touraud, D.; Kunz, W., Role of the surfactant headgroup on the counterion specificity in the micelle-to-vesicle transition through salt addition. *J. Colloid Interface Sci.* **2008**, *319* (2), 542-548.
58. Kunz, W., Specific ion effects in colloidal and biological systems. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **2010**, *15* (1), 34-39.
59. Salis, A.; Ninham, B. W., Models and mechanisms of Hofmeister effects in electrolyte solutions, and colloid and protein systems revisited. *Chem. Soc. Rev.* **2014**, *43* (21), 7358-7377.
60. Hofmeister, F., Zur Lehre von der Wirkung der Salze. *Archiv f. experiment. Pathol. u. Pharmakol.* **1888**, *24* (4), 247-260.
61. He, X.; Ewing, A. G., Counteranions in the Stimulation Solution Alter the Dynamics of Exocytosis Consistent with the Hofmeister Series. *J. Am. Chem. Soc.* **2020**, *142* (29), 12591-12595.
62. Kang, B.; Tang, H.; Zhao, Z.; Song, S., Hofmeister Series: Insights of Ion Specificity from Amphiphilic Assembly and Interface Property. *ACS Omega* **2020**, *5* (12), 6229-6239.
63. Jiang, N.; Li, P.; Wang, Y.; Wang, J.; Yan, H.; Thomas, R. K., Micellization of Cationic Gemini Surfactants with Various Counterions and Their Interaction with DNA in Aqueous Solution. *J. Phys. Chem. B* **2004**, *108* (39), 15385-15391.
64. Manilo, M. V.; Lebovka, N. I.; Barany, S., Effects of sort and concentration of salts on the electrosurface properties of aqueous suspensions containing hydrophobic and hydrophilic particles: Validity of the Hofmeister series. *J. Mol. Liq.* **2019**, *276*, 875-884.
65. Collins, K. D., Charge density-dependent strength of hydration and biological structure. *Biophys. J.* **1997**, *72* (1), 65-76.
66. Schwierz, N.; Horinek, D.; Sivan, U.; Netz, R. R., Reversed Hofmeister series—The rule rather than the exception. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **2016**, *23*, 10-18.
67. Schwierz, N.; Horinek, D.; Netz, R. R., Specific Ion Binding to Carboxylic Surface Groups and the pH Dependence of the Hofmeister Series. *Langmuir* **2015**, *31* (1), 215-225.
68. Nelson, N.; Schwartz, D. K., Specific Ion (Hofmeister) Effects on Adsorption, Desorption, and Diffusion at the Solid–Aqueous Interface. *J. Phys. Chem. Lett.* **2013**, *4* (23), 4064-4068.

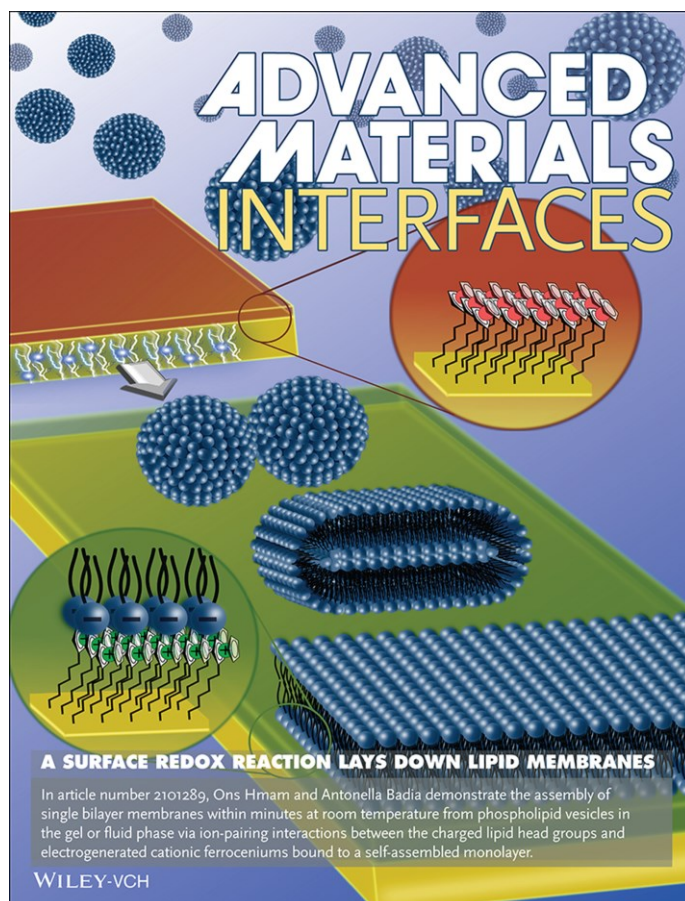
Chapitre 3 – Metal-Supported Phospholipid Bilayers Formed by Redox Command

Ons Hmam, Antonella Badia

Département de chimie, Centre québécois sur les matériaux fonctionnels/Quebec Centre for Advanced Materials and Regroupement québécois sur les matériaux de pointe, Université de Montréal, Complexe des sciences, C.P. 6128, succursale Centre-ville, Montréal, QC H3C 3J7, Canada

antonella.badia@umontreal.ca

Ce chapitre a été rédigé sous forme d'article et publié le 26 décembre 2021 dans : *Advanced Materials Interfaces*, 9, 2101289, [DOI: 10.1002/admi.202101289]. Le travail a été également sélectionné comme couverture de *Frontispiece* par le journal : DOI: 10.1002/admi.202270031.



3.1 Mise en contexte

L'étude du comportement électrochimique de la SAM électroactive de $\text{FcC}_{12}\text{SAu}$ en présence de tensioactifs amphiphiles avec simple chaîne alkyle de type carboxyle (sel d'acide gras ; *fatty acid soap* ($\text{C}_n\text{CO}_2\text{Na}$)) et de type phosphate ($\text{C}_n\text{PO}_4\text{Na}_2$), réalisée dans le chapitre précédent (chapitre 2), a montré une oxydation irréversible des groupes de ferrocènes confinés en surface et une adsorption stable de bicouches de surfactants induite par oxydoréduction. Cette possibilité de contrôler l'assemblage/agrégation moléculaire en surface en utilisant les réactions d'appariements ioniques semble être une approche assez puissante pour déclencher la fusion des vésicules à base de phospholipides (molécules amphiphiles à double chaînes) et former des bicouches lipidiques modèles supportées sur des surfaces d'or.

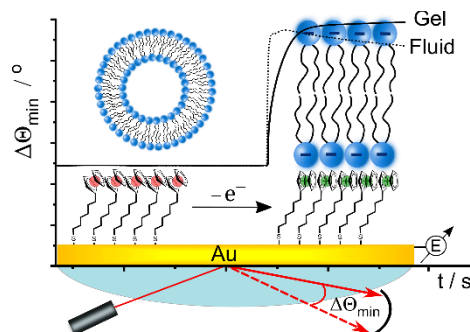
Former des bicouches lipidiques supportées par fusion des vésicules a toujours été la technique la plus adaptée vue sa simplicité et son efficacité, mais elle exige des conditions expérimentales critiques comme la nécessité de surfaces planes lisses et hydrophiles (mica, verre...), des vésicules à base de phospholipides zwitterioniques en phase fluide, une concentration élevée en lipides, et une longue durée d'incubation (>1h). En utilisant les réactions d'appariements ioniques induits par oxydoréduction, on peut surmonter ces exigences et former une plus large gamme de bicouches lipidiques (zwitterionique et anionique, en phase gel et en phase fluide) sur une surface métallique, en un temps rapide et à température ambiante.

Les expériences, ainsi que leur analyse, présentées dans cet article ont été réalisées par moi-même. J'ai également effectuée la préparation des figures et la rédaction du manuscrit. Antonella Badia a contribué à la correction et la perfection du manuscrit.

3.2 Abstract

A surface-confined redox reaction triggers the formation of single bilayer membranes from small unilamellar vesicles of anionic or zwitterionic phospholipids onto gold surfaces modified with a ferrocene-terminated self-assembled monolayer (SAM). The ion pairing association of the charged lipid headgroups with the electrogenerated cationic ferroceniums drives the assembly of the phospholipids on the SAM surface to produce solid-supported bilayers of high surface coverage ($\geq 90\%$) from gel- or fluid-phase forming phospholipids within minutes at room temperature. The redox-mediated strategy reported in this work is a conceptual advance in the preparation of solid-

supported lipid bilayers. It is fast, compatible with negatively-charged and zwitterionic phospholipids, insensitive to the phase state of the phospholipid in the vesicle precursor, and not limited to hydrophilic surfaces.



Keywords: supported phospholipid bilayer, self-assembled monolayer, ferrocenylalkanethiolate, redox-induced vesicle fusion, ion pairing.

3.3 Introduction

Phospholipid-based membranes are critical structural and functional cell components.¹ Immobilization of the membrane at a planar solid surface in the form of a supported lipid bilayer (SLB) is invaluable to probe cell surface-related phenomena by surface-sensitive techniques² for applications including drug research,³⁻⁸ disease mechanisms,^{9, 10} (bio)sensing and separations¹¹⁻¹⁷, and nanobiotechnology^{18-20, 21-24}. Vesicle fusion, the most popular method for forming SLBs, involves the adsorption, deformation, and rupture of small unilamellar vesicles (SUVs) of lipids from aqueous suspension to the substrate surface.²⁵⁻²⁷ Despite the method's simplicity, the formation of continuous single bilayers can be problematic due to the many experimental parameters influencing vesicle rupture and bilayer spreading that must be optimized for specific lipid(s)/surface combinations (i.e., lipid and vesicle properties, physicochemical characteristics of the surface, temperature, and solvent environment)^{27-31, 32-34}. Vesicle–substrate interactions (van der Waals and electrostatic forces) must be sufficiently strong to induce the rupture of adsorbed vesicles and formation of a continuous bilayer via vesicle–substrate and/or vesicle–vesicle interactions. Vesicle fusion typically works with a narrow range of material surfaces, notably smooth hydrophilic surfaces (water contact angle $\theta_w < 20^\circ$)³⁵, such as glass, silica, and mica.^{27, 36, 37} Adsorbed vesicles remain intact on gold surfaces employed for electrochemical and surface plasmon resonance sensing^{30, 37, 38}; these are typically polycrystalline³⁹ and present $\theta_w \gtrsim 60^\circ$ in ambient atmosphere^{35, 36, 40}. Although methods have been

developed to form bilayers on gold (e.g., surface functionalization with hydrophilic organic films,⁴¹,⁴² solvent-assisted lipid bilayer formation³⁸ or the addition of a vesicle-destabilizing agent⁴³), there remains a need for active strategies that are fast, versatile, and scalable.

We sought a facile way to trigger and modulate lipid self-assembly on gold to remove the dependence of SLB formation on the lipid phase state and charge that influence passive vesicle fusion. We report a redox-induced approach for the formation at room temperature of single bilayers of different phospholipid classes on gold functionalized with electroactive self-assembled monolayers (SAMs) of ferrocenylalkanethiolates.

Monolayer assemblies of ferrocenylated molecules are promising systems for charge transport and storage, information processing, and current rectification due to fast electron transfer, low oxidation potential, and two stable redox states.⁴⁴⁻⁴⁶ The electrochemical oxidation of the SAM-bound ferrocene (Fc) to ferrocenium (Fc⁺) involves coupled electron transfer and ion pairing reactions: $\text{Fc}_{\text{SAM}} + \text{X}_{(\text{aq})}^- \rightleftharpoons (\text{Fc}^+\text{X}^-)_{\text{SAM}} + \text{e}^-$.⁴⁷⁻⁵⁰ Counteranions X⁻ from solution pair with the ferroceniums to stabilize the oxidized cations and neutralize the excess positive charge at the SAM/aqueous interface.⁴⁷⁻⁵¹ Weakly hydrated monovalent anions (e.g., PF₆⁻, ClO₄⁻, and BF₄⁻) pair more effectively with the electrogenerated ferrocenium in the typically nonpolar environment of the monolayer film than strongly hydrated ones (eg., Cl⁻ and F⁻).^{48, 49, 52} The ability of the electrolyte anion to pair with the SAM-bound ferrocenium affects the thermodynamics of the interfacial redox reaction and electrochemical response of the SAM. A poor ion pairing ability yields a higher apparent formal redox potential ($E^{\circ'}$), peak broadening, lower ferrocenium surface concentration (as determined from the anodic charge density), and redox stability upon repeated potential cycling.⁴⁷⁻⁴⁹

We previously demonstrated the redox-induced ion pair association of anionic *n*-alkyl sulfate and *n*-alkyl carboxylate surfactants to ferrocene-terminated SAMs.⁵³⁻⁵⁵ Others reported the electrochemically-triggered surface deposition of polyelectrolytes and colloidal particles containing carboxylate and phosphate groups.⁵⁶⁻⁵⁸ Motivated by these previous studies, the redox-mediated ion pairing reaction was exploited to trigger and drive the adsorption of phospholipids to form SLBs.

3.4 Experimental Section

Materials and methods are available in Supporting Information.

3.5 Results and Discussions

3.5.1 Proof of Principle using Dialkyl Phosphatidylserines

The cyclic voltammograms and surface plasmon resonance angle changes ($\Delta\Theta_{\min}$) for a potential sweep of a ferrocenyldodecanethiolate SAM chemisorbed on gold (FcC₁₂SAu; **Figure 3. S1**, Supporting Information) between the reduced ferrocene and oxidized ferrocenium states in the presence of SUVs (~50 nm diameter) of dimyristoyl phosphatidylserine (DMPS) and palmitoyl oleoyl phosphatidylserine (POPS) suspended in a supporting electrolyte of 50 mM NaF_(aq) are shown in **Figure 3.1A,B**. Experiments were carried out with the electrochemical surface plasmon resonance (ESPR) cell thermostatted at 25 °C, i.e., 11 °C above the main transition temperature (T_m) of POPS and 10 °C below T_m of DMPS (**Table 3. 1**). NaF was added to decrease the resistance of the aqueous SUV suspensions. It was chosen because the very poor ion-pairing ability of F⁻ (which is lower than that of Cl⁻),^{48,49} reflected by the absence of redox peaks in cyclic voltammetry (**Figure 3. 1C**), should facilitate the association of the anionic phosphatidylserine head group with the ferrocenium, and of the low specific adsorption of F⁻ to gold (compared to Cl⁻)^{59,60}.

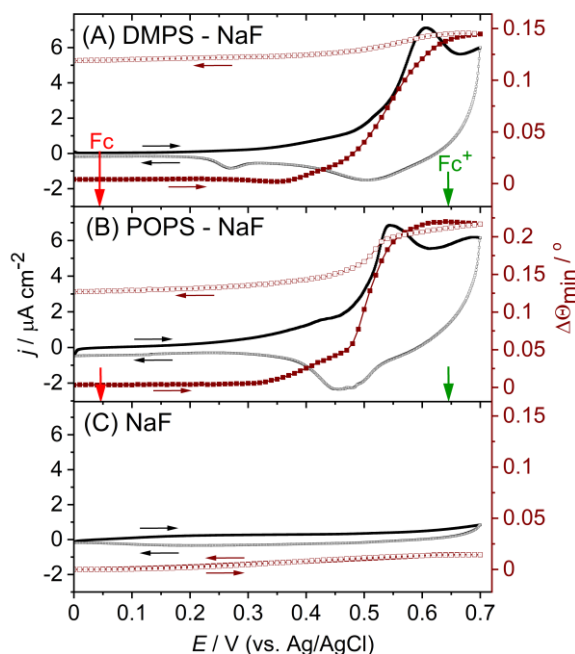


Figure 3. 1. Current density j and resonance angle change $\Delta\Theta_{\min}$ vs. applied potential E for FcC₁₂SAu SAMs in 50 mM NaF_(aq) solutions of SUVs of (A) DMPS and (B) POPS at 25°C. (C) 50 mM NaF_(aq). Potential scan rate = 10 mV s⁻¹.

Quasi-reversible Faradaic electrochemistry is observed in the presence of the phospholipid SUVs (**Figure 3. S2** and discussion of the electrochemical behavior, Supporting Information).⁶¹ A sharp anodic (oxidation) peak appears at around 0.54 V (vs. Ag/AgCl) for DMPS and 0.55 V for POPS. The corresponding increase in Θ_{\min} points to the ferrocene oxidation-induced adsorption of phospholipid at the SAM surface: $\Delta\Theta_{\min} = \sim 0.23^\circ$ for DMPS and $\sim 0.21^\circ$ for POPS at the end of the anodic sweep. A cathodic (reduction) peak of lower current density is observed at ~ 0.45 V. The onset of the resonance angle change coincides with the generation of a Faradaic current. Θ_{\min} plateaus at potentials positive of the anodic peak and decreases but does not return to its starting value during the cathodic sweep, pointing to the irreversible adsorption of lipid. Atomic force microscopy (AFM) images reveal the presence of adsorbate layers of non-uniform thickness on the FcC₁₂SAu SAM after one oxidation–reduction cycle (**Figure 3. S3** and discussion, Supporting Information).

Table 3. 1. Characteristics of the SLBs Formed by Potential Step-Hold at 25 °C^a

Lipid / T_m^b [°C]	t [min], 0.64 V vs. Ag/AgCl	Surface coverage [%]	SLB Thickness [nm]	
			Force spectroscopy	Nano-shaving
POPS / 14	5	95 ± 1	4.2 ± 0.7	4.0 ± 0.2
DMPS / 35	5	93 ± 2	5.7 ± 0.7	5.8 ± 0.2, 5.9 ± 0.3 (phosphate buffer)
DLPA / 31	3	95 ± 3	3.8 ± 0.4	-
POPG / -2	5	93 ± 3	3.8 ± 0.4	-
DPPC / 41	2	96 ± 1	6.1 ± 0.6	-
DOPC / -17	2	94 ± 4	4.6 ± 0.5	-

^a Vesicle fusion carried out in 50 mM NaF_(aq) unless specified otherwise. ^b Gel-to-liquid crystalline phase transition temperature of hydrated multilamellar vesicles.⁶²

By contrast, non-ideal reversible electrochemistry^{54, 63} and a ten-fold smaller reversible resonance angle change are observed when NaClO₄ is the supporting electrolyte (**Figure 3. 2A**) instead of NaF. ClO₄⁻ is commonly employed as the electrolyte anion in electrochemical studies of ferrocene-terminated SAMs because of its high propensity to form single contact (strong) ion pairs with the positively-charged SAM-bound ferroceniums^{47-49, 61}. Pairing of the ClO₄⁻ anions with the sterically-

crowded ferroceniums induces a molecular reorientation and SAM thickness change, observed as an increase in Θ_{\min} .⁶⁴⁻⁶⁶ The voltammetric response of the FcC₁₂SAu SAM (i.e., peak current densities, peak positions, and peak separation) is similar in the absence (**Figure 3. 2B**) and presence of SUVs of DMPS (**Figure 3. 2A**). Moreover, the magnitude of the redox-induced $\Delta\Theta_{\min}$ (i.e., 0.024°) is the same with or without SUVs, indicating that the adsorption of dialkyl phosphatidylserine to the SAM surface is driven by ion pair formation. Specifically, the greater ion-pairing ability of the ClO₄⁻ ion compared to the phosphatidylserine headgroup prevents the phospholipid from associating with the SAM-bound ferrocenium, and hence, from adsorbing to the SAM surface.

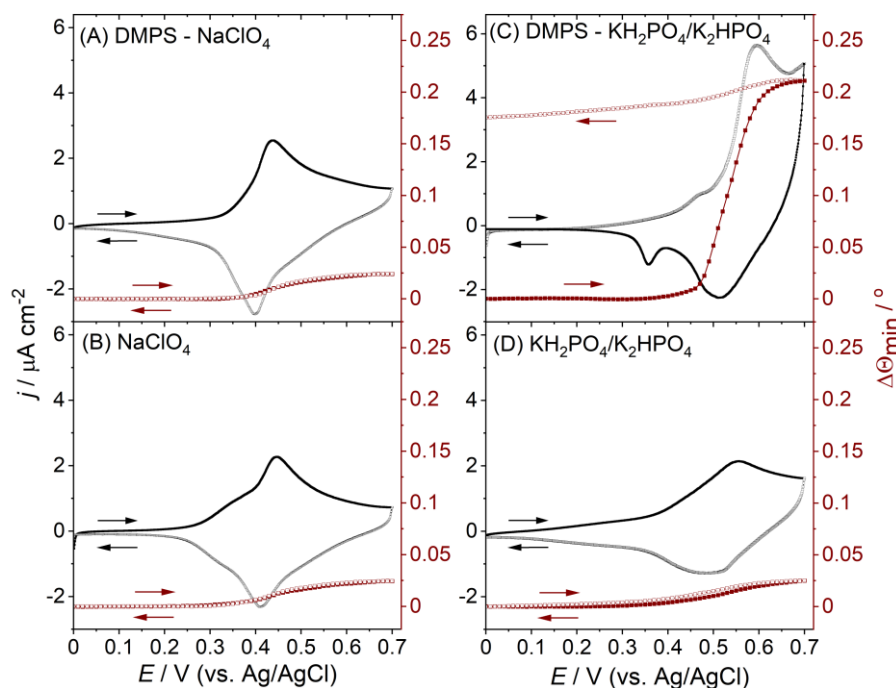


Figure 3. 2. Current density j and resonance angle change $\Delta\Theta_{\min}$ versus applied potential E for FcC₁₂SAu SAMs at 25°C. 50 mM NaClO_{4(aq)} solution with (A) and without (B) SUVs of DMPS. Phosphate buffer solution consisting of 50 mM KH₂PO₄ and 50 mM K₂HPO₄ with (C) and without (D) SUVs of DMPS. Potential scan rate = 10 mV s⁻¹.

When phosphate buffer consisting of 50 mM KH_2PO_4 and 50 mM K_2HPO_4 (pH = 6.8) is used as the supporting electrolyte, quasi-reversible electrochemistry, and an irreversible resonance angle change of similar magnitude (0.21°) to that in NaF are observed for SUVs of DMPS (**Figure 3. 2C**). Redox peaks are observed in the cyclic voltammogram of the $\text{FcC}_{12}\text{SAu}$ SAM in the phosphate buffer (**Figure 3. 2D**). The apparent formal redox potential $E^{\circ'}$, taken as the average of the anodic and cathodic peaks, of 0.52 V is 0.1 V higher than that in NaClO_4 ($E^{\circ'} = 0.42$ V). The charge associated with the ferrocene oxidation, determined by integration of the anodic peak, is half that in NaClO_4 : $17 \mu\text{C cm}^{-2}$ versus $39 \mu\text{C cm}^{-2}$. Thus, the ion pairing abilities of H_2PO_4^- and HPO_4^{2-} fall between those of F^- (no ferrocenium detected) and ClO_4^- (maximum ferrocenium concentration)⁴⁹ and, more importantly, are sufficiently low that the carboxylate or phosphate of the phosphatidylserine headgroup can effectively compete for the ferrocenium sites and adsorb to the SAM surface. Our work with anionic surfactants showed that the covalent linking of sulfate and carboxylate groups to a long, hydrophobic alkyl chain greatly improves their ability to ion pair with the SAM-bound ferroceniums^{48, 54, 55}, explaining why a larger anodic peak current density is observed in the phosphate buffer solution containing dialkyl phosphatidylserine vesicles.

Since the ion-pairing association between the phosphatidylserine and ferrocenium occurs at anodic potentials, we found that holding the $\text{FcC}_{12}\text{SAu}$ SAM in its oxidized state for a given time period is more effective than redox cycling (**Figure 3. S4**, Supporting Information) at generating homogeneous single bilayers. The applied potential was stepped from open circuit to 0.64 V (vs. Ag/AgCl), potential at which the surface concentration of electrogenerated ferrocenium is maximal (green arrows in **Figure 3. 1A,B**), and held at this value for periods of up to 5 min before stepping back to open circuit.

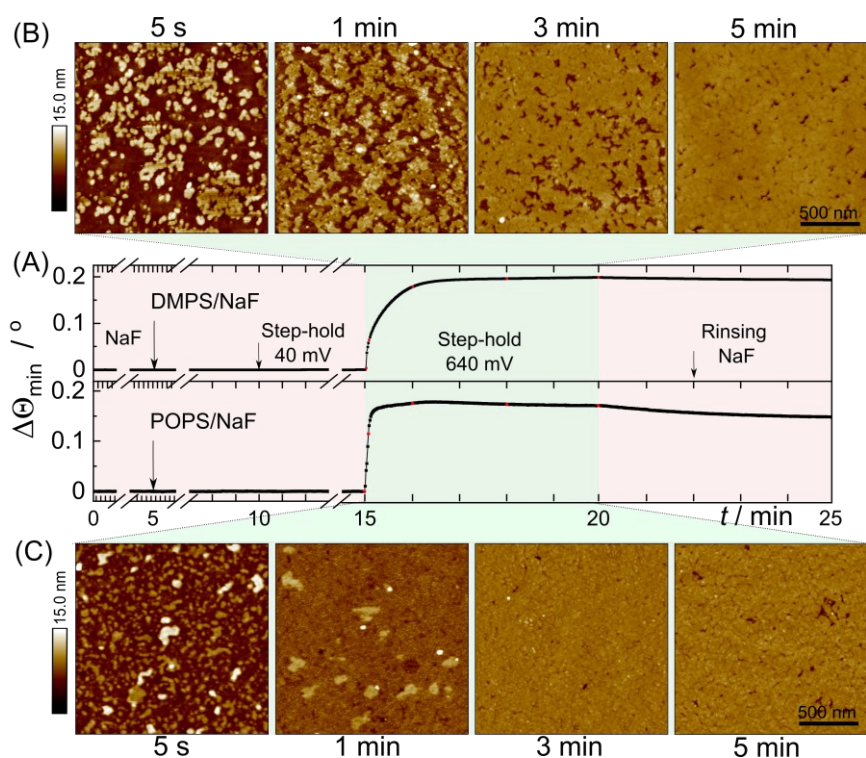


Figure 3.3. (A) Resonance angle change $\Delta\Theta_{\min}$ vs. time t for the interaction of SUVs of DMPS and POPS with $\text{FcC}_{12}\text{SAu}$ SAMs in 50 mM $\text{NaF}_{(\text{aq})}$ at 25°C. Open circuit at $t = 0$ –10 min, $E = 0.04$ V vs. Ag/AgCl at $t = 10$ –15 min, and $E = 0.64$ V at $t = 15$ –20 min. Open circuit at $t = 20$ –25 min. AFM height images acquired at ambient temperature of the $\text{FcC}_{12}\text{SAu}$ SAM surfaces after different potential hold times at 0.64 V and rinsing with ultrapure water: (B) DMPS and (C) POPS.

We used ESPR to follow in-situ and real time the redox-induced fusion of SUVs at 25 °C to the ferrocenium-terminated surface during potential step and hold. Figure 3A shows traces of $\Delta\Theta_{\min}$ versus time (t). After equilibrating the electrochemical cell comprising the FcC_{12}S -modified gold surface with 50 mM $\text{NaF}_{(\text{aq})}$ electrolyte at open circuit, the electrolyte is exchanged with $\text{NaF}_{(\text{aq})}$ solution containing SUVs of DMPS or POPS ($t = 5$ min). There is no change in Θ_{\min} , indicating the absence of any non-specific phospholipid adsorption onto the nearly hydrophobic Fc-terminated SAM ($\theta_{\text{w}} = 86 \pm 2^\circ$) at open circuit (confirmed by AFM in **Figure 3. S5A,B**, Supporting Information). At $t = 10$ min, the applied potential is stepped to and held at 0.04 V (reduced ferrocene state; red arrows in **Figure 3. 1A,B**) for 5 min. Again, no adsorption is detected (**Figure 3. S5C,D**, Supporting Information). At $t = 15$ min, the potential is stepped to 0.64 V to oxidize the SAM-bound

ferrocene, causing a sudden jump in Θ_{\min} due to the ion-pairing association of the phosphatidylserine to the ferrocenium. $\Delta\Theta_{\min}$ is $0.207 \pm 0.012^\circ$ for DMPS and $0.169 \pm 0.006^\circ$ for POPS ($n = 3$) after 5 min at the oxidizing potential ($t = 20$ min), yielding effective adsorbate film thicknesses (i.e., thicknesses for pure lipid layers) of 5.3 ± 0.3 nm and 4.2 ± 0.2 nm, respectively (**Table 3. S1**, Supporting Information). The anhydrous bilayer thicknesses determined from X-ray and neutron scattering data are 4.4 nm for DMPS and 4.2 nm for POPS.^{67, 68} At $t = 20$ min, the electrochemical cell is returned to open circuit and flushed with $\text{NaF}_{(\text{aq})}$. Θ_{\min} remains constant for DMPS and decreases for POPS before stabilizing at $\Delta\Theta_{\min}$ of 0.15° .

Potential step-hold experiments carried out with SUVs of DMPS and NaClO_4 or $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{K}_2\text{HPO}_4$ as the supporting electrolyte confirm the absence of phospholipid adsorption when ClO_4^- is the electrolyte anion and that the extent of deposition in the presence of H_2PO_4^- and HPO_4^{2-} is the same as that with F^- for a 5 min potential hold (**Figure 3. S6**, Supporting Information).

A thicker adsorbate layer with void spaces is optically equivalent to a thinner fully-formed film. SPR cannot distinguish between these two types of structures.⁶⁹ AFM was thus employed to characterize the lipid surface coverage and morphology of SLBs whose formation was interrupted at different potential hold times of the SAM in the ferrocenium state. Following a potential hold time of 5 s, $\sim 42\%$ of the surface is covered with patches of DMPS of height of ~ 6.5 nm (**Figure 3. 3B** and **Figure 3. S7**, Supporting Information). These patches extend over the surface with potential hold time until a ~ 5 nm layer of DMPS covers $93 \pm 2\%$ of the surface at 5 min. The evolution of Θ_{\min} with potential hold time reflects the combination of an increase in the lipid surface coverage and decrease in the film thickness. In the case of POPS, islands of two distinct heights, 9 ± 1 nm and 5 ± 1 nm, cover $\sim 40\%$ of the SAM surface at 5 s (**Figure 3. 3C** and **Figure 3. S8**, Supporting Information), possibly corresponding to double and single bilayer patches, respectively. At a potential hold time of 1 min, islands of ~ 3 nm thickness lie on top of an almost complete lipid film. A homogeneous layer covers $> \sim 90\%$ of the SAM surface at potential hold times ≥ 3 min. Here, the initial presence of multilayers on the SAM surface can explain the decrease of Θ_{\min} with potential hold at $t > 2$ min. In summary, AFM imaging shows that holding the $\text{FcC}_{12}\text{SAu}$ SAM in the oxidized state for 5 min in the presence of SUVs yields bilayers of DMPS or POPS of $> 90\%$ surface coverage (**Table 3. 1**). It is noteworthy that while passive vesicle fusion (open circuit) typically requires heating the solid substrate above the main phase transition temperature T_m of the phospholipid⁷⁰⁻⁷³,

SLBs of DMPS and other gel-phase forming phospholipids (**Table 3. 1**) could be formed at room temperature (i.e., below T_m) by redox-induced vesicle fusion.

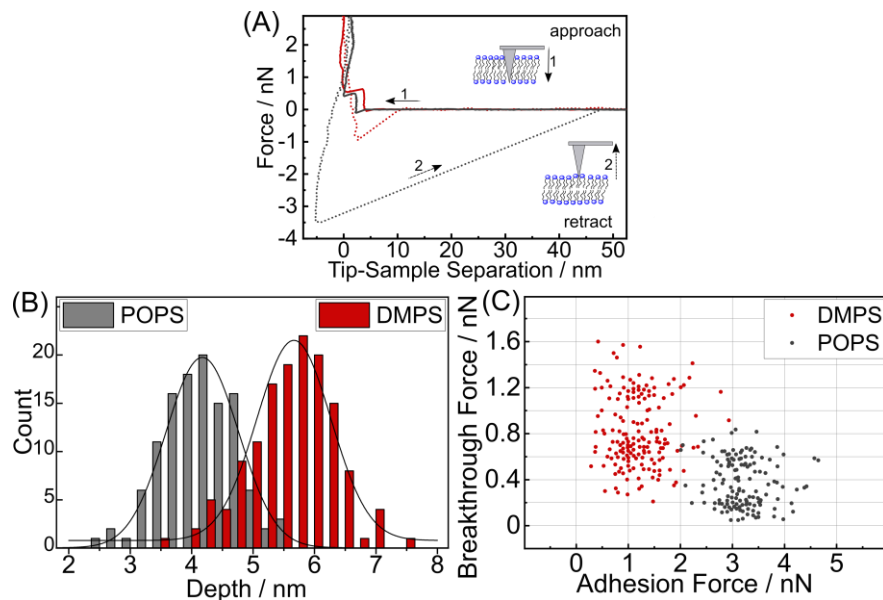


Figure 3. 4. (A) Force–distance curves for the approach and retraction of an AFM probe to/from SLBs of DMPS and POPS. (B) Depth histograms and (C) scatter plot of the breakthrough vs. adhesion force extracted from the curves (Figure 3.S9, Supporting Information).

AFM force spectroscopy was used to determine the SLB thicknesses and probe the nanomechanical film properties (**Figure 3. 4A** and **Figure 3. S9**, Supporting Information).^{74, 75} The “jump-in” distances of the approach curves yield film thicknesses of 5.7 ± 0.7 nm and 4.2 ± 0.7 nm for DMPS and POPS, respectively (**Figure 3. 4B**). AFM nanoshaving of these SLBs yields statistically equivalent thicknesses (**Table 3. 1** and **Figure 3. S10**, Supporting Information).^{76, 77} Moreover, the thickness of the DMPS bilayer formed in the phosphate buffer (5.9 ± 0.3 nm) is the same as the one formed in NaF (**Table 3. 1** and **Figure 3. S6C**, Supporting Information). The measured thicknesses are comparable to those reported for hydrated single bilayers: 6.2 ± 0.2 nm for DMPS in the gel phase⁷⁸ and 4.1 ± 0.1 nm for POPS in the fluid phase⁷⁹. POPS exhibits a smaller mean breakthrough force than DMPS (**Figure 3. 4C**), attributable to the structurally-related

difference in the elasticities of the fluid and gel phases of phospholipid bilayers.^{80, 81} The gel phase of Young modulus of ~100 MPa is stiffer than the fluid phase whose Young modulus is only ~10 MPa.⁸² The AFM probe tip deforms and penetrates the less densely-packed bilayer of the conformationally-disordered unsaturated-chain POPS, resulting in a larger adhesive pull-off force between the tip and bilayer film (**Figure 3. 4A,C**). By contrast, strong cohesive van der Waals interactions between the densely-packed, all-trans saturated-chains of DMPS limit the penetration of the tip into the solid-like bilayer film (and hence, its interaction with the hydrocarbon interior), resulting in a lower adhesive pull-off force due to repulsive steric forces at the bilayer surface.^{80, 81} These force spectroscopy results are consistent with the formation of SLBs of the expected molecular density.

3.5.2 Other Phospholipids

The redox-induced vesicle fusion strategy was extended to the assembly of SLBs of other anionic phospholipids, namely phosphatidylglycerol (POPG) and phosphatidic acid (DLPA), and zwitterionic phosphatidylcholines (DPPC and DOPC). The FcC₁₂SAu SAM exhibits a reversible (POPG) or quasi-reversible (DLPA, DPPC, DOPC) electrochemistry (**Figure 3. S11**, Supporting Information). Θ_{\min} plateaus at potentials positive of the anodic peak and decreases but does not return to its starting value during the cathodic sweep, indicating the irreversible adsorption of lipid. AFM imaging (**Figure 3. 5**) and force spectroscopy indicate the formation of single bilayers of surface coverages > 93% under oxidative potential hold times ranging from 2 to 5 min in 50 mM NaF_(aq). Except for POPG, images show the presence of additional lipid material (thickness of 4–8 nm) adsorbed onto the underlying bilayer at hold times > 2–3 min, which is consistent with the continued increase in Θ_{\min} observed with time (**Figure 3. S12**, Supporting Information). Evidently, the chemical nature of the head group influences the minimum time required to reach bilayer surface coverages $\geq 90\%$ and the propensity to form multilayers, which is energetically weak in passive vesicle fusion.⁸³ AFM images of the SAM surface collected for control experiments conducted at open circuit or 0.04 V with DPPC show only some phospholipid deposit after a 5 min incubation period (**Figure 3. S13**, Supporting Information).

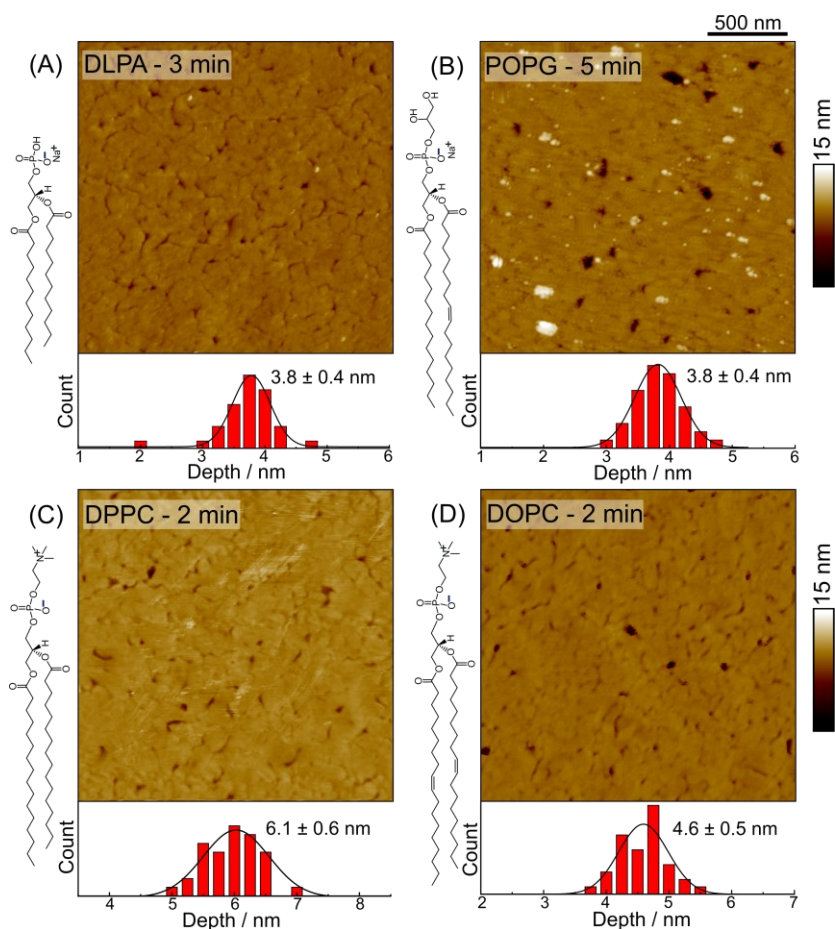


Figure 3. 5. AFM height images at ambient temperature in ultrapure water with corresponding film thickness histograms generated by force spectroscopy for SLBs formed by holding the $\text{FcC}_{12}\text{SAu}$ SAM at 0.64 V and 25 °C for 2–5 min in 50 mM $\text{NaF}_{(\text{aq})}$ solutions of SUVs of (A) DLPA, (B) POPG, (C) DPPC, and (D) DOPC.

Cyclic voltammetry and potential step-hold experiments were also carried out with DPPC and phosphate buffer as the supporting electrolyte (**Figure 3. S14**, Supporting Information and **Figure 3. 6A**). Irreversible adsorption occurred but the resonance angle change indicates less DPPC deposit at a given time compared to the NaF solution. For example, the phospholipid surface coverage after applying an oxidative potential for 2 min in phosphate buffer is $78 \pm 3 \%$ compared to $96 \pm 1 \%$ in NaF. The SLBs present a granular morphology with height differences (peak to bottom) of 6 – 12 nm (see cross-sections in **Figure 3. 6B**).

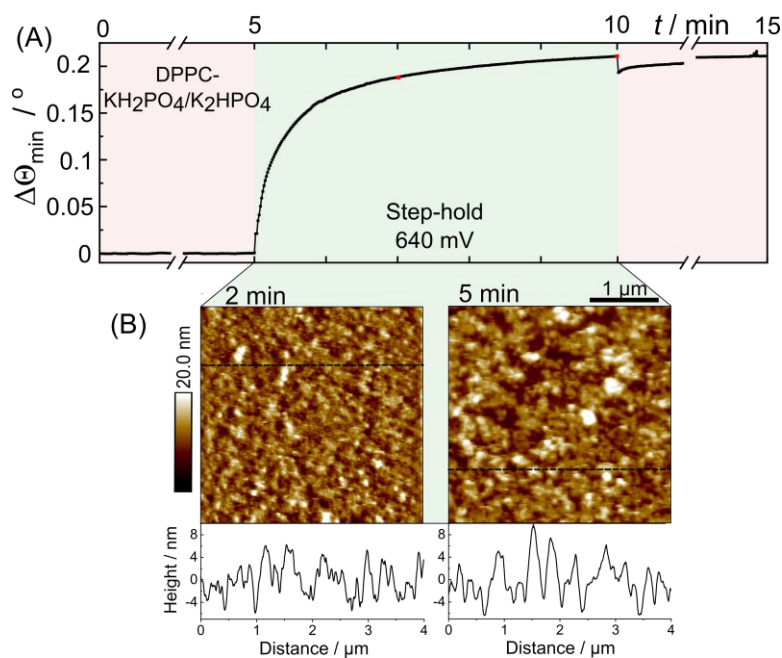


Figure 3. 6. (A) Resonance angle change $\Delta\Theta_{\min}$ vs. time t for the interaction of SUVs of DPPC with $\text{FcC}_{12}\text{SAu}$ SAMs in phosphate buffer solution (50 mM KH_2PO_4 and 50 mM K_2HPO_4) at 25 °C. Open circuit at $t = 0\text{--}5$ min, $E = 0.64$ V (vs. Ag/AgCl) at $t = 5\text{--}10$ min, and open circuit at $t = 10\text{--}15$ min. (B) AFM height images at ambient temperature and line sections of the $\text{FcC}_{12}\text{SAu}$ SAM surfaces after different potential hold times at 0.64 V (2 and 5 min) and rinsing with ultrapure water.

3.5.3 Mechanism for SLB Formation by Redox-Induced Vesicle Fusion

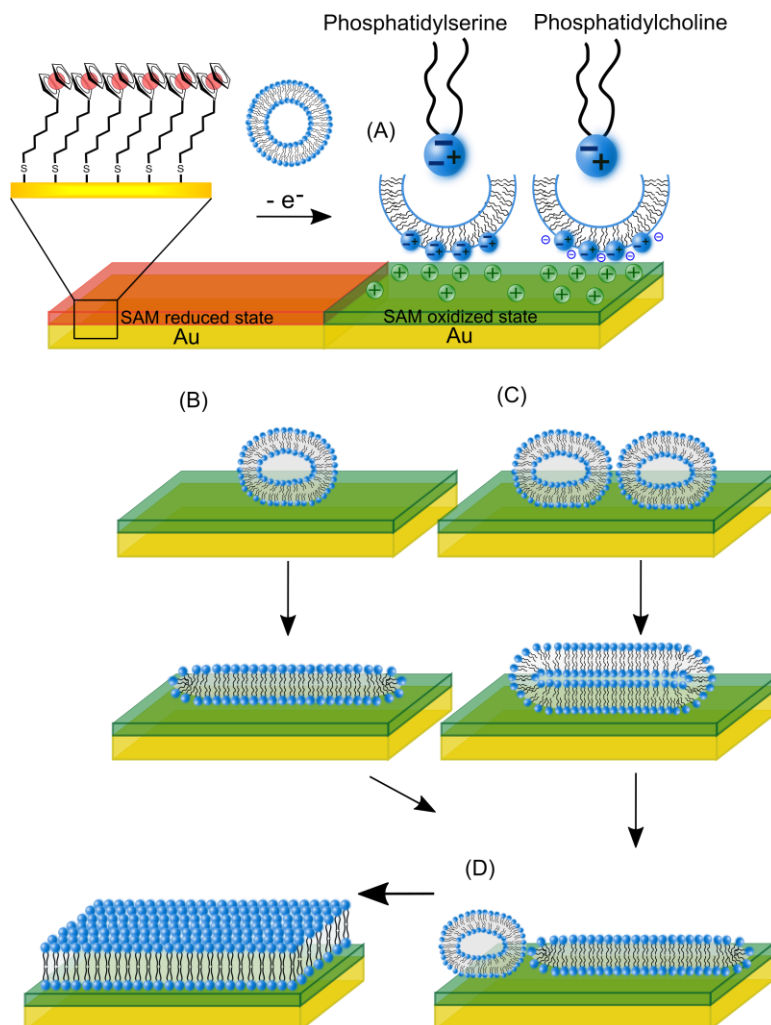


Figure 3. 7. Schematic representation (not to scale) of possible pathways for the formation of SLBs by redox-induced vesicle fusion on the ferrocenium-terminated SAM surface. (A) Adsorption of SUVs on the SAM surface is driven by ion pairing of the carboxylate or phosphate of the phospholipid headgroup with the electrogenerated ferrocenium. (B) Stress (deformation) induced by the ion-pairing interactions causes isolated SUVs to rupture. (C) Two neighboring vesicles can fuse together before rupturing. (D) The high energy edge of a supported bilayer patch formed by the rupture of a vesicle can cause the rupture of a neighboring vesicle or the collective action of several adjacent vesicles first leads to the rupture of one vesicle (at critical vesicle coverage) whose exposed edge then triggers the rupture of adjacent vesicles.²⁷

The formation of SLBs by the deposition of lipid SUVs can proceed via one of several possible pathways (**Figure 3. 7B-D**).^{27, 32, 83-86} Single adsorbed vesicles rupture to form a bilayer or adjacent vesicles can fuse together before rupturing.²⁷ The presence of fused vesicles on the SAM surface could explain the thicker islands or patches observed by AFM in the early stages of the formation of bilayers of POPS (**Figure 3. 3C**). The active (high energy) edge of a bilayer patch or the cooperative action of several adjacent vesicles can also lead to rupture.²⁷ Maintaining the SAM in the ferrocenium state for a period of minutes allows these intermediate processes to go to completion towards the growth and coalescence of the supported bilayer.

The adsorption and rupture of lipid vesicles, including those of charge neutral zwitterionic phosphatidylcholines, is strongly influenced by electrostatic interactions.^{27, 32, 86-88} Our findings with the negatively-charged DMPS and electrolyte anions of different ion pairing abilities (**Figures 3. 1** and **3. 2**) as well as the observation in ESPR that the onset of phospholipid adsorption coincides with the generation of a Faradaic current (**Figures 3. 1** and **3. 2** and **Figure 3. S11** and **3. S14**, Supporting Information) point to vesicle deposition being induced by the formation of interfacial ion pairs between the carboxylate or phosphate of the phospholipid headgroup and cationic surface-tethered ferroceniums (**Figure 3. 7A**). Surface force measurements indicate that most of the positive charge of the ferrocenium-terminated SAM is compensated by ion pairing with counteranions from solution.^{51, 89} For the anionic phospholipids investigated herein, the ion-pairing interactions between the charged headgroups and ferrocenium surface are expected to yield a charge neutral interface region (i.e., zone of interaction of the vesicle with surface) such that the supporting electrolyte anions (F^- versus $H_2PO_4^-$ and HPO_4^{2-}) have no effect on the SLB formation process, provided that these are not good ion-pairing agents. Just as the attractive Coulomb interactions between oppositely charged lipids and surfaces are proposed to induce enough of a surface tension on the adsorbed vesicle to induce its rupture and bilayer formation⁸⁷, ion pair formation between the anionic phospholipid heads and positively-charged ferroceniums could induce sufficient stress or deformation of the adsorbed vesicles to cause them to rupture and form a bilayer.⁸⁷ The electrochemical transformation of ferrocene to ferrocenium increases the hydrophilicity of the $FcC_{12}SAu$ SAM surface.⁹⁰ This change in wettability may also contribute to vesicle fusion.

In the case of the zwitterionic phosphatidylcholines, both the surface charge density and size of the counterion influence the rupture of the adsorbed vesicles.⁸⁷ The electrochemical oxidation of all the surface-available ferrocenes in the FcC₁₂SAu SAM generates the critical surface charge density ($4.6 (\pm 0.3) \times 10^{-10} \text{ mol cm}^{-2}$)⁵⁵ required for the decomposition of zwitterionic phosphatidylcholines into SLBs⁸⁷. This charge density is probably related to the observation that a critical vesicular surface coverage is needed to trigger the rupture of the adsorbed SUVs.²⁷ Ion pairing of the phosphates with the ferroceniums leaves a positive charge (choline groups) at the vesicle–SAM surface interaction region that must be compensated by counteranions (**Figure 3. 7A**). Cha et al. found that the size of the counteranion affects the vesicle–surface interaction and rupture of the adsorbed phosphatidylcholine vesicles on positively-charged NH₃⁺-terminated SAM surfaces.⁸⁷ Vesicle fusion to form SLBs occurred in the presence of small atomic anions (Cl⁻) but not when large molecular anions (H₂PO₄⁻ and HPO₄²⁻) were in the solution phase. They associated the larger size of the molecular anions with a higher entropic repulsion that weakens the phospholipid–surface interaction, thereby reducing the stress on the vesicle. Consistent with these results, the granular morphology of the DPPC bilayer formed in phosphate buffer (**Figure 3. 6**) suggests sluggish vesicle rupture, while the small F⁻ ion leads to a smoother bilayer of higher surface coverage (**Figure 3. 5**).

3.6 Conclusions

We demonstrated the use of a surface-confined redox-induced ion-pairing reaction as a successful approach to trigger the formation of single bilayers from both anionic and zwitterionic phospholipids onto SAM-modified gold surfaces within minutes. The electrochemically-triggered vesicle fusion process must be carried out in an electrolyte that does not contain good ion-pairing agents such as ClO₄⁻. SLBs of both gel- and fluid-phase forming phospholipids could be prepared at room temperature. While continuous bilayers of the anionic phospholipids form in NaF and phosphate buffer (H₂PO₄⁻ and HPO₄²⁻), the larger H₂PO₄⁻ and HPO₄²⁻ ions appear to interrupt the decomposition of adsorbed vesicles of the charge neutral phosphatidylcholine to SLB due to entropic repulsion. The ability to rapidly form SLBs with different lipid types by redox-induced vesicle fusion onto gold surfaces opens the possibility to prepare mixed lipid bilayers that mimic the composition of cell membranes for SPR and electrochemical sensing. Future work will focus on the determination of the lipid mobility³¹, resistivity⁹¹, and phase transition properties^{92, 93} of the as-formed SLBs.

3.7 Acknowledgements

This research was supported by the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada through Discovery grant no. RGPIN-2019- 04883 (A.B.) and a Postgraduate Graduate Scholarship – Doctoral (O.H.).

3.8 Supporting Information

3.8.1 Materials and Methods

Chemicals. 1,2-dimyristoyl-sn-glycero-3-phospho-L-serine (DMPS), 1-palmitoyl-2-oleoyl-sn-glycero-3-phospho-L-serine (POPS), 1,2-dilauroyl-sn-glycero-3-phosphate (DLPA), 1-palmitoyl-2-oleoyl-sn-glycero-3-phospho-(1'-rac-glycerol) (POPG), 1,2-dioleoyl-sn-glycero-3-phospho-choline (DOPC), and 1,2-dipalmitoyl-sn-glycero-3-phosphocholine (DPPC) were purchased as powders (purity >99%) from Avanti Polar Lipids and stored at -20 °C. Sodium fluoride (NaF) (99% purity), sodium perchlorate (NaClO₄) (>99% purity), potassium dihydrogen phosphate (KH₂PO₄, extra-pure), dipotassium hydrogen phosphate (K₂HPO₄, extra pure), and ferrocenemethanol (FcMeOH) (purity >97%) were from Sigma-Aldrich. All electrolyte solutions were prepared using Milli-Q water with a resistivity of 18.2 MΩ cm and total organic content of ≤ 5 ppb.

The synthesis and purification of the 12-ferrocenyl-1-dodecanethiol (FcC₁₂SH) is described in ref ⁶⁴. The FcC₁₂SH powder was stored at -20 °C in a sealed vial to prevent the formation of disulfide.

Preparation of the FcC₁₂SAu SAMs. Glass slides (1 × 2 cm and 1 mm thickness, Fisherbrand™ Premium Plain Glass Microscope Slides, Fisher Scientific) were cleaned thrice by immersion in piranha solution (3:1 v/v concentrated H₂SO₄/30% H₂O₂) for 10 min at room temperature. The glass slides were then rinsed copiously with deionized water, sonicated thrice in deionized water to completely remove traces of sulfuric acid, sonicated once in absolute ethanol, and dried under a stream of nitrogen gas.

Polycrystalline gold thin films supported on glass substrates (Figure 3.S1A) were used for the electrochemical surface plasmon resonance (ESPR) measurements. The clean glass slides were coated by resistive thermal evaporation with 2 nm of titanium (99.99%) at a rate of 0.01 nm s⁻¹, followed by 50 nm of gold (99.99%) deposited at 0.1 nm s⁻¹. The pressures in the deposition chamber

at the start and end of the metal evaporations were $\sim 1 \times 10^{-7}$ Torr and $\sim 2 \times 10^{-6}$ Torr, respectively, and the temperature increased to 160 °C due to radiant heating from the evaporation sources. The vacuum was broken with nitrogen once the temperature inside the evaporation chamber dropped below 30 °C. The metal thickness and deposition rate were monitored using a calibrated quartz crystal microbalance.

Template-stripped gold films⁹⁴ (**Figure 3. S1B**) were employed as an ultraflat supports for AFM analyses of the supported phospholipid bilayers. Prime-grade polished silicon wafers (particles of <10 at $0.3 \mu\text{m}$, thickness of $500\text{--}550 \mu\text{m}$, WaferNet Inc., San, Jose, CA) were sonicated for 10 minutes in absolute ethanol, dried under a stream of nitrogen gas, and heated in the thermal evaporator chamber at 200 °C for 30 min under a vacuum of $\sim 1 \times 10^{-7}$ Torr. The wafer was then coated with 75 nm of gold while maintaining a substrate temperature of 200–220 °C. The heating was removed before the evaporation of 5 nm of titanium (temperature of substrates at the end of the evaporation was 130–140 °C). The vacuum was broken with nitrogen once the temperature inside the evaporation chamber dropped below 30 °C. A drop ($\sim 50 \mu\text{L}$) of an optical adhesive (NOA, Norland Products Inc., NJ, USA) is used to glue clean glass pieces (size of $1 \times 2 \text{ cm}$) to the metal layer and then cured under UV light (100 W, B-100, Ted Pella Inc, Upland, California) for about 30 s. The glass pieces were stripped off the silicon wafer template just prior use.

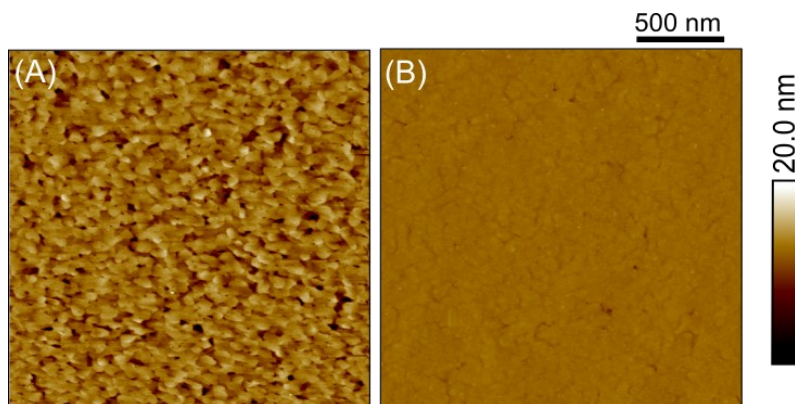


Figure 3. S1. $2 \mu\text{m} \times 2 \mu\text{m}$ AFM height images in ultrapure water of $\text{FcC}_{12}\text{SAu}$ SAM on (A) thermally-evaporated gold used for ESPR and (B) template-stripped gold employed for AFM imaging of SLBs. The root-mean-square roughness is (A) $1.9 \pm 0.3 \text{ nm}$ for areas of $2 \times 2 \mu\text{m}^2$ and $0.6 \pm 0.1 \text{ nm}$ inside gold grains, and (B) $0.3 \pm 0.1 \text{ nm}$ over areas of $2 \times 2 \mu\text{m}^2$.

Immediately after the preparation, the gold-coated glass substrates were immersed in a 0.2 mM FcC₁₂SH ethanolic solutions in sealed glass vials for a period of 8–12 h at room temperature in the dark. Prior to use, the FcC₁₂SAu SAM-modified gold surface was rinsed copiously with absolute ethanol, followed by ultrapure water, and dried with nitrogen. If water wet the surface of the FcC₁₂SAu SAM, instead of beading, the SAM was discarded.

Preparation of Small Unilamellar Vesicles (SUVs). Phospholipid was first dissolved in spectrograde chloroform at a concentration of 0.6 mg/mL, corresponding to a phospholipid concentration of 0.76 to 1.1 mM. The solution was subsequently transferred to a round-bottom flask and the solvent was removed using a rotary evaporator, leaving a thin layer of dried film of phospholipid in the bottom of the flask. Traces of organic solvent were further removed by vacuum pumping overnight. The dried phospholipid was dispersed and hydrated with 50 mM NaF_(aq), 50 mM NaClO_{4(aq)} or 50 mM KH₂PO_{4(aq)}/50 mM K₂HPO_{4(aq)} to a final concentration of 0.6 mg/mL. The resulting lipid suspension was then vortexed and sonicated (Branson–1510 sonicator bath) until a clear solution was obtained, and finally extruded eleven times through two polycarbonate membranes (Whatman Nucleopore, Sigma-Aldrich) of 50 nm pore size to obtain a narrow size distribution. The diameter of the vesicles was determined by dynamic light scattering (Malvern Zetasizer ZS) to be 50 ± 5 nm with a polydispersity index (PDI) < 0.2. The preparation of SUVs was carried out at ambient temperature (20–21 °C) for POPS, POPG, and DOPC and at 38 °C, 35 °C, and 45 °C for DMPS, DLPA, and DPPC, respectively. Vesicle membranes of DMPS, DLPA, and DPPC are in the solid-like gel state (L_{β}) at ambient temperature, while POPS, POPG and DOPC are in the fluid state (L_{α}).⁶² The SUVs prepared at higher temperature were allowed to cool down to ambient temperature before use. Then, the SUV suspensions were either used immediately or stored at 4 °C for a maximum of three days. The cold stored suspensions were allowed to warm up to ambient temperature before use.

Electrochemically-Triggered Supported Lipid Bilayer (SLB) Formation. The aqueous suspension of SUVs is stirred for 1 min before its introduction into the electrochemical cell. Cyclic voltammograms and potential step-hold experiments were performed in a custom-built, one-compartment three-electrode Teflon cell using an SP-150 potentiostat (BioLogic Science Instruments). The FcC₁₂SAu-modified substrate served as the working electrode. A coiled platinum wire (99.99%, Kitco Metals, Inc.) and Ag/AgCl electrode (3 M NaCl, electrode inserted in a double

junction chamber, BASi) were used as the counter and reference electrodes. All electrochemical experiments were carried out at 25 °C. Cyclic voltammograms were performed at a potential scan rate of 10 mVs⁻¹. Potential step-hold experiments were performed by applying a potential of 0.64 V vs. Ag/AgCl (i.e., potential at which all surface-tethered ferrocenes are oxidized) and holding it for a period of 2–5 min. Finally, the aqueous SUV suspension was exchanged three times with ultrapure water without exposing the surface to air.

Atomic Force Microscopy (AFM). AFM imaging was conducted in ultrapure water at ambient temperature using a Dimension Icon (Bruker Nano, Santa Barbara, CA) and performed in PeakForce Tapping QNM mode (PF-QNM) (NanoScope version 9.1 software). PF-QNM is an imaging mode that produces height/topography images with real-time high-resolution quantitative nanomechanical property mapping. An AFM probe with a nominal tip radius of 20 nm, a spring constant of 0.7 N/m and a resonance frequency of 150 kHz was used (“ScanAsyst-Fluid” probes, Bruker AFM Probes, CA). The real spring constant of the cantilevers was calibrated using the thermal noise method⁹⁵⁻⁹⁷ before each experiment (calibration tool implemented in NanoScope software version 9.1). Height and adhesion images were acquired in ultrapure water at a scan rate of 0.977 Hz with 512 points per line resolution.

Images were processed and analyzed using NanoScope Analysis version 1.80 software (Bruker Nano). Surface coverages were measured over areas of $2 \times 2 \mu\text{m}^2$ using the Bearing Analysis tool and the values presented in Table 3.1 of the main text are the mean and standard deviation for three independently prepared samples.

AFM-Based Force Spectroscopy. Force spectroscopy measurements employed gold-coated probes of nominal tip radius and spring constant of 30 nm and 0.06 N/m, respectively (NPG, Bruker AFM Probes). The probe was first calibrated in ultrapure water in order to convert the electrical signal of the photodiode to a force. The cantilever deflection data V_d (in Volts) was converted to force units (Newtons) using $F = kV_dS$, where S is the normal cantilever sensitivity in m/V and k is the cantilever spring constant. The normal cantilever sensitivity was determined also to express the deflection as the z-piezo displacement (in unit of length) instead of as an electrical signal (in Volts). The probe was pressed against a hard sample (freshly cleaved mica) and the normal deflection sensitivity is the inverse of the gradient of the linear region of the force-distance curve when the

cantilever is in hard contact. The cantilever spring constant k was then calculated using the thermal noise method.⁹⁵⁻⁹⁷

Force–distance curves were acquired at ambient temperature after imaging a $2 \times 2 \mu\text{m}^2$ area of the bilayer. During a force spectroscopy experiment, the AFM probe successively approaches, contacts, and retracts from the surface in a cyclic manner across a travel distance of about 400 nm to ensure that the probe is fully retracted from the sample surface between cycles. The approach and retract velocities were fixed at $0.26 \mu\text{m/s}$ and $0.8 \mu\text{m/s}$, respectively.

AFM-Based NanoShaving. Nanoshaving, an AFM-based lithography technique, is one of the most used techniques to characterize soft adsorbed layers. It is based on the removal of material by applying a high load using the AFM tip during a scan, giving thus the access to study differential height measurements.⁹⁸ AFM probes with a nominal tip radius of 20 nm and a spring constant of 0.7 N/m were used for nanoshaving (“ScanAsyst-Fluid” probes, Bruker AFM Probes, CA).

In the case of POPS SLB, the surface was shaved by applying a high load (60–100 nN) while scanning an area of $0.5 \times 0.5 \mu\text{m}^2$ (**Figure 3. S10A**).⁷⁷ The lateral movement of the tip scanned at high applied force locally displaces the adsorbed molecules from the surface exposing the underlying surface. The shaved region and surrounding area were subsequently imaged under a low applied load (0.2–1 nN).

In the case of the DMPS SLB, the surface was shaved in a different way (**Figure 3. S10B**). The approach employed is similar to that of force spectroscopy. The probe approaches and retracts from the surface in a cyclic manner at slow velocity ($0.26 \mu\text{m/s}$) without penetrating the lipid bilayer (due to higher tip stiffness versus the tip used for force spectroscopy measurements). Every time the probe touches the gel-phase lipid adlayer, it perturbs the bilayer, causing the densely packed phospholipids to be pushed and the underlying surface to be exposed. This hammering process was realized by moving the AFM probe offset through a small area ($1 \times 1 \mu\text{m}^2$). The resulting shaved region and surrounding area were subsequently imaged under a low applied load (0.2–1 nN).

Line section analyses across the shaved and SLB-covered areas yield the SLB film thicknesses. Values reported in **Table 3. 1** of the main text are the mean and standard deviation of line sections across 3 different points of the shaved and SLB-covered areas.

Electrochemical Surface Plasmon Resonance (ESPR). ESPR were carried out in the Kretschmann-type ATR configuration with a computer-controlled SR7000 single-channel instrument (Reichart Inc.) The SR7000 instrument uses stationary optics, a sapphire prism, a divergent fan-shaped beam from a LED source of finite spectral bandwidth ($\lambda = 780 \pm 10$ nm), and a 3696-pixel linear CCD array to simultaneously measure the reflected light intensity over a range of incident angles ($\Theta = 48^\circ$ to 66°). Reflected light intensity versus pixel number curves (referred to as “array scan”) are generated by read-out of the detector. A Peltier device allows the temperature at the FeC₁₂SAu-modified substrate/solution interface to be controlled to within ± 0.015 °C of the set temperature between 10 °C and 90 °C.

A custom-built electrochemical cell fitted with reference (Ag/AgCl, 3 M NaCl) and counter (Pt wire) electrodes was mounted onto the SAM-modified gold-coated surface of the glass slide (working electrode) in optical contact with the prism (Cargille immersion oil type A liquid, $n_D^{23} = 1.5150$). All experiments were carried out under stationary solution conditions at 25.0 °C. The pixel position of minimum reflected light intensity was recorded during cyclic voltammetric scans performed at 10 mV s⁻¹ to generate plots of the resonance angle change and current density as a function of the applied potential. The pixel position of minimum reflected light intensity recorded during potential step-hold experiments yielded plots of the resonance angle change as a function of time.

The shift in the pixel position of minimum reflected light intensity was converted to a resonance angle change ($\Delta\Theta_{\min}$) using the pixel-to-angle relation of 1 pixel = 0.00506° determined by calibration of the SR7000 instrument using binary mixtures of ethylene glycol and water of different refractive index.⁹⁹

The effective thickness (d) of adsorbed phospholipid was determined as follows from the measured $\Delta\Theta_{\min}$ value:

$$d = \Delta\Theta_{\min} \left(\frac{\partial\Theta_{\min}}{\partial d} \right)^{-1} \quad (3.1)$$

where $\partial\Theta_{\min}/\partial d$ is the variation of Θ_{\min} with the adsorbed layer thickness calculated for a layer consisting of 100% phospholipid using the Fresnel multilayer model (Winspall version 3.02 software, MPI-P) given in **Table 3. S1**. Each phospholipid monolayer was assumed to be homogenous and modeled as a Cauchy layer. The Cauchy dispersion equation describes the film

refractive index as a function of wavelength (λ) in the transparent spectral range: $\sqrt{\epsilon}(\lambda/\mu\text{m}) = A + B/\lambda^2 + C/\lambda^4$, where A, B and C are the Cauchy parameters. The phospholipid monolayer data was fitted using values for the Cauchy parameters of $A = 1.44$, $B = 0.0045$, and $C = 0$ and, at 780 nm, $\epsilon = 2.095$. The optical properties of the layer materials are expressed in terms of the complex dielectric constants $\epsilon'(\lambda)$ and $\epsilon''(\lambda)$. ϵ' and ϵ'' are related to n and k , the real and imaginary components of the complex refractive index, according to $\epsilon'(\lambda) = n(\lambda)^2 - k(\lambda)^2$ and $\epsilon''(\lambda) = 2n(\lambda)k(\lambda)$. For materials with insignificant absorbance, such as the prism glass, ferrocenylalkanethiolate monolayer, lipid adsorbate layers, and aqueous solution, $k(\lambda) = 0$ so that $\epsilon'(\lambda) = n(\lambda)^2$ and $\epsilon''(\lambda) = 0$.

Table 3. S1. Fresnel Layer Model and Optical Parameters Used to calculate the Change in Resonance Angle with Adsorbed Lipid SUVs

Layer	d / nm	ϵ'	ϵ''
Sapphire prism	∞^a	3.1002 ^b	0
Titanium	2.0	-3.274 ^c	18.308 ^c
Gold	50.0	-23.886 ^c	1.741 ^c
S(CH ₂) ₁₂ Fc SAM	2.02 ^d	2.1433 ^e	0
Phospholipid adsorbate	Varied from 0 nm to 6 nm	2.095	0
0.050 M NaF _(aq)	∞^a	1.7638 ^f	0

^aPrism and liquids are both $\gg 1 \mu\text{m}$ and thus considered infinitely thick. ^bValue at 780 nm and 24 °C from ref 100. ^cValue at 780 nm from ref 101. ^dThickness determined by spectroscopic ellipsometry in air. ^eValue determined from the SAM capacitance using the parallel capacitor model.^{102, 103} ^fSellmeier equation at 25 °C.¹⁰⁴

Contact Angle Measurements. Static contact angles were measured using a homemade setup consisting of a micrometer syringe (Oakton Gilmont) to manually dispense 2.0 μL droplets of ultrapure water onto the FcC₁₂SAu SAM (3–4 droplets per surface) and a USB digital microscope to capture images of the droplets on the surface. The contact angle formed between the SAM and water droplet was determined using the contact angle plugin of ImageJ (NIH).

3.8.2 Additional Data

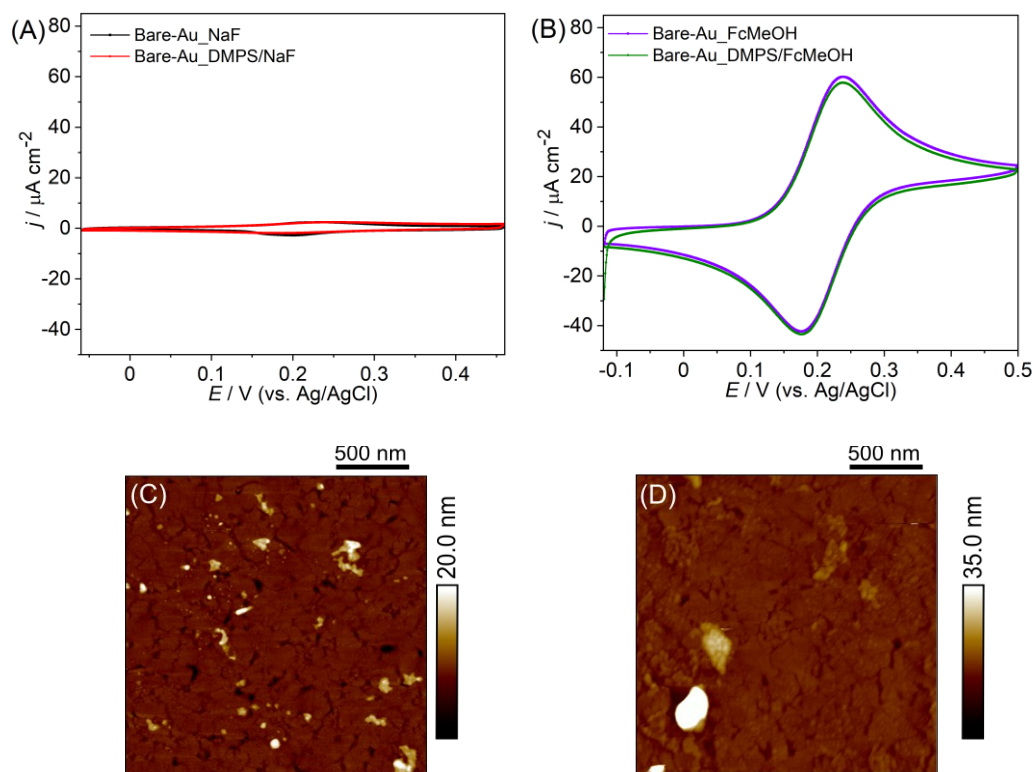


Figure 3. S2. Current density (j) versus applied potential (E) for thermally-evaporated, bare gold thin film electrodes at 25 °C in (A) 50 mM NaF_(aq) versus SUVs of DMPS in 50 mM NaF_(aq) and (B) 1 mM FcMeOH versus SUVs of DMPS and 1.0 mM FcMeOH in 50 mM NaF_(aq). Potential scan rate = 10 mV s⁻¹. AFM height images in ultrapure water and ambient temperature of template-stripped bare gold thin films after one oxidoreduction cycle at 25 °C in (C) SUVs of DMPS in 50 mM NaF_(aq) and (D) SUVs of DMPS and 1.0 mM FcMeOH in 50 mM NaF_(aq).

The cyclic voltammogram of bare gold in a 50 mM NaF_(aq) suspension of SUVs of DMPS is similar to that in 50 mM NaF_(aq) (**Figure 3. S2A**). There is no sign of phospholipid oxidation in the potential window used to oxidize the ferrocenylated SAM. **Figure 3. S2B** presents cyclic voltammograms of bare gold in the presence of a 50 mM NaF_(aq) solution of 1.0 mM ferrocenemethanol (FcMeOH) with and without SUVs of DMPS. A single set of redox peaks is

observed at $E^{0'}$ of 208 ± 3 mV with a peak separation of 61 mV (cf. theoretical value of 59 mV for a one-electron reversible reaction).¹⁰⁵ The presence of phospholipid does not alter the reversible character of the oxidoreduction of the FcMeOH in solution.

These two sets of control experiments indicate that the quasi-reversibility of the oxidoreduction of the ferrocenylated SAM in the presence of SUVs of dialkylphosphatidylserine (**Figure 3. 1**) is not due to an EC (electrochemical–chemical)-type reaction in which the electrogenerated SAM-bound ferrocenium chemically oxidizes phospholipid in solution. An augmentation of the anodic peak current and reduction of the cathodic peak current of the FcMeOH on the reverse potential sweep are expected for an EC-type mechanism.¹⁰⁶ Additionally, AFM images (Figure 3.S2C,D) show little adsorption of phospholipid after one oxidoreduction cycle of bare gold in 50 mM NaF_(aq) suspension of SUVs of DMPS in the presence or absence of 1.0 mM FcMeOH.

Taken all together, these findings support the conclusion that the ion-pairing of charged phospholipid to the surface-immobilized ferrocenium is the driving process behind the formation of the single SLBs reported in this work. We propose that the quasi-reversible electrochemical behaviour of the FcC₁₂SAu SAM is due to the formation of insulating phases of adsorbed phospholipid.^{61, 107}

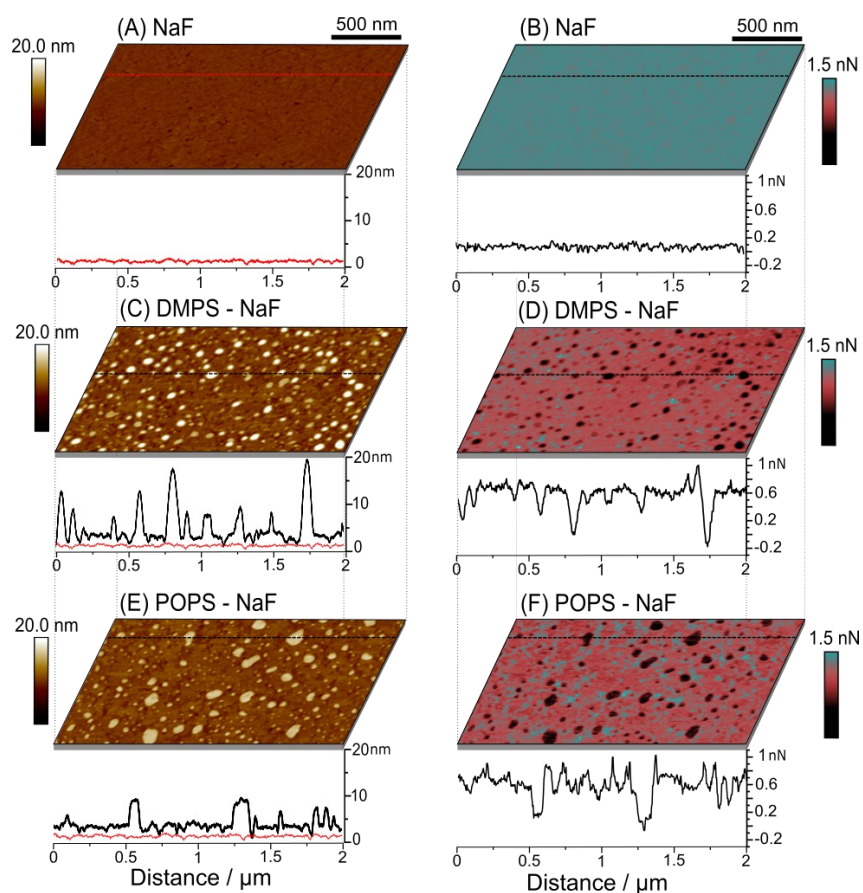


Figure 3. S3. AFM height images (left) and corresponding adhesion maps (right) at ambient temperature in ultrapure water with line section profiles after 1 cyclic voltammogram in a solution of 50 mM NaF_(aq) without SUVs (A and B) and containing SUVs of DMPS (C and D) and POPS (E and F) at 25 °C. The height profile of the FcC₁₂SAu SAM is indicated in red in C and E

Figure 3. S3 shows AFM height images and adhesion maps, acquired at ambient temperature, after 1 oxidoreduction cycle of the FcC₁₂SAu SAM in aqueous suspensions of SUVs of DMPS and POPS at 25 °C. The topography line section of DMPS reveals three distinct height levels (from the SAM-modified gold surface estimated using the depth of the hole defects) at 2.5 ± 0.3 nm, 7.6 ± 0.6 nm, and 18 ± 2 nm (surface coverage of $\sim 89\%$, $\sim 7.5\%$, and $\sim 2\%$, respectively). A comparison of the thicknesses determined by AFM with that measured for hydrated bilayers of DMPS by the surface force apparatus (i.e., 6.2 ± 0.2 nm)⁷⁸ suggests that the majority of the SAM surface is covered by a monolayer of lipid and that the thicker patches correspond to a bilayer and multilayer or partially

fused vesicles, respectively. The POPS-covered surface presents two distinct height levels at 2.7 ± 0.4 nm ($\sim 10\%$) and 8.3 ± 0.7 nm ($\sim 90\%$). Corresponding maps of the adhesion force between the silicon nitride AFM tip and lipid-covered surfaces are consistent with the aforementioned thickness assignments. Silicon nitride (untreated Si_3N_4) probes are known to be slightly negatively charged due to the thin native oxide layer with a surface charge of -0.04 C/m² at pH 7.0.⁷⁵ Therefore, the adhesion maps exhibit a difference in contrast that highlights differences in the adhesion force between the silicon nitride AFM tip, the phospholipid adsorbate, and the underlying gold surface. A higher adhesion (attractive force) is observed over the deeper areas attributed to the bare SAM surface and monolayer of POPS or DMPS presenting alkyl chains at the surface than over the multilayer lipid structures exposing negatively charged head groups (repulsive force).

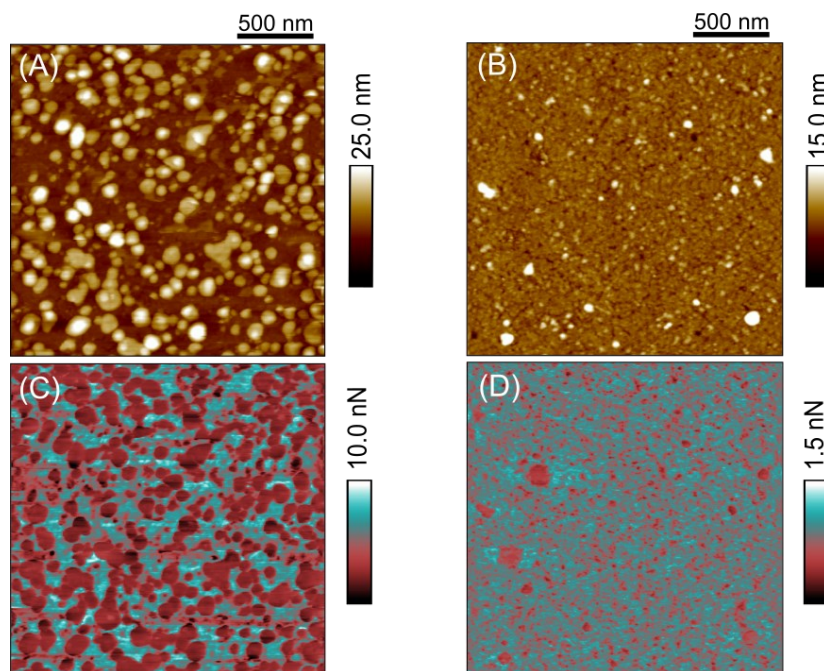


Figure 3. S4. AFM images of the height (top) and adhesion force (bottom) at ambient temperature in ultrapure water of $\text{FcC}_{12}\text{SAu}$ SAM surfaces after 6 oxidoreduction cycles in a solution of 50 mM $\text{NaF}_{(\text{aq})}$ containing SUVs of (A, C) DMPS and (B, D) POPS liposomes at 25 °C. A smooth continuous SLB could not be obtained with multiple oxidoreduction cycles.

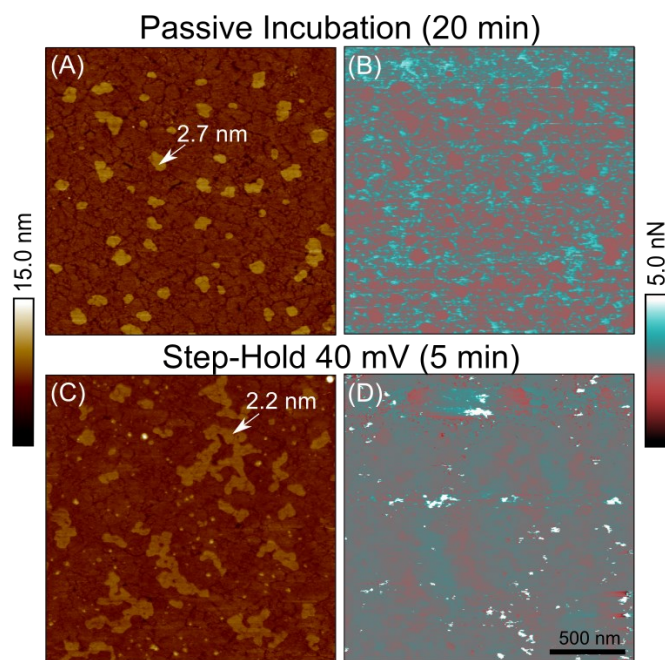


Figure 3. S5. AFM images of the height (left) and adhesion force (right) at ambient temperature in ultrapure water following (A,B) passive incubation (open circuit) of the $\text{FcC}_{12}\text{SAu}$ SAM in a suspension of SUVs of DMPS in 50 mM $\text{NaF}_{(\text{aq})}$ for 20 min and (C,D) applying a potential of 0.04V (vs. Ag/AgCl) for 5 min (bottom) at 25 °C.

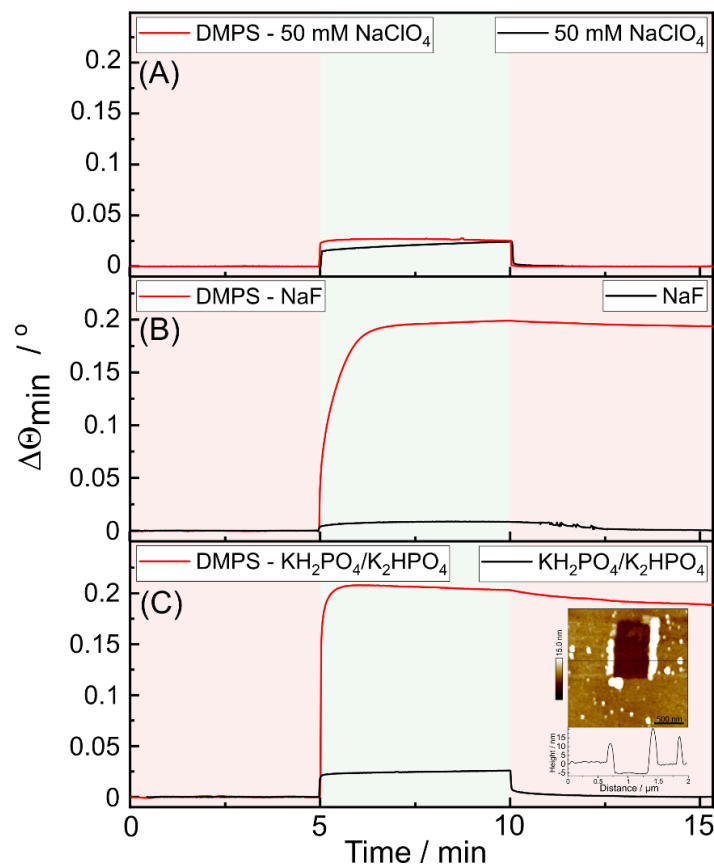


Figure 3. S6. $\Delta\Theta_{\min}$ vs. time for the interaction of FcC₁₂SAu SAMs at 25°C with solutions of (A) 50 mM NaClO₄, (B) 50 mM NaF_(aq), and (C) 50 mM KH₂PO₄/ 50 mM K₂HPO₄ with or without SUVs of DMPS. Open circuit ($t = 0-5$ min), $E = 0.64$ V vs. Ag/AgCl ($t = 5-10$ min), and return to open circuit ($t = 10-15$ min). Inset in (C): AFM height image at ambient temperature in ultrapure water with line section profile of the nanoshaved SLB formed after a potential hold of 5 min.

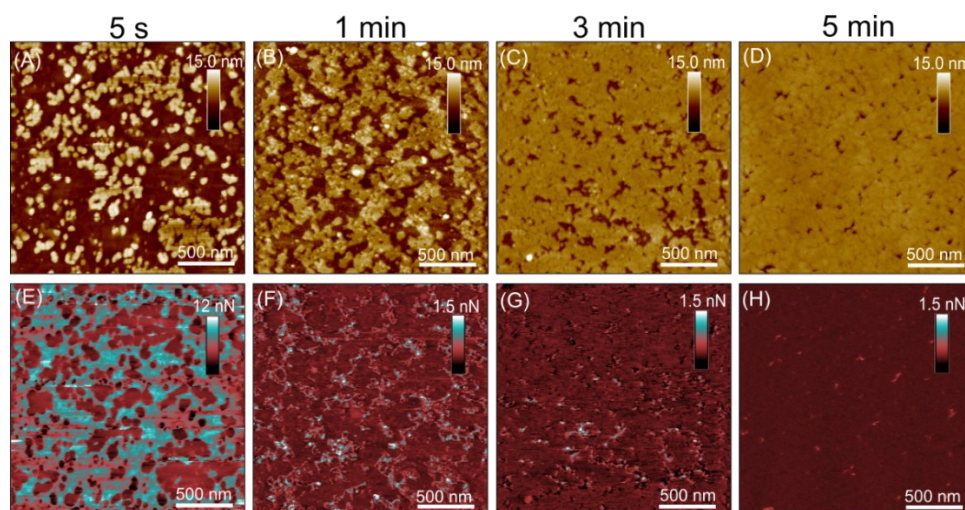


Figure 3. S7. AFM images of the height (top) and adhesion force (bottom) of a $\text{FcC}_{12}\text{SAu}$ SAM surface following hold times at 0.64 V (vs. Ag/AgCl) of (A,E) 5 s, (B, F) 1 min, (C,G) 3 min, and (D,H) 5 min in a suspension of SUVs of DMPS in 50 mM $\text{NaF}_{(\text{aq})}$ at 25 °C. This time series experiment yields an estimate of the time required to obtain an almost complete coverage of the SAM surface with phospholipid. All images were acquired in ultrapure water at ambient temperature.

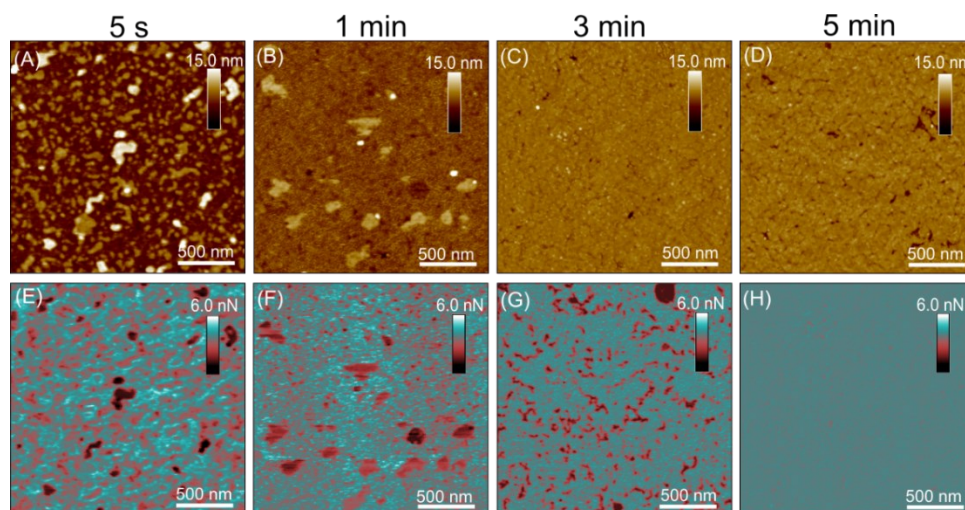


Figure 3. S8. AFM images of the height (top) and adhesion force (bottom) of a $\text{FcC}_{12}\text{SAu}$ SAM surface following hold times at 0.64 V (vs. Ag/AgCl) of (A,E) 5 s, (B, F) 1 min, (C,G) 3 min, and (D,H) 5 min in a suspension of SUVs of POPS in 50 mM $\text{NaF}_{(\text{aq})}$ at 25 °C.

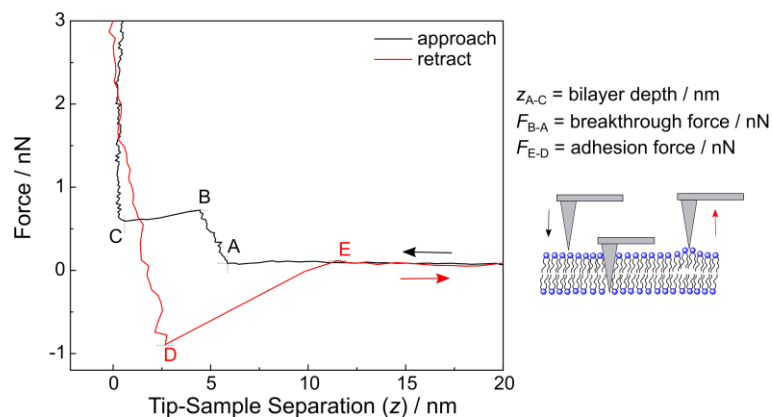


Figure 3. S9. Typical force–distance curve for the rupture of the SLB bilayer in ultrapure water.

The black curve is the approach segment. As the probe-sample distance becomes less than 10 nm, the probe first contacts the outer leaflet of the bilayer at point A. After elastic compression of the bilayer by the probe, the force–distance curve exhibits a jump in force (segment A–B) once a certain threshold force has been exceeded, signaling a rupture event involving the penetration of the probe tip through the film and rapid transition through the central hydrophobic portion of the bilayer (segment B–C). F_{B-A} is breakthrough force or maximum applied force that the bilayer can withstand before tip penetration. At point C, the tip is in contact with the inner leaflet of the bilayer. After reaching a certain maximum in the applied force, the probe exerts a second compression. A rapid increase in the force is observed indicating that the probe tip is in direct contact with the FcC₁₂SAu SAM surface. The distance z between points A and C is the ‘jump-in’ distance (z_{A-C}) corresponding to the thickness of the supported bilayer.

The red curve is the retract segment. The probe breaks the adhesive interactions with the phospholipid lipid bilayer at point D and completely leaves the surface at point E, resulting in a negative decrease in the cantilever force that corresponds to the adhesion force (F_{E-D}) between the probe tip and the phospholipid adlayer.¹⁰⁸

In case of anionic phospholipid-based SLBs (phosphatidylserine and phosphatidylglycerol), the first and last discontinuities are not always well-defined due to electrostatic repulsion between the gold-coated AFM tip and the negatively charged phospholipids leading to curved regions.^{70, 109} For each SLB type, a minimum of 100 force–distance curves were acquired at different points in the bilayer and at least two different samples were used to ensure the obtain of statistically relevant measurements.^{70, 110}

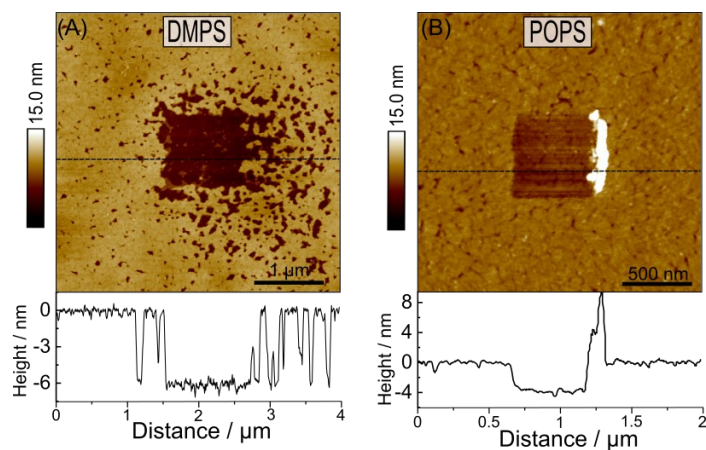


Figure 3. S10. AFM height images acquired at ambient temperature in ultrapure water with line section profiles of nanoshaved SLBs formed in 50 mM NaF_(aq) by applying a potential of 0.64V for 5 min at 25 °C. (A) DMPS and (B) POPS.

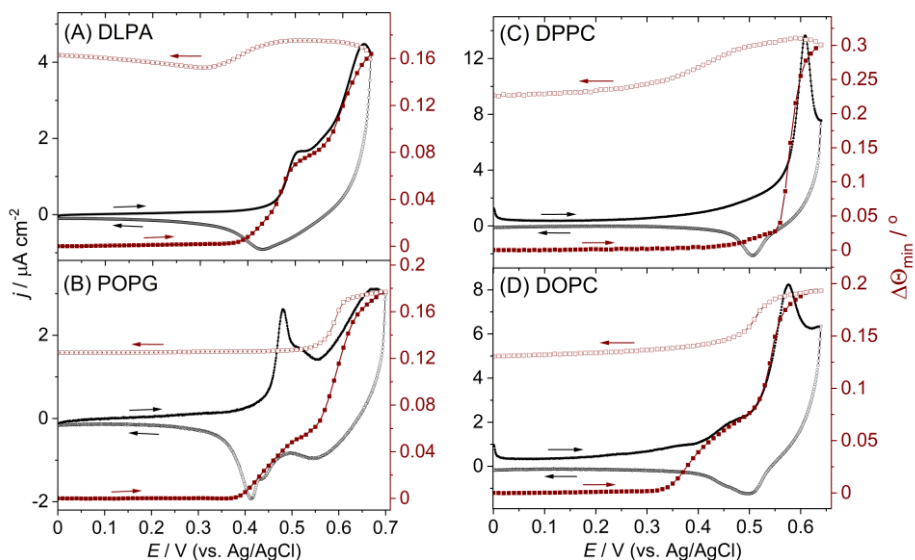


Figure 3. S11. Current density j and resonance angle change $\Delta\Theta_{\min}$ vs. applied potential E recorded for FcC₁₂SAu SAMs in 50 mM NaF_(aq) suspensions of SUVs of (A) DLPA, (B) POPG, (C) DPPC, and (D) DOPC at 25 °C. Potential scan rate = 10 mV s⁻¹.

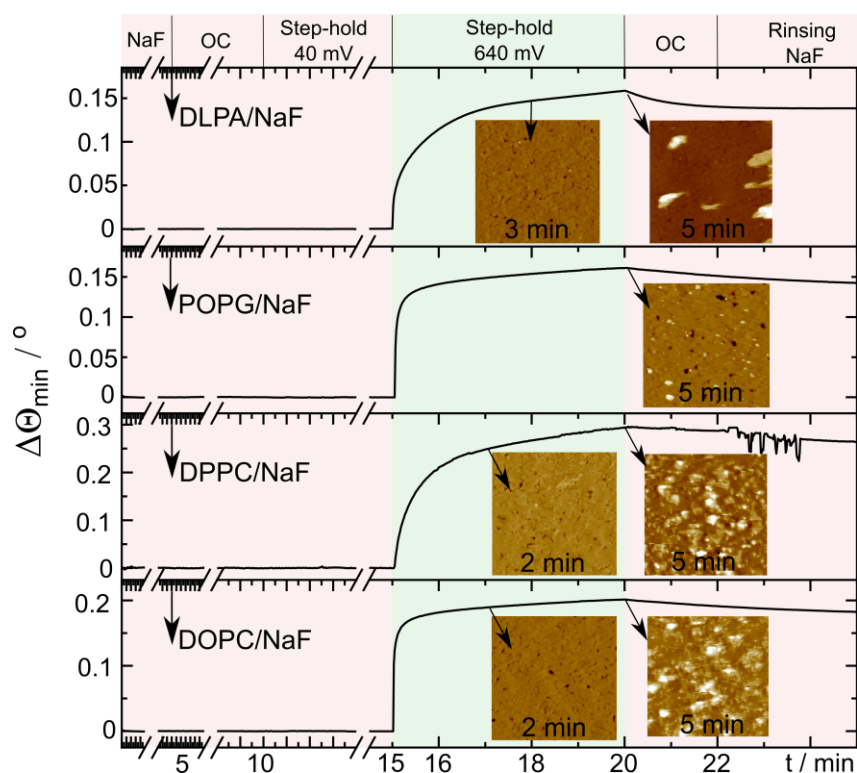


Figure 3. S12. $\Delta\Theta_{\min}$ vs. time t measured at 25 °C upon exposing $\text{FcC}_{12}\text{SAu}$ SAMs to SUVs of DLPA, POPG, DPPC, and DOPC suspended in 50 mM $\text{NaF}_{(\text{aq})}$. The stability of Θ_{\min} in 50 mM $\text{NaF}_{(\text{aq})}$ was first monitored for 5 min before injection of the SUV suspension (indicated by arrow). Θ_{\min} was monitored for 5 min at open circuit (OC) before applying a potential of 0.04 V (vs. Ag/AgCl) at $t = 10$ min and 0.64 V (vs. Ag/AgCl) at $t = 15$ min. The potential was removed at $t = 20$ min and the SUV suspension was exchanged for 50 mM $\text{NaF}_{(\text{aq})}$. AFM height images of the SAM surface are shown following different hold times at 0.64 V and rinsing with ultrapure water.

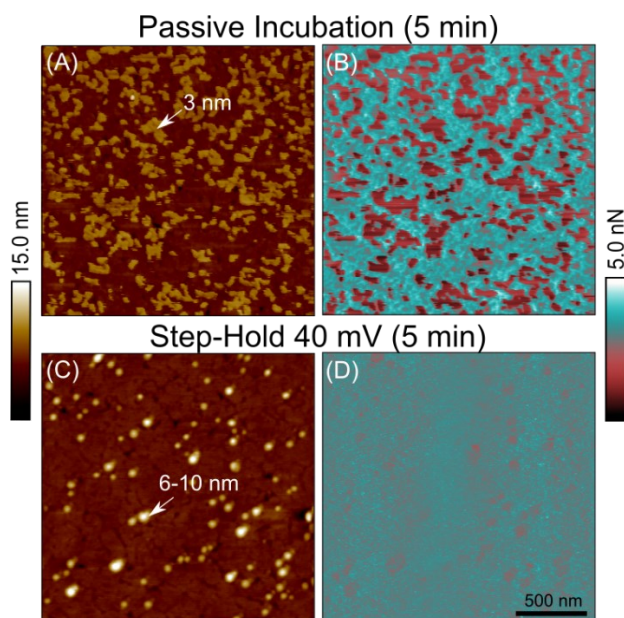


Figure 3. S13. AFM images of the height (left) and adhesion force (right) at ambient temperature in ultrapure water following the passive incubation (open circuit) of the $\text{FcC}_{12}\text{SAu}$ SAM in a suspension of SUVs of DPPC in 50 mM $\text{NaF}_{(\text{aq})}$ for 5 min (top) and after applying a potential of 0.04V (vs. Ag/AgCl) for 5 min (bottom) at 25 °C.

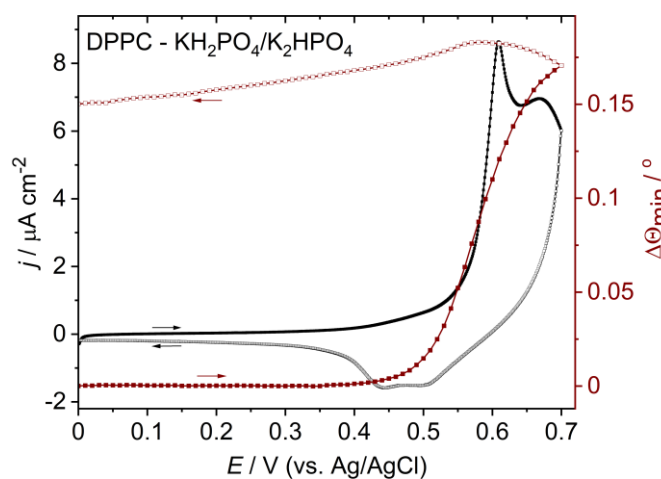


Figure 3. S14. Current density j and resonance angle change $\Delta\Theta_{\text{min}}$ vs. applied potential E recorded for $\text{FcC}_{12}\text{SAu}$ SAMs in a suspension of SUVs of DPPC in 50 mM $\text{KH}_2\text{PO}_4/50$ mM K_2HPO_4 at 25 °C. Potential scan rate = 10 mV s^{-1} .

3.9 References

1. Cooper, G. M., *The Cell: A Molecular Approach*. In *The Cell: A Molecular Approach*, 8th ed.; Sinauer, A. D., Ed. Sinauer Associates, Oxford University Press: New York, **2019**; pp 71-77.
2. Andersson, J.; Bilotto, P.; Mears, L. L. E.; Fossati, S.; Ramach, U.; Köper, I.; Valtiner, M.; Knoll, W., Solid-supported lipid bilayers – A versatile tool for the structural and functional characterization of membrane proteins. *Methods* **2020**, *180*, 56-68.
3. Zhu, X.; DeGraaf, J.; Winnik, F. M.; Leckband, D., pH-Dependent Mucoadhesion of a Poly(N-isopropylacrylamide) Copolymer Reveals Design Rules for Drug Delivery. *Langmuir* **2004**, *20* (24), 10648-10656.
4. Laflamme, E.; Badia, A.; Lafleur, M.; Schwartz, J.-L.; Laprade, R., Atomic Force Microscopy Imaging of Bacillus Thuringiensis Cry1 Toxins Interacting with Insect Midgut Apical Membranes. *J Membr Biol* **2008**, *222* (3), 127-139.
5. Nussio, M. R.; Sykes, M. J.; Miners, J. O.; Shapter, J. G., Kinetics Membrane Disruption Due to Drug Interactions of Chlorpromazine Hydrochloride. *Langmuir* **2009**, *25* (2), 1086-1090.
6. Pieta, P.; Majewska, M.; Su, Z.; Grossutti, M.; Wladyka, B.; Piejko, M.; Lipkowski, J.; Mak, P., Physicochemical Studies on Orientation and Conformation of a New Bacteriocin BacSp222 in a Planar Phospholipid Bilayer. *Langmuir* **2016**, *32* (22), 5653-5662.
7. Balhara, V.; Schmidt, R.; Gorr, S.-U.; DeWolf, C., Membrane Selectivity and Biophysical Studies of the Antimicrobial Peptide GL13K. *Biochim. Biophys. Acta Biomembr.* **2013**, *1828* (9), 2193-2203.
8. Redondo-Morata, L.; Lea Sanford, R.; Andersen, Olaf S.; Scheuring, S., Effect of Statins on the Nanomechanical Properties of Supported Lipid Bilayers. *Biophys. J.* **2016**, *111* (2), 363-372.
9. Azouz, M.; Cullin, C.; Lecomte, S.; Lafleur, M., Membrane Domain Modulation of A β 1–42 Oligomer Interactions with Supported Lipid Bilayers: An Atomic Force Microscopy Investigation. *Nanoscale* **2019**, *11* (43), 20857-20867.
10. Mrdenovic, D.; Majewska, M.; Pieta, I. S.; Bernatowicz, P.; Nowakowski, R.; Kutner, W.; Lipkowski, J.; Pieta, P., Size-Dependent Interaction of Amyloid β Oligomers with Brain Total Lipid Extract Bilayer-Fibrillation Versus Membrane Destruction. *Langmuir* **2019**, *35*, 11940-11949.
11. Su, H.; Liu, H.-Y.; Pappa, A.-M.; Hidalgo, T. C.; Cavassin, P.; Inal, S.; Owens, R. M.; Daniel, S., Facile Generation of Biomimetic-Supported Lipid Bilayers on Conducting Polymer Surfaces for Membrane Biosensing. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2019**, *11* (47), 43799-43810.
12. Park, Y.; Kang, B.; Ahn, C. H.; Cho, H. K.; Kwon, H.; Park, S.; Kwon, J.; Choi, M.; Lee, C.; Kim, K., Bionanoelectronic Platform with a Lipid Bilayer/CVD-Grown MoS₂ Hybrid. *Biosens. Bioelectron.* **2019**, *142*, 111512.
13. Jung, H.; Robison, A. D.; Cremer, P. S., Detecting Protein–Ligand Binding on Supported Bilayers by Local pH Modulation. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131* (3), 1006-1014.
14. Liu, Y.; Cheng, Q., Detection of Membrane-Binding Proteins by Surface Plasmon Resonance with an All-Aqueous Amplification Scheme. *Anal. Chem.* **2012**, *84* (7), 3179-3186.
15. Soler, M.; Li, X.; John-Herpin, A.; Schmidt, J.; Coukos, G.; Altug, H., Two-Dimensional Label-Free Affinity Analysis of Tumor-Specific CD8 T Cells with a Biomimetic Plasmonic Sensor. *ACS Sens.* **2018**, *3* (11), 2286-2295.
16. Liu, C.; Huang, D.; Yang, T.; Cremer, P. S., Simultaneous Detection of Multiple Proteins that Bind to the Identical Ligand in Supported Lipid Bilayers. *Anal. Chem.* **2015**, *87* (14), 7163-7170.

17. Neumann, J.; Hennig, M.; Wixforth, A.; Manus, S.; Rädler, J. O.; Schneider, M. F., Transport, Separation, and Accumulation of Proteins on Supported Lipid Bilayers. *Nano Lett.* **2010**, *10* (8), 2903-2908.
18. Seo, J.; Kim, S.; Park, H. H.; Choi, D. Y.; Nam, J.-M., Nano-Bio-Computing Lipid Nanotablet. *Sci. Adv.* **2019**, *5* (2), eaau2124.
19. Avakyan, N.; Conway, J. W.; Sleiman, H. F., Long-Range Ordering of Blunt-Ended DNA Tiles on Supported Lipid Bilayers. *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, *139* (34), 12027-12034.
20. Sekula, S.; Fuchs, J.; Weg-Remers, S.; Nagel, P.; Schuppler, S.; Fragala, J.; Theilacker, N.; Franzreb, M.; Wingren, C.; Ellmark, P.; Borrebaeck, C. A.; Mirkin, C. A.; Fuchs, H.; Lenhart, S., Multiplexed Lipid Dip-Pen Nanolithography on Subcellular Scales for the Templating of Functional Proteins and Cell Culture. *Small* **2008**, *4* (10), 1785-93.
21. Castellana, E. T.; Cremer, P. S., Solid Supported Lipid Bilayers: From Biophysical Studies to Sensor Design. *Surf. Sci. Rep.* **2006**, *61*, 429-444.
22. Kiessling, V.; Domanska, M. K.; Murray, D.; Wan, C.; Tamm, L. K., Supported Lipid Bilayers. In *Wiley Encyclopedia of Chemical Biology*, Begley, T. P., Ed. John Wiley & Sons, Inc.: Hoboken, NJ, 2008; Vol. 4, pp 411-422.
23. van Weerd, J.; Karperien, M.; Jonkheijm, P., Supported Lipid Bilayers for the Generation of Dynamic Cell–Material Interfaces. *Adv. Healthcare Mater.* **2015**, *4* (18), 2743-2779.
24. Sackmann, E., Supported Membranes: Scientific and Practical Applications. *Science* **1996**, *271* (5245), 43-48.
25. Brian, A. A.; McConnell, H. M., Allogeneic Stimulation of Cytotoxic T Cells by Supported Planar Membranes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1984**, *81* (19), 6159-6163.
26. Keller, C. A.; Glasmästar, K.; Zhdanov, V. P.; Kasemo, B., Formation of Supported Membranes from Vesicles. *Phys. Rev. Lett.* **2000**, *84* (23), 5443-5446.
27. Richter, R. P.; Bérat, R.; Brisson, A. R., Formation of Solid-Supported Lipid Bilayers: An Integrated View. *Langmuir* **2006**, *22* (8), 3497-3505.
28. Reimhult, E.; Höök, F.; Kasemo, B., Intact Vesicle Adsorption and Supported Biomembrane Formation from Vesicles in Solution: Influence of Surface Chemistry, Vesicle Size, Temperature, and Osmotic Pressure. *Langmuir* **2003**, *19* (5), 1681-1691.
29. Dacic, M.; Jackman, J. A.; Yorulmaz, S.; Zhdanov, V. P.; Kasemo, B.; Cho, N.-J., Influence of Divalent Cations on Deformation and Rupture of Adsorbed Lipid Vesicles. *Langmuir* **2016**, *32* (25), 6486-6495.
30. Jackman, J. A.; Cho, N.-J., Supported Lipid Bilayer Formation: Beyond Vesicle Fusion. *Langmuir* **2020**, *36* (6), 1387-1400.
31. Tero, R., Substrate Effects on the Formation Process, Structure and Physicochemical Properties of Supported Lipid Bilayers. *Materials* **2012**, *5* (12), 2658-2680.
32. Hardy, G. J.; Nayak, R.; Zauscher, S., Model cell membranes: Techniques to form complex biomimetic supported lipid bilayers via vesicle fusion. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **2013**, *18* (5), 448-458.
33. Attwood, S.; Choi, Y.; Leonenko, Z., Preparation of DOPC and DPPC Supported Planar Lipid Bilayers for Atomic Force Microscopy and Atomic Force Spectroscopy. *Int. J. Mol. Sci.* **2013**, *14* (2), 3514-3539.
34. Cho, N.-J.; Frank, C. W.; Kasemo, B.; Höök, F., Quartz Crystal Microbalance with Dissipation Monitoring of Supported Lipid Bilayers on Various Substrates. *Nat. Protoc.* **2010**, *5* (6), 1096-1106.
35. Contact Angle of Water on Smooth Surfaces and Wettability, (cité en April 20, 2021). disponible sur: http://www.uskino.com/articleshow_113.html

36. Rush, M. N.; Coombs, K. E.; Hedberg-Dirk, E. L., Surface chemistry regulates valvular interstitial cell differentiation in vitro. *Acta Biomater.* **2015**, *28*, 76-85.
37. Keller, C. A.; Kasemo, B., Surface specific kinetics of lipid vesicle adsorption measured with a quartz crystal microbalance. *Biophys. J.* **1998**, *75* (3), 1397-1402.
38. Ferhan, A. R.; Yoon, B. K.; Park, S.; Sut, T. N.; Chin, H.; Park, J. H.; Jackman, J. A.; Cho, N.-J., Solvent-Assisted Preparation of Supported Lipid Bilayers. *Nat. Protoc.* **2019**, *14* (7), 2091-2118.
39. Love, J. C.; Estroff, L. A.; Kriebel, J. K.; Nuzzo, R. G.; Whitesides, G. M., Self-Assembled Monolayers of Thiolates on Metals as a Form of Nanotechnology. *Chem. Rev.* **2005**, *105* (4), 1103-1170.
40. Lee, J.; Atmeh, M.; Berman, D., Effect of trapped water on the frictional behavior of graphene oxide layers sliding in water environment. *Carbon* **2017**, *120*, 11-16.
41. Sackmann, E.; Tanaka, M., Supported Membranes on Soft Polymer Cushions: Fabrication, Characterization and Applications. *Trends Biotechnol.* **2000**, *18* (2), 58-64.
42. Silin, V. I.; Wider, H.; Woodward, J. T.; Valincius, G.; Offenhausser, A.; Plant, A. L., The Role of Surface Energy on the Formation of Hybrid Bilayer Membranes. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 14676-14683.
43. Cho, N.-J.; Cho, S.-J.; Cheong, K. H.; Glenn, J. S.; Frank, C. W., Employing an Amphipathic Viral Peptide to Create a Lipid Bilayer on Au and TiO₂. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129* (33), 10050-10051.
44. Welker, M. E., Ferrocenes as Building Blocks in Molecular Rectifiers and Diodes. *Molecules* **2018**, *23* (7), 1551.
45. Chen, X.; Roemer, M.; Yuan, L.; Du, W.; Thompson, D.; Del Barco, E.; Nijhuis, C. A., Molecular Diodes with Rectification Ratios Exceeding 10⁵ Driven by Electrostatic Interactions. *Nat. Nanotechnol.* **2017**, *12* (1748-3395 (Electronic)), 797-803.
46. Fabre, B., Ferrocene-Terminated Monolayers Covalently Bound to Hydrogen-Terminated Silicon Surfaces. Toward the Development of Charge Storage and Communication Devices. *Acc. Chem. Res.* **2010**, *43* (12), 1509-1518.
47. Rowe, G. K.; Creager, S. E., Redox and Ion-Pairing Thermodynamics in Self-Assembled Monolayers. *Langmuir* **1991**, *7* (10), 2307-2312.
48. Ju, H.; Leech, D., Effect of Electrolytes on the Electrochemical Behaviour of 11-(Ferrocenylcarbonyloxy)Undecanethiol SAMs on Gold Disk Electrodes. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **1999**, *1* (7), 1549-1554.
49. Valincius, G.; Niaura, G.; Kazakevičienė, B.; Talaikytė, Z.; Kažemėkaitė, M.; Butkus, E.; Razumas, V., Anion Effect on Mediated Electron Transfer through Ferrocene-Terminated Self-Assembled Monolayers. *Langmuir* **2004**, *20* (16), 6631-6638.
50. Uosaki, K.; Sato, Y.; Kita, H., Electrochemical Characteristics of a Gold Electrode Modified with a Self-Assembled Monolayer of Ferrocenylalkanethiols. *Langmuir* **1991**, *7* (7), 1510-1514.
51. Yokota, Y.; Yamada, T.; Kawai, M., Ion-Pair Formation between Ferrocene-Terminated Self-Assembled Monolayers and Counteranions Studied by Force Measurements. *J. Phys. Chem. C* **2011**, *115* (14), 6775-6781.
52. De Long, H. C.; Buttry, D. A., Ionic interactions play a major role in determining the electrochemical behavior of self-assembling viologen monolayers. *Langmuir* **1990**, *6* (7), 1319-1322.

53. Nguyen, K.-L.; Dionne, E. R.; Badia, A., Redox-Controlled Ion-Pairing Association of Anionic Surfactant to Ferrocene-Terminated Self-Assembled Monolayers. *Langmuir* **2015**, *31* (23), 6385-6394.
54. Dionne, E. R.; Badia, A., Electroactive Self-Assembled Monolayers Detect Micelle Formation. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2017**, *9* (6), 5607-5621.
55. Dionne, E. R.; Sultana, T.; Norman, L. L.; Toader, V.; Badia, A., Redox-Induced Ion Pairing of Anionic Surfactants with Ferrocene-Terminated Self-Assembled Monolayers: Faradaic Electrochemistry and Surfactant Aggregation at the Monolayer/Liquid Interface. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135* (46), 17457-17468.
56. Iqbal, M. S.; Zhan, W., Electrochemically Triggered Surface Deposition of Polyelectrolytes. *Langmuir* **2018**, *34* (43), 12776-12786.
57. Ivanisevic, A.; Im, J.-H.; Lee, K.-B.; Park, S.-J.; Demers, L. M.; Watson, K. J.; Mirkin, C. A., Redox-Controlled Orthogonal Assembly of Charged Nanostructures. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123* (49), 12424-12425.
58. Iqbal, M. S.; Zhan, W., Electrochemically Triggered Interfacial Deposition/Assembly of Aqueous-Suspended Colloids. *ChemElectroChem* **2020**, *7* (5), 1097-1106.
59. Hillier, A. C.; Kim, S.; Bard, A. J., Measurement of Double-Layer Forces at the Electrode/Electrolyte Interface Using the Atomic Force Microscope: Potential and Anion Dependent Interactions. *J. Phys. Chem.* **1996**, *100* (48), 18808-18817.
60. Porter, M. D.; Bright, T. B.; Allara, D. L.; Chidsey, C. E. D., Spontaneously organized molecular assemblies. 4. Structural characterization of n-alkyl thiol monolayers on gold by optical ellipsometry, infrared spectroscopy, and electrochemistry. *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109* (12), 3559-3568.
61. Finklea, H. O., Electrochemistry of Organized Monolayers of Thiols and Related Molecules on Electrodes. In *Electroanalytical Chemistry: A Series of Advances*, Bard, A. J.; Rubinstein, I., Eds. Marcel Dekker: New York, 1996; Vol. 19, pp 109–335.
62. Phase Transition Temperatures for Glycerophospholipids, April, 2021 (cité en April 28, 2021). disponible sur: <http://avantlipids.com/>
63. Lee, L. Y. S.; Sutherland, T. C.; Rucareanu, S.; Lennox, R. B., Ferrocenylalkylthiolates as a Probe of Heterogeneity in Binary Self-Assembled Monolayers on Gold. *Langmuir* **2006**, *22* (9), 4438-4444.
64. Feng, Y.; Dionne, E. R.; Toader, V.; Beaudoin, G.; Badia, A., Odd–Even Effects in Electroactive Self-Assembled Monolayers Investigated by Electrochemical Surface Plasmon Resonance and Impedance Spectroscopy. *J. Phys. Chem. C* **2017**, *121* (44), 24626-24640.
65. Ye, S.; Sato, Y.; Uosaki, K., Redox-Induced Orientation Change of a Self-Assembled Monolayer of 11-Ferrocenyl-1-undecanethiol on a Gold Electrode Studied by in Situ FT-IRRAS. *Langmuir* **1997**, *13* (12), 3157-3161.
66. Umeda, K.-i.; Fukui, K.-i., Observation of Redox-State-Dependent Reversible Local Structural Change of Ferrocenyl-Terminated Molecular Island by Electrochemical Frequency Modulation AFM. *Langmuir* **2010**, *26* (11), 9104-9110.
67. Petrache, H. I.; Tristram-Nagle, S.; Gawrisch, K.; Harries, D.; Parsegian, V. A.; Nagle, J. F., Structure and fluctuations of charged phosphatidylserine bilayers in the absence of salt. *Biophys. J.* **2004**, *86* (3), 1574-1586.
68. Pan, J.; Cheng, X.; Monticelli, L.; Heberle, F. A.; Kučerka, N.; Tieleman, D. P.; Katsaras, J., The Molecular Structure of a Phosphatidylserine Bilayer Determined By Scattering and Molecular Dynamics Simulations. *Soft Matter* **2014**, *10* (21), 3716-25.

69. DeBono, R. F.; Loucks, G. D.; Della Manna, D.; Krull, U. J., Self-Assembly of Short and Long-Chain n-Alkyl Thiols onto Gold Surfaces: A Real-Time Study Using Surface Plasmon Resonance Techniques. *Can. J. Chem.* **1996**, *74*, 677-688.
70. Attwood, J. S.; Choi, Y.; Leonenko, Z., Preparation of DOPC and DPPC Supported Planar Lipid Bilayers for Atomic Force Microscopy and Atomic Force Spectroscopy. *Int. J. Mol. Sci.* **2013**, *14* (2), 3514-3539.
71. Enders, O.; Ngezahayo, A.; Wiechmann, M.; Leisten, F.; Kolb, H. A., Structural Calorimetry of Main Transition of Supported DMPC Bilayers by Temperature-Controlled AFM. *Biophys. J.* **2004**, *87* (4), 2522-2531.
72. Abraham, S.; Heckenthaler, T.; Bandyopadhyay, D.; Morgenstern, Y.; Kaufman, Y., Quantitative Description of the Vesicle Fusion Mechanism on Solid Surfaces and the Role of Cholesterol. *J. Phys. Chem. C* **2018**, *122* (40), 22985-22995.
73. Mingeot-Leclercq, M.-P.; Deleu, M.; Brasseur, R.; Dufrêne, Y. F., Atomic force microscopy of supported lipid bilayers. *Nat. Protoc.* **2008**, *3* (10), 1654-1659.
74. Leite, F. L.; Herrmann, P. S. P., Application of Atomic Force Spectroscopy (AFS) to Studies of Adhesion Phenomena: A Review. *J. Adhes. Sci. Technol.* **2005**, *19* (3-5), 365-405.
75. Garcia-Manyes, S.; Redondo-Morata, L.; Oncins, G.; Sanz, F., Nanomechanics of Lipid Bilayers: Heads or Tails? *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132* (37), 12874-12886.
76. Solano, I.; Parisse, P.; Gramazio, F.; Cavalleri, O.; Bracco, G.; Castronovo, M.; Casalis, L.; Canepa, M., Spectroscopic Ellipsometry Meets AFM Nanolithography: About Hydration of Bio-Inert Oligo(Ethylene Glycol)-Terminated Self Assembled Monolayers on Gold. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2015**, *17* (43), 28774-28781.
77. Matyszewska, D.; Sek, S.; Bilewicz, R., Electrochemical and Microscopic Characteristics of Thiolipid Layers as Simple Models of Cell Membranes. *Langmuir* **2012**, *28* (11), 5182-5189.
78. Gilbile, D.; Docto, D.; Kingi, D. T.; Kurniawan, J.; Monahan, D.; Tang, A.; Kuhl, T. L., How Well Can You Tailor the Charge of Lipid Vesicles? *Langmuir* **2019**, *35* (48), 15960-15969.
79. Mukherjee, S.; Kar, R. K.; Nanga, R. P. R.; Mroue, K. H.; Ramamoorthy, A.; Bhunia, A., Accelerated Molecular Dynamics Simulation Analysis of MSI-594 in a Lipid Bilayer. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2017**, *19* (29), 19289-19299.
80. Dufrêne, Y. F.; Barger, W. R.; Green, J.-B. D.; Lee, G. U., Nanometer-Scale Surface Properties of Mixed Phospholipid Monolayers and Bilayers. *Langmuir* **1997**, *13* (18), 4779-4784.
81. Leonenko, Z. V.; Finot, E.; Ma, H.; Dahms, T. E. S.; Cramb, D. T., Investigation of Temperature-Induced Phase Transitions in DOPC and DPPC Phospholipid Bilayers Using Temperature-Controlled Scanning Force Microscopy. *Biophys. J.* **2004**, *86* (6), 3783-3793.
82. Et-Thakafy, O.; Delorme, N.; Gaillard, C.; Mériadec, C.; Artzner, F.; Lopez, C.; Guyomarc'h, F., Mechanical Properties of Membranes Composed of Gel-Phase or Fluid-Phase Phospholipids Probed on Liposomes by Atomic Force Spectroscopy. *Langmuir* **2017**, *33* (21), 5117-5126.
83. Anderson, T. H.; Min, Y.; Weirich, K. L.; Zeng, H.; Fygenson, D.; Israelachvili, J. N., Formation of Supported Bilayers on Silica Substrates. *Langmuir* **2009**, *25* (12), 6997-7005.
84. Richter, R. P.; Him, J. L. K.; Brisson, A., Supported lipid membranes. *Mater. Today* **2003**, *6* (11), 32-37.
85. Leonenko, Z. V.; Carnini, A.; Cramb, D. T., Supported planar bilayer formation by vesicle fusion: the interaction of phospholipid vesicles with surfaces and the effect of gramicidin on bilayer properties using atomic force microscopy. *Biochim. Biophys. Acta Biomembr.* **2000**, *1509* (1), 131-147.

86. Richter, R.; Mukhopadhyay, A.; Brisson, A., Pathways of lipid vesicle deposition on solid surfaces: a combined QCM-D and AFM study. *Biophys. J.* **2003**, *85* (5), 3035-3047.
87. Cha, T.; Guo, A.; Zhu, X. Y., Formation of Supported Phospholipid Bilayers on Molecular Surfaces: Role of Surface Charge Density and Electrostatic Interaction. *Biophys. J.* **2006**, *90* (4), 1270-1274.
88. Richter, R. P.; Brisson, A. R., Following the Formation of Supported Lipid Bilayers on Mica: A Study Combining AFM, QCM-D, and Ellipsometry. *Biophys. J.* **2005**, *88* (5), 3422-3433.
89. Kasuya, M.; Kurihara, K., Characterization of Ferrocene-Modified Electrode Using Electrochemical Surface Forces Apparatus. *Langmuir* **2014**, *30* (24), 7093-7097.
90. Norman, L. L.; Badia, A., Redox Actuation of a Microcantilever Driven by Self-Assembled Ferrocenylundecanethiolate Monolayer: An Investigation of the Origin of the Micromechanical Motion and Surface Stress. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131* (6), 2328-2337.
91. Abraham, S.; Heckenthaler, T.; Morgenstern, Y.; Kaufman, Y., Effect of Temperature on the Structure, Electrical Resistivity, and Charge Capacitance of Supported Lipid Bilayers. *Langmuir* **2019**, *35* (26), 8709-8715.
92. Richard-Lacroix, M.; Umuhire, K. N.; Lister, E.; Pellerin, C.; Badia, A., Selective Isotopic Labeling Resolves the Gel-to-Fluid Phase Transitions of the Individual Leaflets of a Planar-Supported Phospholipid Bilayer. *Langmuir* **2019**, *35* (30), 9912-9922.
93. Seeger, H. M.; Marino, G.; Alessandrini, A.; Facci, P., Effect of physical parameters on the main phase transition of supported lipid bilayers. *Biophys. J.* **2009**, *97* (4), 1067-1076.
94. Jiang, L.; Wang, T.; Nijhuis, C. A., Fabrication of ultra-flat silver surfaces with sub-micrometer scale grains. *Thin Solid Films* **2015**, *593*, 26-39.
95. Butt, H. J.; Jaschke, M., Calculation of thermal noise in atomic force microscopy. *Nanotechnology* **1995**, *6* (1), 1-7.
96. Cook, S. M.; Lang, K. M.; Chynoweth, K. M.; Wigton, M.; Simmonds, R. W.; Schäffer, T. E., Practical implementation of dynamic methods for measuring atomic force microscope cantilever spring constants. *Nanotechnology* **2006**, *17* (9), 2135-2145.
97. Butt, H.-J.; Cappella, B.; Kappl, M., Force measurements with the atomic force microscope: Technique, interpretation and applications. *Surf. Sci. Rep.* **2005**, *59* (1), 1-152.
98. Liu, G.-Y.; Xu, S.; Qian, Y., Nanofabrication of Self-Assembled Monolayers Using Scanning Probe Lithography. *Acc. Chem. Res.* **2000**, *33* (7), 457-466.
99. Badia, A.; Chen, C.-I.; Norman, L. L., Calibration of a fan-shaped beam surface plasmon resonance instrument for quantitative adsorbed thin film studies—No metal film thickness or optical properties required. *Sens. Actuators B* **2013**, *176*, 736-745.
100. American Institute of, P.; Billings, B. H.; Gray, D. E., American Institute of Physics handbook. McGraw-Hill: *New York*, 1972.
101. Palik, E. D., Preface. In *Handbook of Optical Constants of Solids*, Palik, E. D., Ed. Academic Press: Boston, **1985**; pp xvii-xviii.
102. Ohtsuka, T.; Sato, Y.; Uosaki, K., Dynamic Ellipsometry of a Self-Assembled Monolayer of a Ferrocenylalkanethiol during Oxidation-Reduction Cycles. *Langmuir* **1994**, *10* (10), 3658-3662.
103. Ben Amara, F.; Dionne, E. R.; Kassir, S.; Pellerin, C.; Badia, A., Molecular Origin of the Odd-Even Effect of Macroscopic Properties of n-Alkanethiolate Self-Assembled Monolayers: Bulk or Interface? *J. Am. Chem. Soc.* **2020**, *142* (30), 13051-13061.
104. Optical Constants of NaF (Sodium Fluoride), Sellmeier Dispersion Formula, (cité en June 17, 2021). disponible sur: <https://refractiveindex.info/?shelf=main&book=NaF&page=Li>

105. Bard, A. J.; Faulkner, L. R., *Electrochemical Methods : Fundamentals and Applications*. Wiley: *New York*, 1980.
106. Bott, A. W., Characterization of Chemical Reactions Coupled to Electron Transfer Reactions Using Cyclic Voltammetry. *Curr. Sep.* **1999**, *18*, 9-16.
107. Holze, R., A.J. Bard, I. Rubinstein (eds): *Electroanalytical chemistry*, vol 22. *J. Solid State Electrochem.* **2005**, *9* (4), 236-237.
108. Garcia-Manyes, S.; Sanz, F., Nanomechanics of Lipid Bilayers by Force Spectroscopy with AFM: a Perspective. *Biochim. Biophys. Acta, Biomembr.* **2010**, *1798* (4), 741-749.
109. Unsay, J. D.; Cosentino, K.; García-Sáez, A. J., Atomic Force Microscopy Imaging and Force Spectroscopy of Supported Lipid Bilayers. *J. Vis. Exp.* **2015**, (101), e52867-e52867.
110. Abbasi, F.; Su, Z.; Alvarez-Malmagro, J.; Leitch, J. J.; Lipkowski, J., Effects of Amiloride, an Ion Channel Blocker, on Alamethicin Pore Formation in Negatively Charged, Gold-Supported, Phospholipid Bilayers: A Molecular View. *Langmuir* **2019**, *35* (14), 5060-5068.

Chapitre 4 – Gold-Supported Lipid Membranes Formed by Redox-Triggered Vesicle Fusion on Binary Self-Assembled Monolayers: Surface Hydrophilicity Helps When Ion-Pairing is Low

Ons Hmam, Félix Côté-Dubuc, et Antonella Badia

Département de chimie, Centre québécois sur les matériaux fonctionnels/Quebec Centre for Advanced Materials and Regroupement québécois sur les matériaux de pointe, Université de Montréal, Complexe des sciences, C.P. 6128, succursale Centre-ville, Montréal, QC H3C 3J7, Canada

antonella.badia@umontreal.ca

Ce chapitre a été rédigé sous forme d'article et soumis le 19 juin 2022 dans : *ACS Applied Materials and Interfaces*. Des révisions sont demandées.

4.1 Mise en contexte

L'appariement ionique induit par oxydoréduction entre les groupes polaires des phospholipides et les ferrocéniums électrogénérés a démontré dans le chapitre 3 un grand succès pour déclencher l'assemblage de phospholipides anioniques et zwitterioniques à l'interface SAM/électrolyte et obtenir des bicouches lipidiques en phase gel et fluide sur le substrat d'or avec une couverture de surface élevée ($\geq 90\%$) en quelques minutes et à température ambiante. La stratégie présentée est une avancée conceptuelle dans la préparation des bicouches lipidiques supportées. Elle est simple, rapide, compatible avec les phospholipides chargés négativement et zwitterioniques, insensible à l'état de phase du phospholipide, et n'est pas limitée pas aux surfaces hydrophiles.

Dans ce chapitre, la concentration de ferrocènes en surface sera réduite afin d'étudier l'effet du nombre d'interactions d'appariement ionique et de l'hydrophobicité/hydrophilicité de la surface sur la formation des bicouches lipidiques supportées en utilisant l'approche électrochimique, afin de

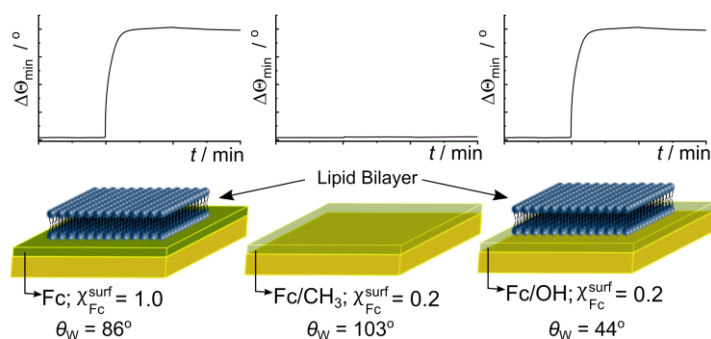
résoudre l'importance relative des interactions d'appariement ionique par rapport à la densité de charge de la surface. Pour cette étude, des SAMs binaires, avec différentes concentrations en ferrocènes ($\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}}$), seront préparées par coadsorption du ferrocénylalkanethiols avec un autre alcanethiol électrochimiquement inerte à terminaison hydroxyle ou méthyle, tout en conservant le même nombre d'unités de méthylènes. Un système de SAMs binaires à base de $\text{FcC}_{11}\text{S}/\text{CH}_3\text{C}_{11}\text{SAu}$ révélera l'influence de la concentration de ferrocènes en surface sur des surfaces ayant une hydrophobicité quasi-constante. Un autre système de SAMs binaires à base de $\text{FcC}_{11}\text{S}/\text{HOC}_{11}\text{SAu}$ révélera l'effet de la diminution de la concentration de ferrocènes et de l'augmentation simultanée de l'hydrophilicité de la surface sur la fusion des vésicules induite par appariement ionique. Le reste des conditions expérimentales (taille et concentration des vésicules, température et concentration de l'électrolyte de base NaF) seront maintenues constantes, et l'adsorption induite par l'application du potentiel est suivie en temps réel par ESPR.

La préparation des lipides, ainsi que les expériences d'électrochimie et de spectroscopie de résonance des plasmons de surface (ESPR) ont été réalisées par Félix Côté-Dubuc (stagiaire d'été sous ma supervision). Ma contribution à cet article consiste en la réalisation des expériences de microscopie à force atomique (AFM), l'analyse de l'ensemble des données (ESPR et AFM), ainsi que la préparation des figures et la rédaction du manuscrit. Antonella Badia a contribué à la correction et à la mise au point du manuscrit.

4.2 Abstract

The assembly of biomimetic, planar supported lipid bilayers (SLBs) by the popular vesicle fusion method, which relies on the spontaneous adsorption and rupture of small unilamellar vesicles from aqueous solution on a solid surface, typically works with a limited range of support materials and lipid systems. We previously reported a conceptual advance in the formation of SLBs from vesicles in the gel or fluid phase using the interfacial ion-pairing association of charged lipid headgroups with electrochemically generated cationic ferroceniums bound to a self-assembled monolayer (SAM) chemisorbed to gold. This redox-driven approach lays down a single bilayer membrane on the SAM-modified gold surface at room temperature within minutes and is compatible with both anionic and zwitterionic phospholipids. This work explores the effects of the surface ferrocene

concentration and hydrophobicity/hydrophilicity on the formation of continuous SLBs of dialkylphosphatidylserine, dialkylphosphatidylglycerol, and dialkylphosphatidylcholine using binary SAMs of ferrocenylundecanethiolate (FcC₁₁S) and dodecanethiolate (CH₃C₁₁S) or hydroxylundecanethiolate (HOC₁₁S) comprising different surface mole fractions of ferrocene ($\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}}$). An increase in the surface hydrophilicity (and surface free energy) of the FcC₁₁S/HOC₁₁S SAM mitigates the decrease in the attractive ion-pairing interactions resulting from a reduced $\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}}$. SLBs of $\geq 80\%$ area coverage form on the FcC₁₁S/HOC₁₁S SAM for all the phospholipid types down to $\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}}$ of 0.2, composition yielding a water contact angle (θ_{W}) of $44 \pm 4^\circ$. A bilayer membrane is only observed in the case of the fluid-phase dialkylphosphatidylcholine on the hydrophobic FcC₁₁S/CH₃C₁₁S surface at this surface concentration ($\theta_{\text{W}} = 103 \pm 3^\circ$), while bilayers or bilayer patches form at $\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}} = 0.6$ ($\theta_{\text{W}} = 97 \pm 3^\circ$) due to the influence of a greater number of ion-pairing interactions. These findings will aid in tailoring the surface chemistry of redox-active modified surfaces to widen the conditions that yield supported lipid membranes.



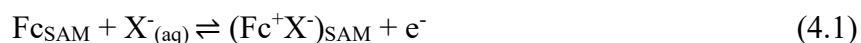
Keywords: supported phospholipid bilayer, self-assembled monolayer, ferrocenylalkanethiolate, redox reaction, ion pairing, vesicle fusion, surface hydrophobicity/hydrophilicity.

4.3 Introduction

Planar lipid bilayers on solid supports are one type of model system employed to investigate the biophysical chemistry of cell membranes and simulate biochemical processes occurring at their surface for applications including biosensing, drug discovery, cell mechanobiology and cell culture, and energy capture and storage.¹⁻⁹ When immobilized on metal surfaces, supported lipid bilayers (SLBs) constitute an attractive platform due to their robustness and integration with a wide range of surface-sensitive characterization techniques, such as surface plasmon resonance, electrochemistry, vibrational spectroscopy, and imaging secondary ion mass spectrometry.^{4, 10-14}

The spontaneous adsorption and rupture of small unilamellar vesicles (SUVs) suspended in aqueous solution onto a solid surface to form a lipid layer, referred to as vesicle fusion, is the most widely used approach for the preparation of SLBs to date. The adsorbed vesicles rupture from the stress or deformation applied on them by vesicle–substrate and vesicle–vesicle interactions.^{12, 15-18} The fabrication of SLBs by vesicle fusion is notably sensitive to the properties of the surface, lipid(s), and solvent environment.^{17, 19-23} It works with a limited number of hydrophilic surfaces (water contact angle $\theta_w < 20^\circ$)²⁴, such as mica, silicon dioxide and borosilicate glass, where the driving force for vesicle rupture and fusion is generally the surface adhesion energy.^{25, 26} Adsorbed lipid vesicles remain intact on metallic surfaces such as gold ($\theta_w \gtrsim 60^\circ$ in ambient atmosphere)^{24, 27, 28, 10, 17, 29, 30} In this regard, different strategies have been developed to add a continuous lipid bilayer on gold, including functionalization of the surface with hydrophilic organic films^{18, 30-34}, solvent-assisted lipid bilayer formation^{29, 35, 36} or the addition of a vesicle destabilizing agent^{37, 38}. These methods use specific conditions, namely zwitterionic phospholipid vesicles in the fluid phase, high lipid concentration (5 mg mL⁻¹), water-miscible organic solvents where membrane proteins cannot be directly incorporated during lipid bilayer formation, and involve lengthy bilayer formation times (> 1 h).^{4, 31, 33}

We recently reported a proof-of-concept demonstration that the redox-triggered fusion of SUVs in the fluid or gel lipid phase to the surface of ferrocene-terminated self-assembled monolayers (SAMs) on gold produces single bilayer membranes of high surface coverage ($\gtrsim 90\%$) from SUVs in the gel or fluid phase within minutes at room temperature.³⁹ Redox-triggered SLB formation is fast, compatible with both anionic and zwitterionic phospholipids, and not limited to hydrophilic surfaces. The electrochemical oxidation of the SAM-bound ferrocene (Fc) involves both interfacial electron transfer and the formation of an ion pair between the cationic ferrocenium (Fc⁺) generated and an electrolyte anion (X⁻) in solution to neutralize the excess positive charge at the SAM/aqueous interface:⁴⁰⁻⁴⁵



The ion-pair association of the phosphate and/or carboxylate of the phospholipid headgroup with the electrogenerated ferrocenium drives the adsorption and rupture of the vesicles to add a bilayer-

thick film on the ferrocenylated SAM (**Figure 4. 1**), whose surface is near hydrophobic ($\theta_w = 86^\circ$) in the reduced neutral state. This finding is significant because passive vesicle fusion on SAMs of *n*-alkanethiolates or aromatic thiolates yields a monolayer of adsorbed phospholipid due to hydrophobic interactions between the lipid alkyl chains and SAM surface.^{33, 46-50} Additionally, passive vesicle fusion is also usually carried out above the gel-to-fluid phase transition temperature (T_m) of the phospholipid in the SUV.^{19, 51-55} Redox-induced vesicle fusion can be performed using SUVs in the gel phase.

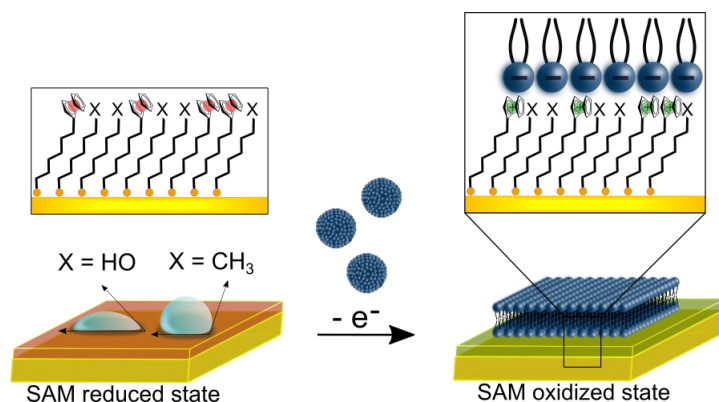


Figure 4. 1. Schematic representation of the formation of SLBs by redox-induced vesicle fusion on $\text{FcC}_{11}\text{S}/\text{CH}_3\text{C}_{11}\text{SAu}$ and $\text{FcC}_{11}\text{S}/\text{HOC}_{11}\text{SAu}$ SAM surfaces.

Ion-pairing interactions are akin to attractive electrostatic interactions. An investigation of the role of the surface charge density on the deposition of cationic (1,2-dioleoyl-3-trimethyl ammonium propane) and zwitterionic (egg phosphatidylcholine) lipids in the fluid phase on oppositely-charged hydrophilic SAM surfaces consisting of mixed NH_3^+/OH or mixed COO^-/OH terminal groups revealed that the vesicles adsorbed and transformed to stable bilayers at surface mole fractions of the charged group $>\sim 0.7$ (molecular density of $\sim 5 \times 10^{-10} \text{ mol cm}^{-2}$).¹⁶ At higher surface charge density, the lipid-surface Coulomb interactions induced sufficient deformation/tension by the caused the adsorbed vesicles to rupture and add a bilayer. Below this critical surface concentration, the adsorbed vesicles did not rupture to form SLBs. Moreover, a study using a series of binary SAMs of different compositions, presenting CH_3 and OH terminal groups, found that the magnitude of the polar component of the surface free energy (γ_s) of the SAM determined the interaction of the fluid-phase vesicles of the zwitterionic palmitoyl, oleoyl-

phosphatidylcholine (POPC) with the surface and final structure of the phospholipid assembly, i.e., monolayer, bilayer or intact vesicles.³¹ Bilayers formed on the single-component OH-terminated SAM, which presented the highest surface energy ($\gamma_s = 64.7 \text{ mN m}^{-1}$) and polar ($\gamma_s^p = 32.5 \text{ mN m}^{-1}$) and dispersive ($\gamma_s^d = 32.2 \text{ mN m}^{-1}$) components of equal magnitude. Monolayers formed on the fully terminated CH_3 SAM, which had the lowest surface energy ($\gamma_s = 23.2 \text{ mN m}^{-1}$) of the series, and where the dispersive component ($\gamma_s^d = 23.0 \text{ mN m}^{-1}$) dominated. Finally for the 1:1 CH_3/OH surface of intermediate surface free energy ($\gamma_s = 47.6 \text{ mN m}^{-1}$, $\gamma_s^p = 19.8 \text{ mN m}^{-1}$, and $\gamma_s^d = 27.8 \text{ mN m}^{-1}$), the existence of both hydrophobic and hydrogen bonding groups partially stabilized the adsorbed vesicles, arresting vesicle fusion. A monolayer is not added to the surface nor is the adhesion energy sufficient to drive the formation of a complete phospholipid bilayer.³¹

In this work, we explore the effects of the surface hydrophobicity/hydrophilicity and the available ferrocene surface coverage on SLB formation to unravel the relative importance of ion-pairing interactions versus surface energy for redox-induced vesicle fusion. The close-packed ferrocene density ($A = 0.34 \text{ nm}^2 \text{ molecule}^{-1}$ estimated from the cross-sectional area of ferrocene spheres of 0.66 nm diameter)⁵⁶ exceeds that of a phospholipid membrane ($A \approx 0.48\text{--}0.65 \text{ nm}^2 \text{ molecule}^{-1}$, depending on the phase state)⁵⁷⁻⁵⁹ so that full ferrocene coverage may not be critical to induce the transformation of the adsorbed vesicles to a bilayer. Reducing the ferrocene concentration through the introduction of nonelectroactive diluent molecules in the SAM would alleviate the physical steric crowding of the ferrocenes,^{56, 60-62} thereby facilitating the ion-pair interactions between the ferrocenium and lipid headgroup, and may yield higher lipid bilayer mobility, especially in the presence of a hydrophilic diluent.^{9, 63, 64}

We coadsorb ferrocenylalkanethiol and hydroxyl-terminated or methyl-terminated alkanethiol with the same number of methylene units on gold to produce binary SAMs of different ferrocene compositions. The vesicle size and lipid concentration, temperature, and electrolyte concentration are kept constant. The ferrocene- and methyl-terminated (Fc/CH_3) SAM system reveals the influence of the ferrocene surface concentration on the redox-induced vesicle fusion process at near-constant surface hydrophobicity. The ferrocene- and hydroxyl-terminated (Fc/OH) SAM, on the other hand, shows the effect of a decrease in the ferrocene concentration and concomitant increase in the surface hydrophilicity on the vesicle fusion process. The adsorption of phospholipid to the oxidized form of the binary SAM surface is followed in situ and in real time by

electrochemical surface plasmon resonance (ESPR) and the phospholipid adlayer morphology, coverage, and thickness are determined by atomic force microscopy (AFM). We show that the dependence of the redox-triggered formation of SLBs of anionic and zwitterionic phospholipids on the surface coverage of ferrocene is primarily influenced by the wettability of the SAM surface, and in some cases, also the phase state and chemical nature of the headgroup of the SUV precursor.

4.4 Experimental Section

Chemicals. 1,2-dimyristoyl-sn-glycero-3-phospho-L-serine (DMPS), 1-palmitoyl-2-oleoyl-sn-glycero-3-phospho-L-serine (POPS), 1-palmitoyl-2-oleoyl-sn-glycero-3-phospho-(1'-rac-glycerol) (POPG), 1,2-dipalmitoyl-sn-glycero-3-phosphocholine (DPPC), and 1,2-dioleoyl-sn-glycero-3-phosphocholine (DOPC) were purchased as powders (purity >99%) from Avanti Polar Lipids and stored at -20 °C. Sodium fluoride (NaF, 99% purity), sodium perchlorate (NaClO₄, (>99% purity) were from Sigma-Aldrich Canada Co. The electrolyte solutions were prepared using deionized-distilled water with a resistivity of 18.2 MΩ cm and total organic content of ≤ 5 ppb.

The synthesis and purification of the 11-ferrocenyl-1-undecanethiol (FcC₁₁SH) is described in ref⁶⁵. The FcC₁₁SH powder was stored at 4 °C in a sealed vial to prevent the formation of disulfide. 1-Undecanethiol (CH₃C₁₁SH, 98%), and 11-mercapto-1-undecanol (HOC₁₁SH, 99%) were purchased from Sigma-Aldrich, used without further purification, and stored at 4 °C.

Preparation of the SAM-Gold Substrates. Glass slides (10 mm × 20 mm × 1 mm (Fisherbrand™ Premium Plain Glass Microscope Slides, Fisher Scientific Canada) were cleaned by three immersions of 10 min each in piranha solution (3:1 v/v concentrated H₂SO₄/30% H₂O₂) at room temperature. The glass slides were then rinsed copiously with deionized-distilled water, sonicated thrice in deionized-distilled water to completely remove traces of sulfuric acid, sonicated once in absolute ethanol, and dried under a stream of nitrogen gas.

Polycrystalline gold thin films supported on glass substrates (**Figure 4. S1A** of the Supporting Information) were used for electrochemical surface plasmon resonance (ESPR). The clean glass slides were coated by resistive thermal evaporation with 2 nm of titanium (99.99%) at a rate of ~0.01 nm s⁻¹, followed by 50 nm of gold (99.99%) deposited at ~0.1 nm s⁻¹. The metal film thicknesses and deposition rates were monitored using a calibrated quartz crystal microbalance.

The pressures in the deposition chamber at the start and end of the metal evaporations were $\sim 1 \times 10^{-7}$ Torr and $\sim 2 \times 10^{-6}$ Torr, respectively, and the temperature reached ~ 160 °C due to radiant heating from the evaporation sources. Once the temperature inside the evaporation chamber dropped below 30 °C, the vacuum was broken with nitrogen, the gold-coated slides were removed from the evaporator and immediately incubated in organothiol solution.

Template-stripped gold films (**Figure 4. S1B**) were employed as ultraflat surfaces for AFM analyses of the supported phospholipid bilayers.⁶⁶ Prime-grade polished silicon wafers (particles of <10 at $0.3 \mu\text{m}$, thickness of $500 - 550 \mu\text{m}$, WaferNet Inc.) were sonicated for 10 min in absolute ethanol, dried under a stream of nitrogen gas, and heated in the thermal evaporator chamber at 200 °C for 30 min under a vacuum of $\sim 1 \times 10^{-7}$ Torr. While maintaining a substrate temperature of 200–220 °C, the wafer was then coated with 75 nm of gold. Before the evaporation of 5 nm of titanium, heating was stopped and the temperature of the substrates at the end of the evaporation was 130–140 °C. The vacuum was broken by introducing nitrogen once the temperature inside the evaporation chamber dropped below 30 °C. A drop ($\sim 50 \mu\text{L}$) of an optical adhesive (NOA, Norland Products Inc.) was used to glue clean glass pieces (size of $10 \text{ mm} \times 20 \text{ mm}$) to the metal-coated silicon wafer. The adhesive was cured under UV light (100 W, B-100, Ted Pella Inc.) for about 30 s. The glass pieces were stripped off the silicon wafer template just prior use.

The gold-coated substrates were immersed in the appropriate organothiol solutions in sealed glass vials for a period of 8–12 h at room temperature in the dark. SAMs of FcC_{11}S were assembled from a 0.2 mM solution of FcC_{11}SH in 4:1 v/v absolute ethanol/THF. Mixed SAMs of $\text{FcC}_{11}\text{S}/\text{HOC}_{11}\text{S}$ and $\text{FcC}_{11}\text{S}/\text{CH}_3\text{C}_{11}\text{S}$ were prepared by immersing the gold-coated substrates in 4:1 v/v ethanol/THF solutions containing different molar ratios of the two thiols of interest at a total thiol concentration of 0.2 mM. Prior to use, the SAM-modified gold surface was rinsed copiously with absolute ethanol, followed by ultrapure water, and dried with nitrogen.

Preparation of Small Unilamellar Vesicles (SUVs). Phospholipid was first dissolved in spectrograde chloroform at a concentration of 0.8 mg mL^{-1} . The solution was then transferred to a round-bottom flask and the solvent was removed using a rotary evaporator, leaving a thin layer of dried film of phospholipid in the bottom of the flask that was then vacuum pumped for 5 h. The dried phospholipid was subsequently dispersed and hydrated with 50 mM $\text{NaF}_{(\text{aq})}$ solution to a final

concentration of 0.8 mg mL^{-1} , corresponding to a phospholipid average concentration of $1.1 \pm 0.1 \text{ mM}$. The resulting lipid suspension was then vortexed and sonicated (Branson–1510 sonicator bath) until a clear solution was obtained, and finally extruded eleven times through two polycarbonate membranes of 50 nm pore size (Whatman Nucleopore, Sigma-Aldrich) to obtain a narrow liposome size distribution. The diameter of the vesicles was determined by dynamic light scattering (Malvern Zetasizer ZS) to be $50 \pm 5 \text{ nm}$ with a polydispersity index < 0.2 .

The preparation of SUVs was carried out at ambient temperature ($20 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$) for POPS, POPG, and DOPC and at $38 \text{ }^\circ\text{C}$ and $45 \text{ }^\circ\text{C}$ for DMPS and DPPC, respectively (the chemical structures and main phase transition temperatures are given in **Figure 4. 2A**). Vesicle membranes of DMPS and DPPC are in the solid-like gel state (L_β) at ambient temperature, while POPS, POPG and DOPC are in the fluid state (L_α).⁶⁷ The SUVs prepared at higher temperature were allowed to cool down to ambient temperature before use. The solutions of SUVs were either used immediately after preparation or stored at $4 \text{ }^\circ\text{C}$ for a maximum of three days. The cold stored solutions were allowed to warm up to ambient temperature before use.

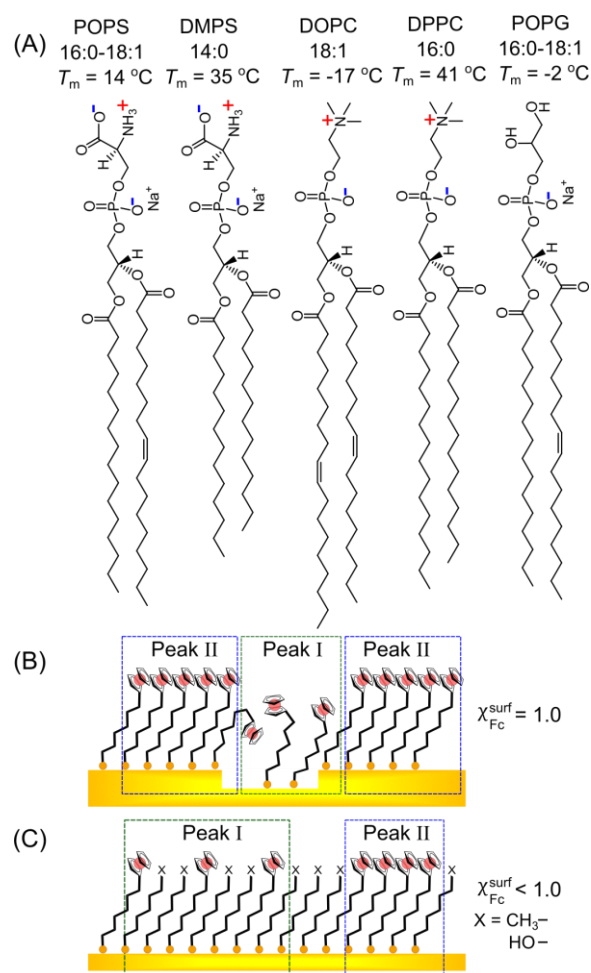


Figure 4. 2. (A) Chemical structures of the phospholipids employed to form SLBs with their corresponding gel-to-fluid phase transition temperature (T_m). Schematic illustrations of the proposed structures of (B) single-component $\text{FcC}_{11}\text{SAu}$ SAM and (C) binary $\text{FcC}_{11}\text{SAu}/\text{XC}_{11}\text{SAu}$ SAM, where $\text{X} = \text{CH}_3$ or OH . Peaks I and II represent respectively (B) FcC_{11}S molecules at gold defect sites and close-packed in domains and (C) phases of dispersed and clustered FcC_{11}S molecules in the binary SAM.

Redox-Triggered Supported Lipid Bilayer (SLB) Formation. The aqueous solution of SUVs is stirred for 1 min before its introduction into the electrochemical cell. Cyclic voltammograms and potential step–hold experiments were performed in a custom-built, one-compartment three-electrode Teflon cell using a SP-150 potentiostat (BioLogic Science Instruments). The working electrode is the SAM-modified substrate, the counter electrode is a coiled platinum wire (99.99%, Kitco Metals, Inc.) and the reference electrode is an Ag/AgCl electrode (3 M NaCl , electrode

inserted in a double junction chamber, BASi). Cyclic voltammograms were performed at a potential scan rate of 10 mVs^{-1} at $25 \text{ }^\circ\text{C}$. Potential step–hold experiments were performed by applying a potential of 0.64 V vs. Ag/AgCl (i.e., potential at which the surface-tethered ferrocenes are oxidized), and holding it for a period of 2–5 min at $25 \text{ }^\circ\text{C}$ ($20 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ for the preparation of SLBs for AFM imaging). Finally, the aqueous solution of SUVs was exchanged three times with ultrapure water without exposing the SAM-modified gold surface to air.

Atomic Force Microscopy (AFM). AFM imaging was conducted in deionized-distilled water at ambient temperature ($20 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$) using a Dimension Icon (Bruker Nano) operated in PeakForce Tapping QNM mode (NanoScope version 9.1 software). An AFM probe with a nominal tip radius of 20 nm , spring constant of 0.7 N m^{-1} , and resonance frequency of 150 kHz was used (ScanAsyst-Fluid, Bruker AFM Probes). The cantilever spring constant was determined using the thermal noise method before each experiment (calibration tool implemented in NanoScope software version 9.1).⁶⁸⁻⁷⁰ Height images were acquired at a scan rate of 0.977 Hz and image resolution of 512×512 pixels. AFM height images were then processed and analyzed using NanoScope Analysis version 1.80 software (Bruker Nano).

Electrochemical Surface Plasmon Resonance (ESPR). ESPR measurements were carried out in the Kretschmann-type ATR configuration with a SR7000 single-channel instrument ($\lambda = 780 \text{ nm}$, Reichert Inc.).⁷¹ A Peltier device allows the temperature at the gold substrate/solution interface to be controlled to within $\pm 0.015 \text{ }^\circ\text{C}$ of the set temperature between $10 \text{ }^\circ\text{C}$ and $90 \text{ }^\circ\text{C}$. A custom-built electrochemical cell fitted with reference (Ag/AgCl , 3 M NaCl) and counter (Pt wire) electrodes was mounted onto the SAM-modified gold-coated surface of the glass slide (working electrode) in optical contact with the prism (Cargille immersion oil type A liquid, $n_D^{23} = 1.5150$). All experiments were carried out under stationary solution conditions at $25.0 \text{ }^\circ\text{C}$. The resonance angle change ($\Delta\Theta_{\text{min}}$) and current density (j) as a function of the applied potential was recorded during cyclic voltammetry scans performed at 10 mV s^{-1} . The resonance angle change as a function of time was also recorded during potential step–hold experiments.

Determination of the Adsorbed Phospholipid Layer Thickness from ESPR Data. The effective film thickness of pure phospholipid (d) was determined from the measured $\Delta\Theta_{\min}$ value using the following equation:

$$d = \Delta\Theta_{\min} \left(\frac{\partial\Theta_{\min}}{\partial d} \right)^{-1} \quad (4.2)$$

where $\partial\Theta_{\min}/\partial d$ is the variation of Θ_{\min} with the adsorbed layer thickness calculated for a layer consisting of pure phospholipid using the Fresnel multilayer model given in **Table 4.1** (Winspall version 3.02 software, MPI-P). The optical properties of the layer materials are expressed in terms of the complex dielectric constants $\varepsilon'(\lambda)$ and $\varepsilon''(\lambda)$. ε' and ε'' are related to n and k , the real and imaginary components of the complex refractive index, according to $\varepsilon'(\lambda) = n(\lambda)^2 - k(\lambda)^2$ and $\varepsilon''(\lambda) = 2n(\lambda)k(\lambda)$. For materials with insignificant absorbance at $\lambda = 780$ nm, such as the prism glass, ferrocenylalkanethiolate SAM, phospholipid adsorbate layer, and aqueous solution, $k(\lambda) = 0$ so that $\varepsilon'(\lambda) = n(\lambda)^2$ and $\varepsilon''(\lambda) = 0$.

The phospholipid adsorbate film was assumed to be homogenous and modeled as a Cauchy layer. The Cauchy dispersion equation describes the film refractive index as a function of wavelength (λ) in the transparent spectral range: $\sqrt{\varepsilon}(\lambda/\mu\text{m}) = A + B/\lambda^2 + C/\lambda^4$, where A, B and C are the Cauchy parameters. The phospholipid monolayer data was fitted using values for the Cauchy parameters of A = 1.44, B = 0.0045, and C = 0. At $\lambda = 780$ nm, $\varepsilon = 2.095$.⁷²

Table 4. 1. Fresnel Layer Model and Optical Parameters Used to Calculate the Change in Resonance Angle with Adsorbed Phospholipid Layer Thickness ($\partial Q_{\min}/\partial d$)

Layer	d / nm	ϵ'	ϵ''
Sapphire prism	∞^a	3.1002 ^b	0
Titanium	2.0	-3.274 ^c	18.308 ^c
Gold	50.0	-23.886 ^c	1.741 ^c
S(CH ₂) ₁₁ Fc SAM	1.8 ^d	2.1433 ^e	0
Phospholipid adsorbate	Varied from 0 nm to 6 nm	2.095	0
0.050 M NaF _(aq)	∞^a	1.7638 ^f	0

^aPrism and liquids are both $\gg 1 \mu\text{m}$ and thus considered infinitely thick. ^bValue at 780 nm and 24 °C from ref 73. ^cValue at 780 nm from ref 74. ^dThickness determined by spectroscopic ellipsometry in air. ^eValue from ref 75. ^fSellmeier equation at 25 °C.⁷⁶

Ferrocene Surface Coverage. The surface concentration of electrogenerated ferrocenium (Γ_{Fc^+}) was calculated from the charge associated with ferrocene oxidation (Q_{anodic}) using eq 4.3:

$$\Gamma_{\text{Fc}^+} = Q_{\text{anodic}}/nFA \quad (4.3)$$

where n represents the number of electrons transferred ($n = 1$ for the oxidation of Fc to Fc⁺), F is the Faraday constant (96 485 C mol⁻¹), and A is the area of the SAM-modified Au surface exposed to the electrolyte solution (0.46 cm²). The anodic sweeps of the cyclic voltammograms were integrated to give Q_{anodic} after a sigmoidal baseline correction for the charging/capacitive current.

Γ_{Fc^+} was used to calculate the resulting surface mole fraction of Fc ($\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}}$) for the binary SAMs using eq 4.4:

$$\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}} = \Gamma_{\text{Fc}^+}^{\chi < 1} / \Gamma_{\text{Fc}^+}^{\chi = 1} \quad (4.4)$$

where $\Gamma_{\text{Fc}^+}^{\chi < 1}$ is Γ_{Fc^+} for the single component FcC₁₁SAu SAM and $\Gamma_{\text{Fc}^+}^{\chi < 1}$ is Γ_{Fc^+} for the binary SAMs.

Mathematical Deconvolution of the Voltammetric Peaks. The baseline-corrected anodic segments of the cyclic voltammograms were mathematically deconvoluted using a Gaussian-Lorentzian peak fitting combination (Origin Pro 2021 version 9.8 software).^{60, 77} Peak I at lower potential was fit to a Gaussian distribution and peak II at higher potential was fit to a Lorentzian function. A Gaussian fit is consistent with the bell-shaped symmetric CV expected for a surface-adsorbed redox species.⁷⁸ While not model specific, the Lorentzian function yielded good fits over many CVs. Both peaks were fit using three fitting parameters: peak position, peak width, and peak area.

Contact Angle Measurements. Static contact angles were measured using a homemade setup consisting of a micrometer syringe (Oakton Gilmont) to dispense 2.0 μL droplets of deionized-distilled water onto the SAM-modified gold surface (3–4 droplets per surface) and a USB digital microscope to capture images of the droplets deposited on the surface. The contact angle formed between the SAM and water droplet was determined using the contact angle plugin of ImageJ (NIH).

4.5 Results and Discussions

4.5.1 Molecular Heterogeneity of the Binary SAMs versus Ferrocene Surface Coverage

The cyclic voltammograms (CVs) recorded in 0.100 M $\text{NaClO}_{4(\text{aq})}$ for SAMs of $\text{FcC}_{11}\text{S}/\text{CH}_3\text{C}_{11}\text{S}$ and $\text{FcC}_{11}\text{S}/\text{HOC}_{11}\text{S}$, referred to hereafter as Fc/CH_3 and Fc/OH , respectively, formed on gold in solutions where the molar fraction of FcC_{11}SH ($\chi_{\text{Fc}}^{\text{soln}}$) varied from 1.0 to 0.05 are presented in **Figure 4. 3A,C**. These SAMs do not present any variation in peak height, position or shape over at least three consecutive voltammetric cycles.

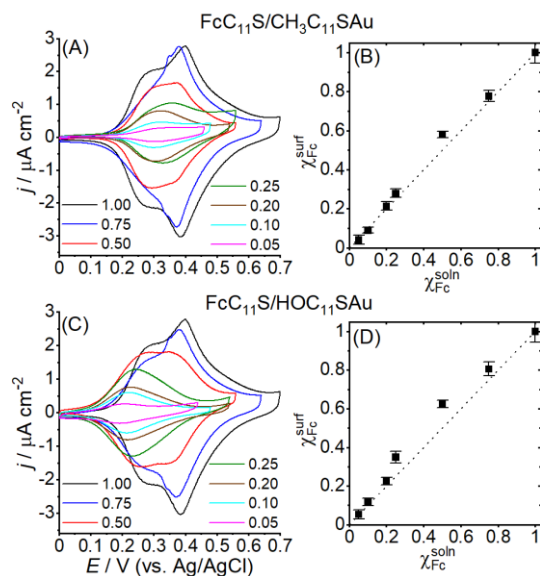


Figure 4. 3. Cyclic voltammograms of binary SAMs formed from solutions containing different mole fractions of FcC₁₁SH and (A) CH₃C₁₁SH or (C) HOC₁₁SH. Electrolyte is in 0.100 M NaClO_{4(aq)}. Scan rate is 10 mV s⁻¹ and temperature is 25 °C. Plots of the surface mole fraction of FcC₁₁SAu ($\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}}$) as a function of the mole fraction of FcC₁₁SH in the incubation solution ($\chi_{\text{Fc}}^{\text{soln}}$): (B) CH₃C₁₁SH and (D) HOC₁₁SH. Dashed lines indicate a 1:1 relation.

The single-component FcC₁₁SAu SAM ($\chi_{\text{Fc}}^{\text{soln}} = 1.0$) exhibits the nonideal, reversible Faradaic electrochemistry previously reported by us^{65, 79} and others^{61, 80} for ferrocene-terminated SAMs chemisorbed to polycrystalline gold thin film electrodes.⁸¹ Two pairs of redox peaks are observed with apparent formal potentials (E°) of 277 ± 11 mV (peak I) and 394 ± 9 mV (peak II) (vs. Ag/AgCl), and mean anodic-to-cathodic peak separations (ΔE_p) of 17 ± 8 mV and 15 ± 6 mV, respectively. Ideal electrochemistry is characterized by one single set of symmetrical redox peaks with full widths at half maximum of 90.6 mV and no peak separation.⁸¹ A near-ideal voltammetric signature is only observed when the SAM-bound ferrocene groups are isolated from each other (or spaced apart) and experience the same microenvironment, either by mixing with nonelectroactive alkanethiolates or by attaching the ferrocene to a bulky surface tether.^{56, 82-84} Peak splitting/multiplicity has been attributed to local differences in the molecular packing structure and interactions of the ferrocenylalkanethiolates.^{61, 77, 80, 85, 86} The first set of peaks at lower potential (peak I) is assigned to ferrocenes located at domain boundaries and defect sites⁸⁶ (**Figure 4. 2B**), where a lower molecular packing density reduces the interactions between the electrogenerated ferroceniums.⁷⁷ The second set of peaks at higher potential (peak II) originates from strongly

interacting ferrocenes located inside close-packed domains (**Figure 4. 2B**), for which the electrostatic repulsion between proximal ferroceniums renders the redox reaction more thermodynamically unfavorable.^{77, 86} Another explanation is that the two peaks reflect ferrocenes exposed to electrolyte (lower potential) and partially buried in the SAM (higher potential) due to the physical mismatch between the bulkier ferrocene termini (cross sectional area of 0.34 nm²)⁵⁶ and alkyl chains (0.21 nm²)^{87, 88.}⁶¹ Mathematical deconvolution of the overlapped anodic peaks using a Gaussian–Lorentzian fitting combination (**Figure 4. 4**) indicates that the ferrocene populations associated with peaks I and II constitute 31% and 69%, respectively, of the total surface-confined ferrocenes. The full widths at half height (ΔE_{fwhm}) of 108 ± 8 mV for peak I and 122 ± 10 mV for peak II are consistent with non-ideal repulsive interactions.⁷⁸

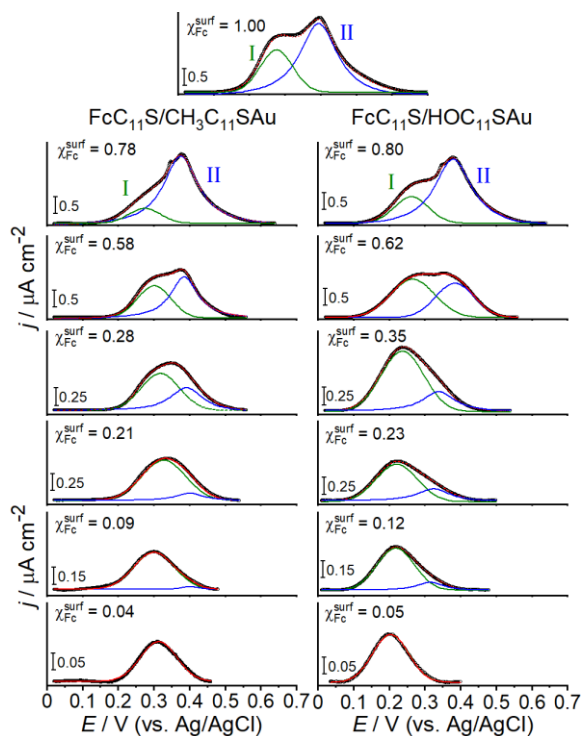


Figure 4. 4. Mathematical deconvolutions of the anodic peaks of the binary SAMs of different $\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}}$ using Gaussian-Lorentzian functions. Left-hand side corresponds to Fc/CH₃ SAMs and right-hand side displays the Fc/OH SAMs. $\chi_{\text{Fc}}^{\text{soln}}$ from top to bottom: 1.00, 0.75, 0.50, 0.25, 0.20, 0.10, and 0.05. The black symbols are the data points. The Gaussian and Lorentzian fits are shown in green and blue, respectively, and the sum is in red.

$\chi_{\text{Fc}}^{\text{soln}}$ affects both the peak current densities and peak splitting (**Figure 4. 3A,C**). Perchlorate forms single ion pairs with the SAM-bound ferroceniums (eq 4.1), allowing quantification of the number of surface-available ferrocenes via the anodic charge density (eq 4.3).^{40-42, 81} A theoretical surface coverage of 4.5×10^{-10} mol cm⁻² is estimated from the ferrocene cross-sectional area of 0.34 nm².⁵⁶ The total ferrocene surface coverage (Γ_{Fc}) decreases from $4.9 (\pm 0.2) \times 10^{-10}$ mol cm⁻² for $\chi_{\text{Fc}}^{\text{soln}} = 1.0$ to $0.25 (\pm 0.02) \times 10^{-10}$ mol cm⁻² for $\chi_{\text{Fc}}^{\text{soln}} = 0.05$. Plots of the surface fraction of ferrocene ($\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}}$) versus $\chi_{\text{Fc}}^{\text{soln}}$ (**Figure 4. 3B,D**) show positive deviations from ideality (1:1 relation) for $0.2 < \chi_{\text{Fc}}^{\text{soln}} < 0.8$ as the less soluble FcC₁₁SH preferentially adsorbs to the surface.⁴⁰

The CVs of the two-component SAMs formed at $\chi_{\text{Fc}}^{\text{soln}} = 0.75$ and 0.50 exhibit two distinct anodic (and corresponding cathodic) peaks at potentials similar to those of the single-component SAM ($\chi_{\text{Fc}}^{\text{soln}} = 1.0$). For SAMs of binary composition, the lower potential peak I is attributable to ferrocenes that are laterally dispersed in a CH₃C₁₁S or HOC₁₁S matrix, while the higher potential peak II is assigned to clustered ferrocene domains (**Figure 4. 2C**).⁷⁷ Mathematical deconvolution of the anodic segment reveals that the seemingly single peak voltammograms of SAMs formed at $0.50 < \chi_{\text{Fc}}^{\text{soln}} \leq 0.10$ in fact comprise two peaks (**Figure 4. 4**). The observation of a single ferrocene population in CV required decreasing $\chi_{\text{Fc}}^{\text{soln}}$ to 0.05.

The percent fractional peak areas ($\Gamma_{\text{Fc}^+}^{\text{peak}}/\Gamma_{\text{Fc}^+}^{\text{total}} \times 100$) and anodic peak potentials (E_{pa}) as a function of $\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}}$ obtained from the peak deconvolutions are plotted in **Figure 4. 5** and summarized in **Tables 4. S1** and **4. S2** of the Supporting Information. There are several noteworthy observations. First, the fractional area of peak II decreases with decreasing $\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}}$, while that of peak I increases. (**Figure 4. 5A,B**) The fractional area of peak II remains constant at ~70% from $\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}} = 1.0$ to ~0.8 and then decreases quasi-linearly from 42(±3)% for Fc/OH and 54(±3)% for Fc/CH₃ at $\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}} = \sim 0.6$ to 10(±2)% and 4(±2)%, respectively, at $\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}} = \sim 0.1$. Second, the variation of the anodic peak potential with $\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}}$ indicates that the molecular mixing behavior within the two binary SAMs is different. E_{pa} of the Fc/CH₃ SAM is notably constant with $\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}}$ (**Figure 4. 5C**): 303 ± 20 mV for peak I and 390 ± 9 mV for peak II. The apparent redox potential $E^{o'}$ of surface-confined redox

moieties depends on both the molecular density Γ and lateral interactions between the oxidized and reduced forms:

$$E^{\circ'} = E^{\circ} - \frac{RT}{2nF} \Gamma(r_{\text{O}} - r_{\text{R}}) \quad (4.5)$$

where E° is the standard potential of the surface-confined redox couple and r_{O} and r_{R} are the nonideal interaction parameters.⁸⁹ $r_{\text{O}} = r_{\text{OO}} - r_{\text{OR}}$ expresses the net perturbing influence experienced by an oxidized moiety O due to the presence of another O (r_{OO}) or reduced moiety R (r_{OR}). $r_{\text{R}} = r_{\text{RR}} - r_{\text{RO}}$ describes the analogous perturbation of a given R. In the case of the ferrocene-terminated SAM, $r_{\text{OO}} > r_{\text{OR}}$ or r_{RO} as the electrogenerated ferrocenium (O) should experience a greater perturbation from a neighboring ferrocenium (due to Coulomb repulsion) than from a neutral ferrocene (R). The constant peak I and II potentials therefore suggest that the ferrocene molecular density, and hence the chemical composition, of the two phases of the Fc/CH₃ SAM (**Figure 4. 2C**) remain quasi-constant with $\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}}$ such that the the degree of the lateral interactions in each phase, given by $r_{\text{O}} - r_{\text{R}}$ in eq 4.5, remains the same. It is the relative proportion of the mixed FcC₁₁S/CH₃C₁₁S phase that increases at the expense of the FcC₁₁S-rich phase as $\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}}$ decreases. In the case of the Fc/OH SAM, the anodic peak potential decreases with $\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}}$ (**Figure 4. 5D**): from 277 ± 11 mV at $\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}} = 1.0$ to 202 ± 12 mV at $\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}} = 0.05$ for peak I and from 394 ± 9 mV at $\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}} = 1.0$ to 319 ± 9 mV at $\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}} = 0.12$ for peak II, suggesting that the chemical composition of the two phases varies with $\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}}$.

A single set of peaks with ΔE_{p} of 7 ± 3 mV is present at $\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}} = 0.05$ for both types of binary SAM. ΔE_{fwhm} of the anodic peak is 117–124 mV, which is greater than the theoretical value of 90.6 mV, indicating that, even at this very low surface coverage, the ferrocene units are not uniformly distributed across the SAM surface and/or do not experience the same microenvironment. Tian et al. report a similar behavior for a FcC₁₁S/CH₃C₁₀S SAM formed by coadsorption, i.e., ΔE_{fwhm} of 112 mV at $\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}}$ of ~ 0.1 .⁸³ The anodic peak potential is shifted by -109 mV (to lower potential) in the case of the mixed SAM formed with the OH-terminated diluent (202 ± 12 mV) compared to the CH₃-terminated one (311 ± 14 mV). The electrochemical oxidation of the ferrocene to the more polar ferrocenium results in an increase in the hydrophilicity of the SAM surface.⁹⁰⁻⁹² The hydrophilic nature of the HOC₁₁S favors the formation of the ferrocenium species.

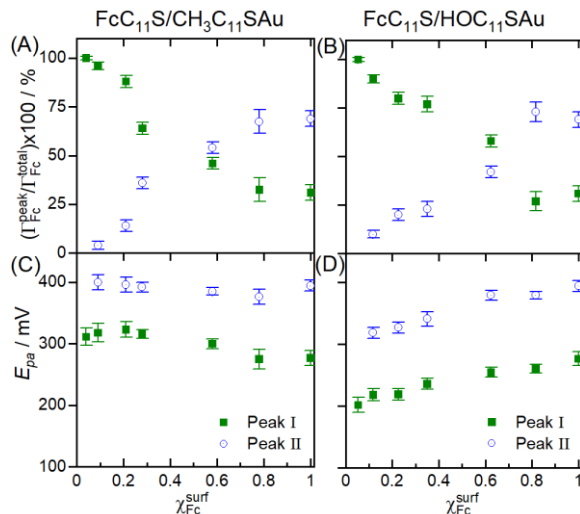


Figure 4. 5. Results of the anodic peak deconvolutions. Plot of the percentage contribution of each peak to the total anodic charge versus χ_{Fc}^{surf} : (A) Fc/CH₃ and (B) Fc/OH. Plot of the anodic peak potential (E_{pa}) versus χ_{Fc}^{surf} : (C) Fc/CH₃ and (D) Fc/OH. Filled green circles represent peak I and open blue circles are peak II. Values presented are the mean value and standard deviation of three independently prepared SAMs.

Although organothiol diluents with the same polymethylene chain length as the ferrocenylalkanethiol were chosen to promote molecular mixing, the electrochemical data establishes that there is lateral phase separation in the binary SAMs formed by coadsorption. A clustered FcC₁₁S phase coexists with a mixed FcC₁₁S/CH₃C₁₁S or FcC₁₁S/HOC₁₁S phase for $0.1 \lesssim \chi_{Fc}^{surf} < 1.0$. The extent of the molecular heterogeneity in the binary SAMs decreases with the ferrocene surface concentration.

4.5.2 Wettability of the Binary SAMs versus Ferrocene Surface Coverage

Static water contact angles (θ_w) were measured on the single-component and binary SAMs (Figure 4. 6A,B and 4. S2). θ_w of the FcC₁₁S, CH₃C₁₁S, and HOC₁₁S SAMs are $86 \pm 2^\circ$, $108 \pm 3^\circ$, and $16 \pm 4^\circ$, respectively, in close agreement with literature data.⁹²⁻⁹⁵ The reported surface

energies follow the order HOC_{11}S ($65\text{--}72 \text{ mN m}^{-1}$)^{31, 95} > FcC_{11}S (44 mN m^{-1})⁹⁶ > $\text{CH}_3\text{C}_{11}\text{S}$ (23 mN m^{-1})^{31, 96}. The θ_w values of the binary SAMs of different compositions are summarized in **Table 4. S3**. The Fc/CH₃ SAM surface is hydrophobic (defined as $\theta_w \geq 90^\circ$)⁹⁷ for $\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}} < 1.0$. The hydrophilicity of the Fc/OH SAM varies with $\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}}$. Plots of $\cos \theta_w$ versus $\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}}$ (**Figure 4. 6C,D**) show that the wettability of the mixed SAMs approaches ideality (i.e., measured contact angle is the same as the one calculated using the linear additivity approximation of the Cassie equation)⁹⁸ for $\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}} \lesssim 0.2$, surface concentration below which the coverage of the mixed phase exceeds 80%. We attribute the greater hydrophobicity of the Fc/OH SAM for $0.2 < \chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}} < 1$ to shielding of the hydroxyl groups by the bulkier ferrocenes.⁹⁸

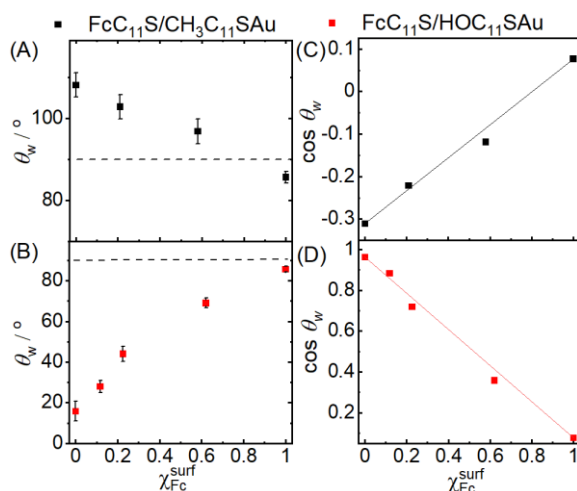


Figure 4. 6. Plots of the static water contact angle θ_w and corresponding cosine ($\cos \theta_w$) as function of $\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}}$ for binary SAMs. (A) and (C) Fc/CH₃. (B) and (D) Fc/OH. Dashed lines in (A) and (B) indicate the 90° lower limit above which surfaces are designated as hydrophobic. Values presented in (A) and (B) are the mean value and standard deviation of θ_w measured for 3–4 droplets per SAM surface.

4.5.3 Redox-Induced Adsorption of Phospholipid

CVs and SPR angle changes ($\Delta\Theta_{\min}$) were simultaneously recorded for potential sweeps of Fc/CH₃ and Fc/OH SAMs of $\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}} = 1.0, 0.6, 0.2, 0.1,$ and 0.0 between the reduced ferrocene and oxidized ferrocenium states in the presence of aqueous solutions of SUVs of anionic (DMPS, POPS, POPG) or zwitterionic (DPPC, POPS) phospholipid and 50 mM NaF. These ESPR experiments were carried out at 25 °C. At this temperature, DMPS and DPPC are in the gel state ($T_m > 25$ °C), whereas POPS, DOPC, and POPG are in the fluid phase ($T_m < 25$ °C) (**Figure 4. 2A**). NaF was added as a supporting electrolyte to reduce the resistance of the aqueous SUV solutions. The poor ion-pairing ability of F⁻ compared to ClO₄⁻^{41, 42} facilitates the ion-pairing association of the anionic and zwitterionic phospholipid headgroups with the oxidized ferrocenium. Moreover, the small size of the F⁻ counterion does not hinder fusion of the SUVs of zwitterionic phospholipids to the SAM surface.³⁹

Anionic Dialkyl Phosphatidylserines. In the case of the pure FcC₁₁SAu SAM ($\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}} = 1.0$), quasi-reversible electrochemistry is observed in the presence of SUVs of DMPS or POPS (**Figure 4. 7A**). The CVs reported herein are similar to those reported in earlier work using single-component FcC₁₂SAu SAMs.³⁹ An oxidation peak appears at around 0.61 V (vs. Ag/AgCl) for the gel-phase DMPS and 0.54 V for the fluid-phase POPS during the anodic potential sweep. Given the larger cross-sectional area of the phospholipid molecules ($\sim 0.48\text{--}0.65$ nm²)⁵⁷⁻⁵⁹ compared to the ferrocene (0.34 nm² molecule⁻¹)⁵⁶, it is unlikely that all of the surface-available ferrocenes in the single-component SAM are electrochemically oxidized and ion-paired with lipid headgroups.^{79, 99, 100} The ferrocene oxidation-induced adsorption of phospholipid at the SAM surface leads to an increase in the resonance angle Θ_{\min} as the applied potential is swept across the anodic peak. Θ_{\min} plateaus at potentials positive of the anodic peak. $\Delta\Theta_{\min}$ at the end of the anodic sweep (i.e., at $E = 0.65\text{--}0.70$ V) is $\sim 0.14^\circ$ for DMPS and $\sim 0.09^\circ$ for POPS. During the cathodic potential sweep, two reduction peaks of lower current density are observed at ~ 0.51 V and ~ 0.27 V for DMPS. A peak at ~ 0.45 V with shoulder at ~ 0.50 V are observed for POPS. There are only small changes in Θ_{\min} during the cathodic sweeps, indicating the irreversible adsorption of phospholipid: $\Delta\Theta_{\min} = 0.12^\circ$ for DMPS and 0.084° for POPS at $E = 0.0$ V.

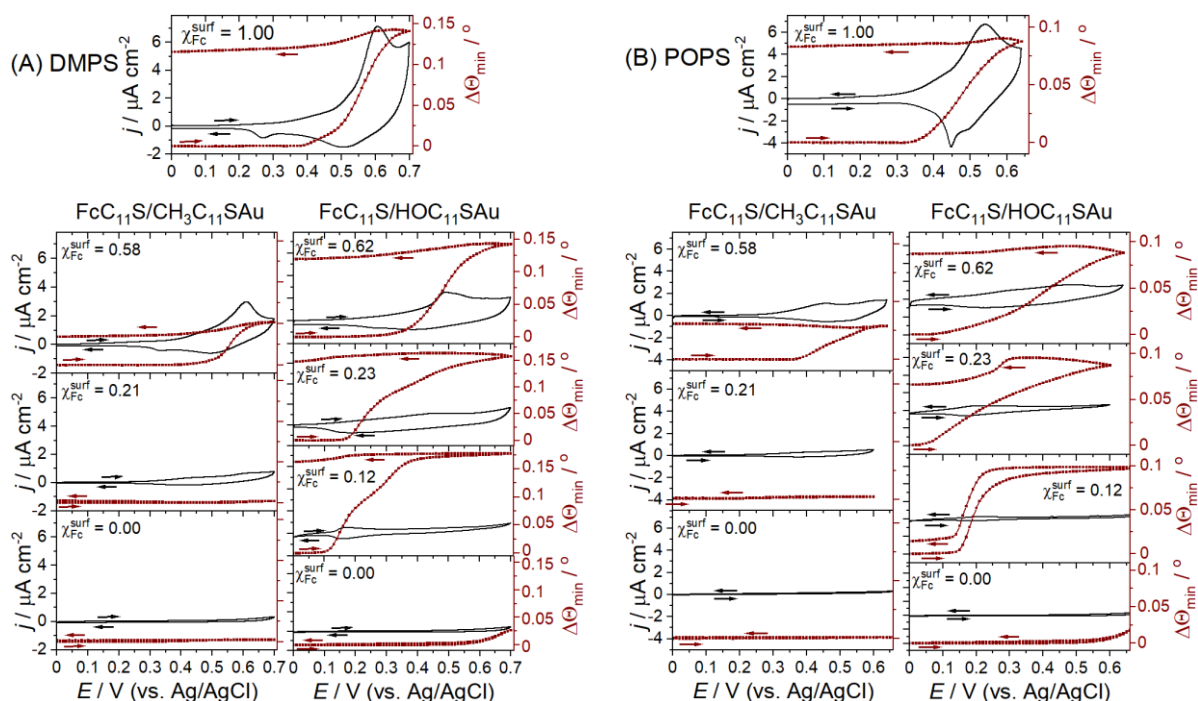


Figure 4. 7. Current density j and resonance angle change $\Delta\Theta_{\min}$ versus applied potential E for cyclic voltammetry sweeps of binary SAMs of different $\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}}$ in 50 mM NaF_(aq) solutions containing SUVs of (A) DMPS and (B) POPS at 25°C. Potential scan rate = 10 mV s⁻¹. FcC₁₁S/CH₃C₁₁SAu (left-hand side) and FcC₁₁S/HOC₁₁SAu (right-hand side).

When $\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}}$ is decreased by the incorporation of CH₃C₁₁S or HOC₁₁S into the FcC₁₁SAu SAM, the anodic peak current density decreases non-linearly with decreasing $\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}}$ (**Figure 4. S3A,B**). For the Fc/CH₃ SAM, $\Delta\Theta_{\min}$ recorded at the end of the anodic sweep also decreases non-linearly: $\sim 0.03\text{--}0.05^\circ$ at $\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}} = 0.58$ and $\sim 0.002^\circ$ at $\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}} = 0.21$ in the presence of either DMPS or POPS, indicating that less phospholipid adsorbs to the SAM surface with decreasing $\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}}$. $\Delta\Theta_{\min}$ of the Fc/OH SAM exhibits markedly different behavior to that of the Fc/CH₃ counterpart with $\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}}$. $\Delta\Theta_{\min}$ recorded at the end of the anodic sweep remains nearly constant with $\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}}$ between 0.1 and 1.0: $\sim 0.14\text{--}0.18^\circ$ for DMPS and $\sim 0.07\text{--}0.09^\circ$ for POPS. The largest decrease in Θ_{\min} , and hence phospholipid loss, is observed for the POPS at the lowest $\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}}$ investigated of 0.12 for Fc/OH.

The CVs of the single-component CH₃C₁₁S and HOC₁₁S SAMs (control surfaces) do not exhibit any redox peaks in solutions of either DMPS or POPS (**Figure 4. 7**). There is a near-zero change in Θ_{\min} ($\Delta\Theta_{\min} = \sim 0.001^\circ$) for the hydrophobic CH₃C₁₁S SAM over the anodic potential sweep,

indicating the absence of non-specific phospholipid adsorption on the SAM surface. A larger change ($\sim 0.026^\circ$ – 0.027°) is observed on the hydrophilic HOC₁₁S surface at the end of the anodic sweep. However, $\Delta\Theta_{\min}$ returns to zero at the end of the cathodic sweep.

Anionic Dialkyl Phosphatidylglycerol. POPG was chosen as a phospholipid model with an anionic hydrophilic headgroup (**Figure 4. 2A**). The redox-induced adsorption of the fluid-phase POPG onto the Fc/CH₃ and Fc/OH SAMs (**Figure 4. 8** and **4. S3C**) exhibits a similar trend with $\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}}$ as POPS (**Figure 4. 7B** and **4. S3B**).

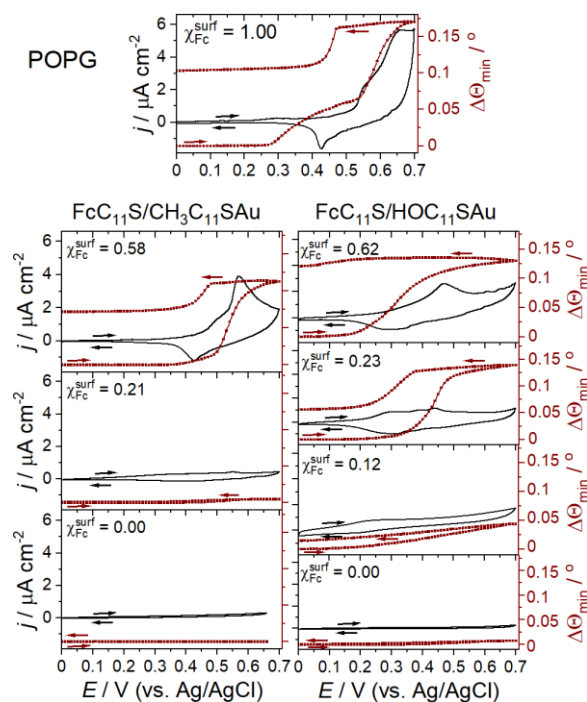


Figure 4. 8. Current density j and resonance angle change $\Delta\Theta_{\min}$ versus applied potential E for cyclic voltammetry sweeps of binary SAMs of different $\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}}$ in 50 mM NaF_(aq) solutions containing SUVs of POPG at 25°C. Potential scan rate = 10 mV s⁻¹. FcC₁₁S/CH₃C₁₁SAu (left-hand side) and FcC₁₁S/HOC₁₁SAu (right-hand side).

Zwitterionic Dialkylphosphatidylcholines. The effects of $\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}}$ and the SAM surface hydrophobicity/hydrophilicity on the redox-induced adsorption of gel-phase DPPC and fluid-phase DOPC were also investigated (**Figure 4. 9**). The pure $\text{FcC}_{11}\text{SAu}$ SAM shows quasi-reversible redox behavior in electrolyte solutions of SUVs of these dialkylphosphosphatidylcholines. The variation of Θ_{min} with applied potential during the oxidation–reduction voltammetric cycle indicates the irreversible adsorption of phospholipid. One notable difference is the variation of the anodic peak current density and $\Delta\Theta_{\text{min}}$ at the end of the anodic potential sweep with $\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}}$ between the zwitterionic DOPC and the anionic fluid-phase analogues on the Fc/CH_3 SAM. These values remain quasi-constant from $\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}} = 0.6$ to $\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}} = 0.2$ for DOPC (**Figure 4. S3E**) instead of decreasing as in the case of POPS (**Figure 4. S3B**) and POPG (**Figure 4. S3C**).

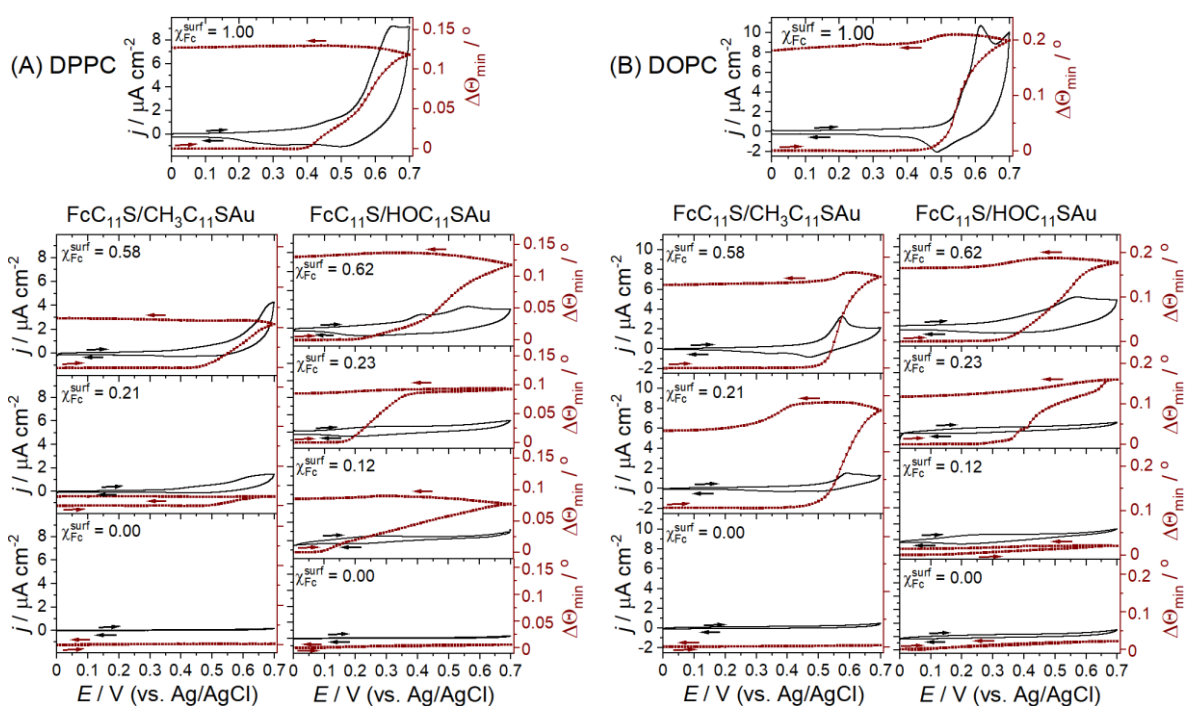


Figure 4. 9. Current density j and resonance angle change $\Delta\Theta_{\text{min}}$ versus applied potential E for cyclic voltammetry sweeps of binary SAMs of different $\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}}$ in 50 mM $\text{NaF}_{(\text{aq})}$ solutions containing SUVs of (A) DPPC and (B) DOPC at 25°C. Potential scan rate = 10 mV s^{-1} . $\text{FcC}_{11}\text{S}/\text{CH}_3\text{C}_{11}\text{SAu}$ (left-hand side) and $\text{FcC}_{11}\text{S}/\text{HOC}_{11}\text{SAu}$ (right-hand side).

4.5.4 Redox-Induced Supported Lipid Bilayer (SLB) Formation

While cyclic voltammetry informs on the electrochemical behavior and ion-pair association of the phospholipids to the electrogenerated ferroceniums, holding the applied potential at oxidizing values for a period of minutes is more effective than potential cycling at producing adsorbate layers of high phospholipid surface coverage (i.e., $\geq 90\%$ on pure ferrocene-terminated SAMs) and uniform thickness.³⁹ The applied potential is stepped from open circuit to 0.64 V (vs. Ag/AgCl) to generate the maximum concentration of ferrocenium and held at 0.64 V for a period of 5 min to allow the adsorbed vesicle–bilayer transformation to go to completion before stepping back to open circuit. During the potential step–hold, $\Delta\Theta_{\min}$ is recorded in real time (sensorgram) to follow the redox-induced surface deposition and fusion of the SUVs to the ferrocenium-terminated SAM surfaces of different $\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}}$ (**Figure 4. S4**). No change in Θ_{\min} is detected on exchanging the 50 mM NaF_(aq) solution with a 50 mM NaF_(aq) solution of SUVs, indicating the absence of non-specific adsorption at open circuit. Stepping the potential to 0.64 V to oxidize the SAM-bound ferrocene initially produces a jump in Θ_{\min} due to the redox-induced adsorption of phospholipid to the SAM surface that is followed by a slower increase and plateau of Θ_{\min} at longer time. This potential-induced increase in Θ_{\min} is observed at $\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}} = 1.0$ and 0.6 in the case of the Fc/CH₃ SAM and at $\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}} = 1.0, 0.6, 0.2,$ and 0.1 for the Fc/OH SAM. The return to open circuit after a potential hold time of 5 min results in either a small (or no) change in Θ_{\min} , pointing to the stability of the adsorbed layer of phospholipid, except for the fluid-phase POPS, POPG, and DOPC on the Fc/OH SAM at the lowest $\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}}$ investigated of 0.1 where $\Delta\Theta_{\min}$ decreases by a factor of ~ 3 –10.

The $\Delta\Theta_{\min}$ values for the different SAMs after return to open circuit are summarized in **Figures 4. 10–14A,B**. The $\Delta\Theta_{\min}$ value obtained by holding the SAM in the oxidized state for 2–5 min and returning to open circuit varies in the same manner with $\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}}$ (**Figures 4. 10–14A,B**) as that observed when sweeping the potential from the reduced to oxidized state (**Figures 4. 7–9**).

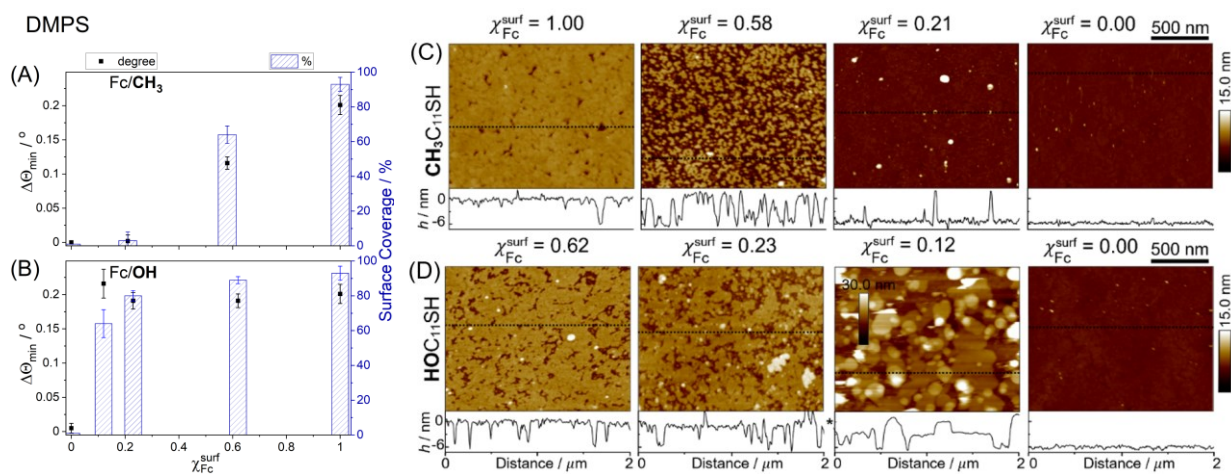


Figure 4. 10. Resonance angle change $\Delta\Theta_{\min}$ (black square) after 5 min of potential hold time at 0.64 V and stabilization at open circuit ($t = 15$ min in the corresponding sensograms, **Figure 4. S4**) of (A) FcC₁₁S/CH₃C₁₁SAu and (B) FcC₁₁S/HOC₁₁SAu SAMs of different $\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}}$ in 50 mM NaF_(aq) solutions of SUVs of DMPS at 25°C. AFM surface coverage (%) measured over areas of $2 \times 2 \mu\text{m}^2$ (blue hashed bar) (C) FcC₁₁S/CH₃C₁₁SAu and (D) FcC₁₁S/HOC₁₁SAu. Corresponding AFM height images acquired at ambient temperature and line sections. *Height (z) is 12 nm full scale.

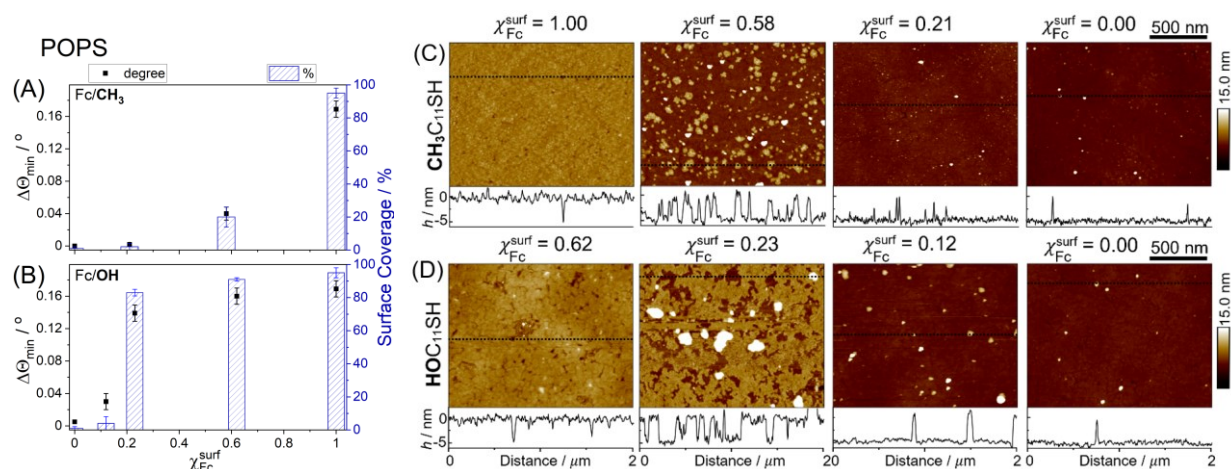


Figure 4. 11. Resonance angle change $\Delta\Theta_{\min}$ (black square) after 5 min of potential hold time at 0.64 V and stabilization at open circuit ($t = 15$ min in the corresponding sensograms, **Figure 4. S4**) of (A) FcC₁₁S/CH₃C₁₁SAu and (B) FcC₁₁S/HOC₁₁SAu SAMs of different $\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}}$ in 50 mM NaF_(aq) solutions of SUVs of POPS at 25°C. AFM surface coverage (%) measured over areas of $2 \times 2 \mu\text{m}^2$ (blue hashed bar) (C) FcC₁₁S/CH₃C₁₁SAu and (D) FcC₁₁S/HOC₁₁SAu. Corresponding AFM height images acquired at ambient temperature and line sections.

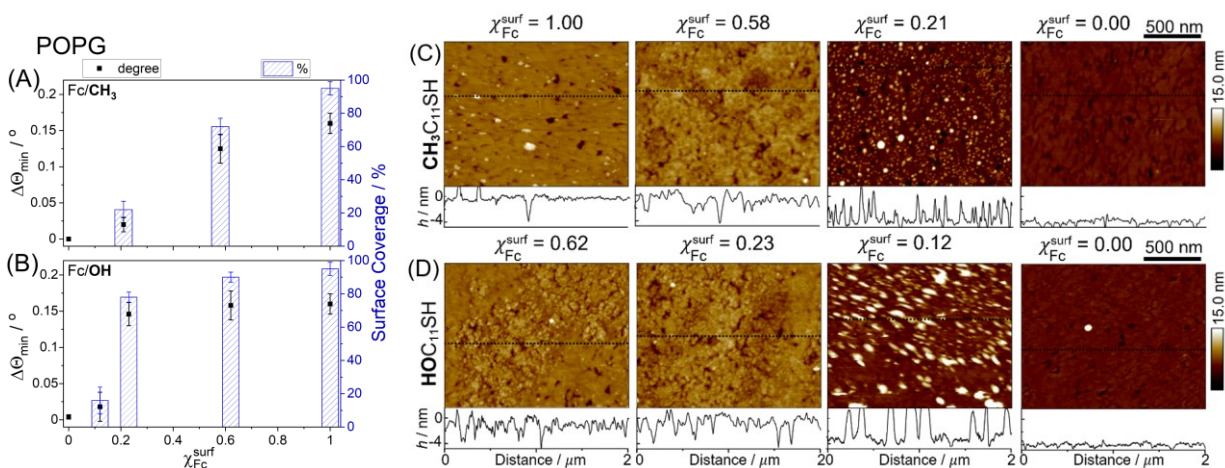


Figure 4. 12. Resonance angle change $\Delta\Theta_{min}$ (black square) after 5 min of potential hold time at 0.64 V and stabilization at open circuit ($t = 15$ min in the corresponding sensograms, **Figure 4. S4**) of (A) FcC₁₁S/CH₃C₁₁SAu and (B) FcC₁₁S/HOC₁₁SAu SAMs of different χ_{Fc}^{surf} in 50 mM NaF_(aq) solutions of SUVs of POPG at 25°C. AFM surface coverage (%) measured over areas of $2 \times 2 \mu\text{m}^2$ (blue hashed bar) (C) FcC₁₁S/CH₃C₁₁SAu and (D) FcC₁₁S/HOC₁₁SAu. Corresponding AFM height images acquired at ambient temperature and line sections.

For the pure FcC₁₁SAu SAM, $\Delta\Theta_{min}$ is $0.21 \pm 0.01^\circ$ for DMPS and $0.17 \pm 0.01^\circ$ for POPS. These values yield effective adsorbate film thicknesses of 5.2 ± 0.3 nm for DMPS and 4.1 ± 0.2 nm for POPS that are close to the anhydrous bilayer thicknesses determined by X-ray and neutron scattering (4.4 nm for DMPS and 4.2 nm for POPS).^{101, 102} Similarly, the effective thicknesses calculated for DPPC, DOPC, and POPG (**Table 4. 2**) are in agreement with previously published data.^{51, 103} Ion pair formation between the phosphate and/or carboxylate of the anionic phospholipid head and positively-charged ferrocenium induces sufficient tension or deformation of the adsorbed vesicles to cause them to rupture and form a bilayer. In the case of the zwitterionic phospholipids, ion pairing of the headgroup phosphate with the ferrocenium leaves a positive charge (choline group) in the region of vesicle–SAM surface interaction that is compensated by the electrolyte anion.³⁹

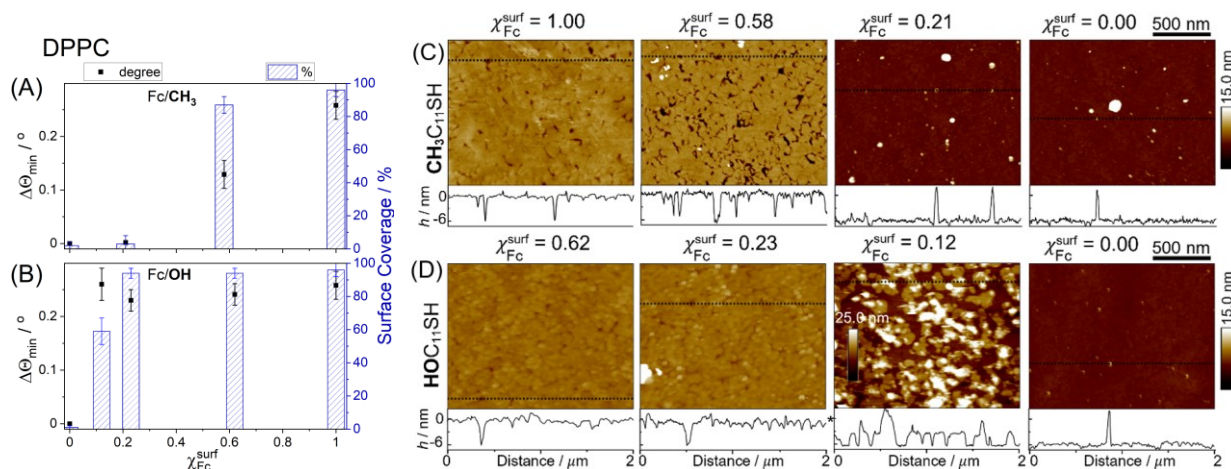


Figure 4. 13. Resonance angle change $\Delta\Theta_{\min}$ (black square) after 2 min of potential hold time at 0.64 V and stabilization at open circuit ($t = 10$ min in the corresponding sensograms, **Figure 4. S4**) of (A) FcC₁₁S/CH₃C₁₁SAu and (B) FcC₁₁S/HOC₁₁SAu SAMs of different $\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}}$ in 50 mM NaF_(aq) solutions of SUVs of DPPC at 25°C. AFM surface coverage (%) measured over areas of $2 \times 2 \mu\text{m}^2$ (blue hashed bar) (C) FcC₁₁S/CH₃C₁₁SAu and (D) FcC₁₁S/HOC₁₁SAu. Corresponding AFM height images acquired at ambient temperature and line section. *Height (z) is 12 nm full scale.

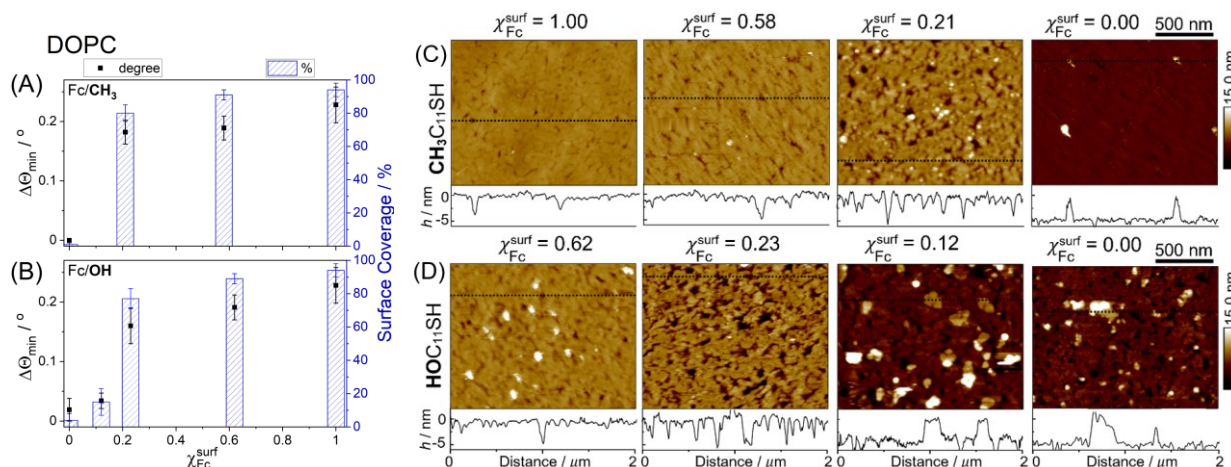


Figure 4. 14. Resonance angle change $\Delta\Theta_{\min}$ (black square) after 2 min of potential hold time at 0.64 V and stabilization at open circuit ($t = 10$ min in the corresponding sensograms, **Figure 4. S4**) of (A) FcC₁₁S/CH₃C₁₁SAu and (B) FcC₁₁S/HOC₁₁SAu SAMs of different $\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}}$ in 50 mM NaF_(aq) solutions of SUVs of DOPC at 25°C. AFM surface coverage (%) measured over areas of $2 \times 2 \mu\text{m}^2$ (blue hashed bar) (C) FcC₁₁S/CH₃C₁₁SAu and (D) FcC₁₁S/HOC₁₁SAu. Corresponding AFM height images acquired at ambient temperature and line sections.

AFM is used to characterize the surface coverage and morphology of the phospholipid layers added on the different SAMs by potential step to and hold at 0.64 V for 2–5 min followed by copious rinsing with water (**Figures 4. 10–14C,D**). Homogeneous layers cover ~95% of the FcC₁₁SAu SAM surface ($\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}} = 1.0$). The film thicknesses determined from the depths of hole defects in the bilayers (**Table 4. 2**) are close to those calculated from the $\Delta\Theta_{\text{min}}$ values measured by ESPR and those determined previously using AFM nanoshaving and/or force spectroscopy.³⁹ The thicknesses determined by AFM and ESPR correspond to single bilayers. In the case of DMPS and DPPC, the SLB thickness is consistent with the gel phase based on the thicknesses of monolayer films of DMPS on water determined by X-ray reflectometry of 2.0 ± 0.3 nm for the fluid/liquid-expanded phase and 2.8 ± 0.2 nm for the gel/condensed phase¹⁰⁴ and the thicknesses measured by AFM-based indentation for SLBs of DPPC of 5.8 nm at 22 °C ($T < T_m$) and 4.0 nm at 65 °C ($T > T_m$).¹⁰⁵ Bilayers in the fluid phase are thinner than those in the gel state due to a higher proportion of gauche conformational defects of the alkyl chains compared to the predominantly trans conformation in the gel phase.¹⁰⁶

Table 4. 2. Thicknesses of SLBs Formed by Potential Step–Hold Determined by AFM^a and SPR^b.

Lipid / T _m (°C)	$\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}} = 1.00$	FcC ₁₁ SH in CH ₃ C ₁₁ SAu		FcC ₁₁ SH in HOC ₁₁ SAu	
		$\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}} = 0.58$	$\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}} = 0.21$	$\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}} = 0.62$	$\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}} = 0.23$
DMPS / 35	5.5 ± 0.3 5.1 ± 0.4 (SPR)	5.9 ± 0.4	–	5.6 ± 0.3	5.5 ± 0.3
POPS / 14	4.5 ± 0.2 4.3 ± 0.3 (SPR)	4.8 ± 0.5	–	4.4 ± 0.3	4.6 ± 0.3
DPPC / 41	6.1 ± 0.4 6.2 ± 0.3 (SPR)	6.0 ± 0.4	–	5.8 ± 0.4	5.9 ± 0.3
DOPC / -17	4.5 ± 0.3 4.6 ± 0.4 (SPR)	4.4 ± 0.4	4.6 ± 0.3	4.6 ± 0.3	4.7 ± 0.5
POPG / -2	4.0 ± 0.4 3.9 ± 0.4 (SPR)	3.8 ± 0.6	4.9	4.1 ± 0.4	3.9 ± 0.4

^a Values are the average of three line sections of 2 μm length. ^b SLB thicknesses determined for the single-component FcC₁₁SAu SAMs using the Fresnel layer model given in **Table 4. 1**.

Fc/CH₃ versus Fc/OH SAM. The phospholipid surface coverages as a function of $\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}}$ track the trends of $\Delta\Theta_{\text{min}}$ versus $\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}}$ (**Figures 4. 10–14A,B**). Decreasing $\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}}$ to 0.58 for Fc/CH₃ decreases the surface coverages of the DMPS, POPS, POPG, DPPC, and DOPC to ~64%, ~20%, ~70%, ~85%, and ~90%, respectively. The mean thicknesses of the phospholipid layers are similar to those of the bilayers formed on the pure FcC₁₁SAu SAM (Table 4. 2). At $\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}} = 0.21$, the surface coverage of phospholipid is $\lesssim 5\%$ for DMPS, POPS, and DPPC, and ~80% for DOPC and ~20% for POPG. The thicknesses of the DOPC and POPG patches correspond to that of bilayers. By contrast, the change in the phospholipid surface coverage is modest on going from $\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}} = 1.0$ (~95%) to 0.23 (~80%) on the Fc/OH SAM (**Figures 4. 10–14A,B**) and the film thicknesses remain the same (Table 4. 2). Moreover, the variation of the molecular heterogeneity of the binary SAM across this wide range of ferrocene concentration does not affect the distribution of phospholipid across the surface. There is significant lipid adsorption of only the gel-phase forming DMPS and DPPC (~60% surface coverage for both lipids) at $\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}}$ of 0.12 on the Fc/OH SAM. No phospholipid adsorbate is observed by AFM on the pure SAMs of CH₃C₁₁SAu and HOC₁₁SAu under the experimental conditions used for potential–step hold (**Figures 4. 10–14**).

4.5.5 Surface Hydrophilicity Matters

The increased hydrophilicity of the mixed Fc/OH SAM mitigates the effect of a lower $\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}}$ on the bilayer surface coverage, bringing the critical $\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}}$ down to at least 0.2, where the SLB coverage remains high at $\gtrsim 80\%$. At this $\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}}$ value, ~80% of the ferrocenes are dispersed across the OH-terminated matrix (peak I, **Figure 4. 5B**). The electrochemical oxidation of the ferrocene to ferrocenium yields changes in θ_w that vary from 12° to 28° on pure ferrocene-terminated SAMs.⁹⁰⁻⁹² In addition to the ion-pairing interactions between the phospholipid headgroups and SAM-bound ferroceniums, this redox-induced increase in surface hydrophilicity may also facilitate the adhesion, rupture, and fusion of the phospholipid vesicles to the SAM surface. Lowering the ferrocene surface concentration in the mixed SAMs decreases the number of ion-pairing interactions as well as the redox-induced change in the surface hydrophilicity. θ_w of the Fc/OH SAM is 28° and 59° lower than that of Fc/CH₃ at $\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}}$ of 0.6 and 0.2, respectively. The marked effect of this increased hydrophilicity manifests itself in the anodic peak potentials, which are -45

mV and -104 mV less for peak I of the Fc/OH SAM compared to the Fc/CH₃ SAM at $\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}}$ of 0.6 and 0.2, respectively (**Figure 4. 5C,D**). The increased hydrophilicity and surface adhesion energy of the Fc/OH SAM is therefore sufficient to drive the vesicle–bilayer transformation in the presence of a lower surface density of ferrocenium groups. Ion-pairing interactions are nonetheless necessary as no bilayer forms on the hydrophilic HOC₁₁S SAM under the same experimental conditions (cyclic voltammetry or potential–step hold) and short time period employed for the mixed Fc/OH SAM.

4.5.6 Influence of the Phospholipid Phase State and Headgroup

Bilayer-thick patches of the gel-phase DMPS and DPPC cover ~60% of the Fc/OH SAM surface at $\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}}$ of 0.1 (**Figures 4. 10C,D** and **4. 13C,D**), while the phospholipid coverage is \lesssim 10% at this low $\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}}$ in the case of the SUVs of POPS, POPG, and DOPC in the fluid phase (**Figures 4. 11C,D**, **4. 12C,D**, and **4. 14C,D**). Although the fluid-phase SUVs adsorb to the Fc/OH SAM of $\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}} = 0.1$, phospholipid desorbs from the SAM surface when the applied potential is removed and the ESPR cell is returned to open circuit (**Figure 4. S4**). Bilayer membranes in the gel phase exhibit reduced lateral mobility and greater stiffness than those in the fluid phase.^{107, 108} The membrane flattens and irreversibly deforms under an applied tension.¹⁰⁹ Moreover, SUVs spontaneously fuse at temperatures below the phase transition temperature of the lipid forming the vesicle.¹¹⁰ By contrast, fluid membranes are more flexible and compressible, due to the higher lipid mobility within the bilayer and larger molecular area, allowing them to recover their shape after an applied tension is removed.¹¹¹ Consequently, the high surface adhesion energy of the Fc/OH surface with 90% OH groups could induce sufficient stress or deformation of the adsorbed SUVs in the gel phase, but not of those in the fluid phase, to cause them to rupture and form solid-like/condensed bilayer patches.

Another notable finding is the high bilayer coverage of DOPC (80%) on the Fc/CH₃ SAM surface at $\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}} \approx 0.2$ (**Figure 4. 14A,B**). We hypothesize that bilayer formation is driven by hydrophobic interactions between the methyl groups of the charge neutral phosphatidylcholine headgroups and SAM surface and the fluid state of the vesicle membrane.

4.6 Conclusions

We examined the influence of the surface hydrophobicity/hydrophilicity on the ferrocene concentration required for the formation of supported lipid single bilayers via the ion-pairing association of the anionic or zwitterionic headgroups of phospholipids in SUVs to the electrogenerated SAM-bound ferroceniums. The mole fraction of ferrocene was varied from 0.6 to 0.1 by forming binary SAMs of FcC₁₁S/CH₃C₁₁S or FcC₁₁S/HOC₁₁S. In the former system, the surface hydrophobicity remains near constant with $\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}}$ ($\theta_w = 97^\circ$ for $\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}} = 0.6$ and $\theta_w = 103^\circ$ for $\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}} = 0.2$) while the surface hydrophilicity varies with $\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}}$ in the latter case (θ_w decreases from 69° at $\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}} = 0.6$ to 28° at $\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}} = 0.2$). Reducing the ferrocene surface concentration in the hydrophobic Fc/CH₃ SAM results in a reduced phospholipid coverage, except for DOPC whose SLB coverage remains high down to $\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}} = 0.2$ (~80%). We propose that the interaction of the methyl groups of the zwitterionic phosphatidylcholine heads with the hydrophobic surface and the fluid nature of the DOPC promotes the fusion and spreading of the SUVs to form a bilayer. By contrast, all of the phospholipid types investigated form bilayer membranes of high surface coverage ($\geq 80\%$) at $\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}}$ down to 0.2 on the more hydrophilic Fc/OH SAM. The increased surface adhesion energy that accompanies the decrease of $\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}}$ drives vesicle rupture and the addition of a bilayer of phospholipid as the ion-pairing interactions are diminished. The adsorbed vesicles of the stiffer gel-phase DMPS and DPPC rupture and form bilayer patches on the Fc/OH SAM at $\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}} = 0.1$. The ability to reduce the number of ferrocene groups in order to introduce surface hydroxyl groups should aid in increasing the lateral mobility of the SLB (to be determined in future work) and provide a more hydrophilic underlying environment for the incorporation of transmembrane proteins and biomolecules into the SLB for investigations of biomolecular recognition processes using surface-sensitive characterization techniques.

4.7 Acknowledgements

This research was supported by the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada through Discovery grant no. RGPIN-2019-04883 (A.B.) and a Postgraduate Graduate Scholarship – Doctoral (O.H.).

4.8 Supporting Information

Table 4. S1. Solution mole fraction of ferrocene ($\chi_{\text{Fc}}^{\text{soln}}$), anodic peak potential (E_{pa}), ferrocene surface coverage ($\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}}$), and surface coverages of the anodic peaks I and II ferrocenium populations for SAMs formed by the co-adsorption of FcC₁₁SH and CH₃C₁₁SH. Values are the mean value and standard deviation of 3 independent SAMs.

Total			Peak I ^b			Peak II ^b		
$\chi_{\text{Fc}}^{\text{soln}}$	$\Gamma_{\text{Fc}^+} / \text{mol.cm}^{-2}$	$\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}}$	$E_{\text{pa}} / \text{mV}$	$\Gamma_{\text{Fc}^+}^{\text{I}} / \text{mol.cm}^{-2}$	%	$E_{\text{pa}} / \text{mV}$	$\Gamma_{\text{Fc}^+}^{\text{II}} / \text{mol.cm}^{-2}$	%
1.00	4.9×10^{-10}	1.00	277 ± 12	1.5×10^{-10}	31 ± 4	394 ± 9	3.4×10^{-10}	69 ± 4
0.75	3.8×10^{-10}	0.78	275 ± 16	1.3×10^{-10}	33 ± 6	376 ± 12	2.6×10^{-10}	77 ± 6
0.50	2.9×10^{-10}	0.58	300 ± 8	1.3×10^{-10}	46 ± 3	385 ± 6	1.5×10^{-10}	54 ± 3
0.25	1.4×10^{-10}	0.28	316 ± 7	8.83×10^{-11}	64 ± 3	392 ± 8	5.0×10^{-11}	36 ± 2
0.20	1.0×10^{-10}	0.21	323 ± 13	9.1×10^{-11}	88 ± 3	396 ± 12	1.5×10^{-11}	14 ± 3
0.10	4.5×10^{-11}	0.09	318 ± 15	4.4×10^{-11}	96 ± 2	399 ± 12	1.8×10^{-12}	4 ± 2
0.05	1.9×10^{-11}	0.04	311 ± 14	1.9×10^{-11}	100			

^a Calculated from measured total Γ_{Fc^+} , assuming that the full coverage of a FcC₁₁SAu SAM is $4.9 \times 10^{-10} \text{ mol.cm}^{-2}$. ^b Determined by mathematical deconvolution using a Gaussian function for peak I and Lorentzian function for peak II.

Table 4. S2. Solution mole fraction of ferrocene ($\chi_{\text{Fc}}^{\text{soln}}$), anodic peak potential (E_{pa}), ferrocene surface coverage ($\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}}$), and surface coverages of the anodic peaks I and II ferrocenium populations for SAMs formed by the co-adsorption of FcC₁₁SH and HOC₁₁SH. Values are the mean value and standard deviation of 3 independent SAMs.

Total			Peak I ^b			Peak II ^b		
$\chi_{\text{Fc}}^{\text{soln}}$	$\Gamma_{\text{Fc}^+} / \text{mol.cm}^{-2}$	$\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}}$	$E_{\text{pa}} / \text{mV}$	$\Gamma_{\text{Fc}^+}^{\text{I}} / \text{mol.cm}^{-2}$	%	$E_{\text{pa}} / \text{mV}$	$\Gamma_{\text{Fc}^+}^{\text{II}} / \text{mol.cm}^{-2}$	%
1.00	4.9×10^{-10}	1.00	277 ± 12	1.5×10^{-10}	31 ± 4	394 ± 9	3.4×10^{-10}	69 ± 4
0.75	4.0×10^{-10}	0.82	261 ± 7	1.1×10^{-10}	27 ± 5	379 ± 6	2.9×10^{-10}	73 ± 5
0.50	3.1×10^{-10}	0.62	255 ± 8	1.8×10^{-10}	58 ± 3	379 ± 8	1.3×10^{-10}	42 ± 3
0.25	1.7×10^{-10}	0.35	236 ± 9	1.3×10^{-10}	77 ± 4	341 ± 12	4.0×10^{-11}	23 ± 4
0.20	1.1×10^{-10}	0.23	219 ± 9	8.9×10^{-11}	80 ± 3	327 ± 9	2.2×10^{-11}	20 ± 3
0.10	5.8×10^{-11}	0.12	218 ± 10	5.2×10^{-11}	90 ± 2	319 ± 9	5.8×10^{-12}	10 ± 2
0.05	2.6×10^{-11}	0.05	202 ± 12	2.6×10^{-11}	100			

^a Calculated from measured total Γ_{Fc^+} , assuming that the full coverage of a FcC₁₁SAu SAM is $4.9 \times 10^{-10} \text{ mol.cm}^{-2}$. ^b Determined by mathematical deconvolution using Gaussian function for peak I and Lorentzian function for peak II.

Table 4. S3. Static water contact angle (θ_w) and corresponding cosine ($\cos \theta_w$).

FcC ₁₁ S/CH ₃ C ₁₁ SAu			FcC ₁₁ S/HOC ₁₁ SAu		
$\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}}$	$\theta_w / ^\circ$	$\cos \theta_w$	$\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}}$	$\theta_w / ^\circ$	$\cos \theta_w$
1.00	85.6 ± 1.4	0.077	1.00	85.6 ± 1.4	0.077
0.58	96.8 ± 3.0	-0.118	0.62	69.0 ± 2.4	0.358
0.21	102.8 ± 3.0	-0.221	0.23	44.0 ± 3.6	0.719
-	-	-	0.12	27.9 ± 3.0	0.884
0.00	108.1 ± 3.1	-0.311	0.00	15.8 ± 4.8	0.962

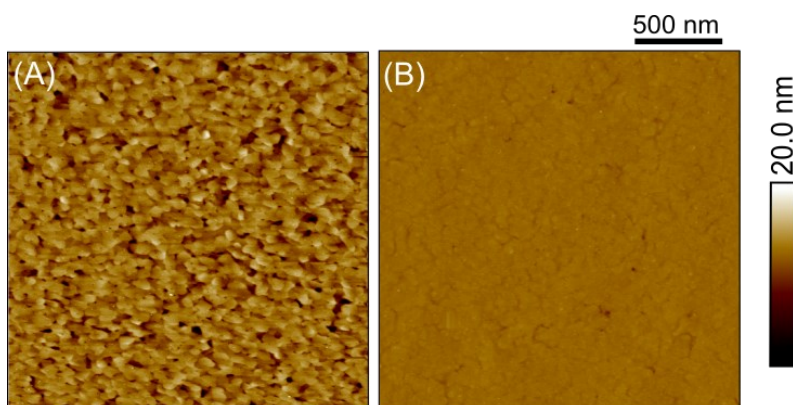


Figure 4. S1. $2 \mu\text{m} \times 2 \mu\text{m}$ AFM height images in deionized-distilled water of FcC₁₂SAu SAM on (A) thermally-evaporated gold used for ESPR and (B) template-stripped gold employed for AFM imaging of SLBs. The root-mean-square roughness is (A) $1.9 \pm 0.3 \text{ nm}$ for areas of $2 \times 2 \mu\text{m}^2$ and $0.6 \pm 0.1 \text{ nm}$ inside gold grains, and (B) $0.3 \pm 0.1 \text{ nm}$ over areas of $2 \times 2 \mu\text{m}^2$.

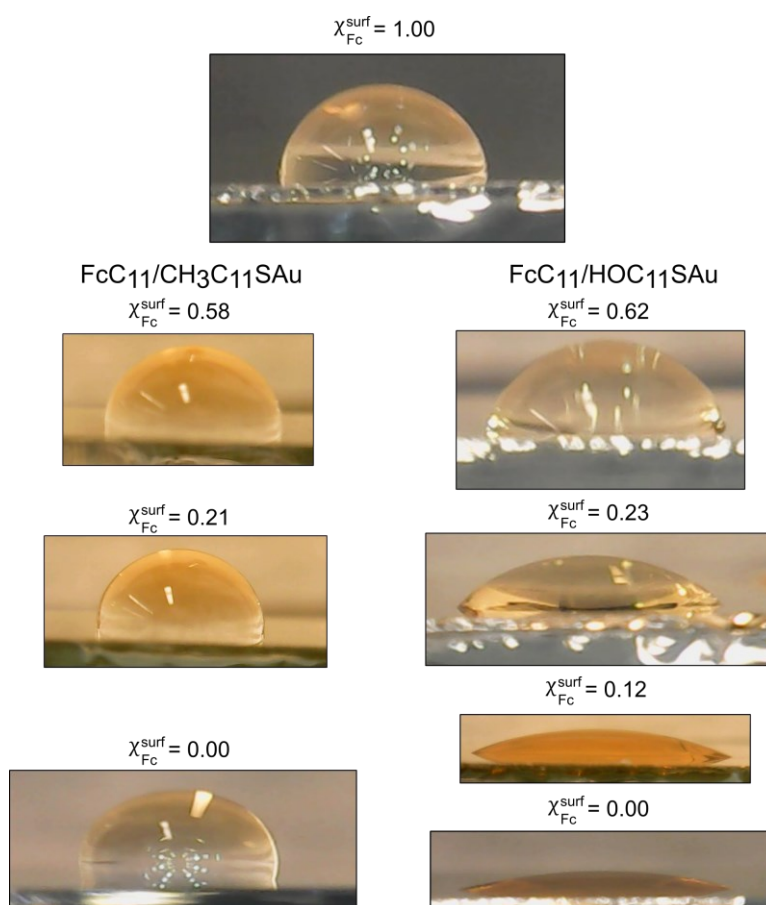


Figure 4. S2. Images of water droplets deposited onto binary SAMs composed of FcC₁₁SAu and CH₃C₁₁SH (left-hand side) or HOC₁₁SH (right-hand side) of different χ_{Fc}^{surf} and used for static contact angle (θ_w) measurements.

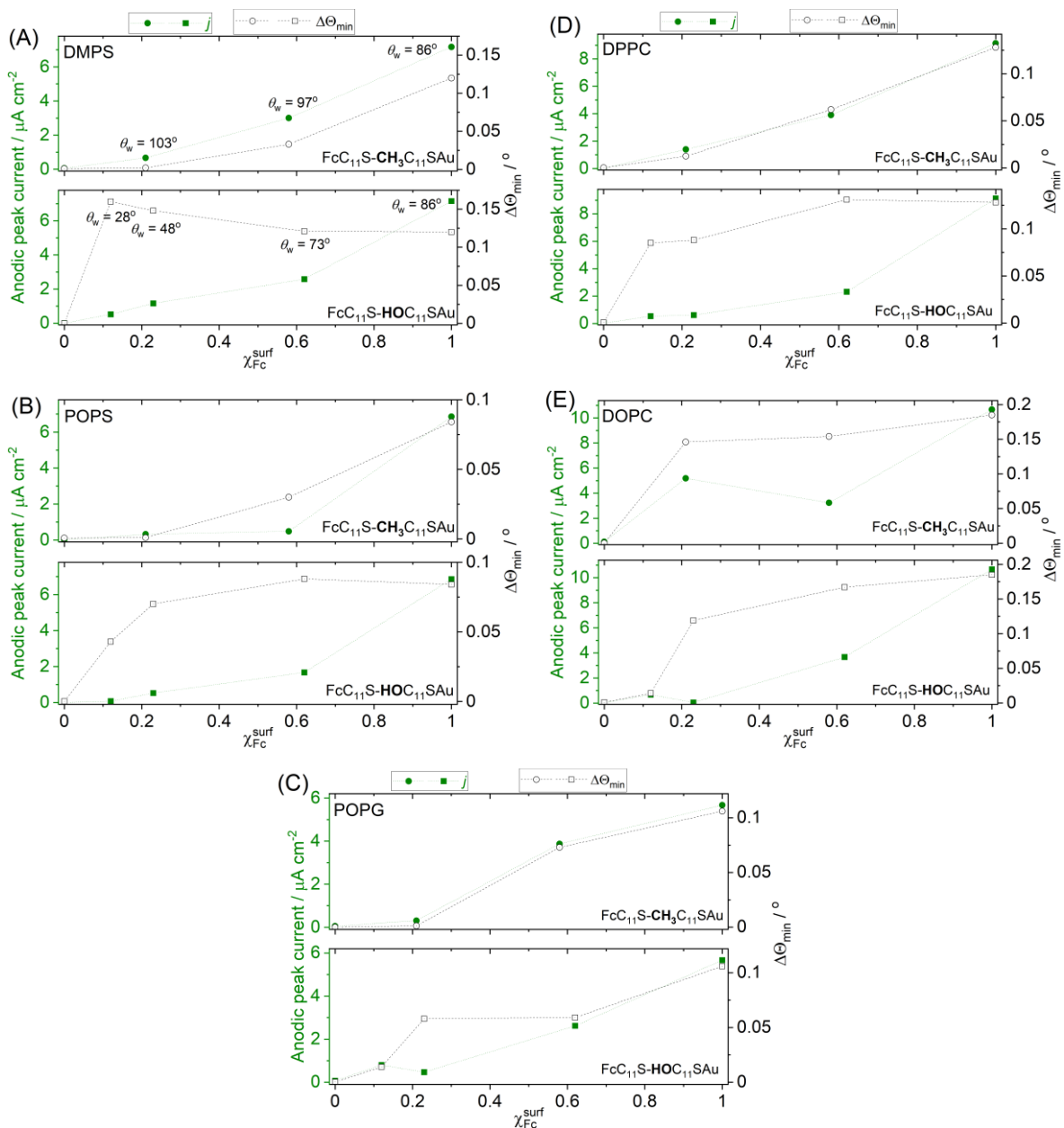


Figure 4. S3. Anodic peak current (j , green) and resonance angle change ($\Delta\Theta_{\min}$, black) extracted at the end of the cathodic segment of the cyclic voltammogram and plotted as function of $\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}}$ for binary SAMs of $\text{FcC}_{11}\text{SAu}$ and $\text{CH}_3\text{C}_{11}\text{SAu}$ (circles) or HOC_{11}SH (squares) in 50 mM $\text{NaF}_{(\text{aq})}$ solutions of SUVs of (A) DMPS, (B) POPS, (C) POPG, (D) DPPC, and (E) DOPC at 25 °C. Potential scan rate = 10 mV s^{-1} .

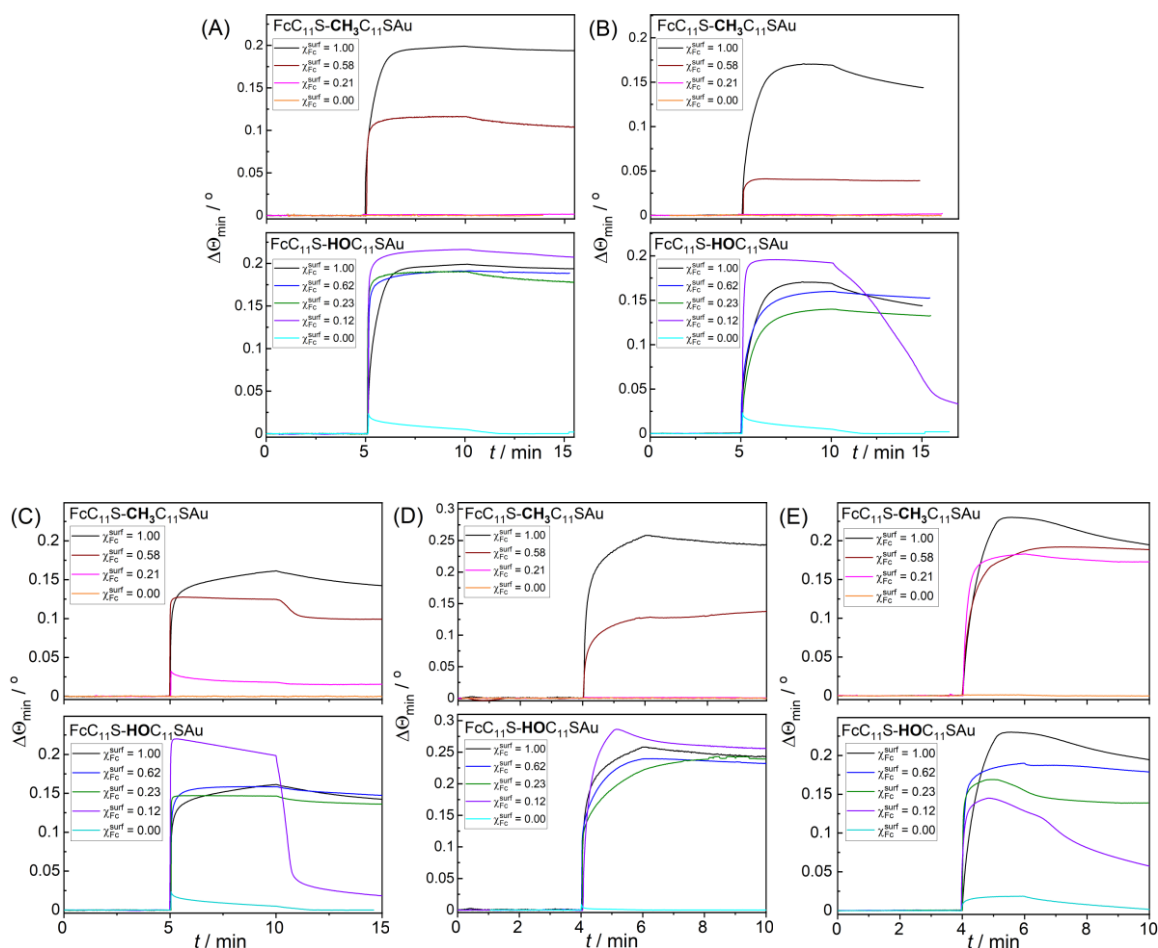


Figure 4. S4. Resonance angle change ($\Delta\Theta_{\min}$) versus time (t) for the interaction of 50 mM $\text{NaF}_{(\text{aq})}$ solutions of SUVs of (A) DMPS, (B) POPS, (C) POPG, (D) DPPC, and (E) DOPC with $\text{FcC}_{11}\text{S}/\text{CH}_3\text{C}_{11}\text{SAu}$ and $\text{FcC}_{11}\text{S}/\text{HOC}_{11}\text{SAu}$ SAM surfaces of different $\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}}$ at 25 °C. (A), (B), and (C) open circuit at $t = 0\text{--}5$ min, $E = 0.64$ V (vs. Ag/AgCl) at $t = 5\text{--}10$ min, and return to open circuit at $t = 10\text{--}15$ min. (D) and (E) open circuit at $t = 0\text{--}4$ min, $E = 0.64$ V (vs. Ag/AgCl) at $t = 4\text{--}6$ min, and return to open circuit at $t = 6\text{--}10$ min.

4.9 References

1. Castellana, E. T.; Cremer, P. S., Solid Supported Lipid Bilayers: From Biophysical Studies to Sensor Design. *Surf. Sci. Rep.* **2006**, *61*, 429-444.
2. van Weerd, J.; Karperien, M.; Jonkheijm, P., Supported Lipid Bilayers for the Generation of Dynamic Cell–Material Interfaces. *Adv. Healthcare Mater.* **2015**, *4* (18), 2743-2779.
3. Sackmann, E., Supported Membranes: Scientific and Practical Applications. *Science* **1996**, *271* (5245), 43-48.
4. Andersson, J.; Bilotto, P.; Mears, L. L. E.; Fossati, S.; Ramach, U.; Köper, I.; Valtiner, M.; Knoll, W., Solid-supported lipid bilayers – A versatile tool for the structural and functional characterization of membrane proteins. *Methods* **2020**, *180*, 56-68.
5. Jackman, J. A.; Knoll, W.; Cho, N.-J., Biotechnology Applications of Tethered Lipid Bilayer Membranes. *Materials* **2012**, *5* (12).
6. Wang, L.; Roth, J. S.; Han, X.; Evans, S. D., Photosynthetic Proteins in Supported Lipid Bilayers: Towards a Biokleptic Approach for Energy Capture. *Small* **2015**, *11* (27), 3306-3318.
7. Mouritsen, O. G., Survival by Lipids. In *Life — As a Matter of Fat: The Emerging Science of Lipidomics*, Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, 2005; pp 209-223.
8. Afanasenkau, D.; Offenhäusser, A., Positively Charged Supported Lipid Bilayers as a Biomimetic Platform for Neuronal Cell Culture. *Langmuir* **2012**, *28* (37), 13387-13394.
9. Glazier, R.; Salaita, K., Supported lipid bilayer platforms to probe cell mechanobiology. *Biochim. Biophys. Acta Biomembr.* **2017**, *1859* (9, Part A), 1465-1482.
10. Keller, C. A.; Kasemo, B., Surface specific kinetics of lipid vesicle adsorption measured with a quartz crystal microbalance. *Biophys. J.* **1998**, *75* (3), 1397-1402.
11. Dufrêne, Y. F.; Lee, G. U., Advances in the characterization of supported lipid films with the atomic force microscope. *Biochim. Biophys. Acta Biomembr.* **2000**, *1509* (1), 14-41.
12. Richter, R.; Mukhopadhyay, A.; Brisson, A., Pathways of lipid vesicle deposition on solid surfaces: a combined QCM-D and AFM study. *Biophys. J.* **2003**, *85* (5), 3035-3047.
13. Richter, R. P.; Brisson, A. R., Following the Formation of Supported Lipid Bilayers on Mica: A Study Combining AFM, QCM-D, and Ellipsometry. *Biophys. J.* **2005**, *88* (5), 3422-3433.
14. Matyszewska, D.; Bilewicz, R.; Su, Z.; Abbasi, F.; Leitch, J. J.; Lipkowski, J., PM-IRRAS Studies of DMPC Bilayers Supported on Au(111) Electrodes Modified with Hydrophilic Monolayers of Thioglucose. *Langmuir* **2016**, *32* (7), 1791-1798.
15. Anderson, T. H.; Min, Y.; Weirich, K. L.; Zeng, H.; Fygenon, D.; Israelachvili, J. N., Formation of Supported Bilayers on Silica Substrates. *Langmuir* **2009**, *25* (12), 6997-7005.
16. Cha, T.; Guo, A.; Zhu, X. Y., Formation of Supported Phospholipid Bilayers on Molecular Surfaces: Role of Surface Charge Density and Electrostatic Interaction. *Biophys. J.* **2006**, *90* (4), 1270-1274.
17. Richter, R. P.; Bérat, R.; Brisson, A. R., Formation of Solid-Supported Lipid Bilayers: An Integrated View. *Langmuir* **2006**, *22* (8), 3497-3505.
18. Ekeröth, J.; Konradsson, P.; Höök, F., Bivalent-Ion-Mediated Vesicle Adsorption and Controlled Supported Phospholipid Bilayer Formation on Molecular Phosphate and Sulfate Layers on Gold. *Langmuir* **2002**, *18* (21), 7923-7929.
19. Reimhult, E.; Höök, F.; Kasemo, B., Intact Vesicle Adsorption and Supported Biomembrane Formation from Vesicles in Solution: Influence of Surface Chemistry, Vesicle Size, Temperature, and Osmotic Pressure. *Langmuir* **2003**, *19* (5), 1681-1691.

20. Dacic, M.; Jackman, J. A.; Yorulmaz, S.; Zhdanov, V. P.; Kasemo, B.; Cho, N.-J., Influence of Divalent Cations on Deformation and Rupture of Adsorbed Lipid Vesicles. *Langmuir* **2016**, *32* (25), 6486-6495.
21. Tero, R., Substrate Effects on the Formation Process, Structure and Physicochemical Properties of Supported Lipid Bilayers. *Materials* **2012**, *5* (12), 2658-2680.
22. Cho, N.-J.; Frank, C. W.; Kasemo, B.; Höök, F., Quartz Crystal Microbalance with Dissipation Monitoring of Supported Lipid Bilayers on Various Substrates. *Nat. Protoc.* **2010**, *5* (6), 1096-1106.
23. Andrews, J. T.; Baker, K. E.; Handloser, J. T.; Bridges, N.; Krone, A. A.; Kett, P. J. N., Formation of Supported Lipid Bilayers (SLBs) from Buffers Containing Low Concentrations of Group I Chloride Salts. *Langmuir* **2021**, *37* (44), 12819-12833.
24. Contact Angle of Water on Smooth Surfaces and Wettability, (cité en April 20, 2021). disponible sur: http://www.uskino.com/articleshow_113.html
25. Lipowsky, R., The conformation of membranes. *Nature* **1991**, *349* (6309), 475-481.
26. Lipowsky, R.; Seifert, U., Adhesion of Vesicles and Membranes. *Mol. Cryst. Liq. Cryst.* **1991**, *202* (1), 17-25.
27. Lee, J.; Atmeh, M.; Berman, D., Effect of trapped water on the frictional behavior of graphene oxide layers sliding in water environment. *Carbon* **2017**, *120*, 11-16.
28. Rush, M. N.; Coombs, K. E.; Hedberg-Dirk, E. L., Surface chemistry regulates valvular interstitial cell differentiation in vitro. *Acta Biomater.* **2015**, *28*, 76-85.
29. Tabaei, S. R.; Choi, J.-H.; Haw Zan, G.; Zhdanov, V. P.; Cho, N.-J., Solvent-Assisted Lipid Bilayer Formation on Silicon Dioxide and Gold. *Langmuir* **2014**, *30* (34), 10363-10373.
30. Marquês, J. T.; de Almeida, R. F. M.; Viana, A. S., Lipid bilayers supported on bare and modified gold – Formation, characterization and relevance of lipid rafts. *Electrochim. Acta* **2014**, *126*, 139-150.
31. Silin, V. I.; Wider, H.; Woodward, J. T.; Valincius, G.; Offenhausser, A.; Plant, A. L., The Role of Surface Energy on the Formation of Hybrid Bilayer Membranes. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 14676-14683.
32. Frasconi, M.; Mazzei, F.; Ferri, T., Protein immobilization at gold–thiol surfaces and potential for biosensing. *Anal. Bioanal. Chem.* **2010**, *398* (4), 1545-1564.
33. Twardowski, M.; Nuzzo, R. G., Molecular Recognition at Model Organic Interfaces: Electrochemical Discrimination Using Self-Assembled Monolayers (SAMs) Modified via the Fusion of Phospholipid Vesicles. *Langmuir* **2003**, *19* (23), 9781-9791.
34. Márquez, I. F.; Vélez, M., Formation of supported lipid bilayers of charged E. coli lipids on modified gold by vesicle fusion. *MethodsX* **2017**, *4*, 461-468.
35. Tabaei, S. R.; Jackman, J. A.; Kim, S.-O.; Zhdanov, V. P.; Cho, N.-J., Solvent-Assisted Lipid Self-Assembly at Hydrophilic Surfaces: Factors Influencing the Formation of Supported Membranes. *Langmuir* **2015**, *31* (10), 3125-3134.
36. Ferhan, A. R.; Yoon, B. K.; Park, S.; Sut, T. N.; Chin, H.; Park, J. H.; Jackman, J. A.; Cho, N.-J., Solvent-Assisted Preparation of Supported Lipid Bilayers. *Nat. Protoc.* **2019**, *14* (7), 2091-2118.
37. Cho, N.-J.; Cho, S.-J.; Cheong, K. H.; Glenn, J. S.; Frank, C. W., Employing an Amphipathic Viral Peptide to Create a Lipid Bilayer on Au and TiO₂. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129* (33), 10050-10051.
38. Zan, G. H.; Jackman, J. A.; Cho, N.-J., AH Peptide-Mediated Formation of Charged Planar Lipid Bilayers. *J. Phys. Chem. B* **2014**, *118* (13), 3616-3621.

39. Hmam, O.; Badia, A., Metal-Supported Phospholipid Bilayers Formed by Redox Command. *Adv. Mater. Interfaces* **2022**, *9* (6), 2101289.
40. Rowe, G. K.; Creager, S. E., Redox and Ion-Pairing Thermodynamics in Self-Assembled Monolayers. *Langmuir* **1991**, *7* (10), 2307-2312.
41. Ju, H.; Leech, D., Effect of Electrolytes on the Electrochemical Behaviour of 11-(Ferrocenylcarbonyloxy)Undecanethiol SAMs on Gold Disk Electrodes. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **1999**, *1* (7), 1549-1554.
42. Valincius, G.; Niaura, G.; Kazakevičienė, B.; Talaikytė, Z.; Kažemėkaitė, M.; Butkus, E.; Razumas, V., Anion Effect on Mediated Electron Transfer through Ferrocene-Terminated Self-Assembled Monolayers. *Langmuir* **2004**, *20* (16), 6631-6638.
43. Uosaki, K.; Sato, Y.; Kita, H., Electrochemical Characteristics of a Gold Electrode Modified with a Self-Assembled Monolayer of Ferrocenylalkanethiols. *Langmuir* **1991**, *7* (7), 1510-1514.
44. Kasuya, M.; Kurihara, K., Characterization of Ferrocene-Modified Electrode Using Electrochemical Surface Forces Apparatus. *Langmuir* **2014**, *30* (24), 7093-7097.
45. Yokota, Y.; Yamada, T.; Kawai, M., Ion-Pair Formation between Ferrocene-Terminated Self-Assembled Monolayers and Counteranions Studied by Force Measurements. *J. Phys. Chem. C* **2011**, *115* (14), 6775-6781.
46. Plant, A. L., Self-assembled phospholipid/alkanethiol biomimetic bilayers on gold. *Langmuir* **1993**, *9* (11), 2764-2767.
47. Meuse, C. W.; Niaura, G.; Lewis, M. L.; Plant, A. L., Assessing the Molecular Structure of Alkanethiol Monolayers in Hybrid Bilayer Membranes with Vibrational Spectroscopies. *Langmuir* **1998**, *14* (7), 1604-1611.
48. Zhi, Z.; Hasan, I. Y.; Mechler, A., Formation of Alkanethiol Supported Hybrid Membranes Revisited. *Biotechnol. J.* **2018**, *13* (12), 1800101.
49. Li, C.; Wang, M.; Ferguson, M.; Zhan, W., Phospholipid/Aromatic Thiol Hybrid Bilayers. *Langmuir* **2015**, *31* (18), 5228-5234.
50. Anderson, N. A.; Richter, L. J.; Stephenson, J. C.; Briggman, K. A., Characterization and Control of Lipid Layer Fluidity in Hybrid Bilayer Membranes. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129* (7), 2094-2100.
51. Attwood, J. S.; Choi, Y.; Leonenko, Z., Preparation of DOPC and DPPC Supported Planar Lipid Bilayers for Atomic Force Microscopy and Atomic Force Spectroscopy. *Int. J. Mol. Sci.* **2013**, *14* (2), 3514-3539.
52. Lind, T. K.; Cárdenas, M.; Wacklin, H. P., Formation of Supported Lipid Bilayers by Vesicle Fusion: Effect of Deposition Temperature. *Langmuir* **2014**, *30* (25), 7259-7263.
53. Enders, O.; Ngezahayo, A.; Wiechmann, M.; Leisten, F.; Kolb, H. A., Structural Calorimetry of Main Transition of Supported DMPC Bilayers by Temperature-Controlled AFM. *Biophys. J.* **2004**, *87* (4), 2522-2531.
54. Abraham, S.; Heckenthaler, T.; Bandyopadhyay, D.; Morgenstern, Y.; Kaufman, Y., Quantitative Description of the Vesicle Fusion Mechanism on Solid Surfaces and the Role of Cholesterol. *J. Phys. Chem. C* **2018**, *122* (40), 22985-22995.
55. Mingeot-Leclercq, M.-P.; Deleu, M.; Brasseur, R.; Dufrêne, Y. F., Atomic force microscopy of supported lipid bilayers. *Nat. Protoc.* **2008**, *3* (10), 1654-1659.
56. Chidsey, C. E. D.; Bertozzi, C. R.; Putvinski, T. M.; Mujcsce, A. M., Coadsorption of ferrocene-terminated and unsubstituted alkanethiols on gold: electroactive self-assembled monolayers. *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112* (11), 4301-4306.

57. Dickey, A.; Faller, R., Examining the contributions of lipid shape and headgroup charge on bilayer behavior. *Biophys. J.* **2008**, *95* (6), 2636-2646.
58. Israelachvili, J. N., Interactions of Biological Membranes and Structures. In *Intermolecular and Surface Forces (Third Edition)*, Academic Press: San Diego, 2011; pp 577-616.
59. Leftin, A.; Molugu, T. R.; Job, C.; Beyer, K.; Brown, M. F., Area per lipid and cholesterol interactions in membranes from separated local-field (13)C NMR spectroscopy. *Biophys. J.* **2014**, *107* (10), 2274-2286.
60. Dionne, E. R.; Toader, V.; Badia, A., Microcantilevers Bend to the Pressure of Clustered Redox Centers. *Langmuir* **2014**, *30* (3), 742-752.
61. Nerngchamnon, N.; Thompson, D.; Cao, L.; Yuan, L.; Jiang, L.; Roemer, M.; Nijhuis, C. A., Nonideal Electrochemical Behavior of Ferrocenyl-Alkanethiolate SAMs Maps the Microenvironment of the Redox Unit. *J. Phys. Chem. C* **2015**, *119* (38), 21978-21991.
62. Calvente, J. J.; Andreu, R.; Molero, M.; López-Pérez, G.; Domínguez, M., Influence of Spatial Redox Distribution on the Electrochemical Behavior of Electroactive Self-Assembled Monolayers. *J. Phys. Chem. B* **2001**, *105* (39), 9557-9568.
63. Guidelli, R.; Aloisi, G.; Becucci, L.; Dolfi, A.; Rosa Moncelli, M.; Tadini Buoninsegni, F., Bioelectrochemistry at metal|water interfaces. *J. Electroanal. Chem.* **2001**, *504* (1), 1-28.
64. Tanaka, M.; Sackmann, E., Polymer-supported membranes as models of the cell surface. *Nature* **2005**, *437* (7059), 656-663.
65. Feng, Y.; Dionne, E. R.; Toader, V.; Beaudoin, G.; Badia, A., Odd-Even Effects in Electroactive Self-Assembled Monolayers Investigated by Electrochemical Surface Plasmon Resonance and Impedance Spectroscopy. *J. Phys. Chem. C* **2017**, *121* (44), 24626-24640.
66. Jiang, L.; Wang, T.; Nijhuis, C. A., Fabrication of ultra-flat silver surfaces with sub-micrometer scale grains. *Thin Solid Films* **2015**, *593*, 26-39.
67. Phase Transition Temperatures for Glycerophospholipids, April, 2021 (cité en April 28, 2021). disponible sur: <http://avantlipids.com/>
68. Butt, H. J.; Jaschke, M., Calculation of thermal noise in atomic force microscopy. *Nanotechnology* **1995**, *6* (1), 1-7.
69. Cook, S. M.; Lang, K. M.; Chynoweth, K. M.; Wigton, M.; Simmonds, R. W.; Schäffer, T. E., Practical implementation of dynamic methods for measuring atomic force microscope cantilever spring constants. *Nanotechnology* **2006**, *17* (9), 2135-2145.
70. Butt, H.-J.; Cappella, B.; Kappl, M., Force measurements with the atomic force microscope: Technique, interpretation and applications. *Surf. Sci. Rep.* **2005**, *59* (1), 1-152.
71. Badia, A.; Chen, C.-I.; Norman, L. L., Calibration of a fan-shaped beam surface plasmon resonance instrument for quantitative adsorbed thin film studies—No metal film thickness or optical properties required. *Sens. Actuators B* **2013**, *176*, 736-745.
72. Sanchez, J.; Badia, A., Spatial variation in the molecular tilt orientational order within the solid domains of phase-separated, mixed dialkylphosphatidylcholine monolayers. *Chem. Phys. Lipids* **2008**, *152* (1), 24-37.
73. American Institute of Physics, P.; Billings, B. H.; Gray, D. E., American Institute of Physics handbook. McGraw-Hill: New York, 1972.
74. Palik, E. D., Preface. In *Handbook of Optical Constants of Solids*, Palik, E. D., Ed. Academic Press: Boston, **1985**; pp xvii-xviii.
75. Ohtsuka, T.; Sato, Y.; Uosaki, K., Dynamic Ellipsometry of a Self-Assembled Monolayer of a Ferrocenylalkanethiol during Oxidation-Reduction Cycles. *Langmuir* **1994**, *10* (10), 3658-3662.

76. Optical Constants of NaF (Sodium Fluoride), Sellmeier Dispersion Formula, (cité en June 17, 2021). disponible sur: <https://refractiveindex.info/?shelf=main&book=NaF&page=Li>
77. Lee, L. Y. S.; Sutherland, T. C.; Rucareanu, S.; Lennox, R. B., Ferrocenylalkylthiolates as a Probe of Heterogeneity in Binary Self-Assembled Monolayers on Gold. *Langmuir* **2006**, *22* (9), 4438-4444.
78. Bard, A. J.; Faulkner, L. R., *Electrochemical Methods : Fundamentals and Applications*. Wiley: *New York*, 1980.
79. Dionne, E. R.; Badia, A., Electroactive Self-Assembled Monolayers Detect Micelle Formation. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2017**, *9* (6), 5607-5621.
80. Tian, H.; Dai, Y.; Shao, H.; Yu, H.-Z., Modulated Intermolecular Interactions in Ferrocenylalkanethiolate Self-Assembled Monolayers on Gold. *J. Phys. Chem. C* **2013**, *117* (2), 1006-1012.
81. Finklea, H. O., Electrochemistry of Organized Monolayers of Thiols and Related Molecules on Electrodes. In *Electroanalytical Chemistry: A Series of Advances*, Bard, A. J.; Rubinstein, I., Eds. Marcel Dekker: New York, 1996; Vol. 19, pp 109–335.
82. Chidsey Christopher, E. D., Free Energy and Temperature Dependence of Electron Transfer at the Metal-Electrolyte Interface. *Science* **1991**, *251* (4996), 919-922.
83. Tian, H.; Xiang, D.; Shao, H.; Yu, H.-Z., Electrochemical Identification of Molecular Heterogeneity in Binary Redox Self-Assembled Monolayers on Gold. *J. Phys. Chem. C* **2014**, *118* (25), 13733-13742.
84. Kitagawa, T.; Matsubara, H.; Komatsu, K.; Hirai, K.; Okazaki, T.; Hase, T., Ideal Redox Behavior of the High-Density Self-Assembled Monolayer of a Molecular Tripod on a Au(111) Surface with a Terminal Ferrocene Group. *Langmuir* **2013**, *29* (13), 4275-4282.
85. Patel, D. A.; Chevalier, R. B.; Weller, A. M.; Shakespeare, C. C.; Soares, E. J.; Landis, E. C., Porosity Effects on the Ordering and Stability of Self-Assembled Monolayers on Nanoporous Gold. *J. Phys. Chem. C* **2020**, *124* (49), 26851-26863.
86. Fujii, S.; Kurokawa, S.; Murase, K.; Lee, K.-H.; Sakai, A.; Sugimura, H., Self-assembled mixed monolayer containing ferrocenylthiol molecules: STM observations and electrochemical investigations. *Electrochim. Acta* **2007**, *52* (13), 4436-4442.
87. Israelachvili, J. N., *Intermolecular and Surface Forces*. Academic Press: *New York*, 1991.
88. Schreiber, F., Structure and growth of self-assembling monolayers. *Prog. Surf. Sci.* **2000**, *65* (5), 151-257.
89. Brown, A. P.; Anson, F. C., Cyclic and differential pulse voltammetric behavior of reactants confined to the electrode surface. *Anal. Chem.* **1977**, *49* (11), 1589-1595.
90. Abbott, N. L.; Whitesides, G. M., Potential-Dependent Wetting of Aqueous Solutions on Self-Assembled Monolayers Formed from 15-(Ferrocenylcarbonyl)pentadecanethiol on Gold. *Langmuir* **1994**, *10* (5), 1493-1497.
91. Sondag-Huethorst, J. A. M.; Fokkink, L. G. J., Potential-Dependent Wetting of Electroactive Ferrocene-Terminated Alkanethiolate Monolayers on Gold. *Langmuir* **1994**, *10* (11), 4380-4387.
92. Norman, L. L.; Badia, A., Redox Actuation of a Microcantilever Driven by Self-Assembled Ferrocenylundecanethiolate Monolayer: An Investigation of the Origin of the Micromechanical Motion and Surface Stress. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131* (6), 2328–2337.
93. Ben Amara, F.; Dionne, E. R.; Kassir, S.; Pellerin, C.; Badia, A., Molecular Origin of the Odd–Even Effect of Macroscopic Properties of n-Alkanethiolate Self-Assembled Monolayers: Bulk or Interface? *J. Am. Chem. Soc.* **2020**, *142* (30), 13051-13061.

94. Martins, M. C. L.; Ratner, B. D.; Barbosa, M. A., Protein adsorption on mixtures of hydroxyl- and methyl-terminated alkanethiols self-assembled monolayers. *J. Biomed. Mater. Res. A* **2003**, *67A* (1), 158-171.
95. Ulman, A.; Evans, S. D.; Shnidman, Y.; Sharma, R.; Eilers, J. E., Mixed alkanethiol monolayers on gold surfaces: Wetting and stability studies. *Adv. Colloid Interface Sci.* **1992**, *39*, 175-224.
96. Kassir, S. *Préparation et Caractérisation de Monocouches Autoassemblées d'Alcanethiolates Sur Or, Research Project (CHM 3551)*; Université de Montréal: 2018.
97. Law, K.-Y., Definitions for Hydrophilicity, Hydrophobicity, and Superhydrophobicity: Getting the Basics Right. *J. Phys. Chem.* **2014**, *5* (4), 686-688.
98. Wang, J.; Bratko, D.; Luzar, A., Probing surface tension additivity on chemically heterogeneous surfaces by a molecular approach. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2011**, *108* (16), 6374-6379.
99. Sun, Q.-W.; Murase, K.; Ichii, T.; Sugimura, H., Anionic effect of ionic liquids electrolyte on electrochemical behavior of ferrocenylthiol/alkanethiol binary SAMs. *J. Electroanal. Chem.* **2010**, *643* (1), 58-66.
100. Wong, R. A.; Yokota, Y.; Wakisaka, M.; Inukai, J.; Kim, Y., Probing consequences of anion-dictated electrochemistry on the electrode/monolayer/electrolyte interfacial properties. *Nat. Commun.* **2020**, *11* (1), 4194.
101. Petrache, H. I.; Tristram-Nagle, S.; Gawrisch, K.; Harries, D.; Parsegian, V. A.; Nagle, J. F., Structure and fluctuations of charged phosphatidylserine bilayers in the absence of salt. *Biophys. J.* **2004**, *86* (3), 1574-1586.
102. Pan, J.; Cheng, X.; Monticelli, L.; Heberle, F. A.; Kučerka, N.; Tieleman, D. P.; Katsaras, J., The Molecular Structure of a Phosphatidylserine Bilayer Determined By Scattering and Molecular Dynamics Simulations. *Soft Matter* **2014**, *10* (21), 3716-25.
103. Ramkaran, M.; Badia, A., Gel-to-Fluid Phase Transformations in Solid-Supported Phospholipid Bilayers Assembled by the Langmuir–Blodgett Technique: Effect of the Langmuir Monolayer Phase State and Molecular Density. *J. Phys. Chem. B* **2014**, *118* (32), 9708-9721.
104. Tikhonov, A. M.; Asadchikov, V. E.; Volkov, Y. O.; Roshchin, B. S.; Ermakov, Y. A., X-Ray Reflectometry of DMPS Monolayers on a Water Substrate. *J. Exp. Theor. Phys.* **2017**, *125* (6), 1051-1057.
105. Leonenko, Z. V.; Finot, E.; Ma, H.; Dahms, T. E. S.; Cramb, D. T., Investigation of Temperature-Induced Phase Transitions in DOPC and DPPC Phospholipid Bilayers Using Temperature-Controlled Scanning Force Microscopy. *Biophys. J.* **2004**, *86* (6), 3783-3793.
106. Eibl, H., Phospholipids as Functional Constituents of Biomembranes. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1984**, *23* (4), 257-271.
107. Et-Thakafy, O.; Delorme, N.; Gaillard, C.; Mériadec, C.; Artzner, F.; Lopez, C.; Guyomarc'h, F., Mechanical Properties of Membranes Composed of Gel-Phase or Fluid-Phase Phospholipids Probed on Liposomes by Atomic Force Spectroscopy. *Langmuir* **2017**, *33* (21), 5117-5126.
108. Tocanne, J.-F.; Dupou-Cézanne, L.; Lopez, A., Lateral diffusion of lipids in model and natural membranes. *Prog. Lipid Res.* **1994**, *33* (3), 203-237.
109. Tierney, K. J.; Block, D. E.; Longo, M. L., Elasticity and phase behavior of DPPC membrane modulated by cholesterol, ergosterol, and ethanol. *Biophys. J.* **2005**, *89* (4), 2481-2493.
110. Liposome Preparation, April, 2022 (cité en April 13, 2022). disponible sur: <https://avantilipids.com/>

111. Rawicz, W.; Olbrich, K. C.; McIntosh, T.; Needham, D.; Evans, E., Effect of Chain Length and Unsaturation on Elasticity of Lipid Bilayers. *Biophys. J.* **2000**, *79* (1), 328-339.

Chapitre 5 – Conclusions Générales

5.1 Conclusions

Les monocouches auto-assemblées (SAMs pour *Self-Assembled Monlayers* en anglais) de ferrocénylalcane-thiolates (FcC_nSAu) constituent des plateformes électrosensibles solides qui réagissent à des stimuli électriques externes leur permettant la commutation entre deux états électrochimiques discrets avec deux propriétés interfaciales différentes. Le ferrocène présente des caractéristiques exceptionnelles qui en font un candidat de choix (une cinétique de transfert d'électron rapide et réversible, un potentiel d'oxydation relativement bas, et deux formes rédox stables).¹⁻³ La commutation du ferrocène entre son état réduit (Fc ; neutre) et son état oxydé (Fc^+ ; chargé positivement) est accompagnée par un transfert d'un électron et une réaction d'appariement ionique avec l'anion en solution ; $\text{Fc}^+_{(\text{SAM})} + \text{X}^-_{(\text{aq})} \rightleftharpoons (\text{Fc}^+\text{X}^-)_{(\text{SAM})}$.⁴ L'appariement ionique est indispensable pour la stabilisation des cations générés et la neutralisation de l'excès de charges positives créés à l'interface SAM/électrolyte. Ces réactions d'appariement ionique peuvent être d'une grande utilité dans l'étude de divers processus d'adsorption de surface et dans la fabrication des bicouches lipidiques supportées. L'idée est de combiner la tendance des molécules amphiphiles à s'agréger aux interfaces solide/liquide⁵ avec la préférence des ferrocéniums liés à la SAM de s'associer aux anions lipophiles.^{4, 6-8}

Les conclusions portées sur les travaux de cette thèse se divisent en deux parties :

- 1- L'étude du comportement électrochimique d'une SAM de $\text{FcC}_{12}\text{SAu}$ en présence de tensioactifs anioniques (amphiphiles à simple chaîne) de type carboxyle (sel d'acide gras ; *fatty acid soap* ($\text{C}_n\text{CO}_2\text{Na}$)) et de type phosphate ($\text{C}_n\text{PO}_4\text{Na}_2$) ainsi que leur assemblage, à l'interface SAM/électrolyte, induit par réaction d'oxydoréduction. Ces tensioactifs partagent avec les phospholipides le caractère amphiphile et la présence des groupes carboxyle et phosphate. Cela permettra également d'étudier l'effet de la nature du groupe anionique sur le comportement électrochimique de la SAM de ferrocène (anion chaotrope versus kosmotrope) ainsi que de mieux visualiser la possibilité d'utiliser les réactions d'appariement ionique pour induire l'assemblage des phospholipides en surface et former des bicouches lipidiques supportées.

2- L'assemblage induit par réaction d'oxydoréduction à l'interface SAM/électrolyte des phospholipides (amphiphiles à double chaînes) pour la formation des bicouches lipidiques modèles supportées sur un substrat d'or.

1- L'assemblage d'amphiphiles anioniques à l'interface solide/liquide induit par l'oxydation d'une SAM de FcC_nSAu .

Le comportement électrochimique de la SAM électroactive de $\text{FcC}_{12}\text{SAu}$ a été étudié, en utilisant la voltampérométrie cyclique combinée à la spectroscopie de résonance des plasmons de surface (SPR), en présence de tensioactifs amphiphiles avec différents groupes anioniques ; *n*-dodécyl sulfate ($\text{C}_{12}\text{SO}_4\text{Na}$), *n*-dodécyl sulfonate ($\text{C}_{12}\text{SO}_3\text{Na}$), *n*-dodécyl carboxylate ($\text{C}_{11}\text{CO}_2\text{Na}$) et *n*-dodécyl phosphate ($\text{C}_{12}\text{PO}_4\text{Na}_2$). Le comportement rédox des ferrocènes confinés en surface suit la série de *Hofmeister* et suit la chaotropie des têtes polaires des surfactants. D'un côté, les *n*-alkyl sulfate et sulfonate chaotropes (mous) mènent à des réactions d'appariement ionique et de transfert d'électron réversibles. De l'autre côté, les *n*-alkyl carboxylate et phosphate kosmotropes (dures) aboutissent à des réactions d'appariement ionique irréversibles, une oxydation de ferrocènes à un potentiel plus haut, ainsi qu'une densité de charge et un changement d'angle de résonance résultants anormalement élevés. En présence des *n*-alkyl carboxylates, le comportement électrochimique montre une forte dépendance à la vitesse de balayage. La SAM de $\text{FcC}_{12}\text{SAu}$ présente une électrochimie et une adsorption de tensioactif irréversibles à des vitesses de balayages $\leq 50 \text{ mV s}^{-1}$, quasi-réversibles entre 100 mV s^{-1} et 400 mV s^{-1} , et réversibles $\geq 800 \text{ mV s}^{-1}$. Nous supposons donc qu'à des vitesses de balayage plus lentes, le temps qui s'écoule après l'appariement ionique est assez lent pour accumuler les tensioactifs kosmotropes à l'interface SAM/électrolyte. À des vitesses de balayages plus rapides, le temps entre l'oxydation et la réduction du ferrocène n'est pas assez lent pour que les surfactants s'accumulent à l'interface, la réaction rédox est ainsi réversible et la densité de charge résultante est semblable à celle obtenue dans le cas du *n*-dodécyl sulfate ($\text{C}_{12}\text{SO}_4\text{Na}$). L'accumulation à faible vitesse de balayage provient de l'effet d'hydratation de surface que possèdent les ions carboxylates. En contrepartie, il a été constaté que les ions sulfates possèdent une capacité de déshydratation de surface prononcée ce qui explique la réversibilité des réactions rédox en présence des *n*-alkyl sulfates. Cette capacité à adapter la réversibilité de l'adsorption/agrégation induite par l'oxydoréduction des tensioactifs à l'interface Au-

SAM/électrolyte en fonction de la chaotropicité/kosmotropicité des groupes anioniques des tensioactifs est assez puissante pour déclencher et préparer des assemblages moléculaires organiques en surface. En effet, après un seul cycle d'oxydoréduction à température ambiante en présence de *n*-décyl carboxylate (C_9CO_2Na) et *n*-dodécyl phosphate ($C_{12}PO_4Na_2$) des bicouches de tensioactifs couvrent plus que 90% de la surface.

Cette possibilité d'induire l'assemblage/agrégation moléculaire en surface en utilisant les réactions d'appariements ioniques semble être une approche assez puissante pour déclencher la fusion des vésicules à base de phospholipides (molécules amphiphiles à double chaînes) et former des bicouches lipidiques modèles supportées sur des surfaces d'or.

2- La préparation des bicouches biomimétiques supportées induite par l'oxydation d'une SAM de FcC_nSAu .

Les travaux de recherche dans cette section révèle le développement et la démonstration d'une nouvelle méthode dans la préparation des bicouches lipidiques modèles supportées sur un substrat d'or à partir d'une solution de vésicules unilamellaires. L'approche consiste en l'utilisation des réactions rédox confinées en surface pour déclencher la fusion de vésicules à l'interface SAM/électrolyte. Durant l'oxydation du ferrocène (Fc), l'appariement ionique entre les groupes polaires des amphiphiles lipidiques et les ferrocéniums électrogénérés provoque l'assemblage de phospholipides anioniques ou zwitterioniques à l'interface SAM/électrolyte et l'obtention de bicouches en phase gel ou fluide sur substrat solide en or avec une couverture de surface élevée ($\geq 90\%$) en quelque minutes à température ambiante. La stratégie qu'on présente est une avancée conceptuelle dans la préparation des bicouches lipidiques supportées. Elle est simple, rapide, compatible avec les phospholipides chargés négativement et zwitterioniques, insensible à l'état de phase du phospholipide, et ne se limite pas aux surfaces hydrophiles. Deux articles sont préparés à ce sujet, dont un est accepté dans *Advanced Materials Interfaces* et sélectionné comme couverture de *Frontispiece* par le journal, montrant ainsi la grande qualité du travail.

i) Les grands points révélés dans le premier article (chapitre 3) sont :

Plusieurs lipides sont utilisés dans cette étude (DMPS, POPS, DPPC, DOPC, POPG, et DLPA) qui incluent des phospholipides chargés négativement (la phosphatidylsérine (PS), le phosphatidylglycérol (PG), et l'acide phosphatidique (PA)) et ceux avec une charge globale neutre (la phosphatidylcholine (PC)), ainsi que des phospholipides qui se trouvent à la température ambiante sous forme gel (DMPS, DPPC, et DLPA) et sous forme fluide (POPS, DOPC, et POPG). La SAM de ferrocényldodécane-thiols (FcC₁₂SAu) en présence des vésicules lipidiques unilamellaires petites (SUVs pour *small unilamellar vesicles* en anglais), suspendues dans un électrolyte de support de NaF_(aq), démontrent une électrochimie quasi-réversible avec un cycle voltammétrique non symétrique. L'augmentation du signal d'angle de résonance (Θ_{\min}) coïncide avec la génération du courant faradique et l'apparition du pic anodique. Un plateau de Θ_{\min} est atteint à la fin du balayage anodique et une légère diminution est observée durant le balayage cathodique, mais sans retour à la valeur initiale, indiquant ainsi l'adsorption irréversible des lipides à la surface. En appliquant un potentiel auquel la concentration en surface du ferrocénium électrogénéré est maximale (0.64 V) et en le maintenant pendant seulement 2 à 5 min, des bicouches simples en phase gel et en phase fluide ont été obtenues à température ambiante. Il est important de souligner que la fusion des vésicules passive (circuit ouvert) nécessite généralement de chauffer le substrat solide à une température au-dessus de la température de transition de phase du phospholipide (phase fluide). L'électrochimie couplée à la spectroscopie de résonance des plasmons de surface (ESPR) sont utilisées pour suivre in-situ et en temps réel ainsi que quantifier la fusion induite par l'oxydoréduction des vésicules SUVs sur la surface de FcC₁₂SAu pendant l'application et le maintien du potentiel. Les différentes épaisseurs trouvées par SPR correspondent à des bicouches simples en phase gel et fluide et qui sont également confirmées par l'AFM et la spectroscopie de force. La spectroscopie de force AFM a été utilisée aussi pour sonder les propriétés nanomécaniques des films en quantifiant la force appliquée par la sonde AFM avant de pouvoir pénétrer la bicouche en entier. Une force moyenne plus importante a été observée dans le cas du DMPS que le cas du POPS, ce qui est attribuable à la plus importante rigidité d'une bicouche en phase gel (modulus de Young plus important). En rétractant la sonde AFM du substrat, des forces d'interaction entre les molécules de la pointe et celles de la monocouche supérieure de la bicouche lipidique cause un attachement adhésif et la force nécessaire avant de pouvoir se détacher complètement de la bicouche et s'éloigner s'appelle force d'adhésion. Une adhésion plus faible est

observée dans le cas de DMPS, vue la structure compacte et dense de la bicouche, ce qui augmente les interactions répulsives avec les têtes polaires chargées négativement.

La fusion passive (circuit ouvert) et l'application d'un potentiel auquel la concentration en surface du ferrocénium électrogénéré est à son minimum (0.04 V) ne montrent aucun changement dans le Θ_{\min} , indiquant ainsi l'absence de toute adsorption non spécifique de phospholipides sur la SAM à son état réduit (surface quasi-hydrophobe ; $\theta_w = 86^\circ$). Aucun signe d'oxydation ni d'adsorption de phospholipides n'est détecté lorsqu'une surface d'or nue (sans SAM) a été utilisée et balayée électrochimiquement dans la fenêtre de potentiel utilisée pour oxyder une SAM de FcC₁₂SAu en présence des SUVs/NaF_(aq). Le même résultat a été trouvé après l'ajout du ferrocène dissout en solution (FcMeOH), montrant ainsi que l'appariement ionique des phospholipides chargés aux ferrocéniums immobilisés en surface est le processus moteur derrière la formation des bicouches rapportées dans ce travail.

Un mécanisme de formation des bicouches lipidiques par la fusion des vésicules induite par les réactions rédox a été proposé avec une représentation schématique. La formation de paires d'ions entre les groupes anioniques des têtes de phospholipides et les ferrocéniums de charges positives induit une tension et une déformation des vésicules adsorbées assez suffisantes pour provoquer leur rupture et la formation de la bicouche. L'augmentation de l'hydrophilicité de la surface durant l'oxydation du ferrocène en ferrocénium peut également contribuer à la fusion des vésicules. Deux vésicules voisines peuvent fusionner ensemble avant de se rompre. Le bord d'une plaque de bicouche supportée formé par la rupture d'une vésicule se caractérise par une haute énergie et peut provoquer ainsi la rupture d'une vésicule voisine.

Le NaF_(aq) utilisé comme électrolyte de base est pour diminuer la résistance au sein de la cellule électrochimique. F⁻ possède une très faible capacité de pairage ionique avec le ferrocénium comparé à celle du perchlorate (NaClO₄) et facilite ainsi l'appariement ionique entre le groupe de tête ionique du phospholipide et le ferrocénium. La substitution du NaF_(aq) par le tampon phosphate (mélange KH₂PO₄ et K₂HPO₄ ; pH = 6.8) ne montre aucun effet sur l'obtention de bicouche continue de DMPS ; le cas où les groupes polaires chargés négativement forment avec les ferrocéniums une interface neutre. Les capacités d'appariement ionique de H₂PO₄⁻ et HPO₄²⁻ se situent entre celle de F⁻ (très faible génération de ferrocénium) et ClO₄⁻ (concentration maximale de ferrocénium) et surtout sont suffisamment faibles pour que les groupes de DMPS puissent

s'apparier correctement avec les sites de ferrocénium. Dans le cas de DPPC, où la tête du groupe polaire du phospholipide est zwitterionique, la taille du contre-ions présente un effet important sur la fusion des vésicules. L'appariement ionique entre les phosphates des PC et les ferrocéniums laisse une charge positive (groupe choline) dans la région interfaciale vésicules/SAM qui doit être compensée par des contre-ions. La grande taille des H_2PO_4^- et des HPO_4^{2-} crée une répulsion entropique et affaiblit l'interaction phospholipides-surface menant ainsi à la formation d'une bicouche granulaire, tandis que les petits ions F^- conduisent à une bicouche plus lisse avec une couverture de surface plus élevée.

- ii) Les grands points révélés dans le deuxième article sur les bicouches lipidiques supportées (chapitre 4) sont :

La variation de la fraction molaire du ferrocène en surface de 0.6 à 0.2, pour un système binaire $\text{FcC}_{11}\text{S}/\text{CH}_3\text{C}_{11}\text{SAu}$, donne une hydrophobie de surface presque constante ($\theta_w = 97^\circ$ pour $\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}} = 0.6$ et $\theta_w = 103^\circ$ pour $\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}} = 0.2$). La diminution de la concentration de ferrocènes en surface dans un système hydrophobe entraîne une réduction de la couverture en phospholipides en surface, sauf pour le cas du DOPC dont la couverture de la bicouche supportée formée demeure élevée même pour $\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}} = 0.2$ (~80%). Nous proposons que la nature fluide du DOPC et l'interaction des groupes méthyls des groupes cholines zwitterioniques avec la surface hydrophobe favorisent la fusion et la formation des bicouches sur la SAM hydrophobe. Pour le système binaire $\text{FcC}_{11}\text{S}/\text{HOC}_{11}\text{SAu}$; la variation de la fraction molaire du ferrocène de 0.6 à 0.1 résulte en l'augmentation de l'hydrophilicité de la surface ($\theta_w = 69^\circ$ pour $\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}} = 0.6$ et $\theta_w = 28^\circ$ pour $\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}} = 0.2$). Pour tous les types de phospholipides utilisés (DMPS, POPS, POPG, DPPC, et DOPC), des bicouches d'une couverture de surface élevée ($\geq 80\%$) ont été obtenue jusqu'à $\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}} = 0.2$ sur une surface plus hydrophile. L'augmentation de l'énergie d'adhésion, grâce aux terminaisons hydroxyles, qui accompagne la diminution d'espèces rédox en surface assure la rupture et la fusion des vésicules durant l'oxydation de la SAM et le processus d'appariement ionique. À une fraction de surface en ferrocènes encore plus faible ($\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}} = 0.1$), la rupture des vésicules est observée seulement pour celles en phase gel (DMPS et DPPC), qui forment des plaques de bicouches d'une façon non homogène.

Un nombre critique d'interactions d'appariement ionique est requis, car aucune bicouche ne se forme sur des SAMs pures de $\text{CH}_3\text{C}_{11}\text{SAu}$ et de $\text{HOC}_{11}\text{SAu}$ dans les conditions expérimentales utilisées (2–5 min d'applications d'un potentiel de 0.64 V à température ambiante). La capacité de réduire le nombre de groupes de ferrocène en surface et d'augmenter l'hydrophilicité de la surface permettront d'aider à promouvoir la mobilité de la bicouche supportée et d'offrir la possibilité d'insérer des protéines transmembranaires ainsi que des biomolécules dans la bicouche pour des études de reconnaissance biomoléculaires.⁹⁻¹²

5.2 Perspectives

La capacité de former rapidement et à température ambiante des bicouches modèles supportées sur un substrat d'or avec différents types de lipides par fusion de vésicules induite par l'oxydoréduction ouvre la possibilité de :

- i) Caractériser la mobilité des lipides¹³, la résistivité¹⁴ et les propriétés de transition de phase^{15, 16} des bicouches lipidiques formées dans cette thèse. Comparer ces différentes caractéristiques entre une bicouche lipidique formée sur une SAM pure de FcC_nSAu (surface quasi-hydrophobe ; $\theta_w = 86^\circ$ pour $\text{FcC}_{11}\text{SAu}$) et sur une SAM binaire de $\text{FcC}_n\text{S}/\text{HOC}_n\text{SAu}$ (surface hydrophile ; $\theta_w = 28^\circ$ pour $\text{FcC}_{11}\text{S}/\text{HOC}_{11}\text{SAu}$ et $\chi_{\text{Fc}}^{\text{surf}} = 0.2$).
- ii) Préparer des bicouches lipidiques mixtes, avec des compositions lipidiques plus complexes, qui imitent la composition des membranes cellulaires pour des études de reconnaissance biomoléculaire en SPR et de détection électrochimique ; par exemple, un mélange binaire de phospholipides chargé et zwitterionique (PS:PC), en phases gel et fluide. Par la suite, il sera nécessaire de comparer la distribution des lipides en surface ainsi que la présence/absence de la séparation de phase (formation de domaines en phase gel et autres en phase fluide) avec celles du même système obtenu sur une autre surface comme du mica. Il est important également d'investiguer si la distribution transmembranaire des lipides est asymétrique et s'il y a une préférence de la SAM de ferrocène de s'apparier ioniquement à un lipide par rapport à un autre.
- iii) Former des bicouches lipidiques avec une forte teneur en cholestérol (50–70 %) afin de mieux reconstituer les membranes lipidiques natives.^{17, 18} En effet, les vésicules qui

contiennent une forte concentration de cholestérol deviennent plus ordonnées et plus rigides, ce qui crée une barrière énergétique accrue empêchant ainsi la transformation spontanée de la vésicule en bicouche.¹⁹ L'approche qu'on présente nous permettra de surmonter ces obstacles.

- i) Insérer des protéines transmembranaires ainsi que des biomolécules dans la bicouche formée sur une SAM binaire de FcC_nS/HOC_nSAu pour des études de reconnaissance biomoléculaires à l'aide des techniques de caractérisations de surfaces telles que l'électrochimie couplée à la spectroscopie de résonance des plasmons de surface (ESPR), les spectroscopies vibrationnelles (IR, Raman).
- ii) Étudier le transport d'ions à travers la bicouche et la perméabilité de la membrane par des mesures électriques (spectroscopie d'impédance électrochimique). La présence des groupes rédox immobilisés déjà en surface sera en faveur dans cette étude.²⁰
- iii) Étudier la transition de phases des feuillettes des bicouches lipidiques obtenues dans cette thèse sur une SAM pure de FcC_nSAu et sur une SAM binaire de FcC_nS/HOC_nSAu hydrophile. Contrairement aux membranes lipidiques suspendues qui subissent une seule transition de la phase gel à la phase fluide, il a été constaté que les bicouches lipidiques supportées sur des surfaces du mica subissent deux transitions de feuillettes distinctes. Une transition à une température plus basse est attribuée à la fusion des chaînes dans le feuillet distal (en contact avec la solution aqueuse) et qui est généralement autour de la température de transition principale du phospholipide. Une transition à une température plus élevée est attribuée à la fusion des chaînes dans le feuillet proximal (en contact avec le substrat solide). Cette transition de phases découplée peut être le résultat des interactions de stabilisation entre le substrat et les lipides et de la densité de lipides plus élevée au niveau du feuillet proximal.²¹ De plus, la méthode de préparation des bicouches, l'électrolyte utilisé, la température et la nature du substrat peuvent induire des différences notables sur les transitions de phase (une seule ou deux transitions).²² Cette étude de transition de phase permettra d'avoir une meilleure comparaison avec les bicouches lipidiques obtenues par fusion de vésicules passive et spontanée sur une surface hydrophile comme le mica.

5.3 Références

1. Welker, M. E., Ferrocenes as Building Blocks in Molecular Rectifiers and Diodes. *Molecules* **2018**, *23* (7), 1551.
2. Chen, X.; Roemer, M.; Yuan, L.; Du, W.; Thompson, D.; Del Barco, E.; Nijhuis, C. A., Molecular Diodes with Rectification Ratios Exceeding 10⁵ Driven by Electrostatic Interactions. *Nat. Nanotechnol.* **2017**, *12* (1748-3395 (Electronic)), 797-803.
3. Fabre, B., Ferrocene-Terminated Monolayers Covalently Bound to Hydrogen-Terminated Silicon Surfaces. Toward the Development of Charge Storage and Communication Devices. *Acc. Chem. Res.* **2010**, *43* (12), 1509-1518.
4. Rowe, G. K.; Creager, S. E., Redox and Ion-Pairing Thermodynamics in Self-Assembled Monolayers. *Langmuir* **1991**, *7* (10), 2307-2312.
5. Rosen, M. J., Surfactants and Interfacial Phenomena, 3rd Edition. John Wiley and Sons: Inc.: Hoboken, NJ, 2004.
6. Ju, H.; Leech, D., Effect of Electrolytes on the Electrochemical Behaviour of 11-(Ferrocenylcarbonyloxy)Undecanethiol SAMs on Gold Disk Electrodes. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **1999**, *1* (7), 1549-1554.
7. Valincius, G.; Niaura, G.; Kazakevičienė, B.; Talaikytė, Z.; Kažemėkaitė, M.; Butkus, E.; Razumas, V., Anion Effect on Mediated Electron Transfer through Ferrocene-Terminated Self-Assembled Monolayers. *Langmuir* **2004**, *20* (16), 6631-6638.
8. Rowe, G. K.; Creager, S. E., Interfacial Solvation and Double-Layer Effects on Redox Reactions in Organized Assemblies. *J. Phys. Chem.* **1994**, *98* (21), 5500-5507.
9. Glazier, R.; Salaita, K., Supported lipid bilayer platforms to probe cell mechanobiology. *Biochim. Biophys. Acta Biomembr.* **2017**, *1859* (9, Part A), 1465-1482.
10. Guidelli, R.; Aloisi, G.; Becucci, L.; Dolfi, A.; Rosa Moncelli, M.; Tadini Buoninsegni, F., Bioelectrochemistry at metal|water interfaces. *J. Electroanal. Chem.* **2001**, *504* (1), 1-28.
11. Tanaka, M.; Sackmann, E., Polymer-supported membranes as models of the cell surface. *Nature* **2005**, *437* (7059), 656-663.
12. Frasconi, M.; Mazzei, F.; Ferri, T., Protein immobilization at gold-thiol surfaces and potential for biosensing. *Anal. Bioanal. Chem.* **2010**, *398* (4), 1545-1564.
13. Tero, R., Substrate Effects on the Formation Process, Structure and Physicochemical Properties of Supported Lipid Bilayers. *Materials* **2012**, *5* (12), 2658-2680.
14. Abraham, S.; Heckenthaler, T.; Morgenstern, Y.; Kaufman, Y., Effect of Temperature on the Structure, Electrical Resistivity, and Charge Capacitance of Supported Lipid Bilayers. *Langmuir* **2019**, *35* (26), 8709-8715.
15. Richard-Lacroix, M.; Umuhire, K. N.; Lister, E.; Pellerin, C.; Badia, A., Selective Isotopic Labeling Resolves the Gel-to-Fluid Phase Transitions of the Individual Leaflets of a Planar-Supported Phospholipid Bilayer. *Langmuir* **2019**, *35* (30), 9912-9922.
16. Seeger, H. M.; Marino, G.; Alessandrini, A.; Facci, P., Effect of physical parameters on the main phase transition of supported lipid bilayers. *Biophys. J.* **2009**, *97* (4), 1067-1076.
17. Ingólfsson, H. I.; Melo, M. N.; van Eerden, F. J.; Arnarez, C.; Lopez, C. A.; Wassenaar, T. A.; Periole, X.; de Vries, A. H.; Tieleman, D. P.; Marrink, S. J., Lipid Organization of the Plasma Membrane. *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136* (41), 14554-14559.
18. Needham, D.; Nunn, R. S., Elastic deformation and failure of lipid bilayer membranes containing cholesterol. *Biophys. J.* **1990**, *58* (4), 997-1009.

19. Subczynski, W. K.; Pasenkiewicz-Gierula, M.; Widomska, J.; Mainali, L.; Raguz, M., High Cholesterol/Low Cholesterol: Effects in Biological Membranes: A Review. *Cell biochem. biophys.* **2017**, *75* (3-4), 369-385.
20. Twardowski, M.; Nuzzo, R. G., Molecular Recognition at Model Organic Interfaces: Electrochemical Discrimination Using Self-Assembled Monolayers (SAMs) Modified via the Fusion of Phospholipid Vesicles. *Langmuir* **2003**, *19* (23), 9781-9791.
21. Ramkaran, M.; Badia, A., Gel-to-Fluid Phase Transformations in Solid-Supported Phospholipid Bilayers Assembled by the Langmuir–Blodgett Technique: Effect of the Langmuir Monolayer Phase State and Molecular Density. *J. Phys. Chem. B* **2014**, *118* (32), 9708-9721.
22. Anderson, N. A.; Richter, L. J.; Stephenson, J. C.; Briggman, K. A., Characterization and Control of Lipid Layer Fluidity in Hybrid Bilayer Membranes. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129* (7), 2094-2100.