



HAL
open science

Etude de la nucléation contrôlée de latex polymère à la surface de nanoparticules d'oxyde pour l'élaboration de colloïdes hybrides structurés

David Nguyen

► **To cite this version:**

David Nguyen. Etude de la nucléation contrôlée de latex polymère à la surface de nanoparticules d'oxyde pour l'élaboration de colloïdes hybrides structurés. Matériaux. Université Sciences et Technologies - Bordeaux I, 2008. Français. NNT: . tel-00384507

HAL Id: tel-00384507

<https://theses.hal.science/tel-00384507>

Submitted on 15 May 2009

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

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



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0 International License

N° d'ordre : 3715

THÈSE

PRÉSENTÉE A

L'UNIVERSITÉ BORDEAUX 1

ÉCOLE DOCTORALE DES SCIENCES CHIMIQUES

David NGUYEN

POUR OBTENIR LE GRADE DE

DOCTEUR

SPÉCIALITÉ : Polymères

**ETUDE DE LA NUCLEATION CONTROLÉE DE LATEX
POLYMERÉ A LA SURFACE DE NANOPARTICULES
D'OXYDE POUR L'ÉLABORATION DE COLLOÏDES
HYBRIDES STRUCTURES**

Soutenue le : 18 décembre 2008

Devant la commission d'examen formée de :

M. BILLON Laurent,	Maître de conférences, U.P.P.A.,	Rapporteur
M. LACROIX-DESMAZES Patrick,	Chargé de recherche, C.N.R.S.,	Rapporteur
Mme BOURGEAT-LAMI Elodie,	Directeur de recherche, C.N.R.S.,	Examinatrice
M. DELMAS Claude,	Directeur de recherche, C.N.R.S.,	Examineur
M. DURAND Jean-Olivier,	Chargé de recherche, C.N.R.S.,	Examineur
M. RICETTI Philippe,	Directeur de recherche, C.N.R.S.,	Examineur
M. DUGUET Etienne,	Professeur, Université de Bordeaux I,	Directeur de thèse
M. RAVAINÉ Serge,	Professeur, Université de Bordeaux I,	Directeur de thèse

Introduction générale	1
Chapitre 1 : Synthèse de colloïdes hybrides silice/polystyrène via une polymérisation en émulsion :	5
1. Introduction :	5
2. Principe et technique de la polymérisation en émulsion :	5
2.1. Généralités : _____	5
2.2. Mécanismes de nucléation : _____	8
2.2.1. La nucléation micellaire ou hétérogène : _____	8
2.2.2. La nucléation homogène : _____	9
2.2.3. La nucléation coagulative : _____	10
2.3. Mécanismes de croissance des particules : _____	10
2.3.1. Cinétique de type zéro-un : _____	10
2.3.2. Cinétique de pseudo-masse : _____	11
2.4. Etude de la polymérisation en émulsion du styrène en milieu aqueux en présence de NP30 :	12
2.5. Influence de différents paramètres sur la polymérisation : _____	17
3. Encapsulation de particules minérales par polymérisation en émulsion :	20
3.1. Description des principales particules d'oxyde métallique encapsulées par polymérisation en émulsion : _____	20
3.2. Stratégies de synthèse des colloïdes hybrides organiques/ inorganiques : _____	21
3.2.1. Adsorption de tensioactifs et de macromolécules : _____	23
3.2.2. Greffage covalent d'agents de couplage : _____	24
3.2.3. Adsorption de molécules réactives : _____	27
3.3. Principaux enseignements des thèses précédentes : _____	29
3.3.1. Concept de ratio : _____	29
3.3.2. Influence de l'agent compatibilisant : _____	30
3.3.3. Influence de la taille des précurseurs : _____	30
3.3.4. Influence de la concentration en particules de silice : _____	31
4. Synthèse de colloïdes silice / polystyrène de morphologie contrôlée :	32
4.1. Etude de la polymérisation en émulsion en présence de particules de silice fonctionnalisées par cryo-tomographie électronique : _____	33
4.2. Etude de l'influence du taux de greffage sur les morphologies : _____	37
5. Changement des conditions de polymérisation :	40
6. Conclusion et perspectives :	47

Chapitre 2 : Synthèse de colloïdes hybrides silice/polystyrène via une polymérisation en dispersion :	49
1. Introduction :	49
2. Polymérisation en dispersion du styrène :	49
2.1. Généralités :	50
2.1.1. Mécanismes de polymérisation :	51
2.1.2. La nucléation :	52
2.1.3. La croissance des particules matures :	53
2.2. Exemple d'un protocole de polymérisation du styrène dans l'éthanol absolu :	55
2.3. Etude des paramètres influençant le nombre de particules de PS créés :	58
2.3.1. Effet du stabilisant :	58
2.3.2. Effet de la concentration en amorceur :	60
2.3.3. Effets de la concentration en monomère :	61
2.3.4. Effet de la quantité d'eau:	63
3. Etat de l'art sur les hybrides obtenus par polymérisation en dispersion en présence de particules minérales :	65
3.1. Les particules de latex stabilisés par la silice colloïdale :	65
3.2. Les pigments encapsulés :	67
3.3. Les particules de latex magnétiques	69
4. Stratégies de contrôle des morphologies des colloïdes hybrides silice / polystyrène :	70
4.1. Synthèse et fonctionnalisation des précurseurs inorganiques :	71
4.2. Contrôle de la morphologie des particules hybrides via le rapport N_{PS}/N_{silice} :	71
4.2.1. N_{PS}/N_{silice} supérieur à 1 :	71
4.2.2. N_{PS}/N_{silice} égal à 1 :	73
4.2.3. N_{PS}/N_{silice} inférieur à 1 :	75
4.2.4. Proposition des mécanismes de formation des colloïdes hybrides silice/polystyrène :	76
4.3. Stratégies pour modifier l'angle de contact entre la silice et le polystyrène (ou comment modifier l'affinité silice/PS):	78
4.3.1. Influence du taux de greffage sur les morphologies, modification de σ_{12} , σ_{13} :	80
4.3.2. Effet du milieu dispersant, modification de σ_{23} :	82
4.4. Stratégie pour limiter la coagulation des nodules de polystyrène en surface des particules de silice fonctionnalisées :	85
5. Conclusion et perspectives :	88

Chapitre 3 : Elaboration de particules Janus vouées à la bio-imagerie biphotonique :	89
1. Introduction :	89
2. Les particules Janus :	89
2.1. Des colloïdes aux propriétés particulières:	91
2.1.1. Stabilisation de milieux non miscibles :	91
2.1.2. Les applications dans l’affichage	93
2.1.3. L’auto-assemblage de particules	94
2.1.4. Les particules Janus dans le biomédical :	95
2.2. Les différentes voies de synthèse :	97
2.2.1. Synthèse par séparation de phases :	97
2.2.2. La modification toposélective d’un hémisphère :	98
2.2.3. La nucléation de surface contrôlée:	100
3. La vectorisation :	101
3.1. Les vecteurs de première génération :	102
3.2. Les vecteurs de seconde génération :	103
3.3. Les vecteurs de troisième génération :	104
4. La fluorescence multiphotonique :	105
4.1. Principe général du phénomène :	105
4.2. Exemples de nanoparticules fluorescentes excitables à deux photons.	106
5. Synthèse de particules de silice Janus :	110
5.1. Synthèses de particules symétriques :	110
5.1.1. Greffage du chromophore :	110
5.1.2. Greffage du PEG A et du PEG B :	111
5.1.3. Greffage de l’acide folique :	113
5.2. Elaboration de particules Janus à l’interface eau/huile	114
5.3. Elaboration de particules Janus via la réaction d’une polymérisation en émulsion ensemencée :	116
6. Caractérisation spectroscopique des particules :	119
6.1. Caractérisation en luminescence monophotonique :	119
6.1.1. Absorbance UV-visible	120
6.1.2. Fluorescence UV-visible :	121
6.2. Caractérisation en fluorescence biphotonique :	122
7. Tests in vitro :	126
7.1. Présentation des deux types de cellules étudiées :	126
7.2. Principe des tests effectués :	127
7.3. Résultats : Cytotoxicité des particules :	128
8. Conclusion et perspectives :	132
 Conclusion générale :	 133
 Annexes :	 135

Etude de la nucléation contrôlée de latex polymère à la surface de nanoparticules d'oxyde pour l'élaboration de colloïdes hybrides structurés.

Introduction générale

Depuis 1972, un colloïde est défini par l'union internationale de chimie pure et appliquée (IUPAC) comme « un état de division de la matière impliquant que les molécules ou les particules dispersées dans un milieu, ont, au moins dans une direction, une dimension grossièrement comprise entre 1 nm et 1 μm »¹. Ces entités peuvent être à l'état solide, liquide ou gaz et sont dispersées dans une phase continue d'état ou de compositions variées. Citons comme exemples de la vie courante, les mousses comme suspensions de gaz dans un liquide, ou les aérosols comme suspension de liquides, ou solides dans un gaz.

Les suspensions colloïdales sont des systèmes dans lesquels des particules solides sont dispersées dans un liquide. Cet état métastable de la matière est susceptible d'évoluer au cours du temps par des phénomènes d'aggrégation, de coalescence ou de mûrissement des particules. Ceux-ci peuvent être favorisés par modification des conditions chimiques ou physiques qui affectent la stabilité colloïdale de la suspension. Ces colloïdes ont des propriétés différentes des matériaux massifs correspondant, en raison de l'augmentation du rapport surface/volume lorsque leur diamètre diminue. Dès lors les propriétés liées à la surface deviennent prépondérantes et les comportements mécaniques, thermiques, optiques électriques ou magnétiques des matériaux s'en trouvent changés. Deux grandes classes peuvent être différenciées :

- Les colloïdes inorganiques à base de métaux, d'oxydes métalliques ou d'autres minéraux. Parmi les exemples les plus connus, on pourrait citer les nanotubes de carbone, les *quantum dots*, les nanoparticules d'or, de silice ou d'oxyde de titane et les charges lamellaires de montmorillonite.
- Les colloïdes organiques dont les principaux représentants sont les latex à base de macromolécules organiques stabilisées par des tensio-actifs. Les milieux dispersants sont en général aqueux et les polymères sont organophiles : le polystyrène, le poly(méthacrylate de méthyle) ou les différents types de polyacrylate sont parmi les plus répandus.

Le développement de la synthèse de particules de composition chimique, de morphologie et/ou de propriétés physico-chimiques originales est actuellement en plein essor. Ainsi, depuis quelques dizaines d'années une autre classe de colloïdes suscite aussi l'intérêt de la part de communauté scientifique : les colloïdes hybrides organiques/inorganiques ou colloïdes nanocomposites. Ces entités allient les propriétés des charges minérales et des polymères, pourtant radicalement différentes.

¹ IUPAC, *Manual of Symbols and terminology for physicochemical quantities and units*, Appendix II, www.iupac.org/reports/2001/colloid_2001/manual_of_s_and_t.pdf, (2001).

La combinaison de certaines propriétés telles que le caractère isolant (thermique ou électrique), ou transparent de certains polymères et magnétiques, optiques ou catalytiques de certains métaux peuvent donner naissance à des matériaux aux caractéristiques physicochimiques uniques.

Les différentes voies d'élaboration de ce type de particules sont résumées en figure I.001. Elles reposent sur une étape d'assemblage de colloïdes organiques/inorganiques déjà formés (voie (1)), sur la réaction entre des précurseurs sur des particules préformées (voie (2') et (2'')) ou la réaction simultanée entre les deux types de précurseurs.

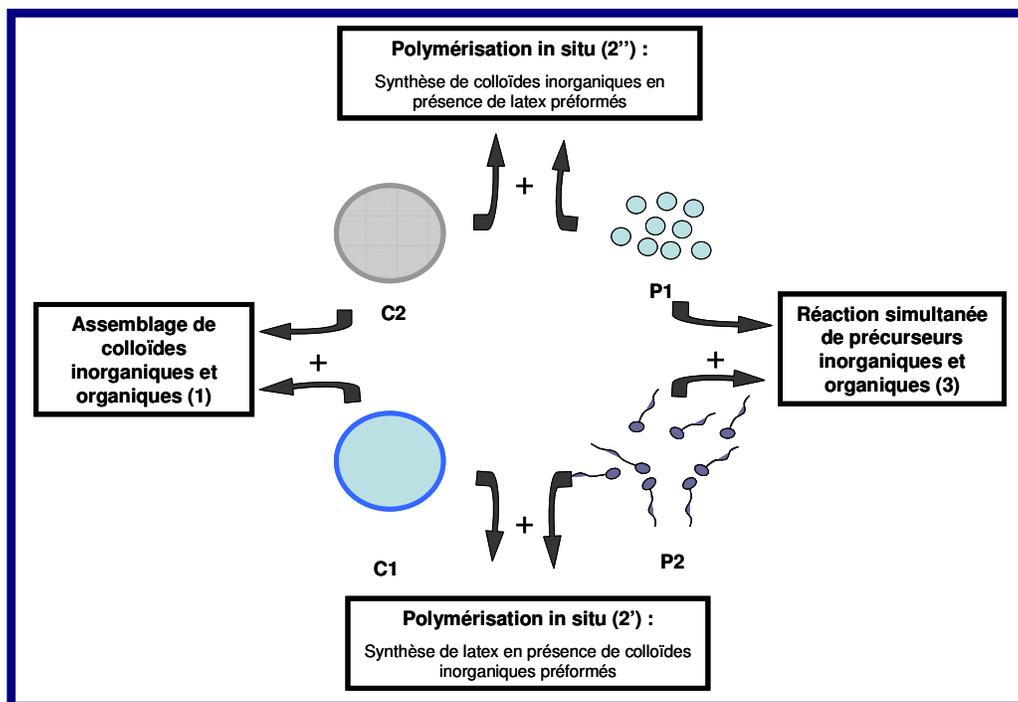


Figure I.001: Représentation des différentes voies de synthèses de colloïdes hybrides inorganiques/organiques à partir de colloïdes inorganiques (C1), organiques (C2) et de leurs précurseurs respectifs P1 et P2.

Les morphologies atteintes par ces différentes voies sont originales et variées : les particules de type cœur-écorces, « framboises », multipodes, multicouches ou dissymétriques en sont quelques exemples (cf. Figure I.002). La composition du cœur peut être soit organique, soit minérale selon la voie de synthèse choisie.

La synthèse de particules colloïdales hybrides silice/polystyrène a été développée au sein du Centre de Recherche Paul Pascal et de l'Institut de Chimie de la Matière Condensée de Bordeaux depuis 1999. Elle est basée sur la polymérisation du styrène en milieu dispersé en présence de particules de silice fonctionnalisées comportant une fonction polymérisable (voie 2').

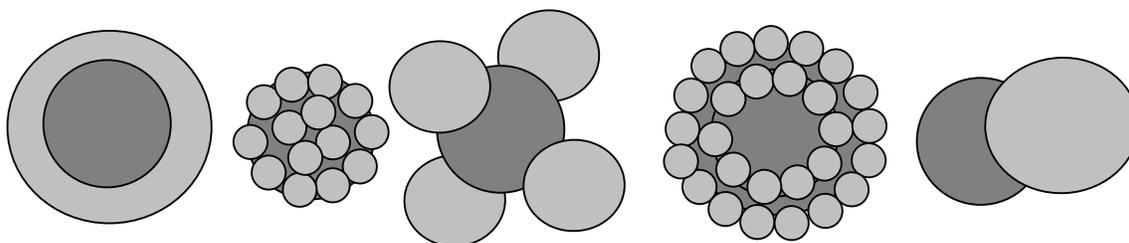


Figure I.002: Représentation schématique de quelques exemples de morphologies de colloïdes hybrides obtenus : de gauche à droite, particules de morphologie cœur-écorces, « framboises », multipodes, multicouches et dissymétriques.

L'objet de ce manuscrit est de décrire les études de ces trois dernières, menées notamment dans le but de diversifier les voies de polymérisation, de comprendre les mécanismes de formation de ces objets, de contrôler leur morphologie et de valoriser certaines de leurs propriétés originales. Il est composé de trois parties distinctes au cours desquelles les contextes bibliographiques et les travaux expérimentaux sont décrits.

Dans une première partie, sont rassemblés les travaux portant sur l'étude de la synthèse de ces colloïdes par polymérisation en émulsion et notamment les mécanismes de croissance et d'organisation des particules de latex sur les germes de silice, par analogie avec ceux observés en l'absence de germes. Nous verrons notamment comment la cryo-tomographie électronique a permis de mieux appréhender les premiers instants de la formation des colloïdes hybrides et d'obtenir des informations originales sur les angles de contact entre nodules de polystyrène en croissance et germes de silice.

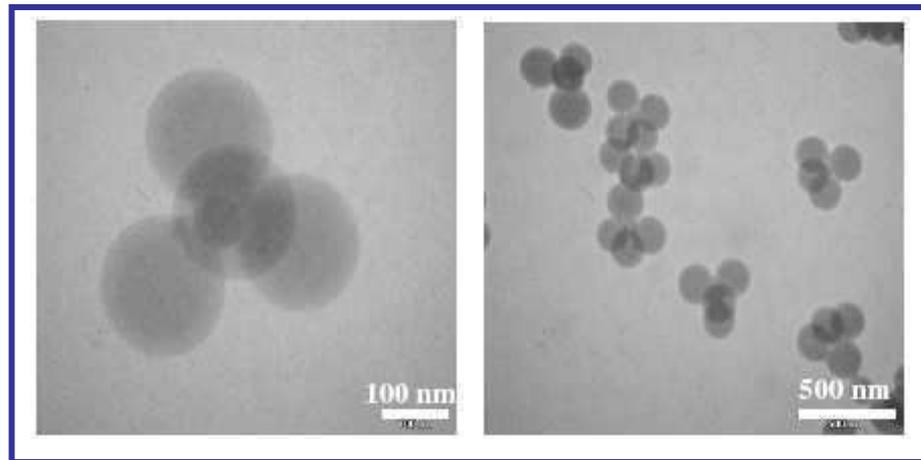
La deuxième partie de ce manuscrit est consacrée à l'étude de la polymérisation en dispersion comme alternative à la polymérisation en émulsion utilisée jusqu'alors. Nous y verrons l'influence d'un certain nombre de paramètres expérimentaux sur les morphologies des objets obtenus.

Enfin, dans une dernière partie, une voie de valorisation des colloïdes hybrides obtenus par polymérisation en émulsion sera décrite. Elle concerne la synthèse de particules Janus et s'inscrit dans le cadre d'une Action Concertée Incitative « Nanoscience » (2004-2007) intitulée : « Nanoparticules fonctionnalisées pour la bio-imagerie multiphotonique de cellules tumorales ». Les particules attendues devaient présenter un hémisphère dédié à l'imagerie par microscopie de fluorescence biphotonique et l'autre au ciblage de certaines cellules tumorales. Au-delà de leur synthèse, nous décrirons les premiers tests de cytotoxicité et de spectroscopie de fluorescence biphotonique.

Enfin, pour conclure, nous dresserons un bilan des résultats obtenus et nous donnerons quelques pistes de travaux à envisager pour chacune des trois parties.

Chapitre 1 :

*Synthèse de colloïdes hybrides
silice/polystyrène via une
polymérisation en émulsion*



1 Introduction :

L'objet de ce chapitre est de présenter les différentes stratégies d'élaboration de colloïdes hybrides silice/polystyrène via une étape de polymérisation en émulsion.

La première partie sera consacrée à la description du procédé de polymérisation ainsi que les différents paramètres influençant le diamètre et la concentration des particules de latex.

La deuxième partie décrira l'étude de l'évolution au cours du temps des morphologies silice / polystyrène de forme octopode et notamment leur suivi par cryo-tomographie électronique dès les premiers instants de la polymérisation. De plus, des informations relatives à la nucléation et à la croissance des nodules de polystyrène en surface des germes de silice seront mises en regard de résultats de polymérisation en l'absence de silice.

En troisième partie, une méthode de contrôle de l'angle de contact entre le polystyrène et la silice sera présentée et exploitée. Les résultats seront reliés à l'affinité entre les phases organiques et inorganiques et corrélés au taux de greffage nominal de l'agent de modification de surface des particules de silice.

Enfin, un protocole optimisé d'obtention de colloïdes silice/polystyrène de forme tétrapode sera présenté.

2 Principe et technique de la polymérisation en émulsion :

2.1. Généralités :

Le procédé de polymérisation en émulsion, découvert au début du siècle dernier, suscite toujours autant l'intérêt de la part de la communauté scientifique académique. Des travaux précurseurs, portant sur les mécanismes de nucléation micellaire des particules, ont été effectués dès la fin des années 40 par Harkins,² puis Smith et Ewart³. Bien qu'ils ne puissent s'appliquer à tous les systèmes développés par la suite, ils marquèrent une avancée considérable dans la compréhension des réactions mises en jeu. La polymérisation en émulsion a évolué depuis et permet de nos jours de préparer des particules de plus en plus complexes. Ainsi on peut faire varier la composition des particules de polymère (homopolymères, copolymères ou terpolymères) et leur morphologie (framboises ou particules cœur-écorce). Ce procédé peut aussi être couplé à une polymérisation radicalaire vivante et/ou contrôlée.

La polymérisation en émulsion est aussi le procédé de polymérisation en phase hétérogène le

² W.D. Harkins, *J. Am. Chem. Soc.*, 69, 1428-1444 (1947).

³ V.W. Smith, R.H. Ewart, *J. Chem. Phys.* (16), 592-599 (1948).

plus développé industriellement.⁴ Il permet un bon contrôle de la vitesse de polymérisation, de la concentration en particules et des masses molaires. Les problèmes liés à la température et la viscosité élevée rencontrés pour les procédés en masse et en solution sont limités.⁵ De nos jours, les procédés de polymérisation en émulsion en réacteur fermé (tous les réactifs introduits au début de la réaction) ou semi-ouvert (un ou plusieurs des réactifs introduits en continu) sont couramment utilisés. Ils permettent le contrôle de la morphologie, de la taille et de la distribution en taille des particules obtenues.

La dispersion aqueuse de ces colloïdes, appelée latex, peut être utilisée sans étape de purification ou de séparation ultérieure. La très faible quantité de composés organiques volatils (COVs) dégagés lors de leur préparation et de leur application constitue un réel avantage. Les latex sont employés dans divers domaines, tels que les revêtements, peintures, papiers ou adhésifs.

Dans sa version la plus générale, il s'agit d'un procédé de polymérisation en milieu hétérogène, où le monomère est peu soluble dans la phase continue aqueuse. Celui-ci est stabilisé par la présence d'un tensioactif. Il diffère des autres procédés en phase hétérogène du fait que l'amorceur est soluble dans la phase aqueuse.⁶

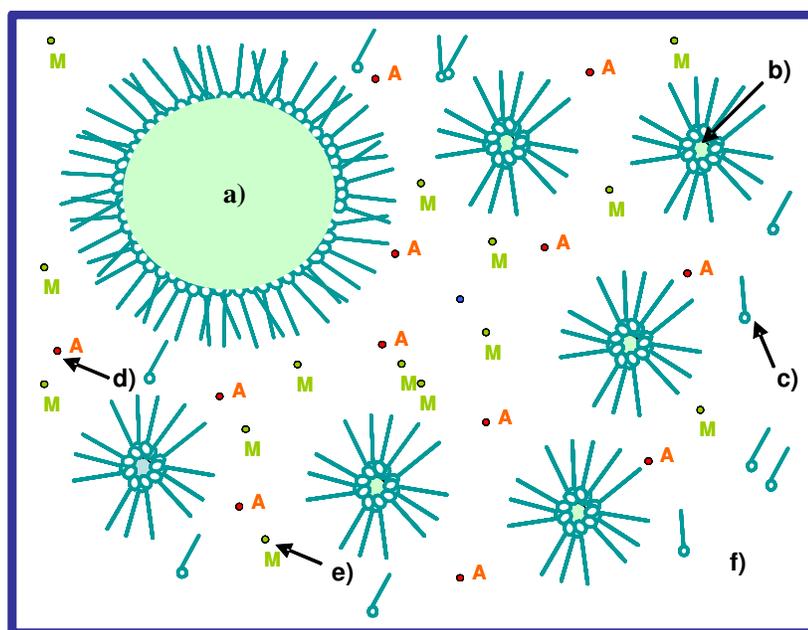


Figure 1.001 : Schématisation des différentes phases en présence avant amorçage d'une polymérisation en émulsion : a) gouttelettes-réservoir de monomère, b) micelles gonflées de monomère c) tensioactif libre en solution, d) amorceur soluble et e) monomère solubilisé dans la phase dispersante f).

⁴ J.C. Daniel, C. Pichot, Lavoisier, TEC & DOC (Ed.), *Les latex synthétiques*, 1267 (2006).

⁵ G. Odian, Wiley and Sons, Polytechnica, *La polymérisation Principes et applications*, 823 (1994).

⁶ A.M. van Herk, Blackwell, *Chemistry and Technology of Emulsion Polymérisation*, 307 (2005).

Il est possible de préparer des particules de latex dont le diamètre peut varier de quelques dizaines de nanomètres au micromètre. Initialement le système est composé de gouttelettes de quelques micromètres de diamètre, renfermant la majorité du monomère (gouttelettes-réservoirs). Elles sont stabilisées par une partie du tensioactif. Le reste est dissout dans la phase dispersante et peut, selon sa concentration, former des micelles. Une faible quantité du monomère se partage entre la phase continue et les micelles. L'amorceur est lui totalement soluble dans la phase dispersante (Figure 1.001).

Le déroulement d'une polymérisation en émulsion varie selon la nature et la concentration des différents constituants (monomère, amorceur, tensioactif,...) mais procède suivant trois étapes (*cf.* Figure 1.002) :

- Phase I : la nucléation des particules, généralement entre 0 et 10 % de conversion du monomère en polymère. Durant cette période les *nuclei* se forment, après décomposition de l'amorceur (thermique ou par réaction d'oxydoréduction avec un co-amorceur). Leur nombre ainsi que la vitesse de polymérisation évoluent jusqu'à une valeur qui reste constante pendant l'étape suivante. Cette phase se termine lorsqu'il n'y a plus formation de nouvelles particules et que les oligoradicaux sont capturés par les particules pré-existantes.
- Phase II : la croissance des particules, principalement due à la polymérisation dans les particules gonflées de monomère. Leur approvisionnement en monomère est assuré par la diffusion de celui-ci depuis les gouttelettes-réservoirs.
- Phase III : la fin de la polymérisation. Elle se caractérise par une chute brutale de la vitesse de polymérisation, car les gouttelettes-réservoirs sont épuisées. Progressivement, la concentration en monomère dans les particules diminue ainsi que la vitesse de polymérisation. Cette phase intervient généralement à partir de taux de conversion de 70-80 %, mais cette valeur dépend de différents paramètres tels que la température de transition vitreuse (Tg) du polymère formé par rapport à la température de l'expérience, la solubilité du monomère dans son polymère ou encore le temps de demi-vie de l'amorceur.

L'étape de nucléation des particules conditionne leur nombre, leur taille, et dépend des paramètres de polymérisation (nature et concentration en amorceur, monomère ou tensioactif). Différents mécanismes ont été proposés.⁷

⁷ J.C. de la Cal, J.R. Leiza, J.M. Asua, A. Butte, G. Storti, , M. Morbidelli, *Handbook of Polymer Reaction Engineering*, ed. T. Meyer and J. Keurentjes, Wiley-VCH, Weinheim, 249-317 (2005).

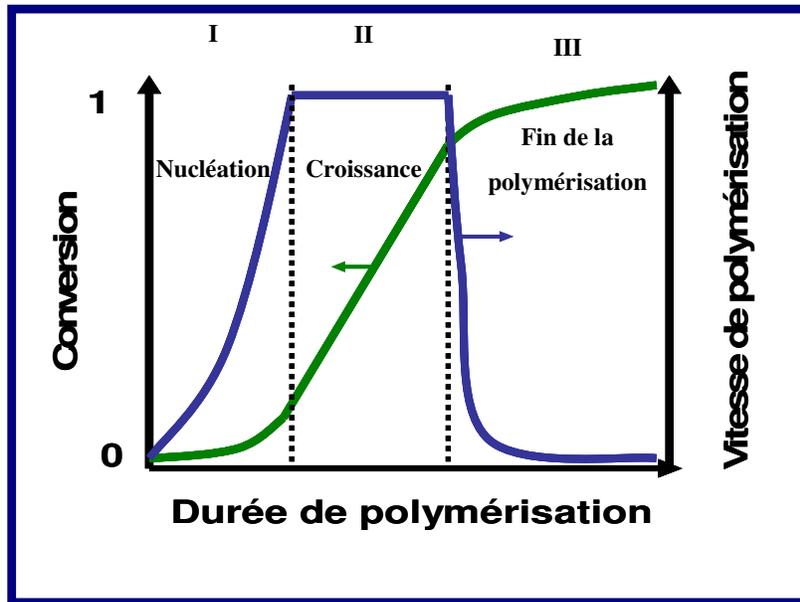


Figure 1.002: Allure des courbes de conversion et de vitesse de polymérisation au cours du temps pour une polymérisation en émulsion.

2.2. Mécanismes de nucléation :

La Figure 1.003 résume les différents mécanismes de nucléation.

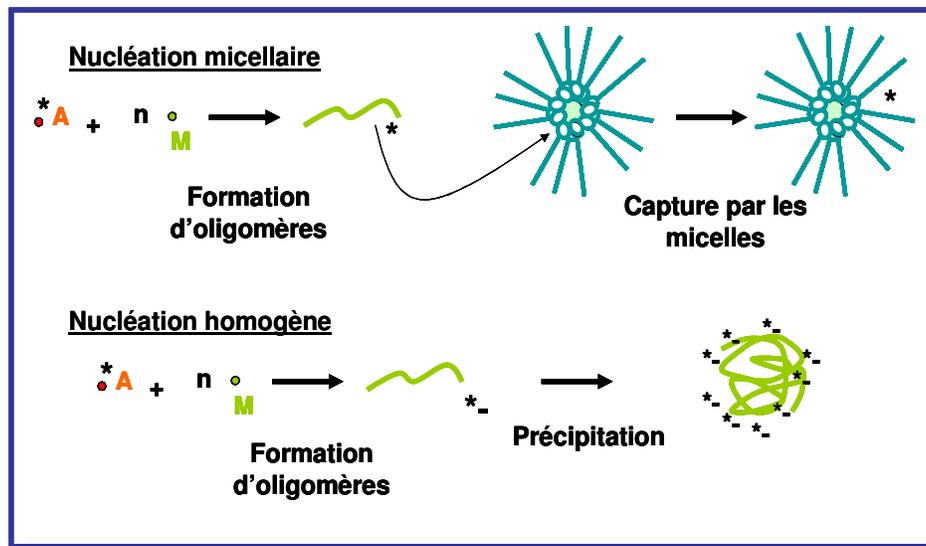


Figure 1.003: Schéma représentant les deux types de nucléation homogène ou micellaire à la suite desquels peuvent se produire des phénomènes de coagulation.

2.2.1. La nucléation micellaire ou hétérogène :

Les bases du mécanisme de nucléation micellaire ont été données par Harkins² dès 1947. Il s'applique aux cas où la concentration en tensioactif est bien au-delà de la concentration micellaire

critique (CMC). Le tensioactif forme donc des micelles en grand nombre³ (cf. tableau 1.001) et stabilise les gouttelettes-réservoirs. Celles-ci renferment 90 % du monomère, le reste se partageant entre la phase dispersante et les micelles qu'il gonfle. Ce mécanisme s'applique à la polymérisation de monomères hydrophobes tels que le chloroprène, le buta-1,3-diène ou certains acrylates, dont la solubilité dans l'eau varie de 0,34 à 15 mmol.L⁻¹ à 25°C⁸. La solubilité du styrène est par exemple de l'ordre de 0,4 g.L⁻¹ dans l'eau à 50°C.

	Gouttelettes (à l'instant t_0 de la polymérisation)	Micelles (à l'instant t_0 de la polymérisation)	Particules (en fin de polymérisation)
Nombre d'objets (L⁻¹)	6.10 ¹¹	10 ²⁰	10 ¹⁷
Rayon (nm)	5000	4	30
Surface (m²)	30	1600	1200

Tableau 1.001 : Caractéristiques moyennes des entités dispersées dans une réaction de polymérisation en émulsion.

Les radicaux directement issus de la décomposition de l'amorceur réagissent avec le monomère solubilisé dans la phase aqueuse pour former les premiers oligomères porteurs d'un centre actif (oligoradicaux). Ceux-ci migrent alors dans les micelles gonflées. La capture des oligoradicaux par les gouttelettes-réservoirs est négligeable en raison de leur faible surface développée en comparaison à celle des micelles.

Les micelles ayant capturé des centres actifs deviennent des particules de polymère. Leur croissance est assurée par les gouttelettes-réservoirs d'où diffuse le monomère vers les particules gonflées. Les micelles qui n'ont pas capturé de centre actif durant la période de nucléation (1 sur 100 ou 1000) se vident de leur monomère et de leur tensioactif pour alimenter les particules en croissance. La disparition des micelles engendre la fin de l'étape de nucléation.

2.2.2. La nucléation homogène :

Ce mécanisme étudié par Roe⁹, Fitch¹⁰ et Tsai¹¹, Ugelstad et Hansen^{12,13,14} est admis dans le cas de polymérisation en absence de tensioactif, ou présent à une concentration inférieure à sa CMC. Les monomères concernés ont des solubilités dans l'eau non-négligeables, comme l'acétate de vinyle

⁸ J.W. Vanderhoff, *Chem. Eng. Sci.*, 48, 203-217 (1993).

⁹ C.P. Roe, *Ind. Eng. Chem.*, 60, 20 (1968).

¹⁰ R.M. Fitch, *Br. Polym. J.*, 5, 467-483 (1973).

¹¹ R.M. Fitch, C.H. Tsai, *Polymer Colloids*, Plenum, New York, 73 (1971).

¹² J. Ugelstad, F.K. Hansen, *J. Polym. Sci. Pol. Chem.*, 16, 1953-1979 (1978).

¹³ J. Ugelstad, F.K. Hansen, *J. Polym. Sci. Pol. Chem.*, 17, 3033-3045 (1979).

¹⁴ J. Ugelstad, F.K. Hansen, *J. Polym. Sci. Pol. Chem.*, 17, 3047-3067 (1979).

(290 mmol.L⁻¹ à 25°C).

Dans le cas d'une nucléation homogène, l'amorceur se décompose et forme des oligoradicaux avec les molécules de monomère dissoutes dans la phase continue. Ils croissent jusqu'à atteindre une valeur-limite d'unités constitutives pour laquelle ils deviennent insolubles dans l'eau. Cette valeur-limite dépend de la nature du monomère ; elle est de 4 dans le cas du styrène. La précipitation des oligomères entraîne la formation de nanoparticules primaires (ou *nuclei*).

Leur croissance est assurée, soit par gonflement de monomère, soit par coagulation avec d'autres *nuclei*. La stabilisation des particules de latex est majoritairement assurée par la présence des oligoradicaux chargés. Dans le cas d'un amorçage par les persulfates, les ions SO₄[°] à la surface des particules de polymère assurent leur stabilisation électrostatique.

2.2.3. La nucléation coagulative :

La nucléation coagulative tirée des travaux de Gilbert et *al.*¹⁵ repose sur deux étapes. Tout d'abord, les particules précurseurs (*nuclei*) sont formées selon un mécanisme de nucléation micellaire ou homogène. La croissance de ces *nuclei*, de quelques nm de diamètre, s'effectue très minoritairement par gonflement de monomère en raison de leur faible stabilité colloïdale. Ensuite, la coagulation entre les *nuclei* aboutit à la formation de particules matures, plus stables. Ces dernières peuvent croître par gonflement de monomère ou par capture d'autres *nuclei*.

A la différence des deux autres mécanismes, l'étape de nucléation est longue et est responsable d'une grande polydispersité en taille des particules de latex pendant cette étape.

2.3. Mécanismes de croissance des particules :

La croissance est assurée par la diffusion de monomère des gouttelettes-réservoirs vers les particules de latex en croissance. La polymérisation dans les particules est provoquée par la capture continue d'oligoradicaux créés dans la phase dispersée. Durant cette phase, des échanges entre les différentes phases de ces oligomères activés peuvent exister. Un radical peut par exemple migrer d'une particule vers une autre ou retourner dans le milieu dispersant. Deux types de mécanismes simplifiés sont communément admis : la croissance suivant une cinétique de type pseudo-masse ou de type zéro-un.⁶

2.3.1. Cinétique de type zéro-un :

C'est la théorie développée par Smith et Ewart³, qui fait l'hypothèse de l'état-quasi stationnaire du nombre de particules contenant des radicaux. Selon ce mécanisme, les particules

¹⁵ P.J. Feeney, D.H. Napper, R.G. Gilbert, *Macromolecules*, 17, 2520-2529 (1984).

contiennent soit un oligoradical, soit aucun, car l'arrivée d'un second oligoradical provoque une réaction de terminaison par réaction avec celui déjà présent. Dans la période où l'oligoradical est seul dans la particule, il additionne sans cesse un grand nombre d'unités monomères. La vitesse de polymérisation durant la phase de croissance des particules (*cf.* relation 1) est proportionnelle à leur nombre, et est donnée par la relation 2.

Relation 1 :
$$R_p = k_p [M_p] N_p \bar{n} N_A$$

où R_p est la vitesse de polymérisation en $\text{mol}\cdot\text{s}^{-1}$, k_p la constante de vitesse de polymérisation en $\text{L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$, $[M_p]$ est la concentration en monomère au sein des particules en $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, N_p le nombre de particules en L^{-1} , N_A le nombre d'Avogadro et \bar{n} le nombre de radicaux par particules qui est dans ce cas strictement égal à 0,5.

Relation 2 :
$$N_p = k (\rho/\mu)^{0,4} (a_s [TA])^{0,6}$$

où a_s est l'aire moléculaire d'adsorption du tensioactif en $\text{m}^2\cdot\text{mol}^{-1}$, $[TA]$ la concentration en tensioactif en $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, ρ la vitesse de formation des radicaux en phase aqueuse en $\text{mol}\cdot\text{s}^{-1}$, μ la vitesse de croissance volumique d'une particule en $\text{dm}^3\cdot\text{s}^{-1}$ et k une constante comprise entre 0,27 et 0,53 (la valeur minimale correspondant à la capture des radicaux par les micelles et les particules, la valeur maximale à la capture des radicaux uniquement par les micelles).

2.3.2. Cinétique de pseudo-masse :

Selon ce mécanisme, la terminaison des chaînes est contrôlée par leur diffusion dans les différentes phases présentes. Des échanges rapides de radicaux existent entre le milieu dispersant et les particules en croissance. La rencontre entre une chaîne de masse molaire faible, plus mobile, avec une chaîne de masse molaire plus importante, moins mobile est responsable de la terminaison.

Le nombre moyen de radicaux peut dans ce cas prendre des valeurs supérieures à 0,5, en raison de la rapidité des échanges et de la possibilité pour eux de coexister dans la même particule. Ce type de cinétique est envisageable dès que les particules ont atteint des diamètres supérieurs à 100 nm.

La partie suivante a pour but de décrire un exemple de procédé de polymérisation en émulsion du styrène en utilisant le nonylphénylpoly(éthylène glycol) comme tensioactif non ionique (Synperonic NP30). Celui-ci a été choisi en raison de sa relative faible toxicité par rapport à la plupart des tensioactifs ioniques, et sa CMC est de $0,13 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$.

2.4. Etude de la polymérisation en émulsion du styrène en milieu aqueux en présence de NP30 :

Le protocole PI.001 concerne la polymérisation en émulsion du styrène dans l'eau en présence d'un amorceur persulfate et de NP30 introduit à une concentration supérieure à sa CMC.

Protocole PI.001 : Polymérisation en émulsion du styrène dans l'eau.

Dans un réacteur (ballon tricolors muni d'un barreau aimanté ou réacteur double enveloppe équipé d'une ancre d'agitation) surmonté d'un réfrigérant, muni d'un agitateur magnétique, 100 mL d'eau ultrapure (18,2 MΩ, Direct Q millipore), x mL d'une solution aqueuse de Synperonic NP30 (Fluka) de concentration massique de 150 g.L⁻¹ et y mL de styrène (Sigma-Aldrich, 99%), préalablement passé sur colonne d'alumine afin de fixer le t-butylcatéchol, sont introduits. Le mélange est dégazé sous courant d'azote pendant une heure sous agitation à 250 rpm. Le système est ensuite porté à la température T, puis 1 mL d'une solution aqueuse contenant z mg de persulfate de sodium (Fluka, ≥ 99,0%) est injecté (instant correspondant au t₀ de la polymérisation). Des prélèvements de 2 mL effectués sous courant d'azote, dans lesquels sont introduits quelques microgrammes d'hydroquinone (Sigma, > 99%), inhibiteur de la polymérisation, sont placés quelques minutes au réfrigérateur. La conversion au monomère est suivie par analyse thermogravimétrique : 1000 µL de chaque échantillon prélevé sont introduits dans une coupelle en aluminium et placés dans une étuve portée à 95°C. La différence de masse entre la coupelle avant introduction de l'échantillon et après traitement thermique correspond à la masse de polymère formé et du NP30. Le diamètre des particules de latex est évalué statistiquement à l'aide de clichés de MET (JEOL 2000, tension d'accélération 200 kV), sur environ 200 particules. La concentration en particules est déterminée pour chaque prélèvement à partir de la relation 3 reliant le nombre, le diamètre et la masse de polymère formé. Les particules de latex obtenues en fin de conversion sont enfin caractérisées par granulométrie laser (Malvern, Zetasizer).

$$\text{Relation 3 : } N_p = m^* 10^{21} / (\pi/6) (D_n)^3 \rho$$

où m (g) est la masse de solide, D_n le diamètre moyen des particules déterminé à l'aide des clichés de MET et ρ (g.cm⁻³) est la densité du polystyrène (1,01).

La polymérisation du styrène dans l'eau a d'abord été effectuée dans les conditions suivantes : x = 2, y = 11, z = 50 et T = 70°C. Les concentrations des différents réactifs étaient : [NP30] = 2,6 g.L⁻¹, [styrène] = 88 g.L⁻¹, [Na₂S₂O₈] = 0,4 g.L⁻¹. La température de synthèse a été fixée à 70°C. Ces conditions opératoires ont servi de base aux études suivantes.

Dans ces conditions, les particules de latex finales sont homogènes en taille et en forme comme l'attestent les clichés de MET et l'analyse par diffusion dynamique de la lumière (DLS) (Figure 1.004). La valeur du diamètre obtenu en DLS est de 256 nm avec un indice de polydispersité de 0,03. Celui obtenu par analyse des clichés de MET de 252 nm avec un écart-type de 22.

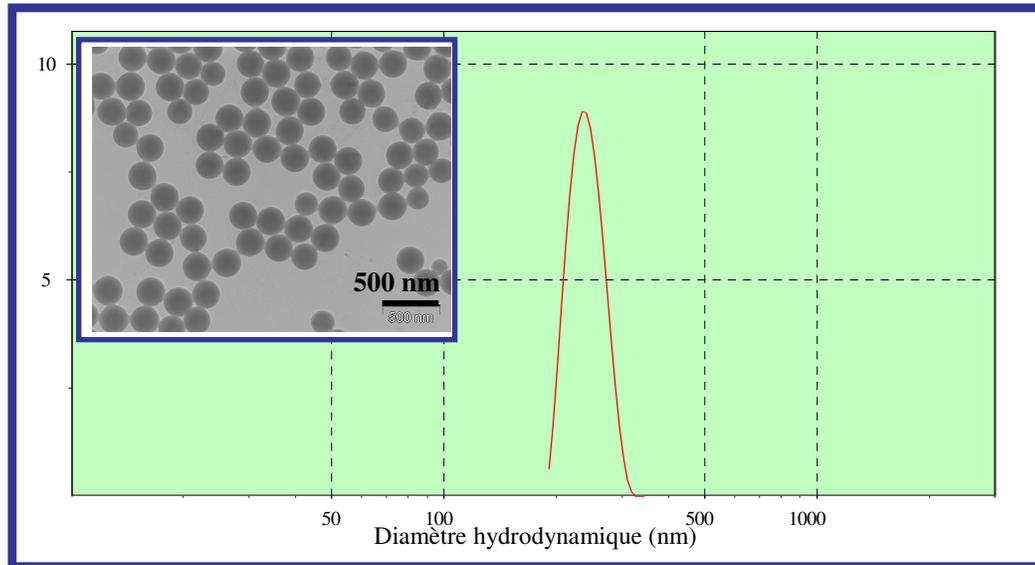


Figure 1.004 : Diamètre hydrodynamique obtenu par DLS et cliché de MET des particules obtenues par polymérisation en émulsion dans les conditions décrites dans le protocole PI.001 ($[\text{NP30}] = 2,6 \text{ g.L}^{-1}$, $[\text{styrène}] = 88 \text{ g.L}^{-1}$, $[\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8] = 0,4 \text{ g.L}^{-1}$ et $T = 70^\circ\text{C}$).

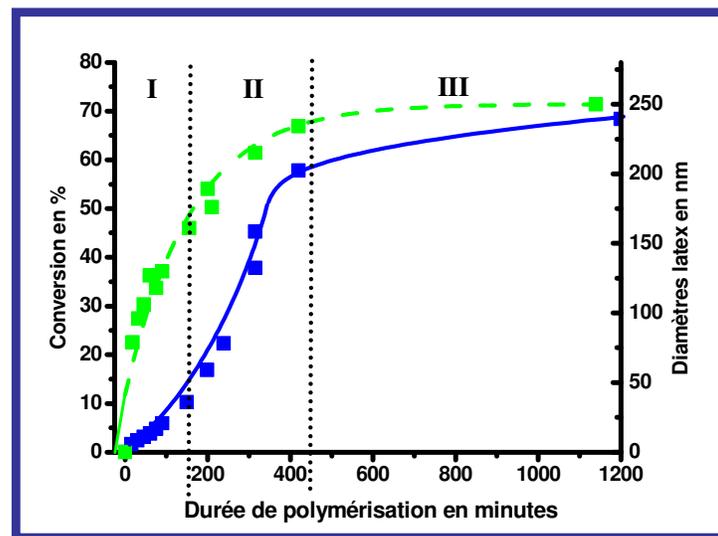


Figure 1.005 : Courbes d'évolution du diamètre et du taux de conversion du monomère en polymère au cours d'une polymérisation en émulsion dans les conditions développées durant les thèses d'Adeline Perro¹⁶ et Stéphane Reculusa¹⁷ ($[\text{NP30}] = 2,6 \text{ g.L}^{-1}$, $[\text{styrène}] = 88 \text{ g.L}^{-1}$, $[\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8] = 0,4 \text{ g.L}^{-1}$ et $T = 70^\circ\text{C}$).

L'observation de la courbe de conversion du monomère (*cf.* Figure 1.005) montre les trois

¹⁶ A. Perro, Thèse de l'université de Bordeaux 1 (2006).

¹⁷ S. Reculusa, Thèse de l'université de Bordeaux 1 (2004).

périodes décrites précédemment : la nucléation (I), la croissance des particules (II) et la fin de la polymérisation (III). La réaction est terminée au bout de 10 heures et nous pouvons noter que la conversion n'est pas totale (conversion finale de 70 %). La vitesse de polymérisation dans la phase de croissance des particules de polystyrène, entre 20 et 50 % de conversion, où leur nombre est supposé constant est de $1,82 \text{ mM} \cdot \text{min}^{-1}$. D'après la relation 2 de Smith et Ewart, le nombre de radicaux moyen par particule est de 0,96 durant cette période, en prenant pour valeurs de k_p $1,052 \cdot 10^9 \exp [-5052,3/T] \text{ dm}^{-3} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ et pour $[M_p]$ $5,2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ¹⁸. Cette valeur, supérieure à 0,5 est cohérente avec la taille des particules à ce taux de conversion (supérieure à 100 nm). Lin et *al*¹⁸ ont de plus obtenu des valeurs similaires dans le cas de polymérisation en émulsion du styrène en utilisant le NP40 comme tensioactif. Celui-ci comporte un nombre d'unités d'oxyde d'éthylène de 40, alors que le NP30 n'en est composé que de 30.

L'observation de l'évolution du nombre de particules de latex en fonction du temps représentée en Figure 1.006 indique clairement un mécanisme de nucléation coagulative, depuis les premiers instants de la polymérisation jusqu'à des taux de conversion proches de 20%. Au-delà, le nombre de particules peut être considéré comme constant.

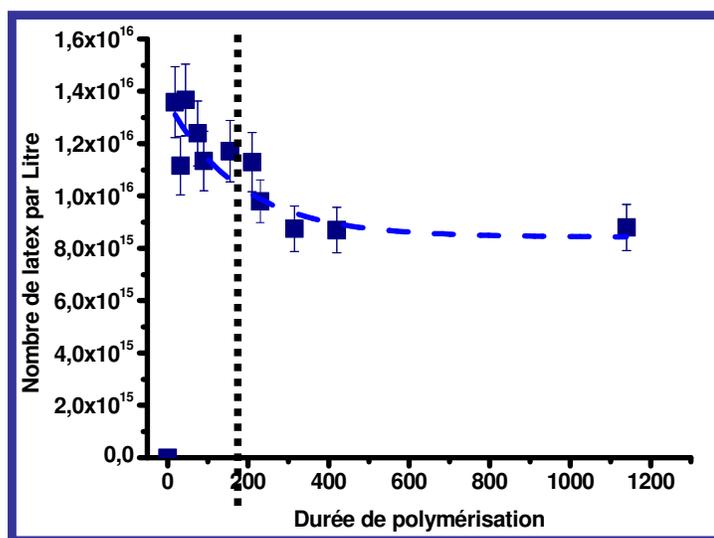


Figure 1.006: Courbe d'évolution du nombre de particules de latex formées au cours d'une polymérisation en émulsion dans les conditions développées dans le protocole PI.001 ($[\text{NP30}] = 2,6 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, $[\text{styrène}] = 88 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, $[\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8] = 0,4 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ et $T = 70^\circ\text{C}$).

Comme l'ont observé Lin et *al.*¹⁸ dans le cadre de la polymérisation en émulsion du styrène, en utilisant le tensioactif NP40, le mécanisme de nucléation est celui d'une nucléation coagulative. Les précurseurs seraient d'abord formés par nucléation homogène. La concentration en tensioactif étant

¹⁸ S.-Y. Lin, I. Capek, T.-J. Hsu, C.-S. Chern, *J. Pol. Sci. : Part A: Polym. Chem.*, 37, 4422-4431 (1999).

pourtant supérieure à sa CMC, un mécanisme de nucléation micellaire serait prévisible.

NP30 est un dérivé du polyéthylène glycol soluble dans l'eau en raison de la formation de liaisons hydrogène. Au-delà de la température du point de trouble comprise entre 65 et 75°C dans l'eau, ces liaisons se rompent et le tensioactif devient plus liposoluble et moins hydrophile. A ce point de trouble, le tensioactif est aussi présent sous la forme d'agrégats non micellaires. Tout le tensioactif introduit ne sert donc pas à la stabilisation des particules.

Il est intéressant de noter que la période de nucléation est longue, jusqu'à 20% de conversion. Durant cette période, les *nuclei* formés sont instables et précipitent les uns sur les autres afin d'atteindre une taille critique (ici 180 nm), où la quantité de tensioactif est suffisante pour stabiliser les colloïdes. Ce phénomène est caractéristique d'une polymérisation en émulsion à faible concentration en tensioactif. Il pourrait s'expliquer par le fait qu'une partie du tensioactif est sous forme d'agrégats ou solubilisé dans les gouttelettes de monomère ou les *nuclei*. Tout le tensioactif introduit ne servirait donc pas à la stabilisation des colloïdes.

La coagulation des *nuclei* en particules matures engendrerait alors le piégeage d'une partie du tensioactif solubilisé dans les particules en croissance. Il pourrait alors agir comme une barrière entre les anciens germes au-delà desquels ne peuvent pas interdiffuser les oligoradicaux. Cette théorie avancée par Lin est corroborée par le nombre moyen de radicaux par particules supérieur à 0,5.

Il est intéressant de noter que, pour pallier à la perte d'efficacité de stabilisation stérique du tensioactif, des charges peuvent contribuer à une stabilisation électrostatique. Ainsi, des ions SO_4^{\ominus} induits par l'utilisation du persulfate de sodium devrait être détectés en surface des particules. Le protocole PI.002 concerne la mesure du potentiel zéta des particules, préparées au cours d'une polymérisation en émulsion du styrène selon le protocole PI.001, puis dialysées afin d'éliminer le tensioactif libre.

PI.002 : Mesure du potentiel zéta de particules de polystyrène en fonction de la durée de la polymérisation :

Quelques mL de suspension colloïdale prélevés du réacteur selon le protocole PI.001 ont été dialysés contre l'eau ultrapure pendant 4 x 24 heures. Les échantillons ont ensuite été dilués dans l'eau ultrapure à 0,01 g.L⁻¹ afin de mesurer le potentiel zéta (Malvern, Zetasizer).

La courbe 1.007 présente l'évolution du potentiel zéta en surface des particules pour différents prélèvements. Les colloïdes sont chargés négativement en surface dès les premières minutes de la polymérisation. L'hypothèse d'une nucléation homogène suivie de la coagulation des *nuclei* jusqu'à des taux de conversion proches de 20% reste cohérente.

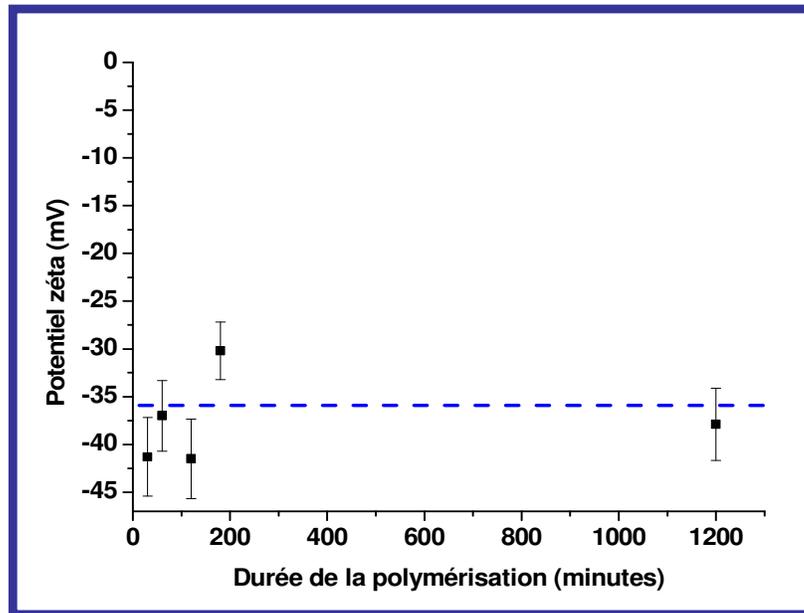


Figure 1.007 : Evolution du potentiel zéta à la surface des particules de latex au cours d'une polymérisation en émulsion du styrène selon le protocole PI.001 ($[NP30] = 2,6 \text{ g.L}^{-1}$, $[\text{styrène}] = 88 \text{ g.L}^{-1}$, $[\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8] = 0,4 \text{ g.L}^{-1}$ et $T = 70^\circ\text{C}$).

Enfin, l'introduction d'une solution aqueuse contenant du persulfate de sodium, à la fin d'une synthèse selon le protocole A.001 donné en annexe, n'a pas permis de rendre totale la conversion. Ceci semble indiquer que le faible taux de conversion obtenu n'est pas dû à un défaut de centres actifs. Plusieurs hypothèses sont alors envisageables :

- la température de synthèse étant inférieure à la température de transition vitreuse du polystyrène (105°C), la viscosité à l'intérieur des particules en croissance ne permettrait plus la diffusion des centres actifs. Cependant des effets de gel non observés dans notre cas seraient aussi probables.
- une autre hypothèse non contradictoire avec la précédente serait que le tensioactif solubilisé dans les particules en croissance limiterait la capture des oligoradicaux. La création d'une deuxième population de particules, rendue probable par ces deux hypothèses, n'a pourtant pas été observée.
- tous les radicaux issus de la décomposition du persulfate SO_4° ne sont aussi probablement pas capturés par les particules en croissance. L'utilisation d'un amorceur plus hydrophobe introduit en fin de réaction (conversion supérieure à 70%) pourrait permettre d'augmenter le taux de conversion final.

2.5. Influence de différents paramètres sur la polymérisation :

Nous avons fait varier certains paramètres de polymérisation afin d'étudier leur influence sur le nombre de particules de latex créées et les taux de conversion du monomère en fin de polymérisation.

Quatre expériences complémentaires ont été menées aux températures de 50, 80, 90 et 105°C (eau à reflux), toutes choses étant égales par ailleurs. La Figure 1.008 donne l'évolution de la concentration en particules de latex créées lors d'une polymérisation en émulsion en fonction de la température et montre une augmentation du nombre de particules. Ceci peut s'expliquer par le fait que l'augmentation de la température facilite la nucléation des particules. L'augmentation du taux de conversion final en monomère est à rapprocher d'une vitesse de polymérisation plus élevée.

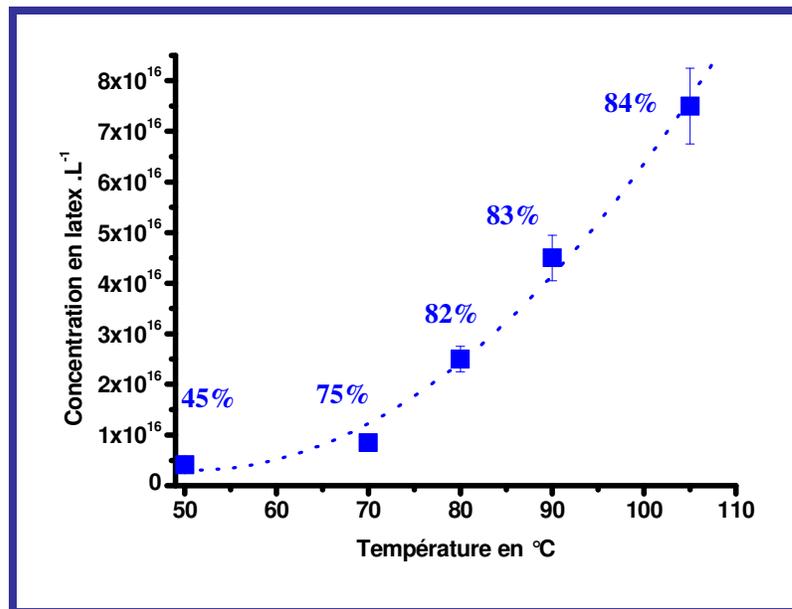


Figure 1.008 : Evolution de la concentration en particules de latex créées pour des polymérisations en émulsion du styrène en fonction de la température de synthèse ($[NP30] = 2,6 \text{ g.L}^{-1}$, $[\text{styrène}] = 88 \text{ g.L}^{-1}$, $[\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8] = 0,4 \text{ g.L}^{-1}$). Les taux de conversion du monomère atteints en fin de polymérisation sont indiqués en %.

En travaillant à une température de synthèse inférieure à la Tg du polystyrène (105°C) et supérieure à la température du point de trouble du NP30, le tensioactif moins hydrophile aurait tendance à se faire piéger dans les particules en croissance. Lorsque la température du milieu est proche de la Tg du polymère, le tensioactif est libre de stabiliser la surface des particules.

Quatre expériences ont été effectuées selon le protocole PI.001 à différentes concentrations en

amorceur : 0,2, 0,4, 0,9 et 1,3 g.L⁻¹ (resp. z = 25, 50, 100 et 150), les autres paramètres restant constants. La Figure 1.009 donne l'évolution du nombre de particules latex créées en fonction de la concentration en amorceur. Il est visible que l'augmentation du nombre de radicaux facilite la création de *nuclei* et permet l'obtention d'un nombre final de particules plus grand. Il apparaît aussi que le nombre de particules créées dépend de la concentration en amorceur suivant la relation $N_p \propto [A]^{0,67}$. La déviation non négligeable à la relation de Smith et Ewart atteste encore du fait que la nucléation n'est pas micellaire.

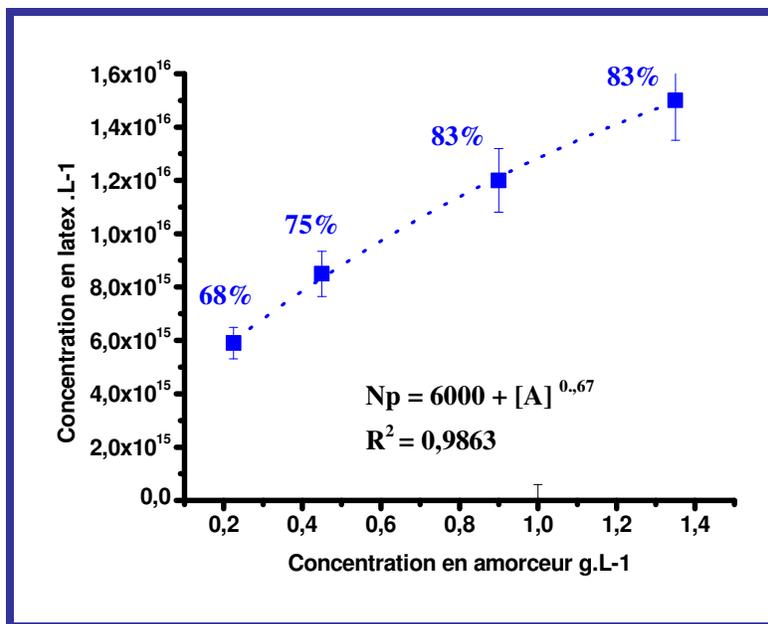


Figure 1.009: Evolution de la concentration en particules de latex créées pour des polymérisations en émulsion du styrène à différentes concentrations en amorceur ([NP30] = 2,6 g.L⁻¹, [styrène] = 88 g.L⁻¹ et T = 70°C). Les taux de conversion du monomère atteints en fin de polymérisation sont indiqués en %.

L'influence de la concentration en styrène a été étudiée en réalisant quatre expériences avec des concentrations en styrène de 44, 88, 176 et 264 g.L⁻¹ (y = 5,5, 11, 22 et 33) selon le protocole PI.001, tout autre paramètre restant constant. La Figure 1.010 présente l'évolution du nombre de particules créées en fonction de la concentration en monomère. La courbe présente une forme parabolique qui indique une concentration-limite (~ 120 g.L⁻¹) au-delà de laquelle il y aurait coagulation des particules, probablement dû au fait qu'il n'y a pas assez de tensioactif par rapport à la quantité de monomère pour les stabiliser.

Enfin, l'évolution du nombre de particules de latex en fonction de la concentration en tensioactif (0 ; 0,7 ; 1,3 ; 2,6 et 5,2 g.L⁻¹ c'est-à-dire x = 0 ; 0,5 ; 1 ; 2 et 4) a été étudiée à 105°C (eau à reflux) afin d'optimiser les taux de conversion et les temps de polymérisation. La Figure 1.011

présente l'évolution du nombre de particules de latex en fonction de la concentration en NP30. A cette température, la dépendance entre le nombre de particules de polystyrène et la concentration en tensioactif est de la forme $N_p \propto [TA]^{0,77}$, ce qui semble définitivement écarter l'hypothèse d'une nucléation micellaire seul. La compétition entre nucléation micellaire, coagulative et homogène semble très probable.

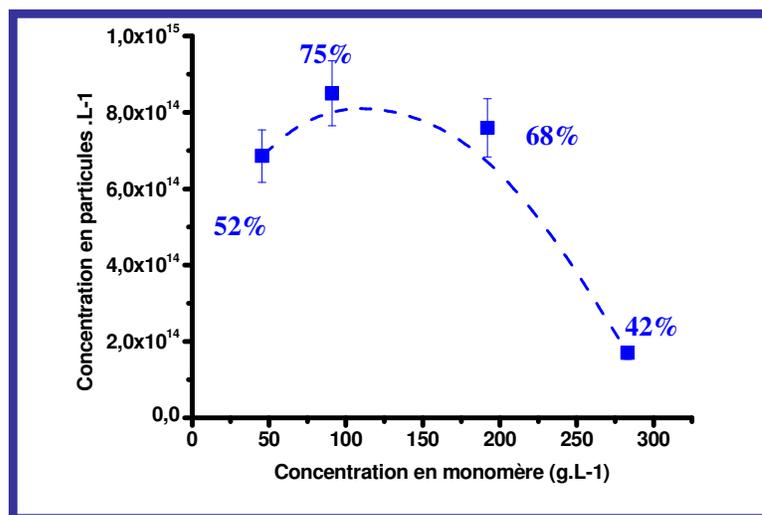


Figure 1.010 : Evolution de la concentration en particules de latex créées pour des polymérisations en émulsion du styrène avec la concentration en monomère ($[NP30] = 2,6 \text{ g.L}^{-1}$, $[Na_2S_2O_8] = 0,4 \text{ g.L}^{-1}$ et $T = 70^\circ\text{C}$). Les taux de conversion du monomère atteints en fin de polymérisation sont indiqués en %.

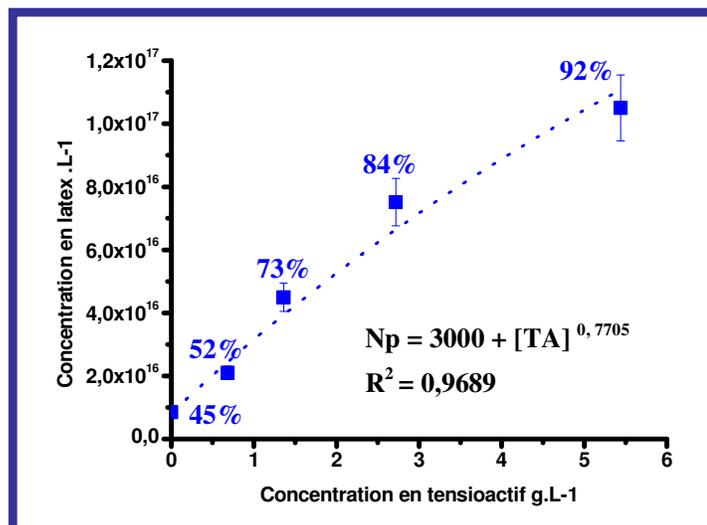


Figure 1.011 : Evolution de la concentration en particules de latex créées au cours d'une polymérisation en émulsion en fonction de la concentration en tensioactif ($[\text{styrène}] = 88 \text{ g.L}^{-1}$, $[Na_2S_2O_8] = 0,4 \text{ g.L}^{-1}$ et $T = 105^\circ\text{C}$). Les taux de conversion du monomère atteints en fin de polymérisation sont indiqués en %.

Durant cette étude, il a été possible de montrer qu'il est possible de jouer sur les paramètres de polymérisation afin de changer le nombre de particules de polystyrène créées. Il est possible de créer des particules dont le diamètre est compris entre 125 et 280 nm et dont le nombre varie de $2 \cdot 10^{15} \text{ L}^{-1}$ à 10^{17} L^{-1} .

3 Encapsulation de particules minérales par polymérisation en émulsion :

Le lecteur intéressé pourra se référer à différents articles de revues traitant de la synthèse de particules hybrides organiques/inorganiques à base de particules métalliques, d'aluminosilicates ou autres charges minérales^{19,20,21,3}. En raison de la littérature abondante dans le domaine, nous avons choisi dans cette partie de nous limiter aux cas d'encapsulation *in situ* de particules d'oxydes métalliques par polymérisation en émulsion conventionnelle. La modification de germes inorganiques par couplage de polymérisation en émulsion et polymérisation radicalaire contrôlée^{22,23,24} ne sera pas traitée ici.

3.1. Description des principales particules d'oxyde métallique encapsulées par polymérisation en émulsion.

Le tableau 1.002 présente les principaux oxydes métalliques synthétiques ou naturels incorporés dans des matrices polymères et les différents domaines d'applications dans lesquels ils sont utilisés.²⁵ Ces charges minérales permettent d'améliorer certaines propriétés des matériaux (nano)composites tels que leur tenue mécanique, leur inertie chimique, leur conductivité, leur transparence ou leur résistance thermique. La réactivité chimique de ces différentes particules d'oxydes dépend de la concentration d'hydroxyles en surface, du pH et de la force ionique du milieu dans lequel elles sont dispersées.

On définit pour ces composés un point isoélectrique (PIE)²⁶, cf. Figure 1.012, qui caractérise le degré d'ionisation des hydroxyles et l'acido-basicité de surface des particules. Pour un pH du milieu dispersant inférieur au PIE, la surface des particules présente un potentiel de surface positif (protonation des hydroxyles), alors que pour un pH supérieur au PIE, le potentiel de surface est négatif

¹⁹ E. Bourgeat-Lami, *J. Nanosci. Nanotech.*, 26, 1-24 (2006).

²⁰ E. Bourgeat-Lami, WILEY-VCH, Kickelbick (Ed.), *Hybrid Materials*, pp 498 (2007).

²¹ S.K. Ghosh, *Functional coatings by polymer microencapsulation*, John Wiley & Sons, Weinheim, pp. 357 (2006).

²² J. Parvole, J.-P. Montfort, L. Billon, *Macromol. Chem. Phys.*, 205, 1369-1378 (2005).

²³ L. Ghannam, J. Parvole, G. Laruelle, J. François, L. Billon, *Polym. Int.*, 55, 1199-1207 (2006).

²⁴ C. Bartolome, E. Beyou, E. Bourgeat-Lami, P. Chaumont, F. Lefebvre, N. Zydowicz, *Macromolecules*, 38, 1099-1106 (2005).

²⁵ G. Buxbaum, *Industrial Inorganic Pigments*, John Wiley & Sons, Weinheim, pp 315, (1998).

²⁶ G.A. Parks, *Chemical Reviews*, 177-195 (1965).

(déprotonation des hydroxyles).

Particules d'oxydes métalliques	Point isoélectrique (PIE)	Domaines d'application
TiO ₂ (anatase)	6,2	Peintures
TiO ₂ (rutile)	4,7	
SiO ₂	2,2	Peinture, élastomères
Al ₂ O ₃	9,1	Biomédical
ZnO	9	Electronique
Fe ₂ O ₃ (maghémite)	7-8	Biomédical

Tableau 1.002 : Points isoélectriques de différents oxydes métalliques couramment utilisés.

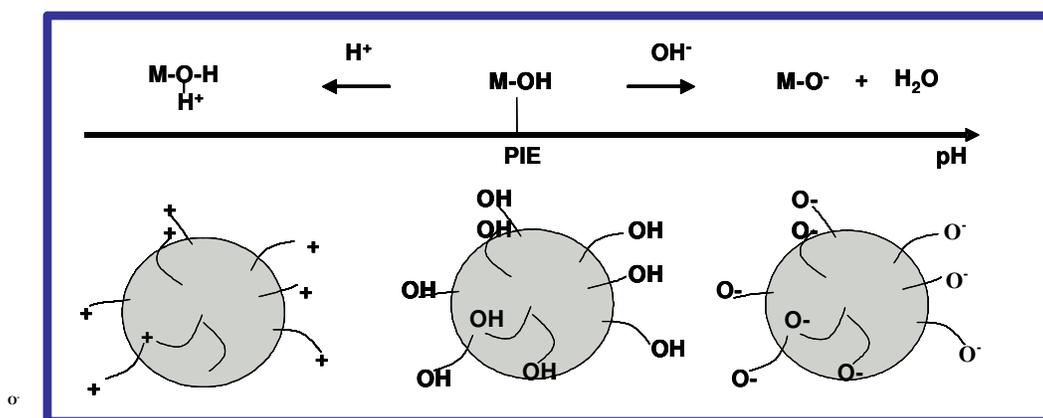


Figure 1.012 : Représentation schématique de l'état de surface des particules d'oxydes métalliques en fonction du pH de la dispersion aqueuse.

3.2. Stratégies de synthèse des colloïdes hybrides organiques/ inorganiques :

En raison du caractère hydrophile des particules d'oxydes métalliques et des charges présentes en leur surface, elles sont intrinsèquement incompatibles avec une phase polymère obtenue par une polymérisation hétérogène. L'emploi d'un agent compatibilisant est requis pour former des colloïdes hybrides.

Ces agents peuvent être regroupés en deux groupes selon qu'ils sont greffés de manière

covalente ou adsorbés *via* des liaisons secondaires à la surface des oxydes métalliques. Ils peuvent de plus être réactifs ou non vis-à-vis du polymère en croissance. Les agents compatibilisants réactifs introduisent à la surface des pigments minéraux des fonctions chimiques (amorceur, fonction copolymérisable, agent de transfert). Ils permettent la formation *in situ* d'un lien covalent entre la surface de l'oxyde et les chaînes polymère en croissance. Les agents compatibilisants non réactifs (tensioactifs, macromolécules) permettent un contrôle des tensions interfaciales. Ils accroissent l'affinité entre les phases organiques et inorganiques. Les différentes voies de compatibilisation sont représentées sur le schéma 1.013.

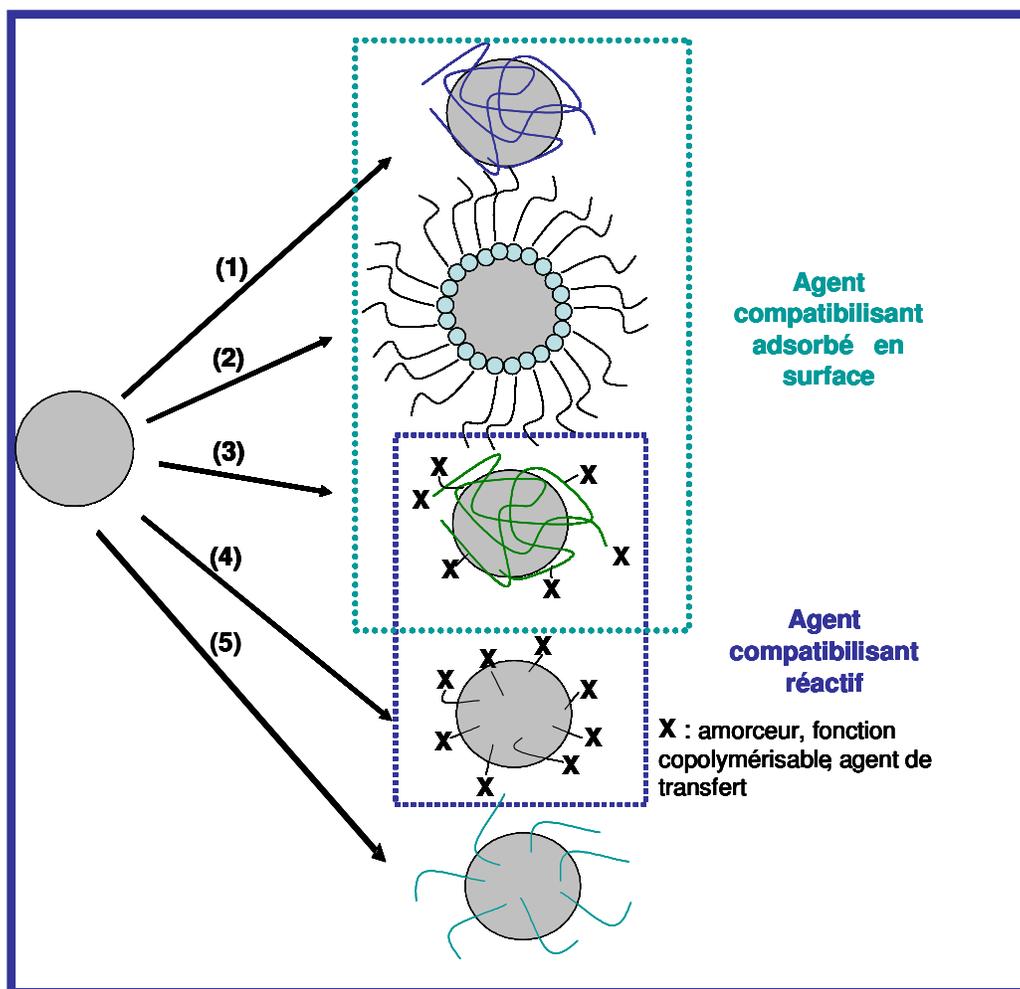


Figure 1.013 : Schématisation des différentes voies de comptabilisation entre les germes minéraux et les phases polymère : (1) adsorption d'un composé hydrophobe, (2) admicellisation d'un tensioactif, (3) adsorption de macromolécules contenant une fonction réactive, (4) greffage de molécules réactives, (5) greffage de molécules hydrophobes.

3.2.1. Adsorption de tensioactifs et de macromolécules :

De nos jours, l'encapsulation de pigments *via* l'adsorption de tensioactifs ou la polymérisation admicellaire est applicable à une large variété de monomères (styrène, acrylates, butadiène, isoprène). Cette voie est une des plus prometteuses d'un point de vue industriel, car elle ne requiert pas l'utilisation de composés coûteux. Elle est en outre directement applicable *via* des procédés préexistants.

Son développement reste actuellement limité. Cependant la description du comportement de tensioactifs en présence de particules minérales est un des points-clés de la formation de colloïdes hybrides organiques/inorganiques, quelle que soit la voie de compatibilisation. L'adsorption de tensioactifs, ioniques (anioniques ou cationiques) ou non-ioniques va dépendre de la concentration en tensioactif et de l'état de surface des pigments, lui-même dépendant du pH, de la température ou de la concentration en hydroxyles de surface.²⁷

Dans le cas de l'emploi de tensioactifs non-ioniques de type nonylphénylpoly(éthylène glycol) l'adsorption se fait grâce à des interactions de type hydrogène. Celles-ci ont lieu entre les motifs oxyde d'éthylène et les silanols de surface de particules d'oxyde.^{28,29} A forte concentration, le tensioactif peut aussi former des micelles en surface des particules minérales.^{30,31}

Dans le cas d'emploi de tensioactifs anioniques tels que le dodécylsulfate de sodium (SDS), l'adsorption en surface des charges minérales se fait par les têtes polaires des molécules amphiphiles. Elles conduisent à la déstabilisation des sols à faible concentration. A plus forte concentration, la formation de bicouches de tensioactifs permet une restabilisation des sols.³²

La polymérisation admicellaire repose sur la formation de bicouches de tensioactifs ou de micelles adsorbées en surface des pigments. Ensuite la polymérisation est provoquée dans les admicelles gonflées par un monomère peu hydrosoluble. Des procédés d'encapsulation de particules oxydes d'aluminium³³, de titane et de fer³⁴ par du polystyrène ont ainsi pu être mises en œuvre à la fin du siècle dernier.

O'Haver et *al.*^{35,36,37} ont par exemple étudié l'encapsulation de microparticules de silice par

²⁷ F. Tiberg, J. Brinck, L. Grant, *Curr. Opin. Colloid Interf. Sci.*, 4, 411-419 (2000).

²⁸ K. Esumi, *J. Colloid Interf. Sci.*, 241, 1-17 (2001).

²⁹ M. W. Rutlanda, T.J. Senden, *Langmuir*, 412-418 (1993).

³⁰ P. Levitz, H. Van Damme, D. Keravis, *J. Phys. Chem.*, 88, 2228-2235 (1984).

³¹ G.G. Warr, *Curr. Opin. Colloid Interf. Sci.*, 5, 88-94 (2000).

³² J. H. Scamehorn, R.S. Schechter, W.J. Wade, *J. Colloid Interf. Sci.*, 85, 463-478 (1992).

³³ J. Wu, J.H. Harwell, E.A. O'Rear, *Langmuir*, 3, 531-537 (1987).

³⁴ K. Meguro, T.Yabe, S. Ishioka, K. Kato, K. Esumi, *Bull. Chem. Soc. Jpn*, 3019-3021 (1986).

³⁵ J. H. O'Haver, J. H. Harwell, E. A. O'Rear, L.J. Snodgrass, *Langmuir*, 10, 2588-2593 (1994).

cette voie. Différents types de tensioactifs (cationiques ou non-ioniques) et différents monomères (butadiène, méthacrylate de méthyle, chlorostyrène, styrène...) ont été utilisés en présence d'AIBN (azo-*bis*-isobutyronitrile) qui amorce la polymérisation sélectivement dans les admicelles formées. Les particules de silice modifiées obtenues ont ensuite été utilisées comme renforts dans des matrices polymères de semelle de chaussures. Ces matériaux ont montré des propriétés mécaniques (module d'élasticité, élongation à la rupture) améliorées. Selon les auteurs, les particules de silice sont recouvertes d'une fine couche de polymère, même si aucune observation par microscopie n'a été effectuée.

L'adsorption de macromolécules a aussi suscité l'intérêt de la communauté scientifique pour l'encapsulation de particules d'oxydes. L'avantage de leur emploi est de maintenir la stabilité colloïdale des sols minéraux par stabilisation stérique. Furusawa et *al.*³⁸ ont par exemple adsorbé en surface de particules de silice de l'hydroxypropylcellulose à saturation. Ils ont ensuite utilisé ces germes dans une polymérisation en émulsion du styrène. Des morphologies de type cœur-écorce ont été obtenues sans ajout de tensioactif. Des morphologies de type « framboises » ont été obtenues en présence de SDS à une concentration supérieure à sa CMC. Ce dernier résultat pourrait être attribué à l'hétérocoagulation de particules formées dans le milieu dispersant sur la surface des charges minérales rendues hydrophobes.

3.2.2. Greffage covalent d'agents de couplage :

Le greffage covalent de molécules hydrophobes permet d'abaisser la tension de surface des charges minérales et augmente ainsi l'affinité entre les phases polymère et inorganique. De plus, quand ces agents portent une fonction réactive, la croissance des chaînes est *a priori* favorisée en surface des pigments.

Les hydroxyles présents en surface des particules d'oxydes métalliques réagissent avec des molécules substituées de type RMX_3 afin de créer un pont oxométallate (M-O-M). M est un métal ou un semi-métal (Si, Ti, Al...), X est un groupe hydrolysable (OCH_3 , Cl) et R un groupe organique compatibilisant (groupement vinylique, méthacrylique, thiol). Quelques exemples d'agents de couplages commerciaux sont donnés dans le tableau 1.003 et sont pour la grande majorité des organosilanes ou organotitanates.

³⁶ W.H. Waddell, J. H. O'Haver, L.R. Evans, J. H. Harwell, *J. Appl. Pol. Sci.*, 55, 1627-1641 (1995).

³⁷ J. H. O'Haver, J. H. Harwell, L.R. Evans, W.H. Waddell, *J. Appl. Pol. Sci.*, 59, 1427-1435 (1996).

³⁸ K. Furusawa, Y. Kimura, T. Tagawa, *J. Colloid. Interf. Sci.*, 109, 69-76 (1985).

Agent de couplage	Structure chimique	Acronyme
Vinyltriméthoxysilane	$\text{CH}_2 = \text{CHSi}(\text{OCH}_3)_3$	VTMS
Méthacrylate de 3-triméthoxysilylpropyle	$\text{CH}_2 = \text{C}(\text{CH}_3)\text{COOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}(\text{OCH}_3)_3$	MPS
Méthacryloxyméthyltriéthoxysilane	$\text{CH}_2 = \text{C}(\text{CH}_3)\text{COOCH}_2\text{Si}(\text{OCH}_3)_3$	MMS
3-Triméthoxysilylpropane-1-thiol	$\text{HSCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si}(\text{OCH}_3)_3$	MPTS
Titanate de diisopropyle et de diisostéaryle	$((\text{H}_3\text{C})_2\text{HCO})_2\text{Ti}(\text{OCOCH}_2\text{C}_{16}\text{H}_{33})_2$	KR TTS
Titanate de diisopropyle, de méthacrylate et d'isostéaryle	$ \begin{array}{c} \text{OCOCH}_2\text{C}_{16}\text{H}_{33} \\ \diagup \\ ((\text{H}_3\text{C})_2\text{HCO})_2\text{Ti} \\ \diagdown \\ \text{OCOC}(\text{CH}_3)=\text{CH}_2 \end{array} $	KR7
Titanate de triméthacrylate et d'isopropyle	$(\text{CH}_2 = \text{C}(\text{CH}_3)\text{COO})_3\text{TiOCH}(\text{CH}_3)_2$	KRS

Tableau 1.003 : Structure chimique des différents agents de couplage à base d'organosilanes et organotitanates les plus couramment employés.

Dans les années 90, l'encapsulation de particules d'oxyde de titane par une coque de poly(méthacrylate de méthyle) (PMMA) fut largement étudiée par le groupe hollandais de German et Van Herk.^{39,40,41,42} Différents agents de couplage de type organotitanates réactifs (KR7 et KRS) ou non (KR TTS) vis-à-vis de la polymérisation en émulsion ont été utilisés.

La fonctionnalisation des particules submicroniques d'oxyde de titane avec ces agents de couplage à saturation, a permis de rendre les charges minérales lipophiles. Ainsi la polymérisation du PMMA en leur surface a été favorisée. L'adsorption du tensioactif (SDS) en surface des particules fonctionnalisées et sa concentration durant l'étape de polymérisation fut un des paramètres les plus

³⁹ C. H. M. Hofman-Caris, *New. J. Chem.*, 18, 1087-1096 (1993).

⁴⁰ C.H.M. Caris, R.P.M. Kuijpers, A.M. van Herk, A.L. German, *Makromol. Chem. Macromol. Symp.*, 35-36, 535-548 (1990).

⁴¹ C.H.M. Caris, L.P.M. Elven, A. M. van Herk, A.L. German, *Br. Polym. J.*, 21, 133-140 (1989).

⁴² C.H.M. Caris, Thèse de l'université de Technologie de Eindhoven (1990).

critiques sur la stabilité colloïdale des suspensions obtenues. Les cinétiques et les mécanismes de polymérisation avancés furent différents dans le cas où le polymère était physisorbé ou greffé de manière covalente en surface des particules minérales.

L'encapsulation de particules de silice par un polymère a aussi fait l'objet de nombreuses études notamment dans les années 90 par Espiard et *al.*^{43,44,45} Ils focalisèrent leurs efforts sur l'utilisation du MPS. Les particules de silice fonctionnalisées à saturation servirent de germes à la polymérisation en émulsion de l'acrylate d'éthyle, du méthacrylate de méthyle ou du copolymère poly(styrène-*co*-acrylate de butyle) en utilisant un tensioactif non-ionique de type nonylphénylpolyl(éthylène glycol). Lors de la synthèse des colloïdes hybrides, les taux de conversion du monomère furent dans tous les cas inférieurs à 100 %. Il fut démontré que la vitesse de polymérisation diminue avec la concentration en charges minérales. La décomposition de l'amorceur est aussi ralentie en présence de silice (30% du persulfate non-décomposé restant après 24 heures de polymérisation). Des films minces composites transparents furent élaborés à partir de ces particules. Certains d'entre eux incorporant jusqu'à des taux de charges en silice de 40 %, montrèrent des propriétés mécaniques proches de films d'élastomères renforcés par des charges^{46,47}.

Parmi les nombreux travaux concernant l'encapsulation de particules de silice dans du polystyrène *via* l'utilisation du MPS ou autres silanes réactifs vis-à-vis de la polymérisation^{48,49,50,51}, citons par exemple ceux de Zhang et *al.*⁵². Ceux-ci consistèrent en la fonctionnalisation de particules de silice obtenues par voie sol-gel par le MPS et leur utilisation comme germes de polymérisation en émulsion du styrène. Ils étudièrent l'influence de la concentration en monomère, en germes de silice et en tensioactif sur la morphologie des particules. Des particules comportant plusieurs nodules de polystyrène en surface ou des particules cœur-écorce d'épaisseur contrôlée ont ainsi été élaborées (*cf.* clichés de MET en Figure 1.014)).

⁴³ P. Espiard, Thèse de l'Université de Lyon I (1992).

⁴⁴ E. Bourgeat-Lami, P. Espiard, A. Guyot, *Polymer*, 36, 4385-4389 (1995).

⁴⁵ P. Espiard, A. Guyot, *Polymer*, 36, 4391-4395 (1995).

⁴⁶ P. Espiard, A. Guyot, J. Perez, G. Vigier, L. David, *Polymer*, 36, 4397-4403 (1995).

⁴⁷ E. Bourgeat-Lami, P. Espiard, A. Guyot, C. Gauthier, L. David, G. Vivier, *Angew. Makromol. Chem.*, 242, 105-122 (1996).

⁴⁸ Z. Zeng, J. zu, Z. X. Guo, *J. Polym. Sci. Part. A. Polym. Chem.*, 42, 2253-2262 (2004).

⁴⁹ Z. Zeng, J. yu, Z.X. Guo, *Macromol. Chem. Phys.*, 205, 2197-2204 (2004).

⁵⁰ K. Yoshinaga, R. Horie, F. Saigoh, T. Kito, N. Enomoto, H. Nishida, M. Komatsu, *Polym. Adv. Technol.*, 3, 91-93 (1992).

⁵¹ K. Yoshinaga, K. Sueishi, H. Karakawa, *Polym. Adv. Technol.*, 7, 53-56 (1995).

⁵² K. Zhang, H. Chen, X. Chen, Z. Chen, Z. Cui, B. Yang, *Macromol. Mater. Eng.*, 288, 380-385 (2003).

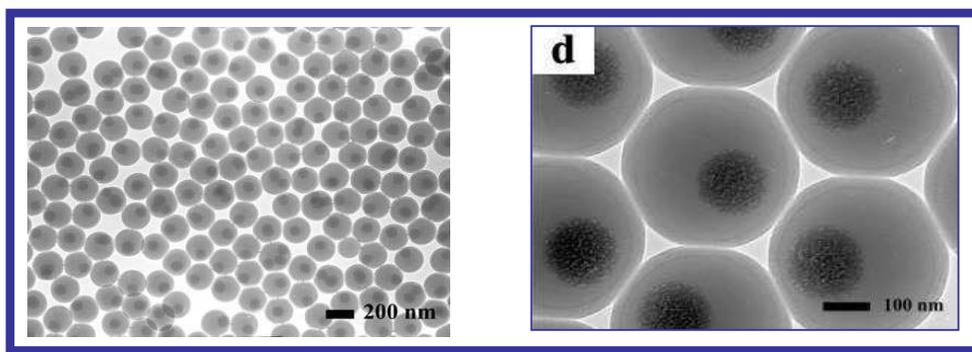


Figure 1.014 : Clichés MET de particules de silice préalablement modifiées par MPS et encapsulées dans le polystyrène par polymérisation en émulsion⁴⁸.

3.2.3. Adsorption de molécules réactives :

Cette voie de synthèse originale encore peu explorée dans le cadre de l'élaboration de colloïdes hybrides organiques/inorganiques concerne l'adsorption de molécules réactives vis-à-vis de la polymérisation en surface des particules d'oxydes métalliques. Ces molécules, pouvant être des macromonomères, des surfmères ou des amorceurs, se fixent à la surface des pigments *via* des interactions non-covalentes de type liaisons hydrogène ou électrostatiques.^{4,19,20} Le tableau 1.004 présente quelques exemples de ces composés tirés de la littérature, traitant de l'encapsulation de particules de silice qui vont être décrits dans cette partie.

Agent compatibilisant	Formule chimique	Type d'agent
Chlorure de <i>N,N</i> -diméthyl- <i>N</i> -[(ω -méthacryloxy)-éthyl]alkyl ammonium		surfmère
AIBA : dihydrochlorure de azo-bis isobutyramidine		amorceur
PEG-Ma : poly(oxyde d'éthylène) monométhyléther méthacrylate	$\text{CH}_3\text{O}-(\text{CH}_2-\text{CH}_2\text{O})_n-\text{CO}(\text{CH}_3)=\text{CH}_2$	macromonomère

Tableau 1.004 : Formules chimiques de quelques exemples d'agents de couplage adsorbés en surface des germes d'oxydes métalliques.

Nagai et *al.* ont par exemple étudié l'encapsulation de particules de silice via l'adsorption de surfactifs cationiques en milieu aqueux ou organique.^{53,54} Ces surfactifs présentent des propriétés d'association caractéristiques dans l'eau et dans les solvants polaires. Au-delà de leur CMC, ils forment des micelles directes ou inverses selon le milieu dispersant et peuvent s'adsorber en surface de particules minérales chargées négativement en surface. L'influence de différents paramètres tels que le milieu dispersant, le type d'amorceur (hydro ou organosoluble) et la longueur de chaîne lipophile du surfactif a été étudiée. La copolymérisation du styrène avec le chlorure de N,N-diméthyl-N-[(ω -méthacryloxy)-éthyl]alkyl ammonium, à une concentration supérieure à la CMC, a mené à des particules cœur-écorce. Les taux de conversion étaient supérieurs à 90 % dans certains cas.

Une autre voie a été développée pour l'encapsulation de nanoparticules de silice commerciales dans le poly(méthacrylate de méthyle) par adsorption préalable d'un amorceur cationique (AIBA) en surface des charges minérales, chargées négativement sous certaines conditions de pH.^{55,56,57} Les morphologies obtenues dépendent de différentes variables (ordre d'introduction des réactifs, diamètre des particules de silice) et en particulier de la concentration en tensioactif (non-ionique) et en amorceur. Les morphologies cœur-écorce sont obtenues si la grande majorité de l'AIBA est adsorbé et amorce la polymérisation sélectivement depuis la surface des particules. Cependant, des morphologies de type « framboises » sont obtenues par hétérocoagulation, dans des conditions de fortes concentrations en tensioactif et /ou d'amorceur. Les particules de latex libres positivement chargées en surface ainsi formées dans la phase aqueuse peuvent précipiter en surface des pigments.

Enfin, l'adsorption d'un composé en surface des particules d'oxyde ayant pour double rôle de les rendre hydrophobes et d'introduire des doubles liaisons polymérisables, a été rapportée par Reculosa et *al.*^{58,59,60,61} Ce macromonomère dérivé du poly(éthylène glycol) comportant une fonction méthacrylate vient modifier la surface de particules de silice *via* des interactions entre les silanols et les unités oxyéthylène. Des colloïdes aux morphologies « framboises » ont par exemple pu être élaborés, dans des conditions de taux de greffage faible (*cf.* clichés de MEB et MET en Figure 1.015).

⁵³ K. Nagai, Y. Ohishi, K. Ishiyama, N. Kuramoto, *J. Appl. Polym. Sci.*, 38, 2183-2189 (1989).

⁵⁴ K. Nagai, *Macromol. Symp.*, 84, 29-36 (1994).

⁵⁵ J.-L. Luna-Xavier, A. Guyot, E. Bourgeat-Lami, *Polym. Int.*, 53, 609-617 (2004).

⁵⁶ J.-L. Luna-Xavier, E. Bourgeat-Lami, A. Guyot, *Colloid Polym. Sci.*, 279, 947-958 (2001).

⁵⁷ J.-L. Luna-Xavier, A. Guyot, E. Bourgeat-Lami, *J. Coll. And Interf. Sci.*, 250, 82-92 (2002).

⁵⁸ E. Duguet, S. Reculosa, A. Perro, C. Poncet-Legrand, S. Ravaine, E. Bourgeat-Lami, C. Mingotaud, *Mater. Res. Soc. Symp. Proc.*, 847, EE1.1.1.-EE1.1.10 (2005).

⁵⁹ S. Reculosa, C. Poncet-Legrand, A. Perro, E. Duguet, E. Bourgeat-Lami, C. Mingotaud, S. Ravaine, *Chem. Mater.*, 17, 3338-3344 (2005).

⁶⁰ A. Perro, S. Reculosa, E. Bourgeat-Lami, E. Duguet, S. Ravaine, *Coll. Surf. A : Phys. Eng. Aspects*, 284-285, 78-83 (2006).

⁶¹ S. Reculosa, C. Poncet-Legrand, S. Ravaine, C. Mingotaud, E. Duguet, E. Bourgeat-Lami, *Chem. Mater.*, 14, 2354-2359 (2002).

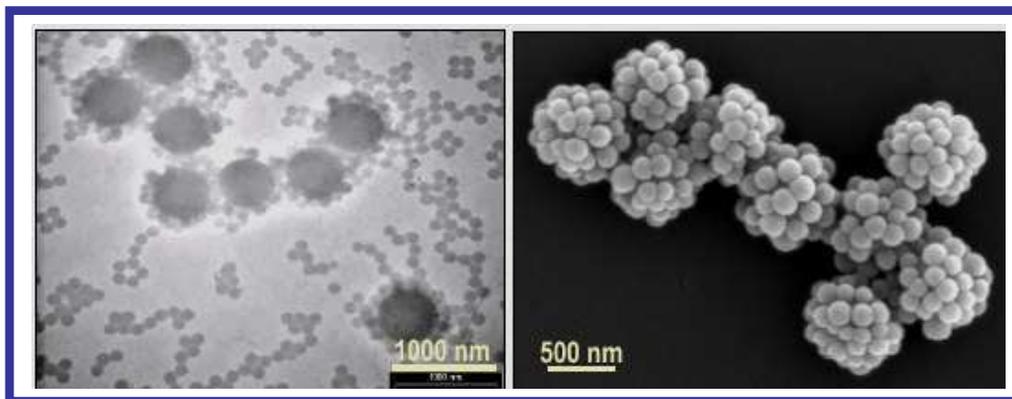


Figure 1.015: Clichés de MET et de MEB de colloïdes organiques/inorganiques de morphologies framboises obtenus par polymérisation en émulsion en présence de nanoparticules de silice de 500 nm de diamètre fonctionnalisées avec un macromonomère dérivé du poly(éthylène glycol).

3.3. Principaux enseignements des thèses précédentes :

Cette thèse s'inscrit dans la continuité des thèses de Stéphane Reculosa¹⁷ et d'Adeline Perro¹⁶. L'objet de cette partie est de décrire les principaux enseignements qui ont pu être tirés de ces travaux.

3.3.1. Concept de ratio :

La synthèse de particules hybrides développée par S. Reculosa^{17,58-61} comprend sur trois étapes : la synthèse des particules de silice, dont le diamètre varie de 50 nm à quelques μm par voie sol-gel, la fonctionnalisation de surface avec un agent de couplage comportant une fonction méthacrylate copolymérisable, puis l'utilisation de ces particules minérales comme germes dans une polymérisation en émulsion du styrène. Le contrôle des morphologies repose alors sur le concept de ratio, défini comme le rapport du nombre de particules de latex de polystyrène formées sur le nombre de germes de silice fonctionnalisées introduits au cours de l'étape de polymérisation en émulsion.

$$R = N_{\text{latex}} / N_{\text{silice}}$$

La valeur de N_{latex} était déterminée préalablement à partir d'un «blanc» de polymérisation, dont les conditions de polymérisation étaient fixées pour le reste des études. Dès lors le contrôle du ratio et des morphologies pouvait se faire simplement par l'ajustement de N_{silice} durant l'étape 3, dont la valeur était calculée par des calculs géométriques simples, reposant sur l'approximation que les précurseurs minéraux étaient des sphères parfaites. Les morphologies obtenues par cette voie sont variées ; de la framboise pour les rapports R élevés (250) aux particules dissymétriques pour un rapport R unitaire.

3.3.2. Influence de l'agent compatibilisant :

Deux types d'agents compatibilisants ont été utilisés pour modifier la surface des particules de silice vierges : l'adsorption du PEG-Ma par des liaisons faibles et le greffage covalent du MMS. Ces deux molécules utilisées dans des conditions de faible taux de greffage (entre 0,1 et 1 fonction méthacrylate.nm⁻²) ont mené aux mêmes types de morphologie finale.

L'utilisation du PEG-Ma comme agent compatibilisant engendre des objets moins stables qui peuvent notamment se déstructurer sous l'effet de fortes contraintes de cisaillement (ultracentrifugation ou ultrasonication) libérant ainsi les nodules PS. Cet agent sera utilisé dans le chapitre 3, pour former des particules fonctionnalisées. Par ailleurs, il a été observé que pour des faibles taux de conversion en monomère, les nodules PS sont suffisamment mous pour se déformer, voire glisser le long du germe de silice, en particulier sous l'effet des forces capillaires au moment du séchage de la dispersion sur grille MET. Des morphologies planes originales sont ainsi accessibles.

3.3.3. Influence de la taille des précurseurs :

A. Perro étudia en particulier l'influence de la taille des germes de silice fonctionnalisés au PEG-Ma sur les morphologies des colloïdes hybrides obtenus, en se plaçant dans des conditions de rapport R élevé. Quelques clichés de MET des morphologies sont donnés en Figure 1.016. Ces études démontrèrent qu'à nombre de particules de polystyrène créées constant, le nombre de nodules de polystyrène augmente avec le diamètre des précurseurs fonctionnalisés. Les morphologies obtenues sont variées. Citons les exemples de tétrapodes, hexapodes ou octopodes, respectivement 4, 6 et 8 nodules de polystyrène en surface des particules de silice dont les diamètres respectifs sont de 85, 125 et 170 nm.

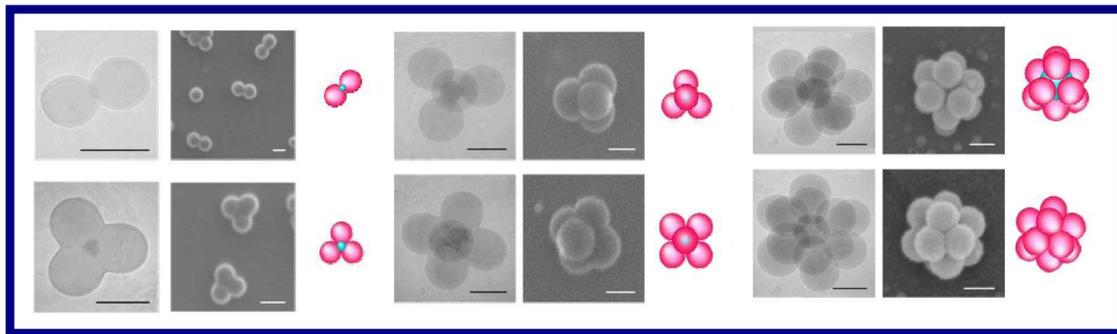


Figure I.016: Clichés de MET et de MEB des différentes morphologies obtenues à partir de particules de silice fonctionnalisées, en se plaçant dans des conditions de large excès de particules de latex par rapport aux précurseurs inorganiques (barre d'échelle 100 nm)¹⁶.

3.3.4. Influence de la concentration en particules de silice :

Les particules de silice fonctionnalisées utilisées comme germes lors de la polymérisation en émulsion ont une influence durant cette étape. A. Perro a par exemple décrit que le nombre de particules de polystyrène nucléées lors de cette phase augmente avec le nombre de particules de silice introduites (cf. Figure I.017) démontrant l'effet stabilisant des particules de silice.

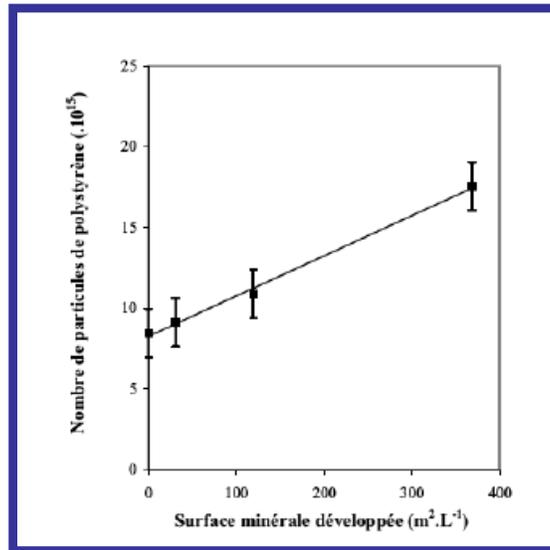


Figure I.017 : Evolution du nombre de particules de latex créées au cours de l'étape de polymérisation en émulsion en fonction de la surface développée des particules de silice.

Les travaux décrits précédemment ont permis un bon contrôle des morphologies même si certains écueils subsistent :

- les taux de conversion restent faibles (de l'ordre de 70 %) et la durée de synthèse est de l'ordre de 10 h. La dispersion finale est en outre « polluée » par de nombreuses particules de polystyrène libres,
- le contrôle des morphologies n'est possible que par ajustement de la quantité de silice introduite lors de la dernière étape, dans des conditions de polymérisation qui n'ont jamais été modifiées,
- l'influence du taux de greffage en agent compatibilisant reste assez obscure, car seuls les taux de 0,1 et 1 fonction.nm⁻² furent étudiés.
- enfin ces études n'ont apporté aucun élément sur les mécanismes de nucléation et de croissance des particules de latex.

C'est notamment pour tenter de corriger ces écueils ou répondre à ces questions que nous avons poursuivi cette étude.

4 Synthèse de colloïdes silice / polystyrène de morphologie contrôlée :

Afin d'étudier l'étape de nucléation des nodules de polystyrène en surface des germes de silice, des colloïdes hybrides correspondant à un ratio $N_{\text{latex}}/N_{\text{silice}}$ de 8 ont été synthétisés. Les particules précurseurs ont été élaborées et fonctionnalisées selon les protocoles A.002 et A.004 donnés en annexe. Les particules de silice du lot n°1 correspondant à un taux de greffage en MMS de 0,1 fonction.nm⁻² ont été utilisées.

Protocole PI.003 : Synthèse de colloïdes silice/polystyrène de type octopodes :

220 mg de particules fonctionnalisées du lot n°1 dispersées dans l'eau sont ajoutés à la polymérisation en émulsion du styrène (protocole PI.001). Des prélèvements à 5, 10, 20, 30, 40, 50 et 120 minutes sont effectués sous courant d'azote et placés au réfrigérateur après addition de quelques µg d'hydroquinone. Le taux de conversion est évalué par analyse gravimétrique sur quelques µL de chacun des échantillons. Le diamètre moyen des nodules a pu être évalué à partir de 20 minutes de polymérisation sur la base de clichés de MET. L'évolution du nombre de particules de latex en fonction du temps a pu être suivie par calcul suivant l'équation précédemment décrite (relation 3) reliant le nombre, la masse de polymère formé et le diamètre des particules de latex.

La courbe de conversion du monomère en fonction du temps (cf. Figure 1.018, courbe bleue) montre un profil où la période de nucléation n'est pas visible contrairement à la synthèse réalisée sans particule de silice (courbe verte). Le taux de conversion final et la vitesse de polymérisation sont aussi plus importants. L'évolution du nombre de particules avec le temps (Figure 1.019) montre dès le début de la polymérisation une coagulation des premiers *nuclei* et une stabilisation du nombre de particules de polystyrène pour un taux de conversion de 15-20 % (~100 min).

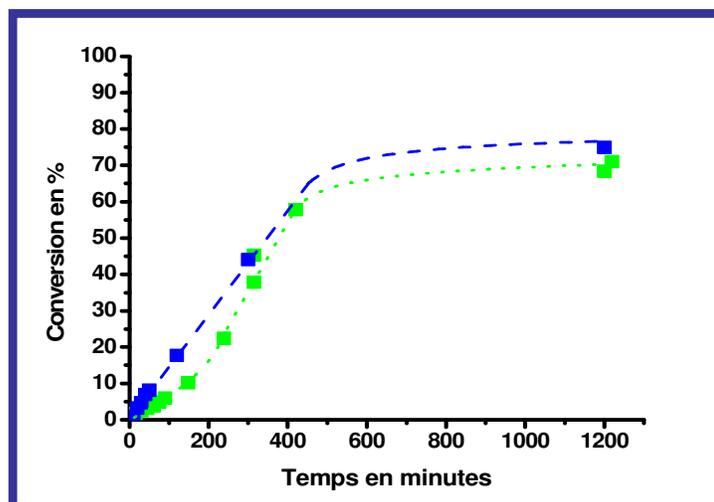


Figure 1.018: Courbes d'évolution du diamètre et du taux de conversion du monomère en polymère au cours d'une polymérisation en émulsion sans silice (verte) et en présence de particules de silice fonctionnalisées par MMS (bleue) dans des conditions de ratio ($N_{\text{latex}}/N_{\text{silice}}$) de 8.

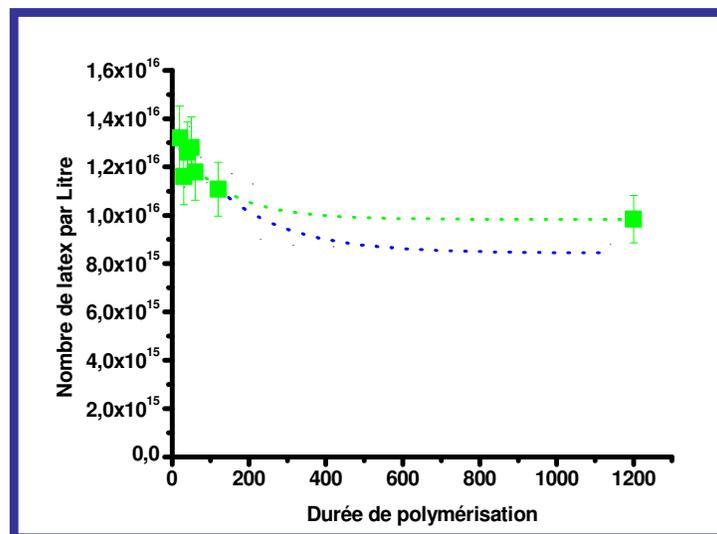


Figure 1.019: Courbes d'évolution du nombre de particules de latex formés au cours d'une polymérisation en émulsion sans silice (bleue) et en présence de particules de silice fonctionnalisées selon le protocole PI.001 (verte).

La présence des particules de silice semble favoriser le nombre de *nuclei* formés dès les premiers instants. Ceux-ci coalescent et grossissent avec une vitesse plus importante que dans le cas du « blanc » (polymérisation sans silice). Le nombre de particules de latex formées se stabilise aussi à un temps plus court, mais pour le même taux de conversion. Au final ce nombre est légèrement plus élevé que dans le cas du « blanc ».

4.1. Etude de la polymérisation en émulsion en présence de particules de silice fonctionnalisées par cryo-tomographie électronique :

Reclusa¹⁷ et Perro¹⁶ avaient déjà montré que les morphologies des colloïdes hybrides pouvaient être contrôlées par l'ajustement de certains paramètres. La taille et la concentration des particules de silice influence directement le nombre de nodules de PS. Ces objets avaient déjà été observés en MET après quelques dizaines de minutes de polymérisation, ce qui correspond à des taux de conversion de 20 %. L'observation des morphologies aux temps courts n'avait pas été réalisée pour trois raisons principales :

- pour des échantillons pris au temps de polymérisation inférieurs à 20 minutes correspondant à des taux de conversion inférieurs à 5%, le styrène qui gonfle les nodules de polymère agit comme un plastifiant. Les particules de polymère « fluent » sous le faisceau d'électrons.
- la morphologie des colloïdes obtenus peut parfois évoluer du fait du séchage de la goutte de l'échantillon sur la grille de MET. Les forces de capillarité mises en jeu peuvent induire une

séparation entre les nodules de polystyrène et les particules de silice. Ce phénomène est observé dans le cas de faibles taux de greffage de l'agent compatibilisant ou de l'utilisation de PEG Ma.

- les images MET ne sont que des projections en deux dimensions des objets et l'exercice qui consiste à les imaginer en trois dimensions est parfois délicat.

La cryo-microscopie électronique à transmission est une technique permettant d'observer des échantillons instables sous le faisceau d'électrons tels que les systèmes biologiques.⁶² Elle est particulièrement adaptée aux échantillons dispersés en milieu aqueux. En effet, la congélation rapide d'une goutte d'échantillon dans une cuve d'éthane liquide à l'aide d'un plongeur permet de le figer dans son état de suspension au sein d'une fine couche vitreuse.⁶³ L'échantillon est observé à l'aide d'un microscope électronique à basse température générant de faibles doses d'électrons afin de limiter les effets de détérioration de la glace. Le porte-échantillon peut pivoter suivant un axe fixe et balayer un angle de $\pm 70^\circ$ (cf. Figure 1.020).

La cryo-tomographie électronique est la combinaison de l'acquisition automatique des images obtenues par la cryo-MET à plusieurs angles d'un objet isolé, de leur analyse et des traitements d'image qui permettent de reconstruire les objets en trois dimensions.

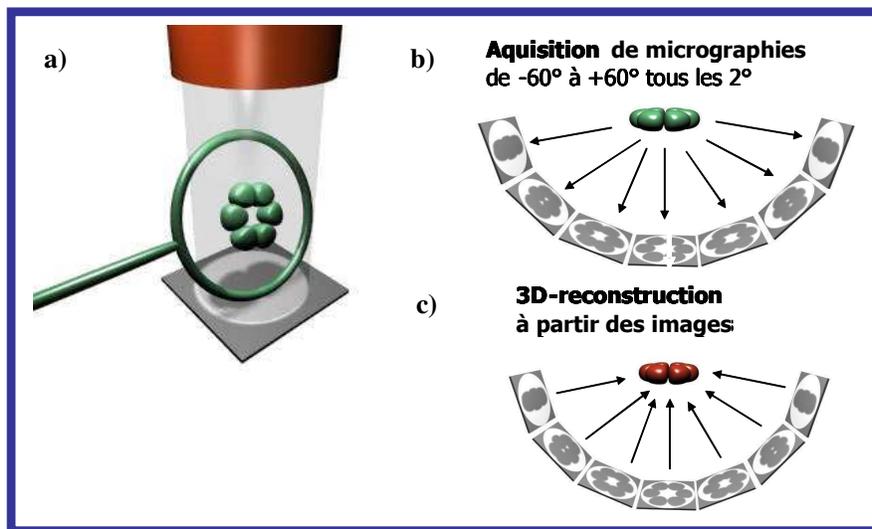


Figure 1.020 : Principe de la cryo-tomographie électronique, a) représentation du porte-objet pouvant pivoter b) représentation de l'acquisition d'images tous les 2° en cryo-MET c) reconstruction en 3D à partir de la série d'images obtenues (schéma de J.C. Taveau, CBMN, Bordeaux).

⁶² S. Mornet, O. Lambert, E. Duguet and A. Brisson, *Nano Lett.*, 5, 281-285 (2005).

⁶³ G. Thornton, *Science*, 300, 1378-1379 (2003).

Chaque échantillon prélevé du réacteur de polymérisation et non dilué a pu être observé dans des conditions de cryo-MET dans l'équipe d'Olivier Lambert du CBMN de Bordeaux (Chimie et Biologie des Membranes et des Nanoobjets) selon le protocole décrit ci-dessous :

Protocole PI.004 : Préparation des grilles de cryo-MET : A l'aide d'une micropipette, une goutte de 5 μL de chaque échantillon est déposée sur une grille de carbone recouverte d'un film de cuivre, sur lesquelles ont été préalablement déposées des nanoparticules d'or ($D \sim 5 \text{ nm}$). L'excès de liquide est éliminé à l'aide d'un papier filtre et la grille est plongée dans un bain d'éthane liquide, maintenu à température par un bain d'azote liquide (Leica EM, CPC). Les grilles sont ensuite observées à la température de $-170 \text{ }^\circ\text{C}$ à l'aide d'un microscope électronique à transmission (FEI Tecnai F20, 200 kV). Une série d'images prises à l'aide d'une caméra CCD (2K x 2K, Gatan) de -60° à $+60^\circ$ tous les 2° selon l'axe d'inclinaison est collectée automatiquement par le logiciel « FEI tomography » . Les images sont alignées avec le logiciel IMOD en utilisant les nanoparticules d'or comme marqueurs, puis les reconstructions tomographiques sont calculées grâce aux logiciels de Priism. Chaque reconstruction est effectuée sur un objet isolé différent, sélectionné en tant qu'élément représentatif des prélèvements.

Les clichés de cryo-MET et les reconstructions 3D des colloïdes obtenus dans les premiers temps de la polymérisation sont donnés Figure 1.021. Avant introduction de l'amorceur, la surface des particules de silice apparaît vierge. Le styrène ne pouvant pas être distingué des molécules d'eau, les micelles et les gouttelettes réservoirs n'ont pas été observées.

Les reconstructions ont permis de donner une description précise de la topologie et de la géométrie des colloïdes. Elles ont permis de révéler certains *nuclei* non visibles en MET, dû au fort contraste existant entre la silice et le polystyrène. Les nodules de polymère en surface des germes inorganiques ont ainsi pu être décomptés. Après 5 minutes de réaction, les premiers *nuclei* de 30 nm de diamètre apparaissent et sont répartis aléatoirement en surface dans une proportion de 10 à 15 par germe de silice. Leur nombre diminue à partir de 20 minutes (8-10) et se stabilise dès 30 minutes pour rester constant à 8 nodules par particule. Le diamètre moyen des particules de latex atteint alors 110 nm. Cette diminution du nombre de particules de latex en surface des germes de silice au cours du temps peut résulter de deux phénomènes intervenant successivement. Tout d'abord, un phénomène de coagulation des *nuclei* favorisées par les conditions de polymérisation adoptées (cf. les résultats obtenus avec les « blancs ») jusqu'à un taux de conversion en monomère de 20 %. Ce phénomène a manifestement lieu simultanément dans le milieu dispersant et en surface des germes. Ensuite, dès que les nodules grossissent, des contraintes stériques peuvent induire une expulsion de certains d'entre eux dans le milieu aqueux.

Les valeurs des diamètres évalués en cryo-MET sont supérieures à celles obtenus par le MET et ce pour chaque temps de réaction. Ceci confirme que les nodules congelés restent gonflés de monomère alors que, dans ceux observés par MET, le monomère s'est dévolatilisé au cours du séchage (cf. Tableau 1.005).

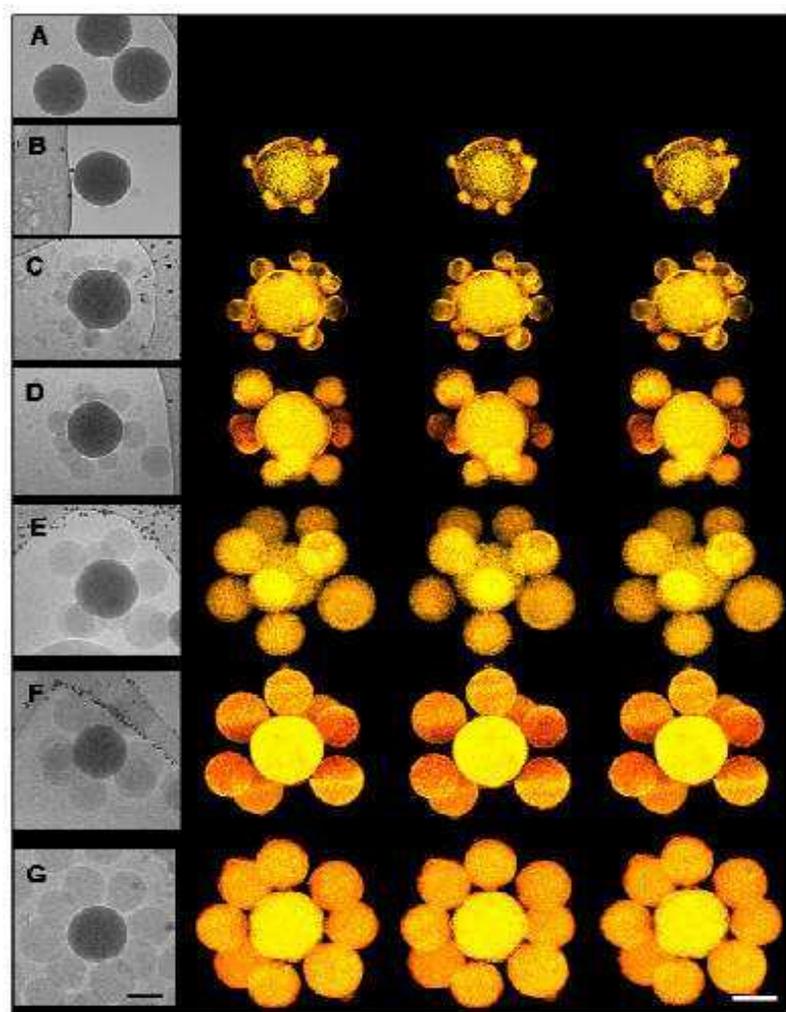


Figure 1.021 : Cliché cryo-MET et reconstruction 3D à différents angles de rotation d'un colloïde obtenu après 0, 5, 10, 20, 30, 60 et 120 minutes (de A à G) de polymérisation (barre d'échelle : 100 nm).

Temps de réaction (min)	5	10	20	30	40	50	120
$(D_n)_{TEM}$ (nm)	-	-	80	95	105	110	150
$(D_n)_{cryo-EM}$ (nm)	30	60	85	110	130	140	185

Tableau 1.005 : Diamètres moyens des nodules de polystyrène en surface des germes de silice déterminés à partir des clichés MET et cryo-MET au cours de la réaction.

Enfin, l'observation des clichés nous montre également que les nodules en surface de la silice adoptent une configuration octopode dès 30 minutes. Cette réorganisation des 8 nodules restants dans

cette position d'équilibre pourrait s'effectuer par déplacement en surface des germes des nodules PS. En effet, gonflés par le monomère, ceux-ci sont nécessairement plus malléables et déformables, tout en conservant une forme globalement sphérique par minimisation des énergies interfaciales.

4.2. Etude de l'influence du taux de greffage sur les morphologies

L'objet est ici de déterminer l'influence du taux de greffage nominal en MMS des particules de silice sur l'angle de contact formé par le nodule de polystyrène en leur surface.

La Figure 1.022 présente des coupes obtenues à partir des reconstructions 3D des objets préparés à différents temps de réaction. Les centres de gravité des sphères de polystyrène et de silice ont été alignés verticalement de sorte que les angles de contact puissent être lus et mesurés directement. Ces valeurs ont été déterminées pour différents temps de polymérisation et par conséquent pour différentes tailles de nodules PS. On observe ainsi que l'angle de contact n'évolue pas au cours de la polymérisation et sa valeur moyenne est de $142 \pm 1^\circ$. Ceci témoigne d'une affinité plutôt moyenne entre le polystyrène et la silice, du moins lorsque le 3^{ème} constituant est le milieu dispersant de la polymérisation.

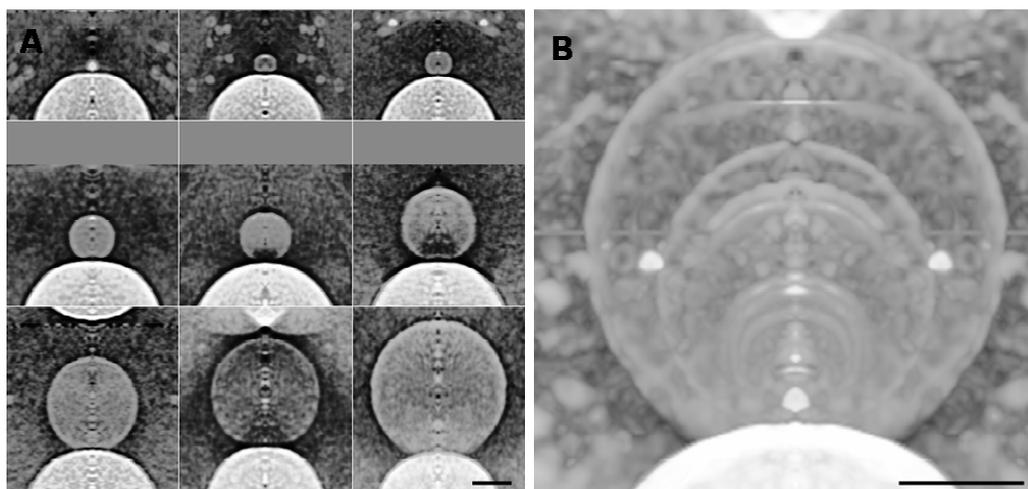


Figure 1.022 : Croissance des nodules de polystyrène en surface des particules de silice : A) galeries de vues en coupe des reconstructions 3D représentant des nodules de différents diamètres en surface de la silice. Les centres des particules de latex et de silice ont été alignés verticalement. B) Superposition des différentes coupes (barre d'échelle : 100 nm).

Afin de déterminer l'influence du taux de greffage de MMS, des particules de silice de 125 nm ont été synthétisées par voie sol-gel (cf. A.002). Ces germes ont été modifiées par le MMS à différents taux de greffage : 0,1 ; 1 ; 3 ; 5 et 10 fonctions.nm⁻² (cf. A.004). Précisons ici que ces valeurs sont

nominales, c'est-à-dire correspondent à des valeurs maximales dans l'hypothèse où tout le MMS introduit dans le réacteur se serait greffé à la surface de la silice. Bien évidemment, une détermination des taux de greffage effectifs auraient pu être menée, notamment par analyse thermogravimétrique. Cependant, comme A. Perro l'a largement discuté dans son mémoire, les mesures restent imprécises et souvent difficiles à interpréter.¹⁶

Des colloïdes hybrides silice/polystyrène ont ensuite été obtenus selon le protocole PI.003 (masse de silice introduite 200 mg), à partir des lots de particules n°2 à 6. Les colloïdes obtenus ont ensuite été observés par MET.

Les clichés présentés Figure 1.023 présentent les morphologies obtenues dans chaque cas, en fin de conversion. Pour les plus faibles taux de greffage nominaux compris entre 0,1 et 1 fonction.nm⁻², les morphologies triangulaires ont été obtenues. La moitié des nodules de polystyrène se sont affaissés sur la grille de MET au moment de sa préparation, conduisant à des morphologies originales dites de « super-triangles » déjà observées par A. Perro. Ceci est dû aux forces capillaires mises en jeu lors du séchage de la goutte de dispersion. Le faible taux de greffage en MMS ne permet pas la création de liens covalents en assez grand nombre pour maintenir la structure (cf. Figure 1.024).

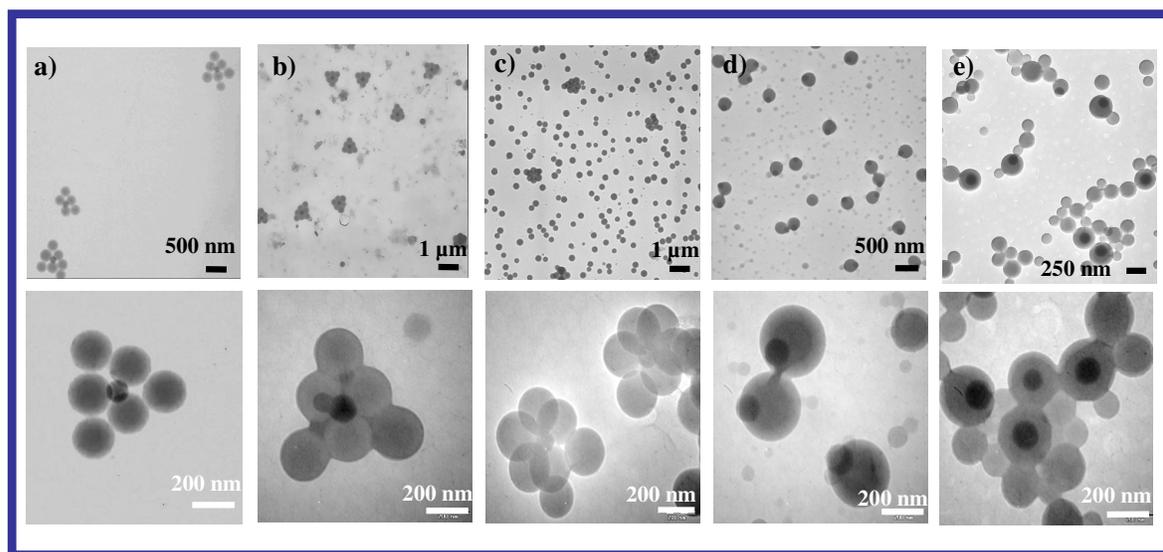


Figure 1.023 : Clichés de MET des colloïdes hybrides obtenus par polymérisation en émulsion à partir de particules de silice de 125 nm de diamètre fonctionnalisées au MMS à différents taux de greffage : a) 0,1, b) 1, c) 3, d) 5 et e) 10 fonctions.nm⁻².

Pour un taux de greffage nominal de 3 fonctions.nm⁻², des assemblages de 6 particules de polystyrène à la surface des particules de silice sous forme d'hexapodes robustes sont visibles (aucune morphologie de type triangulaire n'est visible). On peut pourtant remarquer un nombre important de particules de latex libres. Pour les particules de silice fonctionnalisées à un taux de greffage nominal

de 5 fonctions.nm⁻², les morphologies obtenues sont proches de particules dissymétriques. Un seul nodule de polystyrène est visible en surface avec un angle de contact plus important que dans les cas précédents. Enfin pour les particules fonctionnalisées à un taux de greffage de 10 fonctions.nm⁻², des structures cœur-écorces ont été obtenues. Dans ce cas l'affinité entre le polystyrène et la silice est telle que le PS recouvre complètement la surface de la silice.

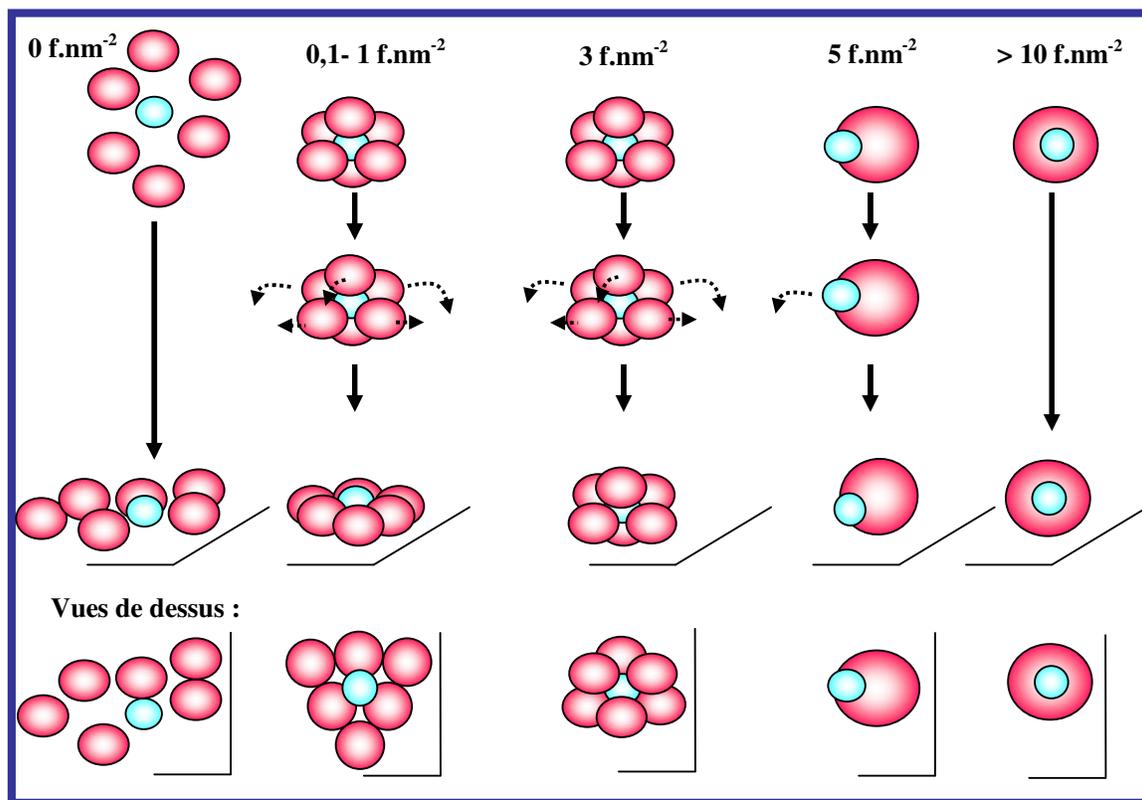


Figure 1.024 : Représentation schématique des modifications structurales des colloïdes hybrides induites par un séchage de la dispersion sur un support plan, en fonction du taux de greffage nominal en MMS.

En conclusion à cette partie, il a été possible de montrer qu'un phénomène de coagulation des nodules de polystyrène a lieu en surface des particules de silice. Il cesse dès 20% de conversion et les colloïdes adoptent une configuration d'équilibre. L'angle de contact entre la silice et le polystyrène, à un taux de greffage donné ne varie pas au cours de l'étape de polymérisation. L'augmentation du taux de greffage du MMS influence directement l'affinité entre les phases polymère et inorganique. Il conditionne l'obtention de particules de morphologie cœur-écorce, dissymétrique, ou multipodique. Dans les cas de faibles taux de greffage en MMS, les colloïdes peuvent se déstructurer. Ce résultat rappelle ceux obtenus par Adeline Perro¹⁶⁶, en utilisant le PEG Ma comme agent compatibilisant.

5 Changement des conditions de polymérisation :

Dans les études précédentes, les conditions de polymérisation avaient été fixées et jamais modifiées. L'objectif de cette partie est de déterminer s'il est possible de contrôler la morphologie des colloïdes hybrides en faisant varier certains paramètres de polymérisation. Nous avons choisi de nous focaliser sur les objets hybrides silice/polystyrène de morphologie tétrapodes ($N_{\text{latex}}/N_{\text{silice}} = 4$). La variation des conditions de synthèse est décrite pas à pas dans cette partie.

L'étude effectuée sur la polymérisation en émulsion en absence de silice a montré qu'il était possible d'obtenir un nombre de particules de polystyrène et des taux de conversion plus élevés. Par augmentation de la température et des concentrations des réactifs, les vitesses de polymérisation sont aussi plus rapides. Les expériences qui suivent ont eu pour but de vérifier que des morphologies contrôlées peuvent être obtenues en changeant ces paramètres.

Une série d'expériences a été réalisée en utilisant pour germes des particules de silice de 92 nm du lot n°19 (cf. A.002 et A.004). Le taux de greffage nominal du MMS est de 1,5 fonctions.nm⁻². Les paramètres que nous avons choisis de faire varier ont été la température, la quantité de silice introduite et la concentration en amorceur et celle en tensioactif. Les expériences ont été menées suivant le protocole PI.003 et les concentrations des différents réactifs sont données dans le tableau 1.006. Les quantités des différents réactifs sont données en annexe (A.003). Les colloïdes obtenus pour les différentes expériences ont été observés par MET et le taux de conversion calculé par analyse gravimétrique sur quelques mL de la dispersion finale. Enfin pour chaque expérience une statistique réduite des morphologies des colloïdes obtenus a été effectuée sur la base des clichés de MET. Une centaine de particules a dans chaque cas été décomptée.

Expérience	EH1	EH2	EH3	EH4	EH5	EH6	EH7	EH8	EH9
C_{SiO_2} (g.L ⁻¹)	1,6	1,6	2,1	2,1	4,2	4,2	4,2	4,2	4,8
C_{amorceur} (g.L ⁻¹)	0,1	0,1	0,1	0,2	0,2	0,2	0,4	0,4	0,2
C_{NP30} (g.L ⁻¹)	1,3	2,6	2,6	2,6	2,6	5,2	2,6	5,2	2,6

Tableau 1.006 : Concentrations en silice, amorceur et tensioactif utilisés dans les expériences EH1 à EH9. La température de synthèse a été fixée à 80°C et la concentration en monomère à 88 g.L⁻¹.

Les clichés de MET des colloïdes obtenus pour l'expérience EH1 sont donnés en Figure 1.025. Le diagramme représente la distribution statistique des morphologies. Dans ces conditions de polymérisation, le taux de conversion final est faible (52% au bout de trois heures). Les particules de latex obtenues font 226 nm (écart-type de 16 nm). Les colloïdes présentent des morphologies diverses où les particules de silice sont entourées de un, 2, 3 ou 4 nodules de polystyrène. Aucune d'elles ne semble être largement majoritaire.

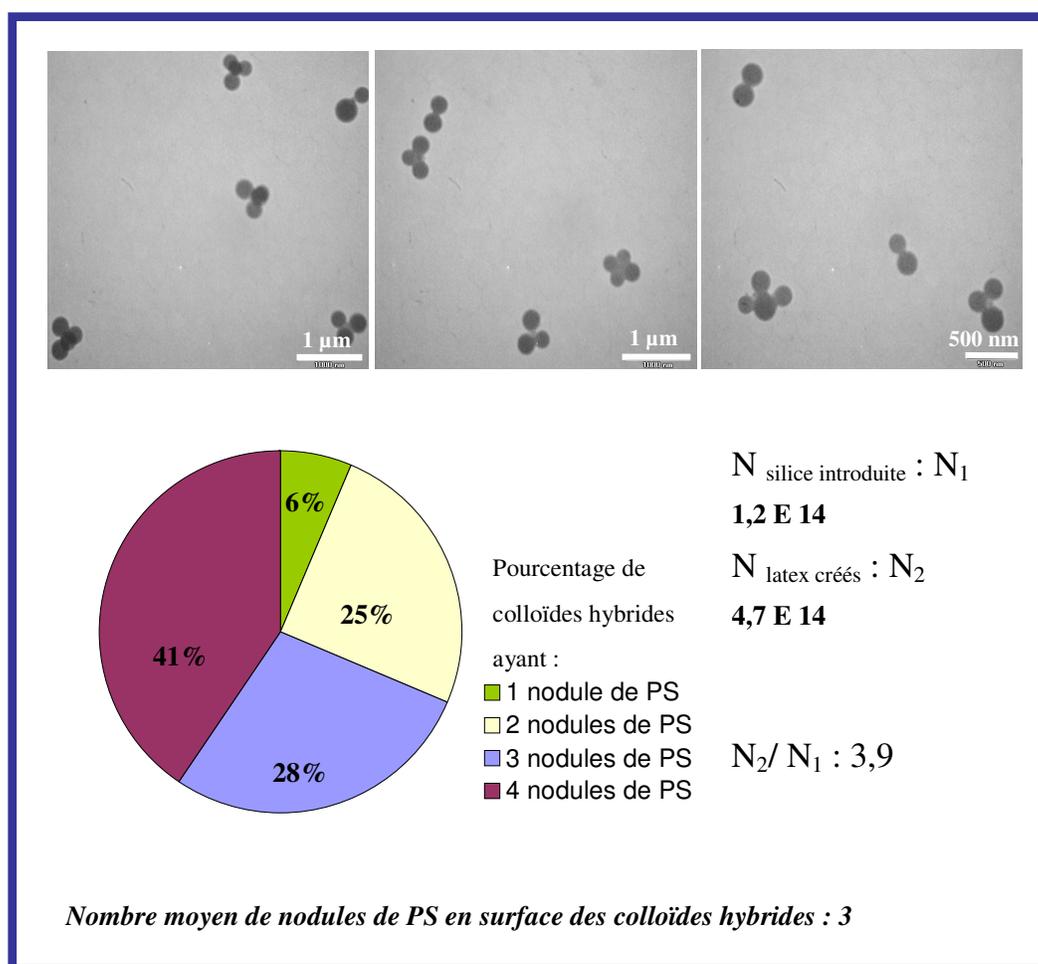


Figure 1.025 : Diagramme représentant la diversité morphologique et clichés de MET des colloïdes hybrides obtenus par polymérisation en émulsion à partir de particules de silice de 92 nm de diamètre dans des conditions de polymérisation EH1.

Afin d'augmenter le taux de conversion, nous avons ensuite choisi de reproduire la même expérience en doublant la quantité de tensioactif. Dans les conditions de polymérisation EH2, le taux de conversion final atteint la valeur de 86 %. Les particules de latex ont des diamètres de 245 nm (écart-type 26). Les clichés de MET relatifs à cette expérience sont donnés Figure 1.026, avec un diagramme de distribution des morphologies.

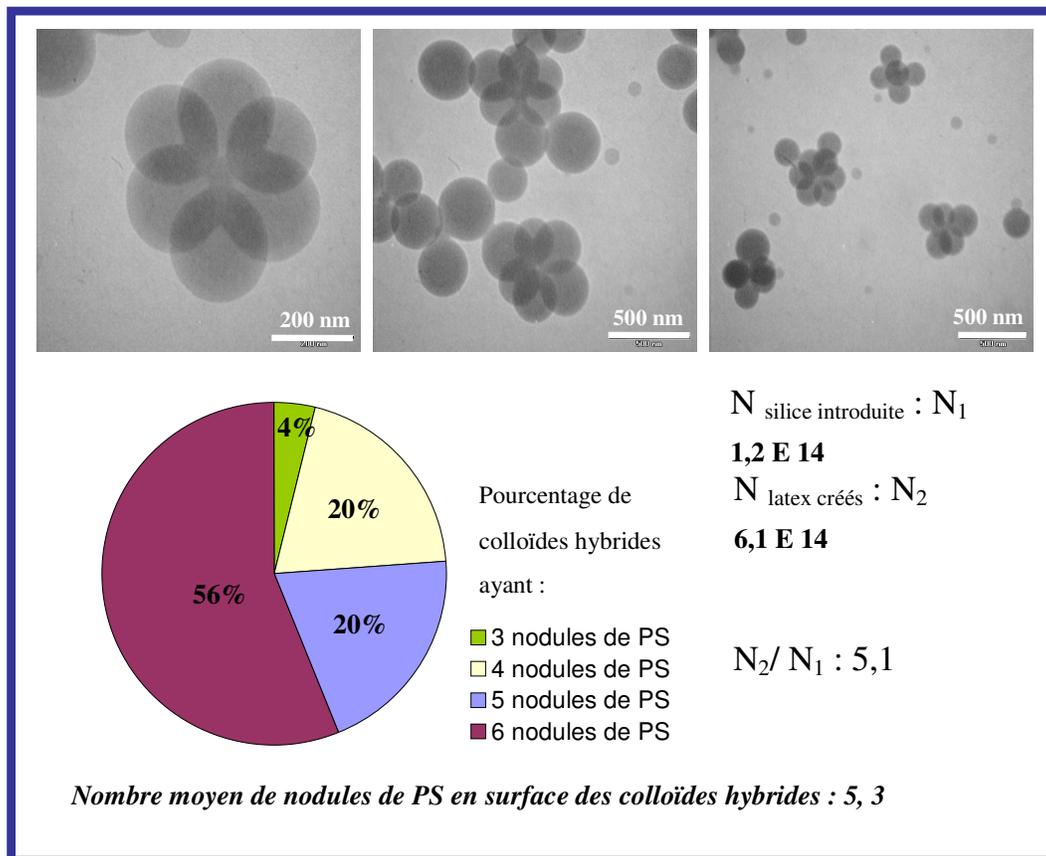


Figure 1.026 : Diagramme représentant la diversité morphologique et clichés de MET des colloïdes hybrides obtenus par polymérisation en émulsion à partir de particules de silice de 92 nm de diamètre dans des conditions de polymérisation EH2.

L'étude des « blancs » nous avait permis de montrer qu'en ajoutant une plus grande quantité de tensioactif, le nombre de particules de latex final était plus grand. Le taux de conversion final était également plus élevé. Cette expérience confirme cette influence en présence de particules de silice. Le ratio $N_{\text{latex}}/N_{\text{silice}}$ s'en trouve changé, ce qui se vérifie à la surface des particules de silice. Les morphologies obtenues sont multiples et les colloïdes présentent dans ce cas un nombre de nodules variant de 3 à 6. Les objets correspondant à un ratio $N_{\text{latex}}/N_{\text{silice}}$ égal à 6 sont dans ce cas majoritaires, contrairement aux résultats préalablement obtenus par A. Perro¹⁷. Dans les conditions de polymérisations initiales, ce type de morphologie était majoritaire dans le cas de l'utilisation de particules de silice fonctionnalisées de 125 nm de diamètre.

Afin d'obtenir des particules hybrides silice/polystyrène correspondant à un ratio $N_{\text{latex}}/N_{\text{silice}}$ égal à 4, la quantité de particules de silice fonctionnalisées a été augmentée de 100 mg à 130 mg. Le taux de conversion final obtenu est de 81 %. Les particules de polystyrène ont un diamètre moyen de 225 nm (écart-type de 40 nm), comme le montre la Figure 1.027. Les colloïdes obtenus dans ce cas présentent un nombre de nodules polymère variant de 1 à 5. Une large majorité (58%, cf. Figure

1.026) de colloïdes correspondant à un ratio de 4 a été observée. Les clichés montrent aussi un grand nombre de particules de polystyrène libres en solution n'ayant pas coalescé.

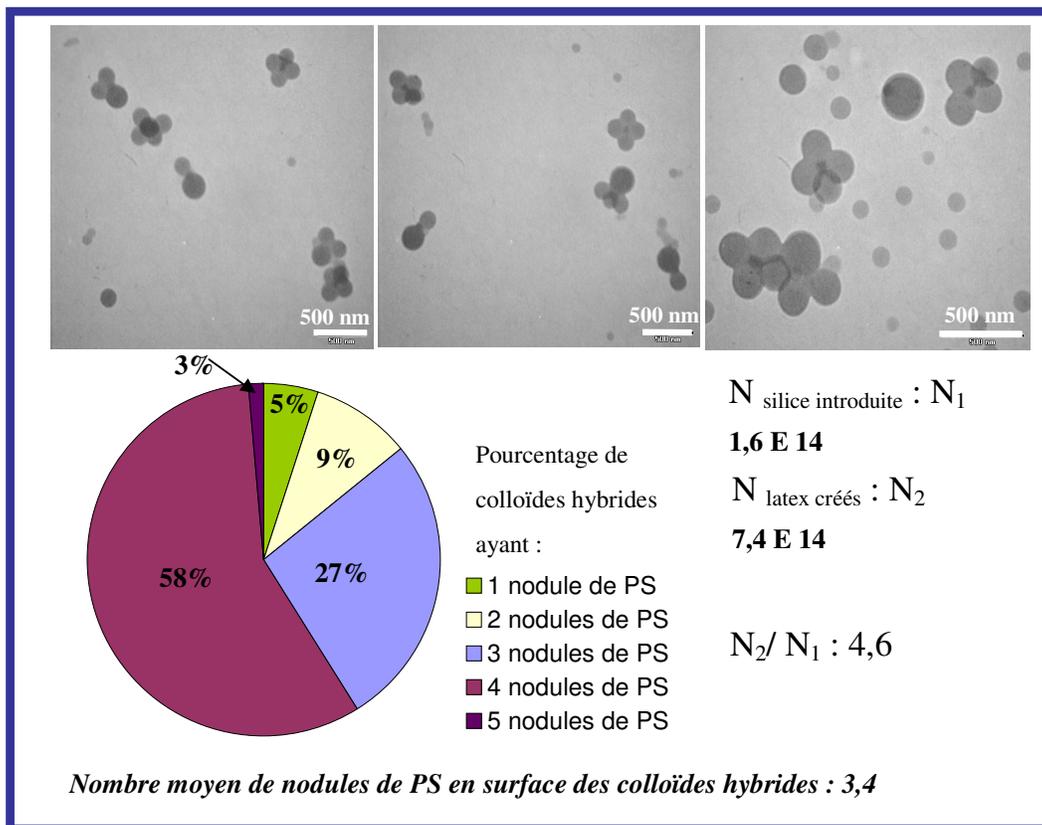


Figure 1.027 : Diagramme représentant la diversité morphologique et clichés de MET des colloïdes hybrides obtenus par polymérisation en émulsion à partir de particules de silice de 92 nm de diamètre dans des conditions de polymérisation EH3.

La concentration en amorceur a été doublée dans l'expérience EH4, afin d'augmenter la proportion de colloïdes hybrides silice/polystyrène de forme tétraédrique. Les clichés de MET et le diagramme de distribution de morphologies relatifs à cette expérience sont montrés Figure 1.028.

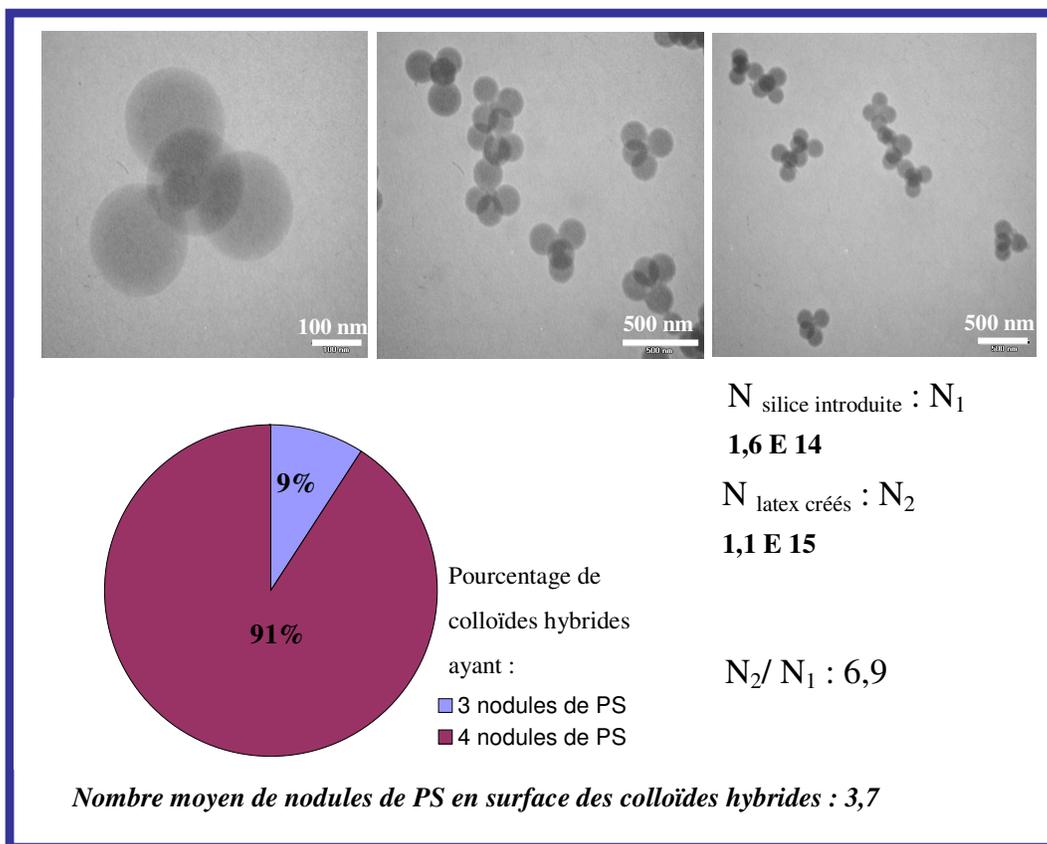


Figure 1.028 : Diagramme représentant la diversité morphologique et clichés de MET des colloïdes hybrides obtenus par polymérisation en émulsion à partir de particules de silice de 92 nm de diamètre dans des conditions de polymérisation EH4.

Comme l'attestent les clichés de MET, les objets obtenus selon ce protocole présentent une morphologie tétraédrique prédominante. Plus de 90 % des particules de silice sont recouvertes par quatre nodules de polystyrène. Le taux de conversion est dans ce cas de 79 %, et les particules de polystyrène présentent des diamètres de 195 nm (écart-type de 15 nm). Bien que le rapport N_2 / N_1 soit de 6,9, aucun colloïde présentant un nombre de nodules de polystyrène supérieur à 4 n'a été observé sur l'échantillon prélevé. Le nombre de particules de latex libres reste faible. Il convient de noter qu'au cours de cette expérience des agrégats se sont formés dans le réacteur. Ceci pourrait être à l'origine d'une surestimation du nombre de particules de polystyrène créées.

Afin d'obtenir des suspensions colloïdales à haut taux de solides contenant un maximum de particules hybrides silice / polystyrène, nous avons choisi de doubler la quantité de silice fonctionnalisée. Le taux de conversion final est dans ce cas de 91 % dans le cas de l'expérience EH5. Les clichés de MET et le diagramme de distribution des morphologies concernant cette expérience sont montrés en Figure 1.029.

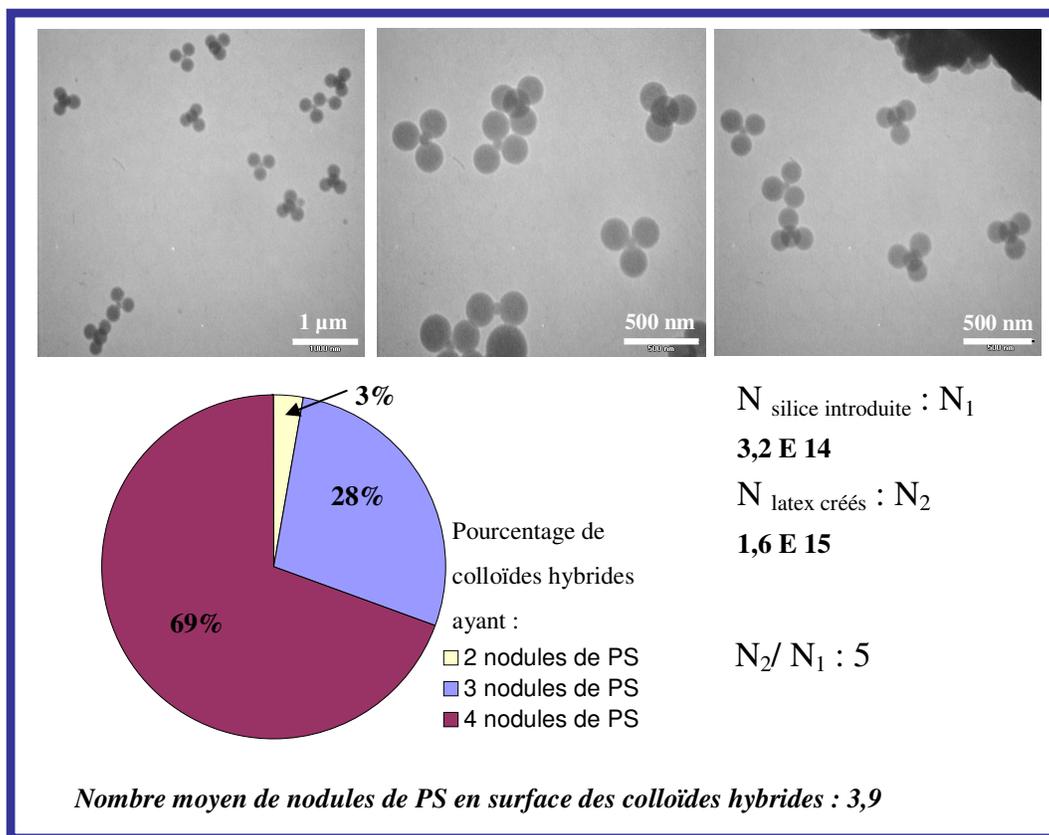


Figure 1.029 : Diagramme représentant la diversité morphologique et clichés de MET des colloïdes hybrides obtenus par polymérisation en émulsion à partir de particules de silice de 92 nm de diamètre dans des conditions de polymérisation EH5.

Les colloïdes obtenus présentent en majorité (69 %) des morphologies correspondant à un ratio $N_{\text{latex}}/N_{\text{silice}}$ égal à 4. Les nodules de polystyrène font 181 nm (écart-type de 10 nm) de diamètre. Ceci est contradictoire avec le fait d'avoir introduit un nombre doublé de particules de silice. Le ratio $N_{\text{latex}}/N_{\text{silice}}$ devrait être égal à 2. Cependant A. Perro avait montré que les particules de silice fonctionnalisées au MMS facilitaient la nucléation des particules de latex.

Dans le cas de l'expérience EH5, le fait de doubler le nombre de particules de silice fonctionnalisées a fait varier le nombre final de particules latex créées de 10^{15} à $1,6 \cdot 10^{15}$. Ceci a ainsi permis l'obtention de particules silice / polystyrène de morphologie majoritairement tétraédrique.

Enfin, dans le but d'optimiser la distribution des morphologies des colloïdes obtenus en la centrant sur les objets tétraédriques, nous avons effectué les expériences EH6, EH7, EH8 et EH9. Les concentrations en tensioactif, en amorceur et en particules de silice ont été augmentées. Les taux de conversion respectifs obtenus au bout de trois heures étaient de 95, 98, 98 et 96%. Les clichés de MET de ces quatre expériences sont donnés en Figure 1.030. Ils montrent que dans chaque cas, les

particules de silice sont encapsulées dans le polymère. Ceci pourrait s'expliquer par le fait que ces expériences aient été faites à un haut taux de solide. De plus la température est largement supérieure à la température de point de trouble du tensioactif utilisé. Ces deux points semblent favoriser les phénomènes d'agrégation et de coagulation entre les particules de polystyrène.

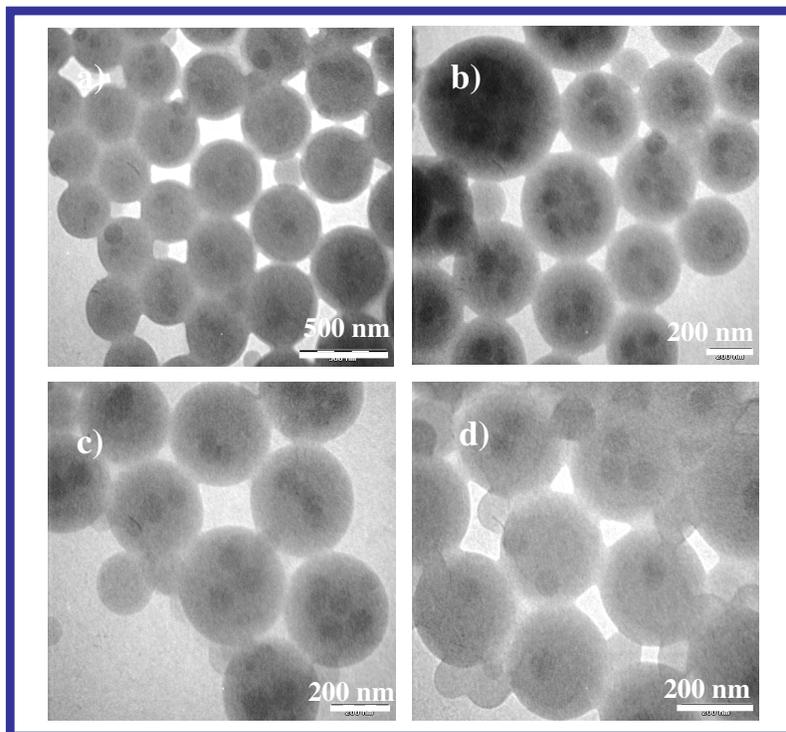


Figure 1.030 : Clichés de MET des colloïdes hybrides obtenus par polymérisation en émulsion à partir de particules de silice de 92 nm de diamètre dans des conditions de polymérisation de a) EH6, b) EH7, c) EH8, d) EH9 (tableau 1.006).

En conclusion à cette partie, il a été possible de générer des colloïdes hybrides de morphologie contrôlée dans des conditions de polymérisation paramétrés. Les taux de conversion et la concentration en particules ont pu être optimisés. Cette voie de contrôle des morphologies alliant le contrôle de la quantité de silice introduite et les paramètres de polymérisation semble donc prometteuse. De plus, elle est *a priori* applicable à toutes les morphologies recensées dans la thèse d'A. Perro.

Il semblerait que des colloïdes hybrides de morphologie hexapode soient majoritaires dans le cas de l'utilisation de particules de silice de 92 nm de diamètre. Les colloïdes hexapodes étaient obtenus majoritairement à partir de particules de silice de 125 nm de diamètre dans les conditions initiales de polymérisation. Ceci ouvre la voie à l'obtention de morphologies différentes, comme par exemple des framboises ($R=250$) obtenues majoritairement à partir de particules de silice de diamètre inférieur à 150 nm.

Enfin il semble aussi possible d'obtenir à partir des mêmes particules de silice fonctionnalisées des morphologies des colloïdes hybrides différentes. L'angle de contact formé entre les phases polymères et silice peut varier à taux de greffage MMS constant. Ceci constitue à notre connaissance le premier exemple d'obtention de particules de silice encapsulées dans du polystyrène ou de morphologie nodulaire par simple variation des conditions de polymérisation.

Certaines limitations subsistent pourtant : des phénomènes de coagulation lors de la synthèse peuvent intervenir pour des taux de solide élevés (exemple EH4) et fausser les ratios $N_{\text{latex}}/N_{\text{silice}}$. Le grand nombre de variables influençant le nombre de particules créées rend aussi difficilement prédictifs le type de morphologie des colloïdes obtenus. Ceci implique que cette voie d'optimisation doit forcément s'effectuer pas à pas. Enfin, l'obtention de morphologies où les nodules polymères sont de diamètre supérieur à 300 nm est difficile dans des conditions de hauts taux de conversion.

6 Conclusion :

L'étude sur les polymérisations en émulsion du styrène sans silice a été effectuée. Elle a permis de déterminer l'influence de certains paramètres (température, concentration en amorceur, tensioactif et monomère) sur le taux de conversion final et le nombre de particules de latex créées. Elle a aussi révélé que le mécanisme de nucléation mis en jeu ne peut s'expliquer par une nucléation micellaire seule. La nucléation homogène des particules est envisageable au regard du tensioactif utilisé, dérivé du PEG, et de la présence de charges en surface des colloïdes finaux. Un mécanisme de coagulation a aussi été mis en évidence.

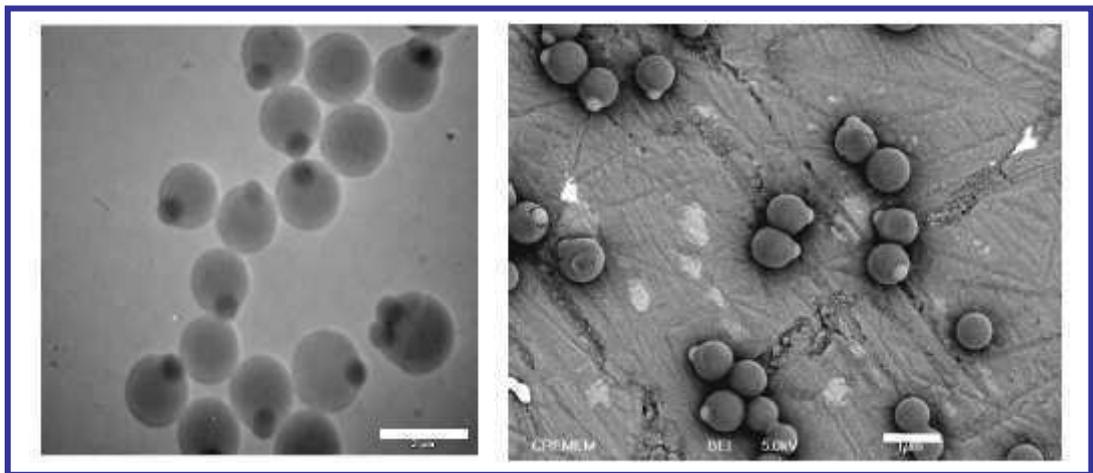
L'étude de nucléation / croissance des nodules de polystyrène en surface des particules de silice dans le cas de colloïdes hybrides de morphologies octopodes a été mise en œuvre. Elle a permis de mettre en évidence un phénomène de coalescence des nodules de polystyrène en surface des particules de silice. L'angle de contact entre les phases organiques et inorganiques est constant durant toute l'étape de polymérisation. Les colloïdes adoptent des morphologies « à l'équilibre » dès 20 % de conversion.

Différentes morphologies correspondant à un angle de contact entre la silice et le polystyrène ont pu être obtenues. Par modification du taux de greffage nominal en MMS des particules cœur-écorces, triangulaires, dissymétriques ou hexapodes ont été synthétisées.

Enfin, une série d'expériences visant à optimiser la sélectivité en morphologie, le taux de conversion final, la durée de polymérisation et le taux de solide final a été proposée. En ajustant les paramètres de polymérisation et la quantité de silice, des colloïdes de morphologie tétrapode ont été obtenus. Cette voie d'optimisation pas à pas serait *a priori* applicable à tout autre type de morphologies.

Chapitre 2 :

*Synthèse de colloïdes hybrides
silice/polystyrène via une
polymérisation en dispersion*



1 Introduction :

Même si l'élaboration de colloïdes hybrides silice/polystyrène par polymérisation en émulsion permet l'obtention d'objets de morphologies variées et contrôlées, dans des conditions de taux de conversion et de rendements en morphologies améliorés, ce procédé n'apparaît pas universel.

En effet, selon notre formulation, le diamètre des nodules de polystyrène ne dépasse pas 300 nm, ce qui compromet par exemple la synthèse de colloïdes hybrides de taille micrométrique.

En outre, le procédé de polymérisation en émulsion requiert que les germes de silice fonctionnalisés soient dispersés en milieu aqueux. Le milieu de synthèse et de fonctionnalisation des particules de silice étant l'éthanol, un transfert de solvant par dialyse souvent long (trois jours) est nécessaire.

Ces deux principales limitations nous ont amenés à envisager la synthèse de colloïdes hybrides silice/polystyrène selon un autre procédé de polymérisation en phase hétérogène, permettant l'obtention d'objets micrométriques dans l'éthanol, avec des protocoles de synthèse les plus proches possibles de la polymérisation en émulsion. Le choix du procédé de polymérisation en dispersion s'est imposé pour les raisons précitées. Les mécanismes de polymérisation (nucléation/croissance) mis en jeu sont de plus comparables à ceux d'une polymérisation en émulsion, dont la nucléation est homogène et où un mécanisme de coagulation est omniprésent. La partie suivante a pour but de présenter les principales caractéristiques d'une polymérisation en dispersion.

2 Polymérisation en dispersion du styrène:

La polymérisation en dispersion est un procédé développé durant les années 60 et destiné à l'origine à l'industrie des peintures comme alternative à la polymérisation en émulsion.⁴ L'enjeu était alors de remplacer l'eau, de chaleur latente d'évaporation élevée (580 cal.g⁻¹) par des solvants organiques, qui nécessitent moins d'apport de calories pour s'évaporer pendant la formation de films. La suppression d'émulsifiants dans la formulation des latex confère de plus aux revêtements finaux une meilleure résistance à l'humidité. En effet, la polymérisation en dispersion met en jeu un monomère, un amorceur et des macromolécules solubles dans la phase dispersante. Le polymère formé précipite et les macromolécules permettent une stabilisation stérique des particules en croissance.

2.1. Généralités :

Ce procédé, à l'image d'autres en phase hétérogène comme la polymérisation en émulsion, permet d'obtenir des polymères de hautes masses molaires, avec des cinétiques de polymérisation plus rapides que les procédés en solution. Il limite aussi les problèmes de viscosité de la dispersion finale même à haut taux de solide. On obtient ses particules micrométriques (200 nm à 20 µm) stabilisées stériquement, contrairement à celles issues de la polymérisation en émulsion, dont la stabilisation est en général électrostérique. Ces particules ont des applications en chromatographie sur colonne, dans le biomédical, en tant qu'étalons pour appareils de mesure ou encore dans le domaine des revêtements et des peintures.

L'une des caractéristiques de la polymérisation en dispersion est la variété de milieux dispersants utilisés qui peuvent être classés en deux catégories : les solvants non polaires, tels que les hydrocarbures, et les solvants polaires qui sont pour la majorité des mélanges hydroalcooliques^{64,65}. Les synthèses peuvent aussi être menées en fluide supercritique^{66,67}. Les monomères employés (acrylonitrile⁶⁸, acrylate de butyle⁶⁹, acrylamide⁷⁰, pyrrole⁷¹, aniline⁷²) et les voies de polymérisation (radicalaire, ionique, par couplage oxydatif) sont de ce fait variés. Enfin, des particules de polymère structurées de compositions chimiques variées (ex : copolymère polystyrène/poly(acrylate de butyle)^{73,74,75}) et de morphologie cœur-écorce^{76,77,78} sont accessibles par cette voie.

De nos jours le développement industriel de ce type de procédé est restreint du fait de considérations liées à la protection de l'environnement, et à la réduction de la quantité de composés organiques volatils (COVs). C'est ainsi que la polymérisation en dispersion en milieux hydroalcooliques a été développée pour des monomères couramment employés tels que le styrène et le méthacrylate de méthyle. Nous nous sommes limités dans cette partie à décrire les mécanismes mis en jeu lors d'une polymérisation du styrène dans ce type de milieu.

⁶⁴ F. Candau, R.H. Ottewill, Springer, *Scientific Methods for the Study of Polymer Colloids and Their Applications*, pp580 (1990).

⁶⁵ K.E.J. Barrett, Wiley-Intersciences, *Dispersion Polymerization in Organic Media*, pp 322 (1975).

⁶⁶ Z. Ma, P. Lacroix-Desmazes, *Polymer*, 45, 6789-6797 (2004).

⁶⁷ P. Chambon, E. Cloutet, H. Cramail, T. Tassaing, M. Besnard, *Polymer*, 46, 1057-1066 (2005).

⁶⁸ M. A. Ansarifard, P.F. Luckham, *Colloid Polym. Sci.*, 266, 1020-1023 (1988).

⁶⁹ D. Wang, V.L. Dimonie, E.D. Sudol, M. S. El-Aasser, *J. Appl. Polym. Sci.*, 84, 2692-2709 (2002).

⁷⁰ Q. Ye, Z. Zhang, H. Jia, W. He, X. Ge, *J. Colloid Interf. Sci.*, 253,279-284 (2002).

⁷¹ A. Pich, Y. Lu, H.J.P. Adler, T. Schmidt, K.F. Arndt, *Polymer*, 43, 5723-5729 (2002).

⁷² D. Chattopadhyay, M. Chakraborty, B.M. Mandal, *Polymer Int.*, 50, 53-544 (2001).

⁷³ J. M. Saenz, J. M. Asua, *J Polym Sci Part A: Polym Chem*, 33, 1511-1521 (1995).

⁷⁴ J. M. Saenz, J. M. Asua, *J Polym Sci Part A: Polym Chem*, 34, 1977-1992 (1996).

⁷⁵ J. M. Saenz, J. M. Asua, *Langmuir*, 31, 5215-5222 (1998).

⁷⁶ M. Okubo, T. Miya, H. Minami, R. Takekoh, *J. Appl. Polym. Sci.*, 83, 2013-2021 (2002).

⁷⁷ M. Okubo, S. Fujii, H. Minami, *Colloid Polym. Sci.*, 279, 139-145 (2001).

⁷⁸ M. Okubo, R. Takekoh, J. Izumi, T. Yamashita, *Colloid Polym. Sci.*, 277, 972-978 (1999).

2.1.1. Mécanismes de polymérisation :

La polymérisation en dispersion est souvent décrite comme une polymérisation par précipitation en présence d'un stabilisant stérique.^{4,65} Le milieu initial est homogène et constitué d'un monomère (cf. Figure 2.001), d'un solvant (polaire ou apolaire) solubilisant ce dernier et précipitant le polymère, d'un stabilisant stérique et d'un amorceur. Après décomposition thermique de l'amorceur, la précipitation des oligomères formés conduit à l'obtention d'un milieu hétérogène. Celui-ci est alors constitué du sérum et de particules polymère recouvertes par le stabilisant.

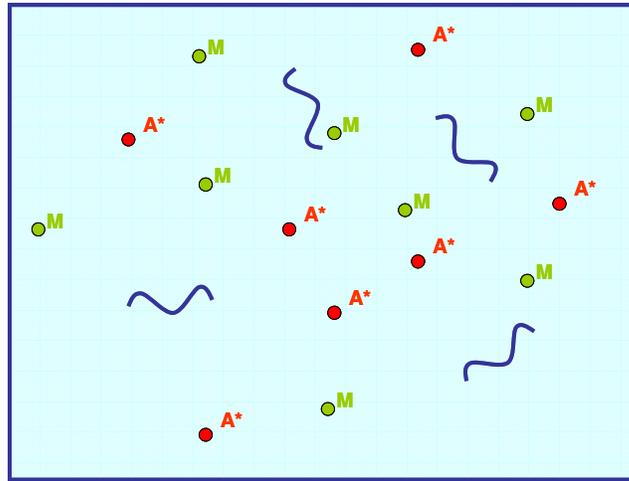


Figure 2.001 : Présentation des différents constituants d'une polymérisation en dispersion : rouge amorceur, vert monomère et bleu foncé stabilisant stérique dissous dans la phase dispersante (bleu clair).

L'un des paramètres les plus pertinents dans le contrôle des tailles des particules et de leur distribution est la nature du stabilisant. Comme la polymérisation en dispersion fut initialement développée dans des solvants apolaires où la stabilisation électrostatique est inefficace, les efforts de la communauté scientifique se sont focalisés sur le développement de différents types de stabilisants stériques. Ceux-ci doivent typiquement être amphiphiles, comportant une partie hydrophile et une autre hydrophobe, et sont très majoritairement des copolymères greffés statistiquement. Ceux-ci sont formés pendant la polymérisation par transfert au polymère. Deux exemples très courants de stabilisants sont l'hydroxypropylcellulose (HPC) et le polyvinylpyrrolidone (PVP). Il est aussi possible d'introduire un macromonomère comportant une fonction polymérisable en bout de chaîne lors de la synthèse pour former le stabilisant (par exemple le PEG-Ma⁷⁹). Une description plus détaillée des différentes étapes de la polymérisation en dispersion en milieu polaire est donnée dans la

⁷⁹ P. Lacroix-Desmazes, A. Guyot, *Polym. Adv. Technol.*, 8, 601-607 (1997).

partie suivante.

2.1.2. La nucléation :

Dans les années 70, Barrett décrit les premiers mécanismes de polymérisation en dispersion ionique, radicalaire ou par polycondensation en milieu organique⁶⁵. Il proposa un mécanisme de nucléation agrégative, qui fut repris par Paine *et al.* dans le cas de la polymérisation en dispersion du styrène dans l'éthanol en utilisant l'HPC^{80,81} et le PVP^{82,83} comme stabilisants.

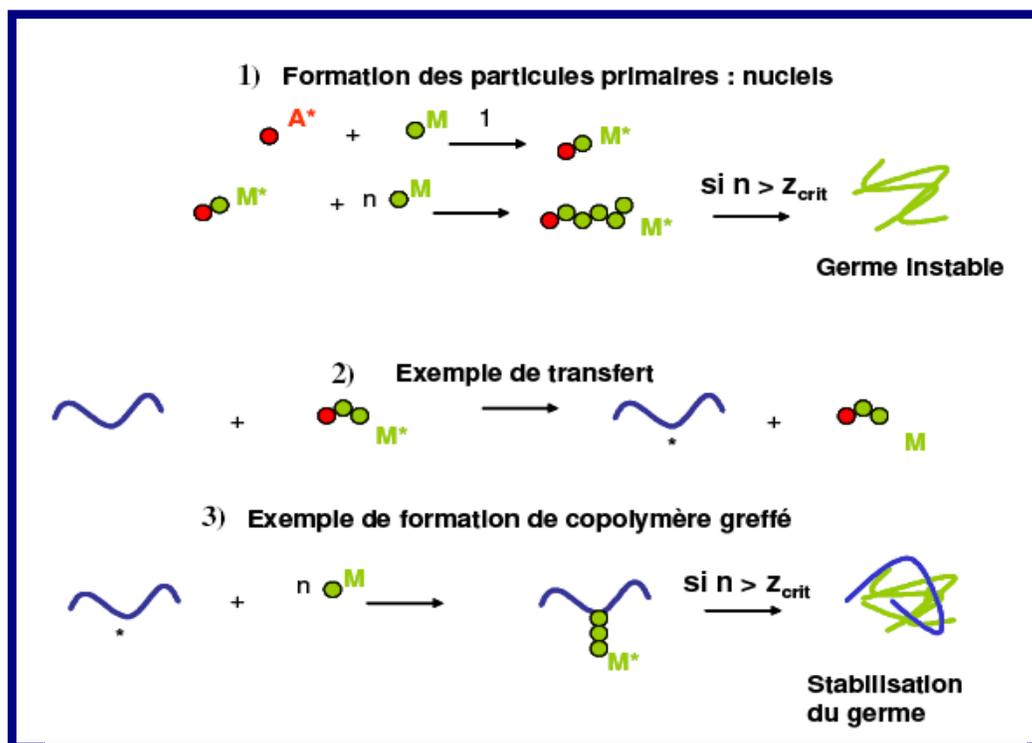


Figure 2.002 : Schématisation de la phase de nucléation : formation des *nuclei* par précipitation d'oligomères formés dans la phase dispersante (1), transfert d'un centre actif d'un oligomère sur une macromolécule de stabilisant (2) et formation de copolymère greffé polystyrène-PVP (3).

La décomposition de l'amorceur (généralement l'AIBN ou le peroxyde de benzoyle) par élévation de la température engendre la formation d'oligomères, qui précipitent au-delà d'une certaine longueur de chaîne (z_{crit}). Cette valeur dépend du milieu dispersant et du monomère et mène à la formation de *nuclei* instables (*cf.* Figure 2.002). Pour l'exemple du styrène, le z_{crit} est de 3 dans l'eau et

⁸⁰ A. J. Paine, *J. Coll. Interf. Sci.*, 138, 1, 157-169 (1990).

⁸¹ F. M. Winnik, A. J. Paine, *Langmuir*, 5, 903-910 (1989).

⁸² A. J. Paine, W. Luymes, J. McNulty, *Macromolecules*, 23, 3104-3109 (1990).

⁸³ A. J. Paine, W. Luymes, J. McNulty, *Macromolecules*, 23, 3109-3117 (1990).

de 30 dans l'éthanol à température ambiante⁸⁰. La formation du stabilisant amphiphile s'effectue par transfert de chaîne au polymère et conduit à des copolymères greffés statistiques. Ces entités amphiphiles ne participeront à la stabilisation des particules en croissance que si la longueur de l'oligomère greffé au stabilisant est supérieure au z_{crit} de précipitation.

A partir de l'apparition des premiers *nuclei*, les oligomères et les copolymères formés dans la phase continue peuvent soit former de nouveaux *nuclei*, soit être capturés par d'autres préexistants. Un phénomène de coagulation entre les germes apparaît jusqu'à ce que leur surface soit suffisamment recouverte par le copolymère greffé, permettant l'obtention de particules matures stables. La phase de nucléation se termine quand le nombre de particules est fixé. Alors, celui-ci reste en général constant jusqu'à la fin de la polymérisation.

2.1.3. La croissance des particules matures :

Différents mécanismes peuvent entrer en jeu lors de la phase de croissance (*cf.* Figure 2.003). En effet, deux sites de polymérisation sont alors en compétition : le sérum et les particules gonflées de monomère :

- dans le premier cas, les oligomères qui se forment en solution précipitent sur les particules existantes. Si la polymérisation se fait exclusivement par cette voie, il peut en résulter une seconde nucléation du fait d'une production excessive de copolymères,
- la polymérisation peut aussi avoir lieu dans les particules gonflées de monomères. La croissance s'effectue alors par capture d'oligoradicaux générés dans le sérum. Ainsi si ce mode de croissance devient prédominant, il peut conduire à la coagulation des particules, puisque la production de stabilisant est limitée.

Dans le cas de la polymérisation du styrène à 70°C en présence de PVP en milieu alcoolique, il a été montré que la répartition du monomère est fortement influencée par la polarité du solvant. En milieu éthanol / eau (70/30 v/v), la concentration en styrène est 5 fois plus grande dans les particules que dans le sérum, alors qu'elle est égale à celle du sérum dans l'éthanol absolu.^{84,85} De plus, la capture d'oligoradicaux, efficace pour des particules de 1 µm de diamètre, devient faible pour des particules de 3 µm de diamètre et quasiment nulle pour des particules de 10 µm de diamètre.⁸² Enfin, le nombre de particules est en général constant durant cette période. A ce stade, les phénomènes de déstabilisation par coagulation ou floculation sont responsables d'une large distribution en taille des particules obtenues.

L'effet des paramètres expérimentaux sur la nucléation et la croissance des particules de

⁸⁴ C. K. Ober, F. Van Grunsveb, M. McGrath, M.L. Hair, *Colloids and Surfaces*, 21, 347-354 (1986).

⁸⁵ P. Lacroix-Desmazes, J. Guillot, *J. Pol. Sci. Pol. Phys.*, 63, 325-335 (1998).

polymère obtenues par polymérisation en dispersion est souvent complexe. Les mécanismes mis en jeu dépendent de la nature des réactifs et du milieu dispersant, néanmoins de grandes tendances peuvent être dégagées et sont résumées dans les paragraphes suivants.

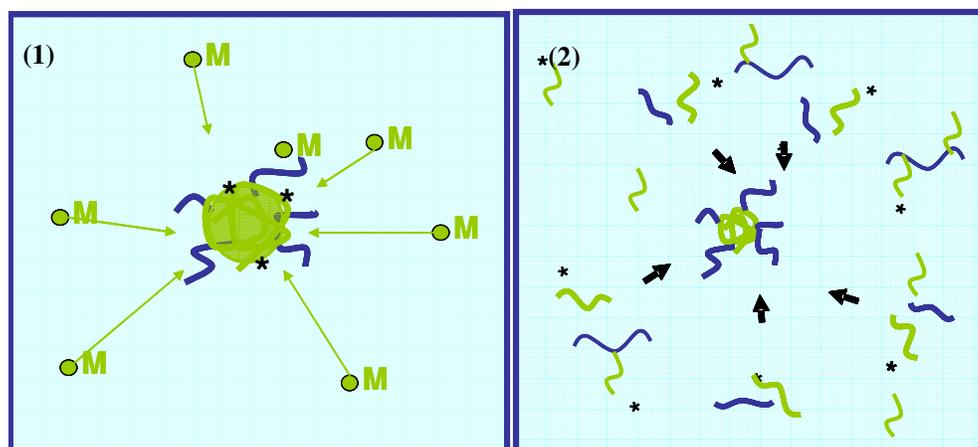


Figure 2.003: Schématisation de la phase de croissance : 1) capture des oligomères par les *nuclei* 2) gonflement des *nuclei* par le monomère.

Effet de la température :

Deux phénomènes en compétition sont à prendre en compte. Plus la température est élevée, plus le nombre de radicaux formés dans le milieu est important. Un plus grand nombre de *nuclei* est alors généré, ainsi qu'une quantité plus importante de copolymères stabilisants. Par conséquent le nombre de particules de polymère peut augmenter.

En contrepartie, le z_{crit} de précipitation des oligomères est plus grand et le copolymère stabilisant est plus soluble dans le milieu dispersant. La vitesse d'adsorption du stabilisant sur les *nuclei* peut alors diminuer et conduire ainsi à la formation de particules plus grosses (et donc en nombre moins important).

Effet de la masse molaire du stabilisant :

La masse molaire du stabilisant a une influence sur la solubilité de ce dernier dans le milieu dispersant et sur le taux de couverture des particules. En général, l'augmentation de la masse molaire entraîne la formation d'un plus grand nombre de particules par une meilleure stabilisation (ou couverture) de celles-ci.

Effet de la concentration en monomère :

La concentration en monomère influence le pouvoir de solvation du milieu dispersé, la vitesse de polymérisation et la composition du stabilisant formé in situ. Ces paramètres peuvent avoir des actions opposées sur le nombre et la taille des particules. Par exemple, l'augmentation de la

quantité de monomère peut mener à une formation plus rapide des oligomères. Cependant leur solubilité dans le milieu est accrue, ce qui contribue à diminuer la vitesse d'adsorption des copolymères sur les *nuclei*.

Effet de la polarité du milieu :

Plus le milieu est polaire, plus la nucléation est rapide et plus le nombre de particules créées est grand. En général leur distribution en taille est plus étroite, les masses molaires plus importantes et la vitesse de polymérisation plus élevée.

Effet de la concentration en amorceur :

Plus la concentration en amorceur est élevée, plus le nombre d'oligomères et de copolymères formés est important. En contrepartie, leur masse molaire est plus faible. Ils sont donc plus solubles dans le milieu dispersant et le stabilisant est moins ancré à la surface des particules. Le nombre de particules est au final plus faible.

2.2. Exemple d'un protocole de polymérisation du styrène dans l'éthanol absolu :

Comme cela a été signalé précédemment, nous avons choisi de travailler en milieu alcoolique, milieu de synthèse de nos précurseurs inorganiques fonctionnalisés, afin de s'affranchir de toute étape de transfert de solvant par dialyse. Le stabilisant employé a été le PVP, déjà utilisé dans bon nombre d'études de polymérisation en dispersion en milieu polaire. Dans le paragraphe suivant, un protocole de polymérisation en dispersion standard, servant de base à l'élaboration de colloïdes hybrides a été étudié. L'influence de certains paramètres sur le nombre de particules de PS créés a aussi été mise en évidence.

Le protocole PII.001 présente les différentes étapes nécessaires à une polymérisation en dispersion typique du styrène dans l'éthanol.

Protocole PII.001 : Synthèse de particules de PS par polymérisation en dispersion dans l'éthanol absolu :

Dans un ballon tricol ou dans un réacteur de polymérisation double enveloppe, surmonté d'un réfrigérant, d'une ampoule à addition et équipé d'un agitateur magnétique, sont introduits 50 mL d'éthanol absolu (VWR) et x mg de stabilisant (PVP, K90, Aldrich). Dans l'ampoule sont introduits y mL de monomère (styrène, Aldrich, 99 %), dont le stabilisant a été enlevé sur colonne d'alumine, et z mg d'amorceur (AIBN, Acros). Après désoxygénation par bullage d'azote (2 heures dans l'ampoule et le ballon) et mise à température à T°C, sous agitation à 150 rpm, le contenu de l'ampoule est versé dans le ballon, instant t₀ de la polymérisation. Des prélèvements de quelques mL sont effectués à l'aide d'une seringue, à différents temps de réaction sous courant d'azote et placés au réfrigérateur après que dans chacun d'entre eux aient été introduits quelques µL d'une solution aqueuse d'hydroquinone (Aldrich) à 10 g.L⁻¹, afin d'inhiber la polymérisation. Les particules obtenues sont caractérisées par diffusion statique de la

lumière (Malvern, MS 2000) et par MET. Quelques μL de chaque prélèvement ont été dilués cent fois dans l'éthanol et une goutte de la dilution a été déposée et laissée sécher sur une grille de cuivre recouverte d'un film de carbone. L'évolution de la conversion du monomère en polymère est suivie par analyse gravimétrique pour chaque échantillon, en considérant que le résidu après traitement est composé uniquement de stabilisant et de polymère. Le volume total de la dispersion est vérifié en fin de réaction en raison de la vitesse d'évaporation de l'éthanol qui peut atteindre 1 mL.h^{-1} .

La Figure 2.004 présente l'évolution de la conversion du monomère en polymère pour une synthèse dans les conditions de polymérisation suivantes : x, y, z et T respectivement égaux à 500, 5,5, 75, et 85°C (éthanol à reflux). On voit que la vitesse de polymérisation diminue fortement pour un taux de conversion de 50 % (i.e. 200 minutes). Les clichés MET et les courbes de granulométrie laser présentés en Figure 2.005 concernent les échantillons à 60 et 1200 minutes. Les diamètres ont été évalués statistiquement sur 200 particules et sont très proches de ceux obtenus en diffusion de la lumière statique (DSL). Les particules sont relativement homogènes en taille et en forme et atteignent des diamètres supérieurs au micromètre dès 40 % de conversion. Le coefficient d'uniformité, traduisant la déviation à la valeur médiane est faible, proche de 0,2 durant la totalité de la polymérisation.

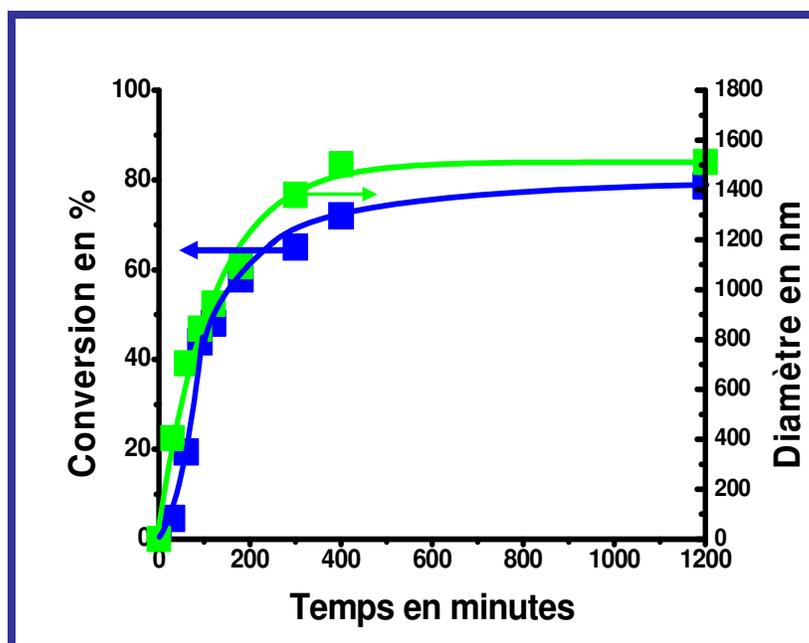


Figure 2.004 : Courbes représentant la variation de la conversion du monomère en polymère et l'évolution du diamètre des particules de PS formées au cours de la polymérisation en dispersion et dans des conditions de polymérisation suivantes : x, y, z et T respectivement égaux à 500, 5,5, 75, et 85 ($[\text{styrène}] = 91 \text{ g.L}^{-1}$, $[\text{PVP}] = 9 \text{ g.L}^{-1}$, $[\text{AIBN}] = 1,5 \text{ g.L}^{-1}$).

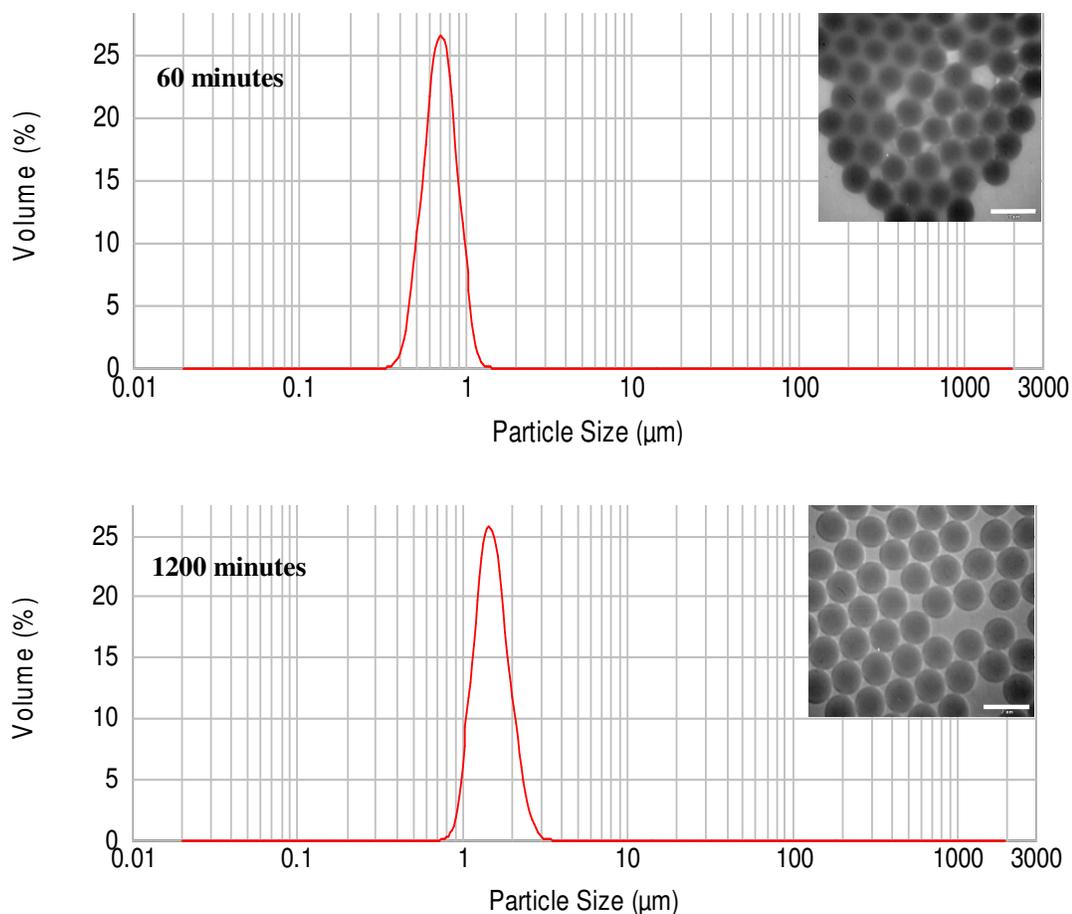


Figure 2.005 : Courbe de granulométrie laser et cliché de microscopie électronique à transmission de particules de polystyrène après 60 minutes de réaction ($D_{DSL} = 703$ nm facteur d'uniformité : 0,17, $D_{MET} = 650$ nm, écart-type : 70 nm) et après 1200 minutes de réaction ($D_{DSL} = 1526$ nm, facteur d'uniformité : 0,17, $D_{MET} = 1500$ nm, écart-type : 200 nm).

La courbe présentée Figure 2.006 montre l'évolution du nombre de particules au cours du temps. La phase de nucléation prend fin dès que le nombre de particules est constant, avant 60 minutes de synthèse pour un diamètre de quelques centaines de nm et un taux de conversion très faible (inférieur à 5 % dans la littérature⁴). Dans notre cas, la fin de la période de nucléation n'est pas visible. Le nombre de particules diminue constamment par coagulation et ne se stabilise qu'aux alentours de 350 minutes pour un taux de conversion proche de 70 %, correspondant au taux de conversion final de la polymérisation. La coagulation est probablement favorisée par une température de synthèse élevée, rendant plus soluble le stabilisant dans le sérum, et une concentration en styrène facilitant le gonflement des particules en croissance.

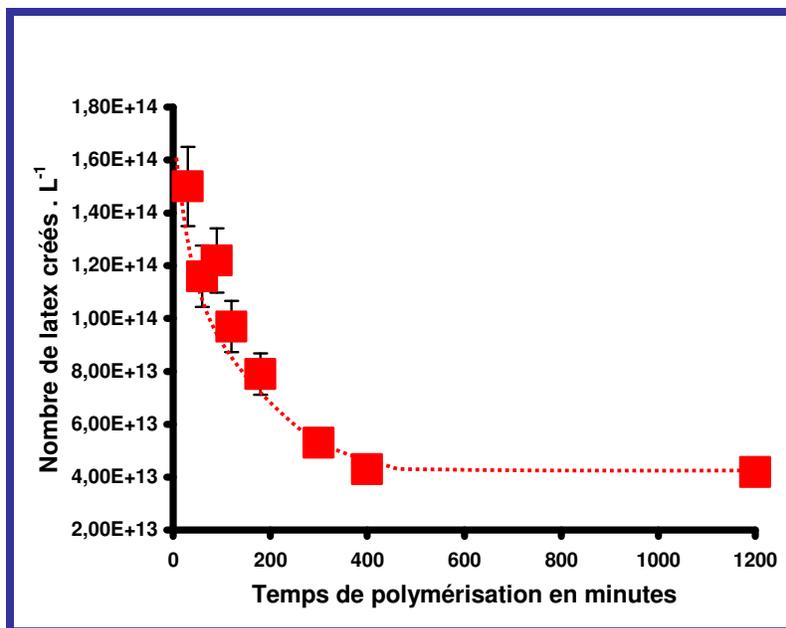


Figure 2.006 : Courbe représentant l'évolution de la concentration en particules de polymère lors de la polymérisation en dispersion dans des conditions de polymérisation suivantes : [styrène] = 91 g.L⁻¹, [PVP] = 9 g.L⁻¹, [AIBN] = 1,5 g.L⁻¹ et T = 85°C.

Ainsi a été établi un protocole de synthèse de particules de polystyrène micrométriques par polymérisation en dispersion permettant l'obtention d'objets relativement isométriques, pour une durée de polymérisation raisonnable (8 h). L'objet de la partie suivante est d'étudier les paramètres qui influent sur la taille et le nombre d'objets obtenus.

2.3. Etude des paramètres influençant le nombre de particules de PS créés :

Afin de déterminer les facteurs principaux influençant le phénomène de coagulation, et donc le nombre et la taille des particules de PS formées pendant la polymérisation, une étude a été réalisée en l'absence des particules de silice (« blancs »). Les paramètres que nous avons étudiés sont la température de synthèse, la concentration en monomère, en amorceur, en stabilisant et la longueur de celui-ci. Toutes les synthèses ont été effectuées à deux températures, 75°C et 85°C (éthanol à reflux). Nous avons fait varier un par un tous ces paramètres, la synthèse de référence étant celle que nous venons de décrire. Des observations en MET et des analyses gravimétriques ont permis de déterminer le diamètre, la concentration en particules de PS et le taux de conversion final dans chaque cas.

2.3.1. Effet du stabilisant :

Suivant le protocole PII.001, trois types de PVP ont été utilisés : K10, K30 et K90 qui ont des masses molaires moyennes en nombre respectives de 10000 à 130000 g.mol⁻¹.

Le Tableau 2.001 montre clairement que le pouvoir stabilisant du PVP augmente avec la longueur de sa chaîne à masse de stabilisant égale et tout autre paramètre égal. Ceci s'explique par le fait qu'une plus longue chaîne va pouvoir recouvrir une plus grande surface à stabiliser. Le PVP de type K90 a été choisi comme stabilisant pour le reste des études, afin d'obtenir des particules les plus homogènes en taille possible, dont le diamètre est inférieur à 2 μm , correspondant à la taille des particules de silice obtenues par voie sol-gel.

Type de PVP	Masse molaire moyenne en nombre (g.mol^{-1})	Conversion finale %	Diamètre des particules en nm (facteur d'uniformité)	Concentration des particules (L^{-1})
K10	10000	51	3980 (0,32)	$1,7 \cdot 10^{12}$
K30	40000	57	2970 (0,17)	$4,2 \cdot 10^{12}$
K90	130000	68	1510 (0,17)	$4,1 \cdot 10^{13}$

Tableau 2.001: Variation du nombre final de particules de PS créées en fonction de la masse molaire moyenne en nombre du stabilisant introduit à 85°C ([styrène] = 91 g.L^{-1} , [PVP] = 9 g.L^{-1} , [AIBN] = 1,5 g.L^{-1}).

Afin de déterminer l'influence de la concentration en stabilisant, six polymérisations en dispersion ont été effectuées suivant le protocole PII.001, en utilisant comme stabilisant le PVP K90, aux concentrations de 4,5, 9 et 13,5 g.L^{-1} (x respectivement égal à 250, 500 et 750). Le diamètre, la concentration en particules de PS (Tableau 2.002) et les taux de conversion finaux (Figure 2.007) ont été déterminés.

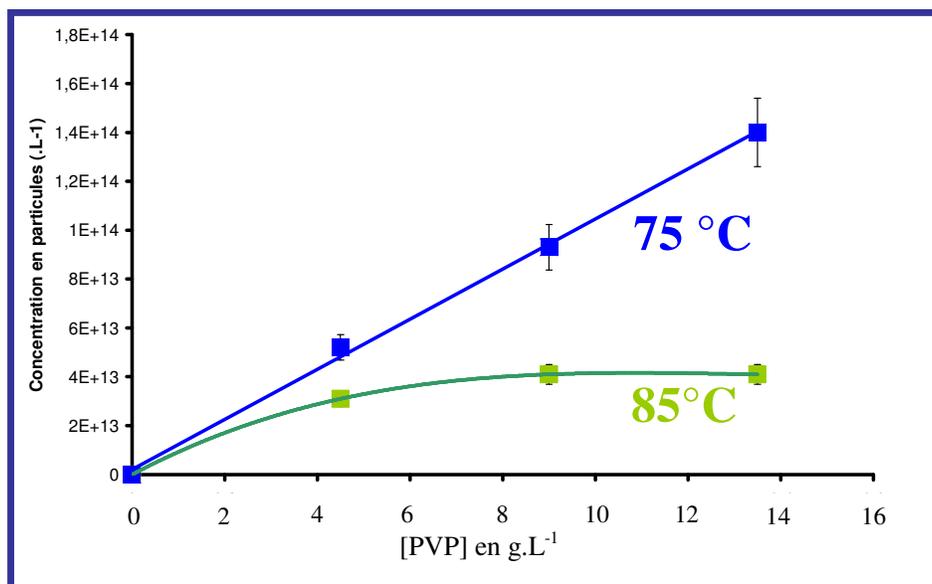


Figure 2.007: Variation du nombre final de particules de PS créées en fonction de la concentration en stabilisant introduit à deux températures de travail ([styrène] = 91 g.L^{-1} , [AIBN] = 1,5 g.L^{-1} T = 75 et 85 °C).

$C_{\text{stabilisant}} \text{ (g.L}^{-1}\text{)}$	Diamètre des particules (PDI)		Conversion (%)	
	75°C	85°C	75°C	85°C
4,5	1470 (0,19)	1790 (0,19)	79	84
9	1260 (0,19)	1510 (0,17)	89	68
13,5	1070 (0,18)	1550 (0,18)	88	74

Tableau 2.002 : Variation du diamètre final des particules de PS créées et du taux de conversion en fonction de la concentration en PVP au cours de polymérisations en dispersion opérées à deux températures 75 et 85°C ([styrène] = 91 g.L⁻¹, [AIBN] = 1,5 g.L⁻¹).

La Figure 2.007 montre une variation du nombre de particules de PS en fonction de la concentration massique en PVP introduite à deux températures différentes. A 85 °C, le stabilisant est très soluble dans l'éthanol et la vitesse d'adsorption des copolymères sur les *nuclei* semble faible. Le défaut de stabilisation engendré implique un phénomène de coagulation et une faible variation du nombre de particules de PS créées quelle que soit la concentration de stabilisant introduite.

A 75 °C, la variation du nombre des particules de PS créées en fonction de la quantité de stabilisant introduite est linéaire. A longueur de chaîne équivalente (K90), plus la masse introduite de PVP est grande plus le pouvoir stabilisant est grand, plus le diamètre des particules est petit et plus le nombre de particules est grand. Paine *et al.* ont également trouvé une évolution du nombre des particules de polystyrène qui augmente avec la quantité de PVP introduite.⁸² Ils ont de plus quantifié la variation du diamètre des particules en fonction de la concentration en PVP de la manière suivante :

$$D \propto [\text{PVP}]^{-\beta}$$

où β est un paramètre qui dépend des conditions de polymérisation (en particulier du solvant, du monomère ...). Dans notre cas β est égal à 0,1 et 0,3 pour des températures de synthèse respectives de 85 et 75°C.

2.3.2. Effet de la concentration en amorceur :

Afin de rendre compte de l'effet de la concentration en amorceur sur le nombre de particules de PS créées, six polymérisations en dispersion ont été effectuées suivant le protocole PII.001, en utilisant comme amorceur l'AIBN, aux concentrations de 0,75, 1,5 et 2,25 g.L⁻¹ (respectivement $z = 38, 75$ et 110), les autres paramètres étant inchangés. Le diamètre des colloïdes obtenus, les taux de conversion finaux (Tableau 2.003) et la concentration des particules (Figure 2.008) ont été déterminés.

Le graphe présenté en Figure 2.008 montre l'effet de la concentration en amorceur sur le nombre de particules créées à 75°C et 85°C (éthanol à reflux). La concentration en particules de PS

diminue avec la concentration en amorceur, car la création d'un plus grand nombre de centres actifs implique la création d'un plus grand nombre d'oligomères de taille plus petite et donc plus solubles dans la phase alcoolique. Le stabilisant étant piégé dans le solvant pendant un temps plus long, le pouvoir stabilisant est diminué. La Figure 2.008 montre que ces effets sont plus marqués dans le cas d'une température plus faible (*i.e.* 75 °C) pour les raisons citées précédemment.

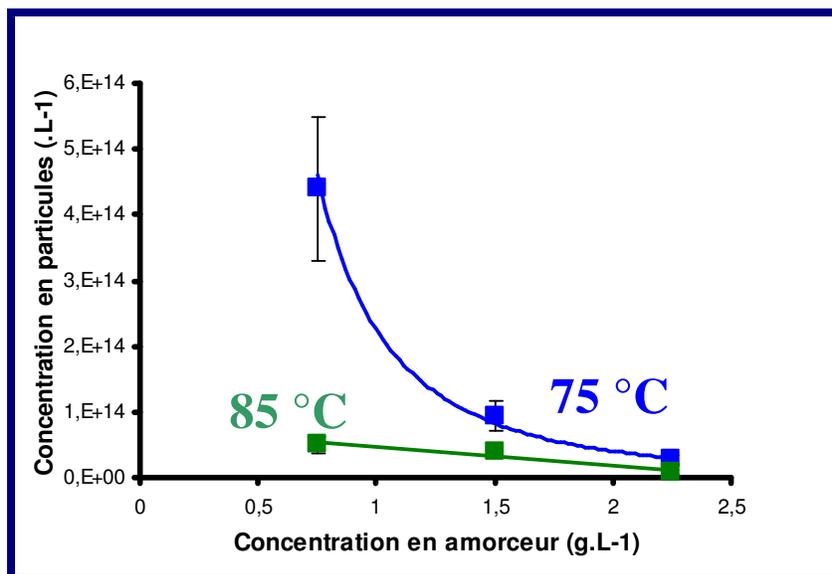


Figure 2.008 : Variation du nombre final de particules de polystyrène créées en fonction de la concentration en amorceur introduit à deux températures de travail ([styrène] = 91 g.L⁻¹, [PVP] = 9 g.L⁻¹ T = 75 et 85 °C).

C _{amorceur} (g.L ⁻¹)	Diamètre des particules (PDI)		Conversion (%)	
	75°C	85°C	75°C	85°C
0,75	560 (0,19)	1370 (0,18)	40	62
1,5	1260 (0,19)	1510 (0,17)	89	68
2,25	1650 (0,19)	2570 (0,18)	65	72

Tableau 2.003 : Variation du diamètre final des particules de polystyrène créées et du taux de conversion en fonction de la concentration en AIBN pour des polymérisations en dispersion conduites à 75 et 85 °C ([styrène] = 91 g.L⁻¹, [PVP] = 9 g.L⁻¹).

2.3.3. Effets de la concentration en monomère :

Afin d'étudier l'influence de la concentration en monomère sur le nombre de particules de PS obtenues par polymérisation en dispersion, six synthèses ont été effectuées suivant le protocole PII.001 aux concentrations de 45, 91 et 135 g.L⁻¹ (respectivement $y = 2,75, 5,5$ et $8,5$), les autres paramètres étant fixes. Pour chaque synthèse le taux de conversion final (Tableau 2.004) et la concentration en particules (Figure 2.009) ont été calculés.

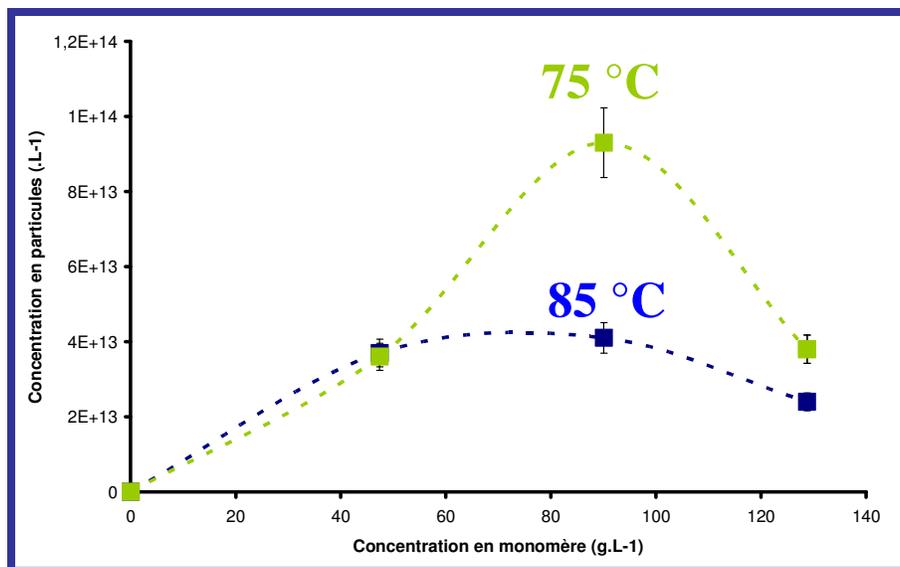


Figure 2.009 : Variation du nombre final des particules de polystyrène créées en fonction de la concentration en monomère introduit à deux températures de polymérisation ([PVP] =9 g.L⁻¹, [AIBN] = 1,5 g.L⁻¹ T = 75 et 85 °C).

C _{monomère} (g.L ⁻¹)	Diamètre des particules (PDI)		Conversion (%)	
	75°C	85°C	75°C	85°C
45	1280 (0,18)	1200 (0,16)	76	61
91	1260 (0,19)	1510 (0,17)	89	68
135	1950 (0,2)	2210 (0,18)	84	81

Tableau 2.004 : Variation du diamètre final des particules de PS créées et du taux de conversion en fonction de la concentration en styrène pour des polymérisations en dispersion opérées à 75 et 85°C ([PVP] =9 g.L⁻¹, [AIBN] = 1,5 g.L⁻¹).

La Figure 2.009 illustre les effets induits par la variation de la concentration en monomère sur le nombre de particules créées à 75 et 85 °C. Celui-ci augmente avec la concentration en styrène dans un premier temps jusqu'à environ 91 g.L⁻¹ puis diminue. Cet optimum qui a déjà été observé par Paine⁸⁰⁻⁸³ résulte de deux phénomènes coexistants. On observe d'abord une augmentation du nombre de particules de PS créés avec la concentration en monomère jusqu'à 91 g.L⁻¹. Celle-ci peut s'expliquer par une vitesse de formation des oligomères et des copolymères plus importante. De plus, du fait du changement du pouvoir de solvation du milieu la longueur critique de précipitation des oligomères est plus grande. Les copolymères formés ont donc plus d'affinité avec les particules dont la stabilisation est accrue. Ensuite la diminution du nombre de particules, pour la concentration en monomère de 135 g.L⁻¹ peut s'expliquer par le fait que les copolymères et les oligomères sont très solubles dans le milieu dispersant. Leur adsorption en surface des particules est donc limitée et un

phénomène de coagulation peut être favorisé. Ces effets sont encore une fois moins marqués à plus haute température.

2.3.4. Effet de la quantité d'eau:

Afin d'étudier l'influence de la quantité d'eau dans le milieu dispersant sur le nombre de particules de PS, six polymérisations en dispersion ont été conduites suivant le protocole PII.001, en utilisant pour milieu dispersant un mélange eau/éthanol où la fraction volumique en eau est égale à 10, 20 et 40 %, à deux températures 75°C et à 85°C (éthanol à reflux), tout autre paramètre restant constant ($x = 500$, $y = 5,5$, $z = 75$). Comme précédemment, le diamètre des particules, le taux de conversion final (Tableau 2.005) et la concentration en particules de la dispersion obtenue (Figure 2.010) ont été évalués.

Le nombre de particules de PS créées, ainsi que le taux de conversion final augmentent avec la quantité d'eau introduite au cours de la polymérisation en dispersion pour les deux températures de travail. Les copolymères greffés styrène-PVP précipitent sur les *nuclei* pour un z_{crit} d'autant plus faible que la concentration en eau du milieu dispersant est grande. L'adsorption du stabilisant est favorisée, engendrant un plus grand nombre de particules. De plus, le monomère dissous dans la phase hydroalcoolique a plus tendance à gonfler les particules en croissance qu'à engendrer des oligomères dans la phase continue quand la fraction volumique en eau augmente. Les vitesses de polymérisation sont de ce fait plus élevées conduisant à des taux de conversion plus élevés.

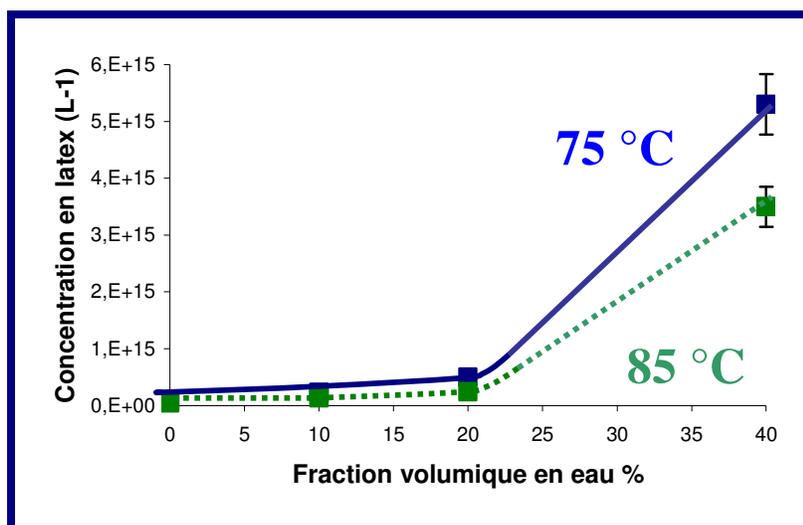


Figure 2.010 : Variation du nombre final de particules de PS créées en fonction de la quantité d'eau introduite à deux températures de travail ($[\text{styrène}] = 91 \text{ g.L}^{-1}$, $[\text{PVP}] = 9 \text{ g.L}^{-1}$, $[\text{AIBN}] = 1,5 \text{ g.L}^{-1}$ et $T = 75$ et 85 °C).

Fraction volumique en eau %	Diamètre particules (PDI)		Conversion (%)	
	75°C	85°C	75°C	85°C
0	1260 (0,19)	1510 (0,17)	89	68
10	935 (0,17)	1080 (0,17)	91	80
20	740 (0,22)	945 (0,3)	96	96
40	340 (0,30)	330 (0,45)	99	99

Tableau 2.005 : Variation du diamètre final des particules de PS créées et du taux de conversion en fonction de la quantité d'eau introduite au cours de polymérisations en dispersion opérées à 75 et 85°C ([styrène] = 91 g.L⁻¹, [PVP] = 9 g.L⁻¹, [AIBN] = 1,5 g.L⁻¹).

En conclusion la polymérisation en dispersion du styrène dans l'éthanol a été étudiée. L'étude des « blancs » a permis de montrer que, dans certaines conditions de concentration en styrène et de température, la coagulation peut être favorisée. Deux cinétiques de l'évolution de la concentration en particules de PS obtenues au cours de synthèses différentes dans l'éthanol absolu ont été réalisées : une dans les conditions de polymérisation où la température et la concentration en styrène sont élevées (85°C, 91 g.L⁻¹) et l'autre à une température de 75°C et une concentration en styrène de 46 g.L⁻¹, tout autre paramètre étant constant ($x = 500$, $z = 75$). La courbe représentée en Figure 2.011 montre clairement que le nombre de particules de polystyrène se stabilise dans ce dernier cas aux alentours de 200 minutes au lieu de 400 minutes. Il est donc possible de limiter les phénomènes de coalescence en jouant par exemple sur la température.

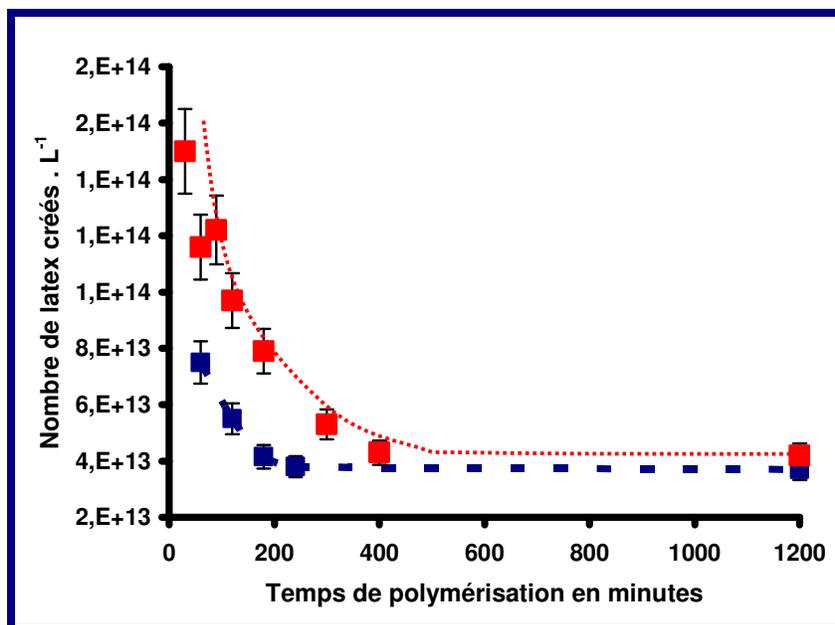


Figure 2.011 : Courbes représentant l'évolution de la concentration en particules de PS lors de la polymérisation en dispersion dans des conditions de polymérisation suivantes, [PVP] = 9 g.L⁻¹, [AIBN] = 1,5 g.L⁻¹ à deux températures différentes : 75°C (courbe bleue), [styrène] = 46 g.L⁻¹ et 85°C, [styrène] = 91 g.L⁻¹ (courbe rouge).

3 Etat de l'art sur les hybrides obtenus par polymérisation en dispersion en présence de particules minérales :

La partie suivante a pour but de dresser l'état de l'art des procédés d'élaboration de particules hybrides organiques/inorganiques obtenues par polymérisation en dispersion qui s'avèrent être en nombre beaucoup plus limité que celles préparées par polymérisation en émulsion. Les différents exemples ont été traités en trois catégories classées par ordre chronologique. Différents types de charges minérales (oxydes, métaux), de monomère et de morphologies des colloïdes finaux sont accessibles par cette voie.

3.1. Les particules de latex stabilisés par la silice colloïdale :

La polyaniline et le polypyrrole sont des polymères semi-conducteurs qui dans leur état dopé sont très rigides et insolubles dans la plupart des solvants ordinaires. Afin d'améliorer leur processabilité et leur mise en œuvre sous forme de films ou revêtements, la synthèse de ces deux polymères par polymérisation en dispersion a été développée par Armes *et al.* dès 1992 avec des particules de silice hydrophiles vierges, de 13, 22 et 195 nm de diamètre, jouant le rôle de stabilisant

Les particules de polyaniline^{86,87,88} et de polypyrrole^{89,90,91,92} sont obtenues par polymérisation en milieu aqueux, à température ambiante *via* une réaction d'oxydo-réduction entre le monomère, préalablement adsorbé en surface des charges minérales, et un composé de type persulfate ou chlorure de fer. Les particules inorganiques viennent se placer à l'interface polymère/milieu dispersant, contribuant ainsi à la stabilisation des particules de polymère. Des morphologies de type framboise inverses, où la partie polymère est au cœur, peuvent ainsi être obtenues comme le montrent les clichés de MEB reproduits en Figure 2.012, concernant des colloïdes hybrides à base de polyaniline et de particules de silice de différents diamètres. Des films composites de silice et de polyaniline ont pu être élaborés sur du verre à partir de ces particules. Il a été montré que leur épaisseur et leur rugosité sont

⁸⁶ M. Gill, J. Mykytiuk, S.P. Armes, J. L. Edwards, T. Yeates, P.J. Moreland, C. Mollett, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, 108-109 (1992).

⁸⁷ N. J. Terrill, T. Crowley, M. Gill, S.P. Armes, *Langmuir*, 9, 2093-2096 (1993).

⁸⁸ M. D. Butterworth, R. Corradi, J. Johal, S.F. Lascelles, S. Maeda, S.P. Armes, *J. Colloid Interface Sci.* 174, 510-517 (1995).

⁸⁹ S. Maeda, M. Gill, S. P. Armes, I. W. Fletcher, *Langmuir*, 11, 1899-1904 (1995).

⁹⁰ J. Stejskal, P. Kratochvil, S. P. Armes, S. F. Lascelles, A. Riede, M. Helmstedt, J. Prokes, I. and Krivka, *Macromolecules*, 29, 6814-6819 (1996).

⁹¹ S. Maeda, S. P. Armes, *J. Mater. Chem.*, 4, 935-942 (1994).

⁹² R. Flitton, J. Johal, S. Maeda, S. P. Armes, *J. Colloid Interface Sci.*, 173, 135-142 (1995).

moindres que celles de films de polyaniline pure⁹³.

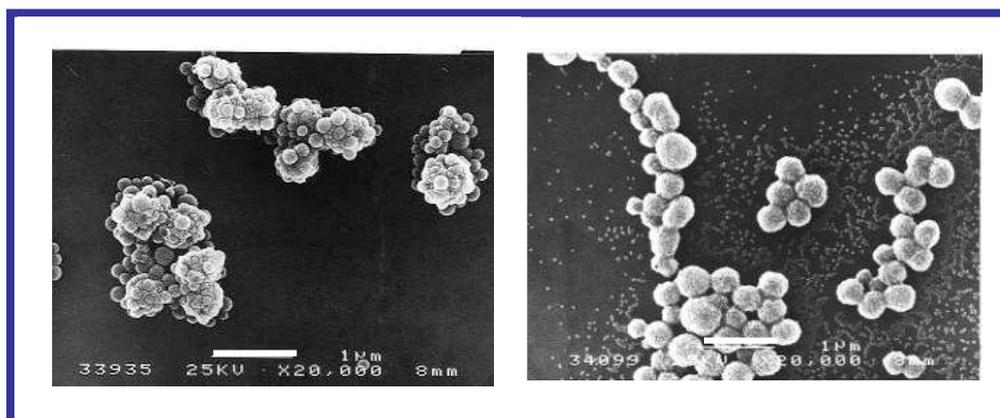


Figure 2.012 : Clichés de MEB de particules de polyaniline stabilisées par la silice colloïdale obtenus par polymérisation en dispersion : colloïdes obtenus à base de particules de silice de a) 195 nm de diamètre et b) 33 nm de diamètre (barre d'échelle : 1 µm).

Suivant la même stratégie, la même équipe, quelques années plus tard, a élaboré des particules micrométriques de polystyrène par polymérisation en dispersion en milieu hydroalcoolique, stabilisées par des particules de silice commerciales vierges de 13 ou 22 nm de diamètre.^{94,95} Il a été montré que l'emploi d'un amorceur radicalaire portant une charge négative mène à la coagulation des particules, un amorceur radicalaire neutre tel que l'AIBN donne des objets hybrides contenant 1 % en masse de silice (voir Figure 2.013)⁹⁴ et un amorceur radicalaire portant une charge positive tel que l'AIBA permet d'obtenir des framboises inverses contenant jusqu'à 26 % en masse de silice (voir Figure 2.013)⁹⁵. Ces derniers ont d'ailleurs servi de précurseurs à l'obtention de particules creuses de silice par traitement thermique à 800°C afin de détruire la partie polymère et de fritter les entités minérales.

Une analyse des charges de surface par zétamétrie et l'enregistrement d'isothermes d'adsorption de l'AIBA à la surface des particules de silice ont montré la forte affinité entre l'amorceur cationique et la surface des particules minérales chargées négativement, qui serait responsable de la formation des colloïdes hybrides.

⁹³A. Riede, M. Helmstedt, V. Riede, *Langmuir*, 16, 6240-6244 (2000).

⁹⁴A. Schmid, S. Fujii, S.P. Armes, *Langmuir*, 22, 4923-4927 (2006).

⁹⁵A. Schmid, S. Fujii, S.P. Armes, *Langmuir*, 21, 8103 (2005).

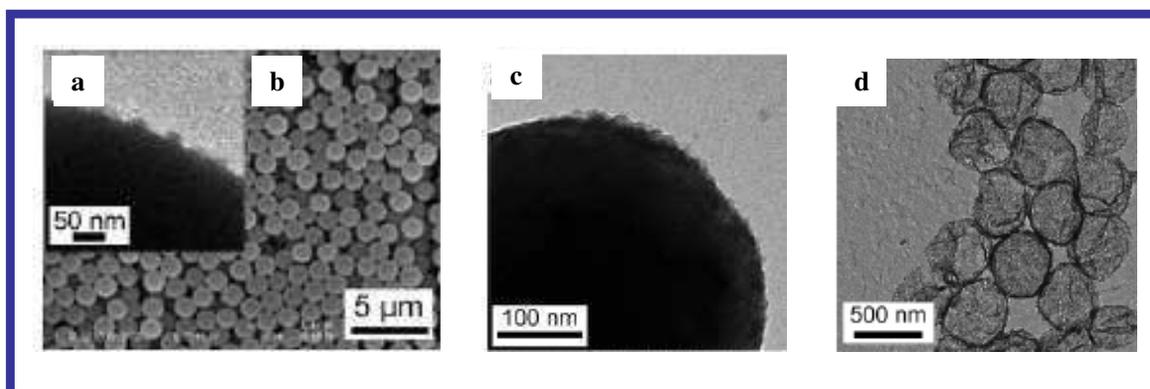


Figure 2.013 : Exemples de particules de PS stabilisées par de la silice colloïdale commerciale de 22 nm de diamètre, obtenus par polymérisation en dispersion : a) et b) colloïdes obtenus par amorçage à l'AIBN et colloïdes obtenus par amorçage à l'AIBA c) avant et d) après traitement thermique à 800°C.

3.2. Les pigments encapsulés :

Les différentes stratégies employées pour l'encapsulation de charges minérales *via* une polymérisation en dispersion reposent sur la compatibilisation entre les phases organiques et inorganiques. Les mêmes agents de couplage que pour les cas traités dans le chapitre 1, qui peuvent être adsorbés, greffés de manière covalente, et éventuellement réactifs vis-à-vis de la polymérisation sont utilisés. Yoshinaga *et al.*⁹⁶ ont par exemple dès 1992 mis au point un procédé d'encapsulation de particules de silice par du polystyrène en tirant profit de l'attraction électrostatique entre l'amorceur cationique, le dihydrochlorure de 2,2-azobis(2-amidinopropane) et la silice chargée négativement dans certaines conditions de pH. Matijevic *et al.*⁹⁷ ont aussi travaillé sur l'encapsulation par le polydivinylbenzene (DVB) de particules de silice submicrométriques recouvertes d'une fine couche d'alumine, à la surface desquelles étaient adsorbées des molécules de 4-vinylpyridine par voie électrostatique.

L'équipe de Bourgeat-Lami a travaillé sur l'encapsulation par un polymère de particules de silice commerciales ou synthétisées par voie sol-gel. Le procédé consiste en la fonctionnalisation des particules minérales par le γ -MPS à un fort taux de greffage (24 fonctions par nm²) suivie de la polymérisation en dispersion *in situ* en milieu hydroalcoolique amorcée par l'AIBN, du styrène^{98,99,100},

⁹⁶ K. Yoshinaga, T. Yokoyama, Y. Sugawa, H. Karakawa, N. Enomoto, H. Nishida, M. Komatsu, *Polym. Bull.* 28, 663-668 (1992).

⁹⁷ H.T. Oyama, R. Sprycha, Y. Xie, R.E. Partch, E. Matijevic, *J. Colloid Interface Sci.*, 160, 298-303 (1993).

⁹⁸ E. Bourgeat-Lami, J. Lang, *J. Coll. Int. Sci.*, 197, 293-308 (1998).

⁹⁹ E. Bourgeat-Lami, J. Lang, *J. Coll. Int. Sci.*, 210, 281-289 (1999).

¹⁰⁰ E. Bourgeat-Lami, J. Lang, *Macromol. Symp.*, 151, 377-385 (2000).

ou du méthacrylate de butyle¹⁰¹ en utilisant différents stabilisants tels que le PVP ou des copolymères à blocs à base de styrène et d'oxyde d'éthylène¹⁰². L'influence de différents paramètres tels que la concentration en particules de silice, le taux de greffage en γ -MPS, le diamètre des particules de silice ou la concentration en monomère a été étudiée sur la morphologie des colloïdes hybrides obtenus. Il a par exemple été montré qu'en jouant sur la concentration en particules de silice fonctionnalisées, le nombre de particules d'oxyde métallique encapsulées peut varier de une à plusieurs dizaines par particule de PS. Les clichés de MET reproduits en Figure 2.014 montrent les différents colloïdes hybrides silice / polystyrène obtenus en se plaçant dans des conditions où une et une seule particule de silice est encapsulée par le polymère. On peut noter que les morphologies des colloïdes hybrides dépendent de la concentration initiale en monomère, et varient de morphologies de types multipodes à cœur-écorce.

Des morphologies de type multipodes avec un nombre de nodules de PS non contrôlé à la surface des particules minérales de 629 nm de diamètre ont été obtenues (cf. Figure 2.014 a) pour une concentration en styrène faible et une température de 70°C.^{98,99} Ce résultat a servi de base à l'obtention de particules avec un nombre de nodules de PS contrôlé à la surface de particules de silice micrométriques par polymérisation en dispersion (cas discuté plus tard dans ce chapitre).

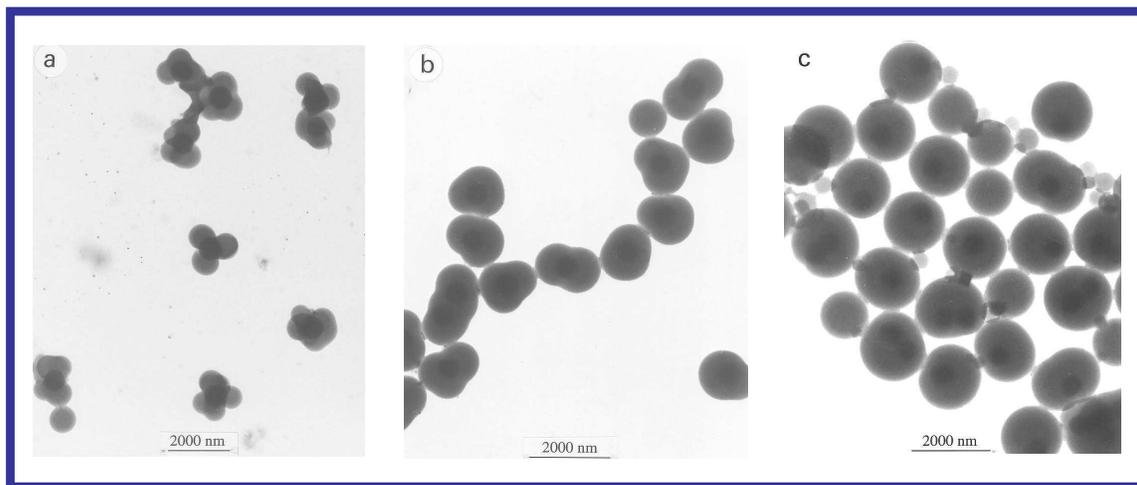


Figure 2.014 : Exemples de nanoparticules de silice de 629 nm de diamètre fonctionnalisées au γ -MPS à un taux de greffage de 24 fonctions.nm⁻², encapsulées dans le polystyrène par polymérisation en dispersion à différentes concentration en styrène: a) 7,5 b) 10 et c) 15 % massique.⁹⁸

Citons aussi l'encapsulation par le polystyrène de pigments d'aluminium sur lesquels sont adsorbés *via* des interactions faibles (électrostatiques ou liaisons hydrogène) différents dérivés du

¹⁰¹ S. Chalaye, E. Bourgeat-Lami, J.L. Putaux, J. Lang, , *Macromol. Symp.*, 169, 89-96 (2001).

¹⁰² F. Corcos, E. Bourgeat-Lami, C. Novat, J. Lang, *Colloid Polym. Sci.*, 277, 1142-1151 (1999).

PEG, anioniques ou non ioniques porteur d'une fonction méthacrylate. Les particules obtenues font quelques dizaines de micromètres de diamètre¹⁰³.

Enfin, plus récemment, Yu et *al.* ont travaillé sur l'encapsulation par le poly[(styrène-*co*-divinylbenzène)-acide méthacrylique] de microparticules^{104,105} ou de nanoparticules¹⁰⁶ commerciales non fonctionnalisées de TiO₂ par polymérisation en dispersion dans le méthanol, en utilisant le PVP comme stabilisant et l'AIBN comme amorceur. L'acide méthacrylique est ajouté en fin de polymérisation afin de stabiliser électrostatiquement les colloïdes grâce aux fonctions carboxylate. Des microparticules hybrides polydisperses sont obtenues dans chacun des cas.

3.3. Les particules de latex magnétiques

Les particules de latex magnétiques sont généralement des dispersions aqueuses de colloïdes hybrides organique/inorganiques à base d'inclusions minérales telles que les ferrites, dont les plus connues sont la magnétite (Fe₂O₃) et la maghémite (γ-Fe₃O₄). Ils présentent des applications potentielles en biologie, biotechnologie ou médecine, car ces particules sont facilement manipulables sous l'effet d'un gradient de champ magnétique.

Le procédé de polymérisation en dispersion a été utilisé pour la première fois en 1995 par Lin et Sun¹⁰⁷ pour encapsuler des particules de Fe₃O₄ par le poly(méthacrylate de 2-hydroxyéthyle). Afin d'améliorer l'affinité entre le monomère et les charges minérales, des macromolécules de PEG ont été préalablement adsorbées à la surface de celles-ci. Les particules finales présentent des diamètres compris entre 50 et 500 μm.

Jiang et *al.*¹⁰⁸ ont travaillé sur l'encapsulation de particules de Fe₃O₄ par le poly(styrène-*co*-(N-isopropylacrylamide)) (PS-*co*-PNIPAM) en milieu hydroalcoolique afin d'obtenir des latex à la fois thermosensibles et magnétiques. Le PNIPAM est un matériau hydrosoluble à température ambiante, à cause des liaisons hydrogènes entre l'eau et les fonctions amides. Par élévation de la température jusqu'à sa température critique de solubilité la plus basse (32°C), ces liaisons sont rompues et le matériau devient hydrophobe. Cette propriété est réversible, ce qui en fait un polymère de choix pour des applications biomédicales telles que la libération contrôlée de principes actifs. Les particules de latex magnétiques obtenues étaient polydisperses et présentaient des diamètres dépendant de la température du milieu dispersant selon le caractère hydrophile ou hydrophobe du PNIPAM : 38 nm à

¹⁰³ I. Kimura, Y. Taguchi, H. Yoshii, M. Tanaka, *J. Appl. Polym. Sci.*, 81, 675-683 (2001).

¹⁰⁴ D.-G. Yu, J. H. An, *Coll. and Surf. A : Physicochem. Eng. Aspects*, 237, 87-93 (2004).

¹⁰⁵ D.-G. Yu, J. H. An, *Polymer*, 45, 4761-4768 (2004).

¹⁰⁶ D.-G. Yu, J. H. An, S. D. Ahn, S.-R. Kang, K. S. Suh, *Coll. and Surf. A : Physicochem. Eng. Aspects*, 266, 62-67 (2005)

¹⁰⁷ X. Li, Z. Sun, *J. Appl. Pol. Sci.*, 58, 1991-1997 (1995).

¹⁰⁸ X.-B. Ding, Z.-Sun, G.-X. Wan, Y.Y. Jiang, *Reac. And Func. Polymers*, 38, 11-15 (1998).

25°C, 34 nm à 40°C.

Enfin, Horak *et al.*^{109,110} ont développé un procédé de synthèse de particules magnétiques par polymérisation en dispersion de différents acrylates en présence de fluides magnétiques en milieu hydroalcoolique. Par exemple, l'encapsulation des particules de $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ dont la morphologie rappelle celle d'aiguilles (*cf.* cliché de MET en Figure 2.015) par le poly(méthacrylate de glycidyle), en utilisant le PVP comme stabilisant et l'AIBN comme amorceur conduit à des particules homogènes en forme dont le diamètre est compris entre 1 et 2 μm . La synthèse repose sur la dispersion du fluide magnétique dans la phase dispersante et l'adsorption en leur surface du monomère et du stabilisant par des liaisons secondaires de type Van der Waals. Après introduction de l'amorceur, les *nuclei* formés peuvent précipiter à la surface des oxydes minéraux et continuer leur polymérisation en capturant du stabilisant de la phase hydroalcoolique pour permettre la croissance des particules. L'ajout de diméthacrylate d'éthylène en fin de polymérisation permet l'obtention de particules réticulées. Cependant, il est important de souligner non seulement le grand nombre de particules inorganiques libres en fin de polymérisation, mais aussi la polydispersité des particules de latex obtenues.

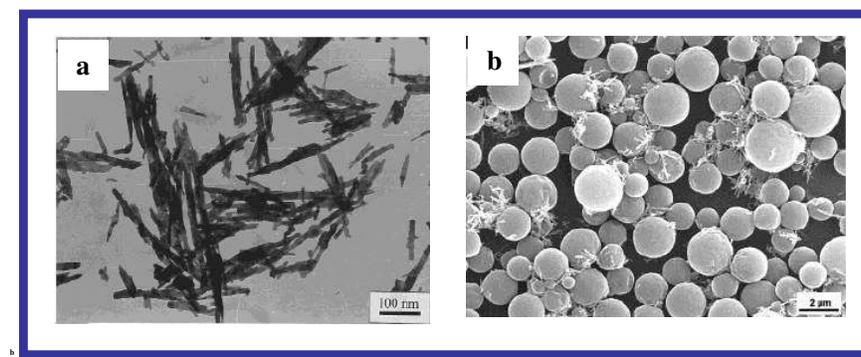


Figure 2.015 : a) Cliché de MET des particules d'oxyde de fer avant encapsulation dans le poly(méthacrylate de glycidyle) et b) cliché de MEB des particules de latex magnétiques de poly(méthacrylate de glycidyle) réticulés encapsulant des particules de $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ obtenus par polymérisation en dispersion.

4 Stratégies de contrôle des morphologies des colloïdes hybrides silice / polystyrène :

La partie suivante a pour but de décrire la synthèse de particules hybrides silice/polystyrène par polymérisation en dispersion. Nous avons développé trois stratégies de contrôle des morphologies : par la quantité de particules de silice introduites, par le taux de greffage du MMS en surface de celles-ci et par la modification du milieu dispersant.

¹⁰⁹ D. Horak, J. Bohacek, M. Subrt, *J. of Polym. Sci. : Part A : Polym. Chem.*, 38,1161-1171 (2000).

¹¹⁰ D. Horak, *J. of Polym. Sci. : Part A : Polym. Chem.*, 39,3707-3715 (2001).

4.1. Synthèse et fonctionnalisation des précurseurs inorganiques :

Les germes que nous avons employés en polymérisation en dispersion sont synthétisés par voie sol-gel dans des conditions hydroalcooliques basiques, en réacteur fermé, ou par addition d'un des réactifs en continu durant le procédé de formation des germes inorganiques. Des particules de silice dont les diamètres sont compris entre 250 et 1250 nm ont ainsi pu être obtenues. Les différents protocoles de synthèse de particules de silice sont donnés en Annexe A.002. Les particules ont été observées par MET, selon le protocole PII.001. Les diamètres ont été évalués statistiquement sur quelques centaines de particules sur la base de clichés de MET.

Les précurseurs inorganiques ont été modifiés par le MMS par des réactions d'hydrolyse/condensation suivant le protocole donné en annexe A.004. Onze lots différents de silice dont les caractéristiques sont détaillées dans le Tableau 2.006, ont ainsi pu servir à l'élaboration de particules hybrides organiques / inorganiques par polymérisation en dispersion.

Numéro de lot	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Diamètre des particules de silice (nm)	1350	650	250	330	330	330	330	330	330	330	550	650
Taux de greffage nominal en MMS (f.nm ⁻²)	9	9	3	3	0,1	0,5	1	3	10	100	4	5

Tableau 2.006 : Récapitulatif des différents lots de silice utilisés comme germes à une polymérisation en dispersion.

4.2. Contrôle de la morphologie des particules hybrides via le rapport N_{PS}/N_{silice} :

4.2.1. N_{PS}/N_{silice} supérieur à 1 :

L'objet de cette partie est de développer des voies de contrôle des morphologies des colloïdes hybrides silice/polystyrène obtenus par polymérisation en dispersion. La première stratégie qui est traitée dans ce paragraphe consiste à faire varier la quantité de particules de silice introduite pendant l'étape de polymérisation ou autrement dit le rapport N_{PS}/N_{silice} de manière très similaire à celle décrite dans le cadre de l'obtention de colloïdes silice/polystyrène par polymérisation en émulsion.

La première synthèse de colloïdes hybrides a été effectuée à base de germes inorganiques de 1350 nm de diamètre, fonctionnalisés à un taux de greffage nominal de 9 fonctions.nm⁻² (particules du lot n°7), dans des conditions de ratio égal à 10. Les différentes étapes de la synthèse sont décrites dans le protocole PII.002. Les conditions opératoires sont les suivantes, X, x, y, z et T respectivement égaux à 600, 500, 5.5, 75 et 85°C (éthanol à reflux).

Protocole PII.002 : Synthèse de colloïdes hybrides silice/polystyrène à base de particules de silice de 1350 nm de diamètre.

X mg de particules de silice du lot n°7 sont dispersés dans 50 mL d'éthanol absolu à l'aide d'un bain à ultrasons pendant 30 minutes. Les particules sont ensuite introduites dans un ballon tricolis contenant x mg de stabilisant (PVP K90, Aldrich), surmonté d'un réfrigérant, d'une ampoule à addition et équipé d'un agitateur magnétique. Dans l'ampoule sont introduits y mL de monomère (Styrène ; Aldrich, 99 %), dont le stabilisant a été éliminé sur colonne d'alumine, et z mg d'amorceur (AIBN, Acros). Après désoxygénation par bullage d'azote (2 h dans l'ampoule et le ballon) et mise à température à T°C, sous agitation à 150 rpm, le contenu de l'ampoule est versé dans le ballon, instant t₀ de la polymérisation. Des prélèvements de quelques mL sont effectués à l'aide d'une seringue, à différents temps de réaction sous courant d'azote et sont placés au réfrigérateur après avoir ajouté quelques µL d'une solution aqueuse d'hydroquinone (Aldrich) de concentration massique de 10 g.L⁻¹, afin d'inhiber la polymérisation. Les particules obtenues sont caractérisées par MEB et par MET. L'évolution de la conversion du monomère en polymère est suivie par analyse gravimétrique pour chaque échantillon, en considérant que le résidu après traitement est composé uniquement de stabilisant, de polymère et de silice. Le volume total de la dispersion est contrôlé afin de déterminer la quantité d'éthanol évaporé, compte tenu de la température élevée de polymérisation.

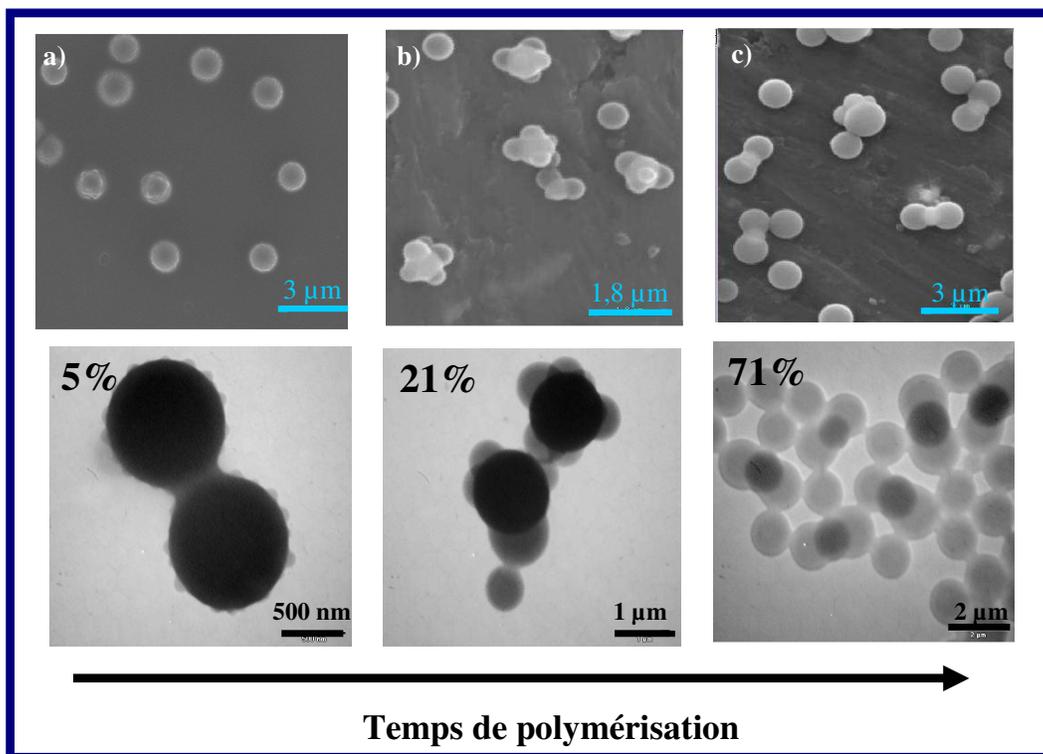


Figure 2.016 : Clichés de microscopie électronique montrant l'évolution de la morphologie des colloïdes hybrides obtenus dans les conditions opératoires suivantes ; C_{silice} = 11 g.L⁻¹, [styrène] = 91 g.L⁻¹, [PVP] = 9 g.L⁻¹, [AIBN] = 1,5 g.L⁻¹ et T = 85°C en fonction de l'avancement de la réaction. a) 10 minutes (5 % conversion), b) 60 minutes (21 % de conversion) et c) 1200 minutes (71 % de conversion).

Les clichés de MET et de MEB pour chaque prélèvement sont donnés en Figure 2.016. Pour le

prélèvement à temps court, un grand nombre de nodules de polymère de faible diamètre, de l'ordre de la centaine de nanomètres, sont présents en surface de la charge minérale. L'angle de contact formé par le polymère en surface de la silice est élevé et les nodules de polystyrène semblent polydispersés en taille. Le taux de conversion faible, de l'ordre de 5 %, semble indiquer que le prélèvement a été effectué en fin de période de nucléation. Les particules de PS se modifiant sous le faisceau d'électrons, leur taille n'a pas pu être évaluée.

Pour un temps de polymérisation correspondant à 60 minutes (taux de conversion de 21 %), les nodules de polystyrène en surface des particules de silice font en moyenne 640 nm de diamètre et sont hétérogènes en taille. L'angle de contact est très important. Les particules de silice ont 4 ou 5 nodules de polystyrène en leur surface et un grand nombre de particules de PS est présent dans le milieu. La concentration en particules de PS est alors de $1,7 \cdot 10^{14} \text{ L}^{-1}$, ce qui correspond à un rapport $N_{\text{PS}}/N_{\text{silice}}$ de 40.

Enfin, en fin de polymérisation (1200 minutes), les particules de polystyrène ont des diamètres moyens de 1410 nm et le taux de conversion final de 71 %. Ces deux valeurs sont très proches de celles obtenues par polymérisation en dispersion sans silice dans les mêmes conditions (1500 nm, 69 %). Ils semblent avoir une grande affinité les uns pour les autres. La concentration en particules de PS est d'environ 10^{15} L^{-1} , correspondant à un rapport $N_{\text{PS}}/N_{\text{silice}}$ de 12 ; pourtant il apparaît majoritairement des colloïdes hybrides où deux nodules de polymère sont en surface de la particule de silice.

Les morphologies obtenues dans ces conditions ne correspondent pas au rapport $N_{\text{PS}}/N_{\text{silice}}$ visé (10/1) et évoluent au cours de la réaction. Le nombre moyen de nodules de polystyrène en surface des germes inorganiques diminue à mesure que la conversion augmente. Un grand nombre de particules de polystyrène non-liées à la silice ont de plus été créés. Il apparaît donc que toutes les particules de PS nucléées ne se retrouvent pas en surface des précurseurs minéraux. Ceci pourrait s'expliquer par le fait que les nodules de polymère forment un angle de contact important avec la silice durant tout le processus. Des phénomènes d'expulsion entre ceux-ci peuvent de ce fait être favorisés. Un mécanisme de coagulation entre les nodules peut aussi avoir lieu. Cette dernière hypothèse étant très probable, puisque ce phénomène a été mis en évidence dans le cas de polymérisation sans silice.

4.2.2. $N_{\text{PS}}/N_{\text{silice}}$ égal à 1 :

Afin de vérifier si des morphologies dissymétriques des colloïdes hybrides silice/polystyrène pouvaient être obtenues, nous avons effectué une polymérisation en dispersion en présence 650 mg de particules de silice de 650 nm de diamètre, lot n° 8. La synthèse a été effectuée selon le protocole PII.002 dans les mêmes conditions de polymérisation. Les clichés de MET et MEB des colloïdes obtenus sont présentés sur la Figure 2.017. Le taux de conversion final est de 68 % et les particules de PS font en moyenne 1450 nm de diamètre. Le rapport $N_{\text{PS}}/N_{\text{silice}}$ est dans ce cas de 1,1.

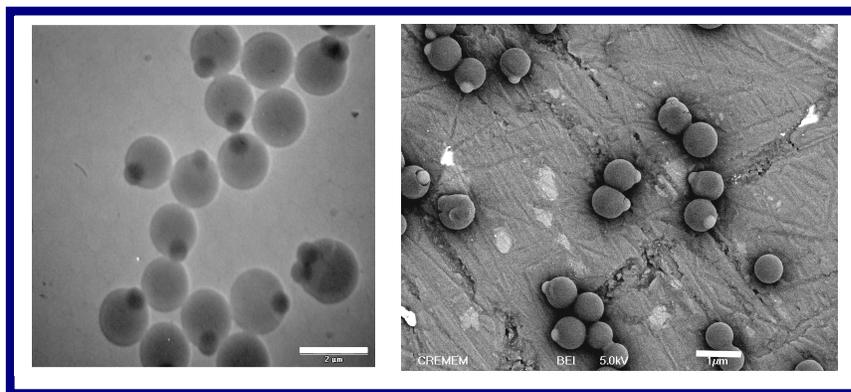


Figure 2.017 : Clichés de microscopie électronique montrant les colloïdes hybrides obtenus par polymérisation en dispersion du styrène ($C_{\text{silice}} = 11 \text{ g.L}^{-1}$, $[\text{styrène}] = 91 \text{ g.L}^{-1}$, $[\text{PVP}] = 9 \text{ g.L}^{-1}$, $[\text{AIBN}] = 1,5 \text{ g.L}^{-1}$ et $T = 85^\circ\text{C}$) en présence de particules de silice de 650 nm de diamètre fonctionnalisées au MMS dans des conditions de ratio $N_{\text{Ps}}/N_{\text{silice}}$ égal à 1,1 (barre d'échelle 2 μm).

Les colloïdes obtenus sont homogènes en taille et en forme et présentent des angles de contact entre le polymère et la silice importants. Les morphologies obtenues correspondent à un ratio de 1, avec peu de particules de PS non-liées à la silice. Il semble que cette voie de synthèse des colloïdes hybrides dissymétriques mène à l'obtention de particules dont près de 70 % correspondent au ratio visé.

Des colloïdes dissymétriques ont été également obtenus par cette voie à partir de particules de silice de 250 nm (lot n°9), 330 nm (lot n°10) et 1350 nm (lot n°7) de diamètre selon le même protocole de polymérisation, où la quantité de silice a dans chaque cas été ajustée pour conserver des conditions de ratio égal à 1 ; X est respectivement égal à 40, 80 et 3500. Les morphologies des colloïdes obtenus sont données en Figure 2.018 sur les clichés de MET.

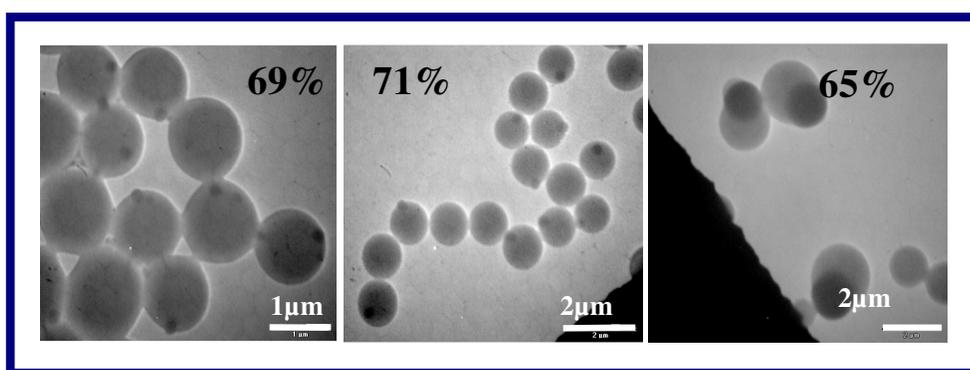


Figure 2.018 : Taux de conversion finaux et clichés de microscopie électronique montrant les colloïdes hybrides obtenus par polymérisation en dispersion du styrène ($[\text{styrène}] = 91 \text{ g.L}^{-1}$, $[\text{PVP}] = 9 \text{ g.L}^{-1}$, $[\text{AIBN}] = 1,5 \text{ g.L}^{-1}$ et $T = 85^\circ\text{C}$) en présence de particules de silice du lot a) n°9, $C_{\text{silice}} = 0,7 \text{ g.L}^{-1}$, b) n°10, $C_{\text{silice}} = 1,6 \text{ g.L}^{-1}$ et c) n°7, $C_{\text{silice}} = 70 \text{ g.L}^{-1}$.

Les particules dissymétriques sont présentes dans des rendements proches de celui obtenu dans le cas précédent. L'affinité entre le polymère et la silice est importante dans chacun des cas. Les particules sont homogènes en taille et en forme et peu de particules de PS libres ont été formées. Dans ces trois cas, les taux de conversion et les diamètres moyens des particules de silice sont proches de ceux obtenus en l'absence des particules de silice (*i.e.* 1500 nm, 68 % de conversion).

4.2.3. N_{PS}/N_{silice} inférieur à 1 :

Des particules de 330 nm (lot n°10) ont servi de germes à trois polymérisations en dispersion dans des conditions de ratio inférieur à 1: 0,25, 0,1 et 0,05 (X respectivement égal à 360, 900 et 1800) selon le protocole PII.002 dans les mêmes conditions de polymérisation. Des analyses gravimétriques sur quelques mL des dispersions finales ont permis de déterminer les taux de conversions finaux et les caractérisations en MET des colloïdes obtenus ont été effectuées et sont présentées en Figure 2.019.

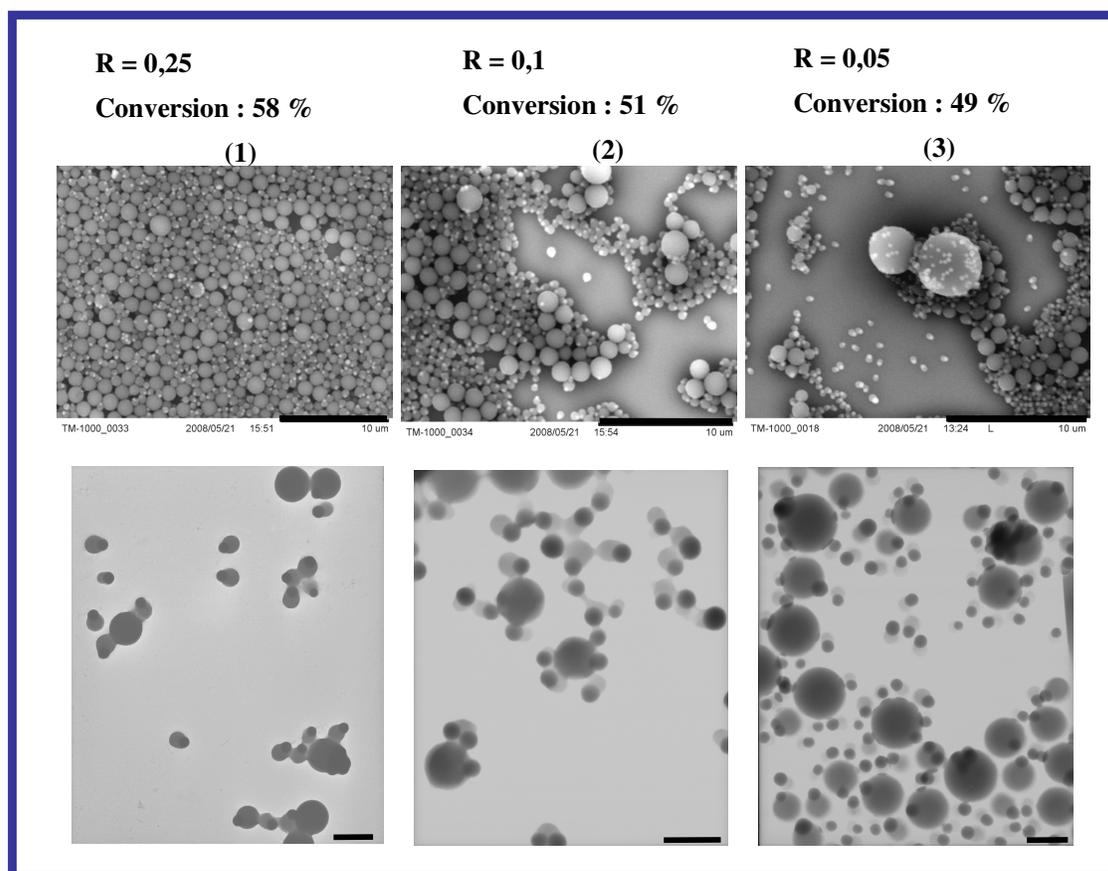


Figure 2.019 : Clichés de MEB (barre d'échelle : 10 μm) et de MET (barre d'échelle : 2 μm) montrant les colloïdes hybrides obtenus par polymérisation en dispersion du styrène ($[\text{styrène}] = 91 \text{ g.L}^{-1}$, $[\text{PVP}] = 9 \text{ g.L}^{-1}$, $[\text{AIBN}] = 1,5 \text{ g.L}^{-1}$ et $T = 85^\circ\text{C}$) en présence de particules de silice du lot n°10 dans des conditions de ratio égal à 0,25, $C_{silice} = 7 \text{ g.L}^{-1}$ (1), 0,1, $C_{silice} = 16 \text{ g.L}^{-1}$ (2) et 0,05, $C_{silice} = 32 \text{ g.L}^{-1}$ (3).

En augmentant la concentration en particules de silice pendant l'étape de polymérisation, le taux de conversion final de monomère en polymère diminue fortement. Les particules de polystyrène ont des diamètres moyens compris entre quelques centaines de nm et quelques μm . Leur diamètre moyen n'a pas été évalué en raison de leur grande polydispersité en taille.

Les morphologies des colloïdes obtenus pour un ratio de 0,25 sont proches de celles déjà observées pour un ratio égal à 1, si ce n'est que les nodules de polystyrène dont les diamètres sont proches de 500 nm sont plus polydisperses, et que certaines particules hybrides présentent plusieurs particules de silice à leur surface.

Pour un ratio égal à 0,1, un grand nombre de particules dissymétriques sont visibles, où les nodules de polystyrène font environ 300 nm de diamètre. Des colloïdes hybrides, où plusieurs particules de silice sont en surface d'un seul nodule de polystyrène, sont aussi visibles dans ce cas.

Enfin, pour un ratio de 0,05, les particules dissymétriques sont présentes en majorité avec des nodules d'environ 300 nm de diamètre. Des colloïdes présentant un grand nombre de particules de silice à l'interface polymère / milieu dispersant peuvent être remarqués. Leurs morphologies ne sont pas sans rappeler les « framboises inverses » obtenues par Armes *et al*⁹⁴.

Du fait du nombre important de particules de silice dans le milieu, on peut considérer que la capture des oligoradicaux est efficace, ce qui conduirait à temps court à un grand nombre de particules de morphologie dissymétrique. La quantité de stabilisant formé *in situ* n'est probablement pas suffisante pour recouvrir tous ces objets. Certains d'entre eux coalescent donc, conduisant à la formation de grosses particules contenant plusieurs billes de silice à leur surface.

L'adsorption de molécules d'AIBN ou de PVP en surface des particules de silice, qui présentent une grande surface développée, pourrait éventuellement affecter l'efficacité de l'amorçage et la quantité de copolymères stabilisants formés. Ces deux hypothèses pourraient expliquer les taux de conversion faibles observés.

4.2.4. Proposition des mécanismes de formation des colloïdes hybrides silice/polystyrène :

La Figure 2.020 résume les différents mécanismes possibles de formation des particules hybrides silice/polystyrène obtenues par polymérisation en dispersion. D'abord, des *nuclei* de polystyrène sont formés et viennent précipiter en surface des particules de silice fonctionnalisées. Les premiers nodules, apparus dès 5% de conversion, croissent et coalescent durant tout le procédé de polymérisation, et leur nombre en surface des charges minérales diminue (4-5 nodules à 21 % de conversion). L'évolution des morphologies va alors dépendre de la concentration en particules de silice. Si celle-ci est supérieure à une valeur critique (C_{crit}), la concentration en colloïdes et le procédé

de polymérisation favorisent les phénomènes de coagulation entre nodules de polymère (coalescence intraparticulaire), ainsi que la coagulation entre particules de PS libres et objets hybrides ou encore objets hybrides / objets hybrides (coalescence interparticulaire). Si la concentration en particules de silice est faible, les nodules vont pouvoir évoluer et croître sans que le phénomène de coalescence interparticulaire ne prédomine.

Cette série d'expériences nous a permis de comprendre que le contrôle des morphologies en ajustant la quantité de particules de silice était une voie limitée, particulièrement dans le cas des synthèses opérées dans des conditions de ratio supérieur à 1. Les principaux problèmes rencontrés ont été les angles de contact importants entre la silice et le polystyrène, qui empêchent la croissance de plus de deux nodules de polystyrène en surface des particules de silice et le phénomène de coagulation des particules de PS omniprésent depuis les premiers instants jusqu'à la fin de la polymérisation.

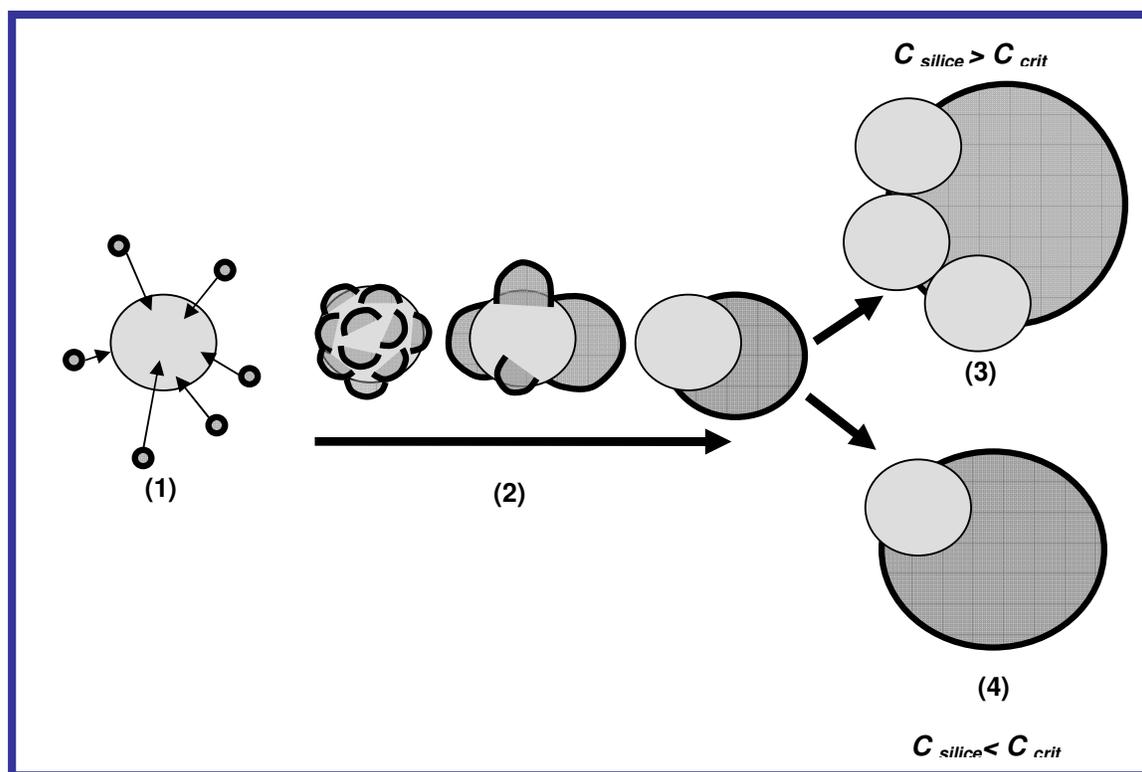
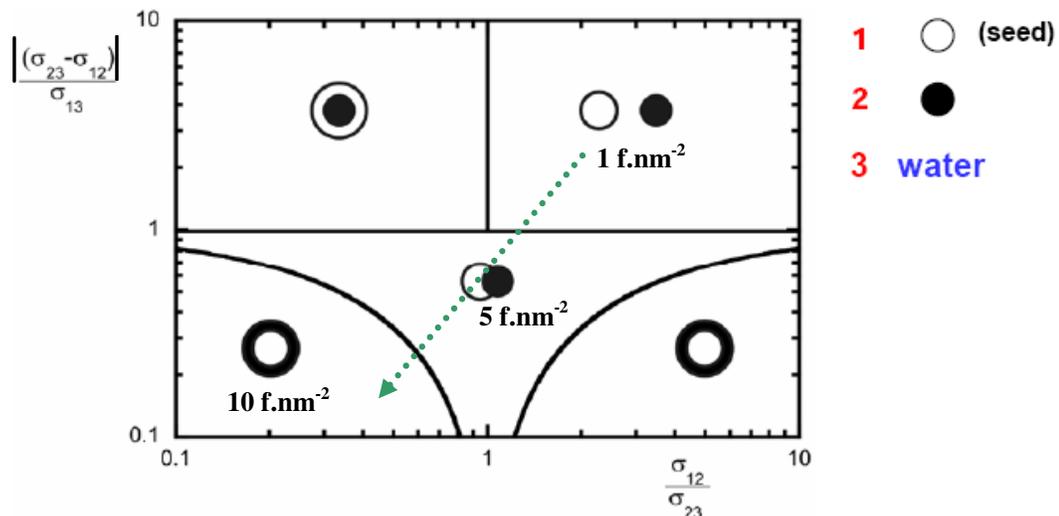


Figure 2.020 : Schéma représentant les mécanismes possibles de formation des colloïdes hybrides silice/polystyrène par polymérisation en dispersion : 1) formation des *nuclei* et leur précipitation en surface des germes inorganiques, 2) croissance et coalescence intraparticulaire des nodules de polymère en surface, 3) coalescence interparticulaire dans le cas d'une forte concentration en particules de silice, 4) croissance des nodules de polymère sans coalescence interparticulaire dans le cas d'une faible concentration en particules de silice.

4.3. Stratégies pour modifier l'angle de contact entre la silice et le polystyrène (ou comment modifier l'affinité silice/PS):

La stratégie de contrôle de l'angle de contact entre la silice et le polystyrène dans le cas des colloïdes obtenus par polymérisation en dispersion repose sur une approche développée par Asua et *al.* appliquée jusqu'ici pour les synthèses de particules de PS structurées à base de polymère obtenus par polymérisation en émulsion d'un monomère sur des germes d'un polymère de nature chimique différente. Ces études ont abouti à l'établissement d'un diagramme¹¹¹ (cf. Figure 2.021), permettant de prédire les morphologies thermodynamiquement stables (cœur-écorce, cœur-écorce inverse ou dissymétrique) des particules de PS obtenues en fonction des différentes tensions interfaciales des phases en présence : σ_{12} , σ_{23} et σ_{13} où (1) est le polymère composant le germe, (2) le polymère formé lors de l'étape de polymérisation en émulsion et (3) la phase dispersante. Des limitations à l'application directe de ce modèle dans notre cas existent : les germes sont dans notre cas des particules de silice plus hydrophiles que le polystyrène et à l'intérieur desquelles le polymère ne peut pas pénétrer. Nous avons pourtant choisi de jouer sur les différentes tensions interfaciales selon ce modèle afin de faire varier l'angle de contact entre la silice et le polystyrène.



Quand σ_{ij} diminue, la compatibilisation entre les phases i et j augmentent.

Figure 2.021 : Diagramme prédictif des différentes morphologies thermodynamiquement stables accessibles par polymérisation en émulsion d'un polymère 2 sur des germes de polymère 1, représenté en fonction des différentes tensions interfaciales des phases en présence. Les valeurs de taux de greffage en MMS des particules de silice sont indiquées pour chaque morphologie des colloïdes hybrides obtenue par polymérisation en émulsion (cf. chapitre 1).

¹¹¹ V. Herrera, R. Pirri, J.R. Leiza, J. M. Asua, *Macromolecules*, 39, 6969-6974 (2006).

Sur ce diagramme, quand le rapport σ_{12}/σ_{23} augmente, soit l'affinité entre les germes (1) et le second polymère diminue (2), soit l'affinité du polymère (2) pour le milieu dispersant augmente (3). A l'inverse quand σ_{12}/σ_{23} diminue, c'est la compatibilité entre les germes (1) et le polymère (2) qui l'emporte sur celle entre le polymère (2) et le milieu (3).

Un rapport $|\sigma_{23}-\sigma_{12}|/\sigma_{13}$ élevé peut traduire soit une affinité entre les germes (1) et le milieu (3) très importante, soit une affinité du polymère (2) très marquée pour l'une ou l'autre des autres phases en présence. A l'inverse une valeur de ce rapport faible peut indiquer une forte incompatibilité entre les germes (1) et le milieu (3), soit que le polymère (2) est quasiment aussi compatible avec le milieu (3) ou avec les germes (1).

La première voie que nous avons privilégiée est celle de la modification de l'affinité entre la silice et le polystyrène par modification du taux de greffage nominal de MMS (cf. Figure 2.022). Cette voie de contrôle des morphologies, déjà utilisée dans le cas de la synthèse des colloïdes hybrides obtenus par polymérisation en émulsion, fait varier conjointement les tensions de surface entre la silice et le milieu dispersant σ_{13} et celles entre la silice et le polymère σ_{12} .

En effet, la silice étant plus hydrophobe pour un taux de fonctionnalisation plus grand, σ_{13} augmente avec celui-ci. En même temps, la compatibilité entre les phases organiques et inorganiques est plus importante et σ_{12} diminue.

Ceci nous a permis de déterminer les conditions d'obtention de morphologies cœur-écorce (à taux de greffage de 10 f.nm⁻²), de particules dissymétriques (pour un taux de greffage de 5 f.nm⁻²) ou des particules hybrides de faible affinité entre les parties organiques/inorganiques (en dessous de 1 f.nm⁻²) par polymérisation en émulsion (cf. flèche verte en Figure 2.021).

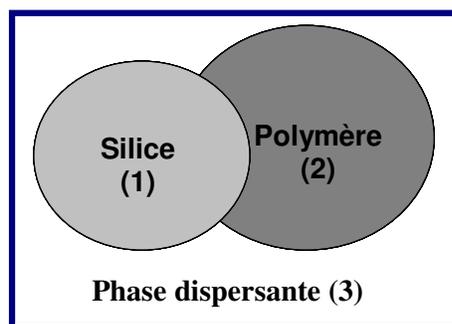


Figure 2.022 : Schéma représentant les différentes phases en présence : (1) silice (2) polymère et (3) phase aqueuse.

4.3.1. Influence du taux de greffage sur les morphologies, modification de σ_{12} , σ_{13} :

Des particules de 330 nm ont été synthétisées selon le protocole donné en annexe (A.002) et six fractions ont ensuite été fonctionnalisées au MMS à température ambiante pour des taux nominaux de 0,1 ; 0,5 ; 1 ; 3 ; 10 et 100 fonctions.nm⁻² selon le protocole décrit par Bourgeat-Lami et coll.^{98,99} donné en annexe A.004. Ce protocole de greffage ne comporte pas d'étape de chauffage à 90°C pendant une heure, afin d'éviter les phénomènes d'agrégation entre les particules, favorisés par la surface développée élevée des précurseurs inorganiques.

Les particules de six lots (n° 11 à 16) de particules de silice fonctionnalisées ont ensuite été introduites dans une polymérisation en dispersion dans des conditions de ratio égal à une bille de silice pour 2 billes de polystyrène afin d'étudier l'influence du taux de greffage sur les morphologies des colloïdes hybrides obtenus. Les conditions opératoires sont rigoureusement identiques à celles données dans le protocole PII.002 : X, x, y, z et T respectivement égaux à 40, 500, 5,5, 75 et 85°C (éthanol à reflux).

Le cliché de MET donné en Figure 2.023 montre qu'à de faibles taux de greffage (0,1 f.nm⁻²), l'affinité entre la silice et les nodules de polystyrène n'est pas assez développée pour permettre l'obtention d'assemblages robustes comme l'atteste la présence de nanoparticules de silice et de polystyrène libres. Le ratio est proche de 1 dans ce cas et les objets sont homogènes en taille et en forme. Pour des taux de greffage de 0,5 et 1 fonction.nm⁻², les phases polymère et inorganique semblent avoir suffisamment d'affinité pour former des colloïdes hybrides. Les objets sont dans ces cas légèrement polydispersés en taille, l'angle de contact entre le polymère et la particule de silice semble important et le ratio est proche de 1. Enfin pour les taux de greffage les plus élevés entre 3 et 100 f.nm⁻², les objets obtenus correspondent à un ratio de un, sont homogènes en taille et en forme et présentent des angles de contact très importants.

Il semble pourtant que les morphologies obtenues dans le cas d'un greffage à 100 f.nm⁻² ne soient pas de type cœur-écorce (*cf.* clichés de MEB Figure 2.023). Ces résultats diffèrent de ceux obtenus par E. Bourgeat-Lami sur la silice fonctionnalisée au γ -MPS.⁹⁸⁻⁹⁹ Une explication possible sera donnée un peu plus loin dans le manuscrit.

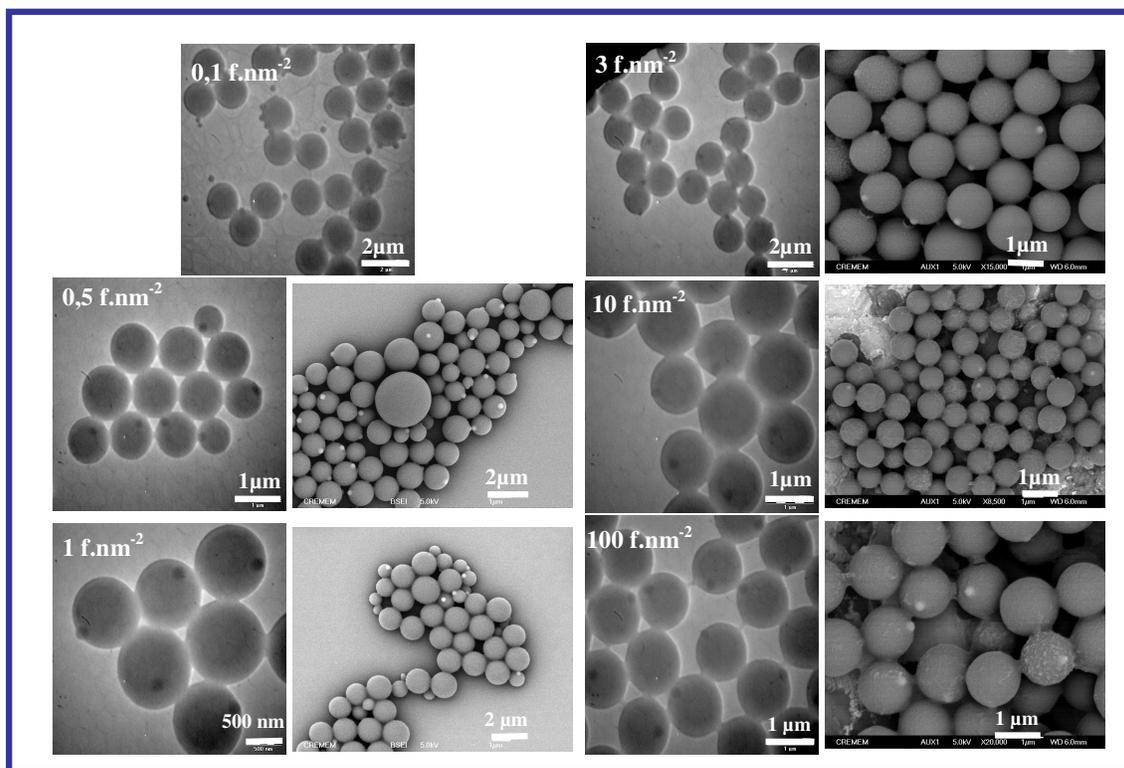


Figure 2.023 : Clichés de MET et de MEB des colloïdes hybrides obtenus par polymérisation en dispersion à partir de particules de silice fonctionnalisées au MMS à différents taux de greffage nominaux ($C_{\text{silice}} = 0,8 \text{ g.L}^{-1}$, $[\text{styrène}] = 91 \text{ g.L}^{-1}$, $[\text{PVP}] = 9 \text{ g.L}^{-1}$, $[\text{AIBN}] = 1,5 \text{ g.L}^{-1}$ et $T = 85^\circ\text{C}$) .

Afin de vérifier si le protocole de greffage du MMS sur des particules de silice, et en particulier le traitement thermique à cette étape, a une influence sur les morphologies des colloïdes hybrides, nous avons effectué une synthèse dans les mêmes conditions opératoires, à base de particules de 330 nm du lot n°10, fonctionnalisées au taux de 3 fonctions.nm⁻² en chauffant une heure à 95°C.

Les clichés de MEB et de MET donnés en Figure 2.024 présentent les morphologies obtenues qui sont très proches de celles obtenues sur la silice fonctionnalisée au même taux de greffage nominal selon le protocole à température ambiante, et confirment le fait que le protocole de greffage dans ces conditions n'influe pas sur la morphologie des objets finaux. Durant les parties qui suivront l'un ou l'autre protocole de greffage sera employé indifféremment pour des taux de greffage nominaux supérieurs à 1 f.nm⁻².

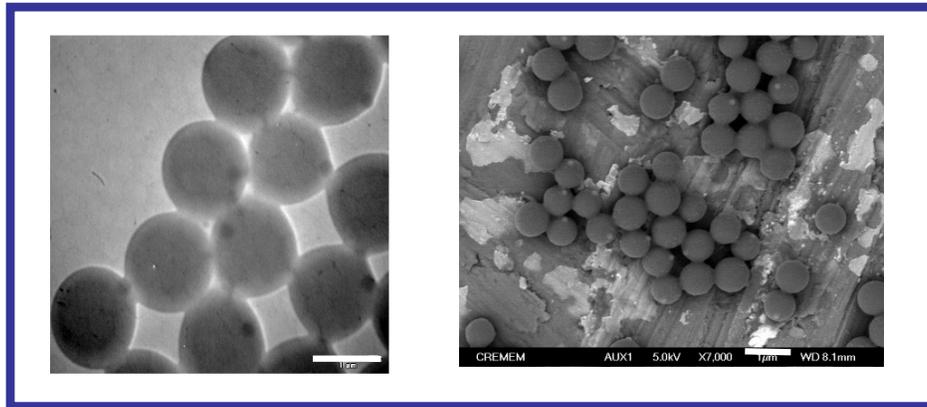


Figure 2.024 : Clichés de MEB et de MET des colloïdes hybrides obtenus par polymérisation en dispersion ($C_{\text{silice}} = 0,8 \text{ g.L}^{-1}$, $[\text{styrène}] = 91 \text{ g.L}^{-1}$, $[\text{PVP}] = 9 \text{ g.L}^{-1}$, $[\text{AIBN}] = 1,5 \text{ g.L}^{-1}$ et $T = 85^\circ\text{C}$) à partir de particules de silice fonctionnalisées au MMS à des taux de greffage nominaux de 3 fonctions.nm⁻² selon le protocole de greffage employé dans le chapitre 1 (barre d'échelle : 1 µm).

Cette série d'expériences nous a permis de déterminer que le taux de greffage nominal n'influe pas sur l'angle de contact entre la silice et le polystyrène pour des taux de greffage nominaux supérieurs à 0,5 f.nm⁻², dans ces conditions de greffage. Ceci étant probablement dû à une faible variation de σ_{13} induite par la nature du milieu dispersant, l'effet de la variation σ_{12} seule n'ayant qu'une influence limitée sur les morphologies. Les colloïdes obtenus sont plus homogènes en taille et en forme pour des taux de greffage supérieurs à 1 f.nm⁻², condition selon laquelle nous avons travaillé par la suite.

4.3.2. Effet du milieu dispersant, modification de σ_{23} :

D'après le paragraphe précédent, la variation conjointe de σ_{12} et σ_{13} par variation du taux de greffage nominal en MMS en surface des particules de silice n'a qu'un effet très limité sur l'angle de contact entre la silice et le polystyrène. Une autre voie de contrôle des morphologies est de jouer sur la nature du milieu dispersant. La polymérisation en dispersion, contrairement à la polymérisation en émulsion, est un procédé permettant un choix très varié de milieux continus, des mélanges hydroalcooliques jusqu'aux solvants hydrocarbonés.

Nous avons choisi dans cette partie de faire varier la concentration en monomère afin de modifier σ_{23} durant l'étape de polymérisation et d'étudier son influence sur les morphologies obtenues. Des particules de silice de 550 nm fonctionnalisées au MMS à un taux de greffage nominal de 4 fonctions.nm⁻² (lot n°17) ont servi de germes à différentes polymérisations en dispersion selon le protocole PII.002 où X, x, z et T étaient respectivement égaux à 170, 500, 75 et 85°C (éthanol à reflux). La concentration en monomère est égale à 91, 46, 23 et 12 g.L⁻¹ (*i.e.* $y = 5,5, 2,75, 1,38$ et 0,7).

Le taux de conversion final a été déterminé par analyse gravimétrique sur un prélèvement effectué au bout de 12 h. Les particules ont été caractérisées en MET et les clichés correspondant aux différentes synthèses sont donnés en Figure 2.025.

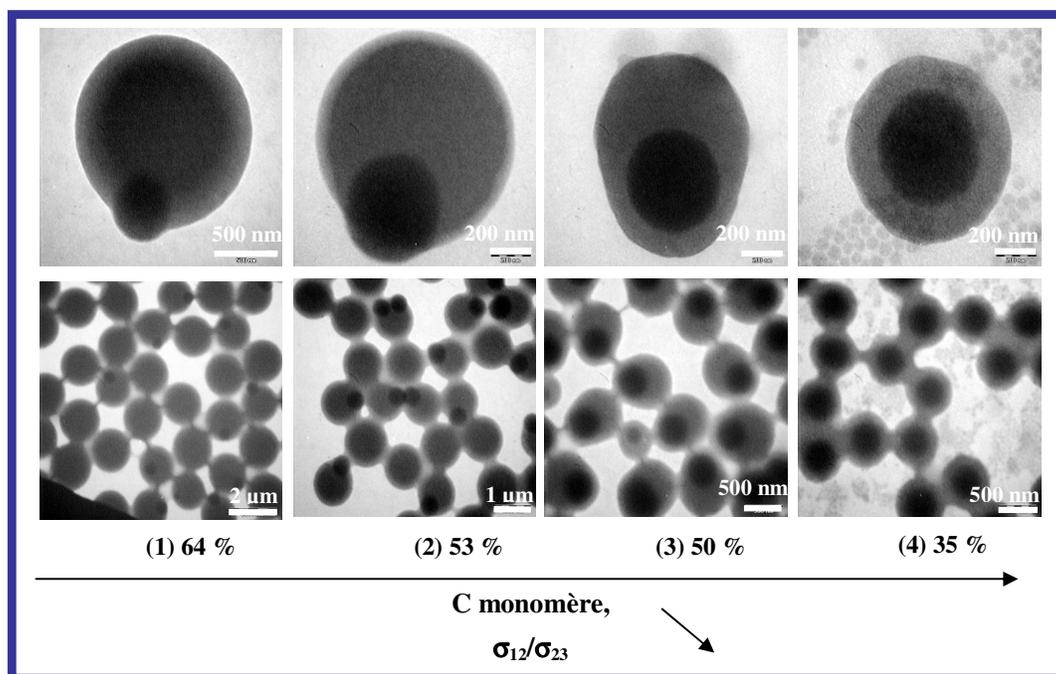


Figure 2.025: Taux de conversion finaux et clichés de MET des colloïdes obtenus par polymérisation en dispersion en présence de particules de silice du lot n°17 ($C_{\text{silice}} = 3 \text{ g.L}^{-1}$, $[\text{PVP}] = 9 \text{ g.L}^{-1}$, $[\text{AIBN}] = 1,5 \text{ g.L}^{-1}$ et $T = 85^\circ\text{C}$) à différentes concentrations en monomère : (1) 91 g.L^{-1} , (2) 46 g.L^{-1} , (3) 23 g.L^{-1} , (4) 12 g.L^{-1} .

Les clichés de MET montrent clairement qu'à faible concentration en monomère (12 g.L^{-1}), les colloïdes obtenus sont des particules cœur-écorce où le polystyrène encapsule une et une seule particule de silice. De nombreuses particules de PS libres de quelques dizaines de nanomètres sont visibles sur les clichés, correspondant d'après les études précédentes à des *nuclei*. Le faible taux de conversion de 35 % induit un caractère filmogène de cette écorce probablement composée de polymère et d'oligomères, abaissant la température de transition vitreuse du matériau final.

A une concentration initiale en monomère de 23 g.L^{-1} , les particules obtenues ont des morphologies cœur-écorces décentrés, où la silice est entièrement recouverte par le polymère, mais où l'écorce polymère croît dans une direction préférentielle, conférant un caractère dissymétrique aux colloïdes obtenus. Le taux de conversion est légèrement amélioré par rapport au cas précédent (50 %).

Pour une concentration initiale en styrène de 46 g.L^{-1} , les colloïdes obtenus sont des particules

dissymétriques similaires à celles obtenues dans l'étude précédente, où le polymère recouvre partiellement la surface de la silice, formant ainsi un angle de contact important. Le taux de conversion est ici de 53 %.

Enfin dans le cas d'une synthèse avec une concentration initiale en styrène de 91 g.L⁻¹, les morphologies des particules hybrides obtenues sont aussi des particules dissymétriques, où l'angle de contact ne semble pas avoir varié. Le taux de conversion est ici de 64 % et le diamètre du nodule est supérieur au cas précédent.

Cette voie de contrôle des morphologies nous a permis d'obtenir des colloïdes coeur-écorce, en diminuant la concentration en monomère, en faisant varier σ_{12}/σ_{23} (cf. flèche bleue en Figure 2.026). Les mêmes structures auraient *a priori* pu être obtenues en augmentant la concentration en styrène du protocole de synthèse, ceci étant en accord avec les travaux de Bourgeat-Lami *et al*^{98,99}.

En conclusion à cette partie, il semblerait que faire varier les tensions de surface entre les différentes phases permette de jouer sur l'affinité entre la silice et le polystyrène (cf. Figure 2.026). Pourtant, aucune morphologie de type multipodes n'a pu être observée en raison d'un phénomène de coagulation intraparticulaire trop important. Nous avons donc choisi de le limiter dans la partie suivante.

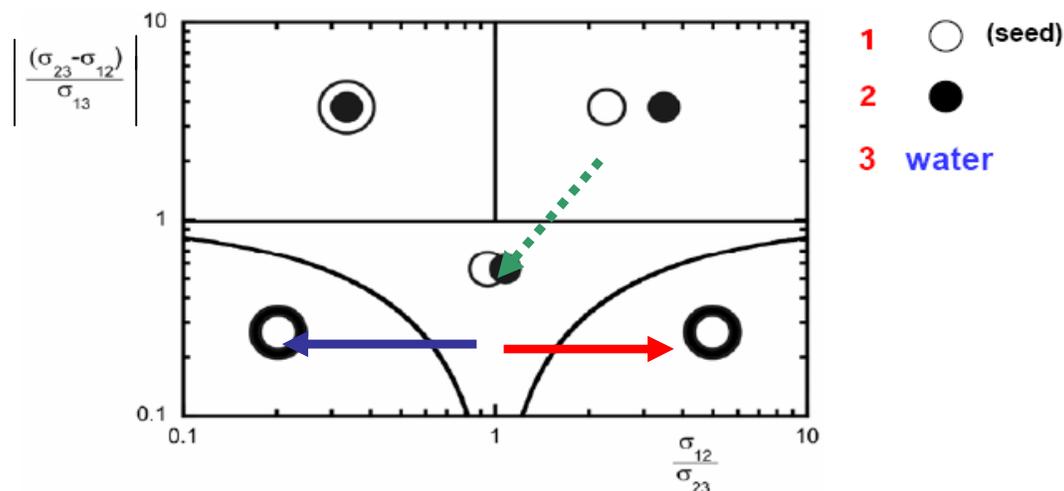


Figure 2.026 : Diagramme prédictif des différentes morphologies thermodynamiquement stables accessibles par polymérisation en émulsion d'un polymère 2 sur des germes de polymère 1, représenté en fonction des différentes tensions interfaciales des phases en présence, variation des morphologies des colloïdes obtenus par polymérisation en dispersion en présence de particules de silice fonctionnalisées par variation du taux de greffage nominal en MMS (flèche verte), diminution de la concentration en monomère (flèche bleue), augmentation de la concentration en monomère (flèche rouge).

4.4. Stratégie pour limiter la coagulation des nodules de polystyrène en surface des particules de silice fonctionnalisées :

La coagulation des particules de polystyrène visible durant une polymérisation en dispersion selon le protocole II.001 peut être due à de multiples facteurs comme un défaut de stabilisant, un fort taux de solide, une température ou une vitesse d'agitation élevée. Il a été clairement montré en début de ce chapitre que l'élaboration de particules de polystyrène par polymérisation en dispersion à une température de 85°C et à une concentration en monomère supérieure à 91 g.L⁻¹ s'effectuait dans des conditions favorisant la coagulation. Cependant, le dernier paragraphe nous montre aussi que travailler dans des conditions de concentration en monomère inférieure ne mènent pas à l'élaboration de colloïdes hybrides pour lesquels le phénomène de coagulation des nodules de polymère en surface des particules de silice est limité.

Une autre voie que nous avons développée est de faire varier l'efficacité de stabilisation du PVP par ajout d'eau dans le milieu dispersant ce qui a pour conséquence de diminuer la longueur de chaîne critique de précipitation des copolymères greffés de polystyrène-PVP formés durant la polymérisation. Une partie du PVP est en effet inefficace à la stabilisation des particules de PS durant le procédé, puisqu'il est originellement complètement soluble dans l'éthanol à cette température, et qu'il faut le greffage d'oligomères de styrène dont le nombre d'unités doit être supérieur à 30 dans l'éthanol pour permettre la précipitation du stabilisant formé *in situ* sur les particules de polymère en formation. Le styrène étant un composé hydrophobe, en changeant le milieu dispersant par un mélange hydroalcoolique, la longueur de chaîne critique de précipitation des oligomères de styrène diminue. La longueur des oligomères greffés au PVP nécessaire à leur précipitation diminue aussi, et la vitesse instantanée de formation *in situ* du stabilisant PVP-PS augmente. En d'autres termes, l'efficacité de stabilisation du PVP augmente avec la quantité d'eau introduite dans le milieu dispersant dans le cas d'une polymérisation en dispersion du styrène.

Afin de vérifier si cette stratégie peut s'appliquer dans le cas de l'élaboration de colloïdes hybrides silice/polystyrène par polymérisation en dispersion, deux synthèses ont été réalisées selon le protocole PII.002 en utilisant pour germes des particules de silice de 550 nm fonctionnalisées du lot n°17 : la première à faible concentration en monomère (X, x, y, z et T respectivement égaux à 170, 500, 2,75, 75 et 70), la seconde avec un milieu dispersant contenant 20 % vol. d'eau et une température plus élevée (X, x, y, z et T respectivement égaux à 170, 500, 5,5, 75 et 85°C (éthanol à reflux)).

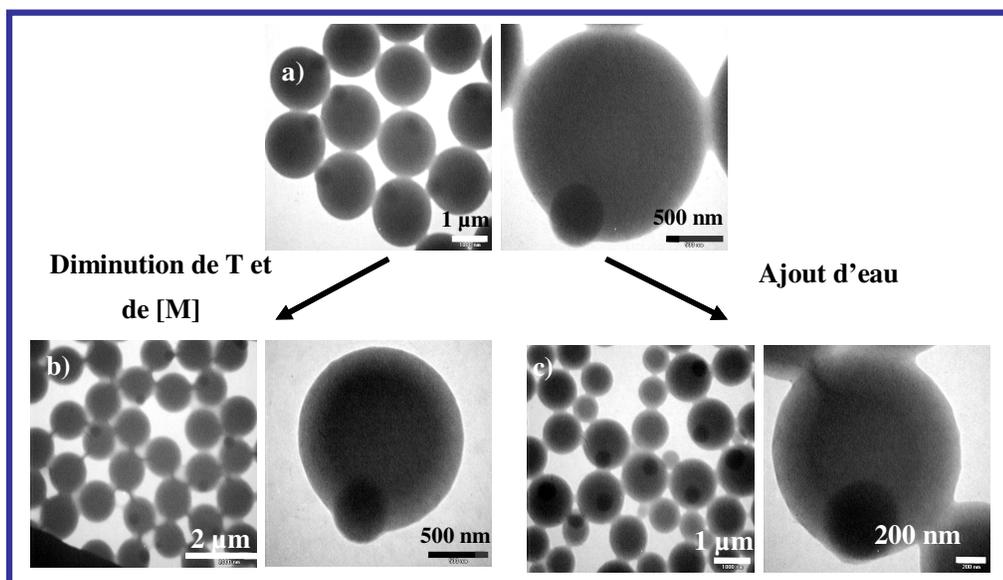


Figure 2.027 : Clichés de MET des colloïdes obtenus dans le cas de polymérisation en dispersion en présence de particules de silice du lot n°11 : a) conditions où $C_{\text{silice}} = 3 \text{ g.L}^{-1}$, $[\text{styrène}] = 91 \text{ g.L}^{-1}$, $[\text{PVP}] = 9 \text{ g.L}^{-1}$, $[\text{AIBN}] = 1,5 \text{ g.L}^{-1}$ et $T = 85^{\circ}\text{C}$; b) conditions où $C_{\text{silice}} = 3 \text{ g.L}^{-1}$, $[\text{styrène}] = 46 \text{ g.L}^{-1}$, $[\text{PVP}] = 9 \text{ g.L}^{-1}$, $[\text{AIBN}] = 1,5 \text{ g.L}^{-1}$ et $T = 70^{\circ}\text{C}$; c) conditions où le milieu dispersant est eau/éthanol (20/80 v/v) et $C_{\text{silice}} = 3 \text{ g.L}^{-1}$, $[\text{styrène}] = 91 \text{ g.L}^{-1}$, $[\text{PVP}] = 9 \text{ g.L}^{-1}$, $[\text{AIBN}] = 1,5 \text{ g.L}^{-1}$ et $T = 85^{\circ}\text{C}$.

Les clichés de MET donnés en Figure 2.027 montrent les morphologies des colloïdes obtenus dans le cas de ces deux synthèses et dans le cas d'une synthèse précédemment décrite (*cf.* Figure 2.025). Les morphologies sont dans les trois cas similaires, où un nodule de polystyrène couvre partiellement la surface d'une particule de silice, en formant à sa surface un angle de contact important. Ces trois exemples illustrent bien l'inefficacité des deux stratégies décrites : la limitation de la coagulation par la diminution de la température et de la concentration en monomère, voie (1), et par addition d'eau dans le milieu dispersant (2) dans des conditions de température et de concentration en monomère élevées.

Afin de limiter la coagulation des nodules de polystyrène en surface des particules de silice, nous avons choisi de combiner les deux voies décrites précédemment en travaillant à une température de 70°C , une concentration en monomère de 46 g.L^{-1} et différents milieux dispersants hydroalcooliques, dont les pourcentages volumiques en eau variaient de 0 à 40 %. Les particules utilisées comme germes sont des particules de silice de 650 nm de diamètre fonctionnalisées au MMS à un taux de greffage nominal de 5 f.nm^{-2} (A.004 lot n°18). Les colloïdes hybrides ont été synthétisés dans les différents milieux dispersants selon le protocole PII.002 (X, x, y, z et T respectivement égaux à 600, 500, 2,75 et 70), avec pour milieu dispersant différents mélanges hydroalcooliques où la

fraction volumique en eau correspond à 0, 10, 20, 40 et 50 %.

Les clichés de MET et de MEB ainsi que les taux de conversion finaux sont donnés en Figure 2.028. Ils montrent clairement que les colloïdes obtenus en milieu alcoolique pur dans ces conditions sont des particules cœur-écorce, où une fine couche de polystyrène recouvre la surface des particules de silice. Ces objets ont tendance à s'agréger en raison du faible taux de conversion.

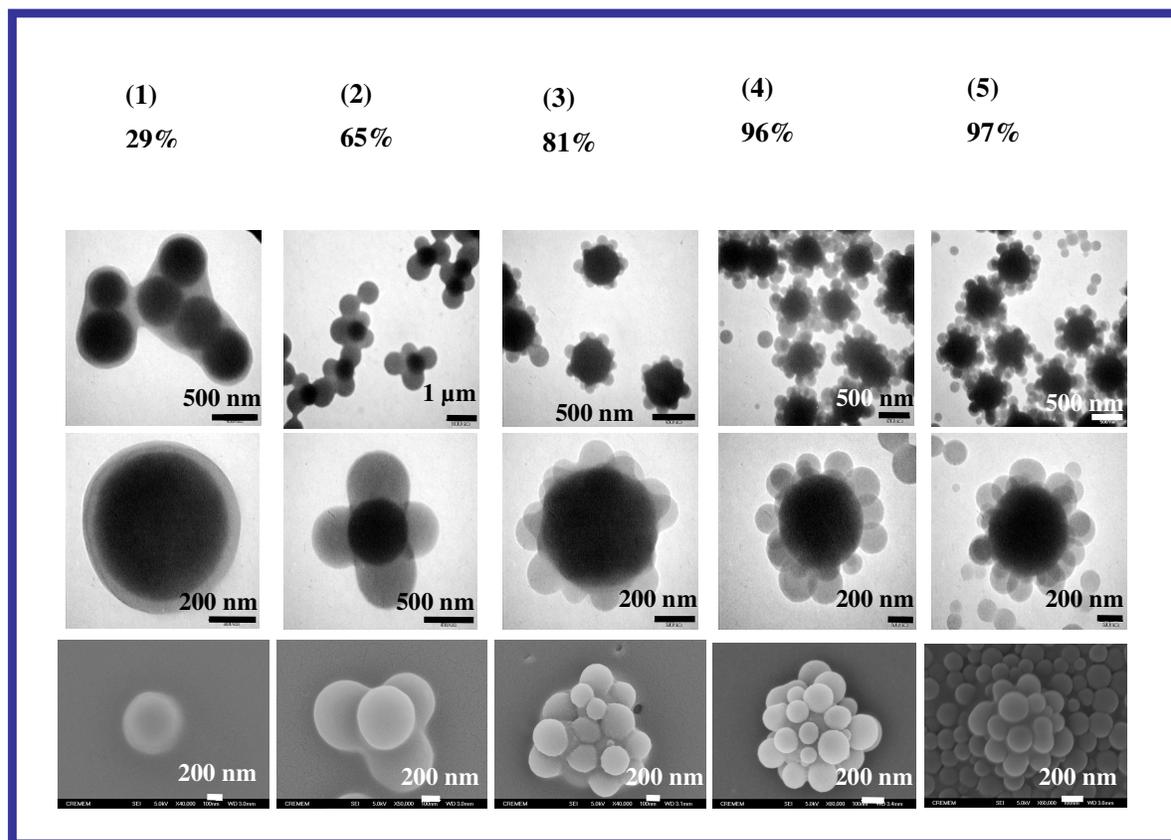


Figure 2.028 : Taux de conversion finaux et clichés de MET et de MEB des colloïdes obtenus dans le cas de polymérisations en dispersion ($C_{\text{silice}} = 11 \text{ g.L}^{-1}$, $[\text{styrène}] = 46 \text{ g.L}^{-1}$, $[\text{PVP}] = 9 \text{ g.L}^{-1}$, $[\text{AIBN}] = 1,5 \text{ g.L}^{-1}$ et $T = 70^\circ\text{C}$) en présence de particules de silice du lot n°12 à différentes fractions volumiques en eau: (1) 0 %, (2) 10 %, (3) 20 %, (4) 40 % et (5) 50 %.

Pour un milieu dispersant composé de 10 % d'eau, les particules de silice fonctionnalisées sont recouvertes de nodules de polystyrène dont le nombre varie de 2 à 4 par cœur minéral. Le taux de conversion est plus important, même si les objets ont une forte tendance à s'agréger. Pour un taux de 20 % en eau du milieu dispersant, à un taux de conversion de 81 %, les particules obtenues correspondent à des « framboises » où un grand nombre de nodules de polystyrène sont présents en surface des cœurs inorganiques. Les angles de contact entre les phases organiques et inorganiques sont dans ce cas importants, et les nodules n'ont pas une forme complètement sphérique. Enfin à partir d'un

taux en eau du milieu dispersant de 40 %, les objets obtenus ont des morphologies de type « framboises » tout à fait similaires à celles obtenues par S. Reculosa,¹⁷ où un grand nombre de nodules sphériques de polystyrène de 200 nm de diamètre recouvre entièrement la surface des particules de silice fonctionnalisées.

Nous avons pu dans cette partie trouver des conditions de synthèse de colloïdes hybrides organiques/inorganiques de morphologie multipodique, en limitant le phénomène de coagulation des particules de PS en surface des particules de silice. Des morphologies de type « framboise » à des taux de conversion proche de 100 % ont ainsi été obtenues. Ces résultats encourageants nous permettent d'envisager l'obtention par polymérisation en dispersion de toutes les morphologies qui peuvent être obtenues par polymérisation en émulsion.

5 Conclusion et perspectives :

Durant cette partie, a été présenté un nouveau procédé de polymérisation permettant d'obtenir des colloïdes hybrides silice/polystyrène de morphologie contrôlée à partir de germes de silice micrométriques.

Il s'est avéré que le procédé de polymérisation en dispersion est caractérisé par un phénomène de coagulation plus ou moins marqué suivant les conditions opératoires (température, concentration en monomère et quantité d'eau). Une étude des paramètres affectant le nombre de particules de PS créés a été menée. Des particules dont le diamètre est compris entre 300 nm et 5 µm homogènes en taille et en forme ont ainsi pu être préparées.

Le contrôle des morphologies des colloïdes hybrides est possible par le contrôle de la quantité de particules de silice introduite durant l'étape de polymérisation. Ainsi, des particules dissymétriques à base de germes minéraux dont les diamètres sont compris entre 250 et 1350 nm ont pu être synthétisées avec succès selon cette stratégie. Un mécanisme de coagulation des nodules de polymère en surface des particules de silice (coalescence intraparticulaire) ou entre les particules hybrides (coalescence interparticulaire) a pu être mis en évidence.

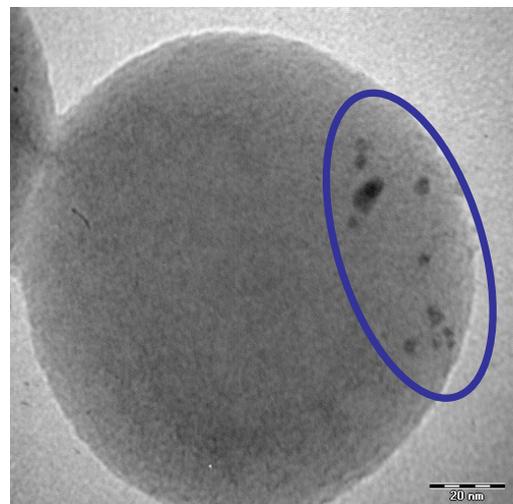
Des colloïdes aux morphologies « framboises » ou coeur-écorce ont été obtenus en jouant sur le phénomène de coagulation et sur l'angle de contact formé entre la silice et le polystyrène, dans des conditions de rendement en morphologie intéressants (jusqu'à 70 %).

Par le contrôle (i) du rapport N_{PS}/N_{silice} , (ii) des phénomènes de coagulation des particules polymères et (iii) des tensions interfaciales des phases en présence, l'obtention de colloïdes hybrides de morphologie multipodiques similaires à ceux obtenus par polymérisation en émulsion est à présent possible, mais cette fois à l'échelle micrométrique.

Etude de la nucléation contrôlée de latex polymère à la surface de nanoparticules d'oxyde pour l'élaboration de colloïdes hybrides structurés.

Chapitre 3 :

Elaboration de particules Janus vouées à la bio-imagerie biphotonique



1. Introduction :

Le travail présenté dans ce chapitre s'inscrit dans le cadre d'une Action Concertée Nanoscience (2004-2007) intitulée : « Nanoparticules fonctionnalisées pour la bio-imagerie multiphotonique de cellules tumorales ». Ce projet implique des laboratoires de recherche du CNRS regroupant des compétences complémentaires : l'UMR 5253, Chimie moléculaire et Organisation du Solide (Université de Montpellier II), l'UMR 6510, Photonique Moléculaire (Université de Rennes 1), l'UMR 5635, Institut Européen des Membranes (Ecole Nationale Supérieure de Chimie de Montpellier, Université de Montpellier II), l'UMR 8612, Physico-Chimie, Pharmacotechnie, Biopharmacie (Université Paris XI) et l'UPR 9048, Institut de Chimie de la Matière Condensée de Bordeaux (Université de Bordeaux 1).

L'objectif consistait à développer de nouveaux marqueurs multiphotoniques, qui doivent combiner affinité pour la cible visée, sélectivité et sensibilité de détection accrue. Les vecteurs fonctionnalisés retenus sont des nanoparticules de silice comportant des chromophores biphotoniques synthétisés au sein des UMR 5253 et 6510 et une biomolécule (l'acide folique), dont le rôle est de cibler certains types de cellules tumorales humaines. Deux types de marqueurs ont été développés en parallèle. Il sera question dans ce chapitre de comparer leurs propriétés spectroscopiques, de ciblage et de cytotoxicité :

- les travaux de Valérie Lebret, au cours de sa thèse au sein de l'UMR 5253, ont permis la synthèse de chromophores biphotoniques hydrosolubles.¹¹² Ceux-ci ont pu être encapsulés dans des nanoparticules de silice mésoporeuse (*cf.* clichés de MET en Figure 3.001), synthétisées par émulsion directe. Les particules ont été fonctionnalisées par l'acide folique et le PEG pour les rendre furtives vis-à-vis du système de défense immunitaire.

- les travaux présentés au cours de ce chapitre, réalisés dans l'UPR 9048, ont concerné la synthèse de nanoparticules Janus sur la base de sphères de silice. Ces colloïdes devaient comporter un hémisphère fonctionnalisé par un chromophore biphotonique, et l'autre fonctionnalisé par l'acide folique (*cf.* Figure 3.002). L'idée était de comparer l'efficacité d'un vecteur bifonctionnel dont les deux fonctions sont indifféremment réparties sur l'ensemble de la surface avec celui où elles sont séparées sur les deux hémisphères.

¹¹² V. Lebret, Thèse de l'Université de Montpellier II, (2007).

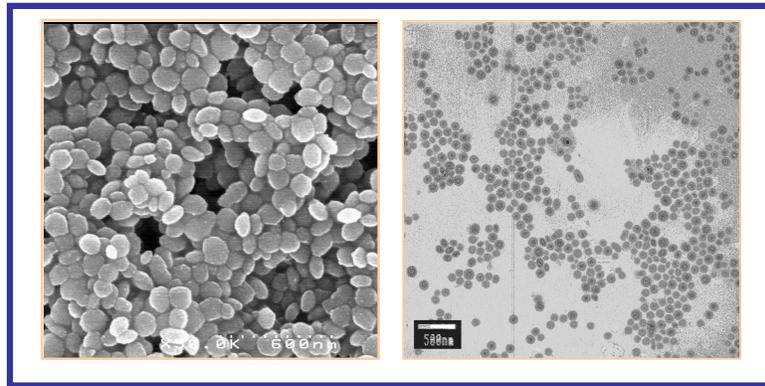


Figure 3.001 : Images de MEB (à gauche) et de MET (à droite) de particules de silice mésoporeuses encapsulant un chromophore biphotonique.¹¹²

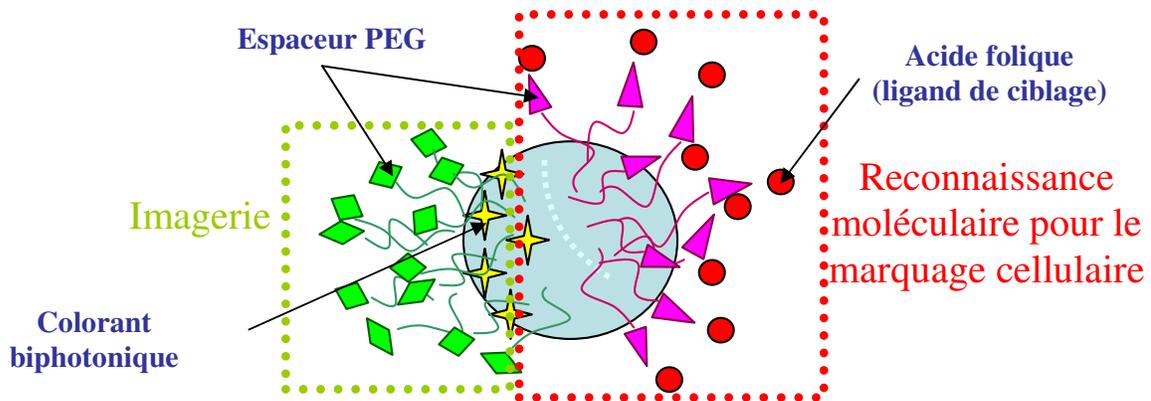


Figure 3.002 : Représentation des particules Janus attendues.

La première partie de ce chapitre vise à donner une brève description du concept de particules Janus, décrire les principales voies de synthèse et illustrer les différentes applications possibles attendues. Ensuite, nous présenterons les principes de la vectorisation médicale, d'une part, et de l'imagerie biphotonique, d'autre part. Nous décrirons alors nos expériences depuis la synthèse, jusqu'à l'étude des propriétés spectroscopiques et de cytotoxicité.

2. Les particules Janus :

Cette terminologie fut pour la première fois employée par Pierre Gilles de Gennes lors de son discours donné à la réception du prix Nobel de Physique, en 1991 devant la Royal Swedish Academy of Science.¹¹³ Elle fait référence au Dieu romain Janus, gardien immobile des portes de l'Olympe, traditionnellement représenté par un homme possédant deux visages (Figure 3.003). L'un d'eux est

¹¹³ P.G. De Gennes, *Conférence donnée à l'occasion du Prix Nobel de Physique*, <http://nobelprize.org/> (1991).

tourné vers le passé et l'autre vers l'avenir.^{114,115} De Gennes décrivait alors les travaux de ces collaborateurs Cassagrande et Veyssié à propos de microparticules, dont l'un des hémisphères était hydrophile et l'autre hydrophobe, et qui possédaient des propriétés d'organisation aux interfaces eau/air rappelant celles des tensioactifs moléculaires.^{116,117}

Depuis lors, l'expression « particules Janus » a été généralisée : ce sont des particules sphériques présentant des hémisphères de fonctionnalités chimiques différentes, qui peuvent être antagonistes¹¹⁸⁻¹¹⁹ (hydrophile/hydrophobe, cationique/anionique, noire/blanche, *etc.*). Par extension de ce concept, des particules biphasiques de formes variées peuvent être considérées comme des entités Janus (*cf.* Figure 3.003). Ainsi, certaines des particules biphasiques silice/polystyrène synthétisées dans les chapitres I et II sont donc assimilables à des particules Janus.

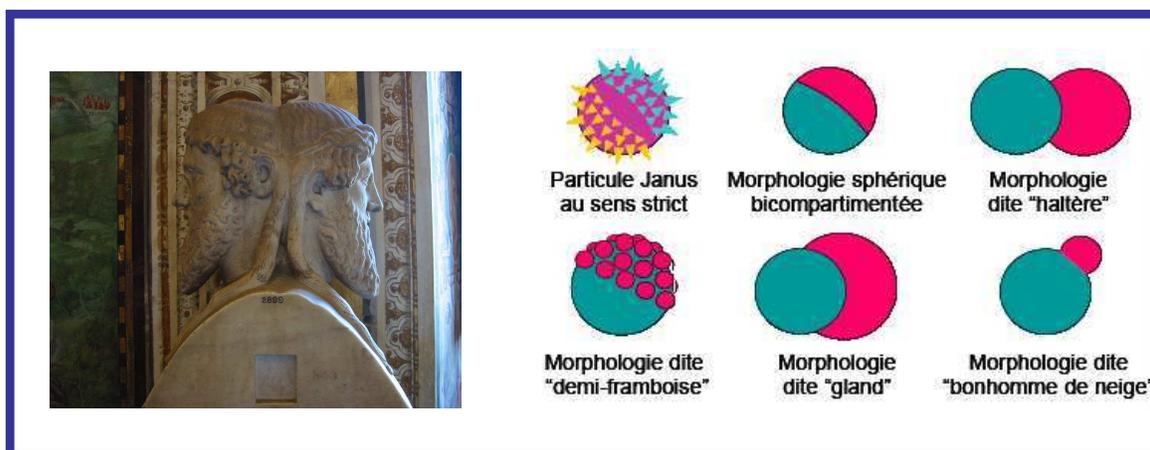


Figure 3.003 : Statue représentant le dieu Janus à deux visages exposée au Musée du Vatican¹¹⁴ (à gauche) et schémas représentant des particules Janus et assimilées (à droite): les triangles sont des fonctions chimiques et les sphères sont des particules.

2.1.Des colloïdes aux propriétés particulières:

2.1.1. Stabilisation de milieux non miscibles :

La stabilisation d'émulsions directes ou inverses par des particules colloïdales jouant le rôle de stabilisants, plus connues sous le nom d'émulsions de Pickering,¹²⁰ est un concept étudié depuis près

¹¹⁴ Site officiel des Musei Vaticani, <http://mv.vatican.va/>

¹¹⁵ P. Grimal, *Dictionnaire de la mythologie grecque et romaine*, 15e éd., 2d tirage, Paris, P.U.F. (2005).

¹¹⁶ C. Cassagrande, M. Veyssié, *C. R. Acad.Sci. Paris*, 306, 1423-1425 (1988).

¹¹⁷ C. Cassagrande, P. Fabre, E. Raphaël, M. Veyssié, *Eurphys. Lett.*, 9, 251- 255 (1989).

¹¹⁸ P.G. De Gennes, *Croat.Chim.Acta*, 71, 833-836 (1998).

¹¹⁹ P.G. De Gennes, *Rev.Mod.Phys.*, 64, 645-648 (1992).

¹²⁰ S. Pickering, *J. Chem. Soc.*, 91, 307 (1907).

d'un siècle. Des travaux théoriques récents de Binks *et al.*¹²¹ ont montré que l'utilisation de particules Janus amphiphiles présentant un hémisphère hydrophile et l'autre hydrophobe pouvait permettre d'augmenter d'un facteur 3 l'énergie de désorption des particules de la surface des gouttelettes, par rapport à des particules homogènes.

Hormis les travaux pionniers au collège de France^{111,117,122,123} sur des billes de verres amphiphiles pouvant stabiliser des gouttelettes d'huile dans l'eau, décrits par Pierre Gilles de Gennes, peu d'exemples de particules synthétisées peuvent illustrer ces théories. L'un d'eux concerne des nanoparticules dissymétriques Au-Fe₃O₄,¹²⁴ obtenues par croissance épitaxiale de l'oxyde de fer en surface de nanocolloïdes d'or. La partie métallique a ensuite été rendue hydrophobe par fonctionnalisation au dodécane-thiol. L'étude de l'activité interfaciale des particules Janus amphiphiles dispersées dans l'hexane par la méthode de la goutte pendante a montré un abaissement significatif de la tension de surface du solvant, témoignant ainsi de leur comportement de tensioactifs particulaires.

Un autre exemple concerne des microparticules biphasiques polymères polystyrène/poly(méthacrylate de méthyle) ou polystyrène/poly(méthacrylate de butyle) réticulées récemment obtenues par Weitz.¹²⁵ Les particules dissymétriques, résultant d'une séparation de phases des deux polymères lors de la synthèse, ont été observées par microscopie électronique à balayage (*cf.* Figure 3.004 a).

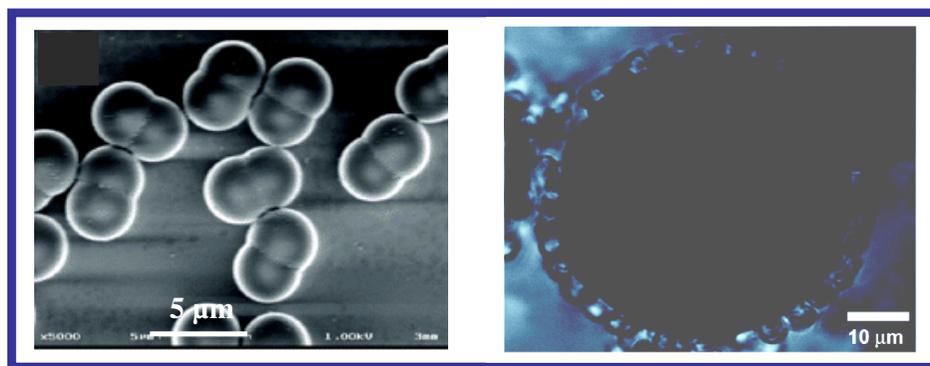


Figure 3.004 : a) Cliché de MEB de particules Janus PS/PMMA amphiphiles ; b) Image de microscopie à fond clair de particules PS/PMMA amphiphiles assemblées en superstructures.

Ces colloïdes tendent à stabiliser des gouttelettes d'octanol dans l'eau, en s'adsorbant à l'interface eau/huile, comme le montre la Figure 3.004 b. Le caractère amphiphile des particules provient d'une étape de copolymérisation sélective de l'une des deux parties polymère, à 5 % avec le

¹²¹ B.P. Binks, P.D.I. Fletcher, *Langmuir*, 17(16), 4708-4710 (2001).

¹²² T. Ondarçuhu, P. Fabre, E. Raphaël, M. Veyssié, *J. Phys. France*, 51, 1527- 1536 (1990).

¹²³ E. Raphaël, *C. R. Acad.Sci. Paris*, 307 (II), 9-12 (1988).

¹²⁴ H.Yu, M. Chen, P. M. Rice, S. X. Wang, R. L. White, and S. Sun, *Langmuir*, 8(12), 379-382 (2005)

¹²⁵ J.-W. Kim, R.J. Larsen, D.A. Weitz, *J. Am. Chem. Soc.*, 128,14374-14377 (2006).

méthacrylate de glycidyle (GMA) et de sa post-fonctionnalisation avec le polyéthylèneimine (hydrophile) qui réagit sélectivement avec la fonction époxy du GMA des particules Janus obtenues.

Les différents exemples présentés au cours de cette partie illustrent le fort potentiel qu'ont les particules Janus amphiphiles dans la stabilisation d'émulsion. Des perspectives nouvelles quant à leur utilisation dans les revêtements en tant que pigments ou pour le stockage de principes actifs sont ainsi envisageables.

2.1.2. Les applications dans l'affichage

Les particules Janus comportant un hémisphère chargé négativement et l'autre positivement présentent un moment dipolaire géant. Ils peuvent de ce fait s'orienter via l'application d'un champ électrique. Ces particules peuvent par ce changement d'orientation changer la couleur d'un support ou modifier l'intensité de la lumière transmise par un vitrage. C'est cette particularité que souhaiteraient exploiter les industriels dans le cadre de l'encre et du papier électronique¹²⁶, ainsi que les nombreux avantages « écologiques » qui en découlent : papier peint personnalisable, panneaux publicitaires, étiquettes ou livres électroniques.

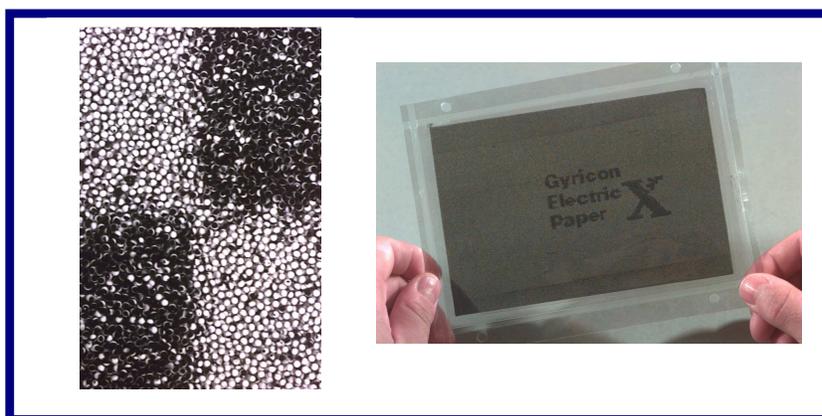


Figure 3.005 : Cliché de microscopie optique des particules bicolores obtenues et photographie du dispositif de papier électronique Gyricon® de Xerox^{127,128}.

La société Xerox¹²⁸⁻¹²⁸ a par exemple mis au point l'affichage Gyricon® (cf. Figure 3.005) à base de particules polymères Janus chargées, bicolores (noir et blanc), de cent micromètres de diamètre. Elles sont produites par expulsion de deux phases polymères de part et d'autre d'un disque en rotation. La solidification rapide des objets permet leur incorporation dans un film de silicone, qui

¹²⁶ Site de la cellule de veille technologique de l'École Française de Papeterie et des Industries Graphiques (EFPG), <http://cerig.efpg.inpg.fr/icg/dossiers/encre%2Delectronique>

¹²⁷ C. Hosokawa, M. Matsuura, M. Eida, K. Fukuoka, H. Tokailin, T. Kusumoto: SID 1998 (ISSN 0098-0966X/98/2901)

¹²⁸ Site officiel du Palo Alto Research Center, <http://www2.parc.com/hsl/projects/gyricon>

permet leur rotation et leur orientation sous champ électrique. La principale limitation de ce procédé d'encre réversible est l'impossibilité pour le moment d'afficher en couleur, et la faible résolution des écrans. Ce dernier point pourrait être amélioré en diminuant la taille des objets dissymétriques.

2.1.3. L'auto-assemblage de particules

Les particules Janus, du fait de leur morphologie et de leur état de surface peuvent présenter des propriétés d'assemblage originales. Deux cas intéressants de travaux concernant l'auto-organisation en solution de particules Janus zwitterioniques et amphiphiles ont été publiés.

Le premier exemple tiré de la littérature concerne des particules Janus avec des hémisphères de poly(divinylbenzène) et de PNIPAM obtenues par polymérisation en milieu aqueux, en présence de nanotubes de carbone. Ces charges minérales, rendues hydrophiles après fonctionnalisation, sont utilisées comme plateforme à la polymérisation et à la dissymétrisation.¹²⁹

Les colloïdes obtenus à l'issue de cette synthèse, après leur séparation des nanotubes de carbone ont tendance à former des « supermicelles » en solution (*cf.* Figure 3.006) qui peuvent se désorganiser par apport d'énergie sous la forme d'ultrasons.

Hong et coll. ont par ailleurs étudié l'assemblage de microparticules fluorescentes Janus présentant un hémisphère chargé positivement et l'autre négativement de l'autre par microscopie d'épifluorescence. Ils ont de plus simulé leur comportement par la méthode Monte-Carlo.¹³⁰

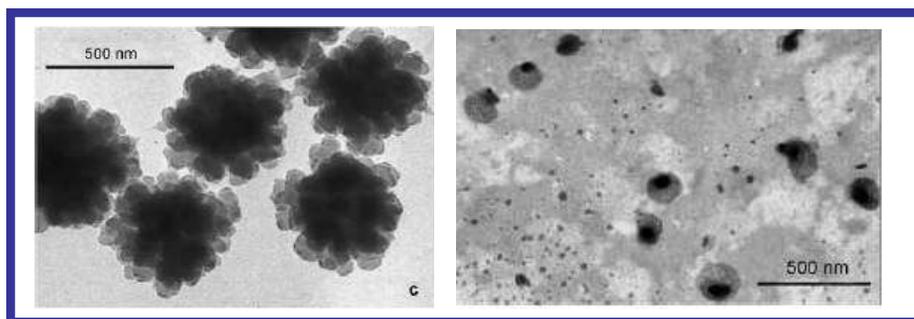


Figure 3.006 : a) Cliché de MET de supermicelles dispersées dans l'eau ; b) Cliché de MET de particules Janus isolées poly(divinylbenzène)/PNIPAM.

Ces particules sont obtenues par dépôt par aérosol d'une monocouche de particules de polystyrène fluorescentes, fonctionnalisées en surface par des carboxylates (chargés négativement).

¹²⁹ L. Nie, W. Shen, D. Chen, M. Jiang, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 46, 6321-6324 (2007).

¹³⁰ L. Hong, A. Cacciuto, E. Luijten, S. Granick, *Nano Letters*, 6(11),2510-2514 (2006).

Sur cette couche a été déposée une coque d'or de 15 nm d'épaisseur fonctionnalisée par le chlorure de N,N,N-triméthyl(11-mercaptoundécyl) ammonium (pour les charges positives).

Ces colloïdes zwitterioniques forment des assemblages (*cf.* Figure 3.007) qui sont différents de ceux obtenus avec des particules homogènes, chargées ou non¹³¹. Ils sont gouvernés respectivement par des interactions électrostatiques de type Van der Waals et par la minimisation du second moment du centre des masses M_2 . Des études sont actuellement en cours pour prédire l'assemblage de particules plus complexes et présentant des symétries de degré inférieur¹³².

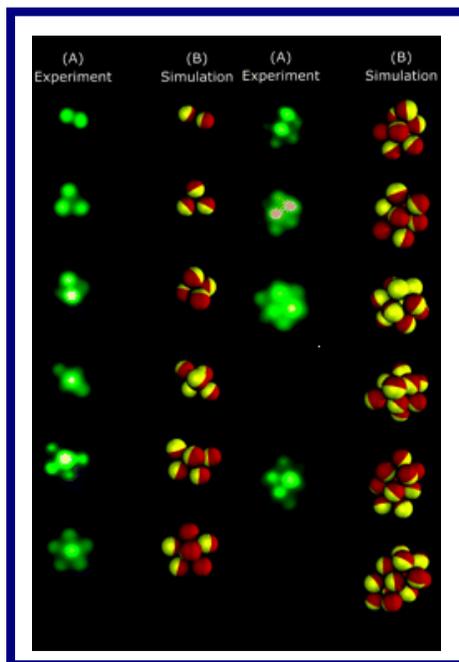


Figure 3.007 : Comparaison entre les clusters obtenus à partir de colloïdes zwitterioniques : A) expérimentalement observés par microscopie d'épifluorescence ; B) obtenus par simulations Monte-Carlo.

2.1.4. Les particules Janus dans le biomédical :

Les particules Janus auraient un fort potentiel dans des domaines où la présence de deux fonctionnalités serait requise, mais qui nécessiteraient d'être séparées l'une de l'autre. De telles particules pourraient avoir des applications en catalyse hétérogène, en tant que capteurs ou pour la délivrance de médicaments. Une possibilité est de combiner un hémisphère dédié à l'aspect diagnostique, par exemple à l'imagerie médicale, et l'autre au ciblage rapide de tissus ou cellules infectées, dans le cadre de la « theranostique »¹³³.

¹³¹ V. N. Manoharan, M.T. Elseser, D.J. Pine, *Science*, 301, 483 (2003).

¹³² Z. Zhang, S.C. Glotzer, *Nano Letters*, 4(8), 1407-1413 (2004).

¹³³ F.J. Picard, M.G. Bergeron, *Drug Discovery Today*, 7(21), 1092-1101(2002)

Lahann et coll.^{134,135,136} ont développé la synthèse de particules bi- ou triphasiques à base de différents polymères, chacun couplé à des colorants bien connus (cf. Figure 3.008) : la rhodamine (rouge), la fluorescéine thio-isocyanate (FTIC, vert) ou le bleu Cascade (bleu). Les gouttelettes sont formées par jet électrodynamique et ont un diamètre compris entre 200 nm et quelques μm . Il est alors possible d'opérer un traitement thermique de ces dernières, afin de réticuler les objets¹³⁷ ou une étape de post-fonctionnalisation¹³⁶, pour l'immobilisation de biomolécules.

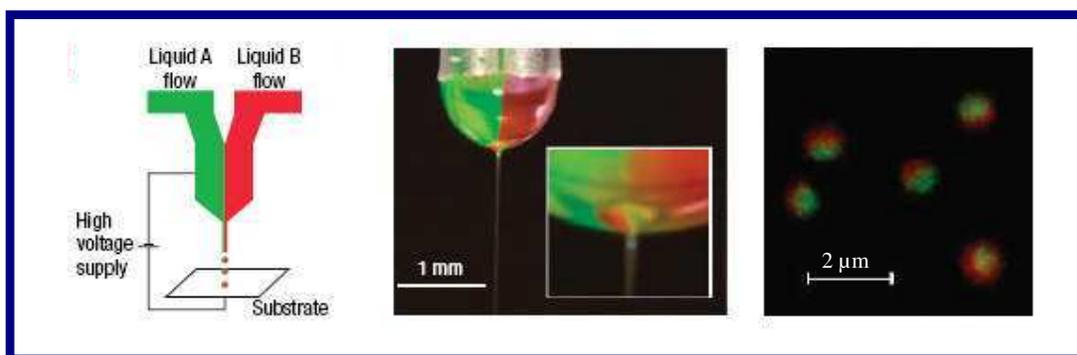


Figure 3.008 : a) Schématisation du procédé de jet électrodynamique sous champ électrique ; b) Photographie des phases polymères en sortie du cône ; c) Cliché de microscopie confocale de particules Janus poly(acide acrylique-co-acrylamide), Fluorescéine/Rhodamine.

Ces objets pourraient présenter un intérêt dans le domaine biomédical, chaque compartiment pouvant renfermer un principe actif, un colorant. Des tests de cytotoxicité ont montré que la prolifération ou la viabilité de cellules de type HUVEC ou NIH 3T3 ne sont pas altérées par la présence de ces particules, attestant de la biocompatibilité de ces colloïdes.

Une coculture de ces cellules marquées à la rhodamine a été mise en présence de particules Janus poly(acide acrylique-co-acrylamide) fonctionnalisées à la FITC et au bleu Cascade pendant 24 h. Les clichés de microscopie confocale montrent que les particules sont, soit adsorbées en surface, soit internalisées au cœur des cellules (cf. Figure 3.009). Il semble qu'aucun de ces deux mécanismes ne soit privilégié. De plus, les particules ne ciblent pas spécifiquement l'un ou l'autre des type de cellules. Des travaux de fonctionnalisation sont en cours, afin d'améliorer le ciblage de cellules cancéreuses et la furtivité de ces particules.

¹³⁴K.-H. Roh, D.C. Martin, J. Lahann, *Nature Mater.*, 4, 759-763 (2005)

¹³⁵ K.H. Roh, D.C. Martin, J. Lahann, *J. Am. Chem. Soc.*, 128, 6796-6797 (2006)

¹³⁶ H. Roh, D.C. Martin, J. Lahann, *Langmuir*, 23 (10), 5683 -5688 (2007)

¹³⁷ M.Yoshida, K.-H. Roh, J. Lahann, *Biomaterials*, 28,2446-2456 (2007)

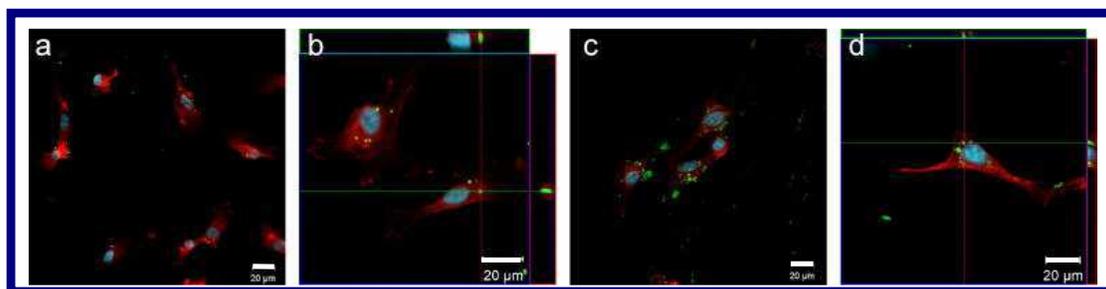


Figure 3.009 : Clichés de microscopie confocale d'une coculture de cellules de type HUVEC et NIH 3T3 marquées à la rhodamine, mise en présence de particules Janus poly(acide acrylique-co-acrylamide), fluorescéine / bleu Cascade (barre d'échelle : 20 µm).

A la date d'aujourd'hui, peu d'applications de particules Janus ont vu le jour, en raison de difficultés liés à leurs synthèses et au rendement de celles-ci.

2.2. Les différentes voies de synthèse :

Tout lecteur intéressé pourra se référer aux revues concernant les particules dissymétriques¹³⁸ et Janus¹³⁹.

Peu d'exemples d'élaboration de particules Janus en une étape existent : les exemples précédemment cités du procédé Gyricon¹²⁸, de jet électrodynamique sous champ électrique¹³⁴⁻¹³⁵, et plus récemment de procédé microfluidique de préparation de particules biphasiques.^{140,141,142} Les principales limitations de ces méthodes sont les faibles quantités de particules produites et la difficulté d'atteindre des objets submicroniques, c'est pourquoi la grande majorité des autres méthodes employées repose sur des procédés physico-chimiques de modification de surface de particules initialement isotropes. Trois stratégies se démarquent : la formation de particules Janus par séparation de phases, par modification toposélective d'un hémisphère, ou par nucléation de surface contrôlée.

2.2.1. Synthèse par séparation de phases :

Des exemples de synthèse de particules submicroniques dissymétriques biphasiques composées de deux polymères (poly(acrylate de n-butyle) / poly(méthacrylate de méthyle)¹⁴³ ou polystyrène / poly(méthacrylate de méthyle)¹⁴⁴) sont bien connus. Ils reposent sur une séparation de

¹³⁸ S. Reculusa, C. Mingotaud, E. Duguet, S. Ravaine, *Dekker Encyclopedia of Nanoscience and Nanotechnology*, 943-953 (2004).

¹³⁹ A. Perro, S. Reculusa, S. Ravaine, E. Bourgeat-Lami, E. Duguet, *J. Mat. Chem.*, 15, 3745-3760 (2005).

¹⁴⁰ T. Nisisako, T. Torii, T. Takahashi, Y. Takizawa, *Adv. Mater.*, 18, 1152-1156 (2006).

¹⁴¹ Z. Nie, W. Li, M. Seo, S. Xu, E. Kumacheva, *J. Am. Chem. Soc.*, 128, 9408-9412(2006).

¹⁴² R.F. Shepherd, J.C. Conrad, S.K. Rhodes, D.R. Link, M. Marquez, D.A. Weitz, J.A. Lewis, *Langmuir*, 22, 8618-8622 (2006).

¹⁴³ I. Cho, K.W. Lee, *J. Appl. Polym. Sci.*, 30, 1903-1926 (1985).

¹⁴⁴ A. Pfau, R. Sander, S. Kirsch, *Langmuir*, 18, 2880-2887 (2002).

deux phases polymères. Des particules de latex réticulées sont utilisées comme germes dans une polymérisation en émulsion d'un monomère différent. En raison de leur incompatibilité, le deuxième polymère forme un ou nodule en surface des germes.

La formation de nanoparticules SiO_2/AgI par démixtion de phases a été observée dans le cas de la dispersion de particules cœur-écorces Ag/SiO_2 en milieu oxydant ¹⁴⁵ (solution de I_2). En raison de la porosité de l'écorce de silice, le cœur d'argent est peu à peu dissous, tandis qu'un nodule d'iodure d'argent se forme en surface de la silice (cf. Figure 3.010).

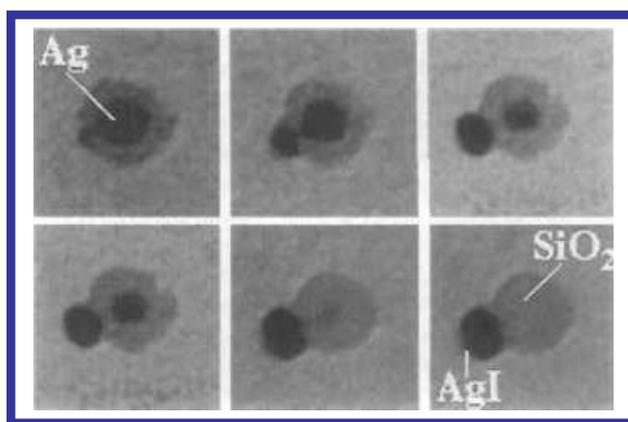


Figure 3.010 : Clichés de MET montrant l'évolution au cours du temps d'une particule cœur-écorce Ag/SiO_2 (taille du cœur 9 nm, taille de l'écorce 10 nm) exposée à une solution de diiode à 2 mM. Le temps séparant la première image de la dernière est de 20 minutes.

2.2.2. La modification toposélective d'un hémisphère :

La Figure 3.011 regroupe les différentes stratégies mises en œuvre pour obtenir des particules Janus à partir d'objets isotropes. Les particules sont immobilisées à une interface, soit à l'aide d'un masque (vernis, silicone), soit sur un support plan ou encore à la surface d'un liquide réactif. L'un de leurs hémisphères est ensuite modifié sélectivement par voie chimique ou physico-chimique.¹³⁸⁻¹⁴¹

L'une des voies que nous avons choisie d'explorer pour la synthèse de particules Janus utilisées comme outils à l'imagerie médicale est celle de la dissymétrisation par émulsion de Pickering.¹²⁰ Le principal intérêt de ce procédé par rapport aux autres est de produire une quantité d'objets plus importante. En effet la surface développée servant à la dissymétrisation peut être très élevée.

¹⁴⁵ M. Giersing, T. Ung, L.M. Liz-Marzan, P. Mulvaney, *Adv. Mater.*, 9, 570- 575 (1997).

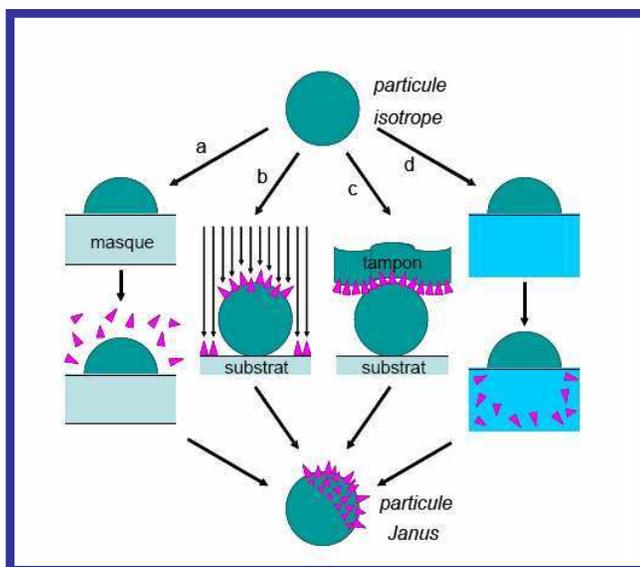


Figure 3.011 : Représentation schématique des différentes voies de modification toposelective de particules isotropes : a) utilisation d'un masque temporaire, b) utilisation d'un flux orienté, c) technique d'impression par microcontact, d) immersion partielle dans un milieu réactif.

Le principe est de générer par apport d'énergie sous la forme de cisaillement, des gouttelettes de paraffine (hydrophobe) à une température supérieure à sa température de fusion et à les stabiliser *via* l'ancrage de particules de silice vierges (hydrophiles) à leur surface. S'ensuit un phénomène de coalescence limitée, durant lequel les petites gouttes vont disparaître au profit des grandes par mûrissement d'Ostwald. Le refroidissement de la dispersion induit la cristallisation des gouttelettes, à la surface desquelles les particules de silice sont organisées en une monocouche dense.^{146,147,148} L'émulsion obtenue est alors stable pour quelques jours et peut être manipulée pour une fonctionnalisation de l'hémisphère des particules de silice accessible (*cf.* Figure 3.012). Les particules dissymétrisées sont récupérées après destruction de l'émulsion par ajout de dichlorométhane. Ce procédé a été mis au point aux cours des thèses d'A. Perro¹⁶ et de S. Reculosa¹⁷, en collaboration avec l'équipe de Véronique Schmitt du Centre de Recherche Paul Pascal.¹⁴⁹

¹⁴⁶ R.M. Wiley, *J. Colloid Sci.*, 9, 427-437 (1954).

¹⁴⁷ S. Arditty, C.P. Whitby, B.P. Binks, V. Schmitt, F. Leal-Calderon, *Eur. Phys. J. E.*, 11, 273-281 (2003).

¹⁴⁸ S. Arditty, V. Schmitt, J. Giermanska Kahn, F. Leal-Calderon, *J. Colloid Interface Sci.*, 275, 659-664 (2004).

¹⁴⁹ V. Schmitt, J. Giermanska Kahn, S. Reculosa, S. Ravaine, F. Leal-Calderon, *Brevet Français*, No. FR 0 400 761 (2004).

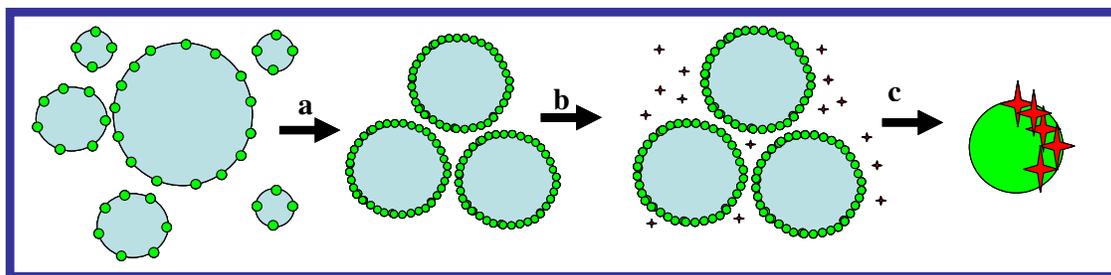


Figure 3.012: Représentation schématique des différentes étapes de dissymétrisation de particules de silice (vert) *via* la stabilisation de gouttelettes de paraffine cristallisée (bleue) : a) phénomène de coalescence limitée, b) ajout d'un agent fonctionnalisant (rouge) c) destruction de l'émulsion par dissolution de la paraffine dans le dichlorométhane.

2.2.3. La nucléation de surface contrôlée:

Plusieurs exemples de croissance de nodules d'un matériau en surface d'une particule de nature chimique différente existent dans la littérature. Citons les exemples de particules Janus à base de Au-Fe₃O₄¹²⁴ ou à base de Co₈S₉ en surface de germes de PdS_x¹⁵⁰.

La méthode que nous avons développée pour obtenir des particules Janus repose sur la nucléation contrôlée d'un nodule de polystyrène ancré en surface d'une particule de silice telle que nous l'avons mise en œuvre au cours des deux premiers chapitres. La Figure 3.013 présente le schéma de principe de la synthèse de particules de silice Janus. Elle comporte cinq étapes et rappelle les réactions de protection et de déprotection en chimie moléculaire. Cette synthèse repose sur la polymérisation en émulsion du styrène en présence de particules de silice sur lesquelles ont été adsorbées des molécules de macromonomère à un taux de fonctionnalisation faible (entre 0,1 et 1 fonction.nm⁻²), dans des conditions de ratio N_{ps}/N_{silice} de 1, afin d'obtenir des colloïdes hybrides polystyrène/silice dissymétriques.

- la polymérisation est menée jusqu'à ce que la surface de contact entre le polymère et le cœur minéral corresponde à la surface de protection souhaitée (étapes a) et b)).
- un premier agent fonctionnalisant est greffé sur la surface non protégée de la particule de silice (étape c)).
- les phases polymère et inorganique sont séparées par des cycles d'ultrasons ou de centrifugation (étape d)).
- un deuxième agent fonctionnalisant est greffé sur la surface des particules de silice préalablement recouverte par le nodule de polystyrène (étape e)).

¹⁵⁰ T. Teranishi, Y. Inoue, M. Nakaya, Y. Oumi, T. Sano, *J. Am. Chem. Soc.*, 126, 9914-9915 (2004).

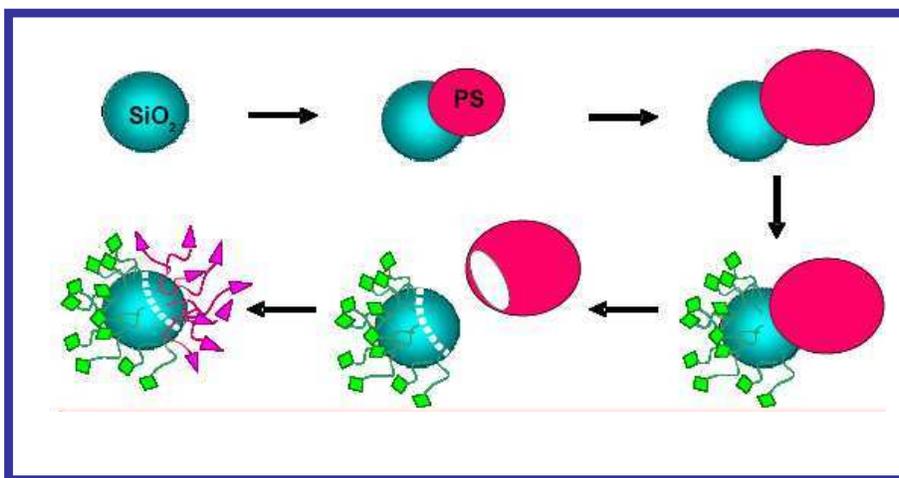


Figure 3.013 : Schéma montrant la stratégie de synthèse de particules de silice Janus possédant deux types de fonctions de surface : rose et verte.

Les travaux pionniers de S. Reculosa, repris par A. Perro, ont permis de mettre au point des protocoles reproductibles de séparation des nodules de polymère des cœurs minéraux, à condition que le taux de fonctionnalisation de la surface des particules de silice en macromonomère reste faible, afin de pouvoir détruire les structures hybrides formées, mais aussi de laisser des sites de fonctionnalisation accessibles pour le second agent fonctionnalisant.

3. La vectorisation :

L'engouement actuel pour les nanotechnologies dans le domaine de la santé est dû à leur grand potentiel dans des domaines variés : la délivrance contrôlée de médicaments ou de gènes, l'imagerie médicale, le diagnostic ou encore des applications en cardiologie, orthopédie ou odontologie.¹⁵¹ Le concept émergent de vectorisation de médicaments consiste au ciblage de cellules, tissus ou organes malades par des molécules thérapeutiques spécifiques transportées et protégées du système immunitaire par des vecteurs qui peuvent être de plusieurs types :

- les liposomes, systèmes vésiculaires constitués d'une ou plusieurs bicouches de phospholipides organisées en lamelles pouvant encapsuler des principes actifs hydrophiles ou hydrophobes.
- les nanoparticules, dont la plupart sont des polymères biodégradables, de type réservoir (nanocapsules) ou matriciel (nanosphères).^{152,153}

Un classement en trois générations de ces vecteurs de médicaments est établi en fonction de leur temps de demi-vie plasmatique et de leur reconnaissance cellulaire (cf. Figure 3.014). Ce

¹⁵¹ S.K. Sahoo, S. Parveen, J.J. Panda, *Nanomed. Nanotech. Biol. Med.*, 3, 20-31 (2007).

¹⁵² I. Brigger, C. Dubernet, P. Couvreur, *Adv. Drug Delivery Rev.*, 54, 631-651 (2002).

¹⁵³ P. Couvreur, C. Dubernet, F. Puisieux, *Eur.J. Pharm.Biopharm.*, 41 (1), 2-13 (1995).

classement établi à l'origine pour les vecteurs est extensible aux particules utilisées comme outils diagnostiques, car elles doivent répondre aux mêmes impératifs de circulation dans le milieu sanguin et de ciblage de cellules-cibles.¹⁵⁴

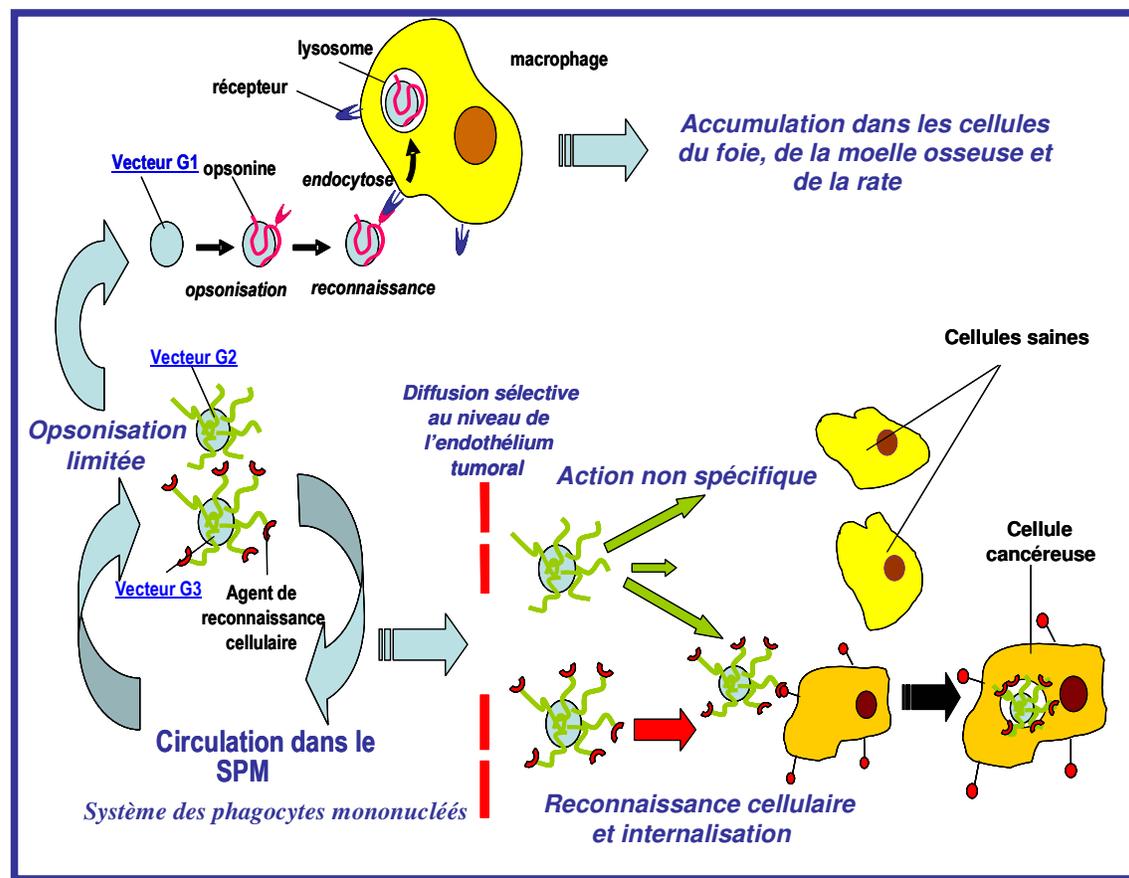


Figure 3.014 : Schéma montrant les trois générations de vecteurs : a) particules non fonctionnalisées de génération 1, internalisées par les macrophages b) vecteurs rendus furtifs par un polymère hydrophile flexible permettant leur diffusion à travers l'endothélium tumoral et c) vecteurs de génération 3, furtifs et munis d'agents de reconnaissance moléculaire.

3.1. Les vecteurs de première génération :

Le système réticulo-endothélial, ou système des phagocytes mononucléés (SPM), est responsable de l'extravasation de tout corps étranger du système sanguin par des macrophages (ou phagocytes). Ceux-ci sont situés dans de nombreux tissus, principalement dans le foie, composé à 33% de cellules de Kupffer et la rate.¹⁵⁵ Les phagocytes peuvent directement se fixer à la surface des corps étrangers par interaction attractive de type hydrophobe, électrostatique ou de Van der Waals.

¹⁵⁴ P. Couvreur, *Ann. Pharm. Fr.*, 59, 232-238 (2001).

¹⁵⁵ S. Mornet, Synthèse et modification chimique de la surface de nanoparticules de maghémite à des fins d'applications médicales, *Thèse de l'université de Bordeaux* (2002).

Cependant des protéines spécifiques, les opsonines, sont adsorbées en surface des corps étrangers non directement reconnus par les phagocytes. Les interactions spécifiques entre ces protéines et les macrophages permettent la phagocytose (internalisation dans le macrophage) du corps étranger, sa dégradation et la libération des produits résultants par les enzymes lysosomiales.¹⁵³

Les vecteurs de première génération, lorsqu'ils sont administrés par voie intraveineuse, sont aussitôt reconnus par le système immunitaire comme corps étrangers. Le mécanisme d'opsonisation est alors très rapide. Le rayon d'action de ces vecteurs se limite donc aux organes cités précédemment en raison de leur demi-vie plasmatique faible. Le traitement de métastases hépatiques par des agents cancéreux toxiques tels que la doxorubicine ou l'amphotéricine B, contenus dans des liposomes est ainsi exploitée industriellement par des produits commerciaux comme Ambisome® ou Doxosome®.

3.2. Les vecteurs de seconde génération :

Afin de prolonger leur durée de vie plasmatique et les adresser vers des tissus situés hors du système réticulo-endothélial, les vecteurs de seconde génération sont recouverts d'une couche de polymères hydrophiles et flexibles tels que les polysaccharides et ou le PEG et ses dérivés.^{154,156 157}

Cette brosse macromoléculaire empêche les interactions hydrophobes avec les phagocytes et agit comme une barrière stérique vis-à-vis des opsonines. Différents paramètres tels que la taille des vecteurs, la masse molaire ou la densité de greffage des macromolécules interviennent sur la furtivité et la durée de résidence vasculaire de ces particules.^{156,157,158}

Des nanoparticules à base de copolymères PEG-polymère biodégradable tels que des dérivés de polycyanoacrylate^{159, 160}, ou à base de copolymères poly(acide lactique)-polycaprolactone, PEGylées en surface présentent des temps de résidence améliorés.¹⁶¹ De plus, leur cytotoxicité est très faible et leur capture hépato-splénique réduite par rapport à leurs homologues non furtifs. Des produits à base de liposomes PEGylés chargés en doxorubicine sont par ailleurs commercialisés sous le nom de Doxil®.

¹⁵⁶ G. Storm, S.O. Belliot, T. Daemen, D.D; Lasic, *Adv. Drug Delivery Rev.*, 17, 31-48 (1995).

¹⁵⁷ S. Stolnik, L. Illum, S.S. Davis, *Adv. Drug Delivery Rev.*, 16, 195-214 (1995).

¹⁵⁸ M.C. Woodle, *Adv. Drug Del. Rev.*, 32,139-152 (1998).

¹⁵⁹ M. T. Peracchia, C. Vauthier, D. Desmaële, A. Gulik, J.-C. Dedieu, M. Demoy, J. D'Angelo, P. Couvreur, *Pharmaceutical Research*, 15 (4), (1998).

¹⁶⁰ M.T. Peracchia, D.D. Desmaële, J. d'Angelo, P. Couvreur, *Macromolecules*, 30, 846-851 (1997).

¹⁶¹ R. Grel, Y. Minamitake, M.T. Peracchia, V. Trubetskoy, V. Torchilin, R. Langer, *Science*, 263, 1600-1603 (1994).

3.3. Les vecteurs de troisième génération :

Les cellules tumorales expriment en général des récepteurs membranaires susceptibles d'être ciblés, tels que le récepteur folate sur les tumeurs des ovaires, du poumon, du cerveau ou du sein et absent des cellules saines.^{162,163,164,165,166}

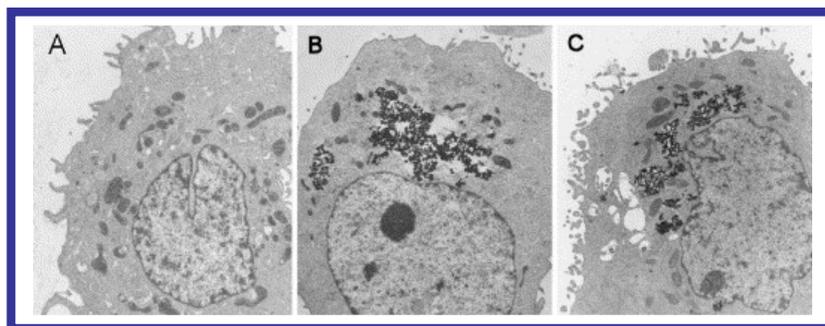


Figure 3.015: Clichés de MET de cellules de BT-20 a) de contrôle, et mises en présence pendant 3 jours de nanoparticules de magnétite fonctionnalisées avec b) le PEG et c) le PEG-Acide folique.

Les vecteurs de médicaments ou de gènes de troisième génération, à base de liposomes ou de nanoparticules fonctionnalisées avec de l'acide folique, peuvent être internalisés dans les cellules cancéreuses citées précédemment.¹⁶⁵ Le mécanisme induit, appelé potocytose,¹⁶¹ repose sur la formation d'un complexe avec le ligand spécifique.

A titre d'exemple, des nanoparticules de magnétite, fonctionnalisées en surface avec du PEG (5000 g.mol⁻¹), et du PEG comportant en bout de chaîne une fonction acide folique, ont été synthétisées par Zhang et coll. Les vecteurs obtenus ont été mis en présence de cultures de cellules cancéreuses du poumon, BT-20.¹⁶⁷ Les clichés de MET présentés Figure 3.015 semblent attester de l'internalisation des particules fonctionnalisées PEG-Acide folique au sein de ces cellules.

L'objectif du projet qui est décrit dans ce chapitre est de synthétiser des nanoparticules Janus, vecteurs de troisième génération, dont l'un des hémisphères devra cibler certaines cellules tumorales.

¹⁶² S.D. Weitman, A. G. Weinberg, L.R. Coney, V.R. Zurawski, D.S. Jennings, B.A. Kamen, *Cancer Research*, 52,6708-6711 (1992).

¹⁶³ S.D. Weitman, R.H. Lark, L.R. Coney, D.W. Fort, V. Fraca, V.R. Zurawski, Jr., B.A. Kamen, *Cancer Research*, 52,3396-3401 (1992).

¹⁶⁴ G. Toffoli, A. Russo, A. Gallo, C. Cernigoi, S. Miotti, R. Sorio, S. Tumolo, M. Boiocchi, *Int. J. Cancer (Pred. Oncol.)*, 79, 121-126 (1998).

¹⁶⁵ J. Sudimack, R.J. Lee, *Adv. Drug Delivery Rev.*, 41, 147-162 (2000).

¹⁶⁶ S. Mansouri, Y. Cuie, F. Winnik, Q. Shi, P. Lavigne, M. Benderdour, E. Beaumont, J. C. Fernandes, *Biomaterials*, 2060-2065 (2006).

¹⁶⁷ Y. Zhang, J. Zhang, *J.C.I.S.*, 283, 352-357 (2005).

L'autre hémisphère devant être consacré à l'imagerie par microscopie de fluorescence biphotonique, le paragraphe suivant donne une description de ce phénomène.

4. La fluorescence multiphotonique :

4.1.Principe général du phénomène :

Le concept de fluorescence multiphotonique provient du fait qu'une molécule ou un atome susceptible d'absorber un photon d'énergie $h\nu$ peut absorber deux photons de même énergie totale ($2 \times h\nu/2$). Cette molécule peut ainsi passer du niveau d'énergie fondamental à un état excité et émettre un photon fluorescent en revenant dans son état initial (cf. Figure 3.016). Cependant, la fluorescence biphotonique est très désavantagée d'un point de vue statistique. Une molécule de Rhodamine B, qui a un coefficient d'absorption important dans l'UV-visible, absorbera par exemple un photon en une seconde. Elle absorbera deux photons d'énergie totale équivalente (dans le proche IR) tous les dix millions d'années et absorbera trois photons durant l'âge actuel de l'univers¹⁶⁸. La fluorescence biphotonique n'a pu être exploitée que par l'avènement des lasers à impulsions femto-secondes dans le proche infra rouge (700-1000 nm).

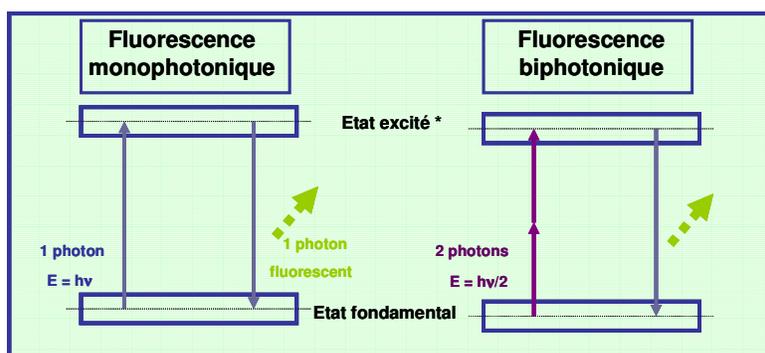


Figure 3.016 : Schéma de principe de la fluorescence biphotonique.

Ce processus de luminescence, contrairement à la fluorescence monophotonique, est dit non linéaire ; l'intensité de fluorescence émise dépend quadratiquement de l'intensité de la lumière incidente dans le cas d'une fluorescence biphotonique. Ceci a pour effet de localiser la fluorescence dans le point focal du laser dans l'échantillon, point où la densité de photons est optimale. Le volume d'excitation est aussi très faible, limitant les processus de photochimie (photoblanchiment ou photodégradation) et les phénomènes de diffusion, responsables du bruit en fluorescence

¹⁶⁸ W. Denk, K. Svoboda, *Neuron*, 18, 351-357 (1997).

monophotonique. Le signal est aussi plus aisé à filtrer, car la longueur d'onde d'excitation et celle d'émission sont éloignées de plusieurs centaines de nanomètres ¹⁶⁸⁻¹⁶⁹.

Les molécules qui fluorescent dans ces conditions sont des chromophores multiphotoniques. Nous allons nous focaliser sur les chromophores excitables à deux photons (ou biphotoniques). Ils sont caractérisés par une section efficace d'absorption de deux photons, σ_{2p} , ou probabilité pour la molécule d'absorber simultanément deux photons en $\text{cm}^4 \cdot \text{s}$ ou GM (Göppert-Mayer qui prédit ce phénomène ¹⁷⁰), et le rendement quantique de fluorescence ϕ_F , ou le produit $\sigma_{2p} \phi_F$ qui est mesuré expérimentalement. ¹¹⁶⁹⁹

Son application dans les microscopes multiphotoniques dès 1990 ¹⁷¹ en fait une des méthodes non invasives les plus performantes d'imagerie dans des échantillons très fins et dans le vivant, ¹⁶⁸⁻¹⁷¹ avec une meilleure résolution que la microscopie confocale de fluorescence pour les raisons qui viennent d'être citées.

4.2.Exemples de nanoparticules fluorescentes excitables à deux photons.

De nombreuses études concernent l'élaboration de nanoparticules à base de silice ou de polymères biodégradables encapsulant des fluorophores monophotoniques de type rhodamine, fluorescéine thioisocyanate ou RuBPY (dichlorure de tris(2,2'-bipyridine) ruthénium). Ainsi des vecteurs de génération une ¹⁷², deux, ¹⁷³⁻¹⁷⁴ ou trois, fonctionnalisés avec de l'acide folique ^{175,176} ou du galactose ¹⁷⁷ ont été synthétisés. Leurs interactions avec des cultures ou des co-cultures de cellules peuvent être caractérisées par microscopie confocale de fluorescence. Cependant, peu d'exemples de marqueurs à base de nanoparticules adaptées à la technique d'imagerie par fluorescence multiphotonique existent, comme l'atteste le tableau récapitulatif 3.001.

¹⁶⁹ W. R. Zipfel, R. M. Williams, W. W. Webb, *Nature Biotechnology*, 21, 1369-1377 (2003).

¹⁷⁰ M. Göppert Mayer, *Ann. Phys.*, 9,273-294 (1931).

¹⁷¹ W. Denk, J.H. Strickler, W.W. Webb, *Science*, 245, 73-76 (1990).

¹⁷² Y.-S. Lin, C.-P. Tsai, H.-Y. Huang, *Chem. Mater.*, 17, 4570-4573 (2005).

¹⁷³ M. Garcia-Fuentes, C. Prego, D. Torres, M.J. Alonso, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 25, 133-143 (2005).

¹⁷⁴ Csaba, A. Sanchez, M.J. Alonso, *Journal of controlled Release*, 113, 164-172 (2006).

¹⁷⁵ S. Santra, B. Liesenfeld, D. Dutta, D. Chatel, C.D. Batich, W. Tan, B.M. Moudgil, R.A. Mericle, *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 5, 899-904 (2005).

¹⁷⁶ I. Slowing, B.G. Trawyn, V.S.-Y.Lin, *J. Am. Chem. Soc.*, 128, 14792-14793 (2006).

¹⁷⁷ J. Peng, K. Wang, W. Tan, X. He, C. He, P. Wu, F. Liu, *Talanta*, 71, 833-840 (2007).

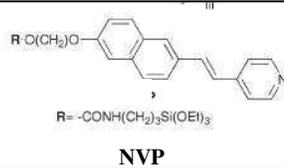
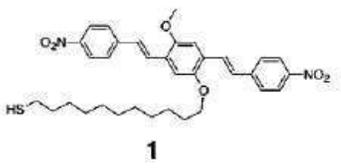
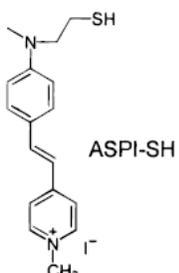
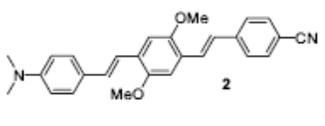
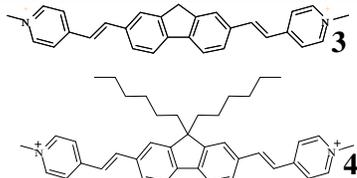
Vecteurs synthétisés	Chromophore utilisé	λ_{exc} λ_{em} σ	Utilisation en tant que marqueurs	Tests de Cytotoxicité
Nanoparticules de silice de 33 nm de diamètre, encapsulant un dérivé du naphthalènevinylpyrrolidone (NVP) ¹⁷⁸	 NVP	780 nm 580 nm /	/	/
Nanoparticules d'argent de 6.5 nm de diamètre, fonctionnalisées en surface par le chromophore 1 ¹⁷⁹	 1	780 nm 600 nm 90 000 GM	/	/
Nanoparticules cœur-écorce ZnS-SiO ₂ de 20 nm de diamètre encapsulant le chromophore ASPI-SH ¹⁸⁰	 ASPI-SH	800 nm 570 nm /	Visualisation du marquage de cellules de type KB par microscopie de fluorescence biphotonique	/
Quantum Dots ZnS-CdSe ¹⁸¹	/	900 nm 47 000GM M	Imagerie du système vasculaire d'une souris à travers la peau par microscopie de fluorescence biphotonique	/
Particules de silice de 32 nm de diamètre encapsulant le chromophore 2 ¹⁸² .	 2	780 nm 510-530 nm /	Visualisation du marquage de cellules cancéreuses de type KYSE 510 par microscopie d'épifluorescence	Tests au MTT : particules non toxiques pour les cellules de type KYSE 510, après 120 minutes d'incubation pour des concentrations en nanoparticules inférieures à 0,02 mg.mL ⁻¹
Particules de silice encapsulant les chromophores 3 ou 4 ¹¹²	 3 4	750 nm 530 nm /	Visualisation du marquage sélectif de cellules de HeLa, dans une coculture de cellules MCF7 et HeLa par microscopie de fluorescence biphotonique	Tests au MTT : particules non toxiques pour les cellules d'intérêt après 72 heures d'incubation à une concentration de 0,055 mg.mL ⁻¹

Tableau 3.001 : Tableau récapitulatif de marqueurs adaptés à la microscopie de fluorescence biphotonique à base de nanoparticules fonctionnalisées, présentant leurs caractéristiques spectroscopiques et les tests de cytotoxicité effectués.

¹⁷⁸ S. Kim, H. E. Pudavar, P.N. Prasad, *Chem. Commun.*, 2071-2073 (2006).

¹⁷⁹ F. Stellacci, C. A. Bauer, T. Meyer-Friedrichsen, W. Wenseleers, S.R. Marder, J.W. Perry, *J. Am. Chem.Soc.*, 125, 328-329 (2003).

¹⁸⁰ M. Lal, L. Levy, K.S. Kim, G.S. He, X. Wang, Y.H. Min, S. Pakatchi, P.N. Prasad, *Chem. Mater.*, 12, 2632-2639 (2000).

¹⁸¹ W. Webb, *Science*, 300, 1434-1436 (2003).

Un des exemples les plus aboutis est celui de nanoparticules de silice encapsulant des chromophores biphotoniques dérivés du distyrylbenzène (cf. Figure 3.017)¹⁸² Elles sont préparées par copolymérisation du propyltriéthoxysilane et du 3-aminopropyltriéthoxysilane en solution aqueuse micellaire. Les tests de toxicité de ces particules vis-à-vis de cellules de type KYSE-510 (cancéreuses de l'œsophage) ont été menées. Elles montrent qu'au-delà d'une concentration massique en particules de 0,02 mg.mL⁻¹, la présence des vecteurs affectent grandement la viabilité des cellules après 2 h d'incubation. Le cliché de microscopie d'épifluorescence présenté en Figure 3.017 atteste de leur internalisation, sans fonctionnalisation et ciblage spécifiques.

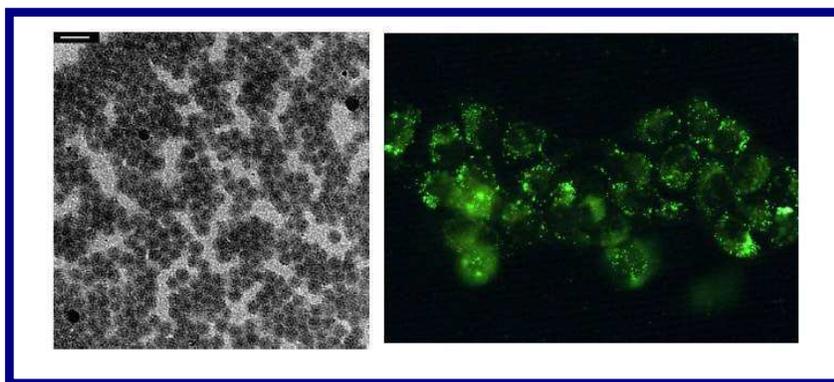


Figure 3.017 : a) Cliché de MET de nanoparticules de silice encapsulant un chromophore biphotonique dérivé du distyrylbenzène (barre d'échelle : 100 nm) b) Cliché de microscopie d'épifluorescence montrant ces nanoparticules internalisées dans des cellules de type KYSE-510.¹⁸⁵

L'originalité du travail présenté au cours de ce chapitre provient du développement de nouveaux marqueurs pour la microscopie de fluorescence biphotonique, dispersables en milieu aqueux, peu cytotoxiques et ciblant spécifiquement certaines cellules tumorales. Les marqueurs dont la synthèse est décrite dans la partie suivante, comme ceux synthétisés par V. Leuret dans le cadre de l'ACI, seront fonctionnalisés avec l'acide folique afin de cibler spécifiquement les cellules cancéreuses de type HeLa.

Comme cela a été évoqué précédemment, des nanoparticules Janus pourraient avantageusement combiner des fonctions simultanées telles que l'imagerie ou la reconnaissance cellulaire. Les particules de silice, dont on maîtrise la synthèse et la modification de surface par des procédés sol-gel, sont des particules-modèles de choix pour ce type d'étude.

¹⁸² L. Bertazza, L. Celotti, G. Fabbrini, M.A. Loi, M. Maggini, F. Mancin, S. Marcuz, E. Menna, M. Muccini, U. Tonellato, *Tetrahedron*, 62, 10434-10440 (2006).

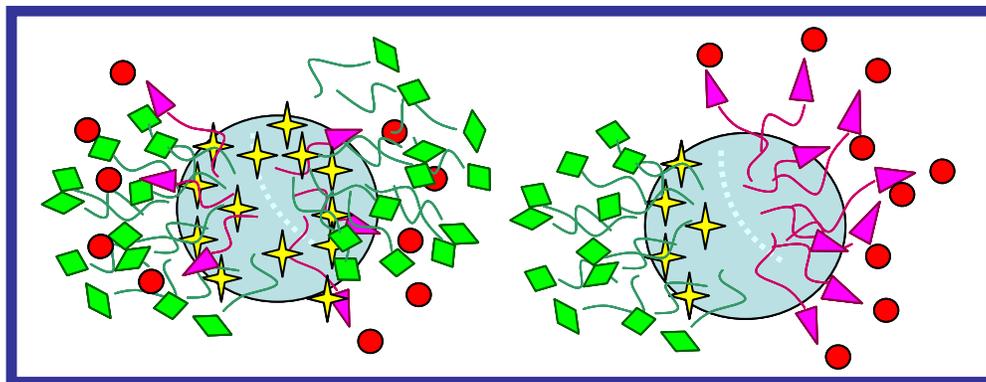


Figure 3.018 : Schématisation d'une particule a) isotrope recouverte par différentes molécules et b) de son équivalent de type Janus.

Si l'on considère une particule fonctionnalisée en surface de manière homogène et son équivalente Janus (*cf.* Figure 3.018), la particule dissymétrique combine plusieurs avantages :

- on peut considérer que les molécules vouées à l'une ou l'autre des fonctions saturent les surfaces de chacun des hémisphères alors que, pour les particules symétriques, on peut considérer un phénomène de dilution dû à la présence des deux types de molécules dans le même espace. Des propriétés physico-chimiques sensibles à la concentration telles que la fluorescence mono- ou biphotonique seraient ainsi optimisables.
- la séparation de molécules empêcherait certains phénomènes de complexation responsables d'extinction de fluorescence. De tels phénomènes ont notamment été observés par V. Lebreton¹¹² entre les chromophores biphotoniques et l'acide folique.
- enfin, grâce aux méthodes de synthèse développées dans le groupe, il est possible de privilégier l'une des fonctions par rapport à l'autre, en contrôlant la portion d'aire qui lui est réservée.

Il est aussi intéressant de noter que le fait de fonctionnaliser en surface avec le chromophore, au lieu de l'encapsuler durant l'étape de la synthèse, permet de travailler avec des quantités très faibles en fluorophore (long à synthétiser). Ceci pourrait aussi limiter sa toxicité lors d'un éventuel relargage en milieu biologique, comme cela a pu être observé dans un exemple précédent.¹⁸²

Au cours de ce chapitre nous allons donner quelques éléments de réponse concernant plusieurs interrogations :

- *Est-il possible de greffer des molécules d'acide folique et d'un chromophore biphotonique de manière discriminatoire sur une particule de silice grâce aux méthodes développées au sein*

de nos laboratoires ?

- *Les particules Janus Acide folique / Chromophore Biphotonique (JACB) sont-elles aussi efficaces que des particules de silice mésoporeuse encapsulant un chromophore biphotonique hydrosoluble développées par V. Leuret du point de vue de la fluorescence biphotonique ?*
- *Quelle est l'influence de la présence des particules synthétisées vis-à-vis des cellules d'intérêt (MCF7 et HeLa) du point de vue de la toxicité et du marquage ?*

5. Synthèse de particules de silice Janus :

L'objectif de cette étude est d'élaborer des particules Janus à partir de nanoparticules de silice, rendues furtives par le PEG, fonctionnalisées par l'acide folique sur un hémisphère et un chromophore biphotonique sur l'autre. Deux lots de particules de silice homogènes en taille et en forme ont été synthétisés (lots IV et V, A.002). Les clichés de MET des particules obtenues pour les températures de synthèse de 30 et 40°C sont présentés Figure 3.019. Les diamètres des particules du lot IV et V valent respectivement 105 et 90 nm (*cf.* Tableau 3.002). L'écart entre ces deux valeurs provient de conditions de synthèse légèrement différentes et n'ont pas d'influence sur les propriétés visées. Les étapes de greffage des différents agents sont maintenant décrites, dans le cadre de la synthèse de particules fonctionnalisées en surface de manière homogène.

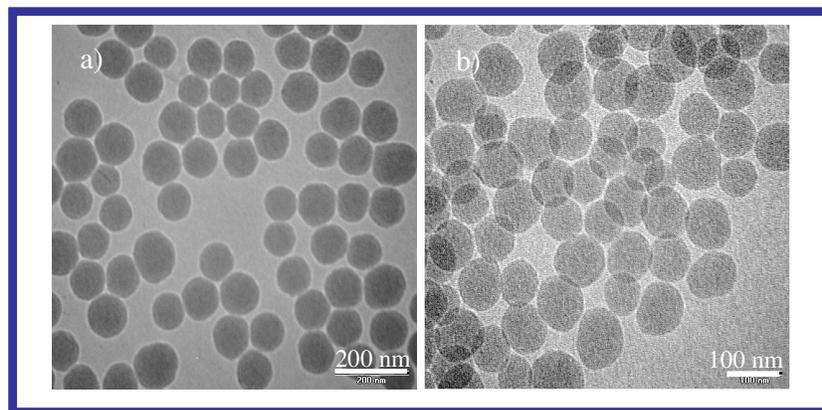


Figure 3.019: Clichés de MET de particules de silice obtenues par voie sol-gel : a) lot IV, b) lot V.

5.1. Synthèses de particules symétriques :

5.1.1. Greffage du chromophore :

Les particules du lot IV ont été modifiées à température ambiante dans leur milieu de synthèse hydroalcoolique basique pendant 24 h sous vive agitation, par le JOD 256 (Figure 3.020), chromophore biphotonique synthétisé par l'équipe de J.O. Durand. Les mécanismes de greffage du

fluorophore à la surface des particules minérales reposent sur des réactions d'hydrolyse et de condensation des fonctions triéthoxysilane situées de part et d'autre de la molécule. Le taux de greffage nominal est de 60 μmoles par gramme de particules, soit un taux de greffage de $1,5 \text{ f.nm}^{-2}$, en considérant les billes de silice comme des sphères parfaites.

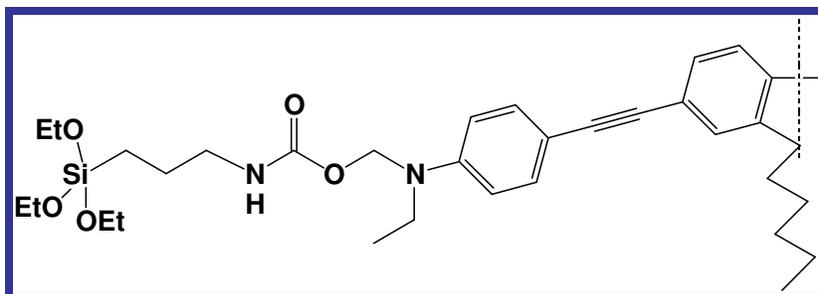


Figure 3.020 : Formule développée du JOD 256.

Protocole PIII.001 : Fonctionnalisation de particules de silice de 105 nm de diamètre par le chromophore JOD 256 :

Dans un ballon de 50 mL ont été introduits 8 mL de particules de silice obtenues selon le protocole de synthèse décrit précédemment. Trois mg de JOD 256 dilués dans 2 mL d'éthanol absolu ont été introduits dans le milieu et le tout est maintenu sous vive agitation (500 rpm) pendant 72 h. Après lavage par cinq cycles de centrifugation (à 5000 rpm) et de redispersion dans l'éthanol, le sol des particules présente une couleur jauneverdâtre caractéristique du fluorophore.

5.1.2. Greffage du PEG A et du PEG B :

La fonctionnalisation des particules par l'acide folique a nécessité leur préfonctionnalisation avec un composé dérivé du PEG terminé par une fonction amine^{183, 184} et par une fonction triéthoxysilane (cf. Figure 3.021, PEG A). Cette macromolécule est synthétisée au laboratoire selon un protocole proche de celui développé par Moreau et coll.¹⁸⁴ (cf. la synthèse en Annexe A.005). La caractérisation en spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) de ce composé a attesté de l'apparition d'une fonction urée (bande à 1654 cm^{-1}) au détriment de la bande caractéristique de la fonction isocyanate présente dans les réactifs initiaux (bande à 2274 cm^{-1}). A la suite de cette étape, un composé silane dérivé du PEG terminé OH (Figure 3.022, PEG B), synthétisé de manière similaire au PEG A (A.005) a été ajouté, afin d'assurer la saturation en surface des colloïdes par les macromolécules.

Protocole PIII.003 : Fonctionnalisation de particules de silice par le PEG A et le PEG B :

Dans un ballon de 50 mL ont été introduits 10 mL de silice fonctionnalisée par JOD 256 lavée et dispersée dans l'éthanol absolu (Rectapur, VWR) et 50 mg de PEG A. Le greffage de ce composé sur les particules de silice fluorescentes s'effectue sous agitation

¹⁸³ N. Ardes-Guisot, J.-O. Durand, M. Granier, A. Perzyna, Y. Coffinier, B. Grandidier, X. Wallart, D. Stievenard, *Langmuir*, 21, 9406-9408 (2005).

¹⁸⁴ J.J.E. Moreau, L. Vellutini, M. Wong Chi Man, C. Bied, P. Dieudonne, J.L. Bantignies, J.E. Sauvajol, *Chem. Eur. J*, 11, 1527-1537 (2005).

vive, à température ambiante, dans des conditions de pH neutre pendant 24 h, à un taux de greffage nominal de 8 fonctions.nm⁻². Au bout de 12 h de réaction, 100 mg de PEG B sont ajoutés au milieu, pour un taux de greffage nominal de 8 fonctions.nm⁻². Le tout est laissé sous agitation une journée entière, avant cinq nouveaux cycles de centrifugation (à 5000 rpm) et de redispersion dans l'éthanol. Les particules sont ensuite dialysées contre de l'eau distillée pendant 3 x 24 h. Des nanocolloïdes d'or de 3 nm de diamètre ont été mis en contact avec une partie des colloïdes fonctionnalisés et lavés.

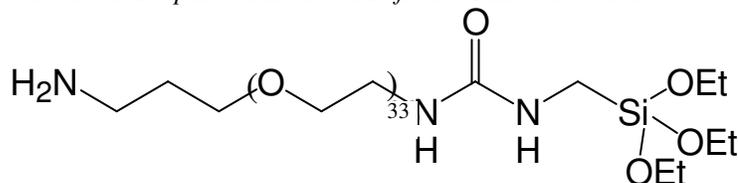


Figure 3.021 : Formule développée du PEG A (1500g.mol⁻¹)

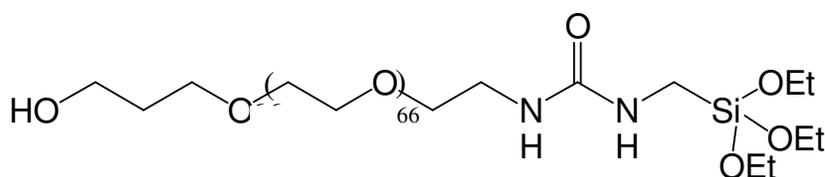


Figure 3.022: Formule développée du PEG B (3000 g.mol⁻¹).

Des nanocolloïdes d'or de 3 nm de diamètre chargés négativement en surface ont été mis en contact avec une partie des colloïdes fonctionnalisés et lavés. En raison de leur affinité électrostatique avec les fonctions amine partiellement protonées, ceux-ci sont censés marquer sélectivement la portion de la surface des particules accessible pour la fonctionnalisation par l'acide folique. Les clichés de MET donnés Figure 3.023 montrent que les particules de silice fonctionnalisées sont recouvertes en surface par les nanocolloïdes d'or de manière homogène, attestant de la présence de fonctions amines.

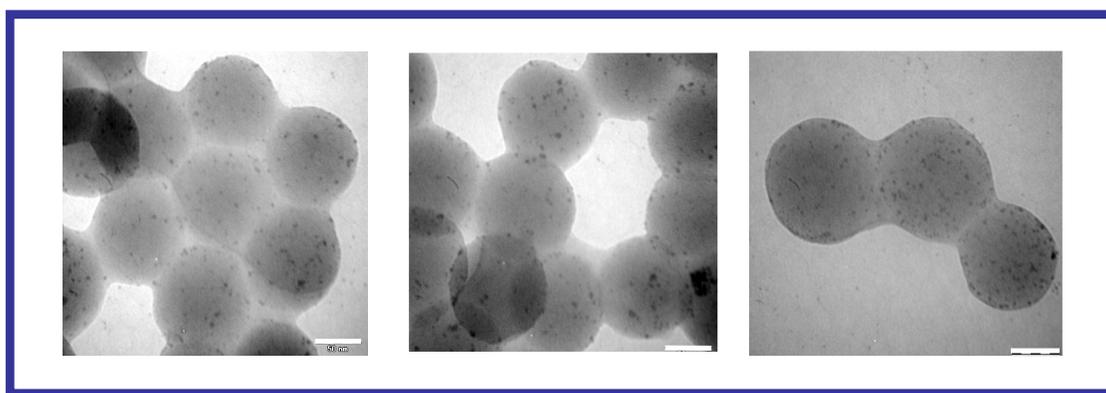


Figure 3.023: Clichés de MET de particules de silice fonctionnalisées avec les PEG A et PEG B de manière homogène, marquées par des nanocolloïdes d'or de 3 nm de diamètre (barre d'échelle : 50 nm).

Protocole PIII.004 : Mesure du potentiel zéta de particules de silice fonctionnalisées à différents pH

Dans deux béchers de 1 L d'eau ultrapure ont été introduits 3 mg de particules fonctionnalisées par le JOD 256, PEG A et PEG B. Dans le premier bécher, une solution de HCl a été introduite goutte à goutte afin de faire varier le pH de 5,5 à 1,7. Quelques mL de solution ont été prélevés à différents pH afin de les analyser à l'aide d'un Zetasizer (Malvern). Les prélèvements correspondant au pH de 6 à 12 ont été préparés par ajout goutte à goutte d'une solution de NaOH dans le second bécher.

La Figure 3.024 représente la variation du potentiel zéta des particules de silice fonctionnalisées et dispersées dans l'eau ultrapure. Elle présente un point isoélectrique (PIE) proche de 6. Cette valeur atteste de l'existence de fonctions amines, qui sont protonées à un pH inférieur à 9.

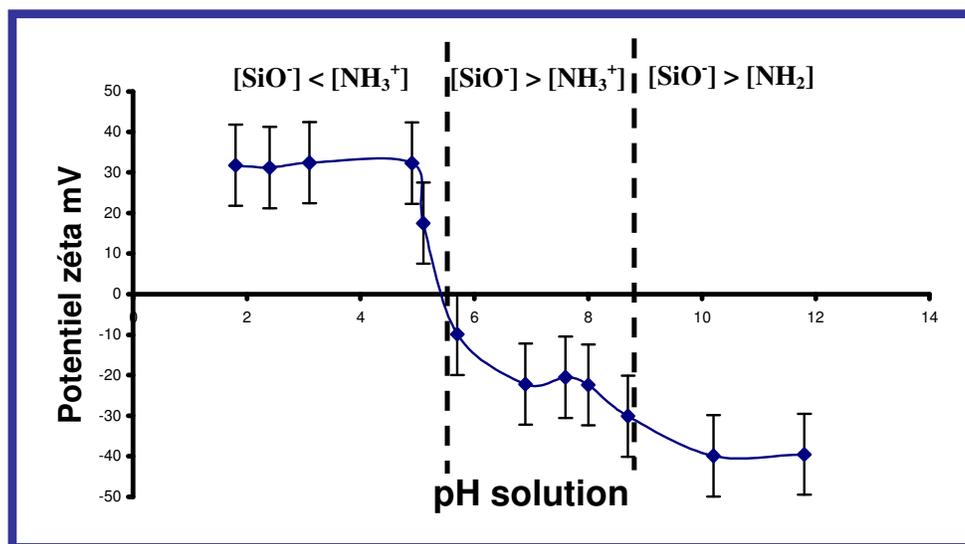


Figure 3.024: Courbe représentant la variation du potentiel zéta des nanoparticules fonctionnalisées en fonction du pH du milieu dispersant.

En effet, les fonctions silanols de surface ont été déprotonées en fonctions silanolates à un pH supérieur à 2 environ. A partir de ce pH, la concentration de ces dernières est fixée et c'est la concentration en cations ammonium qui fait varier le potentiel de surface. A pH 5,5, la concentration en silanolates est égale à celle des ammoniums. A pH 9, toutes les fonctions ammonium ont été déprotonées en fonctions amines, ainsi la valeur du potentiel zéta chute brusquement.

5.1.3. Greffage de l'acide folique :

Les vecteurs ont été modifiés en surface par l'acide folique à un taux de greffage nominal de 8 fonctions.nm⁻², préalablement activé en NHS-Folate (cf. Annexe A.006)¹⁸⁵, via la création sélective d'un pont amide (Figure 3.024).

¹⁸⁵ M. K. Off, A. E. Steindal, A. C. Porojnicu, A. Juzeniene, A. Vorobey, A. Johnsson, J. Moan, *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 80,47–55 (2005).

Protocole PIII.004 : Fonctionnalisation de particules de silice par le NHS-Folate :

Les particules fonctionnalisées au PEG A et PEG B dispersées dans 30 mL d'eau et 50 mg de NHS-folate dilués dans 5 mL de DMSO (Aldrich, 98%) ont été introduits dans un ballon tricolis muni d'un agitateur magnétique. L'ensemble est laissé sous agitation vive (500 rpm) pendant 5 h à pH neutre et température ambiante alors qu'un faible échauffement du milieu est observé. Les particules sont lavées par deux cycles de centrifugation (à 5000 rpm) et de redispersion dans le DMSO, puis trois dans l'éthanol. Les particules ont enfin été dialysées contre de l'eau distillée pendant 3 x 24 h.

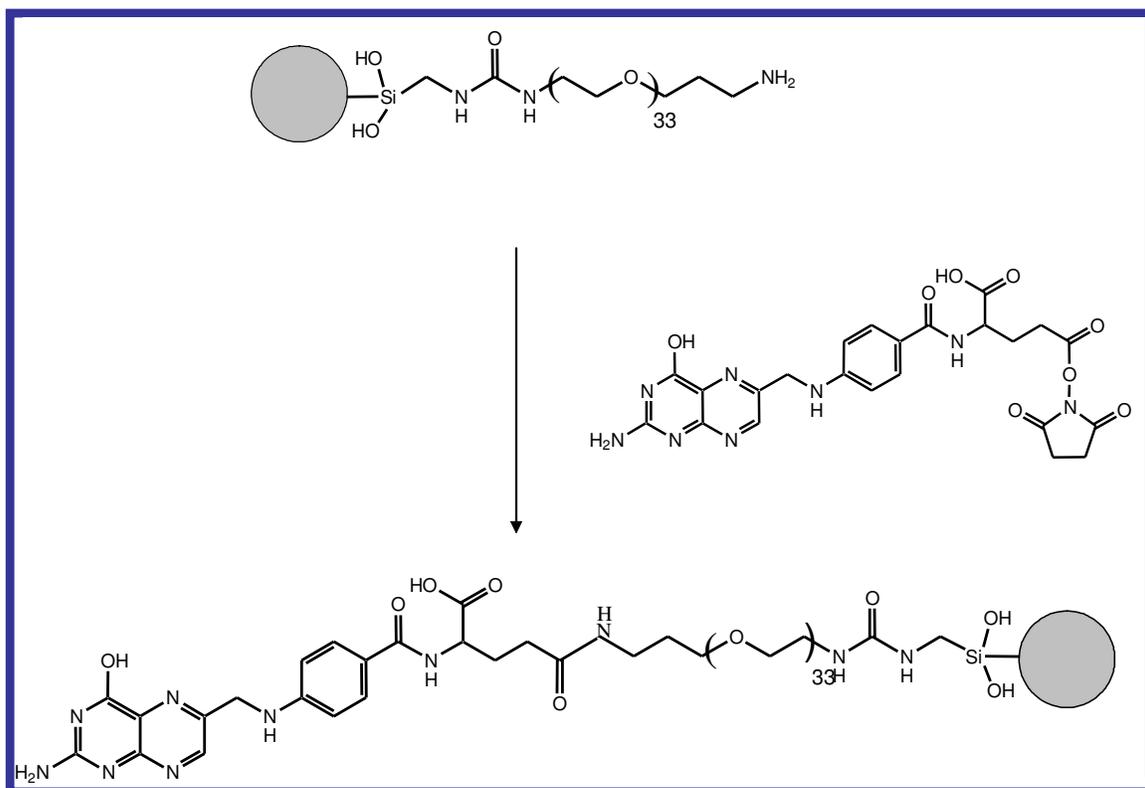


Figure 3.025 : Fonctionnalisation des particules de silice préfonctionnalisées avec le PEG B par l'acide folique (activé en NHS-Folate).

Dans cette partie tous les protocoles de greffage ont été développés et validés par microscopie électronique. Ils ont été appliqués à l'élaboration des particules Janus par deux voies de dissymétrisation.

5.2. Elaboration de particules Janus à l'interface eau/huile

Cette voie consiste en la stabilisation d'émulsions de Pickering¹²⁰ dont le concept est présenté en Figure 3.012. Le lot de particules que nous avons utilisé est le V (A.002).

Protocole PIII.005 : Préparation de gouttelettes de paraffine stabilisées par la silice colloïdale de 85 nm de diamètre.

Dans un bécher de 50 mL ont été introduits 10 mL d'une suspension aqueuse de billes de silice (10 g.L⁻¹) du lot V, 2,8 mL d'une solution aqueuse de CTAB à 10⁻⁴ mol.L⁻¹, 1 mL

d'éthanol absolu et 1 g de paraffine cristallisable ($T_f = 42-44^\circ\text{C}$). L'ensemble est placé 5 minutes dans un bain-marie à 65°C , afin de liquéfier la paraffine. L'émulsification est opérée à l'aide d'un ultraturax à 9000 rpm pendant 1 minute et trente secondes. Après retour à température ambiante, l'émulsion est caractérisée par microscopie optique, granulométrie laser et MEB.

L'observation des gouttelettes, après leur solidification, par microscopie optique et leur caractérisation par granulométrie laser (Figure 3.026) ont permis de mettre en évidence leur relative homogénéité en taille et en forme. Leur diamètre est proche de $20\ \mu\text{m}$ avec un indice de polydispersité de 0,265. Les clichés de MEB présentés en Figure 3.027 attestent du recouvrement de la surface des gouttelettes de paraffine par des nanoparticules de silice.

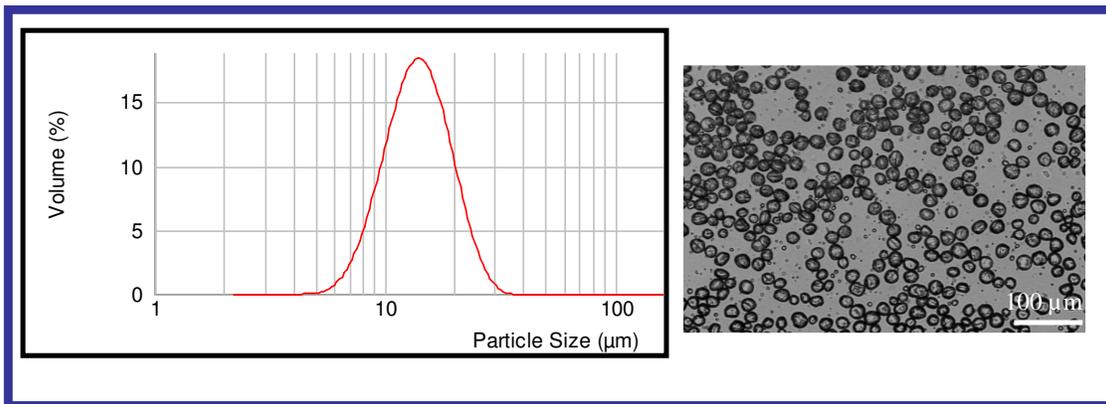


Figure 3.026 : a) Granulométrie laser de microgouttelettes de paraffine cristallisée dispersées dans un milieu hydroalcoolique, b) Microscopie optique de l'émulsion de paraffine cristallisée dispersée dans l'eau.

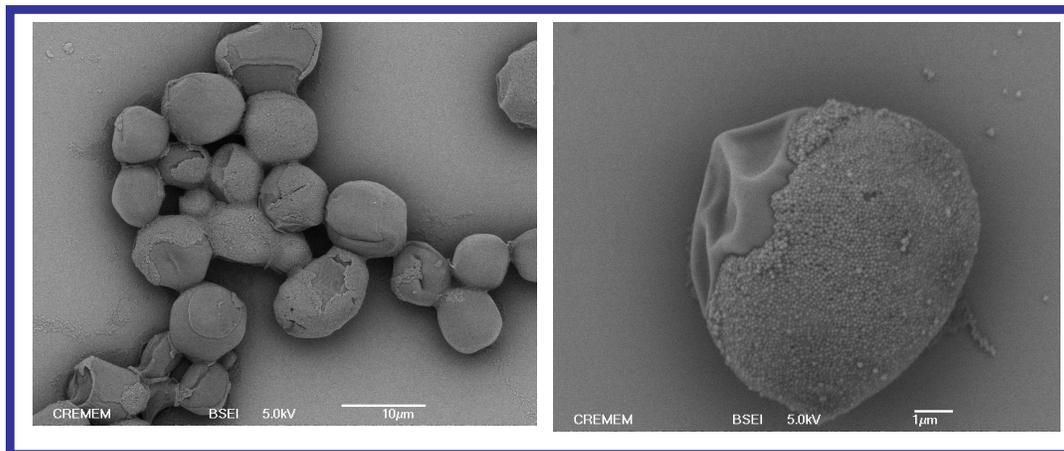


Figure 3.027 : Clichés de MEB de gouttelettes de paraffine cristallisée stabilisées par des nanoparticules de silice.

Protocole PIII.006 : Dissymétrisation des particules de silice par émulsion de Pickering:

La dispersion provenant de la synthèse précédente est diluée dans une solution hydroalcoolique basique, de manière à se placer dans des conditions de solvant

suivantes : $\text{NH}_4\text{OH}/\text{ETOH}/\text{H}_2\text{O}$ (6/3/91). Le JOD 256 est introduit, pour un taux de greffage nominal de 1,5 fonctions.nm⁻² (i.e. 3 mg) sous vive agitation, à température ambiante. Le milieu réactionnel est laissé sous agitation pendant 24 h. Après élimination de l'ammoniaque à l'évaporateur rotatif, à froid, et dilution dans l'éthanol absolu des gouttelettes, la quantité de PEG B (50 mg) pour un taux de greffage de 4 fonctions.nm⁻² est ajoutée. Le mélange est laissé sous agitation 24 h. Après filtration, dissolution des gouttelettes dans CH_2Cl_2 , ajout d'eau, et extraction de la phase aqueuse, les particules de silice sont lavées par cinq cycles de centrifugation (à 5000 rpm) et de redispersion dans l'éthanol. Les particules sont ensuite fonctionnalisées par le PEG A (25 mg) à un taux de greffage de 8 fonctions.nm⁻² dans les conditions précédemment décrites, suivies des étapes de lavage par centrifugation et dialyse contre l'eau distillée.

Le marquage des particules ainsi fonctionnalisées avec des nanocolloïdes d'or de 15 nm de diamètre a été effectué. Les clichés de MET présentés Figure 3.028 mettent en évidence qu'une petite zone de la surface des particules de silice fonctionnalisée au PEG A et accessible au NHS-Folate est marquée par l'or comme attendue.

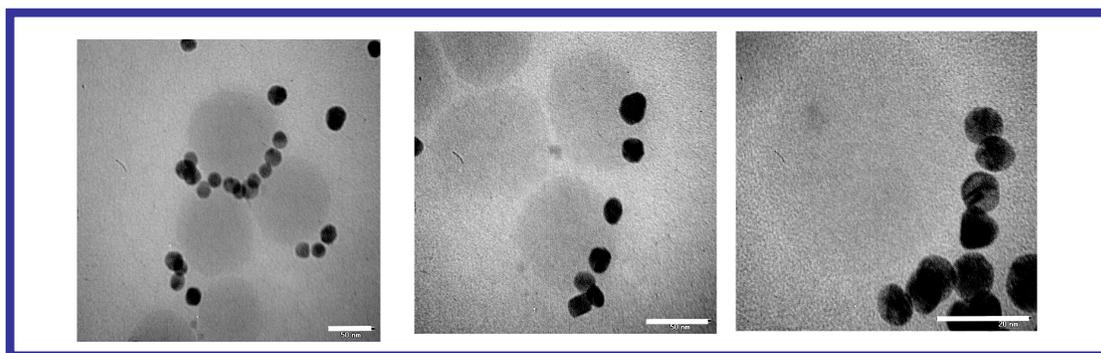


Figure 3.028 : Clichés de MET de particules de silice fonctionnalisées Janus marquées par des nanocolloïdes d'or sur la surface fonctionnalisées au PEG B (barre d'échelle 50nm).

Les particules de silice ont ensuite été fonctionnalisées par le NHS-Folate suivant le protocole (PIII.005) décrit précédemment, puis lavées par des cycles de centrifugation/redispersion dans l'éthanol, et enfin dialysées contre l'eau distillée.

5.3.Elaboration de particules Janus via la réaction d'une polymérisation en émulsion ensemencée :

Des particules Janus ont été synthétisées selon la voie décrite dans la partie 2.2.3 de ce chapitre. Le schéma général de cette synthèse est donné Figure 3.029. Cette voie de synthèse a nécessité un grand nombre d'étapes, mais a permis d'obtenir des particules de silice fonctionnalisées Janus ayant des zones dédiées à l'une ou l'autre des fonctionnalités de différentes surfaces.

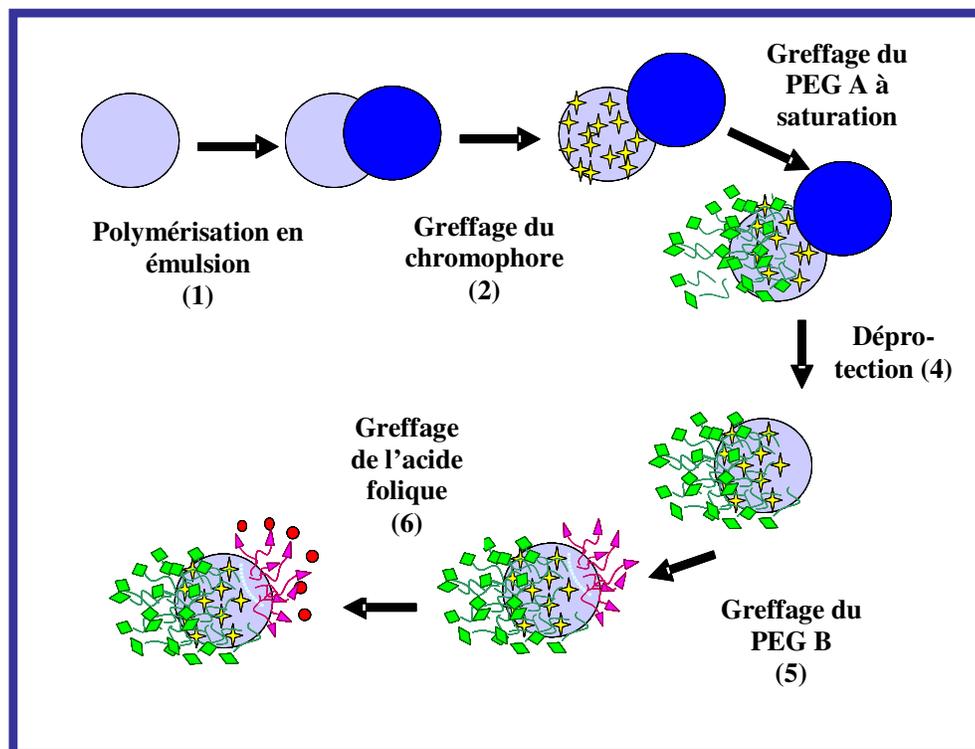


Figure 3.029 : Schématisation des différentes étapes de la synthèse des particules Janus via une réaction de polymérisation en émulsion.

Protocole PIII.007 : Polymérisation en émulsion du styrène en présence de particules de silice :

La première étape consiste en la polymérisation en émulsion du styrène en présence de particules de silice du lot IV, avec le macromonomère comme agent fonctionnalisant à un taux de greffage de 1 fonction.nm⁻² et dans des conditions de ratio égal N_{PS}/N_{silice} à 1. Le protocole est le même que le protocole PI.001, en présence de silice (9 g.L⁻¹) et de 23 mg de macromonomère (Aldrich). Au bout de dix h de réaction, la conversion du monomère en polymère est évaluée à 81 % par analyse gravimétrique sur 1 mL de la dispersion. Le ballon est porté à 95°C et soumis à un bullage de diazote pendant 60 minutes, afin d'éliminer le monomère résiduel, solvant du polymère et du chromophore. Les colloïdes obtenus ont ensuite été observés par MET.

Les clichés de MET de la Figure 3.030 présentent les morphologies obtenues, où la quasi-totalité des particules de silice ont servi de germes de croissance à un nodule de polymère de 250 nm de diamètre.

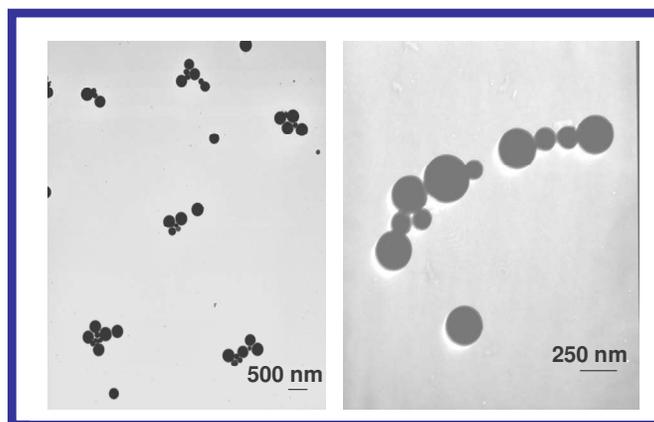


Figure 3.030 : Clichés de MET de colloïdes hybrides dissymétriques obtenus à l'issue de l'étape de polymérisation en émulsion.

Protocole PIII.008 : Dissymétrisation de particules obtenues par polymérisation en émulsion :

Après l'étape de polymérisation en émulsion (1), le chromophore est ajouté au milieu de synthèse à température ambiante dans un mélange eau/éthanol/NH₄OH (47/47/6) à un taux de greffage nominal de 1.5 fonctions.nm⁻² (2 mg) (étape (2)). L'ammoniaque est éliminé à l'évaporateur rotatif à froid jusqu'à un pH neutre, et le milieu est dilué jusqu'à des conditions de solvant EtOH/H₂O (90/10). Le PEG B (25 mg) est introduit pour un taux de greffage de 8 fonctions.nm⁻² (étape (3)) et la dispersion est laissée sous agitation pendant 24 h. Après centrifugation dans l'éthanol, 10 cycles d'ultrasons (30 minutes) et de centrifugation (10 000 rpm) sont effectués afin de séparer les parties organiques et inorganiques (étape (4)). Les particules sont alors successivement fonctionnalisées par le PEG A (24 h/8 fonctions.nm⁻², 13 mg) et le PEG B afin de s'assurer d'avoir saturé la surface (24 h / 8 fonctions.nm⁻², 25 mg). Cinq nouveaux cycles de centrifugation (à 5000 rpm) et de redispersion dans l'éthanol sont effectués. Les particules sont purifiées par dialyse contre l'eau distillée (3 x 24 h).

Une certaine quantité de particules Janus a été mise en présence de nanocolloïdes d'or de 3 nm de diamètre, afin de révéler la partie de leur surface accessible au NHS-Folate. Les clichés de MET donnés Figure 3.031 montrent qu'une très faible partie de la surface des particules de silice, correspondant à la surface recouverte par le polystyrène, a été modifiée par le PEG A. Selon le protocole PIII.005, l'acide folique a ensuite été greffé et les particules lavées par centrifugation et dialysées contre l'eau.

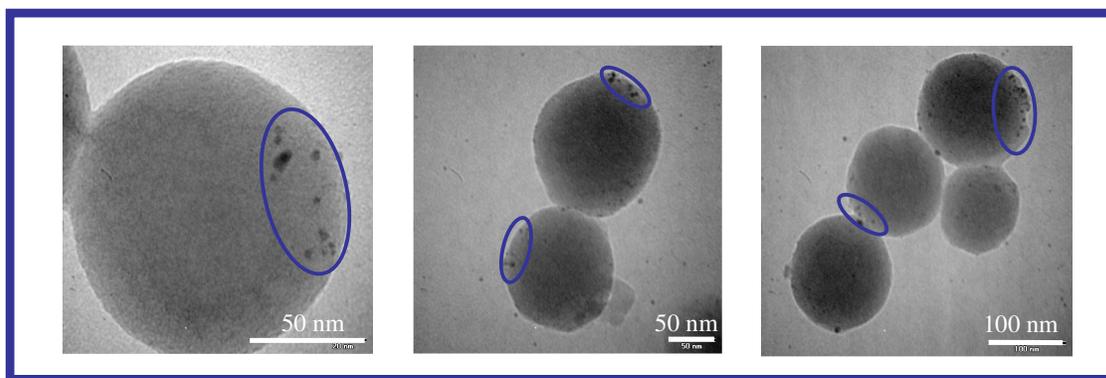


Figure 3.031 : Clichés de MET de particules de silice Janus marquées par des nanocolloïdes d'or sur la surface fonctionnalisée au PEG A.

A ce stade, trois types de particules ont donc été préparés pour leur évaluation spectroscopique et biologique : les vecteurs symétriques, les vecteurs Janus obtenus par émulsion de Pickering et les vecteurs Janus obtenus par polymérisation en émulsion. Ces deux derniers lots de particules diffèrent par la surface consacrée à l'une ou l'autre des fonctionnalités : le ciblage des cellules tumorales ou le marquage fluorescent (*cf.* Figure 3.032).

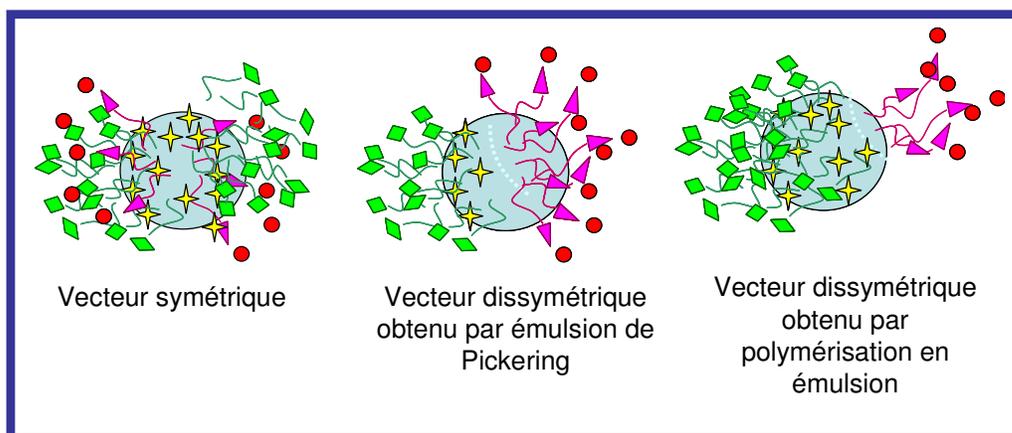


Figure 3.032: Représentation schématique des trois lots de vecteurs synthésés.

6. Caractérisation spectroscopique des particules :

Tous les tests réalisés cette section ont été effectués avec l'aide de Raissa Praho et Martijn Werts, du groupe du professeur Mireille Blanchard-Desce au sein de l'UMR 6510, Photonique Moléculaire (Université de Rennes-1).

6.1. Caractérisation en luminescence monophotonique :

Les particules synthésésés ont été caractérisées par spectroscopie d'absorption et d'émission dans l'UV-Visible. Les caractérisations ont été effectuées sur l'acide folique et le JOD 256, seuls en solution, puis sur les particules dont la synthèse a été précédemment décrite.

6.1.1. Absorbance UV-visible

L'acide folique est un composé hydrosoluble présentant une bande d'absorbance caractéristique (cf. Figure 3.033) à 280 nm (courbe verte) et un coefficient d'extinction molaire de $25220 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$.¹⁸⁶ Le JOD 256 est, quant à lui, insoluble dans l'eau. Il présente un maximum d'absorption à 380 nm (courbe noire), quand il est dilué dans l'éthanol. Son coefficient d'absorption molaire a été déterminé *via* une étude de l'évolution de l'intensité du maximum d'absorbance à différentes concentrations en chromophore et vaut $54298 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$.

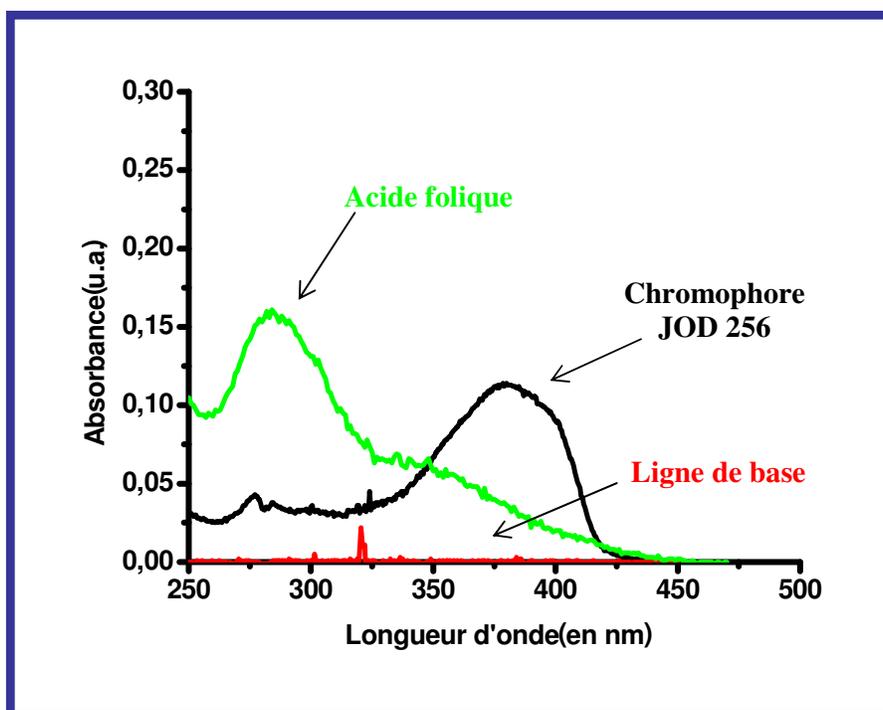


Figure 3.033: Absorbance UV-visible de l'acide folique ($7 \mu\text{mol.L}^{-1}$) dissout dans l'eau et du JOD 256 dilué dans l'éthanol ($2,5 \mu\text{mol.L}^{-1}$).

Afin de compléter les études spectroscopiques, des particules symétriques fluorescentes furtives à base de nanoparticules de silice du lot V, fonctionnalisées au JOD256 et au PEG A, ont été élaborées à des taux de greffage décrits dans le protocole PIII.001 et PIII.002 (respectivement 1,5 et 8 fonctions. nm^{-2}).

La Figure 3.034 donne les spectres d'absorbance UV-visible des quatre types de nanoparticules dispersées dans l'eau. Les spectres présentent tous un fond de diffusion avec un épaulement à 370 nm caractéristique du JOD 256 ; les trois échantillons fonctionnalisés avec l'acide

¹⁸⁶ M. K. Off, A. E. Steindal, A. C. Porojnicu, A. Juzeniene, A. Vorobey, A. Johnsson, J. Moan, *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 80,47–55 (2005).

folique présentent un épaulement caractéristique à 280 nm.

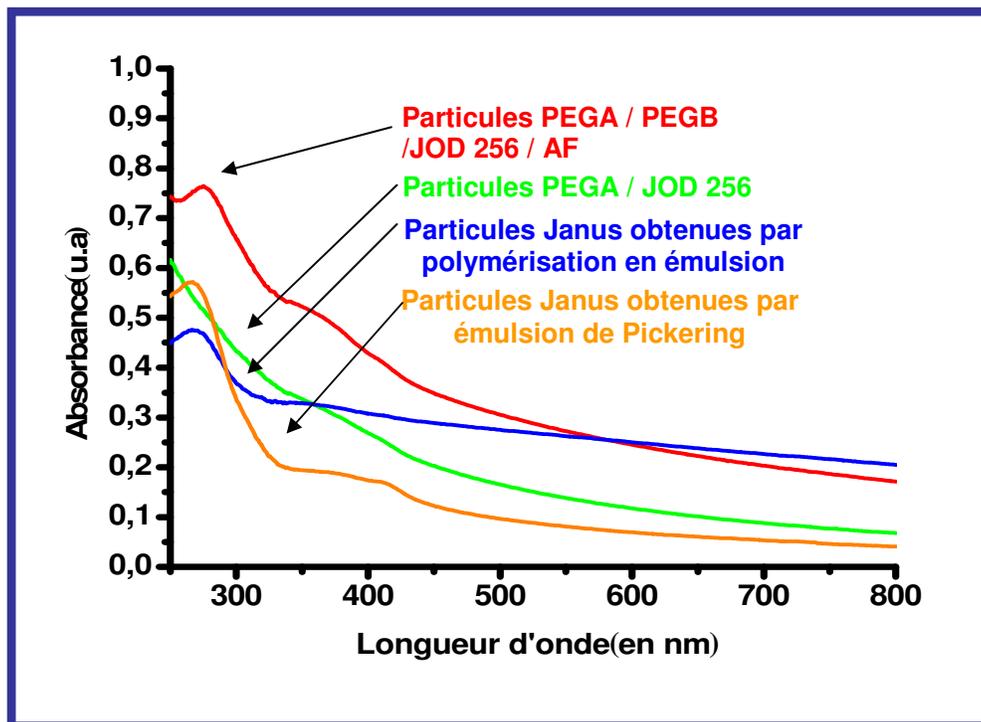


Figure 3.034 : Absorbance UV-visible des particules dispersées dans l'eau ; courbe verte : nanoparticules de silice fonctionnalisées au PEG A et au JOD256 ($0,2 \text{ g.L}^{-1}$) ; courbe rouge : particules PEG A/PEG B/JOD256/Acide folique symétriques ($0,17 \text{ g.L}^{-1}$) ; courbe orange : particules Janus obtenues par émulsion de Pickering ($0,3 \text{ g.L}^{-1}$) ; courbe bleue : particules Janus obtenues par polymérisation ($0,05 \text{ g.L}^{-1}$).

6.1.2. Fluorescence UV-visible :

La Figure 3.035 présente les courbes de fluorescence corrigées pour une longueur d'onde d'excitation de 380 nm, pour les quatre types de particules fluorescentes dispersées dans l'eau. On peut observer que les particules émettent un signal de longueur d'onde comprise entre 400 et 600 nm, et que l'émission des particules non-fonctionnalisées à l'acide folique est déplacée vers les plus grandes longueurs d'onde. Cette dernière information semble attester de la contribution de l'acide folique à la fluorescence des particules fonctionnalisées.

L'observation de l'intensité des signaux montre que les particules Janus obtenues par émulsion de Pickering émettent peu au regard des signaux obtenus avec les autres échantillons, ceci étant probablement dû à une surface de fonctionnalisation au JOD 256 moins importante. Les autres particules semblent être de bons candidats à la fluorescence biphotonique, l'une des conditions à l'enregistrement d'un signal suffisamment intense étant une émission significative en fluorescence

monophotonique.

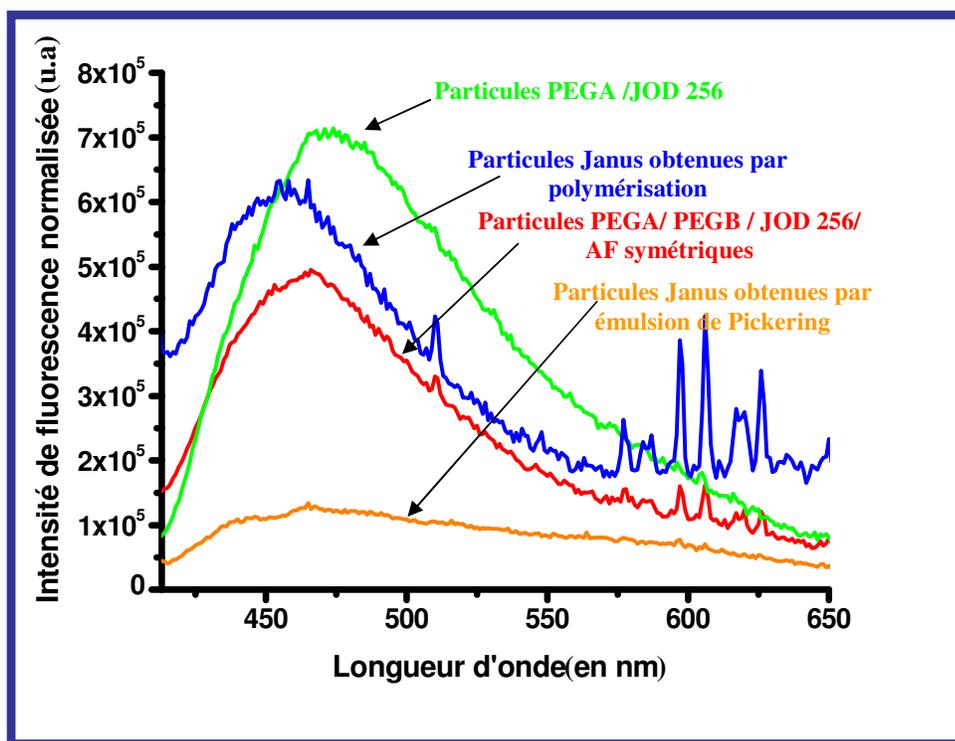


Figure 3.035 : Spectres de fluorescence des particules dispersées dans l'eau (λ_{exc} : 380 nm) normalisés pour une concentration massique de 1 g.L⁻¹ ; courbe verte : nanoparticules de silice fonctionnalisées au PEG A et au JOD256 ; courbe rouge : particules PEG A/PEG B/JOD256/Acide folique symétriques ; courbe orange : particules Janus obtenues par émulsion de Pickering ; courbe bleue : particules Janus obtenues par polymérisation.

Du fait du recouvrement des bandes d'absorbance du JOD 256 et de l'acide folique dans l'UV-visible, l'estimation de la densité de greffage à la surface de la silice de ces deux composés n'a pas pu être évaluée par dosage spectroscopique. Le rendement de fluorescence n'a donc pas pu être calculé, nous disposons uniquement de valeurs d'intensité relatives pouvant être comparées entre elles.

6.2. Caractérisation en fluorescence biphotonique :

La technique que nous avons utilisée dans cette partie est la méthode de fluorescence par excitation à deux photons (two-photon excited fluorescence, TPEF) permettant de déterminer le produit $\sigma_{2p} \phi_F$ décrit précédemment. On en tire généralement la section efficace active deux photons, en ayant déterminé préalablement le rendement quantique de fluorescence. La Figure 3.036 donne le schéma du montage expérimental utilisé.

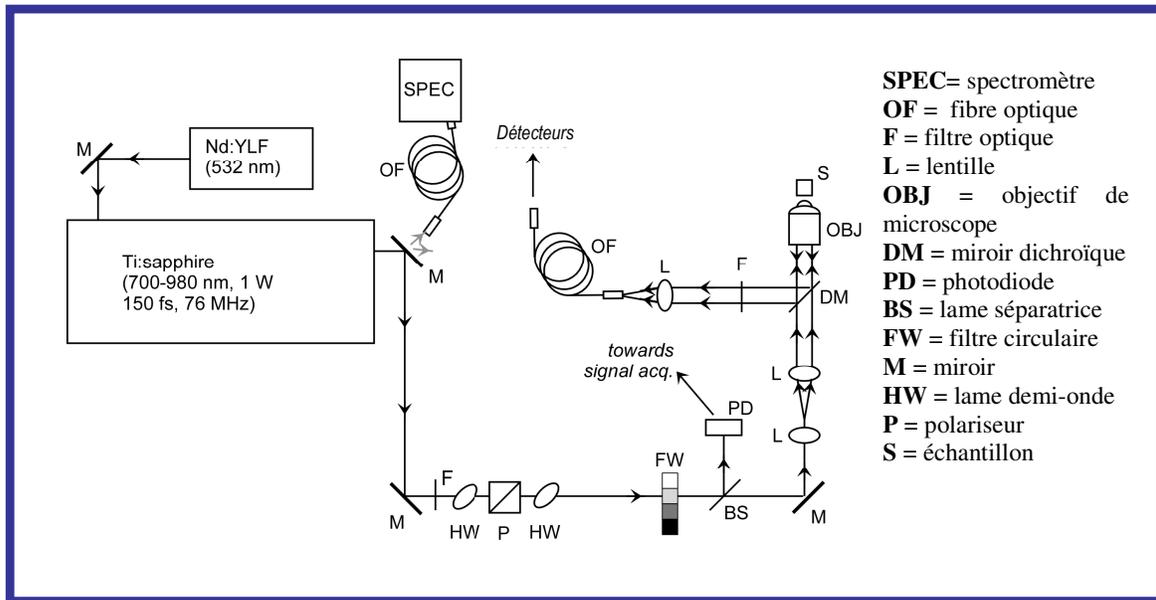


Figure 3.036 : Montage optique expérimental de mesure de la fluorescence par excitation à deux photons (TPEF) utilisé.

La détermination du rendement quantique de fluorescence des particules fonctionnalisées demeurant inconnu, l'exploitation des résultats a été limitée à des considérations qualitatives. L'objectif de la partie suivante est de s'assurer que les particules pourront émettre dans des conditions de fluorescence biphotonique et être observables en microscopie de fluorescence biphotonique.

Les spectres d'excitation biphotoniques présentés Figure 3.037. Ils montrent que la réponse des particules Janus obtenus par émulsion de Pickering est très faible pour une excitation avec un laser dont la longueur d'onde est comprise entre 700 et 860 nm. La faiblesse du signal provient de la valeur de l'aire fonctionnalisée avec le JOD 256, qui est inférieure aux valeurs des autres lots de particules. Pour ces derniers le signal est plus fort et l'intensité de fluorescence reste du même ordre de grandeur avec un maximum aux alentours de 700 nm.

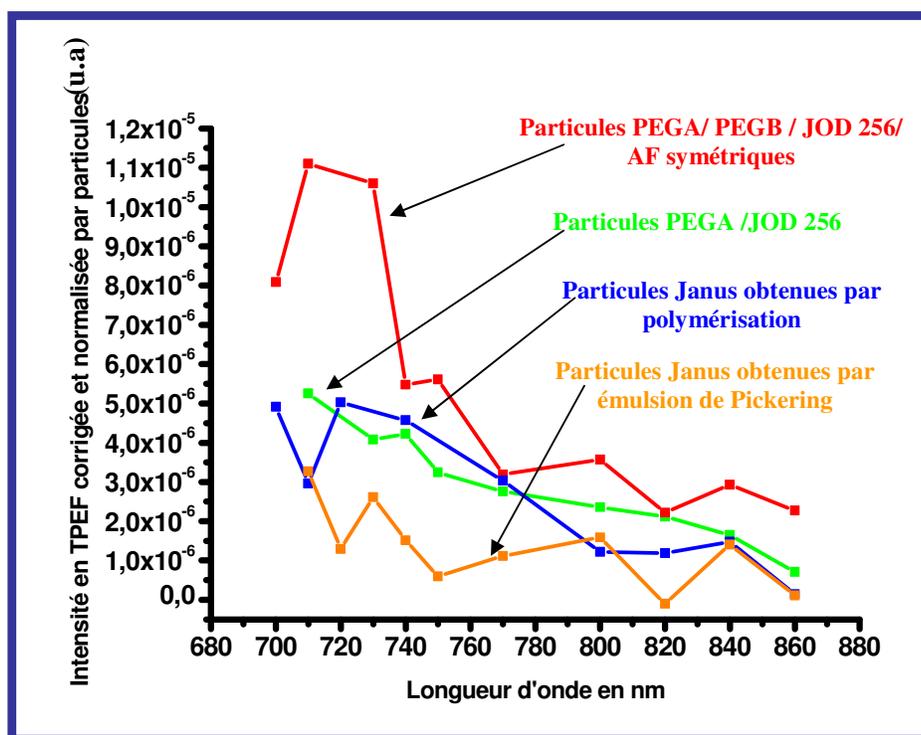


Figure 3.037 : Spectres d'excitation de TPEF corrigés et normalisés à des concentrations de 1 g.L^{-1} des particules PEG A/PEG B/JOD 256/Acide folique symétriques (rouge), particules PEG A/JOD 256 (vert), particules Janus obtenues par polymérisation (bleu) et particules Janus obtenues par émulsion de Pickering (orange). Les profils ont été calibrés en utilisant la fluorescéine comme référence diluée dans une solution aqueuse de soude à $0,01 \text{ M}$.

Des expériences complémentaires de fluorescence biphotonique sur ces trois types de particules ont été réalisées (longueur d'onde d'excitation de 780 nm). Les résultats sont donnés en Figure 3.038. La bande de fluorescence obtenue semble être caractéristique du JOD 256, la contribution de l'acide folique dans les conditions multiphotoniques n'étant pas significative. Elles montrent que les intensités de fluorescence dans ces conditions sont très proches, quel que soit le type de particules.

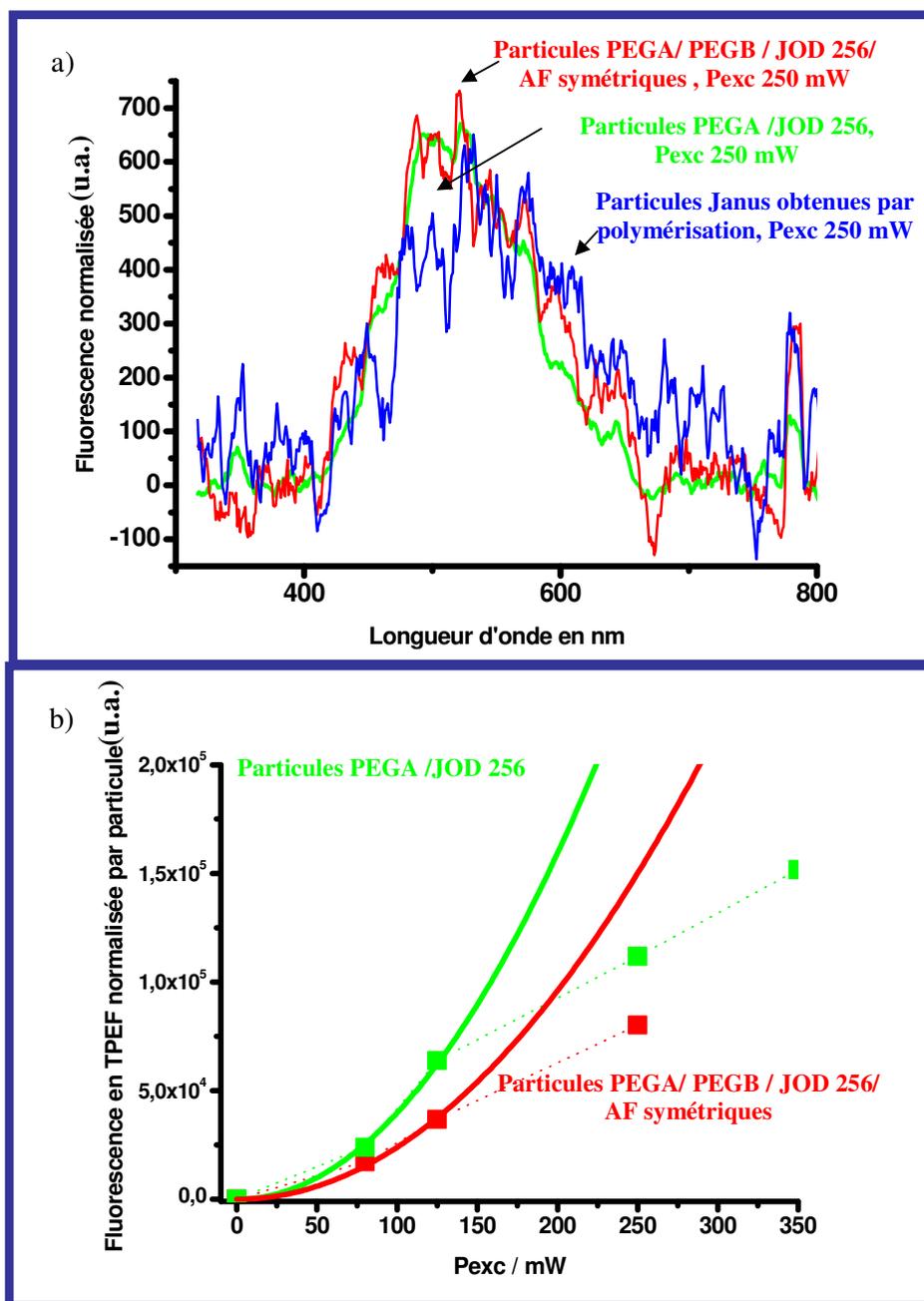


Figure 3.038 : a) Spectres de fluorescence biphotonique normalisés à des concentrations de 1 g.L⁻¹ des particules PEG A/PEG B/JOD 256/Acide folique symétriques (rouge), particules PEG A/JOD 256 (vert) et particules Janus obtenues par polymérisation (bleu), (P_{exc} sur l'échantillon = 30 % de P_{exc} nominale, objectif de microscope 10 X et ouverture numérique de 0,25 (λ_{exc} : 780 nm). b) Graphes représentant l'intensité de fluorescence des particules PEG A / JOD 256 (vert) et des particules PEG A/ PEG B/ JOD 256/ AF symétriques dispersées dans l'eau en fonction de la puissance d'excitation nominale.

Les spectres sont « bruités », mais les intensités maximales sont comprises entre 400 et 650

nm. La Figure 3.038 b montre la variation de l'intensité de fluorescence en fonction de la puissance d'excitation nominale. La dépendance quadratique de l'intensité jusqu'à des valeurs de puissance de 125 mW atteste de la fluorescence biphotonique due au chromophore JOD 256. La déviation à cette loi est observable pour des valeurs de puissance supérieures, entraînant un phénomène de photoblanchiment. Aucune valeur caractéristique de la TPEF n'a pu être évaluée en raison de l'impossibilité de doser le taux de greffage du JOD 256 par des méthodes non-destructrices (en particulier le dosage par absorbance dans l'UV-visible). Le greffage de l'acide folique sur les particules de silice ne semble pourtant pas altérer ces propriétés de fluorescence biphotonique. L'intensité de la réponse lumineuse semble dépendre de la surface de couverture du chromophore sur les particules.

Nous pouvons tirer plusieurs conclusions à cette étude :

- les caractérisations des particules par spectroscopie d'absorbance et de fluorescence dans l'UV-visible attestent du greffage de l'acide folique et du chromophore biphotonique JOD 256 en surface des particules de silice,
- les caractérisations par spectroscopie de fluorescence biphotonique ont donné pour tout type de particules des signaux d'émission détectables. Les intensités d'émission sont cependant plus faibles que dans le cas des particules mésoporeuses encapsulant un chromophore biphotonique hydrosoluble.¹⁸⁷ Ceci pourrait être attribué dans notre cas à une plus faible quantité de colorant par particule,
- les premiers résultats obtenus en fluorescence biphotonique semblent montrer qu'il n'y a qu'une faible influence des différentes architectures des particules étudiées. Cependant, le signal de fluorescence des particules Janus présentant une plus faible surface fonctionnalisée par le JOD 256 est plus faible.

7. Tests in vitro :

Tous les tests réalisés dans la suite de ce chapitre ont été effectués par Delphine Methy, dans le groupe du professeur Catherine Dubernet au sein de l'UMR 8612.

7.1. Présentation des deux types de cellules étudiées :

Les études suivantes ont été réalisées sur des lignées cellulaires humaines : la première est la lignée MCF-7, couramment utilisée dans le cadre des recherches sur le cancer, établie à partir des cellules d'une personne décédée en 1970 à l'âge de 69 ans des suites d'un cancer métastatique

¹⁸⁷ V. Lebret, L. Raehm, J.-O. Durand, M. Smaïhi, C. Gérardin, N. Nerambourg, M. H. V. Werts, M. Blanchard-Desce, *Chem. Mater.*, 20, 2174–2183 (2008).

mammaire, et ne surexprimant pas le récepteur de l'acide folique. Ces cellules ne devraient donc pas être marquées de manière spécifique par les vecteurs synthétisés dans ce chapitre.

La seconde est la lignée cellulaire HeLa, provenant de cellules du cancer de l'utérus développé par une malade décédée dans des délais très courts en 1951. Elle est actuellement très utilisée dans le cadre de la recherche en cancérologie, car ces cellules surexpriment le récepteur de l'acide folique et sont destinées dans notre étude à être marquées spécifiquement par nos nanovecteurs.

7.2.Principe des tests effectués :

Afin d'évaluer les concentrations maximales en nanoparticules dans les milieux d'étude, tolérées par les lignées HeLa et MCF-7, des tests de viabilité cellulaire au bromure de 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium (test au MTT) ont été réalisés.

Il s'agit d'une méthode de comptage des cellules en activité métabolique par colorimétrie, dont le principe est d'ajouter du MTT dans chacun des puits d'une plaque de culture au bout d'un temps déterminé d'incubation. Les puits auront initialement étéensemencés par un nombre connu de cellules (dans notre cas 5 000 cellules) de façon à atteindre un régime de croissance exponentielle après 24 h, temps au bout duquel une quantité connue de nanoparticules est alors ajoutée. Le temps de contact nanoparticules / cellules a été fixé à 24 h. La croissance des cellules est ensuite poursuivie pendant 48 h supplémentaires avant l'ajout du réactif. Le MTT est un composé contenant un cycle de tétrazolium réduit en formazan par la succinate deshydrogénase mitochondriale des cellules vivantes actives (Figure 3.039).

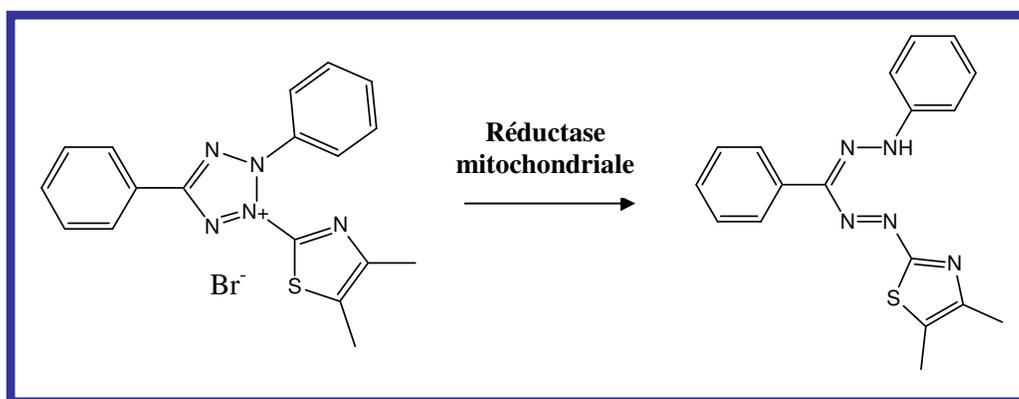


Figure 3.039 : Principe chimique du test MTT

Le milieu initialement jaune devient bleu et l'intensité de la coloration est proportionnelle au nombre et à l'activité métabolique des cellules vivantes. Une courbe d'étalonnage par spectroscopie d'absorbance dans l'UV-visible est nécessaire pour une analyse quantitative. On parle de non-cytotoxicité des particules dans les conditions d'incubation et de concentration étudiées pour des taux

d'inhibition de croissance inférieurs ou égaux à 20 %.

7.3. Résultats : Cytotoxicité des particules :

Les tests au MTT ont eu pour but de déterminer la concentration massique limite en particules fonctionnalisées des dispersions qui ont pu être mises en contact avec les cellules de type MCF7 et HeLa. En effet, les tests de microscopie à fluorescence biphotonique doivent être opérés dans des conditions de non-cytotoxicité (viabilité cellulaire supérieure à 80 %).

Les premiers tests effectués nous renseignent sur la cytotoxicité du chromophore JOD 256 greffé à la surface des particules rendues furtives par la présence de PEG A après 24 heures d'incubation sur les deux lignées de cellules. La Figure 3.040 nous donne les résultats des études effectuées sur les lignées MCF-7 et HeLa .

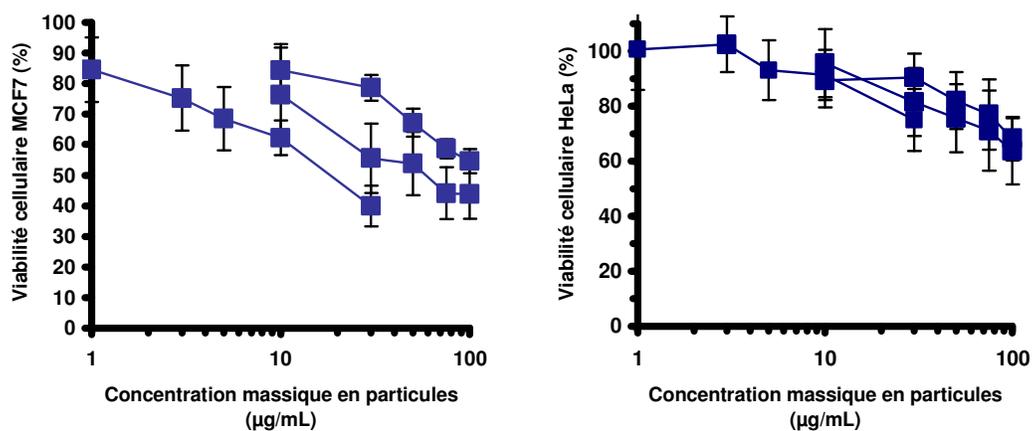


Figure 3.040 : Tests de viabilité cellulaire sur les lignées MCF-7 (a) et HeLa (b) après contact pendant 24 h avec des nanoparticules de silice fonctionnalisées en surface par le PEG A/JOD 256.

Les études montrent que pour les cellules de la lignée MCF-7, on observe 80 % de viabilité pour des concentrations en particules inférieures ou égales à 3 µg/mL, et 50 % de viabilité (IC 50) pour une concentration de 100 µg/mL. Pour la lignée HeLa, on a une viabilité cellulaire de 80 % à 50 µg/mL.

Les mêmes tests ont été réalisés sur les particules de silice PEG A/ PEG B/ JOD 256/ AF symétriques. La Figure 3.041 montre les résultats obtenus, au bout de 24 h d'incubation. Il semble que les particules ne soient pas cytotoxiques, pour toute concentration massique en particules comprise entre 1 et 100 µg/mL, quelle que soit la lignée cellulaire.

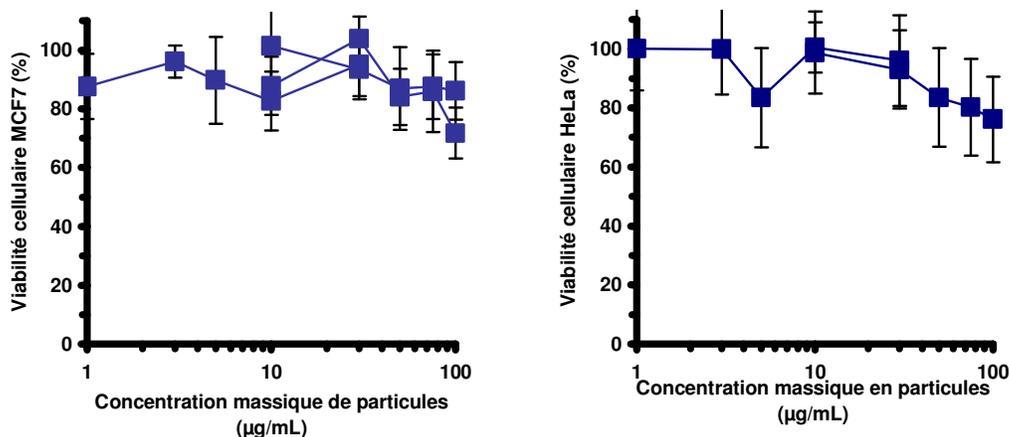


Figure 3.041 : Tests de viabilité cellulaire sur les lignées MCF-7 (a) et HeLa (b) après contact pendant 24 h avec des nanoparticules de silice PEG A/ PEG B/ JOD 256/ AF symétriques.

La Figure 3.042 présente les tests au MTT relatifs aux particules Janus obtenues par émulsion de Pickering mises en contact sur des cellules des deux types de lignée. Les particules ne sont pas cytotoxiques dans ces conditions expérimentales vis-à-vis des cellules de type MCF 7, alors que pour les cellules de type HeLa, la viabilité cellulaire est inférieure à 80 %, dès 5 µg/mL.

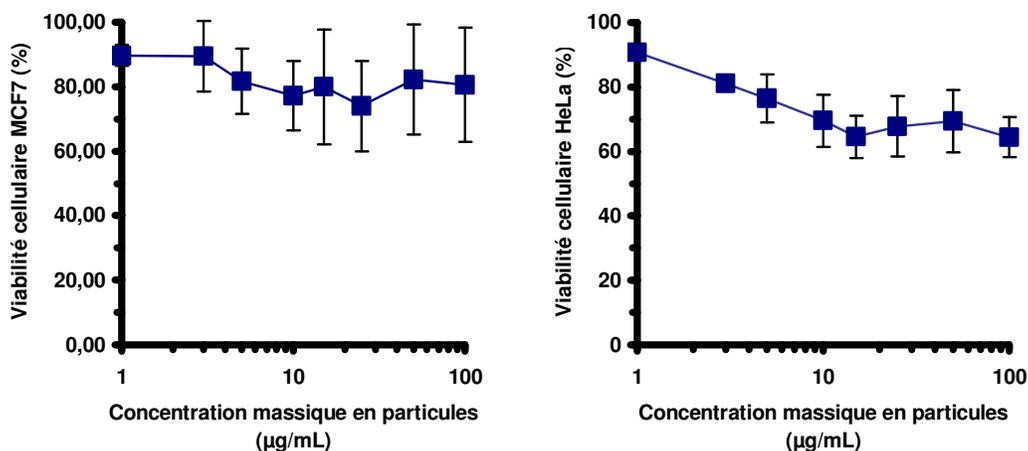


Figure 3.042 : Tests de viabilité cellulaire sur les lignées MCF-7 (a) et HeLa (b) après contact pendant 24 h avec des particules Janus obtenues par émulsion de Pickering.

Enfin, la Figure 3.043 présente les mêmes tests appliqués aux particules Janus obtenues par polymérisation en émulsion, mises en contact avec les deux types de cellules à des concentrations massiques comprises entre 5 et 100 µg/mL. Ces études montrent un taux de viabilité des cellules de type MCF-7 ou HeLa inférieur à 60 % pour toutes les concentrations testées. Cette différence de cytotoxicité par rapport aux autres lots de particules fonctionnalisées pourrait provenir de la présence

de styrène résiduel insuffisamment éliminé au cours des étapes de dialyse. Ces particules nécessiteraient donc une étape de purification supplémentaire par dialyse ou par extraction au soxhlet, afin de répondre aux critères que nous avons fixés quant à leur toxicité vis-à-vis des deux types de cellules utilisées.

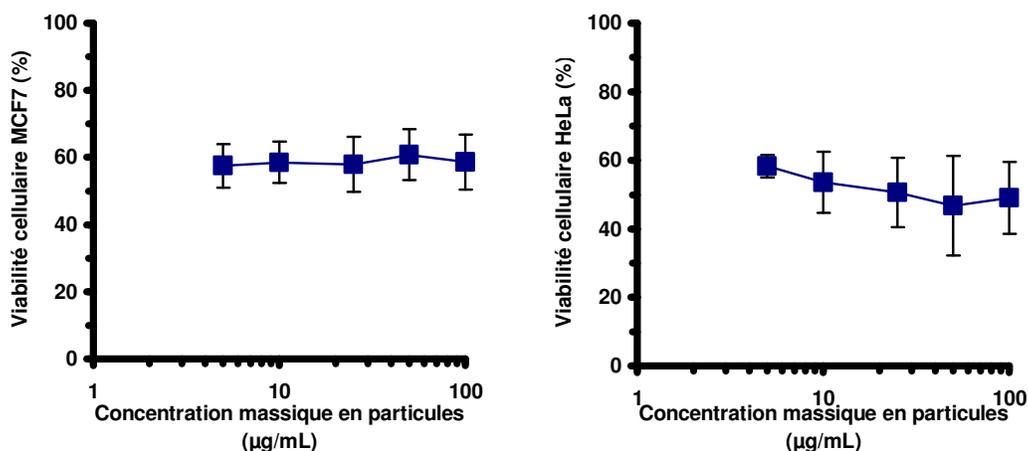


Figure 3.043 : Test de viabilité cellulaire sur les lignées MCF-7 et HeLa après contact pendant 24 h avec des nanoparticules de silice Janus obtenues *via* une réaction de polymérisation en émulsion.

L'objectif de cette partie était de déterminer les concentrations maximales auxquelles les tests d'Immunocytochimie (ICC) pourraient être réalisés, sans affecter la viabilité des cellules étudiées. Ces conditions sont variables en fonction de la nature des particules et des cellules considérées. En conclusion à cette partie, les tests de cytotoxicité sur les particules fonctionnalisées symétriques et Janus obtenues par émulsion de Pickering et modifiées en surface par le chromophore JOD256 /PEG A ne montrent pas de cytotoxicité importante, car les tests effectués montrent un plateau d'évolution de la cytotoxicité qui évolue très régulièrement et avec une pente faible. Les caractérisations en microscopie de fluorescence biphotonique étant à courte durée d'incubation, la cytotoxicité peut être considérée comme négligeable.

Concernant les particules Janus obtenues *via* une réaction de polymérisation en émulsion, leur cytotoxicité est légèrement plus élevée pour les cellules de type HeLa et MCF-7. Des résultats comparables ont été obtenus pour les particules de silice mésoporeuse encapsulant les chromophores biphotoniques synthétisés par V. Lebet.¹¹² Ces particules avaient nécessité une étape supplémentaire d'élimination du tensioactif résiduel à l'aide d'un extracteur Soxhlet.

8. Conclusion et perspectives :

L'objectif de ce chapitre était d'élaborer des particules Janus fonctionnalisées en surface par un chromophore biphotonique sur un hémisphère et par de l'acide folique, agent de reconnaissance des cellules de type HeLa.

Au cours de cette étude, nous avons montré qu'il est possible de greffer sélectivement l'un ou l'autre de ces composés sur l'un ou l'autre des hémisphères de nanoparticules de silice par deux méthodes différentes.

Les caractérisations spectroscopiques des particules symétriques et Janus synthétisées ont permis de valider le greffage de l'acide folique et du chromophore. Les études en TPEF sur chaque lot de particules ont montré des intensités de fluorescence détectables et ont révélé qu'il y a peu d'influence du type d'architecture des particules (symétrique / Janus) sur l'intensité de fluorescence normalisée. Les particules fonctionnalisées en surface présentent des signaux de fluorescence moins intenses que les particules de silice encapsulant un chromophore hydrosoluble synthétisées par V. Lebret.^{112,187}

Les particules synthétisées au cours de ce chapitre ont été soumises à des tests de cytotoxicité vis-à-vis de lignées cellulaires de type MCF7 et HeLa. Les tests ont révélé une faible toxicité pour ces cellules. Des concentrations-limites d'utilisation au cours des expériences de microscopie de fluorescence biphotonique ont pu être déterminées.

Des tests préliminaires de marquage de cellules HeLa dans des cocultures HeLa/MCF7 et leur observation en microscopie de fluorescence biphotonique ont été mis en œuvre. Des cocultures des lignées HeLa et MCF7 préalablement marquées par deux anticorps spécifiques (respectivement la vimentine et l'oestrogène) ont été observées en microscopie fluorescence monophotonique à 514 et 633 nm (*cf.* Figure 3.042 a) puis en microscopie de fluorescence biphotonique à 740 nm. Les différents types de cellules sont identifiables et émettent un faible signal en biphotonique en absence de particules.

Des cocultures de cellules de type MCF7 et HeLa préalablement marquées par des anticorps spécifiques mis en présence de particules Janus obtenues par émulsion de Pickering (100 µg/mL, traitement 1 h) ont été observées dans les mêmes conditions (Figure 3.042 b). Les particules émettent un signal intense et sont aisément identifiables. Les clichés de microscopie révèlent des problèmes d'agrégation lors de la préparation des tests de marquage cellulaire. Il est aussi difficile de nous prononcer quant à la reconnaissance cellulaire spécifique de ces particules. Des résultats similaires ont été obtenus avec les particules synthétisées par V. Lebret.

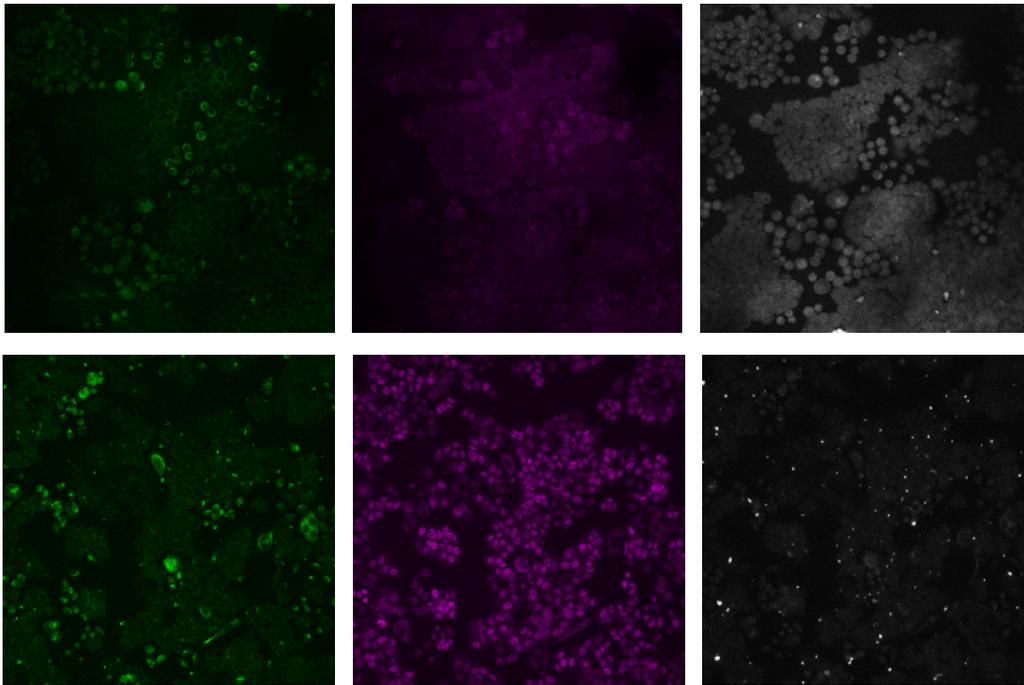


Figure 3.041 : Cocultures de cellules de type HeLa et MCF-7 observées par microscopie de fluorescence monophotonique à 514 nm (à gauche), à 633 nm (au milieu) et observées en microscopie de fluorescence biphotonique à 740 nm (à droite) en absence (a) et en présence (b) de particules Janus obtenues par émulsion de Pickering.

Les résultats d'observations en microscopie de fluorescence biphotonique des particules dont la synthèse a été décrite au cours de ce chapitre, sont encourageants. Le signal semble correct, bien qu'elles soient fonctionnalisées uniquement en surface. Afin d'étudier le marquage cellulaire, les problèmes d'agrégation des particules devront être résolus.

Etude de la nucléation contrôlée de latex polymère à la surface de nanoparticules d'oxyde pour l'élaboration de colloïdes hybrides structurés.

Conclusion générale

Au cours des deux premiers chapitres de ce manuscrit, nous avons décrit la synthèse de particules hybrides silice/polystyrène de morphologie originale et contrôlée constituées d'un cœur de silice par une étape de polymérisation par émulsion ou dispersion.

Dans le premier chapitre, l'étude sur le procédé de polymérisation en émulsion sans silice a permis de donner quelques éléments clés de l'étape de nucléation et du mode de croissance des particules de polystyrène. Ces expériences nous ont indiqué que la nature non-ionique du tensioactif était probablement responsable d'un phénomène de nucléation coagulative.

Des études de cryo-tomographie sur des colloïdes hybrides silice/polystyrène ont révélé qu'un phénomène de coagulation des nodules de polystyrène a aussi probablement lieu en surface des particules de silice. La valeur de l'angle de contact entre les phases organiques et inorganiques a pu être déterminée précisément. Celle-ci est constante au cours de la réaction, et les colloïdes adoptent leur configuration finale dès 20 % de conversion.

La variation du taux de greffage du MMS en surface des germes minéraux a permis l'obtention de colloïdes aux morphologies variées : cœur-écorce à taux élevé (10 fonction.nm⁻²), dissymétriques (5 fonction.nm⁻²) ou multipodes (3 fonction.nm⁻²). A faible taux de greffage (0,1 à 1 fonction.nm⁻²), les nodules de polystyrène n'ont pas semblé être suffisamment ancrés en surface des particules de silice pour résister aux forces de capillarité mises en jeu lors de la préparation des échantillons pour le MET. Des objets aux morphologies effondrées sur la grille ont ainsi été observés.

Enfin, des colloïdes de types tétrapodes ont été obtenus dans des conditions de conversion élevés (proche de 90%), et de rendements en morphologie satisfaisants, avec parfois 9 objets hybrides sur 10 correspondant à la morphologie visée par une méthode d'optimisation pas à pas décrite en fin de ce chapitre.

L'étude bibliographique donnée ainsi que les expériences menées dans le cas de la polymérisation en dispersion du styrène en milieu hydroalcoolique ont révélé des mécanismes complexes de nucléation et de croissance des particules de polymère. Un mécanisme de coagulation des particules a particulièrement été mis en évidence.

Ensuite, un bref état de l'art concernant les principales voies d'élaboration de particules hybrides par polymérisation en dispersion a attesté que les morphologies obtenues étaient des particules cœur-écorce ou de type framboise inverses (polymère au cœur stabilisé en surface par des particules minérales).

Trois paramètres contrôlant les morphologies des particules hybrides se sont avérés pertinents : le contrôle par la quantité de particules de silice introduite, le taux de greffage du MMS en leur surface et la nature du milieu dispersant. Les phénomènes de coagulation inter ou intraparticulaire des nodules de polystyrène induits par la variation de ces paramètres sont aussi particulièrement déterminants. Des colloïdes microniques de morphologies dissymétriques, framboises et framboises inverses, nodulaires et cœur-écorce ont ainsi été élaborés.

Enfin, le dernier chapitre est consacré à la valorisation de particules Janus obtenues par polymérisation en émulsion. Ces particules présentent des fonctionnalités vouées à la bio-imagerie, une partie de leur surface étant fonctionnalisée par un chromophore biphotonique et par un agent de reconnaissance cellulaire.

La synthèse de nouveaux vecteurs a été développée selon plusieurs voies et les études de leurs propriétés spectroscopiques et de cytotoxicité vis-à-vis des cellules cancéreuses d'intérêt ont été menées. Celles-ci ont révélé des problèmes de fluorescence faible et de toxicité pour certains colloïdes. En particulier, les particules ayant été élaborées par polymérisation en émulsion présentaient des cytotoxicités plus élevées, ceci étant probablement dû à du monomère résiduel dans les suspensions colloïdales. Des tests préliminaires de reconnaissance cellulaire et de leur observation par microscopie de fluorescence biphotonique encourageants ont enfin été présentés.

Les résultats des deux premiers chapitres offrent des perspectives particulièrement intéressantes. L'obtention de colloïdes de morphologie originale est possible dans des conditions optimisées. L'organisation de telles particules en cristaux photoniques ou leurs études en tant que colloïdes modèles (colloïdes particuliers) est à présent envisageable.

Les études sur les particules Janus ont montré que les étapes de synthèse et de fonctionnalisation sont valides. Des étapes d'optimisation des taux de greffage des différents composants doivent être cependant entreprises en vue de l'application visée.

Etude de la nucléation contrôlée de latex polymère à la surface de nanoparticules d'oxyde pour l'élaboration de colloïdes hybrides structurés.

Annexes

A.001 : Synthèse de particules de latex de polystyrène avec ajout d'amorceur en fin de polymérisation :

Une polymérisation en émulsion du styrène a été réalisée selon le protocole A.001-2. Une solution aqueuse de persulfate de sodium a été ajoutée au bout de 20 h, afin d'obtenir un taux de conversion proche de 100 %. La figure A.001-2 présente la courbe de conversion du styrène. Elle montre un taux de conversion final de 75 %. Les particules de latex obtenues ont été observées en MET. Le diamètre moyen des particules calculées sur la base de clichés, sur 100 particules est de 259 nm (écart-type 24 nm).

Protocole A.001-1 : Polymérisation en émulsion du styrène dans l'eau avec ajout d'amorceur en fin de polymérisation :

Dans un ballon tricolis muni d'un barreau aimanté surmonté d'un réfrigérant, muni d'un agitateur magnétique, 100 mL d'eau ultrapure (18,2 M Ω , Direct Q millipore), 2 mL d'une solution aqueuse de Synperonic NP30 (Fluka) de concentration massique de 150 g.L⁻¹, et 11 mL de styrène (Sigma-Aldrich, 99%), préalablement passé sur colonne d'alumine afin de fixer le 4-tert butylcathécol, sont introduits. Le mélange est dégazé sous courant d'azote pendant 1 h sous agitation à 250 rpm. Le système est ensuite porté à la température 70°C, puis 1 mL d'une solution aqueuse contenant 50 mg de persulfate de sodium (Fluka, $\geq 99,0\%$) est injecté, instant correspondant au t_0 de la polymérisation. Des prélèvements de 2 mL effectués sous courant d'azote, dans lesquels sont introduits quelques μg d'hydroquinone (Sigma, $> 99\%$), inhibiteur de la polymérisation, sont placés quelques minutes au réfrigérateur. Après 20 h de réaction, une solution aqueuse composée de 25 mg de persulfate de sodium et de 2 mL d'eau ultrapure est injectée à la seringue sous atmosphère inerte. La conversion du monomère est suivie par analyse thermogravimétrique : 1000 μL de chaque échantillon prélevé sont introduits dans une coupelle en aluminium et placés dans une étuve portée à 95°C. La différence de masse entre la coupelle avant introduction de l'échantillon et après traitement thermique correspond à la masse de polymère formé et du NP30. Le diamètre des particules de latex est évalué statistiquement à l'aide de clichés de MET (JEOL 2000, tension d'accélération 200 kV), sur environ 200 particules.

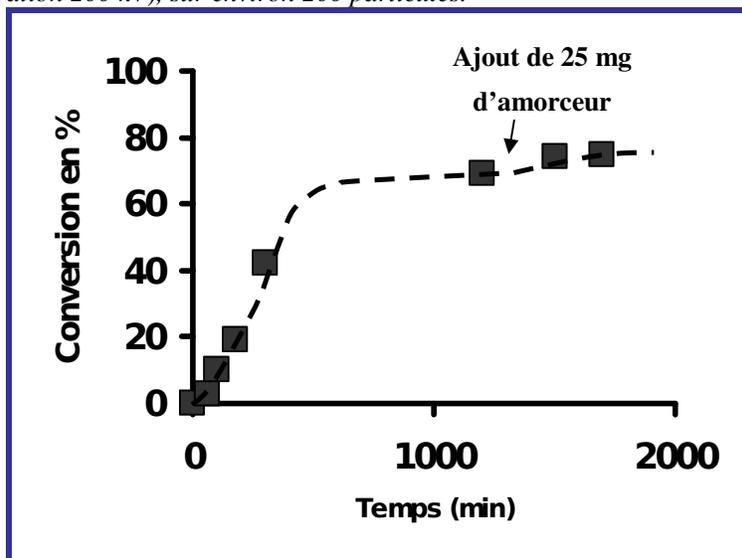


Figure A.001-2 : Conversion du styrène dans une polymérisation en émulsion selon le protocole A.001-1. Taux de conversion final 75 %, diamètre moyen des particules 255 nm.

A.002 : Synthèses des particules de silice

Les précurseurs inorganiques utilisés au cours de cette thèse ont été élaborés selon le procédé sol-gel, par hydrolyse et condensation du tétraéthoxysilane (TEOS) en milieu hydroalcoolique basique. Les particules dont le diamètre est compris entre 90 et 550 nm ont été synthétisées suivant le protocole A.002-1, où tous les réactifs ont été introduits au début de la réaction¹⁸⁸. Les particules de silice de 1350 nm de diamètre ont été obtenues selon le protocole A.002-2, où un mélange de TEOS et d'éthanol est ajouté en continu pendant toute la durée de la synthèse¹⁸⁹. Enfin les particules de silice de 650 nm ont été obtenues par croissance de particules de 330 nm dispersées en milieu hydroalcoolique basique, par addition continue d'un mélange de TEOS et d'éthanol selon le protocole A.002-3. Les quantités des différents réactifs pour chaque type de particules sont répertoriées dans le tableau A.002-4. Les particules ont été observées en MET et leur diamètre a été évalué statistiquement sur une centaine de particules.

Protocole A.002-1 : Synthèse de particules de silice en réacteur fermé :

Dans un ballon, préalablement lavé par une solution aqueuse d'acide fluorhydrique (J.T. Baker, 38 % massique), équipé d'un agitateur magnétique (vitesse d'agitation à 700 rpm) sont introduits E mL d'éthanol absolu (Rectapur, VWR) et N mL d'une solution aqueuse d'ammoniaque (J.T. Babker, 28-32 % massique). Quand la température T est atteinte, P mL de TEOS (Aldrich 98%) sont introduits promptement. Le tout est laissé sous agitation pendant 24 h. L'ammoniaque est ensuite éliminée à l'évaporateur rotatif, jusqu'à pH neutre.

Protocole A.002-2 : Synthèse de particules de silice de 1350 nm de diamètre :

Dans un ballon tricol, équipé d'une entrée d'azote et d'un agitateur magnétique sont introduits 100 mL d'éthanol absolu et 20 mL d'une solution aqueuse d'ammoniaque. Dans une seringue sont introduits 10 mL de TEOS et 40 mL d'éthanol absolu. Le tout est additionné goutte-à-goutte à la vitesse de 8,1 mL.h⁻¹ sous atmosphère inerte à température ambiante. L'ammoniaque est ensuite éliminée à l'évaporateur rotatif, jusqu'à pH neutre.

Protocole A.002-3 : Synthèse de particules de silice de 650 nm de diamètre :

Dans un ballon préalablement lavé une solution aqueuse d'acide fluorhydrique, équipé d'un agitateur magnétique (vitesse d'agitation à 300 rpm) et d'une entrée d'azote, sont introduits 250 mL d'une dispersion hydroalcoolique basique contenant 1 g de particules de 330 nm de diamètre. Dans une seringue sont introduits 25 mL de TEOS et 25 mL d'éthanol absolu. Le tout est additionné goutte-à-goutte sous atmosphère inerte à l'aide d'un pousse-seringue, à la vitesse d'addition de 8,1 mL.h⁻¹. L'ammoniaque est ensuite éliminée à l'évaporateur rotatif, jusqu'à pH neutre.

¹⁸⁸ W.Stöber, A.Fink, E. Bohn, *J.Colloid Interface Sci.*, 26, 62-69 (1968).

¹⁸⁹ S.Kang, S.I. Hong, C.R. Choe, M. Park, S. Rim, J. Kim, *Polymer*, 42, 879-888 (2001).

Lot	Diamètre des particules (nm) et écart-type	Volume d'éthanol (E) en mL	Volume d'ammoniaque (N) en mL	Volume de TEOS (P) en mL	Température (°C)
I	170 (20)	500	35	15	20
II	125 (9)	500	35	15	30
III	92 (10)	500	35	15	39
IV	105 (8)	500	35	17	40
V	90 (7)	500	35	15	40
VI	1350 (90)	140	20	10	20
VII	650 (50)	255	20	25	20
VIII	330 (35)	400	37,5	15	20
IX	550 (42)	187	27 (+18 mL d'H ₂ O)	14	20
X	250 (20)	400	37,5	15	25

Tableau A.002-4 : Quantités des différents réactifs employés pour la synthèse de particules de silice.

A.003 : Synthèse de colloïdes hybrides de morphologie tétrapodes (EH1 à EH9) :

Les synthèses ont été effectuées selon le protocole PI.003 avec des particules de silice du lot n°19. La température de synthèse et la concentration en monomère ont été fixées respectivement à 80°C et 88 g.L⁻¹ ($\gamma = 11$). Le taux de conversion final a été déterminé par analyse thermogravimétrique sur quelques mL du latex obtenu au bout de 3 h. Les colloïdes obtenus furent observés par MET. Les quantités des différents réactifs sont recensées dans le tableau A.003-1.

Expérience	EH1	EH2	EH3	EH4	EH5	EH6	EH7	EH8	EH9
m_{SiO2} (mg)	100	100	130	130	260	260	260	260	300
m_{amorceur} (mg), z	13	13	13	25	25	25	50	50	25
V_{p30} (mL), x	1	2	2	2	2	4	2	4	2

Tableau A.003-1 : Masse de silice, amorceur et volume de solution aqueuse de tensioactif (150 g.L⁻¹) utilisés dans les expériences EH1 à EH9. La température de synthèse a été fixée à 80°C et la concentration en monomère à 88 g.L⁻¹.

A.004 : Fonctionnalisation des particules de silice :

Les précurseurs inorganiques ont été modifiés en surface avec du MMS par des réactions d'hydrolyse et de condensation en milieu hydroalcoolique basique. Le protocole A.004-1 décrit les différentes étapes nécessaires à la fonctionnalisation des particules de silice, le Tableau A.004-2 présente les conditions expérimentales pour les différents lots.

Protocole A.004-1 : Fonctionnalisation de particules de silice par le MMS:

Dans un ballon tricol de 250 mL de capacité surmonté d'un réfrigérant et muni d'un agitateur magnétique, sont introduits 100 mL de particules de silice dispersées dans l'éthanol absolu (Rectapur, VWR) de concentration massique *C* et 20 mL de solution aqueuse d'ammoniaque (J.T. Baker, 28-32% massique). A l'aide de micropipettes les volumes *V* de MMS (A.B.C.R.) sont injectés dans le ballon. Les mélanges ont été laissés sous vive agitation (800 rpm) à température ambiante pendant *t* heures. Pour certains lots de particules, une étape de chauffage à 90°C du mélange pendant 1 h a été mise en oeuvre. L'ammoniaque est ensuite éliminée par évaporateur rotatif et les particules sont lavées par trois cycles de centrifugation/redispersion dans l'éthanol absolu ou par dialyse contre l'eau pendant 4x24 heures.

Lot n°	Taux de greffage nominal (f.nm ⁻²)	Diamètre silice (nm)	Volume (V) de MMS en µL	Concentration silice (C) en g.L ⁻¹	Durée (t) en heures	Mode de purification	Etape de chauffage à 90°C
1	0,1	170	60 (MMS 1% vol.)	8	3	Dialyse	Oui
2	0,1	125	70 (MMS 1% vol.)	7	3	Dialyse	Oui
3	1	125	7	7	3	Dialyse	Oui
4	3	125	21	7	3	Dialyse	Oui
5	5	125	35	7	3	Dialyse	Oui
6	10	125	70	7	3	Dialyse	Oui
7	9	1350	8	10	3	Centrifugation	Oui
8	9	650	17	10	3	Centrifugation	Oui
9	3	250	10	7	3	Centrifugation	Oui

10	3	330	9	8	3	Centrifugation	Oui
11	0,1	330	30 (MMS 1% vol. dans l'éthanol)	8	96	Centrifugation	Non
12	0,5	330	150 (MMS 1% vol. dans l'éthanol)	8	96	Centrifugation	Non
13	1	330	300 (MMS 1% vol. dans l'éthanol)	8	96	Centrifugation	Non
14	3	330	9	8	96	Centrifugation	Non
15	10	330	30	8	96	Centrifugation	Non
16	100	330	300	8	96	Centrifugation	Non
17	4	550	5	6	3	Centrifugation	Oui
18	5	650	7	8	3	Centrifugation	Oui
19	1,5	92	16	8	3	Dialyse	Oui

Tableau A.004-2 : Quantités des différents réactifs employés pour la fonctionnalisation des différents lots de particules de silice.

A.005 : Synthèses du PEG A et du PEG B.

Les Figures A.005-1 et A.005-2 présentent respectivement les schémas de synthèse du PEG A et PEG B. Ces deux synthèses reposent sur la formation d'un pont urée par réaction entre un PEG comportant une fonction amine et un dérivé silane comportant une fonction isocyanate. Le protocole de synthèse est donné en A.005-3.

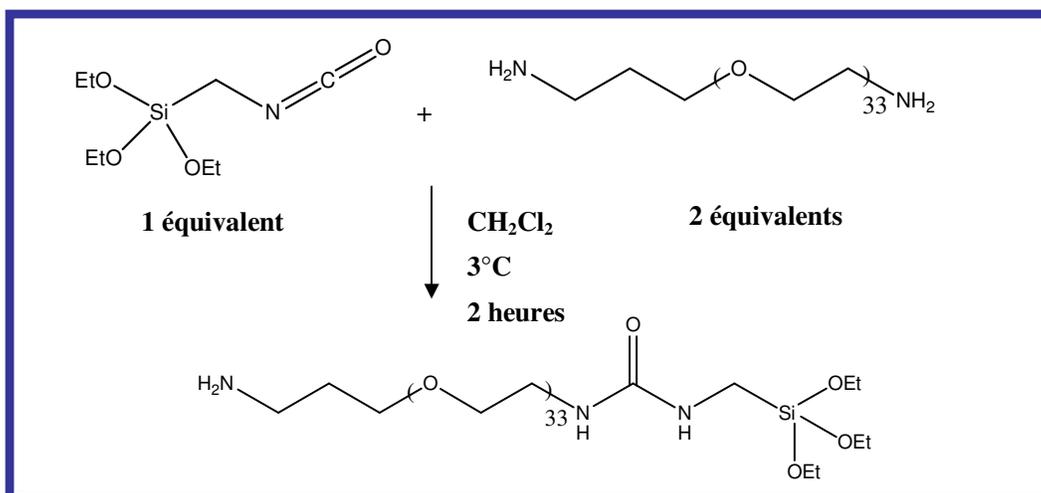


Figure A.005-1: Synthèse du PEGA ($1500\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$).

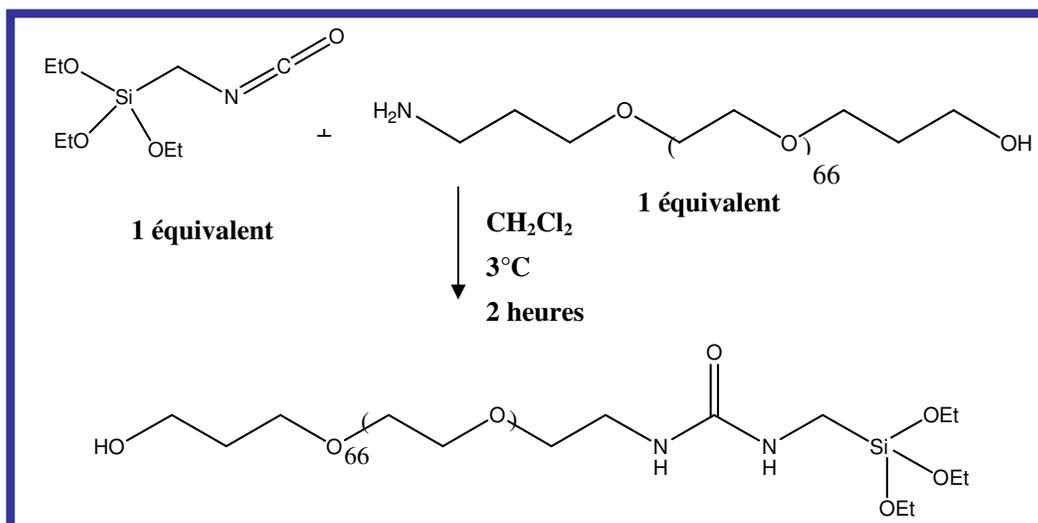


Figure A.005-2: Synthèse du PEGB ($3000\text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$).

Protocole A.005-3: Synthèse du PEG A (et du PEG B).

Cent mg de poly(éthylène glycol) bis amino téléchélique (Aldrich) ont été dissous dans 20 mL de dichlorométhane ($\geq 99\%$, Fluka) et introduits dans un ballon de 50 mL. Le

mélange a été placé dans un bain glacé (2-3°C) et soumis à une agitation vigoureuse (500 rpm). 6 µL de 3-isocyanatopropyltriéthoxysilane (95%, Aldrich) dilués dans 10 mL de CH₂Cl₂ ont été ajoutés goutte-à-goutte. Après 2 h de réaction, 10 mL d'éthanol absolu (Rectapur, VWR) ont été injectés. Un solide jaune pâle est récupéré après séchage sous vide. Un spectre d'absorption dans l'infrarouge a été effectué en élaborant une pastille de KBr contenant 3 mg du polymère.

Le protocole de synthèse du PEG B est strictement identique. Le poly(éthylène glycol) bisaminotéléchélique a été remplacé par le O-2-aminoéthylpoly(éthylène glycol) (Sigma Aldrich).

A.006 : Synthèse du NHS-Folate.

L'activation de l'acide folique en NHS-Folate a été effectuée selon le protocole A.006-1.

Protocole A.006-1: Activation de l'acide folique en NHS-Folate.

Dans un ballon de 250 mL muni d'un agitateur magnétique ont été introduits 5 g d'acide folique (98%, Sigma Aldrich), 100 mL de diméthylsulfoxyde anhydre (≥99.9 %, Aldrich), 2,5 mL de triéthylamine (≥ 99 %, Aldrich), 2,6 g de N-hydroxysuccinimide (98%, Aldrich) et 4,7 g de N,N'-dicyclohexylcarbodiimide (99%, Aldrich). Le mélange a été agité à 250 rpm pendant 12 h à température ambiante. Le dicyclourée, sous-produit de la réaction, a été filtré. Le solide jaune a ensuite été précipité, lavé trois fois dans le diéthyléther anhydre (≥99 %, Aldrich) et séché sous vide.

Etude de la nucléation contrôlée de latex polymère à la surface de nanoparticules d'oxyde pour l'élaboration de colloïdes hybrides structurés.

Remerciements

Remerciements :

Voici venu le temps pour moi d'écrire le paragraphe souvent très attendu des remerciements. J'aurais pu opter pour l'originalité et écrire par exemple une page de non remerciements. Cependant après un bref calcul plus qu'approximatif, il s'est avéré que le nombre de personnes concernées était de l'ordre du milliard (proche de six pour être plus précis). Je vais ici tenter de rendre honneur à toutes les personnes qui m'ont aidé au cours de ces trois années, sans originalité donc, mais avec beaucoup de sincérité que j'espère nécessaire et suffisante.

Je tiens d'abord à remercier M. Claude Delmas pour m'avoir accueilli au sein de l'Institut de Chimie de la Matière Condensée de Bordeaux, ainsi que M. Phillippe Barois et M. Phillippe Richetti, pour leur accueil au Centre de Recherche Paul Pascal.

Mes remerciements vont aussi à M. Laurent Billon et M. Patrick Lacroix-Desmazes pour avoir accepté d'être rapporteurs de ce travail et pour leur contribution à son jugement. Je remercie aussi Me Elodie Bourgeat-Lami et M. Jean-Olivier Durand pour m'avoir fait l'honneur de faire partie du jury.

Je remercie aussi naturellement mes directeurs de thèse Etienne Duguet et Serge Ravaine. La confiance qu'ils ont manifestée à mon égard et leurs conseils à tous niveaux me serviront bien au-delà de ces quelques années de travaux communs. Leur bonne humeur, leur grande disponibilité et leur « féroce » sens de l'humour m'ont permis de réellement apprécier cette expérience de recherche. Je leur en suis de plus très reconnaissant de m'avoir aidé dans la rédaction de ce manuscrit.

Je remercie aussi Adeline Perro d'avoir pris le temps de me former au sujet pendant un an, je lui souhaite par la même occasion le meilleur pour la suite. Parmi mes plus proches collaborateurs viennent aussi les stagiaires avec qui j'ai eu le plaisir de travailler : N. Lorber (en 2007) et Nicolas L. (en 2008, mon préféré).

La plupart des résultats de cette thèse ont été obtenus avec l'aide précieuse d'Elizabeth Sellier, Michel Martineau et Sonia Gomez du CREMEM et d'Olivier Lambert et Jean-Christophe Tavaeau du CBMN. Un grand merci pour leur contribution en microscopie électronique.

De part le caractère pluridisciplinaire d'une partie de ces travaux, j'ai eu le plaisir de travailler avec différentes équipes de recherche à qui j'exprime toute ma reconnaissance : Martijn Werts, Raissa Praho et Mireille Blanchard Desce de l'équipe Photonique Moléculaire à Rennes , Catherine Dubernet et Delphine Methy de l'équipe Physico-Chimie, Pharmacotechnie, Biopharmacie

de l'Université de Paris XI, Jean-Olivier Durand, Valérie Lebret et Laurence Raehm de l'équipe Chimie Moléculaire et Organisation du Solide à Montpellier.

Ayant eu la chance de travailler au sein de deux laboratoires, j'ai une pensée émue pour tous les membres du CRPP et de l'ICMCB. L'atmosphère chaleureuse qui y règne a largement contribué au plaisir que j'ai éprouvé à travailler pendant ces trois années : je remercie particulièrement Béatrice, Stéphane Gineste, Véronique, Mbolo et Will , ainsi que Stéphane Toulin, Patrick Rosa et Nathalie Daro et mes amis thésards : Jeff, Mathieu, Pascal, Elias, Manu, Popo, Manu Arvieux, Glenn, Denis, Cathel, Fred, Chérif, Rémy, Clément.

Un très grand merci au groupe 5, et particulièrement à l'ex-groupe hybrides dans lequel j'ai pu m'épanouir et faire quelques boulettes (inondation, perte de clés...) : MHD, Graziella, Mona, Stéphane, Lydia, Guy, Lucille, Céline, Romain, Sandrine, Nico, Anne, Mathieu et Séb (les têtes de mort), Dae Hoon, Sonia, Iyaad et Anthony à qui je souhaite bonne chance et aussi à tous les membres de l'AdoC, qui m'ont permis de vivre ma première expérience associative.

Merci également à Kamel, Phillippe-Maurice et leur petite soeur Marle Boreau pour leur aide pendant la rédaction de ce manuscrit. J'envisage cependant de bientôt me passer de vos « chers » services (qui n'en sont pas finalement). Il va sans dire que je remercie Jacques Daniels, Heine Quennes, Jinh Kaas et Caro Nembourg, dont je crois avoir abusé de leur chaleureuse convivialité au cours de différentes soirées. Nous nous reverrons sans doute bien assez tôt. Pour finir, j'aimerais adresser un big up général à Brian et tous ses tontons : Bouk, Mat, Tibal, Ludal, Aline (j'ai pas crié), William et Rima. Merci aussi à Grut pour son aide en Allemagne et Adrien pour avoir pollué mes manip.

J'ai une pensée pour ma famille pour m'avoir soutenu tout le long de mes études entre autres. Merci Fanny pour son soutien, et sa patience à qui je promets de ne plus perdre mes clés (pour les papiers je peux rien te promettre, je ne me sens pas encore prêt).

Résumé :

Des colloïdes à base de silice et de polystyrène ont été synthétisés. Les particules d'oxyde ont d'abord été élaborées et modifiées en surface, puis ont servi de germes au cours d'une étape de polymérisation du styrène. Deux procédés de polymérisation en phase hétérogène ont été utilisés (émulsion ou dispersion) menant à des colloïdes aux morphologies originales et contrôlées. Une étude morphologique par tomographie électronique a permis de mieux comprendre les mécanismes de croissance et d'organisation des particules de latex autour des germes de silice.

La synthèse de particules Janus pour l'imagerie biomédicale est aussi décrite. Ces particules de silice ont été modifiées en surface par un chromophore biphotonique et un agent de reconnaissance de certaines cellules tumorales. Des études spectroscopiques et des tests de cytotoxicité ont été entrepris.

Mots clés :

- Colloïdes hybrides
- Polymérisation ensemencée
- Dispersion
- Cryo-tomographie électronique
- Particules Janus
- Imagerie biomédicale
- Emulsion

Title : Study of polymer latex controlled nucleation on oxide nanoparticles surfaces to the development of structured hybrid colloids.

Abstract :

Hybrid colloids based on silica and polystyrene have been synthesized. Oxide particles were first elaborated, surface modified, and then used as seed in a styrene polymerization step. Two heterogeneous polymerisation proceeds were employed (emulsion or dispersion) leading to colloids with original and controlled morphologies. A morphological study by electronic tomography enabled to better understand growth and organisation mechanisms of latexes around silica seeds.

Janus particles synthesis for biomedical imaging is also described. Silica particles were surface modified with a biphotonic chromophore and a tumor cells targeting agent. Spectroscopic studies and cytotoxicity tests were investigated.

Keywords :

- Hybrid colloids
- Seeded polymerisation
- Emulsion
- Dispersion
- Janus particles
- Electronic cryo-tomography
- Biomedical imaging