



HAL
open science

Préparation et auto-assemblage de nanobâtonnets fonctionnalisés pour la photo oxydo-réduction catalytique

Cyrille Hamon

► **To cite this version:**

Cyrille Hamon. Préparation et auto-assemblage de nanobâtonnets fonctionnalisés pour la photo oxydo-réduction catalytique. Autre. Université de Rennes, 2013. Français. NNT : 2013REN1S056 . tel-01214746

HAL Id: tel-01214746

<https://theses.hal.science/tel-01214746>

Submitted on 19 Oct 2015

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.



THÈSE / UNIVERSITÉ DE RENNES 1
sous le sceau de l'Université Européenne de Bretagne

pour le grade de
DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE RENNES 1

Mention : Chimie

Ecole doctorale Sciences de la Matière

présentée par

Cyrille Hamon

Préparée à l'unité de recherche 6226 SCR
Sciences Chimiques de Rennes
ICMV, Ciblage et Auto-assemblages Fonctionnels

**Préparation et auto-
assemblage de
nanobâtonnets
fonctionnalisés appliqué
à la photo oxydo
réduction catalytique**

**Thèse soutenue à Rennes
le 11 octobre 2013**

devant le jury composé de :

Peter Reiss

Directeur de recherche CEA, Grenoble / *rapporteur*

Serge Ravaine

Professeur CRPP, Bordeaux / *rapporteur*

Eric Lafontaine

Représentant DGA MRIS, Bagnoux / *examineur*

Serge Palacin

Directeur de recherche CEA, Saclay / *examineur*

Oleg Gang

Chercheur BNL, New York, USA / *examineur*

Philippe Hapiot

Directeur de recherche CNRS, SCR/ *examineur*

Valérie Marchi

Directrice de recherche CNRS, SCR/ *directeur de thèse*

Pascale Even-Hernandez

Maitre de conférence, SCR/ *co-directeur de thèse*

Je souhaite remercier en premier lieu Valérie pour m'avoir accueilli dans son laboratoire dès le stage de master 2. La liberté d'entreprendre, ainsi que les nombreux échanges fructueux ont finis de me convaincre de poursuivre en thèse dans le même laboratoire. Je ne le regrette pas ! Merci aussi de m'avoir permis de voyager à travers la France. Merci également à Pascale qui nous a rejoints plus tard dans le laboratoire et avec qui j'ai partagé le bureau durant presque trois ans.

Je remercie également les membres du jury, plus particulièrement Serge Ravaine et Peter Reiss qui ont accepté la lourde tâche d'être rapporteurs de ce travail et à Éric Lafontaine, Serge Palacin, Oleg Gang (thanks) et Philippe Hapiot pour leur rôle d'examineur.

Durant ces trois années (plus les 6 mois de stage), j'ai travaillé plus ou moins étroitement avec Thomas, futur docteur également, je souhaite ici le remercier ainsi que Benoît qui nous a rejoints il y a un an, bonne chance pour la suite !

Ce travail de thèse a été réalisé en collaboration avec de nombreuses équipes. Merci en premier lieu aux personnes de l'institut de physique de Rennes, Franck Artzner pour son expertise de premier plan en SAXS, Christelle Meriadec pour les SAXS et l'XPS ainsi que Laurent Courbin et Pascal Panizza pour leurs très agréables conversations. Je voudrais remercier plus particulièrement Marie Postic avec qui j'ai travaillé étroitement dans la mise en forme des assemblages multi-échelles de bâtonnets d'or. Merci à Charlie Gosse, Elsa Mazari, Christophe Dupuis et Ludovic Largeau pour les caractérisations de microscopies électroniques au LPN à Marcoussis. Merci à Elisabeth Lojou et Marie Thérèse Giudici-Ortoni pour m'avoir accueilli durant 4 semaines dans leur laboratoire à Marseille et initié à la biochimie et à l'électrochimie. Ce travail aurait été beaucoup plus difficile sans les connaissances et l'amitié d'Alexandre Ciaccafava. Je remercie également Alexandre (Alex), Magalie, Clément, Édouard et Pascale pour m'avoir fait découvrir la ville durant ces séjours. Je souhaite également remercier Carole Aimé avec qui nous avons démarré une collaboration fructueuse sur la synthèse d'hétérostructures. Je remercie également Cyril Martini qui est venu de nombreuses fois pour la préparation des échantillons et qui était présent au début et à Hugo Voisin qui a pris le relais. Merci à Agnès Burel pour m'avoir appris à manipuler le microscope électronique à transmission de la plateforme de l'Université Rennes 1 et pour ces agréables moments de caractérisations. Je souhaite remercier Serge Ravaine pour m'avoir accueilli quelques jours dans son laboratoire pour les caractérisations optiques des assemblages. J'y ai eu l'agréable surprise de travailler avec Miguel et Paula, j'espère que nos routes se croiseront à nouveau.

D'un point de vue personnel, je tiens à remercier Nico, Gerald, François, Benoît, Sandrine, Patrice, Thomas, Céline, Cristelle, Elisabeth, Fabienne, Martinus, Amor, Shoukri, Phillippe et Federico avec qui j'ai mangé le midi et visité les rues assoiffées de Rennes.

Merci à mes parents et mon frère pour leur soutien.

Merci à Mélissa qui me pousse chaque jour en avant...

Et à tous ceux qui prendront plaisir à lire ce manuscrit !

Table des matières

Chapitre 1 : Contexte et état de l'art.....	9
1) Introduction	10
2) Propriétés des photosensibilisateurs de taille nanométrique.....	12
2.1) Propriétés générales des nanocristaux	13
2.2) Choix des photosensibilisateurs.....	21
2.3) Synthèse des nanocristaux	23
3) Des catalyseurs pour le développement de la filière hydrogène.....	27
3.1) Problématique : Trouver une alternative à l'utilisation du platine.....	27
3.2) Catalyseurs envisagés dans ce travail.....	27
4) Fonctionnalisation chimique.....	29
4.1) Stabilité d'une suspension de colloïdes.....	30
4.2) Stratégies de fonctionnalisation	30
5) De la synthèse de nanoparticules fonctionnelles à l'obtention de nouvelles propriétés collectives.....	34
5.1) Propriétés « cristal liquide » des bâtonnets envisagés dans ce travail	35
5.2) Auto-assemblages assistés par un champ de force.	37
5.3) Auto-assemblages en solution.....	38
5.4) Auto-assemblages dirigés par un moule.	39
6) Choix du système et présentation de la méthodologie.....	41
Chapitre 2 : Fonctionnalisation des nanocristaux.....	45
2.1) Fonctionnalisation de nano-bâtonnets d'or.	46
2.1.1) Introduction et état de l'art.	46
2.1.2) Echange du CTAB par des alcanethiols PEGylés en vue de préparer des assemblages obtenus par séchage.	47
2.1.3) Fonctionnalisation des bâtonnets d'or par des peptides PEGylés.....	50
2.2) Fonctionnalisation de Quantum Rods CdSe@CdS dans l'eau par des peptides.....	67

-Table des matières-

2.2.1) Introduction et état de l'art.	67
2.2.2) Echange des ligands de synthèse par le peptide $C_3A_{11}E_4CO_2H$	68
2.2.3) Comparaison des propriétés photo-catalytiques des QR fonctionnalisés avec le peptide $C_3A_{11}E_4CO_2H$ (long) et le peptide C_3E_6D (court) ($i=f(t)$).	72
2.2.4) Conclusion sur la fonctionnalisation de QR par des peptides.....	74
3) Conclusion générale.....	76
Chapitre 3 : assemblage hiérarchique des nanocristaux.....	79
3.1) Auto-assemblage des bâtonnets d'or	80
3.1.1) Introduction et état de l'art	80
3.1.2) Caractérisation morphologique des bâtonnets d'or utilisés dans ce travail.	80
3.1.3) Séchage d'une goutte	81
3.1.4) Utilisation d'un moule de PDMS pour guider le séchage	84
3.1.5) Contrôle de la géométrie des assemblages.....	92
3.1.6) Cas des bâtonnets fonctionnalisés par le CTAB	93
3.1.7) Conclusion.....	93
3.2) Caractérisation <i>in situ</i> des propriétés optiques des bâtonnets d'or auto-assemblés.....	95
3.2.1) Propriétés des bâtonnets en solution.	96
3.2.2) Mesures des propriétés optiques de bâtonnets séchés sans le moule de PDMS.....	96
3.2.3) Mesures des propriétés optiques de bâtonnets séchés avec le moule de PDMS.	99
3.2.4) Conclusion.....	100
3.3) Séchage de bâtonnets semi-conducteurs CdSe@CdS (QR) grâce à la surface décorée en PDMS.	102
3.3.1) Caractérisation morphologique des QR.....	103
3.3.2) Auto-assemblage des QR peptides.....	103
3.3.3) Conclusion.....	106
3.4) Conclusion générale.....	108
Chapitre 4 : Réactions d'oxydo-réduction photo-induites (photorédox) utilisant les QR_CdSe@CdS.	111
4.1) Optimisation du rapport d'aspect des QR : photoréduction d'une sonde fluorescente Ox/Red hydrosoluble.....	112
4.1.1) Introduction et état de l'art.	112
4.1.2) Caractérisation et choix des QR utilisés dans cette étude.....	114
4.1.3) La résazurine : une sonde rédox originale	115
4.1.4) Criblage des propriétés photorédox de QR de rapports d'aspect différents.	115

4.1.5) Conclusion.....	117
4.2) Réduction de sels de benzènediazonium: Intérêt pour la post-fonctionnalisation.....	119
4.2.1) état de l'art et objectifs	119
4.2.2) Préparation et stabilité du sel de benzènediazonium.....	121
4.2.3) Caractérisation du greffage photo-induit.....	121
4.2.4) Post-Fonctionnalisation des QR-AD	127
4.2.5) Conclusion.....	129
4.3) Synthèse d'hétérostructures semiconductrices/métalliques de type « Janus ».....	131
4.3.1) Introduction et état de l'art	131
4.3.2) Synthèse des hétérostructures	131
4.3.3) Méthodologie adoptée pour suivre la réaction de réduction photo-induite	133
4.3.4) Formation de QR décorés de plusieurs nuclei d'or	140
4.3.5) Conclusion.....	143
4.3.6) Synthèse d'hétérostructures QR/Au « Janus ».....	144
4.3.7) Conclusion.....	152
4.4) Conclusion générale.....	154
Chapitre 5 : Assemblages QR/Hydrogénase pour le développement de la « filière hydrogène »...	156
5.1) L'hydrogénase d' <i>Aquifex aAeolicus</i> : un modèle pour le développement de biopile à combustible H ₂ /O ₂	157
5.1.1) Introduction et état de l'art	157
5.1.2) Présentation du montage à trois électrodes utilisé dans ce travail	157
5.1.3) Interaction entre <i>Aquifex aAeolicus</i> et la lumière.....	158
5.1.4) Conclusion.....	163
5.2) Formation d'un complexe Hase/QR et comportement sous irradiation.....	164
5.2.1) Etat de l'art sur l'assemblage d'Hases et de nanoparticules semi-conductrices	164
5.2.2) Formation du complexe QR@Hase et caractérisation par électrophorèse sur gel d'acrylamide.....	165
5.2.3) Etude du complexe QR@Hase en électrochimie	168
5.2.4) Conclusion.....	174
5.3) Conclusion générale.....	175
7) Conclusion générale et Perspectives de ce travail	177
8) Partie Expérimentale.....	181

-Table des matières-

7.1) Synthèse et fonctionnalisation des nanocristaux et des hétérostructures	182
7.1.1) Synthèse des particules métalliques	182
7.1.1.1) Synthèse de nanoparticules d'or sphérique	182
7.1.1.2) Synthèse de nanobâtonnets d'or	182
7.1.2) Fonctionnalisation des particules métalliques	183
7.1.2.1) Or sphérique	183
7.1.2.2) Bâtonnets d'or.....	183
7.1.3) Synthèse de bâtonnets semi-conducteurs CdSe@CdS.	184
7.1.3.1) Synthèse des germes de CdSe.....	184
7.1.3.2) Synthèse de la coquille CdS pour obtenir des bâtonnets CdSe@CdS	185
7.1.4) Fonctionnalisation des bâtonnets semi-conducteurs dans l'eau	187
7.1.5) Synthèse d'hétérostructures CdSe@CdS/Au.....	188
7.1.5.1) Synthèse d'hétérostructures CdSe@CdS décorée avec un domaine d'or prédominant	190
7.1.5.2) Hétérostructures CdSe@CdS/Au décorées de nuclei (n°3)	190
7.1.5.3) Synthèse et greffage en une seule étape de brins d'ADN sur les hétérostructures	191
7.1.6) Greffage covalent d'une enzyme sur les bâtonnets CdSe@CdS <i>via</i> un couplage peptidique.	191
7.1.6.1) Formation du complexe.....	191
7.1.6.2) Propriétés électrochimique de films CdSe@CdS/protéine.....	192
7.1.7) Réduction d'un chromophore rédox, la résazurine	192
7.1.8) Fonctionnalisation des bâtonnets CdSe@CdS avec des sels de benzènediazonium	193
7.1.8.1) Synthèse du sel de benzènediazonium.....	193
7.1.8.2) Fonctionnalisation des bâtonnets CdSe@CdS par les sels de benzènediazonium.	193
7.1.8.3) Fixation des QR AD-biotine sur des billes d'agarose streptavidinées.	193
7.2) Matériels et méthodes physico-chimiques	195
7.2.1) Caractérisation des propriétés optiques des nanocristaux	195
7.2.2) Caractérisation surfacique des nanocristaux.....	195
7.2.3) Microscopies	197
7.2.4) Analyse Chimique.....	199
7.2.5) Analyse structurale : Diffusion des Rayons X aux petits angles (SAXS, voir annexe)	200
7.2.6) Préparation des échantillons pour l'organisation multi échelle.....	200
Annexe I : Diffusion dynamique de la lumière.....	201
Mesure du diamètre hydrodynamique	201

Annexe II : Analyse des clichés de microscopie par un logiciel de traitement d'image, Image J. ...	203
Mesures de taille des bâtonnets.....	203
Annexe III : Diffusion des rayons X aux petits angles.....	205
Principe.....	205
Cas des phases lamellaires et hexagonales	207
Caractéristiques du montage à l'ENSCR.....	207
Annexe IV : préparation et utilisation des surfaces microtexturées.....	208
Abréviations et acronymes.....	211
Liste des publications :	214
Références	225

Chapitre 1 : Contexte et état de l'art

Face à la réduction des réserves en énergie fossile et à l'augmentation sous-jacente des coûts d'exploitation du pétrole, de nouvelles voies de recherche sont actuellement explorées pour convertir l'énergie lumineuse et la stocker sous forme chimique. Il est ainsi prometteur d'envisager des sources d'énergies « inépuisables » comme le soleil. Le soleil apporte quotidiennement à la terre autant d'énergie que l'humanité n'en consomme en une année.¹ Dans ce contexte, de nombreuses technologies se sont développées pour convertir l'énergie lumineuse en électricité ; notamment les panneaux solaires à base de silicium et les panneaux solaires organiques de troisième génération (cellules Grätzel)² qui offrent une solution économique pour répondre à cette demande. Cependant, il faut pouvoir disposer d'une énergie pouvant être stockée et transportée. En effet, les rythmes de consommation d'énergie électrique de l'humanité sont imparfaitement synchronisés avec la production, ce qui soulève la question du stockage de l'énergie. La non coïncidence entre les lieux de production et de consommation pose la question du transport. Les batteries actuelles transforment l'énergie électrique en énergie chimique mais leur capacité de stockage est relativement faible. Il y a donc un intérêt considérable à utiliser directement l'énergie solaire comme le font les plantes grâce à la photosynthèse pour produire et stocker des formes alternatives de carburant et ce à grande échelle. Dans un système naturel, trois composants sont reliés : un photosensibilisateur (1) qui absorbe les photons les convertissant en une paire d'électron-trou, où les électrons migrent vers les sites (2) de réduction pour former les carburants naturels et les trous migrent vers des sites catalytiques d'oxydation (3) où ils se recombinent avec un réducteur. Dans ce travail nous avons envisagé un système pouvant être décomposé de façon similaire. Il est composé d'un photosensibilisateur inorganique de taille nanométrique par lequel l'absorption de l'énergie lumineuse induit une séparation de charges (une paire électron-trou : un exciton) délocalisée sur toute la particule. Les charges peuvent être ainsi utilisées pour réaliser des réactions rédox à la surface en présence d'un catalyseur approprié.

1) Introduction

L'hydrogène (H_2) est un combustible particulièrement intéressant en raison de la grande quantité d'énergie que sa combustion dégage : 120 MJ.kg^{-1} (soit trois fois plus que le pétrole par unité de masse : 45 MJ.kg^{-1}).^{1b} L'intérêt de cette molécule réside dans la liaison reliant les deux protons (H^+). La casser en la faisant réagir avec l'oxygène libère de l'énergie et de l'eau, principe utilisé dans les piles à combustible. Inversement, la reformer permet de stocker l'énergie, principe utilisé dans les électrolyseurs. En combinant ces deux réactions, il est possible d'envisager une autonomie énergétique où chaque foyer d'habitation pourrait être à la fois producteur et consommateur de son énergie.^{1b, 3} L'hydrogène n'existe pas sous forme naturelle et est actuellement produit principalement par vapocraquage d'hydrocarbures, un processus polluant. Il est donc nécessaire de trouver un moyen de production durable (éviter les énergies fossiles) et si possible propre. Il est déjà envisageable *via* l'électrolyse de l'eau de convertir l'énergie lumineuse en hydrogène en deux étapes. Dans un futur proche, il sera possible de réduire à une étape ce système dans un unique réacteur convertissant directement l'énergie lumineuse en énergie chimique sous forme d'hydrogène.

Notre système est donc composé d'un photosensibilisateur inorganique où les charges vont migrer vers les sites catalytiques adéquats.⁴ Un tel concept a été proposé en 1972 par Fujishima, A et al,⁵ dans un système électrochimique contenant une électrode macroscopique photosensible (Figure 1a). L'optimisation de ce système dans notre cas met à profit des nanobâtonnets semi-conducteurs ou métalliques comme des nanoélectrodes photosensibles où chaque nanoparticule pourrait se comporter comme une cellule photoélectrochimique. En effet, chaque particule peut être le centre de réaction d'oxydation et de réduction comme le feraient les deux électrodes d'une cellule électrochimique (Figure 1b). Dans un deuxième temps, l'objectif est d'intégrer ces nanoobjets dans des microsystèmes en contruisant des assemblages nanostructurés et denses (Figure 1c).

-Contexte et état de l'art-

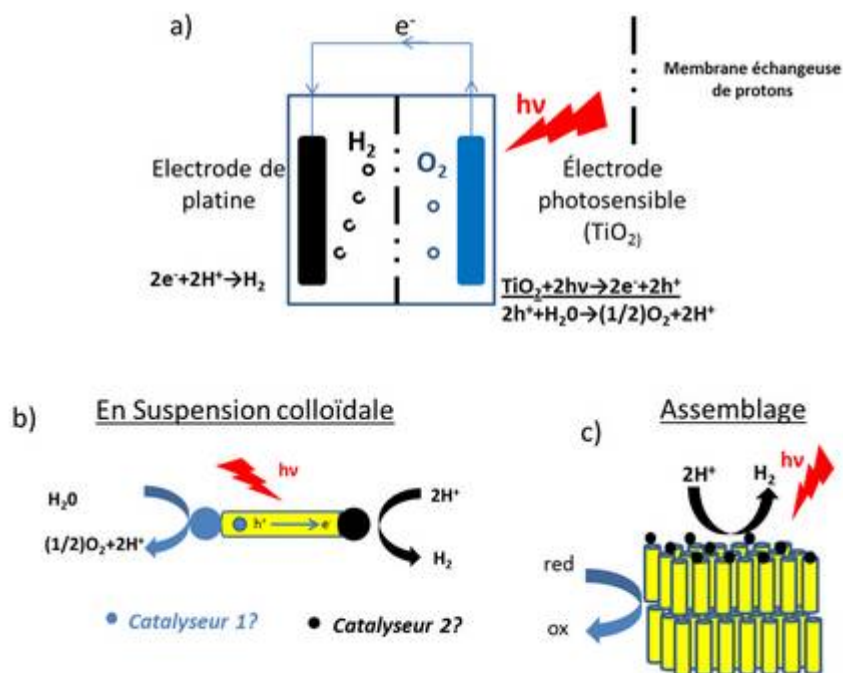


Figure 1 : Schéma de principe de dismutation de l'eau par photocatalyse a) décrit par Fujishima et al.⁵ et b) envisagé dans cette thèse. c) Mise en forme d'un matériau nanostructuré supportant la production d'hydrogène.

Dans notre cas, la production d'hydrogène nécessite l'emploi de catalyseurs car les photosensibilisateurs seuls ne peuvent réaliser la réaction de dismutation de l'eau.⁶ En effet, les réactions d'oxydation et de réduction de l'eau sont des processus à deux électrons (Figure 1a). Enfin, la réaction inverse peut aussi être envisagée dans notre système pour produire de l'énergie à une électrode (intégration dans une pile à combustible). D'autres réactions présentant un enjeu pour l'humanité auraient pu être envisagées comme la réduction du dioxyde de carbone (CO_2) ou l'oxydation de produits polluants.⁷

L'objectif phare des travaux dans ce domaine est la mise au point d'un système artificiel qui réaliserait la réaction de dismutation de l'eau avec l'énergie solaire comme unique apport énergétique. Dans cette thèse, nous nous sommes attachés à concevoir un système artificiel, associant une nanoparticule et un catalyseur, et d'en étudier la capacité à effectuer des réactions d'oxydoréduction photocatalysée. Ce travail est donc effectué en amont et a consisté notamment à tester de nouveaux photosensibilisateurs qui ont la propriété remarquable de s'assembler dans des phases denses et structurées. Dans ce chapitre introductif, les bases des propriétés photo-physiques des photosensibilisateurs, utilisés dans ce travail, seront présentées dans un premier temps. Dans un deuxième temps, les caractéristiques des catalyseurs seront introduites. Les différentes voies de modification de la surface des nanocristaux seront ensuite discutées dans une troisième partie. Les stratégies de mise en forme d'un matériau *via* l'assemblage des nanocristaux seront présentées dans un quatrième temps.

2) Propriétés des photosensibilisateurs de taille nanométrique

Les propriétés spécifiques de la matière à l'échelle du nanomètre, sont liées au faible nombre d'atomes constituant l'objet. Ces nanocristaux, composés d'un nombre « fini » d'atomes, ont des propriétés optiques originales à mi-chemin des propriétés des molécules et des solides. En effet, de nouvelles propriétés apparaissent par rapport au matériau massif car le nombre d'atomes en surface de l'objet n'est plus négligeable par rapport au nombre d'atomes le constituant (le rapport Surface/Volume augmente avec l'inverse de la taille). Par ailleurs, les nanoparticules peuvent être définies comme des objets ayant au moins une dimension inférieure à 100 nm.⁸ Cette définition englobe les nanoparticules d'origine naturelle (sable, poussières) et les nanoparticules créées par l'homme de manière synthétique (nanotubes de carbone...) ou fortuite (particules de gaz d'échappement...). Celles-ci peuvent être amorphes ou cristallines et obtenues par de nombreuses techniques (broyage, lithographie, synthèse chimique, épitaxie par jet moléculaire...). Leur spectre d'application est très large allant du renforcement des propriétés mécaniques de matériaux aux crèmes solaires en passant par le biomarquage et la vectorisation en médecine.⁸ Elles sont utilisées notamment en catalyse en raison de leur grande surface spécifique. En effet, la superficie d'un cube de 1 cm de côté est de 6 cm² ; la superficie totale du même cube découpé en petits cubes de 1 nm de côté serait de 6000 m² (soit un terrain de football). Dans le cadre de cette thèse, les nanoparticules sont donc de bons candidats pour servir de support catalytique photosensible.

Dans ce travail de recherche, nous nous sommes attachés à développer des photosensibilisateurs pour diriger des réactions d'oxydo-réduction. Les photo-sensibilisateurs étudiés sont de taille nanométrique, cristallins, soit métalliques soit semi-conducteurs. En particulier, les nanoparticules semiconductrices, communément appelées quantum dots (QD, boîtes quantiques), possèdent des propriétés optiques de fluorescence dépendantes de leur taille. En effet, le libre parcours moyen des électrons est fortement perturbé à cette échelle comme dans le cas des molécules; les porteurs de charges occupent alors des niveaux d'énergie discrets par analogie avec les orbitales moléculaires. Par ailleurs, les nanoparticules métalliques interagissent également fortement avec la lumière et peuvent atteindre des coefficients d'extinction encore supérieurs à ceux des QD. Ces photosensibilisateurs seront ensuite pris comme support catalytique du fait de leur grande surface spécifique.

Après une introduction générale sur les propriétés optiques des nanoparticules semiconductrices et métalliques, nous justifierons le choix des photosensibilisateurs utilisés dans ce travail et décrirons les méthodes utilisées pour leurs préparations.

2.1) Propriétés générales des nanocristaux

2.1.1) Les nanocristaux semi-conducteurs

Le confinement quantique dans les nanocristaux semi-conducteurs : effet de taille.

Les électrons d'un atome isolé occupent des orbitales composées de niveaux d'énergie discrets. Quand un grand nombre d'atomes ($>10^{20}$) sont assemblés pour former un solide macroscopique, le nombre d'orbitales devient très grand et l'écart entre les niveaux d'énergie diminue. Ainsi, le système transite vers un *continuum* d'énergie (Figure 2a).

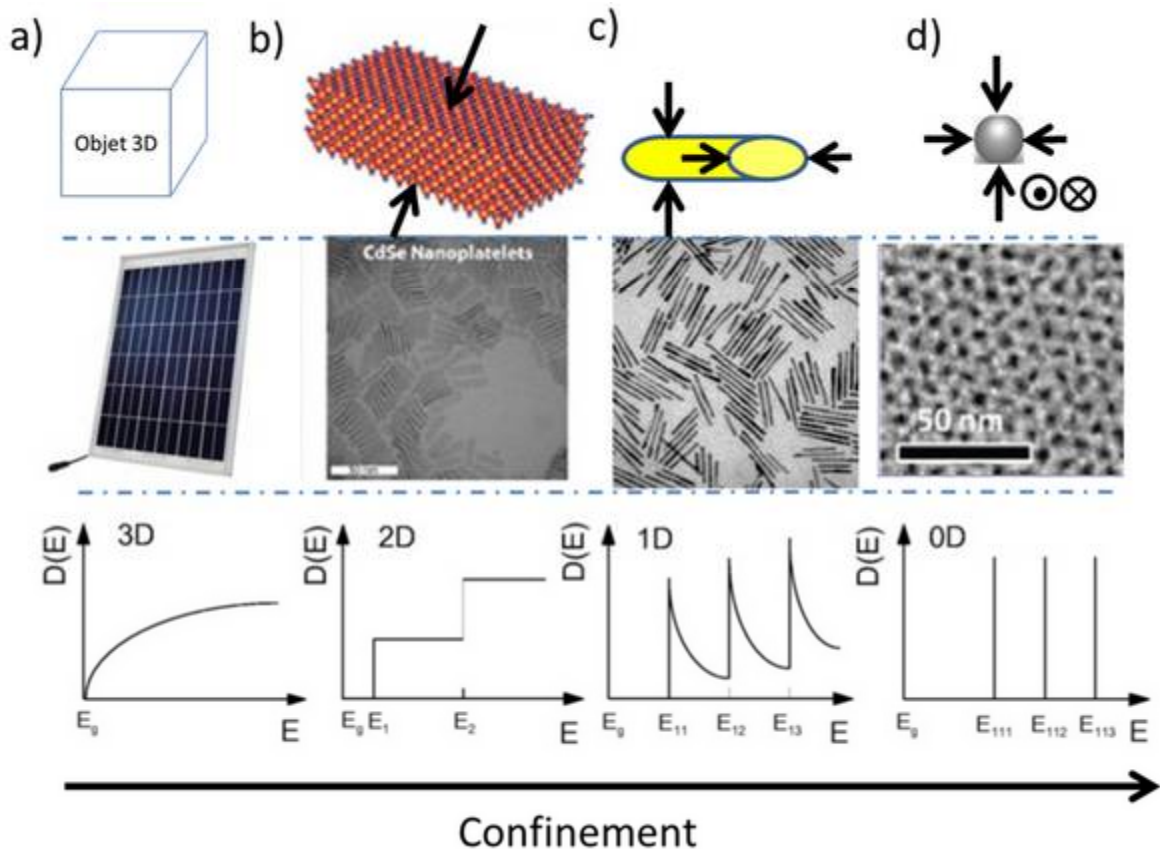


Figure 2 : Lien entre le confinement quantique et la taille des particules. Un objet (3D) peut être réduit dans une dimension (2D, « nanoplaquette »), deux dimensions (1D, bâtonnet quantique), trois dimensions (0D, boîte quantique). La réduction des dimensions de l'objet a une incidence sur la structure de bande du matériau. Plus le degré de confinement augmente, plus les niveaux d'énergie deviennent discrets. a) Objet macroscopique (3D) (un panneau solaire) ; b-d) Images de microscopie électronique à transmission ; b) nanoplaquette CdSe⁹ ; c) « Bâtonnets » quantique CdSe@CdS¹⁰ ; d) Boîtes quantiques PbS.¹¹ Les courbes représentent la densité d'état (nombre d'orbitales par unité d'énergie : $D(E)$) en fonction de l'énergie.

Par ailleurs, les nanoparticules semiconductrices sont composées de « quelques » atomes ($\phi_{CdSe}=2$ nm \Leftrightarrow 275 atomes¹²), elles adoptent alors un comportement intermédiaire selon leur taille et leur forme (Figure 2a-d). Cependant, même pour un solide composé d'un grand nombre d'atomes, il existe des niveaux d'énergie interdits qui forment la bande d'énergie interdite (band gap en anglais), caractéristique des solides semi-conducteurs.¹³ Elle correspond à l'écart entre la bande de conduction et la bande de valence. La bande de conduction (BC) est inoccupée (à $T = 0K$) alors que la

-Chapitre 1-

bande de valence (BV) est remplie (analogie HOMO/LUMO des orbitales moléculaires). Un apport suffisant en énergie ($E > E_{\text{bande interdite}}$) permet le passage d'un électron de la BV à la BC créant un site vacant (un trou h^+) dans la BV pour former une paire électron-trou appelée exciton (Figure 3a).

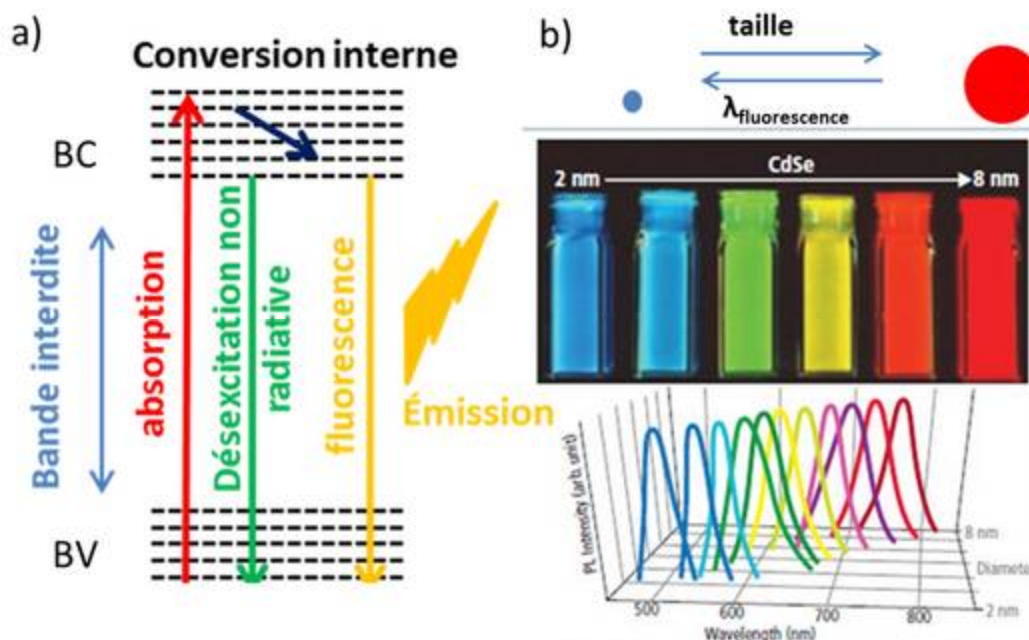


Figure 3 : a) diagramme de Jablonski simplifié; b) Photographie de quantum dots CdSe de différents diamètres prise sous illumination UV ($\lambda=365$ nm) et les spectres de fluorescence normalisés présentés sur un graphique en trois dimensions reliant la longueur d'onde d'émission ainsi que le diamètre des nanocristaux. Source : http://www.raytheon.com/newsroom/technology_today/2012_i1/quantom.html

L'apport d'énergie peut être induit par une excitation lumineuse, un photon est alors absorbé pour former un exciton dans le matériau. La désexcitation (recombinaison de l'électron de la BC avec le trou localisé dans la BV) s'effectue selon des processus « radiatifs » et « non radiatifs ».

Les processus de recombinaison radiatifs sont à la base des propriétés de fluorescence des QD où un photon ($E_{\text{photon}}=E_{\text{bande interdite}}$) est émis. Par ailleurs, la longueur d'onde du photon émis peut être retrouvée grâce à la relation de Broglie ($E=(hc)/\lambda$, h : constante de Planck ; c : vitesse de la lumière ; λ : longueur d'onde). Les propriétés optiques des QDs sont donc modulables avec le degré de confinement quantique, c'est-à-dire leur taille. Ainsi, des variations de quelques nanomètres du diamètre de QD de type CdSe permettent de balayer le spectre du visible (Figure 3b). De plus, ils possèdent un large spectre d'absorption et un spectre d'émission étroit. La brillance (probabilité d'absorber et de réémettre un photon) des QDs est également élevée en comparaison avec les fluorophores organiques : coefficient d'extinction ($\text{cm}^{-1} \cdot \text{M}^{-1}$) $\rightarrow \epsilon_{\text{QD}} \approx 10^6 > f_{\text{luorescène}} = 10^5 > \epsilon_{\text{GFP}} = 10^4$. De plus, les fluorophores organiques sont sujets au photoblanchiment (photo-dégradation) alors que les QD ont une meilleure résistance à l'irradiation. Les QDs sont donc des marqueurs de choix en

-Contexte et état de l'art-

imagerie pour suivre *in vitro* l'activité cellulaire par exemple,¹⁴ même si la cytotoxicité des nanoparticules reste une limitation importante aux applications biomédicales.

Cependant, les processus de recombinaison non radiatifs sont à l'origine de la diminution du rendement quantique (rapport entre les photons émis et absorbés) des QD. Les électrons peuvent être piégés dans les défauts de la maille cristalline ou à la surface des QD.¹⁵ La cristallinité des particules est donc très importante pour diminuer les processus de recombinaisons non radiatif. De plus, le confinement augmente les interactions de Coulomb à l'origine du phénomène de recombinaison Auger.^{15a} Ces phénomènes de recombinaison non radiatifs sont à l'origine du « clignotement » des QDs (passage d'un état allumé à éteint).¹⁶

Les nanocristaux semi-conducteurs envisagés dans ce travail sont choisis pour leurs propriétés de photosensibilisateur et parce qu'ils peuvent être le siège de réactions d'oxydo-réduction à leur surface. Idéalement, les nanocristaux absorbent la totalité du spectre solaire tout en générant des électrons de haute énergie qui peuvent ensuite être utilisés dans des réactions d'oxydo-réduction. L'énergie des porteurs de charges photogénérés est liée à la taille des nanocristaux. Ainsi, de petits nanocristaux sont souhaitables pour générer des électrons de haute énergie. Cependant, ces nanocristaux ayant une bande interdite large sont plus sensibles aux irradiations dans l'ultra-violet et absorbent donc peu le spectre solaire. Un compromis relatif à la taille des nanocristaux doit donc être trouvé.

Choix de la composition.

Les nanocristaux semi-conducteurs sont issus de chalcogénures et peuvent être classés par la colonne d'appartenance de chacun des deux constituants du matériau. Les classes les plus courantes sont dites II/VI (colonnes IIB et VIA du tableau de Mendeleïv) et III/V (colonnes IIIA et VA).¹¹ La composition chimique module les propriétés optiques du nanocristal ainsi que l'énergie des porteurs de charges photogénérés. La fluorescence des nanocristaux CdSe balayent le spectre du visible (400-800 nm) alors que des nanoparticules de ZnO présentent une absorption dans l'UV (Figure 4a).¹⁷

-Chapitre 1-

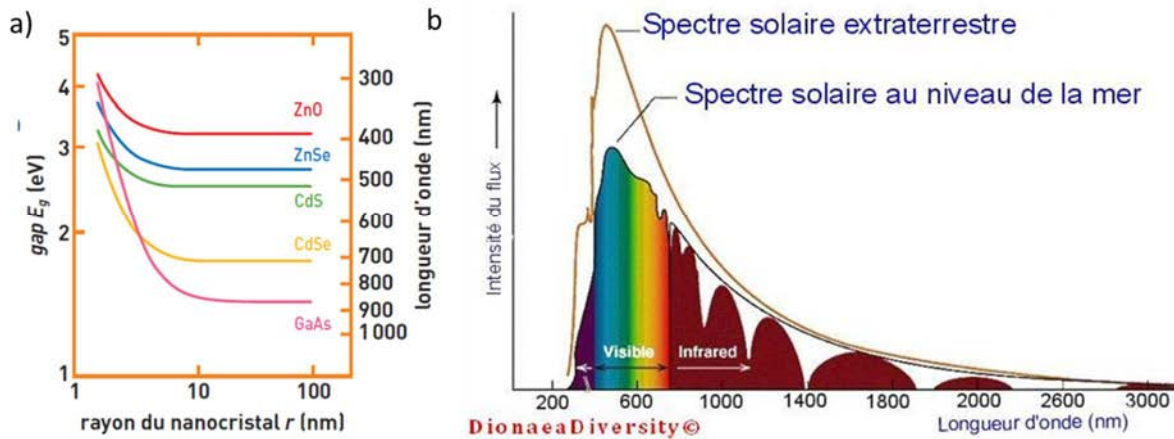


Figure 4 : a) Variation de la bande d'énergie interdite (band gap en anglais) en fonction du rayon de nanocristaux de composition différente. Source : CLEFS du CEA_n°52_été 2005_page 56. b) Le spectre du soleil. Source : www.dionaeadiversity.com

La bande interdite du matériau se comporte comme un « filtre passe-haut ». Ainsi, les nanocristaux ayant une bande interdite large (exemple : $E_{\text{TiO}_2} = 3.29 \text{ eV}^{18}$) absorbent principalement dans l'UV (Figure 4a-b). Cependant, le spectre solaire (Figure 4b) est large et est particulièrement intense dans le visible et s'étend dans l'infrarouge. Il est donc préférable d'absorber largement ces énergies pour maximiser le rendement de conversion du photosensibilisateur. Les semi-conducteurs composés de CdS,¹⁹ PbS,²⁰ Bi₂S₃,²¹ CdSe²² et InP²³ sont les plus utilisés pour collecter la lumière du visible.²⁴ De plus, de nouvelles stratégies d'empilement existent pour maximiser l'absorption du visible dans les cellules solaires utilisant des quantum dots ayant une bande d'énergie interdite variable (Figure 5).²⁵

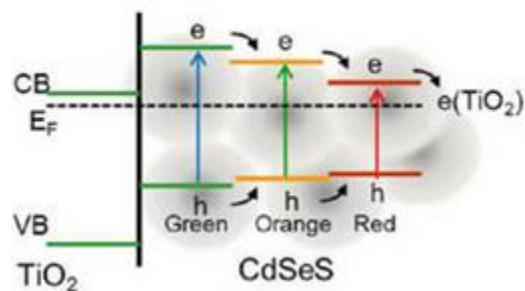


Figure 5 : Couches de QD CdSeS de différentes composition (rapport Se:S variable, taille constante) déposés successivement sur des particules de TiO₂ pour maximiser l'absorption dans le visible. Source : Santra et al²⁵

Photocatalyse : maximiser la séparation des charges photogénérées

Le transfert des porteurs de charges du photo-sensibilisateur vers les sites catalytiques nécessite un alignement de bande favorable pour les réactions d'oxydo-réduction. Le potentiel de réduction de la cible doit être inférieur à l'énergie de la BC. Inversement, la BV doit être à un potentiel plus oxydant que la demi-réaction d'oxydation (Figure 6, Figure 7b).

-Contexte et état de l'art-

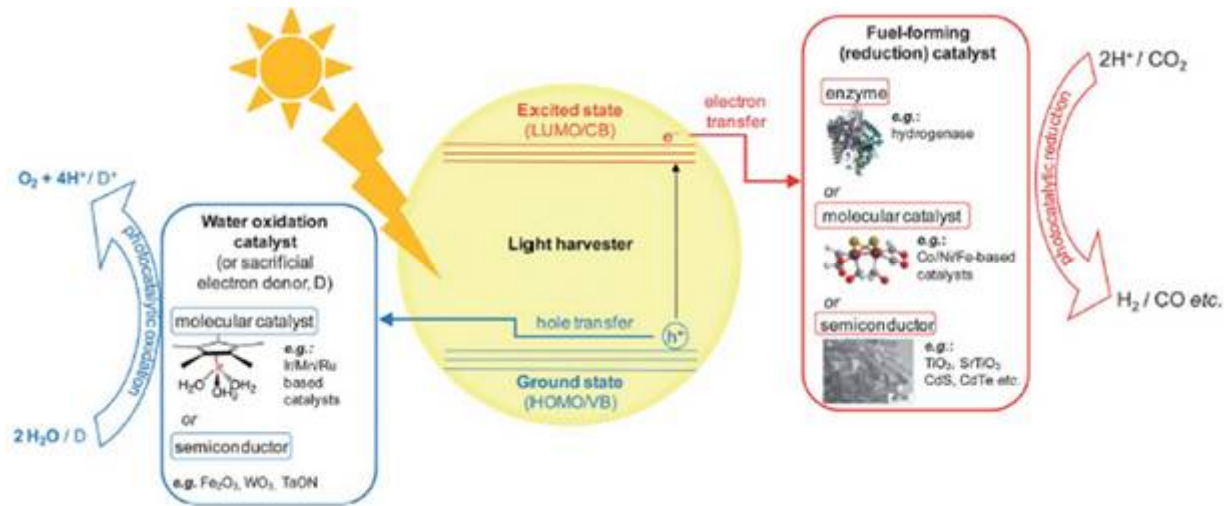


Figure 6 : Représentation schématique des différentes étapes de la photosynthèse artificielle : Absorption d'un photon, séparation des charges vers les sites catalytiques adéquate (des exemples de catalyseurs sont listés). Ici l'exemple de photocatalyse concerne la réaction de dismutation de l'eau. Source : Woolerton et al^{15b}

Les phénomènes de recombinaison (radiatifs & non radiatifs) sont en compétition avec les processus d'oxydo-réduction à la surface du nanocristal. Les phénomènes de recombinaison doivent être plus lents (durée de vie de l'exciton importante) que les cinétiques des réactions d'oxydo-réduction. Le point important pour les réactions de photocatalyse dans les semi-conducteurs est la séparation des charges photogénérées.¹²⁻¹⁵ En effet, les phénomènes de recombinaison radiatifs et non radiatifs doivent être éliminés pour envisager des réactions d'oxydo-réduction photo-induites efficaces. De plus, dans un semi-conducteur, le potentiel n'est pas constant mais change à l'interface du QD et de la solution, ce qui définit la zone d'espace de charge.^{7, 13} L'efficacité de la photocatalyse dépend donc de la compétition entre la séparation des charges, dans la zone d'espace de charge, et les phénomènes de recombinaison. Cependant les QDs (<10 nm) ne peuvent supporter une telle zone d'espace de charge car celle-ci serait plus grande que les dimensions du nanocristal.^{15b} Pour les QDs, des cinétiques de transferts d'électrons rapides sont alors souhaitées pour avoir une bonne séparation des charges. Une alternative consiste à optimiser la composition et la forme du QD pour obtenir une meilleure séparation des charges. En effet, la création d'une hétérojonction semi-conducteur/semi-conducteur est une solution pour séparer efficacement les charges (selon l'alignement des bandes).^{13, 26} Ainsi, des panneaux solaires utilisent des QD absorbant dans le visible reliés à une particule de TiO_2 pour générer des transferts électroniques en « cascade » (Figure 5).²⁵⁻²⁶

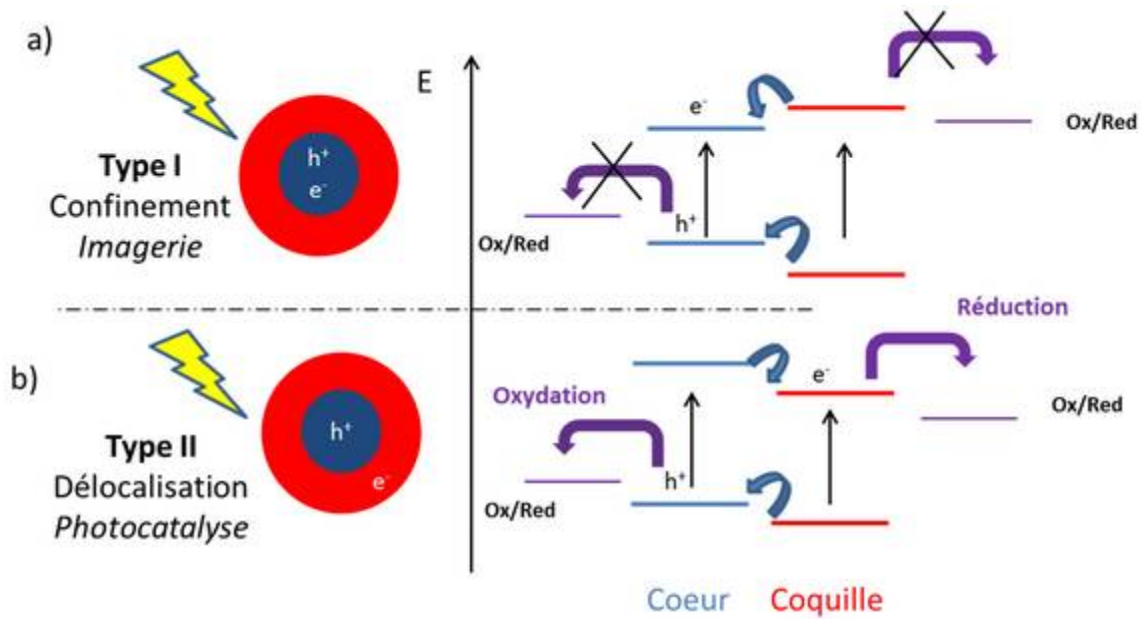


Figure 7 : Schéma de QDs de composition cœur@coquille de type I et II. L'alignement des bandes autorise ou non des réactions d'oxydo/réduction avec deux couples Ox/Red. a) Dans le cas des QDs de type I, l'électron est confiné dans le cœur de la particule dont l'énergie de la bande de conduction est inférieure à celle du potentiel Rédox, il ne peut y avoir de réaction de photocatalyse. De plus le confinement favorise les recombinaisons radiatives. b) Pour les QDs de type II, les charges photogénérées sont délocalisées et l'alignement des bandes est favorable à la réduction et l'oxydation des deux couples Ox/Red.

Il est aussi possible de synthétiser des QDs ayant une géométrie cœur@coquille en choisissant judicieusement la composition du cœur et de la coquille. La croissance épitaxiale d'une coquille dont la bande d'énergie interdite est supérieure à celle du cœur permet d'obtenir des QDs de « type I » (Figure 7a). Ces QDs ont de meilleures propriétés optiques car la coquille passive la surface du cœur (diminution des niveaux de pièges surfaciques) et confine les porteurs de charges photogénérés. Les QDs de type I (par exemple QDs CdSe@ZnS^{14b}) peuvent atteindre des rendements quantiques supérieurs à 50 % et sont particulièrement adaptés à des applications pour l'imagerie. Inversement, la croissance épitaxiale d'une coquille dont la bande d'énergie interdite est inférieure à celle du cœur permet d'obtenir des QDs de « type II » (Figure 7b). Ces QDs trouvent leurs applications dans le développement de cellule solaire car la séparation des charges est très efficace (exemple QDs ZnSe/CdS²⁷) ainsi que la photocatalyse.

Dans le but d'obtenir une séparation de charge efficace, une autre possibilité consiste à former des hétérojonctions métal/semi-conducteur (de type Schottky).^{13, 28} Lors de l'établissement d'un contact métal-semi-conducteur, il se forme une couche à l'interface dans laquelle la densité en porteurs de charge est fortement abaissée (alignement des niveaux de Fermi). La barrière formée par cette couche est appelée couche de déplétion ou couche d'épuisement (Figure 8b). Les niveaux de Fermi restent en coïncidence après le transfert d'électrons vers la bande de conduction du métal. Dans

cette région du semi-conducteur, il reste par conséquent des ions donneurs chargés positivement et pratiquement aucun électron.¹³

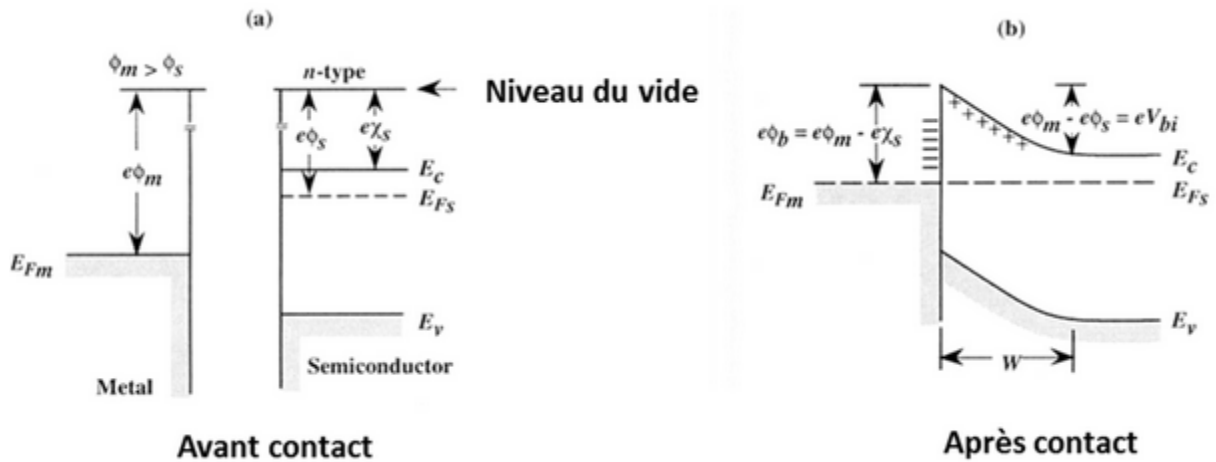


Figure 8 : a-b) Barrière de redressement entre un métal et un semi-conducteur de type n. Le niveau de Fermi est représenté par une ligne brisée. a) avant contact, b) après contact (à l'équilibre).

Ici, E_{Fm} et E_{FS} correspondent au niveau de Fermi du métal et du semi-conducteur respectivement (Figure 8). E_c et E_v indiquent les positions de la bande conduction et de la bande de valence du matériau semi-conducteur. $e\Phi_m$ et $e\Phi_s$ représentent la différence en énergie entre le niveau du vide et les niveaux de Fermi du métal et du semi-conducteur respectivement. $e\chi_s$ exprime la différence en énergie entre la bande de conduction du semi-conducteur et le niveau du vide. Le terme w représente la zone d'espace de charge.

2.1.2) Propriétés des nanoparticules métalliques.

Le comportement des électrons dépend de la nature du matériau (métal, semi-conducteur ou isolant) ainsi que de l'espace accessible. A l'échelle du nanomètre, les électrons sont confinés. Cependant, les propriétés optiques des nanoparticules métalliques diffèrent significativement des nanoparticules semiconductrices. En effet, la densité en électrons des métaux est largement plus importante que celle des semi-conducteurs.¹³ Les métaux nobles (Au, Ag, Cu) forment une nouvelle classe de métaux car des propriétés « plasmoniques » dans le visible apparaissent à l'échelle du nanomètre en plus de leurs activités catalytiques.²⁹ Ils ont la propriété remarquable de confiner des photons (à une certaine énergie de « résonance ») à leur surface pour induire une oscillation collective des électrons de la bande de conduction du métal (les électrons « libres »). Le confinement de la lumière à ces échelles de taille crée un « effet antenne » car les photons sont concentrés dans un espace réduit (sub-longueur d'onde). Les phénomènes radiatifs de fluorescence,³⁰ de diffusion élastique³¹ (Rayleigh, théorie de Mie) et inélastique (Raman³²) peuvent ainsi être amplifiés de plusieurs décades. Les applications des particules d'or dans la littérature sont donc principalement fondées sur la mise en œuvre de capteurs ainsi qu'en imagerie. De plus, ces nanoparticules

-Chapitre 1-

absorbent la lumière (à une certaine fréquence de résonance) et peuvent la convertir sous forme de chaleur (effet photothermique). Leurs applications pour le diagnostic et la thérapie du cancer sont également largement étudiées.³³

Relation entre le phénomène de résonance plasmon de surface et la taille des particules

L'intensité lumineuse est, lors de son passage à travers un milieu, réduite par des phénomènes de diffusion et d'absorption. Une relation simple, la loi de Beer Lambert décrit ce phénomène : $A = \epsilon \cdot l \cdot c$ (A est l'absorbance, ϵ est le coefficient d'extinction ($M^{-1} \cdot cm^{-1}$), l est le chemin optique (cm) et c la concentration (M^{-1}))



Figure 9 : Coupe de Lycurgus observée a) en réflexion et b) en transmission. © The Trustees of the British Museum.

Les particules d'or insérées dans un objet peuvent lui donner de nouvelles propriétés. Par exemple les spectres de diffusion et de transmission d'un verre contenant des nanoparticules d'or ne sont pas les mêmes. Cette propriété est utilisée depuis des siècles pour la conception d'objets d'art comme la coupe de Lycurgus qui apparaît verte en réflexion et rouge en transmission (Figure 9a-b).

Les propriétés optiques des particules d'or, dues à leur faible dimension, sont dominées par les oscillations du nuage électronique à leur surface. Ces oscillations, provoquées par le champ électrique de la lumière incidente, sont connues sous le nom de *phénomène de résonance plasmon de surface (SPR)*. Brièvement, ces oscillations induisent une séparation de charges entre les électrons libres et le métal (chargé positivement), une force de rappel coulombienne est alors exercée sur le nuage électronique ; il en résulte une oscillation dipolaire du nuage d'électron libre et l'amplitude des oscillations est maximale à une fréquence de résonance dépendante de la taille, de la forme, de la composition et de l'environnement de la particule (Figure 10). Les oscillations SPR induisent une très forte absorption de la lumière, supérieure à la plupart des molécules organiques et particules semi-conductrices ($\epsilon_{\text{batonnet d'or}} \approx 10^9 > \epsilon_{\text{QRCDSe@CdS}} \approx 10^7 > \epsilon_{\text{fluorescéine}} \approx 10^5 M^{-1} \cdot cm^{-1}$). Ce phénomène physique peut être modélisé par la théorie de Mie pour de petites particules (<10 nm). Pour des tailles supérieures à 10 nm, la polarisation n'est plus uniforme sur la surface de la particule, altérant la condition de résonance ; un décalage vers les plus grandes longueurs d'onde et un élargissement du

-Contexte et état de l'art-

pic d'absorption sont alors observés.^{29, 34} Il est à noter que les particules de taille inférieure à 2 nm de diamètre ne montrent plus de bande d'absorption, ces petites particules sont alors considérées comme des clusters moléculaires avec des niveaux d'énergie discrets.^{29b}

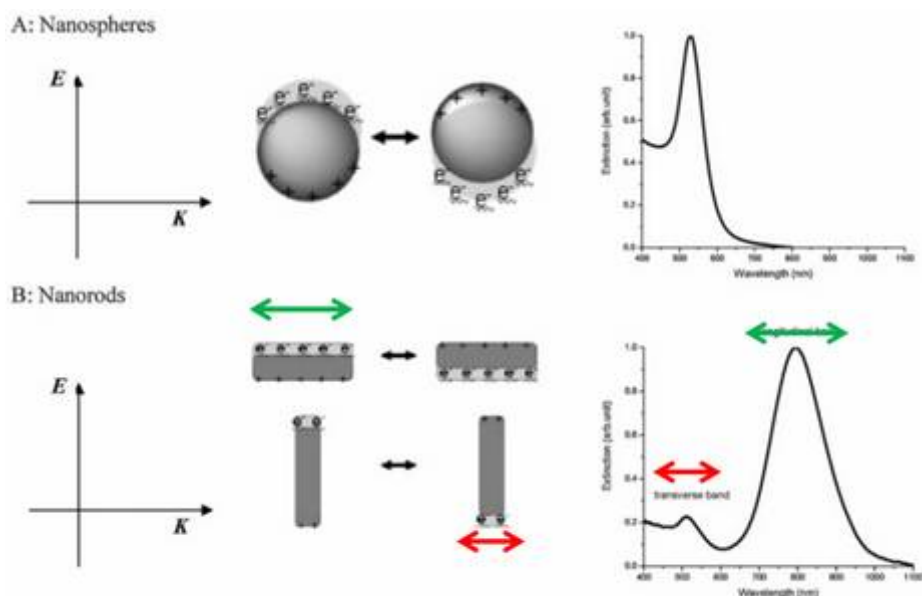


Figure 10 : Schéma de l'interaction entre une lumière polarisée et des particules d'or sphérique (A) ou en forme de bâtonnets (B) et le nuage d'électron libre des particules. Le champ électrique incident (se propageant selon l'axe K) induit l'oscillation cohérente et collective des électrons en interaction avec le cœur métallique chargé positivement. Cette interaction dipolaire est résonante avec la lumière incidente à une certaine fréquence dépendante de la taille et de la forme des particules. Figure inspirée de Huang et al.^{29a}

Dans le cas des bâtonnets d'or, l'oscillation du nuage d'électrons libres est possible selon les deux axes du bâtonnet en fonction de la polarisation de la lumière incidente (Figure 10). Il en résulte deux bandes d'absorption dans le visible : la bande transversale (similaire à celle des sphères) et la bande longitudinale. La bande transverse est peu dépendante de la taille des nano-bâtonnets alors que la bande longitudinale est décalée vers les plus grandes énergies lorsque le rapport d'aspect (longueur/largeur) des bâtonnets augmente. Une équation tirée de la théorie de Gans³⁵ relie la position de la bande d'absorption des bâtonnets ($\lambda_{\text{longitudinale}}$) avec leur rapport d'aspect (R) : $\lambda_{\text{longitudinale}} (\text{nm}) = 95R + 420$.^{29b, 34b} Ainsi, il est possible de couvrir le spectre solaire avec des bâtonnets d'or de rapport d'aspect croissant.

2.2) Choix des photosensibilisateurs

2.2.1) Quantum rods CdSe@CdS.

Dans cette thèse, nous avons choisi de travailler avec des nanocristaux CdSe@CdS oblongues. Ce sont de bons collecteurs de lumière dans le visible^{19, 22, 36} ($\epsilon_{\text{CdSe@CdS}} \approx 2.10^7 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$).³⁷

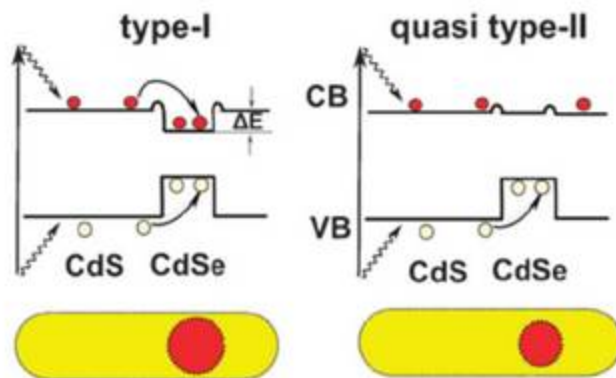


Figure 11 : Alignement des bandes d'énergie de bâtonnets cœur@coquille CdSe@CdS ayant des structures type I et quasi type II. Dans le type I les porteurs de charges sont confinés dans le cœur. Dans le type II, l'électron est délocalisé selon le grand axe du QR et le trou localisé préférentiellement dans le cœur. Source : Wen et al³⁸

La forme en bâtonnet de la coquille permet une délocalisation selon l'axe longitudinal de l'électron, tandis que le trou reste confiné dans le cœur. En effet, selon la taille du cœur, la particule transite d'un état de type I à un état quasi-type II où les bandes de conduction du cœur et de la coquille sont en coïncidence et séparées par une barrière énergétique permettant une bonne séparation des charges photogénérées (Figure 11).^{6a, 36, 39} Ainsi, les QR (bâtonnet quantique ou quantum rod en anglais) ayant un cœur de petite taille ($\phi_{CdSe} < 3$ nm) sont quasi-type II alors que les QR ayant un cœur de plus grande taille ($\phi_{CdSe} > 3$ nm) sont de type I.

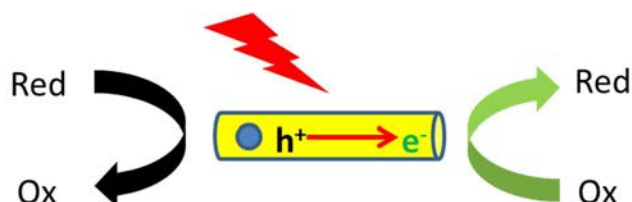


Figure 12 : Schéma de principe pour envisager des réactions de photocatalyse avec les QR CdSe@CdS de type II.

Dans notre cas, les QR CdSe@CdS quasi type II pourront donc être utilisés pour réaliser des réactions d'oxydo-réduction photo-induites efficaces (Figure 12). Par ailleurs, les photons émis par ces particules sont polarisés linéairement.⁴⁰ Leur forme anisotrope leur confère également des propriétés similaires à celles des cristaux-liquides.⁴¹ Le spectre d'application de ces particules est donc très large : imagerie,⁴² fabrication de laser,⁴³ photocatalyse,³⁶ filtres,⁴⁴ mise en forme de matériaux.⁴⁵

Dans ce travail de thèse, des hétérostructures QR@Au ont également été synthétisées pour maximiser la séparation des charges photogénérées. En effet, *via* la formation d'une hétérojonction, la séparation des charges est très efficace ce qui est prometteur pour envisager des réactions rédox à partir de ces hétérostructures.

2.2.2) Bâtonnets d'or

Les technologies photovoltaïques tirent parti de l'utilisation de semi-conducteurs ou de photosensibilisateurs organiques et sont d'un enjeu commercial grandissant avec l'appauvrissement des énergies fossiles.^{5, 46} Il a été montré récemment (2011) que des photosensibilisateurs à base d'or couplés à un semi-conducteur (TiO₂) augmentaient le rendement de photoconversion.⁴⁷ En effet, la forte dépendance des propriétés optiques des nanocristaux métalliques avec leur forme permet de couvrir le spectre solaire.

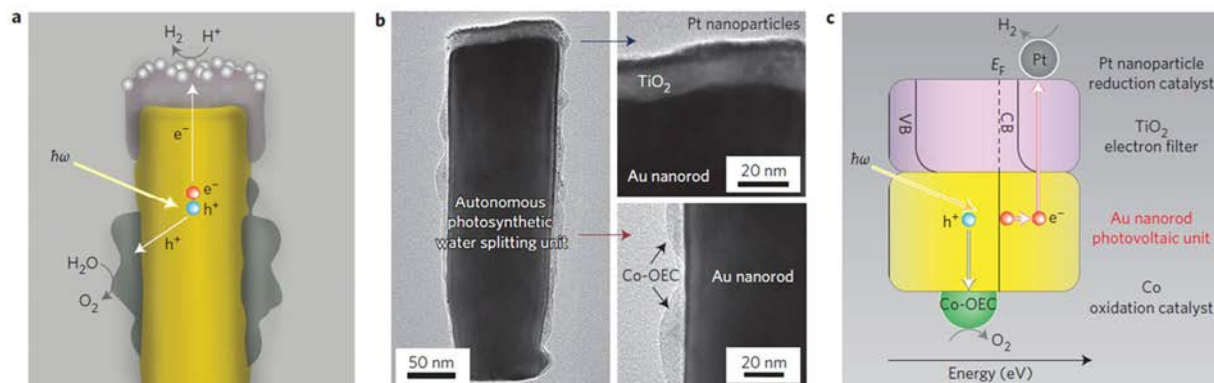


Figure 13 : Structure et mécanisme du système plasmonique autonome réalisant la réaction de dismutation de l'eau. a) Schéma d'un système individuel montrant le bâtonnet d'or (Au nanorod, en jaune), la couche de TiO₂ décorée de particules de platine réalisant la réaction : $2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow \text{H}_2$ et le matériau « Co-OEC » déposé sur les cotés du bâtonnet. b) Cliché MET correspondant. c) Diagramme d'énergie proposé pour expliquer les mécanismes de transferts de charges. E_F =énergie de Fermi. Source⁴⁸

Un article récent (2013) reporte un système permettant de réaliser la réaction de dismutation de l'eau ($2\text{H}_2\text{O} \rightarrow 2\text{H}_2 + \text{O}_2$).⁴⁸ Dans ce système (Figure 13a-c), des bâtonnets d'or préparés par électrodéposition collectent les photons du spectre solaire pour les convertir en une paire électron-trou. Les porteurs de charges photogénérés migrent alors vers les sites catalytiques adéquats (catalyseurs à base de platine et d'oxyde de cobalt). Ce système est plus stable que les systèmes basés uniquement sur des semi-conducteurs réalisant la même réaction catalytique. En effet, il est très résistant à la photo-corrosion. Bien que l'or soit un métal noble (coûteux), il pourrait être envisageable de l'utiliser pour des applications industrielles. En effet, à l'échelle du nanomètre, les quantités d'or mises en œuvre sont modérées. Des nanoparticules d'or sont déjà employées comme catalyseur par les compagnies « 3M » ou bien encore « Mintek ». ⁴⁹ L'objectif est de pouvoir réaliser des systèmes efficaces tout en limitant la quantité d'or introduite pour permettre la commercialisation du produit.

2.3) Synthèse des nanocristaux

2.3.1) Synthèse des QR CdSe@CdS

Les synthèses chimiques de QD ont été développées après les travaux pionniers du groupe de M. G. Bawendi en 1993.^{12, 50} Depuis, l'optimisation de ces synthèses a permis d'obtenir des nanocristaux

-Chapitre 1-

monodisperses de forme et de composition très variées.⁵¹ L'avantage de la synthèse chimique en solution par rapport à d'autres techniques (CVD, épitaxie par jet moléculaire, électrodéposition, lithographie, pyrolyse laser...) est qu'elle ne nécessite pas de bâtis onéreux et est relativement simple à mettre en œuvre. Les QR envisagés dans ce travail sont donc synthétisés par voie chimique et sont en suspension colloïdale. De nombreuses applications des semi-conducteurs comme collecteurs de lumière, les utilisent sous forme de poudre. Cependant à cause de phénomènes de diffusion, entre 13 et 76% de la lumière incidente est perdue.¹⁸ La dispersion des particules dans un solvant permet donc d'optimiser la collecte de lumière.

La synthèse des QR CdSe@CdS a été mise au point par les groupes de H. Weller^{37, 52} et de P. Alisivatos³⁷ puis optimisée par le groupe de L. Manna.¹⁰ Au laboratoire, nous avons sélectionné le protocole du groupe de L. Manna pour la synthèse des nanocristaux. Cette synthèse a été adaptée au laboratoire par Thomas Bizien (thèse 2010-2013) et les détails de la synthèse organométallique sont présentés en partie expérimentale (page 184).

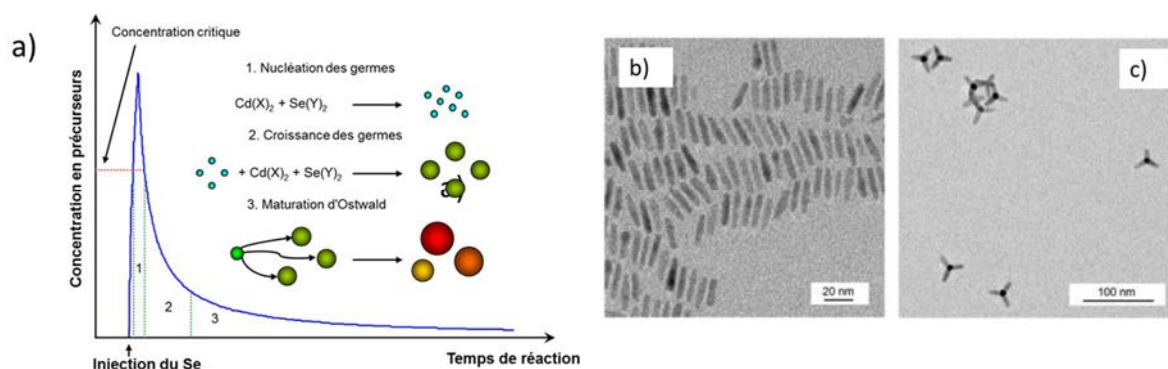


Figure 14 : a) Principe de nucléation de croissance et de maturation des germes lors de la synthèse organométallique. Source : Thèse Victor Roullier (2006-2009) au laboratoire. a-b) Clichés de microscopie électronique à transmission de (a) QR CdSe@CdS et de (b) tétrapodes CdSe@CdS. Source : Talapin et al³⁷

Brièvement, la synthèse des QR est réalisée en deux étapes : la synthèse des cœurs CdSe puis la croissance d'une coquille CdS anisotrope par hétéroépitaxie. Elle repose sur la différenciation dans le temps des processus de nucléation et de croissance de germes. En pratique, les réactifs sont rapidement injectés dans un solvant « coordinant » à haute température, vers 380 °C. La concentration des précurseurs augmente alors brutalement au-dessus du seuil de nucléation, créant une sursaturation qui induit la formation de germes pour diminuer cette concentration (1, Figure 14a). Dans le cas de figure idéal, tous les germes de cristaux se forment simultanément et connaissent une croissance identique jusqu'à ce que les précurseurs dans la solution soient consommés. Dans la plupart des cas, la croissance (2, Figure 14a) est suivie par un troisième processus, la maturation d'Ostwald (3, Figure 14a), qui entraîne la croissance des particules les plus grandes au détriment des plus petites, du fait des différences de potentiels chimiques. La maturation

d'Ostwald tend à élargir la distribution de tailles. Ce processus est observé même si la stabilisation de la surface avec des ligands organiques limite ce phénomène. En arrêtant la réaction avant la maturation (par trempage thermique), des nanocristaux ayant une dispersion en taille très réduite, (de quelques pour cents) sont obtenus pour les germes de CdSe. Les échantillons se présentent sous forme d'une solution colloïdale de nanoparticules ayant un cœur cristallin passivé par une couche de ligands organiques hydrophobes. Les ligands organiques sont l'oxyde de trioctylphosphine (TOPO), la trioctylphosphine (TOP) et de l'acide d'octadecylphosphonique (ODPA).

La maille des cristaux CdSe obtenue est de type wurzite.¹⁰ En variant les conditions de synthèse,³⁷ il est possible d'obtenir des cristaux CdSe de type zinc-blende, précurseurs pour obtenir des « tétrapodes » CdSe@CdS (Figure 14c). Par ailleurs, il est possible de faire croître une coquille CdS (type wurzite) sur les cœurs CdSe (de type wurzite également) car les paramètres de maille des deux réseaux cristallins sont proches.⁵¹ Dans le cas des QR, la croissance de la coquille se déroule également dans les mêmes solvants coordinants (TOPO, TOP, ODPA) à haut point d'ébullition avec en plus de l'acide hexylphosphonique (HPA). Les germes sont ajoutés au soufre dans le mélange réactionnel contenant le cadmium à haute température (350°C-380°C).¹⁰ La croissance de la coquille est préférentielle sur les germes de CdSe car l'énergie d'activation est plus basse pour la nucléation hétérogène (CdS sur CdSe) que la nucléation homogène (formation de germes CdS isolés).¹⁰ Le contrôle cinétique de la forme de la particule est relié à la nature de la maille cristalline de type wurzite qui est fortement anisotrope (selon l'axe c).⁵³ De plus, à l'issue de la synthèse, le germe CdSe n'est pas placé au centre de la coquille mais excentré au ¼ de la longueur totale du bâtonnet. Dans la maille CdSe, selon l'axe c, les deux facettes ne sont pas symétriques, ainsi une des facettes est riche en cadmium alors que l'autre est riche en sélénium. Il a été montré théoriquement la direction privilégiée de croissance était la facette riche en sélénium.⁵⁴ En effet, les ligands de synthèse (HPA, ODPA) ont une forte affinité pour les autres surfaces et favorisent la croissance dans cette direction. Enfin, à l'issue de la synthèse, les bâtonnets sont lavés et dispersés en solvant organique (toluène ou chloroforme).

2.3.2) Synthèse des nanoparticules d'or

Les premières synthèses chimiques de nanoparticules d'or en suspension colloïdale ont été décrites par Faraday en 1850. Depuis, les synthèses chimiques n'ont cessé de s'améliorer (monodispersité, stabilité, contrôle de la taille...). Principalement les méthodes de Turkevitch (1951)⁵⁵ et de Frens (1973)⁵⁶ consistent à réduire un sel d'or hydrosoluble dans l'eau grâce à du citrate de sodium qui joue aussi le rôle d'agent stabilisant. Enfin, la méthode de Brust (1994) où un sel d'or est réduit dans un milieu biphasique (eau/toluène et en présence d'un agent de transfert de phase), conduit à des colloïdes remarquablement stables grâce à du dodecanethiol utilisé comme ligand.⁵⁷

-Chapitre 1-

La synthèse chimique des bâtonnets d'or a été développée plus récemment. Les groupes de Murphy et d'El-Sayed sont les pionniers dans le développement et la mise au point de ces synthèses chimiques. Ces groupes ont notamment développé une synthèse en deux étapes passant d'abord par la formation de germes puis la croissance d'une coquille par homoépitaxie dans une seconde solution.⁵⁸ Ils ont également développé une synthèse en une étape ne nécessitant pas la formation préalable de germes.⁵⁹ Cette dernière synthèse est plus rapide et permet de travailler à des concentrations plus élevées en bâtonnets. Malgré la formation parallèle de particules isotropes, nous avons utilisé cette voie de synthèse décrit par Jana et al.^{59b, 60}

Lors de la phase de nucléation, les germes précurseurs possèdent différentes faces cristallographiques ($\{111\}$ et $\{100\}$), Figure 15). Le tensio-actif cationique utilisé, le bromure de CetylTrimethylAmmonium (CTAB), introduit en large excès, a une affinité différente selon les facettes du germe (meilleure pour la face 100 que 111).⁶¹ Ainsi la croissance du nanocrystal est privilégiée dans une direction, aboutissant à l'anisotropie de forme de la particule. Les mécanismes de synthèse sont néanmoins plus complexes et encore le sujet de débats. Cette synthèse fait notamment intervenir des ions Argent (Ag^+) et bromure (Br^-) importants pour obtenir des formes oblongues de nanocristaux.^{59a, 62} De plus, le groupe de Murray a très récemment mis au point une nouvelle synthèse utilisant de l'oléate de sodium limitant l'utilisation des ions bromure qui améliore significativement la monodispersité des bâtonnets.⁶³ Les détails de la synthèse sont décrits page 182.

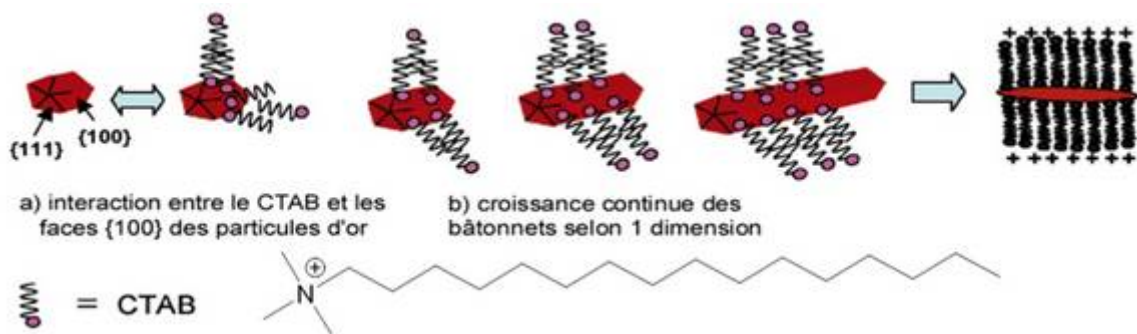


Figure 15 : Schéma de principe de la synthèse des bâtonnets d'or : rôle du CTAB comme « moule » dans la formation des bâtonnets. Inspiré de^{61a}

3) Des catalyseurs pour le développement de la filière hydrogène.

3.1) Problématique : Trouver une alternative à l'utilisation du platine

Une pile à combustible produit de l'électricité en consommant de l'hydrogène et de l'oxygène gazeux avec comme produit de réaction de l'eau. Le principe de la pile à combustible a été décrit par Humphry Davy en 1806 et le premier prototype remonte à 1839. Depuis, les lancements de missions spatiales ont montré le potentiel de tels dispositifs. Pourtant, l'accessibilité de cette technologie pour tous ne cesse d'être repoussée à cause du coût des matériaux.^{1a} Le platine est actuellement mis à profit comme catalyseur dans les piles à combustibles pour produire et décomposer l'hydrogène (de manière à stocker et à libérer l'énergie respectivement). En effet, ce catalyseur est le plus efficace pour réaliser réversiblement la réaction de dismutation de l'eau. Cependant c'est un métal noble et peu abondant sur terre, les coûts associés à son utilisation sont donc élevés. Ainsi, la moitié du prix d'une pile à combustible provient de l'utilisation de ce métal. De nouveaux catalyseurs doivent donc être proposés par la communauté scientifique pour développer la filière hydrogène.

3.2) Catalyseurs envisagés dans ce travail

Dans le but de diminuer les coûts de fabrication des piles à combustibles (et des électrolyseurs), il est nécessaire de trouver de nouveaux catalyseurs efficaces (remplacer le platine). Un catalyseur est caractérisé par plusieurs paramètres. En effet, un catalyseur « efficace » doit avoir une faible surtension. Le phénomène de surtension exprime la différence entre le potentiel électrochimique à appliquer et le potentiel thermodynamique standard du couple rédox (couple H^+/H_2 dans le cas des piles à combustible étudiées ici). Par exemple, la réaction de dismutation de l'eau n'est possible qu'à partir d'une différence de potentiel théorique de 1.23V, soit une radiation de longueur d'onde de 1014nm (à pH=0, potentiel du couple H^+/H_2). En réalité, des tensions supérieures doivent être appliquées aux bornes de deux électrodes pour permettre la réaction à une certaine fréquence.⁶⁴ Cette surtension dû à la cinétique de la réaction au niveau de la surface de l'électrode peut être réduite en optimisant la nature chimique de l'électrode. Un autre paramètre important est l'efficacité catalytique ou « turnover frequency » (TOF). Il correspond à la fréquence de fonctionnement du catalyseur à un certain potentiel. Il est possible de mesurer le TOF en électrochimie (si le mécanisme de réaction est connu) en reliant le nombre d'électron échangé et la quantité d' H_2 oxydée/réduite. Le TOF caractérise directement « l'efficacité » d'un catalyseur : plus il est élevé, plus le catalyseur est efficace. Enfin, il est nécessaire que le catalyseur choisi soit robuste (chimiquement stable) et que l'activité catalytique soit spécifique (pas de réaction secondaire).

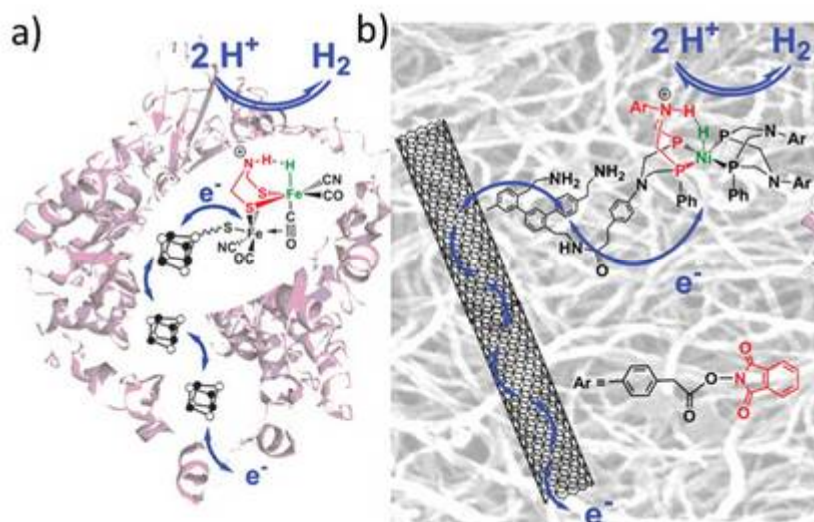


Figure 16 : Schéma de catalyseurs naturels et synthétiques pour la réaction de dismutation de l'eau : a) une hydrogénase Fe-Fe et b) un catalyseur synthétique (Ni) greffé sur des nanotubes de carbone fonctionnalisés par des sels de benzènediazonium grâce à un couplage peptidique. Source : Le Goff et al.⁶⁵

Les hydrogénases (catalyseurs naturels) sont des métallo-enzymes qui catalysent de façon réversible la réaction de réduction des protons en hydrogène. Elles sont composées d'un site actif contenant uniquement des métaux abondant sur terre (Ni et/ou Fe) profondément « enfoui » dans la protéine (Figure 16a).^{15b} Des relais électroniques (FeS) assurent la conduction des porteurs de charges entre le site actif et le milieu environnant. La plupart des hydrogénases sont des catalyseurs réversibles même si une des réactions (d'oxydation ou réduction) est en général favorisée à cause d'une barrière de potentiel. Les hydrogénases ont d'excellentes propriétés catalytiques : des TOF de plusieurs milliers par seconde ainsi qu'une faible surtension.⁶⁶ Les excellentes performances des hydrogénases servent de références pour synthétiser des catalyseurs bio-inspirés. Ces catalyseurs artificiels miment le site catalytique des enzymes et des catalyseurs à base de Nickel (Figure 16b),^{65, 67} Cobalt,^{64, 68} Fer,⁶⁸⁻⁶⁹ et Molybdène⁷⁰ ont été synthétisés (Figure 16b).

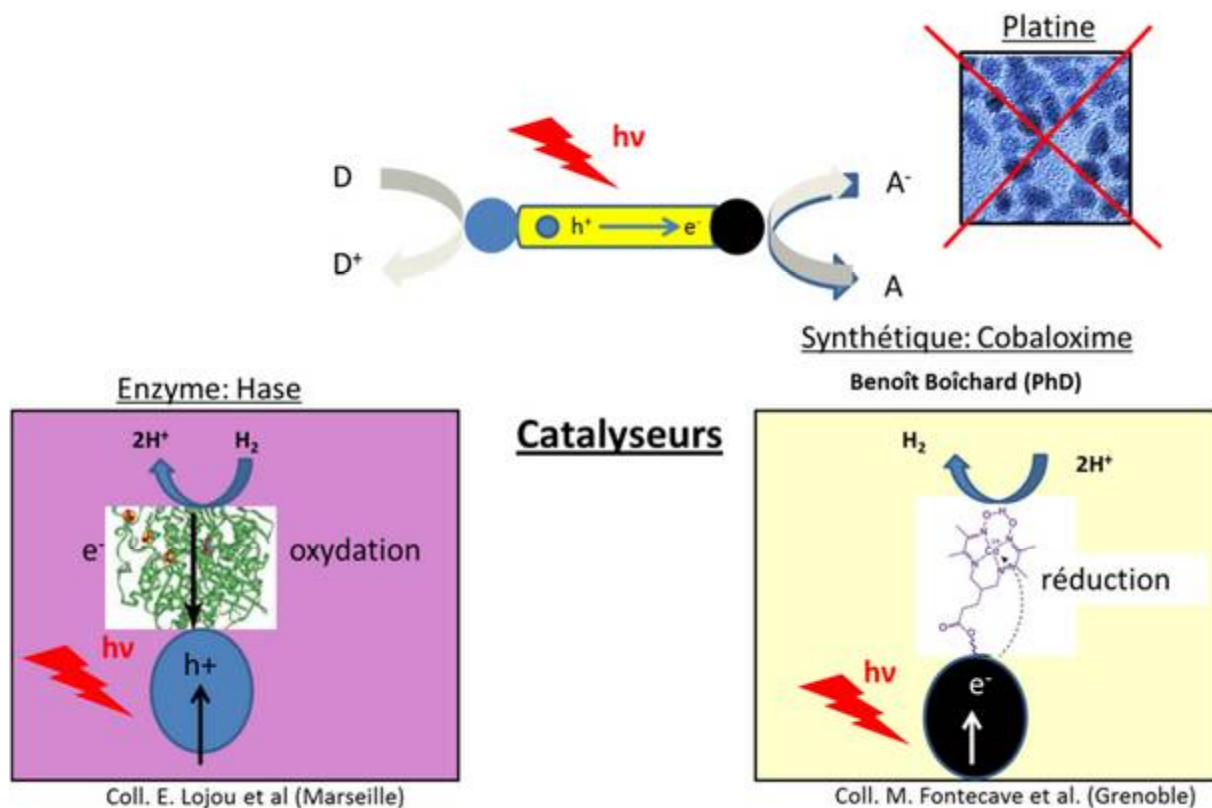


Figure 17 : Schéma représentant les catalyseurs envisagés dans ce travail de thèse.

Dans ce travail, des catalyseurs naturels (hydrogénase) et synthétiques (cobaloximes) ont été envisagés en collaboration avec les équipes d'E. Lojou et de M. Fontecave respectivement (Figure 17). L'utilisation des catalyseurs synthétiques et des QR CdSe@CdS pour la production d'hydrogène objet de la thèse de B. Boichard (2012-2015) au laboratoire, ne seront donc pas discutés par la suite. Dans cette thèse, nous nous sommes attachés à l'assemblage des QR avec une enzyme catalysant l'oxydation de l'hydrogène (H_2).

4) Fonctionnalisation chimique

« Fonctionnaliser » chimiquement permet de contrôler les interactions entre la nanoparticule et son environnement. L'étude de systèmes colloïdaux nécessite que les particules soient dispersées de manière stable par des ligands organiques ou inorganiques suivant la nature du solvant. La structure de ces ligands est donc choisie avec soin pour permettre la dispersion des nanoparticules dans un solvant. De plus, il y a souvent un intérêt à remplacer les ligands issus de la synthèse des nanoparticules par des ligands fonctionnels pour disperser les colloïdes dans un solvant d'intérêt, introduire des groupes de reconnaissances spécifiques (ADN, Biotine/streptavidine) ou non spécifiques (interaction électrostatiques). Différentes stratégies existent pour fonctionnaliser une nanoparticule consistant à enrober la nanoparticule ou bien à remplacer les ligands initiaux par des ligands d'une meilleure affinité pour la surface.

4.1) Stabilité d'une suspension de colloïdes

La dispersion des colloïdes dans un milieu est dépendante d'une énergie d'interaction totale (V_T) qui résulte de l'équilibre des forces attractives (V_A) de Van der Waals et des forces répulsives (V_R) électrostatiques : $V_T = V_A + V_R + V_S$. Ici V_S correspond à l'énergie potentielle due au solvant, un paramètre négligeable devant l'équilibre des forces attractives et répulsives V_A et V_R .

$$(1) V_V = \frac{AV}{D^6};$$

(1) A est la constante de Hamaker et D la distance interparticulaire.

$$(2) V_V = 2V * V * \xi^2 V^{V*V}$$

(2) A est le rayon de la particule, V la permittivité du solvant, κ est fonction de la composition ionique et ξ est le potentiel zêta (charge de la particule)

Cette théorie, décrite par Derjaguin, Landau, Verwey, Overbeek, est connue sous le nom de la théorie de la DLVO.⁷¹ Les colloïdes dispersés dans un solvant sont soumis au mouvement Brownien et peuvent rentrer en collision. La probabilité de collision est directement reliée au nombre de colloïdes dispersés dans le milieu (à la concentration des particules dans le solvant). Si la barrière énergétique (V_T) est suffisante ($V_T > 0$) alors les particules sont bien dispersées. Inversement, si lors de la collision de deux particules, la barrière énergétique n'est pas suffisante ($V_T < 0$), alors les particules adhèrent les unes aux autres conduisant à l'agrégation irréversible de la suspension. Il existe plusieurs manières de stabiliser efficacement une suspension de colloïdes (maximiser le terme de répulsion) en introduisant des charges (augmenter le potentiel zêta) et/ou de les stabiliser par encombrement stérique. De plus, les répulsions électrostatiques peuvent être modulées par le pH et la force ionique. La stabilité des colloïdes est donc sensible aux conditions de pH, de salinité du milieu dans lesquelles elles sont dispersées ainsi qu'à leurs concentrations. La structure des ligands est donc choisie avec soin pour permettre la stabilisation des nanoparticules.

4.2) Stratégies de fonctionnalisation

4.2.1) Encapsulation

Dans ce cas, la stratégie d'encapsulation consiste à enrober les ligands organiques issus de la synthèse et stabilisant les nanoparticules par des polymères chargés ou hydrophobes. Le dépôt alterné de polyélectrolytes de charges opposés décrit par G. Decher en 1997 dans le cas de surfaces planes peut être appliqué aux nanoparticules.⁷² Cette méthode consiste à déposer des couches successives de polymères de charges opposées sur une surface initialement chargée (Figure 18a-b). Cette stratégie s'applique donc à des colloïdes initialement dispersées dans des solvants polaires. Dans l'exemple Figure 18a, il est possible de contrôler avec précision la distance entre la nanoparticule et une molécule organique fluorescente.⁷³ De plus, cette stratégie peut également être

-Contexte et état de l'art-

utilisée pour passiver la surface d'une nanoparticule. Les nanobâtonnets d'or sont stabilisés initialement par du CTAB, un tensioactif cationique cytotoxique difficilement échangeable. Une stratégie consiste donc à encapsuler les bâtonnets d'or par la stratégie du « layer by layer » pour des applications médicales. Dans cet exemple, une sonde fluorescente peut être relarguée des couches de polymères par photothermie (Figure 18b).⁷⁴

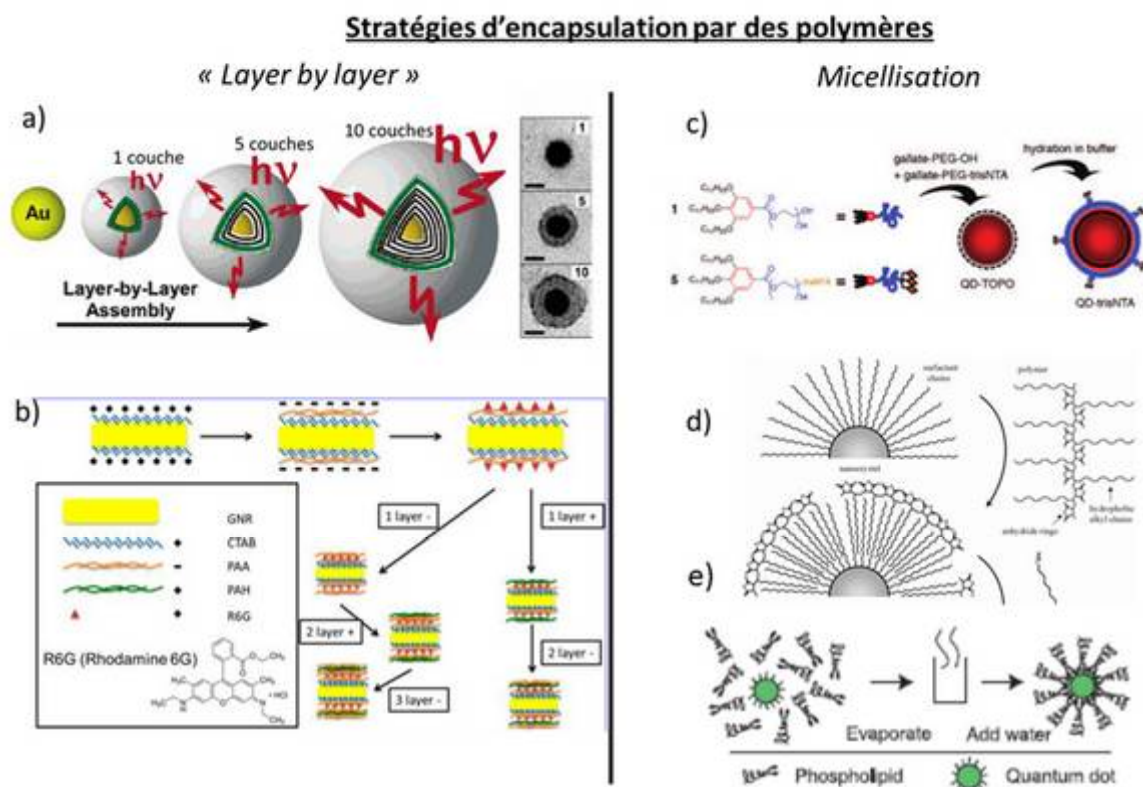


Figure 18 : Différentes stratégies d'encapsulation de nanoparticules utilisées dans la littérature. a-b) Stratégie dite du « Layer by layer »⁷⁵ c-d) Stratégie d'encapsulation par Micellisation. a) Encapsulation de particules d'or sphérique stabilisée par du citrate ($\phi=13$ nm) enrobées par des couches successives de polymères de charges opposés.⁷³ b) Encapsulation de bâtonnets d'or CTAB par des couches successives de polymères de charges opposés.⁷⁴ c) Encapsulation de QDs TOPO par des gallates PEGylés grâce à des interactions de type Van Der Waals.⁷⁶ d) Stratégie générale d'encapsulation par micellisation de nanoparticules hydrophobes grâce à des interactions de type Van Der Waals.⁷⁷ e) Stratégie d'encapsulation de QD par des phospholipides permettant leur biocompatibilité.⁷⁸

Les nanocristaux initialement dispersés dans des solvants organiques toxiques (toluène, chloroforme...) peuvent également être encapsulés par des polymères amphiphiles pour les stabiliser dans des solvants polaires. L'encapsulation de QDs stabilisés par des ligands hydrophobes (TOPO) grâce à des interactions de type Van Der Waals a permis de les disperser dans l'eau (Figure 18c).⁷⁶ Les QDs-TOPO ainsi fonctionnalisés par des gallates PEGylés peuvent être utilisés comme marqueurs dans les cellules. Cette méthode d'encapsulation a été développée au laboratoire en 2009. Par ailleurs, la stratégie d'encapsulation avec des phospholipides permet également d'augmenter la biocompatibilité de QDs (Figure 18e).⁷⁸ De manière plus générale, la méthode d'encapsulation par

des polymères amphiphiles peut être appliquée à tous les nanocristaux stabilisés par des ligands hydrophobes à longues chaînes (Figure 18d).⁷⁷



Figure 19 : a) Schéma représentant une particule hybride composée d'un cœur métallique (Au) enrobé de molécules fluorescentes (OG-488) dans une couche de silice. b) Cliché MET du cœur (Au). c) Clichés MEB des particules cœur-coquille Au/silice/OG-488. Source Noginov et al⁷⁹

La surface des nanocristaux peut également être passivée par des métaux ou des oxydes métalliques. Dans le cas des QDs, la formation de particules de type cœur/coquille peut permettre d'améliorer les propriétés optiques du cœur inorganique.^{16, 51} Par ailleurs, l'encapsulation avec des oxydes métalliques (TiO₂, SiO₂...) est une méthode très employée pour passiver la surface des nanocristaux.⁵¹ Ce procédé utilise des précurseurs de la silice tel que le tétraéthylorthosilicate (TEOS), et une émulsion d'eau dans l'huile à pH basique est réalisée pour condenser la silice sur les particules hydrophobes. Cette stratégie peut être employée pour régler finement les distances entre le cœur et un objet à proximité.⁷⁹ Dans cet exemple, Noginov et al. démontrent un effet laser, l'émission stimulée de photons (due au couplage exciton-plasmon) est générée par une molécule fluorescente incluse dans une couche de silice enrobant une particule d'or (Figure 19a-c).

Ces stratégies d'encapsulation par des polymères et des métaux conduisent à des nanoparticules remarquablement bien stabilisées. En effet, la surface des nanocristaux est passivée par ces méthodes. Cependant, pour des applications en catalyse, il est souhaitable de favoriser les transferts électroniques entre la nanoparticule et son environnement. Une autre stratégie de fonctionnalisation qui favorise l'accessibilité de la surface des nanocristaux a donc été privilégiée dans cette thèse : la stratégie de l'échange de ligands.

4.2.2) Echange de ligands

La stratégie d'échange de ligands consiste à remplacer les ligands initiaux à la surface d'une nanoparticule par des ligands d'une meilleure affinité pour la surface. La surface des nanocristaux fonctionnalisés par cette méthode est plus accessible comparée aux stratégies d'encapsulation, facilitant ainsi les transferts électroniques. En effet, le taux de couverture est moins grand et l'épaisseur de la couche de ligands organiques plus faible.

-Contexte et état de l'art-

Le ligand utilisé pour échanger la coquille organique des nanocristaux possède une fonction d'ancrage d'une forte affinité pour la surface. L'affinité de la fonction d'ancrage pour la surface est un paramètre déterminant sur la stabilité colloïdale des nanocristaux. En effet, l'élimination des espèces libres en solution (par chromatographie d'exclusion stérique, centrifugation...) déplace l'équilibre vers la désorption des ligands.⁸⁰ Un ancrage robuste est alors nécessaire pour éviter la désorption dynamique des ligands à la surface des nanocristaux. Selon la surface à fonctionnaliser, plusieurs fonctions chimiques peuvent être utilisées.

Dans le cas des nanoparticules d'or, plusieurs ligands peuvent être utilisés. La synthèse classique des nanocristaux d'or sphérique est la synthèse de Turkevich⁵⁵ où les nanoparticules sont stabilisées par du citrate. Elles peuvent également être préparées en solvant organique avec de l'oleylamine, du CTAB ou bien encore du decanethiol comme agent stabilisant.⁸¹ En effet les thiols (thiol, dithiol, cystéine...) ainsi que les ponts disulfures ont une très forte affinité pour les surfaces d'or.⁸² Dans le cas des surfaces semi-conductrices (CdS, ZnS...) les ligands de synthèse diffèrent selon les méthodes. On peut répertorier les amines (oleylamine), les acides (acide oléique, acide phosphonique), les oxydes phosphoniques (TOPO) et les phosphines (TOP). Contrairement à l'or, le groupe de H. Mattoussi a montré que les « mono »-thiols ont une faible affinité pour la surface des nanoparticules semiconductrices.⁸³ Leurs ligands sont des dérivés de l'acide lipoïque et le greffage n'est possible qu'après réduction du pont disulfure.⁸⁴ En effet, les ponts disulfures ont une faible affinité pour les surfaces semiconductrices alors que le greffage de dithiols est robuste. Enfin, le greffage d'histidines sur les surfaces d'or et semiconductrices est aussi envisageable.^{14b}

Le rôle de ces ligands stabilisant est double, ils permettent (1) de stabiliser la suspension colloïdale et (2) la surface des nanocristaux. En effet, la surface des nanocristaux présente des liaisons pendantes à la surface du cristal en limite du réseau cristallin. En stabilisant ces liaisons pendantes, les ligands « prolongent » la maille cristalline des nanoparticules. Ainsi, des modifications importantes des propriétés optiques peuvent être observées, selon le type de fonction d'ancrage utilisé.^{14b, 81, 85} Par exemple, le greffage de thiols est connu pour participer à l'extinction partielle de la fluorescence des QDs de type CdSe. Cependant, un greffage identique sur des surfaces de CdTe conduit à une exaltation de la fluorescence.⁸⁵ Ce phénomène peut être expliqué par la position des bandes d'énergies de CdSe et de CdTe avec les orbitales moléculaires des thiols. Dans le cas de CdSe, le greffage de thiols induit des niveaux de pièges supplémentaires, limitant les phénomènes de recombinaison radiatifs (Figure 20). Inversement, dans le cas de CdTe, la passivation de la surface par des thiols conduit à une exaltation de la fluorescence car les porteurs de charges sont confinés (Figure 20).⁸⁵

-Chapitre 1-

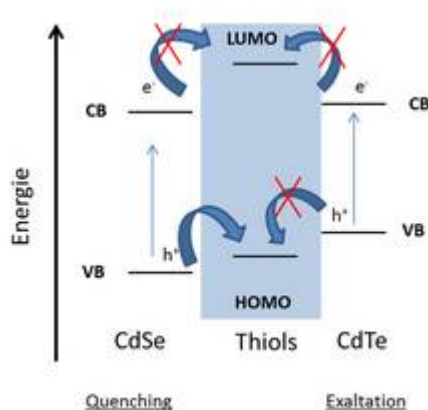


Figure 20 : Schéma représentant les positions relatives des bandes d'énergies (CB/VB) de CdSe et CdTe par rapport aux niveaux d'énergie (HOMO/LUMO) des thiols. La passivation des surfaces de CdTe par des thiols conduit à une exaltation de la fluorescence car les charges sont confinées. Inversement, la passivation de surface de CdSe par des thiols conduit à une extinction de fluorescence car les trous sont délocalisés dans l'orbitale moléculaire « HOMO » des thiols. Inspiré de Wuister et al.⁸⁵.

Mise à part la fonction d'ancrage, des groupements chimiques supplémentaires peuvent être apportés sur le ligand. L'introduction de chaînes polyéthylène glycol (PEG) favorise la solubilisation du ligand (et donc des nanoparticules) dans un milieu polaire. Par ailleurs, les chaînes alkyles peuvent être utilisées pour structurer la coquille organique par des interactions dipolaires de type Van der Waals.⁸⁶ Une autre stratégie pour avoir un greffage robuste (éviter la désorption) est de polymériser *in situ* les ligands à la surface des particules. Enfin, le groupement terminal du ligand doit être choisi avec soin car il détermine la charge finale de la nanoparticule. De plus, il est possible d'introduire des groupements de reconnaissance spécifique pour cibler les sites complémentaires.

Dans cette thèse, nous avons choisi de fonctionnaliser les nanoparticules par échange des ligands initiaux avec des ligands peptidiques hydrosolubles présentant un ancrage tri-cystéine. Il est donc attendu que ces ligands puissent se greffer aussi bien sur les surfaces métalliques que semiconductrices. De plus, nous nous sommes attachés à explorer l'influence d'une chaîne alkyle dans la structure du peptide sur le taux de couverture des ligands à la surface des nanoparticules.

5) De la synthèse de nanoparticules fonctionnelles à l'obtention de nouvelles propriétés collectives.

L'organisation de nanoparticules (sur un substrat ou en solution) permet d'obtenir de nouvelles propriétés d'ensemble.⁸⁷ Par exemple, les nano-bâtonnets d'or présentent des propriétés plasmoniques originales et les « points chauds » aux extrémités des bâtonnets peuvent amplifier des signaux optiques (effet d'amplification Raman de surface).^{32b, 88} Le groupe de L. M. Liz-Marzan a montré sur des assemblages de bâtonnets d'or que le facteur d'amplification des signaux Raman augmente avec le nombre de couches de bâtonnets.^{32a} Les nanocristaux sont alors assimilés à des briques élémentaires pour élaborer de nouveaux matériaux. Différentes stratégies ont été mises en

-Contexte et état de l'art-

œuvre dans la littérature pour assembler les nanoparticules : l'auto-assemblage en solution, l'assemblage dirigé par un « moule », l'assemblage à une interface (liquide/liquide, liquide/air, liquide/solide) et l'assemblage assisté par un champ de force (magnétique, électrique).⁸⁷ Ces assemblages de nanoparticules peuvent être appelés super-cristaux c'est-à-dire des structures fractales où l'ordre cristallin est présent à plusieurs échelles (échelle de la particule, de l'atome et éventuellement macroscopique).

Afin de fabriquer des électrodes photosensibles pour catalyser des réactions chimiques, la présence de phases nanostructurées et denses sur l'électrode pourrait permettre d'augmenter la densité de courant au niveau de ces électrodes. La structuration hiérarchique (à plusieurs échelles) des nanoparticules est donc un point important pour élaborer ces matériaux. Dans cette partie, les différentes méthodes d'assemblage sont discutées. Les exemples traités portent sur l'assemblage de nanoparticules d'or et semiconductrices.^{87, 89} De plus, nous nous limiteront ici aux cas des stratégies d'assemblages dites « Bottom up », qui organisent des nanoparticules initialement en suspension colloïdales.

5.1) Propriétés « cristal liquide » des bâtonnets envisagés dans ce travail

Les bâtonnets métalliques (Au) et semi-conducteurs (CdSe@CdS) utilisés dans ce travail, sont des objets anisotropes ayant une forme globale cylindrique en première approximation. Ces bâtonnets ont une tendance naturelle à s'orienter dans la même direction selon un ordre nématique. Ce phénomène est thermodynamiquement favorable et a été décrit par Onsager en 1949^{41a} pour des objets cylindriques : si le gain d'entropie translationnelle est supérieur à la perte d'entropie orientationnelle (rotation) alors les cylindres s'alignent dans la même direction. Ce phénomène est uniquement dépendant du rapport d'aspect des bâtonnets (longueur/largeur) et sera plus marqué pour des bâtonnets de rapport d'aspect élevé.

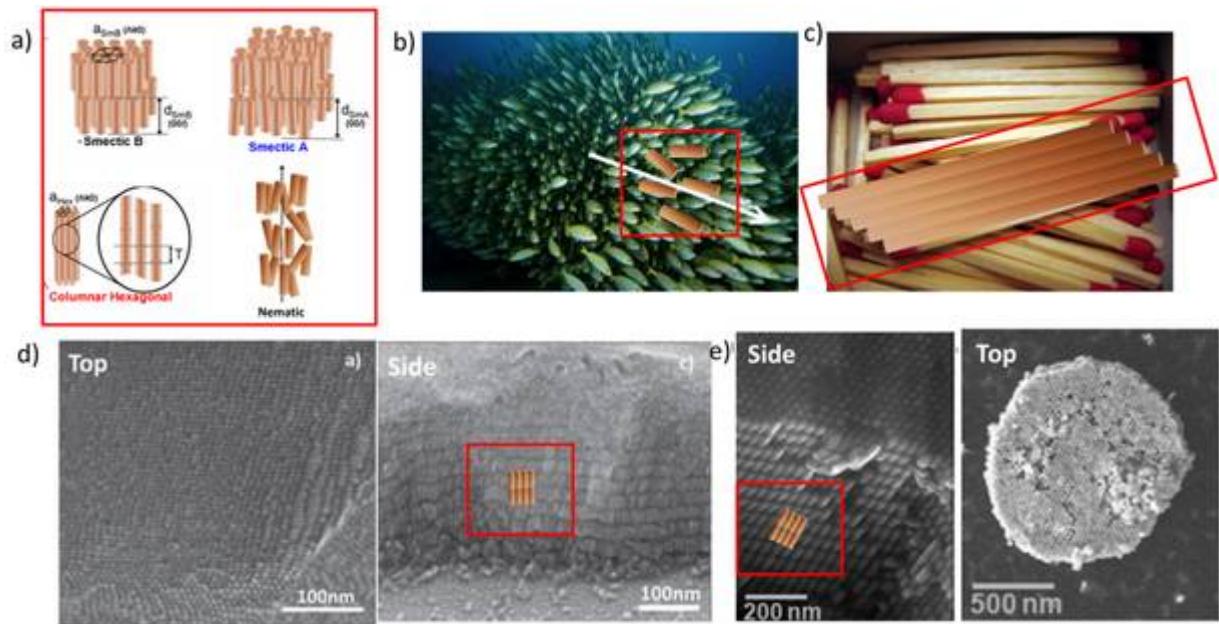


Figure 21 : a) Ordre cristal liquide possible des bâtonnets : smectique B (ordre lamellaire et planaire), smectique A (ordre lamellaire uniquement), colonnaire hexagonal (ordre planaire uniquement) et nématique (orientation des bâtonnets dans une direction sans ordre planaire ni lamellaire). Source Hamon et al.⁹⁰ b-c) Analogie des cristaux liquides avec des objets cylindriques observables dans la nature : Un banc de poisson et des allumettes dans une boîte respectivement. d-e) Bâtonnets CdSe@CdS et d'or assemblés en phase smectique B par évaporation du solvant (vue de dessus « top » et de côté « side ») respectivement. d) Source : Zanella et al.⁴⁵ e) Source Alvarez-Puebla et al.^{32a}

Les phases obtenues dans ce travail (Figure 21a) sont similaires à celles observées pour les cristaux liquides (molécules anisotropes présentant des phases cristallines dépendantes de la température ou de la polarité du solvant). L'analogie avec les cristaux liquides peut être étendue à d'autres objets anisotropes macroscopiques d'origine naturelle ou artificielle (phase nématique : Figure 21b et c respectivement). Des phases ordonnées (lamellaire et planaire : smectique B) ont été obtenues dans la littérature avec des bâtonnets d'or^{32a} et des bâtonnets CdSe@CdS.⁹¹ Dans ces deux exemples, l'évaporation lente du solvant contenant les colloïdes induit leur organisation. Cette méthode d'organisation correspond à un assemblage à l'interface liquide/solide. D'autres exemples d'assemblages à l'interface liquide/liquide ont été obtenus avec les QR.⁹² Malgré des organisations locales (plusieurs μm^2) très bien définies, la forme et l'organisation macroscopique des supercristaux n'est pas contrôlée par cette méthode. De plus, la hauteur du supercristal est souvent limitée à quelques couches de bâtonnets. Ces méthodes d'assemblage à une interface liquide/solide, correspondant à l'évaporation d'une goutte, ont été utilisées dans cette thèse notamment dans la préparation des grilles de microscopie électronique.

5.2) Auto-assemblages assistés par un champ de force.

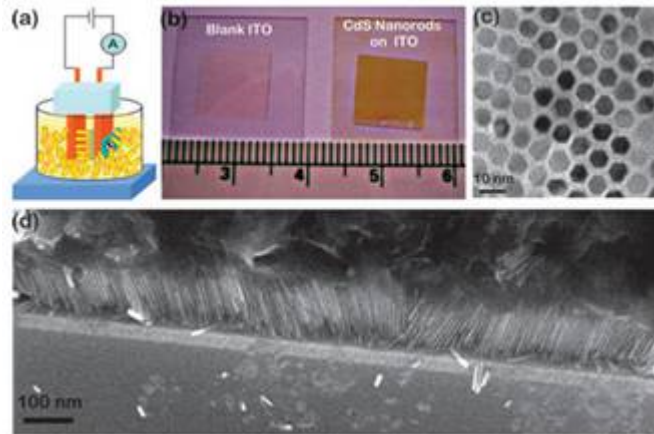


Figure 22 : a) Schéma du système pour assembler des bâtonnets CdS (dans le toluène) par électrophorèse. Le substrat (ITO, silicium, grille MET) est fixé sur l'anode avec un potentiel de 200V. b) Photographie d'un substrat d'ITO avant et après dépôt des bâtonnets (1cm²). c) Image MET des bâtonnets (vue de dessus) assemblés dans une phase hexagonale. d) Le substrat de silicium est clivé et révèle en MEB le réseau de bâtonnets alignés. Source Ahmed et al.⁹³

Il est également possible d'assembler les bâtonnets sur un substrat (ou en solution) grâce à un champ de force extérieur. S. Ahmed et al (Figure 22) reportent un assemblage 2D à l'échelle du centimètre dirigé par un champ électrique.⁹³ Le groupe de L. Manna,^{10, 94} reporte également l'utilisation d'un champ électrique pour diriger l'assemblage de bâtonnets CdSe@CdS. Ces méthodes conduisent à des ordres à très longue distance mais l'ordre cristallin des bâtonnets est en général de moins bonne qualité (ordre hexagonale colonnaire, Figure 21). Par ailleurs, les pinces optiques peuvent être utilisées pour manipuler les nanobâtonnets d'or.⁹⁵ Cependant l'utilisation des pinces optiques est limitée à la manipulation d'une particule unique. Ces méthodes d'auto-assemblage assistées par un champ de force n'ont pas été utilisées dans cette thèse.

5.3) Auto-assemblages en solution

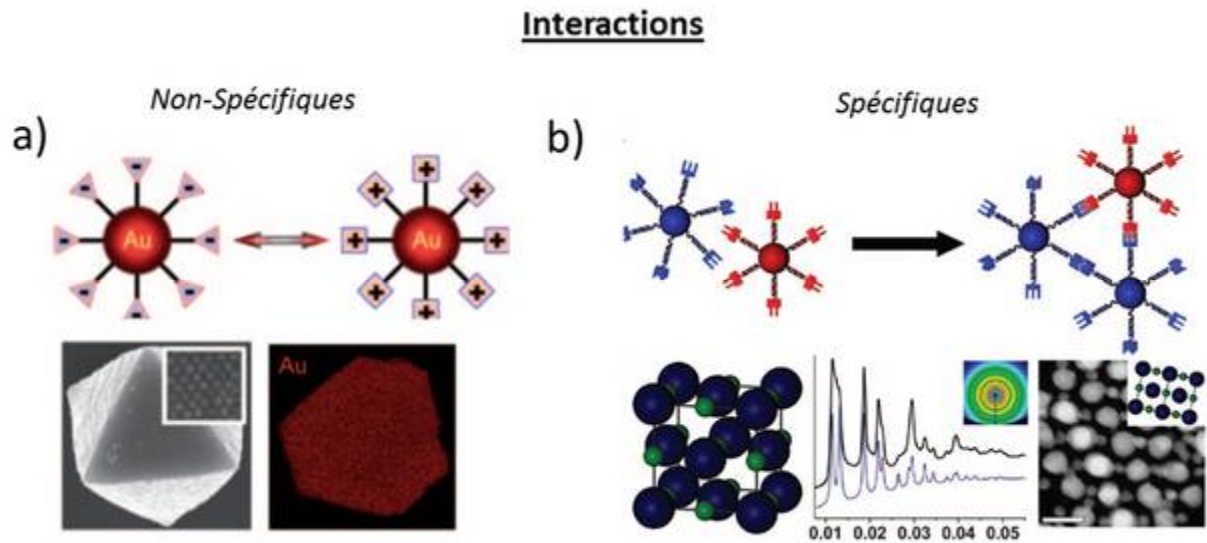


Figure 23 : a-b) Auto-assemblage de particules d'or sphérique dirigé par des interactions non spécifiques (électrostatique) et spécifiques (hybridation de l'ADN) respectivement. a) Source : Kowalczyk et al.⁹⁶ b) Source : Macfarlane et al.⁹⁷

L'assemblage de particules en solution est gouverné par un équilibre des forces attractives (liaison hydrogène ou covalente, électrostatique entre deux charges opposées, forces de déplétion ou bien encore des interactions dipolaires) et des forces répulsives (encombrement stérique, électrostatique entre deux charges identiques). Il existe deux grands types d'interactions pour diriger l'assemblage en solution : spécifiques (reconnaissance biotine/streptavidine, hybridation ADN...) et non spécifiques (électrostatiques...). Les interactions non spécifiques sont très dépendantes de l'équilibre des forces et dépendent entre autres de l'anisotropie des particules. Ainsi des superparticules composées de bâtonnets CdSe@CdS ont été assemblées.⁴⁴ De plus, des forces de déplétion peuvent diriger l'assemblage de nanobâtonnets CdSe@CdS^{91, 98} ou d'or⁹⁹ et sont très dépendantes de la monodispersité des échantillons. Ces assemblages sont souvent réversibles et peuvent servir à purifier une solution de colloïdes selon leur morphologie. Plus généralement, l'auto-organisation en solution permet d'obtenir des géométries d'assemblage très variées comme des chaînes (1D),¹⁰⁰ des structures planaires (2D)^{100c, 101} ou des cristaux tridimensionnels (Figure 23a-b).^{91, 101} De plus, les assemblages basés sur des interactions spécifiques permettent d'obtenir des structures cristallines 3D plus complexes (Figure 23b).^{100c, 102}

Dans le cadre de cette thèse, l'assemblage de bâtonnets d'or dirigé par des interactions électrostatiques sera discuté. L'auto-organisation des bâtonnets d'or y est dirigée entre un ligand peptidique chargé négativement, et le CTAB positivement chargé. De plus, les assemblages dirigés par des interactions spécifiques seront aussi discutés (interaction biotine/streptavidine¹⁰³ et hybridation de l'ADN). Ces méthodes basées sur la reconnaissance spécifique de protéines ou d'ADN

simple brin complémentaire nous ont permis de démontrer soit l'accroche d'un peptide sur des nanobâtonnets d'or et d'un sel de benzédiazonium sur les QR soit la formation d'hétérostructures QR/Au « Janus » respectivement.

5.4) Auto-assemblages dirigés par un moule.

L'utilisation de moules est particulièrement adaptée pour assembler les nanoparticules à une échelle macroscopique: en 3 dimensions (Figure 24a et d) et de façon localisée (2D) sur un substrat (Figure 24b). Elles peuvent également être utilisées pour assembler des nanoparticules dans des géométries particulières comme dans l'exemple présenté en Figure 24c, où des nanoparticules d'or sphériques ont été assemblées dans une géométrie hélicoïdale sur un moule d'ADN.¹⁰⁴

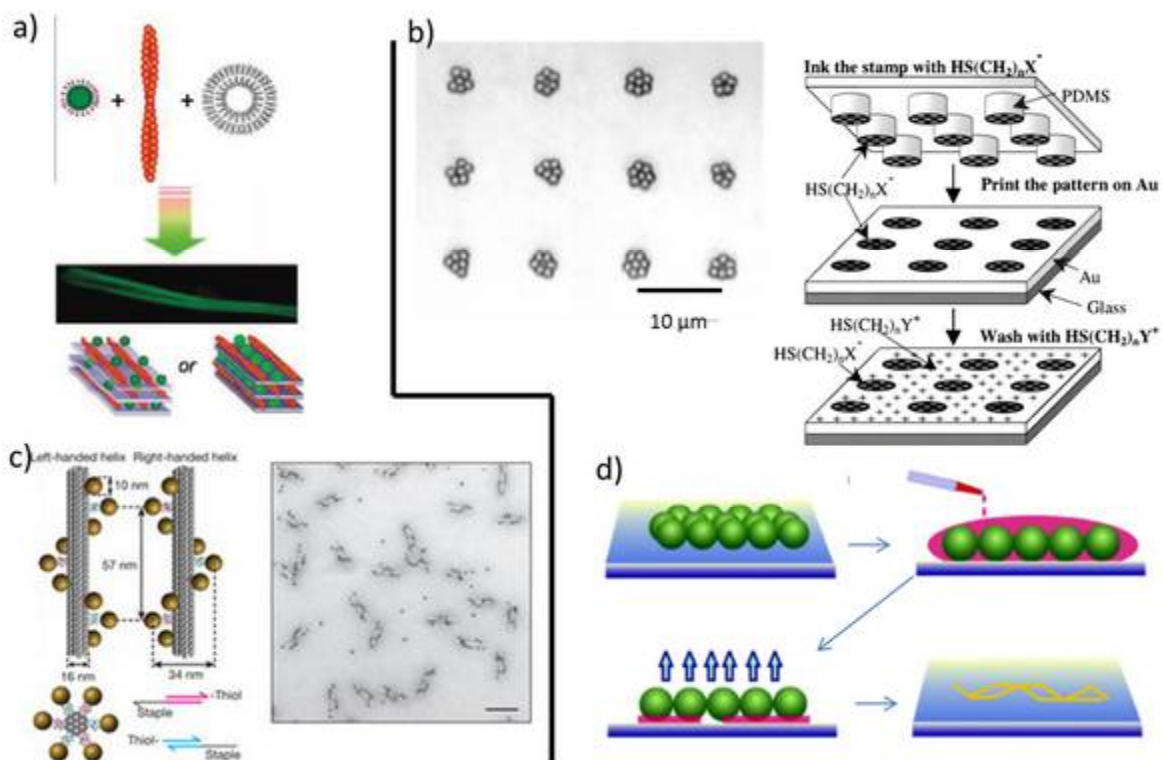


Figure 24 : a-d) méthodes d'assemblage utilisant un moule. a) Stratégie employée au laboratoire pour diriger l'assemblage en cristaux 3D de quantum dots CdSe@ZnS grâce à des membranes lipidiques et de l'actine. (Henry et al.¹⁰⁵) b) Moule de PDMS utilisé pour charger localement un substrat d'or afin de diriger un assemblage de particules en 2 dimensions. (Aizenberg et al.¹⁰⁶) c) Assemblage de particules d'or sphériques sur la double hélice d'ADN-thiols pour former des hélices de nanoparticules d'or. (Kuzyk et al.¹⁰⁴) d) Assemblage macroscopique de nanoparticules d'or sphérique par évaporation au sein d'un réseau de particules de latex. (Vakarelski et al.¹⁰⁷)

Au laboratoire a été développée une méthode pour diriger la cristallisation en 3 dimensions (2011) des quantum dots grâce à une interaction électrostatique attractive avec des membranes lipidiques et une protéine autoassemblée.¹⁰⁵ Cette méthode a été étendue aux QR CdSe@CdS par Thomas Bizien (thèse 2010-2013). Malgré une structuration en trois dimensions (Bizien, T et al. en préparation), ces assemblages sont confinés dans des capillaires ce qui limite leur application pour la photocatalyse. Par ailleurs, des méthodes existent dans la littérature pour localiser les assemblages

-Chapitre 1-

sur un substrat (exemple Figure 24b) grâce à des interactions électrostatiques. Cette méthode utilise un moule en PolyDiMethylSiloxane (PDMS) pour « imprimer » les espèces chargées sur le substrat.¹⁰⁶ Malgré une bonne organisation macroscopique, ces assemblages sont limités en deux dimensions. Des assemblages de nanoparticules d'or en trois dimensions ont été obtenus par évaporation du solvant dans un réseau de billes de latex.¹⁰⁷ Cependant cette stratégie ne permet pas un assemblage macroscopique.

Dans ce travail de thèse, une nouvelle méthode d'assemblage développée par le laboratoire de Physique de Rennes est appliquée aux nanoparticules. Elle utilise une surface microtexturée en PDMS de manière à sécher les colloïdes sur le substrat de manière contrôlé. De plus, l'organisation des bâtonnets (QR ou bâtonnets d'or) est facilitée grâce à une chimie de surface judicieuse. Les supercristaux sont en trois dimensions et un ordre multi-échelle est ainsi obtenu. Notre stratégie combine donc les techniques d'évaporation lente à une interface liquide/solide et de l'utilisation d'un moule. L'organisation hiérarchique des bâtonnets est un prérequis pour leur intégration dans des systèmes électrochimiques.

6) Choix du système et présentation de la méthodologie

Dans ce chapitre bibliographique, les bases des propriétés photo-physiques et colloïdales des nanoparticules ont été introduites. L'objectif de cette thèse est la mise en forme d'un système à base de nanoparticules permettant de catalyser des réactions d'oxydo-réduction, comme la réduction des protons de l'eau, induites par la lumière soit en suspension colloïdale ou soit en dépôt par des électrodes photosensibles. Les photosensibilisateurs étudiés sont de taille nanométrique car leur grande surface spécifique permet d'envisager des réactions de catalyse efficace avec un très bon rendement de photo-conversion. Des nanoparticules semiconductrices oblongues (QR CdSe@CdS) ont été envisagées dans ce travail car elles permettent de collecter la lumière du visible tout en séparant les charges photogénérées. Afin de maximiser l'absorption du spectre solaire, des nanoparticules métalliques anisotropes ont été étudiées car leur spectre d'absorption est modulable avec le rapport d'aspect. La chimie de surface des nanocristaux a été optimisée dans le but de les rendre fonctionnels dans l'eau pour améliorer leurs propriétés photorédox et s'affranchir des ligands organiques initiaux et de solvants toxiques. Les réactions de photocatalyse envisagées s'inscrivent dans le développement de la filière hydrogène où les catalyseurs à base de platine doivent être remplacés pour offrir des systèmes, comme les piles à combustible, accessibles à tous. Les réactions de production et d'oxydation de l'hydrogène sont intéressantes pour stocker et libérer l'énergie chimique respectivement et ont été étudiées au laboratoire. Nous nous sommes attachés à travailler avec une hydrogénase catalysant la réaction d'oxydation de l'hydrogène.

L'optimisation des synthèses organométalliques a constitué la première partie de ce travail. Ensuite, nous nous sommes attachés à échanger les ligands de synthèses initiaux des bâtonnets par des ligands peptidiques originaux. Ces ligands peptidiques ont été en partie développés dans des travaux antérieurs au laboratoire par Aurélien Dif (thèse 2004-2008) et leur structure a été optimisée en modifiant les groupes terminaux et/ou en introduisant une chaîne alkyle. En effet, nous chercherons à déterminer les avantages et les inconvénients de l'ajout de cette chaîne hydrophobe dans la structure des ligands peptidiques. Le choix de la coquille organique (épaisseur, hydrophobicité...) enrobant les nanocristaux est un point important pour envisager des réactions de photocatalyses ou d'assemblages à partir des nanobâtonnets par la suite. Par ailleurs, ces ligands peptidiques sont supposés se greffer aussi bien sur les surfaces métalliques que semiconductrices grâce à une fonction d'ancrage robuste de type cystéine. Dans le cas des bâtonnets d'or, peu de travaux reportent l'échange du CTAB par des peptides. Grâce à la versatilité de la chimie des peptides, nous allons explorer les interactions électrostatiques entre le CTAB chargé positivement et les ligands

-Chapitre 1-

peptidiques de charges modulables. La fonctionnalisation chimiques nanocristaux constitue le deuxième chapitre de cette thèse.

Puis, dans le but de mettre en forme des électrodes photosensibles à partir des nanoparticules, une nouvelle méthode de séchage a été utilisée pour réaliser un assemblage multi-échelle. Cette méthode consiste simplement à appliquer une surface microtexturée en PDMS sur une goutte de colloïdes. La surface a été développée à l'institut de physique de Rennes par F. Artzner (thèse M. Postic) en collaboration avec L. Courbin. Nous chercherons à assembler les bâtonnets selon cette méthode. De plus, en collaboration avec l'équipe de C. Gosse (Laboratoire de Nanophotonique et de Nanostructure, Marcoussis), l'assemblage sera caractérisé en microscopie électronique à balayage. En effet, cette technique est très performante pour caractériser à plusieurs échelles l'assemblage obtenu. L'utilisation du moule de PDMS, pour diriger l'assemblage des bâtonnets, a également été appliquée sur les suspensions de QR CdSe@CdS. Dans le cas des bâtonnets d'or, leurs propriétés optiques collectives ont été mesurées. Ce travail a été effectué dans le cadre d'une collaboration avec l'équipe de S. Ravaine (CRPP, Bordeaux) afin d'élucider les relations entre les propriétés optiques et la structure des assemblages obtenus. Ces travaux concernant l'assemblage des nanobâtonnets sont présentés dans le troisième chapitre.

Dans le quatrième chapitre, les propriétés d'oxydo-réduction photo-induites des QR ont été étudiées avant d'envisager des réactions de photocatalyses. Les propriétés photorédox des QR dépendent de leur rapport d'aspect. Nous chercherons à discriminer l'activité photorédox des QR grâce à l'utilisation d'un chromophore hydrosoluble dont la cinétique de réduction devrait dépendre du rapport d'aspect des bâtonnets. Si les QR sont capables de réduire cette sonde rédox, alors il pourrait être envisageable de photo-greffer des molécules organiques après activation (par des réactions d'oxydoréduction) de leur fonction d'ancrage. Dans cette optique, nous avons cherché à photoréduire des sels de benzènediazonium à la surface des QR, connus pour fonctionnaliser de nombreux types de surface. L'intérêt de ce travail porte sur la post-fonctionnalisation de ces sels et sur l'éventuelle dissymétrisation de la fonctionnalisation des QR.

Dans le but d'optimiser la séparation des charges au sein des QRs, nous nous sommes attachés à réduire un sel d'or sur les QR. Ce travail a été réalisé en collaboration avec l'équipe de C. Aimé (LCMCP/UPMC, Paris). En effet, comme nous l'avons évoqué précédemment, la formation d'une hétérojonction métal/semi-conducteur permet de séparer les charges photogénérées. La première partie de ce travail a consisté à optimiser le nombre de domaines d'or réduits par QR. Les différents paramètres de l'expérience ont été ajustés dans ce sens. Le sel d'or hydrosoluble utilisé dans ces expériences a été choisi car il est fonctionnalisable avec des thiolates. La deuxième partie de ce

-Contexte et état de l'art-

travail consiste à déterminer si les fonctions chimiques précédemment ajoutée au sel d'or restent greffées à l'or après réduction du sel métallique.

Dans le cinquième chapitre nous nous sommes attachés à assembler un catalyseur naturel (une hydrogénase) avec les QR. Ce travail a été réalisé dans le cadre d'une collaboration avec l'équipe d'E. Lojou (CNRS UMR 7281, Marseille). L'hydrogénase (Hase) envisagée dans ce travail catalyse la réaction d'oxydation de l'hydrogène. Dans un premier temps, les complexes QR@Hase ont été synthétisés. Nous chercherons alors à trouver des méthodes d'analyses pertinentes pour caractériser le greffage. En effet, il est important que l'Hase conserve son activité catalytique après greffage sur la nanoparticule. Dans un deuxième temps, les complexes QR@Hase ont été étudiés en électrochimie où une excitation lumineuse peut être appliquée pour mesurer les éventuels transferts électroniques entre la particule semiconductrice et l'enzyme.

Chapitre 2 : Fonctionnalisation des nanocristaux

Régir les interactions entre la particule et son environnement.

L'utilisation de nanoparticules nécessite l'emploi d'agents stabilisants afin de contrôler leurs interactions. Tous les travaux effectués durant cette thèse sont basés sur la stratégie de l'échange des ligands initiaux par des ligands d'une meilleure affinité pour la surface des particules. Fonctionnaliser une particule consiste à modifier la surface de celle-ci pour : disperser les colloïdes dans un solvant d'intérêt, introduire des groupes de reconnaissances spécifiques (ADN, Biotine/streptavidine) ou non spécifiques (interaction électrostatiques) ou bien encore pour moduler ses propriétés d'oxydo-réduction photo-induites (photorédox). De plus, la structure du ligand devra être choisie avec soin selon les applications visées (Assemblage, Ciblage, photorédox). Dans ce contexte, la chimie de surface est capitale pour préserver la stabilité colloïdale des nanoparticules et fonctionnaliser chimiquement les nanoparticules avec des (bio)molécules (hydrogénase, complexes organométalliques), catalyseurs de réactions rédox, dans notre cas. Dans ce chapitre sera décrite la stratégie employée pour stabiliser les nanoparticules. Ce chapitre sera divisé en deux parties, la première concernant la fonctionnalisation de bâtonnets d'or et la deuxième la fonctionnalisation des bâtonnets semi-conducteurs (QR). En effet, l'état de surface des bâtonnets à l'issue de la synthèse organométallique est différent : les bâtonnets d'or sont stabilisés avec un tensio-actif cationique, le CTAB, soluble dans l'eau alors que les QR sont dispersés dans des solvants organiques grâce à des ligands phosphorés.

2.1) Fonctionnalisation de nano-bâtonnets d'or.

2.1.1) Introduction et état de l'art.

Le phénomène à l'origine des propriétés optiques des bâtonnets d'or est la résonance plasmon de surface qui correspond à l'oscillation des électrons libres à la surface des bâtonnets. Il en résulte des propriétés optiques originales qui peuvent être modulées en fonction du rapport d'aspect des bâtonnets.^{29b, 34a} L'anisotropie des particules induit la présence de deux bandes d'absorption dans le visible : la bande transverse et la bande longitudinale. Ces bandes correspondent aux deux modes de déplacements du nuage d'électrons à la surface des bâtonnets perpendiculairement à leur grand axe et parallèlement à celui-ci respectivement. Ces bandes pourront être notées TSPR (transverse surface plasmon resonance) et LSPR (longitudinal surface plasmon resonance). Les propriétés collectives ou individuelles de ces nanocristaux en font de bons candidats comme briques élémentaires pour échafauder des matériaux optiques^{41a, 89c, 108} ou bien encore en imagerie.^{29a, 109}

Afin d'utiliser ces nanocristaux en biologie ou encore pour les auto-assembler, il est nécessaire de remplacer le surfactant présent à la surface des bâtonnets à l'issue de la synthèse : le Bromure de Cetyl Trimethyl Ammonium (CTAB). Bien que ce tensio-actif soit nécessaire lors de la synthèse des bâtonnets, le CTAB doit être éliminé pour des applications biologiques (le CTAB est cytotoxique) et les bâtonnets ainsi stabilisés ne sont pas stables dans la plupart des tampons.^{33b, 110} Le CTAB est une molécule amphiphile qui s'organise en bicouche interdigitée sur les bâtonnets leur conférant une très nette charge positive.^{29a, 61b, 111} Comme le CTAB est très difficile à remplacer, il existe de nombreuses stratégies pour fonctionnaliser les bâtonnets. La plus couramment utilisée consiste à échanger le CTAB par des thiolates PEGylés, les thiols ayant une très forte affinité pour l'or.^{29a, 90, 110c, 112} Une stratégie alternative consiste à échanger « en deux temps » les ligands en passant par un solvant organique pour ensuite retourner en phase aqueuse.¹¹³ Il est aussi possible d'encapsuler les bâtonnets par des polymères négativement chargés (principe du « layer by layer⁷² »).^{74, 103} Une autre approche consiste à synthétiser directement les bâtonnets avec le ligand d'intérêt.¹¹⁴ Cependant, cette dernière approche conduit généralement à des nanocristaux mal définis morphologiquement.

Dans une première partie, le CTAB a été échangé par des alcanethiols PEGylés en vue d'assembler les bâtonnets par séchage. Les méthodes d'assemblage, développées avec ces bâtonnets, sont détaillées dans le troisième chapitre (page 80), la cristallisation des colloïdes est dans ce cas dirigée par une surface microtexturée en PDMS. Dans la deuxième partie, nous avons étudié l'échange du CTAB par des peptides PEGylés. Des assemblages résultant directement de l'échange ont été caractérisés et sont décrits dans cette partie.

2.1.2) Echange du CTAB par des alcanethiols PEGylés en vue de préparer des assemblages obtenus par séchage.

Fonctionnalisation

Le CTAB est une molécule amphiphile, présente en large excès (0,2M), permettant la croissance anisotrope des particules d'or. Elle est composée d'un ammonium quaternaire et d'une chaîne alkyle de 16 unités (Figure 25a). Les molécules de CTAB s'organisent en bicouche interdigitée à la surface des nanocristaux leur conférant une très forte charge positive. Dans le but d'assembler les bâtonnets dans des phases denses, il est nécessaire de diminuer les répulsions électrostatiques.¹¹⁵ Nous avons en effet vérifié qu'aucune organisation des nanobâtonnets n'était possible à une grande échelle avec le CTAB.

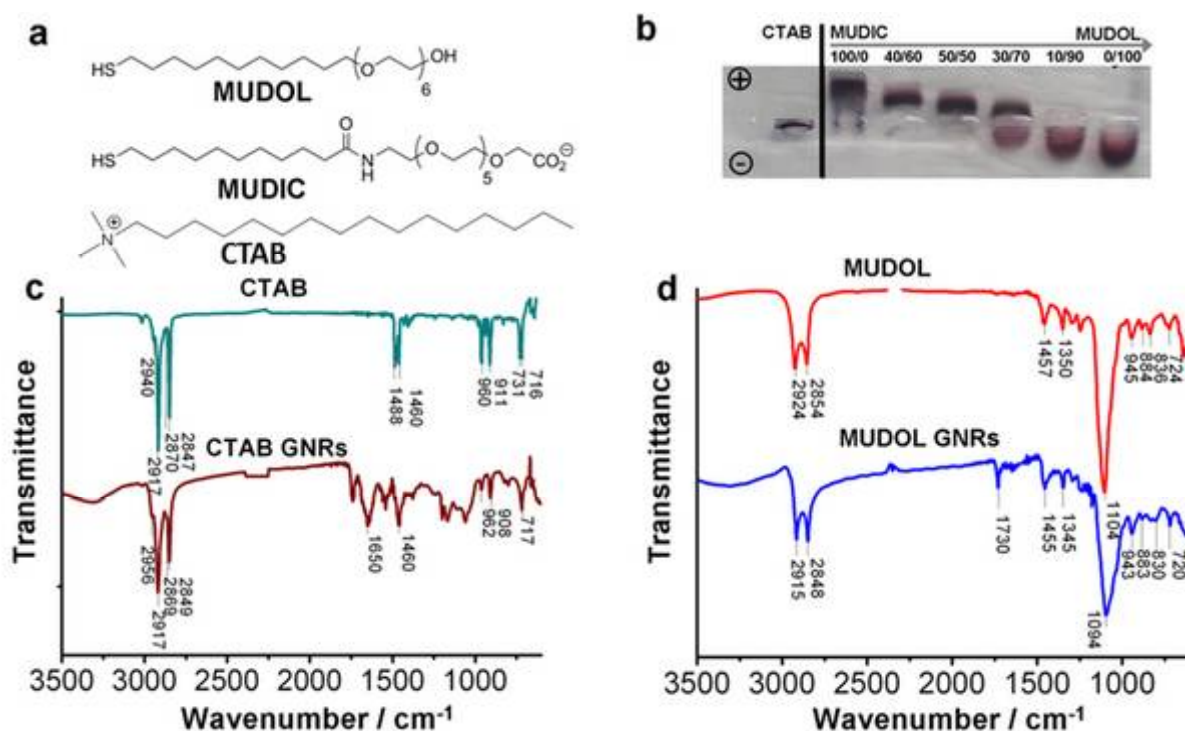


Figure 25 : (a) Structure chimique de MUDOL, MUDIC et du CTAB. (b) Gel d'électrophorèse (agarose) de bâtonnets d'or fonctionnalisés avec différents mélanges de MUDOL et MUDIC. Le puits contenant les particules sans alcanethiols PEGylés est noté CTAB. (c,d) Spectres infrarouge de bâtonnets d'or lyophilisés fonctionnalisés avec CTAB ou MUDOL. Les spectres ont été pris après purification des espèces libres en solution par dialyse. Les spectres correspondants aux ligands sont montrés comme références.

Il est possible par l'ajout de sels, de diminuer la portée de ces interactions répulsives.¹⁰⁸ Il est aussi possible d'assembler les bâtonnets *via* des « linkers » spécifique ou non,^{100c, 116} ces derniers jouant sur l'attraction électrostatique entre le CTAB et des molécules de charge neutre ou négative. Malgré la très forte répulsion électrostatique inter-bâtonnets, des structures organisées ont été obtenue par séchage pour des bâtonnets CTAB.^{32a, 63, 108, 114b} Dans ce cas, l'auto assemblage requiert une concentration en surfactant de l'ordre de 20 mM, c'est-à-dire à une concentration largement supérieure à la concentration micellaire critique (CMC) du CTAB (CMC_{CTAB} = 1mM). Par ailleurs, la

-Chapitre 2-

présence de ce tensioactif n'est pas souhaitée pour des applications biologiques car il est cytotoxique et s'adsorbe électrostatiquement sur de nombreux substrats.^{109-110, 113a, 117} De plus, les bâtonnets CTAB ne sont généralement pas stables en présence d'un tampon.^{110b, 113a} Il est donc préférable d'échanger le CTAB à la surface des bâtonnets d'or. Nous avons donc échangé le CTAB par des alcanethiols PEGylés (Figure 25a). Le produit commercial (1-mercaptopundec-11-yl)hexa(éthylène glycol), noté MUDOL,¹¹⁸ est ici utilisé seul ou en mélange avec le (1-mercaptopundec-11-yl)hexaéthylène glycol) acide carboxylique, noté MUDIC, afin de moduler les charges. La molécule MUDIC a été préparée au laboratoire par C. Valéry, selon des protocoles décrits dans la littérature.¹¹⁹ MUDOL est une molécule non chargée alors que MUDIC est de charge négative à pH neutre. L'état de charge de MUDIC dépend du pH et de la force ionique de la solution mais à des pH basiques (Figure 25a), MUDIC est chargé négativement ($pK_{a_{\text{carboxylate}}}=4-5$). Le ligand MUDOL apparaît être un bon candidat pour l'assemblage des bâtonnets. L'espaceur PEG introduit suffisamment de répulsions stériques et contrebalance les forces dipolaires attractives (Van der Waals) durant le séchage. Le ligand MUDIC a été ajouté dans certaines expériences pour moduler les répulsions électrostatiques afin de contrôler l'interdistance des bâtonnets.

Caractérisation de l'échange

Les bâtonnets sont purifiés de l'excès de CTAB avant l'échange de ligands par plusieurs cycles de centrifugation/redispersion pour atteindre une concentration en CTAB de 0.5 mM (en dessous de la CMC). L'échange du CTAB en faveur de MUDOL/MUDIC a été caractérisé par absorbance UV-visible, spectroscopie infrarouge, sur des gels d'électrophorèse et par zétamétrie. En absorbance UV-visible, un décalage du pic d'absorption longitudinal des bâtonnets est observé vers les plus grandes longueurs d'onde d'environ 20 nm (différence noire/rose, Figure 26). Cette observation démontre que l'environnement des bâtonnets a été modifié.^{29a, 120} Pour des quantités de MUDOL ajoutées supérieures à 8000 éq par rapport aux bâtonnets, un quenching de l'intensité de la bande longitudinale ainsi qu'un élargissement de la bande sont observés. Ces résultats pourraient s'expliquer par une légère agrégation des nanoparticules consécutive à l'échange.

-Fonctionnalisation des nanocristaux-

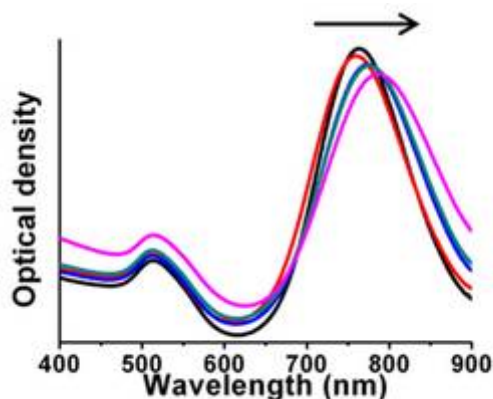


Figure 26 : Spectre d'absorption UV-Visible des bâtonnets d'or (concentration : 0,27 nM) mesuré pour différentes quantités de MUDOL ajoutées : 0 eq (—); 10 eq (—); 80 eq (—); 800 eq (—); 8000 eq (—).

De plus, les spectres infrarouges confirment l'échange (Figure 25c-d). Après l'échange, les pics caractéristiques observés pour les bâtonnets CTAB correspondant aux vibrations d'élongation des groupements méthyles de l'ammonium quaternaire, *antisym* à 2956 cm^{-1} et *sym* à 2869 cm^{-1} ont disparu. Nous pouvons remarquer que les bâtonnets MUDOL montrent des bandes similaires avec le MUDOL seul, particulièrement dans la région d'élongation des CH, entre 945 et 720 cm^{-1} , ainsi que les vibrations d'élongation de la chaîne PEG (O-CH₂) à 1100 cm^{-1} . De plus, les positions des bandes d'élongation des CH₂, *antisym* à 2924 cm^{-1} et *sym* à 2854 cm^{-1} , sont décalées à 2915 cm^{-1} et 2848 cm^{-1} respectivement, indiquant la cristallisation des chaînes alkyles du MUDOL à la surface des bâtonnets.¹²¹

Le greffage de MUDIC et MUDOL a aussi été mis en évidence par un gel d'électrophorèse (Figure 25b). Plusieurs mélanges contenant différents ratios de MUDOL/MUDIC ont été préparés sur le gel où les particules migrent différemment selon leurs charges. Cette technique démontre clairement l'échange du CTAB en faveur des alcanethiols car les bâtonnets CTAB restent agrégés dans le puits, ces derniers étant peu stables en présence d'un tampon.¹²² Ici, la migration des colloïdes est synonyme de greffage par les alcanethiols PEGylés. Pour des bâtonnets fonctionnalisés à 100 % avec MUDOL, les particules migrent vers la cathode (électrode négative) indiquant une charge globale positive des bâtonnets. Inversement les bâtonnets fonctionnalisés à 100% avec MUDIC migrent vers l'anode (électrode positive) indiquant une charge globale négative des bâtonnets. Ces résultats montrent que l'on peut inverser la charge surfacique des bâtonnets selon la nature du ligand (MUDOL ou MUDIC) ajouté. Les mélanges de MUDOL/MUDIC montrent des migrations croissantes avec la charge introduite en modulant les ratios de ligands (neutres et chargés) ajoutés. De plus, le potentiel zêta (correspondant à la charge globale d'un bâtonnet) a été mesuré pour les bâtonnets CTAB et MUDOL. Le potentiel passe de $+55\text{ mV}$ pour les bâtonnets CTAB à un potentiel de $+8\text{ mV}$ pour les bâtonnets fonctionnalisés avec MUDOL. Ces résultats sont en adéquation avec ceux obtenus

sur le gel d'électrophorèse où les particules MUDOL sont chargées positivement. Bien que MUDOL soit non chargé (terminaison OH), une charge positive est mesurée et attribuée à la présence de CTAB résiduel à la surface des bâtonnets.

Les différentes techniques mises en œuvre ont permis de démontrer l'échange du CTAB par les alcanethiolates PEGylés. Dans la suite de ce travail, nous avons essentiellement travaillé avec des bâtonnets fonctionnalisés avec MUDOL mais aussi avec des mélanges 80/20 et 50/50 MUDOL/MUDIC dans le but de moduler les interactions électrostatiques.

2.1.3) Fonctionnalisation des bâtonnets d'or par des peptides PEGylés.

Introduction et état de l'art

Bien qu'il existe un nombre conséquent de ligands pour les nanoparticules d'or commercialement, notre approche a été d'exploiter des ligands de type peptidiques précédemment développés au laboratoire^{14b,123} afin de pouvoir varier la structure chimique suivant les applications visées (ciblage, cristallisation de nanoparticules). Nous avons étudié l'échange du CTAB par des peptides PEGylés à la surface des nanobâtonnets d'or. La chimie des peptides est versatile et permet des combinaisons infinies entre les acides aminés les constituant. De plus, il est possible de les faire synthétiser à façon ce qui économise le temps de préparation. Actuellement ces ligands sont préparés à façon par Polypeptide. En outre, les bâtonnets fonctionnalisés par des peptides sont prometteurs en biologie pour cibler des protéines et des cellules.^{33b} Ils sont majoritairement biocompatibles et il est facile d'ajuster le groupement terminal avec la séquence peptidique. Des peptides (séquence CALNN) ont été utilisés pour fonctionnaliser avec succès des particules d'or sphériques.¹²⁴ Cependant, il existe peu d'exemples dans la littérature de greffage de peptides à la surface de bâtonnets d'or.^{33b}

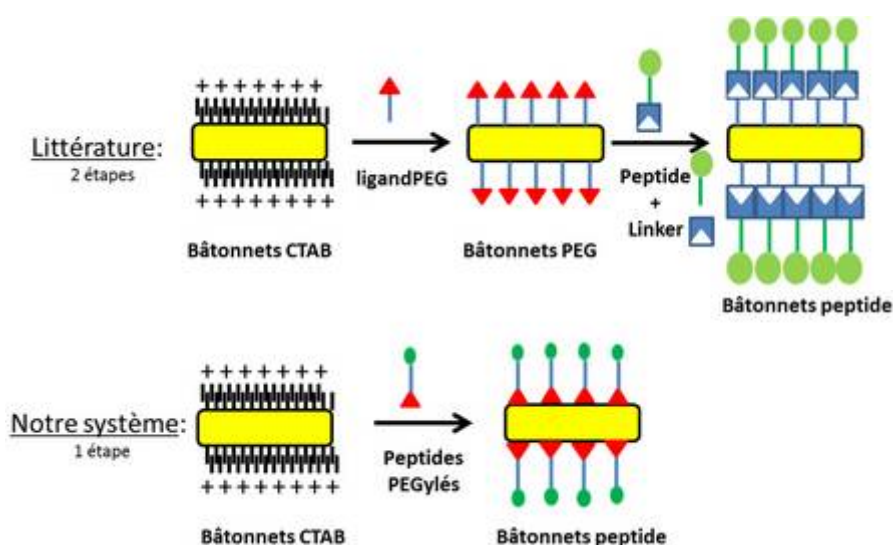


Figure 27 : Schéma illustrant la stratégie employée dans ce travail pour échanger le CTAB par des peptides PEGylés en une étape en comparaison avec les travaux de la littérature (en 2 étapes).

-Fonctionnalisation des nanocristaux-

La plupart des exemples existants pour fonctionnaliser les bâtonnets sont fondés sur une stratégie en deux étapes: le CTAB est d'abord remplacé par des ligands PEGylés puis le peptide d'intérêt est greffé *in situ* par un couplage de type amide ou bien un « linker » sur les bâtonnets (Figure 27).^{86, 124b, 125} Ici nous proposons une stratégie directe en une seule étape. Les peptides utilisés dans cette étude comportent une même ancre peptidique composée de trois cystéines interagissant fortement avec la surface des bâtonnets d'or. Ces peptides ont été choisis car ils ont été utilisés précédemment pour fonctionnaliser des quantum dots CdSe@ZnS au laboratoire.^{14b, 123} Il est à noter que l'utilisation des trois cystéines n'est pas nécessaire pour les surfaces d'or. En effet les thiols interagissent déjà fortement avec ce type de surfaces pour former une monocouche auto-assemblée.^{61b, 89e} Le groupement terminal de ces peptides a été modifié en introduisant un groupement acide aspartique ou lysine afin de modifier la charge surfacique des bâtonnets. De plus, une chaîne alkyle a été introduite de façon à moduler l'hydrophobicité du peptide. Il faudra distinguer dans la suite de ce travail, les peptides longs (avec une chaîne alkyle) et les peptides courts (sans chaîne alkyle) car les phénomènes d'assemblage, résultant de la fonctionnalisation, sont totalement différents.

Synthèse et fonctionnalisation des bâtonnets d'or.

Caractérisation morphologique des bâtonnets d'or.

La synthèse des nanobâtonnets d'or s'effectue en une seule étape et en 20 minutes à partir de l'ajout du réducteur, le borohydrure de sodium, selon les procédures décrites dans la littérature ;^{59b, 60} cette synthèse ne requiert donc pas la formation préalable de germes. Quelques sphères sont observées après la synthèse (Figure 28a). Les caractéristiques morphologiques des bâtonnets ont été mesurées à partir de clichés MET par un logiciel de traitement d'image (Image J, annexe page 203). Le diamètre moyen des bâtonnets est de 8 ± 3.5 nm et leur longueur moyenne de 23 ± 7 nm (les incertitudes sont ici calculées à partir de la largeur à mi-hauteur des gaussiennes des histogrammes (Figure 28c-d)).

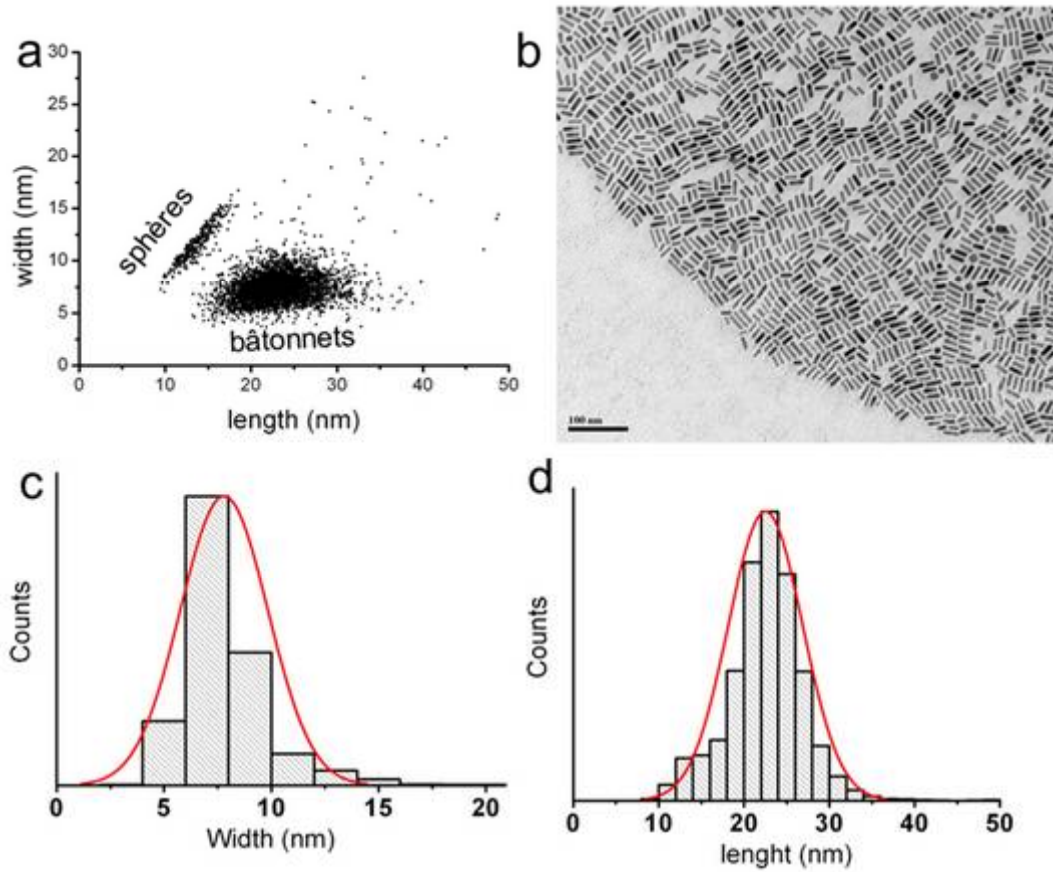


Figure 28 : (a) Histogramme de taille de bâtonnets CTAB. Ce graphique montre le rapport entre les particules isotropes (placées sur une droite de pente $y=x$) et les particules anisotropes (placées sur une droite de pente égale au rapport d'aspect des bâtonnets). b) Image MET de bâtonnets d'or synthétisés au laboratoire. c-d) Histogrammes correspondants à la largeur et la longueur des bâtonnets respectivement.

-Fonctionnalisation des nanocristaux-

Présentation des peptides utilisés pour fonctionnaliser les bâtonnets d'or.

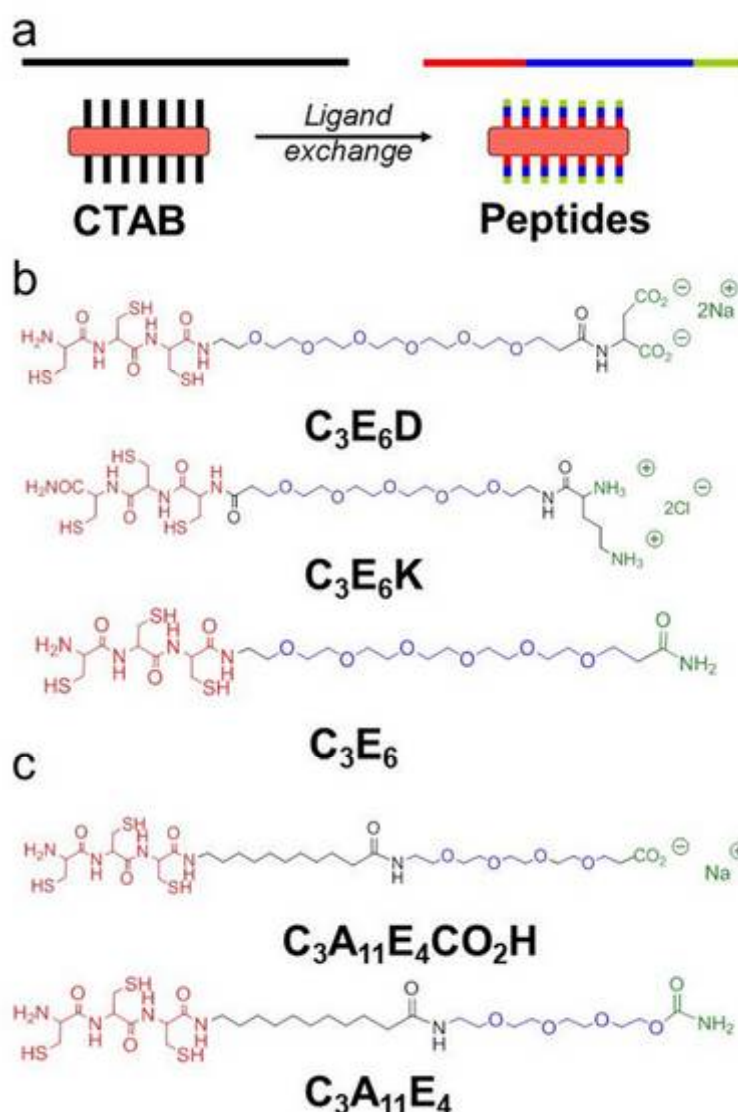


Figure 29 : a) Vue schématique de l'échange de ligands. b-c) Formules développées des peptides utilisés pour l'échange de ligands ; b) peptide court de différentes charges : négativement chargé (C₃E₆D), positivement chargé (C₃E₆K) et non chargé (C₃E₆). c) peptides longs comportant une chaîne alkyle (A₁₁) négativement chargé (C₃A₁₁E₄CO₂H) ou non chargé (C₃A₁₁E₄).

Le CTAB est échangé en présence d'un excès de peptides PEGylés (Figure 29). Tous les peptides possèdent une ancre composée de trois cystéines (C₃), (rouge, Figure 29b-c). La présence d'un groupement polyéthylène glycol (PEG noté E₆) comme espaceur augmente la solubilité du peptide dans l'eau et introduit des répulsions stériques entre colloïdes grâce aux forces d'Helfrich¹²⁶ (bleu, Figure 29b). Différents groupes terminaux peuvent être introduits (vert, Figure 29b) pour moduler la charge : acide aspartique (négatif, noté D), lysine (positif, noté K) ou non chargé *via* une amide. Les peptides C₃A₁₁E₄CO₂H et C₃A₁₁E₄ ont été testés pour évaluer l'importance de la chaîne alkyle. Ils possèdent globalement la même structure mais possèdent en plus une chaîne alkyle (A₁₁) (noir, Figure 29c) un espaceur PEG de 4 unités (E₄) (bleu, Figure 29c) et deux groupes terminaux (vert, Figure

-Chapitre 2-

29c), un acide carboxylique ($C_3A_{11}E_4CO_2H$) et une amide ($C_3A_{11}E_4$). Ces deux derniers peptides devraient en effet donner un meilleur taux de couverture à la surface des bâtonnets car les chaînes alkyle sont connues pour structurer la coquille organique à la surface des particules,^{86, 127} en formant une monocouche avec des interactions de Van der Waals stabilisantes entre les chaînes alkyles.

Les bâtonnets sont caractérisés par deux *maxima* d'absorption dans le visible (noire, Figure 30), la LSPR (bande longitudinale) est positionnée dans le proche infra-rouge à 750 nm et la TSPR (bande transverse) autour de 510 nm. Après deux cycles successifs de centrifugation/redispersion dans l'eau pour éliminer l'excès de CTAB, la concentration en CTAB est estimée à 0,5 mM.

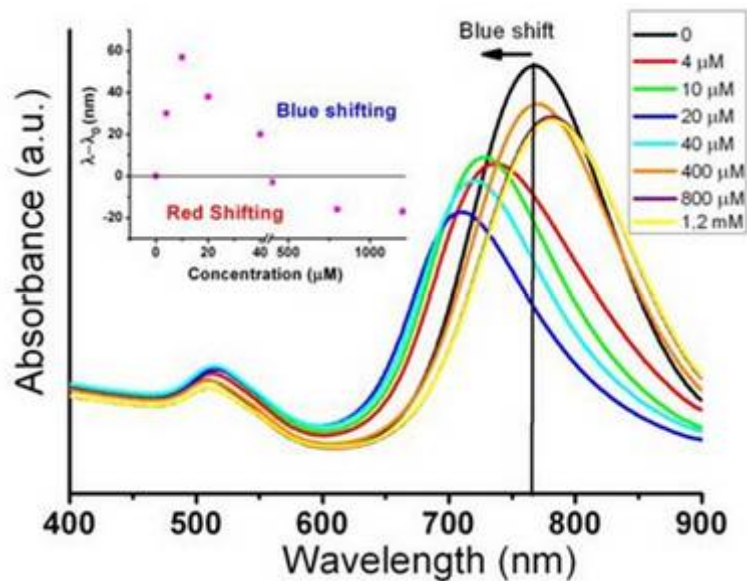


Figure 30 : Spectres d'absorption UV-visible obtenus durant la titration des bâtonnets d'or ($10^{-9}M$) par une solution de peptides C_3E_6D (10mM). Insert : décalage correspondant au λ_{max} de la bande LSPR pour une quantité de peptides ajouté avec comme référence la position λ_0 de la bande LSPR des bâtonnets CTAB.

Caractérisation chimique de la surface des bâtonnets après échange.

Dans le cas des bâtonnets fonctionnalisés avec C_3E_6D , le greffage des peptides a été caractérisé par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR, Figure 25a-b).

-Fonctionnalisation des nanocristaux-

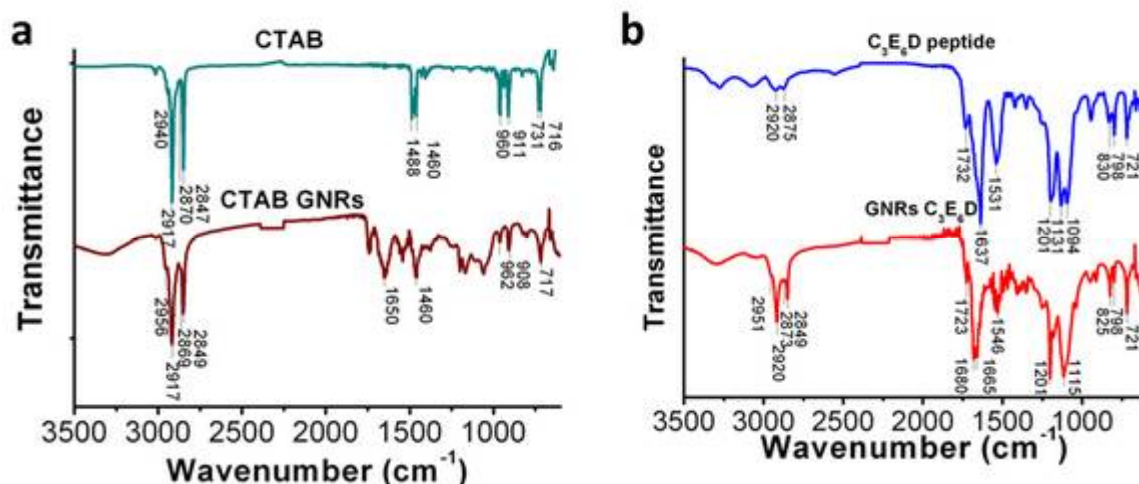


Figure 31 : Spectres Infrarouge de bâtonnets lyophilisés après purification des espèces libres en solution par dialyse. a) CTAB et b) Peptide court C₃E₆D. Les spectres correspondant aux ligands seuls sont montrés comme référence.

Ces spectres ont été enregistrés après purification par dialyse en présence d'une résine échangeuse d'ions, c'est-à-dire que l'on caractérise uniquement les ligands à la surface des bâtonnets. La zone des amides vers 1546 cm⁻¹ (Figure 31b) démontre clairement le greffage des peptides sur les bâtonnets. De plus, les bandes caractéristiques du peptide C₃E₆D dans la région de vibration d'élongation des C-H à 830-720 cm⁻¹ sont aussi observées sur les bâtonnets C₃E₆D. Cependant, la présence d'un signal important venant des bandes de vibration d'élongation des CH₂ (2917cm⁻¹ et 2849 cm⁻¹) sur les bâtonnets C₃E₆D indique que le CTAB n'est pas complètement échangé.

Afin de valider la fonctionnalisation des bâtonnets par des peptides, un peptide fonctionnalisé avec une biotine noté C₃(SG)₃B (vert, Figure 32b), comportant une ancre tri-cystéine (rouge) et un espaceur peptidique serine-glycine (bleu) a été introduit. Un mélange de peptide (3 :1) C₃E₆D et C₃(SG)₃B a été utilisé pour fonctionnaliser les bâtonnets. Ce produit a été préparé et donné par le laboratoire de J. Piehler (Allemagne).

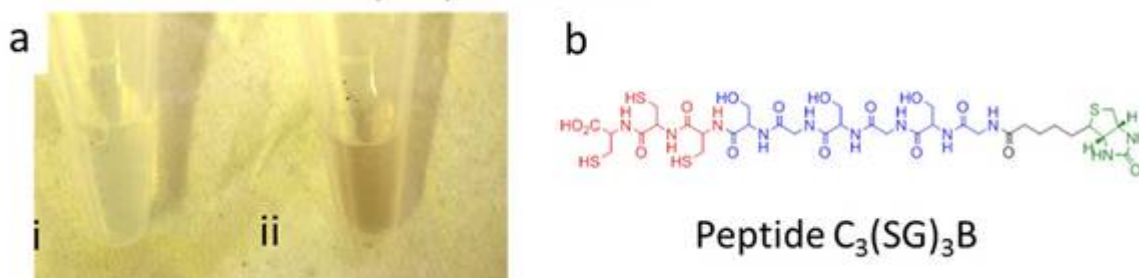


Figure 32 : a) Photo de deux échantillons contenant des billes d'agarose streptavidinées et i) Bâtonnets d'or avec C₃E₆D seul et ii) Bâtonnets fonctionnalisés avec un mélange de C₃E₆D et C₃(SG)₃B (ratio 3 :1). Les images ont été prises après plusieurs lavages afin d'éliminer les nanoparticules d'or non fixées sur les billes d'agarose. b) Formule développée du peptide C₃(SG)₃B.

-Chapitre 2-

Après purification des peptides libres en solution (grâce à une colonne d'exclusion stérique), les bâtonnets sont incubés en présence de billes d'agarose streptavidinées. Après lavage par centrifugation/redispersion dans l'eau pour éliminer les bâtonnets non greffés, les billes incubées en présence des bâtonnets fonctionnalisés avec $C_3(SG)_3B$ présentent la couleur typique des bâtonnets d'or (Figure 32a-ii). L'échantillon témoin (incubé avec bâtonnets sans biotine) est incolore car il n'y a pas eu de greffage des bâtonnets sur les billes. Ces observations sont dues à la très forte interaction biotine/streptavidine. Cette expérience montre l'efficacité du greffage du peptide biotine à la surface des bâtonnets.

Auto-assemblage des bâtonnets d'or en solution durant l'échange de ligands avec les peptides courts.

Evolution des propriétés optiques.

L'évolution des propriétés optiques durant l'échange révèle un assemblage dynamique des nanobâtonnets. En effet, lors de l'échange du CTAB avec des quantités croissantes de peptides C_3E_6D , des décalages en longueur d'onde très importants ont été observés de façon systématique en spectroscopie UV-visible (Figure 30). L'évolution des propriétés optiques des bâtonnets est clairement visible par le changement de couleur de la solution : initialement de couleur marron, virant au bleu pour revenir à la couleur initiale. Les spectres ont été enregistrés après 12h d'incubation pour s'assurer de la stabilité temporelle des échantillons. En effet, l'échange étant dynamique, les spectres UV évoluent dans le temps et l'ordre de grandeur caractéristique de la cinétique est d'1h.

Pour de petites quantités de peptides ajoutées, un décalage important vers les petites longueurs d'ondes (Δ_L^{bleu}) de la bande longitudinale atteignant un maximum de 60 nm a été observé (Figure 30). Un décalage vers les plus grandes longueurs d'onde (Δ_L^{rouge}) a finalement été observé en présence d'un excès de peptide. En parallèle, de légers décalages de la bande transverse sont observés vers le rouge puis vers le bleu. Des observations similaires ont été faites durant l'échange du CTAB avec le peptide court C_3E_6 (Figure 33a). Cependant, lors de l'échange avec le peptide C_3E_6K (positivement chargé) seul un décalage vers le rouge de la LSPR est observé (Figure 33b). Ces expériences indiquent que les changements des propriétés optiques des bâtonnets lors de l'échange avec le peptide négativement chargé C_3E_6D et neutre C_3E_6 sont liés à leurs charges. Ces décalages importants des bandes suggèrent la présence d'agrégats en solution. Par la suite, les décalages de la bande longitudinale vers les plus courtes ou plus longues longueur d'onde sont notés Δ_L^{bleu} ou Δ_L^{rouge} respectivement. Ces décalages sont accompagnés également de modification de position de la bande transverse (Δ_T^{bleu} ou Δ_T^{rouge}) mais le décalage est considéré négligeable devant ceux de la bande longitudinale.

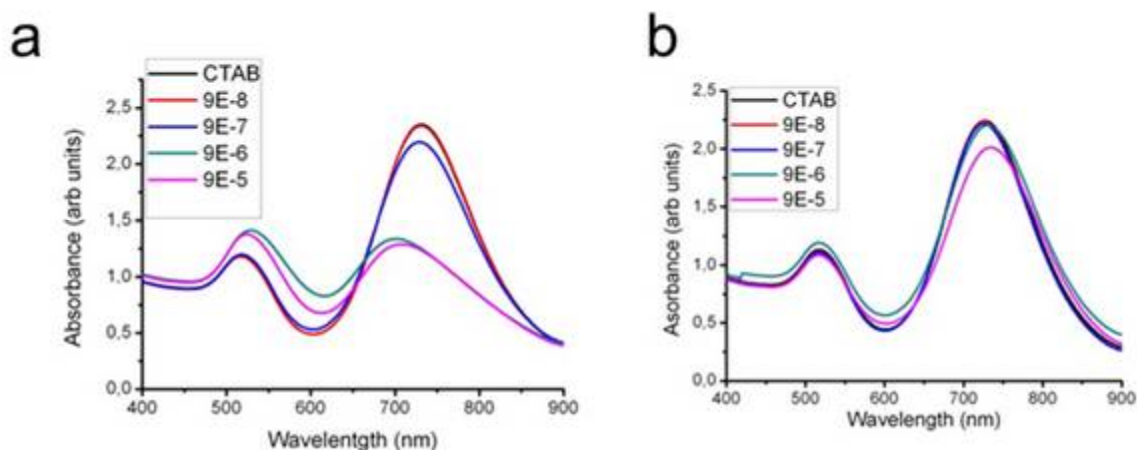


Figure 33 : Spectres d'absorption UV-visible obtenus durant la titration des bâtonnets d'or ($10^{-9}M$) par une solution de peptides (10mM). a) avec C_3E_6 et b) avec C_3E_6K .

Gel d'électrophorèse sur agarose.

Dans le but d'élucider la nature des interactions entre particules, le greffage de C_3E_6D a été suivi par la technique d'électrophorèse sur gel d'agarose (Figure 34).^{14b, 90} Les bâtonnets CTAB sont incubés avec une petite quantité (Δ_L^{bleu}) ou une grande (Δ_L^{rouge}) quantité de peptides C_3E_6D . Sans étape de purification, les bâtonnets ne migrent pas à cause de la présence d'agrégats en accord avec leurs propriétés optiques. Il est possible d'éliminer les agrégats par une colonne d'exclusion stérique. Les échantillons purifiés migrent vers l'anode (électrode positive) ce qui démontre que les bâtonnets sont négativement chargés. Cette étape de purification montre qu'il est possible de séparer les agrégats des bâtonnets libres car la migration des bâtonnets C_3E_6D est uniforme et que les bâtonnets sont bien négativement chargés en accord avec la charge du peptide.

Diffusion dynamique de la lumière.

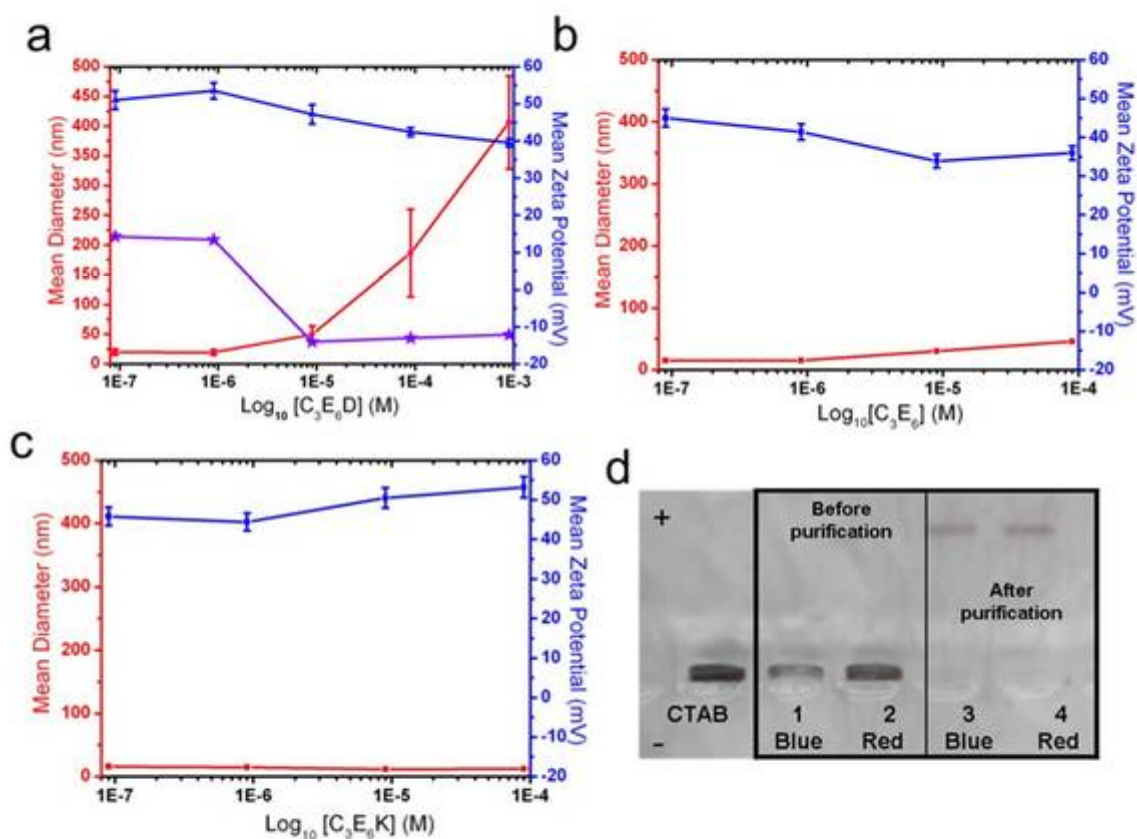


Figure 34 : dosage de bâtonnets d'or CTAB (10^{-9}M) avec une solution de peptide (10 mM) : suivis de l'évolution du diamètre hydrodynamique (rouge) et du potentiel zêta avant purification (bleu) et après (violet) : a) $\text{C}_3\text{E}_6\text{D}$ négativement chargé ; b) C_3E_6 non chargé ; c) $\text{C}_3\text{E}_6\text{K}$ positivement chargé ; d) Image d'un gel d'électrophorèse sur 0.5 % agarose dans un tampon TBE chargé avec des bâtonnets $\text{C}_3\text{E}_6\text{D}$ montrant un décalage de la LSPR vers le bleu (puits 1 et 3) ou un décalage de la LSPR vers le rouge (puits 2 et 4) en spectroscopie UV-visible. Ici puits 1-2 avant purification et 3-4 après purification sur une colonne d'exclusion stérique. Conditions de migration : $E=3.3\text{ V.cm}^{-1}$ durant 45 min.

De manière plus quantitative, les évolutions du diamètre hydrodynamique et du potentiel zêta des bâtonnets ont été suivies par diffusion dynamique de la lumière (DLS) durant le dosage. Premièrement, dans le cas des bâtonnets $\text{C}_3\text{E}_6\text{D}$, des agrégats sont progressivement formés en solution (Figure 34a) et le potentiel zêta mesuré diminue. Une purification sur colonne d'exclusion stérique nous permet ici de mesurer la diffusion de la lumière provenant uniquement des bâtonnets dispersés et élimine la contribution du CTAB en solution qui participe au potentiel zêta moyen (violet, Figure 34a). Après purification, le potentiel zêta diminue progressivement jusqu'à atteindre un plateau correspondant à une valeur finale de -12 mV (violet, Figure 34a). Ces expériences montrent que les bâtonnets changent de charges au cours du dosage en accord avec un échange progressif du CTAB par le peptide. La même expérience a été faite pour C_3E_6 et $\text{C}_3\text{E}_6\text{K}$ (Figure 30). Dans le cas du peptide neutre C_3E_6 , le potentiel zêta diminue de 10 mV et l'agrégation des colloïdes est observée pour de plus grandes quantités de peptides ajoutés (Figure 34b). Dans le cas du peptide positivement chargé $\text{C}_3\text{E}_6\text{K}$, le potentiel zêta augmente de 10 mV et aucune agrégation n'est observée (Figure 34c).

-Fonctionnalisation des nanocristaux-

Ces résultats démontrent que l'agrégation est dirigée par des interactions électrostatiques lors du dosage. L'échange progressif de ligands entre le CTAB positivement chargé avec C_3E_6D et C_3E_6 induit une diminution de la charge des bâtonnets jusqu'au changement de signe (positif vers négatif). L'agrégation observée en parallèle est attribuée à la diminution des interactions électrostatiques répulsives très importantes due au CTAB initial. De plus, la taille des agrégats peut être reliée directement aux propriétés optiques mesurées en spectroscopie UV-visible. Lors du dosage des bâtonnets avec C_3E_6D , la formation de petits agrégats est liée à un décalage de la LSPR vers le bleu (Δ_L^{bleu}), pour de faibles quantités de peptides ajoutés et la formation de plus gros agrégats est liée à un décalage de la LSPR vers le rouge (Δ_L^{rouge}), pour de fortes quantités de peptides ajoutés.

Etude de la structure des agrégats obtenus avec le peptide court C_3E_6D .

En microscopie électronique.

Dans le but de mieux comprendre le lien entre la taille des agrégats et leurs propriétés optiques, la structure des petits agrégats Δ_L^{bleu} et des gros agrégats Δ_L^{rouge} a été étudiée. Les bâtonnets peuvent s'orienter selon deux directions principales : côte à côte ou bout à bout. L'orientation relative des bâtonnets affecte leurs propriétés optiques et des couplages plasmoniques interviennent lorsque les bâtonnets sont suffisamment proches. Le couplage plasmonique entre les bâtonnets dépend de leur orientation: l'arrangement des bâtonnets côte à côte induit des Δ_L^{bleu} ainsi qu'un Δ_T^{rouge} et l'arrangement des bâtonnets bout à bout un Δ_L^{rouge} .¹²⁸ Les couplages plasmoniques induits par les autres géométries d'assemblage de bâtonnets d'or, ont été largement étudiés par simulation et/ou par l'expérience.^{100c, 128a, 129} Ces couplages peuvent être compris simplement à partir de la Figure 35, les bâtonnets ont initialement des propriétés optiques dépendant de leur rapport d'aspect (Figure 35b).

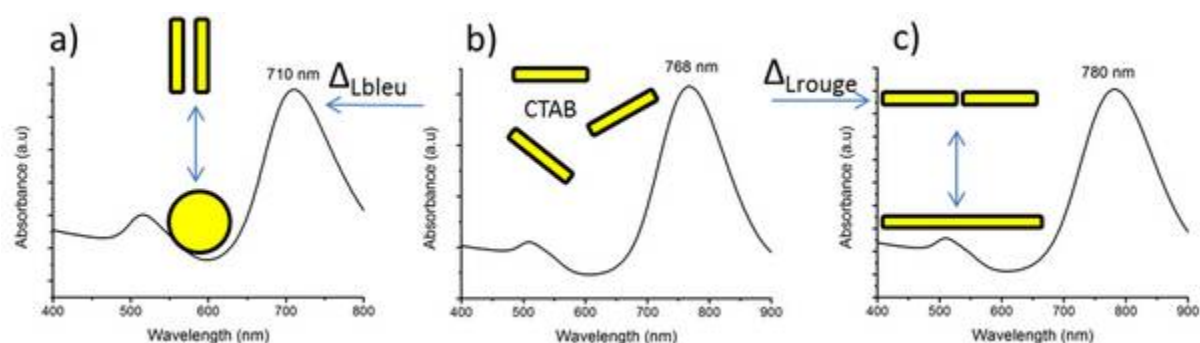


Figure 35 : a,b,c) Spectres UV-visibles de bâtonnets d'or a) assemblés côte à côte, b) dispersés en solution et c) assemblés bout à bout. Dans le cas des bâtonnets assemblés côte à côte et bout à bout on augmente et diminue respectivement l'isotropie des objets. Ceci est illustré par les schémas associés aux graphiques.

-Chapitre 2-

Le fait de les assembler dans la géométrie côte à côte ou bout à bout (Figure 35 a-c) revient à considérer des bâtonnets de plus faible ou de plus grand rapport d'aspect respectivement ; le pic longitudinal est alors déplacé vers les plus courtes ou grandes longueurs d'ondes respectivement.

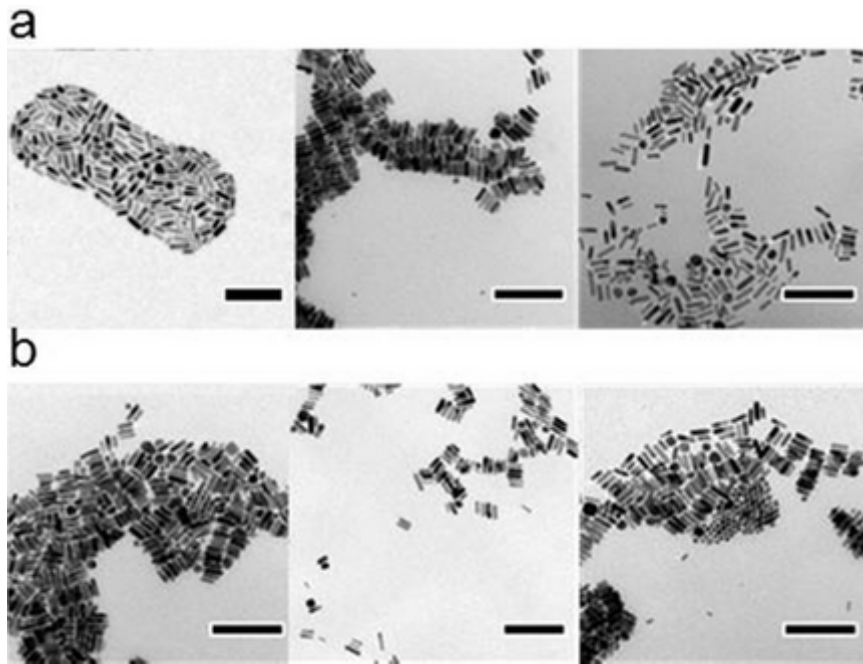


Figure 36 : Images MET représentatives de bâtonnets d'or séchés sur une grille obtenus lors du dosage avec C_3E_6D . a) pour de petites quantités de peptides ajoutées ($LSPR_{bleu}$). b) pour de plus grandes quantités de peptides ajoutées ($LSPR_{rouge}$). Echelle 100 nm.

Des images MET typiques des assemblages obtenus à partir des échantillons Δ_L^{bleu} et Δ_L^{rouge} sont montrées en Figure 36 a et b respectivement. Dans les deux cas, les bâtonnets s'auto-organisent en agrégats de plusieurs dizaines de particules. Ils s'assemblent côte à côte avec une interdistance latérale moyenne de 3 nm (interdistance déduite de mesures effectuées sur les images MET). Cette faible valeur est cohérente avec l'échange du CTAB par des peptides à la surface des bâtonnets. En effet, dans le cas des bâtonnets CTAB, l'interdistance latérale mesurée est d'environ 4 nm. Dans les deux échantillons (Figure 36a-b), des agrégats où les bâtonnets sont bout à bout sont observables. Cependant, il est difficile ici de discriminer les échantillons et donc de conclure sur le lien entre la structure des agrégats et leurs propriétés optiques. En effet, la préparation des grilles de MET classique implique une étape de séchage qui peut perturber l'organisation initiale des bâtonnets par des réarrangements.

Diffusion des rayons X aux petits angles (SAXS).

Dans le but de palier aux phénomènes de séchage, des expériences en SAXS (Small Angle X-Ray Scattering) ont été faites *in situ* en solution. Ces expériences ont été réalisées au synchrotron SOLEIL sur une ligne à haute brillance dans des capillaires de 1,5 mm de diamètre ($C^{\circ}_{bâtonnets}=10^{-8}M$). Elles ont été réalisées par T. Bizien et F. Artzner en collaboration avec l'institut de physique de Rennes.

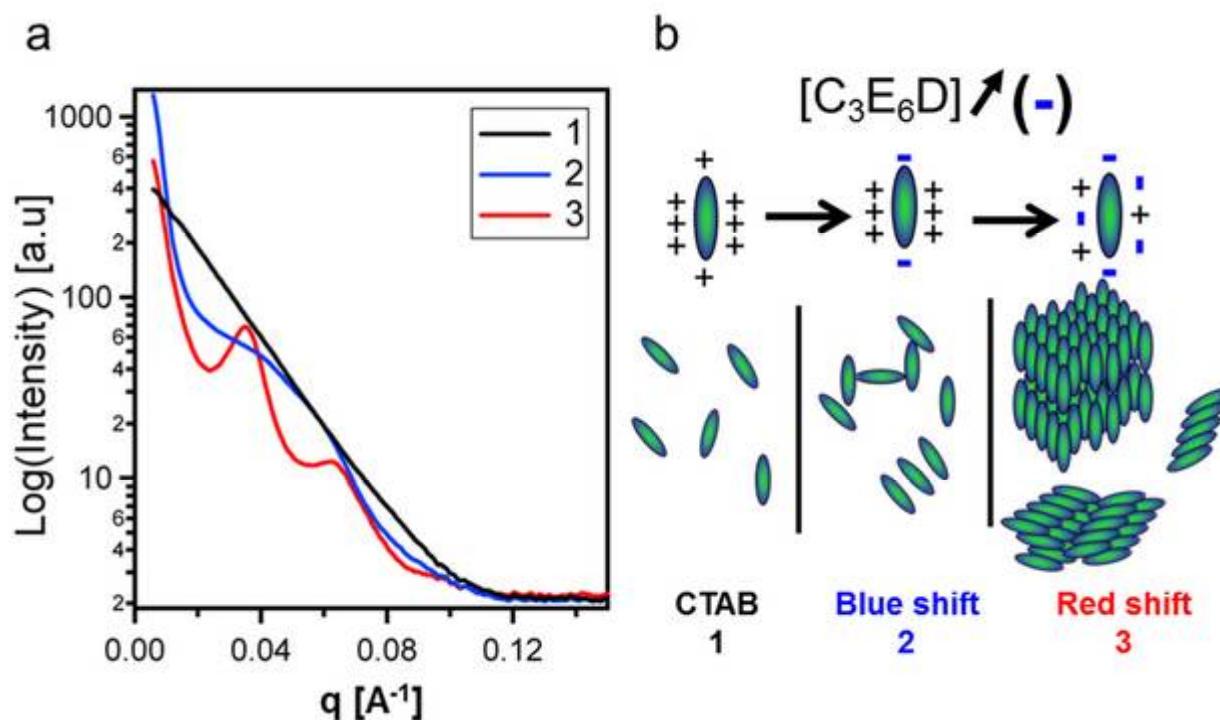


Figure 37 : a) Spectres SAXS de bâtonnets d'or fonctionnalisés avec CTAB (1, noir) peptide C₃E₆D correspondant à un LSPR_{bleu} (2, bleu) et peptide C₃E₆D correspondant à un LSPR_{rouge} (3, rouge). b) schéma de l'évolution de la charge surfacique des bâtonnets d'or et de la structure des assemblages au cours du dosage des bâtonnets CTAB par le peptide C₃E₆D.

Les bâtonnets CTAB sont utilisés comme référence de l'expérience SAXS (1, Figure 37a), aucun pic n'est dans ce cas observé, ce qui est en accord avec des bâtonnets bien dispersés avant le dosage. Dans le cas des bâtonnets Δ_L^{bleu} (2, Figure 37a) un pic ayant une pente importante à 0,0065 Å⁻¹ indique la présence d'agrégats non structurés en solution. Dans le cas des bâtonnets Δ_L^{rouge} (3, Figure 37a), deux pics de Bragg correspondants à des paramètres de réseaux de 18.5±1 nm et 10±1nm sont observés. Ce dernier spectre correspond à de plus gros agrégats ayant une meilleure structuration.

On ne peut conclure quant à la structuration des agrégats en solution pour les bâtonnets Δ_L^{bleu} . Afin de mieux comprendre l'organisation des bâtonnets au sein de ces agrégats, les images MET correspondantes à cet échantillon ont été analysées par transformée de Fourier. Les images MET sélectionnées (Figure 38) obtenues à partir des échantillons ayant des propriétés optiques décalées vers le bleu montrent : de petits agrégats amorphes (Figure 38-1), des agrégats bien organisés (Figure 38-2), des bâtonnets dispersés (Figure 38-3) et de larges agrégats amorphes (Figure 38-4). Ces images ont été analysées par transformée de Fourier rapide (FFT en anglais) grâce au logiciel Image J. Les intégrations radiales correspondantes sont comparées avec les données expérimentales (Figure 38). Il faut faire attention car ces analyses d'images donnent des informations en 2 dimensions sur l'organisation des particules alors que les SAXS donnent des informations volumiques de plusieurs μm^3 définis par le faisceau. Néanmoins il est intéressant de noter que les profils FFT donnent un pic

-Chapitre 2-

très large centré sur $35\text{-}38 \text{ \AA}^{-1}$, position qui coïncide avec les données expérimentales obtenues en SAXS. La courbe se rapprochant le plus des données expérimentales obtenues par SAXS correspond à l'image 1 (Figure 38). Pour de petites quantités de peptides ajoutés en solution, de petits agrégats amorphes sont obtenus, l'arrangement suggéré par ces expériences se rapproche le plus de l'image 1.

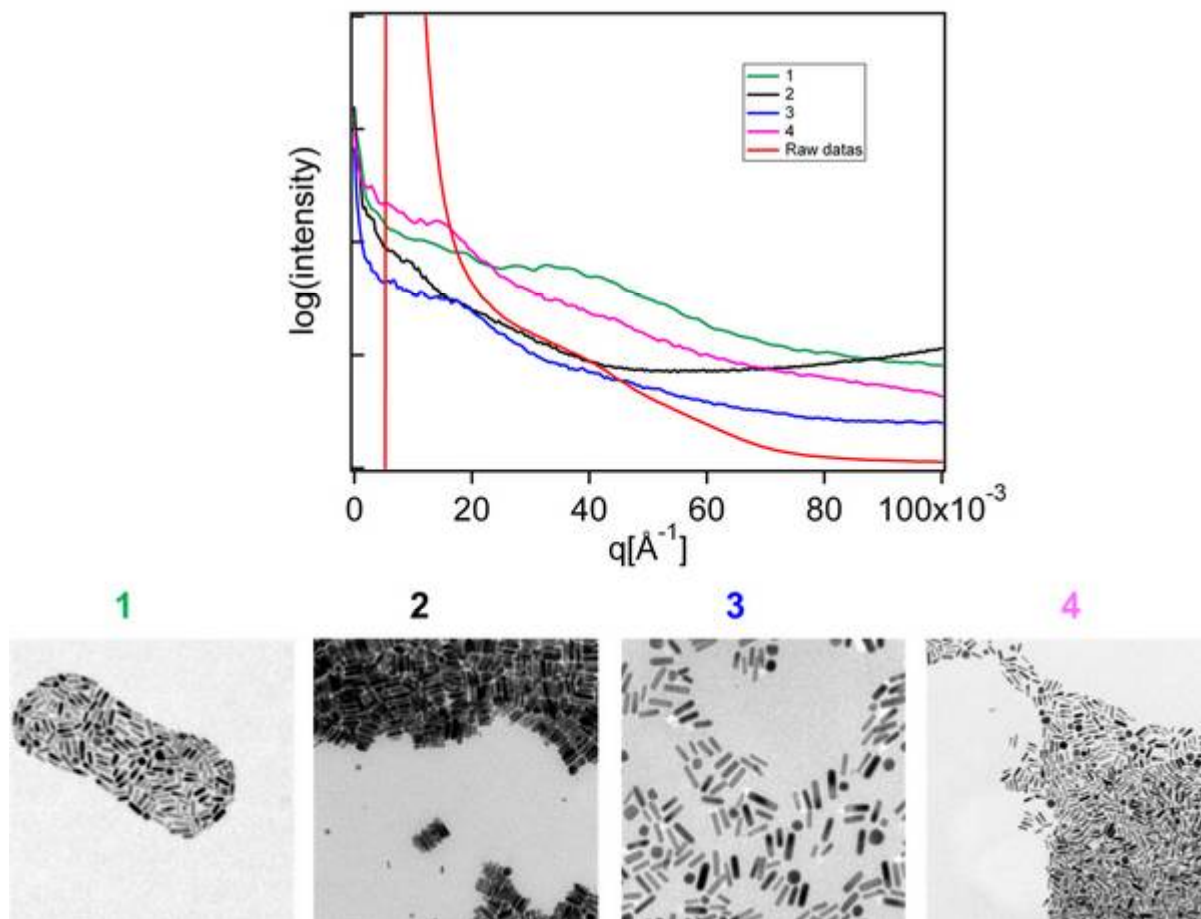


Figure 38 : Transformée de Fourier Rapide effectuée sur des images MET typiques de bâtonnets $\text{LSPR}_{\text{bleu}}$ (noté 1, 2,3 et 4) fait avec le logiciel Image J. Les images correspondantes sont intégrées radialement et tracées avec les données expérimentales (noté raw datas, rouge). La courbe verte s'adapte mieux aux données expérimentales et nous permettent d'évaluer la structure des agrégats en solution.

Discussion sur l'échange du CTAB par les peptides courts.

Ces expériences sont en accord avec le mécanisme suivant pour l'assemblage en solution induit par le greffage du peptide $\text{C}_3\text{E}_6\text{D}$ à la surface des bâtonnets d'or (Figure 37b). Les bâtonnets à l'issue de leur synthèse sont bien dispersés en solution et positivement chargés (Figure 37b-1). Lorsque la concentration en peptide augmente, de petits agrégats se forment en solution et la bande longitudinale des bâtonnets est décalée vers le bleu (Figure 37b-2). Les agrégats sont amorphes, probablement composés de bâtonnets assemblés côte à côte et selon une géométrie en « L ». De plus, ils possèdent une charge surfacique positive moins importante. Enfin, plus le CTAB est remplacé par le peptide négativement chargé, plus les interactions électrostatiques entre bâtonnets sont

-Fonctionnalisation des nanocristaux-

renforcées et plus les agrégats formés en solution sont structurés en phase smectique. L'évolution des propriétés optiques vers le rouge dans ce cas-là est attribuée à des couplages plasmoniques où les bâtonnets sont dans un agencement côte-côte ou bout à bout.

Fonctionnalisation des bâtonnets d'or par des peptides longs comportant une chaîne alkyle.

Le CTAB initialement à la surface des bâtonnets d'or a aussi été échangé par des peptides longs (Figure 29c). Ces peptides possèdent une chaîne alkyle et sont notés $C_3A_{11}E_4CO_2H$ et $C_3A_{11}E_4$ selon les conventions précédentes et sont respectivement chargés négativement et non chargés. Dans ce cas-là, aucune agrégation n'a été observée durant le dosage des bâtonnets suivi par diffusion dynamique de la lumière (Figure 39a-b).

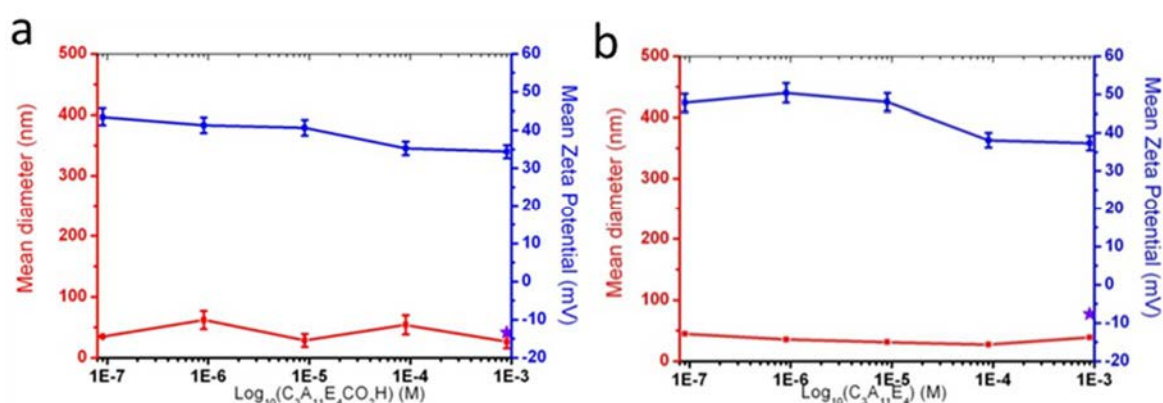


Figure 39 : dosage de bâtonnets d'or CTAB ($10^{-9}M$) avec une solution de peptide (10 mM) : suivi de l'évolution du diamètre hydrodynamique (rouge) et du potentiel zêta avant purification (bleu) et après (violet) a) $C_3A_{11}E_4CO_2H$ négativement chargé ; b) $C_3A_{11}E_4$ non chargé.

Au cours du dosage des bâtonnets CTAB par les peptides longs $C_3A_{11}E_4CO_2H$ et $C_3A_{11}E_4$ le potentiel zêta des bâtonnets décroît atteignant -14 mV (violet, Figure 39a) et -8 mV (violet, Figure 39b) respectivement pour de grandes quantités de peptides ajoutées. Ces valeurs sont proches du potentiel zêta des bâtonnets C_3E_6D (-12 mV). Afin de compléter la caractérisation de ces bâtonnets fonctionnalisés par des peptides, leur stabilité colloïdale a été suivie au cours du temps après purification sur colonne d'exclusion stérique. Le suivi a été fait quotidiennement par diffusion dynamique de la lumière et par spectroscopie UV-visible durant 10 jours (Figure 40). Ici est comparée la stabilité colloïdale des bâtonnets fonctionnalisés par les peptides $C_3A_{11}E_4$, $C_3A_{11}E_4CO_2H$ et C_3E_6D . Les bâtonnets sont bien dispersés en solution même une semaine après purification des espèces libres. L'agrégation des colloïdes est ensuite observée pour les bâtonnets fonctionnalisés avec $C_3A_{11}E_4$ et C_3E_6D (Figure 40a-b-d) se traduisant par une augmentation du diamètre hydrodynamique ainsi qu'une dégradation de leurs propriétés optiques.

-Chapitre 2-

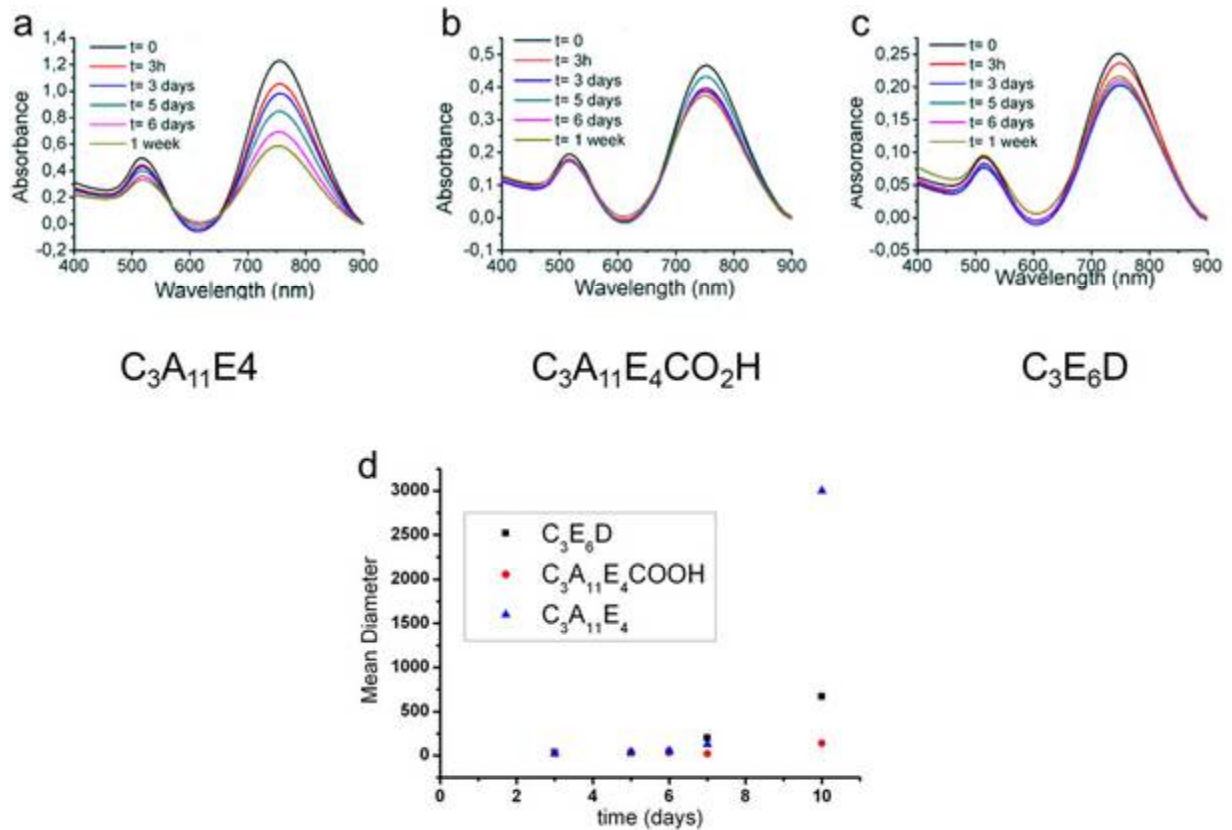


Figure 40 : a,b,c) Spectres UV-visible des bâtonnets d'or fonctionnalisés par des peptides : a) $C_3A_{11}E_4$, b) $C_3A_{11}E_4CO_2H$, c) C_3E_6D . Les échantillons sont mesurés quotidiennement pour évaluer leurs stabilités colloïdales après purification sur une colonne d'exclusion stérique. d) Evolution du diamètre hydrodynamique correspondant aux bâtonnets (a, b, c) en fonction du temps et mesuré en diffusion dynamique de la lumière.

La meilleure stabilité colloïdale est observée pour les bâtonnets fonctionnalisés avec $C_3A_{11}E_4CO_2H$. Ceci pourrait s'expliquer par un meilleur taux de couverture de la surface des bâtonnets par ce peptide. Les bâtonnets ainsi stabilisés apparaissent particulièrement adaptés pour des applications qui requièrent des bâtonnets stables et bien dispersés en solution.

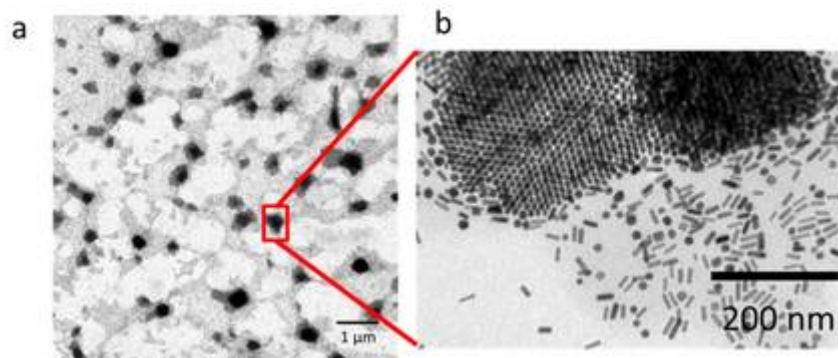


Figure 41 : a-b) Image MET de bâtonnets $C_3A_{11}E_4$ séchés sur une grille. b) image agrandie de a).

Par ailleurs, lors du séchage de bâtonnets $C_3A_{11}E_4$ sur une grille MET, une structure hexagonale, dans laquelle les bâtonnets se positionnent perpendiculairement au substrat a été mise en évidence (Figure 41 a-b). Ce genre de phase condensée a déjà été caractérisé sur des bâtonnets

-Fonctionnalisation des nanocristaux-

fonctionnalisés par des alcanethiols PEGylés au laboratoire.⁹⁰ Le peptide $C_3A_{11}E_4$ a en effet une structure chimique très proche de celle du MUDOL (Figure 25a). Ils ne diffèrent que par leur fonction d'ancrage composée ici de trois cystéines pour le peptide $C_3A_{11}E_4$ (versus un thiol pour MUDOL) diffère. Cette dernière expérience sur les bâtonnets $C_3A_{11}E_4$ démontre l'intérêt de la structure chimique du ligand pour obtenir des supercristaux par séchage. L'observation dans notre cas d'assemblages traduit un bon équilibre entre les forces attractives de type Van der Waals (VdW) et répulsives (stériques), c'est-à-dire que la somme de ces forces s'annulent.¹¹⁵ L'espaceur PEG est donc nécessaire pour contrebalancer les forces attractives de type VdW (introduite par la chaîne alkyle) lors du séchage. En effet, les bâtonnets fonctionnalisés avec de l'acide mercapto-undécanoïque (sans espaceur PEG, non montré ici) ne donnent aucun arrangement après séchage.

Conclusion sur la fonctionnalisation des bâtonnets d'or par des peptides PEGylés.

Nous avons montré que l'échange du CTAB par des peptides courts induit l'auto-organisation des bâtonnets en solution, phénomène dépendant de la charge du peptide. Ce type d'auto-assemblage en solution a déjà été mis à profit dans la littérature pour faire des capteurs de toxines^{100c} ou de détection de brins d'ADN^{102, 129b, 130} basés sur des interactions spécifiques. Dans le but de diminuer les répulsions électrostatiques avec le CTAB, des sels anioniques comme l'acide dimercaptosuccinique (DMSA),^{116a} l'EDTA,^{116b} le citrate de sodium^{129a} ou bien encore l'acide adipique¹³¹ ont été introduits pour interagir avec les têtes polaires du CTAB. Ici, nous avons étudié l'auto-organisation des bâtonnets en solution résultant des interactions électrostatiques entre des peptides négativement chargés, greffés sur la particule, et le CTAB. Dans ce travail, différents ligands composés d'une ancre peptidique (trois cystéines), un espaceur hydrophile et des groupements terminaux de différentes charges (positif, neutre et négatif) ou terminés par une biotine ont été utilisés pour fonctionnaliser les bâtonnets. Le greffage du peptide-biotine démontre la possibilité de greffer des peptides ayant des groupes de reconnaissance spécifique. La formation de ces agrégats, fortement reliée à la quantité de peptides ajoutée, a été suivie par spectroscopie UV-visible, diffusion dynamique de la lumière (DLS), zétamétrie et microscopie électronique. Enfin, la technique de diffusion des rayons X aux petits angles (SAXS) a révélé la structure de ces agrégats en solution. La structure et les propriétés optiques de ces agrégats sont fortement reliées à la quantité de peptides ajoutée. Ces résultats sont comparés à ceux obtenus avec les peptides longs, $C_3A_{11}E_4$ et $C_3A_{11}E_4CO_2H$, où les bâtonnets sont très stables même après purification des espèces libres en solution. Ces derniers résultats démontrent l'importance de la chaîne alkyle pour organiser la coquille organique autour des particules.^{86, 127} Au-delà de leur grande stabilité nous avons montré également que la présence de la chaîne alkyle permet de les assembler par séchage ; ce qui les rend prometteurs comme brique élémentaire pour élaborer des matériaux.

-Chapitre 2-

L'utilisation des peptides, vus précédemment, a été étendue aux nanobâtonnets semi-conducteurs CdSe@CdS (QR). Nous verrons que la fonctionnalisation des QR par les peptides contenant une chaîne alkyle permet de les structurer en phase smectique par séchage. L'obtention d'assemblages de QR est importante pour envisager des réactions photorédox supportées par des phases denses et structurées de QR pour la mise en forme d'électrodes photosensibles et nanostructurées. La mise au point du protocole de fonctionnalisation des QR dans l'eau a été réalisée par Thomas Bizien (2010-2013, article soumis) au laboratoire.

2.2) Fonctionnalisation de Quantum Rods CdSe@CdS dans l'eau par des peptides.

2.2.1) Introduction et état de l'art.

Un des objectifs de cette thèse consiste à réaliser des réactions photorédox supportées par les QR CdSe@CdS. La fonctionnalisation des QR doit donc être robuste, c'est en effet un facteur limitant dans les réactions photorédox en solvant aqueux.¹³² En effet, la desorption des ligands à la surface des QR provoque leur agrégation.

Les QR sont synthétisés dans des mélanges de solvants coordinants ayant un haut point d'ébullition.¹⁰ Ils sont donc stabilisés à l'issue de leur synthèse par un mélange de ligands organiques hydrophobes. Plus particulièrement, un mélange de deux acides phosphoniques forment à la surface des bâtonnets une monocouche permettant de les solubiliser en milieu organique (CHCl₃, toluène) après synthèse : l'acide Octa-Decyl-Phosphonique (ODPA) et l'acide Hexyl-Phosphonique (HPA).^{10, 133} Ces bâtonnets ont été utilisés dans la littérature pour faire des supercristaux,^{45, 91} des hétérostructures.^{6a, 28b, 42}

Peu d'exemples de fonctionnalisation chimique dans l'eau sur les QR existent alors que l'eau est un solvant de choix pour de nombreuses applications. L'eau est en effet un solvant peu coûteux et biocompatible. C'est aussi une source de protons pour donner par dismutation de l'hydrogène. De plus, il est important que la surface des QR soit accessible notamment pour faciliter les transferts électroniques lors de réactions catalysées par la lumière, ainsi les approches de silanisation et d'encapsulation par des polymères n'ont pas été envisagées. En effet, l'approche de l'échange de ligands a été privilégiée. Quelques exemples existent de fonctionnalisation de QR dans l'eau par cette approche avec de l'acide lipoïque,^{83-84, 134} l'acide mercaptoundécanoïque^{6a, 132b} ou bien encore par greffage d'un acide aminé tel qu'une histidine^{14b} ou une cystéine.¹³⁵ Cependant ces approches sont souvent limitées par la stabilité colloïdale des QR. Il est en effet très important de conserver la stabilité colloïdale des particules ainsi que leurs propriétés optiques après échange.

Les travaux du laboratoire concernant la fonctionnalisation par des ligands peptidiques de bâtonnets d'or et de QD CdSe@ZnS^{14b, 123} ont été transposés aux QR. Hormis les avantages précédemment évoqués (page 50) sur l'utilisation des peptides, leur fonction d'ancrage sur la surface des QR est composée de trois cystéines ; cette ancre peptidique composée de trois thiols est nécessaire pour éviter la désorption des peptides de la surface des QR contrairement à l'or ou une seule fonction d'ancrage suffit. Il a en effet été montré qu'un seul thiol n'était pas suffisant pour fonctionnaliser des QDs dans l'eau.^{83-84, 136} Le greffage de ces peptides à la surface des QR est donc robuste. De plus, dans cette étude une chaîne alkyle a été introduite pour faciliter l'assemblage des bâtonnets (par séchage)

et pour permettre la modulation de leurs propriétés photocatalytiques. L'échange de ligands a été suivi par spectroscopie infrarouge et par résonance magnétique nucléaire du phosphore et du proton (RMN ^{31}P et ^1H) pour démontrer que la totalité des acides phosphoniques est éliminée. De plus, la stabilité colloïdale des bâtonnets a été démontrée par gel d'électrophorèse sur agarose et par diffusion dynamique de la lumière (DLS). L'échange a principalement été caractérisé avec le peptide possédant une chaîne alkyle ($\text{C}_3\text{A}_{11}\text{E}_4\text{CO}_2\text{H}$) par Thomas Bizien au laboratoire (thèse 2013, article soumis). Les bâtonnets ainsi fonctionnalisés s'organisent par séchage en phases smectiques B. De plus, l'échange a été effectué avec le peptide court $\text{C}_3\text{E}_6\text{D}$. L'influence de la fonctionnalisation par ces deux peptides sur la stabilité colloïdale des QR ainsi que sur leurs propriétés photocatalytiques sont ensuite discutées.

2.2.2) Echange des ligands de synthèse par le peptide $\text{C}_3\text{A}_{11}\text{E}_4\text{CO}_2\text{H}$.

Echange de ligands.

La Figure 42a décrit la procédure adoptée pour remplacer les ligands de synthèse par le peptide $\text{C}_3\text{A}_{11}\text{E}_4\text{CO}_2\text{H}$ à la surface des bâtonnets. La structure du ligand est décrite Figure 42b, les différentes parties du peptide ont été décrites page 53.

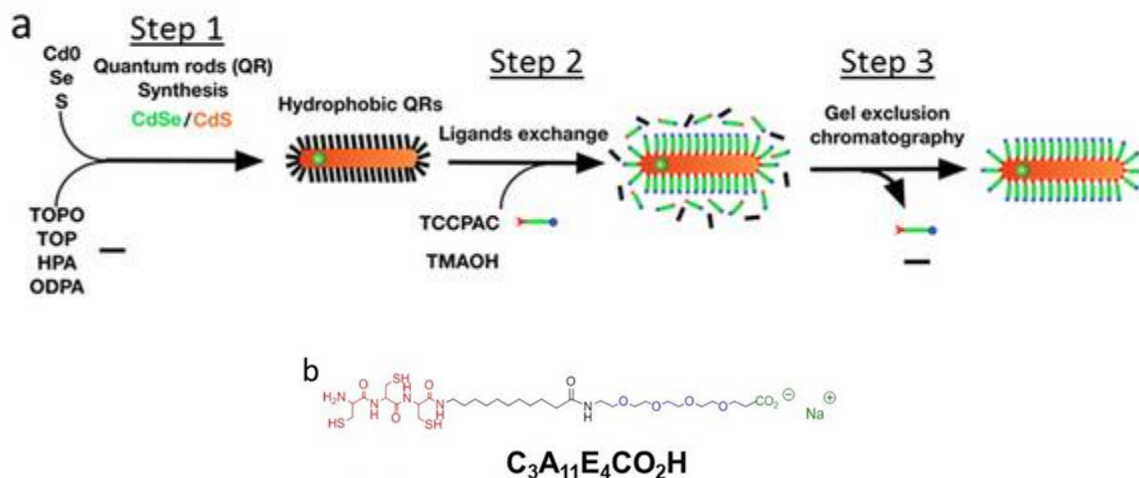


Figure 42 : a) Schéma expliquant la procédure adoptée pour transférer les QR de la phase organique vers la phase aqueuse. b) Formule développée du peptide $\text{C}_3\text{A}_{11}\text{E}_4\text{CO}_2\text{H}$.

Avant échange, les QR en phase organique sont abondamment lavés par des mélanges méthanol/toluène (3 :1) de façon à éliminer les solvants de synthèse ainsi que la majorité des espèces libres en solution et finalement dispersés dans le chloroforme. Un large excès de peptides $\text{C}_3\text{A}_{11}\text{E}_4\text{CO}_2\text{H}$ solubilisés dans l'eau est alors ajouté en présence d'une base forte, l'hydroxyde de tétra méthyl ammonium (TMAOH), un agent de transfert de phase utilisé classiquement pour les QDs.^{14b, 123} L'échange est rapide et après quelques minutes la totalité des QR est transférée vers la phase aqueuse. En effet après échange, la phase organique est incolore indiquant un transfert de phase

très efficace. La phase organique est alors éliminée et les « QR-peptides » (noté QR-C₃A₁₁E₄CO₂H) sont alors purifiés sur colonne d'exclusion stérique pour éliminer le peptide en excès ainsi que les petites molécules organiques comme le TMAOH.

Caractérisation chimique de la surface des QR-C₃A₁₁E₄CO₂H.

La surface des QR-C₃A₁₁E₄CO₂H a tout d'abord été caractérisée par spectroscopie Infrarouge (Figure 43). Les pics caractéristiques des QR hydrophobes (Figure 43-noir) correspondants aux P=O à 1145 cm⁻¹ et P-OH à 819 cm⁻¹ ont disparu après échange. Ces bandes sont en effet liées aux acides phosphoniques (ODPA, HPA) et aux oxydes phosphoniques (TOPO, TOP) tous remplacés par le peptide. De plus, la présence de la bande amide à 1643 cm⁻¹ du peptide sur les QR (Figure 43c-bleu) indique clairement le greffage de C₃A₁₁E₄CO₂H à la surface des QR.

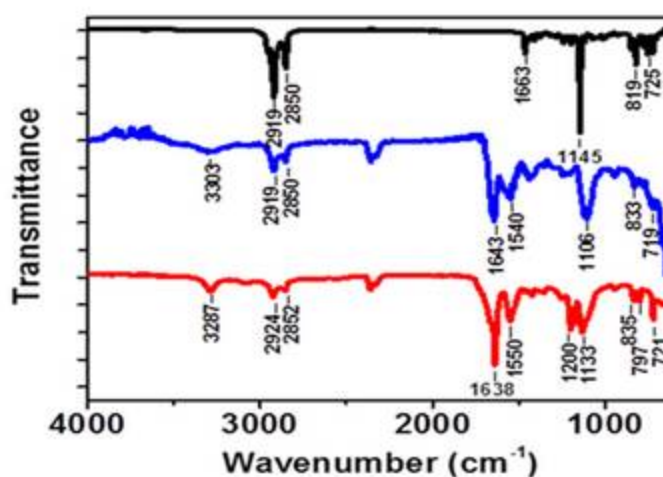


Figure 43 : Spectres Infrarouges : des QR après synthèse (noir), peptide C₃A₁₁E₄CO₂H (rouge), QR-C₃A₁₁E₄CO₂H (bleu). Les spectres sont pris après purification des espèces libres en solution.

La RMN (³¹P et ¹H) a été utilisée pour évaluer de manière plus quantitative l'échange. Ces expériences ont été réalisées en collaboration avec S. Chevance et A. Bondon (Science chimiques de Rennes, UMR 6226). Elles ont été faites notamment par Thomas Bizien et Pascale Even-Hernandez au laboratoire. Les spectres obtenus confirment un échange total des ligands de synthèse par C₃A₁₁E₄CO₂H après purification par colonne d'exclusion stérique. De plus, il est possible d'évaluer la quantité de peptides par particule. Il a été ainsi déterminé que chaque peptide C₃A₁₁E₄CO₂H occupe 0.6 nm² en moyenne à la surface des QR. Cela correspond environ à 570 peptides par QR, en considérant les nanobâtonnets comme un cylindre fermé par deux demi sphères de longueur = 18,00 nm et de rayon R = 2,39 nm. Alors la surface du QR est : S_{cylindre}+2*S_{demi-sphère} : 2πR*L+4πR². Les QR ont été aussi fonctionnalisés avec le peptide C₃E₆D selon le même protocole.

Stabilité colloïdale des QR- $C_3A_{11}E_4CO_2H$ et C_3E_6D

Afin d'utiliser les QR dans l'eau pour des réactions de photocatalyse ou d'assemblage, il est important que la stabilité colloïdale des QR soit préservée ainsi que leurs propriétés optiques. Premièrement, les propriétés optiques des QR dans l'eau sont conservées (Figure 44). En effet les spectres d'absorption et d'émission des QR dans l'eau et en phase organique sont similaires (Figure 44a-b).

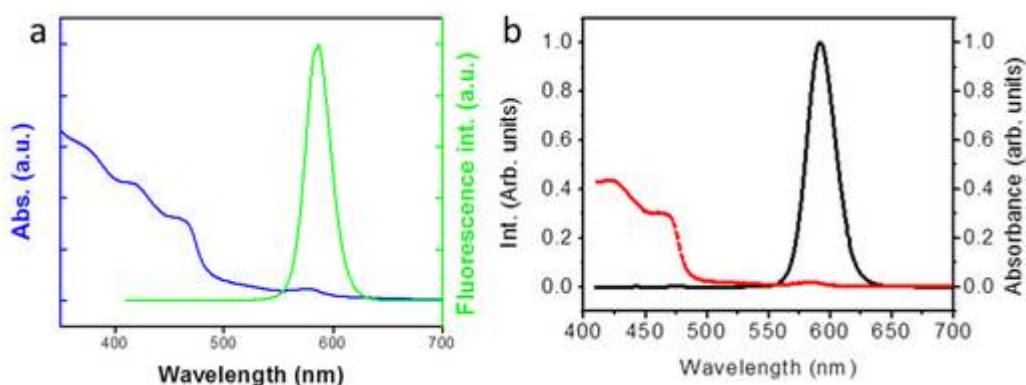


Figure 44 : a) Spectres d'absorption (bleu) et d'émission (vert) normalisés des QR- $C_3A_{11}E_4CO_2H$ dans l'eau. b) Spectres d'absorption (rouge) et d'émission (noir) normalisés des QR en phase organique.

Le rendement quantique, c'est-à-dire le rapport entre les photons émis et absorbés, diminue de 0.45 à 0.20 après échange. Ce changement est attribué au greffage de thiols, qui introduit des niveaux d'énergie supplémentaires qui constituent des pièges à la surface des QR-peptide.¹³⁷ Deuxièmement, la stabilité colloïdale des QR fonctionnalisés par C_3E_6D et $C_3A_{11}E_4CO_2H$ a été suivie en fonction du pH et du temps.

-Fonctionnalisation des nanocristaux-

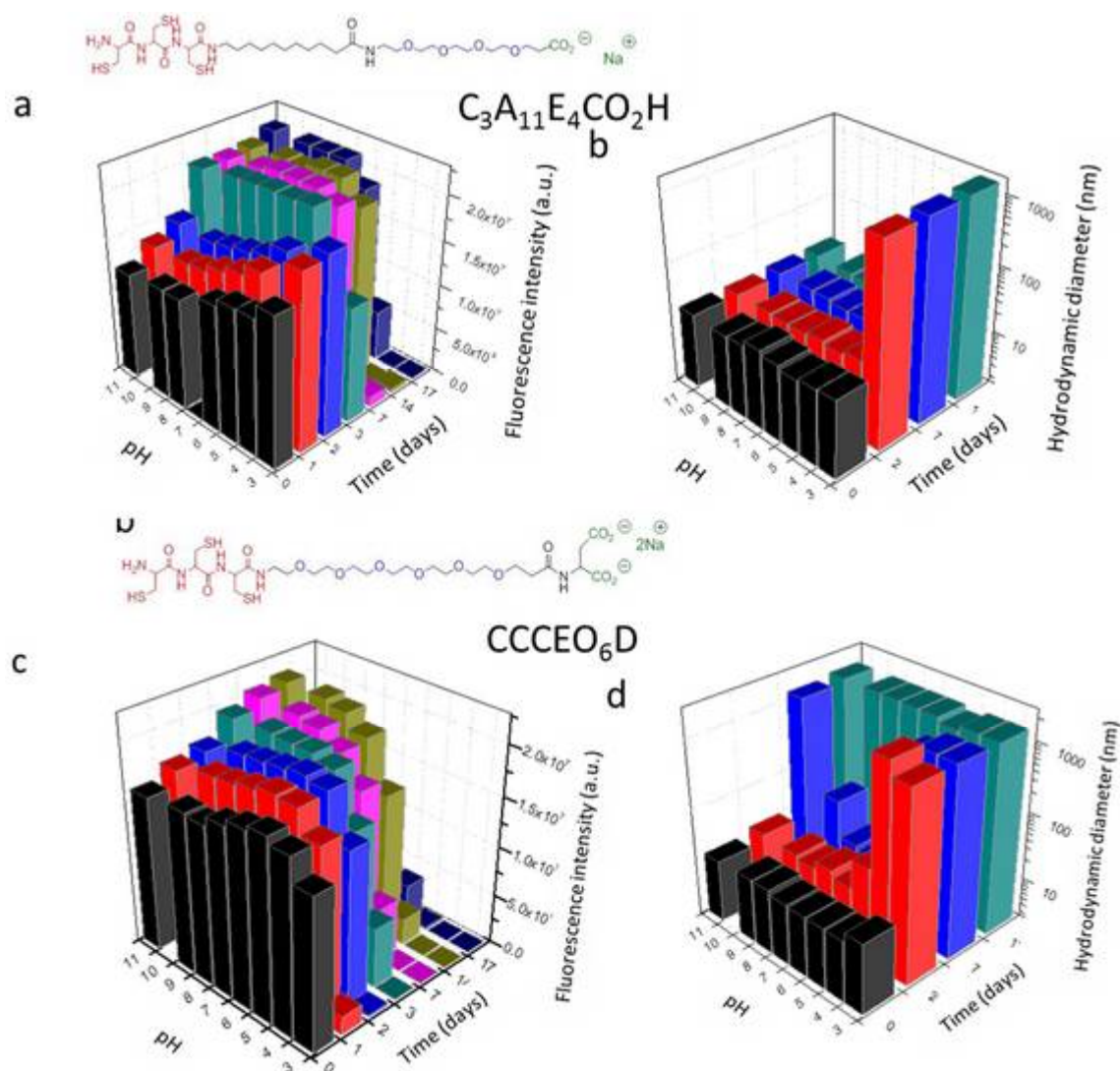


Figure 45 : a) Evolution de l'intensité de fluorescence des QR $C_3A_{11}E_4CO_2H$ en fonction du temps et du pH. b) Evolution du diamètre hydrodynamique des QR- $C_3A_{11}E_4CO_2H$ en fonction du temps et du pH. Ici, les QR sont les mêmes qu'en a) après une dilution par 100. c) Evolution de l'intensité de fluorescence des QR C_3E_6D en fonction du temps et du pH. d) Evolution du diamètre hydrodynamique des QR- C_3E_6D en fonction du temps et du pH. Ici, les QR sont les mêmes qu'en c) après une dilution par 100. Les QR sont dispersés dans des tampons « Britton and Robinson »¹³⁸ ayant une force ionique constante (20 mM).

Ce travail permet de comparer la fonctionnalisation des QR par ces deux peptides sur la stabilité colloïdale. Il a en effet été montré sur les bâtonnets d'or que la stabilité colloïdale des bâtonnets était meilleure avec les peptides « longs » comportant une chaîne alkyle.

Les propriétés optiques des QR ont été étudiées (Figure 45a-c) ainsi que leur diamètre hydrodynamique (Figure 45b-d). Les études comparatives de stabilité colloïdale sont effectuées dans des tampons Britton and Robinson.¹³⁸ L'intérêt de ces tampons est que la force ionique est fixée, c'est-à-dire que l'on compare uniquement la stabilité colloïdale en fonction du pH. On s'affranchit ainsi de l'effet d'une force ionique fluctuante qui modifierait l'état de charge des surfaces des nanoparticules et leur stabilité colloïdale.¹³⁹ Les QR peptides sont stables plusieurs jours après

purification lorsque le pH est supérieur à 5 pour $C_3A_{11}E_4CO_2H$ et 6 pour C_3E_6D . L'intensité de fluorescence des QR disparaît après 3 jours à ces pH ce qui correspond à l'agrégation des QR (Figure 45a-c). Cela est en effet lié à une augmentation très importante du diamètre hydrodynamique (Figure 45b-d) mesurée en diffusion dynamique de la lumière. A pH basique (11), les deux lots de bâtonnets sont stables. Les bâtonnets fonctionnalisés avec C_3E_6D s'agrègent deux semaines après la purification (Figure 45d) alors que les bâtonnets fonctionnalisés avec $C_3A_{11}E_4CO_2H$ restent bien dispersés en solution (Figure 45c).

En conclusion, les QR- $C_3A_{11}E_4CO_2H$ sont plus stables que les QR- C_3E_6D . Ces résultats sont cohérents avec les expériences concernant les bâtonnets d'or (GNRs) où les GNRs- $C_3A_{11}E_4CO_2H$ sont plus stables que les GNRs- C_3E_6D . Ces résultats confirment donc que la chaîne alkyle augmente le taux de couverture des peptides, à la surface des nanoparticules, en structurant la coquille organique.

2.2.3) Comparaison des propriétés photo-catalytiques des QR fonctionnalisés avec le peptide $C_3A_{11}E_4CO_2H$ (long) et le peptide C_3E_6D (court) ($i=f(t)$).

Les propriétés d'oxydo-réduction photoinduites (photorédox) des QR fonctionnalisés avec ces deux peptides ont ensuite été comparées. Ici, les transferts électroniques induits par la lumière entre une électrode et les QR ont été étudiés afin d'évaluer les photocourants générés en fonction du greffage chimique des QR. Ces expériences ont été réalisées en collaboration avec l'équipe d'E. Lojou (CNRS UMR 7281, Marseille).

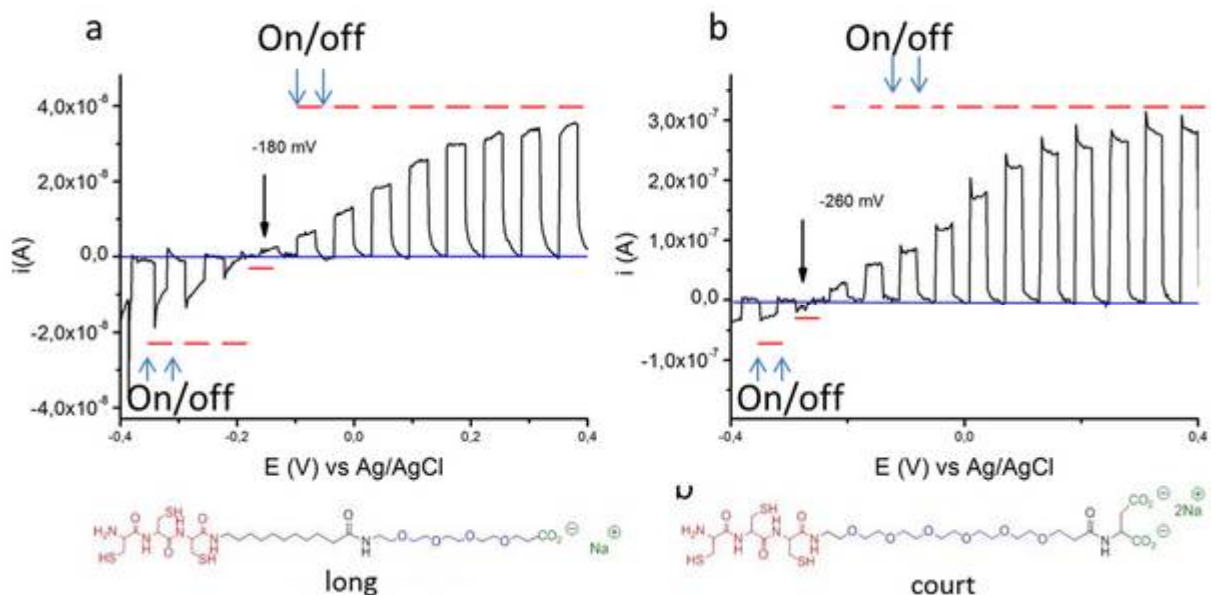


Figure 46 : Courbe intensité-potential suite à une rampe linéaire de potentiel. Vitesse de balayage : $0,001 \text{ V}\cdot\text{s}^{-1}$. Les QR (2mg/mL) sont séchés sur une électrode de graphite pyrolytique. L'électrolyte est de l'HEPES 50 mM pH 7.2 . Une membrane de dialyse est ajoutée à l'interface pour limiter les phénomènes de désorption. Des cycles d'irradiation (on/off) de 30s sont appliqués sur l'échantillon. Les barres rouges correspondent aux périodes où la lampe est allumée ($\lambda = 405 \text{ nm}$). a) QR $C_3A_{11}E_4CO_2H$; b) QR C_3E_6D .

Les QR (2 mg.mL^{-1}) sont séchés sur une électrode de graphite pyrolytique. Une membrane de dialyse (7 k MWCO) est appliquée sur l'échantillon pour éviter la redispersion des QR dans la solution. La Figure 46 montre la réponse en courant à une rampe linéaire dont le balayage est lent en potentiel (1 mV.s^{-1} entre $[-0,4\text{V} ; +0,4\text{V}]$). L'échantillon est irradié toutes les trente secondes (30s on/ 30s off) de façon à mesurer le photo-courant en fonction du potentiel. Sur la Figure 46a-b, les barres rouges correspondent aux moments où la lampe est allumée. Des profils en créneaux sont obtenus lorsque la lampe est allumée puis éteinte (Figure 46). Le photo-courant correspond ici aux porteurs de charges générés par la lumière et captés par l'électrode. Si le photocourant est positif ou négatif, celui-ci correspond alors à un courant d'oxydation ou de réduction respectivement. Lorsqu'un courant d'oxydation est mesuré, l'électrode capte les électrons. Inversement, lorsqu'un courant de réduction est mesuré, l'électrode donne les électrons.

Premièrement, on remarque que le photocourant n'est pas constant avec le potentiel appliqué. Il change de signe et s'annule autour de $-0,2 \text{ V}$ dans les deux cas (Figure 46a-b). Lorsque le photocourant s'annule, on parle de point zéro de charge (PZC). En fonction du potentiel, les QR fonctionnent donc en réduction $[-0,4\text{V} ; -0,2\text{V}]$ puis en oxydation $[-0,2\text{V} ; +0,4\text{V}]$. A l'interface QR/électrode il y a égalisation du niveau de Fermi (E_F , potentiel chimique) des QR avec le potentiel appliqué à l'électrode.¹³ Le niveau de Fermi est lié à la probabilité d'occupation des bandes d'énergie par les porteurs de charges (correspondant à une probabilité d'occupation de un demi). Ainsi un E_F proche de la bande de conduction du QR indique un excès d'électrons (type n), alors qu'un E_F proche de la bande de valence indique un défaut d'électrons (type p) à la surface du QR. Lorsqu'un photocourant d'oxydation est mesuré, les QR transmettent des électrons à l'électrode et inversement dans le cas d'un photo-courant de réduction où les QR capturent des électrons. A $-0,2\text{V}$, aucun photo-courant n'est mesuré. Ce potentiel correspond au point zéro de charges (PZC) qui indique que le potentiel appliqué par l'électrode s'aligne avec le niveau de fermi des QR, traduisant un équilibre à l'interface. Cette interprétation peut être résumée sur la Figure 47. Sur ce schéma, la position de la bande de valence (BV) est déduite à partir de la littérature (valeur « bulk ») aux alentours de $0,4\text{V}$ et la bande de conduction (BC) est déduite en retranchant l'énergie de la bande interdite (calculée grâce à la relation de de Broglie) à la valeur de la BV. Cette interprétation explique le comportement tantôt anodique tantôt cathodique des QR et l'existence du PZC. En perspective de ce travail, il serait intéressant de balayer plus largement le potentiel de l'électrode entre $(-1,4\text{V} ; +0,4\text{V})$ pour analyser en détail la bande interdite des QR.

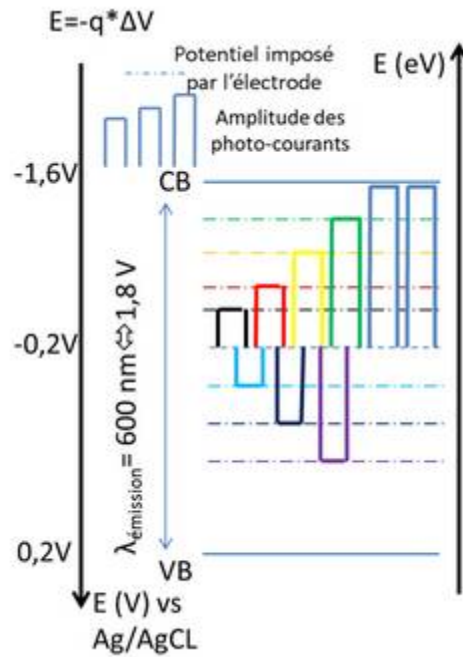


Figure 47 : Schéma en énergie superposant le potentiel appliqué à l'électrode et les bandes d'énergie des QR expliquant l'amplitude, le signe des photocourants et les PZC mesurés (Figure 46).

Deuxièmement, l'amplitude du photocourant n'est pas équivalente pour les QR fonctionnalisés avec le peptide court ou le peptide long. Les photocourants atteignent un maximum de +35 nA et +300 nA pour les QR-C₃A₁₁E₄CO₂H (long) et les QR-C₃E₆D (court) dans les mêmes conditions respectivement (Figure 46a-b). Le photocourant est donc environ dix fois plus grand avec des QR-C₃E₆D. Les transferts électroniques entre les QR photo-activés et leur environnement dépendent donc de la fonctionnalisation des QR. Les QR fonctionnalisés avec le peptide court sont ainsi capables de générer des photocourants dix fois plus grands que ceux greffés avec le peptide long car ils permettent de transmettre les charges photo-générées plus efficacement. Le peptide long a donc un effet passivant sur la surface et inhibe les transferts de charges.

2.2.4) Conclusion sur la fonctionnalisation de QR par des peptides.

Le greffage de peptides à la surface des QR a été effectué. Les QR sont alors transférés d'une phase organique dans l'eau par l'intermédiaire d'un agent de transfert de phase (TMAOH). La surface des QR après échange a été caractérisée par spectroscopies infrarouge et RMN démontrant un échange total ainsi qu'un recouvrement dense des peptides à la surface des QR (0,6 nm²/peptide). Pour des QR de dimensions 18 nm*4.78 nm on a donc 570 peptides par QR.

Les QR ainsi dispersés dans l'eau peuvent être purifiés de l'excès de ligands en solution et sont stables dans des gammes de pH allant de 5 à 11 pour C₃A₁₁E₄CO₂H et de 6 à 11 pour C₃E₆D. Les QR-peptides ont ainsi toujours été utilisés dans ces gammes de pH par la suite. De plus, il apparaît que les QR fonctionnalisés avec le peptide long sont plus stables que les QR fonctionnalisés avec le

-Fonctionnalisation des nanocristaux-

peptide court. Cela est en accord avec la partie précédente sur la stabilité colloïdale de bâtonnets d'or fonctionnalisés avec ces deux peptides. En effet, les bâtonnets d'or sont plus stables lorsqu'ils sont fonctionnalisés avec $C_3A_{11}E_4CO_2H$. Ces observations renforcent les travaux précédents sur l'importance d'une chaîne alkyle dans la structure du ligand pour stabiliser efficacement une nanoparticule.^{86, 127}

Le photocourant des QR fonctionnalisés dans l'eau a ensuite été mesuré à une électrode. Des courants d'oxydation et de réduction sont mesurés selon le potentiel appliqué. Les photo-courants mesurés pour les QR- $C_3A_{11}E_4CO_2H$ sont significativement plus faible que les photo-courants mesurés pour les QR- C_3E_6D . Ces résultats peuvent s'expliquer par une meilleure passivation de la surface des QR avec le peptide $C_3A_{11}E_4CO_2H$ que le peptide C_3E_6D . Cette couche organique dense isole les QR en solution, limitant les transferts de charges et donc les photocourants générés. Dans l'optique d'exploiter ces photocourants, il est donc impératif de choisir les ligands de surface suivant l'objectif à privilégier : l'auto-assemblage ou la génération de photocourants.

3) Conclusion générale

La fonctionnalisation de bâtonnets d'or et CdSe@CdS a été réalisée avec succès *via* l'échange des ligands organiques de synthèse par des ligands peptidiques. Ce chapitre décrit essentiellement la fonctionnalisation des bâtonnets par ces ligands. Principalement deux peptides ont été étudiés pour fonctionnaliser les bâtonnets : un peptide « court » C₃E₆D terminé par un acide aspartique ainsi qu'un peptide « long » C₃A₁₁E₄CO₂H terminé par un acide carboxylique et comportant une chaîne alkyle (A₁₁). La stabilité colloïdale des bâtonnets fonctionnalisés par ces deux peptides a été comparée. Dans les deux cas, les bâtonnets d'or et CdSe@CdS sont stables plusieurs jours après purification mais le peptide « long » C₃A₁₁E₄CO₂H apparaît comme le ligand le plus efficace pour stabiliser les particules colloïdalement. Les deux types de bâtonnets sont en effet plus stables avec le peptide long comportant une chaîne alkyle. La chaîne alkyle pourrait permettre la structuration de la coquille organique enrobant les bâtonnets.^{86, 127} Cette étude rejoint les travaux effectués sur les monocouches auto-assemblées (Self Assembly Monolayers en anglais)¹⁴⁰ sur des surfaces planes. Les interactions dipolaires inter-chaînes de type Van Der Waals permettent une concentration surfacique plus élevée des peptides sur les bâtonnets. En effet, l'analyse de la surface des QR après échange par spectroscopie infrarouge et RMN (³¹P et ¹H) démontre un échange total ainsi qu'un recouvrement dense des peptides à la surface des QR (0,6 nm²/peptide).

Dans le cas des bâtonnets d'or, l'échange du CTAB positivement chargé par le peptide C₃E₆D conduit à l'agrégation des particules. L'agrégation des bâtonnets en solution est induite par les interactions électrostatiques entre le CTAB et le peptide greffé C₃E₆D. Au cours du dosage, des agrégats de taille croissante sont formés, associés avec un fort changement des propriétés optiques des bâtonnets. Les structures des agrégats obtenus par SAXS sont corrélées avec leurs propriétés optiques. Cette expérience révèle des structures organisées en smectique pour les plus gros agrégats ce qui correspond à un décalage de la bande longitudinale des bâtonnets vers les plus grandes longueurs d'onde. En revanche, les plus petits agrégats sont amorphes, les bâtonnets sont alors positionnés les uns par rapport aux autres en « L » ou « côte à côte » ce qui donne un décalage de la bande longitudinale vers les plus courtes longueurs d'onde. Lors du greffage du peptide long à la surface des bâtonnets aucune agrégation n'est observée. Ce travail démontre donc la possibilité d'avoir des greffages robustes de peptides sur les bâtonnets d'or. De plus, les bâtonnets fonctionnalisés avec le peptide C₃A₁₁E₄ forment des phases cristal liquide par séchage. La structure du peptide C₃A₁₁E₄ est similaire aux alcanethiols PEGylés utilisés pour enrober les bâtonnets d'or. Dans le cas des alcanethiols et des peptides on peut identifier la chaîne alkyle et l'espaceur hydrophile comme principaux responsables de la cristallisation des colloïdes durant le séchage. La présence d'une chaîne alkyle pour ces deux ligands pourrait favoriser l'interdigitation des chaînes durant le séchage et ainsi

-Fonctionnalisation des nanocristaux-

l'assemblage smectique grâce à des interactions de type Van Der Waals.^{10, 32a, 41b, 114b, 141} De plus, l'espaceur hydrophile introduirait suffisamment de répulsions stérique pour contrebalancer les attractions hydrophobes durant le séchage.¹¹⁵ Les structures et les détails des assemblages obtenus avec les bâtonnets d'or alcanethiols PEGylés sont décrits dans le chapitre suivant.

Le greffage de ces peptides à la surface des QR a également été effectué. En plus de modifier chimiquement la surface des QR, la fonctionnalisation permet de passer les QR d'un milieu apolaire à un milieu polaire. Les QR ont ainsi été fonctionnalisés dans l'eau. Peu de travaux dans la littérature utilisent les QR dans l'eau et sont limités en applications par leur stabilité colloïdale.^{132b} En effet ces travaux utilisent des ligands comportant un seul thiol comme fonction d'ancrage. Nous proposons ici un greffage plus robuste *via* trois cystéines. De plus, se placer dans un solvant polaire permet, par l'introduction de charges, de moduler les paramètres de maille des cristaux colloïdaux obtenus après séchage. L'assemblage des QR fonctionnalisés avec le peptide long sont décrits dans le chapitre suivant.

Le photo-courant des QR fonctionnalisés avec le peptide court et avec le peptide long a été mesuré dans les mêmes conditions. Le photocourant des QR-peptide court (C_3E_6D) est 10 fois plus important que celui des QR-peptide longs ($C_3A_{11}E_4CO_2H$). Les échanges de porteurs de charges entre les QR et l'électrode sont donc facilités avec le peptide court plutôt que le peptide long. En effet, nous avons montré dans ce chapitre que le peptide long permettait grâce à la chaîne alkyle de couvrir efficacement la surface alors que dans le cas des QR-peptide court la surface est plus accessible. De plus, la chaîne alkyle conduit mal les électrons¹⁴² et va avoir par conséquent un effet isolant. Dans la suite de cette thèse, nous avons privilégié l'utilisation des QR-peptide court pour les réactions photorédox ; dans ces applications le peptide long a été introduit pour limiter les réactions d'oxydo-réduction à la surface des QR car ce ligand passive la surface.

Les bâtonnets d'or et CdSe@CdS seront donc fonctionnalisés différemment selon les applications. En particulier les QR seront fonctionnalisés avec le peptide long pour faire de l'assemblage ou pour des applications requérant des colloïdes très stables en solution. Pour des applications photorédox, le peptide court sera privilégié car la chaîne alkyle du peptide long a un effet passivant et isolant de la surface des QR. Grâce à une chimie de surface versatile, nous pouvons donc moduler les propriétés photorédox des QR dans l'eau.

Chapitre 3 : assemblage hiérarchique des nanocristaux.

Vers l'obtention de propriétés collectives nouvelles à partir de l'assemblage de particules individuelles.

Malgré leurs avantages économiques par rapport aux voies d'assemblages « top down », les voies d'assemblages « bottom-up » qui consistent à mettre en forme un matériau à partir de briques élémentaires souffrent d'un manque de reproductibilité, de contrôle de la morphologie et de l'organisation à une grande échelle. En particulier, les exemples de la littérature se limitent à des assemblages contrôlés spatialement essentiellement en deux dimensions. Le dépôt spatialement contrôlé de particules d'or a été décrit grâce à des interactions électrostatiques ou *via* des thiols.¹⁰⁶ Cependant ces méthodes sont limitées à des assemblages en deux dimensions. Des cristaux 3D ont été obtenus par évaporation de particules d'or au sein d'un réseau auto-assemblé de particules de latex.¹⁰⁷ Bien que cette technique soit pertinente pour obtenir des formes d'assemblage différentes, elle reste limitée en termes de reproductibilité et de géométrie.

Ce chapitre présente une nouvelle méthode de séchage où l'organisation des bâtonnets (Or et QR) est contrôlée pour obtenir un matériau à la fois nano- et macro-structuré. Cette méthode permet d'obtenir un assemblage hiérarchique de bâtonnets, également appelé assemblage multi-échelle ou supercristaux. Nous avons vu précédemment que les bâtonnets ont tendance à s'organiser spontanément dans des phases cristal liquide de type smectique.^{41a} Nous avons déjà mis en évidence le rôle crucial de la chimie de surface des particules, dans l'obtention d'un assemblage, pour trouver un compromis entre les forces attractives et répulsives. Un contrôle judicieux de la chimie de surface devrait permettre de moduler l'interdistance. En parallèle, une technique permettant de contrôler le séchage d'un film de mousse sur un substrat a été développée à l'institut de physique de Rennes (IPR).¹⁴³ Un travail a été accompli à l'IPR sur la cristallisation de colloïdes (Thèse de Marie Postic, Quantum dots « gallate » micelle) puis cette méthode a été appliquée avec les bâtonnets d'or fonctionnalisés avec le MUDOL ($\text{NB}_{\text{AuMUDOL}}$) au laboratoire. Un moule microstructuré en PolyDiMéthylsiloxane (PDMS) a en effet été utilisé pour réguler à la fois l'évaporation de l'eau et créer des ménisques dirigeant le séchage sur le substrat.

3.1) Auto-assemblage des bâtonnets d'or

3.1.1) Introduction et état de l'art

Les bâtonnets d'or ont des propriétés optiques très attractives (grand coefficient d'extinction) et modulables par leurs rapports d'aspect à l'échelle individuelle mais aussi collectivement.^{34a, 89a, 144} Les propriétés collectives, issues de couplages cohérents, apparaissent lorsque les nanobâtonnets sont ordonnés les uns par rapport aux autres. De plus, les bâtonnets peuvent propager la lumière et la confiner *via* « l'effet d'antenne » qui se traduit par des champs électromagnétiques très intenses au niveau de leurs extrémités.¹⁴⁵ Ce phénomène est lié au couplage de champ électromagnétique et des plasmons de surface, il en résulte la propagation d'ondes plasmon sur la particule qui dépende de la longueur d'onde excitatrice. De ces propriétés émergent des applications pour : la détection,^{32a} l'imagerie^{29a, 146} ou encore le diagnostic de maladies infectieuses.^{29a, 100c, 109} De plus, leurs anisotropies leur confère des propriétés cristal liquide,^{41a} c'est-à-dire qu'il est possible de les assembler dans des phases denses et structurées.¹⁰⁸ Les nano-cristaux sont alors utilisés comme briques élémentaires pour échafauder un matériau à une échelle mésoscopique. Les assemblages de bâtonnets d'or ont été utilisés pour amplifier des signaux de fluorescence⁷⁹ et des signaux Raman (effet SERS).^{32a, 147} En effet, dans le cas de l'effet SERS (Surface Enhanced Raman Scattering), il a été montré que le signal était d'autant plus amplifié que le nombre de couches de bâtonnets constituant l'assemblage était important.^{32a, 148} Différentes stratégies ont été employées dans la littérature pour assembler les bâtonnets d'or : en solution,^{103, 129a, 131} par séchage^{32a, 63b, 108} ou bien encore par l'utilisation d'un moule.^{89a, 106-107} Néanmoins, la plupart de ces procédés donnent des assemblages limités en taille et en forme et sont généralement inhomogènes. Cependant, la mise en forme d'un matériau nanostructuré est de première importance quant à la reproductibilité des mesures dans des applications de type capteur. Grâce à une chimie de surface judicieuse et l'utilisation d'une surface microtexturée, des assemblages multi-échelles ont été obtenus. Les propriétés optiques collectives de ces assemblages ont été étudiées par la suite.

3.1.2) Caractérisation morphologique des bâtonnets d'or utilisés dans ce travail.

Les bâtonnets ont été synthétisés par la même voie de synthèse décrite précédemment (page 182). Leur morphologie a été étudiée par microscopie électronique à transmission. Une longueur de $22,0 \pm 5,1$ nm et un diamètre de $7,0 \pm 2,5$ nm ont été obtenus. Les incertitudes sont calculées à partir de la largeur à mi-hauteur des Gaussiennes associées aux histogrammes.⁹⁰ Les images ont été analysées grâce au logiciel Image J (Annexe page 203).⁶² La mesure détaillée de la taille des particules individuelles est importante pour la caractérisation structurale des assemblages notamment par la technique de diffusion des rayons X aux petits angles (SAXS). De plus, la monodispersité des nanocristaux est primordiale pour envisager des assemblages structurés.

3.1.3) Séchage d'une goutte

Microscopie électronique à transmission.

Les structures ont tout d'abord été étudiées par microscopie électronique. Les bâtonnets sont séchés (10^{-9} M) sur une grille de microscopie dans les conditions normales (température, pression).

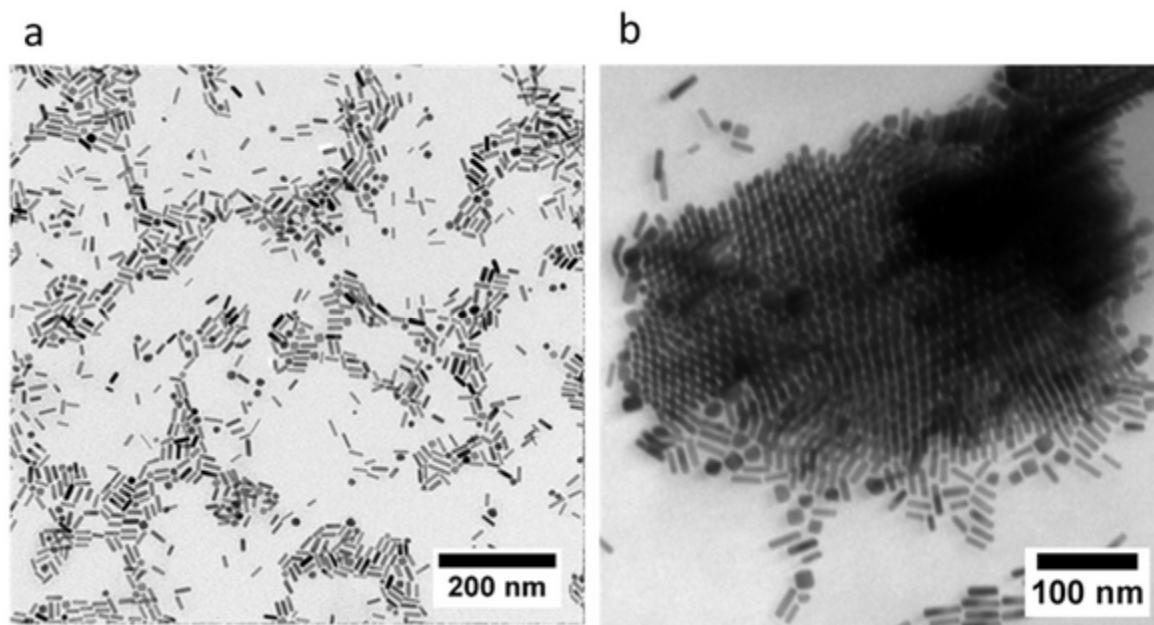


Figure 48 : Images MET de bâtonnets d'or fonctionnalisés avec : a) CTAB et b) MUDOL.

Les bâtonnets CTAB ne présentent pas d'organisation particulière (Figure 48a). Les $NB_{AuMUDOL}$ ont clairement une tendance à s'organiser dans des phases hexagonales, c'est-à-dire des phases denses où les bâtonnets se positionnent perpendiculairement au substrat avec une symétrie 6 (Figure 48b). Les bâtonnets s'organisent par paquets de quelques micromètres carrés. Ces résultats démontrent que la fonctionnalisation des bâtonnets par MUDOL influence clairement leur organisation durant le séchage.

Cependant cette technique inclut une étape de séchage et donne une image limitée en taille des assemblages. En effet, la caractérisation de l'assemblage est limitée à quelques couches de bâtonnets (il faut éviter la saturation de la grille). Afin de confirmer la structure de l'assemblage, à une échelle plus grande, nous avons utilisé la technique de Diffusion des Rayons X aux petits angles (SAXS).

Diffusion des rayons X aux petits angles (SAXS).

Ces expériences ont été faites en collaboration avec l'équipe de Frank Artzner (IPR). C'est une technique expérimentale qui permet d'étudier les propriétés structurales des matériaux à une échelle allant de 1 à 30 nm. Une partie a été réalisée au synchrotron SOLEIL avec l'aide de Florian Meneau (Figure 49a) et à Rennes (Figure 49 b-e). Les bâtonnets d'or (10^{-8} M) sont ici séchés dans des

-Chapitre 3-

capillaires ($\phi=1,5$ mm). Chaque pic correspond à une distance de répétition ou à des harmoniques (ordre n) et sont assignés à des distances de répétition entre bâtonnets (latérale ou lamellaire). Ici les structures analysées ont une taille de l'ordre du faisceau ($300 \mu\text{m} \times 300 \mu\text{m}$), c'est-à-dire que l'on fait une caractérisation structurale macroscopique (pour plus d'informations sur cette technique, se référer à l'annexe page 205).

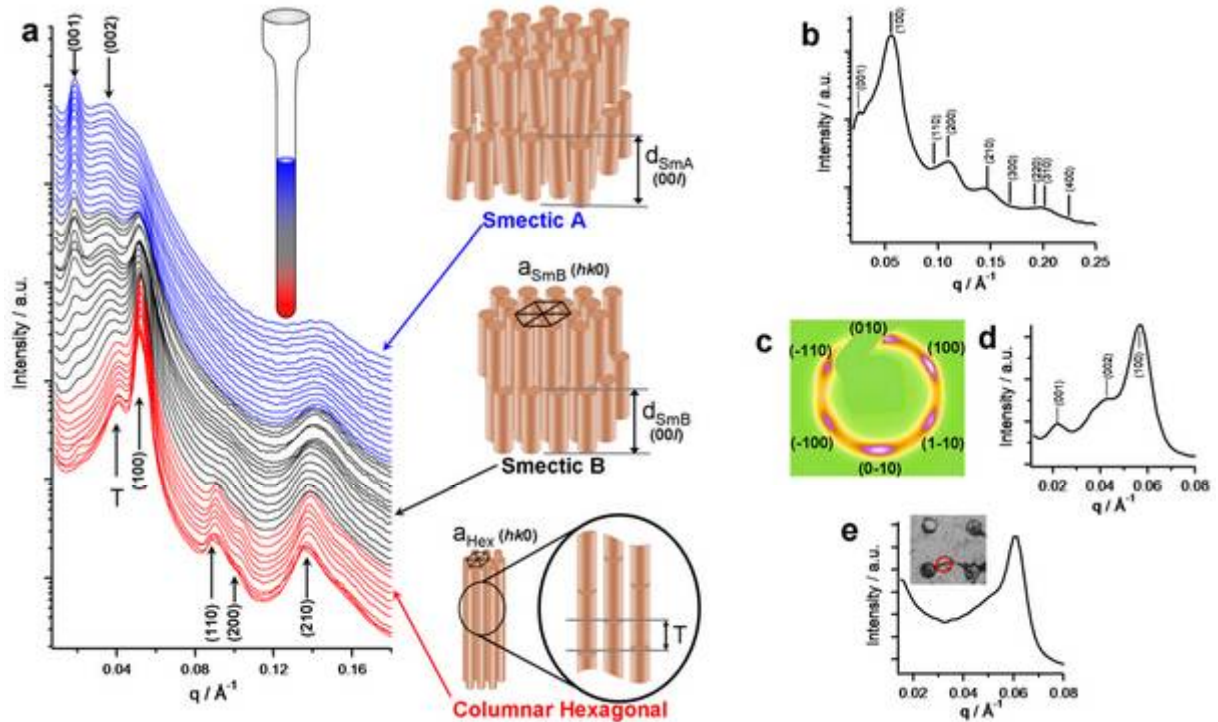


Figure 49 : a) Diffusion des rayons X aux petits angles de bâtonnets MUDOL séchés dans un capillaire. Ces données ont été acquises sur la ligne SWING au synchrotron SOLEIL après 12h de séchage. Des mesures ont été faites à différentes positions dans la hauteur du capillaire révélant trois différentes organisations : une phase hexagonale en bas, une phase smectique A en haut et une phase smectique B à l'interface (pour des raisons de présentation, les courbes ont été décalées en fonction de leurs positions dans le tube). Les pics associés à un ordre lamellaire sont notés (00l) et T. Les pics associés à un ordre hexagonale a_{hex} et a_{SmB} sont notés (hk0). (b-d) Tout a été acquis sur le même échantillon 5 mois plus tard sur le montage de Rennes. b) Spectre de la phase smectique B. c) Figure de diffraction correspondante montrant la symétrie d'ordre 6 de la phase smectique B. d) Spectre SAXS enregistré avec une haute résolution démontrant la coexistence d'ordres à la fois lamellaire et hexagonal. e) Spectre SAXS enregistré directement sur un mur, la mesure a été prise sur la zone indiquée d'un cercle rouge (voir insert).

Dans un premier temps, les échantillons ont été séchés à l'air libre pendant 12h. Pour les données acquises au synchrotron SOLEIL (Figure 49a), un polymorphisme à l'intérieur du capillaire a été observé. En effet, les 500 spectres collectés sur la longueur du capillaire révèlent une évolution structurale continue de l'organisation des bâtonnets au sein du tube. Plus précisément, en haut du capillaire, une organisation lamellaire est mise en évidence par les deux pics de Bragg à $0,018$ et $0,035 \text{ \AA}^{-1}$. Aucun pic correspondant à un ordre latéral n'a été observé, il s'agit donc d'une phase de type smectique A avec une distance de répétition $d_{\text{SmA}}=35 \pm 2$ nm. Inversement, en bas du tube, un ordre hexagonal (Hex) est caractérisé par 4 pics de Bragg à $0,0515$, $0,0894$, $0,1029$ et $0,1375 \text{ \AA}^{-1}$ avec

-Assemblage hiérarchique des nanocristaux-

des rapports de distances inter-pic de $1 : \sqrt{3} : 2 : \sqrt{7}$ ($n=3$ harmoniques) respectivement. Ces valeurs correspondent à une inter-distance latérale de $a_{\text{Hex}}=14,0\pm 0,3$ nm. De plus, on note la présence d'un pic à $0,0405 \text{ \AA}^{-1}$ (courbes rouge, Figure 49a). Bien que ce dernier se décale au second ordre de la phase lamellaire, il ne peut pas être attribué à une telle phase car il n'y aurait alors pas de pic correspondant au premier ordre. Cependant, il correspond bien à une distance de $17\pm 0,5$ nm ($d_{\text{SmA}}/2$), l'attribution à une translation inter-bâtonnet (voir schéma Figure 49a) d'un facteur un-demi (désigné par « T » sur le schéma) est alors proposée. L'assemblage est colonnaire ici, cela correspond à un ordre plan (hexagonal) sans ordre lamellaire. Par ailleurs, une phase montrant un plus haut degré d'organisation, c'est-à-dire une phase de type smectique B, a été mise en évidence au centre du capillaire (noire, Figure 49a). Cette phase présente à la fois un ordre hexagonal (plan) et lamellaire (empilement).

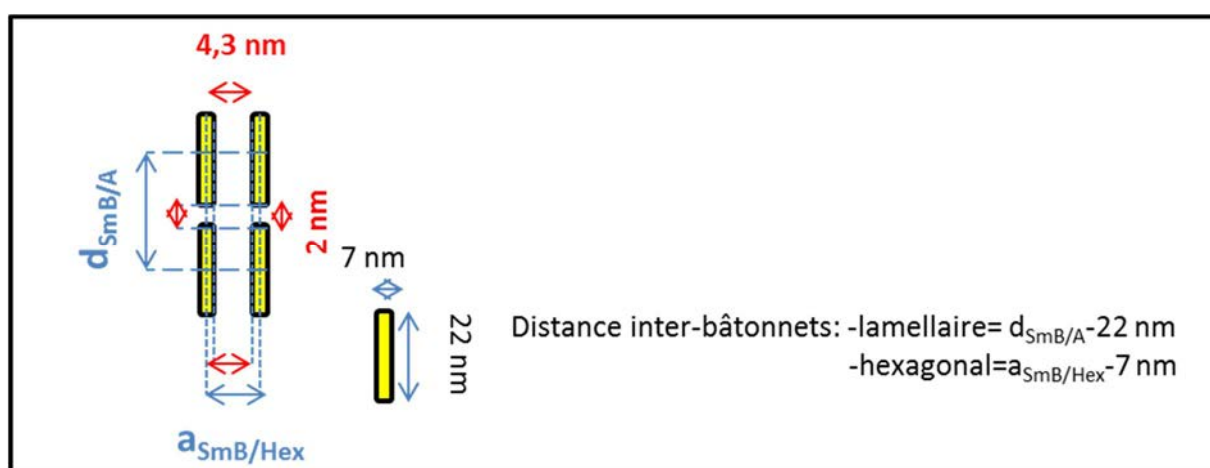


Figure 50 : Schéma explicatif à propos des paramètres de réseaux déterminés en SAXS et les distances inter-bâtonnets.

Les interdistances mesurées sont grandes par rapport à la taille des bâtonnets. Ceci s'explique par l'hydratation résiduelle de l'échantillon. Ce capillaire a été préparé 12h avant le début de la mesure, le séchage à l'intérieur du capillaire n'était pas total (hors équilibre). En effet, le même capillaire a été analysé 5 mois plus tard à Rennes. Nous avons pu ainsi vérifier que l'échantillon, totalement séché (placé sous vide), est homogène avec un ordre à la fois lamellaire et hexagonal (Figure 49b-d). Des domaines cristallisés (phase smectique B) plus grands que le faisceau ($300 \times 300 \mu\text{m}$) ont été mis en évidence (Figure 49b-d). La symétrie 6 est confirmée par l'observation de 6 tâches correspondantes aux premiers ordres de la phase hexagonale (Figure 49c) de l'échantillon aligné. La mesure ayant été faite perpendiculairement à la direction normale au capillaire, les bâtonnets sont donc orientés selon le grand axe du tube. De ces mesures, nous pouvons en déduire les paramètres du réseau : $a_{\text{SmB}}=11,3\pm 0,1$ nm et $d_{\text{SmB}}=24\pm 1$ nm (interdistances centre à centre). Cela correspond à des distances inter-bâtonnets de $4,3\pm 0,1$ nm et 2 ± 1 nm respectivement (Figure 50).

Pour résumer ces expériences, les $\text{NB}_{\text{AuMUDOL}}$ s'auto-assemblent grâce à un séchage lent au sein de capillaires. Premièrement, on obtient des phases smectiques A/hexagonale (hors équilibre) qui évoluent vers une phase smectique B après un séchage complet (à l'équilibre) atteint après plusieurs semaines.

3.1.4) Utilisation d'in moule de PDMS pour guider le séchage

Dans le but d'intégrer des supercristaux composés de bâtonnets d'or dans des microsystèmes, il est important de contrôler spatialement le dépôt de ceux-ci sur un substrat. En effet, lors du séchage d'une goutte de colloïdes, ces derniers se concentrent toujours en bordure formant un anneau concentrique : c'est l'effet « tâche de café ».¹⁴⁹ En effet, la ligne de contact en bordure étant fixée, au cours de l'évaporation (plus importante sur les bords qu'au centre), il se crée un flux du centre de la goutte vers l'extérieur draguant les particules pour former après séchage une auréole caractéristique.

Dans le but de contrôler le séchage des colloïdes sur le substrat, un système simple et peu coûteux à mettre en œuvre a été appliqué. Il s'agit d'un moule microstructuré composé de PolyDiMethylSiloxane (PDMS). Il se compose d'un réseau de plots cylindriques régulièrement espacés. La distance, la hauteur et l'espacement entre les plots sont modulables (Figure 51d). Des plots de 35 μm de hauteur, de 100 μm de diamètre et espacés de 75 μm ont été choisis pour commencer. Cette méthode de séchage a été développée à l'IPR par Marie Postic, Laurent Courbin et Franck Artzner. L'étude de l'évaporation de films de mousses ou de liquides par cette technique a été l'objet de la thèse de M. Postic (pour plus d'informations sur la préparation de la surface, se référer à l'annexe page 208).

-Assemblage hiérarchique des nanocristaux-

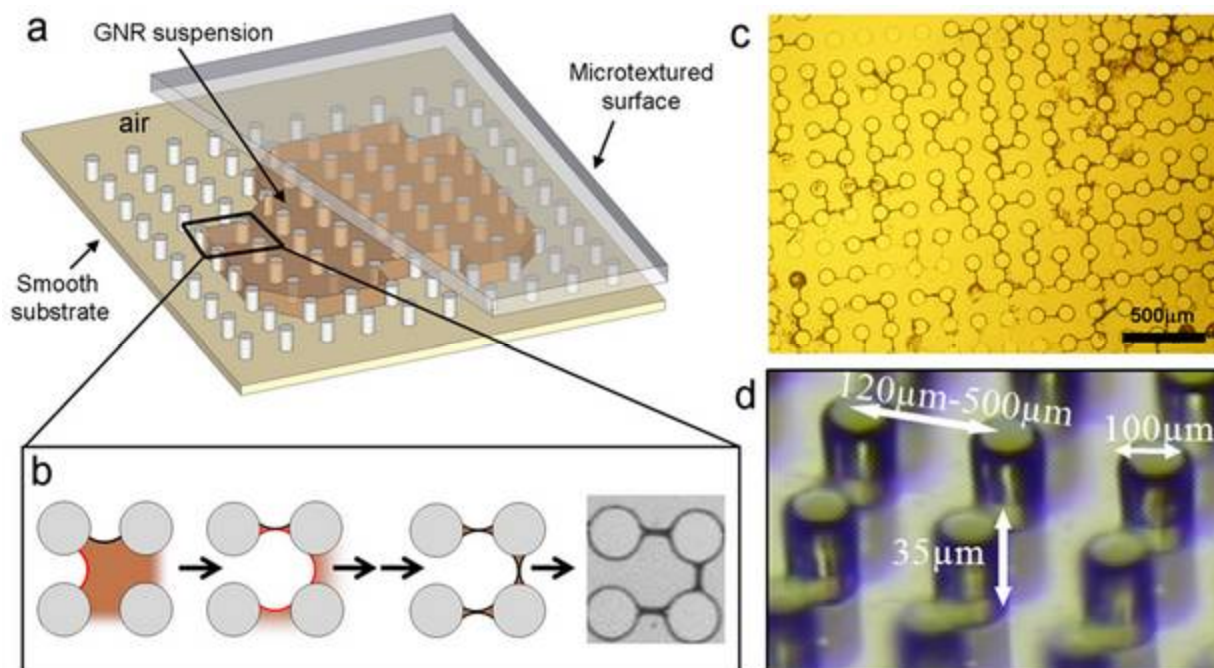


Figure 51 : a) Schéma illustrant le principe de la technique utilisée pour fabriquer les assemblages de bâtonnets d'or à grande échelle. La suspension contenant les particules est placée entre le moule de PDMS et le substrat. Après évaporation de l'eau et du moule un réseau dense de bâtonnets d'or est obtenu. b) Schéma typique de l'avancement de ménisques lors de l'évaporation de l'eau. Des lignes se forment entre les plots correspondants aux dépôts de colloïdes. La représentation est limitée à 4 plots. c) Photo de microscopie optique de bâtonnets d'or séchés par cette méthode. d) Photo du moule annotée avec ses dimensions (Photo : Laurent Courbin, IPR).

La méthode consiste à déposer une goutte de la suspension de bâtonnets d'or (10^{-6} M), en présence d'un surfactant, sur le substrat et d'appliquer le moule de PDMS dessus (Figure 51a). Après un séchage lent (>12 h) le masque est retiré. Les dépôts obtenus ont été caractérisés macroscopiquement en microscopie optique (Figure 51b-c) montrant l'organisation des supercristaux sur le substrat. Ici les particules sèchent en formant des « murs » tracés suivant les ménisques formés par le moule et des « cercles », figure rémanente des plots après avoir retiré le masque où le liquide épouse le contour des plots (Figure 51b-c).

Les suspensions colloïdales sont séchées en présence d'un tensio-actif neutre : le tween 20 (T20). Les échantillons sont ainsi préparés avec une concentration en T20 légèrement supérieure à sa CMC. L'ajout du surfactant est nécessaire pour augmenter la mouillabilité de l'échantillon et permettre le séchage selon les ménisques imposés par le réseau de plots du moule.¹⁵⁰ En présence de T20, on remarque bien la formation de murs (Figure 52a) alors qu'en son absence, on observe la formation d'agrégats de particules déposées aléatoirement sur le substrat (Figure 52b). Le tensio-actif sélectionné est de charge nulle et a une concentration micellaire critique (CMC = 0,1 mM) faible. La charge nulle du tensio-actif a été choisie pour éviter toute interaction électrostatique entre le surfactant et les bâtonnets. De plus, sa faible CMC limite l'ajout de matière organique dans le système. Ce dernier point est important notamment pour la caractérisation par MEB où la matière

-Chapitre 3-

organique en excès écrante les charges, en formant une « gangue » sur les assemblages très gênante pour l'observation. De plus, l'introduction de tensio-actif comme le CTAB est évitée car celui-ci est cytotoxique et connu pour dénaturer les cellules en s'insérant dans les membranes lipidiques^{110a} ce qui limite le champ des applications possibles. Enfin, il a été montré que l'utilisation de T20 ne perturbe pas l'assemblage des bâtonnets en phase smectique.⁹⁰ D'autres tensio-actifs ont été utilisés comme le n-dodecyl-beta-D-Maltoside également non chargé et de faible CMC (0,17 mM). L'intérêt de ce surfactant est qu'il est communément utilisé pour stabiliser des protéines, en particulier l'hydrogénase d'intérêt dans le cadre de cette thèse. Ces observations (détaillées page 168) montrent que l'on peut appliquer la méthode de dépôt avec le moule de PDMS pour des suspensions de protéines, stabilisées avec ce surfactant, pour former des « murs » contenant des nanoparticules et des protéines.

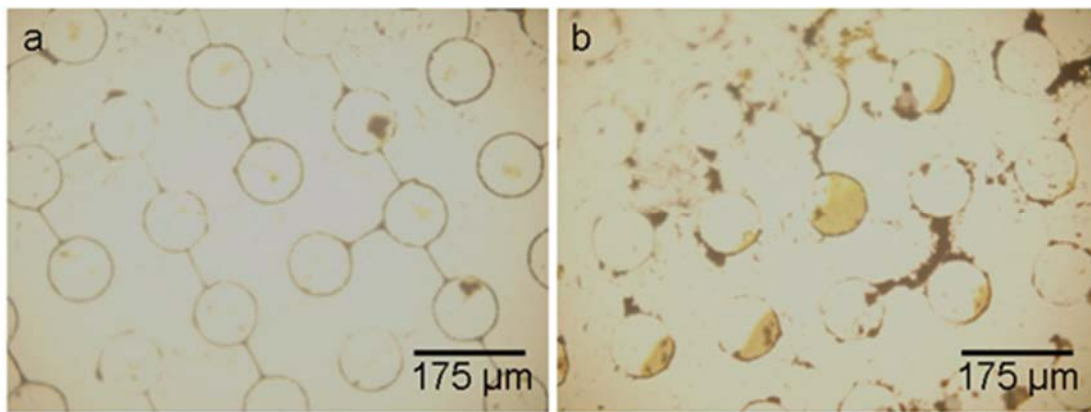


Figure 52 : Clichés de microscopie optique d'assemblages de bâtonnets d'or séchés selon la méthode du moule en PDMS. Les échantillons sont préparés avec ou sans tween 20 ($C^{\circ}_{T20} > CMC_{T20}$). a) Bâtonnets MUDOL avec Tween 20. b) Bâtonnets MUDOL sans tween 20.

Caractérisation multi-échelle en microscopie électronique à balayage (MEB).

Ces caractérisations ont été faites au laboratoire de nano-photonique et de nanostructures (LPN) à Marcoussis en collaboration avec Elsa Mazari, Christophe Dupuis et Charlie Gosse. Le microscope utilisé est un Magellan 400L (FEI Inc) permettant l'acquisition d'images de grande qualité sur plusieurs échelles (de la centaine de micromètres jusqu'au nanomètre) avec une grande résolution (en théorie 1 nm). C'est donc un outil de choix pour caractériser l'organisation hiérarchique de notre système. Les bâtonnets sont déposés sur un substrat conducteur (nécessaire pour cette technique), nous avons testé des substrats d'or, de silicium et d'ITO (oxyde d'indium dopé à l'étain : Indium Tin Oxide). Quelques soient les substrats utilisés, la même organisation en phase smectique a été observée.

Les « murs » et les cercles précédemment décrits en microscopie optique (Figure 51b-c) se révèlent en relief par cette technique (Figure 53a-b). La hauteur des murs varie et peut atteindre des valeurs

-Assemblage hiérarchique des nanocristaux-

proches de la hauteur des plots (35 μm). Les murs ont une longueur définie par les paramètres de réseau du moule (ici 75 μm) et possèdent une largeur d'environ 5 μm .

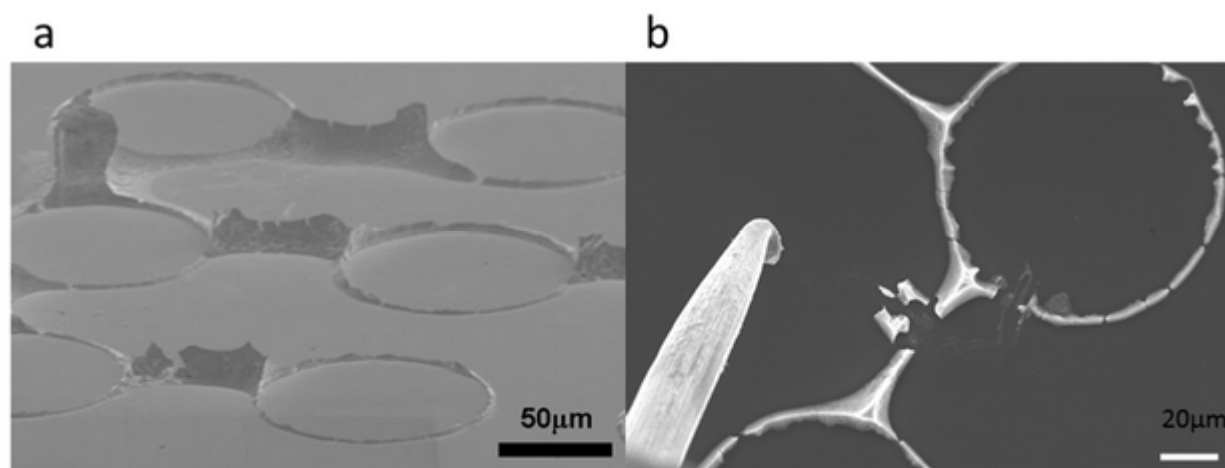


Figure 53 : a-b) Image MEB des structures obtenues en séchant entre un substrat de silicium et un moule de PDMS une solution contenant les bâtonnets d'or MUDOL. b) Image du micromanipulateur utilisé pour révéler les structures en profondeur.

L'organisation des bâtonnets a été mise en évidence à la surface des murs à des grossissements plus importants (Figure 54a). Ici les bâtonnets sont observés en section car ils sont orientés selon leur grand axe, perpendiculairement au plan de coupe. Ainsi, l'ordre hexagonal des bâtonnets a clairement été démontré sur des mono-domaines de plusieurs μm^2 (Figure 54a-b). Afin d'étudier les structures en profondeur, nous avons eu recours à trois méthodes : (1) en regardant dans un défaut d'un mur (Figure 54c-d), (2) en clivant le substrat perpendiculairement à un mur (Figure 54e-f) et (3) en creusant avec un micromanipulateur (Figure 53b et Figure 54g-h). Chacune de ces méthodes nous révèlent des ordres lamellaires et latéraux entre bâtonnets d'or. En particulier, les images effectuées avec le micromanipulateur permettent à la fois une observation par-dessus et sur les côtés révélant l'ordre smectique B des bâtonnets au sein des murs. Il est intéressant de noter que les bâtonnets s'organisent systématiquement, selon leur axe longitudinal, perpendiculairement au substrat sur plusieurs couches (Figure 54e-f). Par ailleurs, les six pics obtenus par la transformée de Fourier, parfaitement arrangés en hexagone, confirment l'ordre intra-lamellaire des bâtonnets (voir insert Figure 54b). On en déduit le paramètre de la maille hexagonale, $a_{\text{SmB}}=9,0\pm 0,2$ nm. Cette valeur est en accord avec des mesures faites le long de lamelles de bâtonnets (voir insert Figure 54f) où l'on trouve $a_{\text{SmB}}=10$ nm. De plus, à partir de ces images nous pouvons estimer la distance inter-lamellaire : $d_{\text{SmB}}=24$ nm. Ces valeurs sont en accord avec les paramètres de la phase smectique B mesurés par SAXS ($a_{\text{SmB}}=11,3\pm 0,1$ nm et $d_{\text{SmB}}=24\pm 1$ nm). L'ordre au sein des murs a aussi été évalué *in situ* dans les structures par SAXS confirmant le paramètre $a_{\text{SmB}}=10,3\pm 0,2$ nm de la phase hexagonale (Figure 49e) obtenue par MEB.

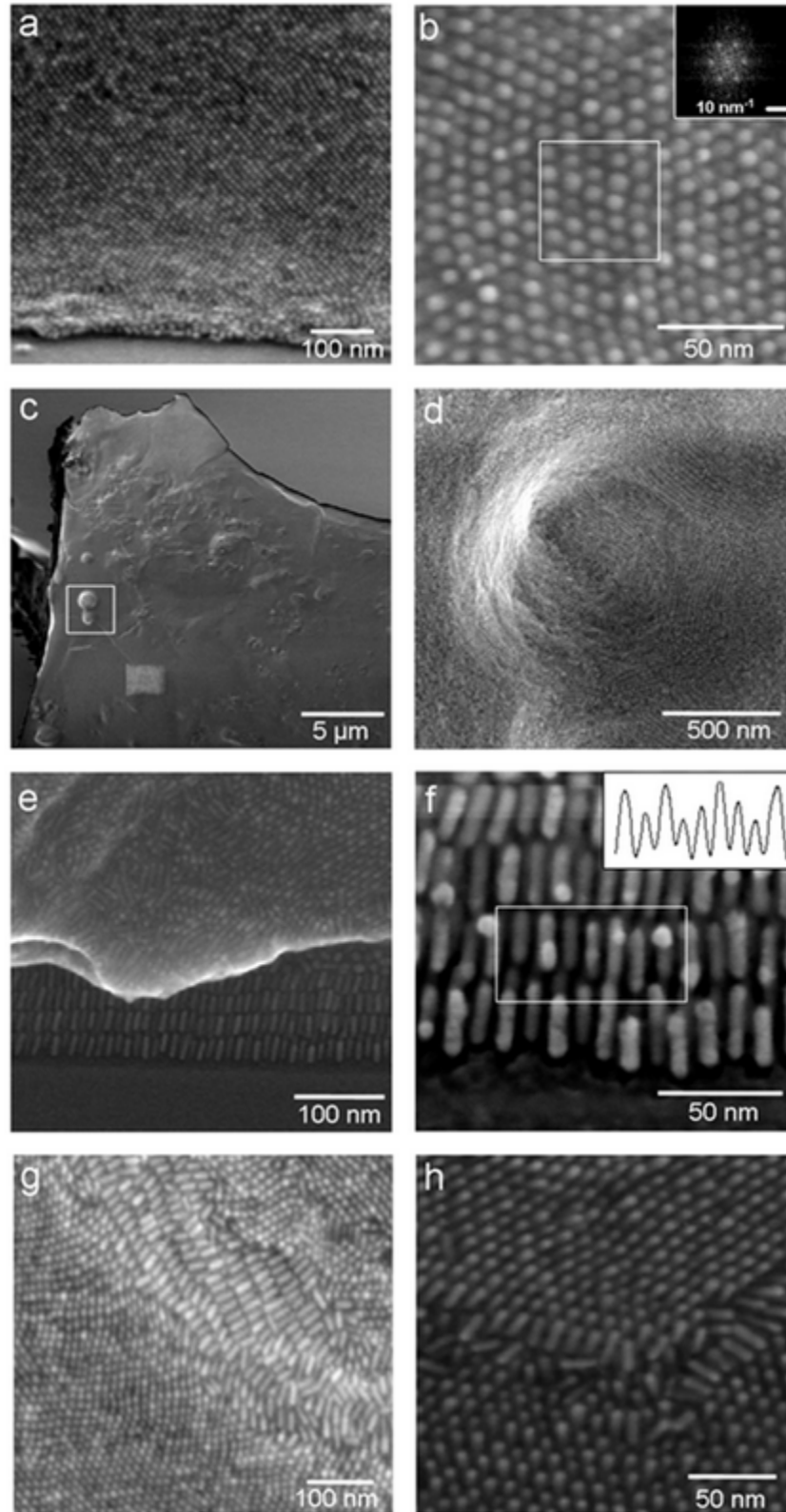


Figure 54 : Image MEB des structures obtenues en séchant entre un substrat de silicium et un moule de PDMS une solution contenant les bâtonnets d'or MUDOL. a-b) Bâtonnets d'or assemblés dans une phase hexagonale à la surface d'un mur. Analyse de Fourier en insert faite sur la zone encadrée. c-d) Investigation des structures dans un défaut concave d'un mur nous permettant de voir aussi l'ordre lamellaire des bâtonnets. e-f) Organisation lamellaire des bâtonnets prise à incidence rasante du substrat grâce au clivage de ce dernier. Le profil d'intensité en insert a été pris dans la zone encadrée. g-h) Ordre smectique B des bâtonnets révélé par action mécanique d'un micro-manipulateur permettant de creuser un mur.

Augmentation de l'interdistance grâce aux répulsions électrostatiques

Afin de moduler l'interdistance entre les bâtonnets au sein de ces structures, des mélanges de ligands MUDOL/MUDIC de ratio molaire de (80/20) et (50/50) ont été utilisés pour fonctionnaliser les bâtonnets. Nous avons précédemment démontré que ces mélanges permettent de moduler la charge surfacique des bâtonnets par électrophorèse (page 47).

Comme précédemment pour 100% MUDOL les assemblages ont été analysés en SAXS et par MEB. Au sein des murs, l'organisation est de type smectique B pour les bâtonnets 80/20 MUDOL/MUDIC sur de large domaines (Voir Figure 56a-b). Cependant, l'absence de murs structurés pour le mélange équimolaire MUDOL/MUDIC (Figure 56c-d) indiquent que les répulsions électrostatiques deviennent trop importantes et la tendance des bâtonnets d'or à former des smectiques est perdue ; par analogie avec les bâtonnets CTAB, fortement chargés, aucune organisation particulière ne peut être obtenue. Des transformées de Fourier ont été effectués sur les images de MEB pour MUDOL/MUDIC (80/20) et (50/50) (Insert Figure 56b) pour confirmer ces observations. Dans le cas du mélange équimolaire, la mesure est difficile car il n'y a pas d'ordre à longue distance. Dans le cas du mélange (80/20), les images ont été intégrées radialement nous permettant de conclure sur les interdistances $a_{\text{smB}}(100/0) \sim 8,9$ nm et $a_{\text{smB}}(80/20) \sim 10,2$ nm. Nous avons pu aussi extraire un paramètre de réseau $a_{\text{smB}}(50/50) \sim 12,1$ nm dans les rares zones organisées. Ces résultats ont été confirmés par SAXS où les bâtonnets sont séchés dans des capillaires (Figure 56f). On observe en effet 4 pics pour les bâtonnets MUDOL avec des rapports de distances inter-pics de $1:\sqrt{3}:2:\sqrt{7}$, qui peuvent être indexés à un ordre hexagonal. Ensuite l'organisation perd en portée, en effet, plus on introduit le ligand MUDIC, plus les pics s'élargissent. De plus, le pic principal est décalé vers les plus grand q indiquant que la distance inter-bâtonnet augmente (q est inversement proportionnel à la distance). En effet, l'interdistance entre bâtonnet atteint plus d'un nanomètre supplémentaire lorsque l'on a 20% de charges ajoutées. Il a ainsi été déterminé que l'interdistance des bâtonnets pouvait être modulée entre 3 et 4 nm avec des mélanges MUDOL/MUDIC (100/0) et (80/20) respectivement. Ces résultats ont été confirmés en MET (Figure 55) où les interdistances ont été mesurées directement sur les images. Ici l'organisation peut être comparée par la formation ou non de longues lamelles formées de bâtonnets organisés latéralement (Figure 55). On note la formation de ces lamelles composées de plusieurs dizaines de bâtonnets dans le cas de 100% MUDOL (Figure 55a). La présence de lamelles plus courtes pour le mélange (80/20) et aucune pour le mélange (50/50) démontre que la tendance à l'organisation en lamelle décroît lorsque le ratio de ligand MUDIC augmente.

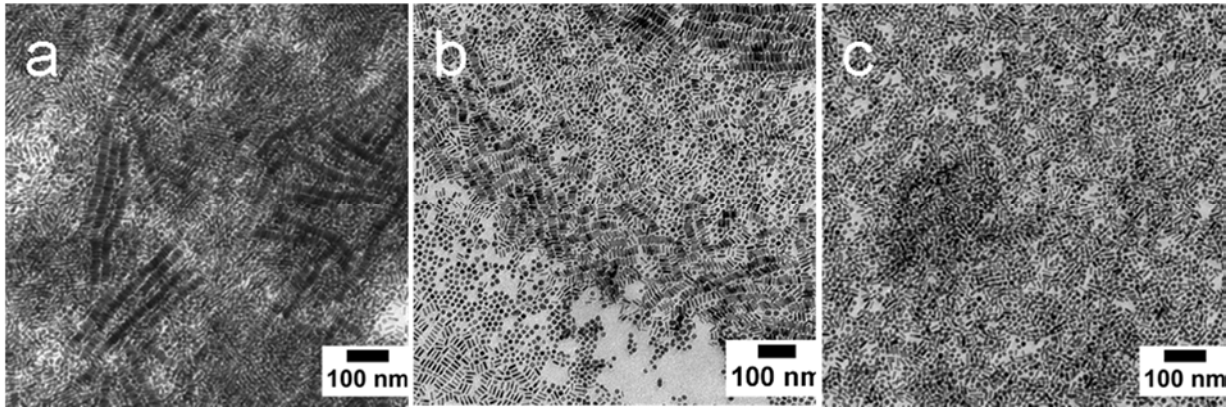


Figure 55 : Images MET de bâtonnets fonctionnalisés avec : a) 100% MUDOL, b) 80/20 MUDOL/MUDIC et c) 50/50 MUDOL/MUDIC.

Ainsi les trois méthodes de séchage (moule de PDMS, dans des capillaires et par séchage d'une goutte) convergent et nous donnent les mêmes résultats. Elles prouvent que les répulsions électrostatiques (en introduisant MUDIC) peuvent servir à augmenter l'interdistance entre bâtonnets même si la différence de distance modulable reste limitée à l'ordre du nanomètre.

-Assemblage hiérarchique des nanocristaux-

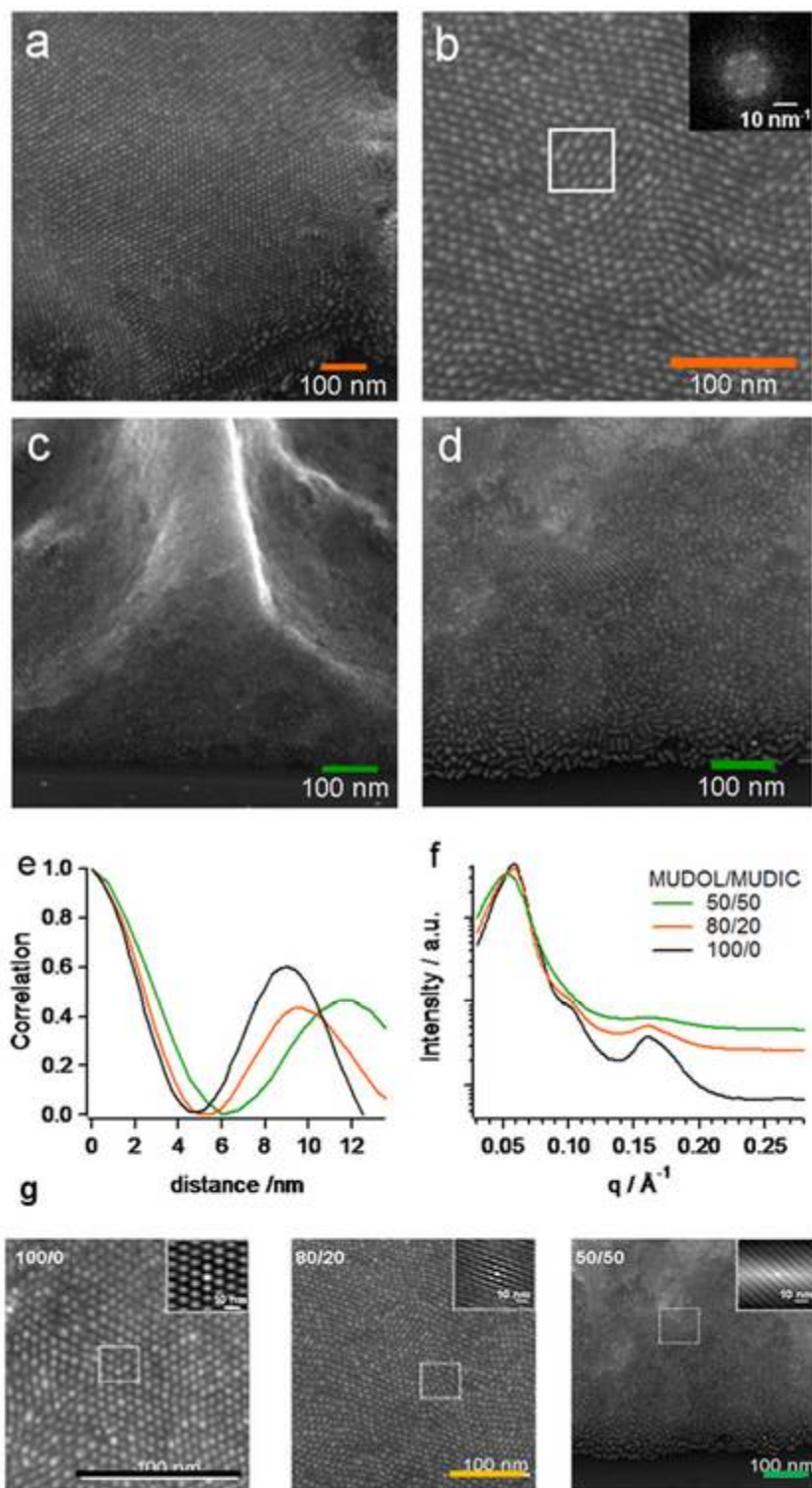


Figure 56 : Caractérisation des assemblages obtenus par séchage d'une suspension de bâtonnets d'or fonctionnalisés avec des mélanges d'alcane thiols. Noir : 100% MUDOL, orange 80/20 MUDOL/MUDIC et vert : 50/50 MUDOL/MUDIC : a-b) Images MEB de murs composés de bâtonnets d'or fonctionnalisés avec 80/20 MUDOL/MUDIC. b) L'insert montre une transformée de Fourier effectuée dans la zone encadrée. c-d) Images MEB de murs composés de bâtonnets d'or fonctionnalisés avec 50/50 MUDOL/MUDIC. e) Analyse des interdistances et de l'ordre grâce à une fonction d'autocorrélation calculée dans les zones encadrées (Figure 56g). f) Analyse SAXS de 3 lots de bâtonnets fonctionnalisés avec 3 mélanges d'alcane thiols différents mesurés au sein de capillaires. g) Images MEB sur lesquels les fonctions d'autocorrélation ont été effectuées, les résultats sont montrés en insert.

3.1.5) Contrôle de la géométrie des assemblages.

Le choix de la géométrie du réseau de plots composant le moule permet de moduler la taille, la forme et l'épaisseur des murs finaux. En effet, il est possible de modifier la forme et l'espacement entre les plots dans le but de former des ménisques de géométries différentes. Nous avons ainsi effectué le séchage de bâtonnets d'or avec une surface microtexturée ayant les mêmes paramètres de réseau (hauteur, diamètre des plots) que la précédente. Seul l'espacement entre les plots a été augmenté d'un facteur 2. Dans ce cas, les bâtonnets sèchent pour former des « tétrapodes », figure de séchage reliant quatre plots (Figure 57a-b). Les tétrapodes forment des structures plus hautes et plus larges. L'organisation des bâtonnets (MUDOL) est conservée (Figure 57c-d) à l'échelle nanométrique. Ces résultats montrent que l'on peut obtenir des géométries de supercristaux différentes tout en conservant l'ordre smectique des briques élémentaires.

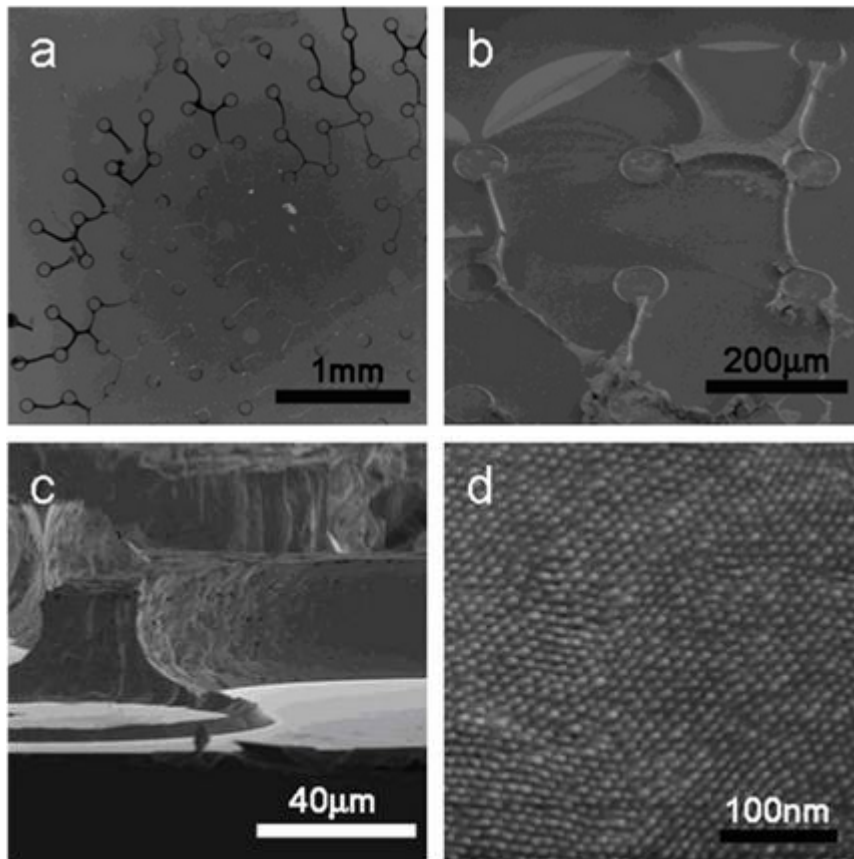


Figure 57 : Assemblages de bâtonnets d'or MUDOL obtenus par séchage de la suspension entre un substrat de silicium et un moule de PDMS. Paramètres de réseau du moule ici : diamètre des plots 100 µm, hauteur des plots 35 µm, distance entre les plots 250 µm. La caractérisation a été faite ici à différentes échelles. a) Microscopie optique, b-d) Clichés MEB.

3.1.6) Cas des bâtonnets fonctionnalisés par le CTAB

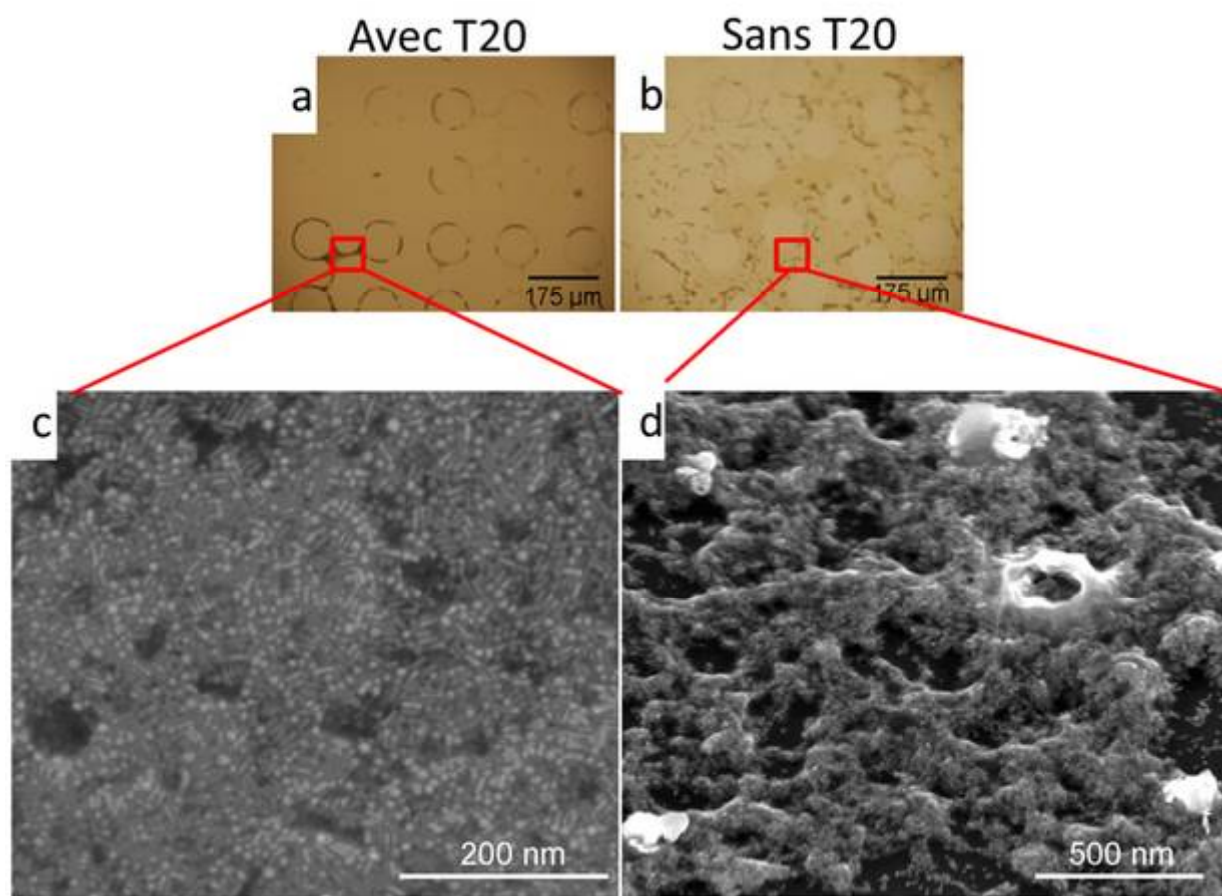


Figure 58 : Bâtonnets CTAB ($C^{\circ}_{CTAB} < CMC_{CTAB}$) séchés avec le moule en PDMS. Le tween 20 (T20) est ajouté (a,c) ou non (b,d). Visualisation des assemblages en microscopie optique (a,b) et par microscopie électronique à balayage (c,d).

Afin de confirmer la nécessité d'une chimie de surface, comme contrôle, les bâtonnets d'or CTAB ($C^{\circ}_{CTAB} < CMC_{CTAB}$) ont aussi été séchés avec la surface microtexturée en PDMS avec et sans tween 20 (Figure 58). Les bâtonnets sont séchés dans les mêmes conditions que les expériences utilisant le ligand MUDOL. Lorsque les bâtonnets ont été séchés en présence de tween 20 ($C^{\circ}_{T20} > CMC_{T20}$), des murs et des cercles se forment (Figure 58a) alors que sans T20 (Figure 58b) aucune organisation macroscopique n'est obtenue. Ces résultats confirment que la présence d'un surfactant ($C^{\circ}_{surfactant} > CMC_{surfactant}$) est indispensable pour obtenir un assemblage macroscopique par cette méthode de séchage. Aucune organisation locale n'est observée (Figure 58c-d) en microscopie électronique, cela justifie l'utilisation du ligand MUDOL pour la cristallisation des bâtonnets d'or.

3.1.7) Conclusion

Une nouvelle méthode accessible et peu coûteuse pour la formation de supercristaux composés de bâtonnets d'or de morphologie contrôlée et en trois dimensions est proposée ici. Les supercristaux formés présentent de larges domaines de l'ordre de plusieurs dizaines de microns où les bâtonnets sont assemblés dans une phase smectique B. Le ligand original, le MUDOL, permet de réaliser la

-Chapitre 3-

cristallisation des bâtonnets durant le séchage. La charge surfacique des bâtonnets peut être modulée en utilisant des mélanges de MUDOL et de MUDIC. Il est ainsi possible de moduler les interactions électrostatiques et de varier, sur une échelle limitée, l'interdistance des bâtonnets entre 3 et 4 nm tout en conservant l'ordre smectique.

Principalement trois techniques ont été utilisées pour caractériser les assemblages obtenus : les microscopies électroniques à transmission et à balayage et la diffusion des rayons X aux petits angles. Ces trois techniques nous confirment les paramètres de la phase smectique B avec un paramètre lamellaire (d_{SmB}) autour de 25 nm et hexagonale (a_{SmB}) autour de 10 nm (ici variable en fonction de la quantité de MUDIC introduite). Cela correspond à des distances inter-bâtonnets de 3 nm (lamellaire et dans le plan) à 4 nm lorsque 20% de MUDIC est introduit. Ces trois méthodes de caractérisation impliquent des méthodes de préparation d'échantillon différentes. En particulier la concentration en bâtonnets ainsi que le temps de séchage diffèrent selon les techniques. Malgré cela, les résultats convergent, démontrant que la fonctionnalisation originale des bâtonnets permet bien de les assembler sous des conditions variées.

Nous avons obtenu des assemblages macroscopiques de bâtonnets selon des murs et des cercles lorsque la suspension de bâtonnets est séchée entre le substrat et un moule microstructuré en PDMS. Cette méthode de séchage originale implique des séchages lents et contrôlés qui nous ont permis de mettre en forme un matériau de taille millimétrique et de géométrie maîtrisée. En effet, nos expériences ont montré que le mécanisme de retrait des ménisques était modulable par la géométrie du réseau de plots. Ce travail a fait l'objet d'une publication dans la revue ACS nano en 2012.⁹⁰

Ces travaux pourront être mis à profit dans l'élaboration de plateforme SERS (Surface Enhanced Raman Scattering) où l'ordre cristallin implique une meilleure amplification du signal Raman. De plus, la méthode de séchage est généralisable, c'est-à-dire qu'elle peut être appliquée à d'autres types de particules. Nous avons d'ailleurs utilisé ce moule microtexturé pour l'assemblage de Quantum Rods CdSe@CdS (voir page 102).

3.2) Caractérisation *in situ* des propriétés optiques des bâtonnets d'or auto-assemblés.

Les propriétés optiques collectives des assemblages solides de bâtonnets d'or ont été mesurées. Cette mesure d'ensemble consiste à enregistrer l'absorbance des bâtonnets grâce à un spectromètre équipé sur un microscope. Il est ainsi possible de cibler la mesure dans une zone ayant une surface entre $1 \times 1 \mu\text{m}$ et $50 \times 50 \mu\text{m}$. Dans ce travail, les propriétés optiques des bâtonnets assemblés dans les murs et des bâtonnets assemblés sans le moule ont été mesurées. La qualité et l'homogénéité des assemblages préparés dans différentes conditions a pu être comparée. Enfin, ce travail caractérise les assemblages à une échelle macroscopique qui complète les observations de surface en MEB.

Ces expériences ont été faites en collaboration avec le Centre de Recherche Paul Pascal (CRPP) à Bordeaux avec l'équipe de S. Ravaine. L'objectif est de mesurer *in situ* les propriétés optiques collectives des bâtonnets d'or, une fois assemblés au sein des murs. En effet, la réponse optique des bâtonnets dépend de leur environnement et des phénomènes de couplages plasmoniques interviennent lorsque les bâtonnets sont suffisamment proches deux à deux.^{100c, 128a, 129a} En effet, le couplage dépend de l'orientation relative des bâtonnets entre eux. Ainsi, principalement deux géométries peuvent être envisagées : la première où deux bâtonnets voisins sont disposés « bout à bout » et la deuxième où les bâtonnets voisins sont disposés « côte à côte ».^{129c} La plupart des travaux de la littérature reportent des mesures optiques issues d'assemblages en solution. Dans le cas des assemblages en solution, les bandes d'absorption longitudinales et transversales sont décalées de leur position initiale en fonction de la géométrie de l'assemblage (se référer à la page 59). Les propriétés optiques collectives seraient différentes pour les assemblages « solides » (sec) où la taille des supercristaux est généralement plus importante. Il existe dans la littérature quelques exemples de mesures optiques sur des assemblages solides (préparé à partir de bâtonnets d'or séchés sur un substrat).^{32a, 114b} Guerrero-Martinez et al^{114b} ont mesurés une seule bande d'absorption sur un assemblage smectique de bâtonnets d'or stabilisés avec un ligand « gemini ». L'observation de deux bandes d'absorption est associée à des bâtonnets orientés dans toutes les directions possibles alors que l'observation de cette unique bande est synonyme d'un ordre cristallin. A partir de cette observation, les structures en murs ont été analysées en enregistrant les spectres d'absorption *in situ* sous microscope. Quand les bâtonnets sont assemblés en smectique, une seule bande d'absorption est mesurée. Il est donc possible d'évaluer l'ordre cristallin d'un dépôt de bâtonnets d'or à partir de ses propriétés optiques. Les mesures faites à Bordeaux ont donc pour objectif d'évaluer l'homogénéité spatiale des échantillons en mesurant leurs propriétés optiques. Nous avons effectué les mesures sur des échantillons séchés avec ou sans le moule microstructuré en PDMS pour évaluer

l'effet de l'organisation en micro-parois. Dans chacune des parties nous comparons l'ordre des bâtonnets fonctionnalisés avec CTAB et MUDOL/MUDIC (80/20).

3.2.1) Propriétés des bâtonnets en solution.

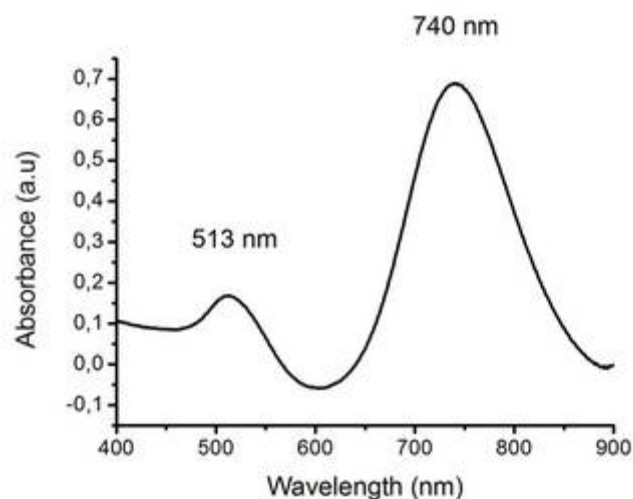


Figure 59 : Spectre d'absorption UV-Visible des bâtonnets d'or CTAB mesuré en solution. Les mêmes bâtonnets fonctionnalisés ou non ont ensuite été séchés dans les expériences suivantes.

Comme contrôle, en solution, une suspension de nanobâtonnets CTAB présente typiquement deux bandes d'absorption transversale et longitudinale dont le maximum d'absorption est situé à 513 nm et 740 nm respectivement. (Figure 59). Ici la mesure est dite « isotrope » c'est-à-dire qu'elle est effectuée sur un ensemble de bâtonnets orientés les uns par rapport aux autres de façon aléatoire. De plus, dans une suspension de bâtonnets d'or, les interdistances sont trop grandes pour avoir un couplage plasmonique entre bâtonnets.

3.2.2) Mesures des propriétés optiques de bâtonnets séchés sans le moule de PDMS.

La mesure des propriétés d'absorption est ensuite réalisée sur un échantillon solide obtenu à partir d'une suspension de bâtonnets séchée (10^{-9} M) sans le moule de PDMS. La suspension sèche en concentrant les nanobâtonnets selon l'effet « tâche de café » en environ 2 heures dans les conditions normales de température et de pression. A l'issue de l'évaporation du solvant, un anneau en bordure du séchage est observé où la concentration en bâtonnets est plus élevée qu'au centre de la figure de séchage.¹⁴⁹ Les mesures d'absorbance sont effectuées sur l'anneau pour des bâtonnets fonctionnalisés avec du CTAB ou un mélange MUDOL/MUDIC (80/20).

Bâtonnets CTAB.

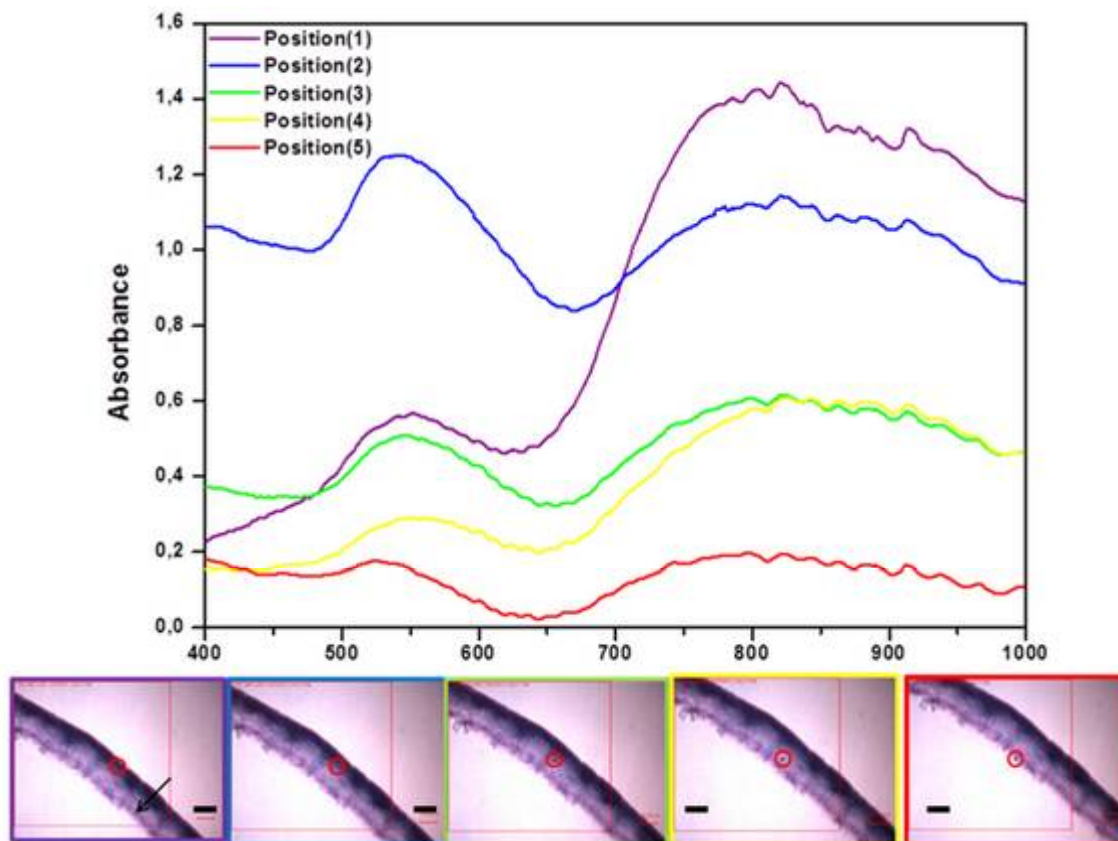


Figure 60 : Spectres d'absorption de bâtonnets d'or CTAB séchés sur substrat de FTO enregistrés *in situ* à différentes positions. La couleur des courbes correspond à une mesure effectuée sur les photos de même couleur. A noter le cercle rouge sur chaque photo indique la zone de mesure ($5 \mu\text{m}^2$). L'échelle sur chaque photo correspond à $50 \mu\text{m}$.

Dans le cas des bâtonnets CTAB, deux bandes d'absorption sont systématiquement observées quelque soit la position du faisceau incident (voir cercle rouge sur les photos Figure 60). Le faisceau du spectromètre est balayé d'une zone concentrée (violet, Figure 60) à moins concentrée (rouge, Figure 60) en bâtonnets. On en déduit que les bâtonnets sont disposés aléatoirement sur le substrat ce qui confirme les observations MEB précédentes (Figure 58). Il n'y a donc pas d'organisation à grande échelle. Cependant, à quelques endroits au centre du dépôt, une seule bande d'absorption sur des îlots de particules est mesurée. Ces derniers résultats indiquent que l'ordre des bâtonnets CTAB est meilleur au centre de la figure de séchage correspondant à une vitesse d'évaporation du solvant plus lente.

Bâtonnets MUDOL/MUDIC (80/20).

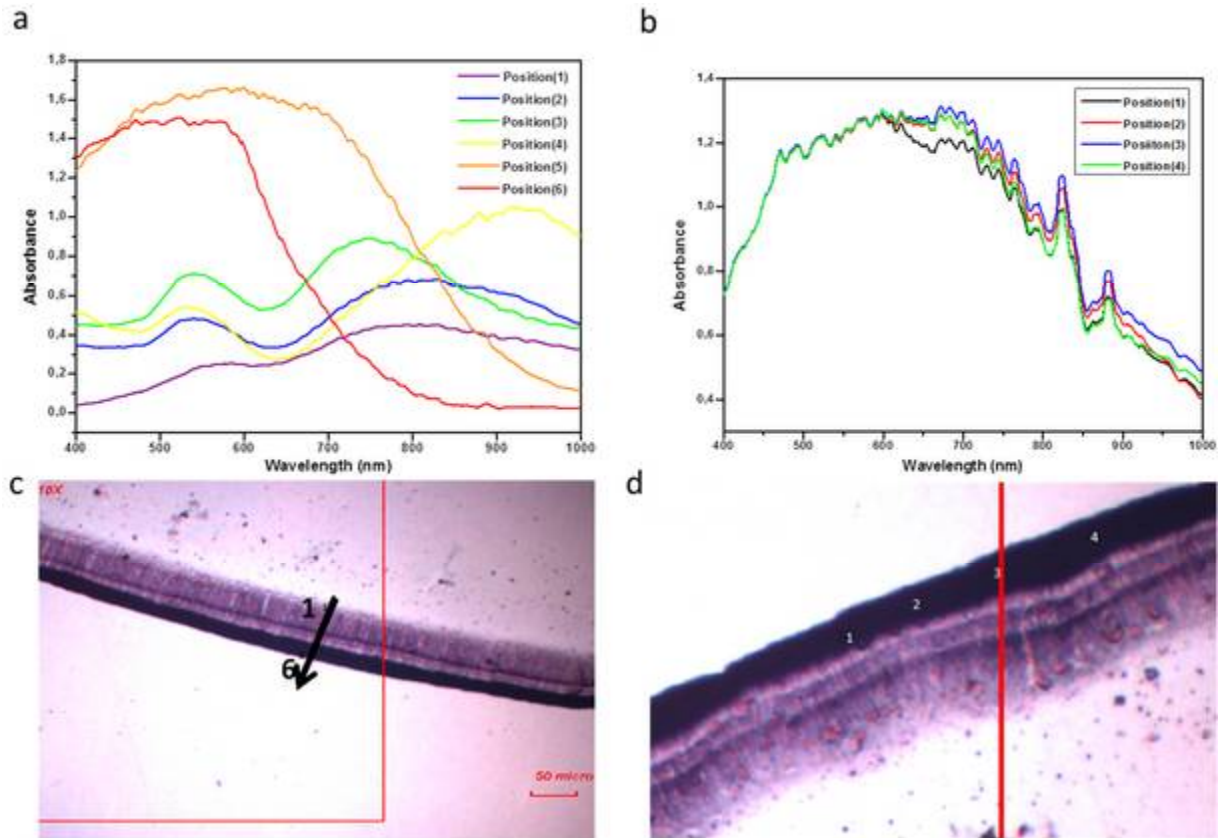


Figure 61 : a-b) Spectres d'absorption de bâtonnets d'or CTAB séchés sur substrat de FTO enregistrés *in situ* à différentes positions. La couleur des courbes correspond à une mesure effectuée sur les photos de même couleur. Les spectres d'absorptions sont mesurés dans une zone de mesure de $5\mu\text{m}^2$. c-d) Photos de microscopie optique des zones mesurées correspondantes à a et b respectivement. Echelle $50\mu\text{m}$.

Dans le cas des bâtonnets d'or MUDOL/MUDIC (80/20), séchés sans le moule de PDMS, les propriétés optiques des assemblages fluctuent selon la zone de mesure (Figure 61a). La concentration en particules évolue de façon croissante depuis la zone 1 (faible concentration, Figure 61c) vers la zone 6 (forte concentration, Figure 61c) et les spectres d'absorption enregistrés dans ces zones évoluent avec le gradient de concentration des nanoparticules (Figure 61a). Dans les zones 1-4, deux bandes d'absorption sont enregistrées alors qu'une seule bande est mesurée dans les zones 5 et 6. On peut en déduire que les bâtonnets présentent un ordre cristallin dans les zones plus concentrées en nanoparticules. La reproductibilité des mesures à différentes positions (Figure 61b-d) confirme l'homogénéité de l'assemblage des bâtonnets dans les zones concentrées. Ces mesures sont en accord avec les observations de microscopie électronique où l'ordre smectique des bâtonnets MUDOL/MUDIC (80/20) avait été caractérisé. Par ailleurs, des mesures ont été faites au centre de la figure de séchage, la mesure d'une unique bande d'absorption (non montré ici) confirme les observations précédentes avec les bâtonnets CTAB où le temps de séchage influe sur la qualité de l'assemblage.

3.2.3) Mesures des propriétés optiques de bâtonnets séchés avec le moule de PDMS.

Les mêmes mesures sont effectuées sur les échantillons solides structurés avec le moule de PDMS. Une suspension de bâtonnets est donc déposée (10^{-6} M) entre le substrat et la surface décorée puis séchée pendant >12h. Les mesures d'absorbance sont effectuées sur les murs et les cercles définis par le réseau de plots de la surface microtexturée. Les paramètres du réseau sont ici fixés dans toutes les expériences (hauteur 35 μ m, espacement entre les plots : distance centre à centre 175 μ m, diamètre des plots 100 μ m). Les mesures sont effectuées à partir de bâtonnets CTAB et MUDOL/MUDIC (80/20).

Bâtonnets CTAB

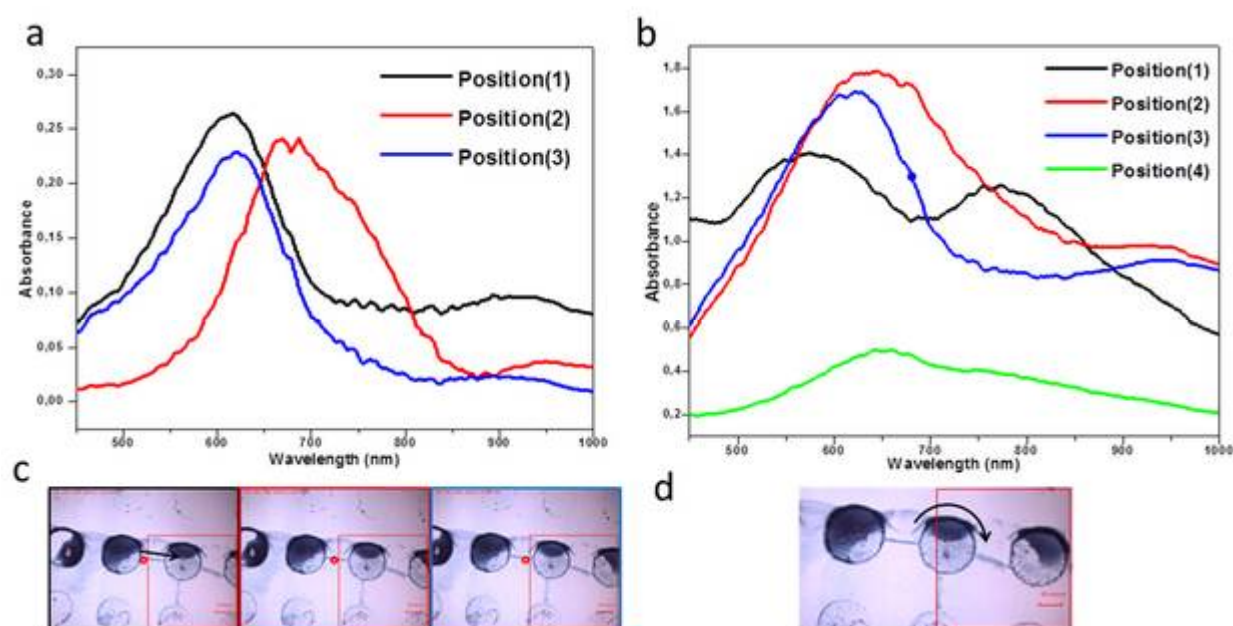


Figure 62 : a-b) Spectres d'absorption de bâtonnets d'or CTAB séchés sur une lame de verre à différentes positions sur le substrat. c-d) Photos de microscopie optique correspondantes aux zones mesurées en a-b respectivement. Echelle 50 μ m. Zone mesurée indiquée par des cercles rouges en c et par une flèche en d.

Les propriétés optiques de bâtonnets CTAB séchés sont mesurées au sein de murs (Figure 62a-c) et de cercles (Figure 62b-d). Dans les deux cas une seule bande d'absorption est mesurée indiquant de l'organisation dans les deux cas. L'organisation des bâtonnets est meilleure au sein des murs plutôt que dans les cercles. En effet, dans les murs (Figure 62a-c) une seule bande d'absorption apparaît où le maximum est décalé à 618 nm vers les plus courtes longueurs d'onde. En revanche, dans les cercles (Figure 62b-d) une ou deux bandes sont observées suivant la position, indiquant des assemblages inhomogènes spatialement. Cela peut être expliqué par la concentration locale en particules plus importante au sein des murs, ceux-ci ont en effet des dimensions plus importantes (hauteur, largeur) que les cercles. Une organisation est donc observée pour les bâtonnets CTAB en présence du moule de PDMS contrairement aux expériences n'utilisant pas le moule. Ces résultats

peuvent être expliqués par le temps de séchage plus long ainsi qu'une concentration en particules supérieure.

Bâtonnets MUDOL/MUDIC (80/20).

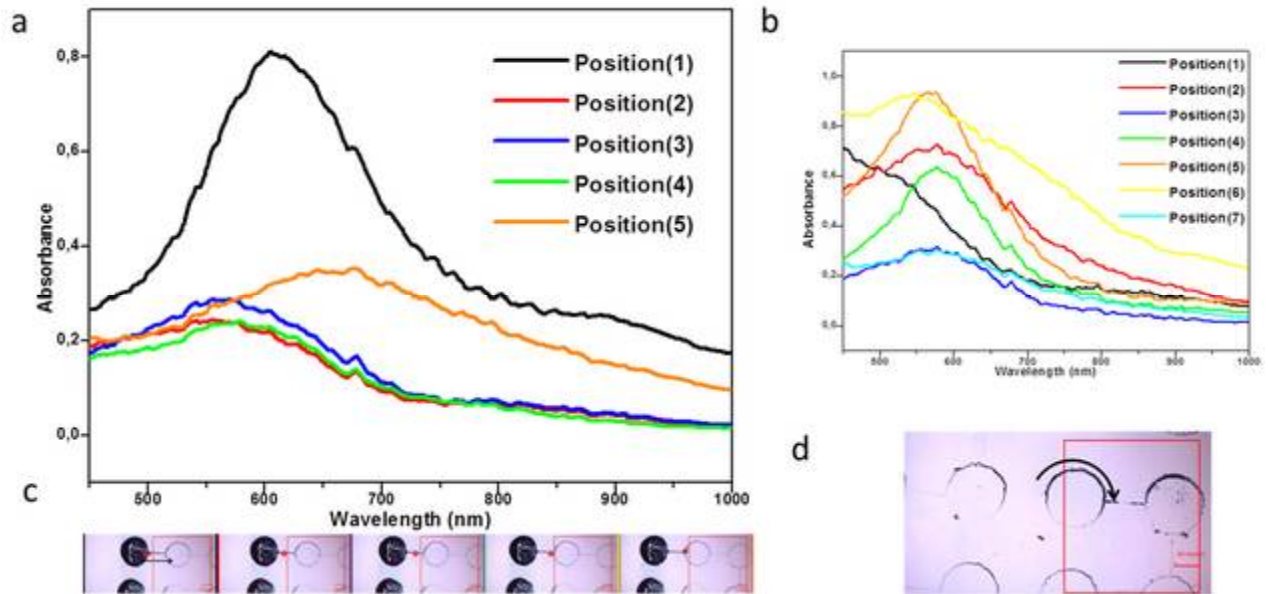


Figure 63 : Spectres d'absorption de bâtonnets d'or MUDOL/MUDIC séchés sur une lame de verre à différentes positions sur le substrat. c-d) Photos de microscopie optique correspondantes aux zones mesurées en a-b respectivement. Echelle 50 μm . Zone mesurée indiquée par des cercles rouges en c et par une flèche en d.

Dans le cas des nanobâtonnets MUDOL/MUDIC (80/20) une seule bande d'absorption est observée avec un décalage maximum à 560 nm vers les plus courtes longueurs d'ondes et ce quelque soit la position dans les murs et les cercles (Figure 63a-c). Ces résultats indiquent une bonne homogénéité des assemblages au sein des murs et des cercles. Les assemblages sont donc plus structurés et homogènes avec des bâtonnets MUDOL/MUDIC (80/20) que CTAB, ce qui confirme les observations effectuées en MEB. Le décalage plus important des propriétés optiques pour les bâtonnets MUDOL/MUDIC vers les plus courtes longueurs d'onde indique des couplages plasmoniques plus forts et suggère un ordre plus cristallin que dans le cas des bâtonnets CTAB.

3.2.4) Conclusion

Les propriétés optiques collectives de bâtonnets d'or séchés sur un substrat ont été analysées. La confrontation des mesures d'absorbance *in situ* et des observations faites en MEB démontre que la présence d'une seule bande d'absorption est corrélée directement à une structuration de type smectique, en accord avec la littérature.^{114b} Les organisations dans des assemblages constitués de bâtonnets d'or fonctionnalisés par du CTAB ou un mélange MUDOL/MUDIC (80/20) ont ainsi été comparées.

-Assemblage hiérarchique des nanocristaux-

Dans le cas des assemblages par séchage d'une goutte (sans le moule), un anneau concentrique est obtenu.¹⁴⁹ L'organisation des bâtonnets MUDOL/MUDIC est meilleure en fonction de la concentration en particules sur l'anneau alors que les bâtonnets CTAB ne sont pas organisés. De plus, le temps de séchage plus important obtenu avec le moule en PDMS permet d'obtenir des assemblages bien mieux structurés.⁴⁵ Il est donc important d'avoir un séchage long et une concentration en particules élevée pour avoir une bonne organisation.

Dans les cas étudiés, avec une chimie de surface différente, les bâtonnets CTAB montrent une organisation très hétérogène sans le moule. Elle s'améliore avec la concentration en particules dans les murs. Les bâtonnets MUDOL/MUDIC montrent une organisation homogène en accord avec les mesures précédentes (SAXS, microscopie électronique). De plus, le maximum de la bande plasmon est très décalé vers les plus courtes longueurs d'ondes. Ceci suggère un meilleur ordre des bâtonnets MUDOL/MUDIC que CTAB (en accord avec les résultats de la partie précédente).

En perspective, les mesures optiques et les analyses de microscopie électronique seront effectuées en parallèle sur des substrats marqués pour corréler directement les propriétés optiques des assemblages avec leurs structures. Un modèle théorique est en cours de développement au CRPP. En effet, les propriétés optiques sont supposées dépendre du nombre de couches de bâtonnets constituant l'assemblage. Nous avons ici identifié une tendance : un décalage plus important vers les plus courtes longueurs d'onde est observé pour des assemblages plus structurés. Ces résultats préliminaires sont très encourageants.

3.3) Séchage de bâtonnets semi-conducteurs CdSe@CdS (QR) grâce à la surface décorée en PDMS.

Les bâtonnets semi-conducteur CdSe@CdS (noté QR : Quantum Rods) ont des propriétés optiques remarquables qui dépendent de la taille et de la forme des nanocristaux.^{40a, 92, 94, 151} Les QR concurrencent avantageusement leurs homologues sphériques dans le domaine de la conversion d'énergie.^{6a} En effet, la séparation de charge photo-induite est meilleure pour les bâtonnets ce qui les rend plus intéressants pour fabriquer des cellules solaires (voir introduction).^{6a, 152} Néanmoins, la fabrication de matériaux composés de briques élémentaires dépend de l'assemblage de ses nano-constituants. En particulier, dans le but de fabriquer des matériaux nanostructurés *via* une approche « bottom-up », il est nécessaire de régler les interactions entre ses constituants. Cela implique un contrôle fin de la chimie de surface dans le but d'avoir un équilibre entre les forces attractives (Van der Waals...) et répulsives (électrostatiques, stérique...) comme nous l'avons vu pour les nanoparticules d'or. Dans l'optique de préparer un supercristal (ou matériau nanostructuré), la forme et la taille macroscopique du matériau final doivent être maîtrisées. Jusqu'à présent, les méthodes pour obtenir des supercristaux composés de QR reposent principalement sur l'évaporation contrôlée (Pression, température) des QR en phase organique.^{10, 45, 153} Il est aussi possible de les assembler à l'interface de solvants⁹² (eau/toluène) ou par déplétion^{91, 101}. Cependant, ces méthodes ne permettent pas d'avoir un assemblage macroscopique de morphologie contrôlée, ils restent de forme et de taille mal définies. De plus, ces méthodes utilisent des bâtonnets dispersés en solvant organique toxiques comme le toluène, le chloroforme ou bien la trioctylphosphine. Dans ce travail, nous nous sommes attachés à travailler dans l'eau. Ce solvant « propre » permet en effet de travailler avec des matériaux biologiques comme des protéines (hydrogénase par exemple), de l'ADN et permet surtout de moduler les paramètres de réseaux du supercristal par des interactions électrostatiques. En effet, dans un solvant apolaire, il est difficile de moduler les interdistances entre bâtonnets autrement qu'avec des répulsions stériques, alors que dans l'eau, on peut facilement introduire des répulsions électrostatiques à longue distance.¹⁵⁴

La méthode de séchage utilisant le moule microtexturé en PDMS a été appliquée avec les QR. Les QR initialement dispersés en solvant organique doivent être impérativement fonctionnalisés dans l'eau. En effet, les bâtonnets hydrophobes s'adsorbent sur le PDMS rendant impossible l'utilisation du moule. Les ligands organiques de synthèse ont donc été échangés par un peptide pour stabiliser les QR dans l'eau. La structure particulière du peptide C₃A₁₁E₄CO₂H a été choisie car elle permet la structuration en phase de type smectique B des bâtonnets lors du séchage. De plus, la stabilité colloïdale des bâtonnets est conservée après échange ainsi que leurs propriétés optiques. Cette

étude a principalement été menée par Thomas Bizien au laboratoire, avec qui j'ai travaillé étroitement.

3.3.1) Caractérisation morphologique des QR.

Ces bâtonnets ont été synthétisés en phase organique selon le protocole décrit par Carbone et al.¹⁰ Dans ce travail, le même lot de bâtonnets a été utilisé. La longueur des bâtonnets est de $17,9 \pm 0,7$ nm et la largeur de $6,7 \pm 1,2$ nm. Ces bâtonnets sont très monodisperses. Ces caractéristiques morphologiques ont été déterminées à partir d'images MET grâce à un logiciel de traitement d'image (Image J, voir annexe).

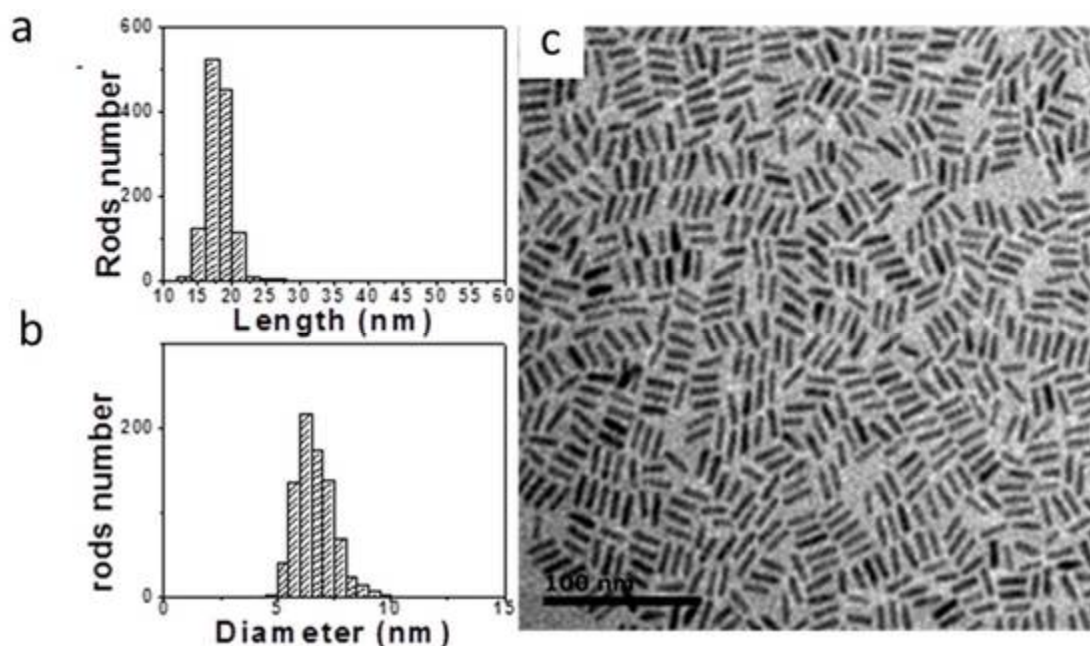


Figure 64 : a-b) histogramme de taille correspondant à la longueur et la largeur des bâtonnets respectivement. c) image de MET des QR.

3.3.2) Auto-assemblage des QR peptides.

Diffusion des rayons X aux petits angles (SAXS).

Les QR sont fonctionnalisés dans l'eau par un peptide comportant une chaîne alkyle : $C_3A_{11}E_4CO_2H$ (voir page 68). Lorsqu'une suspension de ces QR- $C_3A_{11}E_4CO_2H$ est séchée sur une grille de microscopie, on observe des structures organisées. De façon à évaluer l'ordre et la portée de ces assemblages, la structure de QR séchés dans des capillaires a été analysée en SAXS. Ces données ont été acquises sur la ligne SWING au synchrotron SOLEIL après un séchage total. Un ordre lamellaire et hexagonal est clairement identifié, correspondant à une phase smectique B, sur toute la longueur du capillaire (Figure 65a). Les paramètres de la phase smectique sont de $a_{smB}=a=97,6$ Å et de $d_{smB}=(c/3)=212,6$ Å. Il est intéressant de noter que l'ordre est à grande échelle, défini par le paramètre inter-lamellaire « c » correspondant à 3 couches de QR.

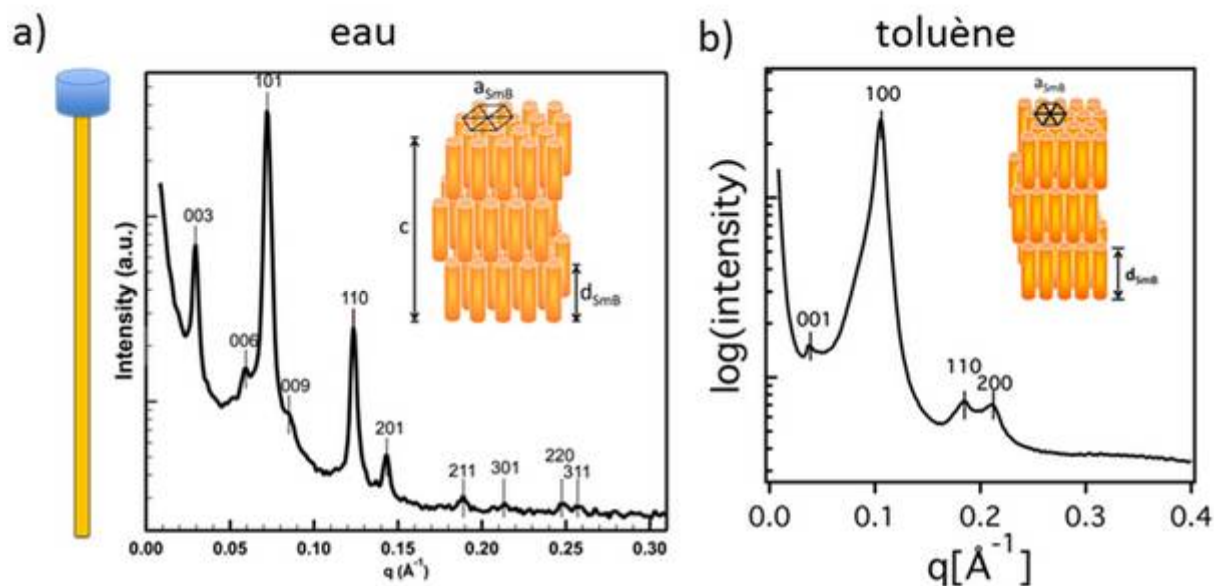


Figure 65 : a-b) Diffusion des rayons X aux petits angles des bâtonnets $C_3A_{11}E_4CO_2H$ fonctionnalisés dans l'eau et fonctionnalisés dans le toluène puis séchés dans un capillaire respectivement. Un ordre lamellaire et hexagonal correspondant à une phase smectique B est clairement identifié. Ces données ont été acquises sur la ligne SWING au synchrotron SOLEIL. L'organisation en smectique des QR est schématisée en haut à droite. A gauche est schématisé le capillaire, cette phase a en effet été observée sur toute la longueur du capillaire.

L'organisation des QR- $C_3A_{11}E_4CO_2H$ a été comparée à celle des QR hydrophobes stabilisés avec des acides phosphoniques à longue chaîne (ODPA, HPA) avant l'échange de ligands. Dans ce cas-là, les QR sont séchés à partir d'une phase organique (Figure 65a). Une phase de type smectique B de paramètres $a=a_{SmB}=68,6 \text{ \AA}$ et $c=d_{SmB}=168,9 \text{ \AA}$ est identifiée. Les paramètres de la phase smectique sont donc plus grands dans le cas des bâtonnets hydrophiles. Cela peut être expliqué par les répulsions électrostatiques intervenant dans les cas des QR hydrophiles qui augmentent les interdistances. En outre, les pics définissant la phase smectique des bâtonnets hydrophobes sont plus élargis et l'ordre inter-lamellaire est de plus mauvaise qualité. L'ordre cristallin des QR séchés est donc meilleur pour les bâtonnets fonctionnalisés avec le peptide $C_3A_{11}E_4CO_2H$ que les bâtonnets hydrophobes. L'utilisation du ligand $C_3A_{11}E_4CO_2H$ augmente donc remarquablement la structuration en phase smectique (Figure 65).

Utilisation du moule de PDMS

Afin d'intégrer ces autoassemblages dans des microsystèmes, les QR fonctionnalisés par le peptide $C_3A_{11}E_4CO_2H$ sont séchés sur un substrat en utilisant le moule de PDMS comme décrit précédemment. Du tween 20 est préalablement ajouté en solution avant le séchage ($0,12\text{mM} > \text{CMC}_{T20}$) comme pour les nanobâtonnets d'or. Les paramètres de réseaux du moule sont les mêmes que précédemment (Figure 51d), ainsi la distance entre les plots est fixée à $75 \mu\text{m}$, le diamètre des plots à $100 \mu\text{m}$ et la hauteur des plots à $35 \mu\text{m}$. Lorsque l'on retire le moule, des assemblages macroscopiques sont obtenus (Figure 66a) du même type que ceux obtenus avec des

-Assemblage hiérarchique des nanocristaux-

bâtonnets d'or (Figure 51c). Les QR fluorescents sont en effet assemblés au sein de murs et de cercles comme observé en microscopie optique (Figure 66a). La microscopie électronique à balayage permet de caractériser les murs à différentes échelles. Ces caractérisations ont été faites à Marcoussis en collaboration avec l'équipe de C. Gosse au LPN par Christophe Dupuis.

Sur les clichés MEB, les bâtonnets assemblés en phases hexagonale sont observés (Figure 66d) à incidence normale. En clivant le substrat, des ordres lamellaires sont mis en évidence (Figure 66e-f). Cependant l'observation en profondeur des structures pour révéler la phase smectique B des QR est plus difficile qu'avec les bâtonnets d'or. Les QR sont en effet moins denses en électrons ce qui rend l'observation plus compliquée.

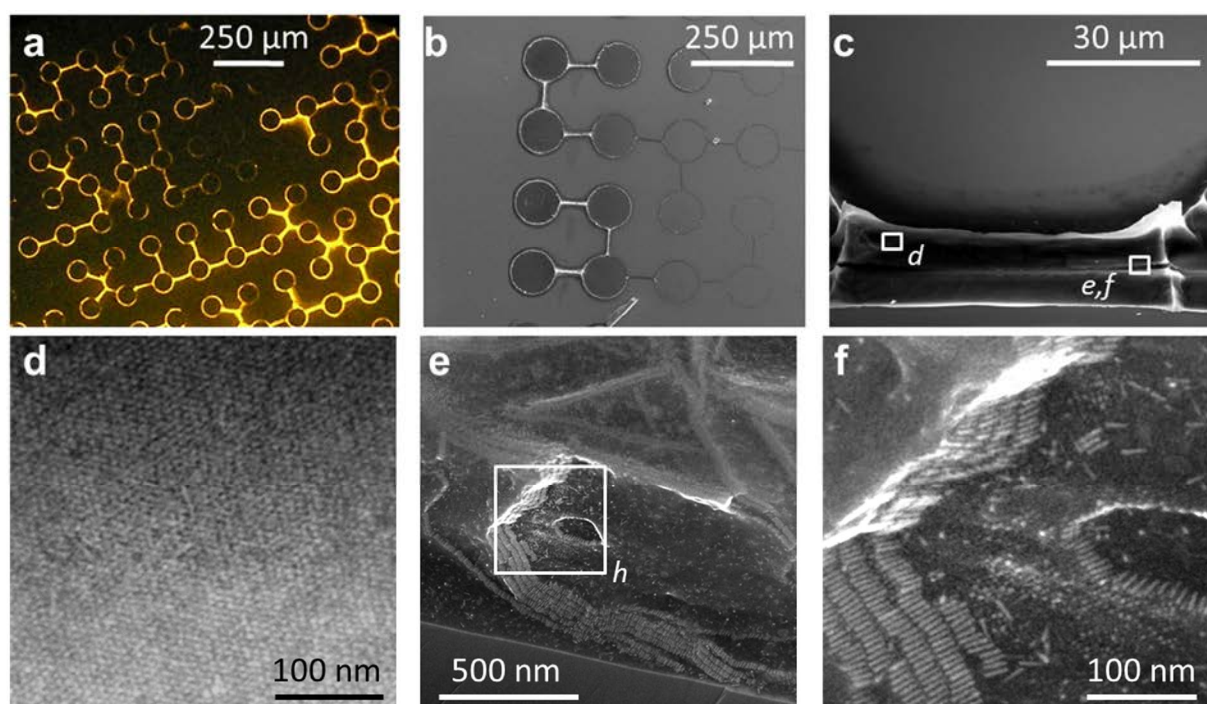


Figure 66 : a) Image de microscopie à fluorescence des réseaux de particules obtenus par la méthode du moule microtexturé en PDMS. d-e) Images de microscopie électronique à balayage à différentes échelles. Les lettres sur c) indiquent les positions sur le mur où les photos suivantes ont été prises : d) Ordre hexagonal des QR observé à incidence normale de la surface. g-h) Organisation smectique des QR révélée par clivage d'un mur.

Ainsi une nouvelle technique a été envisagée, le matériau a été découpé « en feuillets » de murs et ensuite observés en STEM-HAADF (Scanning Transmission Electronic Microscopy-High-Angle Annular Dark Disk). Les feuillets ont été découpés par FIB (Focused Ions Beam), récupérés à l'aide d'un micromanipulateur puis lavés à basse tension. Ces manipulations délicates ont été faites par David Troadec (CNRS UMR 8520, IEMN, Villeneuve d'Ascq). Les feuillets sont ensuite visualisés en STEM-HAADF. Cette technique se distingue du TEM classique car le faisceau d'électrons est balayé. Cette technique est également sensible au numéro atomique des éléments constituant l'échantillon. Ces observations ont été faites par Ludovic Largeau (CNRS, LPN). La Figure 67a montre la section d'un

mur coupé à incidence normale par FIB. Les éléments plus lourds apparaissent plus « clairs » sur l'image. Les QR peuvent donc être plus facilement différenciés de la matière organique. Ainsi les ordres inter et intra lamellaires sont caractérisés (Figure 67b-c). De plus, le paramètre de la phase hexagonale peut être extrait de ces images en donnant $a_{\text{SmB}} = 96,7 \text{ \AA}$ en accord avec les mesures SAXS (où $a_{\text{SmB}} = 97,6 \text{ \AA}$).

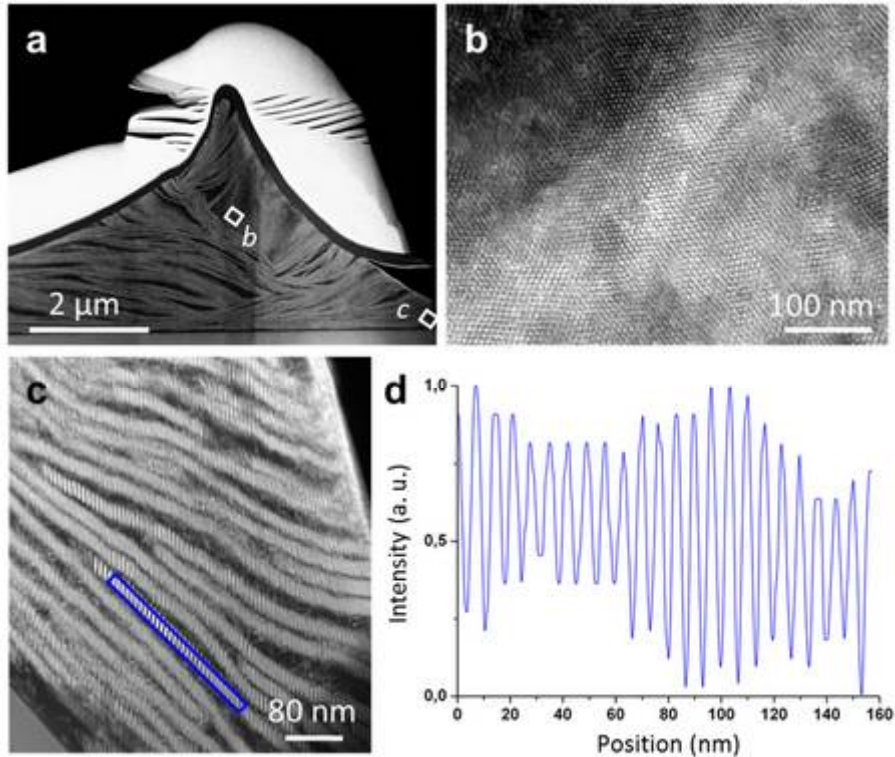


Figure 67 : a) Photo STEM-HAADF d'une section de mur coupée par FIB à incidence normale. Les lettres sur a) indique la position des photos suivantes ; b) agrandissement mettant en évidence l'ordre hexagonal des QR ; c) Agrandissement mettant en évidence l'ordre lamellaire des QR. d) Profil d'intensité opéré sur l'encadrement bleu de c).

3.3.3) Conclusion

Les QR CdSe@CdS sont fonctionnalisés dans l'eau par un peptide comportant une chaîne alkyle. Cette optimisation de la chimie de surface des QR permet, par séchage contrôlé, d'obtenir une phase smectique B sur de grandes distances avec une morphologie définie. En effet, l'ordre lamellaire est défini par une cellule contenant trois couches de QR définies par le paramètre c où l'ordre de la phase smectique est élevé comme l'atteste la corrélation entre les trois couches successives (Figure 65). Cet assemblage est homogène sur toute la longueur du capillaire. Les bâtonnets séchés à partir de la phase organique (non-fonctionnalisés) sont également assemblés en phase de type smectique B mais avec un ordre beaucoup moins cristallin que les QR fonctionnalisés par le peptide long. Les paramètres de la phase smectique sont plus grands pour les QR séchés à partir d'un solvant polaire.

Le moule de PDMS a été utilisé pour assembler ces QR-peptides macroscopiquement sur un substrat. Les paramètres de réseau du moule en PDMS sont les mêmes que ceux utilisés avec les bâtonnets

-Assemblage hiérarchique des nanocristaux-

d'or. Les QR sont donc assemblés selon des murs et des cercles micrométriques. Les clichés de microscopie électronique confirment la nano-structuration des QR au sein des murs dans des phases de type smectique B. Les interdistances mesurées sont en accord avec les mesures SAXS. Ces résultats montrent que l'on peut appliquer cette méthode de séchage aux QR fonctionnalisés dans l'eau et que le séchage dirigé selon des ménisques ne perturbe pas l'ordre smectique des QR.

Les phases smectiques identifiées en SAXS avec les QR sont en général mieux organisées (pic plus fins, plus d'harmoniques) que celle obtenues avec les bâtonnets d'or. Cela provient probablement de la monodispersité des QR plus grande que les bâtonnets d'or. En effet les dimensions des bâtonnets d'or et des QR sont mesurées avec une incertitude de 23% et de 4% (% par rapport à la taille moyenne) respectivement. La monodispersité des échantillons est donc importante pour envisager des assemblages smectiques.^{32a, 41a, 44-45, 63a, 155}

3.4) Conclusion générale

L'assemblage de bâtonnets d'or et CdSe@CdS fonctionnalisés dans l'eau a été conduit par séchage. La surface des deux types de bâtonnets a été modifiée judicieusement par des ligands alcanethiols et peptides permettant leurs assemblages dans des phases de type smectique. La présence d'une chaîne alkyle pour ces deux ligands permettrait l'interdigitation des chaînes durant le séchage et favoriserait l'assemblage smectique grâce à des interactions de type Van Der Waals.^{10, 32a, 41b, 114b, 141}

Pour les bâtonnets d'or, les meilleurs assemblages sont obtenus avec le MUDOL, un ligand de charge neutre; alors que pour les QR, le peptide $C_3A_{11}E_4CO_2H$ qui permet la structuration durant le séchage est de charge négative. Des essais ont été conduits pour fonctionnaliser les bâtonnets d'or avec $C_3A_{11}E_4CO_2H$ (et avec MUDIC), cependant aucune structuration n'a été obtenue après séchage. De la même manière, les QR fonctionnalisés avec $C_3A_{11}E_4$ ne s'organisent pas alors que les bâtonnets d'or ainsi fonctionnalisés oui. L'interaction entre particules durant le séchage est en effet multifactorielle et va dépendre notamment d'interactions dipolaires^{115, 156} propres à la nature de la particule. Il est donc nécessaire d'adapter la fonctionnalisation des colloïdes en fonction de leur nature. Les paramètres généraux identifiés par l'expérience pour avoir un assemblage structuré sont : un séchage lent, la monodispersité des colloïdes, une concentration élevée en particules ainsi qu'une chimie de surface adéquate.

Nous proposons une méthode pour former des cristaux 3D nanostructurés de taille et de forme définies et prédéterminées. Cette méthode consiste à utiliser un moule microtexturé en PDMS qui dirige le séchage selon les ménisques imposés par les paramètres géométrique du réseau du moule. Les particules sont ainsi assemblées selon des murs et des cercles mais il est possible de varier la géométrie de l'assemblage en modifiant les paramètres géométriques de réseau du moule. Ainsi des structures macroscopiques, reliant 4 piliers, en forme de tétrapodes ont été obtenues. Des bâtonnets d'or et des QR ont été séchés par cette méthode et, dans les deux cas, des phases smectiques ont été observées. Ces résultats montrent que la méthode est applicable aux colloïdes (particules, protéines...) en général. Le séchage a été conduit sur différents substrats (Or, wafer de silicium, verre, ITO, FTO) et la même organisation multi-échelle a été caractérisée. Cette méthode requière l'emploi d'un surfactant, le tween 20, qui ne perturbe pas la nanostructuration des bâtonnets. Différents tensio-actifs ont été testés (Tween 20, SDS, CTAB, n-dodecyl-beta-D-Maltoside) et la formation de murs a été observée dans tous les cas. Par ailleurs, cette technique permet de réaliser des séchages lents (>12h) dans les conditions normales de température et de pression. Dans la littérature, des séchages lents sont obtenus avec une atmosphère saturée en solvant.⁴⁵ Dans le cas présent, des QR ont été assemblés en l'absence de solvant organique.

-Assemblage hiérarchique des nanocristaux-

Cependant, le phénomène de retrait des ménisques durant le séchage est complexe. En effet, la connexion entre les murs et les cercles n'est pas toujours reproductible et la taille des supercristaux est donc limitée à quelques millimètres. Un modèle prédictif a été développé à l'Institut de Physique de Rennes (Thèse M. Postic) qui pourrait permettre d'améliorer l'étendue des assemblages sur le substrat ; la portée de l'assemblage ne serait alors que fonction de la taille initiale du moule.

Les propriétés optiques collectives des bâtonnets d'or ont été analysées. La mesure d'une unique bande d'absorption est cohérente avec un assemblage smectique en accord avec les observations effectuées par MET, par SAXS et les données de la littérature.^{32a, 114b} Les bâtonnets d'or fonctionnalisés avec un mélange de MUDOL et de MUDIC (80/20) sont assemblés de manière homogène au sein des murs. Ces assemblages pourraient être utilisés comme capteurs *via* l'effet SERS.^{32a} Les propriétés optiques collectives des QR, assemblés grâce au moule de PDMS, ont été étudiées par Thomas Bizien (non montré ici) et des variations du temps de vie de fluorescence ont notamment été mesurées. La perspective de ce travail concerne des assemblages mixtes QR/bâtonnets d'or pour étudier les couplages phonons-plasmons. Par ailleurs, les assemblages de QR pourront être utilisés comme une électrode nanostructurée pour diriger des réactions d'oxydo-réduction photo-induites. Une thèse a d'ailleurs commencé au laboratoire (Benoît Boichard, financement région) sur ce sujet.

La méthode de séchage proposée ici est donc simple, peu coûteuse et applicable à tous les types de colloïdes dispersés dans l'eau. Mise à part la préparation des colloïdes, l'assemblage de type « bottom-up » est ici obtenu simplement en laissant sécher la suspension de nanoparticules. Cette méthode se différencie donc des autres voies d'assemblages « top-down » qui utilisent des bâtis physiques onéreux.

Chapitre 4 : Réactions d'oxydo-réduction photo-induites (photorédox) utilisant les QR_CdSe@CdS.

« Vers des réactions photocatalytiques »

Lors de l'absorption d'un photon de suffisamment haute énergie (supérieure à l'énergie de la bande interdite), une paire électron-trou est générée dans la particule appelée exciton. Cet exciton va permettre la formation de radicaux libres qui vont soit réagir avec des composés présents dans le milieu ou alors se recombiner suivant divers mécanismes (recombinaisons radiatives, non radiatives...). Dans le but de réaliser des réactions photorédox, il est nécessaire d'éviter la recombinaison des porteurs de charges selon des processus radiatifs, mécanismes notamment à la base des propriétés de fluorescence des QR. La séparation des charges au sein de la nanoparticule est donc un point très important pour envisager ces réactions photorédox. Il a été montré que la forme oblongue des QR permettait une meilleure séparation de charge (selon leur grand axe) que leurs homologues sphériques.^{6, 157} Le couplage des QR avec des métaux tel que le platine ou l'or *via* la formation de jonction de type Schottky permet également d'augmenter la durée de vie de l'exciton.^{28b, c, 158} De plus leur composition cœur-coquille est adapté à ce genre de réactions, les QR CdSe@CdS sont en effet « quasi type II » (lié à l'alignement des bandes) permettant le confinement des trous dans le germe et la délocalisation de l'électron selon le grand axe du QR.^{6a, 39b,}
⁵² Les QR sont utilisés dans ce travail comme collecteur de lumière pour convertir l'énergie lumineuse en énergie électrique dans le but de diriger des réactions d'oxydo-réduction. Nous chercherons, en premier lieu, à discriminer l'activité rédox de QRs de rapport d'aspect variable grâce à l'utilisation d'une sonde rédox hydrosoluble. Dans un deuxième temps, nous nous sommes attachés à étudier un sel de benzènediazonium qui a la possibilité de se greffer sur les QRs, grâce à des réactions d'oxydo-réduction photo-induites. Enfin, des hétérostructures QR/Au ont été synthétisées en photo-réduisant un sel d'or original sur les QRs.

4.1) Optimisation du rapport d'aspect des QR : photoréduction d'une sonde fluorescente Ox/Red hydrosoluble.

4.1.1) Introduction et état de l'art.

Les synthèses organométalliques de QR CdSe@CdS permettent de moduler la longueur de la coquille CdS à partir des germes de départ. Il a été montré théoriquement et par l'expérience que la séparation des charges photogénérées des QR de type II s'établit préférentiellement longitudinalement.³⁸⁻³⁹ Avant d'utiliser les QR CdSe@CdS pour des réactions photorédox efficaces, il est important de sélectionner le lot de bâtonnets d'intérêt parmi tous les lots synthétisés. Les méthodes utilisant un indicateur organique Rédox apparaissent comme les plus simples pour sonder les propriétés photorédox des différents lots de QR. Elles ont déjà été utilisées pour comparer l'activité photorédox de nanoparticules de forme et de composition différentes (Figure 68a).

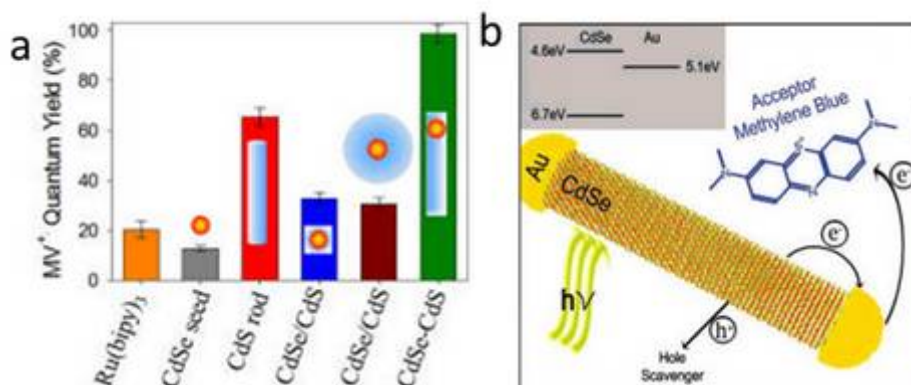


Figure 68 : a) Figure tirée de Zhu et al^{6b} comparant l'activité photorédox de nanoparticules de différente nature et composition. B) Figure tirée de Costi et al¹⁵⁹ montrant un schéma de réduction de bleu de méthylène par une hétéro structure.

Dans ce travail, Zhu et al,^{6b} discriminent l'activité photorédox de bâtonnets et de sphères de compositions variées grâce au méthyl-viologène (MeV). La géométrie cœur@coquille des bâtonnets CdSe@CdS de grands rapports d'aspect apparaît comme la plus efficace pour diriger la photoréduction du MeV. Nous avons déjà mis en évidence que selon la taille (grande ou petite) du cœur CdSe les porteurs de charges sont confinés (type I) ou délocalisés (type II) respectivement. En effet, il a été démontré que la photooxydoréduction catalysée par les QR dépend de la taille du germe.^{6a} Dans ce travail, Amirav et Alivisatos comparent l'activité photocatalytique de plusieurs lots d'hétérostructures (CdSe@CdS/Pt) ayant des cœurs CdSe de différentes tailles. Ils démontrent ainsi une meilleure activité photorédox pour les QR possédant un cœur de petite taille (< 3 nm). Aussi dans cette thèse, pour les réactions photorédox, les QR ayant des cœurs de petite taille (émission dans le vert) plutôt que des cœurs de plus grande taille (émission dans le rouge) ont été privilégiés. Il a par ailleurs été démontré que l'activité photorédox des QR augmente avec le degré de confinement

-Réactions d'oxydo-réduction photo-induites (photorédox) utilisant les QR_CdSe@CdS-

quantique (lié à l'inverse de la taille) de façon à générer des électrons de plus haute énergie.¹⁶⁰ La séparation des charges photogénérées a aussi été maximisée *via* la formation d'hétérojonctions de type Schottky. Des hétérostructures QR/Or ont été synthétisées (Figure 68b) et elles ont réduit plus efficacement le bleu de méthylène que les mêmes QR sans Or.¹⁵⁹

Le bleu de méthylène et le méthylviologène sont des médiateurs Rédox qui peuvent être successivement réduits ou oxydés selon le potentiel. Il est alors difficile de suivre la cinétique de réduction du médiateur si la réaction Rédox est réversible. Dans cette optique, nous avons choisit la résazurine (autrement appelée Alamar Blue¹⁶¹), une sonde Rédox qui se réduit de manière irréversible. Cette sonde a permis d'évaluer les propriétés photorédox de QR en fonction de leur rapport d'aspect. C'est une sonde Rédox couramment utilisée comme indicateur coloré dans des tests d'activité cellulaires ou encore des tests de contamination du lait par des bactéries. La résazurine (bleue et non fluorescente) est réduite de façon irréversible en résorufine (rose et fluorescente) et réduite à nouveau (incolore et non fluorescente) sous une forme hydrolysée (Figure 69). La cinétique de réduction de la résazurine par les QR photo-activés a été suivie par spectroscopie UV-visible.

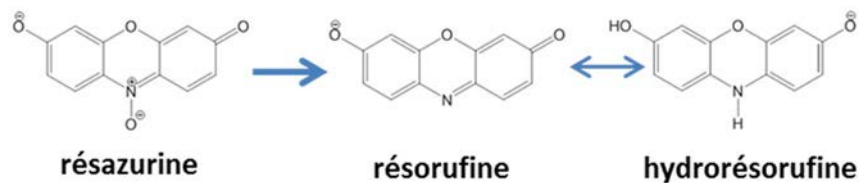


Figure 69 : Forme Rédox de la résazurine (Ox), résorufine (Red) et de l'hydrorésorufine.

4.1.2) Caractérisation et choix des QR utilisés dans cette étude

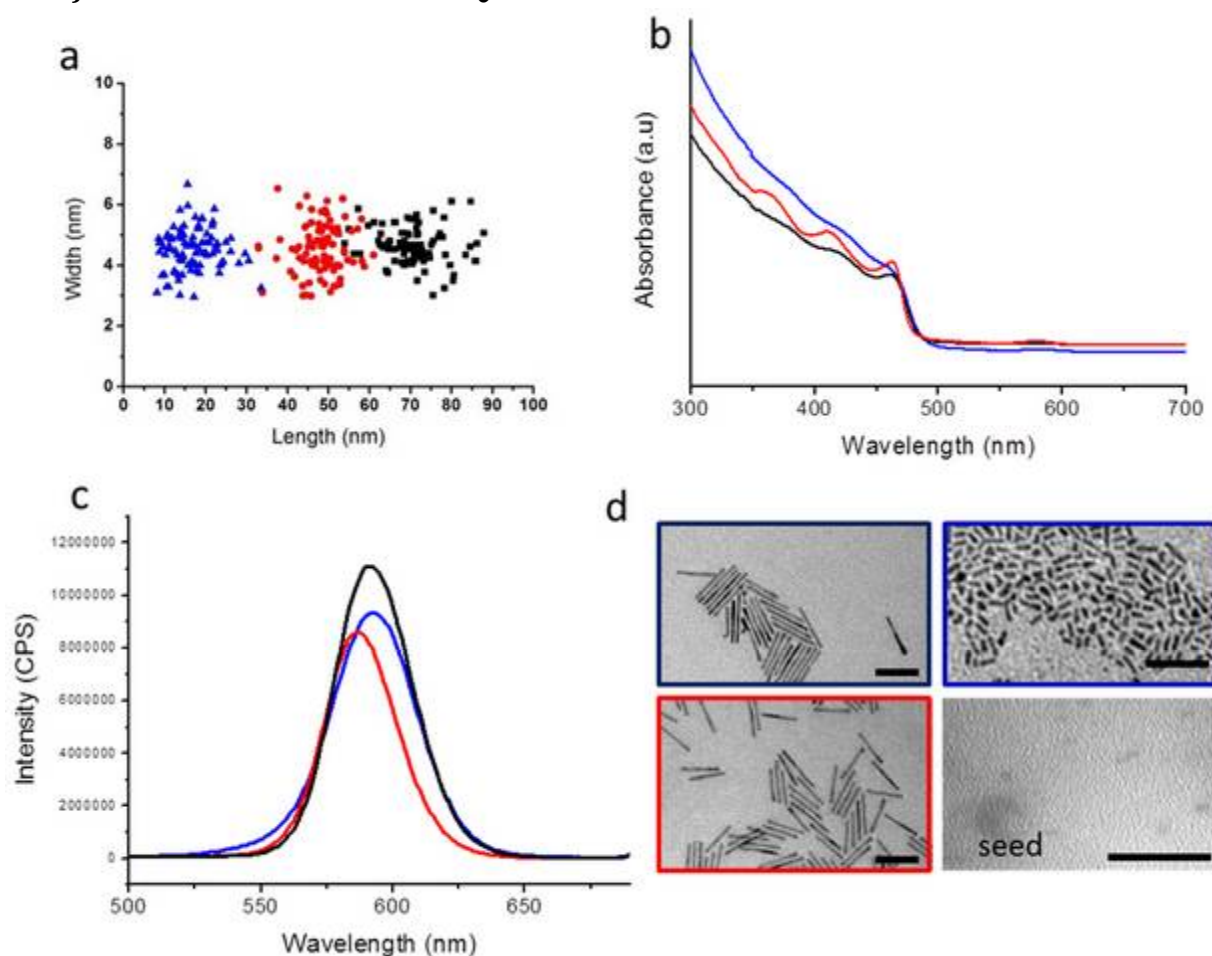


Figure 70 : Caractérisations morphologique et optique de trois lots de QR différents : 15*5 nm (bleu), 50*5 nm (rouge) et 75*5 nm (noir). a) Statistique de taille (diamètre=f(longueur)) réalisée manuellement sur plus de 100 particules par échantillon, b) Spectre d'absorbance, c) Spectre d'intensité de fluorescence, d) images MET, la photo non encadrée correspond aux germes (seed) CdSe de départ ($\phi=2.7$ nm). Echelle 50 nm.

Les trois lots de QR (présentés dans la Figure 70), ont été synthétisés selon la procédure décrite en partie expérimentale page 184. L'analyse morphologique, à partir des clichés MET, révèle que chacun des lots de QR présente un rapport d'aspect différent. Ils sont issus du même germe CdSe de départ ($\phi=2.7$ nm, $\lambda_{\text{émission}}=535$ nm) et leurs propriétés optiques en absorbance et en émission sont similaires (Figure 70b-c). En effet, les propriétés optiques des QR sont dirigées par la taille du germe et par l'épaisseur de la coquille (diamètre), paramètres fixés dans ces expériences. Les trois lots de QR synthétisés à partir de ces germes possèdent le même diamètre de 5 nm et ont une longueur respectivement de : 15, 50 et 75 nm (Figure 70a et d). Le rapport d'aspect des QR est donc le seul paramètre variable dans les expériences de photoréduction de la résazurine en présence de QR.

4.1.3) La résazurine : une sonde rédox originale

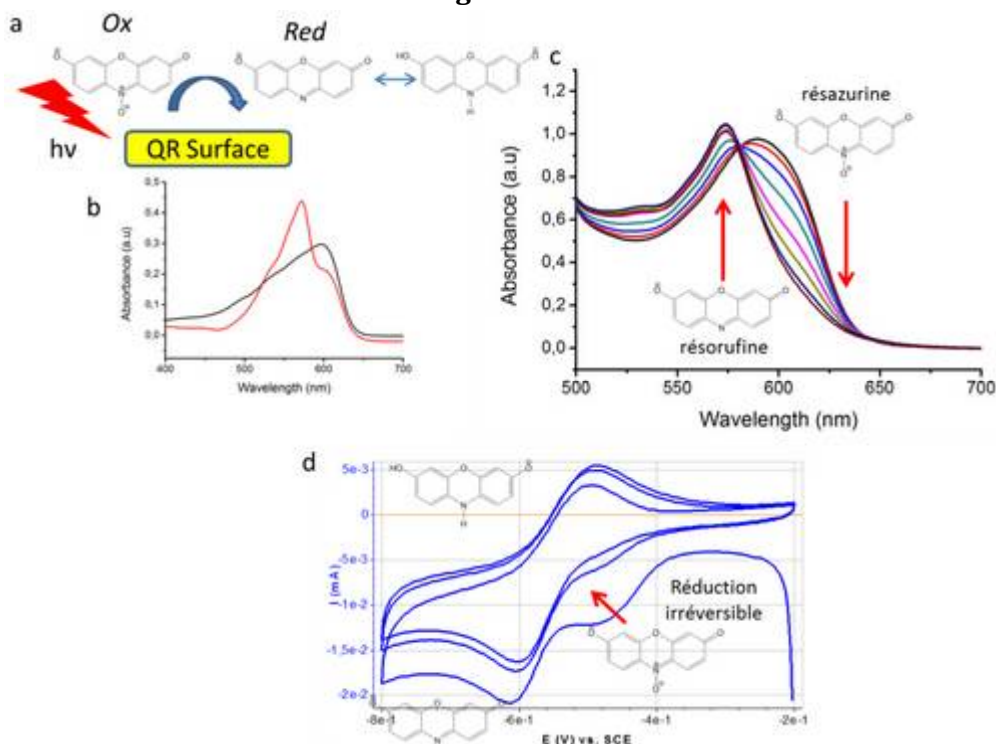


Figure 71 : a) Forme Rédox de la résazurine (Ox), résorufine (Red) et de l'hydrorésorufine. b) Spectres d'absorption de la résazurine seule avant irradiation (noire) et après 10 min d'irradiation (rouge). c) spectres d'absorption d'une suspension de QR (75*5 nm, $2,78 \cdot 10^{-7}$ M) + résazurine (17.24 μ M) en fonction du temps d'irradiation. Après 40 min d'irradiation la totalité de la résazurine est réduite en résorufine. D) Voltampérogramme $i=f(E)$ de la résazurine montrant l'irréversibilité de la réaction de réduction, démontrée par la disparition du pic à -0,48V vs SCE (indiqué par une flèche rouge). Cette expérience a été faite avec Didier Floner (Institut des Sciences Chimiques de Rennes, UMR 6226).

La résazurine (Ox, Figure 71a) est une molécule non fluorescente dont le maximum d'absorption se situe à 600 nm (Figure 71b). Elle se réduit de façon irréversible en résorufine comme démontré sur le voltampérogramme (Figure 71d) où le pic de réduction de la résazurine disparaît après deux cycles. Au cours de la réaction de réduction de la résazurine, on observe la formation parallèle de résorufine ayant un max d'absorption à 571 nm (Figure 71b-c). L'existence d'un point isobestique (Figure 71c) démontre l'existence d'un équilibre entre deux espèces, en l'occurrence la résazurine et la résorufine et donc l'absence de réaction secondaire faisant intervenir une troisième espèce. La résazurine doit être stockée à l'abri de la lumière, c'est en effet une molécule photosensible qui peut se réduire spontanément sous l'irradiation de la lumière du visible (Figure 71b). Il est possible de suivre la cinétique de réduction de la résazurine, en présence de QR, en mesurant l'évolution de l'absorbance à 600 nm ($A_{\text{reza600nm}}=f(t)$).

4.1.4) Criblage des propriétés photorédox de QR de rapports d'aspect différents.

La réaction de réduction de la résazurine catalysée par les trois lots de bâtonnets de différents rapports d'aspect a été suivie à 600 nm (correspondant au maximum d'absorption de la résazurine)

dans l'eau par spectroscopie UV-visible. La concentration molaire des QR est fixée (même absorbance) et ils sont incubés avec la même quantité de résazurine.

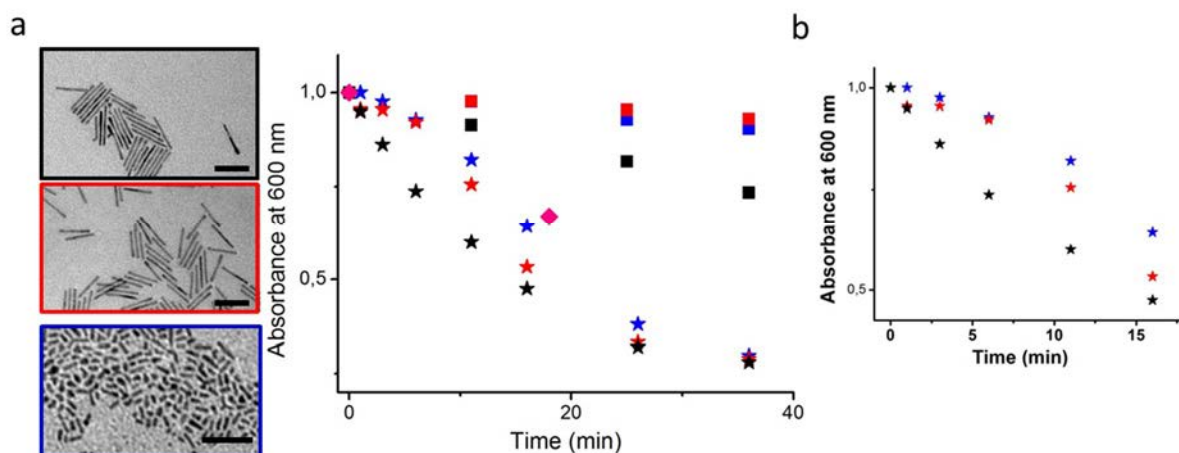


Figure 72 : a) Suivi de l'absorption à 600 nm du système QR+résazurine en fonction du temps d'irradiation (en minute) pour trois lots de bâtonnets : 75*5 (noir), 50*5 (rouge) et 15*5 (bleu) avec irradiation (étoile) et sans irradiation (carré). Les losanges roses correspondent à la réduction de la résazurine seule sous irradiation dans les mêmes conditions démontrant que la réaction est effectivement catalysée par les QR. b) Suivi de l'absorption à 600 nm du système QR+résazurine en fonction du temps d'irradiation (en minute) pour trois lots de bâtonnets : 75*5 (noir), 50*5 (rouge) et 15*5 (bleu) avec irradiation (étoile). a-b) $C^{\circ}_{QR} : 2.78 \cdot 10^{-7} \text{ M}$; $C^{\circ}_{résazurine} : 17.24 \mu\text{M}$, 62 équivalents.

La cinétique de réduction de la résazurine en présence de QR est plus rapide sous irradiation (Figure 71a), démontrant l'activité photorédox des QR. De plus, suivant les différents rapports d'aspect, la réduction photo-induite est catalysée d'autant plus efficacement (Figure 71c). Cette expérience démontre clairement que les QR catalysent la photoréduction de la résazurine et ce d'autant plus que leur rapport d'aspect est grand ($75 \times 5 > 50 \times 5 > 15 \times 5 \text{ nm}$, Figure 72a-b).

Par ailleurs, la chimie de surface des QR a été variée en modifiant la nature du ligand peptidique recouvrant la coquille inorganique des QR. Les QR sont alors fonctionnalisés avec C_3E_6D ou $C_3A_{11}E_4CO_2H$ (Figure 73a-b respectivement). La cinétique de réduction de la résazurine est plus rapide pour les QR fonctionnalisés avec C_3E_6D (Figure 73c). Ces résultats confirment les mesures en électrochimie (page 72) où le photocourant des QR- C_3E_6D était dix fois plus important que dans le cas des QR- $C_3A_{11}E_4CO_2H$. Les meilleures propriétés photorédox sont alors obtenues pour des QR « longs » ($75 \times 5 \text{ nm}$) fonctionnalisés avec le ligand peptidique « court » C_3E_6D . Ce résultat est relié à l'accessibilité des électrons photogénérés à la résazurine et au taux de couverture de la surface par les ligands.

-Réactions d'oxydo-réduction photo-induites (photorédox) utilisant les QR_CdSe@CdS-

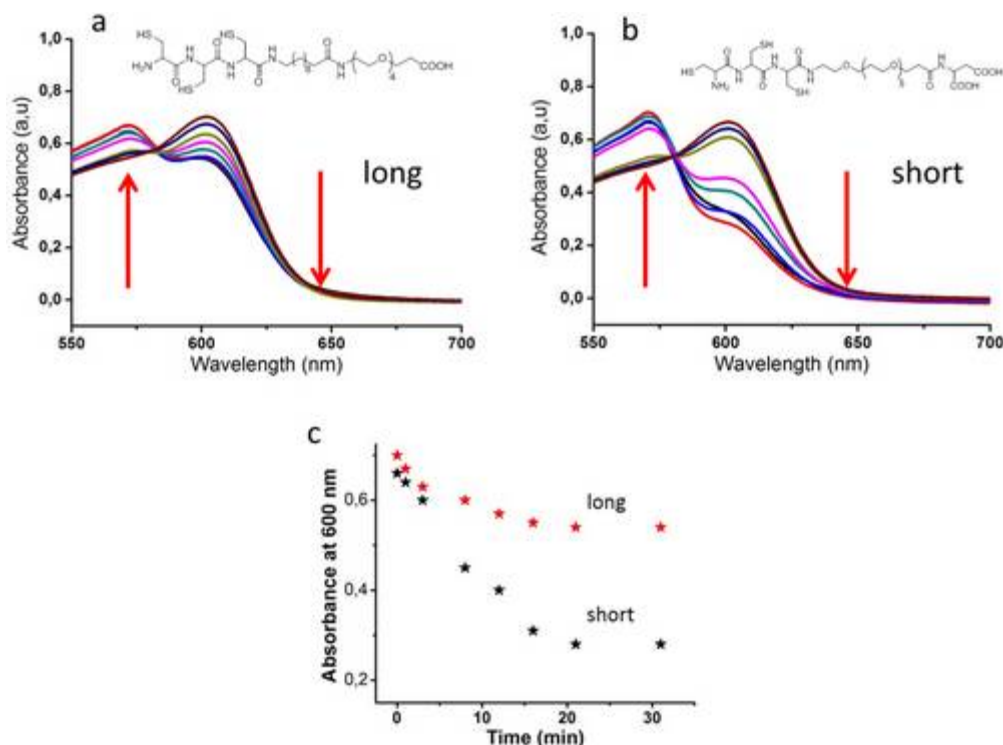


Figure 73 : a) Spectres d'absorptions du système QR ($C_3A_{11}E_4CO_2H$)+résazurine à différents temps d'irradiation. b) Spectres d'absorption du système QR (C_3E_6D)+résazurine à différent temps d'irradiation. c) suivi de l'absorbance à 600 nm correspondant aux 2 spectres d'absorption a et b désigné par « long » et « short » respectivement. Les QR de dimensions 75*5 nm ont été utilisés pour cette expérience.

4.1.5) Conclusion

Les propriétés photorédox de QR de différents rapports d'aspect ont été comparées dans l'eau grâce à l'utilisation de la résazurine. Ainsi, les QR de plus grand rapport d'aspect sont plus efficaces pour réduire la résazurine. De plus, les QR fonctionnalisés avec le ligand peptidique court (C_3E_6D) sont de meilleurs catalyseurs que les QR modifiés avec le peptide long présentant une chaîne alkyle ($C_3A_{11}E_4CO_2H$). La couche organique fonctionnalisant les QR influence leurs propriétés photorédox, ce qui confirme les expériences d'électrochimie où un photocourant dix fois plus important a été mesuré pour les QR- C_3E_6D , en comparaison avec les QR- $C_3A_{11}E_4CO_2H$.

La méthodologie adoptée ici pour évaluer les propriétés photorédox des QR dans l'eau est originale. Elle permet de comparer les propriétés photorédox des QR avec un gain de temps important. En effet, il est possible de comparer dans le même temps plusieurs échantillons contrairement aux expériences d'électrochimie qui nécessitent des temps d'équilibration long et où un seul échantillon peut être analysé à la fois. Cette méthode permet donc de présélectionner en amont un échantillon de QR. Les QR de « grand » rapport d'aspect (75*5 nm) fonctionnalisés avec le ligand peptidique C_3E_6D ont donc été choisis pour les réactions d'oxydo-réduction photo-induites par la suite.

Précédemment, la réduction d'une molécule organique a été effectuée. Nous avons déjà mis en évidence que les charges photo-induites, *i.e.* les électrons photogénérés, peuvent permettre de

-Chapitre 4-

réaliser la réduction d'une molécule hydrosoluble. Il s'agit maintenant d'exploiter ces réactions d'oxydoréduction pour réaliser le photogreffage d'un ligand organique à la surface des QR. Ainsi, des molécules organiques ayant la possibilité de se greffer sur la surface des QR après réduction de leur fonction d'ancrage ont été utilisées. Le greffage photo-induit de molécules organiques comme les sels de benzènediazonium a donc été exploré dans ce travail. D'autres expériences concernant la réduction de ponts disulfures ont été tentées. De plus, les sels de benzènediazonium ont été choisis pour pouvoir post-fonctionnaliser les QR *via* des couplages de type amide. Cette post-fonctionnalisation pourrait permettre de greffer des catalyseurs d'intérêts sur les QR. Dans un deuxième temps, nous chercherons à savoir si ce greffage s'effectue de façon homogène ou s'il est préférentiellement localisé là où la densité d'électrons photogénérés est la plus grande. S'il est envisageable de greffer localement des ligands alors il est possible de synthétiser des particules de type « Janus » par irradiation (Figure 74). Les particules Janus sont des particules présentant un caractère dissymétriques (appelées ainsi en référence au Dieu Romain) et qui ont de nouvelles propriétés colloïdales.^{89b, 162}

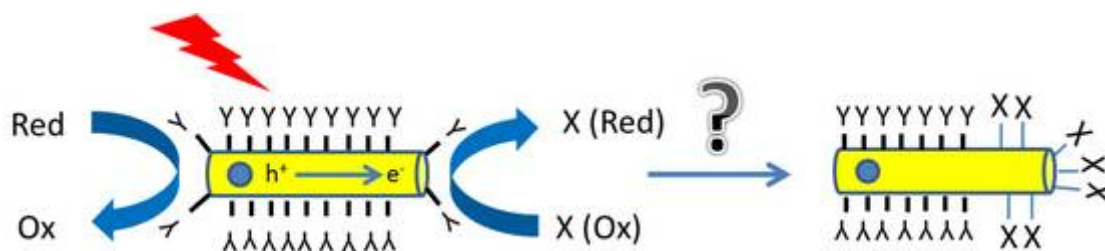


Figure 74 : Schéma explicatif de la problématique : peut-on imaginer photo-greffer une molécule (X) par une réaction d'oxydo-réduction localisée là où la densité d'électrons est la plus grande et ainsi dissymétriser la fonctionnalisation de la particule ?

4.2) Réduction de sels de benzènediazonium: Intérêt pour la post-fonctionnalisation.

4.2.1) état de l'art et objectifs

Les sels de benzènediazonium appartiennent à une famille de composés très réactifs et importants en chimie organique car la réduction du groupement diazonium permet d'activer le cycle aromatique. Il est ensuite facile d'introduire d'autres substituents sur le cycle aromatique pour effectuer le greffage de petites molécules (amine par exemple) et de réaliser un couplage covalent (donc robuste) à une surface par exemple. L'intérêt de ces molécules organiques a été démontré en 1992 par Jean Pinson et ses collaborateurs pour passiver la surface d'électrodes de carbone.¹⁶³ La synthèse de ces molécules est rapide et les surfaces peuvent être modifiées avec un très large choix de groupements fonctionnels.¹⁶⁴ La fonctionnalisation de surface par ces molécules permet de changer les propriétés de mouillage¹⁶⁵ (caractère hydrophobe/hydrophile), de réaliser des jonctions silicium-molécules pour l'électronique moléculaire¹⁶⁶ ou bien encore de greffer de façon covalente des macromolécules (protéines...) sur des surfaces.¹⁶⁷ L'avantage de cette chimie de surface est que la réduction du groupement diazonium induit la formation d'un radical aryl très réactif et le greffage des cycles sur les surfaces est robuste (*via* la formation de liaisons covalentes).¹⁶³ Le greffage covalent de ces molécules est éventuellement suivi d'une réaction de polymérisation^{167b, 168} où des liaisons de type diazobenzène peuvent être formées (Figure 75a).^{17,18} Ces molécules peuvent se greffer sur des surfaces de différentes natures (métallique, semi-conductrice, isolante)^{164a} à la différence des thiols et permettent de meilleurs contacts électroniques (Figure 75a). Les surfaces de nanoparticules d'or,¹⁶⁹ magnétiques¹⁷⁰ ou bien encore de nanotubes de carbones⁶⁵ ont été fonctionnalisées avec ces sels de benzènediazonium. En revanche, peu de travaux ont explorés la fonctionnalisation de quantum dots.¹⁷¹

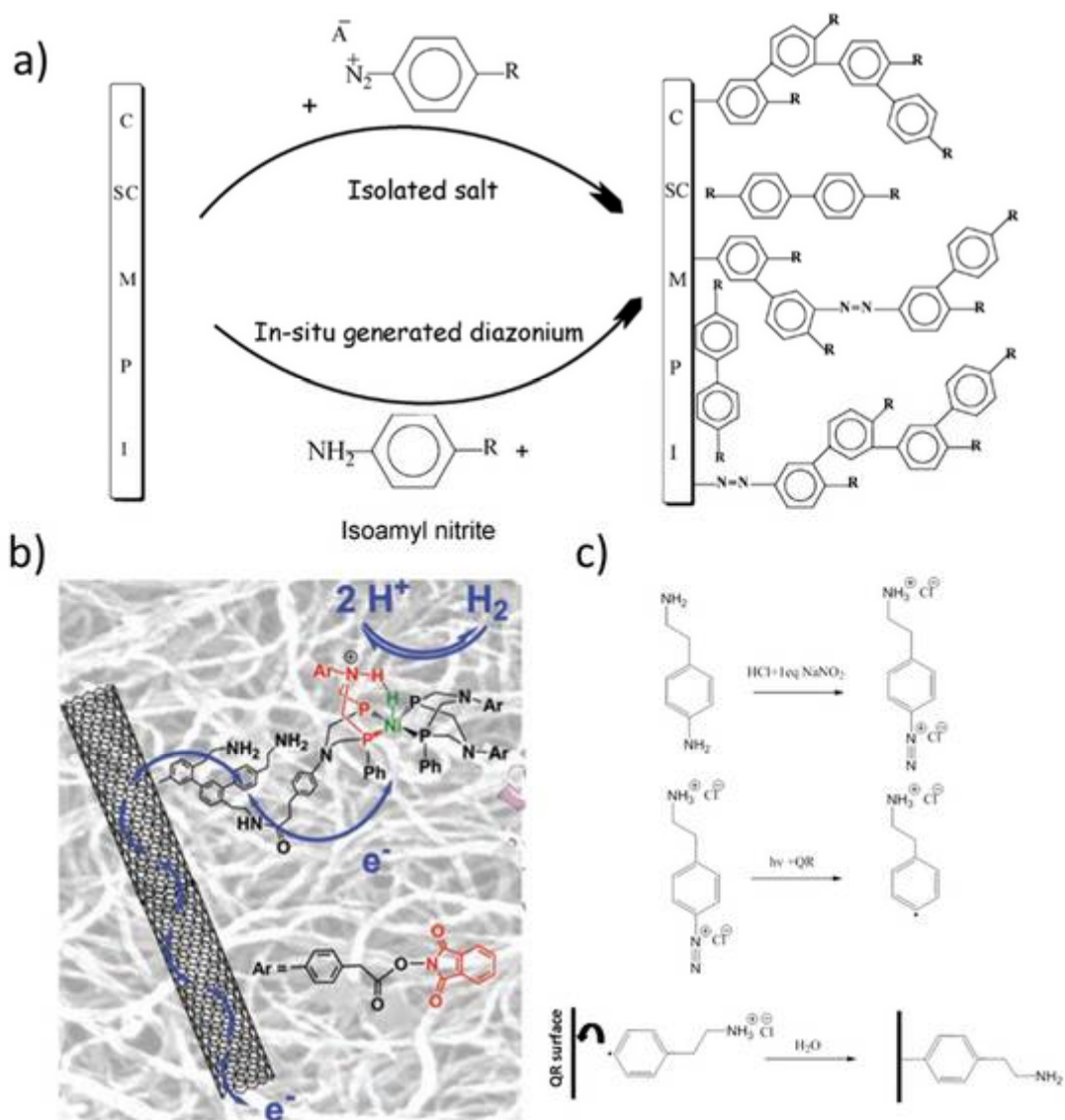


Figure 75 : a) Mécanismes de modification de surfaces, de différentes natures, par des sels de benzènediazonium réduit par voie (électro)chimique. C=Carbone, SC=semi-conducteur, M=métal, P=Polymère, I=Isolant. Source^{164a} b) Stratégie employée pour greffer un catalyseur synthétique sur des nanotube de carbone pour la production d'hydrogène assistée par un courant. Le sel 4-(2-Aminoethyl) benzènediazonium (AD) est réduit dans l'acétonitrile pour relier les deux constituants. Source⁶⁵ c) Préparation du sel 4-(2-Aminoethyl) benzènediazonium dans l'eau à pH acide en présence de nitrite de sodium et stratégie employée dans cette thèse pour réduire le groupement diazonium par les QRs photoactivés.

Dans la littérature, les surfaces d'électrodes, de nanoparticules ou de membranes ont été modifiées par la réduction du groupement diazonium dirigée *via* l'application d'un potentiel (voie électrochimique), par micro-onde, ou bien encore par voie chimique.^{164a, 167b, 168} Ici, dans ce travail, nous avons choisi de réduire le sel 4-(2-Aminoethyl) benzènediazonium soluble dans l'eau et sur lequel il est envisageable d'effectuer une post-fonctionnalisation. L'objectif est de réduire les groupements diazonium par les QR photo-activés pour former des radicaux aryls (ou des cations¹⁷²), très réactifs qui se greffent ensuite à la surface des QR par un couplage covalent. L'intérêt de cette fonctionnalisation chimique porte sur la post-fonctionnalisation des sels, par formation d'amide à

-Réactions d'oxydo-réduction photo-induites (photorédox) utilisant les QR_CdSe@CdS-

partir des groupements éthylamine avec des esters activés à la surface des nanocristaux. Ce sel a précédemment été utilisé par les groupes de M. Fontecave et de S. Palacin pour fonctionnaliser des nanotubes de carbone (NTC), permettant de post-greffer, *via* un couplage peptidique, les NTC avec un catalyseur synthétique pour la production d'hydrogène (Figure 75b).^{65, 173} Grâce à cette approche, il est donc envisageable de fonctionnaliser les QR CdSe@CdS avec un catalyseur semblable par la suite. De plus, si la réaction de polymérisation des benzènediazonium est localisée aux pointes des QR, alors il sera possible de synthétiser des particules « Janus » par la lumière.

4.2.2) Préparation et stabilité du sel de benzènediazonium.

Le sel 4-(2-Aminoethyl) benzènediazonium (AD) est synthétisé dans l'eau à pH acide (HCl 0,25M) à partir de l'aniline correspondante et de nitrite de sodium (1 équivalent, Figure 75c) selon un protocole décrit suite à des discussions fructueuses avec Pascal Viel (Labo S. Palacin, IRAMIS CEA Saclay).¹⁷⁴ La formation du groupement diazonium est vérifiée en spectroscopie infrarouge grâce au signal caractéristique des vibrations d'élongation des groupements diazonium à 2270 cm^{-1} (Figure 76a). Il est important de définir des conditions dans lesquelles le sel est stable pour pouvoir l'utiliser. En effet, le groupement diazonium est peu stable et a tendance à se réduire spontanément en présence de donneurs d'électrons sacrificiels comme la triéthanolamine, l'acide ascorbique ou bien encore la limaille de fer.¹⁷⁴⁻¹⁷⁵ Le sel est stable plusieurs heures dans l'eau pure (18,2 M Ω) et est caractérisé par un maximum d'absorption à 271 nm (Figure 76b). De plus, nous avons vérifié sa stabilité sous irradiation ($\lambda_{\text{lampe}}=405\text{ nm}$).

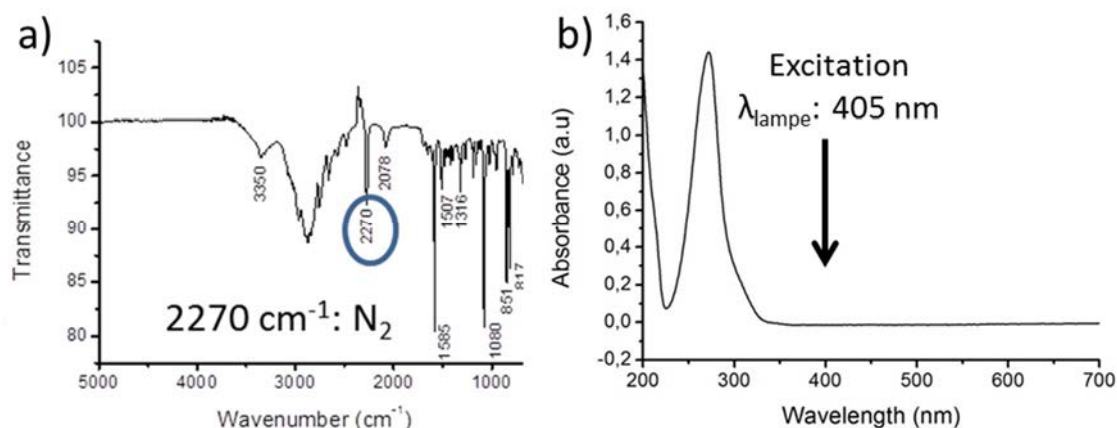


Figure 76 : a) spectre infrarouge du sel synthétisé, le pic à 2270 cm^{-1} démontre la formation du groupement diazonium. b) spectre UV-visible du sel 4-(2-Aminoethyl) benzènediazonium (50 μM) dans l'eau. Il est caractérisé par un maximum d'absorption à 271 nm.

4.2.3) Caractérisation du greffage photo-induit.

Le sel d'AD est incubé en excès (typiquement 1 mM) avec les QR- $\text{C}_3\text{E}_6\text{D}$ ($75 \times 5\text{ nm}$, $2 \cdot 10^{-8}\text{ M}$) dans l'eau (1 mM KCl ou tampon Britton & Robinson¹³⁸ I=20 mM, pH=6) et irradié (temps d'irradiation modulable). Le pH est maintenu autour de 7 pour les expériences dans l'eau grâce à de la soude. En

effet, l'ajout des sels d'AD dans l'eau (initialement dans HCl 0,25M), diminue fortement le pH des solutions et peut déstabiliser les QR (se reporter aux expériences définissant le domaine de stabilité des QR-C₃E₆D, page 70). Le greffage du sel d'AD sur les QR a été caractérisé par spectroscopie infrarouge et optique, par diffusion dynamique de la lumière et par gel d'électrophorèse.

Caractérisation chimique des QR AD

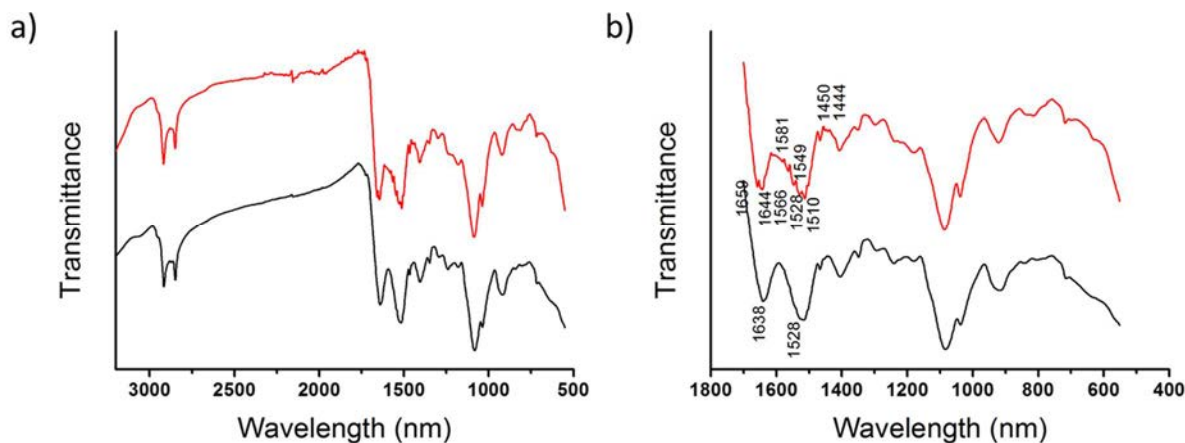


Figure 77 : a-b) Spectres infrarouges (FTIR-ATR) des QR-C₃E₆D (noir) et des QR-AD (rouge). Les ligands en excès ont été éliminés par de nombreux cycles de centrifugation.

La spectroscopie infrarouge a été utilisée pour caractériser chimiquement la surface des QR après la réaction de photogreffage. Les QR sont préalablement lavés des espèces libres en solution afin de pouvoir analyser uniquement la surface des nanocristaux. Les spectres infrarouges correspondant au QR-C₃E₆D (noir, Figure 77a-b) et au QR-AD (rouge, Figure 77a-b) sont similaires. Les QR-AD sont donc fonctionnalisés majoritairement avec le peptide C₃E₆D. Par ailleurs, dans la région 1800-500 cm⁻¹, des pics supplémentaires pour les QR-AD (rouge, Figure 77b) sont détectés en comparaison avec les QR C₃E₆D (noir, Figure 77b) et ne sont pas attribués à du bruit car le nombre de spectres acquis est important sur un détecteur très sensible (ATR-MCT refroidi à l'azote liquide). Ces pics supplémentaires peuvent donc être attribués à la signature infrarouge du sel de benzènediazonium (Figure 76b) à la surface des QR où le pic à 1581 cm⁻¹ est attribué à la signature des cycles aromatiques. Cependant, les faibles signaux enregistrés, malgré la quantité élevée de QR (3-4 mg), suggèrent une faible couverture de la surface des QR par les sels de benzènediazonium. La surface des QR-AD a également été analysée par spectrométrie photoélectrique X (résultats non montrés), mais la composition chimique (azote, carbone...) du peptide et du sel de benzènediazonium étant proches, les signaux mesurés ne sont pas suffisamment distincts pour conclure sur le greffage de ces molécules cycliques à la surface des nanoparticules. Des expériences de marquage en utilisant des ligands dont le cycle aromatique est substitué par des éléments lourds (brome, cobalt, iode) sont en cours pour démontrer sans ambiguïté le photo-greffage de ces molécules. Par ailleurs, d'autres

-Réactions d'oxydo-réduction photo-induites (photorédox) utilisant les QR_CdSe@CdS-

techniques de caractérisation ont été employées pour analyser la surface des nanocristaux après la réaction de photogreffage : spectroscopie optique (UV, fluorescence), électrophorèse, diffusion dynamique de la lumière.

Propriétés optiques des QR-AD.

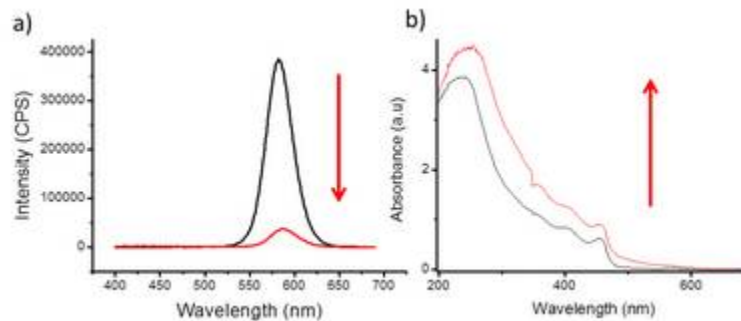


Figure 78 : a-b) Propriétés optiques des QR-C₃E₆D (noir) et QR-AD (rouge). Préparation QR-AD : 1 mM AD, 1h irradiation. a) Spectroscopie de fluorescence b) Spectroscopie UV-Visible.

Le greffage des AD peut induire la formation de niveaux d'énergies supplémentaires liés au ligand à la surface du QR susceptible de capter les électrons photogénérés.¹³⁷ En effet, une extinction de la fluorescence des QR-AD d'un facteur dix est mesurée après la réaction (Figure 78a). Le greffage des benzènediazonium induirait donc des niveaux de pièges supplémentaires à la surface du QR, capturant les électrons photo-générés. De plus, l'absorbance des QR-AD est différente de celle des QR-C₃E₆D. Les changements des propriétés optiques des QR indiquent indirectement une modification chimique de leur surface.

Caractérisation de la taille et de la charge des QR-AD.

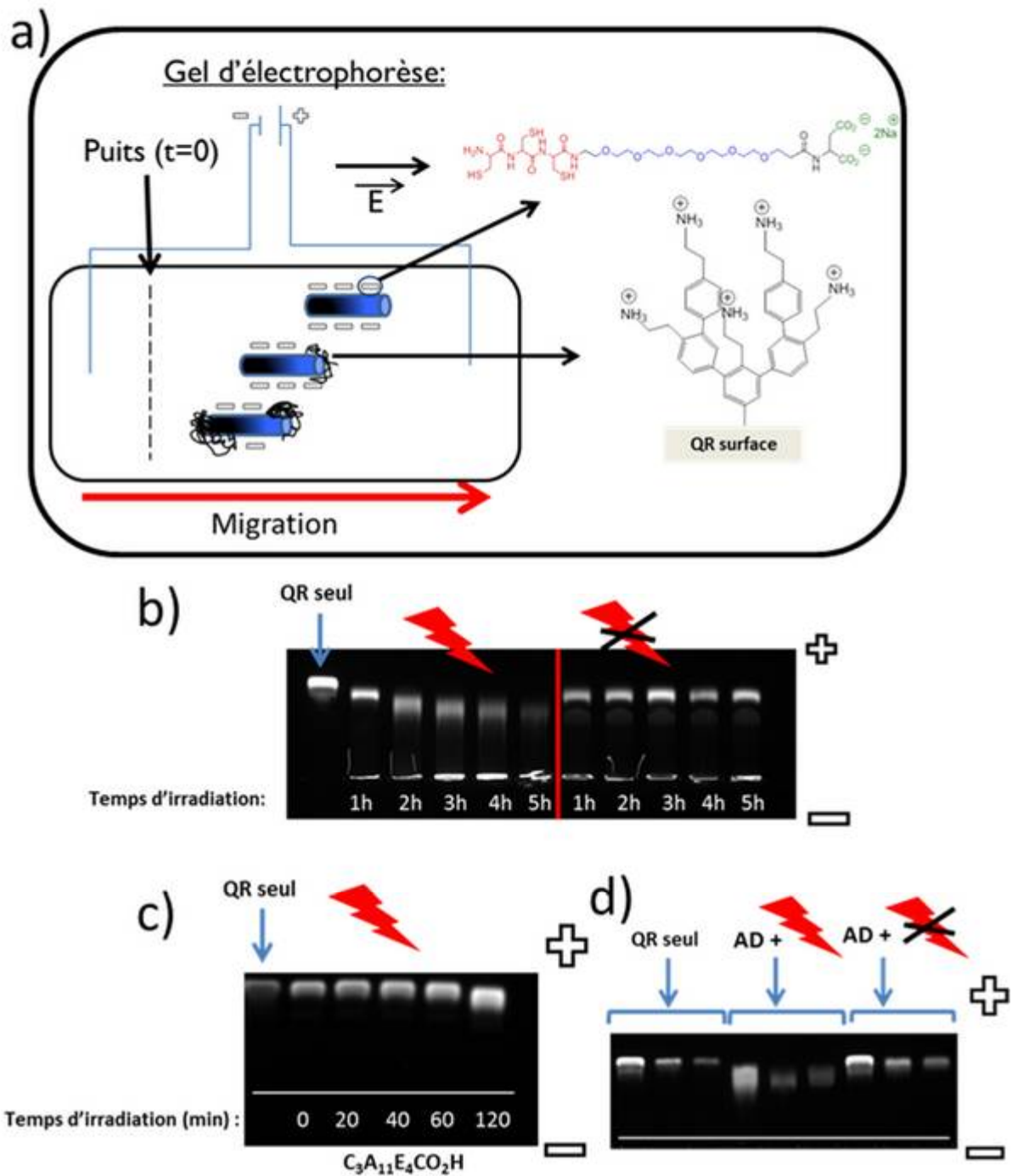





Figure 79 : a) Schéma représentant un gel d'électrophorèse où un champ électrique « E » impose la migration des QR dans un gel d'agarose selon leurs tailles et leurs charges. Les QR sont initialement chargés négativement et migrent donc vers l'anode (borne +). Durant le greffage des benzènediazonium, la charge des QR diminue (neutralisation de la charge) et leur diamètre hydrodynamique augmente ralentissant la migration. b) Gel d'électrophorèse de QR-C₃E₆D-benzènediazonium (QR-AD, 1mM) avec () et sans irradiation (). c) Gel d'électrophorèse de QR-C₃A₁₁E₄CO₂H-benzènediazonium avec () irradiation. d) Gel d'électrophorèse de trois lots de QR-C₃E₆D de rapport d'aspect différents : de gauche à droite (75*5 nm, 50*5 nm, 15*5 nm). Conditions de migration pour les gels a,b,c : 0,5% agarose, tampon Britton & Robinson¹³⁸ (I = 20mM, pH = 6), E=3.3 V/cm durant 45 min.

-Réactions d'oxydo-réduction photo-induites (photorédox) utilisant les QR_CdSe@CdS-

Dans le but de confirmer indirectement le greffage des sels de benzènediazonium à la surface des QR, les propriétés colloïdales des QR-AD et des QR-C₃E₆D ont été comparées en électrophorèse. En effet, le greffage des sels de benzènediazonium à la surface des nanocristaux devrait changer leur charge ainsi que leur diamètre hydrodynamique. Par la technique d'électrophorèse, les particules migrent dans le maillage du gel selon leur charge et leur taille (lié à la mobilité électrophorétique, voir annexe page **Error! Bookmark not defined.**). Dans le cas présent, les QR-C₃E₆D qui sont initialement fortement chargés négativement à pH 6 ($pK_{a_{CO_2H}}=4-5$), migrent donc vers l'anode (borne +) dans le gel (Figure 79a). Le photo-greffage de sel de benzènediazonium diminue (en valeur absolue) la charge surfacique des QR ($pK_{a_{amine}}=9$) et augmente éventuellement leur diamètre hydrodynamique moyen si les molécules aromatiques polymérisent (Figure 79a). On observe expérimentalement que les QR-AD migrent moins que les QR-C₃E₆D (Figure 79a). Cette technique démontre donc une modification de la surface des nanocristaux compatible avec le photogreffage des sels de benzènediazonium.

Plusieurs échantillons de QR-AD ont été chargés dans le gel d'agarose Figure 79b avec des concentrations en benzènediazonium et en QR fixées et des temps d'irradiation variables. La migration des QR incubés en présence de benzènediazonium est ralentie (Figure 79b). Par ailleurs, plus le temps d'irradiation augmente, moins la migration des QR-AD est importante (Figure 79b). La réaction est donc catalysée par l'irradiation. Le photo-greffage des sels d'AD sur les QR ralentit donc effectivement la migration des QR dans le gel. Cependant la charge des QR n'est pas inversée car aucune migration vers la cathode (borne -) n'est observée, les sels de benzènediazonium ne recouvrent donc pas totalement la surface des QR. Ces observations sont en accord avec les mesures effectuées par spectroscopie infrarouge où les faibles signaux mesurés sont attribués à un faible taux de greffage des sels de benzènediazonium à la surface des QR.

Dans le but d'élucider la nature de l'interaction entre le sel d'AD (chargé positivement) et les QR (chargé négativement), la même expérience a été conduite avec des QR-C₃A₁₁E₄CO₂H, qui ont des propriétés photorédox moindres que les QR-C₃E₆D à cause de la passivation de la surface avec ce ligand à chaîne alkyle. En effet, les charges du peptide auraient pu être écrantées par les sels de benzènediazonium ce qui expliquerait les différences de migration observées. Cependant, les faibles différences de migration entre les QR-C₃A₁₁E₄CO₂H incubés ou non en présence de sels d'AD (Figure 79c) sont cohérentes avec un greffage très faible. En effet, nous avons déjà mis en évidence que la surface des QR-C₃A₁₁E₄CO₂H était peu accessible, le photo-greffage est donc moins important ici. Les différences de migration observées en électrophorèse avec les QR-AD résultent donc de l'interaction entre la surface des QR et le sel de benzènediazonium. De plus, le photo-greffage du sel d'AD a été comparé pour les QR de rapports d'aspect différents (Figure 79d). Trois lots de QR sont comparés ici

(75*5nm, 50*5 nm et 15*5 nm, Figure 70). Les trois lots de QR-C₃E₆D ont initialement le même front de migration, cependant, en présence de sels de benzènediazonium la migration des QR photo-activés est fortement ralentie (70*5>50*5>15*5, Figure 79d). Sans irradiation la migration des QR-AD est légèrement modifiée (Figure 79d). Le photogreffage est donc plus efficace pour les QR de plus grands rapports d'aspect. Ces observations sont cohérentes avec les résultats précédents où la réduction de la résazurine était plus efficace pour les QR de grands rapports d'aspect et indiquent une modification de la surface des nanocristaux par les sels de benzènediazonium.

Le greffage photo-induit des sels d'AD sur les QR a été suivi en diffusion dynamique de la lumière (résultats non montrés ici). Une augmentation d'environ 10 nm du diamètre hydrodynamique des QR-AD est observée après irradiation et le potentiel zêta des QR diminue également (en valeur absolue) d'environ 10 mV ($\zeta = -30$ mV au final). Cependant, ces mesures en diffusion dynamique de la lumière doivent être interprétées avec précaution car le logiciel d'analyse ne prend en compte que des NP sphérique. Ces mesures montrent que la taille moyenne des QR augmente et que leur charge diminue également et sont donc en accord avec les observations obtenues en électrophorèse.

Stabilité colloïdale en présence de sel.

Les QR-AD ont été observés en microscopie électronique. La présence des molécules aromatiques ne peut pas être mise en évidence par cette technique car la couche formée par l'éventuel polymère est trop peu dense en électron et que le taux de greffage est faible. Cependant, l'arrangement des QR-C₃E₆D et QR-AD sur la grille peut être comparé. Les QR-C₃E₆D sèchent en s'orientant selon un ordre préférentiellement smectique où les QR voisins s'organisent latéralement (Figure 80b) avec une interdistance moyenne fixe de 3 nm. L'organisation des QR-AD en séchant est différente sur la grille (Figure 80c), des structures linéaires de type « bout à bout » sont observées où les QR voisins interagissent par leurs pointes. L'organisation différente sur la grille des QR-C₃E₆D et des QR-AD séchés suggère que l'état de surface des bâtonnets a bien été modifié. En effet, la différence de chimie de surface des QR-AD pourrait expliquer la perte des propriétés cristal-liquides.

-Réactions d'oxydo-réduction photo-induites (photorédox) utilisant les QR_CdSe@CdS-

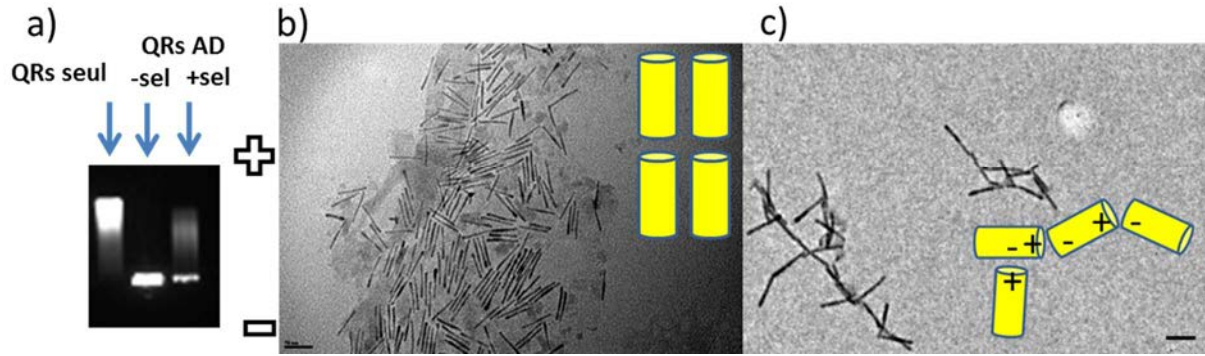


Figure 80 : a) Gel d'électrophorèse de QR C_3E_6D (75*5 nm) incubés avec des sels de benzènediazonium (AD) en présence ou non de sels (KCl 10 mM) et irradiés durant 1 h. De gauche à droite : QR seuls, QR AD, QRAD+KCl. b-c) Images MET de QR C_3E_6D b) sans AD, c) avec AD. Echelle 50 nm.

Par ailleurs, il est important de souligner que les QR-AD sont préparés en présence de sels (1-20 mM). Les QR-AD préparés en absence de sel sont agrégés dans le puits alors que les QR-AD préparés avec du sel migrent dans le gel d'électrophorèse indiquant une meilleure stabilité colloïdale (Figure 80a). L'ajout de sel en solution permet de diminuer la portée des interactions électrostatiques induites par l'ajout de sel de benzènediazonium et préserverait ainsi la stabilité colloïdale des QR-AD. La différence de stabilité colloïdale observée et les assemblages observés en microscopie électronique, suggèrent aussi que la surface des nanocristaux a bien été modifiée et les résultats sont compatibles avec un greffage partiel de la surface.

4.2.4) Post-Fonctionnalisation des QR-AD

A défaut de caractérisation chimique directe du greffage d'AD sur les QRs, nous avons cherché à fonctionnaliser les fonctions amine disponibles des QR-AD. Cette approche permet également de démontrer la possibilité de greffer des molécules d'intérêts sur les QR. Nous avons vu que la fonctionnalisation photo-induite des QR- C_3E_6D par les sels d'AD permet d'introduire des groupements éthylamines à la surface des QR (Figure 81a). Comme preuve de principe, la post-fonctionnalisation des QR-AD a été envisagée en faisant réagir ces groupements éthylamine (Figure 81a) avec un ligand bifonctionnel pourvu d'un ester activé et d'une biotine (Figure 81b). Le groupement ester N-hydroxysuccinimide activé est en effet connu pour réagir avec les amines en formant une liaison amide. Le greffage de ce ligand permet d'introduire des fonctions biotine. Le gel d'électrophorèse (Figure 81b) montre une différence de migration des QR-AD et des QR-AD-biotine qui peut être attribuée à une augmentation du diamètre hydrodynamique des QR-AD-biotine. Afin de révéler la présence des groupements biotine ainsi greffés, les QR-AD-biotine sont incubés en présence de streptavidine. Les QR-AD-biotine sont donc incubés en présence de billes d'agarose recouvertes de streptavidine (Figure 81c), le mélange est ensuite lavé intensivement afin d'éliminer les QR non-biotinylés. Seules les billes incubées en présence de QR-AD-biotine sont fluorescentes indiquant que les QR sont bien fonctionnalisés avec le ligand biotine (Figure 81c). Ces observations

-Chapitre 4-

sont confirmées en microscopie optique où toutes les billes incubées avec les QR-AD-biotine sont fluorescentes ; inversement les billes incubées en présence de QR-C₃E₆D (+le ligand biotine) et les QR-AD (-le ligand biotine) ne montrent qu'une fluorescence résiduelle. Le greffage des QR sur les billes est donc spécifique des QR-AD-biotine et démontre ainsi la post-fonctionnalisation des groupements éthylamine des QR-AD avec la biotine. Il s'agit donc d'une preuve « indirecte » du greffage des sels d'AD à la surface des QR.

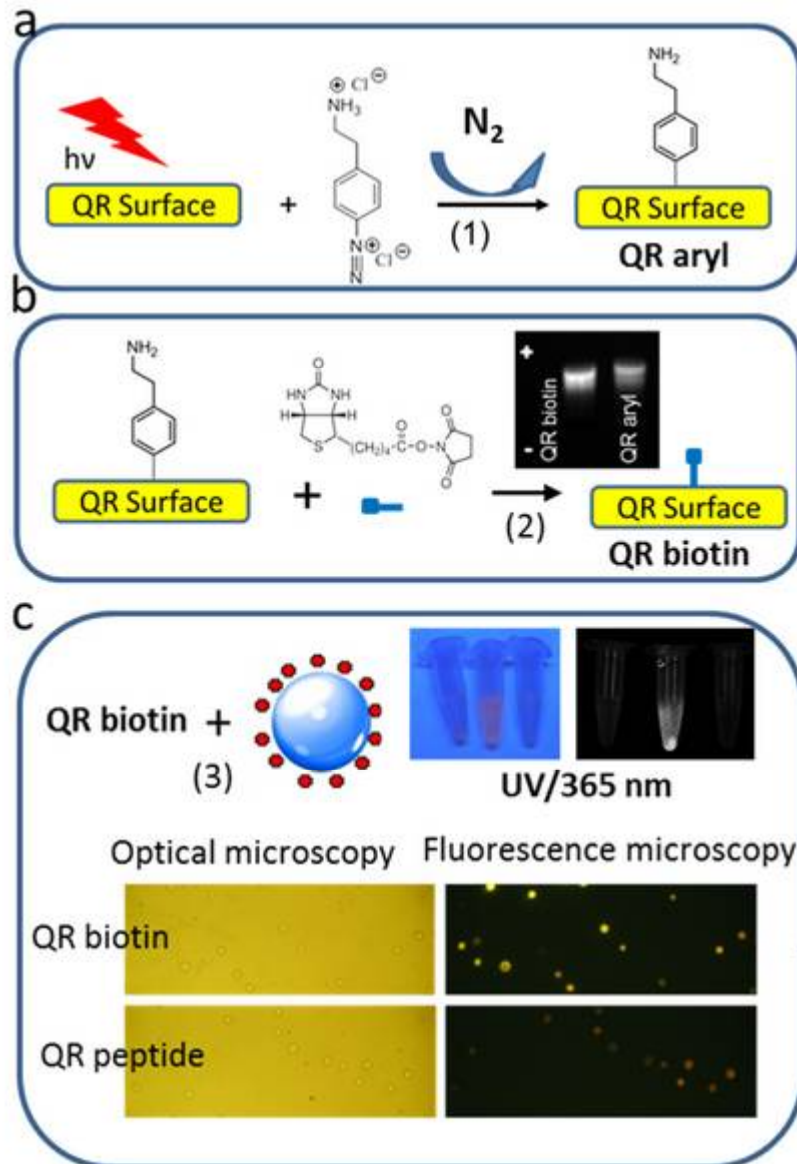


Figure 81 : a) Schéma de la réduction photo-induite du sel (4-(2-Aminoethyl) benzènediazonium) sur les QR. b) post fonctionnalisation des QR avec un ligand terminé par une biotine *via* un couplage de type amine. Electrophorèse sur gel d'agarose (0,5 %) montrant la différence de migration entre les QR-AD et les QR-AD-biotine. La migration a lieu dans un tampon Britton & Robinson pH = 6 durant 45 min (3,3 V/cm). c) Incubation des QR-AD-biotine avec des billes d'agarose streptavidinées. Seules les billes incubées avec les QR-biotine sont fluorescentes. Photos sous irradiations UV (365 nm), de gauche à droite : QR AD, QR-AD-biotine, QR-C₃E₆D-biotine.

4.2.5) Conclusion

Dans ce travail, le sel de 4-(2-Aminoethyl) benzènediazonium (AD) a été synthétisé pour être ensuite réduit et greffé à la surface des QR photo-activés. La caractérisation chimique de la réaction de photo-greffage n'est pas aisée car le taux de couverture des AD à la surface des QR est faible. Elles ne permettent pas de connaître la nature chimique de l'interaction entre les AD et la surface des QR. Cependant, les conclusions tirées des différentes techniques d'analyses de surface, de microscopie électronique et de spectroscopies optiques convergent et tendent à montrer que la surface des QR a bien été modifiée. En particulier, la migration des QR-AD sur gel d'électrophorèse apparaît comme un bon outil de caractérisation car cette technique permet de suivre l'évolution de la réaction de photogreffage en fonction du temps d'irradiation. Elle démontre que la réaction de réduction et de greffage des radicaux aryl est catalysée par la lumière. Cependant, la charge des QR n'est pas inversée, ce qui suggère un faible taux de greffage des molécules de benzènediazonium. Ainsi les analyses chimiques (spectrométrie Infrarouge et spectrométrie photoélectronique X) présentent des signaux mesurés faibles suggérant aussi un faible taux de greffage des sels de benzènediazonium à la surface des QR. La polymérisation des sels de benzènediazonium à la surface des QR apparaît donc très limitée. La modification photo-induite de la surface des nanocristaux change leurs propriétés optiques (UV, fluorescence) ainsi que leur charge (électrophorèse, zétamétrie). De plus, le greffage de ces molécules introduit des groupes éthylamines à la surface des QR qu'il est possible de faire réagir *à posteriori* avec des esters activés. Ainsi des ligands biotine ont pu être greffés de façon covalente pour fonctionnaliser les QR-AD. La post fonctionnalisation est démontrée par le greffage sélectif des QR-AD-biotine sur des billes d'agarose streptavidinées. Cette expérience montre la possibilité de greffer d'autres molécules d'intérêts (catalyseurs, protéines, ADN...) sur les QR-AD. Les analyses chimiques de surfaces devront être confirmées pour conclure sans ambiguïté sur la nature du greffage de ces molécules à la surface des nanocristaux (monocouche ou seulement quelques points d'ancrage); le marquage des sels de benzènediazonium avec des atomes lourds devrait permettre de caractériser le greffage en spectrométrie photoélectrique X, même s'il est restreint à une monocouche.

Le faible taux de greffage des sels de benzènediazonium à la surface des QR ainsi que les observations en microscopie électroniques où les QR voisins interagissent par leurs extrémités sont compatibles avec une réaction d'oxydo-réduction localisée sur le QR. Néanmoins, ces observations « indirectes » ne suffisent pas à caractériser la localisation du greffage des sels de benzènediazonium à la surface des QR. En effet, les techniques utilisées dans ce travail (électrophorèse, FTIR, XPS, spectroscopies optiques) sont des mesures moyennes qui caractérisent la surface des QR de manière globale. Dans le but de montrer que la fonctionnalisation des QR est dissymétrique, il est nécessaire

-Chapitre 4-

de pouvoir révéler les ligands à la surface des QR. Les techniques de microscopies électroniques permettraient d'accéder à cette information. Cependant, les molécules organiques, peu denses en électrons, sont difficiles à observer par ces techniques. Malgré des essais de marquages avec des atomes lourds (Brome, Cobalt), nous n'avons pas réussi à caractériser l'éventuelle localisation du greffage par une méthode de microscopie optique haute résolution (EDX et STEM-HAADF). Ces tentatives infructueuses nous ont amenés à nous intéresser à la photoréduction de métaux plus faciles à détecter par ces techniques. Par ailleurs, il a été décrit dans la littérature que des sels d'or ou de platine peuvent être réduits en milieu organique sur des QR. Nous avons voulu explorer cette possibilité sur les QR fonctionnalisés dans l'eau par les ligands peptidiques. Dans cette optique, un sel d'or a été réduit sur les QR, la densité de l'or étant suffisante pour avoir un bon contraste en microscopie électronique. De plus, *via* la formation de jonction de type Schottky (métal/semi-conducteur), la séparation des charges photogénérées devraient être plus efficace.

4.3) Synthèse d'hétérostructures semiconductrices/métalliques de type « Janus ».

Dans cette partie du travail, nous avons cherché à exploiter la photoréduction de sels d'or démontré en milieu organique pour préparer des hétérostructures QR/Au avec une localisation définie du nucleus d'or et si possible une fonctionnalisation chimique spécifique à l'or grâce à l'utilisation d'un sel d'Au/ADN. Ces travaux ont été effectués en collaboration avec Carole Aimé (LCMCP, Collège de France/UPMC, Paris). La synthèse des hétérostructures ainsi que le suivi de leurs propriétés optiques ont été réalisés au laboratoire. Les caractérisations en microscopie électronique (MET&Cryo-MET) ont été réalisées au LCMCP. Les expériences en STEM-HAADF ont été faites à Marcoussis (LPN, CNRS) par Ludovic Largeau.

4.3.1) Introduction et état de l'art

Dans le but de convertir l'énergie lumineuse en énergie électrique, il est important que le « rendement de conversion » soit maximal. Nous avons déjà mis en évidence que la synthèse d'hétérojonction de type Schottky sur les QR permettait de capturer les électrons photogénérés dans le domaine métallique (page 16) et les trous dans le cœur. La recombinaison des porteurs de charges devrait donc être minimisée.

La formation d'hétérojonction de type Schottky a été réalisée dans la littérature entre des QR CdSe@CdS et des métaux (Co¹⁷⁶, Pt^{6a}, Au^{28c}). Le groupe de Uri Banin a synthétisé, pour la première fois, des hétérostructures QR/Au en 2004 en réduisant un sel d'or par voie thermique (T≈300°C).^{28b} Depuis, le groupe de Carsten Sönnischen a montré qu'il était possible de photo-réduire un sel métallique à la surface des QR.¹⁷⁷ Le dépôt de métaux sur les QR n'est pas uniforme et aboutit à la formation d'un domaine d'or sphérique (ou plusieurs) par QR.⁵¹ Des applications dans les domaines de l'optoélectronique,¹⁷⁸ de la catalyse^{6, 179} (pour la production d'hydrogène notamment) et du photovoltaïque¹⁸⁰ basées sur ces hétérostructures ont été démontrées. De plus, la synthèse d'hétérostructures contenant un domaine d'or par QR permet de dissymétriser la fonctionnalisation des particules. En effet, l'affinité des ligands pour les surfaces métalliques et semiconductrices est différente. Des particules amphiphiles « Janus » ont ainsi été synthétisées.¹⁸⁰ Tous ces travaux ont été réalisés en solvant organique.¹⁸¹ Nous nous sommes attachés à travailler dans l'eau permettant notamment la stabilisation des domaines d'or avec de l'ADN.

4.3.2) Synthèse des hétérostructures

Les hétérostructures sont synthétisées en réduisant un sel d'or métallique sur les QR grâce à une excitation lumineuse. Les QR sélectionnés pour diriger les réactions d'oxydo-réduction photo-induites dans l'eau sont d'un grand rapport d'aspect (60*5 nm) et sont fonctionnalisés par le ligand peptidique C₃E₆D pour favoriser les transferts électroniques à la surface. Le sel d'or choisi est un

complexe phosphine/or ou sel hydraté de sodium du Chloro-(diphényl)-(3-sulfonato-phényl) Au (I) (Figure 82c). Ce sel présente l'avantage d'être relativement stable en milieu aqueux par rapport à d'autres sels d'or au même degré d'oxydation.

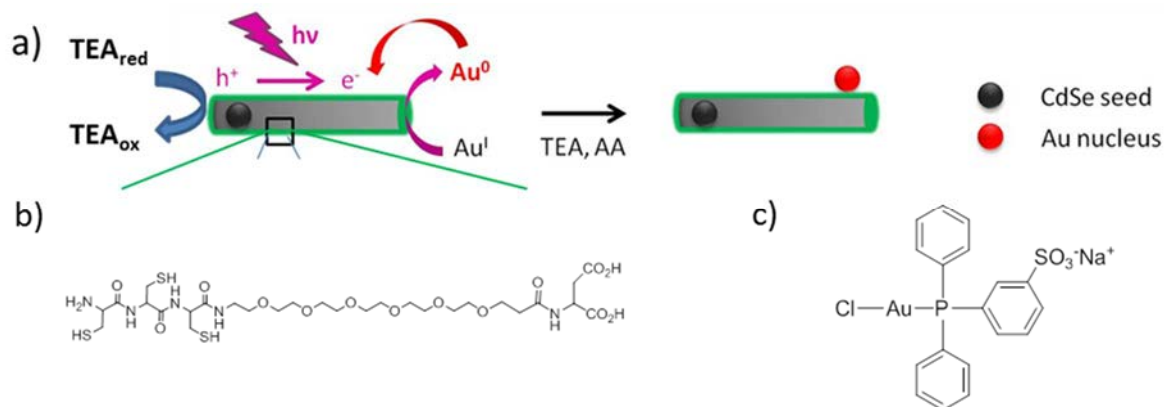


Figure 82 : a) Schéma du principe adopté pour la synthèse d'hétérostructures QR/Au sous irradiation. b) Structure chimique du ligand peptidique C₃E₆D utilisé pour fonctionnaliser les QR. c) Structure chimique du sel d'or hydrophile utilisé comme précurseur pour la synthèse des hétérostructures.

La réduction du sel d'or induit une réaction d'oxydation parallèle qui est compensée par l'oxydation de donneurs d'électrons : la triéthanolamine (TEA) et l'acide ascorbique (AA) (Figure 82). En effet, il est important d'introduire une anode sacrificielle pour éviter la photo-oxydation (photocorrosion) des QR. Les conditions expérimentales (détaillées page 188) ont été optimisées pour obtenir, à l'issue de la réaction, des hétérostructures contenant un domaine d'or majoritaire par QR. Nous verrons néanmoins qu'il existe conjointement de petits nucleus d'or sur les faces latérales, difficilement identifiables par MET basse résolution (Figure 84). En modifiant ces conditions, des QR décorés de plusieurs nucleus d'or ont été obtenus.

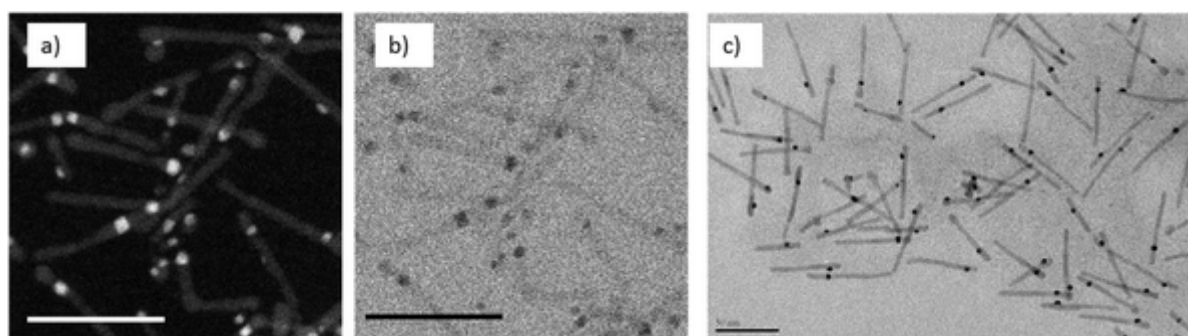


Figure 83 : a-b) Clichés STEM-HAADF d'hétérostructures obtenues après 20 minutes d'irradiation du même échantillon en champ noir et en champ clair respectivement montrant la présence d'un domaine d'or majoritaire par QR. c) cliché MET d'hétérostructures obtenues après 20 minutes d'irradiation montrant la position du domaine d'or aux 1/5 de la longueur totale du QR. (a-b-c) Echelle 50 nm.

Les hétérostructures QR/Au sont synthétisées dans des cuves en quartz et sous agitation mécanique modérée grâce à une excitation lumineuse générée par une L.E.D ($\lambda = 405 \text{ nm}$). Dans l'obscurité,

-Réactions d'oxydo-réduction photo-induites (photorédox) utilisant les QR_CdSe@CdS-

aucune hétérostructure n'est formée, la réaction est donc bien catalysée par l'irradiation. La technique de STEM-HAADF utilisée est sensible au numéro atomique des éléments constituant l'échantillon. L'or apparaît en surbrillance sur les images (Figure 83 et Figure 84), car cet élément est plus lourd que le cadmium ou le soufre. La présence d'un domaine d'or prédominant par QR est confirmée par cette technique. En microscopie électronique à transmission, la présence d'or est caractérisée par un fort contraste avec les QR où les domaines d'or apparaissent en noir sur les images (Figure 83c). De plus, les hétérostructures obtenues contiennent un domaine d'or prédominant déposé au 1/5 de la longueur des QR (Figure 83c). Les différents paramètres (concentration des réactifs, temps d'irradiation) ont été étudiés en détail en spectroscopie optique et en microscopie électronique. Cependant, la technique de STEM-HAADF a permis de montrer la présence de petits nucleus d'or sur les faces latérales où les hétérostructures apparaissent décorées comme des « bretzels » (Figure 84).

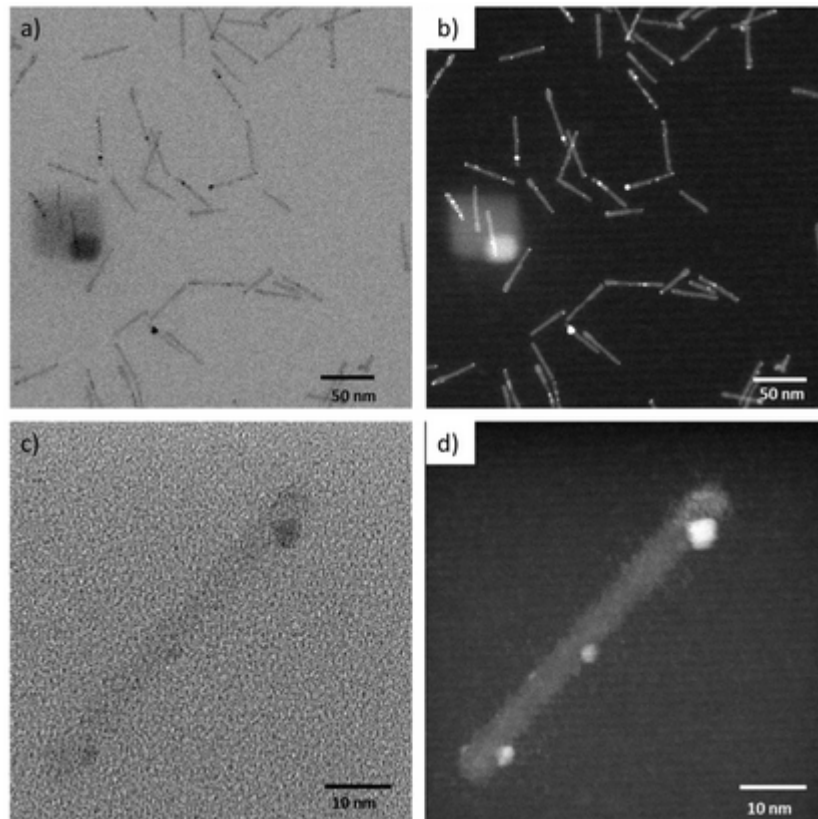


Figure 84 : a-d) Clichés STEM-HAADF d'hétérostructures obtenues après 20 minutes d'irradiation du même échantillon en champ clair (a-c) et en champ noir (b-d) montrant la présence d'un domaine d'or majoritaire par QR et de petits nucleus déposés sur les faces latérales.

4.3.3) Méthodologie adoptée pour suivre la réaction de réduction photo-induite

La synthèse des hétérostructures est suivie en spectroscopie optique (fluorescence et UV-Visible). Le dépôt d'une nanoparticule d'or sur les QR modifie leur spectre d'absorbance. En effet, on note l'apparition d'un signal plasmon de l'or au cours de la synthèse qui correspond à une augmentation

continue de l'absorbance entre 500 et 700 nm (Figure 85a). D'après Khon et al,¹⁸² le nuage d'électrons libres de la nanoparticule d'or est délocalisé dans le semi-conducteur, supprimant le pic plasmon (localisé à $\lambda = 520$ nm) caractéristique des nanoparticules d'or sphériques isolées. Par la suite, l'augmentation de l'absorbance dans la région 500-700 nm sera dénommé abusivement par un « pic plasmon ». Par ailleurs, les propriétés optiques des QR en absorbance sont totalement modifiées dans l'ultra-violet lorsque l'illumination est prolongée. En effet, l'absorbance des QR correspondant à l'absorption du cœur CdSe et de la coquille CdS à 460 nm et 415 nm respectivement¹⁰ diminue. L'analyse des hétérostructures en microscopie électronique révèle une dégradation morphologique des QR à ces temps d'irradiation (entre 45 minutes et 2h). Ce phénomène est attribué à la photo-corrosion des QR. De plus, la formation de la jonction métal/semi-conducteur par hétéroépitaxie induit l'extinction de la fluorescence des QR (Figure 4b). Les phénomènes de recombinaisons radiatifs sont éliminés, ce qui est prometteur pour réaliser des réactions photorédox par la suite.

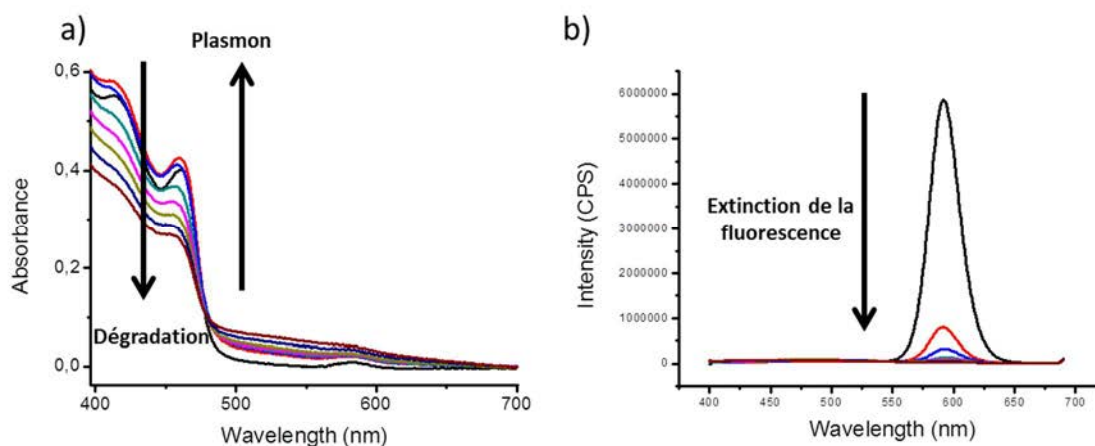


Figure 85 : a-b) Suivi de la réaction de formation des hétérostructures en spectroscopie UV-Visible et de fluorescence respectivement en fonction du temps d'irradiation (acquisition d'un spectre toutes les 15 minutes durant 2 h).

Les propriétés optiques des hétérostructures QR/Au sont donc uniques et diffèrent des propriétés optiques des constituants initiaux. En effet, la formation d'excitons au sein des QR est limitée car la séparation des charges est très importante et les électrons libres des domaines d'or sont délocalisés dans le semi-conducteur. En pratique, le suivi des propriétés optiques des QR est effectué en amont de la préparation des grilles de microscopie électronique. Lorsque le pic plasmon apparaît en spectroscopie UV-Visible, la réaction est stoppée par élimination des réactifs en centrifugeant plusieurs fois. Les échantillons sont purifiés par centrifugation avant leur caractérisation en microscopie électronique.

Choix de l'acide ascorbique

L'acide ascorbique est un réducteur « faible » utilisé notamment dans la synthèse de bâtonnets d'or pour réduire le couple Red/Ox $\text{Au}^{3+}/\text{Au}^+$.^{61b} L'évolution des propriétés optiques des mélanges préparés sans acide ascorbique en fonction du temps d'irradiation est similaire aux échantillons préparés avec acide ascorbique (Figure 86a-b en comparaison avec Figure 85b-a). En effet, un pic plasmon ainsi qu'une extinction de la fluorescence (plus faible néanmoins) sont observés. Cependant, en absence d'acide ascorbique et sous irradiation, l'analyse MET révèle la formation de particules d'or isolées, non observées en absence d'irradiation (Figure 86 d). En absence d'acide ascorbique, la réaction est aussi catalysée par l'irradiation. L'acide ascorbique sera introduit (10 mM) par la suite, pour limiter la formation de ces particules d'or.

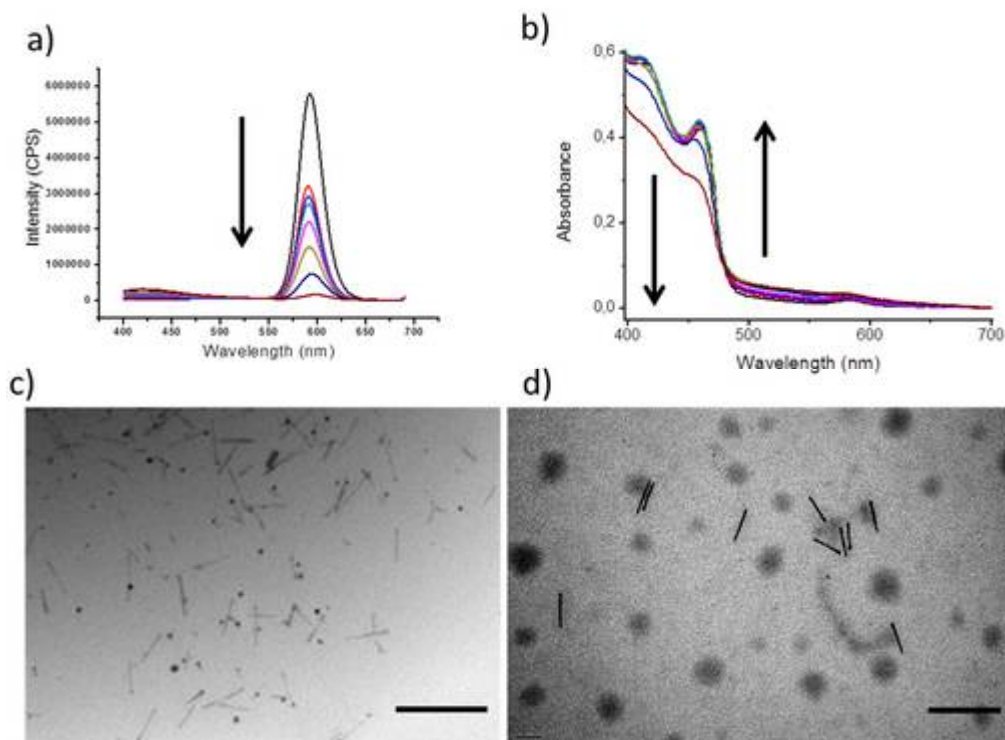


Figure 86 : Suivi de la réaction de formation des hétérostructures (préparés en absence d'acide ascorbique). a-b) spectroscopie UV-Visible et de fluorescence respectivement en fonction du temps d'irradiation (acquisition d'un spectre toutes les 15 minutes durant 2 h). c-d) clichés MET des hétérostructures obtenues après 2h d'irradiation et sans irradiation respectivement.

Choix de la Triethanolamine.

Comme donneur sacrificiel :

La réaction de photo-réduction du sel d'or doit être compensée avec un donneur sacrificiel pour éviter la photo-oxydation (=photo-corrosion) des QR. En effet, la coquille de sulfure de cadmium des QR peut s'oxyder sous irradiation, relarguant des ions sulfites (Figure 87b).¹⁸³ L'ajout d'un donneur d'électron sacrificiel permet de contrebalancer cette réaction (Figure 87a). La réaction d'oxydation

du donneur d'électron est alors en compétition avec la réaction d'oxydation des QR. La réaction d'oxydation du donneur d'électron doit donc être favorisée. Rogach et al¹⁸⁴ ont comparé quatre donneurs sacrificiels (dont la triéthanolamine) pour la production d'hydrogène catalysée par des hétérostructures QR/platine. Dans ce travail, les auteurs expliquent que l'efficacité du donneur d'électron est liée à leur potentiel Rédox. Plus le pouvoir oxydant du couple Rédox est élevé, plus les trous photogénérés peuvent être éliminés efficacement. Dans notre cas, la triéthanolamine apparaît comme un donneur d'électrons pertinent.

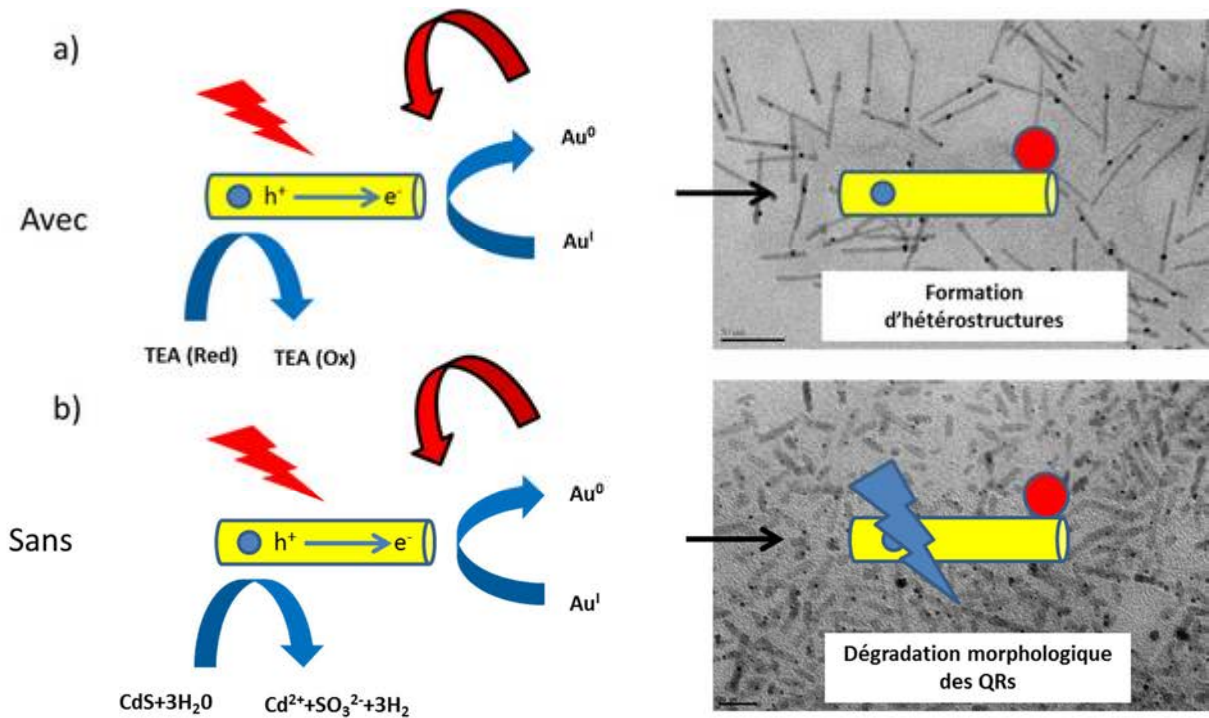


Figure 87 : a-b) Schémas de principe de la réaction avec et sans anode sacrificielle (Triéthanolamine, TEA) respectivement.

Résultats expérimentaux et mise en évidence d'un phénomène thermique :

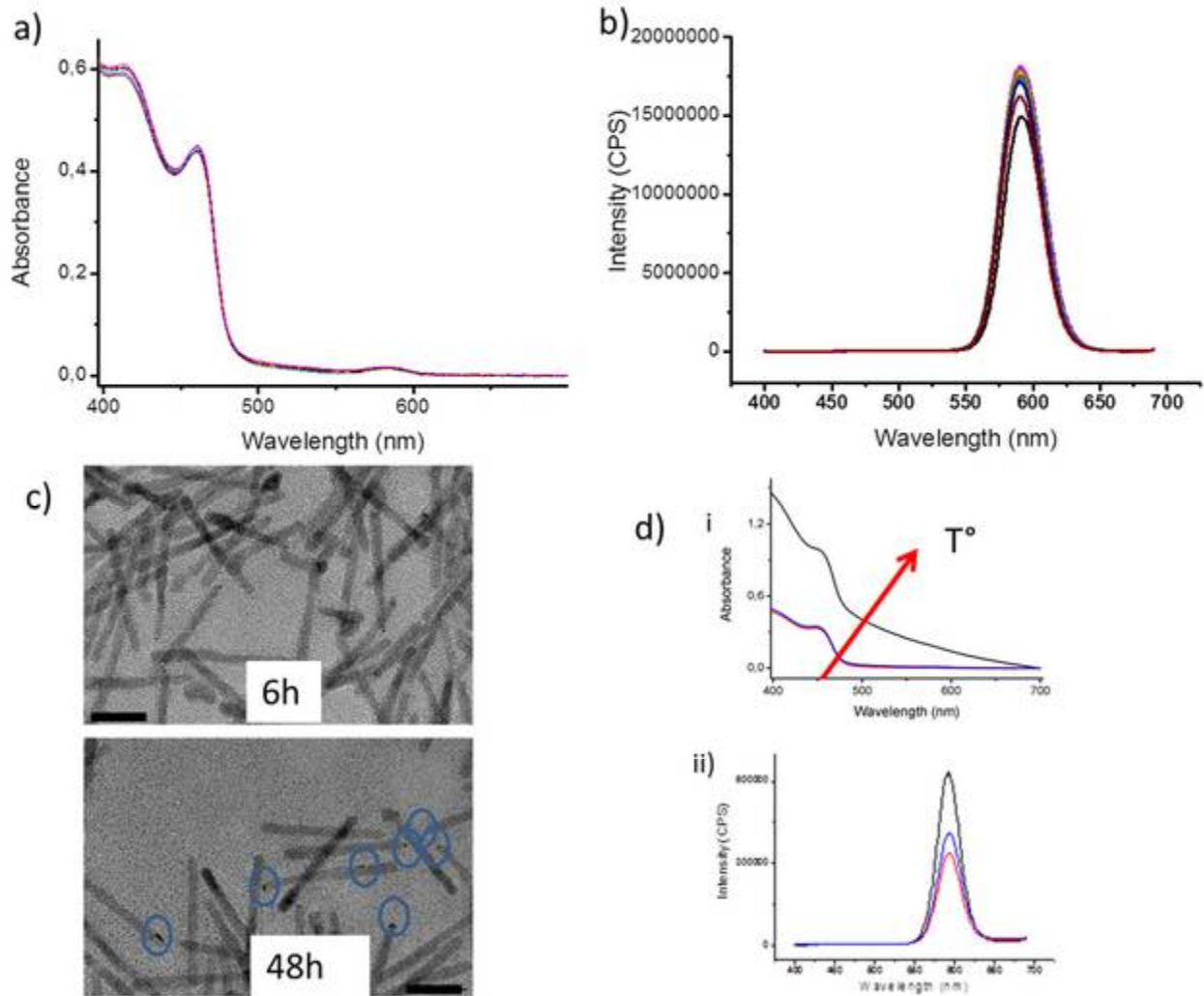


Figure 88 : a-b) Suivi de la réaction de formation des hétérostructures (préparés en absence de TEA) en spectroscopie UV-Visible et de fluorescence respectivement en fonction du temps d'irradiation (acquisition d'un spectre toutes les 15 minutes durant 2 h). c) image MET d'hétérostructures préparés à 20 °C après 6h et 48h à l'abri de la lumière. Les nucleus d'or à 48h d'incubation sont entourés d'un cercle bleu. Echelle 20 nm. D) Propriétés optiques d'hétérostructures préparées sans TEA durant 2h à l'abri de la lumière à différentes températures d'incubation : rouge, bleu et noir 20°C, 30°C, 40°C respectivement. i-ii) absorbance et fluorescence respectivement.

Les hétérostructures sont préparées sans TEA, les autres conditions étant fixées. Les échantillons contiennent donc aussi de l'acide ascorbique. Aucune évolution des propriétés optiques des QR n'est observée au cours des 2h d'irradiation (Figure 88a-b). Sans TEA, le mélange n'est donc pas sensible à l'irradiation et il n'y a pas formation d'hétérostructures. Ces résultats montrent que la réduction photo-induite du sel d'or n'est pas possible en absence de TEA. Cependant, des hétérostructures ont été obtenues, dans ces conditions, pour des temps d'incubations longs (48h, Figure 88c) à température ambiante et à l'abri de la lumière. Dans ce cas, le mécanisme de formation des hybrides est « thermique » où la température accélère la cinétique de réduction de l'or sur les QR. En effet des pics plasmon ont été observés pour des mélanges incubés à 40°C (Figure 88d_i). Les hybrides obtenus par voie thermique sont intéressants car il est possible d'obtenir des hétérostructures

-Chapitre 4-

QR@Au fluorescentes. En effet la fluorescence des QR est préservée (Figure 88d_ii). Ce type d'hétérostructures a été observé plusieurs fois en MET mais avec une reproductibilité assez faible (50 %). L'étude de ces hétérostructures synthétisées par voie thermique sera poursuivie ultérieurement. Nous nous sommes attachés dans ce travail aux processus photo-induits où la TEA est nécessaire pour la photo-réduction du sel d'or. La TEA est introduite en large excès (0,8 M) dans les échantillons. Par ailleurs, des échantillons contenant uniquement les QR et le sel d'or ont été irradiés (sans TEA et sans acide ascorbique), les modifications très importantes de leurs propriétés optiques indiquent une forte dégradation morphologique des QR. Ces résultats ont été confirmés en MET (non montré ici). Ces observations sont différentes des expériences où l'échantillon contient de l'acide ascorbique (Figure 88). L'acide ascorbique a donc aussi un rôle photo-protecteur pour les QR.

-Réactions d'oxydo-réduction photo-induites (photorédox) utilisant les QR_CdSe@CdS-

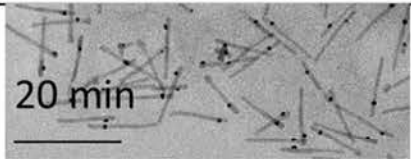
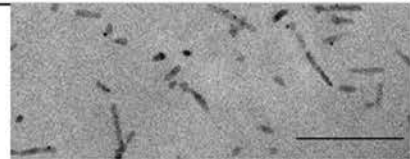


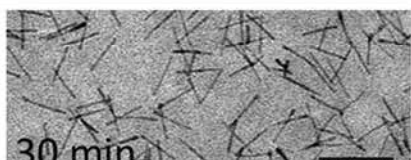
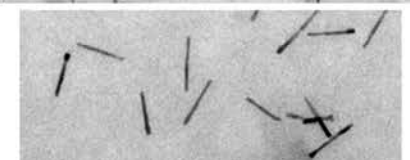
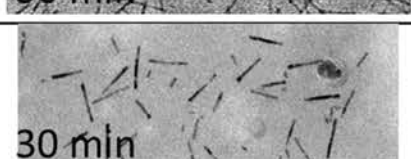
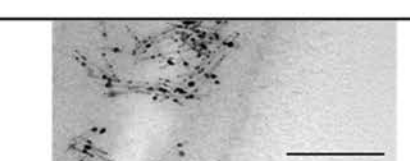
Echantillon	QR (nM)	AA (mM)	TEA (M)	Au (mM)	Propriétés optiques Commentaires	Images MET hv<1h Temps d'irradiation	Images MET hv=2h
Conditions optimales	25	10	0,8	1	Plasmon Extinction fluorescence MET: Hétérostructures	 20 min	
-AA	25	0	0,8	1	Plasmon Extinction fluorescence MET: Hétérostructures +Particules Au parasites	 45 min	
-TEA	25	10	0	1	Pas de pic plasmon Pas extinction fluorescence MET: Hétérostructures (50%) Phénomènes thermiques	 30 min	
-AA -TEA	25	0	0	1	Pas de pic plasmon Extinction fluorescence MET: Photo-corrosion importante	 30 min	Photocorrosion très importante.
+Au	25	10	0,8	10	Plasmon Extinction fluorescence MET: polynucléation importante		

Figure 89 : Tableau récapitulatif des différents paramètres testés pour optimiser la synthèse d'hétérostructures réactifs Acide ascorbique (AA), Triéthanolamine (TEA), sel d'or(Au¹) et temps d'irradiation (20 min-2 h). Echelle sur les images de MET : 100 nm. La concentration en QR ($A_{350nm}=1,1$) est déduite à partir de coefficients d'extinctions décrit dans la littérature.¹⁸⁵

4.3.4) Formation de QR décorés de plusieurs nuclei d'or

Description des hétérostructures obtenues.

Les hétérostructures synthétisées possèdent un domaine d'or majoritaire par QR (Figure 83). En multipliant par dix la quantité d'or ajoutée au départ (10 mM au lieu d'1 mM), il est possible d'accentuer la croissance de plusieurs nuclei d'or sur les QR (« Bretzel », Figure 90). La polynucléation de l'or sur les QR est plus importante pour les échantillons non irradiés (Figure 90b) que ceux irradiés (Figure 90a).

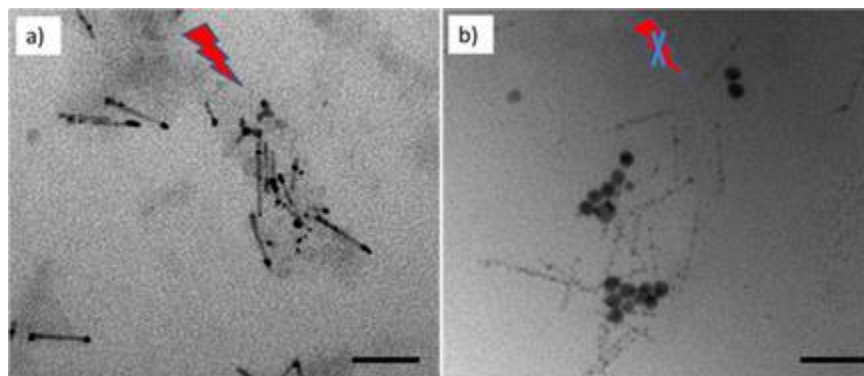


Figure 90 : a-b) Clichés MET d'hétérostructures préparées avec 10 fois plus d'Or que les conditions standards (10 mM au lieu d'1 mM) avec et sans irradiation respectivement. Echelle 50 nm.

Discussion sur les mécanismes de réactions

Les domaines d'or sont plus gros pour les échantillons irradiés que pour les échantillons non-irradiés (Figure 90a-b). Deux mécanismes possibles, décrits dans la littérature, existent pour expliquer ces phénomènes. Dans les deux cas, l'or est réduit préférentiellement sur les faces cristallines du QR de plus haute énergie ou sur les défauts.^{28a, b, 186} En effet, le potentiel chimique des nanoparticules semi-conductrices est inversement proportionnel à leur rayon.^{28b, c} Les petites particules sont donc plus efficaces pour la nucléation de métaux que les grosses. De plus, les extrémités des QR sont, du fait de leur rayon de courbure élevé, plus réactives que les faces latérales. Ceci permet de justifier la nucléation préférentielle sur les extrémités en milieu anaérobie. La présence d'oxygène, en oxydant la surface des QR, favorise aussi la nucléation de l'or sur les faces des bâtonnets.^{179, 187} La réduction des ions métalliques est ensuite favorisée sur les sites de nucléation (croissance d'Ostwald) plutôt qu'en solution car le coût en énergie est moindre.¹⁸¹ Lorsque l'échantillon n'est pas irradié (Figure 90b), les sites de nucléation sont nombreux.¹⁸¹ Quelques grosses particules d'or, isolées sans QR, sont observées qui correspondraient à la « fusion » des petites particules d'or en faveur des plus grosses par des phénomènes de diffusion (maturation d'Ostwald).¹⁸⁷ Pour les échantillons irradiés (Figure 90a), un mécanisme de maturation d'Ostwald « électrochimique » est décrit.^{177, 188} Dans ce cas, les petits nuclei sont oxydés pour être réduits à nouveau sur les plus gros domaines d'or. Les

-Réactions d'oxydo-réduction photo-induites (photorédox) utilisant les QR_CdSe@CdS-

hétérostructures obtenues par les processus photo-induits ont des tailles plus importantes de domaines d'or et contiennent moins de nucleus d'or.¹⁷⁷

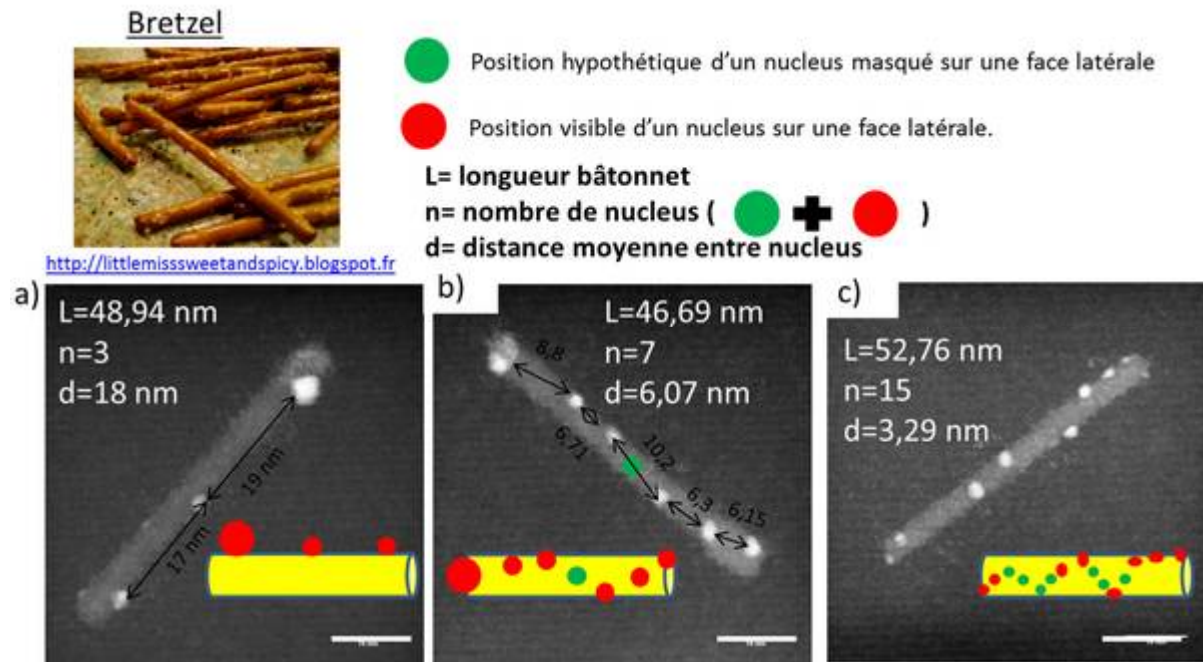


Figure 91 : a-b-c) Clichés STEM-HAADF d'hétérostructures « Bretzel » obtenus après 20 minutes d'irradiation du même échantillon observé en champ noir montrant la présence d'un domaine d'or majoritaire par QR et de petits nucleus déposés sur les faces latérales. Les nuclei sont régulièrement espacés sur le QRs et ont un diamètre uniforme (mis à part le domaine d'or majoritaire). De plus, l'hypothèse d'un dépôt uniforme suggère l'existence de nucleus supplémentaires mais masqués par la coquille inorganique des QRs. Echelle sur les images : 10 nm.

La technique de STEM-HAADF permet d'observer les échantillons avec une meilleure résolution et facilite la caractérisation des petits nuclei sur les QRs. Les images d'hétérostructures « Bretzel » de la Figure 91 sont issues du même échantillon. On constate que le nombre de nucleus est variable selon les hétérostructures considérées. Un domaine d'or est en général prédominant par rapport aux autres, cela suggère une compétition entre les deux cinétiques de nucléation : un domaine majoritaire (k (s^{-1}) grand) et de petits domaines (k (s^{-1}) petit). Le domaine prédominant capte les électrons photogénérés plus facilement, *via* l'hétérojonction Shottcky, la réduction photo-induite de l'or est donc majoritaire sur ce domaine.¹⁷⁷ De plus, la taille des petits nuclei est homogène et leur diamètre moyen est de 2,2 nm (Figure 91 a-b-c). On constate également que les nuclei sont régulièrement espacés sur le QR et que l'interdistance entre nucleus dépend du nombre total de nucleus sur le bâtonnet ($n \approx L/D$, Figure 91). En effet, ces petits domaines d'or semblent occuper uniformément la surface des QRs, ce qui suggère l'existence de nucleus masqués sur ces images (Figure 91).

Taille des domaines d'or

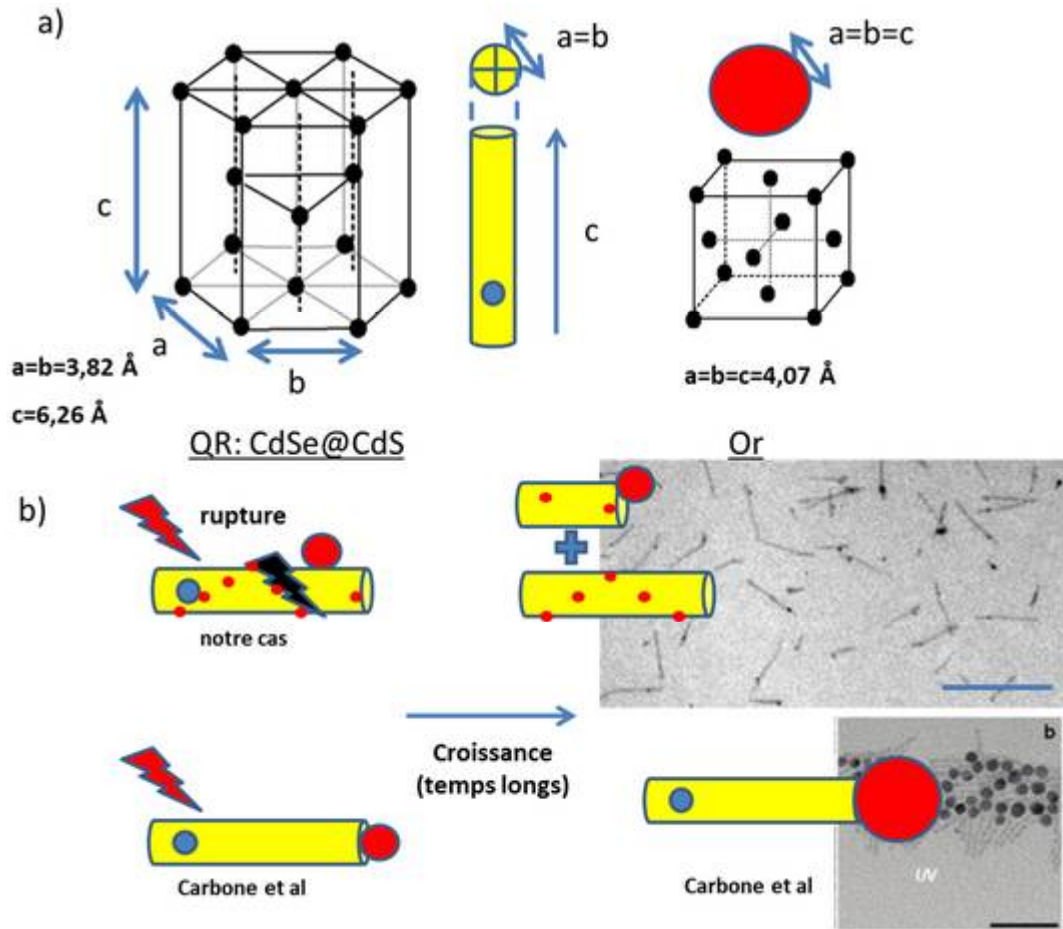


Figure 92 : a) Maille hexagonale compacte du cristal CdS de type wurzite et maille cubique à face centrée du cristal d'or. Les particules sont schématiquement dessinées à côté (en jaune : QR, et rouge : or). b) Schémas de la croissance d'un domaine d'or déposé sur les faces du QR (notre cas) où les désaccords de mailles importants induisent la rupture des hétérostructures en deux morceaux ($t_{\text{irradiation}} > 1\text{h}$). Echelle 100 nm. Dans le cas de Carbone et al¹⁷⁷, l'or est déposé sur les extrémités où le désaccord de maille est plus faible permettant la croissance de plus gros domaines d'or. Echelle 50 nm.

Dans notre cas, les domaines d'or prédominants ayant des tailles de 4 à 5 nm de diamètre sont déposés préférentiellement sur les faces des bâtonnets (positionnés aux 1/5 de la longueur totale des QR en moyenne). Il faut noter que la taille des domaines d'or déposés sur les faces des QR est toujours limitée à 4-5 nm de diamètre, même pour des temps de réactions importants (Figure 85d). De plus, pour des temps longs d'irradiation ($>1\text{h}$), les hétérostructures sont dégradées morphologiquement, même en présence de donneurs sacrificiels. Par ailleurs, Carbone et al¹⁷⁷ reportent des tailles de domaines d'or de 15.7 nm de diamètre, déposés sur les extrémités des QR (Figure 92b). La différence de taille des domaines déposés aux pointes ou sur les faces pourrait être expliquée par les phénomènes de désaccord de maille lors de l'hétéro-épitaxie. La coquille des QR, composée de CdS, est de type wurzite¹⁰ correspondant à une maille hexagonale compacte de paramètres (bulk) : $a=b=3.82 \text{ \AA}$ et $c=6.26 \text{ \AA}$. Il est également connu que les bâtonnets croissent selon l'axe c (Figure 92a).¹⁰ De plus, les paramètres (cfc, bulk) de l'or sont de $a=b=c=4.07 \text{ \AA}$. La différence

-Réactions d'oxydo-réduction photo-induites (photorédox) utilisant les QR_CdSe@CdS-

de paramètres de mailles entre les QR et l'or déposé, peut entraîner des défauts à l'interface (dislocation, rupture...). Par ailleurs, plus la taille du domaine d'or augmente plus la pression à l'interface est importante. Ainsi, plus le désaccord de maille initial est important, moins la taille des domaines d'or déposés sera importante (Figure 92b). Le désaccord de maille étant plus important sur les faces qu'aux extrémités des QR, les domaines d'or seront plus grands aux extrémités que sur les faces de ceux-ci. De plus, la dégradation des QR aux temps plus longs d'irradiation (>1h) pourrait donc être attribuée à deux phénomènes : la photo-corrosion des QR et la « cassure » des hétérostructures induite par la pression trop importante à l'interface QR/Au lors de la croissance. Par la suite, le temps d'irradiation a toujours été compris entre 20 et 40 minutes (<1h).

4.3.5) Conclusion

La formation d'une hétérojonction QR@Au de type Schottky se traduit par une extinction presque totale de la fluorescence des QR. En effet, les électrons photo-générés sont délocalisés dans le domaine d'or des QR.^{158-159, 177, 189} Cela démontre que les recombinaisons radiatives consécutives à l'absorption d'un photon sont éliminées car la séparation des charges photogénérées est très efficace. Par ailleurs, la signature optique des domaines d'or est suivie durant la synthèse des hétérostructures par spectroscopie UV-Visible. L'augmentation de l'absorbance entre 500 nm et 700 nm (« pic plasmon ») au cours de la réaction est caractéristique de la formation d'hétérostructures. Ces mesures spectroscopiques ont été confirmées en microscopie électronique où l'or, plus dense en électrons, apparaît grâce au contraste important par rapport aux QRs.

Ces hétérostructures QR@Au ont été synthétisées dans l'eau. Ce travail se différencie donc des synthèses d'hétérostructures décrites dans la littérature en solvant organique. La réaction de réduction du sel d'or est catalysée par l'irradiation. Le domaine d'or (4-5 nm de diamètre) est déposé sur les faces latérales des QR, placé aux 1/5 de leur longueur totale. En augmentant la quantité d'or ajoutée au départ, il est possible d'amplifier cette réaction avec la formation d'hétérostructures décorées de multiples domaines d'or. Les hétérostructures sont préparées en présence de triéthanolamine et d'acide ascorbique permettant de piéger les trous photogénérés. En effet, l'introduction de ces donneurs sacrificiels est importante pour limiter les effets de photo-corrosion des QR et ainsi préserver leur morphologie initiale. L'utilisation de l'acide ascorbique permet également d'éviter la formation de nanoparticules d'or « parasite » en solution. De plus, la caractérisation d'un domaine d'or prédominant sur les QR est cohérente avec une localisation de la réaction de photo-réduction.

Une des perspectives de ce travail consistera à étudier les hétérostructures synthétisées par voie thermique (sans irradiation). La formation d'une jonction de type Schottky dans ce cas n'induit pas

-Chapitre 4-

l'extinction de la fluorescence des QR. Dans ce cas les hétérostructures sont donc fluorescentes et diffusent fortement la lumière et pourraient être détectées à la fois en microscopie optique de fluorescence et en champ noir. La compréhension de ce phénomène est également une des perspectives de ce travail. Une des pistes envisagée est de corrélérer les propriétés optiques à la position du domaine d'or par rapport au germe CdSe des QR.

4.3.6) Synthèse d'hétérostructures QR/Au « Janus ».

Introduction et état de l'art :

Le terme « Janus » qualifie tout objet dissymétrique tel qu'une particule sphérique dont les deux hémisphères seraient chimiquement différents (Figure 93a-b). Plusieurs méthodes existent pour dissymétriser la surface des particules : en microfluidique, en modifiant la surface à une interface (solvant/air, solvant polaire/apolaire) ou encore par des processus de nucléation localisée.^{89b} Les particules Janus ont de nouvelles propriétés colloïdales et sont très attendues sur le plan de leurs propriétés et de leurs applications pour la réalisation d'assemblages supraparticulaires.¹⁹⁰ Par exemple, des particules amphiphiles Janus ont permis de réaliser des assemblages colloïdaux complexes de particules sphériques ayant de nouvelles propriétés.^{190b} Des particules sphériques Janus composées de cobalt ont réalisées la réaction de dismutation de l'eau, les deux demis réactions étant localisée séparément sur les hémisphères.¹⁹¹

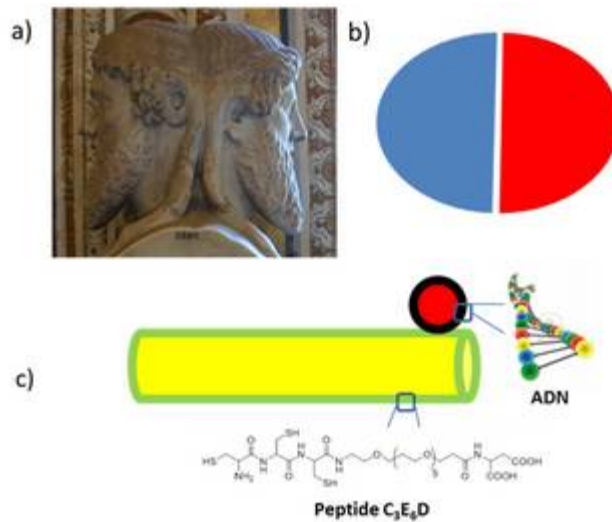


Figure 93 : a) Photo d'une sculpture représentant le dieu Janus exposée au Vatican. b) Schéma d'une particule sphérique ayant ses deux hémisphères fonctionnalisés de manière différente. c) Schéma d'une hétérostructure QR@Au où la coquille CdS est fonctionnalisée par les peptides C₃E₆D et le domaine d'or par de l'ADN.

Dans ce contexte, les hétérostructures décrites précédemment sont des candidats intéressants pour l'introduction spécifique de groupements fonctionnels. Cette stratégie repose sur la différence d'affinité de certains ligands pour les surfaces d'or et des QR. Les ponts disulfure ont notamment une forte affinité pour l'or alors que ceux-ci ont une affinité faible pour les surfaces de sulfure de

-Réactions d'oxydo-réduction photo-induites (photorédox) utilisant les QR_CdSe@CdS-

cadmium.^{28b, 84} Ainsi des ligands composés d'une ancre disulfure et terminés avec une biotine ont permis de post-fonctionnaliser spécifiquement l'or des hétérostructures ; l'assemblage avec de la streptavidine étant dirigé par les domaines d'or des hétérostructures.¹⁹² Dans cet exemple, le ligand terminé par une biotine est introduit après la synthèse des hétérostructures (en deux étapes).

Nous avons choisi l'ADN pour greffer sélectivement le nucleus d'or des hétérostructures précédemment préparées. L'acide désoxyribonucléique (ADN) est une molécule présente dans toutes les cellules vivantes et qui porte l'information génétique. La structure standard de l'ADN est une double-hélice droite, composée de deux brins complémentaires. Chaque brin d'ADN est constitué d'un enchaînement de nucléotides, eux-mêmes composés de bases azotées, de sucres (désoxyribose) et de groupements phosphate. On trouve quatre nucléotides différents dans l'ADN, A, G, C et T, du nom des bases correspondantes : Adénine, Guanine, Cytosine et Thymine respectivement. Ces nucléotides s'apparient par paires de façon spécifique : A avec T et G avec C interagissant entre elles par des liaisons hydrogène. Des assemblages de particules d'or sphériques, dirigés par des brins d'ADN complémentaires modifiés à une extrémité par des groupements thiol, ont été effectués pour la première fois indépendamment par Chad Mirkin et Paul Alivisatos en 1996.^{193 193b} Depuis, de très nombreux travaux reportent des assemblages de particules de différentes natures grâce aux propriétés d'hybridation de l'ADN.^{102, 130, 194} L'avantage principal de l'ADN, par rapport à d'autres systèmes de reconnaissance spécifique (biotine/streptavidine...), est qu'il est hautement spécifique et réversible. En effet, il est possible par chauffage ($T > T_{\text{fusion}}$) de dénaturer ou de reformer ($T < T_{\text{fusion}}$) les liaisons hydrogène de manière réversible. Les assemblages peuvent donc être dispersés puis reformés en fonction de la température. De plus, la coopérativité des liaisons hydrogène est très importante, des assemblages peuvent donc être obtenus à des concentrations très faibles en ADN (de l'ordre du nM).

Nos expériences ont été réalisées dans l'eau avec un sel d'Au^I original. En effet, ce sel d'or utilisé dans ces expériences est préalablement complexé aux thiolates. Un complexe Au/ADN a été préparé à partir du sel d'or en solution avec de l'ADN-thiolate pour synthétiser et fonctionnaliser de façon dissymétrique les hétérostructures en une étape (Figure 93c).

Préparation du sel d'or

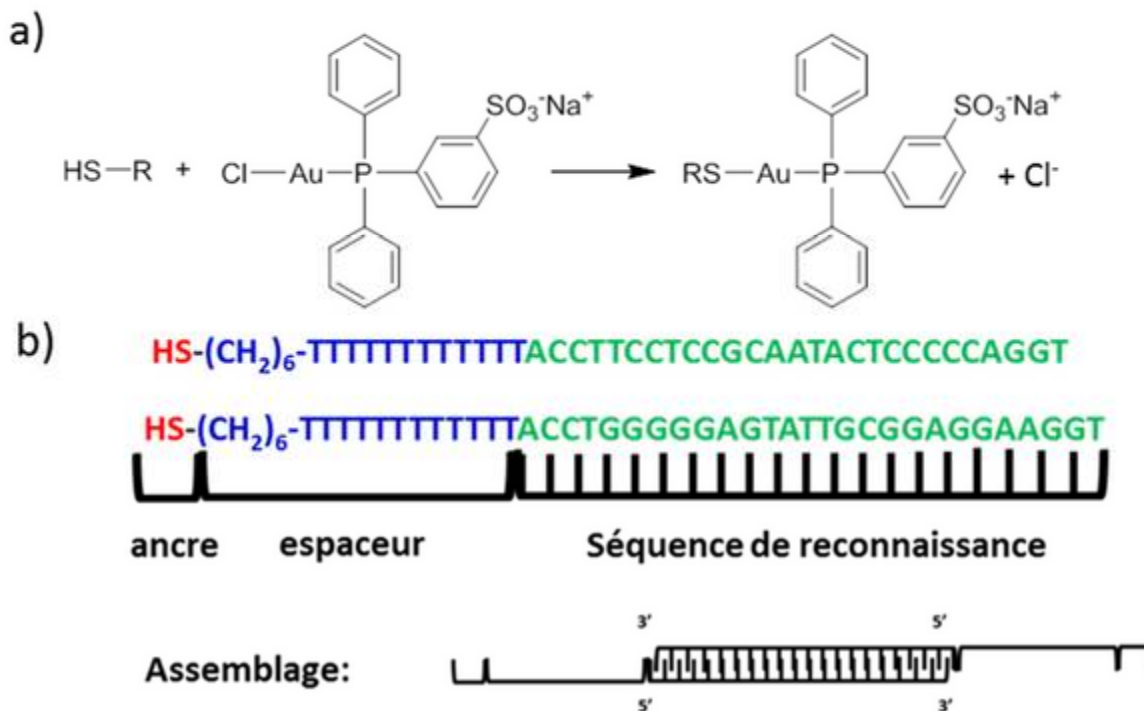


Figure 94 : a) Réaction du sel d'or hydrophile avec un ADN-thiol et substitution de l'ion chlorure par un thiolate pour former le sel d'or/ADN (R=ADN). b) Formule des deux brins d'ADN-thiol complémentaires utilisés dans ce travail.

Le ligand chlorure du sel d'or hydrophile utilisé précédemment pour synthétiser des hétérostructures (Figure 94a) peut être substitué par un ligand ADN-thiolate. Les deux ADN-thiol (≈ 12 kDa), simple brin, utilisés dans ce travail sont constitués de trois parties (Figure 94b) : une fonction d'ancrage (en rouge) composée d'un thiol, un espaceur (en bleu) constitué d'une chaîne alkyle (6 unités) et de thymidine monophosphate (12 unités) et une séquence de reconnaissance de 27 nucléotides (en vert). Le sel d'or-ADN est préparé à pH basique (pH = 10,5 ; borate 10 mM) pour déprotonner les groupements thiols ($pK_{a_{\text{thiol}}} \approx 10$) et le sel d'or utilisé est introduit en excès ou en défaut (de 0,3 à 0,03 équivalents d'or par rapport à l'ADN). La quantité d'ADN introduite au départ dépend donc du ratio Au/ADN (voir partie expérimentale pour plus de détails, page 188).

Synthèse des hétérostructures-ADN

Le sel d'or-ADN est préparé *ex-situ* quelques minutes avant le mélange avec la solution de QR. La synthèse des hétérostructures est réalisée selon les conditions précédentes (pH = 8,5 ; présence de donneur sacrificiel, irradiation). Après 20 à 30 minutes d'irradiation, des hétérostructures sont formées (Figure 95). Les hétérostructures sont ensuite lavées par centrifugation de façon à éliminer les espèces libres (ADN, Au, donneurs sacrificiels, tampon). La signature optique de l'ADN à 260 nm, dépendante de la quantité d'ADN ajoutée, peut alors être détectée sur les hétérostructures en

spectroscopie d'absorption UV-visible (Figure 95b). Il est donc possible en principe de moduler le nombre de brins d'ADN par hétérostructures.

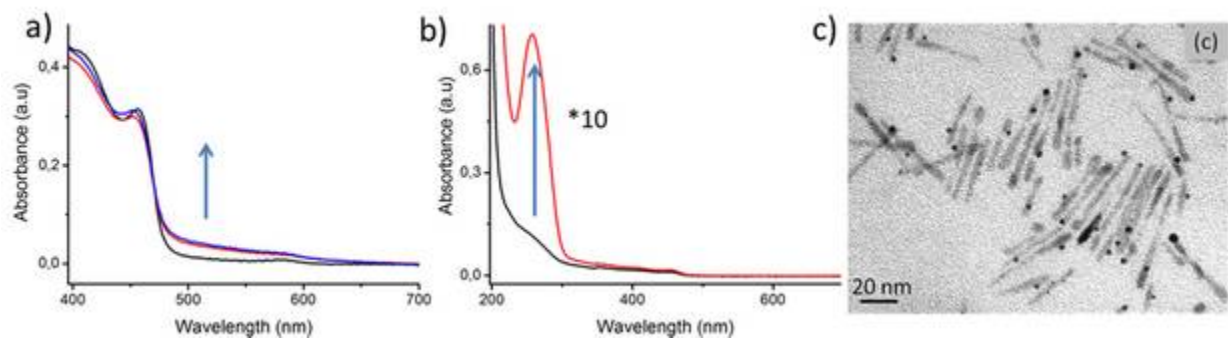


Figure 95 : a) Spectres d'absorption UV-visible d'hétérostructures QR@Au synthétisées en présence d'ADN après 30 min d'irradiation (bleu, rouge) et sans irradiation (noir). Rapport Au/ADN (3 :1 rouge, 30 :1 bleu). b) Spectre d'absorption UV-Visible d'hétérostructures enregistré après élimination des espèces libres par centrifugation. Les deux échantillons Au/ADN 3 :1 (rouge) et 30 :1 (noir) sont dilués de façon à enregistrer la signature de l'ADN à 260 nm. c) Image MET d'hétérostructures synthétisées à partir du sel d'Au-ADN. Au/ADN 30 :1.

Assemblage des hétérostructures-ADN avec des particules d'or sphériques

De manière à démontrer la régio-sélectivité du greffage de l'ADN sur les hétérostructures, des assemblages avec des particules d'or sphériques (fonctionnalisées avec le brin d'ADN complémentaire) ont été réalisés.

Les particules d'or sphériques (≈ 15 nm) sont synthétisées selon la méthode de Turckevitch⁵⁵ et fonctionnalisées avec l'ADN-thiol. Le greffage de l'ADN-thiol sur les particules d'or sphériques est mis en évidence par électrophorèse sur gel d'agarose. La migration des particules vers la borne positive montre indirectement le greffage de l'ADN (non montré ici). En effet les particules, initialement stabilisées avec du citrate, ne migrent pas. De plus, l'ADN est composé de groupements phosphate, chargés négativement, induisant la migration des particules d'or-ADN vers la borne positive. Les particules d'or-ADN sont purifiées de l'ADN en excès par des cycles de centrifugation/redispersion à partir de tubes munis de filtres (MWCO = 100kDa).

Les hétérostructures-ADN sont ensuite incubées avec les particules d'or sphériques (NPAu) fonctionnalisées avec le brin d'ADN complémentaire dans un milieu ayant une forte force ionique (Tampon Tris 25mM, NaCl=0,3M). En effet, l'ADN étant fortement chargé négativement, il est nécessaire de diminuer la portée des interactions électrostatiques pour faciliter la reconnaissance des brins complémentaires. Les échantillons sont ensuite incubés à 37°C durant au moins une nuit. Les assemblages issus de l'hybridation de l'ADN sont caractérisés en diffusion dynamique de la lumière et en microscopie électronique.

-Chapitre 4-

Taille des agrégats étudiée par Diffusion dynamique de la lumière :

L'évolution du diamètre hydrodynamique des mélanges de nanoparticules complémentaires est suivie par diffusion dynamique de la lumière à différents temps d'incubation. Un contrôle est réalisé avec des nanoparticules (QR et NPAu) portant le même brin d'ADN. Dans ce dernier cas, aucune agrégation n'est observée (Figure 96b). En revanche, le diamètre hydrodynamique des échantillons incubés avec des nanoparticules d'or portant l'ADN complémentaire augmente d'un facteur deux (Figure 96a) après 24h d'incubation. L'assemblage des NPAu-ADN et les hétérostructures-ADN est donc spécifique des brins d'ADN complémentaires.

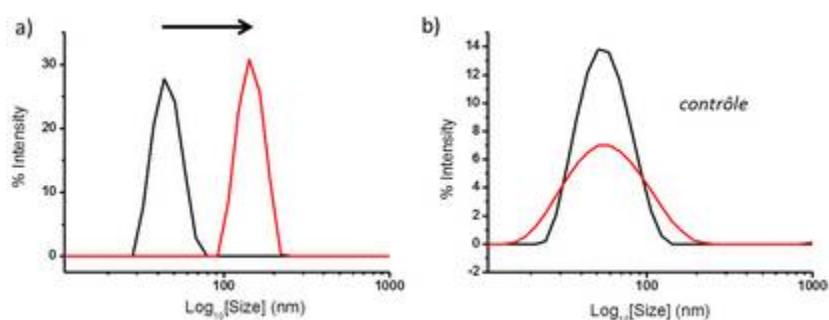


Figure 96 : Spectre de diffusion dynamique de la lumière (en intensité). (a-b) Diamètre hydrodynamique moyen de l'échantillon contenant des hétérostructures-ADN2 (Au/ADN : 3/1) et les particules d'or-ADN (a) complémentaire (ADN 1) et (b) non complémentaire (ADN 2) à t=0 (noir) et après 24h d'incubation (rouge).

Afin d'identifier les deux types de nanoparticules dans les agrégats, de la cryo-microscopie électronique a été réalisée. Cette expérience pourrait aussi permettre de visualiser la localisation du greffage de l'ADN sur les domaines d'or des hétérostructures.

Cryo-MET

Ces expériences ont été faites à l'UPMC en collaboration avec C. Aimé, au LCMCP. Cette technique de microscopie électronique est similaire à la technique de microscopie à transmission « classique ». La différence réside dans la préparation de l'échantillon et permet de préserver l'état hydraté et de s'affranchir des forces capillaires mises en jeu au cours du séchage. En effet, en MET l'échantillon est séché alors qu'en Cryo-MET l'échantillon est vitrifié par de l'éthane liquide. La vitrification permet d'obtenir une glace amorphe (transparente aux électrons) et de figer l'échantillon dans l'état dans lequel il se trouvait juste avant la vitrification. Les assemblages hétérostructures/Au observés dans la glace correspondent ainsi à ceux qui existaient en solution. Cette technique est reconnue pour éliminer les artefacts (réarrangements...) dus à l'évaporation du solvant. Néanmoins cette technique reste délicate pour la préparation des échantillons. Comme la glace fond lors de l'observation, le temps d'observation est limité (voir Figure 97a, la délimitation carbone/glace).

Les assemblages sont purifiés par des cycles de centrifugation/redispersion dans l'eau à petite vitesse pour précipiter uniquement les agrégats (600g, 3 cycles). Cette étape est nécessaire afin d'éliminer le

-Réactions d'oxydo-réduction photo-induites (photorédox) utilisant les QR_CdSe@CdS-

tampon et les sels et faciliter ainsi l'observation. Aucun agrégat mixte hétérostructures/NPAu n'a été observé dans le cas des assemblages utilisant de l'ADN non-complémentaire. Dans ce cas, seulement des particules d'or isolées ont été observées (Figure 97f). Ces résultats confirment les mesures de diffusion dynamique de la lumière où aucun agrégat n'avait été détecté.

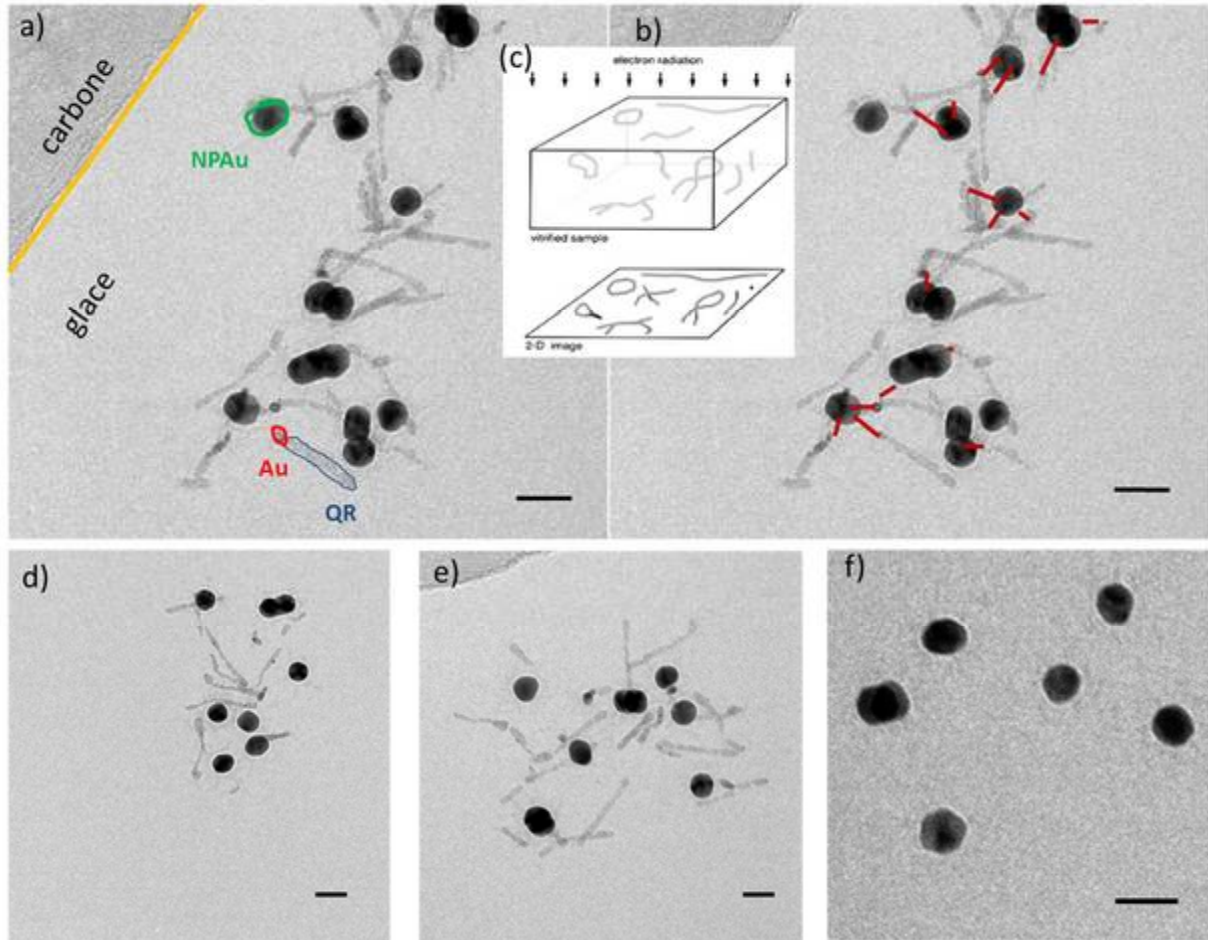


Figure 97 : (a-b-d-e-f) Clichés Cryo-MET d'assemblages mixtes composés d'hétérostructures-ADN/NPAu-ADN complémentaire. Au/ADN 30 :1. a) Les différents constituants de l'assemblage sont décrits par des couleurs : QR (bleu), Au (rouge), NPAu (vert). La délimitation entre la glace (échantillon vitrifié) et la grille (sans glace) est indiquée par une ligne orange. b) même image qu'en a) mais les interactions hétérostructures/NPAu dirigées par le domaine d'or sont indiquées par une ligne rouge. c) Schémas de la projection en 2D de l'échantillon vitrifié. d-e) Clichés Cryo-MET supplémentaires du même échantillon qu'en (a-b). f) Echantillon contenant de l'ADN non-complémentaire. Echelle sur toutes les images : 20 nm.

Pour les assemblages mixtes hétérostructures-ADN2/NPAu-ADN1 complémentaires, de nombreux agrégats ont été mis en évidence (Figure 97a-b-d-e). Les différents constituants se distinguent dans les images où les NPAu (vert, Figure 97a) sont assemblées avec les hétérostructures. De plus, les hétérostructures peuvent être décomposées en deux parties, les domaines d'or étant plus sombres (rouge, Figure 97a) que les QR (bleu, Figure 97a). L'ADN, peu dense en électron, n'est pas visible par cette technique. Pour déterminer la localisation de l'ADN sur les hétérostructures, il faut prendre en compte la position des NPAu par rapport aux hétérostructures. De plus, la longueur de l'ADN sous

-Chapitre 4-

forme hybridée est environ égale à 15 nm (0,34 nm par paire de base) ; les distances mesurées entre particules supérieures à 15 nm ne peuvent donc être attribuées à un assemblage dirigé par l'hybridation de l'ADN. Inversement, les distances mesurées inférieures à 15 nm peuvent être attribuées à une telle interaction. Enfin, l'orientation relative entre les hétérostructures et les NPAu indique la localisation de l'ADN sur les hétérostructures. Sur les images, une particule d'or peut se superposer avec une hétérostructure, masquant le domaine d'or et ne permettant pas d'interprétation (Figure 97 a-b-c). Par ailleurs, chaque NPAu peut être reliée à une hétérostructure à une distance inférieure à 15 nm selon les domaines d'or prédominants visibles sur les images de MET. Ainsi, l'assemblage entre les hétérostructures et les NPAu semble être dirigé majoritairement par les domaines d'or, comme indiqué sur la Figure 97b. Certaines interactions ne sont pas attribuées (Figure 97b) car une NPAu masque l'hétérostructure par-dessus. La formation des agrégats issus de l'hybridation de brins d'ADN complémentaires est donc dirigée entre les domaines d'or prédominants des hétérostructures et les NPAu. La localisation de l'ADN sur les domaines d'or des hétérostructures a ainsi été montrée pour des hétérostructures synthétisées avec peu d'ADN au départ (ratio Au/ADN de départ 30 :1).

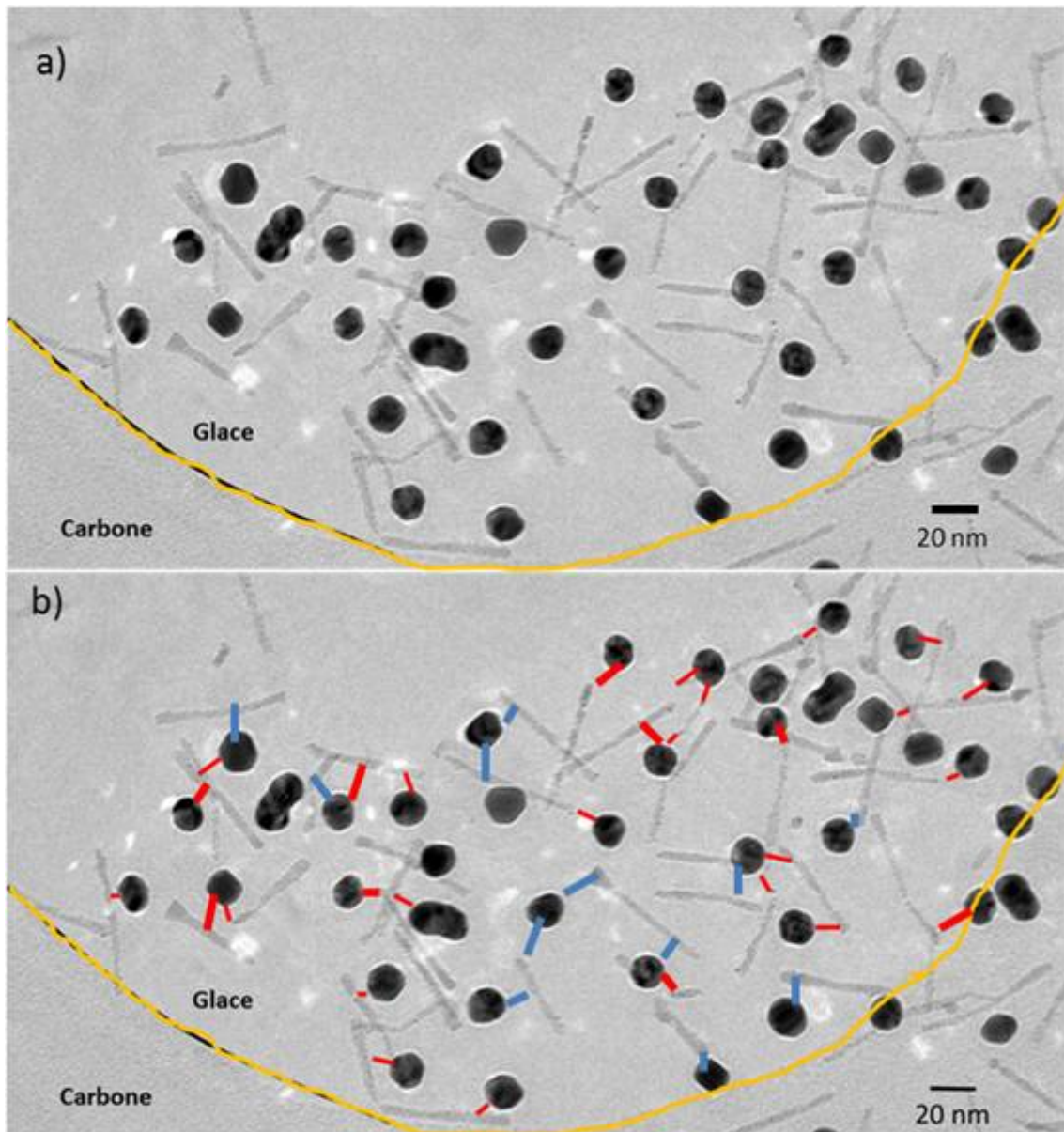


Figure 98 : a-b) Clichés Cryo-MET représentatifs d'assemblages mixtes composés d'hétérostructures-ADN 2/NPAu-ADN 1. Ratio Au/ADN 3 :1. La délimitation entre la glace (échantillon vitrifié) et la grille (sans glace) est indiquée par une ligne orange. b) même image qu'en a) mais les interactions hétérostructures/NPAu dirigées par le domaine d'or sont indiquées par une ligne rouge et les interactions apparemment non dirigée par les domaines d'or sont indiquées par une ligne bleue.

De la même manière ces expériences ont été effectuées avec des hétérostructures synthétisées avec plus d'ADN au départ (ratio Au/ADN 3 :1). Lorsque les NPAu et les hétérostructures fonctionnalisées avec l'ADN complémentaire (ADN1 et ADN2 respectivement) sont incubés, des agrégats sont formés en solution comme décrit précédemment. En revanche, le greffage de l'ADN n'est pas toujours localisé sur les hétérostructures quand la quantité d'ADN ajouté au départ est trop importante (ratio Au/ADN 3 :1). Dans ce cas, la formation des agrégats issus de l'hybridation de brins d'ADN complémentaires est dirigée à la fois entre les domaines d'or prédominants des hétérostructures, les faces latérales des QRs (lignes rouge et bleue respectivement Figure 98b) et les NPAu. Dans ce cas,

deux explications pourraient élucider la structure de ces agrégats. (1) Les thiols ont une faible affinité pour la surface des QR et lorsque les hétérostructures sont synthétisées avec plus d'ADN au départ (ratio Au/ADN au départ 3 :1), les assemblages ne sont plus dirigés majoritairement par les domaines d'or. (2) Une autre explication résiderait dans la formation de petits nuclei sur les faces latérales des hétérostructures. En effet, comme nous l'avons vu précédemment les hétérostructures contiennent de petits nuclei d'or qui pourraient être fonctionnalisés également avec de l'ADN. Ces domaines étant difficilement identifiable en MET « basse résolution », cela expliquerait l'apparent greffage de l'ADN sur les faces latérales des hétérostructures. Dans tous les cas, comme le domaine d'or prédominant contient plus de brins d'ADN en surface, l'interaction est préférentiellement dirigée par celui-ci. Les domaines d'or majoritaires des hétérostructures ont donc été fonctionnalisés avec de l'ADN pour des ratios plus grand Au/ADN (3 :1). Il est donc nécessaire de maîtriser le rapport Au/ADN afin de diriger les assemblages selon le domaine d'or prédominant des hétérostructures.

4.3.7) Conclusion

Des hétérostructures CdSe@CdS@Au/ADN ont été synthétisées. La fonctionnalisation des hétérostructures a été rendue dissymétrique en complexant au préalable l'ADN au sel d'or. La formation de domaines métalliques sur les QR, fonctionnalisés exclusivement par de l'ADN, résulte de la photo-réduction du sel d'or (Au^I -ADN) par les QR. La localisation du greffage a été montrée en cryo-MET où l'échantillon est vitrifié pour éliminer les artéfacts de séchage. L'orientation des hétérostructures assemblées avec des particules d'or sphériques portant le brin complémentaire a été analysée. De plus, les résultats en diffusion dynamique de la lumière et en cryo-MET confirment que les assemblages sont dûs à une reconnaissance spécifique entre brins d'ADN complémentaires. En perspectives, ces hétérostructures « Janus » pourraient être orientées sur une électrode (par des interactions ADN-ADN) pour fabriquer des cellules solaires nanostructurées. En effet, *via* l'hétérojonction Schottky, les électrons photogénérés sont capturés par le domaine d'or prédominant des hétérostructures ; leur orientation sur une électrode permettrait de collecter plus efficacement les électrons photogénérés.

Une approche originale a été développée pour synthétiser et fonctionnaliser spécifiquement des hétérostructures QR@Au avec de l'ADN. Un sel d'or (Au^I) a été utilisé pour synthétiser des hétérostructures QR@Au dans l'eau. Ce précurseur métallique original peut être modifié à façon par des thiolates et dans cette étude, le sel d'or a été préparé avec de l'ADN-thiol. La perspective à ce travail est d'explorer la modification d'un sel d'or similaire avec des nanocubes de platine ($\varnothing \approx 5$ nm) fonctionnalisés par des dithiols (Figure 99a-b). Ce travail est réalisé en collaboration avec C. Aimé. Le sel d'or utilisé dans cette étude est hydrophobe et un des ligands des nanocubes est échangé par des thiolates (Figure 99b). Des résultats préliminaires en MET indiquent que les assemblages QR/cubes

-Réactions d'oxydo-réduction photo-induites (photorédox) utilisant les QR_CdSe@CdS-

de platine observés sont induits par la lumière. Les assemblages résultent de la photo-réduction de l'or sur les QR, induisant le greffage des cubes de platine sur les QR. De plus, les cubes de platine sont greffés préférentiellement aux extrémités des QR (Figure 99c-d). Ces « particules hybrides » pourraient être utilisées pour produire de l'hydrogène par photo-catalyse. Les QR sont de bons photosensibilisateurs mais ne peuvent produire de l'hydrogène par photocatalyse car la réaction de réduction des protons est un processus à deux électrons ($2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow \text{H}_2$).

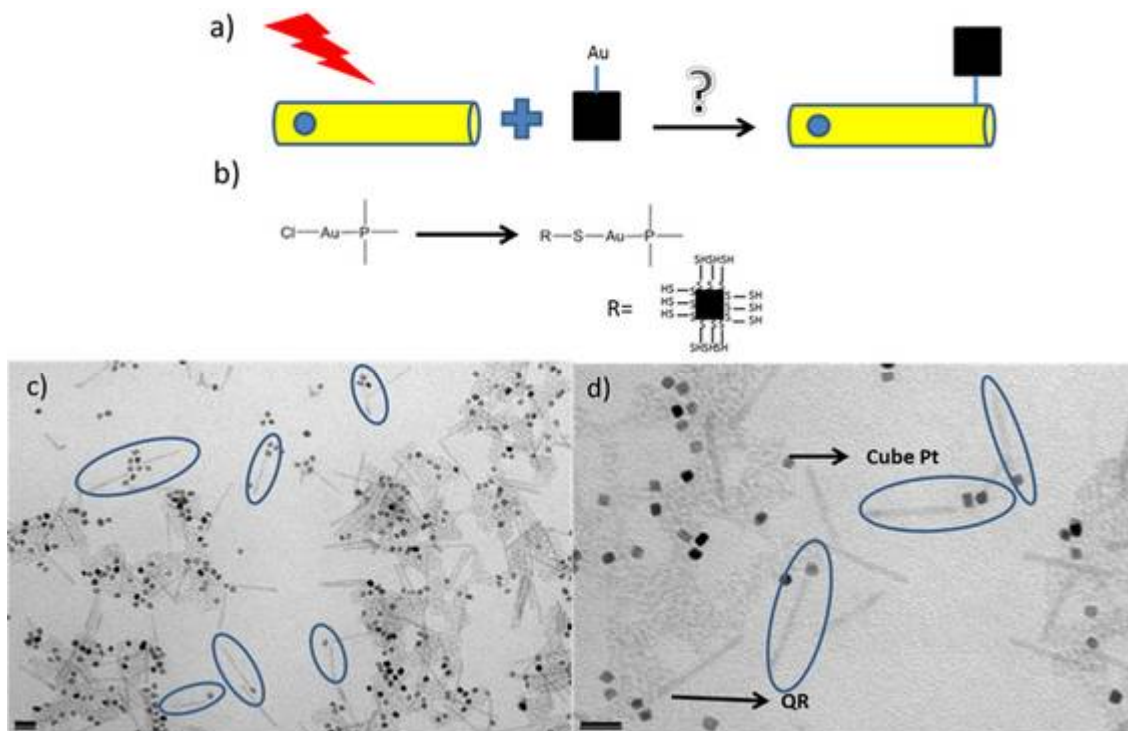


Figure 99 : a) Schéma de principe posant la problématique : le sel d'or peut-il être modifié par des cubes de platine (dithiol) et réduit sur les QR pour former des assemblages QR/cubes de platine induit par la lumière. b) sel d'or apolaire utilisé dans ce travail. c-d) clichés MET des assemblages obtenus à différents grossissements. Les zones entourées indiquent les assemblages où les cubes de platine sont aux extrémités des QR. Echelle 20 nm.

4.4) Conclusion générale

Les propriétés d'oxydo-réduction photo-induites (photorédox) des QR ont été étudiées dans l'eau. Dans ce chapitre nous avons tout d'abord déterminé les paramètres clé pour réaliser des réactions d'oxydo-réduction utilisant les QR. Notamment l'influence du rapport d'aspect des QR sur la réduction d'une sonde Red/Ox, la résazurine, a été étudiée. Ainsi les bâtonnets de plus grands rapport d'aspect ont de meilleures propriétés photorédox car la séparation des charges photogénérées est plus efficace. La méthodologie adoptée permet de passer au crible plusieurs lots de bâtonnets et de comparer leurs propriétés photorédox avec une économie de temps importante. Par ailleurs, l'activité photorédox des QR peut être modulée grâce à une fonctionnalisation judicieuse.

Ces investigations ont ensuite été étendues au greffage photo-induit de molécules organiques, les sels de benzènediazonium. L'intérêt ici est de pouvoir introduire des groupements chimiques différents pour post-fonctionnaliser les QR. Malgré des résultats encourageants qui montrent une modification de la surface, il est difficile de caractériser chimiquement le greffage. De plus, les faibles signaux enregistrés sont cohérents avec un greffage localisé sur les QR. Enfin, les QR-AD ont été post-fonctionnalisés avec un ester activé réagissant avec le groupement éthylamine des QR. Cette dernière expérience montre la possibilité de greffer des ligands d'intérêts sur les QR-AD.

Afin de mesurer la regio-sélectivité du greffage, un sel métallique a été réduit sur les QR pour former des hétérostructures QR/Au. La synthèse de ces hétérostructures a été optimisée pour avoir un domaine d'or prédominant par QR et permet notamment d'avoir une séparation de charges efficace. En effet, la réduction photo-induite du sel d'or sur les QR induit l'extinction quasi-totale de la fluorescence des QR. La conversion des photons en porteurs de charges est donc améliorée *via* la formation de jonction de type Schottky car les phénomènes de recombinaison radiatifs ont été éliminés. De plus, le sel d'or original utilisé dans ce travail peut être modifié par des thiolates de façon à réduire et fonctionnaliser en une étape le sel d'or sur les QR. Des hétérostructures Janus ont ainsi été synthétisées où les QR sont fonctionnalisés avec le ligand peptidique C₃E₆D et le domaine d'or par de l'ADN simple brin. Ces hétérostructures Janus peuvent donc être utilisées pour diriger des assemblages *via* le domaine d'or des QR par hybridation de l'ADN.

En particulier, pour la synthèse d'hétérostructures, un donneur sacrificiel est employé : la triéthanolamine pour limiter les phénomènes de photo-corrosion. L'introduction de cette « anode sacrificielle » est nécessaire pour envisager des réactions photo-induites tout en limitant la dégradation de la coquille des QR. D'autres donneurs sacrificiels auraient pu être envisagés comme les sulfites.^{184, 195} Une alternative serait de modifier la nature de la coquille inorganique des QR afin

-Réactions d'oxydo-réduction photo-induites (photorédox) utilisant les QR_CdSe@CdS-

d'éviter l'utilisation du soufre (CdSe). En effet, en présence d'oxygène, des études ont montré que le soufre de la coquille inorganique s'oxydait pour former des sulfites.¹⁸³ En perspective, les hétérostructures pourraient être utilisées pour catalyser des réactions chimiques. Dans un tel système, un donneur sacrificiel doit être introduit pour permettre la catalyse. Cependant, il est intéressant d'utiliser des donneurs sacrificiels dont la décomposition comporte un intérêt comme des polluants organiques par exemple. Une autre possibilité serait de synthétiser une hétérostructure composée de deux sites catalytiques pour catalyser des réactions de réduction et d'oxydation en parallèle. Dans cette optique, des hétérostructures capables de réaliser la réaction de dismutation de l'eau ($2\text{H}_2\text{O} \rightarrow 2\text{H}_2 + \text{O}_2$) seraient très intéressantes pour développer la filière hydrogène.

Chapitre 5 : Assemblages QR/Hydrogénase pour le développement de la « filière hydrogène ».

Développement de la filière H₂.

Dans le but de diminuer les coûts de fabrication des piles à combustibles, il est nécessaire de trouver de nouveaux catalyseurs efficaces (remplacer le platine). Un catalyseur est caractérisé par plusieurs paramètres. Un catalyseur électrochimique « efficace » doit présenter une faible surtension. Le phénomène de surtension exprime la différence entre le potentiel électrochimique à appliquer et le potentiel thermodynamique (couple H⁺/H₂ dans le cas des piles à combustible étudiées ici). Un autre paramètre important est l'efficacité catalytique ou « turnover frequency » (TOF). Il est possible de mesurer le TOF en électrochimie (si le mécanisme de réaction est connu) en reliant le nombre d'électrons échangés et la quantité d'H₂ oxydée. Enfin, il est nécessaire que le catalyseur choisi soit robuste (stabilité) et que l'activité catalytique soit spécifique (pas de réaction secondaire). Des métalloenzymes (catalyseurs naturels) respectent ce cahier des charges : les hydrogénases (Hase). En effet, ces enzymes catalysent très efficacement les réactions d'oxydation et de réduction du couple H⁺/H₂. Des études récentes ont permis *via* la cristallisation des protéines, de déterminer leurs structures.¹⁹⁶ Le site actif de ces métallo-enzymes contient des métaux non précieux (Fe, Ni), profondément enfouis au sein de la protéine. Une chaîne composée de 3 groupes Fer-soufre [FeS] assure la conduction des porteurs de charges depuis/vers le site actif. Trois familles d'Hase peuvent être répertoriées selon la nature des métaux composant leur site actif : les Hase [Fe], [Fe-Fe] et [Ni-Fe].¹⁹⁷ En collaboration avec l'équipe d'Elisabeth Lojou (CNRS UMR 7281, Marseille), nous avons travaillé avec une Hase [Ni-Fe] extraite de la bactérie hyperthermophile *Aquifex aAeolicus*.

5.1) L'hydrogénase d'*Aquifex aAeolicus* : un modèle pour le développement de biopile à combustible H₂/O₂.

Toutes les expériences utilisant l'Hase ont été réalisées au sein de l'équipe d'E. Lojou (CNRS UMR 7281, Marseille) au cours de trois séjours successifs sur Marseille (4 semaines au total).

5.1.1) Introduction et état de l'art

Aquifex aAeolicus est une bactérie hyperthermophile appartenant à la famille des Archea. Ces bactéries se développent dans des milieux extrêmes et notamment anaérobiques. Ainsi l'Hase extraite de cette bactérie possède une température de fonctionnement optimale de 85°C. Cette Hase de type [Ni-Fe] présente l'avantage d'être tolérante à l'oxygène, ce qui la rend facilement manipulable^{197a} en dehors d'une boîte à gants contrairement à beaucoup d'autres Hase à [NiFe] et aux Hases [Fe] ou [Fe-Fe].^{197b} Elle est aussi résistante au monoxyde de carbone et fonctionne sur une large gamme de température. Elle présente également l'avantage d'être bio-disponible. Cette enzyme catalyse très efficacement la réaction d'oxydation de l'hydrogène ($H_2 \rightarrow 2H^+ + 2e^-$). Cette Hase [Ni-Fe] est donc un biocatalyseur potentiel pour une utilisation en pile à combustible pour la conversion d'énergie chimique en électricité. Dans cette optique, le groupe d'E. Lojou a récemment démontré la possibilité d'utiliser cette enzyme à l'anode d'une biopile à combustible.¹⁹⁸ La haute température de fonctionnement de l'enzyme (issue d'une bactérie hyperthermophile) est particulièrement adaptée pour ces applications, où la température de fonctionnement des moteurs peut atteindre des températures élevées. Par ailleurs, l'Hase d'*Aquifex aAeolicus* peut être utilisée comme un modèle d'hydrogénase catalysant la réaction inverse ($2H^+ + 2e^- \rightarrow H_2$). En effet, les résultats acquis avec cette enzyme, manipulable « en pailasse » (dans les conditions normales), pourraient être transposés à une Hase [Fe-Fe] ou [Fe] (sensible à l'oxygène) par la suite pour produire de l'hydrogène.

L'objectif de ce travail était d'étudier le comportement des complexes QR@Hase avec la lumière. Dans un premier temps, la sensibilité de l'Hase seule à la lumière a été étudiée. Dans un deuxième temps, un complexe QR@Hase a été formé pour mettre en évidence des phénomènes photo-induits de transferts de charges entre la particule inorganique et ce catalyseur naturel. La mise en évidence de l'activité photo-induite de l'Hase est un résultat fortuit issu des expériences contrôles QR@Hase. Par ailleurs, nous avons exploré la possibilité que les QR augmentent l'activité catalytique de l'enzyme grâce à une excitation lumineuse

5.1.2) Présentation du montage à trois électrodes utilisé dans ce travail

Afin d'évaluer l'activation de l'enzyme photochimiquement par les QR autoassemblés, un montage classique de mesures électrochimiques à trois électrodes a été utilisé avec la possibilité de (1) photoirradier l'électrode de travail sur laquelle sont déposés les QR et (2) injecter des gaz

d'hydrogène (H₂) ou azote pour activer ou inhiber l'activité catalytique de l'enzyme respectivement. Les détails du montage sont présentés en partie expérimentale (page 192).

5.1.3) Interaction entre *Aquifex aAeolicus* et la lumière

Purification et propriétés physico-chimiques de l'enzyme

Brièvement, les bactéries natives d'*Aquifex aAeolicus* sont produites dans un milieu de culture¹⁹⁹ puis l'enzyme est isolée de la membrane cellulaire des bactéries par ultra-centrifugation et purification sur colonne. Le protocole de purification complet a été décrit par Brugna-Guiral et al.^{197a} C'est un processus long (≈2 semaines) et quelques milligrammes d'enzymes sont isolés après les étapes de purification. La purification de cette enzyme nécessite l'emploi d'un surfactant, le n-Dodecyl-β-D-maltoside (DDM), introduit en large excès (1,5 mg DDM/ mg de protéine). A l'issue de la purification, il reste encore du DDM en excès. L'emploi du DDM change les propriétés colloïdales de l'enzyme. En effet, il a été montré que le DDM se fixe sur l'hélice transmembranaire hydrophobe et permet ainsi de solubiliser la protéine en suspension aqueuse (Figure 100).²⁰⁰ Par ailleurs, le point isoélectrique de l'enzyme se situe aux alentours de pH = 7.^{197a}

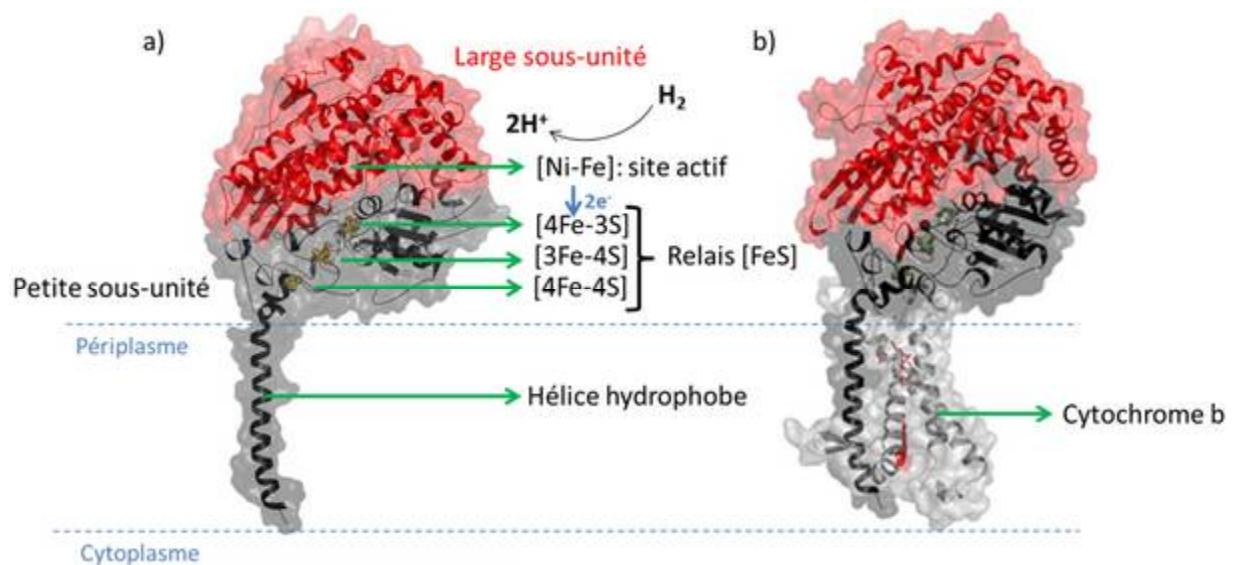


Figure 100 : a) Structure de l'enzyme *Aquifex aAeolicus*. b) Structure de l'enzyme *Aquifex aAeolicus* avec le cytochrome b. Structures tirées de²⁰⁰

La protéine est composée de deux sous-unités (Figure 100). La grande sous-unité (70kDa, rouge Figure 100) contient le site actif [Ni-Fe] de l'enzyme. La petite sous-unité (30 kDa, noir Figure 100) contient les trois relais [FeS] distants de moins de 15 Å. L'hélice hydrophobe transmembranaire, purifiée avec les deux sous unités est située à moins de 15 Å du centre FeS de surface. *In vivo*, les électrons générés lors de la réaction d'oxydation de l'hydrogène (H₂) sont relayés *via* les [FeS] vers un

cytochrome *b* membranaire (Figure 100b). Le cytochrome *b* est ici accepteur d'électrons, réduisant des quinones dans le cytoplasme. Dans ce travail, l'enzyme est purifiée sans le cytochrome *b* (Figure 100a) et séchée sur une électrode pour collecter les électrons issus de la réaction d'oxydation de l'hydrogène.

Forme active/inactive des hydrogénases : état de l'art.

La compréhension des formes actives et inactives des hydrogénases [Ni-Fe] est importante pour les applications utilisant ces enzymes ou des catalyseurs bio-inspirés. Ainsi la sensibilité à l'oxygène du site actif a été largement étudiée. Les hydrogénases [Fe] et [Fe-Fe] sont dégradées de façon irréversible en présence d'oxygène limitant leurs applications technologiques.²⁰¹ Inversement, l'activité des Hases [Ni-Fe] est généralement inhibée de façon réversible en présence d'oxygène.²⁰² L'activité catalytique de l'enzyme est à relier avec l'état rédox du site actif et selon le degré d'oxydation de celui-ci, l'Hase est active ou inactive. En présence d'oxygène, le site actif de l'enzyme [Ni-Fe] est « désactivé » en deux formes : « Ni-A » et « Ni-B ».²⁰³ La forme Ni-B est rapidement réactivée sous H₂ ou en présence d'agents réducteurs²⁰⁴ alors que la cinétique de réactivation de la forme Ni-A est plus lente. La nature du ligand oxygéné pontant le site actif dans les deux formes Ni-A et Ni-B est différente, ce qui explique les différences de cinétique de réactivation. Le site actif dans la forme Ni-B porte un ligand hydroxo (OH⁻).²⁰⁵ La présence du ligand peroxy dans la forme Ni-A reste hypothétique et est encore soumise à débat.²⁰⁶

La sensibilité à la lumière du site actif des hydrogénases est un domaine encore inexploré. Certaines études ont démontré que l'irradiation pouvait changer la conformation du site actif ou bien encore induire la réduction des ligands pontant.²⁰⁷ Dans la littérature, ces études sont supportées par de la spectroscopie infrarouge ou Raman. Dans ce travail, la sensibilité à la lumière de l'hydrogénase d'*Aquifex aAeolicus* a été analysée en électrochimie.

Suivi de l'activité catalytique de l'enzyme en électrochimie.

La photosensibilité de l'Hase a été étudiée par l'équipe d'E. Lojou et a servi de base aux travaux couplant l'enzyme et les QR. Ces expériences (sans QR) ont été développées dans le cadre du post-doctorat d'A. Ciaccafava au BIP. Les mécanismes de fonctionnement de l'enzyme sont ici brièvement présentés car ils n'appartiennent pas à mon domaine de compétence.

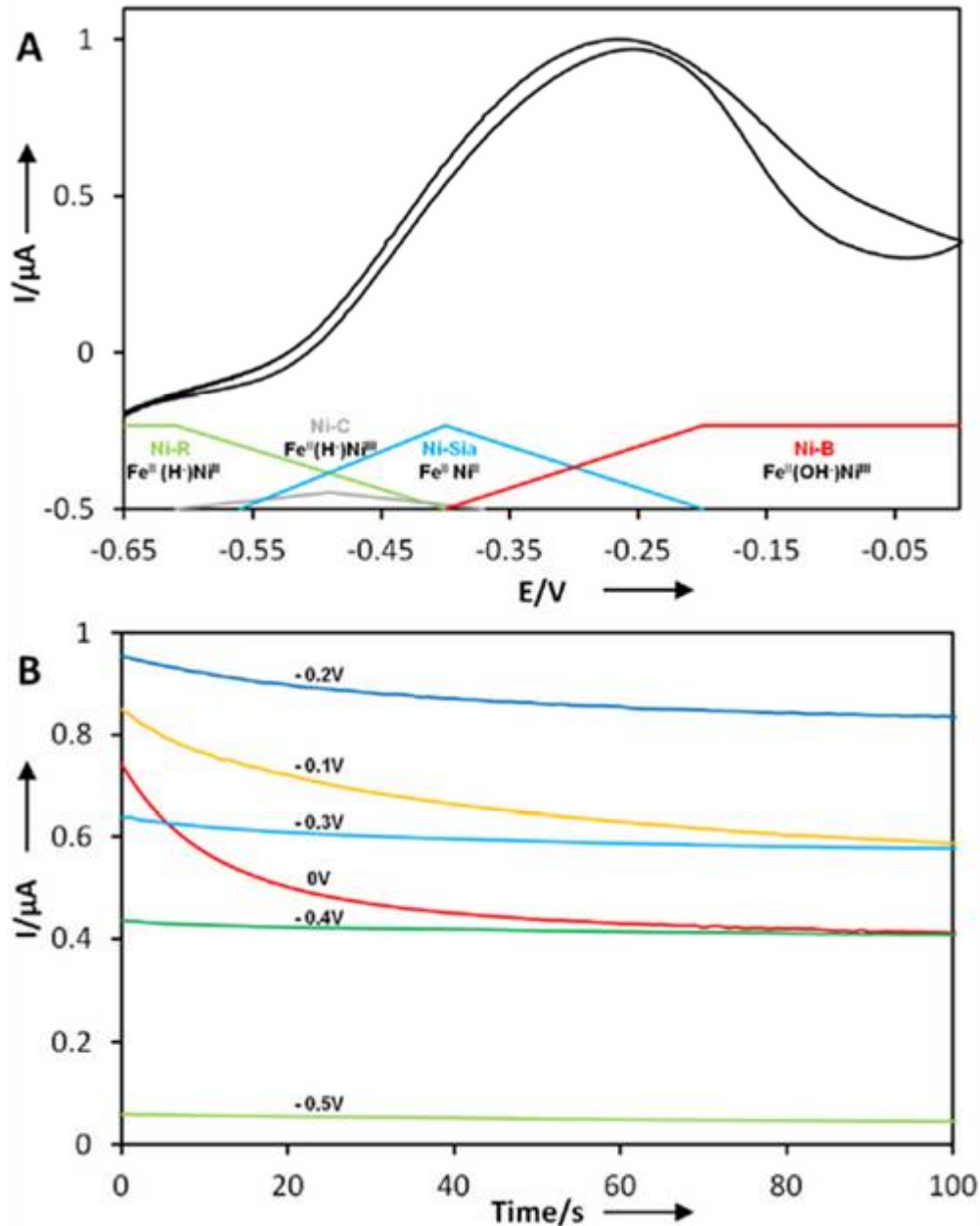


Figure 101 : a) Oxydation de l'hydrogène (H_2) catalysée par l'Hase d'*Aquifex aeolicus* séchée sur une électrode en graphite pyrolytique et suivie en voltampérométrie cyclique. Les états Rédox du site actif en fonction du potentiel sont adaptés de ²⁰⁸. b) Influence du potentiel sur l'oxydation de l'hydrogène et suivi en chronoampérométrie : -0,5 V (vert clair), -0,4V (vert), -0,3V (bleu clair), -0,2 V (bleu), -0,1 V (orange), 0V (rouge). Les potentiels sont mesurés vs Ag/AgCl. 5 $mV.s^{-1}$; 50 mM HEPES ; pH 7,2 ; 60°C ; sous atmosphère d' H_2 .

L'activité catalytique de l'hydrogénase est dépendante du potentiel imposé à l'électrode. L'Hase de *Aquifex aeolicus* (Aa) oxyde ($i > 0$) l'hydrogène (H_2) à partir de -0,55V (vs Ag/AgCl) pour atteindre un maximum d'activité aux alentours de -0,3V (Figure 101a). L'activité catalytique de l'Hase de Aa commence à décroître fortement pour des potentiels plus élevés (Figure 101a). Les différents états rédox du site actif sont notés Ni-R, Ni-C, Ni-Sia et Ni-B.²⁰⁸ La diminution de l'activité catalytique de l'enzyme aux potentiels plus oxydants est à relier à un processus de désactivation où le site actif de l'enzyme est dans l'état Ni-B (présence d'un ligand pontant OH⁻). De plus, ce processus est réversible

-Assemblages QR/Hydrogénase pour le développement de la « filière hydrogène »-

aux bas potentiels (Figure 101a). Pour des potentiels plus oxydants ($>0V$), l'enzyme est inhibée de façon irréversible. Le processus de désactivation de l'enzyme entre $[-0,3V ; 0V]$ peut être suivi en chronoampérométrie ($i=f(t)$, potentiel fixe). Entre $[-0,5V ; -0,3V]$ le courant correspondant à l'oxydation de l'hydrogène est stable (Figure 101b). Cependant, entre $[-0,3V ; 0V]$ l'activité catalytique diminue : plus le potentiel est élevé, plus le courant diminue rapidement (Figure 101b). La diminution du courant à ces potentiels est associée à la désactivation de l'enzyme.

Influence de l'irradiation sur l'activité catalytique de l'enzyme

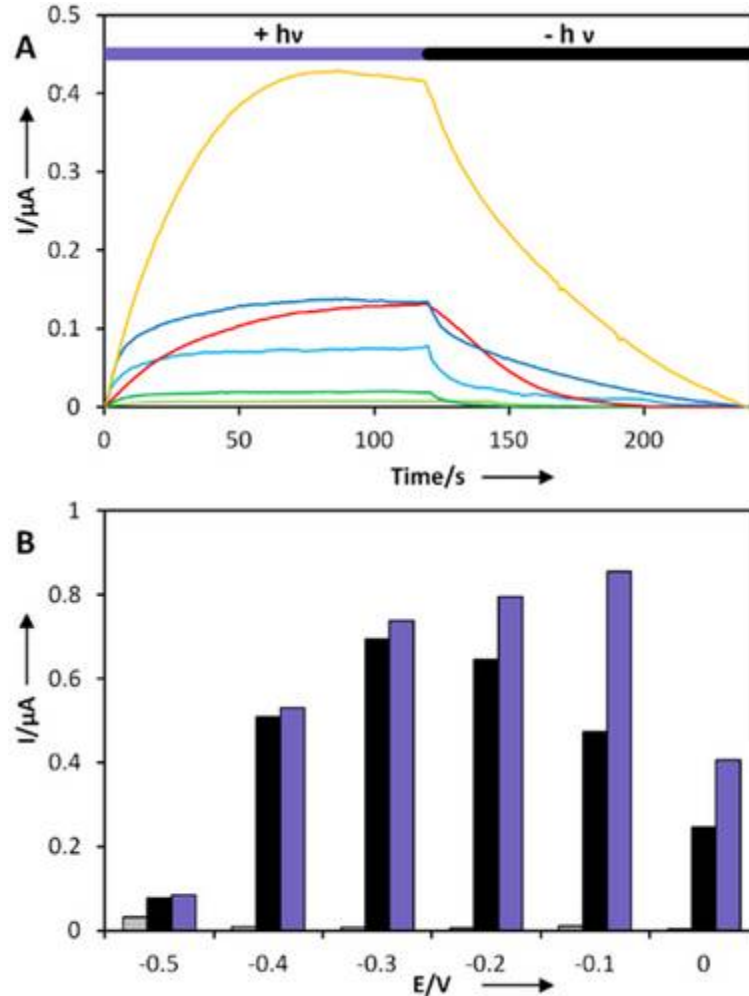


Figure 102 : a) Activité catalytique de l'Hase de Aa suivi en chronoampérométrie lorsque l'Hase de Aa est irradiée 120s on/off. -0,5 V (vert clair) ; -0,4V (vert) ; -0,3V (bleu clair) ; -0,2 V (bleu) ; -0,1 V (orange) ; 0V (rouge). b) Comparaison de l'activité catalytique de l'enzyme avec (violet) et sans (noir) irradiation. Les photocourants obtenus avec l'électrode nue sont indiqués en gris. Les potentiels sont mesurés vs Ag/AgCl. 50 mM HEPES ; pH 7,2 ; 60°C ; sous atmosphère d' H_2 .

La photosensibilité ($\lambda = 405\text{ nm}$) de l'enzyme a été suivie en chronoampérométrie (120s on/off) où le courant mesuré avec l'irradiation est retranché aux courants catalytiques obtenus sans irradiation (Figure 102a). La différence des deux courbes expérimentales exprime le courant photo-induit: le photocourant. Les photocourants mesurés sur l'électrode nue (sans Hase) sont très faibles (gris, Figure 102b), confirmant la photo-sensibilité de l'Hase de Aa. Des photocourants d'oxydation de

-Chapitre 5-

différentes amplitudes sont mesurés en fonction du potentiel (Figure 102a). L'activité catalytique de l'enzyme est donc globalement plus importante sous irradiation. De plus, entre [-0,5V ; -0,3V], le photocourant représente seulement 5 % du courant catalytique obtenu sans irradiation alors que pour les potentiels plus oxydants de -0,2, -0,1 et 0V le photocourant augmente de 23%, 80% et 65% respectivement (Figure 102a-b). Il est intéressant de noter que les photocourants mesurés sont plus importants dans le domaine de potentiel de désactivation de l'enzyme [-0,3V;0 V]. La forte augmentation de l'activité catalytique de l'enzyme avec l'irradiation suggère fortement un processus de réactivation photo-induit.

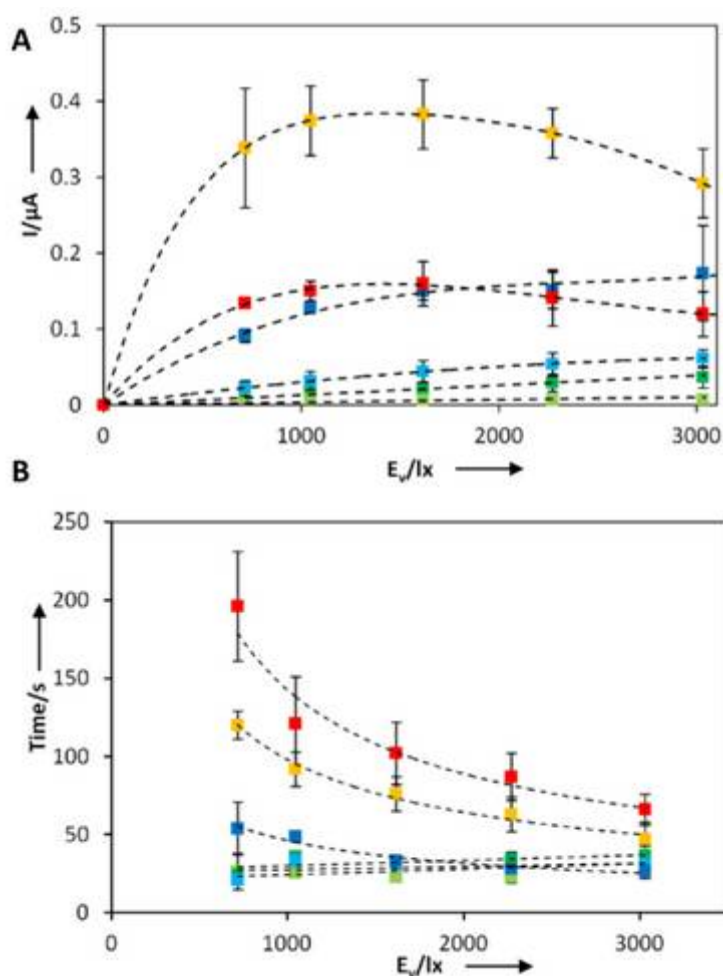


Figure 103 : a) Suivi en chronoampérométrie des photo-courants catalytiques mesurés pour l'Hase adsorbée sur une électrode de graphite pyrolytique en fonction de l'intensité lumineuse (lux). -0,5 V (vert clair) ; -0,4V (vert) ; -0,3V (bleu clair) ; -0,2 V (bleu) ; -0,1 V (orange) ; 0V (rouge). b) Effet de l'intensité lumineuse sur le temps d'équilibration du photo-courant. -0,5 V (vert clair) ; -0,4V (vert) ; -0,3V (bleu clair) ; -0,2 V (bleu) ; -0,1 V (orange) ; 0V (rouge). Les potentiels sont mesurés vs Ag/AgCl. 50 mM HEPES ; pH 7,2 ; 60°C ; sous atmosphère d'H₂.

Pour le confirmer, l'amplitude du photo-courant a été mesurée en fonction de l'intensité lumineuse (exprimée en lux) pour différents potentiels à l'électrode. L'intensité lumineuse a été mesurée grâce à un luxmètre. Deux comportements peuvent être identifiés (Figure 103a). Pour les potentiels inférieurs à -0,3V, les photo-courants catalytiques augmentent linéairement avec l'intensité

-Assemblages QR/Hydrogénase pour le développement de la « filière hydrogène »-

lumineuse (Figure 103a). Les photo-courants mesurés, dans cette gamme de potentiels, sont de faible amplitude en accord avec les résultats de la Figure 102. Pour les potentiels supérieurs à $-0,3V$, le photocourant augmente fortement, en accord avec les résultats précédents (Figure 102). De plus, le photocourant diminue à partir de 1500 lux (Figure 103b). La diminution du photocourant dans ce cas serait liée à la photo-dégradation du site actif dans l'état Ni-B, en accord avec des mesures récentes effectuées (mesures FTIR et EPR) sur une Hase [Ni-Fe] de *Desulfovibrio vulgaris* Miyazaki.^{207b}

Les cinétiques pour atteindre le maximum de photocourant diffèrent selon le potentiel appliqué (Figure 103b). Pour les potentiels inférieurs à $-0,3V$, l'activité catalytique induite par l'irradiation atteint un plateau et la cinétique de réactivation de l'enzyme est peu dépendante de l'intensité lumineuse. Pour les potentiels supérieurs à $-0,3V$, deux comportements sont identifiés. Premièrement, la cinétique de réactivation de l'enzyme est plus longue (Figure 103b). Ce résultat peut être directement corrélé à l'existence de la forme inactive Ni-B à ces potentiels. Deuxièmement, la cinétique de réactivation de l'enzyme est plus rapide pour des intensités lumineuses plus importantes (de 700 à 3000 lux, Figure 103b). Ce résultat supporte l'hypothèse d'une réactivation photo-induite du site actif des hydrogénases.

5.1.4) Conclusion

Ces expériences ont montré que l'activité catalytique de l'enzyme était meilleure sous irradiation, en accord avec les photocourants d'oxydation mesurés. Par ailleurs, l'amplitude des photocourants mesurés dépend du potentiel appliqué à l'électrode. Ainsi les photocourants mesurés sont plus importants dans la gamme de potentiel $[-0,3V ; 0 V]$, où l'activité catalytique de l'Hase est connue pour être moins importante à cause d'un état Rédox « Ni-B » du site actif. De plus, la cinétique de réactivation de l'enzyme est plus rapide pour des intensités lumineuses plus importantes. Ces résultats seraient donc attribuables à une réactivation photo-induite de l'enzyme. Par ailleurs, l'irradiation pourrait endommager le site actif de l'enzyme pour des intensités lumineuses supérieures à 1500 lux. Par la suite, l'intensité lumineuse a été fixée à 700 lux.

Ces résultats permettent d'avancer l'hypothèse suivante, en accord avec la littérature : en spectroscopie infrarouge, il a été montré que l'état « Ni-B » du site actif des hydrogénases, sensible à l'oxygène, était peu photo-sensible. Pour ce type d'Hases, le passage de l'état actif « Ni-SIa » à l'état inactif « Ni-B » passe par un état intermédiaire « Ni-SIr » connu pour être photosensible.^{207b} Cela a été démontré pour des hydrogénases sensibles à l'oxygène qui catalysent efficacement la réaction de réduction des protons en hydrogène. En revanche, l'existence de cet état intermédiaire pour les hydrogénases résistantes à l'oxygène n'a jamais été démontrée en spectroscopie infrarouge à cause de sa très courte durée de vie.²⁰⁸⁻²⁰⁹ Les résultats obtenus dans ce travail démontrent que l'Hase

Aquifex aAeolicus est photosensible et ils démontrent indirectement l'existence de cet état intermédiaire photosensible.

L'Hase d'*Aquifex aAeolicus* peut donc être utilisée dans des gammes de potentiels (entre -0,3 ;0V) plus larges grâce à une excitation lumineuse. Ces résultats sont prometteurs pour améliorer les performances des piles à combustibles qui utilisent ces catalyseurs naturels. Par ailleurs, ces résultats pourront être étendus aux catalyseurs synthétiques qui miment le site catalytique des hydrogénases.

5.2) Formation d'un complexe Hase/QR et comportement sous irradiation.

5.2.1) Etat de l'art sur l'assemblage d'Hases et de nanoparticules semi-conductrices

Des assemblages dirigés par des interactions électrostatiques ont été obtenus entre des quantum dots CdTe fonctionnalisés par de l'acide mercaptopropionique (chargés négativement, $\text{pH} > 4.3$) et une hydrogénase [Fe-Fe] (localement chargée positivement, $\text{pK}_{\text{a}_{\text{lysine}}} = 10,8$).^{15b, 132a} Dans ce travail, le groupe de King utilise de l'acide ascorbique comme donneur sacrificiel et de l'hydrogène est produit sous irradiation. En 2012, le même groupe a étendu ce type d'approche bio-hybride à des bâtonnets CdS comme photosensibilisateur.^{132b} Lorsque l'énergie de la bande interdite du photosensibilisateur est trop élevée, comme TiO_2 ($E_{\text{BG}} : \text{CdTe} < \text{CdS} < \text{TiO}_2 = 1,4\text{eV} < 1,87\text{eV} < 3,2\text{eV}$), une nouvelle stratégie est adoptée pour collecter la lumière du visible. Ainsi, un autre photosensibilisateur (organique ou semi-conducteur) est introduit et l'oxyde de titane sert de médiateur entre le nouveau photosensibilisateur et l'hydrogénase.²¹⁰ La triéthanolamine est utilisée comme donneur sacrificiel.

Les hydrogénases de type [Fe-Fe] sont plus efficaces pour la production d'hydrogène que les hydrogénases [Ni-Fe]. Des catalyseurs synthétiques s'inspirent du site actif de ces métallo-enzymes. Ainsi les catalyseurs bio-inspirés de DuBois et al sont plus actifs que les hydrogénases [Fe-Fe].²¹¹ D'autres catalyseurs non bio-inspirés catalysent également ces réactions, comme les cobaloximes (complexe de cobalt).^{64, 173} Enfin un catalyseur artificiel, inspiré des hydrogénases [Fe-Fe], a été assemblé avec des quantum dots CdTe pour produire de l'hydrogène sous irradiation.²¹² Dans ces travaux, les transferts de charges entre le photosensibilisateur et le catalyseur sont mis en évidence par la production d'hydrogène. En effet, l'hydrogène produit est dosé par chromatographie en phase gazeuse ; la quantité d'hydrogène produite est rapportée au nombre de photons absorbés, ce qui permet de caractériser efficacement le système.

Aucun travail dans la littérature ne rapporte l'assemblage d'une hydrogénase et d'un photosensibilisateur inorganique pour catalyser la réaction d'oxydation de l'hydrogène sous irradiation. Les protons photo-générés ne peuvent être dosés avec précision dans le milieu réactionnel. Cependant, en électrochimie le flux d'électrons, issu de la réaction d'oxydation de

-Assemblages QR/Hydrogénase pour le développement de la « filière hydrogène »-

l'hydrogène, peut être mesuré. Les QR et l'Hase d'*Aquifex aAeolicus* sont combinés, par greffage covalent de la protéine à la surface des QR, pour former des complexes QR@Hase robustes.

5.2.2) Formation du complexe QR@Hase et caractérisation par électrophorèse sur gel d'acrylamide.

La stratégie de greffage envisagée est basée sur un couplage classique de type EDC/NHS (N-(3-Dimethylaminopropyl)-N'-ethylcarbodiimide hydrochloride (EDC)/N-Hydroxysuccinimide (NHS)). Ce couplage permet d'activer l'acide carboxylique terminal présent sur les QR pour interagir avec les amines primaires de la protéine par liaison peptidique covalente. Les acides carboxyliques des QR- $C_3A_{11}E_4CO_2H$ (30*5 nm) réagissent avec les lysines en surface de l'Hase (Figure 104a). Cette méthode de greffage de l'enzyme a été adaptée d'un travail de l'équipe d'E. Lojou sur des nanotubes de carbones fonctionnalisés par des acides carboxyliques.^{198, 213} La formation du complexe QR@Hase a été mise en évidence sur gel d'électrophorèse.

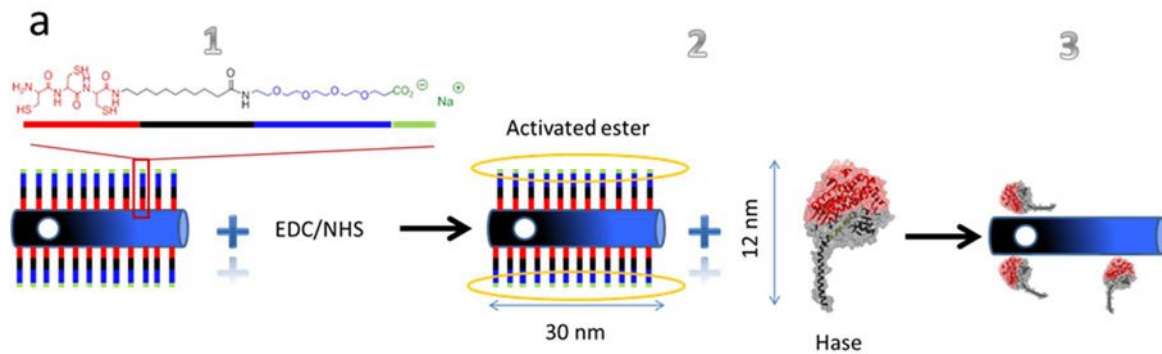


Figure 104 : a) Schéma de la stratégie adoptée pour former le complexe QR@Hase. Les QR (30*5 nm) sont fonctionnalisés avec le peptide $C_3A_{11}E_4CO_2H$ et le complexe QR@Hase est assemblé *via* un couplage peptidique.

Les premiers essais ont été effectués sur des gels d'agarose mais les tests d'activités se sont révélés infructueux, probablement à cause de l'épaisseur importante du gel qui limite la diffusion des espèces réactives dans le gel (résultats non montrés ici). Après une mise au point des conditions expérimentales, le complexe QR@Hase a donc été caractérisé en électrophorèse sur gel en polyacrylamide en condition native. Les gels d'acrylamide sont très utilisés en biochimie pour révéler l'activité de certaines enzymes et déterminer leurs poids moléculaires.²¹⁴ Les échantillons sont préparés dans du tampon de charge (Tris/HCl ; pH=6,8 ; glycerol 20% ; bleu de bromophénol 0,01%).

Chaque gel d'acrylamide est composé de deux types de gels superposés dans la cellule : un gel de concentration (4 %) (en haut) et un gel de séparation (5%). Le gel de concentration permet une entrée homogène de l'échantillon dans le gel de séparation (Figure 105a). Les concentrations en acrylamide des gels ont été optimisées pour la migration des QR. En effet, aucune migration n'était observée pour les gels de séparation de concentration supérieure à 5% en acrylamide (non montré).

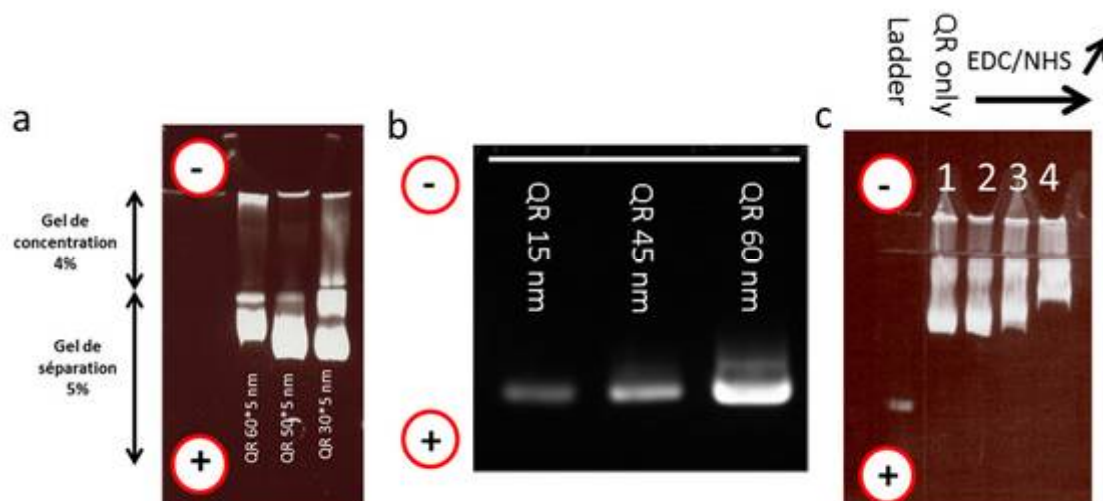


Figure 105 : a-c) Photographies de gel d'électrophorèse en polyacrylamide « natif » (NATIVE P.A.G.E) prises sous illumination UV. Concentration QR : 20 mg/mL, gel séparation : 5% acrylamide. a) Comparaison de la migration de QR de rapport d'aspects différents, de gauche à droite : 60*5, 50*5, 30*5 nm. b) Gel d'agarose (0,5%) de QR-C₃E₆D de différentes morphologies. Migration dans tampon Britton et Robinson¹³⁸ (pH = 6, I = 20 mM) durant 45 min, 50V. c) Activation des acides carboxyliques des QR-C₃A₁₁E₄CO₂H (30*5 nm) avec des concentrations EDC/NHS croissante. De gauche à droite : (1) 0/0, (2) 4/1 mM, (3) 40/10 mM, (4) 400/100 mM.

La migration des QR dans les gels d'acrylamide n'est pas uniforme (Figure 105a) et se divise en trois spots visibles alors que les mêmes particules migrent selon un seul spot en gel d'agarose avec parfois une tâche résiduelle dans le puit initial liée à la présence d'agrégats (Figure 105b). Ici les agrégats se retrouvent concentrés à chaque entrée de gel (gel de concentration et gel de séparation) ce qui explique la présence de deux tâches résiduelles correspondant aux agrégats. Par ailleurs, l'incubation des QR avec EDC/NHS permet d'activer les acides carboxyliques des QR-C₃A₁₁E₄CO₂H (Figure 105c) ; la migration des QR est alors ralentie avec l'ajout d'EDC/NHS. La formation d'esters activés sur les QR-C₃A₁₁E₄CO₂H diminue la charge surfacique des QR. Par la suite, la concentration en EDC et en NHS a été fixée à 400 et 100 mM respectivement.

Le test d'activité révélant l'Hase permet de démontrer (1) la co-localisation des QR et de la protéine au sein du même spot de migration (démontrant la formation du complexe QR@Hase) et (2) la conservation de l'activité enzymatique de la protéine. En effet, le greffage d'une protéine sur une nanoparticule pourrait changer sa conformation ou/et dénaturer la protéine et donc affecter son activité.²¹⁵

-Assemblages QR/Hydrogénase pour le développement de la « filière hydrogène »-

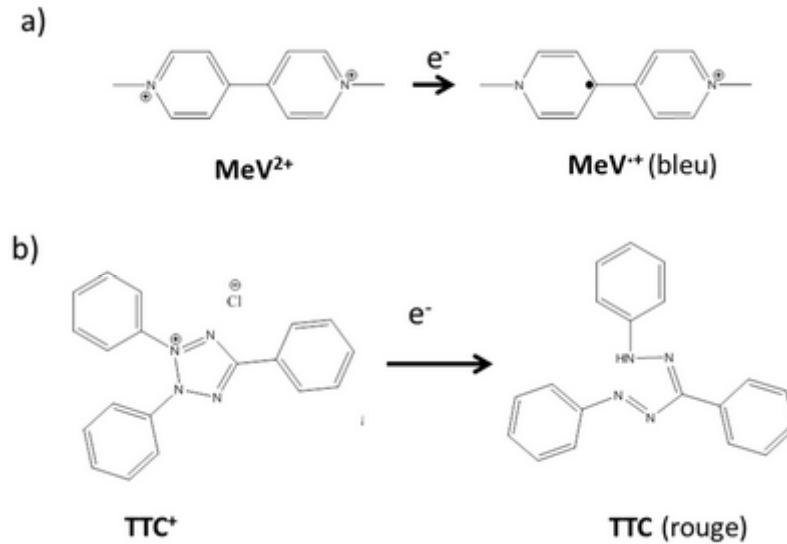


Figure 106 : Formes Rédox (Ox/Red) des indicateurs colorés utilisés dans le test d'activité. a) Méthyl viologène (MeV) et b) Chlorure de tetrazolium (TTC).

Brièvement, après la migration, le gel est placé dans une enceinte fermée et immergé dans un tampon HEPES (50mM, pH=7). L'enceinte est dégazée (Ar) puis est mise sous atmosphère saturée d'hydrogène (H₂) et chauffée. Afin de démontrer l'activité enzymatique, le méthyl viologène (MeV) et le chlorure de tetrazolium (TTC) sont introduits comme indicateurs rédox (Figure 106). L'oxydation de l'hydrogène par l'enzyme (H₂→2H⁺+2e⁻) réduit le MeV selon la réaction suivante : 2MeV_{ox} (incolore) +2e⁻→2MeV_{red} (bleu). Le TTC permet de fixer la coloration selon la réaction suivante : MeV_{red}+TTC_{ox}(incolore)→MeV_{ox}+TTC_{red} (rouge) localement sur le gel là où l'enzyme est active. Ainsi, les tâches rouges (Figure 107b) indiquent la localisation de la protéine active sur le gel. Afin de déterminer la localisation de l'enzyme dans le gel, il est aussi possible d'introduire du bleu de Coomassie (fixation sur les liaisons peptidiques). Cependant, cet indicateur coloré ne caractérise pas l'activité de la protéine.

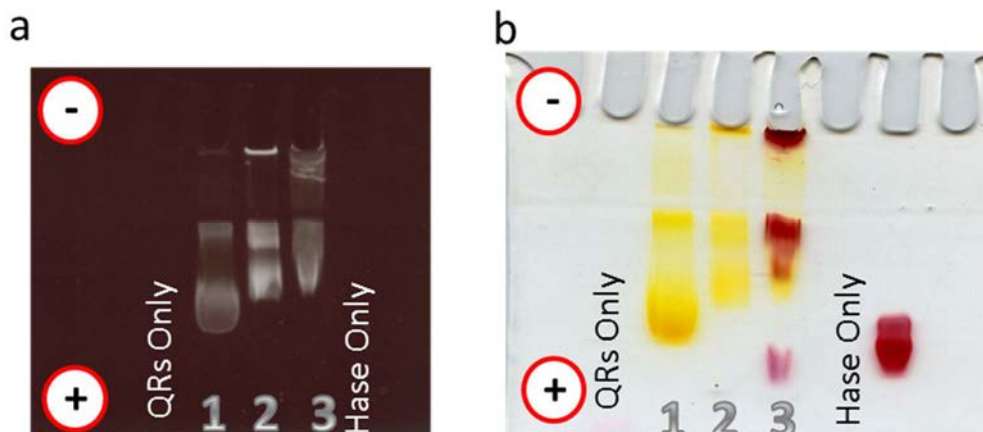


Figure 107 : a-b) b) Gel d'électrophorèse en polyacrylamide « natif » (NATIVE-P.A.G.E) après un test d'activité (coloration rouge). Les puits contiennent (de gauche à droite) : QR- $C_3A_{11}E_4CO_2H$ (1), QR- $C_3A_{11}E_4CO_2H+EDC/NHS$ (2), QR- $C_3A_{11}E_4CO_2H+EDC/NHS+Hase$ (3) et Hase seule. a) Gel identique qu'en b mais photographié sous illumination UV. a-b) Concentration QR : 20 mg/mL.

Les QR- $C_3A_{11}E_4CO_2H$ « activés » avec EDC/NHS ont été incubés au préalable avec trois équivalents d'Hase durant ≈ 1 heure pour former les complexes QR@Hases. La migration des complexes QR@Hases est moins importante que les QR non incubés avec l'Hase (3, Figure 107a-b). De plus, la coloration rouge caractéristique de l'activité de l'enzyme est visible sur le gel (Figure 107b). L'Hase est colocalisée avec les QR (3, Figure 107b). Le complexe QR@Hase a donc bien été formé et l'Hase est encore active à la surface des QR. Les bandes du gel (rouge+jaune (3) Figure 107b) ont été analysées par spectrométrie de masse (MALDI-TRAP), confirmant la formation du complexe QR@Hase (non montré). Les fragments de la protéine (sous unités) et des QR sont alors détectés au sein de la même bande.

5.2.3) Etude du complexe QR@Hase en électrochimie

Séchage des complexes QR@Hase

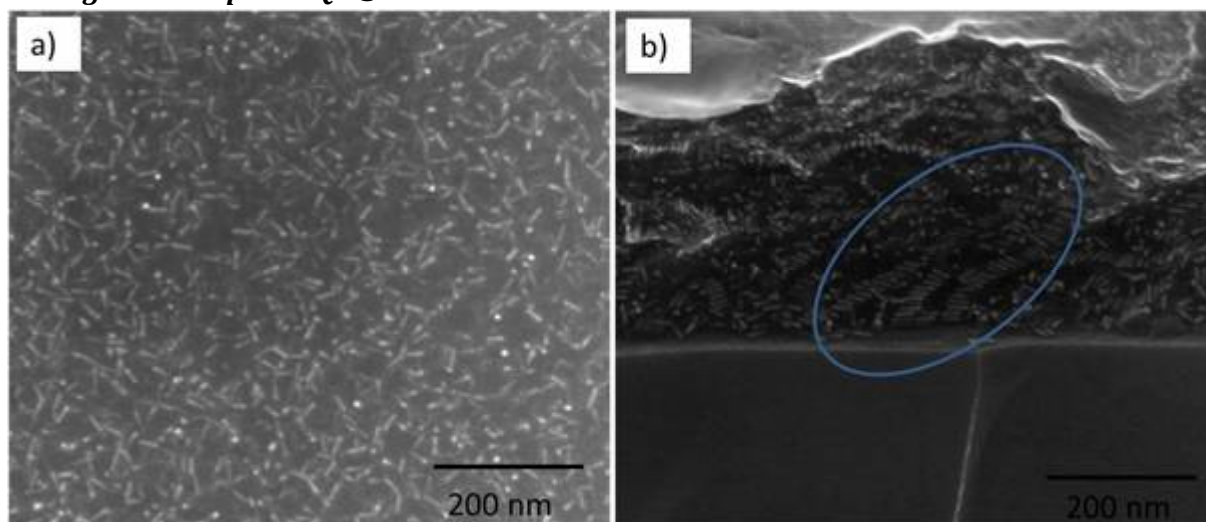


Figure 108 : Clichés de microscopie électronique à balayage où les colloïdes sont séchés sur un substrat en silicium. a) complexe QR@Hase observé à incidence normale b) QR- $C_3A_{11}E_4CO_2H$, le substrat a été clivé. Photo : Christophe Dupuis (LPN, Marcoussis).

Afin de mieux caractériser l'assemblage hybride QR-protéine à la surface de l'électrode, des dépôts solides ont été observés par microscopie à balayage. Le dépôt des complexes QR@Hase, séchés sur un substrat conducteur, a été caractérisé en microscopie électronique à balayage (Figure 108a-b). Ces clichés ont été pris au LPN à Marcoussis par Christophe Dupuis. L'Hase, trop peu dense en électron, n'est pas visible sur les clichés MEB des complexes QR@Hase (Figure 108a). Cependant, le dépôt dense des complexes QR@Hase n'est pas structuré (Figure 108a) alors que les QR- $C_3A_{11}E_4CO_2H$ sont organisés en lamelles sur le substrat (Figure 108b) dans les mêmes conditions de séchage. En effet, les QR- $C_3A_{11}E_4CO_2H$ se structurent dans des phases smectiques en séchant (se référer à la page

-Assemblages QR/Hydrogénase pour le développement de la « filière hydrogène »-

103). Le greffage de l'Hase inhibe donc la structuration des complexes sur l'électrode. La différence d'organisation dans les deux cas est une preuve indirecte du greffage de l'enzyme sur les QR.

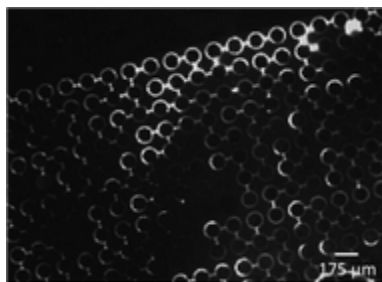


Figure 109 : Photo de microscopie optique en fluorescence du complexe QR@Hase séché avec un moule en PDMS.

Comme l'Hase est purifiée avec un excès de surfactant, le n-Dodecyl- β -D-maltoside (DDM), on a étudié la possibilité de fabriquer des assemblages de QR en présence de DDM ($CMC_{DDM}=0,17mM$). Il est possible de sécher le complexe QR@Hase, sans ajout de surfactant supplémentaire, avec le moule en PDMS (page 84). Le complexe se dispose sur le substrat selon les « murs » et les « cercles » imposés en séchant par le moule (Figure 109). Cette expérience montre la possibilité de localiser le complexe QR@Hase ou bien l'Hase seule sur une électrode grâce au moule de PDMS.

Photosensibilité des QR- $C_3A_{11}E_4CO_2H$

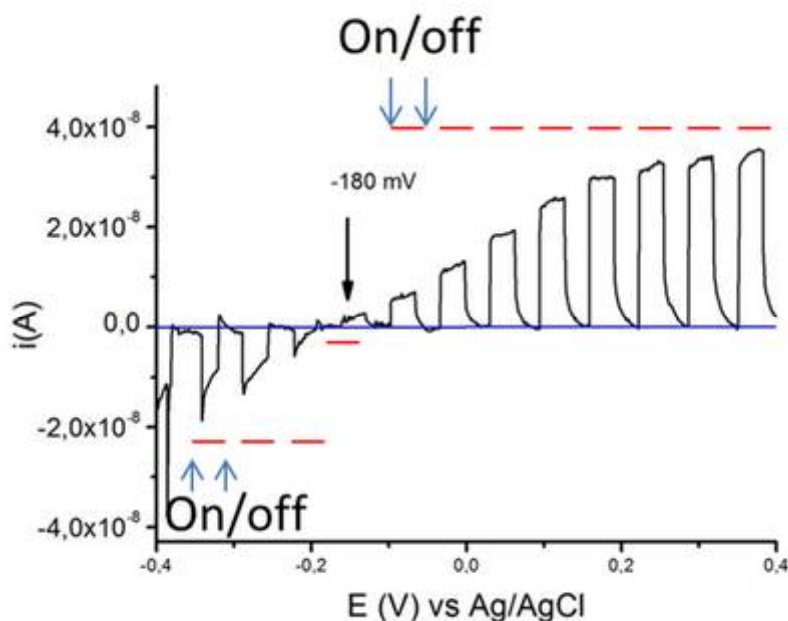


Figure 110 : Courbe intensité-potential suite à une rampe linéaire de potentiel. Vitesse de balayage : $0,001 V.s^{-1}$. Les QR ($C_3A_{11}E_4CO_2H$, $2mg/mL$) sont séchés sur une électrode de graphite pyrolytique. L'électrolyte est de l'HEPES $50 mM$ pH 7.2 à $60^\circ C$. Une membrane de dialyse est ajoutée à l'interface pour limiter la désorption. Des cycles d'irradiation (on/off) de $30s$ sont appliqués sur l'échantillon. Les barres rouges correspondent aux moments où la lampe est allumée.

Les transferts de charges entre les QR (sans Hase) et l'électrode ont tout d'abord été étudiés. Les QR sont séchés sur l'électrode (+ membrane, $7k MWCO$) et leurs propriétés Rédox sont mesurées à $60^\circ C$

-Chapitre 5-

dans un tampon HEPES. Le photocourant des QR-C₃A₁₁E₄CO₂H a déjà été discuté au chapitre 1 (page 72). Brièvement, la dépendance du signe (-/+) du photocourant avec le potentiel serait lié à l'alignement des niveaux de Fermi à l'interface QR/électrode. Le photocourant s'annule à -0,180 mV (PZC) et des photocourants d'oxydation (positifs) sont mesurés pour des potentiels supérieurs au PZC. C'est-à-dire que l'électrode s'enrichit en électrons à ces potentiels [-0,180 V ; 0,4 V].

L'amplitude du photocourant est dépendante de la surface de l'électrode, une mesure de courant rapportée à une unité de surface est donc plus judicieuse. Dans notre cas, la surface de l'électrode de graphite est de 7 mm². La densité de courant est donc de 0,57 μA.cm⁻² à un potentiel de 0,3V. Le photocourant dépend également du pH ainsi que de la force ionique de l'électrolyte.²¹⁶ Les photocourants mesurés ici sont donc difficilement comparables avec ceux existants dans la littérature. Dans cette optique, il serait intéressant de mesurer les photocourants, dans les mêmes conditions, pour des lots de nanoparticules de forme et de composition différentes. On peut noter que les photocourants obtenus (0,57 μA.cm⁻² ; HEPES 50 mM ; pH=7,2 ; 60°C) sont supérieurs à ceux reportés pour des quantum dots CdSe@ZnS dans des conditions similaires (0,2 μA.cm⁻² ; HEPES 100 mM ; pH=8 ; Température ambiante) au même potentiel (0,3V).^{216b} La forme des particules ainsi que leur composition (QD_CdSe@ZnS: Type I/QR_CdSe@CdS: quasi type II) pourrait expliquer les différences observées car la séparation des charges est meilleure pour les QR.

Etude du complexe QR@Hase en électrochimie

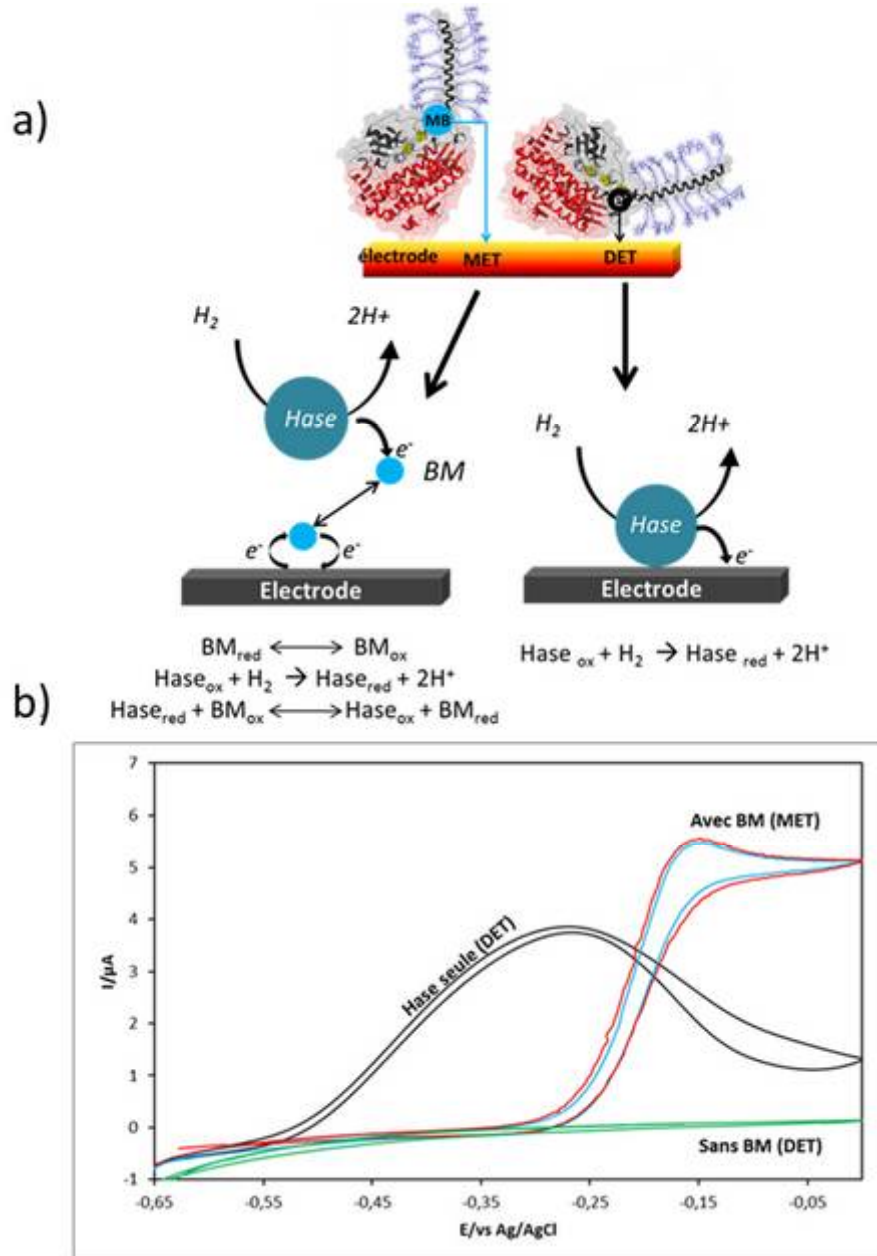


Figure 111 : a) Schéma de principe reliant le courant mesuré et l'orientation relative de l'Hase par rapport à l'électrode. Si le centre FeS de surface est à distance tunnel de l'électrode, alors un transfert direct de charge est mesuré. En revanche, si les groupes FeS sont éloignés de l'électrode, du bleu de méthylène (BM) doit être introduit pour relayer les charges vers l'électrode. Figure tirée de Ciaccafava et al.²⁰⁰. b) Voltampérométrie cyclique de l'oxydation de H₂ par Hase seule (noir), par le complexe QR@Hase (vert). Du bleu de méthylène est ajouté (BM, 10 μM), un courant médié (MET) est mesuré pour le complexe QR@Hase sans irradiation (bleu) et avec (rouge). Conditions : 50 mM HEPES, pH=6.8, 60 °C, H₂ atm. (5 mV/s).

Les Hases sont des macromolécules (110kDa) dont il a été démontré que l'orientation relative par rapport à l'électrode autorise ou non des transferts de charge suivant la distance du site actif à l'électrode. En effet, les groupes [FeS] (proximal, médial, distal) conduisent les électrons du site actif vers l'électrode et l'efficacité des transferts de charges dépend de la distance entre le groupe [FeS] distal et l'électrode. Ces conclusions sont tirées de travaux précédents de l'équipe d'E. Lojou.²⁰⁰ Un

-Chapitre 5-

médiateur rédox peut alors être introduit pour relayer les électrons vers l'électrode : le bleu de méthylène (BM, Figure 111a). Malheureusement, dans le cas du complexe QR@Hase (2mg/mL, sans BM), l'orientation de l'enzyme par rapport à l'électrode ne permet pas un transfert de charge direct (DET) car aucun courant d'oxydation n'est mesuré (vert, Figure 111b). Cela peut indiquer que le groupement [FeS] distal est engagé dans la liaison avec le QR. Lorsque le bleu de méthylène est ajouté (10 μ M), un courant « médié » (MET) est mesuré (bleu, Figure 111b). L'activité catalytique de l'Hase, mesurée en présence de BM, est alors décalée aux potentiels d'oxydation du BM (bleu, Figure 111b).

Trois conclusions peuvent être tirées de ces mesures. Premièrement, la formation du complexe QR@Hase est confirmée car le processus de transfert direct « DET » (Figure 111a) d'oxydation de l'hydrogène observé dans les mêmes conditions de concentration pour l'Hase seule (noir, Figure 111b) disparaît en présence de QR. Deuxièmement, l'orientation de l'enzyme sur le QR et/ou le dépôt du complexe empêche le contact entre le groupement [FeS] distal et l'électrode expliquant qu'aucun transfert de charge direct n'est observé pour les complexes QR@Hase. Troisièmement, l'activité catalytique de l'Hase sur les QR est conservée car l'oxydation de l'hydrogène peut être « médiée » par du bleu de méthylène. L'oxydation de l'hydrogène par l'enzyme apparaît alors au potentiel d'oxydation du BM. De plus, la diminution du courant à partir de -0,15V (bleu, Figure 111b) est attribuée à la désactivation de l'Hase aux hauts potentiels comme observé précédemment. En effet, l'Hase est dans l'état Ni-B à ces potentiels [-0,15V ; 0V].

-Assemblages QR/Hydrogénase pour le développement de la « filière hydrogène »-

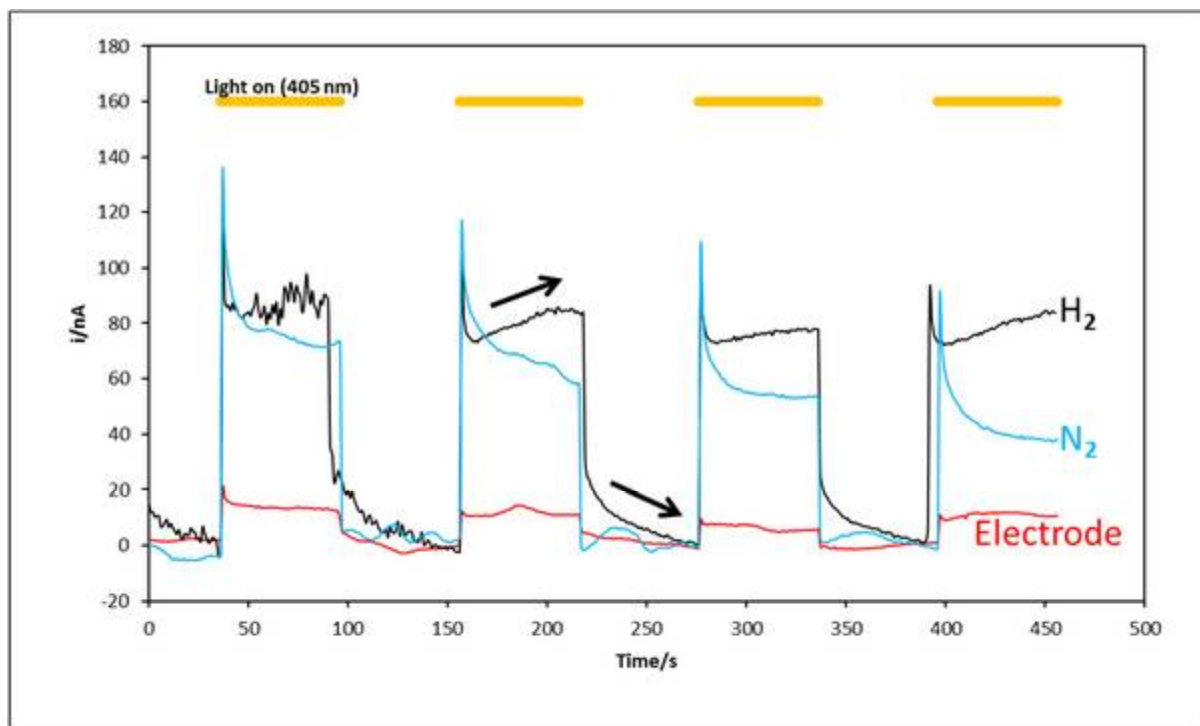


Figure 112 : Chronoampérométrie à $-0,1$ V vs Ag/AgCl du complexe QR@Hase séché sur une électrode en présence de bleu de méthylène ($10\mu\text{M}$) sous H_2 (noir) ou sous N_2 (bleu). Le photocourant issu de l'électrode nue est également mesuré (rouge). Des cycles d'irradiation (on/off) de 60s sont appliqués sur l'échantillon. Les barres jaunes correspondent aux moments où la lampe est allumée. Conditions : 50 mM HEPES, $\text{pH}=6.8$, 60°C .

Les complexes QR@Hase ont ensuite été étudiés en chronoampérométrie à $-0,1\text{V}$ dans le domaine de potentiel où l'enzyme est dans l'état inactif Ni-B (Figure 112).²⁰⁵ L'électrode nue est très peu photosensible (rouge, Figure 112). Les photocourants mesurés sont donc attribués uniquement au complexe QR@Hase. Les chronoampérométries ont été réalisées sur le même complexe QR@Hase sous atmosphère saturée d'hydrogène ou d'azote. L'Hase est inactive sans son substrat l'hydrogène. Cette méthodologie permet de discriminer la contribution des constituants du système sur le photocourant mesuré. Sous azote, un photocourant d'oxydation est mesuré (bleu, Figure 112). Le photocourant mesuré ici peut donc être attribué aux QR et au BM car l'Hase est inactive dans ces conditions. De plus, le photocourant associé aux QR décroît au cours du temps. Dans les mêmes conditions, sous hydrogène, un photocourant d'oxydation de 80 nA est également mesuré (noir, Figure 112). En revanche, le photocourant augmente durant l'irradiation et diminue lentement après l'irradiation. En effet, les mesures sont effectuées à un potentiel où l'enzyme est inactive, ce qui explique la diminution du courant (sans irradiation). L'augmentation du courant sous irradiation suggère donc la réactivation de l'enzyme. Cependant, il est difficile de conclure sur le mécanisme de réactivation de l'enzyme. En effet, nous avons vu précédemment que l'Hase est photosensible. Par ailleurs, le bleu de méthylène pourrait également avoir un rôle dans la réactivation de l'enzyme. Il n'est donc pas envisageable de s'engager sur l'idée d'une réactivation de l'enzyme *via* les QRs avec cette seule expérience.

5.2.4) Conclusion

Un complexe QR@Hase a été formé *via* un couplage peptidique. Le greffage de l'Hase sur les QR a été mis en évidence sur gel d'électrophorèse en polyacrylamide. En effet, la co-localisation de l'enzyme et des QR dans le gel est synonyme de la formation du complexe. Un test d'activité effectué *in situ*, démontre que l'enzyme conserve son activité catalytique une fois greffée sur les QR. Par ailleurs, l'organisation des complexes après séchage est différente des QR de départ. L'enzyme inhibe les interactions latérales des QR lors du séchage. Les différences d'organisation sur un substrat sont des preuves supplémentaires de la formation du complexe QR@Hase.

Les complexes QR@Hase ont ensuite été étudiés en électrochimie. Les voltammogrammes montrent une différence d'organisation de l'Hase à l'interface protéine/électrode. En effet, la mesure d'un courant « direct » d'oxydation de H₂ pour l'Hase et d'un courant « médié » pour le complexe indique que le groupement [FeS] distal est proche ou éloigné de l'électrode respectivement. Dans le cas du complexe QR@Hase, l'ajout de bleu de méthylène (BM) est nécessaire pour mesurer un courant « médié » caractéristique de l'activité catalytique de la protéine. L'oxydation de l'hydrogène est alors décalée au potentiel d'oxydation du BM. Des mesures en chronoampérométrie ($i=f(t)$) ont été effectuées à un potentiel où l'enzyme, dans l'état Ni-B, est inactive (-0,1V). L'inactivation de l'enzyme se traduit par une diminution du courant associé à la perte d'activité catalytique. Sous irradiation et sous atmosphère d'hydrogène, une augmentation du courant est mesurée alors que dans l'obscurité, le courant diminue. Cependant, des expériences supplémentaires seront nécessaires pour extraire la contribution des différents paramètres (QR, BM, Hase) sur le photocourant mesuré.

5.3) Conclusion générale

Dans ce travail, l'interaction entre un catalyseur naturel (une hydrogénase) et la lumière a été étudiée en présence (ou non) de QR. Cette hydrogénase catalyse la réaction d'oxydation de l'hydrogène où un maximum d'activité catalytique est mesuré à -0,3V en électrochimie. L'activité de l'enzyme décroît aux potentiels plus oxydants se traduisant par une diminution du courant d'oxydation. En effet, il est connu que le site actif des hydrogénases est alors dans un état inactif Ni-B. L'augmentation du courant mesuré sous irradiation ($\lambda=405$ nm) est attribuée à une réactivation de l'Hase. La photosensibilité de l'enzyme supporte l'existence d'un état intermédiaire Ni-SIr qui n'avait pas encore été mis en évidence pour cette hydrogénase résistante à l'oxygène. L'Hase d'*Aquifex aAeolicus* peut donc être utilisée dans des gammes de potentiels plus larges grâce à une excitation lumineuse. Ces résultats sont prometteurs pour améliorer les performances de piles à combustibles utilisant ces catalyseurs naturels.

Un complexe QR@Hase a été formé de façon covalente : l'Hase d'*Aquifex aAeolicus* sur des QR-C₃A₁₁E₄CO₂H *via* un couplage peptidique sans altérer son activité catalytique, démontrée sur gel d'électrophorèse. L'activité du complexe QR@Hase est confirmée en électrochimie où la catalyse d'oxydation de H₂ est « médiée » par du bleu de méthylène (BM). Sous irradiation et en présence de dihydrogène, une augmentation du courant est mesurée alors que dans l'obscurité, le courant diminue. Néanmoins, l'ajout d'un médiateur Rédox tel que le BM n'est pas souhaitable pour le développement de piles à combustibles. L'oxydation de l'hydrogène est catalysée par l'enzyme à partir de -0,55V (vs Ag/AgCl). En présence de BM, la réaction est décalée à des potentiels plus oxydants (-0,15V). La force électromotrice d'une pile à combustible ($V_{\text{cathode}}-V_{\text{anode}}$) serait alors plus faible en présence de bleu de méthylène. Les perspectives de ce travail sont donc de trouver les conditions pour avoir un transfert de charge direct entre le complexe et l'électrode sans avoir recours à un médiateur organique. Des expériences préliminaires sur des complexes QR@Hase préparés à partir de QR-C₃E₆D semblent respecter ce cahier des charges mais sont à confirmer. De plus, le ligand peptidique C₃E₆D pourrait faciliter les transferts de charges entre les QR et l'enzyme.

Malgré leurs excellentes caractéristiques, les hydrogénases possèdent quelques désavantages par rapport aux autres catalyseurs. Comme ce sont des macromolécules (110 kDa), l'activité catalytique rapportée à une unité de surface n'est plus aussi importante. Une alternative est de fabriquer des électrodes ayant une grande surface spécifique (voir en 3D) pour augmenter la densité de courant. Dans la littérature, une des techniques largement employée est le « layer by layer⁷⁵ » permettant d'empiler des monocouches de nanocristaux par des interactions électrostatiques.^{25, 217} De plus, la présence de surfactants (DDM) après la purification de l'enzyme est suffisante pour diriger l'assemblage de la protéine sur un substrat (électrode) grâce au moule de PDMS. Les structures 3D

-Chapitre 5-

obtenues avec le moule en PDMS pourraient être une solution pour augmenter la densité de courant (avec ou sans QR). Par ailleurs, l'utilisation de ces catalyseurs est limitée à l'élaboration de prototypes et non à des applications industrielles à cause de leur stabilité ainsi que du temps de purification. Néanmoins, l'étude de ces catalyseurs naturels est intéressante pour la mise en forme de catalyseurs bio-inspirés. En effet, ces catalyseurs synthétiques « miment » le site actif d'hydrogénases^{65, 211} et respectent le cahier des charges des applications industrielles (grande densité de courant, bonne stabilité, coût modéré et utilisation d'éléments chimiques abondants sur Terre).

7) Conclusion générale et Perspectives de ce travail

La recherche et le développement de nouvelles sources d'énergies sont un enjeu majeur de ce siècle. La mise au point de nouvelles synthèses organométalliques de nanocristaux de taille, de forme, et de composition contrôlées offrent de nouvelles perspectives technologiques pour répondre à cette demande. En particulier, les synthèses de bâtonnets d'or et de bâtonnets CdSe@CdS ont été envisagées dans ce travail de thèse pour exploiter leurs propriétés photophysiques dans les domaines de la collection de lumière et de la photocatalyse. Ces deux types de nanoparticules possèdent une grande surface spécifique et des propriétés photophysiques distinctes : les bâtonnets semi-conducteurs CdSe@CdS collectent une partie de la lumière du visible en fonction du diamètre du cœur alors que le spectre d'absorption des bâtonnets d'or est modulable avec leur rapport d'aspect.

Dans un premier temps, la synthèse organométallique de nanobâtonnets d'or et CdSe@CdS a été réalisée dans l'eau et en solvant organique (mélange de ligands phosphorés) respectivement à partir de protocoles décrits dans la littérature. La procédure de croissance des bâtonnets semi-conducteurs, assistée de l'ajout de germes précurseurs, permet de moduler aisément la morphologie des bâtonnets (rapport d'aspect et taille du cœur). Inversement, la synthèse des bâtonnets d'or, ne nécessitant pas la formation préalable de germe, ne permet pas un contrôle aisé de la morphologie des nanocristaux. De nouvelles procédures de synthèses, décrites dans la littérature, sont en cours d'optimisation au laboratoire pour moduler la taille et la forme des bâtonnets d'or. Le contrôle morphologique des nanocristaux est important pour la mise en forme de matériaux nanostructurés et pour modifier leurs propriétés photophysiques à façon.

Dans un deuxième temps, les ligands de synthèse des nanoparticules ont été échangés par des ligands peptidiques ou des alcanethiolate PEGylés pour fonctionnaliser les nanocristaux dans l'eau. Les ligands peptidiques (C₃S₃D et C₃E₆D), avaient été introduits précédemment au laboratoire durant le travail de thèse d'A. Dif (2004-2007). La fonction d'ancrage robuste, composée de trois cystéines, a été conservée et permet le greffage de ces ligands peptidiques aussi bien sur les surfaces d'or que semiconductrices (CdS, ZnS) tout en limitant la désorption des ligands de la surface des nanocristaux. Une chaîne alkyle a été introduite comme espaceur pour structurer la monocouche de ligands peptidiques à la surface des nanoparticules grâce à des interactions hydrophobes. Dans le cas des bâtonnets d'or, la chaîne alkyle facilite l'échange du ligand initial, le CTAB, par ces ligands peptidiques. Le taux de recouvrement de 0,6 nm²/ligand à la surface des nanocristaux semi-

-Conclusion générale et Perspectives-

conducteurs a été déterminé en RMN ^1H et ^{31}P . De plus, l'interdigitation des chaînes par des interactions de Van Der Waals serait à l'origine de la cristallisation des nanoparticules dans des phases smectiques lors de l'évaporation du solvant. Cependant, celle-ci n'est pas souhaitée pour des applications de photocatalyse car la surface des nanocristaux est alors passivée. Les résultats des mesures de réduction d'une sonde Rédox et de photocourants convergent et désignent le ligand peptidique $\text{C}_3\text{E}_6\text{D}$ comme le plus adapté pour des applications en catalyse. En effet, le point important pour envisager des réactions photoinduites concerne l'accessibilité de la surface. Enfin, le groupe terminal des ligands peptidiques a été modifié de façon à générer des attractions ou des répulsions électrostatiques entre colloïdes. Des groupements de reconnaissances spécifiques comme la biotine ont également été introduits et greffés sur les nanoparticules.

Dans le but de convertir l'énergie solaire en énergie électrique, une approche consisterait à assembler des matériaux composites (or + semi-conducteur) nanostructurés. L'empilement successif ou l'assemblage mixte de nanocristaux ayant des propriétés optiques différentes permettrait de maximiser l'absorption du spectre solaire.²⁵ La reproductibilité et le contrôle des assemblages sont des prérequis pour leur intégration dans des microsystèmes.

Dans ce travail, nous proposons une méthode de séchage simple et adaptée à la cristallisation multi-échelle en trois dimensions de nanoparticules. Cette méthode de séchage est versatile et peut être appliquée à toute suspension de colloïdes (protéine, nanoparticule) contenant un surfactant ($\text{C}^\circ > \text{CMC}$). Elle consiste à appliquer une surface microstructurée en PDMS sur la suspension de colloïdes où l'évaporation du solvant contenant les particules est lente et contrôlée. La forme macroscopique des dépôts (hauteur, largeur, motifs) obtenus après séchage est modulable avec la géométrie de la surface. De plus, l'évaporation lente des nanocristaux est importante pour la nanostructuration du matériau final. Les nanobâtonnets individuels sont assimilables à des briques élémentaires dans la mise en forme de ces matériaux. Les supercristaux obtenus ont de nouvelles propriétés collectives. En particulier, une bande plasmon plus énergétique que la bande longitudinale des composants isolés, est mesurée pour les assemblages structurés de bâtonnets d'or. Les techniques de caractérisations (optique, MET, MEB, SAXS) révèlent des structures organisées dans une phase smectique B pour les bâtonnets d'or et CdSe@CdS seulement lorsque la fonctionnalisation des nanocristaux le permet. En particulier, les ligands alcanethiolates PEGylés MUDOL/MUDIC et peptidiques $\text{C}_3\text{A}_{11}\text{E}_4\text{CO}_2\text{H}$ sont nécessaires pour la structuration lors du séchage des bâtonnets d'or et CdSe@CdS respectivement.

En perspective, l'assemblage de bâtonnets d'or de rapport d'aspect différents ainsi que la compréhension des phénomènes collectifs seront étudiés. De plus, nous avons montré que les répulsions électrostatiques induites par le ligand MUDIC permettaient de moduler les paramètres du

-Conclusion générale et Perspectives-

réseau cristallin de nanobâtonnets de quelques nanomètres. En introduisant un encombrement stérique supplémentaire, il pourrait être possible d'augmenter les distances inter-particulaires. Une nouvelle approche, basée sur la reconnaissance de brins d'ADN complémentaires, pourrait également être envisagée pour moduler les distances simplement avec la longueur du brin d'ADN. De plus, des assemblages en phase smectique mélangeant des QR et des bâtonnets d'or pourront être envisagés. Une thèse a débutée au laboratoire (Benoît Boichard) sur la production d'hydrogène par photocatalyse supportée par des dépôts structurés.

Lors de l'absorption d'un photon de suffisamment haute énergie, une paire électron-trou est générée au sein des bâtonnets CdSe@CdS. Ces porteurs de charges peuvent interagir avec leur environnement pour diriger des réactions d'oxydo-réduction. Afin d'augmenter le rendement de photo-conversion, la séparation des charges doit être favorisée. La composition cœur@coquille des nanocristaux quasi type II est favorable au confinement des trous photo-générés dans le cœur de la particule alors que les électrons sont délocalisés selon le grand axe des bâtonnets. La forme oblongue des nanocristaux semi-conducteurs a été optimisée pour maximiser la séparation des charges et les propriétés photorédox de QR, de rapports d'aspect différents, ont été passées au crible grâce à la réduction d'une sonde rédox : la résazurine. En particulier, les bâtonnets de grands rapports d'aspect (75*5 nm) fonctionnalisés par le ligand peptidique C₃E₆D sont les plus indiqués pour diriger des réactions d'oxydo-réduction photo-induite. Un sel d'or a été successivement photo-réduit puis déposé par hétéroépitaxie sur ces bâtonnets de façon à générer une jonction de type Schottky. L'extinction quasi-totale de la fluorescence des hétérostructures indique que les phénomènes de recombinaisons radiatifs ont été éliminés. De plus, le sel d'or précurseur dans la synthèse des hétérostructures est modifiable par des thiolates permettant de fonctionnaliser spécifiquement les domaines d'or réduit. Des hétérostructures Janus, ayant une fonctionnalisation dissymétrique, ont ainsi été synthétisées où le domaine d'or est stabilisé avec de l'ADN. De plus, il pourrait être possible d'accrocher spécifiquement un catalyseur-thiol sur les domaines d'or des hétérostructures. De la même façon, un sel de benzènediazonium présentant une fonction amine primaire a été successivement réduit puis greffé à la surface des nanocristaux. Nous avons montré que les QR-AD étaient post-fonctionnalisables par des esters activés. Des mesures préliminaires sur les hétérostructures QR/Au montrent des photocourants supérieurs aux mêmes QR sans or. Ces résultats sont prometteurs pour diriger des réactions photocatalytiques avec ces hétérostructures. Par ailleurs, la photo-corrosion des bâtonnets semi-conducteurs est un problème qu'il est possible de limiter en introduisant une anode sacrificielle. Les nanoparticules d'or, connues pour être photo-stables pourraient se révéler être la solution pour palier ce problème qui diminue la durée de vie de ces systèmes. Dans ce travail de thèse, une attention particulière a été portée à l'étude des

-Conclusion générale et Perspectives-

photocourants des particules semiconductrices. En perspective, les mêmes études de photocourants seront effectuées sur les bâtonnets d'or pour comparer en détail ces deux systèmes.

Nous nous sommes également attachés à travailler avec un catalyseur naturel : une hydrogénase. Cette enzyme [NiFe] catalyse la réaction d'oxydation de l'hydrogène (H_2). En effet, l'hydrogène est un combustible particulièrement intéressant mais sous-utilisé en raison du coût des matériaux mis en œuvre comme le platine. Dans ce contexte, cette enzyme hyperthermophile a déjà été intégrée dans une pile à combustible bio-inspirée par l'équipe d'accueil. Dans ce travail de thèse, l'hydrogénase a été greffée covalamment sur les QR et la formation des complexes QR@Hase ont été caractérisés par électrophorèse sur gels en polyacrylamide. Il est important de noter que la protéine conserve son activité catalytique à la surface des QR comme démontré par un test d'activité *in situ* sur gel ainsi qu'en électrochimie. Par ailleurs, nous avons découvert que l'enzyme elle-même est photosensible. Ce travail sur l'enzyme isolée a permis de mettre en évidence un état photo-sensible qui n'avait pas encore été caractérisé sur ces hydrogénases résistantes à l'oxygène. En effet, l'enzyme peut être réactivée par une excitation lumineuse. Dans le cas des complexes QR@Hase, l'activité photoinduite est mise en évidence avec un médiateur Rédox, le bleu de méthylène. Ces résultats sont prometteurs pour améliorer les performances des piles à combustibles bio-inspirées et pourraient être applicables aux systèmes utilisant des catalyseurs artificiels qui miment le site actif de ces enzymes. La perspective de ce travail est de déterminer les conditions expérimentales permettant de s'affranchir de l'utilisation de ce médiateur Rédox qui limite les applications technologiques de ce système bio-hybride.

8) Partie Expérimentale



7.1) Synthèse et fonctionnalisation des nanocristaux et des hétérostructures.

7.2) Matériels et méthodes physico-chimiques.

7.1) Synthèse et fonctionnalisation des nanocristaux et des hétérostructures.

Durant cette thèse plusieurs types de nanocristaux de composition et de formes différentes ont été synthétisés. La synthèse de ces nanocristaux fait appel à des processus de nucléation et dans le but d'éviter toute réaction parasite, la verrerie a été systématiquement lavée à l'eau régale (3 :1, HCl : HNO₃). Cette étape de lavage est suivie d'un rinçage abondant à l'eau millipore (18.2 mΩ). Tous les produits sont achetés chez Sigma Aldrich sauf exception précisée.

7.1.1) Synthèse des particules métalliques

7.1.1.1) Synthèse de nanoparticules d'or sphérique

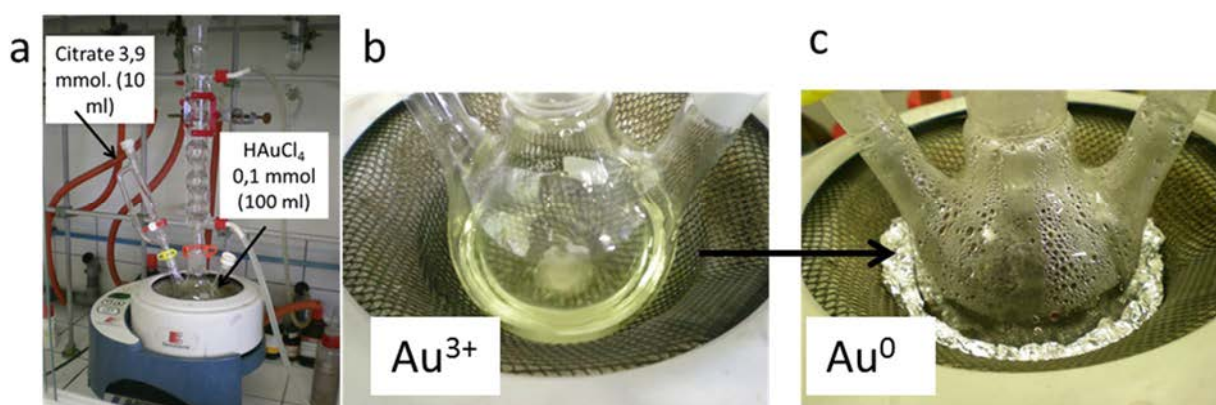


Figure 113 : a) Montage utilisé pour la synthèse de particule d'or sphérique. b-c) photo du mélange réactionnel avant et après ajout du citrate.

Ces nanocristaux ont été synthétisés selon la méthode de Turkevitch.⁵⁵ 10 mL d'une solution de citrate de sodium (0,39 mmol : 3.9 eq en moles par rapport à l'or) sont versés dans 100 mL d'une solution de sel d'or HAuCl₄ (0,1 mmol ; 1 eq), portée à reflux et sous agitation mécanique vive (Montage Figure 113). Après passage par une solution incolore, une solution de couleur noire est rapidement obtenue (Figure 114b-c). Le reflux et l'agitation vive sont alors maintenus pendant 25 min. La solution est refroidie à température ambiante, sous agitation mécanique moyenne et régulière. Une solution « mère » de colloïdes d'or de concentration 4 nM est ainsi obtenue. La concentration en colloïdes est déduite à partir de coefficients d'extinction décrit dans la littérature²¹⁸ : $3,9 \cdot 10^8 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$.

7.1.1.2) Synthèse de nanobâtonnets d'or

Plusieurs synthèses ont été testées pour obtenir des bâtonnets d'or monodisperses. Nous avons finalement retenu une synthèse de type « one pot », c'est-à-dire qui ne requiert pas la formation *ex-situ* de germes avant l'étape de croissance. Nous avons opté pour cette méthode qui offre un gain de temps et la possibilité d'obtenir des solutions finales plus concentrées en colloïdes. Les protocoles décrits ci-dessous concernent la synthèse de croissance médiée par des germes « seed mediated growth » (en deux étapes)^{32a, 58b, 63a} et celle des bâtonnets préparés en une étape « one pot ».^{59b, 60, 62}

-Partie expérimentale-

Description de la synthèse dite de Jana (« one pot ») :

10 mL d'une solution contenant 3,5 mM de sels d'or HAuCl_4 ($3,5 \cdot 10^{-5}$ mol, 1 eq), 0,2 M CTAB ($2 \cdot 10^{-3}$ mol, 57 eq), 1 mM d' AgNO_3 ($1 \cdot 10^{-5}$ mol, 0,3 eq) est préparée. Le mélange est thermostaté à 30°C pour éviter la cristallisation du CTAB. Ensuite 120 μL d'acide ascorbique à 0,4M ($4,8 \cdot 10^{-5}$ mol, 1,4 eq) est ajouté au mélange sous agitation. La couleur de la solution passe alors du rouge à une solution incolore correspondant à la réduction des ions Au^{3+} en Au^+ . Enfin, 64 μL d'une solution glacée de NaBH_4 à 1,6 mM ($1 \cdot 10^{-7}$ mol, $3 \cdot 10^{-3}$ eq) est incorporé dans la solution. La solution passe progressivement d'une solution transparente à noire. La réaction est terminée après 20 min (Figure 114).



Figure 114 : Photo d'une suspension de bâtonnets d'or dans l'eau, à l'issue de la synthèse.

7.1.2) Fonctionnalisation des particules métalliques

7.1.2.1) Or sphérique

Avant fonctionnalisation, les particules sont centrifugées afin d'éliminer les éventuels agrégats (2800 g, 10 min). Il n'est pas nécessaire de purifier la solution de l'excès de citrate avant échange. Typiquement 500 équivalents de ligands sont incubés (rapport ligand/particule) pour des particules d'or de 15 nm de diamètre pendant 2h. La suspension colloïdale peut ensuite être filtrée sur une colonne d'exclusion de taille (NAP-5, Sephadex). Ces particules ont été fonctionnalisées avec succès avec des peptides, de l'ADN-thiol et les alcanethiol PEGylés.

7.1.2.2) Bâtonnets d'or

Avant échange, les nanobâtonnets d'or sont séparés morphologiquement des autres formes colloïdales. Il est en effet possible qu'une synthèse aboutisse avec une proportion non négligeable de sphères (Figure 115). La présence ou non des sphères est détectable sur le spectre d'absorption des bâtonnets d'or (celles-ci absorbent vers 520 nm) alors que le pic transverse des bâtonnets est situé à 510 nm. Ces objets sphériques sont éliminés par centrifugation (7400 g, 10 min) et le surnageant contenant les bâtonnets est conservé.²¹⁹

-Partie expérimentale-

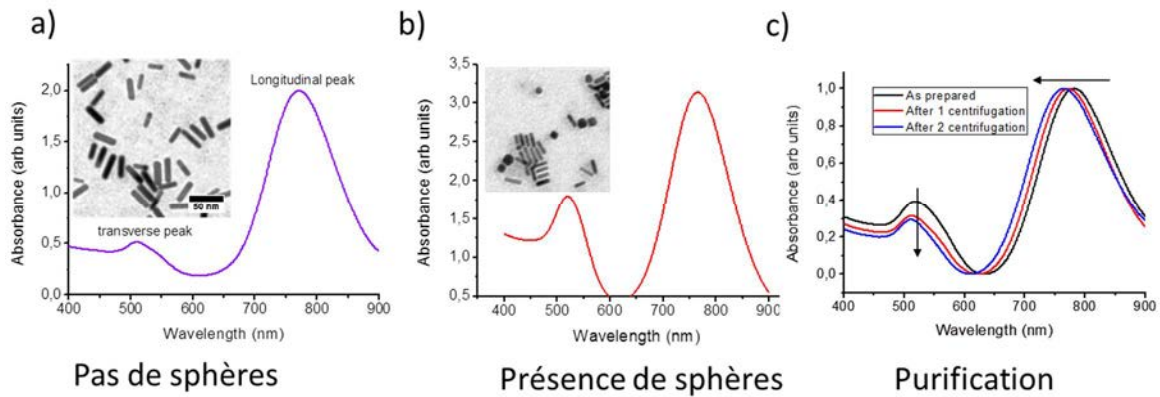


Figure 115 : Spectres d'absorbance UV/Vis de bâtonnets d'or. a) sans sphères. b) avec sphères. c) Evolution du spectre d'absorbance (normalisé) d'un lot de bâtonnets d'or lors de l'élimination des sphères.

Il est important d'enlever l'excès de CTAB avant les étapes de fonctionnalisation. Les échantillons sont maintenus à chaud (>25°C) afin d'éviter que le CTAB ne cristallise puis 3 cycles de centrifugation/redispersion sont réalisés pour fixer la concentration finale en CTAB à 0,5 mM ($CMC_{CTAB} = 1mM$) ainsi qu'une concentration en bâtonnets de l'ordre de 0,5 nM ($DO = 1,5$). Les concentrations des suspensions de bâtonnets sont déterminées à partir de ce coefficient d'extinction tiré de la littérature: $4,4 \cdot 10^9 M^{-1} \cdot cm^{-1}$.^{110c}

Afin de procéder à l'échange du CTAB, un excès de ligand est ajouté (10000 équivalents). Le temps d'incubation varie selon les ligands. Pour MUDOL/MUDIC : 2h suffisent alors que pour les peptides une nuit d'incubation est nécessaire (incubation sous agitation mécanique moyenne).

7.1.3) Synthèse de bâtonnets semi-conducteurs CdSe@CdS.

Les bâtonnets sont synthétisés selon une méthode décrite par Carbone et al.¹⁰ Elle requiert la synthèse de germes au préalable, composés de séléniure de cadmium, puis la croissance anisotrope d'une coquille en sulfure de cadmium. Elle est donc réalisée en deux étapes. La synthèse est effectuée dans des mélanges de solvants coordonnants à haut point d'ébullition. Après le lavage à l'eau régale, la verrerie est rincée avec de la soude. En effet, nous avons observé expérimentalement que ce traitement supplémentaire facilite la dissolution de l'oxyde de cadmium.

7.1.3.1) Synthèse des germes de CdSe.

Dans un ballon tricol de 50 mL, 3,0 g de TOPO, 0,280 g d'ODPA et 0,060 g de CdO sont mélangés sous agitation mécanique moyenne (Figure 116). Le mélange est chauffé à 150° sous vide durant une heure. Cette étape permet de dégazer la solution. Le mélange est porté à 300°C sous atmosphère inerte afin de dissoudre le cadmium (la solution initialement de couleur rouge se décolore). 1,5g de TOP sont alors ajoutés dans le mélange réactionnel. En parallèle est préparé, dans un schlenk, un mélange contenant 0,058 g de Se et 0,360 g de TOP sous agitation mécanique vive (nécessaire pour

-Partie expérimentale-

dissoudre le sélénium). L'étape suivante consiste à injecter rapidement la solution contenue dans le schlenck dans le tricol. Ici les paramètres modifiables pour obtenir des germes de différentes tailles sont la température d'injection et le temps de réaction. Ainsi, pour obtenir de petits germes (Emission dans le vert) la température d'injection est de 380°C et la réaction est immédiatement stoppée par trempe thermique. Dans le but d'obtenir de plus gros germes (émission dans le rouge) la température d'injection est de 370°C et la réaction est stoppée par trempe thermique au bout de 3 minutes. Les nanocristaux sont ensuite lavés par centrifugation/redispersion avec un mélange de toluène et de méthanol (1/4). Les particules sont ensuite redispersées dans du TOP à une concentration de 400 μM et conservée dans le réfrigérateur sous atmosphère inerte.

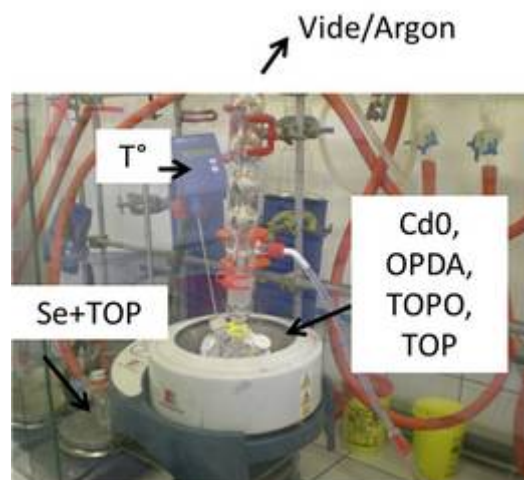


Figure 116 : Montage utilisé pour la synthèse de germe CdSe

7.1.3.2) Synthèse de la coquille CdS pour obtenir des bâtonnets CdSe@CdS

Ici, se reporter au tableau (Tableau 1) pour les quantités de précurseurs utilisés pour obtenir des bâtonnets de différents rapports d'aspect. Dans un ballon tricol de 50 mL, le CdO est mélangé en présence de TOPO, ODPA et HPA (Figure 117). Après avoir pompé sous vide le mélange durant 1h à 150°C, la solution est chauffée entre 350 °C et 380°C (se reporter au Tableau 1 pour précision) sous atmosphère inerte.

-Partie expérimentale-

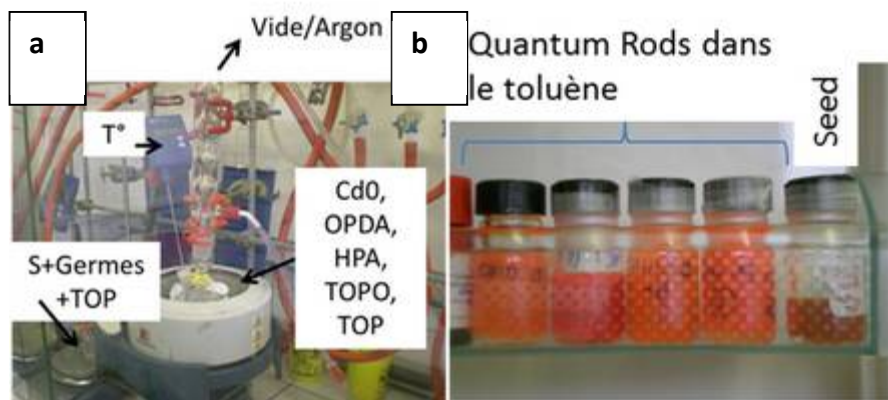


Figure 117 : a) Montage utilisé pour la synthèse de bâtonnets CdSe@CdS. b) Photographie de bâtonnets de rapports d'aspect différents dispersés dans le toluène.

1,5g de TOP sont alors ajoutés, on assiste alors à une chute en température, il est important d'attendre que le mélange soit revenu à la température désirée avant l'injection des précurseurs contenus dans le schlenk. Ce dernier contient le soufre (voir tableau pour les proportions) et les nanocristaux CdSe (200µl, 400µM soit 80 nmol) dissous dans 1,5 g de TOP. Cette solution est injectée rapidement dans le tricol. On assiste encore une fois à une baisse en température, il est important que la remontée en température soit rapide ($\approx 1-2$ minutes) pour la qualité morphologique et cristalline des bâtonnets. Le mélange est ensuite incubé à la température d'injection durant 8 minutes après l'injection. Les nanocristaux sont ensuite lavés par centrifugation/redispersion avec un mélange de toluène et de méthanol (1/4). Les colloïdes sont redispersés dans du toluène et stockés dans le réfrigérateur (Figure 117). Les photos TEM de trois lots de bâtonnets préparés selon les conditions du tableau 1 sont présentées Figure 118.

Tableau 1 : Tableau récapitulatif des conditions dans lesquels 3 lots de bâtonnets de rapports d'aspect différents ont été synthétisés selon la méthode de Carbone.

CdSe@CdS nanorods	QR 15 nm	QR 50 nm	QR 75 nm
Longueur /Largeur	15 nm/4,8 nm	50 nm/4,8 nm	75 nm/4,8 nm
TOPO (g)	3 ($7,75 \cdot 10^{-3}$ mol)	3 ($7,75 \cdot 10^{-3}$ mol)	3 ($7,75 \cdot 10^{-3}$ mol)
ODPA (g)	0,290 ($8,67 \cdot 10^{-4}$ mol)	0,290 ($8,67 \cdot 10^{-4}$ mol)	0,290 ($8,67 \cdot 10^{-4}$ mol)
HPA (g)	0,080 ($4,81 \cdot 10^{-4}$ mol)	0,080 ($4,81 \cdot 10^{-4}$ mol)	0,080 ($4,81 \cdot 10^{-4}$ mol)
CdO (g)	0,057 ($4,44 \cdot 10^{-4}$ mol)	0,060 ($4,67 \cdot 10^{-4}$ mol)	0,086 ($6,69 \cdot 10^{-4}$ mol)
S+TOP (g)	0,120+1,5 ($3,74 \cdot 10^{-3} + 4,04 \cdot 10^{-3}$ mol)	0,120+1,5 ($3,74 \cdot 10^{-3} + 4,04 \cdot 10^{-3}$ mol)	0,120+1,5 ($3,74 \cdot 10^{-3} + 4,04 \cdot 10^{-3}$ mol)
T° injection (°C)	350°	380°	350°
Temps de réaction	8 minutes	8 minutes	8 minutes

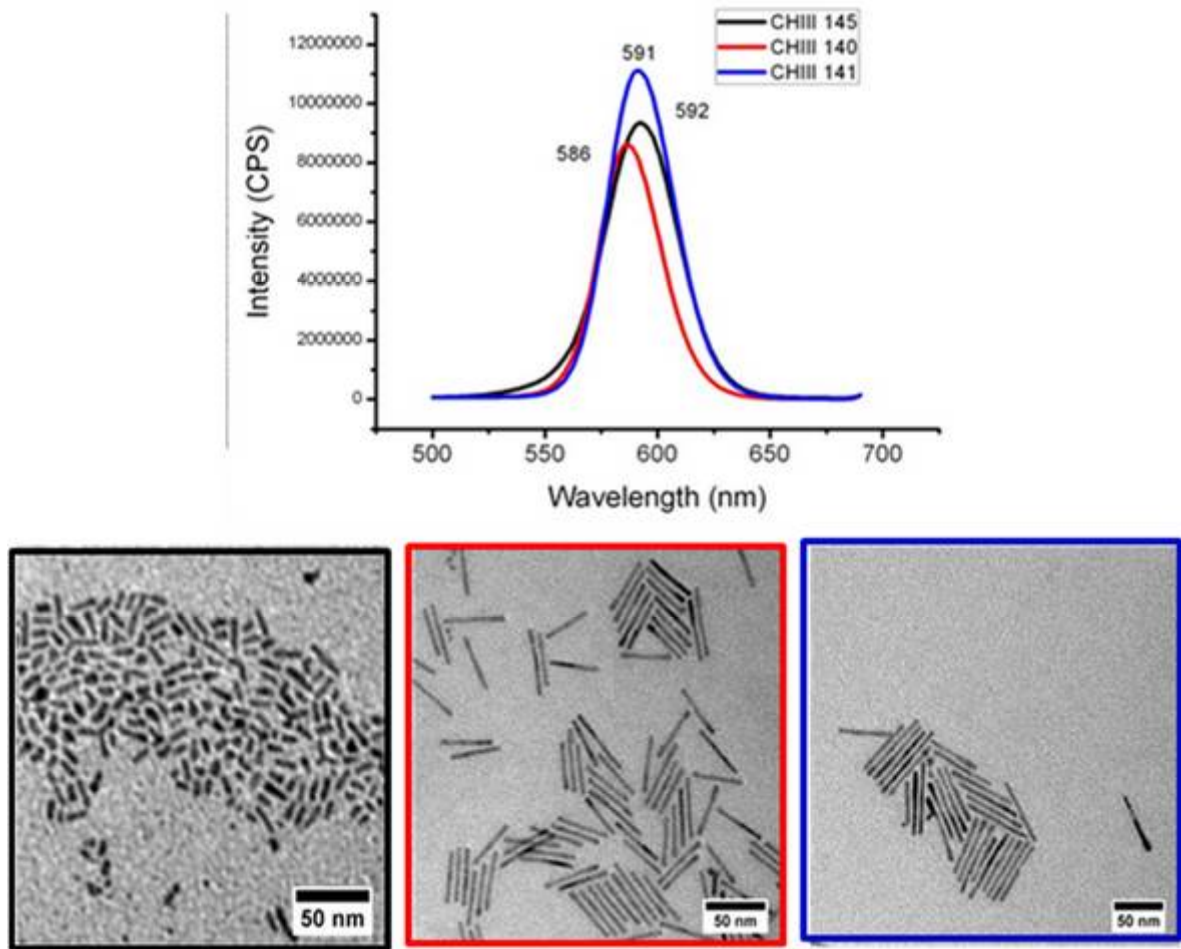


Figure 118 : Photos MET de trois lots de bâtonnets préparés (QR au laboratoire selon les conditions du Tableau 1 et leurs (QR 15 nm (noir), QR 50 nm (rouge) et QR 75 nm (bleu)) spectres de fluorescence correspondant. Echelles 50 nm

7.1.4) Fonctionnalisation des bâtonnets semi-conducteurs dans l'eau

La concentration en QR des suspensions peut être déterminée grâce aux coefficients d'extinction tabulés dans la littérature.¹⁸⁵ Les bâtonnets dans le toluène sont redispersés dans le chloroforme (précipitation avec méthanol puis séchage) de façon à constituer une solution mère à 10 mg.mL⁻¹. La quantité de peptides à ajouter dépend de la surface à couvrir (donc de la taille du bâtonnet). La surface du bâtonnet est considérée comme celle d'un cylindre fermé de deux demi-sphères et égale à :

$$S_{QR} = (S_{\text{cylindre}} + 2 S_{\text{demi-sphère}}) : 2\pi R * L + 4\pi R^2$$

Ici, R correspond au rayon et L à la longueur du bâtonnet. Systématiquement (10*S_{QR}*nombre QR) équivalents de peptides (50 mM) sont ajoutés pour fonctionnaliser les bâtonnets. Un agent de transfert de phase, l'hydroxyde de tétraméthylammonium, le TMAOH (solution aqueuse concentrée à 25% en masse) est ajouté goutte à goutte (de 1 à 6 µL) pour faciliter le passage des bâtonnets de la

-Partie expérimentale-

phase organique à la phase aqueuse (Figure 119). Les peptides utilisés sont préparés à façon par PolyPeptide®.

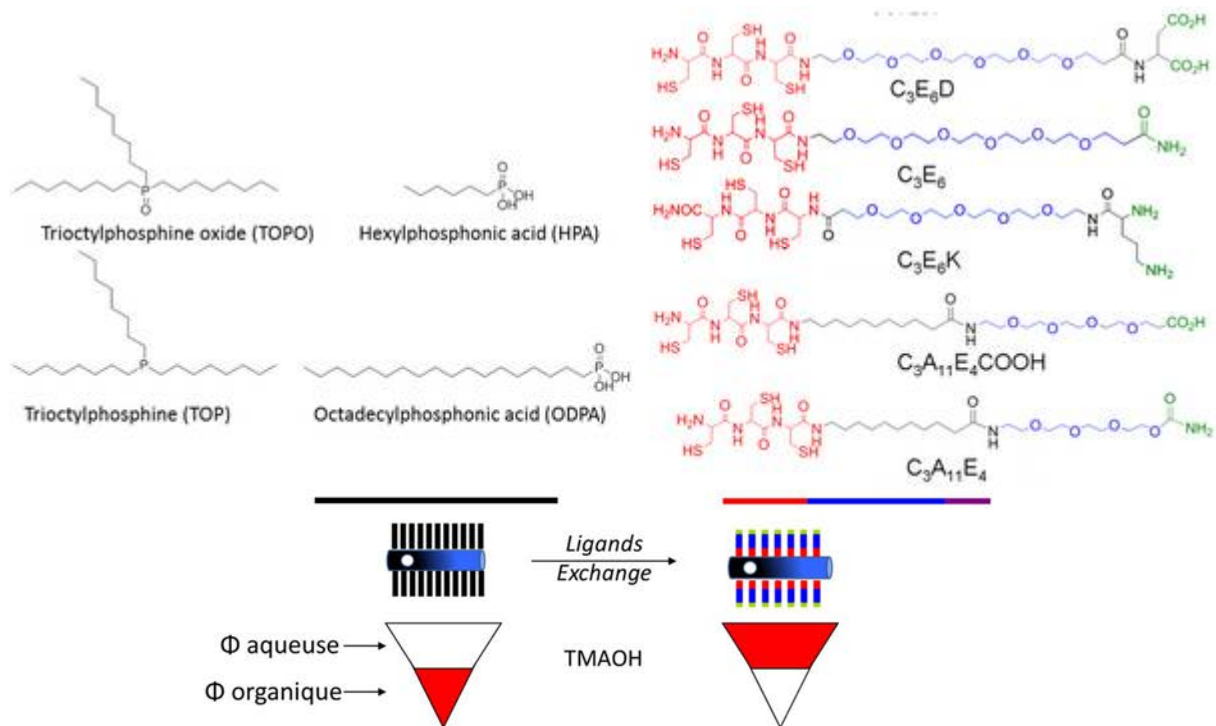


Figure 119 : Schéma montrant l'échange des ligands de synthèse par des peptides PEGylés à la surface des bâtonnets pour les disperser dans l'eau.

En règle générale, une émulsion se crée à l'interface, une centrifugation douce (2800g, 5 min) est alors nécessaire pour séparer les phases. Le chloroforme est ensuite évaporé sous vide ou par chauffage (bain marie à 60°C). Les bâtonnets peuvent ensuite être purifiés par une colonne d'exclusion stérique (NAP-5, Sephadex) pour éliminer le TMAOH, l'excès de peptide et redisperser les QR dans le solvant choisi.

7.1.5) Synthèse d'hétérostructures CdSe@CdS/Au

Le sel d'or choisi est un sel hydraté de sodium du Chloro-(diphényl)-(3-sulfonato-phényl) or (I) (Figure 120b) et a été acheté chez Strem Chemicals, Inc. Des hétérostructures de différentes morphologies ont été obtenues. On retiendra les hétérostructures ayant 1 domaine d'or prédominant par bâtonnet, plusieurs domaines d'or par bâtonnet et celles ne se formant pas sous action de la lumière (Figure 121).

-Partie expérimentale-

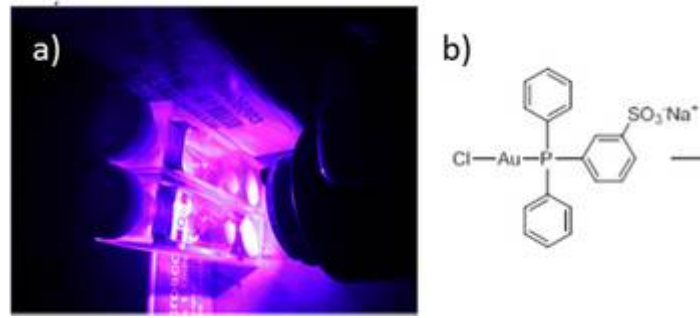


Figure 120 : a) Photo du montage : les mélanges sont introduits dans des cuves en quartz sous agitation moyenne et irradié. b) Structure chimique du sel d'or utilisé dans ce travail.

Les hétérostructures sont synthétisées sous irradiation en présence du sel d'or et des QR-C₃E₆D hydrophiles (typiquement 60*5 nm) en solution aqueuse. La concentration des QRs est fixée à 2.10⁸M (DO_{350nm}=1) et le sel d'or à 1 mM (50000 équivalents). De plus, la triéthanolamine (TEA) et l'acide ascorbique sont ajoutés pour faciliter la photo-réduction de l'or sur les QR. Le mélange est tamponné à pH=8.5 (Borate, 10 mM, I_{KCl}=10 mM). La réaction est réalisée dans des cuves de spectroscopie en quartz sous agitation mécanique moyenne (Figure 120). Le temps d'irradiation nécessaire pour observer la réduction de l'or sur les bâtonnets est d'environ 20-30 minutes. La LED (M405L2, Thor Labs, λ=405nm) est collée à la cuve pour délivrer une intensité lumineuse d'environ 700 lux à l'échantillon. La réaction est suivie en spectroscopie UV-Visible et stoppée dès que le pic plasmon apparaît, caractéristique de la formation d'hétérostructures. A l'issue de la réaction, les colloïdes sont lavés dans l'eau (18,2 mΩ) par centrifugation/dilution grâce à des tubes (AMICON ULTRA 0,5 mL) munis d'un filtre (MWCO : 100kDa). Cette étape est répétée au moins 4 fois afin d'éliminer tous les réactifs en excès (2800g, 5min). Les conditions expérimentales pour obtenir des hétérostructures sont détaillées ci-dessous.

-Partie expérimentale-

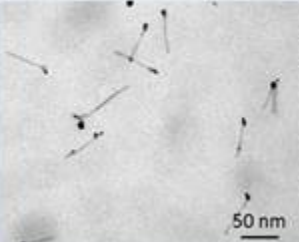
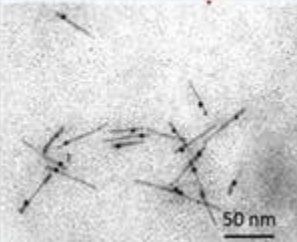
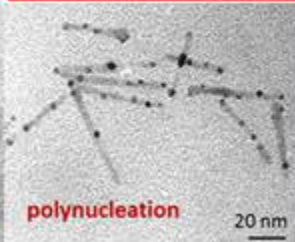
N°	1	2 (pas d'irradiation)	3
QR	$2,5 \cdot 10^{-8}$ M	$2,5 \cdot 10^{-8}$ M	$2,5 \cdot 10^{-8}$ M
A. ascorbique	10 mM	10 mM	10 mM
TEA	0,8 M	0	0,8M
Au	1 mM	1 mM	10 mM
Images MET			

Figure 121 : Images MET décrivant les hétérostructures obtenues selon différentes conditions. (1) 1 domaine d'or par particule, (2) hétérostructures obtenus par un processus thermique (sans irradiation) et (3) hétérostructures décorées de plusieurs noyaux. Dans le tableau sont indiquées en rouge les quantités de réactifs qui varient par rapport à l'échantillon n°1.

7.1.5.1) Synthèse d'hétérostructures CdSe@CdS décorée avec un domaine d'or prédominant

a) Un domaine d'or prédominant par particule (n°1) par photocatalyse

Dans une cuve en quartz sont mélangés 360 μ L de QR ($2,5 \cdot 10^{-8}$ M, $A_{350 \text{ nm}}=1.1$), 18 μ L d'acide ascorbique à 0.2M ($3,6 \cdot 10^{-6}$ mol, 10 eq), 45 μ L de TEA (0.8 M au final, $3 \cdot 10^{-3}$ mol) et 9 μ L d'une solution de sel d'or à 29 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($3,6 \cdot 10^{-7}$ mol, 1 eq). Le mélange est ensuite irradié durant 20 minutes.

b) Formation d'un domaine d'or prédominant par particule (n°2) par un processus thermique

Les hétérostructures sont préparées dans les mêmes conditions que précédemment mais en absence de triéthanolamine ; les échantillons ne sont pas irradiés dans ce cas mais incubés dans un bain marie. La cinétique de formation des noyaux est plus importante en fonction de la température. Le temps d'incubation varie donc en fonction de la température. A 20°C, les hétérostructures sont synthétisées après 6h d'incubation.

Dans un eppendorf sont mélangés 360 μ L de QR ($2,5 \cdot 10^{-8}$ M, $A_{350 \text{ nm}}=1.1$), 18 μ L d'acide ascorbique à 0.2M ($3,6 \cdot 10^{-6}$ mol, 10 eq) et 9 μ L d'une solution de sel d'or à 29 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($3,6 \cdot 10^{-7}$ mol, 1 eq).

7.1.5.2) Hétérostructures CdSe@CdS/Au décorées de noyaux (n°3)

Dans une cuve en quartz sont mélangés 360 μ L de QR ($2,5 \cdot 10^{-8}$ M, $A_{350 \text{ nm}}=1.1$), 18 μ L d'acide ascorbique à 0.2M ($3,6 \cdot 10^{-6}$ mol, 1 eq), 45 μ L de TEA (0.8 M au final, $3 \cdot 10^{-3}$ mol) et 90 μ L d'une

-Partie expérimentale-

solution de sel d'or à 29 mg.mL^{-1} ($3,6.10^{-6}$ mol, 1 eq). Le mélange est ensuite irradié durant 20 minutes.

7.1.5.3) Synthèse et greffage en une seule étape de brins d'ADN sur les hétérostructures

Le sel d'or est fonctionnalisé avec de l'ADN thiol dans un tampon Borate (pH=10.5, 10mM) durant 5 minutes avant le mélange avec les autres réactifs. De plus, deux conditions ont été testées. (1) Une solution de $51.6 \mu\text{L}$ de sel d'or à 5 mg.mL^{-1} (1 mM au final) est préparée avec de l'ADN-thiol (12 kDa, 1.7 mg, 0.3 eq par rapport à l'or). (2) Une solution de $51.6 \mu\text{L}$ de sel d'or à 5 mg.mL^{-1} (1 mM au final) est préparée avec de l'ADN-thiol (12 kDa, 0.17 mg, 0.03 eq par rapport à l'or). La solution préparée en (2) permet de fonctionnaliser spécifiquement le domaine d'or des hétérostructures alors que l'autre (1) non.

Dans une cuve en quartz sont mélangés $360 \mu\text{L}$ de QR ($2,5.10^{-8}$ M, $A_{350 \text{ nm}}=1.1$), $18 \mu\text{L}$ d'acide ascorbique à 0.2M ($3,6.10^{-6}$ mol, 10 eq), $45 \mu\text{L}$ de TEA (0.8 M au final, 3.10^{-4} mol) et $51.6 \mu\text{L}$ d'une solution de sel d'or à 5 mg.mL^{-1} ($3.6.10^{-7}$ mol, 1 eq). Le mélange est ensuite irradié durant 20 minutes. Les échantillons sont ensuite purifiés par centrifugation (Tubes avec filtres, AMICON Ultra, 100k MWCO), afin d'éliminer les espèces libres en solution. Pour les assemblages dirigés par l'ADN, les échantillons sont lavés avec un tampon Tris (25mM, 0,3M NaCl). Les échantillons sont ensuite incubés avec les particules d'or sphériques fonctionnalisées avec le brin complémentaire (2 à 10 équivalents d'hétérostructures/Au) durant une nuit. La formation des agrégats peut alors être suivie en diffusion dynamique de la lumière. Avant les expériences de cryo-microscopie, les sels sont éliminés par centrifugation (2800g, 5min).

7.1.6) Greffage covalent d'une enzyme sur les bâtonnets CdSe@CdS via un couplage peptidique.

7.1.6.1) Formation du complexe

Les bâtonnets sont dispersés dans un tampon HEPES (50mM, pH=7.2) et peuvent être fonctionnalisés avec $\text{C}_3\text{E}_6\text{D}$ ou $\text{C}_3\text{A}_{11}\text{E}_4\text{CO}_2\text{H}$. Les bâtonnets sont alors dispersés dans l'eau selon les protocoles précédents et concentrés à 20 mg.mL^{-1} (AMICON ULTRA, 0,5 mL MWCO : 10-100k). On y ajoute un large excès d'agents de couplage, 400 mM d'EDC et 100 mM de NHS en solution, le mélange est laissé à température ambiante durant 30 minutes puis purifié des réactifs en excès par une colonne d'exclusion stérique (NAP-5, éluant : tampon HEPES 50 mM, pH = 7). Cette étape de purification conduit à la dilution de l'échantillon, il est alors nécessaire de concentrer l'échantillon par centrifugation (AMICON ULTRA, 0,5 mL MWCO : 10-100k). Trois équivalents d'hydrogénase (110kDa, 3 eq par rapport aux bâtonnets) sont ensuite ajoutés durant >1h avant la caractérisation du complexe sur gel d'électrophorèse.

-Partie expérimentale-

7.1.6.2) Propriétés électrochimique de films CdSe@CdS/protéine

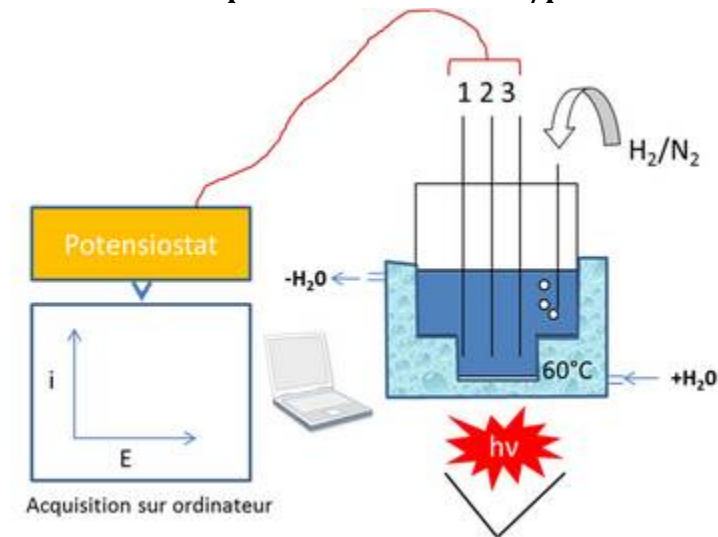


Figure 122 : Schéma du montage à trois électrodes désignées par (1) (2) (3) utilisé dans ce travail. L'échantillon est séché sur l'électrode de travail (1) puis est mise au contact d'un électrolyte (HEPES 50 mM pH=7.2). La cellule électrochimique est immergée dans un bain à 60 °C. La cellule peut être mise sous atmosphère saturée d'H₂ ou d'N₂.

Le montage est constitué de trois électrodes en contact avec un tampon HEPES (50mM, pH=7.2), reliées à un potentiomètre (Figure 122). L'échantillon est séché sur l'électrode de travail de graphite pyrolytique qui est recouverte d'une membrane de dialyse (7k MWCO) afin de confiner le dépôt au voisinage de l'électrode. En effet, les échantillons peuvent se redisperser en solution après séchage. La contre électrode est un fil d'or et l'électrode de référence est de deuxième espèce (Ag/AgCl). Les 3 électrodes sont reliées à un potentiomètre (μ autolab type III, Metrohm) où le potentiel électrique pris ou imposé à chacune des électrodes induit des transferts de charges. Des arrivées extérieures d'hydrogène et d'azote permettent de contrôler l'atmosphère de la cellule électrochimique. De plus, celle-ci est immergée dans un bain marie à 60°C grâce à une arrivée d'eau thermostatée.

L'échantillon (2mg/mL) est alors séché sur l'électrode sous un flux d'azote en 15 min. Les rampes linéaires consistent en un balayage lent (1 mV/s) en potentiel (-0,5 V;+0,5 V) à 60°C. Des cycles d'illumination de 30s (M405L2, Thor Labs, $\lambda=405\text{nm}$) sont effectués. Un blanc est systématiquement effectué (sans lumière) pour extraire uniquement l'activité photoinduite des données expérimentales.

7.1.7) Réduction d'un chromophore rédox, la résazurine

Les propriétés photorédox de trois lots de QR sont étudiées grâce à l'utilisation d'un indicateur Rédox : la résazurine. Les QR sont fonctionnalisés dans l'eau avec C₃E₆D ou C₃A₁₁E₄CO₂H comme décrit précédemment. Un volume de 150 μL par échantillon dans l'eau est préparé. Les trois lots de QR sont à la même concentration molaire de $2,78 \cdot 10^{-7}$ M ($4,17 \cdot 10^{-11}$ mol). La résazurine en solution aqueuse est alors ajoutée à une concentration finale de $17,24 \mu\text{M}$ ($2,58 \cdot 10^{-9}$ mol, 62 eq par rapport

aux QRs). La lampe est placée à 10 cm des échantillons et un suivi de l'absorbance en fonction du temps ($A_{\text{resa}}=f(t_{\text{irradiation}})$) est réalisé en spectroscopie UV-visible ($\lambda = 600 \text{ nm}$).

7.1.8) Fonctionnalisation des bâtonnets CdSe@CdS avec des sels de benzènediazonium

7.1.8.1) Synthèse du sel de benzènediazonium

Le sel de benzènediazonium est préparé dans l'eau à partir de la 4-(2-Aminoéthyl) aniline solubilisée dans 1 mL d'HCl 0,5 M (0,1 M ; $1,00 \cdot 10^{-4} \text{ mol}$; 1 eq) et de nitrite de sodium (0,1 M ; $1,00 \cdot 10^{-4} \text{ mol}$; 1 eq) solubilisé dans l'eau (18,2 mΩ). Le nitrite de sodium est ajouté goutte à goutte jusqu'à avoir un volume identique de la solution de nitrite de sodium ajoutée par rapport au volume de la solution d'aniline de départ. Le mélange est disposé dans un bain de glace à l'abri de la lumière sous agitation mécanique modérée. La caractérisation infrarouge du produit obtenu après 1h d'incubation montre une bande à 2270 cm^{-1} caractéristique du groupement diazonium. Une solution de 4-(2-Aminoéthyl) benzènediazonium à 0,05 M est ainsi obtenue. Le sel de benzènediazonium est préparé fraîchement avant chaque manipulation expérimentale.

7.1.8.2) Fonctionnalisation des bâtonnets CdSe@CdS par les sels de benzènediazonium

Les bâtonnets sont fonctionnalisés dans de l'eau millipore (18,2 mΩ) à $2,5 \cdot 10^{-8} \text{ M}$ ($A_{350 \text{ nm}}=1,1$). La force ionique de l'échantillon est fixée entre 1 et 10 mM. 1 mL de solution est constitué. On y ajoute 20 μL de la solution de benzènediazonium fraîchement préparée pour une concentration finale de 1 mM en solution (40000 eq par rapport aux QRs) et 20 μL de soude (0,25 mM, 1 eq par rapport à HCl) est ajoutée en même temps de façon à maintenir le pH de l'ordre de 7. Les bâtonnets sont ensuite irradiés (distance lampe-échantillon : 10 cm) durant 30 min (M405L2, Thor Labs, $\lambda=405\text{nm}$). Le greffage peut être caractérisé par électrophorèse (0,5% agarose, tampon Britton et Robinson¹³⁸) sans étape de purification supplémentaire. En revanche, la fonctionnalisation des QR-AD par un ester activé nécessite une étape de purification (NAP-5, éluant : borate pH=8) pour éliminer les sels d'AD en excès.

7.1.8.3) Fixation des QR AD-biotine sur des billes d'agarose streptavidinées

Les streptavidines immobilisées sur billes d'agarose (# 20347, Pierce, USA) sont conditionnées dans une solution comportant 0,02% de NaN_3 . Cette solution concentrée (12,5 μL), est diluée 4x dans une solution saline (150 mM, NaCl). La suspension (50 μL) est centrifugée à 4000 g pendant 30s. Un volume de 200 μL de solution saline est ajouté et la solution est à nouveau centrifugée à 4000 g pendant 30s. Cette étape est réalisée 2 fois pour éliminer les éventuels résidus ou protéines présents dans le surnageant. Les billes ainsi lavées (20 μL) sont alors incubées en présence de QR (80 μL , 100nM) durant 1 h sans agitation, à température ambiante. Les billes sont ensuite lavées. Pour ce faire, les échantillons sont centrifugés (4000 g, 30s) et lavés avec 200 μL de solution tampon (borate,

-Partie expérimentale-

pH 8.5, 10 mM, 150 mM NaCl). Le lavage est répété 4 fois. Les échantillons sont observés au microscope optique en champ clair en épifluorescence.

7.2) Matériels et méthodes physico-chimiques

7.2.1) Caractérisation des propriétés optiques des nanocristaux

Spectroscopie UV-Visible

Les mesures d'absorbance des solutions sont réalisées avec un spectrophotomètre UV-Visible double faisceau (Cary 100 SCAN UV-Visible Spectrophotometer, Varian, Australie), logiciel Scan. Les jeux de cuves utilisés sont des cuves de précision SUPRASIL® en quartz de 120 µL (105.250-QS, Hellma®, France). La ligne de base est réalisée en présence des deux cuves remplies du solvant. Cette étape permet de vérifier la propreté des cuves. Ensuite, la cuve de référence contenant le solvant permet de retrancher la ligne de base à l'absorbance mesurée au niveau de la cuve de l'échantillon. Les mesures sont réalisées dans une gamme de 0,1 à 1 unité d'absorbance, dans le domaine d'application de la loi de Beer-Lambert.

Spectroscopie de Fluorescence

Le fluorimètre utilisé est le modèle Fluorolog-3™ (FL3-22, Horiba Jobin Yvon, Japon), piloté par le logiciel fluorescence™. La source est une lampe Xénon de 450W, l'intensité est collectée à 90° par rapport à la source (mode Right Angle). Typiquement les largeurs des fentes sont réglées en excitation et en émission à 3 nm (valeurs variant de 1 à 5 nm). Les solutions de QR possédant un maximum d'émission entre 590 et 605 nm, sont excitées à 350 nm et scannées de 400 à 690 nm.

7.2.2) Caractérisation surfacique des nanocristaux

Mesure de pH

Le pH-mètre utilisé est le modèle Electrochemical Analyser C931 (Consort™, Belgique), équipé d'une microsonde (Fisher Bioblock, France). Cette sonde permet de mesure le pH de solution de volume supérieurs à 100 µL et ce au sein de microtube de 750 µL.

Diffusion dynamique de la lumière (voir annexe)

La diffusion dynamique de la lumière (DLS, pour "Dynamic Light Scattering") est mesurée avec un modèle Zétasizer Nano-ZS ZEN3600 (Malvern Instruments, Royaume Uni). Un laser ($\lambda = 633$ nm) illumine la solution, les photons diffusés sont collectés à 173° par un photomultiplicateur. Les mesures sont réalisées dans des microcuves jetables en PMMA de volume minimal 40 µL, à 25°C. Les échantillons sont préalablement filtrés sur filtres Millipore jetables de 0,2 µm (Millex GV, Sigma-Aldrich, France). Trois mesures de 20 scans, de 10 secondes chacune (durée d'un scan) sont réalisées pour chaque échantillon pour vérifier la reproductibilité des mesures.

Le potentiel zêta des particules est mesuré dans des cuves spéciales jetables de 650 mL (DTS 1061). Les échantillons sont insérés à l'aide de seringues jetables (Braun injekt® 1 mL). De plus, la force

-Partie expérimentale-

ionique des échantillons est fixée entre 1 mM et 10 mM. La présence d'un sel de fond est très importante pour pouvoir comparer les échantillons par la suite (voir annexe).

Electrophorèse

Sur gel d'agarose (nanoparticules)

Les migrations sur gel d'électrophorèse sont réalisées sur un Gel XLUltra™ V-2 (Labnet International, USA). Typiquement, le gel est réalisé en dissolvant 0,5 g d'agarose dans 100 mL de tampon (0,5%). La solution tampon doit être choisie avec soin (pH, force ionique) selon le système à caractériser. Deux types de tampon ont principalement été utilisés : tampon Borate (10 mM, pH=8, I= 10mM) ou tampon Britton et Robinson¹³⁸ (10 mM, pH=6, I=20mM). La solution est chauffée jusqu'à dissolution complète de l'agarose dans le tampon. La solution est coulée dans un moule surmonté d'un peigne au niveau des puits. Après 20 min à température ambiante, le gel est réticulé et utilisable. Le gel est alors disposé dans l'appareil puis immergé avec 350 mL du tampon. Un volume de 24 µL d'échantillon est disposé dans chaque puits contenant du glycérol pour éviter la diffusion de l'échantillon dans le tampon au moment de l'insertion. Le temps de migration est variable mais est typiquement de 45 min avec une tension constante de 50 V (espacement entre les électrodes : 15 cm). Après la migration, le gel est extrait puis observé dans un imageur ImageQuant 350 (GE Healthcare, USA) sous excitation UV ou en lumière blanche. Le logiciel IQuant Capture 350 permet l'acquisition et le traitement des images obtenues. Les photos des gels contenant des particules d'or sont prises aussi avec un appareil photo numérique.

Sur gel d'acrylamide (nanoparticules-protéines)

Préparation du gel

Les gels Natifs sont opérés sur une cellule d'électrophorèse mini-Protean III (Bio-Rad) selon le protocole de Schägger.²¹⁴ Le gel est composé d'un mélange d'acrylamide et de bis-acrylamide à 30%, d'eau, de tampon (HEPES 50mM, pH=7.2) et est réticulé grâce à l'ajout de persulfate d'ammonium (APS) et de *N,N,N',N'*-Tétraméthyléthylènediamine (TEMED).²¹⁴ La concentration du gel a été optimisée pour la migration verticale des QR à 5%. Le gel de séparation (5%) est surmonté d'un gel de concentration (4%) pour une entrée plus homogène des échantillons dans le gel de séparation. Les gels sont coulés verticalement entre deux lames de verre espacées d'un millimètre. Une attention particulière doit être portée sur l'absence de formation de bulles et sur la planéité du gel de séparation (5%) (ajout d'eau sur le dessus) et sa réticulation avant de couler le gel de concentration avec le peigne.

20 µL d'échantillons de QR (20mg/mL) et de protéines (3 équivalents) sont chargés avec 10 µL de bleu de charge G250 (2*). Les échantillons sont disposés dans les puits grâce à d'une seringue

-Partie expérimentale-

Hamilton. Un marqueur de poids moléculaire est éventuellement ajouté (NativeMark, Invitrogen). La migration est opérée à température ambiante, 10 mA/gel constant avec une tension variable. La migration est stoppée lorsque le front de migration du bleu de charge atteint la limite inférieure du gel de séparation.

Révélation et test d'activité de l'hydrogénase

L'activité de l'enzyme est révélée en milieu anaérobie en immergeant le gel dans un tampon HEPES (50mM, pH=7.2). L'enceinte (tube Falcon 50 mL) est dégazée sous argon durant 10 minutes puis placée sous atmosphère saturée d'H₂ durant 15 minutes. Le méthyl viologène (MeV, 1mM, accepteur d'électrons) est alors ajouté à 80°C. La coloration est fixée par la réduction du 2,3,5 chlorure de Triphenyltetrazolium par le MeV réduit et l'activité de l'hydrogénase est révélée par une coloration rouge dans le gel. La position des QR est révélée sous irradiation UV. Les bandes sont découpées pour une analyse de spectroscopie de masse, elles peuvent être alors conservées à -20°C.

7.2.3) Microscopies

Microscopie Optique

Les observations, en champ clair, en fluorescence et en champ noir sont réalisées sur un microscope inversé IX71 (Olympus, Japon) au laboratoire. Ce microscope possède 4 objectifs (Plan Objective, 4x ; CPlanFI, 10x, ouverture numérique 0,3 ; LUCPlanFLN, 20x, ouverture numérique 0,45 ; LUCPlanFLN, 40x, ouverture numérique 0,6). Les QR sont excités par une lampe à vapeur de mercure U-RFL-T. Les expériences sont réalisées dans des cellules scellées de 20 µL pour limiter l'évaporation du solvant. Les cellules sont confectionnées à partir d'une lame et d'une lamelle séparées par une couche de parafilm™ fondu.

Les mesures d'absorbance effectuées *in situ* sur les dépôts structurés de bâtonnets d'or ont été réalisées au CRPP à Bordeaux en collaboration avec l'équipe de S. Ravaine. L'expérience consiste à observer au microscope optique l'assemblage (*40) et de cibler l'acquisition des spectres sur une zone d'environ 5x5 µm (correspondant à la largeur d'un mur). Le microscope utilisé à Bordeaux est un « 20/20 PV™ UV-Visible-NIR Microspectrophotometer » de la compagnie CRAIC Technologies. La mesure est effectuée en transmission sur un substrat transparent (FTO ou verre). Les substrats de FTO peuvent gêner l'acquisition des spectres.

-Partie expérimentale-



Figure 123 : Photographie du microscope équipé d'un spectromètre UV-visible-NIR « 20/20 PV™ UV-Visible-NIR Microspectrophotometer » permettant l'acquisition d'images et de spectres d'absorbance à la fois sur un échantillon.

Electronique

Dans ce travail de thèse, plusieurs types de microscopes électroniques ont été utilisés : transmission (haute résolution, cryo-TEM, TEM de routine) et à balayage.

Microscope électronique à transmission (MET)

Préparation des grilles

Les échantillons dans l'eau sont déposés sur des grilles de carbone (Agar scientifique, S162-3, Formvar/Carbone 300 Mesh Cu (50)) recouverte d'un film de polymère. Les solvants organiques endommagent ces films de polymères mais sans empêcher l'observation sur les MET de routine. Des grilles en carbone sans polymères (Agar scientifique, 300 Square Mesh, Copper 3.05 nm) ont aussi été utilisées pour les échantillons en solvant aqueux. En revanche, les solvants organiques détériorent intégralement ces grilles, empêchant toute observation. Pour les observations sur le microscope à haute résolution, très sensible à la contamination, les grilles utilisées pour les échantillons dispersés en solvant organique sont constituées de Si_3N_4 (TED PELLA, INC. N° 21502-10). Une fois déposé, l'excès de solution peut être éliminé avec un papier absorbant pour limiter le temps de séchage et les phénomènes associés au séchage (contamination et réorganisation). Pour les observations en STEM-HAADF, les grilles ont été chauffées à 100°C pour éviter les phénomènes de contamination au carbone.

Description des microscopes utilisés

Un MET (JEM 1400 JEOL, 120 kV) équipé d'une caméra ORIUS 1000, a été utilisé à l'Université de Rennes 1 (TEM Mric-UMS 3480-Biosit-Université de Rennes 1 platform) en collaboration avec A. Burel. Le microscope est piloté par le logiciel digital Micrograph. Après une formation à l'utilisation du microscope, j'ai pu observer les échantillons moi-même. C'est un microscope équipé d'une source d'électron thermoionique (à filament) et la résolution du microscope est limitée à des grossissements

-Partie expérimentale-

de 500k. L'introduction des échantillons dans la colonne est rapide (10 minutes), c'est donc un appareil idéal pour des manipulations de routine.

Le microscope haute résolution est un JEOL 2200 FS équipé d'un correcteur d'aberrations sphériques sur la sonde. Avec ce correcteur, la résolution effective en mode STEM est de 1Å, ce qui permet d'obtenir des images à contraste chimique (HAADF : High Angle Annular Dark Field) à l'échelle atomique. Ce microscope a été utilisé, dans le cadre d'une collaboration avec le laboratoire de Nanophotonique et de Nanostructures (LPN) à Marcoussis, par Ludovic Largeau. L'introduction des échantillons est longue, cet appareil a été utilisé pour caractériser finement un échantillon.

Un cryo-microscope électronique à transmission (Cryo-MET) a été utilisé pour caractériser les assemblages dirigés par l'hybridation de l'ADN d'hétérostructures et de particules d'or sphériques. Le microscope est un FEI Technai Spirit G2 utilisé à une tension d'accélération de 100 kV. Le porte objet est un GATAN spécial cryo fonctionnant à -180°C et les images ont été obtenues à partir d'une caméra GATAN Orius CCD. Ce microscope a été utilisé dans le cadre d'une collaboration avec l'équipe de C. Aimé (UPMC, Collège de France/Jussieu, Paris).

Microscope électronique à balayage.

Le microscope est un Magellan™ XHR SEM (FEI Inc.). En plus du mode MEB « classique », cet instrument est muni d'un détecteur (SDD 50 mm²) permettant l'acquisition d'images haute résolution en transmission en mode STEM (Scanning Transmission Electronic Microscope) et d'un capteur EDX/EDS (X-MAX, OXFORD) pour l'analyse chimique. Cet appareil a été utilisé en collaboration avec le laboratoire de Nanophotonique et de Nanostructures (LPN) à Marcoussis par Christophe Dupuis. La tension d'accélération est variable entre 1 et 30 kV et doit être ajustée selon le type d'échantillon. Dans le cas des bâtonnets d'or la tension d'accélération moyenne était de 5 kV. Pour l'observation des QR, une tension de 15 kV est nécessaire pour « percer » la gangue organique.

7.2.4) Analyse Chimique

Infrarouge

Le spectromètre utilisé est un Varian 640-IR muni d'un cristal d'ATR-DTGS (ATR : Attenuated Reflectance Spectroscopy). L'échantillon (1mL) est au préalable purifié des espèces libres par deux colonnes d'exclusion stérique (NAP10, éluant eau) ou par dialyse (dans 1L d'eau, MWCO : 50k) en présence d'une résine échangeuse d'ions (10g, Mixed Bed Resin, Sigma). Dans le cas d'une purification par dialyse, la suspension est incubée 1h en présence de la résine puis le bain est remplacé, la procédure est alors répétée 3 fois. L'échantillon est déposé soit en solution puis séché soit sous forme de poudre après lyophilisation (lyophilisateur : H-ETO Power Dry PL 300).

7.2.5) Analyse structurale : Diffusion des Rayons X aux petits angles (SAXS, voir annexe)

Les expériences SAXS ont été réalisées à Rennes (plateforme ENSCR)²²⁰ ou sur la ligne « SWING » (12 keV) au Synchrotron SOLEIL¹⁰⁵ par l'équipe de F. Artzner. Les échantillons de bâtonnets (10^{-8} M) sont séchés dans des capillaires (Glas-Technik & Konstruktion Müller & Müller OHG) de 1,3-1,6 mm de diamètre. Dans le cas des bâtonnets d'or, les échantillons sont séchés en présence de CTAB (0,5mM) sans Tween 20. Les capillaires contenant les échantillons sont séchés dans un dessiccateur sous vide (60 mbar) en présence de pentoxyde de phosphore (P_2O_5) de façon à éliminer les traces d'eau.

7.2.6) Préparation des échantillons pour l'organisation multi échelle (voir annexe)

15 mL d'une suspension de bâtonnets CTAB ($4,54 \cdot 10^{-10}$ M, CTAB=0,5mM) sont fonctionnalisés avec 225 μ L de MUDOL 10 mM (ou mélange MUDOL/MUDIC) sous agitation mécanique moyenne durant au moins deux heures. L'échantillon est ensuite concentré par des cycles de centrifugations successifs (13k g, 10 min) jusqu'à atteindre un volume d'échantillon d'environ 10 μ L. Du tween 20 (CMC=0,06 mM, Sigma) est ajouté dans la solution à une concentration de 0,072 mM (=1,2xCMC). Pour obtenir les assemblages multi-échelles une surface microtexturée est préalablement préparée (voir annexe). Une goutte de la suspension colloïdale ($\approx 10^{-6}$ M) d'un volume de 1 μ L, est déposée à l'aide d'une micropipette sur un substrat puis la surface décorée est appliquée dessus jusqu'à évaporation complète de l'eau. Enfin, la surface décorée (ou moule) est retirée.

Annexe I : Diffusion dynamique de la lumière



Figure 124 : Photographie constructeur (Malvern) du modèle Zétasizer Nano-ZS ZEN3600 utilisé au laboratoire.

Le diamètre hydrodynamique des colloïdes en suspension est mesurable par diffusion dynamique de la lumière (DLS) (Figure 124, Dynamic Light Scattering). Cette technique est sensible à l'intensité diffusée de tous les composants de l'échantillon. C'est donc une mesure d'ensemble qui permet de caractériser la monodispersité d'un échantillon. De plus, cet appareil permet de mesurer la charge surfacique moyenne des nanoparticules *via* la mesure de leur mobilité électrophorétique. Les résultats sont complémentaires des migrations obtenues en électrophorèse.

Les fluctuations de l'intensité diffusée (nombre de photons diffusés) sont mesurées à un instant t et $t+\Delta t$. Plus l'intervalle de temps entre les deux mesures est important et plus les deux mesures seront décorréliées. Par ailleurs, les nanoparticules suspendues en solution sont soumises au mouvement brownien selon le coefficient de Stokes-Einstein. Ainsi les grosses particules sont dans un état plus stationnaire (diffusion dans la solution moins importante) que les petites ; cela aura une incidence directe sur la fonction d'autocorrélation ou l'information sera perdue plus vite pour les petites particules (Δt petit) que les grosses (Δt grand). Il est donc possible par cette technique, en mesurant les fluctuations d'intensité diffusées, de déduire la taille des nanoparticules. De plus, les contre-ions adsorbés à leur surface participent à la diffusion des particules dans la solution. Cette technique permet donc de mesurer le « diamètre hydrodynamique des particules » incluant la couche d'hydratation de l'objet diffusant.

Mesure du diamètre hydrodynamique

Le diamètre hydrodynamique d'une particule en solution inclut le diamètre physique de la particule ainsi que plusieurs couches d'hydratation. Deux couches sont distinguées au contact de la particule : la couche de Stern où des contre ions s'adsorbent à la surface, et d'une couche diffuse où les contre-ions sont plus concentrés qu'en solution. L'ensemble de ce système définit le diamètre

-Annexes-

hydrodynamique (Figure 125). Celui-ci peut fluctuer, notamment en fonction de l'état charge surfacique de la particule, du solvant et de la force ionique.

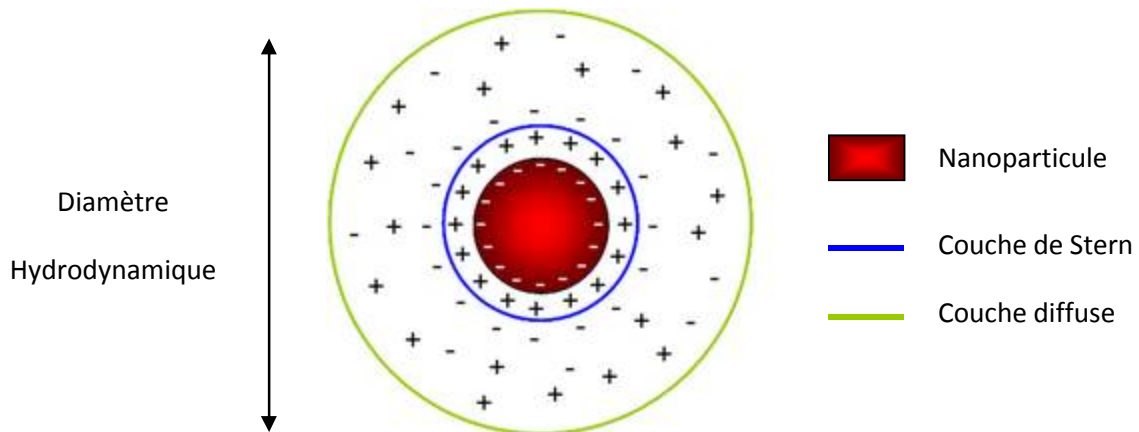


Figure 125 : Couches d'hydratation d'une particule et définition du diamètre hydrodynamique

De plus, l'intensité diffusée est dépendante de la taille des particules et varie selon une loi de puissance en r^6 . Dans l'exemple (Figure 126), un échantillon contient deux populations de particules sphériques de 5 et 50 nm de diamètre hydrodynamique dans des proportions stœchiométriques (rouge, Figure 126). Il y a différentes lectures possibles du résultat, en « intensité » (jaune, Figure 126) les particules de 50 nm diffusent un million de fois plus la lumière que les particules de 5 nm alors qu'en « volume » (vert, Figure 126) les particules de 5 nm apparaissent 1000 fois plus intensément que les autres car leur volume est 1000 fois plus petit. La « qualité » du résultat mesuré sera donc extrêmement dépendante de la monodispersité des échantillons. De plus, dans ce travail les résultats sont généralement donnés en intensité pour éviter les approximations fortes et arbitraires (telles que la forme de la particule ou l'indice de réfraction) associées au traitement du logiciel.

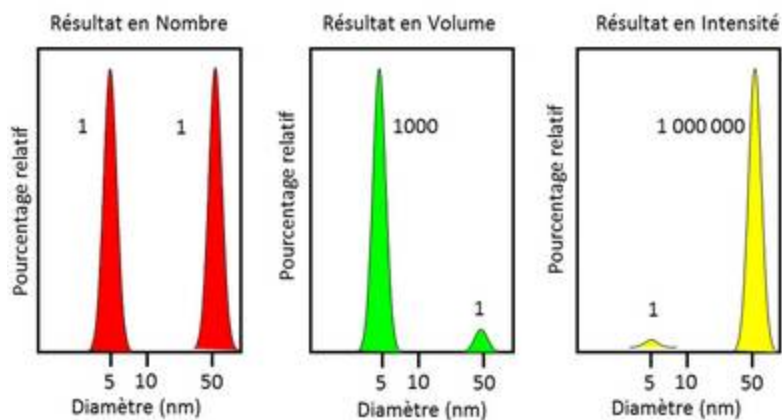


Figure 126 : Illustration du signal mesuré en DLS d'une population composée de deux types de nanoparticules (5 nm et 50 nm).

Annexe II : Analyse des clichés de microscopie par un logiciel de traitement d'image, Image J.

Les images de microscopie ont été analysées avec un logiciel de traitement d'images : Image J, en libre accès (réf web : <http://rsb.info.nih.gov/ij/>). Il se présente sous la forme d'une barre de menu flottante qui ouvre des fenêtres de données, elles aussi flottantes.

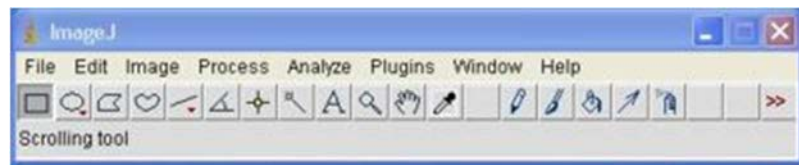


Figure 127 : Barre des menus flottante du logiciel Image J

La plupart des opérations courantes de traitement d'images sont réalisables avec ce logiciel : visualisation et ajustement de l'histogramme des niveaux de gris, débruitage, correction d'éclairage, détection de contours, transformation de Fourier directe et inverse, seuillage... En analyse d'images, Image J permet de dénombrer des particules, d'évaluer leurs rapports d'aspect, de mesurer diverses grandeurs (distances, surfaces), d'extraire des coordonnées de contour...

Les clichés de microscopie électronique ont notamment été analysés par transformée de Fourier rapide (FFT) pour confirmer les assemblages dans des phases hexagonales. L'échelle est alors ajustée (Analyse=> Set Scale) puis la zone d'intérêt (n^2) est sélectionnée et la fonction (Figure 127, Process=>FFT=>FFT) est simplement appliquée pour révéler la symétrie 6 des assemblages.

Mesures de taille des bâtonnets.

Ces analyses d'images ont été effectuées sur les clichés de MET. Afin de mesurer le rapport d'aspect des bâtonnets il est nécessaire de régler l'échelle sur l'image de façon à ce que 100 nanomètres sur la photographie correspondent à 100 pixels sur l'image (Figure 127, Analyse => Set Scale). La morphologie (longueur, largeur) des bâtonnets peut être déterminée à la main ou par des traitements mathématiques.

Pour l'analyse morphologique, une macro a été développée par Dougerty : <http://www.optinav.com/Measure-Roi.htm>. La méthodologie pour mesurer automatiquement le rapport d'aspect des bâtonnets a été décrite par Hubert et al.⁶² Il est nécessaire de définir les pixels correspondant aux bâtonnets à « 1 » et les autres à « 0 ». Ceci se fait grâce à la fonction de seuillage (Image => Adjust => Threshold), comme illustré sur la Figure 128. Il est nécessaire d'avoir un bon contraste sur l'image de départ pour faire une statistique de qualité par cette méthode.

-Annexes-

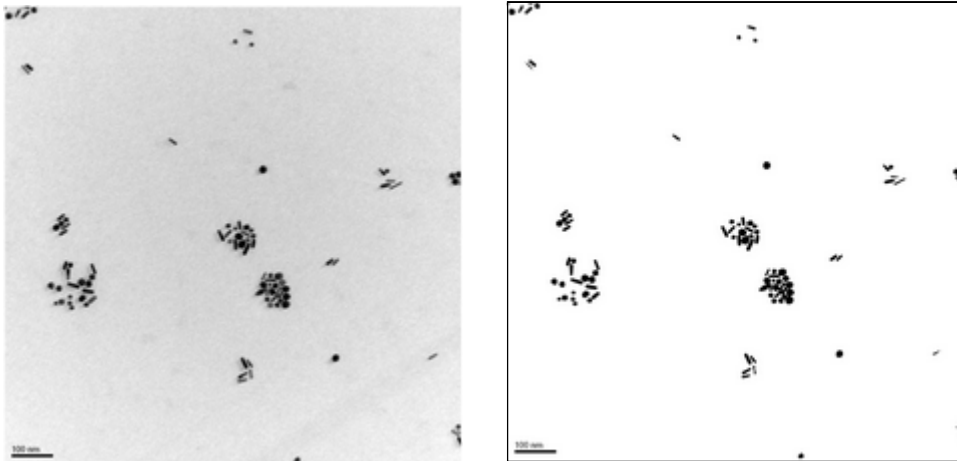


Figure 128 : A droite : photographie TEM de bâtonnets d'or. A gauche : image après application de la fonction « threshold ».

La barre d'échelle en bas à gauche de l'image est supprimée (« sélection de la zone » => Edit => Clear) pour mesurer uniquement les particules.

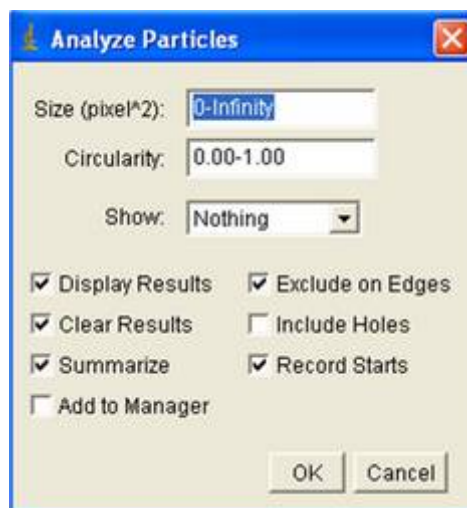


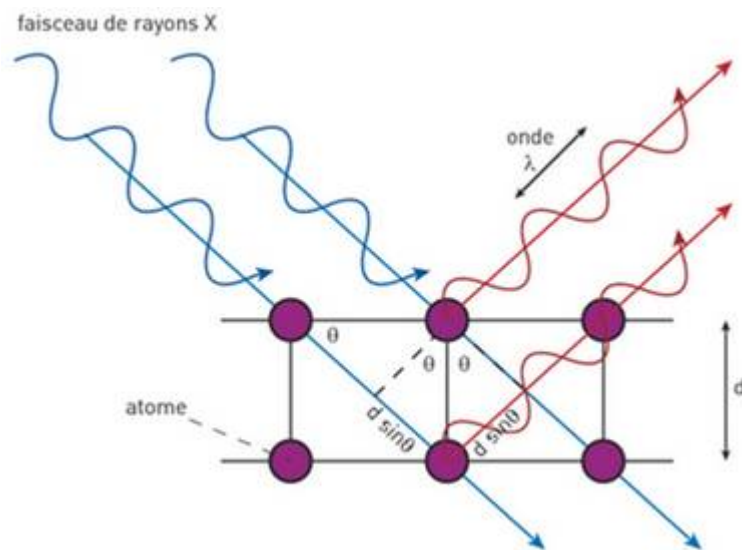
Figure 129 : Configuration de l'interface après avoir sélectionné la macro.

L'algorithme détermine la distance maximum entre deux points (longueur) puis mesure la distance dans la direction perpendiculaire à celle-ci (largeur). Les caractéristiques morphologiques des bâtonnets peuvent ainsi être déterminées. Cliquer sur « Measure Roi PA », un tableau résumant les résultats s'affiche qu'il suffit de reporter dans un logiciel (Excel, Origine...) pour obtenir une statistique morphologique de l'échantillon. Cette méthode est intéressante pour obtenir une statistique sur un grand nombre de particule avec un gain de temps substantiel.

Annexe III : Diffusion des rayons X aux petits angles.

Principe

Un cristal est défini dans l'espace par trois vecteurs de translation fondamentaux qui décrivent un réseau. A tout nœud du réseau, on positionne une base d'atomes. L'association du réseau et de la base d'atome forme la structure cristalline et les trois vecteurs de translation forment la maille élémentaire. Un plan passant par trois nœuds du réseau est appelé plan réticulaire qui peut être décrit par les indices de Miller h, k et l (nombres entiers). La diffraction de la lumière obéit à la loi suivante :



$$2d \sin(\theta) = n\lambda$$

Figure 130 : Principe de diffraction de rayons X sur un réseau cristallographique et loi de Bragg. Source : www.neel.cnrs.fr/spip.php?article1010

La loi de Bragg ci dessus indique que l'interférence constructive des faisceaux est obtenue à un angle de diffraction (θ) si la différence de marche entre les faisceaux réfléchis est un nombre entier (n) de la longueur d'onde λ du faisceau incident. Cette relation permet donc de déterminer la distance entre les plans réticulaires (d) du cristal (Figure 130).

Les distances entre plans réticulaires étant de l'ordre de l'Angstrom dans les cristaux, la condition de Bragg n'est pas respectée avec la lumière du visible ; c'est pourquoi les rayons X, de longueur d'onde de l'ordre de l'Angstrom sont utilisés en cristallographie. Dans notre cas, les plans réticulaires des cristaux étudiés sont de l'ordre de la dizaine de nanomètres. Les angles de diffraction sont donc assez petits (de l'ordre du centième de degré). Les expériences sont donc dites de « petits angles » ou encore de Small Angle X-ray Scattering (SAXS) en anglais.

-Annexes-

Le paramètre « q » (en \AA^{-1}) est introduit pour décrire le cristal dans le réseau réciproque, il correspond à la « fréquence spatiale » du cristal.

$$q = \frac{2\pi}{d} = \frac{4\pi \sin(\theta)}{\lambda}$$

Dans notre cas, les échantillons sont séchés dans des capillaires. Les supercristaux obtenus par séchage sont structurés dans des domaines de quelques μm^3 orientés dans toutes les directions (comme une poudre de monocristaux). Les figures de diffraction ne sont alors plus des points individuels mais des anneaux concentriques (Figure 131).

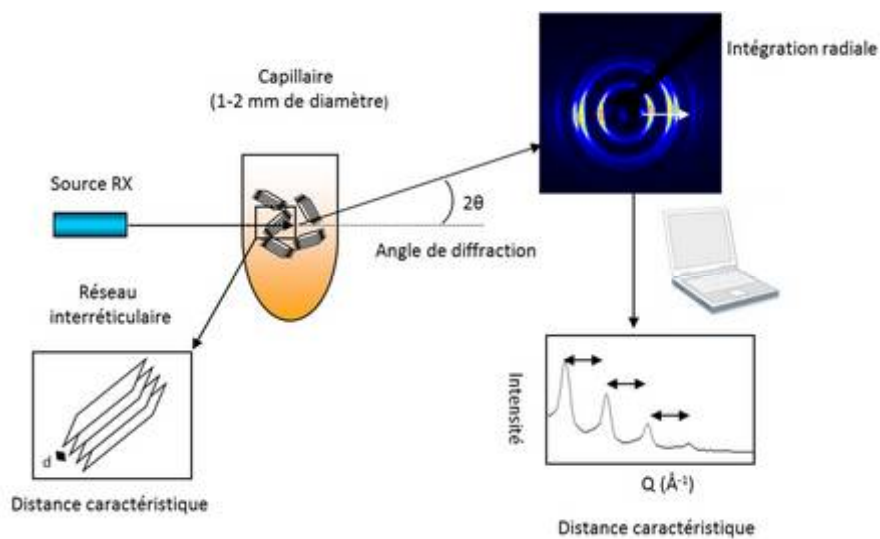


Figure 131: Schéma de principe de diffusion des rayons X

L'analyse d'un cliché consiste à étudier le graphe $I=f(q)$ obtenu par intégration radiale de la figure de diffraction (l'intensité des points issus des rayons diffractés formant un même angle avec le faisceau incident sont sommées) (Figure 131). Le graphe $I=f(q)$ présente donc plusieurs pics reliés les uns aux autres par des coefficients de proportionnalité. Ces coefficients dépendent des indices de Miller (h,k,l) et permettent de déterminer la maille du super-cristal.

Cas des phases lamellaires et hexagonales

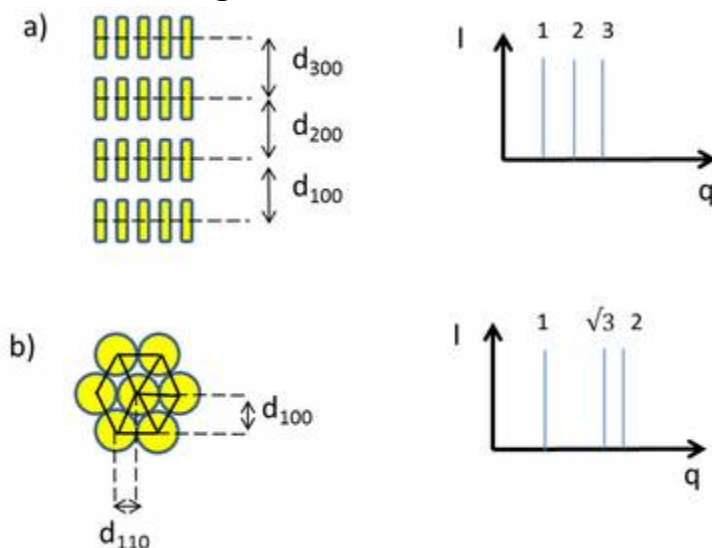


Figure 132 : Illustration des positions relatives des pics de Bragg observés dans le cas a) d'une phase lamellaire et b) d'une phase hexagonale.

Dans ce travail de thèse, principalement des phases lamellaires et hexagonales ont été analysées en SAXS. Les phases lamellaires sont composées d'une succession de plans parallèles équidistants. Le cliché de diffraction X obtenu consiste donc en une succession d'anneaux concentriques équidistants (Figure 132a). Par ailleurs, le spectre d'une phase hexagonale correspond à la racine de la somme des carrés des indices de Miller : $(\sqrt{h^2 + V^2} + hk)$ de $1, \sqrt{3}, 2, \sqrt{7}, 3...$ Le cliché de diffraction X obtenu consiste en une succession d'anneau concentriques dont les rayons sont dans les rapports $(\sqrt{3}, 2, \sqrt{7}, 3)$ avec celui du premier anneau (Figure 132b).

Caractéristiques du montage à l'ENSCR

Les clichés de SAXS ont été réalisés par C. Mériadec, Thomas Bizien, Marie Postic et F. Artzner (Institut de Sciences Physiques, UMR6251, Rennes) sur la plateforme de l'ENSCR (Rennes). Les rayons X sont produits par une anode tournante en cuivre FR591 (Bruker, Courtaboeuf, France) fonctionnant à 50 kV et 50 mA. La radiation monochromatique $\text{Cu}_{K\alpha}$ ($\lambda_{\text{CuK}\alpha} = 1,541\text{\AA}$) est sélectionnée et focalisée par un miroir elliptique à double réflexion Montel (Incoatec, Geesthacht, Allemagne). Le faisceau est défini sous vide par des fentes motorisées. Un montage à "deux fentes" permet d'obtenir un montage à haut flux avec un faisceau faiblement divergeant. La taille du faisceau est de l'ordre de $500 \times 500 \mu\text{m}$. Un porte-échantillon permet de positionner 20 échantillons. A l'extrémité du tube à vide, un détecteur Mar345 Image-Plate detector (Mar Research, Norderstedt, Allemagne) permet de réaliser les images 2D. L'analyse des clichés 2D de diffraction nécessite ensuite une intégration radiale pour une précision accrue de la position des pics en vue de leur indexation (Logiciel FIT2D). L'indexation des pics a été réalisée sous Igor Pro avec l'aide de F. Artzner et de T. Bizien.

Annexe IV : préparation et utilisation des surfaces microtexturées

Les surfaces microtexturées en PolyDiMéthylSiloxane (PDMS) sont préparées en imprimant l'élastomère non réticulé sur un masque, le chauffage permet de fixer les motifs du masque sur le film polymère. Le PDMS est largement utilisé en microfluidique comme élément constitutif des micro-canaux.²²¹ Son adhésion à des surfaces est réversible *via* la formation de liaisons de type de Van Der Waals et peut-être irréversible *via* la formation de liaisons covalentes grâce à un plasma. Les masques sont préparés par photo-lithographie en salle blanche par M. Postic et L. Courbin (à l'Institut de Physique de Rennes) et consiste à insoler une résine (SU-8-2025, Microchem), déposée à l'aide d'une tournette (spin coating), sur un substrat de silicium puis de la développer dans un bain révélateur.¹⁵⁰ Les masques obtenus sont réutilisables et les solvants comme l'acétone sont à éviter pour ne pas endommager la résine durant le lavage.

Le PDMS est un liquide visqueux (10^4 fois plus que l'eau à T° ambiante). Un mélange de PDMS et d'agent durcissants (rapport 1/9 en masse /PDMS) est constitué et dégazé dans une cloche à vide pour éliminer les bulles d'air. Le mélange est alors déposé sur le masque pour former un film liquide de 0,5 cm d'épaisseur. L'ensemble est placé dans une étuve à 65°C durant 1h pour accélérer la polymérisation du mélange. Un élastomère transparent est alors obtenu et prêt à l'emploi. La géométrie de la surface microtexturée : nature du réseau (carré, cercle, rectangle) et les paramètres de réseaux (distance entre les plots, hauteur) sont modulables en modifiant le masque initial. Dans ce travail de thèse, des surfaces microtexturées composées d'un réseau carré de plot cylindriques de hauteur $35\ \mu\text{m}$ et d'espacement entre les plots de $75\ \mu\text{m}$ ont été utilisées. Afin de démontrer la versatilité de la technique des surfaces ayant un espacement entre les plots cylindriques de $250\ \mu\text{m}$ ont aussi été préparées.

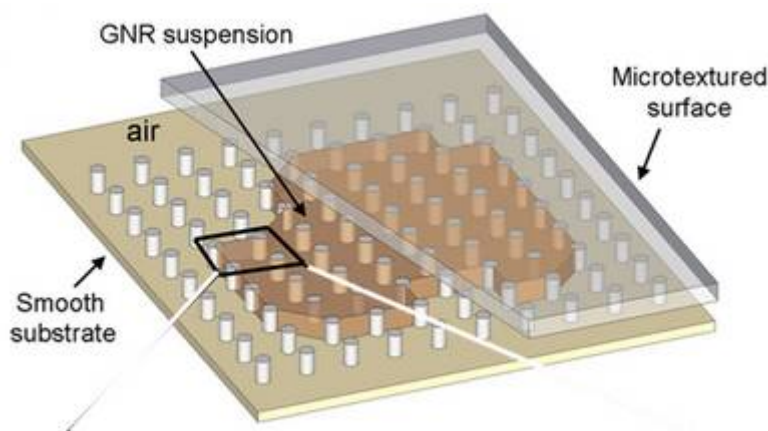


Figure 133 : Application du moule décoré sur une dispersion aqueuse de bâtonnets d'or. A l'issue du séchage, le moule est retiré, et une surface microtexturée composée de bâtonnets d'or est obtenue.

-Annexes-

L'expérience consiste à appliquer la surface microtexturée sur une goutte d'échantillon (Figure 133) contenant un surfactant (le Tween 20, >CMC, Sigma) déposée sur un substrat (Au, Si, ITO, verre...). Pour les mesures *in situ* en rayons X, la goutte est déposée sur un film de Kapton (transparent aux RX). Ainsi, un volume de 1 μL d'échantillon est déposé sur le substrat à l'aide d'une micropipette. L'application du moule (le réseau de plot tourné vers la goutte) étale la goutte jusqu'à la limite des bords du substrat. La surface finale est de forme carrée d'environ 1 cm^2 . Le séchage est lent (>12h), et le moule peut être enlevé après séchage, laissant une empreinte qui forme la surface.

Abréviations et acronymes

Aa: *Aquifex aAeolicus*

AA: Acide Ascorbique

ADN: Acide DésoxyriboNucléique

APS : Ammonium PerSulfate

BC: Bande de Conduction

BM: Bleu de Méthylène

BV: Bande de Valence

CVD: Chemical Vapor Deposition

CMC: Concentration Micellaire Critique

CTAB: Bromure de Cetyl Trimethyl Ammonium (CTAB)

DDM: n-DoDecyl-beta-D-Maltoside

DLS: Dynamic Light Scattering (diffusion dynamique de la lumière)

DLVO: Derjaguin, Landau, Verwey, Overbeek

EDC: 1-(3-Diméthylaminopropyl)-3-EthylCarbodiimide

E_f : niveau de Fermi

FTO: Fluorine doped Tin Oxide (oxyde d'étain dopé au fluor)

Hase: Hydrogénase

HOMO: Highest Occupied Molecular Orbital

HPA: Acide HexylPhosphonique

IR: Infra-Rouge

ITO: Indium doped Tin Oxide (oxyde d'indium dopé à l'étain)

-Glossaire-

LSPR: Longitudinal Surface Plasmon Resonance

LUMO: Lowest Unoccupied Molecular Orbital

MEB: Microscope Electronique à Balayage

MET: Microscopie Electronique en Transmission (=TEM)

MUDIC: ((1-MercaptoUnDec-11-yl) hexaéthylene glycol) acide Carboxylique

MUDOL: (1-MercaptoUnDec-11-yl) hexaéthylene glyCOL

NHS: N-HydroxySuccinimide

ODPA: Acide OctaDecylPhosphonique

PDMS: PolyDiMéthylSiloxane

PEG: PolyEthylène Glycol

QD: Quantum Dots (boîte quantique)

QR: Quantum Rods (bâtonnet quantique)

RMN: Résonance Magnétique Nucléaire

RX: Rayons X

SAXS: Small Angle X-ray Scattering (diffusion des rayons X aux petits angles)

SDS: DodécylSulfate de Sodium

SERS: Surface Enhanced Raman Scattering

STEM-HAADF: Scanning Transmission Electronic Microscopy-High Angle Annular Dark Field

TEA: TriEthanolAmine

TEM: Transmission Electron Microscopy (=MET)

TEMED: *N,N,N',N'*-TEtraMéthylEthylèneDiamine

TOF: TurnOver Frequency

TOP: TriOctylPhosphine

-Glossaire-

TOPO: Oxyde de TriOctylPhosphine

TSPR: Transversal Surface Plasmon Resonance

T20: Tween 20 (Polysorbate 20)

UV: Ultra-Violet

Liste des publications :

- Hamon, C.; Postic, M.; Mazari, E.; Bizien, T.; Dupuis, C.; Even-Hernandez, P.; Jimenez, A.; Courbin, L.; Gosse, C.; Artzner, F.; Marchi-Artzner, V. *ACS Nano* **2012**, *6*, 4137. Three-Dimensional Self-Assembling of Gold Nanorods with Controlled Macroscopic Shape and Local Smectic B Order.
- Hamon, C., Bizien, T, Even-Hernandez P, Artzner, F, Marchi Artzner, V. (*en révision à Langmuir*). Effect of the replacement of CTAB with peptides at the surface of Gold Nanorods on their self-assembling properties.
- Bizien, T; Even-Hernandez, P; Postic, M; Mazari, E; Chevance, S; Bondon, A; Hamon, C.; Troadec, D; Largeau, L; Dupuis, C; Gosse, C; Artzner, F; Marchi, V. (*soumis*). Peptidic ligands to control the three-dimensional selfassembly of quantum rods in aqueous media.
- Ciaccafava, C. Hamon, P. Infossi, V. Marchi, M.T Giudici-Ortoni, E. Lojou (*accepté à Physical Chemistry Chemical Physics*). Light induced reactivation of O₂-tolerant hydrogenase from the hyperthermophilic bacteria *Aquifex aeolicus*.
- Hamon, C.; Martini, C.; Voisin, H.; Aimé, C.; Marchi, V. (*en préparation*). Synthesis of QR CdSe@CdS/gold Janus nanoparticles functionalized with DNA.
- C. Hamon, A. Ciaccafava, P. Infossi, M.T Giudici-Ortoni, E. Lojou, V. Marchi (*en préparation*) Formation a complex QR_CdSe@CdS@hydrogenase with a covalent interaction for hydrogen decomposition.

Three-Dimensional Self-Assembling of Gold Nanorods with Controlled Macroscopic Shape and Local Smectic B Order

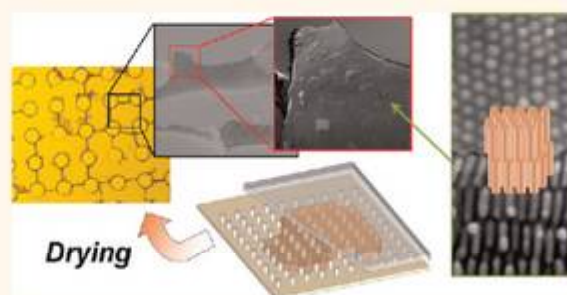
Cyrille Hamon,[†] Marie Postic,[‡] Elsa Mazari,[§] Thomas Bizien,^{†,‡} Christophe Dupuis,[§] Pascale Even-Hernandez,[†] Angela Jimenez,[‡] Laurent Courbin,[‡] Charlie Gosse,[§] Franck Artzner,[‡] and Valérie Marchi-Artzner^{†,*}

[†]Institut des Sciences Chimiques de Rennes, UMR 6226 CNRS, Université Rennes 1, Avenue du Général Leclerc, 35042 Rennes Cedex, France, [‡]Institut de Physique de Rennes, UMR 6251 CNRS, Université Rennes 1, Avenue du Général Leclerc, 35042 Rennes Cedex, France, and [§]Laboratoire de Photonique et de Nanostructures, LPN-CNRS, Route de Nozay, 91460 Marcoussis, France

Gold nanorods (GNRs) are promising components for nanosystems dedicated to applications in fields such as sensing, imaging, and diagnostics.^{1–5} Indeed, they are particularly attractive because of their unique optical properties and their ability to self-organize, both features originating from their shape anisotropy.^{6–12} Ordered assemblies of such metal nanoparticles are for instance used for amplification of optical signals in fluorescence,¹³ Raman,^{14–16} and absorption spectroscopies.^{17,18} Plasmon coupling leads to collective surface plasmon resonances that can be adjusted over a wide spectral domain by tuning the objects' shape and size as well as their interdistance.^{19,20} Different methods have been exploited to prepare three-dimensional (3D) structures made of GNRs,²¹ by either association in solution,^{9,22,23} drying at an interface,^{12,24,25} or templating.^{2,26} Nevertheless, most of these processes yield colloidal crystals having a size limited to a few micrometers, a poorly defined shape, and an inhomogeneous thickness. Furthermore, methods relying on drying generally lack control with respect to spacing between the deposited particles.

The present paper describes a novel drying method where GNR crystallization is managed in order to obtain a macroscopic material having both a predetermined crystalline structure and a predetermined shape. As self-assembling is governed by the balance between van der Waals,²⁷ depletion,^{17,28,29} and electrostatic interactions,³⁰ finely tuning the particle chemical coating is of foremost importance to find a compromise between attractive

ABSTRACT



We describe a method of controlled evaporation on a textured substrate for self-assembling and shaping gold-nanorod-based materials. Tridimensional wall features are formed over areas as large as several square millimeters. Furthermore, analyses by small-angle X-ray scattering and scanning electron microscopy techniques demonstrate that colloids are locally ordered as a smectic B phase. Such crystallization is in fact possible because we could finely adjust the nanoparticle charge, knowledge that additionally enables tuning the lattice parameters. In the future, the type of ordered self-assemblies of gold nanorods we have prepared could be used for amplifying optical signals.

KEYWORDS: gold nanorods · self-assembly · 3D crystal · shaping · PEGylated alkanethiolate · superstructure · controlled drying · PDMS stamp · SAXS · SEM

and repulsive forces. To that effect, we here exchange the detergent present at the gold surface after synthesis for a combination of neutral and negative alkanethiolates. Using such a mixture should allow us to adjust the colloid interdistance in the final material. In parallel, we develop a technique to guide the drying of the GNR suspension over areas as large as several square millimeters. A topographically patterned polydimethylsiloxane

* Address correspondence to valerie.marchi-artzner@univ-rennes1.fr.

Received for review February 9, 2012 and accepted April 12, 2012.

Published online April 12, 2012
10.1021/nn3006027

© 2012 American Chemical Society

HAMON ET AL.

VOL. 6 ■ NO. 5 ■ 4137–4146 ■ 2012

ACS NANO
www.acsnano.org

4137

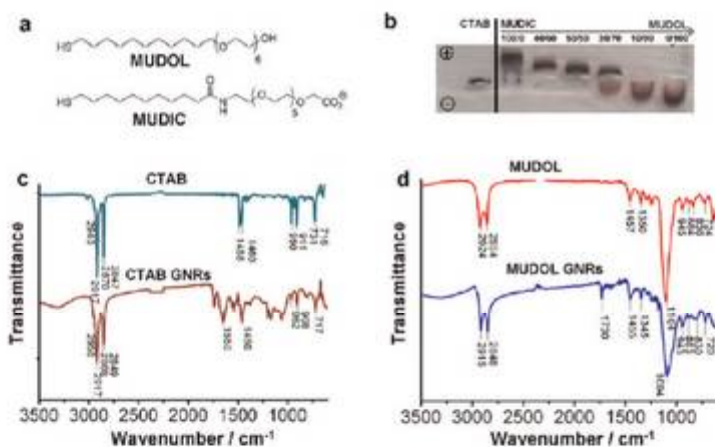


Figure 1. (a) Chemical structures of the MUDOL and MUDIC ligands. (b) Gel electrophoresis of GNRs grafted with different MUDIC/MUDOL mixtures. CTAB denotes the “as-synthesized” sample, *i.e.*, before any ligand exchange. (c, d) FTIR spectra of lyophilized GNRs grafted with either CTAB or MUDOL. Before analysis, the ligand excess was removed by dialysis. Spectra of the pure capping agents are displayed as references, the curves being shifted for the sake of clarity.

(PDMS) mold sealed on a smooth substrate is used both to regulate water evaporation and to control the deposition of the GNRs in given locations thanks to contact line pinning. Our results demonstrate possibilities for engineering 3D walls made of nanometer rod-like particles arranged on 3D arrays. The fabricated self-assembled superstructures are imaged using scanning electron microscopy (SEM), which reveals the presence of crystallized domains obeying a smectic B order. Besides, complementary experiments that include bulk drying in capillary tubes and small-angle X-ray scattering (SAXS) analysis permit us to supplement the previously acquired structural data. In addition, we succeed in varying the lattice parameter of the colloidal crystal by changing the amount of negatively charged alkanethiolates contained in the nanoparticle capping layer.

RESULTS AND DISCUSSION

GNRs are synthesized and subsequently chemically functionalized in order to modulate their interaction potential and therefore to facilitate their self-organization into a structured material. More precisely, colloids are first prepared according to an already published seedless method.^{31–33} Their length and diameter are estimated to be respectively 22.0 ± 5.1 and 7.0 ± 2.5 nm, as determined by transmission electron microscopy (TEM; see Figures S1 and S4a) and further confirmed by measurements using wide-angle X-ray scattering (WAXS; see Figure S2). When produced following the above classical synthesis protocol, particles become stabilized against aggregation because cetyl trimethyl ammonium bromide (CTAB) is present in solution. Indeed, this detergent has been dissolved at 0.2 M in the reactive mixture to generate the anisotropic growth of the gold crystals.^{31,34} The

nanorod surface is in fact coated by a bilayer of interdigitated CTAB molecules, which results in a strong positive charge. Hence, one further needs to cancel the associated repulsive force to achieve a close packing of the colloids during drying.¹⁷ In this context, two main strategies have been developed. On one hand, it is possible to lower the electrostatic interaction by adding salts, which helps screening charges,^{8,35,36} on the other hand, some attractive potential can be induced thanks to specific^{37–40} or nonspecific linkers,²³ the latter ones being either negative or neutral.^{7,41,42} It should be noted that ordered structures of CTAB GNRs have also been evidenced by TEM in the absence of any additive. Yet, in this case self-assembling required a detergent concentration around 20 mM, *i.e.*, much higher than the critical micelle concentration (CMC) (1 mM).⁴³ Consequently, the presence of CTAB is synonymous with restricted modularity and imprecise control over the interactions between nanorods. This molecule also exhibits additional drawbacks, such as tendencies to denature sensitive biological products and to electrostatically adsorb on a broad variety of substrates. Accordingly, we have selected PEGylated alkanethiolate ligands to replace CTAB as stabilizing agents attached to the surface of the metal particles.⁴⁴ The commercially available (1-mercaptopoundec-11-yl)hexa(ethylene glycol), denoted MUDOL,⁴⁵ is here used pure or mixed with a (1-mercaptopoundec-11-yl)hexa(ethylene glycol)carboxylic acid, denoted MUDIC, and synthesized as described in the literature.⁴⁶ Whereas the former molecule is neutral, the latter bears a negative charge at pH close to neutrality (see Figure 1a). The MUDOL ligand appeared attractive for GNR self-assembling, as the PEG spacer would introduce enough repulsive steric forces to balance the attractive dipole–dipole ones during crystallization. Eventually, the addition of an increasing ratio of negatively charged MUDIC will permit modulating the

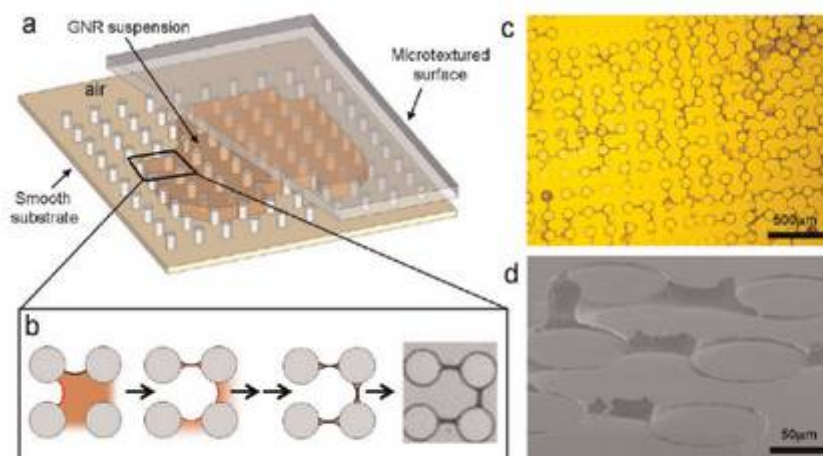


Figure 2. (a) Schematic view of the drying method used to fabricate macroscale GNR self-assemblies. The particle suspension is first confined between a smooth substrate and a PDMS stamp. After water evaporation and removal of the elastomeric mold, an array of solid structures is obtained. (b) Scheme of a typical dewetting process at the scale of four posts; capillary bridges are formed and further dehydrate to yield the colloidal material. (c) Bright field optical micrograph and (d) SEM image of walls made of nanorods.

repulsive interaction in order to adjust the final inter-particle spacing.

As already noticed, crude GNRs are obtained as a suspension in 0.2 M CTAB. Hence, the latter concentration has to be reduced before proceeding to any ligand exchange. Purification by several centrifugation/redispersion cycles was undertaken, and the detergent titer was adjusted at ~ 0.5 mM, *i.e.*, below its CMC value. The substitution of the capping agent could then be achieved and investigated by UV–vis absorbance, IR spectroscopy, electrophoresis, and zetametry. During the exchange of CTAB for MUDOL, the intensity maximum of the longitudinal plasmon band is red-shifted from 763 to 788 nm (see Figure S3), a phenomenon that can be attributed to some modifications in the nanorods' environment. Furthermore, clear alterations are also visible in Fourier transform infrared (FTIR) data (see Figure 1c and d). After substitution, two of the characteristic peaks observed for CTAB GNRs, corresponding to the CH_3 stretching vibrations in the trimethyl ammonium, *antisym* at 2956 cm^{-1} and *sym* at 2869 cm^{-1} , have disappeared. In contrast, the spectrum of the MUDOL particles exhibits bands similar to those of the free MUDOL, particularly in the CH stretching region, between 945 and 720 cm^{-1} , as well as in the O– CH_2 stretching region, at 1100 cm^{-1} . Moreover, the positions of the CH_2 stretching bands, *antisym* at 2924 cm^{-1} and *sym* at 2854 cm^{-1} , are shifted to 2915 and 2848 cm^{-1} , respectively. This change is in agreement with the crystallization of the MUDOL alkyl chains around GNRs. Indeed, the energy of the CH_2 stretching transitions has been reported to be a sensitive indicator of the order in alkyl chains since it depends on the incidence of the gauche conformation effects.⁴⁷ FTIR data thus suggest that CTAB is

exchanged for MUDOL and that the latter molecules are densely packed at the gold surface. Next, to control the electrostatic repulsion between colloids, the positive CTAB was exchanged for various mixtures of neutral MUDOL and negative MUDIC. As a consequence, agarose gel electrophoresis appears to be a pertinent technique to reveal differences in nanorod surface charge (see Figure 1b). When using only MUDOL, particles move toward the negatively charged electrode, which can be attributed to the residual presence of CTAB molecules at the interface. Noticeably, the fact that migration was clearly demonstrated confirms ligand substitution because CTAB GNRs are well-known to aggregate in loading pits due to their low colloidal stability.^{36,48} Furthermore, by increasing the ratio of negatively charged MUDIC in the capping layer, we noticed that the particle charge progressively vanished and then reversed. Some of these effects were qualitatively confirmed by measurements of the GNR surface zeta potential, which varies from $+55\text{ mV}$ in the case of "as-synthesized" CTAB nanorods to $+8\text{ mV}$ for colloids functionalized with pure MUDOL and purified from excess reagent.

In order to incorporate 3D GNR crystals into devices, one first has to self-assemble them on a substrate that enables easy handling and further processing. Additionally, it would also be beneficial to spatially direct material growth in any desired macroscopic shape.^{49–51} As a proof of concept, we here rely on microtextured surfaces made of polydimethylsiloxane, similar to the ones that are used to achieve specific hydrodynamic or wetting effects (*e.g.*, the polygonal spreading of a drop).⁵² More specifically, cylindrical microposts of height $35\text{ }\mu\text{m}$ and diameter $100\text{ }\mu\text{m}$ were arranged on a square array whose lattice parameter is

175 μm (see Figure 2a). A 1 μL droplet of $\sim 10^{-6}$ M pure MUDOL GNR suspension is confined between a smooth surface (silicon wafer, ITO, or gold-coated glass slide) and the elastomeric stamp before being allowed to dry at room temperature for 10 h (see Figure 2a). In addition to the already present 0.5 mM CTAB, the colloidal solution also contains 0.1 mM Tween 20 so as to improve the degree to which the substrate is wet by the liquid. After complete water evaporation, the PDMS template is removed to yield brown traces over the whole area previously covered by the liquid.

The features present on the sample are characterized at different scales using bright field optical microscopy and SEM. Images show regular patterns, as high as the stamp is deep. They consist of linear walls connected to rings; the former are reminiscent of pinned capillary bridges, while the latter correspond to the column footprints (see Figure 2b–d). When a drop of the same colloidal suspension is dried without confinement, *i.e.*, without applying any PDMS mold, we observe stains made of disordered nanorods, limited in both height and size to a few micrometers and tens of micrometers, respectively (see Figure S5); these results concur with previously published investigations.^{45,53} In another complementary experiment, the interdistance between pillars is changed so that the shape of the contact lines and the final morphology of the deposited solid can be altered. Increasing the square lattice parameters from 175 to 350 μm yields tetrapod features in between groups of four adjacent posts instead of simple walls joining two closest neighbors (compare Figure 2c and Figure S13a–c). Patterns are also broader and higher due to the shorter contour length associated with the new geometry. Nevertheless, the nano-scale architecture seems preserved (compare Figure 3a below and Figure S13d). Finally, it is worth noticing that in all cases the presence of Tween 20 is critical to stabilize the liquid bridges between pillars. Indeed in a control experiment where this neutral detergent was omitted, almost no wall was formed (see Figure S6). This research, being mainly dedicated to the control of colloidal assembly through surface charge tuning, the physical mechanisms controlling the drying process, and the subsequent formation of the superstructures, will be published elsewhere.

High-magnification SEM views show that GNRs are densely packed within walls (see Figure 3). Indeed, during the liquid-film thinning colloids are concentrated toward the triple contact line, at the junction between the air, the solution, and the substrate. Seen along their main axis, nanorods appear to follow a hexagonal order, with monodomains larger than 1 μm^2 (see Figure 3a and b). To subsequently investigate the internal structure of the produced solid, we have adopted three different approaches: either defects on the surface were observed (see Figure 3c and d), or the substrate was cleaved perpendicularly to a wall

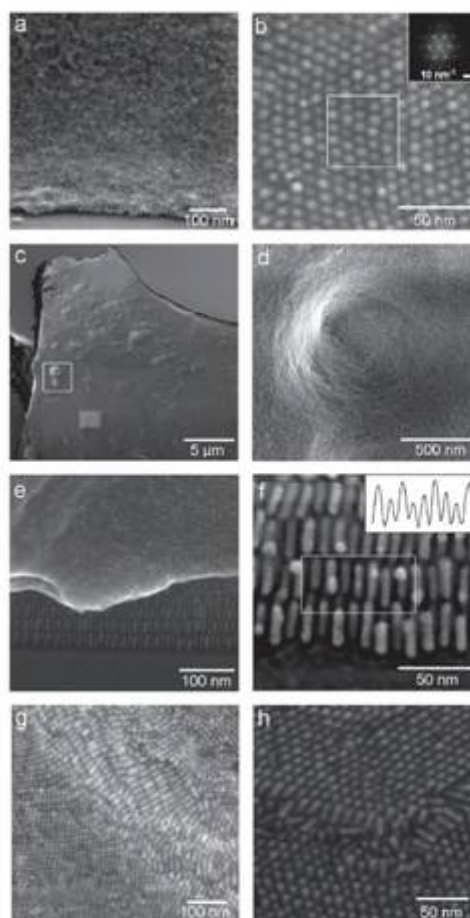


Figure 3. SEM images of the structures obtained from drying between a silicon substrate and a PDMS mold a suspension of pure MUDOL GNRs. (a, b) Hexagonal packing at the wall surface. Fourier analysis was performed on a $\sim 50 \times 50 \text{ nm}^2$ area. (c, d) Investigation of a concave defect. The cavity displays several micrometer sized smectic B domains. (e, f) Lamellar organization at the substrate vicinity revealed due to substrate cleaving. The intensity profile is plotted along a single nanorod layer. (g, h) Unambiguous smectic B ordering imaged after resection of a part of the solid with micromanipulators.

(see Figure 3e and f), or a part of the latter superstructure was removed with a micrometer-size tool (see Figure 3g and h as well as Figure S7). In all three cases, lamellae made of GNRs arranged side-by-side are evidenced. However, only images of fractures performed with the micromanipulator allow one to obtain both top and side views, which unambiguously reveal the smectic B (SmB) nature of the created colloidal crystal (see Figure 3g and h). Interestingly, in the vicinity of both the substrate and the former air/solution interface, particles are especially well-organized; they all stand perpendicular to the surface (see Figure 3e). A quantitative analysis of these images is next provided. By displaying six peaks perfectly

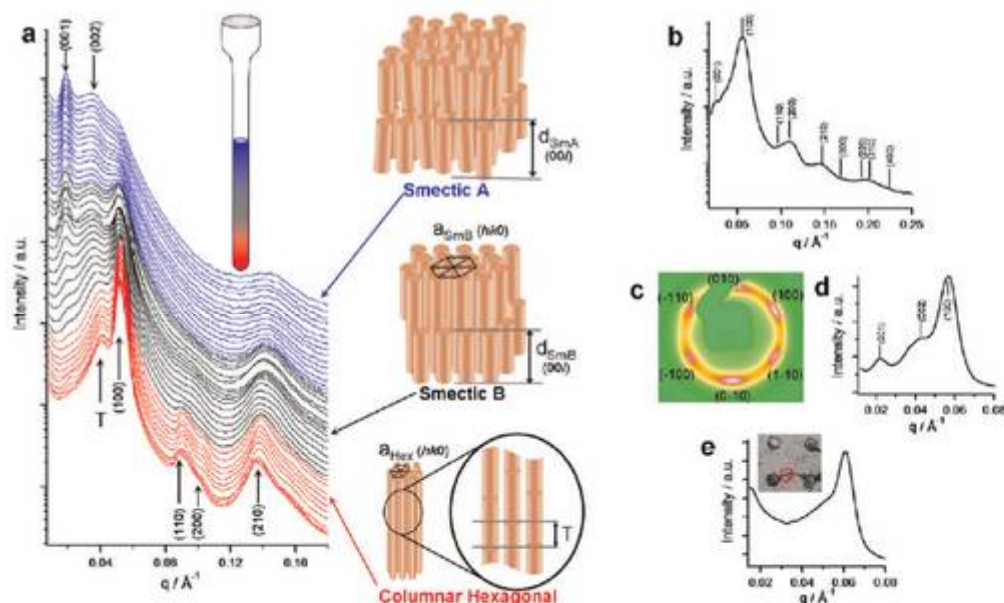


Figure 4. SAXS spectra of a MUDOL GNR suspension dried in a capillary. (a) Data acquired on the SWING beamline at SOLEIL ~ 12 h after the onset of evaporation. Measurements were performed at different positions along the longitudinal axis of the tube, hence evidencing three different organizations: a columnar hexagonal phase at the bottom, a smectic A one at the opening, and a smectic B phase in-between (for clarity, scattered intensity plots have been shifted in ordinate, according to the place where they were collected in the sample). Peaks related to a lamellar order are denoted (00 l) and T. Peaks related to the hexagonal parameters a_{hex} and a_{smB} are denoted ($hk0$). The corresponding rod organizations are also sketched. (b, d) Data for the same sample, obtained on our in-house setup ~ 5 months later. (b) Spectrum of the smectic B phase. (c) Corresponding X-ray diffuse scattering along the 6-fold axis of the smectic B organization. (d) High-resolution SAXS enlightening the coexistence of lamellar and hexagonal orders. (e) Microfocus SAXS spectrum collected *in situ* on a wall produced by drying between a substrate and a PDMS mold. The beam size and its position are indicated by the red circle drawn in the inset.

arranged on a hexagon, Fourier transform (FT) of views captured along the GNR main axis confirms the hexagonal intralamella order (see the inset in Figure 3b); a hexagonal lattice parameter, $a_{\text{smB}} = 9.5 \pm 0.2$ nm, can even be extracted. This value is incidentally verified by plotting intensity profiles along lamella cross sections and measuring the curves' periodicity: it yields $a_{\text{smB}} \approx 10$ nm (see the inset in Figure 3f). Finally, from the latter images, a rough estimate of the lamellar order lattice parameter is easy to determine: we find $d_{\text{smB}} \approx 24$ nm.

We next study nanorods self-assembling using SAXS to further unravel the structural properties of the obtained crystal. These bulk experiments are performed by letting suspensions of functionalized GNRs dry at room temperature in ~ 1.5 mm diameter glass capillaries, the initial particle concentration being $\sim 10^{-8}$ M. Our first high-resolution synchrotron SAXS measurements were achieved on the sample typically 12 h after the drying onset. Powder diffraction patterns are obtained, indicating crystalline domains smaller than the $400 \times 50 \mu\text{m}^2$ beam size. Furthermore, the 500 data sets collected along the tube axis display a continuous evolution of the scattered intensity plots (see Figure 4a). More precisely, at the capillary opening a lamellar structure is characterized by two Bragg peaks at 0.018 and 0.035 \AA^{-1} . No lateral order between GNRs

can be evidenced, and thus this signature is attributed to a smectic A arrangement (SmA) with a repetition distance $d_{\text{smA}} = 35 \pm 2$ nm. Conversely, at the closed end of the tube we find a hexagonal lateral packing (Hex), as indicated by four Bragg peaks at 0.0515, 0.0894, 0.1029, and 0.1375 \AA^{-1} , with a respective distance ratio of $1:\sqrt{3}:2:\sqrt{7}$. These values correspond to a mean interdistance between nanorods $a_{\text{hex}} = 14.0 \pm 0.3$ nm. In addition, the hexagonal phase spectrum presents an additional diffuse scattering at 0.0405 \AA^{-1} . Although the latter steadily shifts to the second-order Bragg diffraction of the lamellar phase, it cannot be indexed here as such because of the absence of any first-order signature. Nevertheless, since the discussed peak is associated with a 17 ± 0.5 nm spacing, *i.e.*, $\sim d_{\text{smA}}/2$, we propose to assign it to a half-length translation between adjacent GNRs (see the schemes in Figure 4a). Finally, at the intermediate part of the tube, a higher order phase exhibits scatterings typical of both hexagonal and lamellar order, in agreement with a smectic B arrangement.

It is important to remark that the present SAXS investigations, conducted after only a few hours drying, are not perfectly consistent with SEM observations. Consequently, we hypothesized that the sample was still out-of-equilibrium, and accordingly we have

reanalyzed it on our custom-made setup after complete water evaporation. The capillary content is now more homogeneous, and it exhibits signatures typical of both hexagonal and lamellar order (see Figures 4b and 5b). Oriented domains larger than the beam size, *i.e.*, $\sim 300 \times 300 \mu\text{m}^2$, can even be evidenced (see Figure 4b). The 6-fold symmetry is confirmed by the observation of six peaks associated with the first-order scattering by a lateral hexagonal packing along the direction normal to the tube wall (see Figure 4c). Yet, in this orientation the Bragg peaks corresponding to the arrangement perpendicular to the nanorods' main axis cannot be emphasized because the monodomain is very well aligned. Incidentally, this observation agrees with the SEM images collected when drying proceeds between a silicon wafer and a PDMS stamp (see Figure 3e and f): nanorods tend to stand upright on interfaces. High-resolution acquisitions on multidomain areas were then achieved, and they demonstrate the coexistence of two first (001) lamellar peaks and of the (100) hexagonal one (see Figure 4d); we can therefore conclude that GNRs are here also organized according to a smectic B order. For the lattice parameters, one computes from the experimental data $a_{\text{SMB}} = 11.3 \pm 0.1 \text{ nm}$ and $d_{\text{SMB}} = 24 \pm 1 \text{ nm}$, both matching quite well the values extracted from FT analysis of SEM images. Furthermore, when comparing the new results with the SAXS measurements conducted on the freshly dried suspension (*i.e.*, a_{hex} and d_{SMA} respectively), we note a clear decrease of the interdistances. We attribute this observation to the slow dehydration of the polyethylene glycol ligands present at the nanorod surface. To summarize, MUDOL GNR self-assembling induced by slow water evaporation in a glass capillary first yields a smectic A/hexagonal polymorphism, which progressively transforms to smectic B local order upon complete drying.

In the absence of any kinetic investigation on the faster drying process involving a thinner film of colloidal suspension confined between a smooth and a topographically patterned surface, the preceding scenario is established only for bulk crystallization. However, we are confident that in both cases the system reaches a similar organization at thermodynamic equilibrium. Indeed, SEM data acquired on GNR walls and SAXS ones collected in a capillary provide results in good agreement. This fact is further confirmed by the $a_{\text{SMB}} = 10.3 \pm 0.2 \text{ nm}$ value measured by microfocused SAXS on features dried between a nelophan membrane and a PDMS mold (see Figure 4e). Unfortunately, we could not rely on microfocused WAXS to reinforce the SEM observations of nanorod alignment perpendicular to the substrate¹² because the cubic crystalline system of the GNR colloids does not exhibit split Bragg peaks (see Figure S2). Nonetheless, we estimate that our set of measurements is comprehensive enough to allow a unified description of the most stable structure,

i.e., the one obtained after complete dehydration. The structure of the colloidal crystal should be unique whatever the considered formation mechanism, thus enabling a cross use of SEM and SAXS experiments. Finally, as Tween 20 is introduced only in GNR suspensions employed for wall formation, to definitely validate our methodological approach, we check this surfactant innocuousness with respect to self-assembly. As proved by SEM pictures and SAXS spectra collected on samples with and without the neutral detergent, no adverse effects could be evidenced (respectively compare Figures 3e and S11c as well as the two curves of Figure S9).

To investigate the role of electrostatic interactions in nanorod organization, various particle coatings, at different MUDOL/MUDIC ratios, are examined with respect to the final material morphology. We first used the PDMS stamp drying method. Similarly to the case of pure MUDOL, well-ordered assemblies of smectic B domains are observed by SEM for a 80/20 MUDOL/MUDIC composition (see Figure 5a and b). In contrast, disordered aggregates are obtained when the colloids are functionalized with an equimolar mixture of both ligands (see Figure 5c and d). We next tried to more precisely characterize samples by FT analysis of SEM views. Although many areas of the wall surface exhibit nearly hexagonal packing when MUDIC is present at 20% (see the arrangement of the six peaks in Figure 5b inset), it is very difficult to discern any lattice when the proportions of neutral and negative ligands are equal. Consequently, image autocorrelation appeared a more promising method to evaluate the spacing between nanorods. From the radial profiles issued from circular integration of the processed data, we estimate the colloid interdistance to vary from $a_{\text{SMB}}(100/0) \approx 8.9 \text{ nm}$ to $a_{\text{SMB}}(80/20) \approx 10.2 \text{ nm}$ when MUDIC is added to MUDOL as to represent one-fifth of the mixture (see Figure 5e and Figure S12). As far as an ordered area could be discovered in the 50/50 MUDOL/MUDIC sample (see Figure S12c), we also could compute $a_{\text{SMB}}(50/50) \approx 12.1 \text{ nm}$. In parallel with the preceding experiments, SAXS measurements are done on GNR suspensions that have been dried in capillaries. Our custom-made setup yields data that unambiguously reinforced SEM observations. In the pure MUDOL case, four peaks are observed, which correspond to a respective distance ratio of $1:\sqrt{3}:2:\sqrt{7}$, which can be indexed in a hexagonal lattice (see Figure 5f). Thereafter, the packing quality decreases when the ratio of negatively charged MUDIC increases, as demonstrated by the broadening of the secondary peaks. At the same time, the first-order peak is shifted to smaller q , indicating that the intercolloid spacing becomes larger; it gains more than 1 nm when the MUDIC content reaches 50%. Finally, assemblies of nanorods capped with various MUDOL/MUDIC mixtures were also analyzed by TEM. Despite the fact that sample preparation

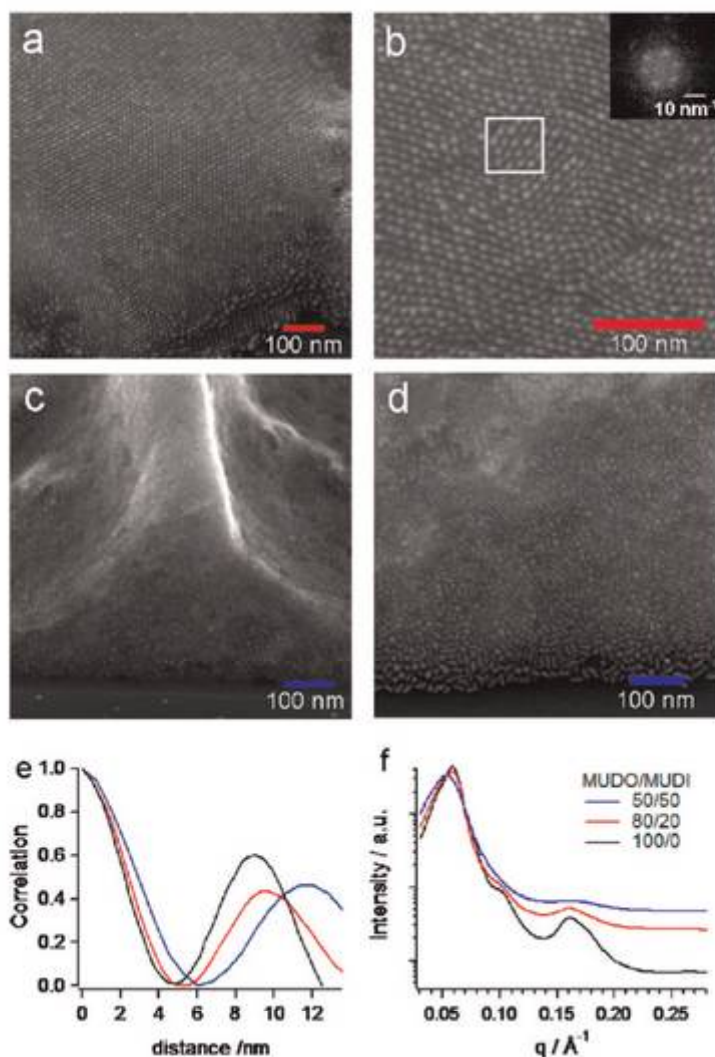


Figure 5. Characterization of self-assemblies resulting from drying suspensions of GNRs capped with different mixtures of neutral and negative alkanethiolates. (a, b) SEM images of the walls produced when evaporation takes place between a silicon substrate and a PDMS stamp and when the MUDOL/MUDIC ratio is equal to 80/20. The inset shows the FT of the area enclosed in the white square. (c, d) SEM images of similar features corresponding to a 50/50 MUDOL/MUDIC ratio. (e) Autocorrelation analysis performed on the SEM views of the structure surface (see Figure S10). Data for three MUDIC percentages are presented: black 0%, red 20%, and blue 50%. (f) SAXS analysis of the solids obtained upon dehydration of colloidal solutions contained in glass capillaries.

here implies a third kind of drying protocol, images evidence already-seen trends: GNRs organize into well-defined side-to-side aggregates, which include several tens of particles for pure MUDOL, 10 of them for 80/20 MUDOL/MUDIC, and only pairs for 50/50 MUDOL/MUDIC (see Figure S4). Therefore, all the experiments prove that mastering nano-objects' surface potential is of foremost importance to obtain organized supracrystals. Additionally, over a given distance range electrostatic repulsion can serve to impose a precisely tuned lattice parameter. However, the strength of this repulsive potential has to be maintained weak enough in order not to inhibit self-assembling. As evidenced

by the control observations performed on the "as-synthesized" colloids, which are capped by the sole CTAB, being too strongly charged only results in disordered aggregates (see Figure S11a and b for SEM, Figure S10 for SAXS, and Figure S4a for TEM).

CONCLUSION

We introduced a method opening access to the formation of 3D gold nanorod superstructures having a local smectic B order. We also discussed the importance of surface functionalization, which enables tuning repulsive and attractive forces acting on the GNRs so as to help their self-organization; more precisely,

particles are coated with the neutral MUDOL ligand, optionally supplemented with the negative MUDIC one (up to a few tens of percents). Colloid anisotropy results in a smectic B condensed phase with a lamellar parameter around 25 nm and a hexagonal one around 10 nm, depending on the amount of negatively charged capping agent. We obtain well-defined wall features when the nanorod solution is dried between a smooth surface and a topographically patterned PDMS stamp in the presence of the Tween 20 surfactant. This textured surface allows us to fix a slow and regulated evaporation rate and to define at the millimeter scale the shape of the final nanomaterial. Indeed, our experiments show that the motion of the contact line during drying is strongly affected by the micrometer-size features of the mold. Pinning of the meniscus yields the formation of capillary bridges, which evolve over time to become an engineered superstructure made of 3D walls of smectic B GNRs. Spatially controlled deposition of gold nanoparticles has previously been conducted using either passive processes, based on electrostatic and capillary forces, or active transfer involving PDMS stamps inked with thiolates. However, both strategies lead only to 2D-restricted assemblies.⁵⁴

Microwires were also generated by evaporation of a suspension of 20 nm diameter gold colloids in the interstices of a 2D crystal built of polystyrene latexes.⁵⁵ Although the latter method provides an alternative way for shaping self-assemblies of nanoparticles, it appears to be limited in terms of geometries. In comparison, our approach offers a low-cost way to truly order GNRs precisely and reproducibly within 3D macroscopic configurations (in the present case periodic arrays extending over several square millimeters). Our findings could then facilitate the elaboration of functional materials. For example, interesting developments could emerge in SERS or plasmonic detection where crystalline ordering would favor a much higher sensitivity than the one expected from sensors fabricated by classical drying techniques on a smooth substrate.^{3,16} Additionally, the manufacturing protocol presented here could be extended to any kind of water-soluble anisotropic colloids provided the optimization of an appropriate chemical coating. For instance, application to semiconductor nanocrystals would be a plus, as they are attractive candidates for both photocatalytic and photovoltaic devices.⁵⁶

METHODS SECTION

Synthesis of Gold Nanorods. Synthesis was achieved relying on a previously described one-pot procedure.^{31,33} Particles with an absorption maximum at 750 nm were obtained 20 min after the reducing agent addition. Next, starting with 10 mL of crude reactive mixture, the excess CTAB was removed by two washing cycles, which included centrifugation at 14000g for 10 min and pellet dissolution in 10 mL of CTAB prepared at 0.5 mM in Milli-Q water of resistivity 18.2 M Ω . The nanorod concentration was finally derived from the optical density measured at 750 nm and the extinction coefficient provided in the literature.³⁷ The titer of this stock solution of "as-synthesized" GNRs was found to be $\sim 4 \times 10^{-10}$ M.

GNR Grafting. This was accomplished by simply adding 10 μ L of a 10 mM aqueous solution of ligand to 1 mL of the previous colloidal suspension. The mixture was vortexed briefly and then stirred at room temperature for 24 h. The exchange was subsequently controlled by electrophoresis, a 0.5% agarose gel was used, and migration was performed for 45 min in 20 mM borate buffer, pH 8.5, under a 3.3 V \cdot cm $^{-1}$ electric field. After functionalization, all GNR suspensions were employed for self-assembling experiments without any further purification. In order to remove the excess ligand, only FTIR samples were prepared by three dialyses of a 10 $^{-9}$ M GNR suspension (1 mL) against an aqueous solution (1 L) containing TMD 8 mixed bed resin (10 g; Sigma).

Transmission Electron Microscopy. TEM was conducted on the JEOL 1400 apparatus of the microscopy platform at Rennes 1 University. Samples were prepared by depositing drops of colloidal suspension at 10 $^{-9}$ M onto grids (Formvar/carbon on 300 mesh copper, Agar Scientific) and letting them dry at room temperature for 12 h. The mean length and diameter of the GNRs were determined from the corresponding size histograms, established with the open access ImageJ software.

Small-Angle X-ray Scattering. SAXS measurements were performed on either a custom-made setup⁵⁸ or the high brilliance SWING beamline (12 keV) located at the Soleil synchrotron

facility.⁵⁹ Except in Figure 5c, all samples exhibited powder diffraction patterns; thus, circular integration allowed one to plot the scattering intensity as a function of the radial wave vector $q = 4\pi \sin(\theta)/\lambda$. Self-assembled condensed phases were prepared in 1.3–1.6 mm diameter glass capillaries (Glas-Technik & Konstruktion Müller & Müller OHG). Typically, the GNR suspension was at an initial concentration of $\sim 10^{-8}$ M. It was prepared in 0.5 mM CTAB, and Tween 20 was added only in the control experiment reported in Figure S9; its titer was then 0.1 mM. The still "wet" sample investigated at Soleil was dried for 12 h, and the completely dehydrated samples characterized in Rennes were desiccated for more than 48 h in a box containing phosphore pentoxide (Aldrich).

3D GNR Self-Assembling onto a Solid Substrate. This was carried out by controlled drying of colloidal suspensions between a smooth surface and a topographically patterned one. More precisely, a microtextured stamp was first manufactured in PDMS (Sylgard 184, Dow Corning) relying on standard soft lithography protocols⁶⁰ and on a 35 μ m deep master mold fabricated in negative photoresist (SU8-2025, Microchem). Two square arrays of 100 μ m diameter pillars were used, the lattice parameter being either 175 or 350 μ m. Meanwhile, "as-synthesized" or chemically modified GNRs were prepared at 10 $^{-6}$ M in 0.5 mM CTAB supplemented with 0.1 mM Tween 20; the latter neutral detergent was always present except in some of the experiments displayed in Figures S6 and S11a and c. A 1 μ L droplet of this solution was next casted between the substrate and the elastomeric template. Drying took place at room temperature for about 10 h before the removal of the PDMS cover.

Scanning Electron Microscopy. Images were recorded on a Magellan 400 L (FEI) with settings as follows: acceleration voltage 5 kV, probe current 0.2 nA, working distance 3.9 mm. Features were here obtained by drying the colloidal solutions on (100) silicon wafers of resistivity 1–10 $\Omega \cdot$ cm $^{-1}$. Moreover, to gain insight into the internal structure of GNR self-assemblies, we depended on two tricks. Either we simply cleaved the

samples to allow cross sectional observation, or we broke the walls apart with MM3A-M micromanipulators (Kleindiek Nanotechnik) mounted on a Leo 1430 microscope (Zeiss). Fourier transform computation was achieved with ImageJ, whereas autocorrelation analysis was undertaken relying on DigitalMicrograph (Gatan).

Conflict of Interest: The authors declare no competing financial interest.

Acknowledgment. V.M.A. and C.G. thank the Agence Nationale de la Recherche (ANR) for financial support through the "BioModulator" grant obtained on the 2008 PNANO program. V.M.A. and F.A. acknowledge the Direction Générale de l'Armement (DGA), the Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS), and the Région Bretagne for the Ph.D. fellowships of C. H., M.P., and T.B. We are also indebted to A. Burel (TEM Mric-UMS 3480-Biosit-Université de Rennes1 platform) for her technical expertise in TEM, to G. Hwang and L. Couraud (LPN-CNRS) for conducting the micromanipulators, and to C. Meriadec (IPR-CNRS) and F. Meneau (Swing, SOLEIL) for high-quality assistance with X-ray experiments. We are grateful for the access to the SOLEIL synchrotron radiation facilities, where preliminary experiments were performed.

Supporting Information Available: This section includes TEM size histogram of GNRs (Figure S1), WAXS spectrum of a GNRs suspension dried in a glass capillary (Figure S2), absorbance spectra of GNRs during the exchange of CTAB for MUDOL (Figure S3), TEM images of GNRs capped with CTAB or different MUDIC/MUDOL ratios (Figure S4), SEM images of a MUDOL GNR suspension dried on a wafer without using any PDMS mold (Figure S5), optical micrographs of the GNR features obtained while drying colloidal suspensions between a mold and a substrate with and without Tween 20 and for both CTAB and MUDOL coating (Figure S6), SEM image of the micromanipulator (Figure S7), SAXS spectra collected for the MUDOL GNR sample after complete drying in a glass capillary (Figure S8), SAXS spectra of MUDOL GNRs after drying in glass capillaries in the presence or absence of Tween 20 (Figure S9), SAXS spectra of CTAB GNRs and MUDOL GNRs after drying in glass capillaries (Figure S10), SEM images of GNR features obtained while drying colloidal suspensions between a mold and a substrate with and without Tween 20 and for both CTAB and MUDOL coating (Figure S11), SEM images of the wall surface for GNRs capped with different ratios of MUDIC/MUDOL ligands (Figure S12), SEM images of features obtained while drying a MUDOL GNR suspension between a substrate and a mold where pillars are not spaced by 175 but 350 μm (Figure S13). This material is available free of charge via the Internet at <http://pubs.acs.org>.

REFERENCES AND NOTES

- Link, S.; El-Sayed, M. A. Optical Properties and Ultrafast Dynamics of Metallic Nanocrystals. *Annu. Rev. Phys. Chem.* **2003**, *54*, 331–366.
- Jones, M. R.; Osberg, K. D.; Macfarlane, R. J.; Langille, M. R.; Mirkin, C. A. Templated Techniques for the Synthesis and Assembly of Plasmonic Nanostructures. *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *111*, 3736–3827.
- Stewart, M. E.; Anderton, C. R.; Thompson, L. B.; Maria, J.; Gray, S. K.; Rogers, J. A.; Nuzzo, R. G. Nanostructured Plasmonic Sensors. *Chem. Soc. Rev.* **2008**, *108*, 494–521.
- Noginov, M. A.; Zhu, G.; Belgrave, A. M.; Bakker, R.; Shalae, V. M.; Narimanov, E. E.; Stout, S.; Herz, E.; Suteewong, T.; Wiesner, U. Demonstration of a Spaser-Based Nanolaser. *Nature* **2009**, *460*, 1110–1112.
- Cattoni, A.; Ghenuche, P.; Haghiri-Gosnet, A.-M.; Decanini, D.; Chen, J.; Pelouard, J.-L.; Collin, S. Plasmonic Nanocavities for Biosensing Fabricated by Soft UV Nanoimprint Lithography. *Nano Lett.* **2011**, *11*, 3557–3563.
- Onsager, L. The Effects of Shape on the Interaction Between Colloidal Particles. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **1949**, *51*, 627–659.
- Liu, K.; Zhao, N.; Kumacheva, E. Self-Assembly of Inorganic Nanorods. *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40*, 656–671.
- Nikoobakht, B.; Wang, Z. L.; El-Sayed, M. A. Self-Assembly of Gold Nanorods. *J. Phys. Chem. B* **2000**, *104*, 8635–8640.
- Murphy, C. J.; Sau, T. K.; Gole, A. M.; Orendorff, C. J.; Gao, J.; Gou, L.; Hunyadi, S. E.; Li, T. Anisotropic Metal Nanoparticles: Synthesis, Assembly, and Optical Applications. *J. Phys. Chem. B* **2005**, *109*, 13857–13870.
- Jana, N. R. Shape Effect in Nanoparticle Self-Assembly. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2004**, *43*, 1536–1540.
- Link, S.; El-Sayed, M. A. Spectral Properties and Relaxation Dynamics of Surface Plasmon Electronic Oscillations in Gold and Silver Nanodots and Nanorods. *J. Phys. Chem. B* **1999**, *103*, 8410–8426.
- Zanella, M.; Gomes, R.; Povia, M.; Giannini, C.; Zhang, Y.; Riskin, A.; Van Bael, M.; Hens, Z.; Manna, L. Self-Assembled Multilayers of Vertically Aligned Semiconductor Nanorods on Device-Scale Areas. *Adv. Mater.* **2011**, *23*, 2205–2209.
- Eustis, S.; El-Sayed, M. Aspect Ratio Dependence of the Enhanced Fluorescence Intensity of Gold Nanorods: Experimental and Simulation Study. *J. Phys. Chem. B* **2005**, *109*, 16350–16356.
- Tripathy, S.; Marty, R.; Lin, V. K.; Teo, S. L.; Ye, E.; Arbouet, A.; Savio, L.; Girard, C.; Han, M. Y.; Mlayah, A. Acousto-Plasmonic and Surface-Enhanced Raman Scattering Properties of Coupled Gold Nanospheres/Nanodisk Trimers. *Nano Lett.* **2011**, *11*, 431–437.
- Kumar, J.; Thomas, K. G. Surface-Enhanced Raman Spectroscopy: Investigations at the Nanorod Edges and Dimer Junctions. *J. Phys. Chem. Lett.* **2011**, 610–615.
- Alvarez-Puebla, R. A.; Agarwal, A.; Manna, P.; Khanal, B. P.; Aldeanueva-Potel, P.; Carbó-Argibay, E.; Pazos-Pérez, N.; Vigderman, L.; Zubarev, E. R.; Kotov, N. A.; et al. Gold Nanorods 3D-Supercrystals as Surface Enhanced Raman Scattering Spectroscopy Substrates for the Rapid Detection of Scrambled Prions. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2011**, *108*, 8157–8161.
- Baranov, D.; Manna, L.; Kanaras, A. G. Chemically-Induced Self Assembly of Spherical and Anisotropic Nanocrystals. *J. Mater. Chem.* **2011**, *21*, 16694–16703.
- Cortie, M. B.; McDonagh, A. M. Synthesis and Optical Properties of Hybrid and Alloy Plasmonic Nanoparticles. *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *111*, 3713–3735.
- Huang, X.; Neretina, S.; El-Sayed, M. A. Gold Nanorods: From Synthesis and Properties to Biological and Biomedical Applications. *Adv. Mater.* **2009**, *21*, 4880–4910.
- Sau, T. K.; Rogach, A. L.; Jäckel, F.; Klar, T. A.; Feldmann, J. Properties and Applications of Colloidal Nonspherical Noble Metal Nanoparticles. *Adv. Mater.* **2010**, *22*, 1805–1825.
- Romo-Herrera, J. M.; Alvarez-Puebla, R. A.; Liz-Marzan, L. M. Controlled Assembly of Plasmonic Colloidal Nanoparticle Clusters. *Nanoscale* **2011**, *3*, 1304–1315.
- Shevchenko, E. V.; Talapin, D. V.; Kotov, N. A.; O'Brien, S.; Murray, C. B. Structural Diversity in Binary Nanoparticle Superlattices. *Nature* **2006**, *439*, 55–59.
- Nie, Z. H.; Fava, D.; Rubinstein, M.; Kumacheva, E. Supramolecular Assembly of Gold Nanorods End-Terminated with Polymer "Pom-Poms": Effect of Pom-Pom Structure on the Association Modes. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 3683–3689.
- Dong, A.; Chen, J.; Vora, P. M.; Kikkawa, J. M.; Murray, C. B. Binary Nanocrystal Superlattice Membranes Self-Assembled at the Liquid-Air Interface. *Nature* **2010**, *466*, 474–477.
- Jana, N. R. Shape Effect in Nanoparticle Self-Assembly. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2004**, *43*, 1536–1540.
- Nie, Z. H.; Petukhova, A.; Kumacheva, E. Properties and Emerging Applications of Self-Assembled Structures Made from Inorganic Nanoparticles. *Nat. Nanotechnol.* **2010**, *5*, 15–25.
- Titov, A. V.; Kral, P. *Nano Lett.* **2008**, *8*, 3605–3612.
- Zanella, M.; Bertoni, G.; Franchini, I. R.; Brescia, R.; Baranov, D.; Manna, L. Assembly of Shape-Controlled Nanocrystals by Depletion Attraction. *Chem. Commun.* **2011**, 47, 203–205.
- Baranov, D.; Fiore, A.; van Huis, M.; Giannini, C.; Falqui, A.; Lafont, U.; Zandbergen, H.; Zanella, M.; Cingolani, R.; Manna,

- L. Assembly of Colloidal Semiconductor Nanorods in Solution by Depletion Attraction. *Nano Lett.* **2010**, *10*, 743–749.
30. Walker, D. A.; Browne, K. P.; Kowalczyk, B.; Grzybowski, B. A. Self-Assembly of Nanotriangle Superlattices Facilitated by Repulsive Electrostatic Interactions. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2010**, *49*, 6760–6763.
 31. Jana, N. R.; Gearheart, L.; Murphy, C. J. Seed-Mediated Growth Approach for Shape-Controlled Synthesis of Spheroidal and Rod-like Gold Nanoparticles Using a Surfactant Template. *Adv. Mater.* **2001**, *13*, 1389–1393.
 32. Hubert, F.; Testard, F.; Spalla, O. Cetyltrimethylammonium Bromide Silver Complex as the Capping Agent of Gold Nanorods. *Langmuir* **2008**, *24*, 9219–9222.
 33. Jana, N. R. Gram-Scale Synthesis of Soluble, Near-Monodisperse Gold Nanorods and Other Anisotropic Nanoparticles. *Small* **2005**, *1*, 875–882.
 34. Murphy, C. J.; Thompson, L. B.; Chernak, D. J.; Yang, J. A.; Sivapalan, S. T.; Boulos, S. P.; Huang, J.; Alkilany, A. M.; Sisco, P. N. Gold Nanorod Crystal Growth: From Seed-Mediated Synthesis to Nanoscale Sculpting. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **2011**, *16*, 128–134.
 35. Sreeprasad, T. S.; Samal, A. K.; Pradeep, T. One-, Two-, and Three-Dimensional Superstructures of Gold Nanorods Induced by Dimercaptosuccinic Acid. *Langmuir* **2008**, *24*, 4589–4599.
 36. Park, S.; Sinha, N.; Hamad-Schifferli, K. Effective Size and Zeta Potential of Nanorods by Ferguson Analysis. *Langmuir* **2010**, *26*, 13071–13075.
 37. Murphy, C. J.; Thompson, L. B.; Alkilany, A. M.; Sisco, P. N.; Boulos, S. P.; Sivapalan, S. T.; Yang, J. A.; Chernak, D. J.; Huang, J. The Many Faces of Gold Nanorods. *J. Phys. Chem. Lett.* **2010**, 2867–2875.
 38. Jones, M. R.; Macfarlane, R. J.; Lee, B.; Zhang, J.; Young, K. L.; Senesi, A. J.; Mirkin, C. A. DNA-Nanoparticle Superlattices Formed from Anisotropic Building Blocks. *Nat. Mater.* **2010**, *9*, 913–917.
 39. Dujardin, E.; Hsin, L.-B.; Wang, C. R. C.; Mann, S. DNA-Driven Self-Assembly of Gold Nanorods. *Chem. Commun.* **2001**, 1264–1265.
 40. Caswell, K. K.; Wilson, J. N.; Bunz, U. H. F.; Murphy, C. J. Preferential End-to-End Assembly of Gold Nanorods by Biotin-Streptavidin Connectors. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 13914–13915.
 41. Nie, Z.; Fava, D.; Kumacheva, E.; Zou, S.; Walker, G. C.; Rubinstein, M. Self-Assembly of Metal-Polymer Analogues of Amphiphilic Triblock Copolymers. *Nat. Mater.* **2007**, *6*, 609–614.
 42. Murphy, C. J. *Nanoparticles Assemblies and Superstructures*; CRC Press, 2005.
 43. Ming, T.; Kou, X.; Chen, H.; Wang, T.; Tam, H.-L.; Cheah, K.-W.; Chen, J.-Y.; Wang, J. Ordered Gold Nanostructure Assemblies Formed by Droplet Evaporation. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2008**, *120*, 9831–9836.
 44. Valiokas, R. n.; Svedhem, S.; Svensson, S. C. T.; Liedberg, B. Self-Assembled Monolayers of Oligo(ethylene glycol)-Terminated and Amide Group Containing Alkanethiolates on Gold. *Langmuir* **1999**, *15*, 3390–3394.
 45. Xie, Y.; Guo, S.; Ji, Y.; Guo, C.; Liu, X.; Chen, Z.; Wu, X.; Liu, Q. Self-Assembly of Gold Nanorods into Symmetric Superlattices Directed by OH-Terminated Hexa(ethylene glycol) Alkanethiol. *Langmuir* **2011**, *27*, 11394–11400.
 46. Svedhem, S.; Hollander, C.-Å.; Shi, J.; Konradsson, P.; Liedberg, B.; Svensson, S. C. T. Synthesis of a Series of Oligo(ethylene glycol)-Terminated Alkanethiol Amides Designed to Address Structure and Stability of Biosensing Interfaces. *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 4494–4503.
 47. Nuzzo, R. G.; Fusco, F. A.; Allara, D. L. Spontaneously Organized Molecular Assemblies. 3. Preparation and Properties of Solution Adsorbed Monolayers of Organic Disulfides on Gold Surfaces. *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 2358–2368.
 48. Pierrat, S.; Zins, I.; Breivogel, A.; Sonnichsen, C. Self-Assembly of Small Gold Colloids with Functionalized Gold Nanorods. *Nano Lett.* **2007**, *7*, 259–263.
 49. Dinca, V.; Kasotakis, E.; Catherine, J.; Mourka, A.; Ranella, A.; Ovsianikov, A.; Chichikov, B. N.; Farsari, M.; Mitrak, A.; Fotakis, C. Directed Three-Dimensional Patterning of Self-Assembled Peptide Fibrils. *Nano Lett.* **2007**, *8*, 538–543.
 50. Kang, S. H.; Grinthal, A.; Aizenberg, J. Meniscus Litography: Evaporation-Induced Self Organization of Pillar Arrays into Moiré Patterns. *Phys. Rev. Lett.* **2011**, *107*, 177802.
 51. Pokroy, B.; Kang, S. H.; Mahadevan, L.; Aizenberg, J. Self-Organization of a Mesoscale Bristle into Ordered Hierarchical Helical Assemblies. *Science* **2009**, *323*, 237–240.
 52. Courbin, L.; Denieul, E.; Dressaire, E.; Roper, M.; Adjari, A.; Stone, H. A. Imbibition by Polygonal Spreading on Microdecorated Surfaces. *Nat. Mater.* **2007**, *6*, 661–664.
 53. Deegan, R. D.; Bakajin, O.; Dupont, T. F.; Huber, G.; Nagel, S. R.; Witten, T. A. Capillary Flow as the Cause of Ring Stains from Dried Liquid Drops. *Nature* **1997**, *389*, 827–829.
 54. Aizenberg, J.; Braun, P. V.; Wiltzius, P. Colloid Deposition Controlled by Electrostatic and Capillary Forces. *Phys. Rev. Lett.* **2000**, *84*, 2997–3000.
 55. Vakarelski, I. U.; Chan, D. Y. C.; Nonoguchi, T.; Shinto, H.; Higashitani, K. Assembly of Gold Nanoparticles into Microwire Networks Induced by Drying Liquid Bridges. *Phys. Rev. Lett.* **2009**, *102*, 058303.
 56. Shemesh, Y.; Macdonald, J. E.; Menagen, G.; Banin, U. Synthesis and Photocatalytic Properties of a Family of CdS-PdX Hybrid Nanoparticles. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2011**, *50*, 1185–1189.
 57. Liao, H.; Hafner, J. H. Gold Nanorod Bioconjugates. *Chem. Mater.* **2005**, *17*, 4636–4641.
 58. van Grondelle, W.; López Iglesias, C.; Coll, E.; Artzner, F.; Paternostre, M.; Lacombe, F.; Cardus, M.; Martinez, G.; Montes, M.; Cherif-Cheikh, R.; et al. Spontaneous Fibrillation of the Native Neuropeptide Hormone Somatostatin-14. *J. Struct. Biol.* **2007**, *160*, 211–223.
 59. Henry, E.; Dif, A.; Schmutz, M.; Legoff, L.; Amblard, F.; Marchi-Artzner, V.; Artzner, F. Crystallization of Fluorescent Quantum Dots within a Three-Dimensional Bio-Organic Template of Actin Filaments and Lipid Membranes. *Nano Lett.* **2011**, *11*, 5443–5448.
 60. McDonald, J. C.; Duffy, D. C.; Anderson, J. R. Fabrication of Microfluidic Systems in Poly(dimethylsiloxane). *Electrophoresis* **2000**, *21*, 27–40.

Références

1. (a) V. Artero, N. G., D. Fruchart et M. Fontecave, L'hydrogène : Une énergie propre pour demain? *Pour la science* **2011**, n°405; (b) Fontecave, M., *Chimie des processus biologiques: une introduction*. 2009; Vol. Numéro 207.
2. Grätzel, M., Photoelectrochemical cells. *Nature* **2001**, *414*, 338-344.
3. Rifkin, J., *L'Economie hydrogène: après la fin du pétrole, la nouvelle révolution économique*. 2002.
4. Chen, X.; Shen, S.; Guo, L.; Mao, S. S., Semiconductor-based Photocatalytic Hydrogen Generation. *Chemical Reviews* **2010**, *110* (11), 6503-6570.
5. Fujishima, A.; Honda, K., Electrochemical Photolysis of Water at a Semiconductor Electrode. *Nature* **1972**, *238* (5358), 37-38.
6. (a) Amirav, L.; Alivisatos, A. P., Photocatalytic Hydrogen Production with Tunable Nanorod Heterostructures. *The Journal of Physical Chemistry Letters* **2010**, *1* (7), 1051-1054; (b) Zhu, H.; Song, N.; Lv, H.; Hill, C. L.; Lian, T., Near Unity Quantum Yield of Light-Driven Redox Mediator Reduction and Efficient H₂ Generation Using Colloidal Nanorod Heterostructures. *Journal of the American Chemical Society* **2012**, *134* (28), 11701-11708.
7. Woolerton, T. W.; Sheard, S.; Reisner, E.; Pierce, E.; Ragsdale, S. W.; Armstrong, F. A., Efficient and Clean Photoconversion of CO₂ to CO by Enzyme-Modified TiO₂ Nanoparticles Using Visible Light. *Journal of the American Chemical Society* **2010**, *132* (7), 2132-2133.
8. Klein, E., *Le Small Bang Des Nanotechnologies*. Odile Jacob: 2011.
9. Bouet, C.; Tessier, M. D.; Ithurria, S.; Nadal, B.; Mahler, B.; Dubertret, B., Flat colloidal semiconductor nanoplatelets. *Chemistry of Materials* **2013**.
10. Carbone, L.; Nobile, C.; De Giorgi, M.; Sala, F. D.; Morello, G.; Pompa, P.; Hytch, M.; Snoeck, E.; Fiore, A.; Franchini, I. R.; Nadasan, M.; Silvestre, A. F.; Chiodo, L.; Kudera, S.; Cingolani, R.; Krahne, R.; Manna, L., Synthesis and Micrometer-Scale Assembly of Colloidal CdSe/CdS Nanorods Prepared by a Seeded Growth Approach. *Nano Letters* **2007**, *7* (10), 2942-2950.
11. Kershaw, S. V.; Susha, A. S.; Rogach, A. L., Narrow bandgap colloidal metal chalcogenide quantum dots: synthetic methods, heterostructures, assemblies, electronic and infrared optical properties. *Chemical Society Reviews* **2013**, *42* (7), 3033-3087.
12. Murray, C. B.; Norris, D. J.; Bawendi, M. G., Synthesis and characterization of nearly monodisperse CdE (E = sulfur, selenium, tellurium) semiconductor nanocrystallites. *Journal of the American Chemical Society* **1993**, *115* (19), 8706-8715.
13. Kittel, C., *Physique de l'état solide*. Dunod: 8e édition.
14. (a) Zhang, Y.; Ke, X.; Zheng, Z.; Zhang, C.; Zhang, Z.; Zhang, F.; Hu, Q.; He, Z.; Wang, H., Encapsulating of Quantum Dots into Enveloped Virus in Living Cells for Tracking Virus Infection. *ACS Nano* **2013**; (b) Dif, A. I.; Boulmedais, F.; Pinot, M.; Roullier, V.; Baudy-Floc'h, M. I.; Coquelle, F. d. r. M.; Clarke, S.; Neveu, P.; Vignaux, F. o.; Borgne, R. L.; Dahan, M.; Gueroui, Z.; Marchi-Artzner, V. r., Small and Stable Peptidic PEGylated Quantum Dots to Target Polyhistidine-Tagged Proteins with Controlled Stoichiometry. *Journal of the American Chemical Society* **2009**, *131* (41), 14738-14746.
15. (a) Kubacka, A.; Fernández-García, M.; Colón, G., Advanced Nanoarchitectures for Solar Photocatalytic Applications. *Chemical Reviews* **2011**, *112* (3), 1555-1614; (b) Woolerton, T. W.; Sheard, S.; Chaudhary, Y. S.; Armstrong, F. A., Enzymes and bio-inspired electrocatalysts in solar fuel devices. *Energy & Environmental Science* **2012**, *5* (6), 7470-7490.
16. Benoit Mahler, P. S., Stéphanie Bul, Xavier Quelin, Jean-Pierre Hermier & Benoit Dubertret, Towards non-blinking colloidal quantum dots. *Nature Materials* **2008**, *7*, 659-664.
17. Reiss, P.; Protière, M.; Li, L., Core/Shell Semiconductor Nanocrystals. *Small* **2009**, *5* (2), 154-168.
18. Kisch, H., Semiconductor Photocatalysis—Mechanistic and Synthetic Aspects. *Angewandte Chemie International Edition* **2012**, n/a-n/a.
19. Kohtani, S.; Kudo, A.; Sakata, T., Spectral sensitization of a TiO₂ semiconductor electrode by CdS microcrystals and its photoelectrochemical properties. *Chemical Physics Letters* **1993**, *206* (1-4), 166-170.
20. Plass, R.; Pelet, S.; Krueger, J.; Grätzel, M.; Bach, U., Quantum Dot Sensitization of Organic-Inorganic Hybrid Solar Cells. *The Journal of Physical Chemistry B* **2002**, *106* (31), 7578-7580.
21. Suarez, R.; Nair, P. K.; Kamat, P. V., Photoelectrochemical Behavior of Bi₂S₃ Nanoclusters and Nanostructured Thin Films. *Langmuir* **1998**, *14* (12), 3236-3241.
22. Robel, I.; Subramanian, V.; Kuno, M.; Kamat, P. V., Quantum Dot Solar Cells. Harvesting Light Energy with CdSe Nanocrystals Molecularly Linked to Mesoscopic TiO₂ Films. *Journal of the American Chemical Society* **2006**, *128* (7), 2385-2393.
23. Zaban, A.; Mičić, O. I.; Gregg, B. A.; Nozik, A. J., Photosensitization of Nanoporous TiO₂ Electrodes with InP Quantum Dots. *Langmuir* **1998**, *14* (12), 3153-3156.
24. Kamat, P. V., Quantum Dot Solar Cells. Semiconductor Nanocrystals as Light Harvesters†. *The Journal of Physical Chemistry C* **2008**, *112* (48), 18737-18753.
25. Santra, P. K.; Kamat, P. V., Tandem-Layered Quantum Dot Solar Cells: Tuning the Photovoltaic Response with Luminescent Ternary Cadmium Chalcogenides. *Journal of the American Chemical Society* **2012**, *135* (2), 877-885.
26. Kamat, P. V.; Tvrđy, K.; Baker, D. R.; Radich, J. G., Beyond Photovoltaics: Semiconductor Nanoarchitectures for Liquid-Junction Solar Cells. *Chemical Reviews* **2010**, *110* (11), 6664-6688.

-Références-

27. Yuan, C.-T.; Wang, Y.-G.; Huang, K.-Y.; Chen, T.-Y.; Yu, P.; Tang, J.; Sitt, A.; Banin, U.; Millo, O., Single-Particle Studies of Band Alignment Effects on Electron Transfer Dynamics from Semiconductor Hetero-nanostructures to Single-Walled Carbon Nanotubes. *ACS Nano* **2011**.
28. (a) Costi, R.; Saunders, A. E.; Banin, U., Colloidal Hybrid Nanostructures: A New Type of Functional Materials. *Angewandte Chemie International Edition* **2010**, *49* (29), 4878-4897; (b) Mokari, T.; Rothenberg, E.; Popov, I.; Costi, R.; Banin, U., Selective Growth of Metal Tips onto Semiconductor Quantum Rods and Tetrapods. *Science* **2004**, *304* (5678), 1787-1790; (c) Mokari, T.; Sztrum, C. G.; Salant, A.; Rabani, E.; Banin, U., Formation of asymmetric one-sided metal-tipped semiconductor nanocrystal dots and rods. *Nat Mater* **2005**, *4* (11), 855-863.
29. (a) Huang, X.; Neretina, S.; El-Sayed, M. A., Gold Nanorods: From Synthesis and Properties to Biological and Biomedical Applications. *Advanced Materials* **2009**, *21* (48), 4880-4910; (b) Link, S.; El-Sayed, M. A., Spectral Properties and Relaxation Dynamics of Surface Plasmon Electronic Oscillations in Gold and Silver Nanodots and Nanorods. *J Phys Chem B* **1999**, *103* (40), 8410-8426.
30. (a) Govorov, A. O.; Bryant, G. W.; Zhang, W.; Skeini, T.; Lee, J.; Kotov, N. A.; Slocik, J. M.; Naik, R. R., Exciton-Plasmon Interaction and Hybrid Excitons in Semiconductor-Metal Nanoparticle Assemblies. *Nano Letters* **2006**, *6* (5), 984-994; (b) Lee, J.; Hernandez, P.; Lee, J.; Govorov, A. O.; Kotov, N. A., Exciton-plasmon interactions in molecular spring assemblies of nanowires and wavelength-based protein detection. *Nat Mater* **2007**, *6* (4), 291-295.
31. Burda, C.; Chen, X.; Narayanan, R.; El-Sayed, M. A., Chemistry and Properties of Nanocrystals of Different Shapes. *Chemical Reviews* **2005**, *105* (4), 1025-1102.
32. (a) Alvarez-Puebla, R. A.; Agarwal, A.; Manna, P.; Khanal, B. P.; Aldeanueva-Potel, P.; Carbó-Argibay, E.; Pazos-Pérez, N.; Vigdeman, L.; Zubarev, E. R.; Kotov, N. A.; Liz-Marzán, L. M., Gold nanorods 3D-supercrystals as surface enhanced Raman scattering spectroscopy substrates for the rapid detection of scrambled prions. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2011**, *108* (20), 8157-8161; (b) Alvarez-Puebla, R. A.; Liz-Marzán, L. M., Traps and cages for universal SERS detection. *Chemical Society Reviews* **2012**, *41* (1), 43-51.
33. (a) Huang, X.; El-Sayed, I. H.; El-Sayed, M. A., Applications of gold nanorods for cancer imaging and photothermal therapy. *Methods Mol Biol* **2010**, *624*, 343-57; (b) Oyelere, A. K.; Chen, P. C.; Huang, X.; El-Sayed, I. H.; El-Sayed, M. A., Peptide-conjugated gold nanorods for nuclear targeting. *Bioconjug Chem* **2007**, *18* (5), 1490-7.
34. (a) Link, S.; El-Sayed, M. A., Optical properties and ultrafast dynamics of metallic nanocrystals. *Annu Rev Phys Chem* **2003**, *54*, 331-66; (b) Eustis, S.; El-Sayed, M., Aspect ratio dependence of the enhanced fluorescence intensity of gold nanorods: experimental and simulation study. *J Phys Chem B* **2005**, *109* (34), 16350-6.
35. Gans, R., Über die Form ultramikroskopischer Silberteilchen. *Annalen der Physik* **1915**, *352* (10), 270-284.
36. Salant, A.; Shalom, M.; Tachan, Z.; Buhbut, S.; Zaban, A.; Banin, U., Quantum Rod-Sensitized Solar Cell: Nanocrystal Shape Effect on the Photovoltaic Properties. *Nano Letters* **2012**, *12* (4), 2095-2100.
37. Talapin, D. V.; Nelson, J. H.; Shevchenko, E. V.; Aloni, S.; Sadtler, B.; Alivisatos, A. P., Seeded Growth of Highly Luminescent CdSe/CdS Nanoheterostructures with Rod and Tetrapod Morphologies. *Nano Letters* **2007**, *7* (10), 2951-2959.
38. Wen, X.; Sitt, A.; Yu, P.; Toh, Y.-R.; Tang, J., Temperature dependent spectral properties of type-I and quasi type-II CdSe/CdS dot-in-rod nanocrystals. *Physical Chemistry Chemical Physics* **2012**, *14* (10), 3505-3512.
39. (a) Borys, N. J.; Walter, M. J.; Huang, J.; Talapin, D. V.; Lupton, J. M., The role of particle morphology in interfacial energy transfer in CdSe/CdS heterostructure nanocrystals. *Science* **2010**, *330* (6009), 1371-4; (b) Peng, X.; Schlamp, M. C.; Kadavanich, A. V.; Alivisatos, A. P., Epitaxial Growth of Highly Luminescent CdSe/CdS Core/Shell Nanocrystals with Photostability and Electronic Accessibility. *Journal of the American Chemical Society* **1997**, *119* (30), 7019-7029.
40. (a) Hu, J.; Li, L.-s.; Yang, W.; Manna, L.; Wang, L.-w.; Alivisatos, A. P., Linearly Polarized Emission from Colloidal Semiconductor Quantum Rods. *Science* **2001**, *292* (5524), 2060-2063; (b) Hadar, I.; Hitin, G. B.; Sitt, A.; Faust, A.; Banin, U., Polarization Properties of Semiconductor Nanorod Heterostructures: From Single Particles to the Ensemble. *The Journal of Physical Chemistry Letters* **2013**, 502-507.
41. (a) Onsager, L., The effects of shape on the interaction of colloidal particles. *Annals of the New York Academy of Sciences* **1949**, *51* (4), 627-659; (b) Li, L.-s.; Walda, J.; Manna, L.; Alivisatos, A. P., Semiconductor Nanorod Liquid Crystals. *Nano Letters* **2002**, *2* (6), 557-560.
42. Deka, S.; Quarta, A.; Lupo, M. G.; Falqui, A.; Boninelli, S.; Giannini, C.; Morello, G.; De Giorgi, M.; Lanzani, G.; Spinella, C.; Cingolani, R.; Pellegrino, T.; Manna, L., CdSe/CdS/ZnS Double Shell Nanorods with High Photoluminescence Efficiency and Their Exploitation As Biolabeling Probes. *Journal of the American Chemical Society* **2009**, *131* (8), 2948-2958.
43. Zavelani-Rossi, M.; Krahne, R.; Della Valle, G.; Longhi, S.; Franchini, I. R.; Girardo, S.; Scotognella, F.; Pisignano, D.; Manna, L.; Lanzani, G.; Tassone, F., Self-assembled CdSe/CdS nanorod micro-lasers fabricated from solution by capillary jet deposition. *Laser & Photonics Reviews* **2012**, *6* (5), 678-683.
44. Wang, T.; Zhuang, J.; Lynch, J.; Chen, O.; Wang, Z.; Wang, X.; LaMontagne, D.; Wu, H.; Wang, Z.; Cao, Y. C., Self-Assembled Colloidal Superparticles from Nanorods. *Science* **2012**, *338* (6105), 358-363.
45. Zanella, M.; Gomes, R.; Povia, M.; Giannini, C.; Zhang, Y.; Riskin, A.; Van Bael, M.; Hens, Z.; Manna, L., Self-Assembled Multilayers of Vertically Aligned Semiconductor Nanorods on Device-Scale Areas. *Advanced Materials* **2011**, *23* (19), 2205-2209.
46. (a) Bard, A. J., Photoelectrochemistry. *Science* **1980**, *207* (4427), 139-144; (b) Gratzel, M., Photoelectrochemical cells. *Nature* **2001**, *414* (6861), 338-344.
47. Suljo Linic, P. C., David B. Ingram, Plasmonic-metal nanostructures for efficient conversion of solar to chemical energy. *Nature Materials* **2011**, *10*, 911-921.

48. Syed Mubeen, J. L., Nirala Singh, Stephan Krämer, Galen D. Stucky, Martin Moskovits, An autonomous photosynthetic device in which all charge carriers derive from surface plasmons. *Nature Nanotechnology* **2013**, *8*, 247-251.
49. T. Keel, R. H., T. Harper, Gold for good. Gold and nanotechnology in the age of innovation. *World Gold Council* **2010**.
50. (a) Murray, C. B.; Kagan, C. R.; Bawendi, M. G., Self-Organization of CdSe Nanocrystallites into Three-Dimensional Quantum Dot Superlattices. *Science* **1995**, *270* (5240), 1335-1338; (b) Bawendi, M.; Steigerwald, M.; Brus, L., The quantum mechanics of large semiconductor clusters ("quantum dots"). *Annu Rev Phys Chem* **1990**, *41*, 477 - 496.
51. Carbone, L.; Cozzoli, P. D., Colloidal heterostructured nanocrystals: Synthesis and growth mechanisms. *Nano Today* **2010**, *5* (5), 449-493.
52. Talapin, D. V.; Koeppel, R.; Götzinger, S.; Kornowski, A.; Lupton, J. M.; Rogach, A. L.; Benson, O.; Feldmann, J.; Weller, H., Highly Emissive Colloidal CdSe/CdS Heterostructures of Mixed Dimensionality. *Nano Letters* **2003**, *3* (12), 1677-1681.
53. (a) Peng, X.; Manna, L.; Yang, W.; Wickham, J.; Scher, E.; Kadavanich, A.; Alivisatos, A. P., Shape control of CdSe nanocrystals. *Nature* **2000**, *404* (6773), 59-61; (b) Manna, L.; Scher, E. C.; Li, L.-S.; Alivisatos, A. P., Epitaxial Growth and Photochemical Annealing of Graded CdS/ZnS Shells on Colloidal CdSe Nanorods. *Journal of the American Chemical Society* **2002**, *124* (24), 7136-7145.
54. Rempel, J. Y.; Trout, B. L.; Bawendi, M. G.; Jensen, K. F., Properties of the CdSe(0001), (000 $\bar{1}$), and (1120) Single Crystal Surfaces: Relaxation, Reconstruction, and Adatom and Admolecule Adsorption. *The Journal of Physical Chemistry B* **2005**, *109* (41), 19320-19328.
55. J. Turkevich, P. C. S., J. Hillier,, The nucleation and growth processes in the synthesis of colloidal gold. *Discussions of the Faraday Society No. 11*, 55-75.
56. Frens, G., Controlled Nucleation for the Regulation of the Particle Size in Monodisperse Gold Suspensions. *Nature* **1973**, *241* (20-22).
57. Brust, M.; Walker, M.; Bethell, D.; Schiffrin, D. J.; Whyman, R., Synthesis of thiol-derivatised gold nanoparticles in a two-phase Liquid-Liquid system. *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications* **1994**, *0* (7), 801-802.
58. (a) Jana, N. R.; Gearheart, L.; Murphy, C. J., Seed-Mediated Growth Approach for Shape-Controlled Synthesis of Spheroidal and Rod-like Gold Nanoparticles Using a Surfactant Template. *Advanced Materials* **2001**, *13* (18), 1389-1393; (b) Sau, T. K.; Murphy, C. J., Seeded high yield synthesis of short Au nanorods in aqueous solution. *Langmuir* **2004**, *20* (15), 6414-20.
59. (a) Ali, M. R. K.; Snyder, B.; El-Sayed, M. A., Synthesis and Optical Properties of Small Au Nanorods Using a Seedless Growth Technique. *Langmuir* **2012**, *28* (25), 9807-9815; (b) Jana, N. R., Gram-scale synthesis of soluble, near-monodisperse gold nanorods and other anisotropic nanoparticles. *Small* **2005**, *1* (8-9), 875-82.
60. Hubert, F.; Testard, F.; Spalla, O., Cetyltrimethylammonium bromide silver bromide complex as the capping agent of gold nanorods. *Langmuir* **2008**, *24* (17), 9219-22.
61. (a) Murphy, C. J.; Sau, T. K.; Gole, A. M.; Orendorff, C. J.; Gao, J.; Gou, L.; Hunyadi, S. E.; Li, T., Anisotropic metal nanoparticles: Synthesis, assembly, and optical applications. *J Phys Chem B* **2005**, *109* (29), 13857-70; (b) Murphy, C. J.; Thompson, L. B.; Alkilany, A. M.; Sisco, P. N.; Boulos, S. P.; Sivapalan, S. T.; Yang, J. A.; Chernak, D. J.; Huang, J., The Many Faces of Gold Nanorods. *The Journal of Physical Chemistry Letters* **2010**, 2867-2875.
62. Hubert, F.; Testard, F.; Rizza, G.; Spalla, O., Nanorods versus nanospheres: a bifurcation mechanism revealed by principal component TEM analysis. *Langmuir* **2010**, *26* (10), 6887-91.
63. (a) Ye, X.; Jin, L.; Caglayan, H.; Chen, J.; Xing, G.; Zheng, C.; Doan-Nguyen, V.; Kang, Y.; Engheta, N.; Kagan, C. R.; Murray, C. B., An Improved Size-Tunable Synthesis of Monodisperse Gold Nanorods through the Use of Aromatic Additives. *ACS Nano* **2012**; (b) Ye, X.; Gao, Y.; Chen, J.; Reifsnnyder, D. C.; Zheng, C.; Murray, C. B., Seeded Growth of Monodisperse Gold Nanorods Using Bromide-Free Surfactant Mixtures. *Nano Letters* **2013**.
64. Artero, V.; Chavarot-Kerlidou, M.; Fontecave, M., Splitting Water with Cobalt. *Angewandte Chemie International Edition* **2011**, *50* (32), 7238-7266.
65. Le Goff, A.; Artero, V.; Jusselme, B.; Tran, P. D.; Guillet, N.; Métyayé, R.; Fihri, A.; Palacin, S.; Fontecave, M., From Hydrogenases to Noble Metal-Free Catalytic Nanomaterials for H₂ Production and Uptake. *Science* **2009**, *326* (5958), 1384-1387.
66. (a) Cracknell, J. A.; Vincent, K. A.; Armstrong, F. A., Enzymes as Working or Inspirational Electrocatalysts for Fuel Cells and Electrolysis. *Chemical Reviews* **2008**, *108* (7), 2439-2461; (b) Vignais, P. M.; Billoud, B., Occurrence, Classification, and Biological Function of Hydrogenases: An Overview. *Chemical Reviews* **2007**, *107* (10), 4206-4272; (c) Jones, A. K.; Sillery, E.; Albracht, S. P. J.; Armstrong, F. A., Direct comparison of the electrocatalytic oxidation of hydrogen by an enzyme and a platinum catalyst. *Chemical Communications* **2002**, *0* (8), 866-867.
67. (a) Wilson, A. D.; Newell, R. H.; McNevin, M. J.; Muckerman, J. T.; Rakowski DuBois, M.; DuBois, D. L., Hydrogen Oxidation and Production Using Nickel-Based Molecular Catalysts with Positioned Proton Relays. *Journal of the American Chemical Society* **2005**, *128* (1), 358-366; (b) Kilgore, U. J.; Roberts, J. A. S.; Pool, D. H.; Appel, A. M.; Stewart, M. P.; DuBois, M. R.; Dougherty, W. G.; Kassel, W. S.; Bullock, R. M.; DuBois, D. L., [Ni(PPh₂NC₆H₄X₂)₂]²⁺ Complexes as Electrocatalysts for H₂ Production: Effect of Substituents, Acids, and Water on Catalytic Rates. *Journal of the American Chemical Society* **2011**, *133* (15), 5861-5872.
68. Hu, X.; Brunschwig, B. S.; Peters, J. C., Electrocatalytic Hydrogen Evolution at Low Overpotentials by Cobalt Macrocyclic Glyoxime and Tetraamine Complexes. *Journal of the American Chemical Society* **2007**, *129* (29), 8988-8998.

-Références-

69. Simmons, T. R.; Artero, V., Catalytic Hydrogen Oxidation: Dawn of a New Iron Age. *Angewandte Chemie International Edition* **2013**, n/a-n/a.
70. Hemamala I. Karunadasa, C. J. C., Jeffrey R. Long, A molecular molybdenum-oxo catalyst for generating hydrogen from water. *Nature* **2010**, 464.
71. (a) Debye, P. H., E., The theory of electrolytes. I. Lowering of freezing point and related phenomena. *Physikalische Zeitschrift* **1923**, 24, 185-206; (b) Derjaguin, B. L., L., Theory of the stability of strongly charged lyophobic sols and of the adhesion of strongly charged particles in solutions of electrolytes. *Acta Physico Chemica URSS* **1941**, 14, 633; (c) Verwey, E. J. W. O., J. Th. G., *Theory of the stability of lyophobic colloids*. Amsterdam, 1948.
72. Decher, G., Fuzzy Nanoassemblies: Toward Layered Polymeric Multicomposites. *Science* **1997**, 277 (5330), 1232-1237.
73. Schneider, G.; Decher, G.; Nerambourg, N.; Praho, R.; Werts, M. H. V.; Blanchard-Desce, M., Distance-Dependent Fluorescence Quenching on Gold Nanoparticles Ensheathed with Layer-by-Layer Assembled Polyelectrolytes. *Nano Letters* **2006**, 6 (3), 530-536.
74. Huang, J.; Jackson, K. S.; Murphy, C. J., Polyelectrolyte Wrapping Layers Control Rates of Photothermal Molecular Release from Gold Nanorods. *Nano Letters* **2012**, 12 (6), 2982-2987.
75. Decher, G., Fuzzy nanoassemblies: Toward Layered Polymeric Multicomposites. *Science* **1997**, 277, 1232 - 1237.
76. Roullier, V.; Clarke, S.; You, C.; Pinaud, F.; Gouzer, G. r.; Schaible, D.; Marchi-Artzner, V. r.; Piehler, J.; Dahan, M., High-Affinity Labeling and Tracking of Individual Histidine-Tagged Proteins in Live Cells Using Ni²⁺ Tris-nitrilotriacetic Acid Quantum Dot Conjugates. *Nano Letters* **2009**, 9 (3), 1228-1234.
77. Pellegrino, T.; Manna, L.; Kudera, S.; Liedl, T.; Koktysh, D.; Rogach, A. L.; Keller, S.; Rädler, J.; Natile, G.; Parak, W. J., Hydrophobic Nanocrystals Coated with an Amphiphilic Polymer Shell: A General Route to Water Soluble Nanocrystals. *Nano Letters* **2004**, 4 (4), 703-707.
78. Dubertret, B.; Skourides, P.; Norris, D. J.; Noireaux, V.; Brivanlou, A. H.; Libchaber, A., In Vivo Imaging of Quantum Dots Encapsulated in Phospholipid Micelles. *Science* **2002**, 298 (5599), 1759-1762.
79. Noginov, M. A.; Zhu, G.; Belgrave, A. M.; Bakker, R.; Shalae, V. M.; Narimanov, E. E.; Stout, S.; Herz, E.; Suteewong, T.; Wiesner, U., Demonstration of a spaser-based nanolaser. *Nature* **2009**, 460 (7259), 1110-1112.
80. Loumagne, M.; Praho, R.; Nutarelli, D.; Werts, M. H. V.; Debarre, A., Fluorescence correlation spectroscopy reveals strong fluorescence quenching of FITC adducts on PEGylated gold nanoparticles in water and the presence of fluorescent aggregates of desorbed thiolate ligands. *Physical Chemistry Chemical Physics* **2010**, 12 (36), 11004-11014.
81. Liu, X.; Atwater, M.; Wang, J.; Huo, Q., Extinction coefficient of gold nanoparticles with different sizes and different capping ligands. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* **2007**, 58 (1), 3-7.
82. Comeau, K. D.; Meli, V., The Effect of Alkanethiol Chain Length on Gold Nanoparticle Monolayers at the Air-Water Interface. *Langmuir* **2011**.
83. Zhan, N.; Palui, G.; Grise, H.; Tang, H.; Alabugin, I.; Mattoussi, H., Combining Ligand Design with Photoligation to Provide Compact, Colloidally Stable, and Easy to Conjugate Quantum Dots. *ACS Applied Materials & Interfaces* **2013**.
84. Palui, G.; Avellini, T.; Zhan, N.; Pan, F.; Gray, D.; Alabugin, I.; Mattoussi, H., Photoinduced Phase Transfer of Luminescent Quantum Dots to Polar and Aqueous Media. *Journal of the American Chemical Society* **2012**, 134 (39), 16370-16378.
85. Wuister, S.; Donega, C.; Meijerink, A., Influence of thiol capping on the exciton luminescence and decay kinetics of CdTe and CdSe quantum. *Journal of Physical Chemistry B* **2004**, 108, 17393 - 17397.
86. Maus, L.; Dick, O.; Bading, H.; Spatz, J. P.; Fiammengo, R., Conjugation of Peptides to the Passivation Shell of Gold Nanoparticles for Targeting of Cell-Surface Receptors. *ACS Nano* **2010**, 4 (11), 6617-6628.
87. Nie, Z. H.; Petukhova, A.; Kumacheva, E., Properties and emerging applications of self-assembled structures made from inorganic nanoparticles. *Nature Nanotechnology* **2010**, 5 (1), 15-25.
88. Guerrero-Martínez, A.; Auguie, B.; Alonso-Gómez, J. L.; Džolić, Z.; Gómez-Graña, S.; Žinić, M.; Cid, M. M.; Liz-Marzán, L. M., Intense Optical Activity from Three-Dimensional Chiral Ordering of Plasmonic Nanoantennas. *Angewandte Chemie International Edition* **2011**, 50 (24), 5499-5503.
89. (a) Jones, M. R.; Osberg, K. D.; Macfarlane, R. J.; Langille, M. R.; Mirkin, C. A., Templated Techniques for the Synthesis and Assembly of Plasmonic Nanostructures. *Chemical Reviews* **2011**, 111 (6), 3736-3827; (b) Walther, A.; Müller, A. H. E., Janus Particles: Synthesis, Self-Assembly, Physical Properties, and Applications. *Chemical Reviews* **2013**; (c) Liu, K.; Zhao, N.; Kumacheva, E., Self-assembly of inorganic nanorods. *Chemical Society Reviews* **2011**, 40 (2), 656-671; (d) Walker, D. A.; Kowalczyk, B.; de la Cruz, M. O.; Grzybowski, B. A., Electrostatics at the nanoscale. *Nanoscale* **2011**, 3 (4), 1316-1344; (e) Whitesides, G. M.; Grzybowski, B., Self-Assembly at All Scales. *Science* **2002**, 295 (5564), 2418-2421.
90. Hamon, C.; Postic, M.; Mazari, E.; Bizien, T.; Dupuis, C.; Even-Hernandez, P.; Jimenez, A.; Courbin, L.; Gosse, C.; Artzner, F.; Marchi-Artzner, V., Three-Dimensional Self-Assembling of Gold Nanorods with Controlled Macroscopic Shape and Local Smectic B Order. *ACS Nano* **2012**, 6 (5), 4137-4146.
91. Zanella, M.; Bertoni, G.; Franchini, I. R.; Brescia, R.; Baranov, D.; Manna, L., Assembly of shape-controlled nanocrystals by depletion attraction. *Chem Commun (Camb)* **2011**, 47 (1), 203-5.
92. Rizzo, A.; Nobile, C.; Mazzeo, M.; Giorgi, M. D.; Fiore, A.; Carbone, L.; Cingolani, R.; Manna, L.; Gigli, G., Polarized Light Emitting Diode by Long-Range Nanorod Self-Assembling on a Water Surface. *ACS Nano* **2009**, 3 (6), 1506-1512.
93. Ahmed, S.; Ryan, K. M., Centimetre scale assembly of vertically aligned and close packed semiconductor nanorods from solution. *Chemical Communications* **2009**, (42), 6421-6423.

94. Persano, A.; De Giorgi, M.; Fiore, A.; Cingolani, R.; Manna, L.; Cola, A.; Krahné, R., Photoconduction Properties in Aligned Assemblies of Colloidal CdSe/CdS Nanorods. *ACS Nano* **2010**, *4* (3), 1646-1652.
95. Senyuk, B.; Evans, J. E.; Ackerman, P. J.; Lee, T.; Manna, P.; Vigdeman, L.; Zubarev, E. R.; van de Lagemaat, J.; Smalyukh, I. I., Shape-dependent oriented trapping and scaffolding of plasmonic nanoparticles by topological defects for self-assembly of colloidal dimers in liquid crystals. *Nano Letters* **2012**.
96. Kowalczyk, B.; Walker, D. A.; Soh, S.; Grzybowski, B. A., Nanoparticle Supracrystals and Layered Supracrystals as Chemical Amplifiers. *Angewandte Chemie International Edition* **2010**, *49* (33), 5737-5741.
97. Langille, M. R.; Personick, M. L.; Zhang, J.; Mirkin, C. A., Defining Rules for the Shape Evolution of Gold Nanoparticles. *Journal of the American Chemical Society* **2012**.
98. Park, K.; Koerner, H.; Vaia, R. A., Depletion-Induced Shape and Size Selection of Gold Nanoparticles. *Nano Letters* **2010**, *10* (4), 1433-1439.
99. (a) Jana, N. R., Shape Effect in Nanoparticle Self-Assembly. *Angewandte Chemie International Edition* **2004**, *43* (12), 1536-1540; (b) Young, K. L.; Jones, M. R.; Zhang, J.; Macfarlane, R. J.; Esquivel-Sirvent, R.; Nap, R. J.; Wu, J.; Schatz, G. C.; Lee, B.; Mirkin, C. A., Assembly of reconfigurable one-dimensional colloidal superlattices due to a synergy of fundamental nanoscale forces. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2012**.
100. (a) Nie, Fava, D.; Rubinstein, M.; Kumacheva, E., "Supramolecular" Assembly of Gold Nanorods End-Terminated with Polymer "Pom-Poms": Effect of Pom-Pom Structure on the Association Modes. *Journal of the American Chemical Society* **2008**, *130* (11), 3683-3689; (b) Vial, S.; Nykpanchuk, D.; Yager, K. G.; Tkachenko, A. V.; Gang, O., Linear Mesostuctures in DNA-Nanorod Self-Assembly. *ACS Nano* **2013**; (c) Wang, L. B.; Zhu, Y. Y.; Xu, L. G.; Chen, W.; Kuang, H.; Liu, L. Q.; Agarwal, A.; Xu, C. L.; Kotov, N. A., Side-by-Side and End-to-End Gold Nanorod Assemblies for Environmental Toxin Sensing. *Angew. Chem.-Int. Edit.* **2010**, *49* (32), 5472-5475.
101. Baranov, D.; Fiore, A.; van Huis, M.; Giannini, C.; Falqui, A.; Lafont, U.; Zandbergen, H.; Zanella, M.; Cingolani, R.; Manna, L., Assembly of Colloidal Semiconductor Nanorods in Solution by Depletion Attraction. *Nano Letters* **2010**, *10* (2), 743-749.
102. Macfarlane, R. J.; Lee, B.; Jones, M. R.; Harris, N.; Schatz, G. C.; Mirkin, C. A., Nanoparticle Superlattice Engineering with DNA. *Science* **2011**, *334* (6053), 204-208.
103. Gole, A.; Murphy, C. J., Biotin-streptavidin-induced aggregation of gold nanorods: tuning rod-rod orientation. *Langmuir* **2005**, *21* (23), 10756-62.
104. Kuzyk, A.; Schreiber, R.; Fan, Z.; Pardatscher, G.; Roller, E.-M.; Hoge, A.; Simmel, F. C.; Govorov, A. O.; Liedl, T., DNA-based self-assembly of chiral plasmonic nanostructures with tailored optical response. *Nature* **2012**, *483* (7389), 311-314.
105. Henry, E.; Dif, A.; Schmutz, M.; Legoff, L.; Amblard, F.; Marchi-Artzner, V.; Artzner, F., Crystallization of Fluorescent Quantum Dots within a Three-Dimensional Bio-Organic Template of Actin Filaments and Lipid Membranes. *Nano Letters* **2011**, *11* (12), 5443-5448.
106. Aizenberg, J.; Braun, P. V.; Wiltzius, P., Patterned Colloidal Deposition Controlled by Electrostatic and Capillary Forces. *Physical Review Letters* **2000**, *84* (13), 2997.
107. Vakarelski, I. U.; Chan, D. Y. C.; Nonoguchi, T.; Shinto, H.; Higashitani, K., Assembly of gold nanoparticles into microwire networks induced by drying liquid bridges. *Phys Rev Lett* **2009**, *102* (5), 058303.
108. Nikoobakht, B.; Wang, Z. L.; El-Sayed, M. A., Self-Assembly of Gold Nanorods. *J Phys Chem B* **2000**, *104* (36), 8635-8640.
109. Huang, X.; Jain, P. K.; El-Sayed, I. H.; El-Sayed, M. A., Gold nanoparticles: interesting optical properties and recent applications in cancer diagnostics and therapy. *Nanomedicine (Lond)* **2007**, *2* (5), 681-93.
110. (a) Huff, T. B.; Hansen, M. N.; Zhao, Y.; Cheng, J.-X.; Wei, A., Controlling the cellular uptake of gold nanorods. *Langmuir* **2007**, *23* (4), 1596-9; (b) Hanauer, M.; Pierrat, S.; Zins, I.; Lotz, A.; Sonnichsen, C., Separation of nanoparticles by gel electrophoresis according to size and shape. *Nano Lett* **2007**, *7* (9), 2881-5; (c) Liao, H.; Hafner, J. H., Gold Nanorod Bioconjugates. *Chemistry of Materials* **2005**, *17* (18), 4636-4641.
111. (a) Pérez-Juste, J.; Pastoriza-Santos, I.; Liz-Marzán, L. M.; Mulvaney, P., Gold nanorods: Synthesis, characterization and applications. *Coordination Chemistry Reviews* **2005**, *249* (17-18), 1870-1901; (b) Gole, A.; Murphy, C. J., Seed-Mediated Synthesis of Gold Nanorods: Role of the Size and Nature of the Seed. *Chemistry of Materials* **2004**, *16* (19), 3633-3640; (c) Gómez-Graña, S.; Hubert, F.; Testard, F.; Guerrero-Martínez, A.; Grillo, I.; Liz-Marzán, L. M.; Spalla, O., Surfactant (Bi)Layers on Gold Nanorods. *Langmuir* **2011**.
112. Pierrat, S.; Zins, I.; Breivogel, A.; Sonnichsen, C., Self-assembly of small gold colloids with functionalized gold nanorods. *Nano Lett* **2007**, *7* (2), 259-63.
113. (a) Wijaya, A.; Hamad-Schifferli, K., Ligand customization and DNA functionalization of gold nanorods via round-trip phase transfer ligand exchange. *Langmuir* **2008**, *24* (18), 9966-9969; (b) Mitamura, K.; Imae, T.; Saito, N.; Takai, O., Fabrication and Self-Assembly of Hydrophobic Gold Nanorods. *The Journal of Physical Chemistry B* **2007**, *111* (30), 8891-8898.
114. (a) Tan, Y. N.; Lee, J. Y.; Wang, D. I. C., Uncovering the Design Rules for Peptide Synthesis of Metal Nanoparticles. *Journal of the American Chemical Society* **2010**, *132* (16), 5677-5686; (b) Guerrero-Martínez, A.; Pérez-Juste, J.; Carbó-Argibay, E.; Tardajos, G.; Liz-Marzán, L. M., Gemini-Surfactant-Directed Self-Assembly of Monodisperse Gold Nanorods into Standing Superlattices. *Angewandte Chemie International Edition* **2009**, *48* (50), 9484-9488.
115. Walker, D. A.; Browne, K. P.; Kowalczyk, B.; Grzybowski, B. A., Self-Assembly of Nanotriangle Superlattices Facilitated by Repulsive Electrostatic Interactions. *Angewandte Chemie International Edition* **2010**, *49* (38), 6760-6763.

-Références-

116. (a) Sreeprasad, T. S.; Samal, A. K.; Pradeep, T., One-, Two-, and Three-Dimensional Superstructures of Gold Nanorods Induced by Dimercaptosuccinic Acid. *Langmuir* **2008**, *24* (9), 4589-4599; (b) Sreeprasad, T. S.; Pradeep, T., Reversible Assembly and Disassembly of Gold Nanorods Induced by EDTA and Its Application in SERS Tuning. *Langmuir* **2011**, *27* (7), 3381-3390.
117. Boca, S. C.; Astilean, S., Detoxification of gold nanorods by conjugation with thiolated poly(ethylene glycol) and their assessment as SERS-active carriers of Raman tags. *Nanotechnology* **2010**, *21* (23), 235601.
118. Xie, Y.; Guo, S.; Ji, Y.; Guo, C.; Liu, X.; Chen, Z.; Wu, X.; Liu, Q., Self-Assembly of Gold Nanorods into Symmetric Superlattices Directed by OH-Terminated Hexa(ethylene glycol) Alkanethiol. *Langmuir* **2011**, *27* (18), 11394-11400.
119. Svedhem, S.; Hollander, C.-Å.; Shi, J.; Konradsson, P.; Liedberg, B.; Svensson, S. C. T., Synthesis of a Series of Oligo(ethylene glycol)-Terminated Alkanethiol Amides Designed to Address Structure and Stability of Biosensing Interfaces. *The Journal of Organic Chemistry* **2001**, *66* (13), 4494-4503.
120. Sprünken, D. P.; Omi, H.; Furukawa, K.; Nakashima, H.; Sychugov, I.; Kobayashi, Y.; Torimitsu, K., Influence of the Local Environment on Determining Aspect-Ratio Distributions of Gold Nanorods in Solution Using Gans Theory. *The Journal of Physical Chemistry C* **2007**, *111* (39), 14299-14306.
121. Nuzzo, R. G.; Fusco, F. A.; Allara, D. L., Spontaneously organized molecular assemblies. 3. Preparation and properties of solution adsorbed monolayers of organic disulfides on gold surfaces. *Journal of the American Chemical Society* **1987**, *109* (8), 2358-2368.
122. (a) Park, S.; Sinha, N.; Hamad-Schifferli, K., Effective size and zeta potential of nanorods by Ferguson analysis. *Langmuir* **2010**, *26* (16), 13071-5; (b) Kah, J.; Zubieta, A.; Saavedra, R. A.; Hamad-Schifferli, K., Stability of gold nanorods passivated with amphiphilic ligands. *Langmuir* **2012**.
123. Dif, A.; Henry, E.; Artzner, F.; Baudy-Floc'h, M.; Schmutz, M.; Dahan, M.; Marchi-Artzner, V., Interaction between water-soluble peptidic CdSe/ZnS nanocrystals and membranes: Formation of hybrid vesicles and condensed lamellar phases. *Journal of the American Chemical Society* **2008**, *130* (26), 8289-8296.
124. (a) Lévy, R.; Thanh, N. T. K.; Doty, R. C.; Hussain, I.; Nichols, R. J.; Schiffrin, D. J.; Brust, M.; Fernig, D. G., Rational and Combinatorial Design of Peptide Capping Ligands for Gold Nanoparticles. *Journal of the American Chemical Society* **2004**, *126* (32), 10076-10084; (b) Bartczak, D.; Kanaras, A. G., Preparation of Peptide-Functionalized Gold Nanoparticles Using One Pot EDC/Sulfo-NHS Coupling. *Langmuir* **2011**, *27* (16), 10119-10123.
125. Huang, X.; Peng, X.; Wang, Y.; Wang, Y.; Shin, D. M.; El-Sayed, M. A.; Nie, S., A Reexamination of Active and Passive Tumor Targeting by Using Rod-Shaped Gold Nanocrystals and Covalently Conjugated Peptide Ligands. *ACS Nano* **2010**, *4* (10), 5887-5896.
126. Israelachvili, J. N., *Intermolecular and Surface Forces*. 1992.
127. Larson, T. A.; Joshi, P. P.; Sokolov, K., Preventing Protein Adsorption and Macrophage Uptake of Gold Nanoparticles via a Hydrophobic Shield. *ACS Nano* **2012**, *6* (10), 9182-9190.
128. (a) Funston, A. M.; Novo, C.; Davis, T. J.; Mulvaney, P., Plasmon coupling of gold nanorods at short distances and in different geometries. *Nano Lett* **2009**, *9* (4), 1651-8; (b) Sardar, R.; Funston, A. M.; Mulvaney, P.; Murray, R. W., Gold nanoparticles: past, present, and future. *Langmuir* **2009**, *25* (24), 13840-51.
129. (a) Jain, P. K.; Eustis, S.; El-Sayed, M. A., Plasmon coupling in nanorod assemblies: optical absorption, discrete dipole approximation simulation, and exciton-coupling model. *J Phys Chem B* **2006**, *110* (37), 18243-53; (b) Dujardin, E.; Hsin, L.-B.; Wang, C. R. C.; Mann, S., DNA-driven self-assembly of gold nanorods. *Chemical Communications* **2001**, (14), 1264-1265; (c) Jain, P. K.; El-Sayed, M. A., Plasmonic coupling in noble metal nanostructures. *Chemical Physics Letters* **2010**, *487* (4-6), 153-164.
130. Jones, M. R.; Macfarlane, R. J.; Lee, B.; Zhang, J.; Young, K. L.; Senesi, A. J.; Mirkin, C. A., DNA-nanoparticle superlattices formed from anisotropic building blocks. *Nat Mater* **2010**, *9* (11), 913-917.
131. Orendorff, C. J.; Hankins, P. L.; Murphy, C. J., pH-triggered assembly of gold nanorods. *Langmuir* **2005**, *21* (5), 2022-6.
132. (a) Brown, K. A.; Dayal, S.; Ai, X.; Rumbles, G.; King, P. W., Controlled Assembly of Hydrogenase-CdTe Nanocrystal Hybrids for Solar Hydrogen Production. *Journal of the American Chemical Society* **2010**, *132* (28), 9672-9680; (b) Brown, K. A.; Wilker, M. B.; Boehm, M.; Dukovic, G.; King, P. W., Characterization of Photochemical Processes for H₂ Production by CdS Nanorod-[FeFe] Hydrogenase Complexes. *Journal of the American Chemical Society* **2012**, *134* (12), 5627-5636.
133. Menagen, G.; Macdonald, J. E.; Shemesh, Y.; Popov, I.; Banin, U., Au Growth on Semiconductor Nanorods: Photoinduced versus Thermal Growth Mechanisms. *Journal of the American Chemical Society* **2009**, *131* (47), 17406-17411.
134. Han, Z.; Qiu, F.; Eisenberg, R.; Holland, P. L.; Krauss, T. D., Robust Photogeneration of H₂ in Water Using Semiconductor Nanocrystals and a Nickel Catalyst. *Science* **2012**, *338* (6112), 1321-1324.
135. Tamang, S.; Beaune, G.; Texier, I.; Reiss, P., Aqueous Phase Transfer of InP/ZnS Nanocrystals Conserving Fluorescence and High Colloidal Stability. *ACS Nano* **2011**, *5* (12), 9392-9402.
136. Pinaud, F.; King, D.; Moore, H.-P.; Weiss, S., Bioactivation and Cell Targeting of Semiconductor CdSe/ZnS Nanocrystals with Phytochelatin-Related Peptides. *Journal of the American Chemical Society* **2004**, *126* (19), 6115-6123.
137. Wuister, S. F.; de Mello Donegá, C.; Meijerink, A., Influence of Thiol Capping on the Exciton Luminescence and Decay Kinetics of CdTe and CdSe Quantum Dots. *The Journal of Physical Chemistry B* **2004**, *108* (45), 17393-17397.
138. Frugoni, J. A. C., *Gazzetta Chimica Italiana* **1957**, *87*, 403.
139. Zhang, X.; Servos, M. R.; Liu, J., Ultrahigh Nanoparticle Stability against Salt, pH and Solvent with Retained Surface Accessibility via Depletion Stabilization. *Journal of the American Chemical Society* **2012**.

140. Gole, A.; Orendorff, C. J.; Murphy, C. J., Immobilization of gold nanorods onto acid-terminated self-assembled monolayers via electrostatic interactions. *Langmuir* **2004**, *20* (17), 7117-22.
141. Sánchez-Iglesias, A.; Grzelczak, M.; Altantzis, T.; Goris, B.; Perez-Juste, J.; Bals, S.; Van Tendeloo, G.; Donaldson, J. S. H.; Chmelka, B. F.; Israelachvili, J. N.; Liz-Marzán, L. M., Hydrophobic Interactions Modulate Self-assembly of Nanoparticles. *ACS Nano* **2012**.
142. Vollhardt, *Chimie Organique*. Editions Universitaires: 1990.
143. Postic, M. Auto-organisation de matériaux multi-échelles par séchage: Des mécanismes de retrait de menisques dans un milieu poreux modèle à la cristallisation de nanoparticules. Université de Rennes 1, Université de Rennes 1, 2012.
144. Stewart, M. E.; Anderton, C. R.; Thompson, L. B.; Maria, J.; Gray, S. K.; Rogers, J. A.; Nuzzo, R. G., Nanostructured Plasmonic Sensors. *Chemical Reviews* **2008**, *108* (2), 494-521.
145. Denisyuk, A. I.; Adamo, G.; MacDonald, K. F.; Edgar, J.; Arnold, M. D.; Myroshnychenko, V.; Ford, M. J.; García de Abajo, F. J.; Zheludev, N. I., Transmitting Hertzian Optical Nanoantenna with Free-Electron Feed. *Nano Letters* **2010**, *10* (9), 3250-3252.
146. Huang, X.; El-Sayed, I. H.; Qian, W.; El-Sayed, M. A., Cancer Cell Imaging and Photothermal Therapy in the Near-Infrared Region by Using Gold Nanorods. *Journal of the American Chemical Society* **2006**, *128* (6), 2115-2120.
147. Freeman, R. G.; Grabar, K. C.; Allison, K. J.; Bright, R. M.; Davis, J. A.; Guthrie, A. P.; Hommer, M. B.; Jackson, M. A.; Smith, P. C.; Walter, D. G.; Natan, M. J., Self-Assembled Metal Colloid Monolayers: An Approach to SERS Substrates. *Science* **1995**, *267* (5204), 1629-1632.
148. Grzelczak, M.; Liz-Marzán, L. M., Colloidal Nanoplasmonics. From Building Blocks to Sensing Devices. *Langmuir* **2013**.
149. Deegan, R. D.; Bakajin, O.; Dupont, T. F.; Huber, G.; Nagel, S. R.; Witten, T. A., Capillary flow as the cause of ring stains from dried liquid drops. *Nature* **1997**, *389* (6653), 827-829.
150. Courbin, L.; Denieul, E.; Dressaire, E.; Roper, M.; Ajdari, A.; Stone, H. A., Imbibition by polygonal spreading on microdecorated surfaces. *Nat Mater* **2007**, *6* (9), 661-4.
151. (a) Talapin, D. V.; Shevchenko, E. V.; Murray, C. B.; Kornowski, A.; Förster, S.; Weller, H., CdSe and CdSe/CdS Nanorod Solids. *Journal of the American Chemical Society* **2004**, *126* (40), 12984-12988; (b) Dallari, W.; Scotto, M.; Zanella, M.; Marras, S.; Manna, L.; Diaspro, A.; Allione, M., Light-Induced Inhibition of Photoluminescence Emission of Core/Shell Semiconductor Nanorods and Its Application for Optical Data Storage. *The Journal of Physical Chemistry C* **2012**.
152. Dworak, L.; Matylytsky, V. V.; Breus, V. V.; Braun, M.; Basché, T.; Wachtveitl, J., Ultrafast Charge Separation at the CdSe/CdS Core/Shell Quantum Dot/Methylviologen Interface: Implications for Nanocrystal Solar Cells. *The Journal of Physical Chemistry C* **2011**, *115* (10), 3949-3955.
153. (a) Altamura, D.; Holy, V.; Siliqi, D.; Lekshimi, C. I.; Nobile, C.; Maruccio, G.; Cozzoli, P. D.; Fan, L.; Gozzo, F.; Giannini, C., Exploiting GISAXS for the study of 3D ordered superlattice of self-assembled colloidal iron oxide nanocrystals. *Crystal Growth & Design* **2012**; (b) Pietra, F.; Rabouw, F. T.; Evers, W. H.; Byelov, D. V.; Petoukhov, A.; de Mello Donegá, C.; Vanmaekelbergh, D., Semiconductor nanorod self-assembly at the liquid/air interface studied by in-situ GISAXS and ex-situ TEM. *Nano Letters* **2012**.
154. Bolhuis, P., Tracing the phase boundaries of hard spherocylinders. *J. Chem. Phys.* **1997**, *106* (2), 666.
155. (a) Ye, X.; Zheng, C.; Chen, J.; Gao, Y.; Murray, C. B., Using Binary Surfactant Mixtures to Simultaneously Improve Dimensional Tunability and Monodispersity in the Seeded-Growth of Gold Nanorods. *Nano Letters* **2013**; (b) Wang, T.; Wang, X.; LaMontagne, D.; Wang, Z.; Cao, Y. C., Macroscale Lateral Alignment of Semiconductor Nanorods into Freestanding Thin Films. *Journal of the American Chemical Society* **2013**.
156. (a) Chan, H.; Demortiere, A.; Vukovic, L.; Kral, P.; Petit, C., Colloidal Nanocube Supercrystals Stabilized by Multipolar Coulombic Coupling. *ACS Nano* **2012**; (b) Titov, A. V.; Král, P., Modeling the Self-Assembly of Colloidal Nanorod Superlattices. *Nano Letters* **2008**, *8* (11), 3605-3612; (c) Walker, D. A.; Wilmer, C. E.; Kowalczyk, B.; Bishop, K. J. M.; Grzybowski, B. A., Precision Assembly of Oppositely and Like-Charged Nanoobjects Mediated by Charge-Induced Dipole Interactions. *Nano Letters* **2010**, *10* (6), 2275-2280.
157. Zhu, H.; Lian, T., Enhanced Multiple Exciton Dissociation from CdSe Quantum Rods: the Effect of Nanocrystal Shape. *Journal of the American Chemical Society* **2012**.
158. Wood, A.; Giersig, M.; Mulvaney, P., Fermi Level Equilibration in Quantum Dot–Metal Nanojunctions†. *The Journal of Physical Chemistry B* **2001**, *105* (37), 8810-8815.
159. Costi, R.; Saunders, A. E.; Elmaleh, E.; Salant, A.; Banin, U., Visible Light-Induced Charge Retention and Photocatalysis with Hybrid CdSe–Au Nanodumbbells. *Nano Letters* **2008**, *8* (2), 637-641.
160. (a) Holmes, M. A.; Townsend, T. K.; Osterloh, F. E., Quantum confinement controlled photocatalytic water splitting by suspended CdSe nanocrystals. *Chemical Communications* **2012**, *48* (3), 371-373; (b) Thibert, A.; Frame, F. A.; Busby, E.; Holmes, M. A.; Osterloh, F. E.; Larsen, D. S., Sequestering High-Energy Electrons Facilitates Photocatalytic Hydrogen Generation in CdSe/CdS Nanocrystals. *The Journal of Physical Chemistry Letters* **2011**.
161. O'Brien, J.; Wilson, I.; Orton, T.; Pognan, F., Investigation of the Alamar Blue (resazurin) fluorescent dye for the assessment of mammalian cell cytotoxicity. *European Journal of Biochemistry* **2000**, *267* (17), 5421-5426.
162. Pradhan, S.; Ghosh, D.; Chen, S., Janus Nanostructures Based on Au–TiO₂ Heterodimers and Their Photocatalytic Activity in the Oxidation of Methanol. *ACS Applied Materials & Interfaces* **2009**, *1* (9), 2060-2065.
163. Delamar, M.; Hitmi, R.; Pinson, J.; Saveant, J. M., Covalent modification of carbon surfaces by grafting of functionalized aryl radicals produced from electrochemical reduction of diazonium salts. *Journal of the American Chemical Society* **1992**, *114* (14), 5883-5884.

-Références-

164. (a) Mahouche-Chergui, S.; Gam-Derouich, S.; Mangeney, C.; Chehimi, M. M., Aryl diazonium salts: a new class of coupling agents for bonding polymers, biomacromolecules and nanoparticles to surfaces. *Chemical Society Reviews* **2011**, *40* (7), 4143-4166; (b) Gehan, H. I. n.; Fillaud, L.; Chehimi, M. M.; Aubard, J.; Hohenau, A.; Felidj, N.; Mangeney, C., Thermo-induced Electromagnetic Coupling in Gold/Polymer Hybrid Plasmonic Structures Probed by Surface-Enhanced Raman Scattering. *ACS Nano* **2010**, *4* (11), 6491-6500; (c) Dunker, M. F. W.; Starkey, E. B.; Jenkins, G. L., The Preparation of Some Organic Mercurials from Diazonium Borofluorides. *Journal of the American Chemical Society* **1936**, *58* (11), 2308-2309.
165. Wang, J.; Firestone, M. A.; Auciello, O.; Carlisle, J. A., Surface Functionalization of Ultrananocrystalline Diamond Films by Electrochemical Reduction of Aryldiazonium Salts. *Langmuir* **2004**, *20* (26), 11450-11456.
166. Aswal, D. K.; , S. P. K.; , B. J.; , S. K. G.; , S. P.; , J. V. Y., Hybrid molecule-on-silicon nanoelectronics: Electrochemical processes for grafting and printing of monolayers. *Physica E* **2009**, *41*, 325-344.
167. (a) Matrab, T.; Chehimi, M. M.; Perruchot, C.; Adenier, A.; Guillez, A.; Save, M.; Charleux, B.; Cabet-Deliry, E.; Pinson, J., Novel Approach for Metallic Surface-Initiated Atom Transfer Radical Polymerization Using Electrografted Initiators Based on Aryl Diazonium Salts. *Langmuir* **2005**, *21* (10), 4686-4694; (b) Belanger, D.; Pinson, J., Electrografting: a powerful method for surface modification. *Chemical Society Reviews* **2011**, *40* (7), 3995-4048.
168. Pinson, J.; Podvorica, F., Attachment of organic layers to conductive or semiconductive surfaces by reduction of diazonium salts. *Chemical Society Reviews* **2005**, *34* (5), 429-439.
169. Laurentius, L.; Stoyanov, S. R.; Gusarov, S.; Kovalenko, A.; Du, R.; Lopinski, G. P.; McDermott, M. T., Diazonium-Derived Aryl Films on Gold Nanoparticles: Evidence for a Carbon-Gold Covalent Bond. *ACS Nano* **2011**, *5* (5), 4219-4227.
170. Griffete, N. b. w.; Herbst, F. d. r.; Pinson, J.; Ammar, S.; Mangeney, C., Preparation of Water-Soluble Magnetic Nanocrystals Using Aryl Diazonium Salt Chemistry. *Journal of the American Chemical Society* **2011**, *133* (6), 1646-1649.
171. Liras, M.; Gonzalez-Bejar, M.; Scaiano, J. C., On-off QD switch that memorizes past recovery from quenching by diazonium salts. *Physical Chemistry Chemical Physics* **2010**, *12* (33), 9757-9762.
172. Mesnage, A.; Lefèvre, X.; Jégou, P.; Deniau, G.; Palacin, S., Spontaneous Grafting of Diazonium Salts: Chemical Mechanism on Metallic Surfaces. *Langmuir* **2012**, *28* (32), 11767-11778.
173. Eugen S. Andreiadis, P.-A. J., Phong D. Tran, Adeline Leyris, Murielle Chavarot-Kerlidou, Bruno Joussemme, Muriel Matheron, Jacques Pécaut, Serge Palacin, Marc Fontecave & Vincent Artero, Molecular engineering of a cobalt-based electrocatalytic nanomaterial for H₂ evolution under fully aqueous conditions. *Nature Chemistry* **2012**, *5*, 48-53.
174. Le, X. T.; Viel, P.; Jegou, P.; Garcia, A.; Berthelot, T.; Bui, T. H.; Palacin, S., Diazonium-induced anchoring process: an application to improve the monovalent selectivity of cation exchange membranes. *Journal of Materials Chemistry* **2010**, *20* (18), 3750-3757.
175. Mesnage, A.; Esnouf, S. p.; Jégou, P.; Deniau, G.; Palacin, S., Understanding the Redox-Induced Polymer Grafting Process: A Dual Surface-Solution Analysis. *Chemistry of Materials* **2010**, *22* (23), 6229-6239.
176. (a) Hill, L. J.; Bull, M. M.; Sung, Y.; Simmonds, A. G.; Dirlam, P. T.; Richey, N. E.; DeRosa, S. E.; Shim, I.-B.; Guin, D.; Costanzo, P. J.; Pinna, N.; Willinger, M.-G.; Vogel, W.; Char, K.; Pyun, J., Directing the Deposition of Ferromagnetic Cobalt onto Pt-Tipped CdSe@CdS Nanorods: Synthetic and Mechanistic Insights. *ACS Nano* **2012**, *6* (10), 8632-8645; (b) Deka, S.; Falqui, A.; Bertoni, G.; Sangregorio, C.; Poneti, G.; Morello, G.; Giorgi, M. D.; Giannini, C.; Cingolani, R.; Manna, L.; Cozzoli, P. D., Fluorescent Asymmetrically Cobalt-Tipped CdSe@CdS Core@Shell Nanorod Heterostructures Exhibiting Room-Temperature Ferromagnetic Behavior. *Journal of the American Chemical Society* **2009**, *131* (35), 12817-12828.
177. Carbone, L.; Jakab, A.; Khalavka, Y.; Sönnichsen, C., Light-Controlled One-Sided Growth of Large Plasmonic Gold Domains on Quantum Rods Observed on the Single Particle Level. *Nano Letters* **2009**, *9* (11), 3710-3714.
178. (a) Talapin, D. V.; Lee, J.-S.; Kovalenko, M. V.; Shevchenko, E. V., Prospects of Colloidal Nanocrystals for Electronic and Optoelectronic Applications. *Chemical Reviews* **2009**, *110* (1), 389-458; (b) Li, P. G.; Lappas, A.; Lavieville, R.; Zhang, Y.; Krahne, R., CdSe-Au nanorod networks welded by gold domains: a promising structure for nano-optoelectronic components. *J. Nanopart. Res.* **2012**, *14* (7).
179. Berr, M.; Vaneski, A.; Susha, A. S.; Rodriguez-Fernandez, J.; Dobliger, M.; Jackel, F.; Rogach, A. L.; Feldmann, J., Colloidal CdS nanorods decorated with subnanometer sized Pt clusters for photocatalytic hydrogen generation. *Applied Physics Letters* **2010**, *97* (9), 093108-3.
180. Zhao, N.; Vickery, J.; Guerin, G.; Park, J. I.; Winnik, M. A.; Kumacheva, E., Self-Assembly of Single-Tip Metal-Semiconductor Nanorods in Selective Solvents. *Angewandte Chemie International Edition* **2011**, *50* (20), 4606-4610.
181. Vaneski, A.; Susha, A. S.; Rodríguez-Fernández, J.; Berr, M.; Jäckel, F.; Feldmann, J.; Rogach, A. L., Hybrid Colloidal Heterostructures of Anisotropic Semiconductor Nanocrystals Decorated with Noble Metals: Synthesis and Function. *Advanced Functional Materials* **2011**, n/a-n/a.
182. Khon, E.; Mereshchenko, A.; Tarnovsky, A. N.; Acharya, K.; Klinkova, A.; Hewa-Kasakarage, N. N.; Nemitz, I.; Zamkov, M., Suppression of the Plasmon Resonance in Au/CdS Colloidal Nanocomposites. *Nano Letters* **2011**, null-null.
183. (a) Meissner, D.; Memming, R.; Kastening, B., Photoelectrochemistry of cadmium sulfide. 1. Reanalysis of photocorrosion and flat-band potential. *The Journal of Physical Chemistry* **1988**, *92* (12), 3476-3483; (b) Meissner, D.; Benndorf, C.; Memming, R., Photocorrosion of cadmium sulfide: Analysis by photoelectron spectroscopy. *Applied Surface Science* **1987**, *27* (4), 423-436.

184. Berr, M. J.; Wagner, P.; Fischbach, S.; Vaneski, A.; Schneider, J.; Susha, A. S.; Rogach, A. L.; Jackel, F.; Feldmann, J., Hole scavenger redox potentials determine quantum efficiency and stability of Pt-decorated CdS nanorods for photocatalytic hydrogen generation. *Applied Physics Letters* **2012**, *100* (22), 223903-3.
185. Alam, R.; Fontaine, D. M.; Branchini, B. R.; Maye, M. M., Designing Quantum Rods for Optimized Energy Transfer with Firefly Luciferase Enzymes. *Nano Letters* **2012**.
186. Hughes, S.; Alivisatos, A. P., Anisotropic Formation and Distribution of Stacking Faults in II-VI Semiconductor Nanorods. *Nano Letters* **2012**.
187. Saunders, A. E.; Popov, I.; Banin, U., Synthesis of Hybrid CdS–Au Colloidal Nanostructures†. *The Journal of Physical Chemistry B* **2006**, *110* (50), 25421-25429.
188. Redmond, P. L.; Hallock, A. J.; Brus, L. E., Electrochemical Ostwald Ripening of Colloidal Ag Particles on Conductive Substrates. *Nano Letters* **2004**, *5* (1), 131-135.
189. Costi, R.; Cohen, G.; Salant, A.; Rabani, E.; Banin, U., Electrostatic Force Microscopy Study of Single Au–CdSe Hybrid Nanodumbbells: Evidence for Light-Induced Charge Separation. *Nano Letters* **2009**, *9* (5), 2031-2039.
190. (a) Perro, A.; Reculosa, S.; Bourgeat-Lami, E.; Ravaine, S.; Duguet, E., About shape-anisotropic and chemically patterned particles: Janus-like particles. *Actual Chim.* **2010**, (340), 14-17; (b) Duguet, E.; Desert, A.; Perro, A.; Ravaine, S., Design and elaboration of colloidal molecules: an overview. *Chemical Society Reviews* **2011**, *40* (2), 941-960.
191. Cobo, S.; Heidkamp, J.; Jacques, P.-A.; Fize, J.; Fourmond, V.; Guetaz, L.; Jousselmé, B.; Ivanova, V.; Dau, H.; Palacin, S.; Fontecave, M.; Artero, V., A Janus cobalt-based catalytic material for electro-splitting of water. *Nat Mater* **2012**, *11* (9), 802-807.
192. Asaf Salant, E. A.-S., Banin, U., Directed Self-Assembly of Gold-Tipped CdSe Nanorods. *J Am Chem Soc* **2006**, *128* (31), 10006-10007.
193. (a) CHAD A. MIRKIN, R. L. L., ROBERT C. MUCIC & JAMES J. STORHOFF, A DNA-based method for rationally assembling nanoparticles into macroscopic materials. *nature* **1996**, *382*, 607-609; (b) A. Paul Alivisatos, K. P. J., Xiaogang Peng, Troy E. Wilson, Colin J. Loweth, Marcel P. Bruchez Jr, Peter G. Schultz, Organization of "nanocrystal molecules" using DNA. *Nature* **1996**, *382*, 609-611.
194. Cheng, W.; Campolongo, M. J.; Cha, J. J.; Tan, S. J.; Umbach, C. C.; Muller, D. A.; Luo, D., Free-standing nanoparticle superlattice sheets controlled by DNA. *Nat Mater* **2009**, *8* (6), 519-525.
195. Rodenas, P.; Song, T.; Sudhagar, P.; Marzari, G.; Han, H.; Badia-Bou, L.; Gimenez, S.; Fabregat-Santiago, F.; Mora-Sero, I.; Bisquert, J.; Paik, U.; Kang, Y. S., Quantum Dot Based Heterostructures for Unassisted Photoelectrochemical Hydrogen Generation. *Advanced Energy Materials* **2013**, *3* (2), 176-182.
196. (a) Fritsch, J.; Scheerer, P.; Frielingsdorf, S.; Kroschinsky, S.; Friedrich, B.; Lenz, O.; Spahn, C. M. T., The crystal structure of an oxygen-tolerant hydrogenase uncovers a novel iron-sulphur centre. *Nature* **2011**, *479* (7372), 249-252; (b) Shomura, Y.; Yoon, K.-S.; Nishihara, H.; Higuchi, Y., Structural basis for a [lsqb]4Fe-3S[rsqb] cluster in the oxygen-tolerant membrane-bound [lsqb]NiFe[rsqb]-hydrogenase. *Nature* **2011**, *479* (7372), 253-256.
197. (a) Brugna-Guiral, M.; Tron, P.; Nitschke, W.; Stetter, K.-O.; Burlat, B.; Guigliarelli, B.; Bruschi, M.; Giudici-Ortoni, M. T., [NiFe] hydrogenases from the hyperthermophilic bacterium<small><SMALL></small> Aquifex aeolicus<small><SMALL></small>; properties, function, and phylogenetics. *Extremophiles* **2003**, *7* (2), 145-157; (b) Tard, C. d.; Pickett, C. J., Structural and Functional Analogues of the Active Sites of the [Fe]-, [NiFe]-, and [FeFe]-Hydrogenases†. *Chemical Reviews* **2009**, *109* (6), 2245-2274.
198. Ciaccafava, A.; De Poulpiquet, A.; Techer, V.; Giudici-Ortoni, M. T.; Tingry, S.; Innocent, C.; Lojou, E., An innovative powerful and mediatorless H₂/O₂ biofuel cell based on an outstanding bioanode. *Electrochem. Commun.* **2012**, *23*, 25-28.
199. Gerard Deckert, P. V. W., Terry Gaasterland, William G. Young, Anna L. Lenox, David E. Graham, Ross Overbeek, Marjory A. Snead, Martin Keller, Monette Aujay, Robert Huber, Robert A. Feldman, Jay M. Short, Gary J. Olsen, Ronald V. Swanson, The complete genome of the hyperthermophilic bacterium Aquifex aeolicus. *Nature* **1998**, *392*, 353-358.
200. Ciaccafava, A.; Infossi, P.; Ilbert, M.; Guiral, M.; Lecomte, S.; Giudici-Ortoni, M. T.; Lojou, E., Electrochemistry, AFM, and PM-IRRA Spectroscopy of Immobilized Hydrogenase: Role of a Hydrophobic Helix in Enzyme Orientation for Efficient H₂ Oxidation. *Angewandte Chemie International Edition* **2012**, *51* (4), 953-956.
201. Stripp, S. T.; Goldet, G.; Brandmayr, C.; Sanganas, O.; Vincent, K. A.; Haumann, M.; Armstrong, F. A.; Happe, T., How oxygen attacks [FeFe] hydrogenases from photosynthetic organisms. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2009**, *106* (41), 17331-17336.
202. Vincent, K. A.; Parkin, A.; Lenz, O.; Albracht, S. P. J.; Fontecilla-Camps, J. C.; Cammack, R.; Friedrich, B.; Armstrong, F. A., Electrochemical Definitions of O₂ Sensitivity and Oxidative Inactivation in Hydrogenases. *Journal of the American Chemical Society* **2005**, *127* (51), 18179-18189.
203. (a) Lubitz, W.; Brecht, M.; Foerster, S.; Gastel Maurice, v.; Stein, M., EPR and ENDOR Studies of [NiFe] Hydrogenase: Contributions to Understanding the Mechanism of Biological Hydrogen Conversion. In *Paramagnetic Resonance of Metallobiomolecules*, American Chemical Society: 2003; Vol. 858, pp 128-149; (b) Fichtner, C.; Laurich, C.; Bothe, E.; Lubitz, W., Spectroelectrochemical Characterization of the [NiFe] Hydrogenase of *Desulfovibrio vulgaris* Miyazaki F†. *Biochemistry* **2006**, *45* (32), 9706-9716.
204. Léger, C.; Dementin, S.; Bertrand, P.; Rousset, M.; Guigliarelli, B., Inhibition and Aerobic Inactivation Kinetics of *Desulfovibrio fructosovorans* NiFe Hydrogenase Studied by Protein Film Voltammetry. *Journal of the American Chemical Society* **2004**, *126* (38), 12162-12172.

-Références-

205. (a) M. van Gastel, C. F., F. Neese and W. Lubitz, EPR experiments to elucidate the structure of the ready and unready states of the [NiFe] hydrogenase of *Desulfovibrio vulgaris* Miyazaki F. *Biochemical Society Transactions* **2005**, (33), 7; (b) Volbeda, A.; Martin, L.; Cavazza, C.; Matho, M.; Faber, B.; Roseboom, W.; Albracht, S. J.; Garcin, E.; Rousset, M.; Fontecilla-Camps, J., Structural differences between the ready and unready oxidized states of [NiFe] hydrogenases. *J Biol Inorg Chem* **2005**, *10* (3), 239-249.
206. Fontecilla-Camps, J. C.; Volbeda, A.; Cavazza, C.; Nicolet, Y., Structure/Function Relationships of [NiFe]- and [FeFe]-Hydrogenases. *Chemical Reviews* **2007**, *107* (10), 4273-4303.
207. (a) Pandelia, M.-E.; Infossi, P.; Giudici-Ortoni, M. T. r. s.; Lubitz, W., The Oxygen-Tolerant Hydrogenase I from *Aquifex aeolicus* Weakly Interacts with Carbon Monoxide: An Electrochemical and Time-Resolved FTIR Study. *Biochemistry* **2010**, *49* (41), 8873-8881; (b) Osuka, H.; Shomura, Y.; Komori, H.; Shibata, N.; Nagao, S.; Higuchi, Y.; Hirota, S., Photosensitivity of the Ni-A state of [NiFe] hydrogenase from *Desulfovibrio vulgaris* Miyazaki F with visible light. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **2013**, *430* (1), 284-288; (c) Siebert, E.; Horch, M.; Rippers, Y.; Fritsch, J.; Frielingsdorf, S.; Lenz, O.; Velazquez Escobar, F.; Siebert, F.; Paasche, L.; Kuhlmann, U.; Lenzian, F.; Mroginski, M.-A.; Zebger, I.; Hildebrandt, P., Resonance Raman Spectroscopy as a Tool to Monitor the Active Site of Hydrogenases. *Angewandte Chemie International Edition* **2013**, *52* (19), 5162-5165.
208. Pandelia, M.-E.; Fourmond, V.; Tron-Infossi, P.; Lojou, E.; Bertrand, P.; Léger, C.; Giudici-Ortoni, M.-T. r. s.; Lubitz, W., Membrane-Bound Hydrogenase I from the Hyperthermophilic Bacterium *Aquifex aeolicus*: Enzyme Activation, Redox Intermediates and Oxygen Tolerance. *Journal of the American Chemical Society* **2010**, *132* (20), 6991-7004.
209. Fourmond, V.; Infossi, P.; Giudici-Ortoni, M.-T.; Bertrand, P.; Léger, C., "Two-Step" Chronoamperometric Method for Studying the Anaerobic Inactivation of an Oxygen Tolerant NiFe Hydrogenase. *Journal of the American Chemical Society* **2010**, *132* (13), 4848-4857.
210. Reisner, E.; Powell, D. J.; Cavazza, C.; Fontecilla-Camps, J. C.; Armstrong, F. A., Visible Light-Driven H₂ Production by Hydrogenases Attached to Dye-Sensitized TiO₂ Nanoparticles. *Journal of the American Chemical Society* **2009**, *131* (51), 18457-18466.
211. Helm, M. L.; Stewart, M. P.; Bullock, R. M.; DuBois, M. R.; DuBois, D. L., A Synthetic Nickel Electrocatalyst with a Turnover Frequency Above 100,000 s⁻¹ for H₂ Production. *Science* **2011**, *333* (6044), 863-866.
212. Wang, F.; Wang, W.-G.; Wang, X.-J.; Wang, H.-Y.; Tung, C.-H.; Wu, L.-Z., A Highly Efficient Photocatalytic System for Hydrogen Production by a Robust Hydrogenase Mimic in an Aqueous Solution. *Angewandte Chemie* **2011**, *123* (14), 3251-3255.
213. Lojou, E.; Luo, X.; Brugna, M.; Candoni, N.; Dementin, S.; Giudici-Ortoni, M. T., Biocatalysts for fuel cells: efficient hydrogenase orientation for H₂ oxidation at electrodes modified with carbon nanotubes. *J Biol Inorg Chem* **2008**, *13* (7), 1157-1167.
214. Wittig, I.; Braun, H.-P.; Schagger, H., Blue native PAGE. *Nat. Protocols* **2006**, *1* (1), 418-428.
215. Shemetov, A. A.; Nabiev, I.; Sukhanova, A., Molecular Interaction of Proteins and Peptides with Nanoparticles. *ACS Nano* **2012**.
216. (a) Khalid, W.; El Helou, M.; Murböck, T.; Yue, Z.; Montenegro, J.-M.; Schubert, K.; Göbel, G.; Lisdat, F.; Witte, G.; Parak, W. J., Immobilization of Quantum Dots via Conjugated Self-Assembled Monolayers and Their Application as a Light-Controlled Sensor for the Detection of Hydrogen Peroxide. *ACS Nano* **2011**, *5* (12), 9870-9876; (b) Schubert, K.; Khalid, W.; Yue, Z.; Parak, W. J.; Lisdat, F., Quantum-Dot-Modified Electrode in Combination with NADH-Dependent Dehydrogenase Reactions for Substrate Analysis. *Langmuir* **2009**, *26* (2), 1395-1400.
217. (a) Hojeij, M.; Su, B.; Tan, S.; Mériguet, G.; Girault, H. H., Nanoporous Photocathode and Photoanode Made by Multilayer Assembly of Quantum Dots. *ACS Nano* **2008**, *2* (5), 984-992; (b) Göbel, G.; Schubert, K.; Schubart, I. W.; Khalid, W.; Parak, W. J.; Lisdat, F., Enhanced photocurrent generation with quantum dots containing multilayers on gold. *Electrochimica Acta* **2011**, *56* (18), 6397-6400.
218. Nerambourg, N.; Praho, R.; Werts, M. H. V.; Thomas, D.; Blanchard-Desce, M., Hydrophilic monolayer-protected gold nanoparticles and their functionalisation with fluorescent chromophores. *International Journal of Nanotechnology* **2008**, *5* (6-8), 722-740.
219. (a) Khanal, B. P.; Zubarev, E. R., Purification of High Aspect Ratio Gold Nanorods: Complete Removal of Platelets. *Journal of the American Chemical Society* **2008**, *130* (38), 12634-12635; (b) Sharma, V.; Park, K.; Srinivasarao, M., Shape separation of gold nanorods using centrifugation. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2009**, *106* (13), 4981-4985.
220. Grondelle, W. v.; Iglesias, C. L.; Coll, E.; Artzner, F.; Paternostre, M.; Lacombe, F.; Cardus, M.; Martinez, G.; Montes, M.; Cherif-Cheikh, R.; Valéry, C., Spontaneous fibrillation of the native neuropeptide hormone Somatostatin-14. *Journal of Structural Biology* **2007**, *160* (2), 211-223.
221. McDonald, J. C.; Duffy, D. C.; Anderson, J. R.; Chiu, D. T.; Wu, H.; Schueller, O. J. A.; Whitesides, G. M., Fabrication of microfluidic systems in poly(dimethylsiloxane). *ELECTROPHORESIS* **2000**, *21* (1), 27-40.

-Références-

VU:

Le Directeur de Thèse
(Nom et Prénom)

VU:

Le Responsable de l'École Doctorale

VU pour autorisation de soutenance

Rennes, le

Le Président de l'Université de Rennes 1

Guy CATHELIN

VU après soutenance pour autorisation de publication:

Le Président de Jury,
(Nom et Prénom)