



HAL
open science

Nanoparticules de silice à patchs : optimisation de leur synthèse et de leur assemblage, et observation in situ

Hervé Palis

► **To cite this version:**

Hervé Palis. Nanoparticules de silice à patchs : optimisation de leur synthèse et de leur assemblage, et observation in situ. Matériaux. Université de Bordeaux, 2019. Français. NNT : 2019BORD0347 . tel-03476468

HAL Id: tel-03476468

<https://theses.hal.science/tel-03476468>

Submitted on 13 Dec 2021

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.

École Doctorale des Sciences Chimiques

Institut de Chimie de la Matière Condensée de Bordeaux, CNRS – Université

de Bordeaux – Bordeaux INP

Centre de Recherche Paul Pascal, CNRS – Université de Bordeaux

Thèse

Présentée pour l'obtention du grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

par

Hervé PALIS

Nanoparticules de silice à patchs : optimisation de leur synthèse et de leur assemblage, et observation *in situ*

Spécialité : Physico-chimie de la matière condensée

Soutenue le 11 Décembre 2019 devant un jury composé de :

Président	Dr Mario MAGLIONE	(ICMCB, CNRS - Bordeaux)
Rapporteur	Dr Muriel LANSALOT	(C2P2, CNRS - Lyon)
Rapporteur	Dr Sagrario PASCUAL	(UCO2M, Université du Maine)
Examinatrice	Dr Anne AIMABLE	(IRCER, Université de Limoges)
Directeur de thèse	Pr. Étienne DUGUET	(ICMCB, Université de Bordeaux)
Co-directeur de thèse	Pr. Serge RAVAINÉ	(CRPP, Université de Bordeaux)
Invité	Dr Jérôme MAJIMEL	(ICMCB, CNRS - Bordeaux)

Remerciements

Je voudrais en premier lieu remercier Mario Maglione et Cécile Zakri respectivement directeur de l'Institut de Chimie de la Matière Condensée de Bordeaux et directrice du Centre de Recherche Paul Pascal de m'avoir accueilli au sein de leur unité de recherche afin que je puisse y effectuer ces travaux de thèse. Je remercie également Mario Maglione d'avoir accepté de présider le jury de thèse.

Je tiens à remercier mes directeurs de thèse Étienne Duguet et Serge Ravaine de m'avoir accordé leur confiance pour continuer les recherches sur ce sujet ainsi que pour leur encadrement tout au long de ces trois années.

Je remercie également Jérôme Majimel, co-encadrant de ces travaux, pour son implication concernant l'aspect microscopie électronique. Les travaux de développement de la microscopie électronique en transmission en voie liquide nous ont conduit à passer de nombreuses heures devant le microscope au cours desquelles nous avons eu le temps de discuter. Je voudrais donc sincèrement le remercier pour tous ses conseils et sa bienveillance.

Je voudrais remercier Muriel Lansalot et Sagrario Pascual d'avoir accepté d'être rapporteur de ces travaux ainsi qu'Anne Aimable pour son rôle d'examinatrice.

J'aimerais remercier Yaser Hashem et Axel Innis de m'avoir accordé l'accès à leur équipement pour la confection de gradient de densité, la centrifugation et le fractionnement des tubes dans le cadre de la purification des particules à patches et à Aline Rimoldi Ribeiro qui m'a appris à me servir de ces instruments. Je remercie également Heddy Soufari qui d'avoir réalisé gracieusement des caractérisations par cryo-microscopie électronique.

Je remercie tous les membres du groupe 5 à l'ICMCB et d'ACE au CRPP. Je voudrais en particulier remercier Véronique Many, qui m'a montré comment effectuer les premières étapes de synthèses lors de mon arrivée au laboratoire ainsi que Pierre-Étienne Rouet et Weiya Li avec qui j'ai beaucoup échangé sur le sujet. Je tiens aussi à remercier Alexandre Guyonnet, Maxime Bronchy et Clément Vecco-Garda pour les bons moments passés en dehors du laboratoire.

Je voudrais remercier tous les autres doctorants avec qui je me suis lié d'amitié. Je pense notamment au groupe du CRPP constitué de Mayte, Kévin, Antoine, Valentine, Hélène, Hartem, Maxime, Vincent, Pierre-Etienne, Florian, Nathassia et Rafael ainsi qu'aux amis du CENBG Jose, Esther, Pilar, Ricardo, Ana, Francesco, Florelle et Éva. Je tiens également à remercier le trio Étienne, Marie et Benoit pour leur bonne humeur et les bons moments partagés.

Je remercie également Alba pour sa présence au quotidien et ses encouragements dans les moments difficiles.

Je termine ces remerciements par ma famille et notamment mes parents qui m'ont toujours

aidé et si j'écris ces mots aujourd'hui, c'est en grande partie grâce à eux.

Table des matières

Liste des figures	vii
Liste des tableaux	xiii
Liste des abréviations	xv
Introduction générale	1
1 État de l’art sur la synthèse et l’auto-assemblage de molécules colloïdales	5
1.1 Introduction	7
1.2 Les molécules colloïdales	8
1.2.1 Formation de molécules colloïdales par assemblage contrôlé	8
1.2.1.1 Assemblage par confinement 3D	8
1.2.1.2 Assemblage par coalescence	10
1.2.1.3 Assemblage par interactions électrostatiques	11
1.2.1.4 Assemblage par liaisons chimiques	11
1.2.1.5 Assemblage par hybridation d’ADN	12
1.2.2 Formation de molécules colloïdales par séparation de phases lors de polymérisations en émulsion ensemencées	15
1.2.3 Formation de molécules colloïdales par nucléation-croissance contrôlée	17
1.3 Les particules à patches	18
1.3.1 Les particules à patches, un outil d’abord virtuel	20
1.3.2 Synthèse de particules à patches	22
1.3.2.1 Les particules monopatches	22
1.3.2.1.1 Dépôt en incidence rasante (GLAD)	22
1.3.2.1.2 Émulsion de Pickering	23
1.3.2.1.3 Séparation de phases	24
1.3.2.2 Les particules à deux patches et plus	25
1.3.3 Auto-assemblage de particules à patches	27
1.3.3.1 Assemblage par voies non-covalentes	27
1.3.3.1.1 Sous l’effet de forces de déplétion	27
1.3.3.1.2 Sous l’effet d’un champ magnétique	27
1.3.3.1.3 Par coordination	28

1.3.3.1.4	Par interactions hydrophobes	29
1.3.3.1.5	Par hybridation de l'ADN	34
1.3.3.2	Assemblages par voies covalentes	37
1.3.3.2.1	Par voie époxy-amine	37
1.3.3.2.2	Par réaction de Diels-Alder	37
1.3.3.2.3	Par substitution nucléophile	38
1.3.3.2.4	Par amination réductrice	39
1.3.3.2.5	Travaux menés à l'université de Bordeaux	40
1.4	Conclusion et objectifs de la présente étude	45
2	Synthèse et fonctionnalisation des briques élémentaires de silice	47
2.1	Les nanoparticules de silice à patches	50
2.1.1	Synthèse des nanoparticules de silice	50
2.1.2	Fonctionnalisation des germes de silice	53
2.1.3	Synthèse de tétrapodes silice/polystyrène par polymérisation en émulsion ensemencée	54
2.1.3.1	Généralités sur la polymérisation radicalaire en émulsion	54
2.1.3.2	Polymérisation en émulsion du styrène ensemencée par la silice : savoir-faire acquis par l'équipe préalablement à cette étude	55
2.1.3.3	Synthèse de tétrapodes silice/polystyrène selon la recette type	57
2.1.3.4	Comment minimiser les sous-produits de type « multisilices » ?	59
2.1.3.5	Validation du protocole optimisé	61
2.1.3.6	Influence de la réduction du taux de greffage de l'agent de couplage	62
2.1.4	Conversion des tétrapodes silice/polystyrène en particules de silice à quatre patches	63
2.1.4.1	Regrossissement du cœur de silice et dissolution des nodules de polystyrène	63
2.1.4.2	Fonctionnalisation des chaînes de polystyrène résiduelles au fond des cavités	65
2.1.5	Optimisation de la pureté des lots par le tri des morphologies	67
2.1.5.1	Introduction sur les techniques de centrifugation	67
2.1.5.1.1	Théorie	67
2.1.5.1.2	Aperçu des méthodes de centrifugation	68
2.1.5.2	Tri des morphologies par centrifugation en gradient de densité	77
2.1.5.2.1	Séparation par centrifugation sur gradient discontinu de glycérol	77

2.1.5.2.2	Séparation par ultracentrifugation sur gradient de sucrose	81
2.1.5.2.3	Étude de l'influence de la durée de centrifugation sur la séparation	85
2.1.5.2.4	Étude de l'influence de la concentration de la suspension sur la séparation	86
2.1.5.2.5	Conclusion sur la séparation de molécules colloïdales silice/polystyrène par centrifugation en gradient de densité	87
2.2	Les nanoparticules de silice à vocation satellite	88
2.2.1	Préparation de nanoparticules de taille calibrée	88
2.2.2	Amination des nanoparticules de silice sphériques	89
2.3	Conclusion	91
3	Auto-assemblage des briques élémentaires de silice	93
3.1	Introduction	95
3.2	Synthèse de molécules d'eau colloïdale par auto-assemblage des briques élémentaires	97
3.2.1	Assemblage préliminaire	97
3.2.2	Assemblages en proportion stœchiométrique	98
3.2.2.1	Influence de la concentration et du temps d'incubation sur la morphologie des structures formées et sur le taux de pontage	99
3.2.2.2	Utilisation de particules satellites monopatchs	107
3.3	Conclusion	113
4	Observation <i>in situ</i> de l'auto-assemblage de nanoparticules	115
4.1	Introduction	117
4.1.1	État de l'art : De la naissance de la microscopie électronique en transmission à l'observation <i>in situ</i> d'assemblage de nanoparticules	117
4.1.2	Observations préliminaires par microscopie électronique en voie liquide à l'université de Bordeaux	125
4.1.3	Conclusion sur l'état de l'art et présentation des enjeux des travaux de microscopie <i>in situ</i> menés à l'université de Bordeaux	126
4.1.4	Présentation d'un porte-objet dédié à la microscopie électronique en milieu liquide	127
4.2	Observation d'assemblages dynamiques par microscopie électronique en milieu liquide	128
4.2.1	Préparation et montage de la cellule	129
4.2.1.1	Choix des puces pour la cellule	129

4.2.1.2	Pré-traitement des puces	131
4.2.1.3	Montage de la cellule	132
4.2.1.4	Test sous vide : dernière vérification avant l'insertion dans le microscope	133
4.2.2	Observation d'assemblages de nanoparticules <i>in situ</i>	135
4.2.2.1	Observation de particules à patchs bivalentes	135
4.2.2.2	Observation de particules à patchs tétravalentes	140
4.2.3	Conclusion	147
Conclusions et perspectives		151
Bibliographie		157

Liste des figures

1	Schéma de la déconstruction d'un cluster silice/PS de type tétrapode et sa conversion en particule à patchs tétravalente.	4
1	État de l'art sur la synthèse et l'auto-assemblage de molécules colloïdales	5
1.1	Classification des molécules colloïdales	9
1.2	Formation de molécules colloïdales composés de microparticules de polystyrène	10
1.3	Clichés de microscopie électronique à balayage (MEB) de molécules colloïdales de polystyrène obtenues par coalescence	11
1.4	Assemblage de particules d'or par utilisation de polyphénylacétylènes	12
1.5	Structure et appariement des paires de bases de l'ADN	13
1.6	Assemblage guidé par nanocages d'ADN	14
1.7	Impression moléculaire de brins d'ADN en surface et auto-assemblage de nanoparticules d'or par hybridation des brins d'ADN	15
1.8	Molécules colloïdales de types AX_2E_2 et AX_3E obtenues par séparation de phases	16
1.9	Procédé de synthèse de multipodes silice/polystyrène par polymérisation en émulsion ensemencée	17
1.10	Assemblage de particules colloïdales en structures $MgCu_2$	18
1.11	Stratégie de greffage de brins d'ADN à haute densité	19
1.12	Différents types de patchs existants	20
1.13	Simulations sur les particules à quatre patchs	20
1.14	Simulations sur les particules à deux et trois patchs	21
1.15	Contrôle de l'auto-assemblage par le contrôle de la structuration de surface des particules à patchs	21
1.16	Technique de dépôt en incidence rasante	22
1.17	Synthèse de particules asymétriques par émulsion de Pickering	24
1.18	Synthèse de particules à patch cavitaire	24
1.19	Synthèse de particules à patchs nodulaires et cavitaires à partir de clusters de géométrie contrôlée	25
1.20	Synthèse de particules à patchs selon un processus de fusion colloïdale	26
1.21	Conversion des molécules colloïdales en particules à patchs cavitaires	27
1.22	Assemblage de type clé-serrure induit par des forces de déplétion	28

1.23	Synthèse et assemblage de particules magnétiques monopatches	28
1.24	Assemblage par coordination d'un complexe de palladium	29
1.25	Assemblages de nanocubes d'argent par interactions hydrophobes	30
1.26	Assemblage hydrophobe de nanobâtonnets d'or	30
1.27	Assemblage hydrophobe de particules triblocs	31
1.28	Assemblage de particules à patches hexagrammes	32
1.29	Assemblage de particules silice/polystyrène par interaction hydrophobe . . .	33
1.30	Assemblage directionnel et spécifique entre des particules à patches fonctionnalisées avec des brins d'ADN complémentaires	34
1.31	Fonctionnalisation, caractérisation et assemblage de particules à patches par hybridation de brins d'ADN	35
1.32	Assemblages à partir d'un assortiment de nanoparticules encadrées d'un origami ADN	36
1.33	Assemblage de nanoparticules par voie époxy-amine	37
1.34	Assemblage de nanoparticules par réaction de Diels-Adler	38
1.35	Assemblage de particules par réaction de substitution nucléophile	39
1.36	Assemblage par amination réductrice	40
1.37	Assemblage de nanoparticules par voie base de Schiff	41
1.38	Interaction hydrophobe fossette-fossette	41
1.39	Assemblages de nanoparticules par chimie click	42
1.40	Formation de molécules colloïdales par assemblage de nanoparticules à patches via une réaction d'amidation	44
2	Synthèse et fonctionnalisation de nanoparticules de silice	47
2.1	Schéma général d'élaboration des briques élémentaires	49
2.2	Synthèse des pré-germes	51
2.3	Clichés MET et histogramme de distribution de taille de nanoparticules de silice	52
2.4	Fonctionnalisation des nanoparticules de silice	53
2.5	Modèle de Thill	57
2.6	Cliché MET du lot de multipodes silice/PS n°2	59
2.7	Possibilités de greffage de l'agent de couplage en surface du germe et pontage entre deux germes	60
2.8	Clichés MET de multipodes synthétisés à partir de germes fonctionnalisés à différents taux de greffage	63
2.9	Conversion des particules à cœur regrossi en particules à patches cavitaires .	65
2.10	Chlorométhylation du PS	65
2.11	Test colorimétrique à la NBP	66
2.12	Forces agissant sur un objet lors d'une centrifugation	67

2.13	Principe de la centrifugation différentielle	69
2.14	Principe de la centrifugation « <i>rate-zonale</i> »	70
2.15	Séparation de molécules colloïdales et de particules à patchs par centrifugation en gradient de densité zonale	71
2.16	Séparation de particules par centrifugation en gradient de densité zonale	72
2.17	Principe de la centrifugation isopycnique	73
2.18	Séparation de SWNTs et de DWNTs par centrifugation en gradient de densité isopycnique	74
2.19	Évolution de la structure de la micelle autour des tubes en fonction des différents environnements de co-tensioactifs	74
2.20	Schéma d'un <i>Gradient mixer</i>	76
2.21	Densités calculées des bipodes, tripodes et tétrapodes avant et après recroissance du cœur de silice	78
2.22	Centrifugation sur gradient de densité de glycérol discontinu 20-100 % des molécules colloïdales silice/PS à cœur regressi	79
2.23	Centrifugation sur gradient de densité de glycérol discontinu 30-80 % des molécules colloïdales silice/PS à cœur regressi	80
2.24	Centrifugation sur gradient de densité de glycérol discontinu 48-90 % des molécules colloïdales silice/PS à cœur regressi	82
2.25	Centrifugation sur gradient de densité de sucrose continu 20-60 % des clusters silice/PS à cœur regressi	84
2.26	Comparaison de l'évolution de la composition d'un lot de tétrapodes silice/PS après séparation par centrifugation en gradient de densité sur gradient de sucrose continu ou sur gradient de glycérol discontinu	85
2.27	Influence du temps sur la séparation d'un lot de tétrapodes silice/PS par centrifugation sur gradient de densité de sucrose	86
2.28	Influence de la concentration sur la séparation d'un lot de tétrapodes silice/PS par centrifugation sur gradient de densité de sucrose	87
2.29	Cliché MET et histogramme de distribution de taille de nanoparticules de silice	89
2.30	Test de Kaiser	90
2.31	Potentiel zêta en fonction du pH pour les particules de silice satellites	91
3	Auto-assemblage des briques élémentaires de silice	93
3.1	Clichés MET de molécules colloïdales de type AX ₂ E ₂ et AX ₃ E	95
3.2	Simplification de la chimie d'assemblage	96
3.3	Schéma de l'assemblage entre une particule de silice tétravalente et deux particules de silice de 100 nm conduisant à l'obtention de molécules colloïdales de type AX ₂ E ₂	97
3.4	Assemblage préliminaire	98

3.5	Clichés MET et analyse statistique d'un lot de molécules colloïdales de type AX_2E_2	99
3.6	Clichés MET de l'assemblage de particules à patchs et de particules satellites pour des temps d'incubation de 14, 24 et 72 h et des concentrations de la suspension de particules satellites de $C0 = 1,16 \times 10^{16}$, $C0/300 = 3,9 \times 10^{13}$ ou $C0/500 = 2,32 \times 10^{13}$ particules/L.	101
3.7	Tri des molécules colloïdales par centrifugation en gradient de densité	103
3.8	CryoEM d'un assemblage de particules à patchs et de particules satellites	106
3.9	(a) Cliché MEB de la monocouche de particule de silice; (b) cliché MET de ces particules après dépôt d'or et traitement ultrasons pour les décrocher du substrat. Barres d'échelle : (a) $1,2 \mu\text{m}$; (b) 200 nm	108
3.10	Schéma illustrant la synthèse de particules monopatchs via l'utilisation d'une émulsion de Pickering	108
3.11	Vérification de la fonctionnalisation des particules monopatchs	109
3.12	Assemblage entre des particules de silice tétravalentes et des particules satellites monopatchs obtenues par émulsion de Pickering	110
3.13	Procédé d'élaboration de particules satellites monopatchs	110
3.14	Particules monopatchs avant et après dissolution du PS	111
3.15	Assemblage entre des particules à patchs et des particules satellites monopatchs	112
4	Observation <i>in situ</i> de l'auto-assemblage de nanoparticules	115
4.1	Cliché MET en voie liquide d'une bactérie coliforme	118
4.2	Réduction de l'épaisseur de liquide pour l'observation de nanoparticules de palladium	120
4.3	Impact de l'épaisseur de liquide sur les observations en MET en voie liquide	121
4.4	Cinétique et mécanismes de croissance de nanoparticules de platine	122
4.5	Nombre de publications sur la microscopie électronique en transmission en voie liquide par année	123
4.6	Observation <i>in situ</i> d'une structure ordonnée	123
4.7	Influence de la concentration en oleylamine sur l'assemblage de particules de fer platine	124
4.8	Images MET en champ clair en voie liquide de l'assemblage de particules d'or en présence de CTA	125
4.9	Observation de bipyramides d'or en milieu liquide	126
4.10	Photographies du porte-objet <i>Poseidon select</i>	128
4.11	Schéma de la paire de puces constituant la cellule	129
4.12	Variation d'épaisseur de la cellule en fonction de la dimension de la fenêtre	130
4.13	Les différentes géométries d'espaceur	131

4.14	Configurations possibles pour la cellule	132
4.15	Test de vide	134
4.16	Cliché MET en champ clair en voie liquide de particules à patches bivalentes dans le THF après 17 jours d'incubation	136
4.17	Phénomène de dégradation sous faisceau électronique en milieu liquide d'une particule de silice bivalente	137
4.18	Images MET en champ clair en voie liquide montrant l'évolution de particules contenues dans un volume de contraste sombre	138
4.19	Évolution de particules bivalentes sous faisceau électronique	139
4.20	Mouvements de particules bivalentes et du front liquide	139
4.21	Déplacement et évolution de nanoparticules d'or sous faisceau électronique .	141
4.22	Bipyramide d'or en interaction avec une particule de silice à patches tétravalente	142
4.23	Analyse EDX de particules de silice à patches tétravalentes et de bipyramides d'or	143
4.24	Image MET en champ clair en voie liquide de particules à patches dont aucune fossette n'est occupée par un satellite	145
4.25	Parcours d'une particule à quatre patches roulant sur la membrane	145
4.26	Cliché MET en champ clair en voie liquide d'une molécule colloïdale de type AXE ₃ en suspension dans l'éthanol	146
4.27	Déplacement d'une nanoparticule d'or	147
4.28	Schéma de la stratégie de synthèse d'une molécule colloïdale de polyéthylène à partir de particules satellites sphériques isotropes (en jaune) liant les molécules colloïdales H ₂ O (-CH ₂ -) entre elles via leurs fossettes non occupées.	155

Liste des tableaux

1	État de l'art sur la synthèse et l'auto-assemblage de molécules colloïdales	5
1.1	Morphologie des molécules colloïdales obtenues selon la chimie d'assemblage employée	43
2	Synthèse et fonctionnalisation de nanoparticules de silice	47
2.1	Diamètre et indice de polydispersité en taille d'un lot de pré-germes et d'un lot de particules de silice calibrées en taille	51
2.2	Composition de lots de tétrapodes silice/PS synthétisés à partir de germes fonctionnalisés selon la recette type	58
2.3	Analyses élémentaires des germes de silice	61
2.4	Composition de lots de tétrapodes silice/PS synthétisés à partir de germes fonctionnalisés selon le protocole optimisé	62
2.5	Composition de lots de multipodes silice/PS obtenus à partir de germes de silice synthétisés selon le protocole optimisé	63
2.6	Diamètres (en nm) et densités moyens de tétrapodes et tripodes silice/PS collectés dans deux fractions distinctes.	85
3	Auto-assemblage des briques élémentaires de silice	93
3.1	Évolution de la composition morphologique obtenue après 14, 24 ou 72 h d'incubation et pour des concentrations en particules satellites de $1,6 \times 10^{16}$ particules/L (C0), $3,9 \times 10^{13}$ particules/L (C0/300) et $2,32 \times 10^{13}$ particules/L (C0/500).	100
4	Observation <i>in situ</i> de l'auto-assemblage de nanoparticules	115
4.1	Récapitulatif des expériences réalisées ayant abouti à une observation	149

Liste des abréviations

AIBN	Azobisisobutyronitrile
ADN	Acide désoxyribonucléique
APTES	(3-Aminopropyl)triéthoxysilane
ARN	Acide ribonucléique
CFC	Cubique face centré
CMC	Concentration micellaire critique
CryoEM	Cryo-microscopie électronique en transmission
CTAB	Bromure de cetyltriméthylammonium
DBCO	Dibenzocyclooctyne
DCC	Dicyclohexylcarbodiimide
DLS	Diffusion dynamique de la lumière
DMF	Diméthylformamide
DOC	Déoxycholate de sodium
DWNTs	Nanotubes de carbone double-feuillet
EDC	1-Éthyl-3-(3-diméthylaminopropyl)carbodiimide
EDX	Analyse dispersive en énergie
HC	Hexagonal compact
IR	Infrarouge
ME	Microscopie électronique
MET	Microscopie électronique en transmission
MEB	Microscopie électronique à balayage
MPS	Méthacryloxypropyltriméthoxysilane
MMS	Méthacryloxyméthyltriéthoxysilane
NBP	4-(4-Nitrobenzyl)pyridine
NP30	Éther de nonylphényle et de poly(éthylèneglycol)
PCMS	Polychlorométhylstyrène
PDMS	Polydiméthylsiloxane
PMMA	Poly(méthacrylate de méthyle)
PS	Polystyrène
SDS	Dodécylsulfate de sodium
SPIONs	Nanoparticules d'oxyde de fer superparamagnétiques
STEM	Microscopie électronique en transmission à balayage
SWNTs	Nanotubes de carbone simple-feuillet
TEA	Triéthylamine
TEOS	Orthosilicate de tétraéthyle
THF	Tétrahydrofurane

UV	Ultraviolet
VSEPR	Répulsion des paires électroniques de la couche de valence

Introduction générale

L'assemblage de particules colloïdale fait l'objet d'études depuis près de 30 ans dans le but de fabriquer de nouveaux matériaux fonctionnels aux propriétés remarquables, notamment dans le domaine de l'optique.

Cette étude s'inscrit dans le cadre d'un projet financé par l'Agence Nationale pour la Recherche intitulé « *Expanding the regular atomic world at the colloidal level using valence-endowed particles* » (ENLARGER) dont le but est de transposer la notion de valence bien connue à l'échelle atomique à des particules de taille submicrométrique. Depuis quelques décennies, les particules colloïdales sphériques ont servi de modèles de type sphère dure pour mimer les atomes et dans ce contexte elles peuvent être appelées « atomes colloïdaux ». L'assemblage de telles particules isotropes ne conduit cependant qu'à un nombre limité de « cristaux colloïdaux ». Pour obtenir des structures plus complexes, il semble alors crucial d'apporter à ces particules la notion de valence afin qu'elles puissent établir des interactions directionnelles et en nombre contrôlé. Cela peut être réalisé en structurant leur surface avec des discontinuités chimiques ou topologiques connues sous le nom de patches.

Les travaux menés en collaboration entre l'Institut de Chimie de la Matière Condensée de Bordeaux (ICMCB) et le Centre de Recherche Paul Pascal (CRPP) depuis maintenant vingt ans ont abouti à des protocoles de synthèse de clusters silice/polystyrène où une nanoparticule de silice centrale est entourée d'un nombre contrôlé de nodules de polystyrène (PS). La stratégie de fabrication des particules à patches consiste à déconstruire ces clusters imitant les molécules HCl, BeCl₂, BF₃ et CH₄ afin de respectivement créer des particules de silice mono, bi, tri et tétravalentes. En effet, la particule centrale de silice peut aisément être regrossie en utilisant les nodules de PS comme masques qui deviendront des cavités après dissolution par un solvant (figure 1). Ce procédé permet donc d'obtenir des particules dont le nombre et la position des cavités (ou patches) correspondent à ceux des nodules de PS initialement présents. De plus, la présence de chaînes de PS résiduelles au fond des cavités permet d'auto-assembler les particules. Différentes voies ont été explorées. La voie hydrophobe a constitué le sujet d'étude de Weiya Li (2019) alors que l'assemblage par voie covalente a été initié par Cyril Chomette (2015) puis étudié plus en détails par Pierre-Étienne Rouet (2018). Dans le dernier cas, une fonctionnalisation sélective des chaînes de PS est utilisée pour promouvoir l'auto-assemblage des particules. Quelle que soit la voie d'assemblage étudiée, un des principaux freins à l'obtention de structures étendues et régulières est la pureté morphologique des lots de clusters silice/PS précurseurs.

Les travaux décrits dans ce manuscrit s'inscrivent à la fois parallèlement et dans le prolongement des travaux de thèse de Pierre-Étienne Rouet. Un intérêt particulier a ici été porté aux particules à patches tétravalentes. Les objectifs étaient donc d'améliorer la pureté morphologique des lots de clusters silice/PS tétrapodiques, puis de réaliser l'assemblage des particules à patches issues de ces dernières dans le but de former des molécules colloïdales c'est-à-dire des clusters de quelques particules imitant des molécules convention-

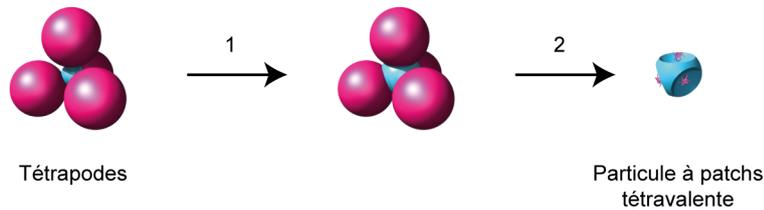


FIGURE 1 – Schéma de la déconstruction d'un cluster silice/PS de type tétrapode et sa conversion en particule à patchs tétravalente. (1) Recroissance du cœur de silice ; (2) Dissolution des nodules de PS.

nelles simples. Une partie de ce travail a également été consacrée au développement de la microscopie électronique en transmission (MET) en voie liquide dans le but de réaliser l'observation *in situ* de l'assemblage des particules à patchs.

Ce manuscrit s'articule en quatre chapitres. Le premier est un état de l'art décrivant les développements en matière de synthèse et d'assemblage des particules colloïdales à patchs. Le second chapitre traite de la synthèse et de la fonctionnalisation des deux types de briques élémentaires de silice nécessaires à l'assemblage : les particules à quatre patchs cavitaires et les particules sphériques isotropes, appelées satellites. Ce chapitre s'intéresse également à la purification morphologique des clusters silice/PS par centrifugation en gradient de densité. Le troisième chapitre concerne l'optimisation de l'assemblage covalent des briques élémentaires dans le but de fabriquer des molécules colloïdales imitant la géométrie des molécules d'eau. Enfin, le quatrième chapitre présente les travaux de développement de la MET en voie liquide dans l'objectif à moyen terme est d'observer l'assemblage dynamique des particules à patchs et des particules satellites.

Chapitre 1

État de l'art sur la synthèse et l'auto-assemblage de molécules colloïdales

1.1 Introduction

Les particules colloïdales les plus communément rencontrées sont sphériques en raison de la minimisation d'énergie de surface lors de leur formation. Au cours des dernières décennies, ces particules ont servi de modèles de sphères dures pour imiter les atomes et sont par conséquent souvent nommées atomes colloïdaux dans ce contexte.¹ Des développements majeurs ont été réalisés grâce à cette analogie. De par leur taille mésoscopique, les vitesses de déplacement des atomes colloïdaux sont fortement réduites comparées à celles des systèmes atomiques et permettent ainsi de suivre en détail la formation d'un germe cristallin. Par exemple, l'auto-assemblage en milieu aqueux de particules isotropes monodisperses aida à comprendre les mécanismes de cristallisation et de transition de phase.^{2,3} La cristallisation des atomes colloïdaux en cristaux colloïdaux est un procédé purement entropique où l'augmentation de la concentration permet de passer d'un état désordonné à un état ordonné. Les structures cubiques faces centrées (CFC) et hexagonal compact (HC) qui sont les plus compactes sont favorisées thermodynamiquement. Cependant ce procédé est long en raison de la stabilité colloïdale des particules et de la forte viscosité des suspensions concentrées. Ainsi, la cristallisation d'éléments métalliques peut facilement être répliquée par auto-assemblage d'atomes colloïdaux notamment pour mettre en évidence la formation de défauts tels que les joints de grain, les défauts d'empilement ou encore les domaines polycristallins.

Des cristaux colloïdaux plus complexes furent obtenus en travaillant avec des mélanges binaires d'atomes colloïdaux.⁴ Il est par exemple possible de jouer sur les charges de surface des particules de charges opposées ou sur leur différence de taille pour obtenir des cristaux colloïdaux avec des symétries AB, AB₂, AB₃, AB₄, AB₅, AB₆ et AB₁₃, structures analogues aux cristaux ioniques NaCl, AlB₂, MgZn₂, CaB₆ ou NaZn₁₃.⁵

En revanche, les cristaux covalents, constitués exclusivement de liaisons covalentes tels le diamant, le carbure de silicium, etc, restent pour le moment inimitables à partir de particules colloïdales sphériques. Les principaux verrous empêchant l'obtention de telles structures sont le faible nombre de coordination et la directionnalité des interactions entre atomes colloïdaux. La structure diamant possède un facteur de compacité de 0,34 contre 0,74 pour une structure CFC, et est constituée d'atomes de valence 4 (hybridation sp³ de l'atome de carbone). Pour les imiter à l'échelle colloïdale, une solution serait que les atomes colloïdaux soient encodés avec des instructions pour fixer le nombre d'interactions et leurs directions. Pour cela la surface des atomes colloïdaux doit être décorée de « patches collants » ou de discontinuités topologiques telles que des cavités pour que les atomes colloïdaux voisins puissent s'y ancrer comme cela a pu être démontré lors de simulations.^{6,7,8} Ces deux types de patches ont été conceptualisés respectivement comme patches enthalpiques et patches entropiques.

1.2 Les molécules colloïdales

L'assemblage de particules à la fois isotropes et isométriques ne conduit qu'à quelques structures simples. Depuis quelques décennies, il existe un engouement autour de la synthèse de cristaux colloïdaux complexes supposés présenter des propriétés exceptionnelles, notamment dans le domaine de l'optique.⁹ En effet, Soukoulis et coll. rapportèrent au début des années 90 qu'une structure diamant obtenue à partir de particules colloïdales tétraédriques permettrait de fabriquer un cristal photonique à bande interdite complète.¹⁰ Le terme « molécule colloïdale » fut évoqué pour la première fois par van Blaaderen en 2003 pour décrire des clusters colloïdaux robustes formés par l'assemblage de particules sphériques assimilées à des atomes.¹ Ces molécules colloïdales devraient permettre l'obtention de structures plus complexes dont la morphologie est programmée. Une classification de ces molécules colloïdales fut proposée par Duguet *et al.* en se basant sur le formalisme de Gillespie dérivé du modèle VSEPR¹¹ (figure 1.1).

Dans cette revue, les stratégies de synthèse de molécules colloïdales sont classées en trois catégories : par assemblage contrôlé de particules préformées, par séparation de phases et par nucléation-croissance.

1.2.1 Formation de molécules colloïdales par assemblage contrôlé

Cette voie de fabrication repose sur la formation contrôlée de clusters via des forces capillaires, de van der Waals, de déplétion mais également via des interactions électrostatiques ou encore par coalescence, liaisons chimiques ou confinement géométrique.¹²

1.2.1.1 Assemblage par confinement 3D

L'article fondateur de van Blaaderen¹ déjà évoqué fut inspiré par les travaux de Manoharan *et al.* dans lesquels des microsphères de PS sont confinées au sein de gouttelettes d'une émulsion d'huile dans l'eau.¹³ L'élimination contrôlée du liquide constituant ces gouttelettes génère des forces rapprochant les particules entre elles. Une fois les sphères en contact les unes avec les autres à la surface de la gouttelette, éliminer davantage d'huile force la gouttelette à se déformer, produisant ainsi des forces capillaires puis éventuellement un réarrangement rapide des particules en clusters selon le principe de la minimisation de second moment. Lorsque l'huile est quasiment entièrement éliminée, les forces de van der Waals sont dominantes, collant les particules entre elles (figure 1.2).

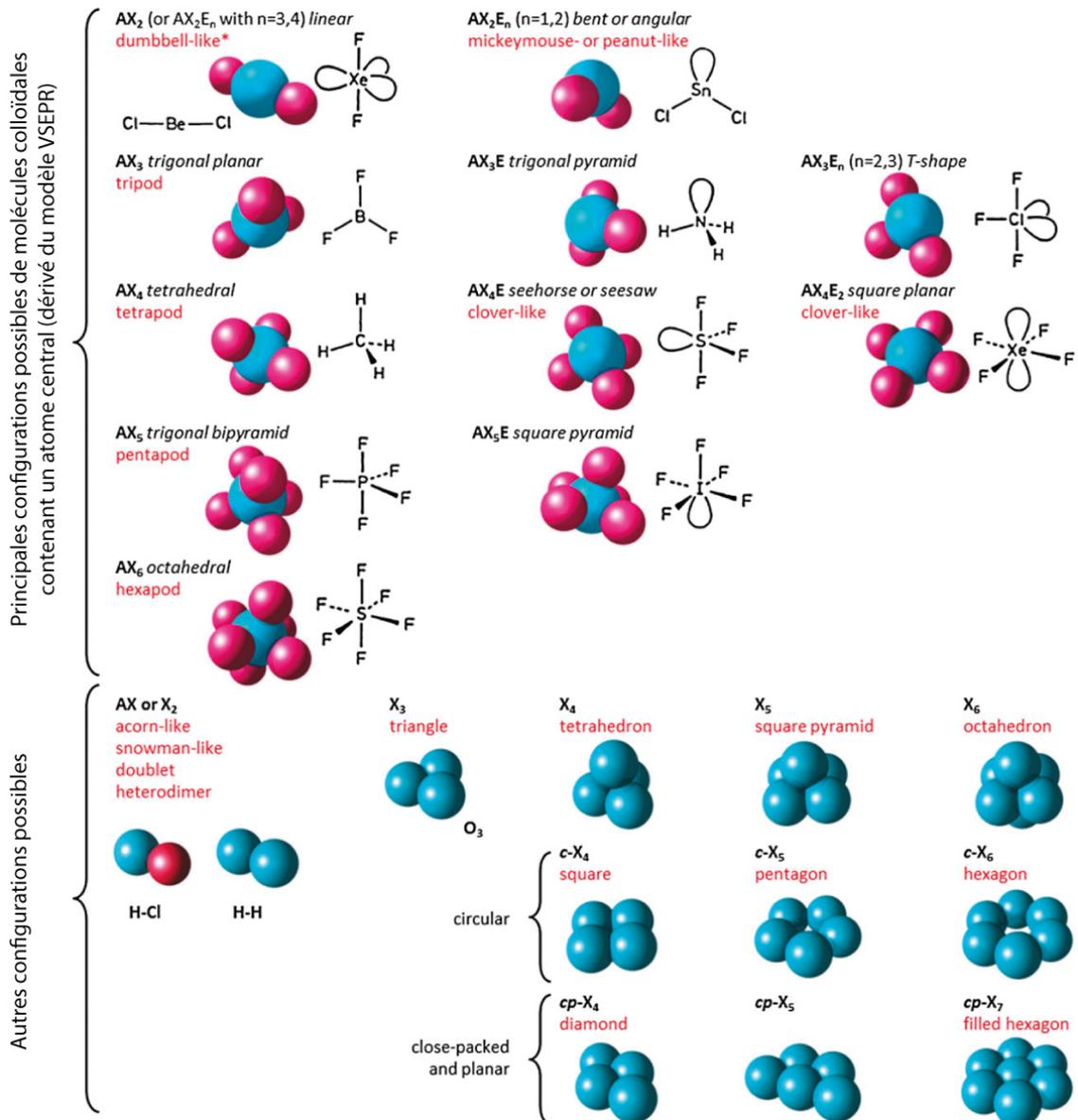


FIGURE 1.1 – Classification des molécules colloïdales proposée par Duguet et al.¹¹

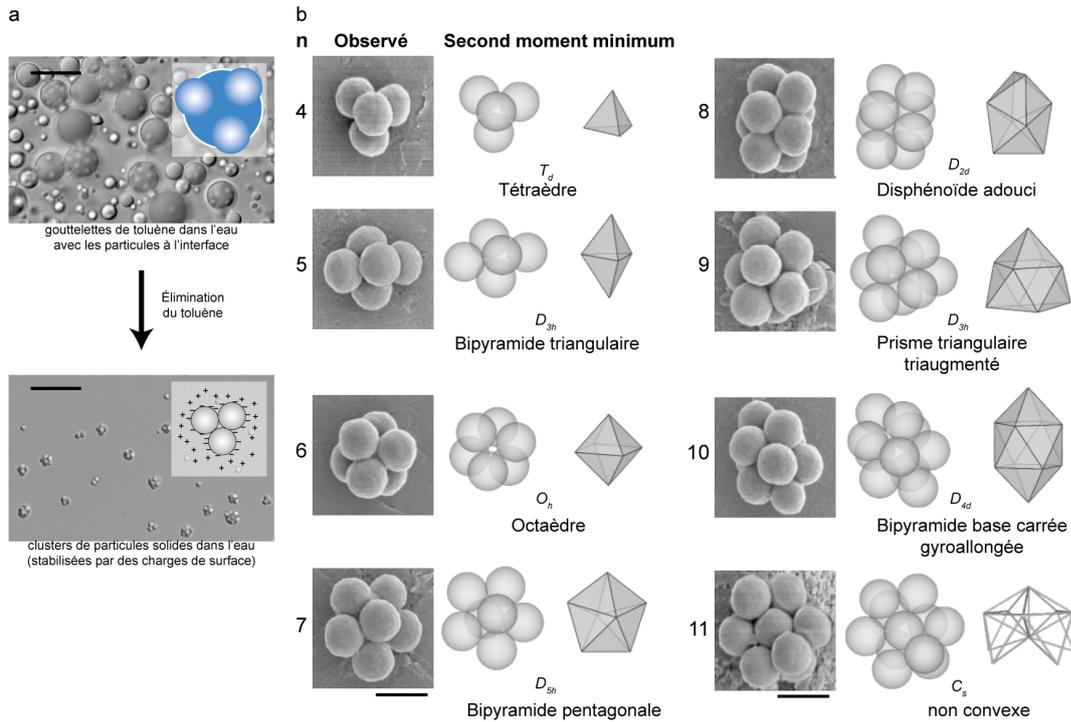


FIGURE 1.2 – Formation de clusters composés de microparticules de polystyrène. (a) Clichés de microscopie optique et schémas (encarts) du processus d'arrangement des microsphères de PS ; (b) Clichés MEB et schémas des différentes molécules colloïdales obtenues.¹³ Barres d'échelle : (a) 10 μm ; (b) 1 μm .

Cependant, la polydispersité en taille des gouttelettes d'huile engendre la formation d'une multitude de géométries (tétraèdres, octaèdres, etc) du fait de la présence d'un nombre variable de microsphères par gouttelette. Ces morphologies ont néanmoins pu être triées par centrifugation en gradient de densité. La distribution du nombre de sphères par gouttelettes peut être rendue beaucoup plus étroite en contrôlant et en diminuant le diamètre de ces dernières.¹⁴ Cette méthode de formation de molécules colloïdales fut ensuite adaptée aux particules de poly(méthacrylate de méthyle) (PMMA) et de silice^{15,16} avant que le procédé ne soit étudié quelques années plus tard par simulations Monte Carlo pour donner des résultats en adéquation avec les résultats expérimentaux.¹⁷

1.2.1.2 Assemblage par coalescence

Kraft *et al.* décrivent une autre manière de former des molécules colloïdales via l'assemblage des sous-unités entre elles.¹⁸ En chauffant des particules de PS réticulé gonflées de monomère, il est possible de faire croître à leur surface une protrusion liquide. Après agitation pendant plusieurs jours, des molécules colloïdales sont obtenues par coalescence des protrusions. Cette fusion est favorisée par la diminution d'énergie de surface entre les protrusions et la phase aqueuse. Finalement, une étape de polymérisation permet de solidifier la partie liquide centrale pour donner des molécules colloïdales allant des morphologies

AX à AX₉ (figure 1.3a). La forme des particules peut être modulée en jouant sur la taille des germes, l'hydrophobie de leur surface, et le taux de gonflement. À haut taux de gonflement, des protrusions plus grandes que le germe initial sont obtenues. L'assemblage de tels objets conduit à des molécules colloïdales imitant les molécules d'eau ou d'ammoniac (figure 1.3b,c).¹⁹

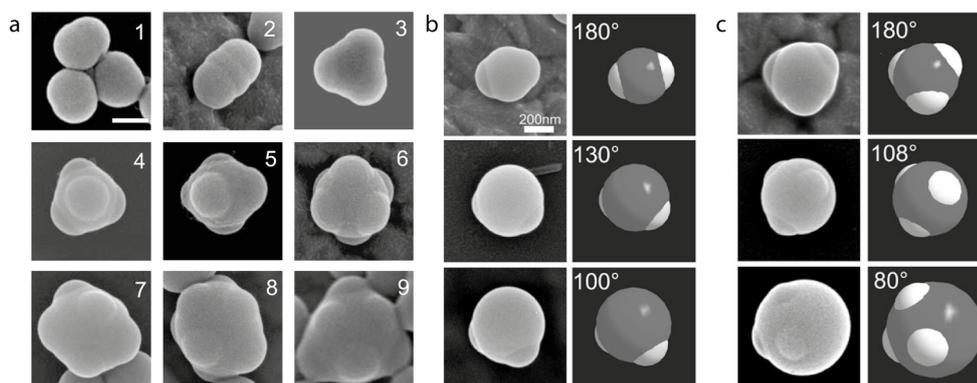


FIGURE 1.3 – Clichés MEB de molécules colloïdales de polystyrène obtenues par coalescence. (a) Clichés MEB de molécules colloïdales de morphologies de types AX à AX₉¹⁸; (b) clichés MEB de dimères pouvant imiter la molécule d'eau et (c) de trimères pouvant imiter la molécule d'ammoniac.¹⁹ Barres d'échelle : 200 nm.

1.2.1.3 Assemblage par interactions électrostatiques

Des molécules colloïdales furent obtenues à partir de particules anisotropiquement fonctionnalisées par « lithographie particulaire ».²⁰ Cette technique consiste dans un premier temps à laisser des particules de PS chargées positivement adhérer à un substrat chargé négativement. Ensuite, des macromolécules de PS sulfonate sont ajoutées pour recouvrir la particule excepté dans la région « lithographiée » proche du substrat où le polyelectrolyte ne peut pas accéder. Le mélange de ces particules ayant un patch positif avec des particules chargées négativement conduit après 24 h à la formation d'hétérodoubles avec un rendement de 40%. Cette méthode permet par ailleurs de synthétiser des trimères analogues à la molécule d'eau, c'est-à-dire avec une morphologie AX₂E₂ en décorant la surface des sphères de deux patches orientés à environ 90 degrés par rapport au centre.²¹

1.2.1.4 Assemblage par liaisons chimiques

L'utilisation de molécules est également une manière d'assembler des particules entre elles afin de former des molécules colloïdales. Ces molécules peuvent être aussi bien des agents de couplage conventionnels²² que des biomolécules complexes type oligonucléotides²³ dont le cas est traité dans la partie 1.2.1.5.

Des nanoparticules d'or fonctionnalisées par des triphénylphosphines peuvent par exemple être assemblées par liaisons covalentes à l'aide de dithiols ou par liaisons ioniques avec

des diamines.²² L'utilisation de molécules synthétiques possédant un nombre précis de fonctions capables de réagir avec une particule permet d'en contrôler le nombre au sein d'un cluster. Ainsi, Feldheim et coll. utilisèrent des polyphénylacétylènes ayant deux à quatre groupements thioacétyle pour former des clusters de nanoparticules d'or (figure 1.4).²⁴

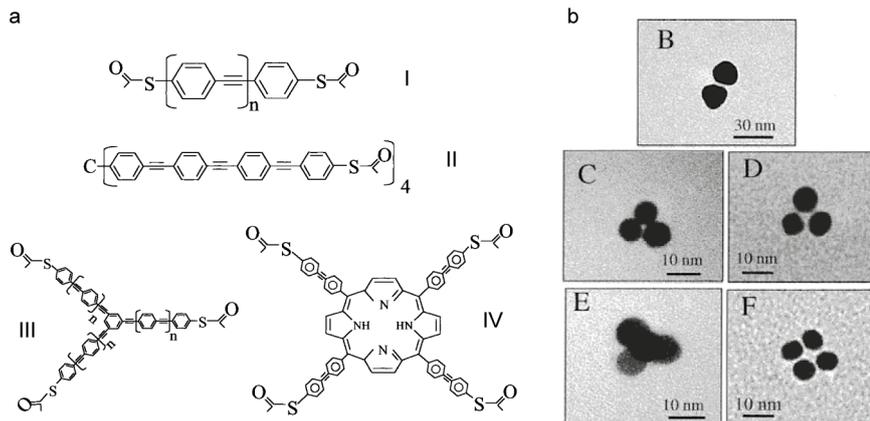


FIGURE 1.4 – Assemblage de particule d'or par utilisation de polyphénylacétylènes. (a) Formules chimiques des molécules utilisées pour ponter les particules d'or ; (b) clichés de microscopie électronique en transmission (MET) des clusters obtenus.²⁴

La morphologie du cluster dépend de la symétrie de la molécule utilisée. Des dimères, trimères ou tétramères furent obtenus. La distance entre les particules les constituant dépend de la taille de la molécule. Les tétramères peuvent ainsi être tétraédriques (X_4) ou carrés ($c-X_4$). Des purifications par chromatographie d'exclusion stérique ou par centrifugation permettent de collecter des fractions enrichies en une morphologie jusqu'à 60-70 %.

1.2.1.5 Assemblage par hybridation d'ADN

Une autre méthode d'assemblage consiste à utiliser le caractère « collant » des monobrin d'acide désoxyribonucléique (ADN). L'ADN est une macromolécule composée de nucléosides (une base nucléique liée à un désoxyribose) reliées entre elles par des groupements phosphate. Quatre bases nucléiques composent l'ADN : l'adénine (A), la cytosine (C), la guanine (G) et la thymine (T). Les bases nucléiques d'un brin d'ADN peuvent interagir avec les bases nucléiques d'un autre brin d'ADN à travers des liaisons hydrogène régissant l'appariement entre les paires de bases. Deux liaisons hydrogène appariement l'adénine et la thymine alors que trois liaisons hydrogènes lient la cytosine et la guanine (figure 1.5). Cet assemblage est réversible à partir d'une température appelée température de fusion qui est fonction de la longueur des chaînes mais également du pH, de la salinité ou encore des séquences de bases. La possibilité de contrôler indépendamment la spécificité et la force d'une liaison ainsi que sa température de fusion rend l'ADN un outil puissant et polyvalent pour la synthèse de briques élémentaires intelligentes programmées pour s'auto-assembler et donner une multitude de nouvelles structures complexes.

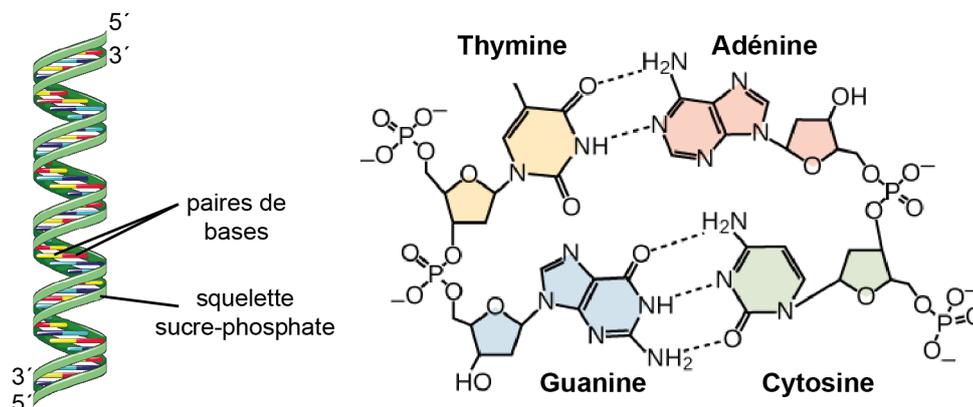


FIGURE 1.5 – Structure et appariement des paires de bases de l'ADN.

Comme démontrée dans les années 90 par les équipes de Alivisatos et de Mirkin, la formation de molécules colloïdales peut être contrôlée grâce à l'hybridation entre des brins d'ADN de séquences complémentaires ancrés à la surface des particules colloïdales mises en jeu.^{25,26,27,28}

Dans ce contexte, une des utilisations les plus intéressantes de l'ADN est basée sur les origamis ADN dont la structure consiste en un long plasmide simple brin plié par de multiples agrafes synthétiques de petite taille dans le but de lui donner la forme souhaitée. Cette haute modularité permet de programmer l'assemblage de particules colloïdales pour obtenir une grande diversité de morphologies. Gang et coll. rapportèrent la fabrication de molécules colloïdales de type AX_6 ou AX_4E_2 à partir de particules d'or isotropes dont les interactions directionnelles et spécifiques sont guidées par des origamis ADN.²⁹ Mao et coll. utilisèrent quant à eux des nanocages d'ADN pour enfermer des particules d'or et diriger l'assemblage vers des morphologies AX_4 avec un rendement de 67 % (figure 1.6a-c). Varier la forme de la cage permet de contrôler la géométrie de la molécule colloïdale fabriquée. Les auteurs purent ainsi obtenir des morphologies AX_6 de géométrie octaédrique ou prismatique trigonale (figure 1.6d-i). Des molécules colloïdales plus complexes telles que celle imitant l'éthane purent également être obtenues (figure 1.6j-l).³⁰

Une autre approche consiste à utiliser des particules asymétriques pour réaliser l'assemblage. Diverses méthodes apportant l'asymétrie ont été rapportées. Elles permettent de générer des interactions dirigées en nombre contrôlé. Sleiman et coll. proposèrent ainsi une méthode pour obtenir un auto-assemblage structuré reposant sur l'impression moléculaire.³¹ Quatre brins d'ADN de séquences uniques sont placés sur une nanostructure d'ADN servant de moule. L'extrémité de ces brins d'ADN dispose de deux cycles disulfides capables de créer des liaisons covalentes avec une particule d'or de 10 nm. L'augmentation de la température au-dessus de la température de fusion permet de désolidariser le moule de la particule d'or qui conserve alors les brins d'ADN à sa surface et devient asymétrique. L'ajout successif de particules d'or de 6 nm fonctionnalisées chacune par des brins complémentaires de l'un des brins présents sur la particule de 10 nm permet de confirmer

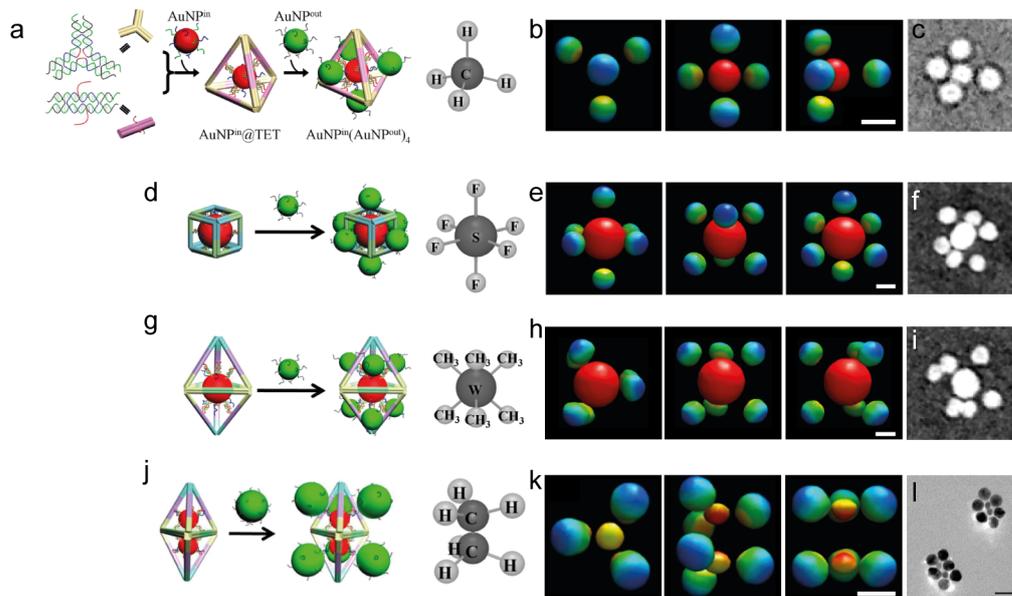


FIGURE 1.6 – Assemblage guidé par nanocage d'ADN. (a) Schéma du procédé de fabrication de la molécule colloïdale de type CH_4 ; (b) reconstruction 3D de la molécule colloïdale AX_4 par cryoEM et (c) cliché de cryoEM brut correspondant. (d, g) Schémas du procédé de fabrication respectif des molécules SF_6 et $W(CH_3)_2$ par cryoEM; (e, h) reconstruction 3D des molécules colloïdales SF_6 et $W(CH_3)_2$ respectivement; (f, i) clichés de cryoEM bruts correspondants; (j) Schéma du procédé de fabrication de la molécule colloïdale d'éthane; (k) reconstruction 3D de la molécule d'éthane par cryoEM; (l) cliché de cryoEM brut correspondant.³⁰ Barres d'échelle : (b, e, h) 10 nm; (k) 15 nm.

l'asymétrie de cette particule (figure 1.7a). Les auteurs observèrent ces assemblages par MET dont le rendement diminue au fur et à mesure qu'un satellite supplémentaire est couplé (figure 1.7b). Les objets indésirables formés sont principalement issus du pontage de deux particules asymétriques par une particule satellite. Les auteurs réalisèrent également l'assemblage de particules satellites avec des longueurs de chaîne ADN différentes afin de discriminer les particules plus facilement (figure 1.7c).

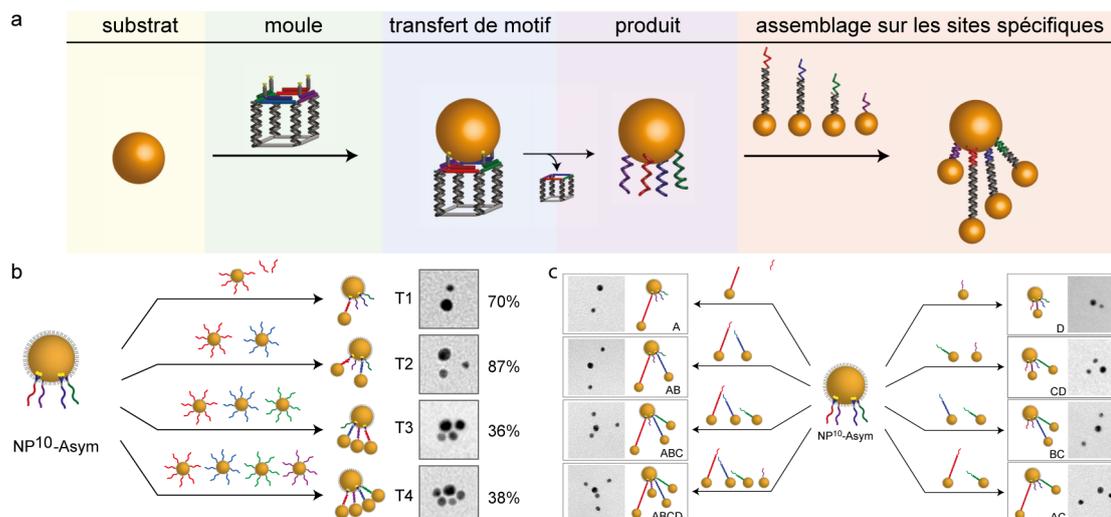


FIGURE 1.7 – Impression moléculaire de brins d'ADN en surface et auto-assemblage de nanoparticules d'or par hybridation des brins d'ADN. (a) Procédé de transfert de brins d'ADN d'un échafaudage ADN 3D à une nanoparticule d'or; (b) hybridation spécifique de satellites fonctionnalisés avec les brins complémentaires aux quatre présents sur NP¹⁰-Asym; (c) couplage de satellites avec des brins complémentaires de longueurs différentes.³¹

1.2.2 Formation de molécules colloïdales par séparation de phases lors de polymérisations en émulsion ensemencées

La polymérisation en émulsion est un procédé en milieu hétérogène permettant la synthèse de dispersions colloïdales stables de particules polymères dans l'eau appelées latex.³² Ces dernières font généralement entre 50 et 800 nm. L'une des caractéristiques importantes de la polymérisation en émulsion est le contrôle de la morphologie des particules. Des objets cœur-écorce ainsi que d'autres morphologies peuvent être fabriqués par additions successives de différents monomères. Des morphologies haltères peuvent être obtenues grâce au phénomène de séparation de phases. L'anisotropie est induite par la formation d'une protrusion engendrée par l'ajout puis la polymérisation d'un second monomère immiscible avec la matrice polymère réticulée. Afin de prédire la morphologie finale des particules, des théories prenant en compte les aspects géométrique, thermodynamique et cinétique furent proposées.^{33,34} Le procédé de séparation de phases est favorisé par l'augmentation du taux de gonflement, le taux de réticulation, la taille du germe, la température ou la concentration de l'agent réticulant dans le mélange de monomères gonflants. Dans certains cas, lorsque le germe de latex est plus polaire que le second polymère et quand la T_g du second polymère est inférieure à la température de polymérisation, plusieurs protrusions peuvent être formées simultanément. Cependant leur nombre, leur taille et leurs positions à la surface du germe ne sont pas contrôlées. Le procédé de polymérisation en émulsion fut récemment revisité de manière à préparer des microparticules latex plus complexes composées de polymères différents et/ou avec des formes plus sophistiquées.^{35,36,37,38}

En effet, Kim *et al.* prirent avantage de la différence de taux de réticulation entre différents lobes pour contrer les effets de tension de surface et ainsi obtenir une directionnalité reproductible lors de la séparation de phases.³⁵ À partir de dimères dont chaque nodule de PS est réticulé à un taux contrôlé différent, des trimères linéaires ou triangulaires peuvent être formés. Le troisième nodule pousse soit du côté du nodule le moins réticulé, soit de manière perpendiculaire aux deux nodules s'ils présentent un taux de réticulation identique. Des tétramères peuvent aussi être formés selon le même protocole que les trimères mais avec 20 % d'agent réticulant en plus.

À partir de particules de PS réticulées, Park *et al.* réalisèrent la synthèse de molécules colloïdales présentant la symétrie AX_2E_2 des molécules d'eau (figure 1.8a-d).³⁶ En faisant varier le taux de gonflement lors de la quatrième et dernière étape, ils furent capables de modifier l'angle entre les deux lobes externes.

Plus récemment, Peng et coll. rapportèrent que des molécules colloïdales peuvent être obtenues en une étape à partir de particules sphériques de PMMA réticulé de 3 μm .³⁷ Grâce à la microscopie optique, les auteurs constatèrent en temps réel la coalescence des nombreuses gouttelettes de monomère à la surface du germe pour former éventuellement des protrusions de part et d'autres de ce dernier. L'agitation permet non seulement d'accélérer le processus de croissance de ces protrusions mais également d'assembler les protrusions inter-germes pour former des molécules colloïdales. Ainsi, ils furent capables eux aussi de synthétiser des molécules colloïdales AX_2E_2 en plus des AX_3E mimant la molécule d'ammoniac comme le montre la figure 1.8e-h. Une ultime étape de polymérisation est nécessaire afin de solidifier la structure.

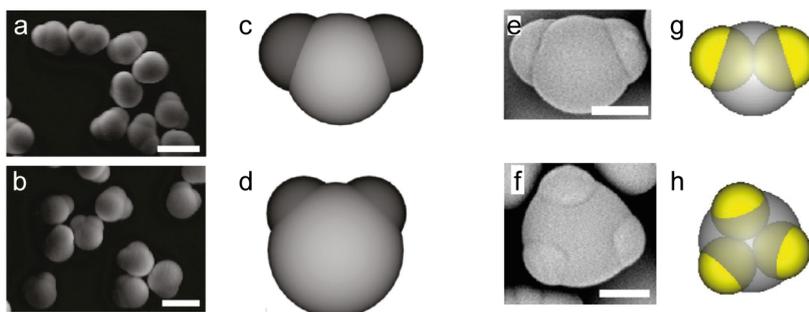


FIGURE 1.8 – Molécules colloïdales de types AX_2E_2 et AX_3E obtenues par séparation de phases. (a, b) Clichés MEB de molécules d'eau colloïdales avec angles de liaison différents; (c, d) Schémas correspondants.³⁶ (e) Cliché MEB d'une molécule d'eau colloïdale; (f) molécule d'ammoniac colloïdale; (g, h) schémas correspondants.³⁷ Barres d'échelle : (a, b) 10 μm ; (e, f) 3 μm .

Yang *et al.* montrèrent également la synthèse de molécules colloïdales H_2O et NH_3 constituées dans ce cas d'un cœur de PS et de patches de poly(4-vinylpyridine).³⁸ La morphologie finale, c'est-à-dire le nombre de protrusions créées, dépend de la viscosité des particules polymères dictée par la quantité de solvant gonflant et par le type d'agent réticulant utilisé.

1.2.3 Formation de molécules colloïdales par nucléation-croissance contrôlée

Des molécules colloïdales de quelques centaines de nanomètres peuvent également être formées grâce à la nucléation et la croissance de particules satellites à la surface d'une particule inorganique centrale. Notre équipe développa un procédé de synthèse pour fabriquer des molécules colloïdales hybrides silice/PS dont la morphologie est contrôlable (figure 1.9a).³⁹

En effet, des particules de silice peuvent être utilisées comme germes dans une polymérisation en émulsion du styrène ensemencée. Pour cela, leur surface doit être pourvue de fonctions copolymérisables permettant de promouvoir la nucléation de particules de PS. La molécule choisie comme agent compatibilisant est généralement un alcoxy silane comportant un groupement méthacrylate tel que le méthacryloxyméthyltriéthoxysilane (MMS). Les caractérisations par cryoEM démontrèrent qu'en début de polymérisation, de nombreux petits nodules de PS sont présents à la surface du germe.⁴⁰ Par contrainte stérique, ce nombre diminue au fur et à mesure que la polymérisation progresse et que les nodules grossissent. La morphologie finale peut être contrôlée via divers leviers tels la concentration et le diamètre des germes, la concentration en monomère ou encore la fraction en SDS, co-tensioactif anionique utilisé en proportion variable avec le 4-nonylphényl polyéthylène glycol (NP30). Cette méthode permet l'obtention de multipodes à des rendements morphologiques compris entre 75 et 80 %, particulièrement pour les morphologies AX_4 (figure 1.9b), AX_6 et AX_{12} dérivées des solides de Platon que sont le tétraèdre, l'octaèdre et l'icosaèdre.^{41,42} D'autres morphologies d'intérêt telles que AX , AX_2 et AX_3 peuvent également être synthétisées, notamment en remplaçant le MMS par le méthacryloxypropyltriméthoxysilane (MPS) plus hydrophobe.⁴³

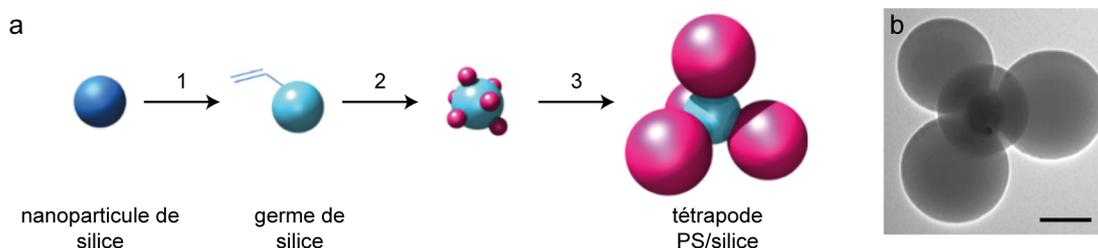


FIGURE 1.9 – Procédé de synthèse de multipodes silice/polystyrène par polymérisation en émulsion ensemencée. (a) Schéma du procédé de synthèse d'un tétrapode silice/PS : (1) fonctionnalisation de la surface de la particule de silice par un agent compatibilisant (MMS), (2, 3) polymérisation en émulsion du styrène ; (b) cliché MET d'une molécule colloïdale AX_4 .^{39,44} Barre d'échelle : 100 nm

1.3 Les particules à patches

Bien que le concept de molécules colloïdales énoncé par van Blaaderen date maintenant de plus de dix ans, très peu d'assemblages de molécules colloïdales en structures complexes telles que les cristaux colloïdaux ont été réalisés. À ce jour, les travaux les plus prometteurs sont certainement ceux de Ducrot *et al.*⁴⁵ Leur stratégie consiste à assembler des sphères de PS de 780 nm avec des molécules colloïdales de PS tétraédriques préalablement formées. La surface de chaque brique élémentaire est modifiée avec des brins d'ADN complémentaires pour créer des interactions attractives entre les tétraèdres et les sphères de PS. La cristallisation a lieu en abaissant très lentement la température autour du point de fusion des double brins d'ADN. Ainsi, une structure de type $MgCu_2$ est formée. Cette structure est composée de deux sous-structures, une structure diamant, composée par les sphères de 780 nm et une structure pyrochlore formée par les tétraèdres (figure 1.10).

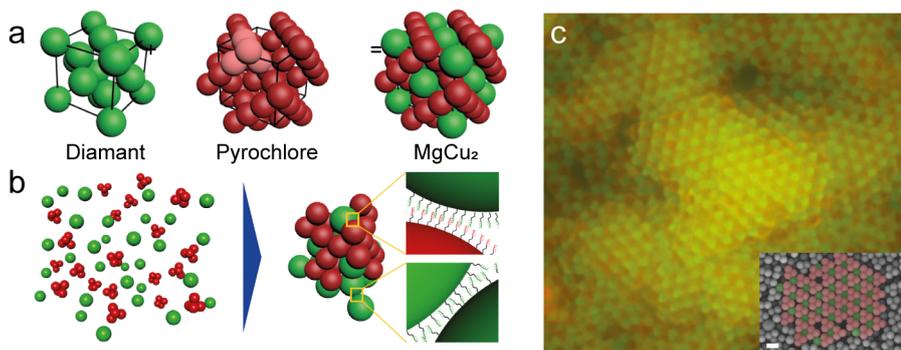


FIGURE 1.10 – Assemblage de particules colloïdales en structures $MgCu_2$. (a) Schémas de la structure $MgCu_2$ et des deux sous-structures la composant, le diamant en vert et le pyrochlore en rouge ; (b) schéma de la formation de la structure $MgCu_2$ par assemblage de molécules colloïdales de PS X_4 (en rouge) avec des particules de PS (en vert) par hybridation de leurs brins d'ADN complémentaires ; (c) Cliché de microscopie de fluorescence de la structure $MgCu_2$ obtenue par refroidissement lent autour du point de fusion, l'encart est un cliché MEB de cette structure. Barre d'échelle : $1\ \mu\text{m}$.

Dans le but d'atteindre un cristal photonique à bande interdite complète, il faut que le contraste d'indice de réfraction entre les deux matériaux soit supérieur à 2. Pour cela, il est envisageable que ces deux sous-structures soient composées de matériaux de natures chimiques différentes. Par exemple, des particules de titane peuvent être utilisées pour la structure diamant. La structure pyrochlore peut quant à elle être formée d'un matériau sacrificiel (par exemple le PS) dont l'élimination permettrait de ne laisser que la structure diamant.

Les particules utilisées lors de ces travaux furent préparées selon un protocole établi quelques années auparavant par la même équipe.⁴⁶ Cette technique consiste à adsorber la partie hydrophobe des chaînes de copolymères à blocs PS-b-PEG- N_3 en surface de particules de PS. Cette particule est ensuite gonflée par ajout de THF, ce qui permet à la fois d'augmenter la surface disponible pour loger davantage de chaînes de PS-b-PEG- N_3 et

d'enchevêtrer les chaînes de PS des deux entités. La particule est ensuite dégonflée puis des brins d'ADN sont greffés par chimie click (figure 1.11).

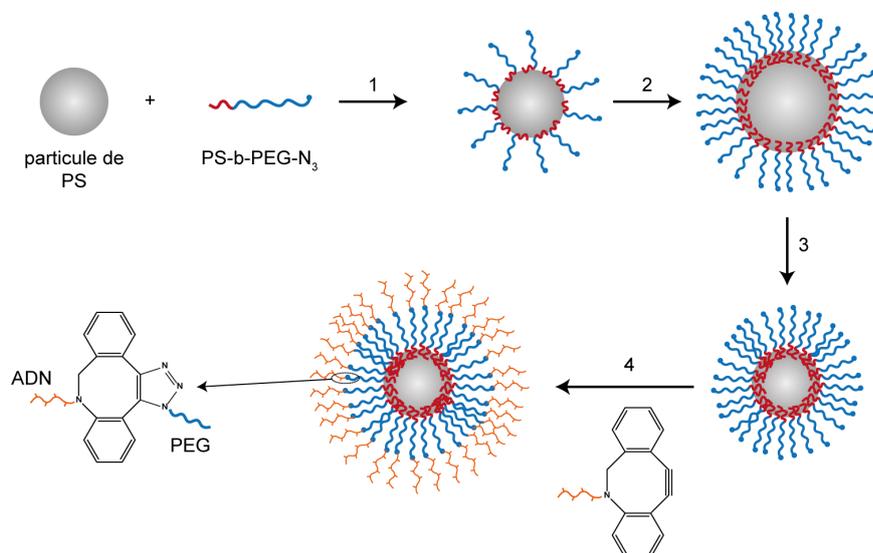


FIGURE 1.11 – Stratégie de greffage de brins d'ADN à haute densité. (1) Les chaînes polymères s'adsorbent à la particule de PS avec leur partie hydrophobe constitué de PS (en rouge); (2) La particule est gonflée par ajout de THF. Les chaînes de PS-b-PEG-N₃ déjà présentes s'ancrent à la surface. De nouvelles chaînes s'ancrent également sur la nouvelle surface disponible due au gonflement. (3) La particule est dégonflée par ajout d'eau. (4) Un brin d'ADN 8 bases est couplé à la chaîne PS-b-PEG-N₃ par chimie click.

Elles possèdent une densité de greffage élevée d'un brin d'ADN par 14 nm^2 , soit un greffage au moins dix fois plus dense que ceux rapportés jusqu'alors.^{47,48} Cela est nécessaire pour permettre aux particules fonctionnalisées de surmonter les barrières cinétiques afin d'autoriser le réarrangement et donc la cristallisation de microparticules pour former les structures pour lesquelles elles avaient été programmées.

Toujours dans l'optique de synthétiser des cristaux non-compacts, un autre concept vit le jour : les particules à patches. L'idée sous-jacente à ce concept est d'étendre la notion de valence à l'échelle colloïdale. En effet, dans une molécule, un atome est capable de former un nombre limité de liaisons parfaitement orientées dans l'espace en fonction de sa valence. Par exemple, le carbone peut être hybridé sp^3 , sp^2 ou sp lui permettant d'avoir quatre, trois ou deux voisins situés respectivement aux sommets d'un tétraèdre, d'un triangle équilatéral et d'un segment. L'enjeu est donc de conférer aux particules colloïdales des informations permettant de simuler une valence précise critique pour l'auto-assemblage. Ces particules structurées en surface sont appelées particules à patches. Comme le montre la figure 1.12, il s'agit de particules présentant un nombre contrôlé de discontinuités pouvant être chimiques (patches enthalpiques) ou topologiques (patches entropiques). Dans certains cas, les patches peuvent être à la fois enthalpiques et entropiques.

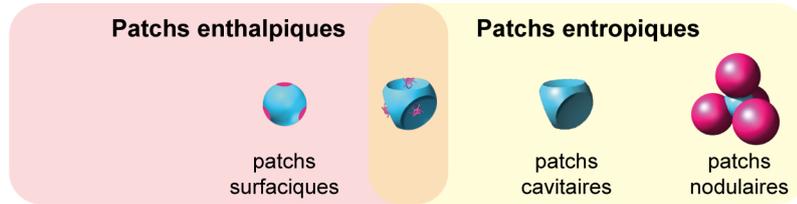


FIGURE 1.12 – Différents types de patches existants.

1.3.1 Les particules à patches, un outil d'abord virtuel

Le concept de particules à patches fut proposé en 2005 par l'équipe de Glotzer dans le but de résoudre le problème de cristallisation de la phase diamant dans leurs simulations.⁶ Ces simulations Monte-Carlo utilisent le modèle de sphères dures ayant un potentiel de répulsion et étant décorées de patches attractifs directionnels. En imaginant une particule dotée de quatre patches, cette équipe fut capable d'obtenir une structure diamant à partir d'un état désordonné (figure 1.13a). Cette cristallisation est néanmoins fortement favorisée par l'ajout d'un germe.⁶ Sciortino et coll. montrèrent qu'en fait le diagramme de phase est très riche avec plusieurs lignes de co-existence (figure 1.13b) indiquant que l'auto-assemblage des particules tétraédriques à quatre patches en une phase diamant n'est pas chose aisée.⁷ Par ailleurs, le groupe de Glotzer montra que des structures auto-assemblées complexes peuvent cristalliser uniquement grâce à l'entropie générée par la présence de facettes sur les particules mises en jeu. La phase diamant peut entre autres être obtenue par assemblage de particules sphériques facettées de manière tétraédrique à condition qu'elles aient le bon taux de facettage⁸ (figure 1.13c).

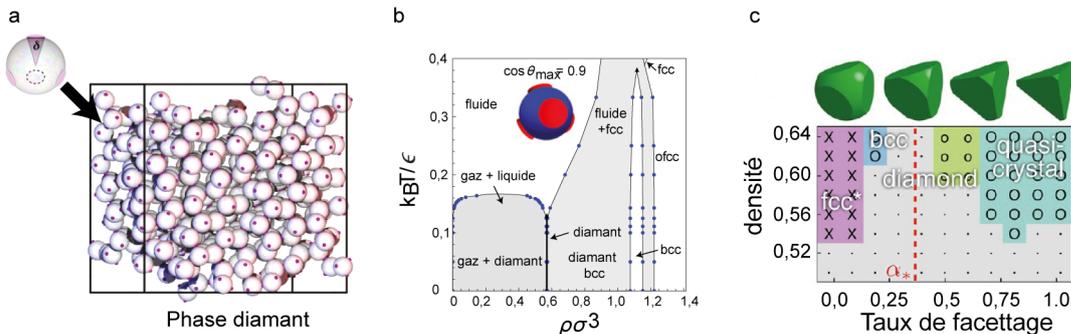


FIGURE 1.13 – Simulations sur les particules à quatre patches. (a) Modèle de particule à quatre patches proposé par Glotzer et coll. pour l'obtention de la structure diamant colloïdale.⁶ (b) Diagramme de phase de particules colloïdales à quatre patches.⁷ (c) Diagramme de phase de particules tétraédriques plus ou moins facettées.⁸

Outre les particules à quatre patches, Sciortino et coll. s'intéressèrent également aux systèmes à un, deux, trois ou encore cinq patches surfaciques.^{49,50,51,52} En s'appuyant sur les travaux expérimentaux de Granick et coll.,⁵³ Romano et Sciortino étudièrent la cristallisation de particules à deux patches et constatèrent la formation d'un réseau kagomé à faible densité et la formation d'un réseau hexagonal à haute densité dans le cas où deux interactions par patch ont lieu (figure 1.14a).^{54,55} Ce constat fut aussi montré par Doppelbauer

et al. pour l'assemblage de particules à trois patchs. À basse pression, la structure avec le minimum d'énergie est le nid d'abeille, tous les patchs sont impliqués dans une liaison. À haute pression, c'est la structure hexagonale qui est la moins énergétique. Le nombre de liaisons effectuées par les patchs joue alors un rôle mineur en terme d'énergie (figure 1.14b).⁵⁶

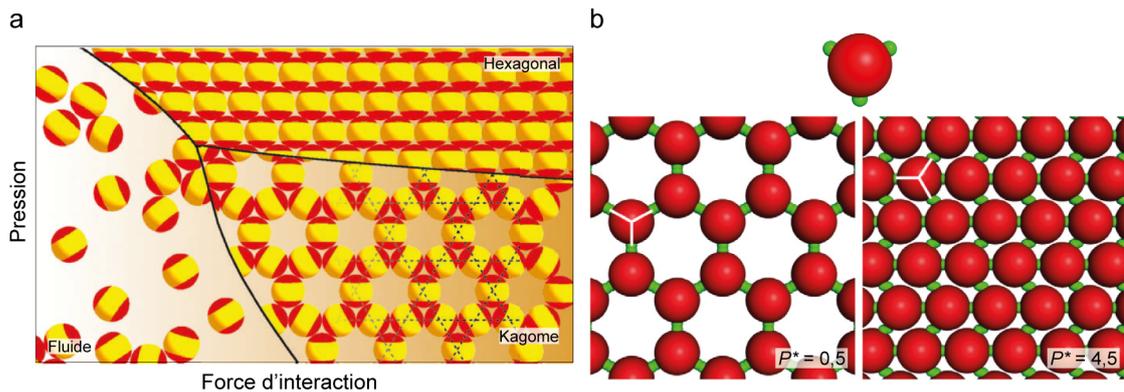


FIGURE 1.14 – Simulations sur les particules à deux et trois patchs. (a) Diagramme de phase des particules triblocs.⁵⁵ (b) Configurations avec le minimum d'énergie pour un système constitué de particules à trois patchs à basse et haute pression.⁵⁶

L'ensemble des travaux de simulation montre bien à quel point il est important de maîtriser la synthèse des particules à patchs. En effet, seul le contrôle des divers paramètres tels que le nombre de patchs, leur taille, leur position les uns par rapport aux autres et la nature de l'interaction permettra d'atteindre les structures complexes convoitées (figure 1.15).⁵⁷ Ces patchs peuvent être surfaciques, nodulaires ou cavitaires et développer des interactions enthalpiques et/ou entropiques.

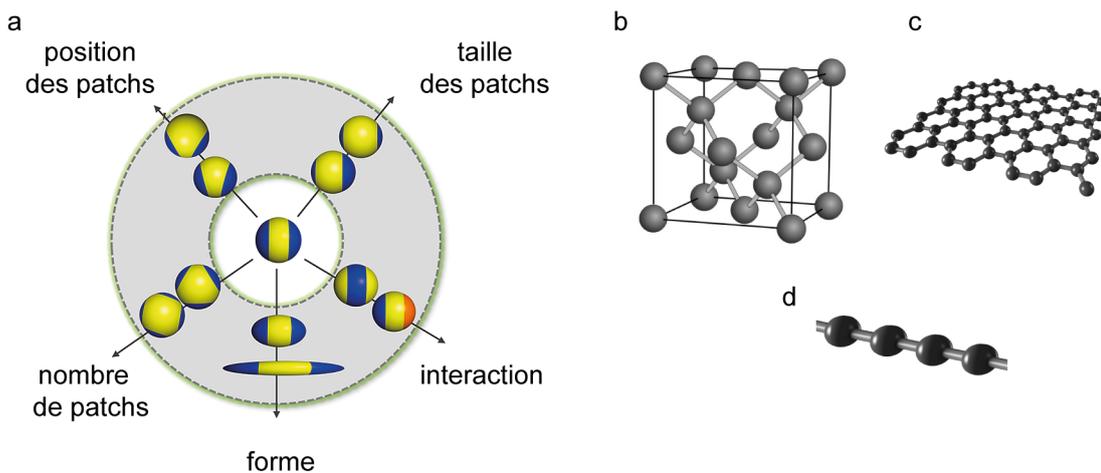


FIGURE 1.15 – Contrôle de l'auto-assemblage par le contrôle de la structuration de surface des particules à patchs. (a) Schéma présentant les différents paramètres modifiables pour contrôler l'auto-assemblage des particules à patchs⁵⁷; (b-d) Schémas des structures diamant, graphène et carbyne pouvant être répliquées à l'échelle colloïdale via l'utilisation d'atomes colloïdaux respectivement tétravalents, trivalents et bivalents.

1.3.2 Synthèse de particules à patchs

1.3.2.1 Les particules monopatchs

Les particules à patchs peuvent être vues comme une extension des particules Janus, introduites par de Gennes en 1991.⁵⁸ Initialement, les particules Janus étaient des particules sphériques composées de deux hémisphères distincts (hydrophile/hydrophobe, ...) pouvant alors être assimilées à des particules monopatchs si l'on considère que l'un des hémisphères est attractif ou collant et l'autre est neutre voire répulsif. La méthode de fabrication consista à déposer les particules sur un substrat solide et les recouvrir d'un film de vernis d'épaisseur contrôlée pour protéger la particule dont la partie exposée était traitée avec de l'octadécylamine pour la rendre hydrophobe.^{59,60} Le vernis fut ensuite dissous pour libérer la particule disposant alors de deux hémisphères chimiquement différents. Cette technique n'est cependant pas applicable aux particules de tailles inférieures au micron. C'est pourquoi, au cours des trois dernières décennies, de nombreuses études ont été menées par la communauté scientifique afin de dissymétriser tout type de particules quelles que soient leur taille et leur nature chimique.^{61,62,63,64,65,66} Seuls quelques exemples sont détaillés ci-dessous.

1.3.2.1.1 Dépôt en incidence rasante (GLAD)

Le dépôt en incidence rasante (*Glancing Angle Deposition* en anglais) fut développé par Pawar *et al.* dans le but de recouvrir partiellement une monocouche dense de particules isotropes par un métal ou un oxyde métallique par évaporation sous vide. Chaque particule est masquée par ses proches voisines et c'est pour cela que la taille, la forme et la position des patchs déposés peuvent être contrôlées par l'angle de dépôt et l'angle d'orientation de la monocouche (figure 1.16).⁶⁷

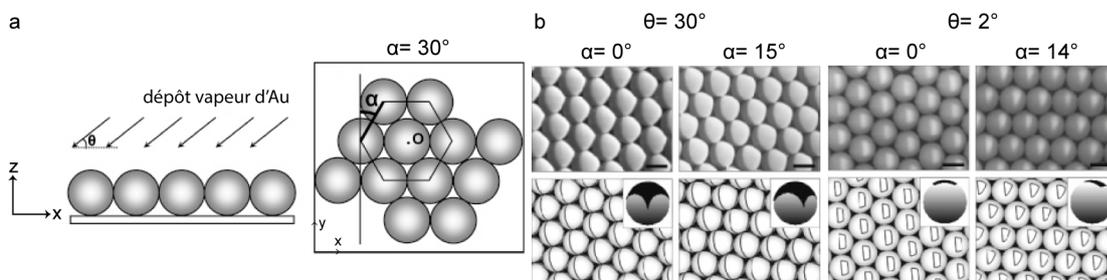


FIGURE 1.16 – Technique de dépôt en incidence rasante. (a) Schémas en coupe montrant à gauche l'angle d'incidence θ et à droite l'angle d'orientation α de la monocouche dans le cas où celui-ci est de 30° par rapport aux vapeurs incidentes. (b) Clichés MEB de particules à différents angles de dépôt et d'orientation de la monocouche (ligne supérieure) et simulations correspondantes (ligne inférieure).⁶⁷ Barres d'échelle : $2\ \mu\text{m}$.

1.3.2.1.2 Émulsion de Pickering

Une autre façon de masquer partiellement la surface d'une particule a été décrite par Grannick et coll.⁶⁸ Les particules à dissymétriser servent dans un premier temps de stabilisants aux gouttelettes de cire liquide présentes dans une émulsion dans l'eau lorsque la température du milieu est supérieure à la température de fusion de la cire. Après refroidissement et solidification de cette dernière, les particules sont partiellement piégées et leur surface accessible peut être modifiée chimiquement⁶⁹ ou topologiquement.⁷⁰

Dans leurs travaux, Kadam *et al.* utilisèrent des particules de silice de 80 nm fonctionnalisées en surface par des groupements azoture pour réaliser l'émulsion de Pickering.⁶⁹ Cette fonctionnalisation permet de greffer d'autres molécules par chimie click. Ainsi dans un premier temps, de la biotine est couplée aux azotures non masqués par la cire. Après dissolution des billes de cire et redispersion des particules de silice, les nouveaux groupements azotures disponibles sont couplés à la ferritine alors que les biotines sont utilisées pour attacher de la streptavidine. Des nanoparticules d'oxyde de fer et d'or de 10 nm marquent respectivement la ferritine et la streptavidine pour une visualisation aisée en MET (figure 1.17a). L'analyse statistique sur 50 particules montre que 24 % des particules présentent les deux protéines chacune présente sur des faces distinctes, 60 % sont Janus mais ne sont fonctionnalisées que par une seule protéine et 16 % ne sont pas Janus.

L'équipe de Yang réalisa quant à elle une modification topologique de la partie non protégée des billes de silice de 320 nm de diamètre à l'aide d'une solution de NH_4F voire d'un mélange $\text{NH}_4\text{F}/\text{HF}$. Les particules sont attaquées chimiquement uniquement là où elles ne sont pas protégées. Plus la durée du traitement est élevée et plus la silice est attaquée pour former une particule de type champignon comme le montre la figure 1.17b. En utilisant la même stratégie sur des particules préalablement fonctionnalisées par le 3-acryloxypropyl triméthoxysilane, du PS peut être obtenu par polymérisation en émulsion uniquement sur la partie qui était protégée (figure 1.17c). L'ajout en goutte à goutte du monomère et de l'amorceur provoque une séparation de phases durant la polymérisation et des « nanofleurs » sont obtenues sur la partie non attaquée chimiquement.⁷⁰

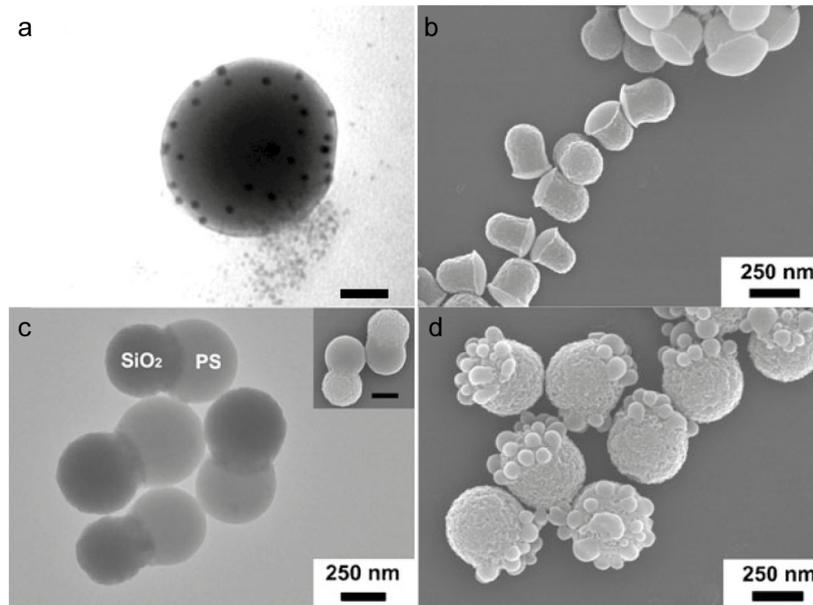


FIGURE 1.17 – Synthèse de particules asymétriques par émulsion de Pickering. (a) Cliché MET d'une particule de silice de 80 nm fonctionnalisée d'un côté par la ferritine et de l'autre par la streptavidine. Ces zones sont marquées respectivement par des nanoparticules d'oxyde de fer et des nanoparticules d'or⁶⁹; (b) cliché MEB d'une particule de silice de morphologie champignon obtenue après attaque chimique de la surface non-protégée; (c) cliché MET d'une particule silice/PS où le chapeau de PS n'est présent que sur la partie de la silice présentant des groupements vinyle. Une image MEB est présentée en encart (les deux échelles représentent la même longueur); (d) cliché MEB d'une particule silice/PS où le PS forme une nanofleur sur la surface présentant des groupements vinyle.⁷⁰ Barres d'échelle : (a) 25 nm ; (b-d) 250 nm.

1.3.2.1.3 Séparation de phases

La fabrication de particules Janus comportant un patch cavitaire fut également décrite dans la littérature. La stratégie utilisée par Pine et coll. consiste à former des oligomères par hydrolyse et polycondensation du MPS.^{71,72} Par séparation de phases, ces oligomères produisent des gouttelettes d'huile dans l'eau dont la taille est contrôlée par ajout de MPS. La seconde étape consiste à polymériser les groupements méthacrylate grâce à un amorceur tel que le persulfate de potassium. Une écorce réticulée est alors formée autour de la gouttelette d'huile. La réaction est alimentée par des oligomères provenant de la gouttelette qui joue alors à la fois le rôle de germe et de réservoir. L'écorce finit par s'effondrer, laissant alors une cavité se former (figure 1.18).

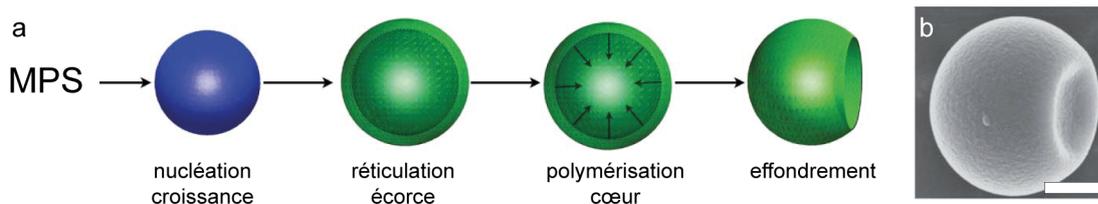


FIGURE 1.18 – Synthèse de particules à patch cavitaire. (a) Schéma du procédé d'obtention⁷¹; (b) cliché MEB.⁷² Barre d'échelle : 2 μm .

1.3.2.2 Les particules à deux patches et plus

La synthèse de particules à patches, c'est-à-dire celles possédant au moins deux patches, se révèle être plus compliquée. Quelques revues à ce sujet sont disponibles.^{73,74} Néanmoins, plusieurs équipes de recherche travaillent sur le sujet et plusieurs méthodes de synthèse de particules à patches ont été publiées.

En partant de molécules colloïdales micrométriques obtenues selon le procédé d'émulsion-encapsulation,^{13,75} Pine et coll. fabriquent soit des particules à patches nodulaires soit des particules à patches cavitaires. Des particules dont les patches sont fonctionnalisés par l'ADN peuvent être synthétisées à partir de molécules colloïdales de PS amidiné.⁷⁶ Dans un premier temps le cluster est gonflé de styrène qui est ensuite polymérisé par décomposition thermique du peroxyde de benzoyle. Le taux de gonflement est tel que l'encapsulation de la molécule colloïdale initiale n'est que partielle. Cette étape permet de moduler la taille des patches. Des petits patches favorisent une bonne directionnalité alors que des patches plus grands permettent d'avoir plusieurs interactions par patch. Les patches sont ensuite sélectivement fonctionnalisés en milieu aqueux avec la biotine afin de pouvoir y greffer des brins d'ADN simples (figure 1.19a).

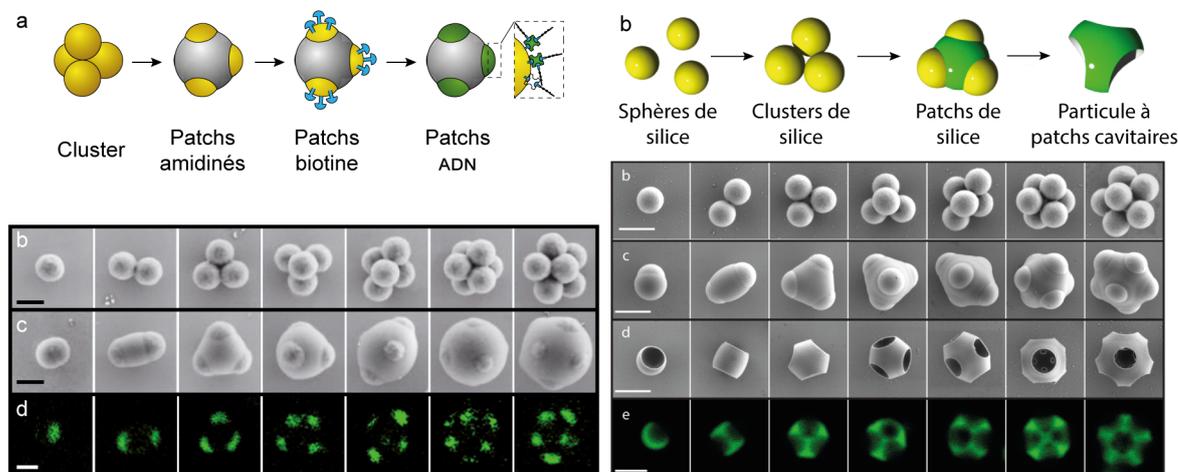


FIGURE 1.19 – Synthèse de particules à patches nodulaires et cavitaires à partir de clusters de géométrie contrôlée. À gauche : Fabrication de particules à patches nodulaires. (a) Procédé de synthèse des particules à patches nodulaires fonctionnalisés par des brins d'ADN. Clichés MEB (b) des clusters colloïdaux amidinés ; (c) des clusters après encapsulation ; (d) clichés de microscopie confocale de fluorescence des particules fonctionnalisées ADN.⁷⁶ Barres d'échelle : 500 nm. À droite : Fabrication de particules à patches cavitaires (a) Procédé de synthèse ; clichés MEB (b) des clusters de silice ; (c) des clusters silice/MPS ; (d) des particules à patches cavitaires. (e) Clichés de microscopie confocale de fluorescence des particules multicavitaires.⁷⁷ Barres d'échelle : 1 μ m.

La synthèse de particules à patches cavitaires est basée sur l'encapsulation partielle de molécules colloïdales de silice par le MPS qui est ensuite polymérisé avant que la silice ne soit dissoute par attaque à l'acide fluorhydrique pour laisser apparaître des cavités (figure 1.19b).⁷⁷ Plus récemment ces deux méthodes ont été combinées. En encapsulant la molécule

colloïdale de PS avec le MPS, la forme des patchs peut être modifiée de façon réversible entre un patch concave et convexe selon la teneur en tétrahydrofurane (THF) dans le milieu.⁷⁸

Sacanna et coll. mirent au point une méthode permettant de synthétiser aussi bien des particules à trois, quatre ou six patchs surfaciques que les particules polyédriques correspondantes. Cette méthode est basée sur un processus de « fusion colloïdale ».⁷⁹ D'abord des particules de PS sont arrangées autour d'un cœur liquide constitué d'huile de silicone. La morphologie parfaite est obtenue grâce à deux événements concertés : la coordination très rapide des particules autour de la goutte liquide et un mouillage lent permettant au cluster de se compacter tout en se réarrangeant en un cluster symétrique. L'ajout d'un plastifiant permet de faire évoluer ce cluster en une sphère possédant des patchs liquides capables de former des liaisons avec d'autres particules (figure 1.20a, b). Au cours de l'extrusion du cœur liquide, il existe une microstructure intermédiaire où ce dernier adopte une forme polyédrique facettée qui peut être récupérée par dissolution de la matrice PS (figure 1.20d).

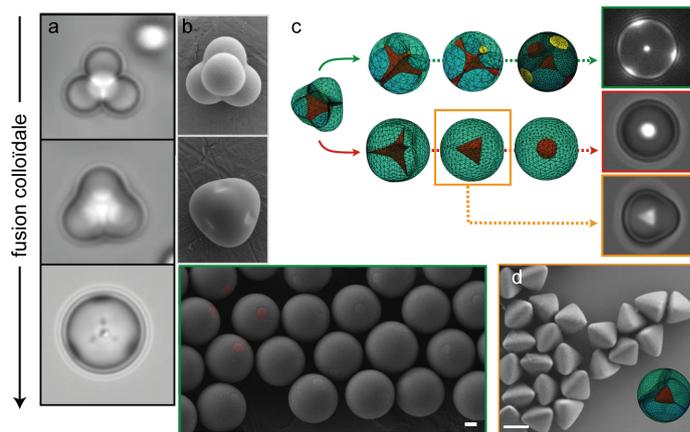


FIGURE 1.20 – Synthèse de particules à patchs selon un processus de fusion colloïdale. (a) Images de microscopie optique montrant l'évolution en sphère d'un cluster après ajout du plastifiant. (b) Clichés MEB des particules correspondantes avec notamment les particules à patchs surfaciques après polymérisation (encadré vert). (c) Simulations Surface Evolver montrant les deux chemins de fusion possibles et l'état intermédiaire (encadré orange) du cœur liquide dans le second cas et (d) image MEB des cœurs facettés après polymérisation.⁷⁹ Barres d'échelle : 1 μm .

Au sein de notre équipe, des particules à patchs cavitaires furent synthétisées à partir des molécules colloïdales silice/PS obtenues par polymérisation en émulsion ensemencée (cf. figure 1.9). La stratégie utilisée consiste à faire recroître le cœur de silice puis à dissoudre les nodules de PS (figure 1.21a). Les particules ainsi obtenues possèdent des patchs entropiques de par leur topologie mais sont également enthalpiques. En effet, la présence de chaînes de PS résiduelles greffées de manière covalente au fond des fossettes lors de la copolymérisation avec l'agent compatibilisant fut démontrée par analyse EDX (figure 1.21b). Ces particules à patchs possèdent par conséquent un fort potentiel pour l'assemblage puisque diverses voies d'assemblage telles que les interactions hydrophobes ou covalentes peuvent être explorées.

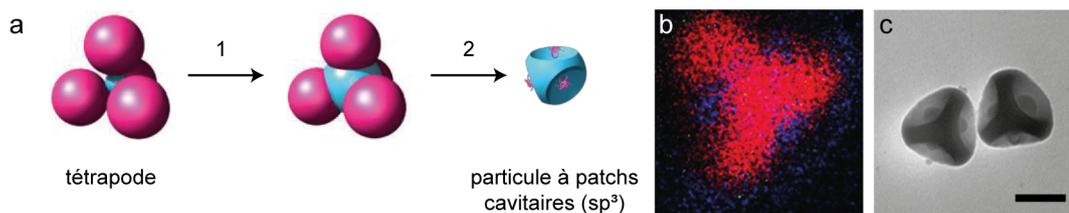


FIGURE 1.21 – Conversion des molécules colloïdales en particules à patches cavitaires. (a) Schéma du procédé de fabrication : (1) recroissance du cœur de silice et (2) dissolution des nodules de PS ; (b) cartographie EDX d'une particule à patches (rouge : silicium, bleu : carbone) ; (c) cliché MET de particules à quatre cavités.^{44, 80} Barre d'échelle : 100 nm.

1.3.3 Auto-assemblage de particules à patches

1.3.3.1 Assemblage par voies non-covalentes

1.3.3.1.1 Sous l'effet de forces de déplétion

Les forces de déplétion furent mises en évidence par Asakura et Oosawa en 1954.⁸¹ Ce sont des forces attractives à courtes distances générées par l'expulsion du solvant dans le volume exclu entre deux particules voisines. Ce phénomène se produit lorsque lesdites particules sont en contact avec un agent déplétant. Celui-ci est constitué d'objets de petites tailles comparé aux particules, généralement des macromolécules. Si la distance entre deux particules est inférieure à la taille du déplétant, alors ce dernier ne peut pas y loger et seul du solvant pur s'y trouve. Par pression osmotique, le solvant est expulsé pour aller vers les zones riches en déplétant causant ainsi le rapprochement des particules. Ces forces sont aujourd'hui mises à profit en vue de former des molécules colloïdales.

Le concept d'interactions clé-serrure fut proposé par Pine et coll.⁷⁷ En présence de polyéthylène glycol, des billes de silice ou de poly(acrylate de méthyle) d'1 μm de diamètre sont ajoutées à des microparticules à cavités préalablement synthétisées (*cf.* figure 1.19b, figure 1.22a). La complémentarité des deux formes rend la déplétion particulièrement efficace, permettant l'obtention de molécules colloïdales de types AB, AB₂, AB₃, AB₄ et AB₅ (figure 1.22b-f).

1.3.3.1.2 Sous l'effet d'un champ magnétique

Pine et coll. travaillèrent également sur l'assemblage de particules monopatches magnétiques.⁸² Des microcubes d'hématite possédant un moment magnétique permanent furent partiellement encapsulés dans des gouttes d'huile rendues solides par polymérisation radicalaire (figure 1.23a). Les interactions magnétiques de courte portée sont empêchées par les répulsions électrostatiques qui peuvent alors être écrantées par ajout de sel (figure 1.23b). La formation et la dispersion d'assemblages purent être observées en jouant sur le champ magnétique comme présenté figure 1.23c. La taille du patch magnétique a une importance concernant le nombre de liaisons que ce dernier peut engendrer avec d'autres particules.

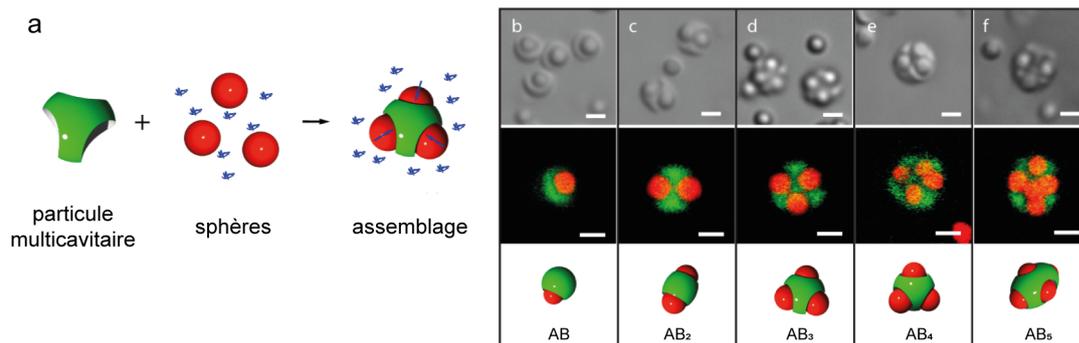


FIGURE 1.22 – Assemblage de type clé-serrure. (a) Schéma de l'assemblage entre une particule à trois patches cavitaires et des sphères satellites induit par des forces de déplétion. (b-f) Clichés de microscopie en champ clair (haut), confocale de fluorescence (milieu) et schémas des molécules colloïdales obtenues (bas).⁷⁷ Barres d'échelle : 1 μm .

Des petits patches conduisent à des dimères ou des trimères alors que des trop grands patches ne permettent plus d'être sélectif, conduisant à un mélange de morphologies. Des chaînes linéaires peuvent également être formées. Ainsi, l'utilisation de particules magnétiques asymétriques permet d'engendrer la formation de chaînes chirales (figure 1.23d).⁸³

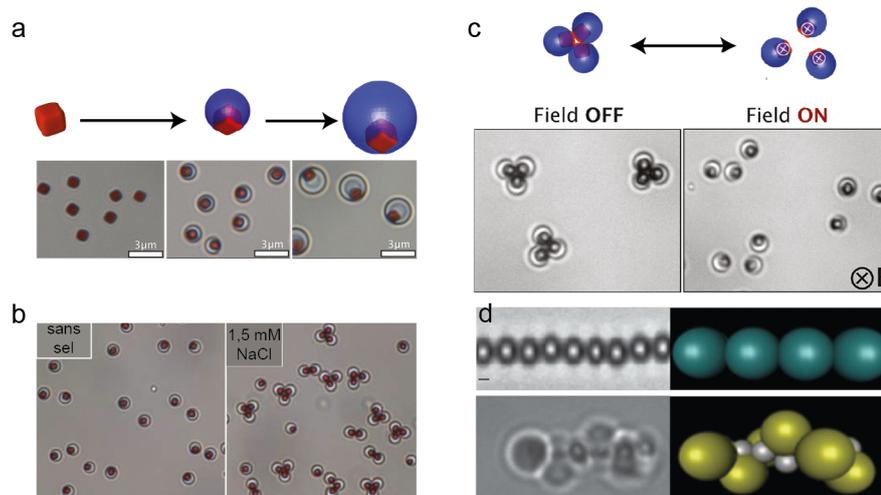


FIGURE 1.23 – Synthèse et assemblage de particules magnétiques monopatches. (a) Schémas et clichés de microscopie optique des particules magnétiques monopatches au cours de leur synthèse ; (b) clichés de microscopie optique d'une suspension sans sel (à gauche) et d'une suspension avec sel (à droite) ; (c) clichés de microscopie optique avec (à droite) ou sans (à gauche) champ magnétique ; (d) chaîne linéaire (en haut) et chaîne hélicoïdale (en bas) obtenues sous champ magnétique.^{82, 83}

1.3.3.1.3 Par coordination

La chimie de coordination fut aussi utilisée pour la réalisation d'auto-assemblages. Weck et coll. synthétisèrent deux lots de particules à deux patches à cet effet⁸⁴ (figure 1.24a). Le premier lot possède des patches fonctionnalisés avec un polymère tribloc dont l'un des blocs porte un complexe de palladium. Le second lot possède des patches fonctionnalisés avec des

molécules contenant une pyridine. Sous l'action des ions Ag^+ , le complexe de palladium est activé par élimination du chlore laissant alors un site de coordination libre. Ce dernier peut alors être occupé par les pyridines pour réaliser l'assemblage (figure 1.24c). Ainsi, des chaînes linéaires et branchées furent obtenues (figure 1.24d). L'ajout de triphénylphosphine permet de désassembler les structures.

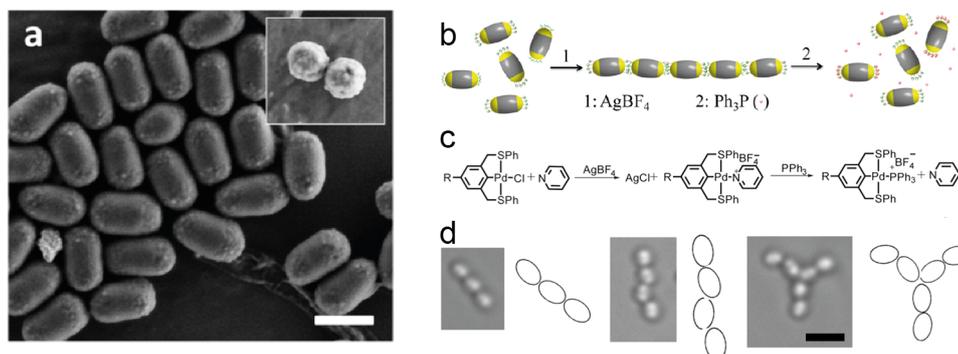


FIGURE 1.24 – Assemblage par coordination d'un complexe de palladium. (a) cliché MEB de particules à deux patchs; (b) schéma de l'assemblage et du désassemblage; (c) Processus de coordination du centre métallique activé par les ions $\text{Ag}(I)$ et décooordination par échange de ligand entraînant la séparation des particules à patchs; (d) clichés de microscopie de chaînes obtenues.⁸⁴ Barres d'échelle : (a) $2\mu\text{m}$; (b) $3\mu\text{m}$.

1.3.3.1.4 Par interactions hydrophobes

Xia et coll. réalisèrent l'assemblage de diverses nanostructures grâce à l'auto-assemblage de cubes d'argent de 97 nm dont le nombre de faces hydrophobes est contrôlé.⁸⁵ Avec une, deux, quatre ou six faces fonctionnalisées, des dimères, des trimères linéaires, des feuillets 2D ou des structures 3D type CFC furent respectivement obtenus (figure 1.25). La fonctionnalisation est réalisée de la manière suivante : si une face doit être hydrophobe, une monocouche de cubes est formée sur un substrat de silicium. Les faces disponibles sont fonctionnalisées avec l'acide mercaptohexanoïque, puis après libération, la face restante est rendue hydrophobe par adsorption d'octadecanethiol. Pour avoir deux faces opposées hydrophobes, une étape supplémentaire d'impression d'octadecanethiol est réalisée avec un tampon en polydiméthylsiloxane (PDMS) avant le traitement à l'acide mercaptohexanoïque.

En considérant l'affinité accrue du bromure de cetyltriméthylammonium (CTAB) pour les faces $\{100\}$ de bâtonnets d'or,⁸⁶ Kumacheva et coll. substituèrent le CTAB des faces $\{111\}$ par des chaînes de PS terminées avec un groupement thiol afin d'obtenir des particules à deux patchs situés à chaque extrémité des bâtonnets.⁸⁷ L'assemblage est déclenché par ajout d'eau. Selon le solvant organique utilisé les structures assemblées présentent différentes morphologies. Avec un mélange binaire diméthylformamide (DMF)/eau, des anneaux sont formés alors que dans le cas d'un mélange THF/eau, des fagots de bâtonnets sont obtenus (figure 1.26). Une augmentation de la teneur en eau de 6 à 20 % modifie les structures qui deviennent respectivement des chaînes et des sphères.

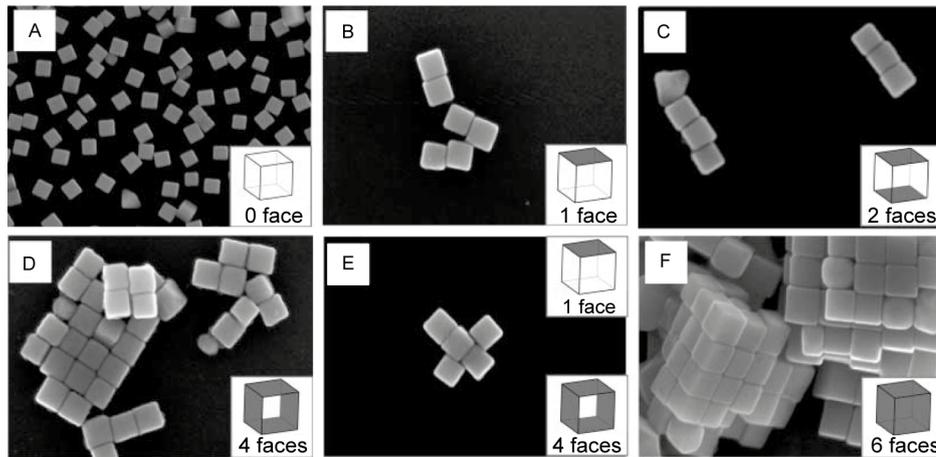


FIGURE 1.25 – Assemblages de nanocubes d'argent par interactions hydrophobes. Clichés MEB (a) de cubes d'argent de 97 nm non fonctionnalisés, et (b-f) de cubes assemblés selon le nombre de faces fonctionnalisées.⁸⁵

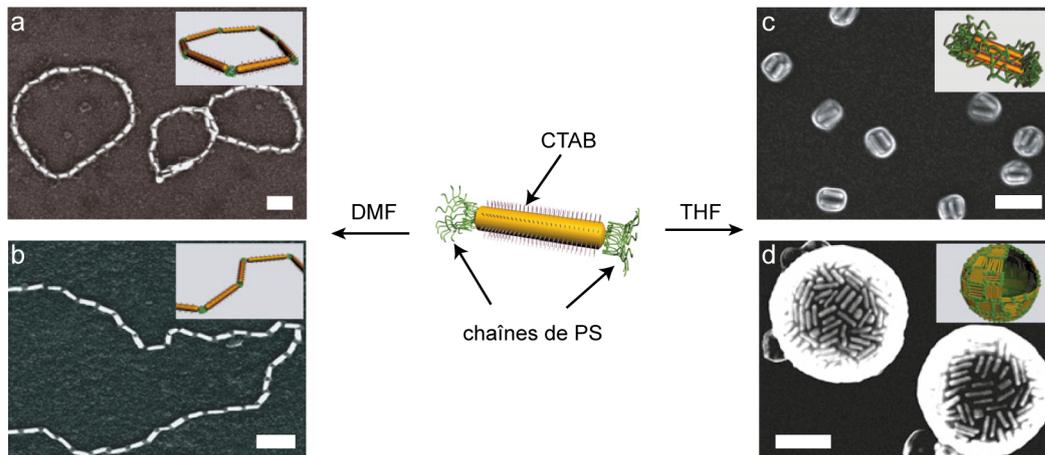


FIGURE 1.26 – Assemblage hydrophobe de nanobâtonnets d'or selon la nature du solvant utilisé. Le schéma central représente un nanobâtonnet d'or dont les faces latérales sont recouvertes de CTAB et les extrémités de chaînes de PS. Sur les côtés, des clichés MET (a) d'anneaux et (b) de chaînes obtenus par ajout de DMF ainsi que (c) de fagots et (d) de nanosphères obtenus par ajout de THF.⁸⁷ Barres d'échelle : 100 nm.

Granick et coll. montrèrent l'obtention d'une structure kagomé par auto-assemblage de particules bi-patches dont la taille permet à chaque patch d'interagir avec deux patches voisins.⁵³ Les particules bivalentes sont élaborées à partir de billes de PS chargées négativement. Par dépôt d'or en incidence rasante séquentiel puis par traitement à l'octadécane-thiol, les pôles sont rendus hydrophobes. L'attraction hydrophobe entre les patches est de courte portée et les zones équatoriales se repoussent électrostatiquement. L'assemblage par interactions hydrophobes entre les patches est déclenché par ajout de sel permettant d'écranter les charges (figure 1.27a). Les auteurs montrèrent par ailleurs que si la taille d'un des deux patches est réduite de manière à n'autoriser l'interaction qu'avec un seul autre patch, alors une morphologie hexagonale tronquée est obtenue (figure 1.27d).⁸⁸

Kang et al. réalisèrent un réseau macroscopique le long d'une interface air-eau par auto-

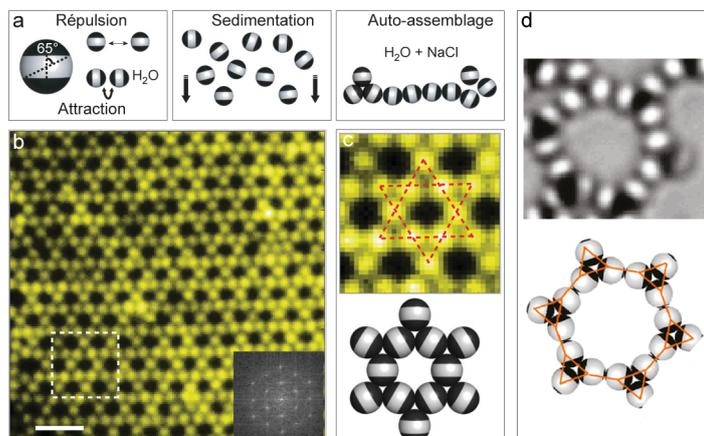


FIGURE 1.27 – Assemblage hydrophobe de particules triblocs. (a) Schémas du principe d'assemblage avec des patches de taille identique pour l'obtention de la structure kagomé, (b, c) clichés de microscopie à épifluorescence de la structure kagomé. Barre d'échelle : $4\ \mu\text{m}$.⁵³ (d) Cliché de microscopie en champ clair de la structure hexagonale tronquée et schéma de cette structure mettant en évidence la différence de taille des patches.⁷⁹

assemblage dirigé de particules ayant une morphologie hexagramme.⁸⁹ Ces particules sont fabriquées en utilisant un moule en PDMS de taille micrométrique dans lequel est injectée une solution du premier prépolymère dont le volume se divise pour occuper les extrémités du moule. Après évaporation et photopolymérisation sous ultraviolets (UV), la seconde solution de prépolymère est ajoutée dans l'espace vide du moule. S'ensuit une intense irradiation UV pour photopolymériser les deux prépolymères. Chaque zone peut être clairement identifiée par fluorescence grâce aux fluorophores incorporés dans chaque solution de prépolymère. Lorsque ces particules ne sont qu'hydrophobes ou qu'hydrophiles, les assemblages réalisés sont aléatoires (figure 1.28a, b). En revanche lorsqu'elles sont amphiphiles avec les patches hydrophobes et le corps hydrophile, une structure hexagonale est obtenue (Figure 1.28c). Les auteurs étudièrent également l'influence de la taille des patches sur l'assemblage et remarquèrent que cette dernière est un paramètre crucial. En effet, ils constatèrent que des particules avec des petits patches s'organisent en réseau bidimensionnel à longue distance, les pointes interagissant majoritairement dans une configuration pointe-pointe. Ces résultats montrent que les petits patches procurent une forte directionnalité à l'assemblage. Au contraire, lorsque les patches sont plus gros, l'assemblage est moins organisé et aboutit à des structures aléatoires, avec des interactions pointe-côté ou encore côté-côté (figure 1.28d)

L'auto-assemblage de tétrapodes de CdSe nanométriques par interaction hydrophobe fut étudié par Taniguchi *et al.*⁹⁰ Tout comme pour les bâtonnets, les agents de surface ont moins d'affinité pour les extrémités des bras des tétrapodes. Ainsi avec l'emploi de molécules thiolées comprenant un groupement cationique, les extrémités restent hydrophobes alors que les bras deviennent hydrophiles sur leur longueur. L'emploi de particules amphiphiles tétrapodiques devrait permettre l'accès à une structure diamant. Or, pour cela, les

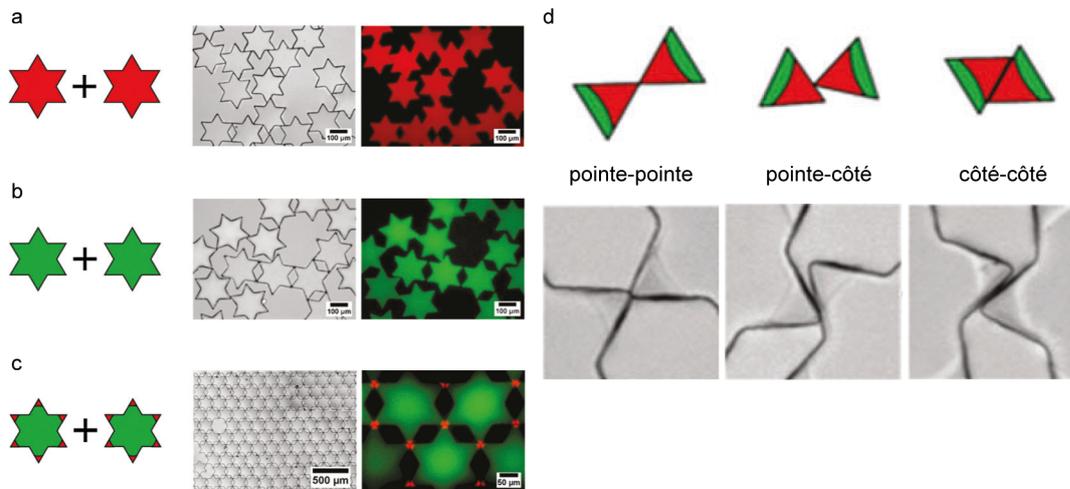


FIGURE 1.28 – Assemblage de particules à patches hexagrammes. (a) Assemblages aléatoires de particules (a) hydrophobes et (b) hydrophiles; (c) assemblage directionnel des particules à patches hydrophobes; (d) schémas des différentes configurations possibles de l'assemblage et clichés de microscopie en champ clair correspondants (cas de gros patches avec un rapport de taille de 0,32).⁸⁹

particules doivent strictement avoir la même taille de bras et les mêmes angles entre chaque bras. Pour anticiper la réorganisation de structures 3D irrégulières, les auteurs décidèrent de limiter la rotation libre en confinant les tétrapodes dans un espace 2D. L'assemblage observé consiste en un arrangement hexagonal où chaque tétrapode utilise trois bras pour réaliser des connections interparticulaires.

Les assemblages par interactions hydrophobes font partie des thématiques de recherche de notre équipe. Au cours de sa thèse Weiya Li étudia l'assemblage de particules à patches monovalentes en clusters, de particules bivalentes en chaînes et de particules trivalentes en structures de type nid d'abeilles (figure 1.29).⁹¹

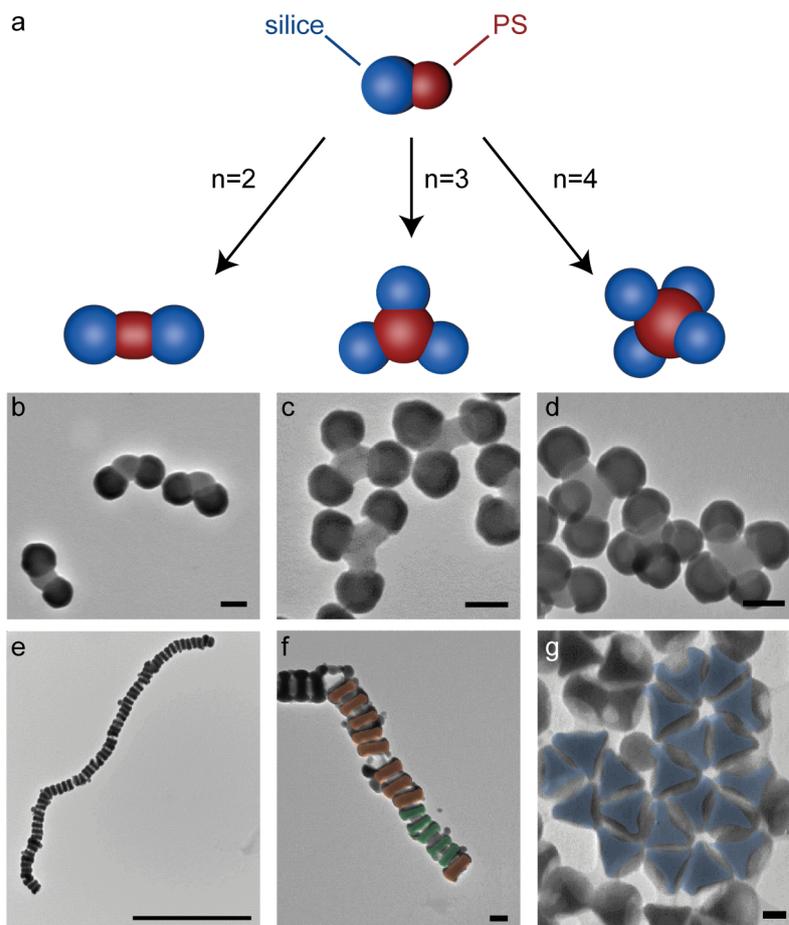


FIGURE 1.29 – Assemblage de particules silice/polystyrène par interaction hydrophobe. (a) Schéma des clusters obtenus à partir de l'assemblage de n particules monovalentes. Clichés MET des particules correspondantes : (b) dimères, (c) trimères, (d) tétramères. (e) Clichés MET d'une longue chaîne obtenue par assemblage de particules de silice divalentes de 190 nm et (e) d'une chaîne imitant un copolymère à bloc obtenue par assemblage de particules de 190 nm (oranges) et 155 nm (vertes). (g) Cliché MET d'un résultat préliminaire concernant l'assemblage de la structure en nid d'abeille.⁹¹ Barres d'échelle : (b-d, f, g) 100 nm, (e) 2 μ m.

La synthèse des particules monovalentes fut inspirée des travaux de Guignard *et al.*⁹² Des particules de PS sont fonctionnalisées par le MPS puis une protrusion est formée par gonflement et polymérisation du styrène. Les particules haltères formées sont régiosélectivement recouvertes d'une fine couche de silice sur la partie fonctionnalisée par le MPS. L'assemblage est déclenché par ajout d'une quantité de DMF telle que le système entre dans un régime « collant », régime se situant pour des concentrations en DMF entre 30 et 50 v%. Le ratio de taille entre le patch et la particule fut également étudié. De trop petits patches ne permettent pas l'assemblage. C'est en augmentant la taille du patch que l'assemblage a lieu. Des dimères, trimères et tétramères peuvent ainsi être obtenus (figure 1.29b-d). Cependant avec un patch trop gros, l'assemblage perd en efficacité voire ne se produit plus. L'explication réside dans la distribution des masses molaires des chaînes de PS en fonction de la taille du patch. Inspiré des travaux de Kumacheva et coll⁸⁷ et en vue de

fabriquer des carbynes colloïdaux (le carbyne étant une chaîne d'atomes de carbone hybridés sp), l'assemblage en chaînes a été réalisé à partir de particules de silice possédant deux fossettes dans lesquelles sont présentes des chaînes de PS. Ces disques d'un diamètre de 190 nm sont assemblés dans un mélange binaire THF/eau à 70 % de THF. En mélangeant des particules bivalentes de différentes tailles, des chaînes type copolymères à blocs peuvent être imitées. Les clichés e et f de la figure 1.29 montrent ces deux types de chaînes. Les tests d'assemblage de structures en nid d'abeille furent effectués à partir de particules de silice trivalentes disposées à l'interface air-eau d'une cuve de Langmuir-Blodgett. Ces tests préliminaires montrent que la pureté des particules à patchs est cruciale pour observer la cristallisation à grande échelle (figure 1.29g).

1.3.3.1.5 Par hybridation de l'ADN

La fonctionnalisation des briques élémentaires avec des monobrins d'ADN complémentaires se révéla très efficace pour l'auto-assemblage de particules à patchs. Plusieurs travaux furent publiés à ce sujet. Comme premier exemple, ceux de Pine et coll. où les particules à patchs décrites précédemment (*cf.* figure 1.19) sont marquées avec un fluorophore vert (G) puis assemblées avec des particules monopatchs ou bipatchs fonctionnalisées avec des brins d'ADN complémentaires marqués avec un fluorophore rouge (R). La microscopie confocale de fluorescence montre que seules des paires de particules R-G se forment.⁷⁶ Des molécules colloïdales de type AB, AB₂, AB₃, AB₄ ou de type copolymère sont obtenues. Par ailleurs, la taille du patch est importante. Dans le cas où sa taille permet de loger plusieurs particules R, les auteurs ont pu observer la formation de molécules colloïdales de conformation cis, trans ou analogue de l'éthylène (figure 1.30).

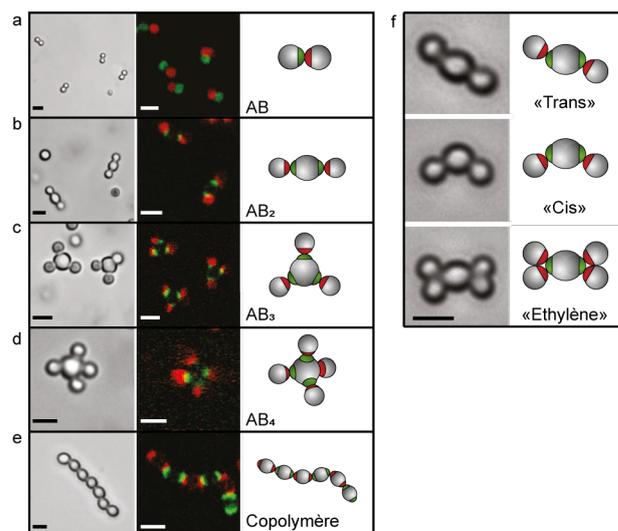


FIGURE 1.30 – Assemblage directionnel et spécifique entre des particules à patchs fonctionnalisées avec des brins d'ADN complémentaires. Clichés de microscopie en champ clair (gauche), de microscopie confocale de fluorescence (milieu) et schémas des molécules colloïdales obtenues (droite).⁷⁶ Barres d'échelle : 2 μm .

Un autre exemple d'assemblage via l'hybridation de brins d'ADN a été rapporté par Weck et coll.⁹³ Toujours selon la méthode mise au point par Manoharan et coll., une molécule colloïdale est préparée, puis partiellement encapsulée pour former une particule dont l'écorce présente des fonctions acides carboxyliques et les patches des fonctions azotures. Ces dernières sont couplées par cycloaddition de Huisgen avec de l'ADN modifié avec un dibenzyl cyclooctane (DBCO) (ADN-DBCO) possédant 11 bases, marqué par un fluorophore rouge alors que les groupements acides carboxyliques sont couplés par réaction d'amidation avec de l'ADN-NH₂ possédant 6 bases, marqué par un fluorophore vert (figure 1.31a). La microscopie confocale de fluorescence prouve la régiosélectivité des couplages (figure 1.31b, c).

Le processus d'assemblage fut étudié en synthétisant d'une part des particules d'1 µm de diamètre fonctionnalisées avec des brins d'ADN complémentaires de ceux présents sur les patches et d'autre part des particules de 540 nm de diamètre fonctionnalisées quant à elles avec des brins d'ADN complémentaires des brins présents sur l'écorce de la particule à patches. Le nombre de bases influe sur la température de fusion des doubles brins (figure 1.31d). La modulation des longueurs de brins d'ADN permet un contrôle fin des assemblages.

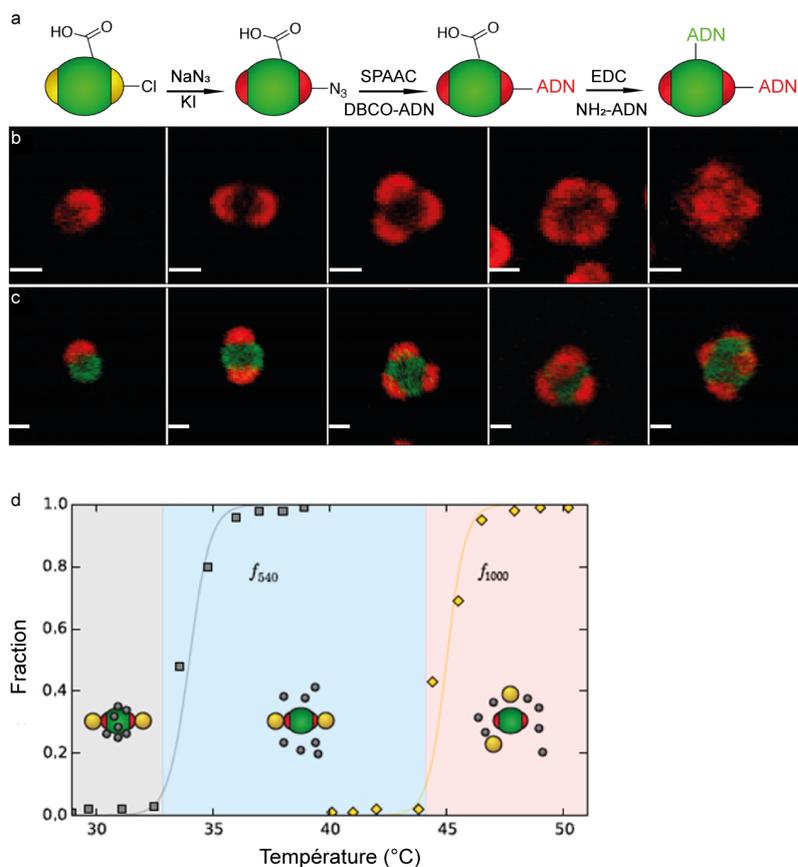


FIGURE 1.31 – Fonctionnalisation, caractérisation et assemblage de particules à patches par hybridation de brins d'ADN. (a) Procédé de fonctionnalisation régiosélective des particules à patches; (b et c) clichés de microscopie confocale de fluorescence; (d) évolution de l'assemblage par hybridation en fonction de la température.⁹³

Enfin un exemple d'assemblage sophistiqué fut décrit par Gang et coll.⁹⁴ Une particule d'or de 10 nm est placée au centre d'un origami d'ADN par hybridation avec des monobrins de 30 bases (figure 1.32a). Chaque bord extérieur de l'origami est fonctionnalisé avec huit brins d'ADN de séquences différentes pour un alignement parfait avec un autre origami (figure 1.32b). Des architectures complexes peuvent être atteintes en confectionnant une gamme de briques élémentaires présentant des directionnalités d'interactions différentes (figure 1.32c). L'utilisation de telles particules à patchs permet aux auteurs de produire des chaînes, des réseaux 2D voire même l'Homme de Vitruve de Léonard de Vinci à l'échelle nanométrique avec un rendement de 5 % (figure 1.32d, e).

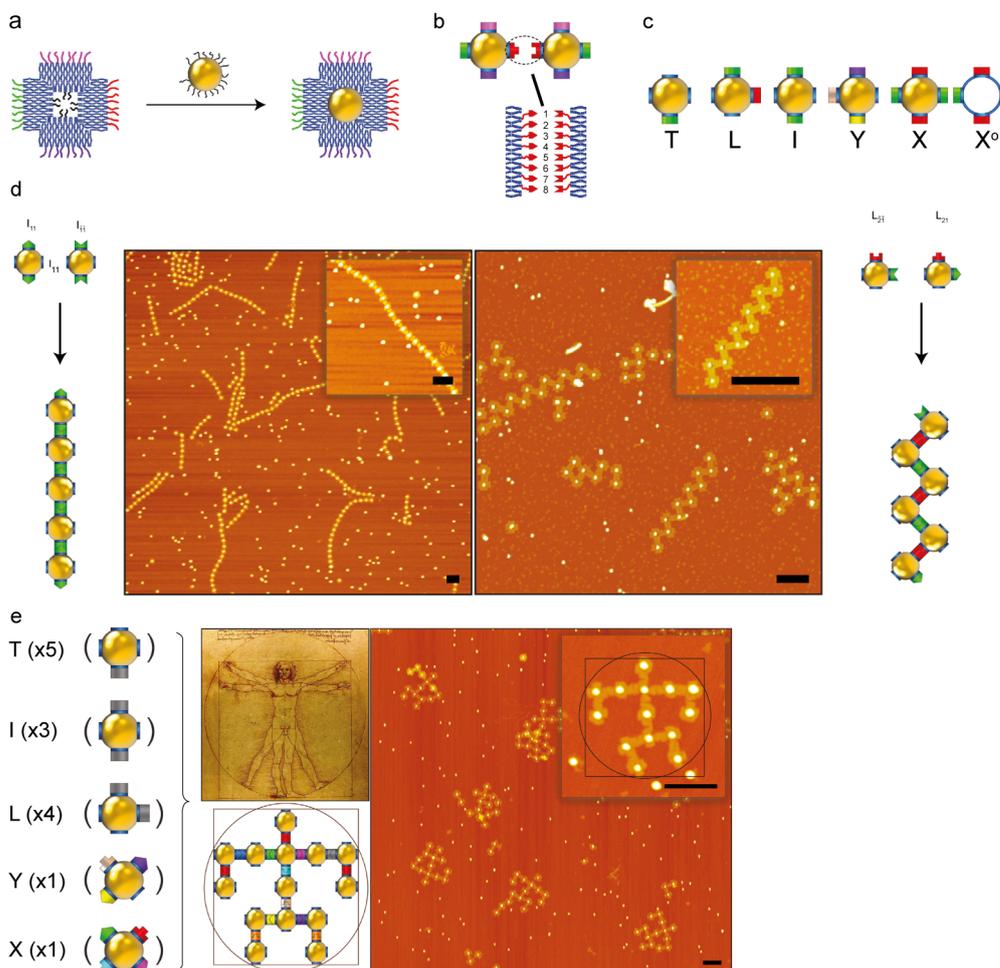


FIGURE 1.32 – Assemblages à partir d'un assortiment de nanoparticules incorporées au sein d'un origami ADN. (a) Intégration des particules d'or au centre des origamis ADN ; (b) interactions entre les faces extérieures des origamis par 8 paires de bases uniques, (c) schéma des briques élémentaires synthétisées. Assemblages de structures complexes (d) en forme de chaînes et (e) imitant la forme de l'Homme de Vitruve.⁹⁴ Barres d'échelle : 200 nm.

L'auto-assemblage par voie ADN est extrêmement intéressant. Il permet en effet d'« encoder » les briques élémentaires avec des brins d'ADN spécifiquement complémentaires. C'est aussi une méthode permettant de corriger les défauts dans la structure colloïdale grâce à la réversibilité du processus d'assemblage. Cependant, outre le fait que cette technique

ne permette de synthétiser que de petites quantités et à un prix élevé, cette voie repose sur des interactions hydrogène. Or, ce travail de thèse s'inscrit dans un projet dont l'une des thématiques consiste à réaliser l'auto-assemblage de nanoparticules à patches par voie covalente afin d'obtenir des molécules colloïdales et des cristaux colloïdaux robustes.

1.3.3.2 Assemblages par voies covalentes

La chimie covalente a très peu été utilisée pour réaliser l'assemblage des particules à patches. C'est pourquoi cet état de l'art a été étendu à tout assemblage colloïdal.

1.3.3.2.1 Par voie époxy-amine

La synthèse de nanocomposites type framboise dont les deux composants sont liés par couplage époxy-amine fut rapportée par Cueva-Méndez *et al.*⁹⁵ D'un côté, des nanoparticules d'oxyde de fer superparamagnétiques (SPIONS) de 10 nm sont obtenues par décomposition thermique d'un oléate de fer ferrique. Un échange de ligand est réalisé avec l'APTES pour rendre ces SPIONS hydrophiles. Les nombreuses fonctions amines sont partiellement converties en acides carboxyliques via l'ajout d'anhydride succinique (figure 1.33a). La présence d'amines, essentielles pour l'assemblage à venir, est vérifiée par un test à la ninhydrine.⁹⁶ De l'autre côté, des particules de silice de 200 nm sont élaborées suivant le procédé Stöber puis décorées de (3-glycidyloxypropyl)triméthoxysilane. Un nanocomposite silice-SPION de type framboise est obtenu en mélangeant les silices « époxydées » et les SPIONS aminés dans un ratio 1 : 4000 (w/w) dans le DMF à 65 °C durant 48 h sous agitation douce (figure 1.33b).

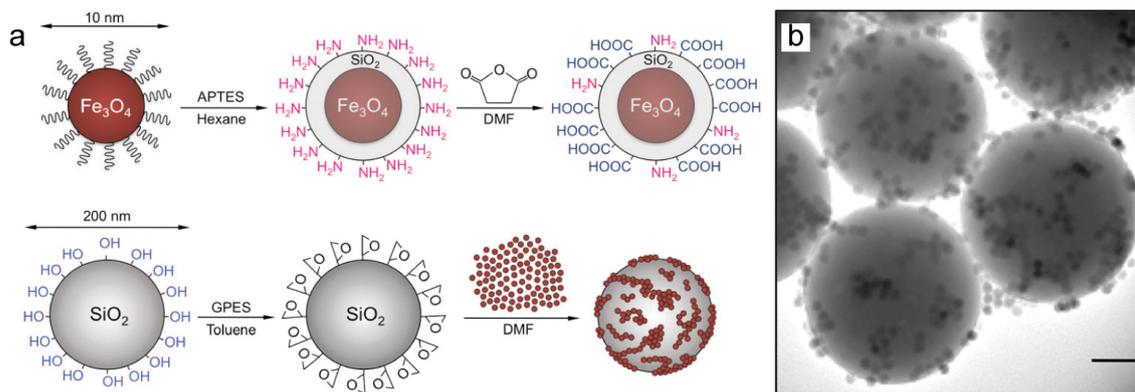


FIGURE 1.33 – Assemblage de nanoparticules par voie époxy-amine. (a) Schéma du procédé d'élaboration des SPIONS (haut) et de la silice (bas); (b) cliché MET des nanocomposites de type framboise silice-SPION. Barre d'échelle : 50 nm.

1.3.3.2.2 Par réaction de Diels-Alder

La réaction de Diels-Alder est une des réactions les plus importantes quant à la formation de liaisons carbone-carbone. Tout comme l'hybridation de brins d'ADN, elle est facilement

thermoréversible (rétro Diels-Alder). Cette réaction fut notamment utilisée pour la synthèse de polymères thermosensibles, la modification de surface^{97,98} mais aussi l'auto-assemblage. En effet, Li *et al.* montrèrent le greffage de particules d'or fonctionnalisées par des fonctions maléimide sur des chaînes de poly(*p*-phénylène éthynylène) (figure 1.34a).⁹⁹ Workentin *et al.* réalisèrent également l'assemblage de particules d'or en faisant réagir des particules d'or de 2 nm fonctionnalisées par des maléimides avec d'autres particules d'or fonctionnalisées par des furanes.¹⁰⁰ L'assemblage covalent fut observé notamment par MET. Plus le temps de réaction est long, plus les agrégats grossissent jusqu'à précipiter. Ces derniers peuvent être redispersés par rétro-Diels-Alder en chauffant le milieu (figure 1.34c-e).

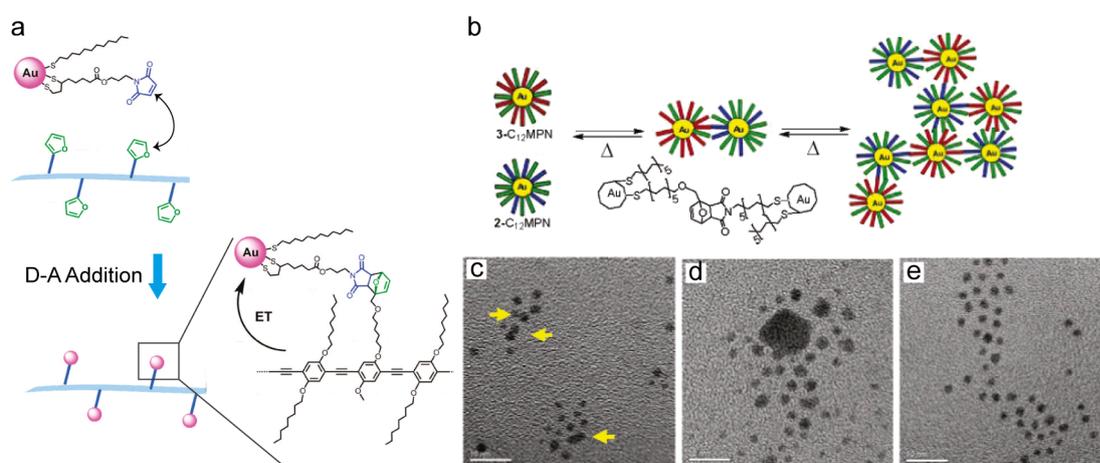


FIGURE 1.34 – Assemblage de nanoparticules par réaction de Diels-Alder. (a) Schéma de l'assemblage de billes d'or sur des chaînes polymère par réaction de Diels-Alder.⁹⁹ ; (b) réactions de Diels-Alder et rétro Diels-Alder pour assembler et désassembler des particules d'or entre elles ; (c) clichés MET haute résolution de l'aggrégation et de la dispersion des particules par réaction de Diels-Alder et après rétro Diels-Alder.¹⁰⁰ Barres d'échelle : 10 nm.

1.3.3.2.3 Par substitution nucléophile

L'assemblage covalent de particules polymère fut rapporté par Xu *et al.*¹⁰¹ Des microparticules de poly(styrène-co-chlorométhylstyrène) (PS-co-PCMS) de 800 nm disposant de groupements chlorure de benzyle sont mélangées avec des nanoparticules de poly[styène-co-(3-(4-vinylphényl)pentane-2,4-dione)] de 150 nm portant des groupements β -dicétone. La réaction de substitution nucléophile des β -dicétones par le chlorure de benzyle est réalisée dans le toluène et catalysée par la triéthylamine (TEA). Les observations MET montrent l'obtention de morphologies framboises où les nanoparticules sont greffées à la surface des microparticules (figure 1.35). Une expérience contrôle sans TEA fut réalisée afin de s'assurer que les particules soient bien liées entre elles de manière covalente. Aucun assemblage ne fut observé après centrifugation.

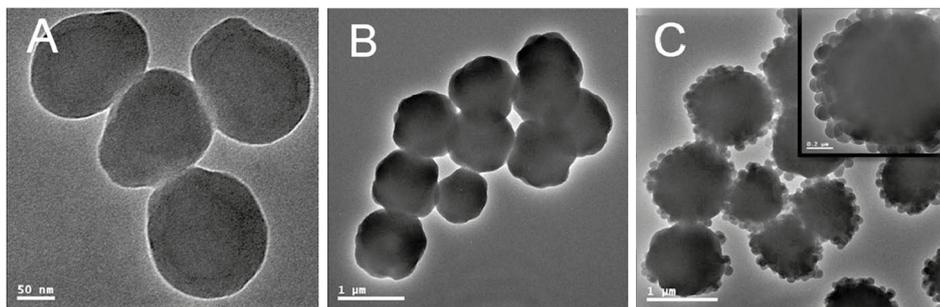


FIGURE 1.35 – Assemblage de particules par réaction de substitution nucléophile. Clichés MET (a) des nanoparticules constituées de PS-co-PVPD (b) des microparticules de PS-co-PCMS ; (c) des objets type framboise obtenus par réaction de couplage entre les nanoparticules et les microparticules.¹⁰¹ Barres d'échelle : (a) 50 nm ; (b,c) : 1 μm.

1.3.3.2.4 Par amination réductrice

En 1864, Schiff découvrit les imines (aussi connues sous le nom de bases de Schiff), produit de la réaction entre un composé carbonylé (aldéhyde ou cétone) et une amine primaire.¹⁰² Les équipes de Palmer et de Witek utilisèrent cette réaction dans le but d'attacher des enzymes soit sur des particules de silice¹⁰³ soit de polymère (polyvinylamine-co-divinylbenzène)¹⁰⁴ fonctionnalisées avec du glutaraldéhyde. Elle fut également utilisée par Stein et coll. pour assembler des particules sphériques avec des structures tétrapodiques possédant une réactivité de site spécifique au niveau des extrémités.¹⁰⁵ Leur stratégie de synthèse consiste à utiliser un cristal colloïdal CFC de particules de PMMA comme moule inverse sacrificiel pour synthétiser une structure macroporeuse de silice. Après passivation de sa surface, cette structure est fragmentée par agitation vigoureuse en présence d'un aminosilane venant se condenser sur les extrémités fraîchement générées (figure 1.36a). L'enrichissement morphologique en particules tétrapodiques est réalisable par plusieurs cycles de centrifugation sur gradient de densité d'éthylène glycol/éthanol à 1 000 tr/min pendant 30 secondes. Des particules satellites de 45 nm sont parallèlement fonctionnalisées avec le triéthoxysilylundecanal. L'assemblage entre les deux briques élémentaires est finalement réalisé par amination réductrice (figure 1.36b).

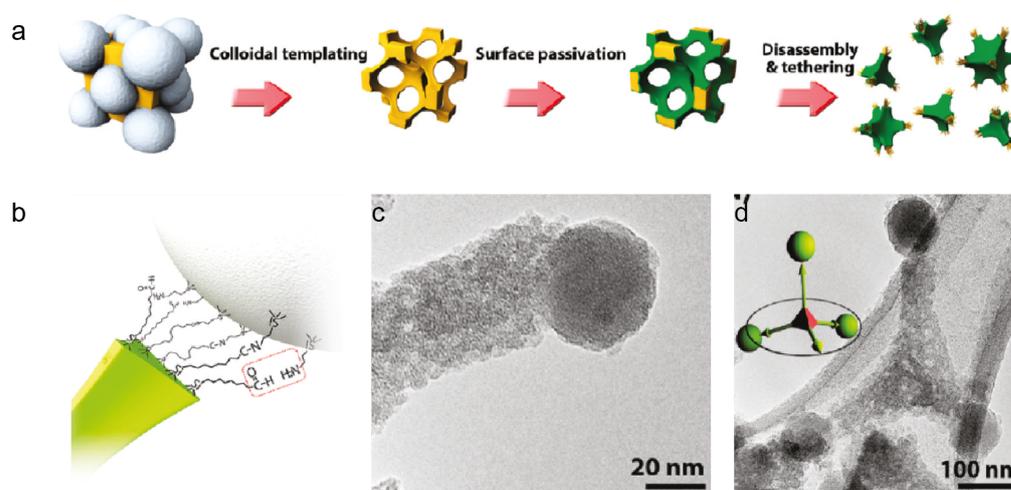


FIGURE 1.36 – Assemblage par amination réductrice. (a) Schéma illustrant les étapes pour produire des tétrapodes dont les extrémités sont réactives; (b) schéma de la chimie d'assemblage par amination réductrice; (c,d) clichés MET de l'assemblage entre des particules de silice d'environ 45 nm de diamètre et les extrémités d'un tétrapode.¹⁰⁵

1.3.3.2.5 Travaux menés à l'université de Bordeaux

Au sein du laboratoire, des molécules colloïdales 0D furent obtenues à partir des particules à patchs cavitaires précédemment décrites (figure 1.21). La stratégie générale consiste à fonctionnaliser les chaînes de PS présentes au fond des fossettes afin qu'elles puissent interagir avec des fonctions complémentaires portées en surface par des particules de silice sphériques. Au cours de sa thèse, Pierre-Etienne Rouet explora différentes voies d'assemblage covalentes et ce pour des particules à deux, trois ou quatre patchs cavitaires. Parmi celles-ci, la voie base de Schiff consistant à faire réagir une amine avec un aldéhyde pour former une imine; la voie thiol-ène, réaction radicalaire entre un thiol et un alcène; la voie par chimie click avec ou sans catalyse par le cuivre et la voie peptidique; réaction entre une amine et un acide carboxylique.

Voie base de Schiff

Les groupements aldéhydes présents sur les particules de silice sphériques sont obtenus par réaction des groupements amines avec le glutaraldéhyde. Malgré cette fonctionnalisation, des groupements amines sont toujours présents à la surface et sont responsables de l'agrégation des particules sphériques entre elles (figure 1.37a). L'utilisation de glutaraldéhyde en large excès permet de limiter ce phénomène (figure 1.37b). L'utilisation d'un rapport nombre de particules satellites/nombre de fossettes de 4/4 conduit à l'obtention de molécules colloïdales 0D dont 35 % d'entre elles possèdent deux satellites.

Pour pallier au problème d'assemblage des particules satellites entre elles, d'autres voies d'assemblage furent étudiées. Chaque brique élémentaire est fonctionnalisée par un grou-

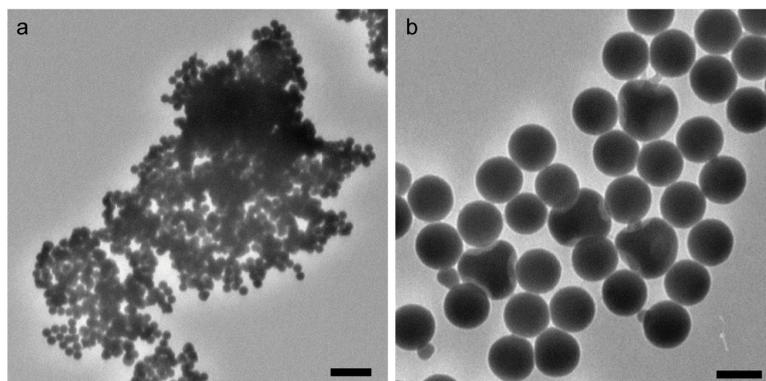


FIGURE 1.37 – Assemblage par voie base de Schiff. Clichés MET des assemblages réalisés avec des particules sphériques fonctionnalisées avec (a) un faible excès ; (b) un large excès de glutaraldéhyde. Barres d'échelle : (a) 500 nm ; (b) 100 nm.

pement chimique ne pouvant réagir qu'avec celui présent sur l'autre type de brique élémentaire.

Voie thiol-ène

L'assemblage par voie thiol-ène fut donc étudié entre des particules sphériques fonctionnalisées avec des alcènes et des particules à patches dont les chaînes de PS sont thiolées. Il s'effectue en présence d'azobisisobutyronitrile (AIBN) et requiert un stimuli externe. L'utilisation d'ultrasons et d'UV fut testée aussi bien en milieu éthanol qu'en milieu DMF. Les caractérisations par microscopie montrent que les particules à patches ont tendance à s'assembler entre elles par interactions hydrophobes de leurs chaînes de PS comme le montre la figure 1.38. Quels que soient le stimulus et le solvant employé, l'assemblage n'est pas efficace et ne conduit qu'à un faible taux d'occupation des fossettes (<25%). Ceci pourrait être dû à une fonctionnalisation partielle des chaînes de PS par les thiols en raison de l'emploi d'éthanol — mauvais solvant du PS — lors de cette étape.

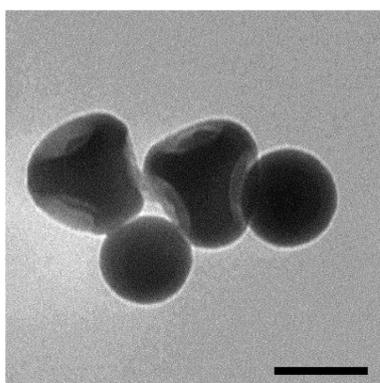


FIGURE 1.38 – Interaction hydrophobe fossette-fossette. Cliché MET de l'interaction hydrophobe entre deux fossettes appartenant chacune à une particule à quatre patches. Barre d'échelle : 100 nm.

Voie chimie click

Une troisième voie d'assemblage fut alors testée. Celle-ci est une réaction de chimie click où des alcynes et des azotures peuvent réagir à l'aide d'une catalyse au cuivre (I). L'assemblage est réalisé dans l'eau. En plus des particules tétravalentes (figure 1.39a), l'assemblage a aussi été réalisé sur des particules tri et bivalentes (figure 1.39b). L'efficacité de l'assemblage augmente avec la réduction de la valence de la particule centrale avec des taux d'occupation des fossettes de 31 % avec les particules de silice tétravalentes, 39 % avec les trivalentes et 73 % avec les bivalentes. Ceci pourrait être dû à l'accessibilité des chaînes de PS. En effet, les fossettes sont plus profondes pour les particules tétravalentes que pour les particules trivalentes et bivalentes. L'apparition de nanoparticules de cuivre à la surface des particules sphériques fut par ailleurs constatée avec le temps (figure 1.39c). Pour éviter cela, la réaction peut être menée sans cuivre grâce à l'instabilité d'un alcyne cyclique tendu. Les assemblages réalisés avec cette méthode furent plus efficaces avec 53 % et 74 % de taux d'occupation respectifs dans le cas des particules tétra et bivalentes (figure 1.39d, e).

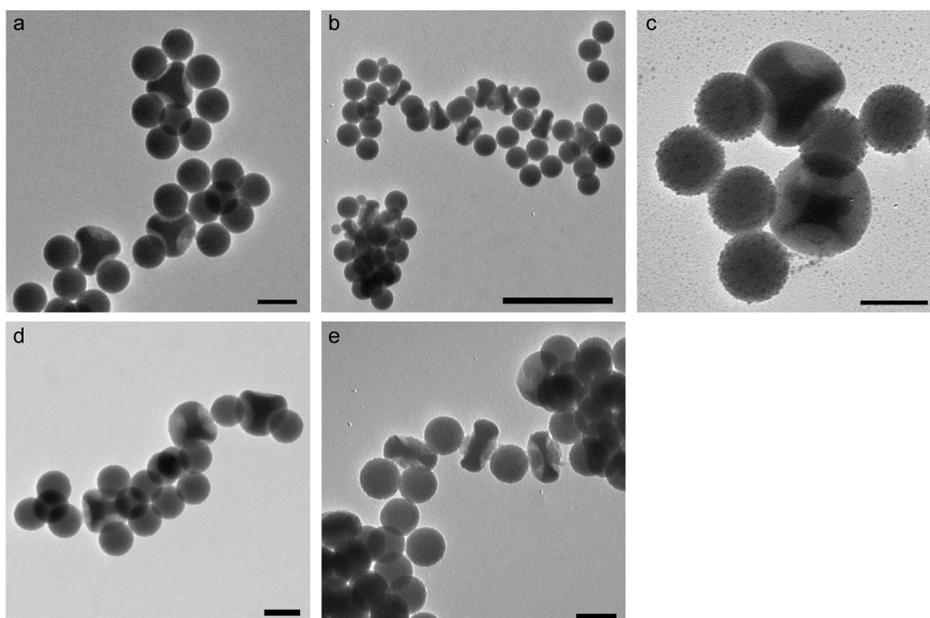


FIGURE 1.39 – Assemblages de nanoparticules par chimie click. Clichés MET de l'assemblage catalysé par le cuivre entre des particules de silice satellites fonctionnalisées par des alcynes et des particules de silice (a) tétravalentes; (b) bivalentes dont les chaînes de PS sont fonctionnalisées par des azotures. (c) Cliché MET d'un lot après 7 jours d'assemblage dont la surface des particules de silice satellites est recouverte de nanoparticules de cuivre. Clichés MET de l'assemblage par chimie click entre des particules de silice satellites fonctionnalisées par des cyclootynes et des particules de silice (d) tétravalentes; (e) bivalentes dont les chaînes de PS sont fonctionnalisées par des azotures. Barres d'échelle : (a, c, d, e) 100 nm; (b) 500 nm.

Voie peptidique

La dernière voie étudiée fut la voie peptidique. Cette stratégie consiste à fonctionnaliser les chaînes de PS des particules à patches par des fonctions amines puis de fonctionnaliser les particules de silice sphériques par des fonctions acide carboxylique. Pour que la réaction ait lieu, une activation est nécessaire. Les assemblages pour lesquels l'acide carboxylique est activé par un carbodiimide tel le 1-éthyl-3-(3-diméthylaminopropyl)carbodiimide (EDC) ou le dicyclohexylcarbodiimide (DCC) s'avèrent moins efficaces que les assemblages réalisés avec des particules sphériques activées par le chloroformiate d'éthyle. Afin d'éviter l'hydrolyse de l'anhydride d'acide ester formé, l'assemblage doit avoir lieu dans le DMF anhydre.

Le tableau 1.1 résume l'ensemble des résultats obtenus par ces méthodes d'assemblage dans le cas d'un rapport nombre de particules satellites/nombre de fossettes de 4/4.

TABLEAU 1.1 – Morphologie des molécules colloïdales 0D obtenues selon la chimie d'assemblage employée pour un rapport « nombre de particules de silice sphériques/nombre de cavités disponibles » de 4/4¹⁰⁶.

	Voie base de Schiff	Voie thiol-ène				Voie chimie-clic		Voie peptidique			
	2 ^{ème} lot de silice fonctionnalisée	Ultrasons		Irradiation UV		Avec cuivre	SPAAC	∅	EDC	DCC	Chloroformiate d'éthyle
Solvant	DMF/H ₂ O	EtOH	DMF	EtOH	DMF	H ₂ O		DMF			
% de cavités occupées par un satellite	52	23	26	15	16	31	53	13	42	33	85
% de clusters sans satellite	8	42	32	56	55	18	13	59	17	20	0
% de clusters à un satellite	21	30	41	33	31	33	24	31	29	38	1
% de clusters à deux satellites	35	20	23	9	10	29	30	8	31	32	15
% de clusters à trois satellites	29	8	1	1	4	15	23	2	16	8	25
% de clusters à quatre satellites	7	0	3	1	0	5	10	0	6	2	59

La meilleure voie d'assemblage est donc le couplage peptidique lorsque la fonction acide carboxylique est activée par le chloroformiate d'éthyle. C'est en se basant sur cette chimie que d'autres études furent menées. L'influence de la « valence » de l'atome central fut par exemple étudiée. En se plaçant dans un rapport nombre de particules satellites/nombre de fossettes de n/n (dans le cas où l'atome central dispose de n patches), des molécules furent obtenues. Dans le cas où l'atome central est une particule de silice bivalente et qu'une molécule colloïdale imitant le dioxyde de carbone veut être obtenue en grande proportion par l'assemblage, alors une sur-stœchiométrie de 3/2 doit être imposée. Ceci permet d'ob-

tenir 31 % de molécules AX_2 (figure 1.40a) alors que le rapport stœchiométrique conduit principalement à des molécules colloïdales AXE . Dans le cas où l'atome central est une particule de silice trivalente, un rapport 3/3 permet d'obtenir majoritairement des molécules colloïdales AX_3 avec près de 50 % de rendement morphologique (figure 1.40b). Avec un atome central tétravalent, un rendement morphologique de 59 % est obtenu en utilisant un rapport 4/4 (figure 1.40c-d).

En se concentrant sur ces particules de silice tétravalentes, une autre étude fut menée. Celle-ci consiste à faire varier le rapport nombre de particules satellites/nombre de fossettes pour se placer dans des rapports 2/4 et 3/4 afin de fabriquer des molécules colloïdales imitant les molécules d'eau et d'ammoniac respectivement. Cette étude sera détaillée dans le chapitre 3 (*cf.* paragraphe 3.1).

Finalement une étude consistant à utiliser deux lots de particules satellites fut menée. Le premier lot est constitué par les particules satellites utilisées dans les études précédentes. Le second lot est constitué de particules de 100 nm également disposant d'un cœur d'or de 15 nm. En jouant sur le rapport entre ces deux lots, des molécules colloïdales de type $AX_{4-n}Y_n$ peuvent être fabriquées¹⁰⁷ (figure 1.40e). Ainsi en imposant un rapport nombre de particules de silice/nombre de particules coeur-écorce/nombre de fossettes de 3/1/4, 2/2/4, 1/3/4 et 4/0/4 les morphologies ciblées sont majoritairement obtenues avec des rendements morphologiques respectifs de 43 %, 50 %, 41 % et 52 %.

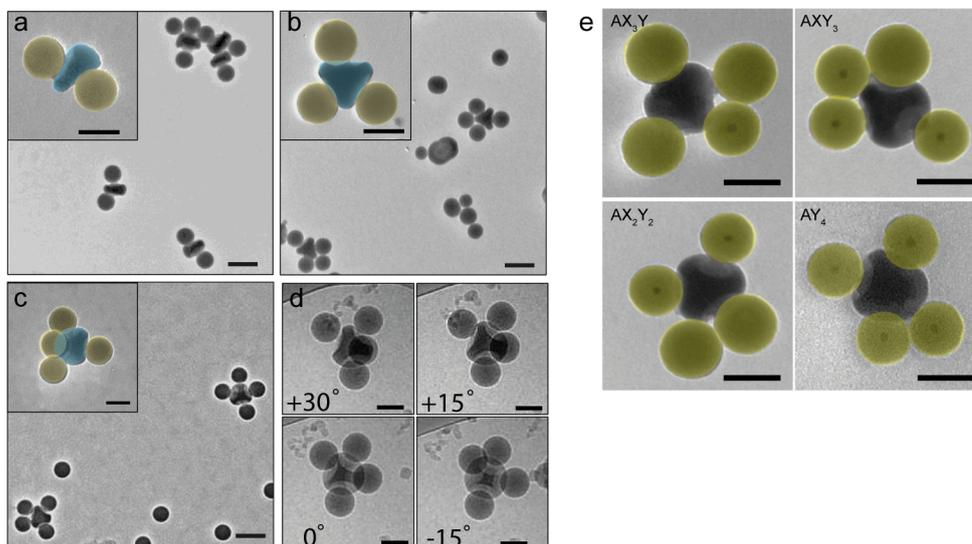


FIGURE 1.40 – Formation de molécules colloïdales par assemblage de nanoparticules à patches via une réaction d'amidation. Clichés MET de molécules colloïdales de type (a) AX_2 ; (b) AX_3 ; (c) AX_4 . (d) Clichés de cryoEM de molécules colloïdales AX_4 ; (e) Clichés MET de molécules colloïdales de type $AX_{3-n}Y_n$ constituées de deux types de particules satellites.^{108, 107} Barres d'échelle : (a-d) 200 nm et 100 nm pour les encarts; (e) 100 nm.

1.4 Conclusion et objectifs de la présente étude

Un nombre relativement important de recherches concernant d'abord la synthèse puis l'auto-assemblage de particules colloïdales à patchs ont été publiées. Comme cela a pu être montré au travers de quelques exemples, il existe un grand nombre d'approches pour la synthèse de ces particules. Celles-ci sont devenues de plus en plus complexes au fil des années de manière à imiter au mieux les atomes, entités disposant d'une valence dictant le nombre ainsi que la direction des liaisons qui peuvent être créées.

De nombreuses voies d'assemblage ont également été explorées (déplétion, hydrophobe, magnétique, chimie covalente). À l'heure actuelle, peu de travaux concernent l'assemblage par voie covalente, une grosse partie ayant été consacrée à l'assemblage par voie ADN (liaison H). Cela s'explique par le fait que l'utilisation de brins complémentaires permet un meilleur contrôle sur les assemblages, conduisant in fine à l'élaboration de structures plus complexes bien que le coût soit conséquent et les quantités produites faibles.

Les travaux présentés dans ce manuscrit portent sur l'assemblage par voie covalente des nanoparticules de silice à patchs cavitaires développées à l'université de Bordeaux. Les liaisons fortes offertes par cette chimie permettent d'obtenir des assemblages robustes comparés aux autres voies d'assemblage. Jusqu'à présent les puretés morphologiques des clusters silice/PS n'atteignent qu'au mieux 80%. L'ambition de ces travaux est donc d'améliorer ce taux de pureté, crucial dans le cadre de la synthèse de structures colloïdales 1D, 2D et 3D. Ceci peut être réalisé de deux manières : optimiser la synthèse et/ou purifier les clusters synthétisés.

Ces objets ont la particularité d'avoir des patchs entropiques et enthalpiques du fait de la présence de chaînes de PS au fond des cavités. Ces travaux font suite à ceux de Cyril Chomette¹⁰⁹ qui avait réalisé la fonctionnalisation de ces chaînes et de ceux de Pierre-Étienne Rouet¹⁰⁶ qui avait synthétisé des molécules colloïdales avec notamment des morphologies plus complexes telles que AX_2E_2 imitant la molécule d'eau. L'assemblage covalent par couplage peptidique nécessite plusieurs étapes de fonctionnalisation pour préparer les briques élémentaires. De plus, les fonctions acide carboxyliques doivent être activées afin qu'elles réagissent avec les fonctions amines localisées sur les chaînes de PS. Enfin, l'espèce active s'hydrolyse en présence d'eau ce qui représente une contrainte pour réaliser l'assemblage dans les meilleures conditions. Cette chimie devrait pouvoir être simplifiée pour réduire le nombre d'étapes et s'affranchir du milieu anhydre.

Il serait intéressant de pouvoir suivre en direct les assemblages en suspension. En effet, les observations faites en MET conventionnelle sont entachées d'artefacts liés au séchage. La microscopie optique n'est cependant pas une option puisque les particules mises en jeu sont de taille largement submicrométrique. Depuis quelques années, la MET en voie liquide émerge

comme une technique d'observation des nanoparticules en suspension. C'est pourquoi ces travaux ont également porté sur le développement expérimental de cette technique dans le but ultime d'observer la dynamique d'assemblage des briques élémentaires.

Chapitre 2

Synthèse et fonctionnalisation des briques élémentaires de silice

Ce chapitre traite de la synthèse et de la fonctionnalisation des briques élémentaires nécessaires aux études d'auto-assemblage : les particules à patchs cavitaires et les particules satellites. Pour chacune d'elles, la synthèse et la fonctionnalisation sont abordées (figure 2.1). Le procédé de synthèse des nanoparticules de silice à patchs fut développé à l'université de Bordeaux.^{41,43}

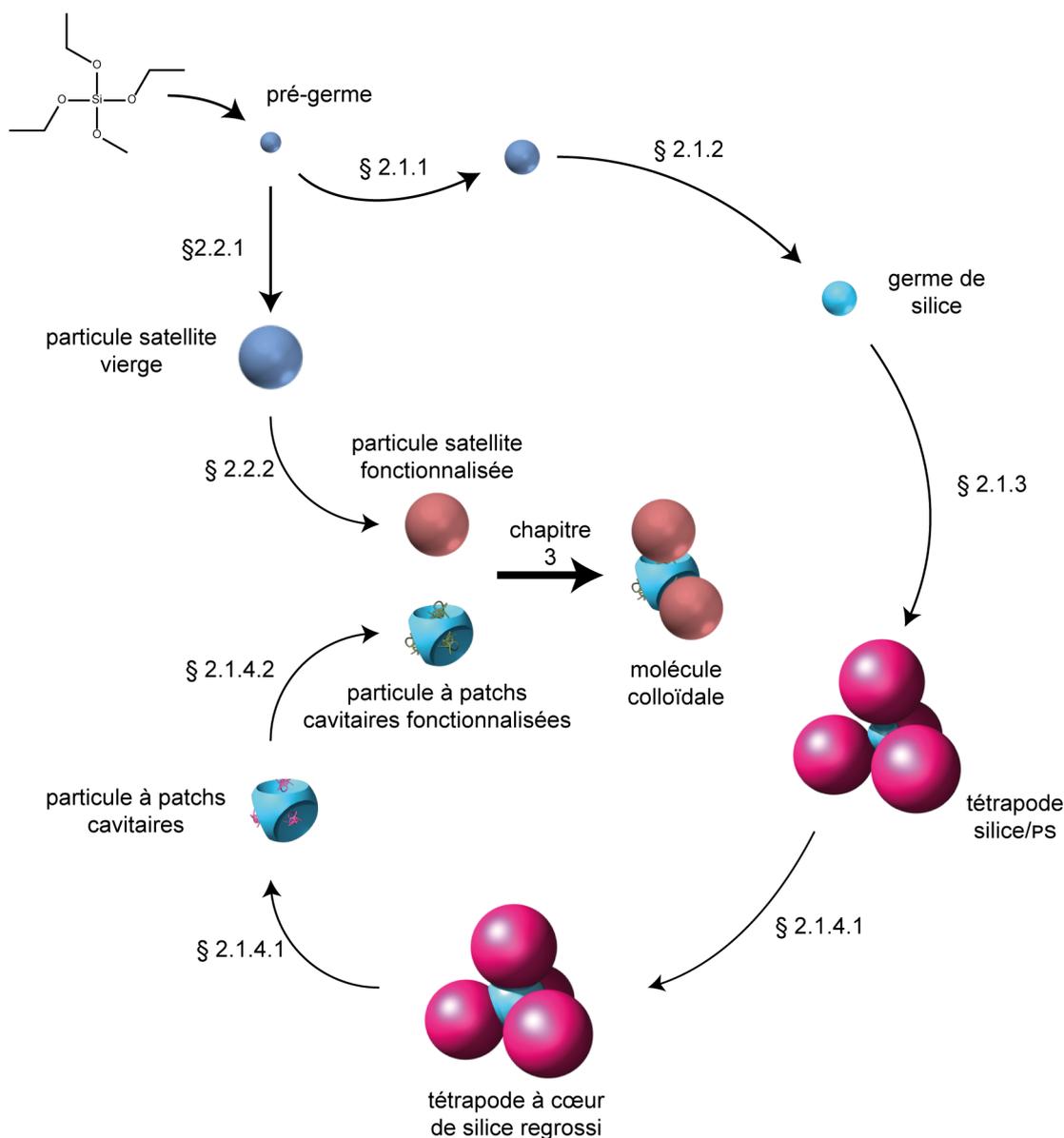


FIGURE 2.1 – Schéma général d'élaboration des briques élémentaires nécessaires aux études d'auto-assemblage.

Dans les deux cas, ces particules sont constituées de silice et sont issues de procédés multi-étapes dont les deux premières sont communes. En effet, des lots de particules de silice monodisperses et calibrées en taille sont synthétisées par voie sol-gel. Pour fabriquer des particules à patchs, leur surface est fonctionnalisée afin de les utiliser en tant que germes dans une polymérisation ensemencée du styrène pour obtenir des tétrapodes silice/PS.

L'étape suivante consiste à faire grossir le cœur de silice puis à dissoudre les nodules de PS pour dévoiler des fossettes à la surface des particules.

Les deux briques sont rendues chimiquement réactives l'une vis-à-vis de l'autre. Ainsi, les patchs sont rendus chimiquement réactifs grâce à la fonctionnalisation des chaînes de PS présentes dans les cavités alors que les particules sphériques à vocation satellite sont fonctionnalisées en surface de manière isotrope.

Les protocoles présentés dans ce chapitre ont pour la plupart été mis au point lors de travaux précédents^{110,111,40,41,109,106,91} et certains ont été optimisés. Les travaux de purification visant à augmenter la pureté morphologique des particules à patchs sont également présentés dans ce chapitre.

2.1 Les nanoparticules de silice à patchs

2.1.1 Synthèse des nanoparticules de silice

Il s'agit de la fabrication de lots de germes de silice monodisperses et calibrés en taille. Leur synthèse s'effectue en deux étapes.

Dans un premier temps, des pré-germes d'environ 30 nm sont synthétisés selon le protocole 1, une version revisitée du protocole rapporté par Hartlen pour l'élaboration de germes de 24 nm de diamètre.¹¹² Un milieu biphasique est préparé pour réaliser l'hydrolyse de l'orthosilicate de tétraéthyle (TEOS) qui constitue alors la phase organique. Dans la phase aqueuse, la L-arginine permet d'avoir des conditions catalytiques basiques douces avec un pH de l'ordre de 9-10, contrairement à celles d'un milieu ammoniacal employé dans le procédé Stöber dont le pH est aux alentours de 11-12. L'agitation lente de la phase aqueuse permet une hydrolyse du TEOS limitée à l'interface ce qui induit une diffusion lente dans la phase aqueuse d'intermédiaires hydroxylés et promeut une nucléation contrôlée. Une fois la nucléation terminée, le TEOS continûment hydrolysé se condense à la surface des particules. De plus, la L-arginine est aussi supposée améliorer la stabilisation colloïdale en s'adsorbant de manière électrostatique à la surface des nanoparticules.

Protocole 1 : Synthèse des pré-germes de silice

Dans un réacteur cylindrique double enveloppe équipé d'une colonne réfrigérante et d'un barreau aimanté sont introduits 100 mL d'une solution de L-arginine à 6 mmol/L. La solution est chauffée à 60 °C par circulation d'eau dans l'enveloppe et agitée à 200 tr/min. Après 15 min d'homogénéisation, 10 mL de TEOS sont ajoutés au centre du vortex pour former une phase organique au-dessus de la phase aqueuse (*cf.* figure 2.2). La réaction est terminée lorsque la phase organique a disparu et le milieu est devenu légèrement trouble (après environ 3 jours). Les pré-germes sont observés par MET pour en connaître l'aspect et la taille. Le microscope utilisé est un JEOL JEM-1400+ opérant à une tension d'accélération de 120 kV. La concentration en pré-germes est quant à elle déterminée par la

méthode des extraits secs.

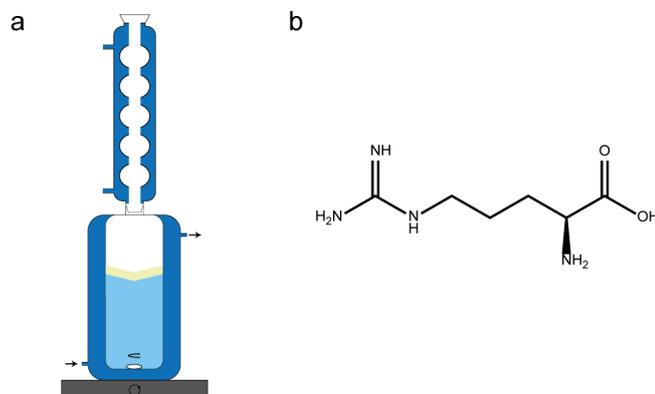


FIGURE 2.2 – Synthèse des pré-germes. (a) Schéma du montage utilisé pour la synthèse de pré-germes et (b) formule chimique de la L-arginine

La détermination du diamètre des particules est effectuée grâce au logiciel imageJ. Après conversion des clichés MET en images binaires, la fonction *analyze particles* est utilisée pour déterminer l'aire occupée par chaque particule et ainsi remonter à la valeur du diamètre. Si nécessaire, la fonction *watershed* est utilisée pour séparer les particules en contact. Le diamètre moyen d'un lot est déterminé par analyse statistique d'au moins 600 objets. L'ensemble des valeurs de diamètre permet de calculer l'indice de polydispersité en taille du lot selon l'équation (2.1).

$$PDI = \frac{\overline{D_w}}{\overline{D_n}} = \frac{\sum n_i}{\sum n_i \times d_i} \times \frac{\sum n_i \times d_i^4}{\sum n_i \times d_i^3} \quad (2.1)$$

Au cours de ces travaux, 18 lots de pré-germes ont été synthétisés selon ce protocole. Le diamètre moyen des particules obtenues est de 30 ± 5 nm. Cette faible polydispersité en taille montre la robustesse de cette étape. Le cliché MET (figure 2.3a) montre un de ces lots de pré-germes. Sa distribution en taille est représentée par l'histogramme rouge figure (2.3c). La caractérisation par diffusion dynamique de la lumière (DLS) de ce même lot donne une valeur de diamètre moyen de 38 nm (tableau 2.1). Les deux valeurs sont cohérentes puisqu'avec la DLS c'est le diamètre hydrodynamique qui est obtenu, c'est-à-dire le diamètre de la particule incluant sa couche d'hydratation.

TABLEAU 2.1 – Diamètre et indice de polydispersité en taille mesuré par MET et par DLS des deux lots présentés figure 2.3 et synthétisés selon les protocoles 1 et 2.

Échantillon	Diamètre ciblé (nm)	Diamètre MET (nm)	PDI	Diamètre DLS (nm)	PDI
Pré-germes	30	27 ± 2	1.060	38	0.054
Germes	55	53 ± 2	1.032	64	0.072

Dans un second temps, la recroissance des pré-germes est opérée selon le procédé décrit par Stöber et ses collègues en 1968,¹¹³ c'est-à-dire dans un milieu hydro-alcoolique en présence d'ammoniaque (protocole 2). Cette méthode fiable et robuste¹¹⁴ permet de cibler

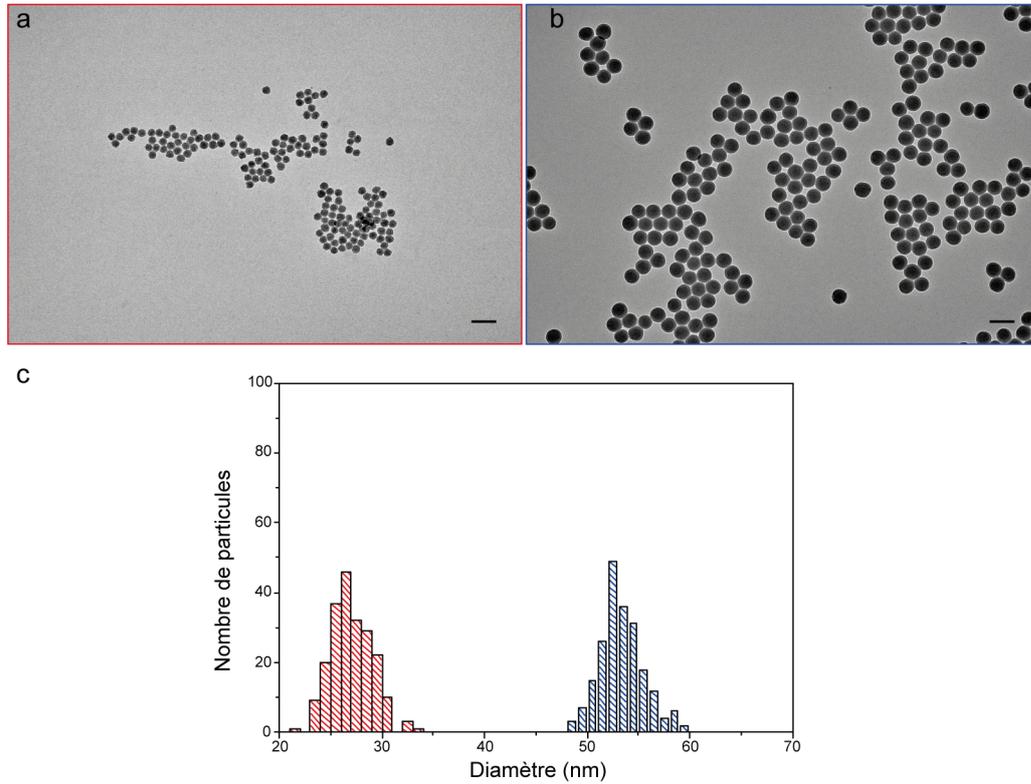


FIGURE 2.3 – Clichés MET et histogramme de distribution de taille de nanoparticules de silice. Clichés MET d'un lot (a) de pré-germes ($d=27 \pm 2$ nm) et (b) de germes ($d=53 \pm 2$ nm). (c) Histogramme de la distribution en taille des pré-germes et des germes obtenus après regrossissement des pré-germes. Barres d'échelle : 100 nm

la taille finale désirée grâce à l'ajout d'un volume de TEOS calculé selon l'équation (2.2) en se basant sur la mesure de la taille initiale obtenue par caractérisation en MET et par calcul de la concentration particulaire de l'échantillon à faire croître. Pour éviter la nucléation secondaire, il est nécessaire que l'alcoxyde ajouté soit exclusivement consommé pour la croissance des pré-germes. Pour créer ce régime affamé, le TEOS doit être ajouté progressivement.¹¹⁵ Un ajout à débit lent contrôlé par un pousse-seringue permet ainsi de contrôler cette étape de recroissance.

Protocole 2 : Recroissance des pré-germes de silice

455 mL d'éthanol, 35 mL d'ammoniaque 28% et 10 mL de la suspension aqueuse de pré-germes obtenue lors de l'étape précédente (protocole 1) sont introduits dans un ballon monocol d'un litre et mélangés grâce à un barreau magnétique tournant à 350 tr/min. Pour obtenir le diamètre de nanoparticules ciblé, le volume de TEOS est calculé selon l'équation suivante :

$$V_{\text{TEOS}} = \frac{M_{\text{TEOS}} \times C_{\text{SiO}_2}}{M_{\text{SiO}_2} \times \rho_{\text{TEOS}} \times r_i^3} \times (r_f^3 - r_i^3) \quad (2.2)$$

avec M la masse molaire, ρ la masse volumique, N_{SiO_2} le nombre de particules de silice, r_f le rayon ciblé de la silice et r_i son rayon initial. Le TEOS est ajouté à l'aide d'un pousse-seringue automatique à un débit de 0,5 mL/h. Le diamètre final moyen des nanoparticules est vérifié par MET sur au moins 300 objets. La concentration des nanoparticules est déterminée par la méthode des extraits secs.

Au cours de ces travaux de thèse, cette étape de croissance a été répétée à 63 reprises. La robustesse du protocole permet d'avoir des particules dont le diamètre diffère peu d'un lot à l'autre. Ainsi, en moyenne, le diamètre des particules obtenues est de 56 ± 3 nm. Le cliché MET figure 2.3b montre un lot de particules après croissance. Sa distribution en taille est représentée par l'histogramme bleu figure 2.3c. La caractérisation par DLS de ce même lot donne une valeur de diamètre moyen de 64 nm (tableau 2.1).

2.1.2 Fonctionnalisation des germes de silice

Pour que ces particules puissent être utilisées comme germes lors d'une polymérisation en émulsion du styrène, leur surface doit être fonctionnalisée par un groupement permettant de rendre la silice partiellement organophile et permettant également l'établissement de liaisons covalentes avec le polystyrène. Pour se faire, l'agent de couplage utilisé est le MMS, un alcoxy silane portant un groupement méthacrylate. Les travaux de thèse précédents ont montré qu'un taux de greffage nominal de $0,5 \text{ fct}_{\text{MMS}}/\text{nm}^2$ semblait être le meilleur compromis pour former des clusters silice/PS avec un angle de contact de $142,4^\circ$ (figure 2.4).^{41,116} En effet, avec une densité de greffage trop faible, le polystyrène ne peut pas établir suffisamment de liaisons avec la surface du germe et le cluster devient fragile. Ce phénomène fut observé par Perro *et al.*¹¹⁷ Lors de la préparation de grilles MET, ces clusters perdent certains de leurs nodules. Ainsi plusieurs morphologies ont pu être observées telles que le super-carré, issu d'un octopode ayant perdu quatre nodules tombés à proximité de la structure, le super-triangle issu d'un hexapode, le super-pentagone issu quant à lui d'un décapode ou encore le carré et le diamant issus de tétrapodes. À l'inverse, une densité de greffage trop élevée rend la surface trop hydrophobe, donc trop mouillante pour le PS qui forme alors une couche continue autour du germe pour former une particule cœur-écorce.

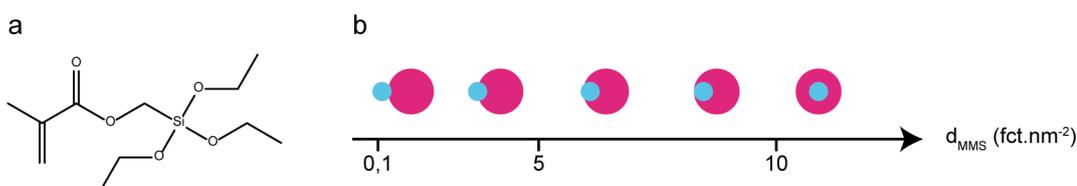


FIGURE 2.4 – Fonctionnalisation des nanoparticules de silice. (a) Formule chimique du MMS et (b) vue en coupe de l'évolution de la morphologie en fonction du taux de greffage en MMS.

La fonctionnalisation de surface des nanoparticules de silice est réalisée dans la continuité de leur synthèse selon le protocole 3.^{41,109,106,42}

Protocole 3 : Fonctionnalisation des germes de silice

Un volume V_{MMS} de MMS à 10^{-1} mol/L, calculé selon l'équation (2.3), est introduit dans le ballon d'un litre contenant la suspension obtenue selon le protocole 2. Après agitation à 350 tr/min durant 3 h à température ambiante, le mélange est porté à reflux pendant 1 h. L'ammoniaque et l'éthanol sont partiellement éliminés à l'évaporateur rotatif à 60°C sous 250 mbar. De l'eau ultrapure est ensuite

ajoutée afin d'évaporer le restant d'éthanol. La suspension est enfin dialysée contre l'eau renouvelée régulièrement pendant 3 jours. Après dialyse, la concentration de la suspension est déterminée par la méthode des extraits secs.

$$V_{\text{MMS}} = \frac{3 \times C_{\text{SiO}_2} \times V_{\text{susp}} \times \tau_{\text{MMS}} \times M_{\text{MMS}}}{\rho_{\text{SiO}_2} \times r_{\text{SiO}_2} \times N_A \times \text{pureté} \times \rho_{\text{MMS}}} \quad (2.3)$$

avec C_{SiO_2} la concentration en silice de la suspension, V_{susp} le volume de suspension à fonctionnaliser, τ_{MMS} le taux de greffage en MMS (ici $0,5 \text{ fct}/\text{nm}^2$) et N_A le nombre d'Avogadro.

Une fois modifiées, les particules ne font pas l'objet de caractérisations spécifiques. Le succès du greffage de l'agent compatibilisant n'est confirmé que par celui de l'étape suivante de polymérisation en émulsion.

2.1.3 Synthèse de tétrapodes silice/polystyrène par polymérisation en émulsion ensemencée

Des molécules colloïdales hybrides silice/PS de morphologies multipodiques sont synthétisées par polymérisation en émulsion du styrène ensemencée par les germes de silice préalablement élaborés. Le mécanisme de cette polymérisation est de type radicalaire.

2.1.3.1 Généralités sur la polymérisation radicalaire en émulsion

La polymérisation radicalaire est une réaction en chaîne, décrite en trois étapes que sont l'amorçage, la propagation et la terminaison. Dans le système utilisé, elle se déroule en milieu hétérogène composé d'eau, de tensioactifs, d'un amorceur et du monomère. Les tensioactifs ajoutés à des concentrations supérieures à leur concentration micellaire critique (CMC) forment des micelles. Le monomère très peu soluble dans la phase aqueuse est principalement contenu dans des gouttelettes réservoirs stabilisées par le tensioactif.

La polymérisation est démarrée grâce à l'utilisation d'un amorceur soluble dans la phase continue qui subit une décomposition homolytique sous l'effet de la température. Les radicaux libres ainsi produits s'additionnent sur la double liaison des molécules de monomère — dont une petite fraction ($0,58 \text{ g/L}$ à 65°C^{118}) est solubilisée dans la phase aqueuse — pour former le centre actif.

Vient ensuite l'étape de propagation où les chaînes croissent par ajout d'unités monomères pour former des oligoradicaux. Au fur et à mesure qu'elles grandissent, ces chaînes deviennent de plus en plus hydrophobes et se stabilisent au sein des micelles où elles polymérisent tout le monomère présent. L'approvisionnement continu en monomère se fait depuis les gouttelettes réservoirs par diffusion via la phase aqueuse.

Les chaînes sont désactivées par réactions de terminaison, lorsque deux centres actifs se rencontrent. Il en existe deux types en polymérisation radicalaire, la dismutation et la re-

combinaison. Dans le cas du PS, il a été montré que la recombinaison constitue la principale voie de terminaison.¹¹⁹

2.1.3.2 Polymérisation en émulsion du styrène ensemencée par la silice : savoir-faire acquis par l'équipe préalablement à cette étude

La synthèse de multipodes silice/PS s'effectue selon le protocole développé dans le groupe lors de travaux précédents.^{110,111,41} Le nombre moyen de latex accrochés au germe de silice est contrôlé par divers paramètres expérimentaux. Ceux-ci agissent en réalité sur le rapport de taille entre les germes de silice et les nodules de PS. Il est ainsi possible de jouer sur la taille des germes de silice et sur la composition du mélange de tensioactifs.

Influence de la taille des germes de silice

Adeline Perro montra que le nombre de nodules de PS pouvant se loger à la surface d'un germe de silice est lié à son diamètre.¹¹¹ Plus le germe est gros, plus le nombre de nodules pouvant s'y attacher augmente. Un modèle inspiré des travaux de Battye *et al.* consiste à minimiser l'énergie potentielle en considérant deux termes. Le premier retranscrit l'attraction des nodules de PS pour le germe de silice alors que le second retranscrit la répulsion inter-nodulaire (equation (2.4)).¹²⁰ Ce modèle permet de relier le diamètre du germe de silice avec le nombre maximal de nodules pouvant exister à la surface (équation (2.5)).

$$E = \sum_i^n \frac{1}{2} |x_i|^2 - \sum_i^n \sum_{j < i} x_{ij} \quad (2.4)$$

$$\frac{D_{SiO_2}}{2} = K \times \left(\frac{2 \times N_{PS/SiO_2}}{3} - \frac{1}{2 \times N_{PS/SiO_2}} \right) \quad (2.5)$$

Les résultats furent confirmés par Anthony Désert qui rapporta dans ses travaux de thèse que des germes de 55 nm conduisent préférentiellement à des tétrapodes alors que des germes de 85 nm conduisent à des hexapodes et des germes de 146 nm à des dodécapodes.⁴¹

Influence de la composition du mélange de tensioactifs

Le tensioactif est un élément déterminant de la polymérisation en émulsion. Il joue un rôle essentiel dans les mécanismes de nucléation-croissance ainsi que pour la stabilisation des particules. Il existe deux types de tensioactifs : les tensioactifs ioniques et les tensioactifs non-ioniques conférant aux particules une stabilité de nature respectivement électrostatique et stérique. La polymérisation en émulsion du styrène réalisée seulement avec le NP30, un tensioactif non-ionique, a montré de nombreuses limites. Au-delà de la toxicité du tensioactif, la polymérisation est lente et conduit à l'obtention de particules relativement grosses avec coexistence de populations due entre autres à de la nucléation tardive. En revanche, toute tentative de polymérisation en son absence a conduit à des morphologies

plus variées. Sa présence est donc essentielle pour contrôler la formation de multipodes. L'utilisation simultanée de tensioactifs non-ioniques et ioniques a permis de résoudre en partie ces problèmes. En effet, l'ajout d'un tensioactif ionique permet un meilleur contrôle de l'étape de nucléation grâce à une meilleure stabilisation des particules en croissance. Les phénomènes de coalescence sont ainsi réduits générant en fin de réaction des particules plus nombreuses et donc avec des tailles plus petites que celles obtenues avec un système utilisant seulement un tensioactif non-ionique.

Anthony Désert étudia l'influence du système de tensioactifs composé de NP30 et de dodécylsulfate de sodium (SDS) en différentes proportions.⁴¹ Il montra que l'ajout du tensioactif ionique même en faible quantité améliore considérablement la polymérisation. Plus la quantité de SDS introduite est élevée, plus les particules de PS synthétisées sont petites et nombreuses avec une diminution quasi-linéaire de leur diamètre entre 1 et 20 w%.⁴¹ L'utilisation d'un tel système permet de former des latex avec une distribution en taille bien meilleure et de gagner en reproductibilité. Des taux de conversion proches de 100% sont atteints à des temps de réaction plus courts (5 h). Ceci s'explique par le fait que le monomère est consommé plus rapidement par les particules en croissance bien plus nombreuses que dans un système où seul le NP30 est présent.

Le modèle de Thill

Un modèle fut développé par Antoine Thill pour déterminer les morphologies obtenues en fonction des paramètres sélectionnés.¹²¹ Ce modèle est basé sur des considérations géométriques et répond au problème de l'arrangement de sphères dures en croissance à la surface d'une sphère dure centrale (*cf.* figure 2.5). Pour cela, plusieurs hypothèses sont faites : (i) Seule la nucléation hétérogène (en surface des germes) se produit. (ii) Les phases de nucléation et de croissance sont distinctes. (iii) Les nuclei sont distribués de manière aléatoire à la surface des germes de silice.

David NGuyen montra par cryoEM que dès les premières minutes de réaction, un nombre limité de nuclei apparaît à la surface des germes.⁴⁰ Ce nombre peut être influencé par divers paramètres tels que la température, le tensioactif et la concentration de l'amorceur.

Une fois l'étape de nucléation achevée commence l'étape de croissance. Le modèle de Thill simule les différents phénomènes qui peuvent avoir lieu durant cette phase. Au cours de leur croissance, il arrive un moment où les latex entrent en contact. Différents scénarios régis par des probabilités peuvent alors se produire :

- Les nodules se repoussent et se déplacent à la surface du germe (probabilité P_P)
- Les nodules ne se repoussent pas (probabilité $1 - P_P$)

L'absence de répulsion peut être due à des limitations géométriques où les nodules sont déjà tous en contact. Les simulations ont permis de déterminer les domaines d'existence

et de non-existence des clusters pour chaque valeur de nombre de nodules par germe de silice N_{PS/SiO_2} . La courbe figure 2.5a montre ces domaines. Chaque palier rouge indique la valeur limite du rapport volumique, noté R_v , entre le PS et la silice. Cette valeur représente le moment où les nodules sont en contact et ne peuvent plus se déplacer.

Pour que la croissance puisse continuer les nodules ont besoin d'espace. Deux possibilités s'offrent alors aux nodules en contact :

- La coalescence entre deux nodules (probabilité P_C)
- L'expulsion de l'un d'entre eux (probabilité $1 - P_C$)

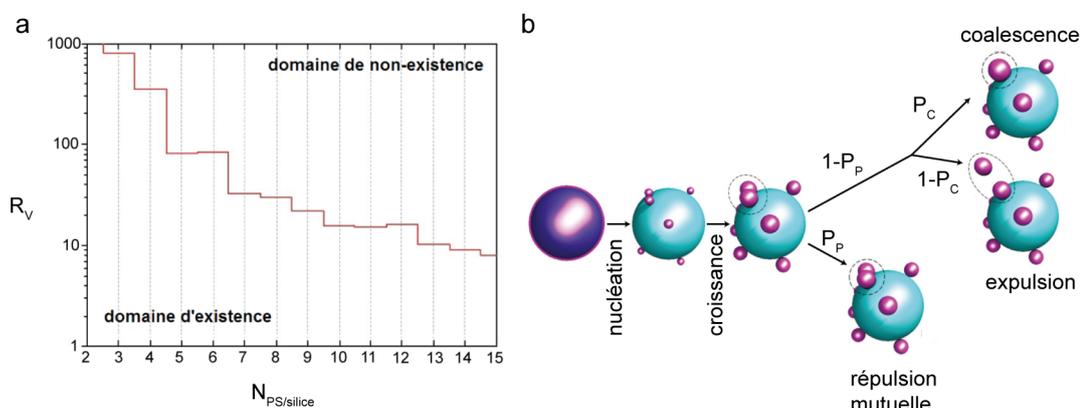


FIGURE 2.5 – Modèle de Thill. (a) Diagramme des domaines d'existence et de non-existence des clusters composés de nodules de PS arrangés à la surface d'une sphère de silice centrale. (b) Règles du modèle de Thill pour la croissance des nodules de PS¹²¹

Quelle que soit la route suivie, le nombre de nodules attachés à la surface diminue d'une unité. Néanmoins, l'évènement de coalescence entraîne l'élargissement de la distribution en taille des nodules de PS. Ce processus se répète jusqu'à la fin de la réaction de polymérisation et conditionne la morphologie majoritaire obtenue.

2.1.3.3 Synthèse de tétrapodes silice/polystyrène selon la recette type

Afin de synthétiser des tétrapodes silice/PS, le protocole suivi a été celui développé par Anthony Désert^{39,121} (protocole 4). Les germes préalablement obtenus sont ajoutés à une solution aqueuse de tensioactifs composée d'un mélange NP30/SDS avec 5% massique de SDS. L'amorçage est effectué grâce au persulfate de sodium (protocole 4).

Protocole 4 : Synthèse de tétrapodes silice/PS

Dans un ballon tricol de 250 mL sont ajoutés successivement l'eau ultrapure, 3 g/L de tensioactifs avec d'abord 950 μ L d'une solution aqueuse de NP30 à 150 g/L puis 150 μ L d'une solution aqueuse de SDS à 50 g/L pour avoir un rapport massique de 95/5, puis la dispersion de nanoparticules de silice fonctionnalisées après un traitement dans une cuve ultrasons de 15 minutes. Le volume de germes

de silice à introduire est calculé au préalable afin d'avoir une concentration précise en particules au sein du milieu réactionnel permettant l'obtention de particules hybrides silice/polystyrène ayant la morphologie ciblée.^{110,41,43} Le volume d'eau ultrapure est tel que le volume total du mélange initial (suspension+tensioactifs+eau) soit de 50 mL. Le milieu réactionnel est désaéré par bullage d'azote d'une heure à température ambiante. Puis, 5,5 mL de styrène sont introduits et le milieu est émulsionné à 300 tr/min pendant 20 min sous atmosphère d'azote. La vitesse d'agitation est ensuite abaissée à 150 rpm et la température portée à 70 °C. En parallèle, 0,1 g de persulfate de sodium est dissout dans 4 mL d'eau ultrapure et désaéré. Une fois la température stabilisée, un millilitre de la solution de persulfate de sodium est ajouté au milieu réactionnel pour amorcer la polymérisation. Après 6 h, la réaction est considérée comme terminée. La réalisation d'extraits secs permet de déterminer le taux de conversion du styrène. Les rendements morphologiques sont déterminés par MET sur la base minimale de 250 multipodes.

Au cours de ces travaux de thèse, c'est majoritairement la fabrication de tétrapodes qui a été réalisée. Pour obtenir cette morphologie, des germes de silice de 55 nm de diamètre ont été utilisés. Ils ont systématiquement été préalablement fonctionnalisés avec 0,50 fct_{MMS}/nm² selon le protocole 3. La composition du mélange de tensioactifs a toujours été de 95 et 5 % massique en NP30 et SDS respectivement.

La cinquantaine de synthèses de molécules colloïdales silice/PS réalisées conduisent majoritairement à l'obtention de tétrapodes. Les compositions de lots représentatifs sont données tableau 2.2. Les rendements sont calculés par rapport à la silice, ce qui signifie qu'un objet à deux cœurs compte double. Des sous-produits sont néanmoins formés lors de la polymérisation comme l'illustre la figure 2.6, un cliché MET du lot n°2 où les différentes morphologies de multipodes ont été colorées. Ainsi, les tétrapodes sont en vert, les tripodes en bleu et les multipodes à plusieurs cœurs, également appelés multisilices, en rouge.

TABLEAU 2.2 – Composition finale de lots de multipodes représentatifs synthétisés à partir de germes de 55 nm, fonctionnalisés selon le protocole 3 avec les conditions expérimentales suivantes : une concentration en germes de silice de 53 nm fonctionnalisés MMS de $1,8 \cdot 10^{16}$ particules/L ; une concentration en tensioactifs de 3 g/L avec un rapport massique NP30/SDS de 95/5 et une concentration en styrène de 100 g/L. * essentiellement bipodes et hexapodes.

Composition finale des lots de multipodes (%)					
n° de lot	âge des germes	tripodes	tétrapodes	autres*	multisilices
Lot 1	19 j	19	48	1	32
Lot 2	20 j	21	61	1	17
Lot 3	20 j	20	65	1	14
Lot 4	30 j	27	49	5	19
Lot 5	3 j	13	61	5	21

De façon générale, les lots possèdent plus de 15% de morphologies multisilices. Ponctuellement, cette valeur dépasse les 30 % (lot 1, tableau 2.2).

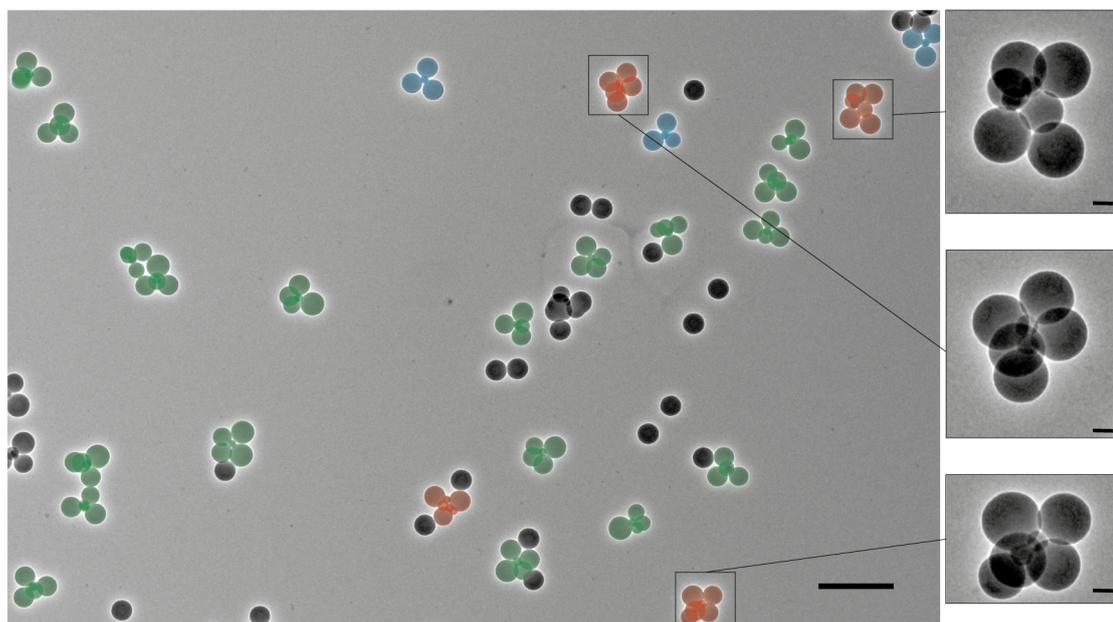


FIGURE 2.6 – Cliché MET du lot de multipodes silice/PS n°2. Les tétrapodes ont été colorés en vert, les tripodes en bleu et les multipodes à plusieurs cœurs en rouge. Barres d'échelle : 500 nm et 50 nm pour les encarts.

2.1.3.4 Comment minimiser les sous-produits de type « multisilices » ?

Ce type de morphologies est indésirable et doit par conséquent être réduit autant que possible. Elles sont récurrentes dans la plupart des synthèses effectuées et résultent vraisemblablement de dimères voire trimères déjà présents avant l'étape de polymérisation. Véronique Many mit en avant le fait que l'utilisation de germes âgés favorisait la formation de ces morphologies à plusieurs cœurs.⁴² Dans les travaux présentés dans ce manuscrit, ce facteur n'a pas eu d'influence sur la quantité de morphologies multisilice. L'âge des germes utilisés pour les synthèses de tétrapodes figure dans le tableau 2.2.

La présence de ces morphologies pourrait également être expliquée par une agrégation covalente irréversible entre les germes. Dans le présent travail, c'est cette hypothèse qui a été étudiée et dans ce cadre, la fonctionnalisation représente une étape cruciale. En effet, de cette dernière peut dépendre le reste du procédé d'élaboration des particules à patches. La fonctionnalisation idéale est celle où l'agent de couplage est réparti de manière uniforme à la surface de la particule (figure 2.7a). Avec le protocole 3, où la solution d'agent fonctionnalisant est ajoutée en une fois, il peut être envisagé que la modification de surface ne soit pas homogène (figure 2.7b) voire que les molécules de MMS, à l'instar du TEOS lorsqu'il est ajouté trop rapidement, s'hydrolysent et commencent à condenser entre elles pour ensuite se greffer en surface des particules de silice et ainsi former des « amas » d'agent de fonctionnalisation susceptibles de ponter les particules entre elles (*cf.* figure 2.7c-f).

Afin de vérifier cette hypothèse, les germes ont été analysés par MET haute résolution. Pour cela, un JEOL JEM-2200FS opérant à 200 kV a été utilisé. Malheureusement, les observations

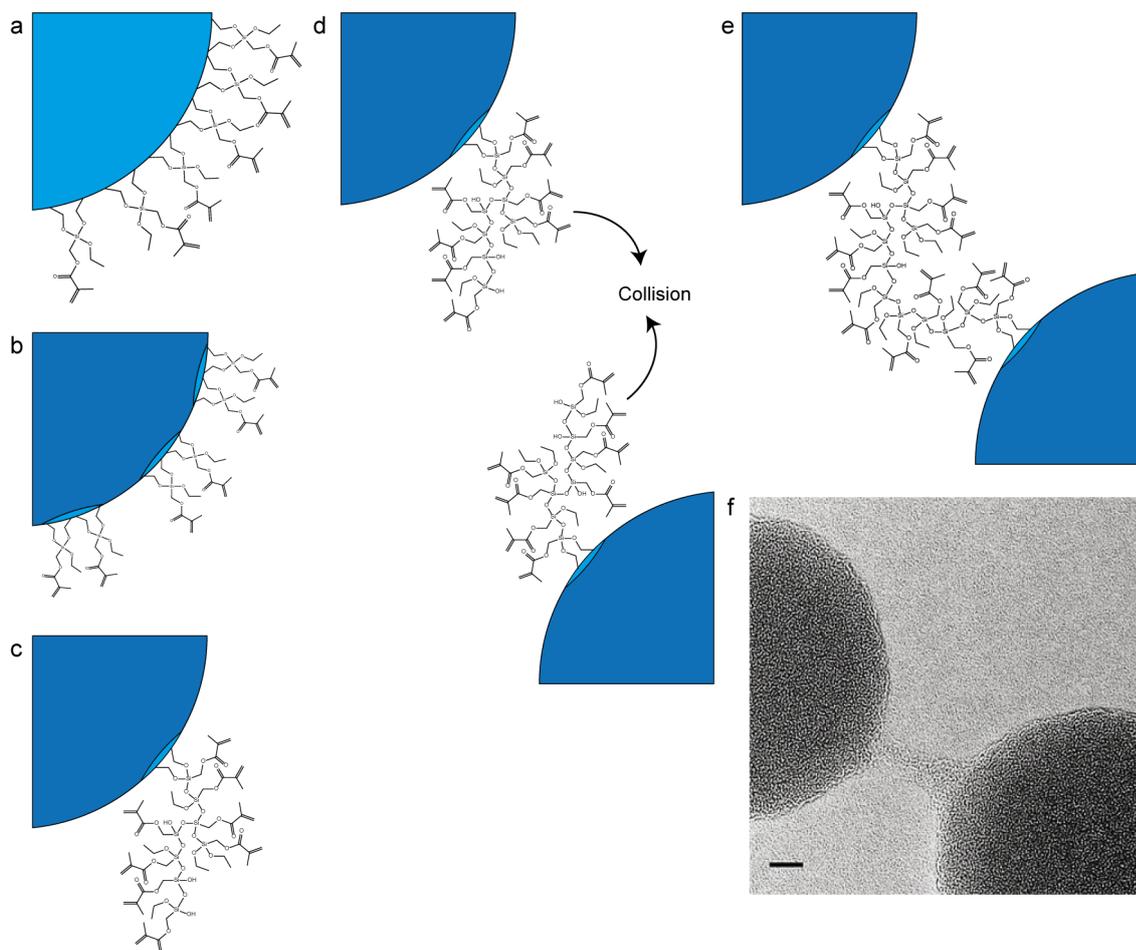


FIGURE 2.7 – Possibilités de greffage de l'agent de couplage en surface du germe et du pontage entre deux germes. (a) Un greffage homogène; (b) un greffage en îlots; (c) un greffage en amas. Le bleu clair représente la silice fonctionnalisée et le bleu foncé la silice brute. (d) Deux particules isolées avec un greffage de MMS en amas; (e) agrégées après collision; (f) cliché MET haute résolution de deux particules pontées. Barre d'échelle : 5 nm.

n'ont pas permis de mettre en évidence ces amas à la surface des particules de silice. En revanche, des ponts comme celui présenté figure 2.7f ont parfois été observés. Leur nature chimique est incertaine, leur instabilité sous le faisceau électronique n'ayant pas permis de les caractériser par analyse dispersive en énergie (EDX).

Dans le présent travail, en considérant l'hypothèse illustrée figure 2.7, il a été envisagé d'étudier l'influence de l'homogénéité de la modification de surface sur la présence de morphologies multisilices. Pour ce faire, le protocole de fonctionnalisation a été revu. Brièvement, la solution d'agent de couplage davantage diluée est ajoutée au milieu réactionnel froid (0 °C) à débit lent à l'aide d'un pousse-seringue. La diminution de la température permettrait d'abaisser la réactivité pour favoriser l'hétérocondensation plutôt que l'homocondensation des molécules de MMS.

Protocole 5 : Fonctionnalisation optimisée des germes de silice

Le ballon d'un litre contenant la suspension issue du protocole 2 est immergé dans un bain de glace. Une solution de MMS à 10^{-2} mol/L est préparée par dilution dans l'éthanol à 4 °C. Un volume V_{MMS} de cette solution, calculé selon l'équation (2.3), est ajouté progressivement à la suspension à un débit de 0,5 mL/h à l'aide d'un pousse-seringue automatique. Le milieu est agité à 350 tr/min durant la nuit. L'ammoniaque et l'éthanol sont partiellement éliminés à l'évaporateur rotatif (60 °C, 250 mbar). De l'eau ultrapure est ensuite ajoutée afin d'évaporer le restant d'éthanol. La concentration de la suspension est déterminée par extraits secs.

Des analyses élémentaires ont été faites sur des particules de silice vierges ainsi que sur des germes fabriqués soit selon le protocole 3 soit selon le protocole 5. Les résultats ne permettent pas de connaître la distribution des molécules de MMS à la surface du germe mais de constater une augmentation de la quantité de carbone présent dans le cas de la fonctionnalisation selon le protocole optimisé (*cf.* tableau 2.3). Le carbone présent sur les germes vierges provient des groupements éthoxy du TEOS non-hydrolysés. De même il est possible que l'augmentation du taux de carbone pour les germes fonctionnalisés selon le protocole 5 résulte des groupements éthoxy moins facilement hydrolysés à 0 °C. Ceci aurait pu être contrôlé en forçant l'hydrolyse par un traitement acide post-greffage. La qualité de la fonctionnalisation ne sera finalement appréciée que lors de l'étape de polymérisation, avec d'une part la réussite de la synthèse des molécules colloïdales silice/PS et d'autre part la proportion de multisilice dans le lot fabriqué.

TABLEAU 2.3 – Pourcentages de carbone obtenus par analyse élémentaire de germes avant et après fonctionnalisation selon le protocole classique ou le protocole optimisé.

Échantillon	Germes vierges	Germes classiques	Germes optimisés
Valeur 1	7,06	8,28	9,26
Valeur 2	6,91	8,01	10,28
Moyenne	7,0	8,1	9,8
Écart-type	0,1	0,2	0,7

2.1.3.5 Validation du protocole optimisé

De nouvelles réactions de polymérisation en émulsion du styrène ont été réalisées dans les mêmes conditions que précédemment (100 g/L de styrène, un taux de greffage nominal de 0,50 fct/nm² et 95 % de NP30) mais avec des germes fonctionnalisés selon le protocole 5. Les clichés de microscopie de ces lots montrent la forte diminution de la présence des morphologies multisilice. Cependant, contrairement à nos attentes, ce n'est pas à la morphologie tétrapode (qui reste néanmoins la population majoritaire) que bénéficie cette réduction mais à la morphologie tripode (tableau 2.4). Les lots synthétisés dans les conditions pour obtenir majoritairement des tétrapodes donnent davantage de tripodes que les

19% annoncés lors des travaux précédents.¹⁰⁶

TABLEAU 2.4 – Composition finale de lots de multipodes synthétisés à partir de germes de silice de 55 nm, fonctionnalisés avec un taux de greffage en MMS de 0,50 fct/nm² selon le protocole 5 et avec un rapport NP30/SDS de 95/5.

Composition finale des lots de multipodes (%)					
n° de lot	bipodes	tripodes	tétrapodes	autres	multisilices
Lot 6	2	39	57	0	2
Lot 7	3	34	59	0	4
Lot 8	4	40	53	1	1
Lot 9	6	46	45	1	2
Lot 10	12	39	44	3	2

Cette augmentation du taux de tripodes semble confirmer que la surface du germe est davantage hydrophobe comparée à celle d'un germe préparé selon le protocole classique, ce qui indiquerait un meilleur rendement greffage et/ou une meilleure homogénéité de l'agent de couplage. En effet, la surface de silice comportant plus de molécules de MMS, elle devient plus hydrophobe et donc plus mouillante, rendant les nodules de PS plus à même de coalescer pour former des morphologies avec moins de nodules comme des tripodes ou des bipodes. Une déviation entre le taux nominal et la quantité réelle de MMS greffée entre un lot de germes préparé selon le protocole classique et un lot de germes préparé selon le protocole optimisé est donc créée. Par conséquent, afin d'obtenir majoritairement des tétrapodes, il est apparu nécessaire de diminuer le taux de greffage nominal.

2.1.3.6 Influence de la réduction du taux de greffage de l'agent de couplage

Une étude de l'influence du taux de greffage nominal sur le rendement morphologique a été menée. Pour cela, la synthèse de germes fonctionnalisés selon le protocole 5 avec 0,50 - 0,40 - 0,35 et 0,25 fct/nm² a été effectuée. Les rendements morphologiques obtenus sont rapportés dans le tableau 2.5. Les germes fonctionnalisés avec un taux de greffage inférieur à 0,35 fct/nm² n'ont pas permis l'obtention de multipodes silice/PS.

Comme attendu, la diminution du taux de greffage et donc de l'hydrophobie du germe entraîne une augmentation de la proportion de tétrapodes. Il est ainsi possible de passer de lots contenant en moyenne 52% de tétrapodes pour un taux de greffage à 0,50 fct/nm² (tableau 2.4) à des lots contenant jusqu'à 89% de tétrapodes pour un taux de greffage à 0,35 fct/nm² (tableau 2.5). Des clichés de MET de lots synthétisés dans les différentes conditions expérimentales sont présentés sur la figure 2.8.

TABEAU 2.5 – Composition finale de lots de multipodes synthétisés à partir de germes de silice de 55 nm fonctionnalisés avec un taux de greffage en MMS de 0,40 ou 0,35 fct/nm² selon le protocole 5 et avec un ratio NP30/SDS de 95/5.

n° de lot	Composition finale du lot de multipodes (%)					
	taux de greffage (fct/nm ²)	bipodes	tripodes	tétrapodes	autres	multisilices
Lot 11	0,40	4	24	70	1	1
Lot 12		2	26	70	0	2
Lot 13	0,35	1	5	89	0	4
Lot 14		1	12	83	1	3
Lot 15		1	11	82	5	1
Lot 16		1	14	80	4	1
Lot 17		1	15	82	1	1

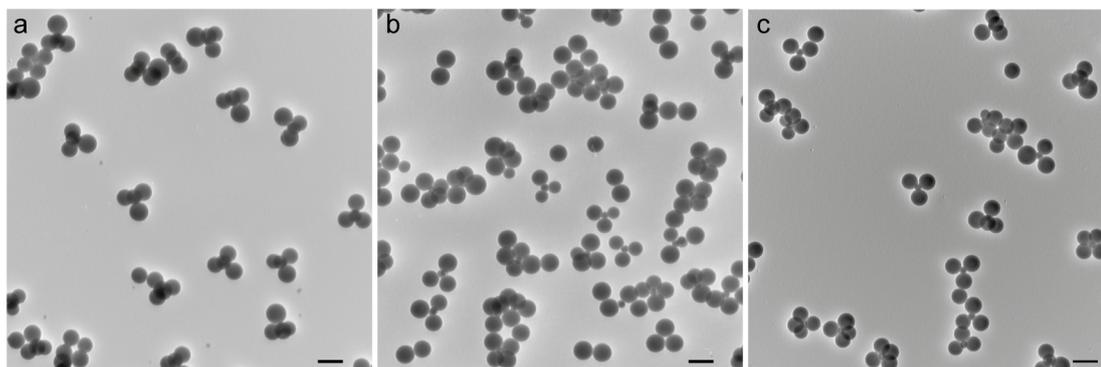


FIGURE 2.8 – Clichés MET de multipodes silice/PS synthétisés à partir de germes fonctionnalisés à différents taux de greffage. (a) Lot n°13 synthétisé avec un taux de greffage en MMS de 0,35 fct/nm² ; (b) lot n°11 synthétisé avec 0,40 fct/nm² ; (c) lot n°6 synthétisé avec 0,50 fct/nm². Barres d'échelle : 200 nm.

2.1.4 Conversion des tétrapodes silice/polystyrène en particules de silice à quatre patches

Une fois les molécules colloïdales silice/PS synthétisées, deux étapes supplémentaires sont nécessaires pour obtenir des particules à patches cavitaires. Dans un premier temps, le cœur de silice du multipode est regrossi en se servant des nodules comme masques. Puis, ces derniers sont dissous pour laisser apparaître les cavités (*cf.* figure 2.1).

2.1.4.1 Regrossissement du cœur de silice et dissolution des nodules de polystyrène

Le regrossissement du cœur de silice est réalisé par ajout de TEOS dans un milieu Stöber comme décrit dans le protocole 6. Le principal défi ici est d'éviter à la fois la nucléation secondaire et faire en sorte que la condensation n'ait lieu qu'à la surface de la silice et non

des nodules de PS. C'est pourquoi une solution de TEOS à 10 % volumique dans l'éthanol absolu est ajoutée lentement puis le milieu est centrifugé pour éliminer les molécules de TEOS et leurs éventuels condensats restés en solution.

Protocole 6 : Regrossissement du cœur de silice

228 mL d'éthanol absolu, 17,5 mL d'ammoniaque (28 %) et 5 mL de la dispersion de multipodes silice/PS ($1,8 \cdot 10^{16}$ particules/L) sont introduits dans un ballon monocol de 500 mL. 5 mL d'une solution de TEOS à 10 % volumique dans l'éthanol absolu sont ajoutés grâce à un pousse seringue automatique à un débit de 1 mL/h à température ambiante sous agitation à 350 tr/min. Deux heures après la fin de l'ajout, la suspension est centrifugée à 12 000 tour/min pendant 10 minutes. Le culot est alors redispersé dans l'éthanol et un prélèvement est effectué pour procéder à une analyse par MET.

La figure 2.9 présente des molécules colloïdales dont le cœur de silice a été regrossi. Hormis quelques rares nuclei de silice sur les nodules de PS, la majeure partie du TEOS se condense bien sur le cœur pour le faire grossir. Son diamètre est désormais de 160 ± 4 nm. La présence de nuclei de silice sur les nodules de PS n'est pas critique puisque ces derniers sont dissous dans l'étape suivante et les nuclei sont éliminés au cours des étapes de centrifugation.

Les molécules colloïdales à cœur regrossi sont ensuite converties en particules à patchs cavitaires en procédant à la dissolution des nodules de PS par le THF suivant le protocole 7. Le nombre de cavités correspond au nombre de nodules initialement présents sur le multipode. Durant ces travaux, seuls des lots de tétrapodes ont été convertis en particules à patchs.

Protocole 7 : Dissolution des nodules de PS

25 mL de DMF sont ajoutés à la suspension obtenue suivant le protocole 6. Le ballon est placé sur un évaporateur rotatif (70 °C, 250 mbar). Lorsque la quasi totalité de l'éthanol est évaporée, la température est montée à 90 °C. L'évaporation continue jusqu'à ce que le milieu réactionnel passe de blanc à incolore. La suspension est alors lavée au THF par 3 cycles de centrifugation à 12 000 g pendant 10 minutes puis redispersion dans 30 mL de THF. Les particules sont ensuite dispersées dans l'éthanol par 2 cycles de centrifugation/redispersion à 12 000 g pendant 10 minutes avant d'être observées au MET.

La figure 2.9b montre les particules à patchs cavitaires obtenues après dissolution des nodules de PS grâce à plusieurs cycles de centrifugation/lavage dans le THF. Néanmoins, les chaînes de PS greffées de manière covalente à la surface du germe initial sont toujours présentes au fond des cavités comme cela a été prouvé précédemment par analyse dispersive en énergie (EDX).⁸⁰

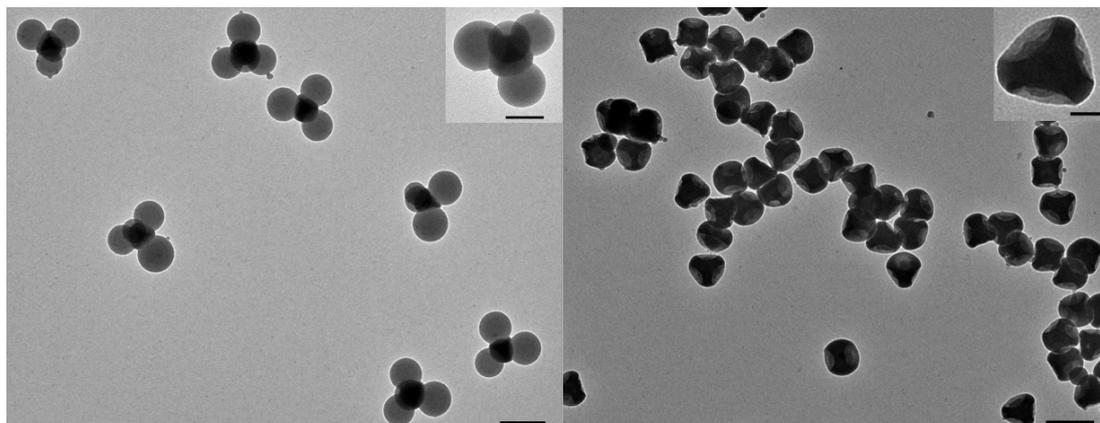


FIGURE 2.9 – Conversion des particules à cœur regrossi en particules à patchs cavitaires. Clichés MET de particules à cœur regrossi (gauche) et particules à patchs après dissolution des nodules de PS (droite). Barre d'échelle : 200 nm (100 nm dans l'encart gauche et 50 nm dans l'encart droit).

2.1.4.2 Fonctionnalisation des chaînes de polystyrène résiduelles au fond des cavités

Lors de travaux précédents, il avait été estimé, après dissolution des nodules de PS, que les chaînes résiduelles sont au nombre de 28 ± 12 par cavité et possèdent une masse molaire moyenne en nombre supérieure à 500 000 g/mol.¹⁰⁹ Ces chaînes peuvent être utilisées telles quelles dans le cas où l'assemblage des particules par voie hydrophobe est souhaité. Dans le cadre de ce travail, la stratégie d'assemblage retenue est la voie covalente. Afin de convertir les cavités en patchs collants, les chaînes de PS ont été sélectivement fonctionnalisées selon un protocole développé au laboratoire.^{109,80}

Chlorométhylation

Les chaînes de PS subissent une réaction de chlorométhylation rendant ainsi le PS réactif vis-à-vis de nombreuses fonctions chimiques telles les thiols (-SH), les azotures (-N₃) ou encore les amines (-NH₂) selon la chimie d'assemblage envisagée (click, peptidique, etc). Cette réaction de substitution électrophile aromatique est réalisée selon le protocole 9. La réaction du 1-(chlorométhoxy)butane sur le PS en présence du catalyseur SnCl₄ permet de fonctionnaliser chaque cycle aromatique avec un chlorométhyle (-CH₂-Cl) en position para (figure 2.10). Le 1-(chlorométhoxy)butane, non disponible commercialement, est synthétisé selon le protocole 8.¹⁰⁹

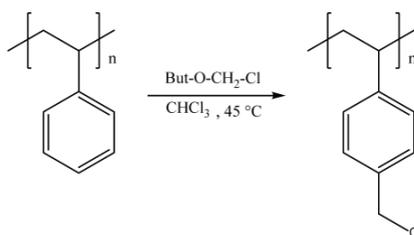


FIGURE 2.10 – Schéma de la réaction de chlorométhylation du PS.

Protocole 8 : Synthèse de l'agent de chlorométhylation, le 1-(chlorométhoxy)butane

Dans un ballon bicol de 250 mL sont placés un barreau aimanté ainsi que 50 g de chlorure de calcium. Une solution aqueuse d'acide chlorhydrique 37% massique est introduite dans une ampoule à brome équipant un des cols du ballon. Le second col est fermé à l'aide d'un septum relié à un tuyau en caoutchouc. L'autre extrémité de ce tuyau est reliée à une aiguille piquée dans le septum fermant un ballon monocol de 500 mL contenant 200 mL de dichlorométhane, 28,8 mL de butan-1-ol, 9 g de paraformaldéhyde et un barreau aimanté. Ce ballon est plongé dans un bain d'eau glacée.

Le gaz formé par l'ajout goutte à goutte d'acide sur les billes de chlorure de calcium est conduit via le tuyau dans le second ballon et vient buller dans le mélange de réactifs. La progression de la réaction est visible avec l'apparition d'une phase aqueuse supérieure et la disparition des cristaux de formaldéhyde. En fin de réaction, le contenu du ballon monocol est transféré dans une ampoule à décanter. La phase organique (phase inférieure) est conservée. Le volume de dichlorométhane mis en jeu est tel qu'une solution de 1-(chlorométhoxy)butane à 3 mol/L soit obtenue. Cette solution est conservée au réfrigérateur à 4 °C.

Protocole 9 : Chlorométhylation des résidus de PS

Après transfert dans 25 mL de chloroforme, les particules à cavités obtenues lors de l'étape précédente (protocole 7) sont introduites dans un ballon monocol de 100 mL. 5 mL de la solution d'éther de butyle et de chlorométhyle dans le dichlorométhane (à 3 mol/L) et 300 μ L de tétrachlorure d'étain (IV) sont ajoutés. Le ballon est surmonté d'une colonne réfrigérante et la température est portée à 45°C pendant 15 h. Les particules sont transférées dans l'éthanol par deux cycles de centrifugation. Elles sont ensuite lavées deux fois avec une solution aqueuse d'acide chlorhydrique à 4% massique, puis deux fois avec un mélange 50/50 v/v eau/éthanol et sont finalement redispersées dans 25 mL de DMF. Les cycles de centrifugation sont effectués à 12 000 g et durent 10 minutes.

Test colorimétrique à la NBP :

Dans un tube de 15 mL sont introduits 1 mL de la dispersion de particules dans le DMF, 2 mL d'une solution de NBP (0,05 mol.L⁻¹ dans le DMF) et 15 μ L de triéthylamine. Le mélange est porté à 90 °C pendant 30 min. Le culot devient violet et le surnageant reste jaune pâle en raison de l'excès de NBP.

Des analyses EDX montrèrent que cette réaction permet de fonctionnaliser les chaînes de PS au fond des cavités.⁸⁰ Ici, seul un test colorimétrique qualitatif rapide basé sur la réaction de la 4-(4-nitrobenzyl)pyridine (NBP) avec le chlorométhyle a été effectué. La coloration violette des particules atteste de la bonne fonctionnalisation des chaînes de PS (figure 2.11).

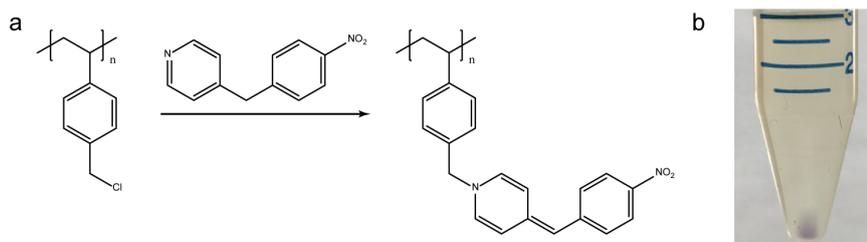


FIGURE 2.11 – Test colorimétrique à la NBP. (a) Réaction entre un motif de PS chlorométhylé et la NBP ; (b) photographie de particules sédimentées après réalisation du test. La coloration violette atteste de la réussite du test.

2.1.5 Optimisation de la pureté des lots par le tri des morphologies

Dans l’optique de fabriquer des cristaux covalents par auto-assemblage, la pureté morphologique et la régularité des briques élémentaires sont cruciales. Jusqu’à présent, la synthèse selon le protocole 4 n’a pas permis l’obtention de lots de molécules colloïdales silice/PS ayant une pureté supérieure à 89 %. Pour atteindre de plus hauts taux de pureté, les lots doivent être purifiés. La méthode de séparation choisie est la centrifugation en gradient de densité. Il en existe plusieurs types, toutes issues du domaine de la biochimie. Ces méthodes étant assez complexes, un aperçu des possibilités offertes par chacune d’elle est nécessaire.

2.1.5.1 Introduction sur les techniques de centrifugation

2.1.5.1.1 Théorie

Une centrifugeuse est un appareil constitué d’un moteur entraînant un rotor autour d’un axe de rotation. Le rotor dispose de godets dans lesquels sont placés les tubes à centrifuger. En tournant, une force centrifuge F_c s’exerçant radialement vers l’extérieur est créée. Tous les objets présents dans l’échantillon y sont soumis et se déplacent avec une vitesse de sédimentation dépendant également de deux autres forces opposées à la première, la poussée d’Archimède F_b (également appelée force de flottaison) et la force de friction F_f (cf. figure 2.12).

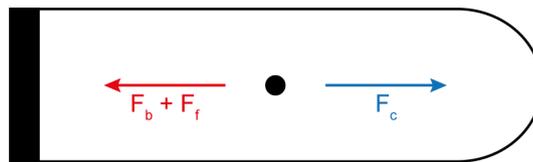


FIGURE 2.12 – Forces agissant sur un objet lors d’une centrifugation.

La force centrifuge est donnée par l’équation (2.6) :

$$F_c = m_p \omega^2 x \tag{2.6}$$

avec m_p la masse de l’objet (une particule sphérique par exemple), ω la vitesse angulaire (rad.s^{-1}) et x la distance entre l’axe de rotation et l’objet sur lequel agit la force. La masse de la particule peut être exprimée comme le produit de sa densité ρ_p et de son volume V_p qui peut à son tour être exprimé en fonction du rayon de la particule R_p :

$$F_c = \rho_p \left(\frac{4}{3} \pi R_p^3 \right) \omega^2 x \tag{2.7}$$

La force de flottaison est donnée par

$$F_b = \rho_f \left(\frac{4}{3} \pi R_p^3 \right) \omega^2 x \quad (2.8)$$

avec $\rho_f \left(\frac{4}{3} \pi R_p^3 \right)$ la masse de fluide déplacée par la particule. Par ailleurs, toute particule se déplaçant à travers le fluide subit une force de friction allant à l'encontre de sa progression, donnée par l'équation (2.9) :

$$F_f = 6\pi R_H \eta v \quad (2.9)$$

avec R_H le rayon hydrodynamique de la particule, η la viscosité du fluide et v la vitesse de sédimentation de la particule à travers le fluide. Lorsque la particule est soumise à une force centrifuge, elle se déplace avec une vitesse croissante jusqu'à ce que la force centrifuge soit égale à la somme des forces de flottaison et de friction.

$$F_c = F_b + F_f \quad (2.10)$$

Cette équation peut être réarrangée pour donner

$$6\pi R_H \eta(r) v_t(r) = (\rho_p - \rho_f(r)) \left(\frac{4}{3} \pi R_p^3 \right) \omega^2 x \quad (2.11)$$

qui peut à son tour être réarrangée pour en extraire la vitesse de sédimentation

$$v_t = \frac{2}{9} \frac{(\rho_p - \rho_f(x)) \omega^2 x}{\eta(x)} \left(\frac{R_p^3}{R_H} \right) \quad (2.12)$$

Cette équation montre que la vitesse de sédimentation d'un objet est lié à sa densité et sa taille. Par conséquent, deux objets ayant soit la même taille et une densité différente soit la même densité et une taille différente auront des vitesses de sédimentation différentes.

2.1.5.1.2 Aperçu des méthodes de centrifugation

Les techniques de centrifugation se divisent en deux grandes familles. D'un côté la centrifugation différentielle, de l'autre la centrifugation en gradient de densité. La centrifugation différentielle repose sur l'utilisation d'un milieu homogène. Les objets sont séparés principalement selon leur taille. La centrifugation en gradient de densité requiert comme son nom l'indique un milieu hétérogène dont la densité augmente à l'approche du fond du tube. Cette catégorie de centrifugation se décline en deux techniques, la centrifugation zonale et la centrifugation isopycnique. La différence majeure est qu'en centrifugation isopycnique les objets sont séparés uniquement selon leur différence de densité¹²² alors qu'ils sont séparés selon leur différence de taille en centrifugation zonale.^{123,124}

La centrifugation différentielle

Le principe de base est d'accélérer la sédimentation naturelle des objets en appliquant une force gravitationnelle. Le but est la séparation des constituants d'un échantillon entre le culot (fond du tube) et le liquide (surnageant). Pour cela la séparation s'effectue selon la différence de taille des différents objets. Plus ils sont gros, plus ils atteignent le fond du tube rapidement pour former un culot (*cf.* figure 2.13). Ce type de centrifugation est dépendant du temps. Si la durée de centrifugation est trop longue, tous les objets se trouvent dans le culot. La durée optimale est celle qui permet de récupérer les objets d'intérêt les plus purs possible soit dans le culot soit dans le surnageant. En faisant sédimenter l'intégralité des objets, ce type de centrifugation peut également être utilisé pour réaliser des lavages, des changements de solvant ou encore concentrer des échantillons. L'inconvénient de cette technique est qu'il est possible que la force nécessaire pour faire sédimenter les gros objets soit également suffisante pour faire sédimenter une portion des plus petits. Cela est d'autant plus vrai que, dû à l'homogénéité de la suspension, toutes les tailles de particules dont les plus petites, se trouvent déjà au fond du tube avant même le début de la centrifugation. En un seul cycle, il n'est alors possible que d'isoler une fraction des objets les plus petits dans le surnageant. La purification passe alors par la purification successive de chaque population. Cette méthode est adéquate pour des objets ayant des différences de coefficient de sédimentation importantes.

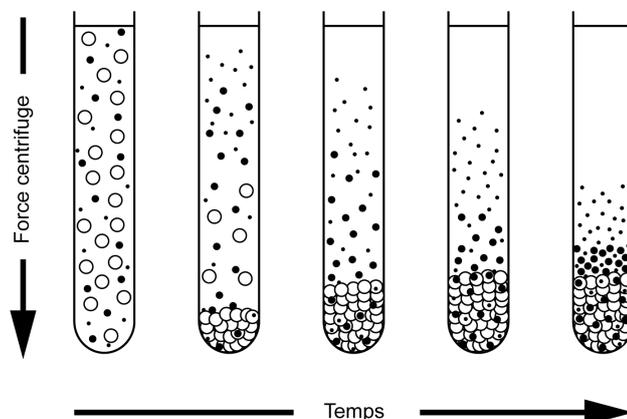


FIGURE 2.13 – Principe de la centrifugation différentielle. L'échantillon est initialement distribué de manière homogène dans le tube. La durée de centrifugation influence la séparation des différentes populations d'objets.

Centrifugation en gradient de densité

Afin d'obtenir des séparations avec de meilleures résolutions, la centrifugation zonale et la centrifugation isopycniqne ont été développées. Dans les deux cas, le milieu homogène utilisé en centrifugation différentielle est remplacé par un gradient de densité, une solution de densité croissante.

- Centrifugation zonale

S'il était possible de confiner la suspension à séparer dans une zone en haut du tube de

centrifugation, alors les objets la composant pourraient se séparer en des zones discrètes en fonction de leur vitesse de sédimentation. Expérimentalement, des perturbations (mouvements de convection) ont lieu et la seule façon pour éviter ce phénomène serait qu'à chaque niveau de liquide, la densité soit inférieure à celle du niveau de liquide immédiatement en dessous.

Cette technique fut développée par Brakke^{125, 126} au début des années 50 et nommée centrifugation « *rate-zonal* » en raison de la séparation basée sur les différences de vitesse de sédimentation des objets. En centrifugation zonale, le tube de centrifugation est rempli d'une solution de densité croissante formée soit par diffusion de couches de densités discontinues soit en utilisant un appareil automatique. L'échantillon est ensuite déposé en une fine couche au-dessus du gradient dont la densité n'excède jamais celle des objets qui doivent être séparés quelle que soit la position dans le tube. À une force gravitationnelle donnée, la masse et la friction sont différentes pour des objets de tailles et formes différentes. Cela conduit à des coefficients de sédimentation et donc des vitesses de sédimentation différentes permettant la bonne séparation. Les particules de tailles similaires sédimentent en bandes fines. Chaque taille produit une bande à un endroit dans le tube selon la vitesse de sédimentation (figure 2.14). Cette méthode de centrifugation possède donc l'avantage de permettre la séparation de plusieurs populations en un cycle. Cependant il est important de garder à l'esprit qu'ici la séparation est dépendante du temps. En effet, la totalité des objets possédant une densité supérieure à celle du milieu, ils finiront tous dans le culot s'ils sont soumis à la force gravitationnelle pour une durée trop longue.

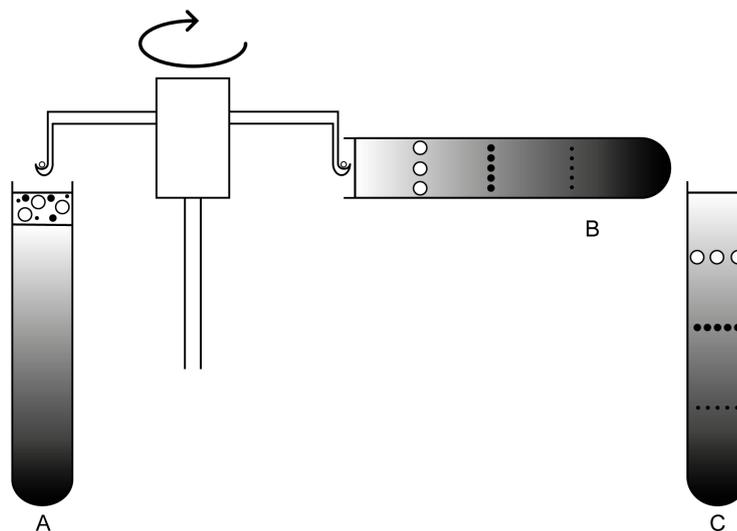


FIGURE 2.14 – Principe de la centrifugation « *rate-zonal* ». L'échantillon est déposé en une fine couche au-dessus du gradient (A) puis est centrifugé à l'aide d'un rotor à godets oscillants (B). En fin de centrifugation, le tube revient à sa position initiale tout en préservant l'intégrité des bandes obtenues (C).

Dans le domaine des colloïdes synthétiques, cette technique fut utilisée dès 2003 par Pine et coll. pour la séparation de clusters de PS.¹³ Bien que les billes de PS aient la même den-

sité, les clusters peuvent être séparés grâce à la variation de leur vitesse de sédimentation en fonction de leur configuration. Ainsi, ils sont séparés grâce à un gradient linéaire de Ficoll 400 3-9% w/w réalisé à partir d'une solution aqueuse de Pluronic F108 à 1% w/w. Après centrifugation, 14 bandes correspondant aux différentes morphologies de molécules colloïdales sont obtenues (figure 2.15a). Cette méthode fut également utilisée par Kraft *et al.* pour séparer des molécules colloïdales de PS.¹⁹ Wang *et al.* utilisèrent la centrifugation zonale pour séparer des particules à patchs de PS.⁷⁶ C'est un gradient linéaire de glycérol 5-20% w/w qui permet la séparation des clusters en 12 bandes. À chaque bande correspondait une morphologie; la bande la plus haute était constituée de particules à patchs monovalentes et la bande la plus basse par les particules dodécavalentes (figure 2.15b). Une séparation également basée sur un gradient linéaire de glycérol 5-60% w/w fut rapportée par Yi et coll. pour la séparation de clusters de PS (figure 2.15c).¹²⁷

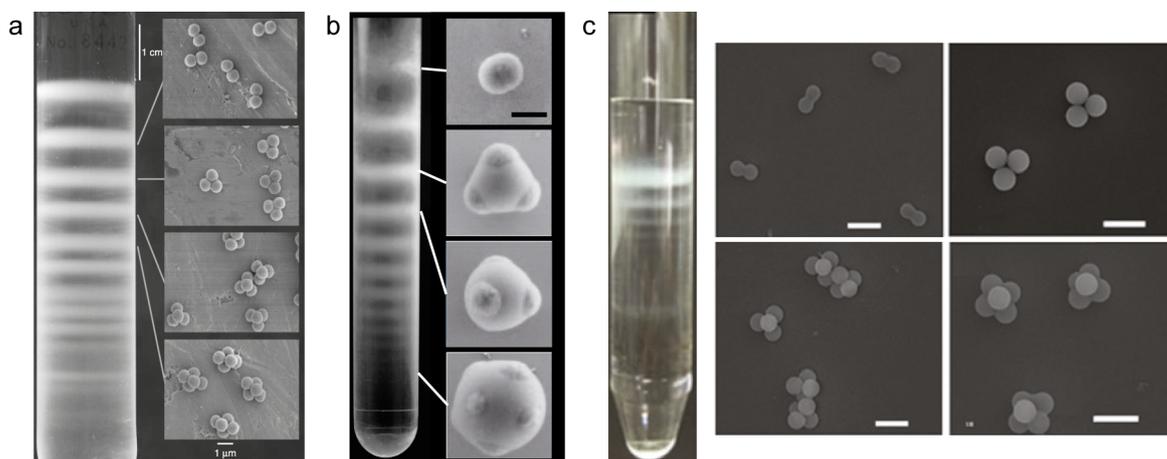


FIGURE 2.15 – Séparation de molécules colloïdales et de particules à patchs par centrifugation en gradient de densité. Photographie du tube de centrifugation après séparation (a) de molécules colloïdales de PS sur gradient de Ficoll 400 et clichés MEB des bandes correspondant aux clusters composés de 2, 3, 4 et 5 billes de PS¹³; (b) de particules à patchs de PS sur gradient de glycérol et clichés MEB des bandes correspondant aux particules à 1, 3, 4 et 12 patchs⁷⁶; (c) de molécules colloïdales de PS sur gradient de glycérol et clichés des bandes correspondant aux clusters composés de 2, 3, 4 et 5 billes de PS.¹²⁷ Barres d'échelle : (a) 1 μ m; (b) 500 nm; (c) 2 μ m.

Plusieurs équipes utilisèrent la centrifugation zonale sur gradient de sucrose pour réaliser une purification post-synthèse de leur échantillon. Avec un gradient continu 30 - 70 %, Lin et coll. montrèrent qu'il est possible de séparer les différentes morphologies obtenues après une synthèse de particules d'argent.¹²⁸ Les sphères sont situées dans les bandes les plus hautes (figure 2.16c-d) et les fils dans les bandes les plus basses (figure 2.16g-h) alors que les cubes sont situés dans la bande intermédiaire (figure 2.16f). Avec un gradient linéaire de sucrose 50-60% (w/v), Odom et coll. rapportèrent la séparation de nano-étoiles d'or.¹²⁹ Les particules telles que synthétisées sont triées selon la taille (20-80 nm) et le nombre de branches (0-8) qu'elles possèdent (figure 2.16i). Ils démontrèrent également qu'un deuxième cycle de centrifugation ne permet pas d'atteindre une meilleure séparation.

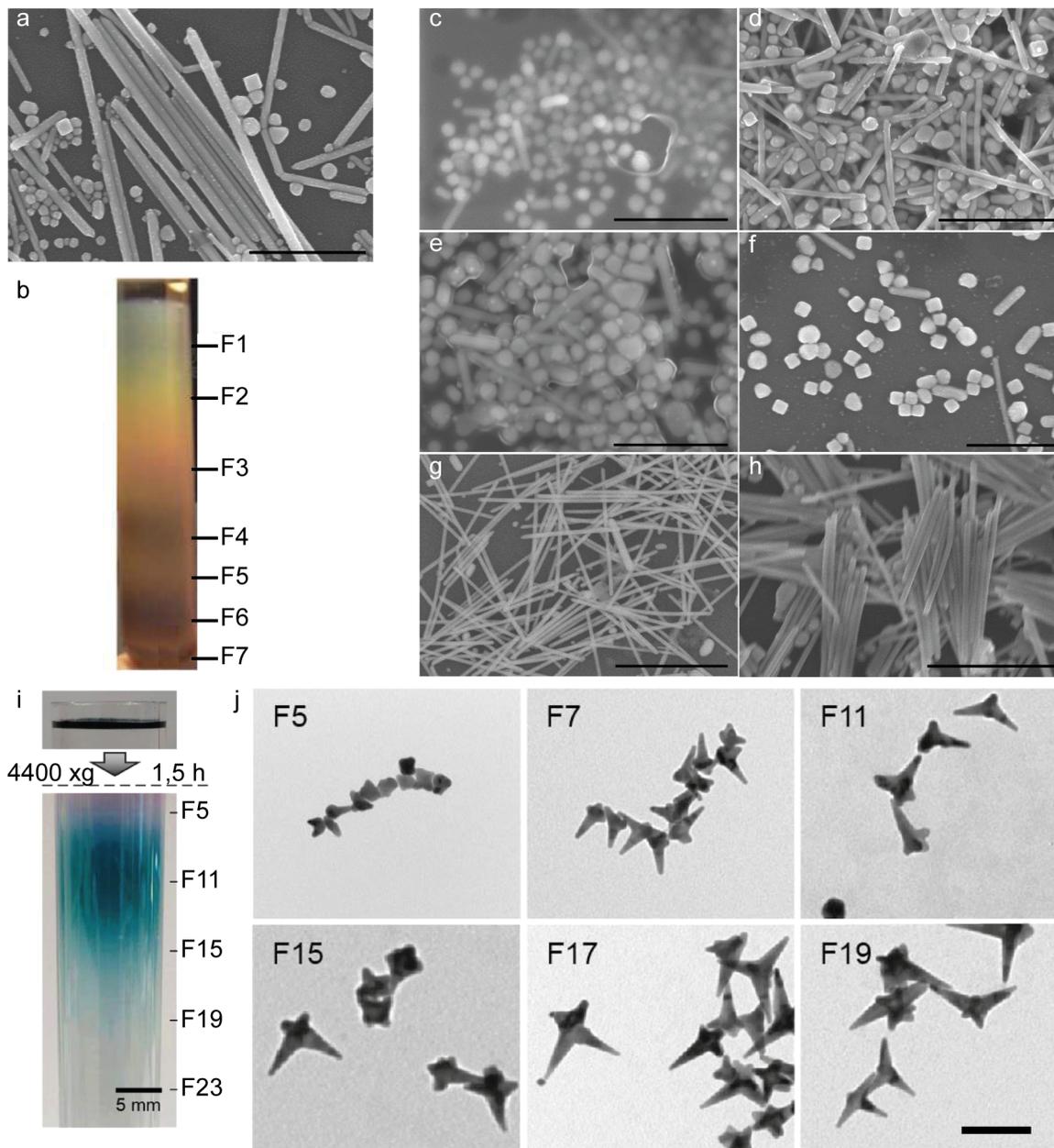


FIGURE 2.16 – Séparation de particules par centrifugation en gradient de densité. (a) Mélange de particules et de fils d’argent. (b) Photographie du tube après centrifugation. (c-h) Clichés MEB des fractions F1, F2, F3, F4, F5 et F7.¹²⁸ (i) Photographie du tube après centrifugation de particules d’or. (j) Clichés MET de différentes fractions.¹²⁹ Barres d’échelle : (a, e, f) 1 μm ; (c, d) 500 nm ; (g,h) 2 μm ; (j) 100 nm.

- Centrifugation isopycnique

En centrifugation isopycnique la séparation ne s’effectue que selon la densité, sans se soucier de la taille des objets. L’échantillon à séparer peut aussi bien être déposé en une couche dans ou au-dessus du gradient qu’être distribué de manière homogène dans le gradient (2.17). Les objets ayant des densités différentes de celle du milieu sédimentent ou flottent dans le

gradient jusqu'à trouver la position où leur densité ρ_p et celle du fluide ρ_L les entourant sont identiques. Généralement, ce type de centrifugation requiert des durées assez longues car les particules ont besoin de temps pour trouver leur zone isopycnique ($\rho_p - \rho_L = 0$) et s'y installer sous la forme d'une bande. La densité à laquelle une particule est à sa position isopycnique peut varier si la particule est perméable au soluté utilisé ou si des molécules de soluté s'adsorbent sur la particule.

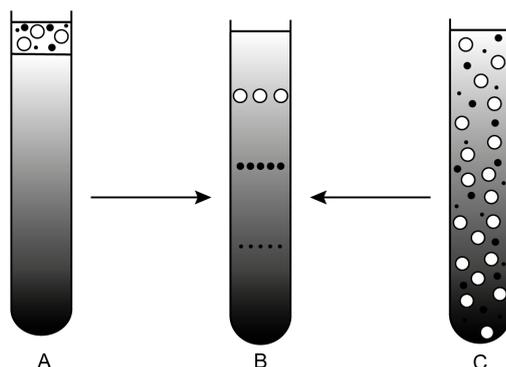


FIGURE 2.17 – Principe de la centrifugation isopycnique. L'échantillon peut être disposé en une fine couche au-dessus du gradient (A) ou être mélangé à ce dernier (C) avant d'être centrifugé. Les bandes formées sont composées de particules de densité similaire (B).

La centrifugation isopycnique fut décrite pour la première fois par Harvey en 1931 lors de ses travaux de séparation d'œufs d'oursins.¹³⁰ Toujours dans des applications biochimiques, Meselson utilisa cette technique avec un gradient de chlorure de césium pour étudier la séparation de l'ADN.¹³¹ De nombreuses études ont étendu cette technique à la séparation de virus, ribosomes, acide ribonucléique (ARN), etc. Ce n'est qu'en 2005 que cette méthode fut utilisée pour la première fois par Hersam et coll. pour isoler des nanotubes de carbone simple-feuillet (SWNTs) en fonction de leur diamètre.¹³² En enrobant les nanotubes avec de l'ADN, ils augmentèrent l'épaisseur de la couche de solvation et par conséquent la différence de densité entre les SWNTs.

Toujours en utilisant la centrifugation isopycnique, la même équipe fut capable de trier des nanotubes de carbone en fonction de leur taille et de leur nombre de feuillets. Pour cela, ils utilisèrent le cholate de sodium, un tensioactif anionique permettant de faire augmenter la densité apparente des SWNTs à mesure que leur diamètre augmente (figure 2.18a).¹³³ Un mélange de nanotubes de carbone pour lequel les SWNTs et les nanotubes de carbone double-feuillet (DWNTs) possèdent le même diamètre externe, est trié par deux cycles de centrifugation sur gradient d'iodixanol. Le premier cycle consiste à faire sédimenter les nanotubes alors que le second cycle consiste à les faire remonter en injectant la suspension issue du premier cycle dans le fond du tube de centrifugation. La figure 2.18b montre la photographie du tube et des bandes obtenues après le premier cycle de centrifugation. La suspension est séparée de manière efficace pour donner des suspensions monodisperses de SWNTs de différents diamètres et de DWNTs.¹³⁴

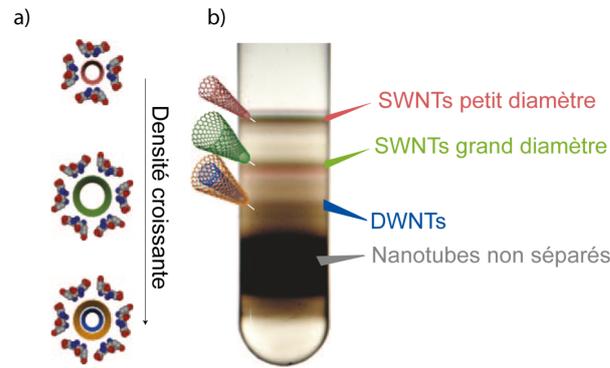


FIGURE 2.18 – Séparation de SWNTs et de DWNTs par centrifugation en gradient de densité isopycnique. (a) Illustration de l’encapsulation des nanotubes par le cholate de sodium et son effet sur la densité apparente ; (b) photographie du tube après le premier cycle de centrifugation. Quatre bandes sont présentes et correspondent aux SWNTs de petits diamètres (~0,7-1,1 nm), aux SWNTs de grands diamètres (~1,6 nm), aux DWNTs et aux objets non séparés tels les impuretés et les agrégats.¹³⁴

Maruyama et coll. montrèrent le rôle important de la présence de sels biliaires (déoxycholate de sodium (DOC)) et de tensioactifs (SDS) sur la séparation de SWNTs.¹³⁵ Une suspension de SWNTs stabilisée par un mélange DOC et SDS est séparée sur un gradient d’iodaxol contenant également du SDS. Au cours de la centrifugation, les tubes se déplacent dans un milieu riche en SDS. Les nanotubes de grand diamètre ont peu d’affinité pour le DOC qui est peu à peu remplacé par le SDS. La taille de la couche d’hydratation de la micelle diminue ce qui conduit à une augmentation de la densité et résulte en la séparation des tubes en fonction de leurs propriétés électroniques. Les tubes de petit diamètre possèdent une plus forte affinité pour les molécules de DOC que pour celles de SDS. Par conséquent lorsque la concentration de SDS augmente, les molécules de SDS se positionnent entre les molécules de DOC. Il y a alors augmentation de la masse sans changement de volume, ce qui conduit à l’augmentation des différences de densité et permet une séparation en fonction du diamètre (figure 2.19).

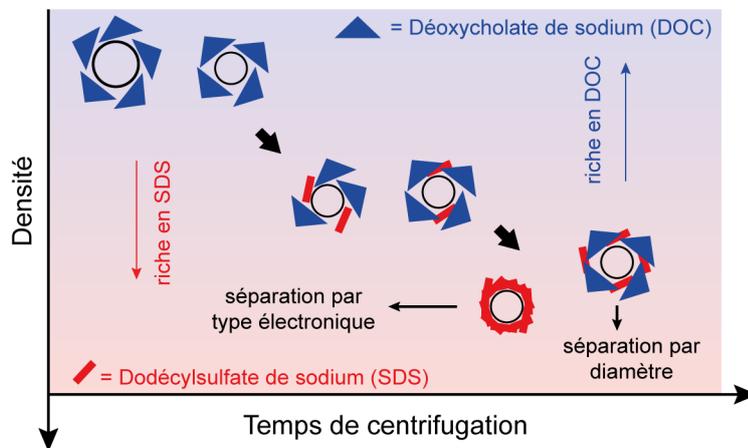


FIGURE 2.19 – Évolution de la structure de la micelle autour des tubes en fonction des différents environnements de co-tensioactifs.¹³⁵

Hobbie *et al.* montrèrent également la possibilité de séparer les nanotubes selon leur longueur.¹³⁶ Un tri en fonction de leur chiralité est également possible.¹³⁷

Les gradients peuvent être soit continus soit discontinus. Un gradient continu présente une augmentation continue de la densité le long du tube. Au contraire, un gradient discontinu est constitué d'une série de solutions de différentes densités superposées les unes sur les autres avec un changement net de densité aux interfaces.

Gradient continu

Le profil du gradient est un paramètre important. Un gradient linéaire — dont la densité augmente de façon linéaire le long du tube — convient pour la plupart des centrifugations zonales et peut aussi être utilisé en centrifugation isopycnique. Un gradient linéaire peut être réalisé à l'aide d'un appareil composé de deux chambres cylindriques de même diamètre contenant la solution légère pour l'une et la solution lourde pour l'autre. Ces solutions constituent les extrémités du gradient désiré. Ces deux chambres sont reliées entre elles à leur base et une agitation permet d'effectuer le mélange (figure 2.20). Un gradient peut aussi être préparé à l'aide d'une machine dont le rôle est de mélanger les deux solutions mises l'une au-dessus de l'autre dans le tube de centrifugation. En général, un gradient à forte pente permet d'obtenir une meilleure résolution qu'un gradient à pente faible grâce à la formation de bandes plus étroites du fait de l'augmentation de la viscosité. Dans le cadre d'une séparation isopycnique, un compromis doit être trouvé entre un gradient à pente forte produisant des bandes étroites et un gradient à pente faible permettant d'éloigner davantage les bandes les unes des autres. Un gradient linéaire est utilisé dans le cas où les densités des objets à séparer sont distribuées uniformément. Si tel n'est pas le cas, un gradient exponentiel (concave ou convexe) peut être utilisé. Celui-ci peut être obtenu avec le même type d'appareillage, mais pour lequel le diamètre du cylindre de l'une des chambres varie. Le gradient linéaire comme le gradient exponentiel peuvent également être réalisés grâce à des pompes péristaltiques dont les débits sont contrôlés pour mélanger les deux solutions et ainsi réaliser le profil de gradient souhaité. Un gradient concave (changement de densité plus fort dans le bas du tube) est avantageux en centrifugation zonale puisqu'il permet d'augmenter la résolution de la séparation en tirant profit du fait que la viscosité plus élevée dans le bas du tube ralentit les objets avec les vitesses de sédimentation les plus élevées alors que les particules avec des vitesses de sédimentation plus faible continuent à être séparées plus haut dans le tube. De plus il peut aider à éviter que les particules forment un culot.

Gradient discontinu

Les gradients discontinus sont limités à la centrifugation isopycnique. Le gradient est préparé en superposant avec attention des couches composées de solutions de différentes densités les unes au-dessus des autres dans le tube de centrifugation. L'échantillon est à son tour déposé au-dessus du gradient puis l'ensemble est centrifugé. Les objets sédimentent

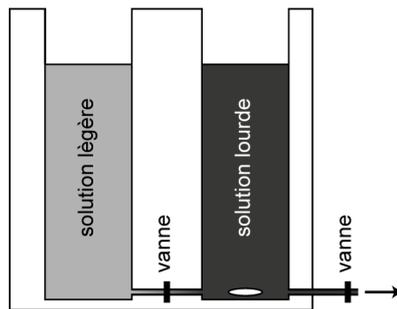


FIGURE 2.20 – Gradient mixer permettant de former un gradient linéaire.

jusqu'à rencontrer une barrière de densité constituée par une couche de densité supérieure à la leur. Les objets ne peuvent pas sédimenter davantage et s'accumulent donc sous forme de bandes à l'interface entre la couche qu'ils viennent de traverser et la suivante que leur densité ne permet pas de pénétrer.

Équipement

Il existe trois types de rotors. Les rotors à angle fixe sont généralement utilisés pour la centrifugation différentielle. Ils sont cependant inadéquats pour la centrifugation zonale puisque les objets heurtent et glissent le long de la paroi du tube et terminent leur course à un endroit où il ne devraient pas être. Les rotors verticaux ne sont pas non plus recommandés puisque la distance de parcours (le diamètre du tube) n'est pas suffisante pour permettre une bonne séparation. En revanche, un rotor à godets oscillants s'avère très efficace pour ce type de séparation.

En centrifugation isopycnique, les trois types de rotor peuvent être utilisés. Les rotors à angles fixes et verticaux ont l'avantage d'offrir une distance de parcours inférieure à celle d'un rotor oscillant. Plus la distance est courte, plus le temps de centrifugation nécessaire pour atteindre l'équilibre est court. La distance la plus courte est offerte par les rotors verticaux. Cependant des bandes plus larges sont obtenues du fait de la ré-orientation des gradients en fin de centrifugation. Si un gradient auto-formant (gradient de densité se formant sous l'effet de la force centrifuge) est utilisé, pour une vitesse de rotation donnée, la résolution sera meilleure avec un rotor à angle fixe ou un rotor vertical qu'avec un rotor à godets oscillants.

Quelle approche pour la séparation de molécules colloïdales silice/polystyrène ?

Dans la littérature, les travaux de séparation de molécules colloïdales ou de particules à patches de taille micrométrique par centrifugation en gradient de densité zonale montrèrent des résultats intéressants et ce pour des accélérations basses et des temps de centrifugation courts. Les différents clusters étant tous constitués d'un seul élément, généralement le PS, ils possèdent tous la même densité. Le tri est alors effectué sur la base de la différence de taille et donc de la masse des différents clusters. Dans le cas des travaux de Manoharan *et al.*,¹³ la différence de masse entre deux clusters « successifs » (dont le nombre de billes de

PS constituant le cluster ne varie que d'une unité) n'est égale qu'à la masse de cette bille de PS. Plus ces billes sont grosses plus elles sont lourdes et rendent la différence de masse entre deux clusters importante. Concernant les molécules colloïdales silice/PS synthétisées au cours de ces travaux, les nodules de PS ne font que quelques dizaines de nanomètres, ce qui représente une variation de masse beaucoup plus faible et rend par conséquent la séparation des molécules colloïdales plus compliquée. Ces dernières possèdent cependant une différence de densité selon le nombre de nodules de PS attachés à la particule de silice centrale. Cette différence de densité semble alors être la clé pouvant rendre plus aisée la séparation de ces objets. La centrifugation isopycniqne a donc été choisie pour ces travaux.

2.1.5.2 Tri des morphologies par centrifugation en gradient de densité

Les densités des différents multipodes silice/PS ont été calculées en prenant en considération une particule de silice centrale de 55 nm de diamètre et des nodules de PS de 140, 150 et 160 nm de diamètre pour les tétrapodes, tripodes et bipodes respectivement. Les points noirs sur la figure 2.21 montrent que les différences de densité sont très faibles. Il paraît par conséquent très compliqué de trier les multipodes tels quels. Il est néanmoins possible de rendre ces différences plus prononcées en faisant recroître le cœur de silice (points rouges). Toutes les expériences de séparation présentées ci-dessous ont donc été effectuées sur des lots de tétrapodes silice/PS à cœur regrossi. Les seuls clusters d'intérêt sont les tétrapodes.

La recroissance des multipodes est effectuée selon le protocole 6 à l'exception près qu'au lieu d'être centrifugée après l'ajout de TEOS, la suspension est ici passée à l'évaporateur rotatif pour éliminer l'ammoniaque et l'éthanol et ainsi transférer les particules dans 50 mL d'eau. À taille de PS identique, les multipodes sont d'autant plus denses que le nombre de nodules de PS présents est faible. Ainsi des tétrapodes sont plus légers que des tripodes, eux-mêmes plus légers que des bipodes. Les multipodes fabriqués autour de cœurs multisilices sont les particules les plus lourdes. Les multipodes légers se trouveront par conséquent dans la partie haute du tube alors que les multipodes les plus lourds tels que les multisilices seront dans des zones plus basses du tube. Par ailleurs, les rotors utilisés au cours de cette étude sont systématiquement des rotors à godets oscillants où le tube est en position horizontale lorsqu'une force centrifuge est appliquée.

2.1.5.2.1 Séparation par centrifugation sur gradient discontinu de glycérol

Dans le cadre de l'étude de la séparation des molécules colloïdales silice/PS sur gradient de glycérol, tous les gradients utilisés sont discontinus, composés de solutions aqueuses de glycérol dont les concentrations sont exprimées en pourcentages massiques. Le volume total des gradients est de 7 mL et le volume des tubes de 7,2 mL. La suspension à purifier est composée de 70 % de tétrapodes, 22 % de tripodes, 6 % de multisilice et 2 % de bipodes.

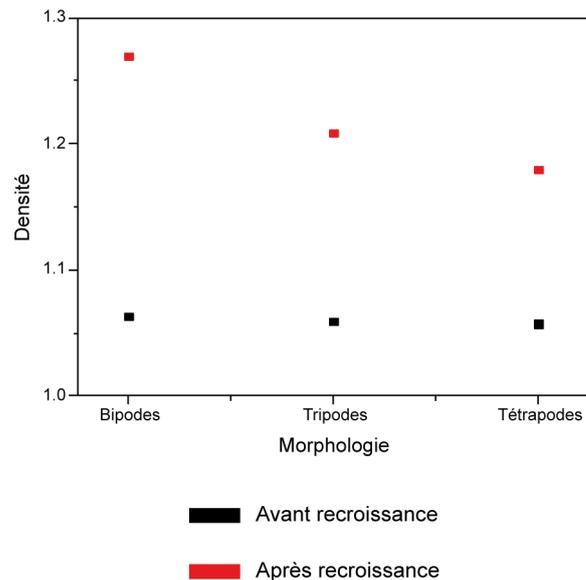


FIGURE 2.21 – Densités calculées des bipodes, tripodes et tétrapodes avant et après recroissance du cœur de silice. Les densités des morphologies avant recroissance sont calculées sur la base d'une particule de silice de 55 nm de diamètre et des nodules de PS de 140, 150 et 160 nm de diamètre pour les tétrapodes, tripodes et bipodes respectivement. Les densités des morphologies regrossies sont calculées sur la base d'une particule de silice de 140 nm de diamètre et des nodules de PS, supposés isométriques, de 137, 149 et 160 nm pour les tétrapodes, tripodes et bipodes respectivement.

Protocole 10 : Séparation de particules sur gradient discontinu de glycérol

Dans des tubes de centrifugation de 7,2 mL sont délicatement empilées les différentes solutions de glycérol en commençant par la plus concentrée. 200 μL de l'échantillon à purifier d'une concentration de $1,8 \times 10^{15}$ particules/L sont déposés au-dessus du gradient. La centrifugation est effectuée sur une centrifugeuse Thermo Scientific Sorvall RC 6+ à une force centrifuge de 20 000 g pour une durée de 1 heure et à une température de 20 °C. L'accélération et la décélération sont fixées à 4. Une fois la centrifugation terminée, les tubes sont fractionnés en prélevant à l'aide d'une micropipette dans les zones où les particules ont migré. Les fractions sont lavées par dialyse. La composition de chaque fraction est obtenue par analyse statistique des clichés MET sur la base minimale de 150 objets.

Le premier gradient testé est constitué de cinq solutions de glycérol comprises entre 20 et 100 % massique, couvrant ainsi la quasi-totalité de la gamme de densité réalisable avec ce composé (1,043 – 1,260). Un volume de 200 μL de l'échantillon ($C = 1,8 \times 10^{15}$ particules/L) à séparer est déposé au-dessus du gradient. La durée de centrifugation est d'une heure à une accélération de 20 000 g . L'accélération et la décélération du rotor sont fixées à 4 pour minimiser les perturbations lors du passage entre les positions verticale et horizontale du tube. La température est fixée à 20 °C (figure 2.22).

Après centrifugation, les particules sont réparties en deux zones. La première est une bande fine située à l'interface entre les solutions de glycérol à 20 et 30 %. Elle est composée de particules de PS libres. La seconde zone, beaucoup plus large, a été fractionnée en deux comme indiqué figure 2.22a pour être analysée. Les compositions morphologiques sont

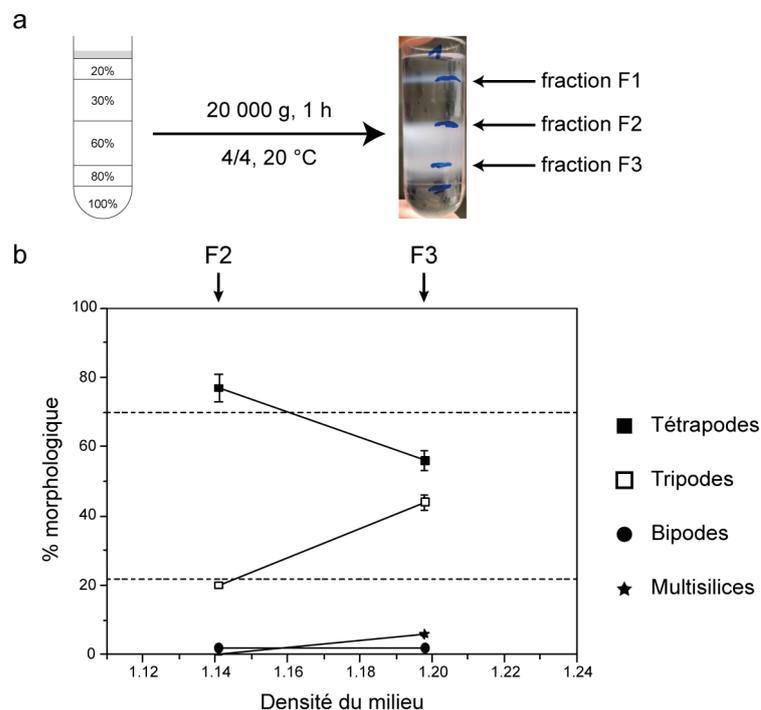


FIGURE 2.22 – Centrifugation sur gradient de densité de glycérol discontinu 20-100 % des molécules colloïdales silice/PS à cœur regressi. (a) Schéma du tube avant centrifugation et photographie après centrifugation; (b) évolution de la composition des fractions prélevées F2 et F3 en fonction de la densité du milieu. La composition initiale en tripodes et tétrapodes de la suspension initiale est représentée par la ligne en pointillés inférieure et supérieure respectivement.

présentées figure 2.22b.

Comme attendu suite aux calculs de densité, un enrichissement en tétrapodes est constaté pour la fraction légère F2 et un enrichissement en tripodes pour la fraction lourde F3. Cependant le taux de tétrapodes dans la fraction F2 n'est que de 77 %, soit un enrichissement relativement faible par rapport aux 70 % présents dans l'échantillon initial.

Les positions des particules après centrifugation montrent que la première solution de glycérol d'une concentration de 20 % massique ne permet la séparation d'aucune particule. Elle peut donc être remplacée par une solution de densité différente pour augmenter la qualité de la séparation. La fraction F2 est bloquée par la solution de glycérol à 60 %, il est possible que les particules aient une densité inférieure à cela. C'est pourquoi, une solution de densité intermédiaire entre celle de la solution à 30 % et celle de la solution à 60 % doit être ajoutée. Ainsi, un second gradient découlant directement du premier a été testé où des solutions de glycérol à 50 % et 70 % ont été introduites et les solutions à 20 et 100 % supprimées. Les paramètres de centrifugation sont inchangés (*cf.* figure 2.23a).

Comme précédemment, les particules migrent en deux zones. La première bande est encore une fois constituée de latex libres. La seconde zone a été divisée en trois fractions dont les compositions sont présentées figure 2.23b. La composition initiale de la suspension est

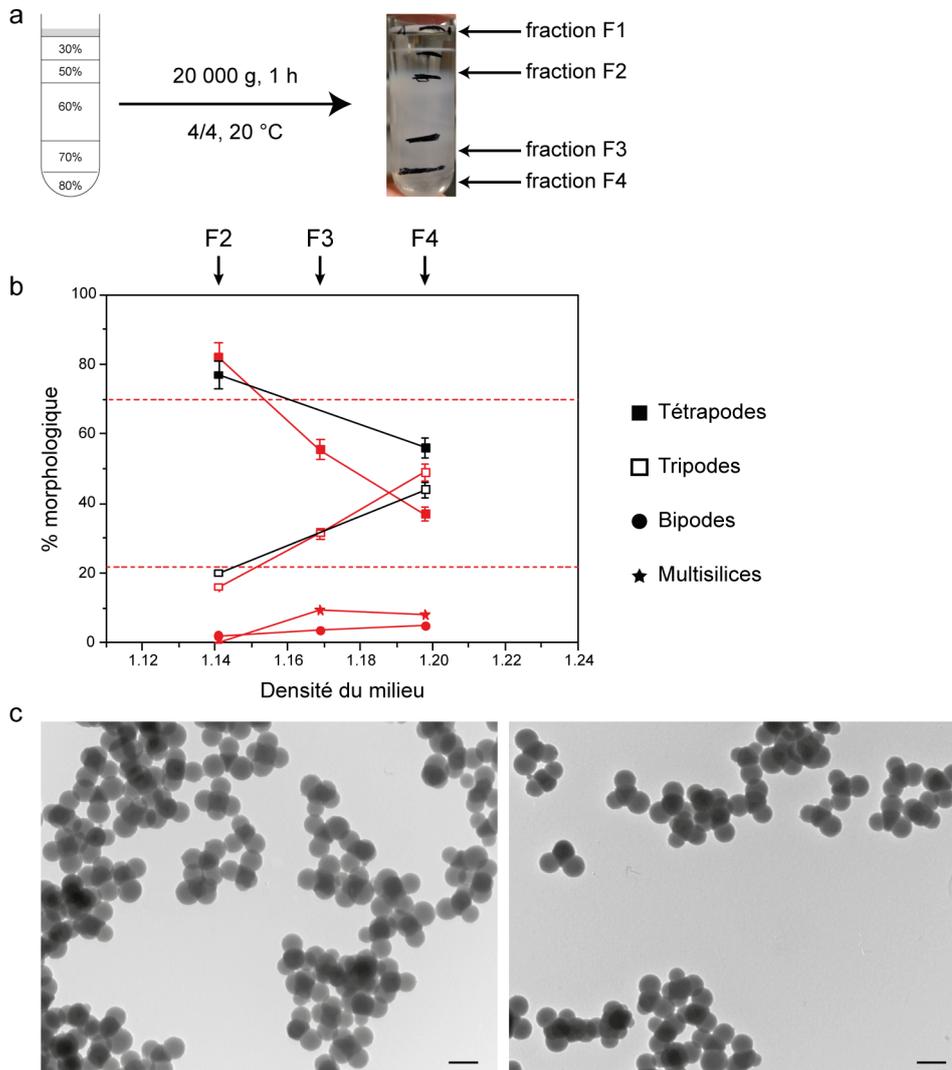


FIGURE 2.23 – Centrifugation sur gradient de densité de glycérol discontinu 30-80 % des molécules colloïdales silice/PS à cœur regressi. (a) Schéma du tube avant centrifugation et photographie après centrifugation; (b) évolution de la composition des fractions prélevées (F2-F4) en fonction de la densité du milieu. La composition en tétrapodes et tripodes est représentée par les lignes horizontales en haut et en bas respectivement. Les courbes noires représentent les résultats obtenus avec le gradient précédent. (c) Clichés MET de la fraction F2 (à gauche) et de la fraction F4 (à droite). Barres d'échelle : 200 nm

représentée par la ligne en pointillés supérieure pour les tétrapodes et inférieure pour les tripodes. De plus, pour comparer l'efficacité des deux gradients, les résultats précédents sont intégrés à la figure; ce sont les courbes noires.

La fraction F2 présente un taux de tétrapodes de 82%. La comparaison entre les courbes rouges et les courbes noires montre que la séparation est reproductible même lorsque le gradient est légèrement modifié. La séparation des tétrapodes se produit pour des densités comprises entre celles des solutions de glycérol à 50 et 60%. Il est donc nécessaire de revoir la composition du gradient dont le pas de densité doit être plus resserré dans cette gamme

de valeurs.

Un troisième gradient a donc été étudié. Il débute donc par des solutions à 48, 50 et 52 et 58 % permettant un maillage plus fin dans la partie haute du tube où les tétrapodes sont attendus. Le volume de chaque solution est de 1 mL sauf pour la solution la plus dense qui est de 400 μ L. Par ailleurs, les paramètres de centrifugation sont modifiés. La force est augmentée à 45 000 g pour une durée de 17 heures et la température est abaissée à 4 °C. L'accélération et la décélération du rotor sont maintenues à 4 (figure 2.24a). L'augmentation de l'accélération et de la durée permettent de s'assurer que le tube est bien à l'équilibre en sortie de centrifugation.

Trois expériences sont présentées figure 2.24b. La différence entre elles est la composition du lot de départ. Pour l'expérience n°1 (en noir), un lot contenant 58 % de tétrapodes et 37 % de tripodes est utilisé. Pour l'expérience n°2 (en rouge), le lot n°17 a été utilisé. Il contient 82 % de tétrapodes et 15 % de tripodes. Enfin pour l'expérience n°3 (en bleu), c'est le lot n°7 qui a été utilisé contenant quant à lui 59 % de tétrapodes et 34 % de tripodes. La concentration de ces particules est de $3,6 \times 10^{14}$ particules/L. Concernant les expériences n°2 et 3, deux tubes identiques en tous points ont été centrifugés, ils sont représentés sur le graphique par des traits pleins et des pointillés.

Quel que soit le taux de pureté en tétrapodes du lot de départ, un enrichissement en tétrapodes est obtenu pour les fractions légères. En effet, une fraction contenant environ 80 % de tétrapodes peut être obtenue à partir d'un lot de pureté moyenne (~ 60 %). L'enrichissement est moins prononcé lorsque la pureté de départ est déjà élevée. À partir du lot contenant 82 % de tétrapodes, une pureté de 90 % peut être atteinte. Les clichés MET des molécules colloïdales après séparation sont présentés figure 2.24c.

2.1.5.2.2 Séparation par ultracentrifugation sur gradient de sucrose

Dans une optique de comparaison, des tests ponctuels d'ultracentrifugation sur gradient continu ont pu être réalisés. Le gradient est fabriqué en utilisant un *gradient maker*, ici un Biocomp *gradient master 108*, permettant une bonne reproductibilité entre les tubes préparés. Les programmes prédéfinis du *gradient master 108* ne permettent pas de confectionner des gradients de glycérol avec des pourcentages aussi élevés que ceux utilisés pour le gradient discontinu. Par conséquent, le glycérol a été remplacé par du sucrose (20-60 % w/v) dont la gamme de densité s'étend de 1,081 à 1,286.

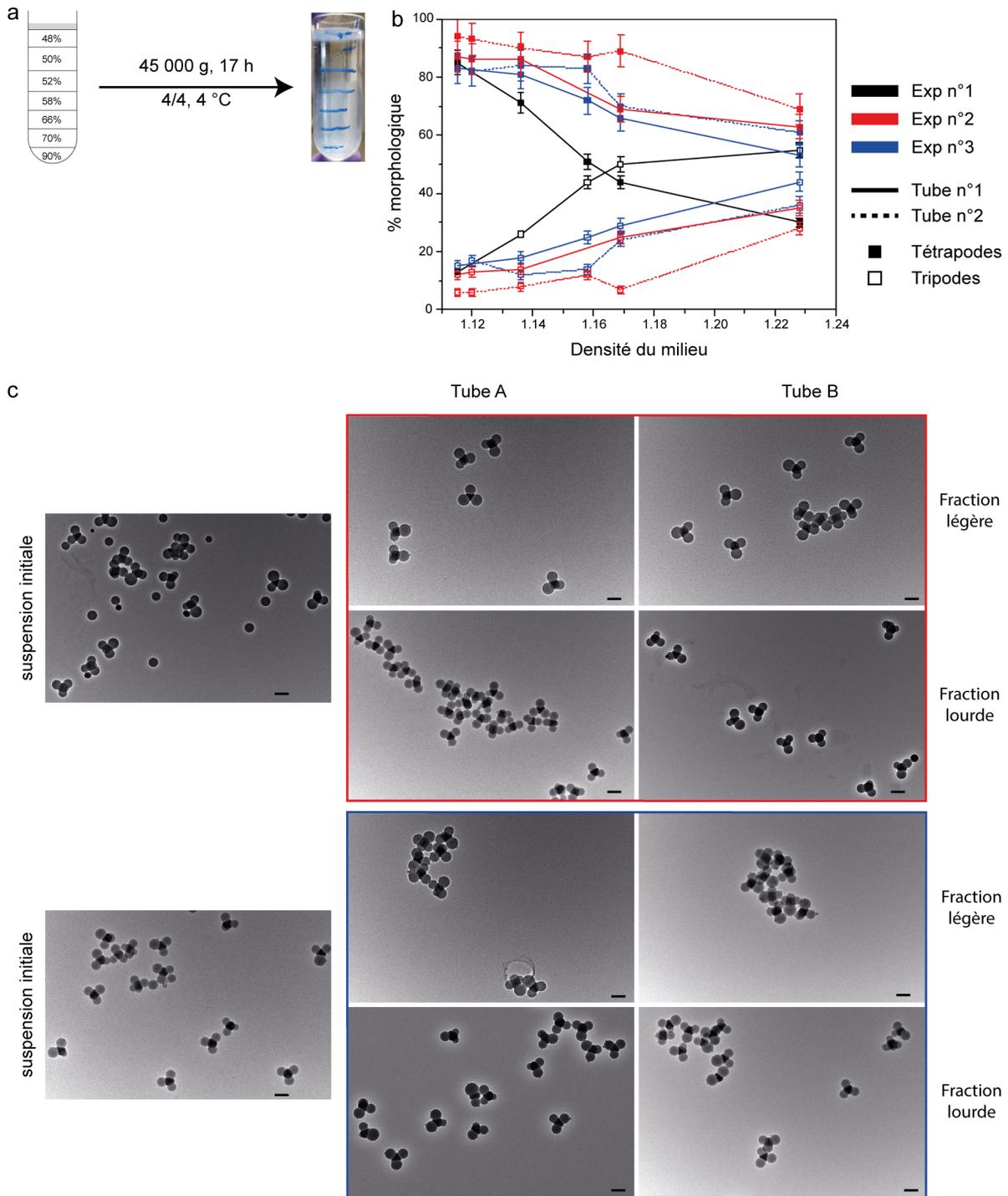


FIGURE 2.24 – Centrifugation sur gradient de densité de glycérol discontinu 48-90 % des molécules colloïdales silice/PS à cœur regressi. (a) Schéma du tube avant centrifugation et photographie après centrifugation; (b) évolution de la composition en tétrapodes et tripodes de lots de particules regressies après centrifugation sur gradient de glycérol en fonction de la densité du milieu; (c) clichés MET de la suspension initiale de clusters silice/PS et des fractions après séparation sur gradient de glycérol. Les clichés dans les cadres rouge et bleu montrent les fractions légères et lourdes pour les expériences 2 et 3 respectivement. Barres d'échelle : 200 nm.

Protocole 11 : Séparation de particules sur gradient continu de sucrose

Quelques heures avant la centrifugation, les solutions aqueuse à 20 et 60 % w/v de sucrose sont préparées puis stockées à 4 °C après dissolution complète du soluté. Le temps de la préparation des tubes, le rotor est placé dans l'ultracentrifugeuse à 4 °C. Le modèle utilisé est une Thermo Scientific Sorvall wX+ ultra series. Les solutions de sucrose sont ensuite injectées à quelques millimètres du fond du tube de centrifugation à l'aide d'une seringue et d'une aiguille émoussée en commençant par la solution légère. Le gradient est ensuite réalisé par le gradient maker, un Biocomp gradient master 108. Une fois le gradient prêt, 500 µL de suspension de particules regrossies sont délicatement déposés au-dessus du gradient. Les tubes sont ensuite équilibrés deux à deux puis finalement chargés dans l'ultracentrifugeuse. Lorsque le vide est suffisamment bon, la centrifugation est démarrée. Les paramètres de centrifugation (durée, le nombre de tour par minute, la température, l'accélération et la décélération) sont renseignés. Une fois la centrifugation terminée, le contenu des tubes est divisé en 30 fractions à l'aide d'un fractionneur. Le lavage des fractions se fait par transfert dans un tube de 15 mL puis ajout de 10 mL d'eau ultrapure. Quatre cycles de centrifugation/redispersion dans l'eau suivis d'un autre avec redispersion dans l'éthanol sont effectués à 12 000 g pendant 20 minutes. La composition de la fraction est obtenue par MET.

Deux expériences de séparation sont présentées figure 2.25. Pour l'expérience n°1 (en noir) un lot, appelé n°18, est utilisé. Il contient 83 % de tétrapodes, 12 % de tripodes, 3 % de multisilice et 2 % de bipodes. Pour l'expérience 2 (en rouge), le lot n°17 (82 % de tétrapodes, 15 % de tripodes) dont la séparation avait déjà été étudiée lors de la séparation sur gradient de glycérol (expérience 2 figure 2.24) est ré-utilisé. La concentration de ces deux suspensions est de $3,6 \times 10^{14}$ particules/L. La durée de centrifugation est de 14 h à 234 269 g. Cette expérience permet de déterminer si la méthode de séparation est efficace quel que soit le lot de départ et permet également de comparer les résultats avec ceux obtenus sur gradient de glycérol discontinu.

Après séparation, le fractionnement des tubes est effectué à l'aide d'un Biocomp *piston gradient fractionator*. Cette machine récupère l'intégralité du tube qu'elle sépare en 30 fractions. Les fractions où les particules peuvent être visualisées sont lavées pour éliminer le sucrose puis analysées par MET pour déterminer leur composition. Les résultats obtenus sont regroupés figure 2.25 où seules les courbes concernant les morphologies tétrapodes et tripodes sont présentées par souci de clarté.

La figure 2.25b présente la composition en tripodes et tétrapodes des fractions lavées. Tout comme pour la séparation sur gradient de glycérol, les courbes noires montrent un enrichissement en tétrapodes pour les fractions légères, un enrichissement en tripodes pour les fractions intermédiaires et un enrichissement en bipodes et multisilices pour les fractions les plus denses. Les courbes rouges sont quant à elles différentes avec un maximum de tétrapodes pour des fractions intermédiaires. Les clichés MET des suspensions initiales et des fractions légères et lourdes sont présentés figure 2.25c. L'évolution des courbes rouges pourrait s'expliquer par la polydispersité non négligeable des nodules de PS des clusters silice/PS composant le lot n°17. Ainsi, il est possible que des tripodes possédant 3 gros nodules aient une densité équivalente à des tétrapodes ayant 4 nodules de tailles inférieures.

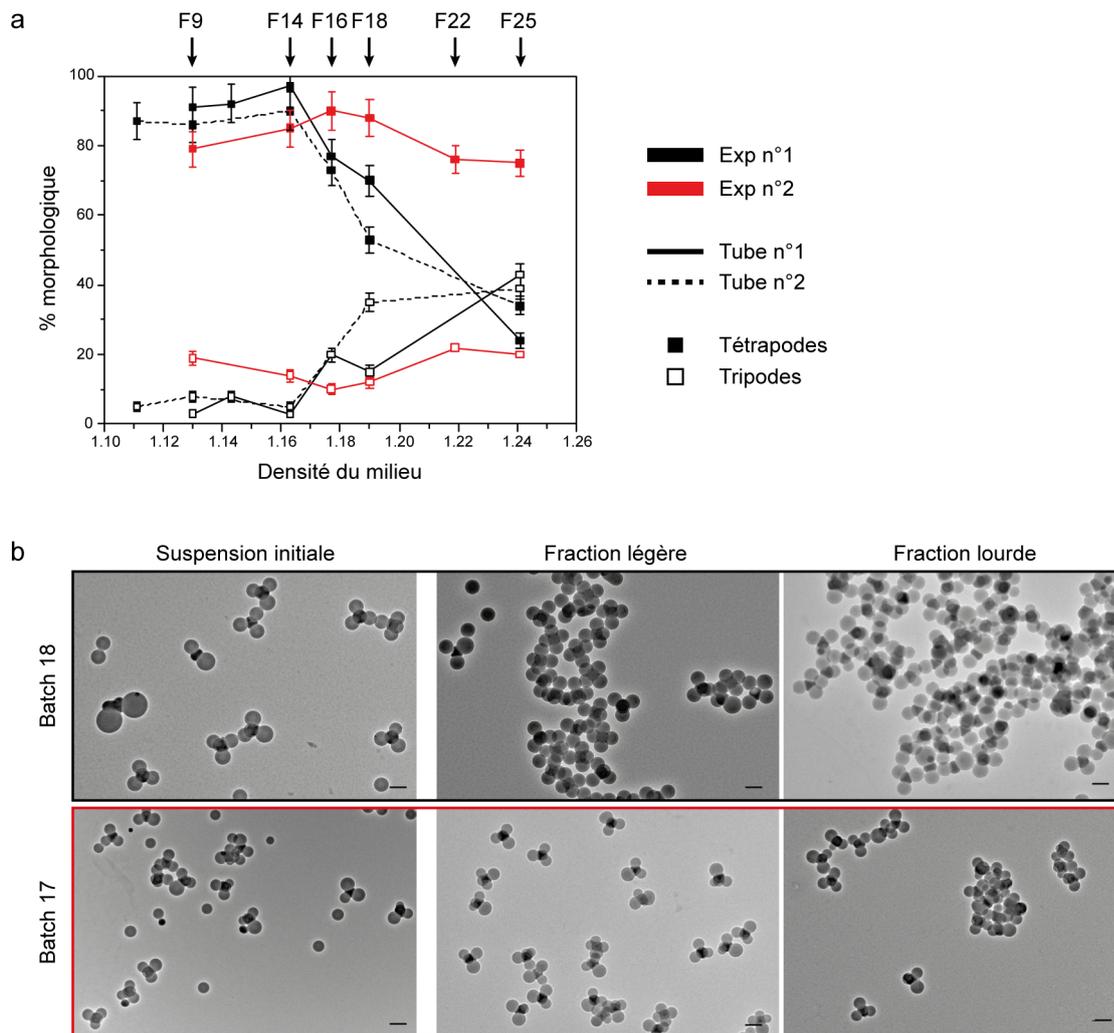


FIGURE 2.25 – Centrifugation sur gradient de densité de sucrose continu 20-60 % des clusters silice/PS à cœur regrossi. (a) Évolution de la composition en tétrapodes et tripodes de lots de particules regrossies après centrifugation sur gradient de sucrose en fonction de la densité du milieu ; (b) Clichés MET du lot initial, d'une fraction légère et d'une fraction lourde pour l'expérience 1 (encadrés en noir) et l'expérience 2 (encadrés en rouge)

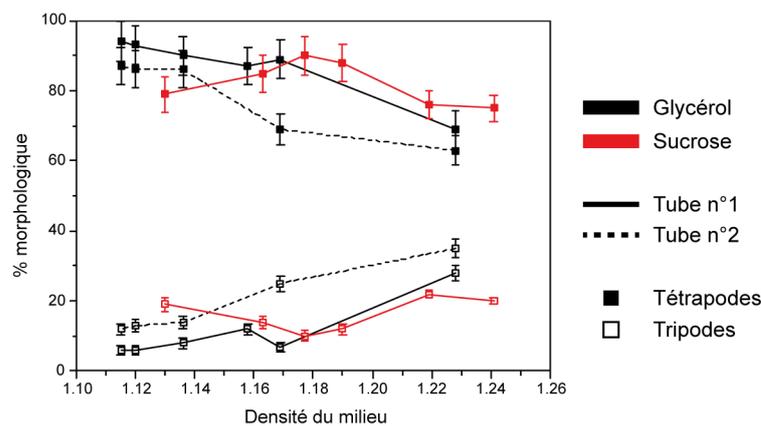
Les statistiques sur les diamètres de silice et de PS ainsi que la densité résultante sont présentées tableau 2.6.

Les courbes d'évolution de la composition des fractions en fonction de la densité du milieu pour la technique sur gradient de glycérol et celle sur gradient de sucrose sont rassemblées figure 2.26. Les séparations obtenues par ces deux méthodes de centrifugation sont proches à la différence près que les fractions les plus pures en tétrapodes sont situées dans la partie haute du tube pour la séparation sur gradient de glycérol alors qu'elles sont situées dans la partie intermédiaire pour la séparation sur gradient de sucrose. Ce décalage peut être dû à la nature du soluté, plus lourd dans le cas du sucrose que dans celui du glycérol, qui pourrait s'insérer dans les pores de la silice et s'adsorber sur les clusters par liaisons

TABLEAU 2.6 – Diamètres et densités moyens de tétrapodes et tripodes silice/PS collectés dans deux fractions distinctes.

Morphologie		F16 (d=1,177)	F22 (d=1,219)	Suspension initiale
Tétrapodes	Diamètre silice	138 ±5	139 ±3	141 ±4
	Diamètre PS	188 ±16	129 ±10	137 ±20
	Densité	1,165 ±0,005	1,201 ±0,008	1,182 ±0,048
Tripodes	Diamètre silice	132 ±6	137 ±2	140 ±3
	Diamètre PS	145 ±19	137 ±24	149 ±21
	Densité	1,197 ±0,034	1,233 ±0,026	1,209 ±0,032

hydrogène, à la manière du cholate de sodium utilisé dans les travaux de Hershman et coll. pour augmenter la densité apparente des nanotubes de carbone,¹³⁴ bien que les rapports de masses ne soient pas les mêmes.


FIGURE 2.26 – Centrifugation sur gradient de densité des clusters silice/PS à cœur regressi — comparaison de l'évolution de la composition en tétrapodes et tripodes du lot n°17 (après recroissance du cœur de silice) après séparation sur gradient de sucrose continu 20-60% (courbes rouges) ou sur gradient de glycérol discontinu 48-90% (courbes noires) en fonction de la densité du milieu.

2.1.5.2.3 Étude de l'influence de la durée de centrifugation sur la séparation

Un inconvénient important de la technique est la durée de centrifugation employée. Des centrifugations à temps plus courts furent réalisées pour tenter d'optimiser ce paramètre. Pour ce faire, des centrifugations de 1 h et 3 h furent effectuées sur la suspension de concentration C0 ($3,6 \times 10^{14}$ particules/L), en conservant les autres paramètres, c'est-à-dire une accélération de 234 269 g et une température de 4 °C. Les résultats obtenus sont présentés figure 2.27.

Les résultats montrent qu'une centrifugation d'une heure permet une bonne séparation des morphologies même si l'équilibre isopycnique ne semble pas être atteint. En effet, la

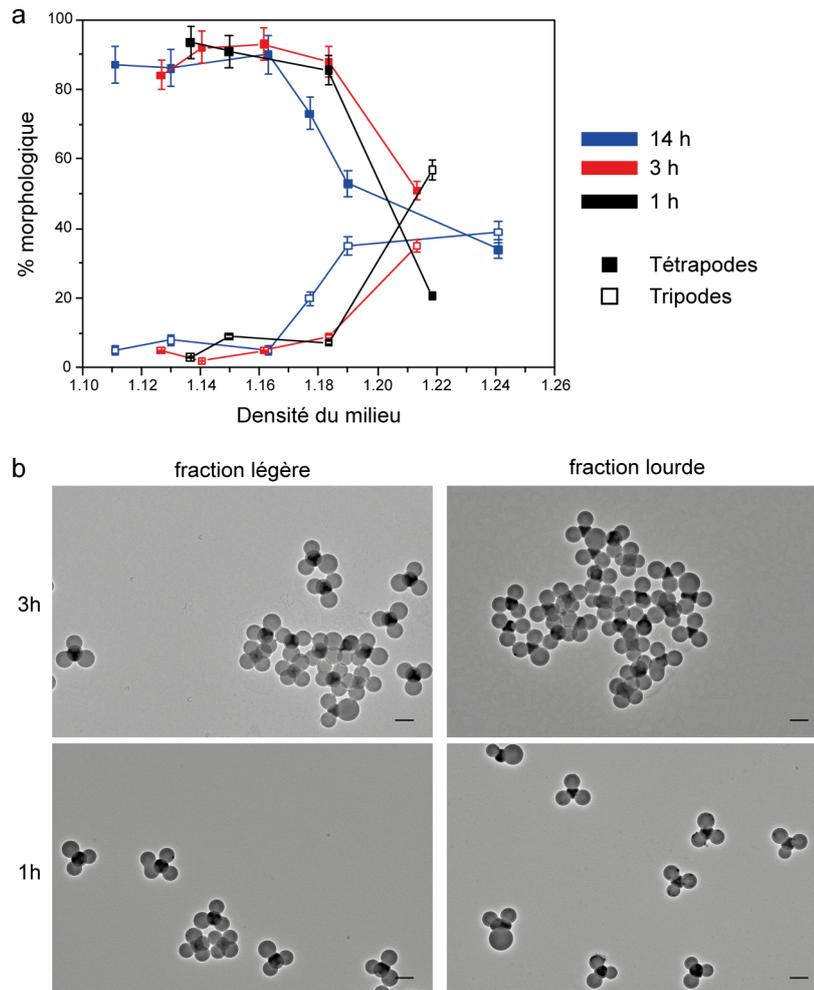


FIGURE 2.27 – Centrifugation sur gradient de densité de sucrose 20-60 % des clusters silice/PS à cœur regressi — influence de la durée de centrifugation sur la séparation de la suspension (lot 18). (a) Évolution de la composition des fractions en tétrapodes et tripodes pour un lot centrifugé pendant 14 h (bleu), 3 h (rouge) et 1 h (noir); (b) clichés MET d'une fraction légère et d'une fraction lourde pour une centrifugation de 3 h (en haut) et 1 h (en bas). Barres d'échelle : 200 nm.

fraction la plus riche en tétrapodes en contient 93 %. L'enrichissement le plus important pour les tripodes est constaté dans les fractions lourdes avec une proportion de 57 % (figure 2.27a). Les clichés MET des fractions légères et lourdes pour les centrifugations de 3 et 1 h sont présentés figure 2.27b.

2.1.5.2.4 Étude de l'influence de la concentration de la suspension sur la séparation

Il est possible qu'une concentration trop élevée de la suspension soit néfaste à la séparation. En effet, il est envisageable qu'une particule dense entraîne sur son chemin d'autres particules de densités inférieures. Cela pourrait expliquer la présence de tétrapodes dans

des zones du tube où il ne devrait pas y en avoir. Une centrifugation a donc été menée sur le lot 18 dont la concentration a été divisée cinq fois ($C = 7,2 \times 10^{13}$ particules/L). Les résultats sont présentés figure 2.28.

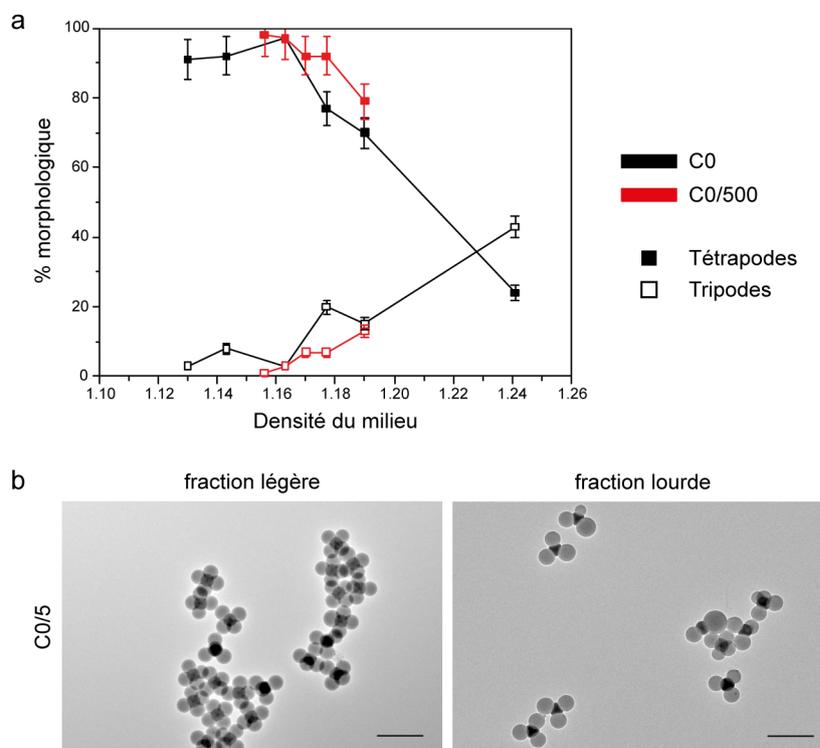


FIGURE 2.28 – Centrifugation sur gradient de densité de sucrose 20-60 % des clusters silice/PS à cœur regressi — influence de la concentration de la suspension (lot 18) sur la séparation. (a) Évolution de la composition en tétrapodes et tripodes des fractions pour une concentration de la suspension de $C = 6,4 \times 10^{13}$ particules/L (courbes noires) et pour une concentration de $C = 7,2 \times 10^{13}$ particules/L (courbes rouges) après 14 h de centrifugation ; (b) Clichés MET d'une fraction légère et d'une fraction lourde dans le cas de la suspension diluée. Barres d'échelle : 500 nm.

Les résultats montrent qu'une fraction contenant jusqu'à 97% de tétrapodes peut être obtenue à partir de la suspension diluée. Reste à savoir si cette amélioration d'un pourcent est significative, c'est-à-dire réellement liée à la dilution ou juste due à l'erreur statistique. Cette expérience doit être reproduite afin de pouvoir apporter une réponse à cette question.

2.1.5.2.5 Conclusion sur la séparation de molécules colloïdales silice/polystyrène par centrifugation en gradient de densité

La méthode montre qu'il est possible de séparer partiellement un lot de départ pour obtenir plusieurs fractions chacune enrichie d'une morphologie différente et ce quelle que soit sa pureté initiale. Les plus légères telles que les tétrapodes ont pu être récupérées dans la partie haute du tube à un taux de pureté maximal de 97%. Ce haut taux de pureté a été obtenu après 14 heures de centrifugation sur gradient de sucrose du lot n°18 dont la

concentration avait été divisée par cinq ($C = 7,2 \times 10^{13}$ particules/L).

Faute de temps, la séparation de ce même lot grâce à une centrifugation d'une heure n'a pas pu être réalisée. Il aurait été intéressant de voir si le même taux de pureté peut être obtenu avec cette durée de centrifugation bien plus courte. Si c'est le cas, le volume de suspension traité pourrait être considérablement augmenté. Il aurait également fallu centrifuger le lot n°13 et voir si en partant d'une pureté initiale déjà élevée (89 % de tétrapodes), il serait possible d'atteindre des puretés supérieures à 97 %. Une autre expérience qui pourrait être tentée serait de faire subir à une fraction purifiée un deuxième cycle de centrifugation sur un gradient à faible pente dont la densité est centrée sur celle où se situent les tétrapodes. Ceci pourrait avoir l'avantage d'augmenter la pureté au prix d'une quantité d'objets encore plus faible qu'elle ne l'est déjà (non quantifiée lors de ces travaux).

En effet, cette technique ne permet de traiter que de petites quantités d'échantillon (jusqu'à 500 μL à une concentration de $3,6 \times 10^{14}$ particules/L) et nécessite beaucoup de temps. La préparation des tubes, la centrifugation, le fractionnement, le lavage des fractions et leur analyse représentent un temps de travail conséquent. L'obtention de fractions pures à 100 % semble très compliquée en raison de la polydispersité des nodules de PS de certains lots. Cette dernière entraîne des variations de densité au sein d'une même morphologie et donc des chevauchements de densité entre les morphologies. Bien qu'intéressante, cette méthode n'est pour le moment pas adaptée à la production en grande quantité de multipodes purifiés.

2.2 Les nanoparticules de silice à vocation satellite

Les particules de silice sphériques à vocation satellite sont obtenues par un procédé multi-étapes. La première étape consiste à fabriquer un lot de particules de silice monodisperse et calibré en taille. Les particules sont ensuite fonctionnalisées lors d'une seconde étape de sorte qu'elles puissent réagir avec les chaînes de PS présentes au fond des cavités des particules à patchs.

2.2.1 Préparation de nanoparticules de taille calibrée

Cette étape est identique à celle réalisée pour obtenir les germes de 55 nm lors de la synthèse de particules à patchs cavitaires (protocole 2). Ici, les pré-germes sont regrossis pour avoir un diamètre final de 100 nm. Cette valeur est issue des travaux de thèse de Pierre-Étienne Rouet qui avait démontré que, pour des particules à patchs de mêmes dimensions que celles préparées ici, l'utilisation de particules satellites de diamètre inférieur à 100 nm conduit à l'assemblage de plusieurs particules par fossette, et que l'utilisation de particules satellites

de diamètre supérieur à 100 nm conduit à un assemblage moins efficace où les satellites s'accrochent moins bien aux fossettes.¹⁰⁶

Au cours de ces travaux, plusieurs lots de particules à vocation satellite ont été fabriqués. En moyenne, le diamètre des particules obtenues est de 101 ± 3 nm. La figure 2.29 présente un cliché MET d'un lot de particules de silice de 100 nm ainsi que sa distribution en taille. Le diamètre mesuré par MET de ce lot de particules est de 104 ± 3 nm. L'analyse DLS donne un diamètre de 130 nm.

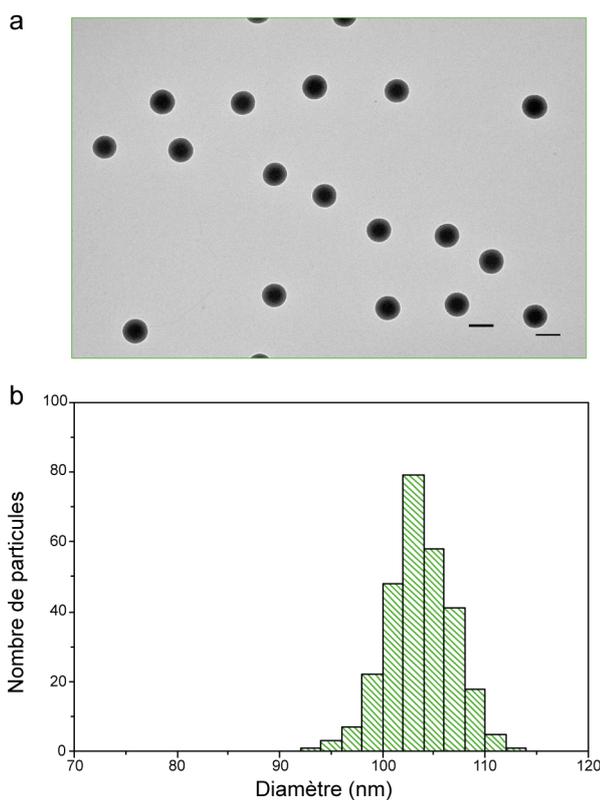


FIGURE 2.29 – Cliché MET et histogramme de distribution de taille de nanoparticules de silice. (a) Clichés MET d'un lot de particules satellites ($d=104 \pm 3$ nm); (b) histogramme de la distribution en taille des particules obtenues après regrossissement des pré-germes. Barres d'échelle : 100 nm

2.2.2 Amination des nanoparticules de silice sphériques

Les particules de 100 nm préparées selon le protocole 2 sont fonctionnalisées en surface par des fonctions amines grâce à l'hydrolyse-condensation de l'aminopropyl(triéthoxy)silane (APTES) dans un milieu Stöber (protocole 12).

Protocole 12 : Amination des nanoparticules de silice

À un volume V_{SiO_2} d'une suspension de particules de silice sphériques de rayon r_{SiO_2} et de concentration C_{SiO_2} issues du protocole 2 est ajouté un volume V_{APTES} d'APTES calculé via l'équation (2.13),

correspondant à l'ajout de 150 μmol d'APTES par nm^2 de surface de silice. Le mélange est laissé sous agitation à température ambiante pendant 12 h. 30 mL de glycérol sont ajoutés à la suspension qui est passée à l'évaporateur rotatif à 60 °C sous 250 mbar jusqu'à évaporation de l'ammoniaque et de l'éthanol, puis à 100 °C pendant 2 heures. La suspension est ensuite lavée par 3 cycles de centrifugation/redispersion dans l'éthanol avant d'être dispersée dans 30 mL de DMF après une ultime centrifugation (10 000 g ; 10 min).

$$V_{\text{APTES}} = \frac{3 \times C_{\text{SiO}_2} \times V_{\text{SiO}_2} \times M_{\text{APTES}} \times n_{\text{APTES}}}{\rho_{\text{SiO}_2} \times r_{\text{SiO}_2} \times \rho_{\text{APTES}} \times \text{pureté}_{\text{APTES}}} \quad (2.13)$$

avec n_{APTES} le nombre de mol d'APTES, M_{APTES} la masse molaire d'APTES, ρ_{SiO_2} la masse volumique de la silice et ρ_{APTES} la masse volumique de l'APTES.

Le succès de cette étape de fonctionnalisation est dans un premier temps caractérisé par le test de Kaiser, au cours duquel la ninhydrine réagit avec les amines primaires pour former un composé coloré (figure 2.30).

Test de Kaiser :

Dans un Eppendorf de 1,5 mL sont introduits une pointe de spatule (de l'ordre de 4 mg) de ninhydrine et 1 mL de la dispersion colloïdale de silice aminée. Si le test est positif, la suspension prend une teinte bleue, caractéristique de la molécule formée.

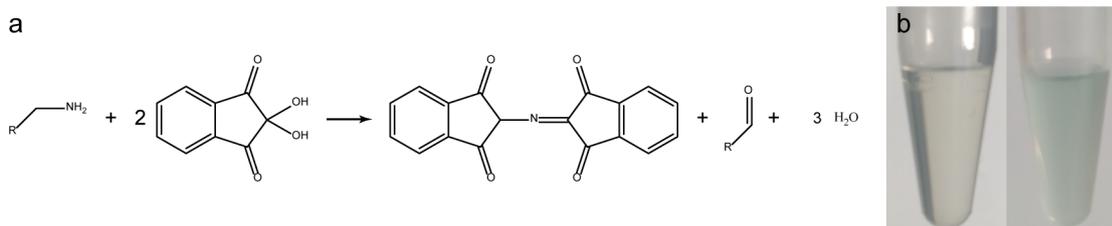


FIGURE 2.30 – Test de Kaiser. (a) Schéma de la réaction entre la ninhydrine et les amines primaires, (b) photographies de la suspension de nanoparticules de silice aminées juste après ajout de ninhydrine et après quelques heures.

Des mesures de potentiel zêta en fonction du pH ont également été réalisées selon le protocole 13 sur les particules de silice vierges ainsi que sur les particules de silice après amination (figure 2.31).

Protocole 13 : Mesure de potentiel zêta

La suspension à analyser est transférée dans l'eau puis diluée dans 300 mL d'eau. Une moitié de ce volume est utilisée pour réaliser des suspensions dans la gamme de pH acides et l'autre moitié pour des suspensions dans la gamme de pH basiques. Le potentiel zêta des différentes suspensions préparées est mesuré à l'aide d'un appareil Malvern Zetasizer nano.

Le déplacement du point isoélectrique de $\text{pH} = 2$ pour les silices vierges à $\text{pH} = 9,2$ pour les particules aminées confirme la fonctionnalisation de surface. En effet, cette valeur est proche du pKa des amines situé entre 9 et 11. Les courbes obtenues montrent que pour des

pH inférieurs à 9,2, les particules ont une charge globale positive résultant du fait qu'une majorité des amines sont protonnées ($-\text{NH}_3^+$) alors que pour les pH supérieurs, elles sont plutôt sous leur forme ($-\text{NH}_2$) laissant alors les particules avec des charges négatives en surface issues de groupements silanols résiduels déprotonés.

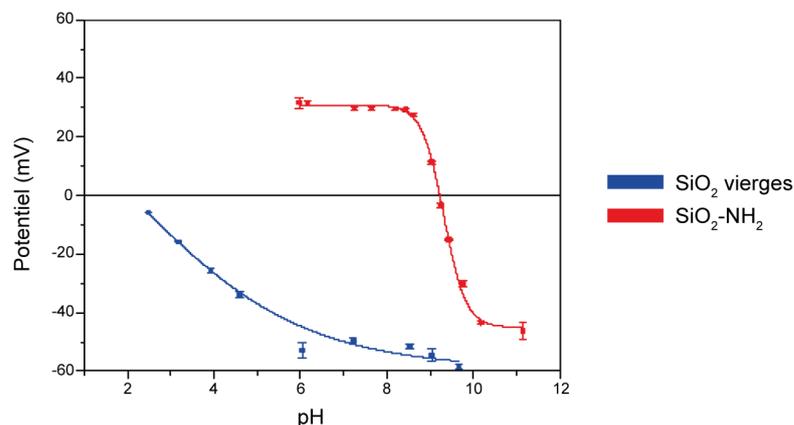


FIGURE 2.31 – Courbes de potentiel zêta en fonction du pH pour des nanoparticules de silice vierges (bleue) et des nanoparticules de silice aminées (rouge).

2.3 Conclusion

Au cours de cette étude, la fabrication de deux types de briques élémentaires complémentaires a été abordée. Les particules à patchs cavitaires résultent d'une synthèse multi-étape commençant par la fabrication de particules de silice monodisperses et calibrées en taille. Ces dernières sont fonctionnalisées en surface par un agent de couplage puis utilisées en tant que germes pour la polymérisation ensemencée du styrène. Le cœur des multipodes silice/PS ainsi obtenu est regrossi puis les nodules de PS sont dissous pour dévoiler en surface de la silice centrale des cavités au fond desquelles des chaînes résiduelles de PS sont présentes.

La modification du protocole de fonctionnalisation du germe a permis d'optimiser ce procédé en limitant la quantité de morphologies multisilice formées. L'amélioration du greffage de l'agent de couplage augmente le caractère hydrophobe du germe entraînant une déviation entre la composition morphologique obtenue et celle attendue par l'utilisation d'un protocole établi lors des travaux de thèses précédents. Le réajustement du taux de greffage nominal à $0,35 \text{ fct/nm}^2$ s'est montré efficace pour recentrer la composition des lots de clusters synthétisés vers la morphologie tétrapode et ainsi obtenir des rendements morphologiques en tétrapodes jusqu'à 89%. Cette pureté morphologique est supérieure à celle obtenue par Anthony Désert (81%)⁴¹ mais les nodules de PS sont plus polydisperses.

Cette limite peut être franchie en séparant les clusters à cœur regrossi par centrifugation en

gradient de densité. L'utilisation d'un gradient de glycérol ou de sucrose permet d'enrichir en une étape des lots à bas rendements (<60 %) à hauteur d'environ 80 % et des lots à hauts rendements (83 %) à 97 %.

Des particules dites satellites ont également été synthétisées. Ces particules de silice sphériques monodisperses d'une taille de 100 nm sont fonctionnalisées avec des fonctions amines dans le but de pouvoir réagir avec les chaînes de PS chlorométhylées situées au fond des cavités des particules à patchs. L'étude de l'auto-assemblage de ces types de particules est détaillée dans le chapitre suivant.

Chapitre 3

Auto-assemblage des briques élémentaires de silice

3.1 Introduction

Les travaux d'auto-assemblage présentés dans ce chapitre s'inscrivent dans la continuité des travaux entrepris par Pierre-Étienne Rouet au cours de sa thèse.¹⁰⁶ Ceux-ci ont été décrits en grande partie dans le paragraphe 1.3.3.2.5 du chapitre 1 de ce manuscrit. Une étude préliminaire montra que le taux d'assemblage non-spécifique est de 12 %. Un assemblage non-spécifique correspond au fait qu'une particule de silice satellite vient combler la fossette d'une particule à patch alors que ces deux entités ne sont pas encore fonctionnalisées pour réagir ensemble. Un assemblage ne peut donc être jugé efficace que lorsque le taux de remplissage des fossettes est significativement supérieur à 12 %.

Une étude d'assemblage portant sur la variation du rapport nombre de particules satellites/nombre de fossettes fut réalisée. L'atome central utilisé est une particule de silice tétravalente pour laquelle les patches sont constitués de chaînes de PS aminées. Les particules satellites sont fonctionnalisées quant à elles par des fonctions acide carboxylique afin de pouvoir les assembler avec les patches via la formation d'un pont amide, qui s'est avérée être la voie la plus efficace parmi les différentes voies étudiées (*cf.* tableau 1.1). Des rapports de 2/4, 3/4 et 4/4 ont été étudiés pour cibler la fabrication de molécules colloïdales de type AX_2E_2 , AX_3E et AX_4 imitant respectivement les molécules H_2O , NH_3 et CH_4 . Dans les deux premiers cas, les fossettes non remplies par une particule satellite peuvent être assimilées aux doublets non liants des atomes d'oxygène et d'azote.¹⁰⁸ Les rendements morphologiques observés furent de 35 % et 58 % respectivement (figure 3.1).

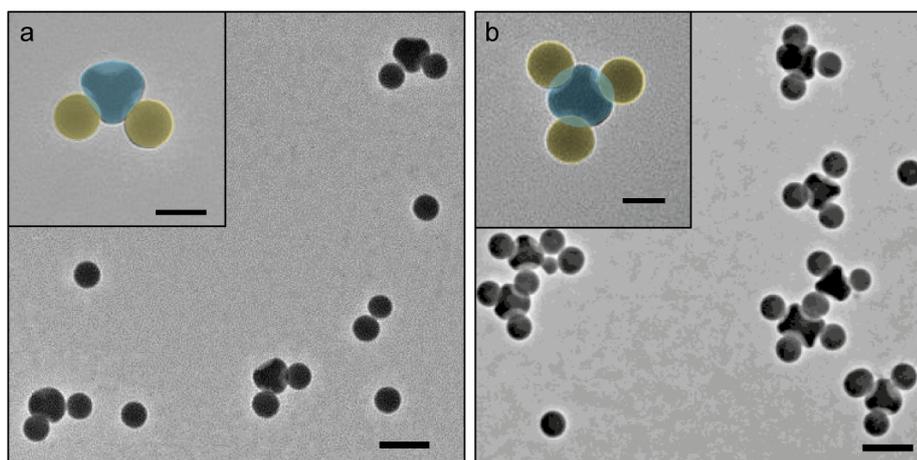


FIGURE 3.1 – Clichés MET de molécules colloïdales de type (a) AX_2E_2 et (b) AX_3E .¹⁰⁸ Barres d'échelle : 200 nm et 100 nm pour les encarts.

Bien que cette voie d'assemblage basée sur la formation d'une liaison amide soit efficace, elle peut être simplifiée (figure 3.2). En effet, lors de la seconde étape de fonctionnalisation des patches, les chaînes de PS chlorométhylées réagissent avec une fonction amine de l'éthylènediamine afin d'obtenir des patches fonctionnalisés par des groupements amines. Les particules satellites sont quant à elles d'abord fonctionnalisées avec de l'APTES avant

d'être converties en acide carboxylique. Il est donc envisageable de pouvoir supprimer une étape de fonctionnalisation pour chaque brique élémentaire de manière à ce que les fonctions amines à la surface des particules satellites puissent réagir avec les chlorures localisés au fond des cavités des particules à patches afin de réaliser l'assemblage. Cette simplification du procédé d'élaboration des briques élémentaires permettrait un gain de temps non négligeable. De plus, la chimie par voie peptidique requiert de travailler en milieu DMF anhydre. Or, le DMF est connu pour s'hydrater très rapidement. Réaliser l'assemblage entre des particules satellites aminées et des particules à patches chlorométhylées permettrait de s'affranchir de cette contrainte.

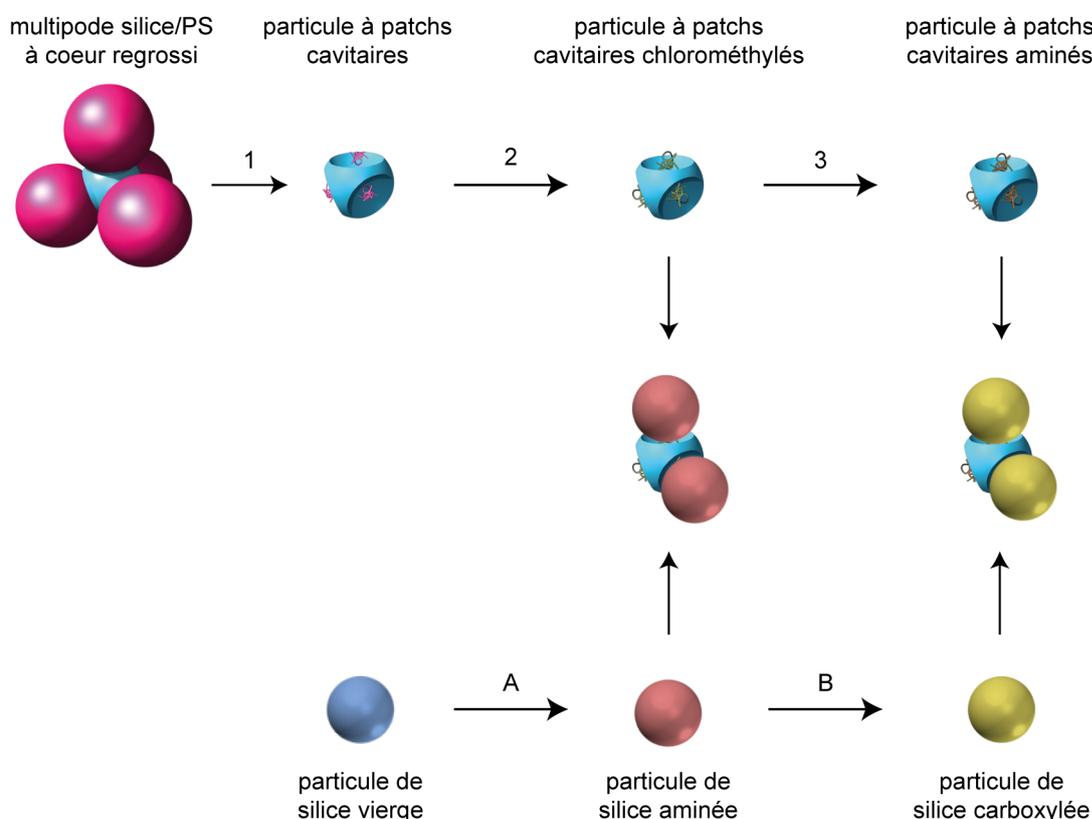


FIGURE 3.2 – Simplification de la chimie d'assemblage. (1) Dissolution des nodules de PS par le THF; (2) Chlorométhylation des chaînes résiduelles de PS par le 1-(chlorométhoxy)butane; (3) Amination des chaînes de PS chlorométhylées par l'éthylènediamine; (A) Amination des particules de silice par l'APTES; (B) Carboxylation des particules de silice aminées par l'anhydride succinique. Ces particules carboxylées doivent être activées pour pouvoir réagir avec les fonctions amines présentes dans les patches. Les étapes 3 et B peuvent être supprimées pour simplifier la chimie d'assemblage.

Au cours de ce chapitre, l'efficacité de cette voie d'assemblage simplifiée a été étudiée. Le temps d'incubation et la concentration du milieu ont été étudiés dans l'optique de favoriser la formation de molécules d'eau colloïdale, molécules pouvant servir de nouvelles briques élémentaires pour l'assemblage de structures plus complexes telles que des chaînes imitant le polyéthylène ou encore la structure diamant.

3.2 Synthèse de molécules d'eau colloïdale par auto-assemblage des briques élémentaires

L'ensemble des expériences d'assemblage présentées ont été réalisées à partir du lot n°18 contenant 83% de particules à quatre patchs. Pour synthétiser des molécules colloïdales imitant la molécule d'eau, il faut se placer dans un rapport nombre de particules satellites/nombre de fossettes de 2/4 (figure 3.3). Une expérience préliminaire doit être réalisée afin de se placer dans les bonnes proportions.

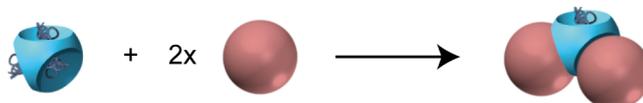


FIGURE 3.3 – Schéma de l'assemblage entre une particule de silice tétravalente et deux particules de silice de 100 nm conduisant à l'obtention de molécules colloïdales de type AX_2E_2 .

3.2.1 Assemblage préliminaire

La méthode des extraits secs permet de déterminer la concentration en particules satellites. Celle-ci est de $1,16 \times 10^{16}$ particules/L. En revanche, un assemblage préliminaire est nécessaire pour déterminer la concentration de la suspension de particules à patchs. Un volume arbitraire de 30 μ L de la suspension de particules à patchs est mélangé avec un volume de suspension de particules satellites de manière à ce que le rapport nombre de particules satellites/nombre de fossettes soit de 2/4. Pour calculer ce volume, une concentration estimée en particules à patchs de 3×10^{15} particules/L est utilisée. Elle correspond à la concentration qu'aurait la suspension si aucune particule n'était perdue au cours des étapes de recroissance du cœur de silice, de dissolution des nodules de PS, de fonctionnalisation de ceux-ci et de lavage.

Protocole 14 : Assemblage préliminaire

Dans un tube eppendorf sont mélangés 15,52 μ L de la suspension de particules satellites ($C = 1,16 \times 10^{16}$ particules/L) et 30 μ L de la suspension de particules à patchs ($C_{\text{estimée}} = 3 \times 10^{15}$ particules/L). Les tubes sont placés sur une roue d'agitation tournant à 25 tr/min. Après 16 h d'agitation à température ambiante, une grille MET est préparée. Le nombre de fossettes de toutes les particules à patchs quel que soit leur nombre de patchs ainsi que le nombre de particules satellites sont comptés sur l'ensemble des clichés MET. Ainsi, 1191 particules satellites sont comptées pour 570 fossettes. Le rapport obtenu permet de remonter à la concentration réelle de la suspension de particules à patchs grâce à l'équation (3.1).

$$C_P = \frac{C_S \times V_S}{4 \times \text{rapport} \times V_P} \quad (3.1)$$

avec C_P la concentration de la suspension de particules à patches, C_S la concentration de la suspension de particules satellites, V_S le volume de la suspension de particules satellites, V_P le volume de la suspension de particules à patches et rapport le rapport nombre de particules satellites/nombre de fossettes déterminé expérimentalement.

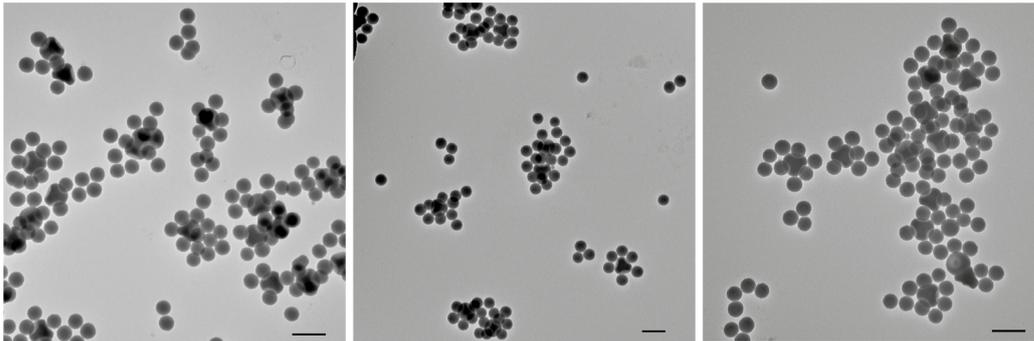


FIGURE 3.4 – Assemblage préliminaire. Clichés MET de l'assemblage entre des particules à fossettes et des particules satellites. Barres d'échelle : 200 nm.

Le cliché MET de cet assemblage préliminaire (figure 3.4) montre un excès de particules satellites indiquant que la concentration de la suspension de particules à patches a été surestimée. Le rapport déterminé par dénombrement des particules satellites et des fossettes est de 2,09. Grâce à l'équation (3.1), une concentration de $7,17 \times 10^{14}$ particules/L est obtenue pour la suspension de particules tétravalentes. L'autre information apportée par ce cliché est l'efficacité de la chimie utilisée pour réaliser l'assemblage. En effet, la majorité des cavités sont occupées par une particule satellite.

3.2.2 Assemblages en proportion stœchiométrique

Après détermination de la concentration de la suspension de particules à patches, de nouveaux assemblages ont été réalisés avec le bon rapport stœchiométrique. Un premier assemblage est réalisé en mélangeant 12,36 μ L de la suspension de particules satellites avec 100 μ L de la suspension de particules à patches.

Le dénombrement des particules satellites et des fossettes confirme un rapport de 2 particules satellites pour 4 fossettes. Les clichés MET montrent que sur l'ensemble des particules satellites (isolées et assemblées), 15 % sont liées à au moins deux fossettes appartenant à deux particules à patches différentes. Ces particules pontantes sont colorées en rouge sur la figure 3.5a, b. Les statistiques sur les morphologies obtenues sont alors réalisées sur les particules isolées, également appelées molécules colloïdales. 47 % d'entre elles sont de type AX_2E_2 (figure 3.5)c.

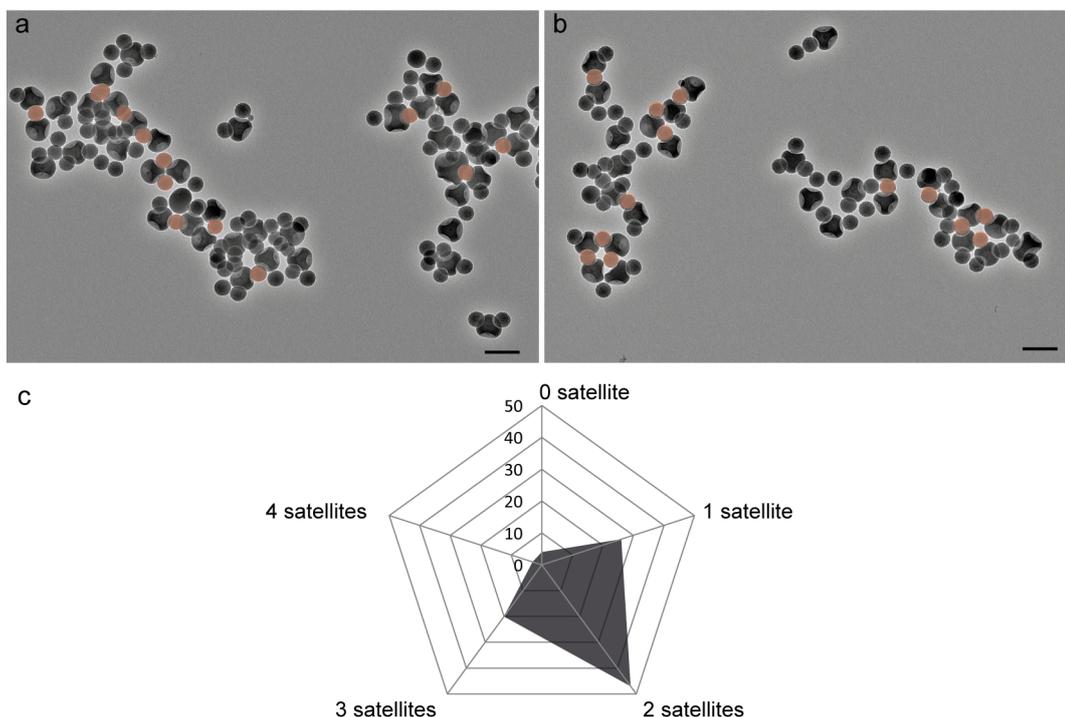


FIGURE 3.5 – Clichés MET et analyse statistique d'un lot de molécules colloïdales de type AX_2E_2 . Assemblage en proportion stœchiométrique entre des particules satellites et des particules à patchs avec un rapport nombre de particules satellites/nombre de fossettes de 2/4. (a, b) Clichés MET après 24 h d'assemblage. Les particules satellites pontantes sont colorées en rouge ; (c) statistiques de répartition du nombre de satellites autour d'une particule à patchs pour les molécules colloïdales 0D. Barres d'échelle : 200 nm.

3.2.2.1 Influence de la concentration et du temps d'incubation sur la morphologie des structures formées et sur le taux de pontage

Dans le but de réduire le taux de pontage, les influences de la concentration de la suspension de particules satellites et de la durée d'incubation ont été étudiées. Deux suspensions de particules satellites ont alors été préparées à partir de la suspension mère de concentration C_0 ($1,16 \times 10^{16}$ particules/L) : une de concentration $C_0/300$ ($3,9 \times 10^{13}$ particules/L) et une de concentration $C_0/500$ ($2,32 \times 10^{13}$ particules/L). Pour chaque suspension de particules satellites, un volume contenant $1,43 \times 10^{11}$ particules a été mélangé avec 100 μL de suspension de particules à patchs de concentration C_0 ($7,17 \times 10^{14}$ particules/L) soit $7,17 \times 10^{10}$ particules. Le milieu d'assemblage a été incubé durant 14, 24 ou 72 heures.

Protocole 15 : Assemblage à concentration et temps d'incubation variables

Dans un tube eppendorf d'1,5 mL sont introduits 12,36 μL de la suspension de particules satellites de concentration C_0 . Dans un tube falcon de 15 mL sont introduits 3 709 μL de la suspension de satellites de concentration $C_0/300$ ou 6 181 μL de la suspension de concentration $C_0/500$. À chaque tube sont ajoutés 100 μL de la suspension de particules à fossettes de concentration C_0 . Pour chaque concentration, 3 tubes sont réalisés. Les tubes sont placés sur une roue d'agitation tournant à 25 tr/min.

Après 14 h d'agitation, une première série de tube est traitée. Les particules sont transférées dans l'éthanol. Pour cela, le tube à C0 subit deux cycles de centrifugation/redispersion à 1 000 g pendant 5 min avec redispersion finale dans 200 μ L d'éthanol. Les tubes à C0/300 et C0/500 sont centrifugés à 8 000 g pendant 10 min puis le culot est redispersé avec 1 mL d'éthanol avant d'être transféré dans un tube eppendorf d'1,5 mL. La suspension est une nouvelle fois centrifugée à 1 000 g pendant 5 min puis le culot redispersé dans 200 μ L d'éthanol. Après 24 h et 72 h d'agitation, la deuxième et la troisième série de tubes sont traitées de la même manière. Des grilles MET sont préparées. Plusieurs statistiques sont effectuées : rapport entre le nombre de particules satellites et le nombre de fossettes, répartition du nombre de particules satellites autour d'une particule à patches et nombre de particules satellites pontantes.

La figure 3.6 présente les clichés MET des lots de molécules colloïdales obtenus en fonction des conditions expérimentales.

Comme le montrent ces clichés MET, des îlots sont obtenus malgré la dilution de la goutte de suspension déposée sur la grille lors de sa préparation. Il peut être remarqué que ces îlots sont en partie constitués de particules à patches pontées entre elles par des particules satellites. Les statistiques effectuées sur chaque échantillon sont rapportées dans le tableau 3.1. Seules les molécules colloïdales dont l'atome colloïdal central est une particule de silice à quatre patches ont été pris en considération pour réaliser la statistique de répartition des différentes morphologies obtenues.

TABLEAU 3.1 – Évolution de la composition morphologique obtenue après 14, 24 ou 72 h d'incubation et pour des concentrations en particules satellites de $1,6 \times 10^{16}$ particules/L (C0), $3,9 \times 10^{13}$ particules/L (C0/300) et $2,32 \times 10^{13}$ particules/L (C0/500).

Temps d'incubation	Concentration satellites	Morphologies (%)					Pontage (%)
		AE ₄	AXE ₃	AX ₂ E ₂	AX ₃ E	AX ₄	
14 h	C0	8	49	33	10	0	20
	C0/300	28	29	19	22	2	16
	C0/500	33	41	17	9	0	19
24 h	C0	4	26	47	20	3	15
	C0/300	11	33	33	17	6	17
	C0/500	19	33	31	13	4	17
72 h	C0	5	26	47	20	2	19
	C0/300	40	21	17	11	11	17
	C0/500	42	17	17	22	2	22

Les statistiques réalisées sur ces échantillons montrent qu'un temps d'incubation de 14 h n'est pas suffisant pour atteindre une majorité de molécules colloïdales de type AX₂E₂. Cette morphologie peut néanmoins devenir majoritaire après 24 h d'incubation dans le cas où la suspension mère de particules satellites est utilisée. En effet, dans ces conditions, jusqu'à 47% de molécules colloïdales de type AX₂E₂ sont obtenues. Lorsque ce sont les suspensions diluées qui sont utilisées, l'assemblage est plus lent puisqu'après la même durée

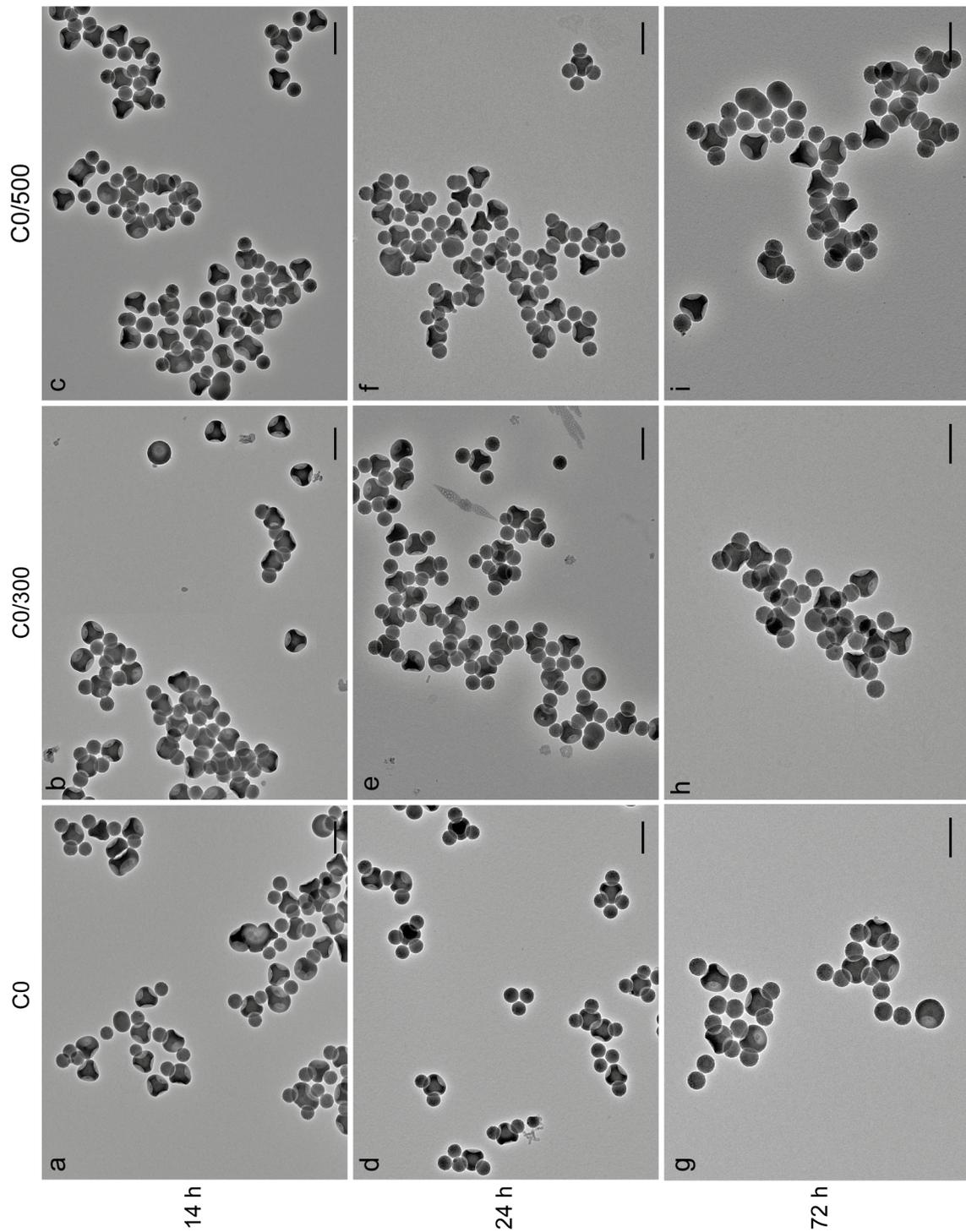


FIGURE 3.6 – Clichés MET de l'assemblage de $100\ \mu\text{L}$ de la suspension de particules à patches de concentration $C_0 = 7,17 \times 10^{14}$ particules/L et de $12,36\ \mu\text{L}$, $3\ 709\ \mu\text{L}$ ou $6\ 181\ \mu\text{L}$ de la suspension de particules de silice sphériques de concentration $C_0 = 1,16 \times 10^{16}$, $C_0/300 = 3,9 \times 10^{13}$ ou $C_0/500 = 2,32 \times 10^{13}$ particules/L. Barres d'échelle : $200\ \text{nm}$.

d'incubation, seule une fossette est occupée pour 33 % des particules à patchs. Incuber pendant 72 h n'a pas permis d'augmenter la proportion de molécules colloïdales de type AX_2E_2 obtenues.

Dans le but d'augmenter la pureté morphologique d'un lot en molécules colloïdales de type AX_2E_2 , la centrifugation en gradient de densité a été utilisée. Contrairement à la séparation de multipodes silice/PS étudiée dans le chapitre précédent, les molécules colloïdales formées après assemblage sont exclusivement constituées de silice. Par conséquent, elles ont toutes la même densité quelle que soit leur morphologie. La méthode de centrifugation choisie est donc la méthode zonale où les objets sont triés en fonction de leur taille.

Pour ce test préliminaire, un lot de molécules colloïdales présentant un taux de pontage de 8 % et composé de 42 % de molécules colloïdales de type AX_2E_2 , 35 % de type AXE_3 , 12 % de type AX_3E , 10 % de type AE_4 et 1 % de type AX_4 est utilisé. La séparation est effectuée à l'aide d'un gradient linéaire de sucrose 5–20 %. Il s'agit du gradient de sucrose le plus faible qu'il est possible de préparer avec les programmes prédéfinis du *gradient maker*. La suspension d'objets assemblés est transférée de l'éthanol à l'eau par centrifugation à 1 000 *g* pendant 5 minutes, puis 500 μ L sont centrifugés à 6 000 *g* pour une durée de 20 minutes.

Protocole 16 : Tri des morphologies obtenues par assemblage par centrifugation en gradient de densité

Le rotor et ses godets sont introduits dans l'ultracentrifugeuse dont la chambre est thermostatée à 4 °C. Dans un tube de centrifugation sont introduits les solutions à 4 °C de sucrose à 5 % et 20 %. À l'aide d'une seringue et d'une aiguille émoussée la suspension à 5 % est injectée au fond du tube puis de la même manière, la solution à 20 % est injectée sous la première afin qu'elle se place au fond du tube. Le gradient linéaire est réalisé en utilisant un *gradient maker*, un Biocomp gradient Master 108. Une fois le gradient prêt, 500 μ L de la suspension à séparer (à 4 °C) sont déposés en surface du gradient. Les tubes sont équilibrés puis placés dans les godets qui sont ensuite accrochés au rotor. La centrifugation est lancée pour une durée de 20 minutes à une accélération de 6 000 *g* et à une température de 4 °C. Une fois la centrifugation terminée, les tubes sont fractionnés grâce à un fractionneur, un Biocomp *piston gradient fractionator*, séparant le tube en 30 fractions. Les fractions contenant des objets sont dialysées contre l'eau pour éliminer le sucrose. Une grille MET est préparée pour chaque fraction lavée.

Lors du fractionnement du tube avec le *piston gradient fractionator*, le détecteur indique la présence de particules dans deux fractions. Celles-ci sont alors dialysées pour être analysées. Ce sont les fractions F14 et F18. La figure 3.7 présente les clichés MET de la suspension initiale et des fractions obtenues ainsi que les statistiques de répartition du nombre de particules satellites autour d'une particule à patchs correspondante.

La fraction F14 contient 46 % de particules de type AE_4 et 49 % de particules de type AXE_3 . Cette grande proportion de particules de type AE_4 comparée à la suspension initiale peut s'expliquer des manières suivantes. Ces valeurs sont des pourcentages qui ne retranscrivent pas la notion de quantité. En effet, peu de particules étaient présentes sur la grille préparée

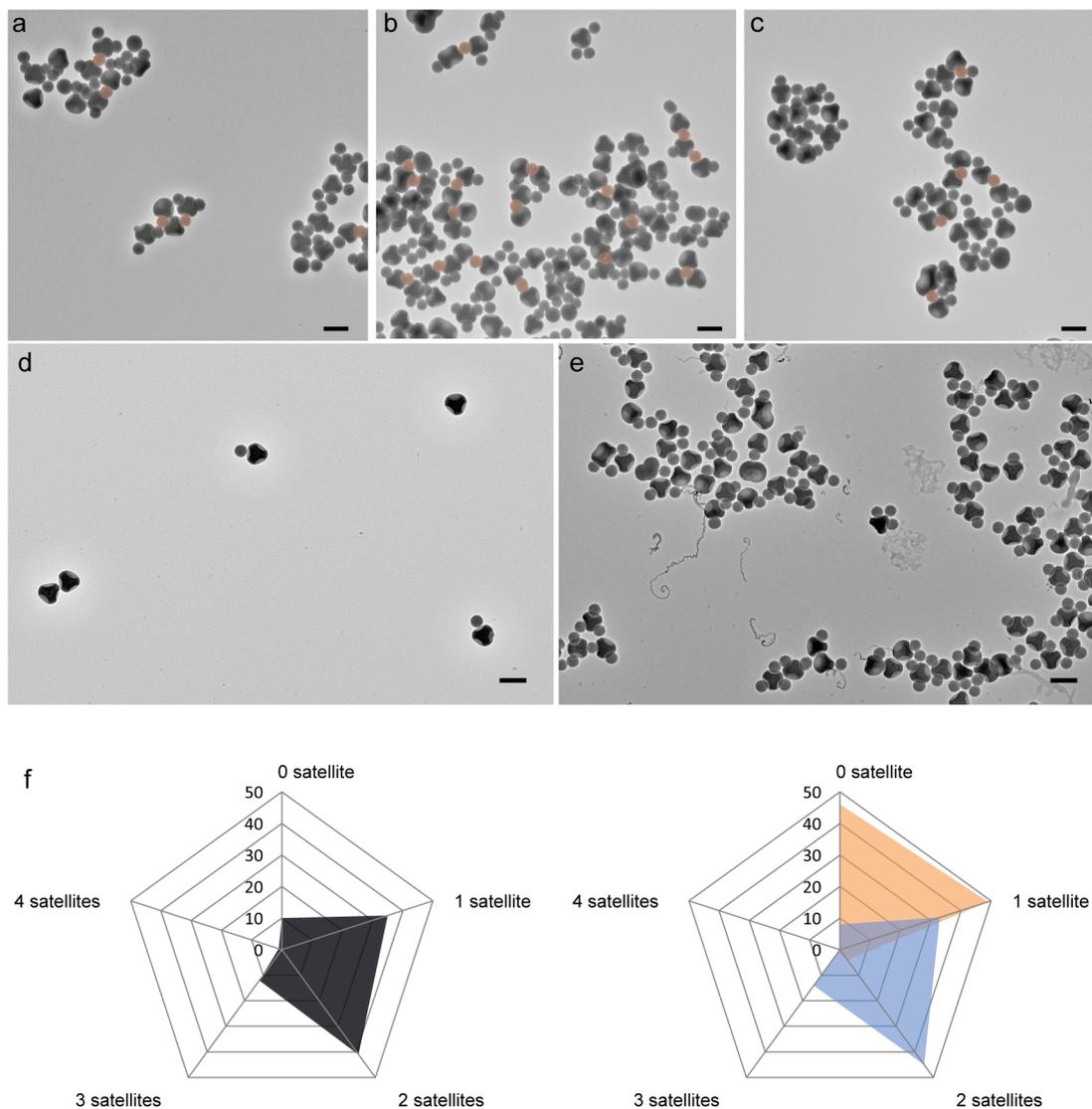


FIGURE 3.7 – Tri des molécules colloïdales par centrifugation en gradient de densité. Clichés MET (a, b, c) de la suspension initiale; (d) de la fraction F14, (e) de la fraction F18; (f) statistiques de répartition du nombre de satellites autour d'une particule à patches pour la suspension initiale (noir), la fraction 14 (orange) et la fraction 18 (bleu). Barres d'échelles : 200 nm.

avec la suspension de la fraction F14, ce qui pourrait indiquer que les molécules colloïdales de type AE_4 et AXE_3 sont largement minoritaires comme estimé au travers des statistiques sur le lot initial. Une autre explication serait que les particules de type AE_4 et AXE_3 contenues dans la suspension initiale n'ont pas été vues par MET. Peut-être qu'elles se trouvaient à un endroit non observé de la grille (malgré la procédure d'observation qui commence par s'assurer de la représentativité des clichés MET enregistrés) ou qu'il y en avait peu dans le volume de suspension prélevé pour réaliser la grille. La possibilité de l'arrachement d'un satellite en cours de centrifugation est très improbable en raison de la faible accélération utilisée (6000 g) comparée à celle utilisée pour faire sédimenter tous les

objets. La fraction F18 contient quant à elle 33 % de particules AXE₃ et 45 % de particules AX₂E₂. La composition de cette fraction est très similaire à celle de la suspension initiale comme le montre la figure 3.7f. Une différence est cependant remarquée : seulement 4 % des particules satellites sont pontantes. Ceci pourrait venir du fait que les objets pontés entre eux, de grandes dimensions et lourds, ont traversé le tube pour former un culot. Cela pourrait aussi vouloir dire que les particules à patchs ne sont pas pontées en suspension mais le deviennent au cours du séchage du solvant lors de la préparation de la grille de MET. Cette hypothèse pourrait être corroborée par les statistiques concernant le taux de pontage sur les lots de molécules colloïdales fabriqués en faisant varier la concentration ainsi que la durée d'incubation (*cf.* tableau 3.1). En effet celui-ci est quasi-constant (entre 16 et 22 %) pour toutes les conditions testées.

Une question se pose alors : le pontage est-il issu de l'assemblage ou est-il engendré lors de la préparation de la grille MET, c'est-à-dire lors de l'étape de centrifugation pour transférer les particules dans l'éthanol ou lors du séchage de la goutte sur la grille ?

L'assemblage est effectué dans le DMF. La pression de vapeur saturante de ce solvant est de 3,5 hPa à 20 °C (contre 23,3 hPa et 59,5 hPa pour l'eau et l'éthanol respectivement). Cette faible valeur signifie que le séchage est très lent, ce qui peut favoriser l'agrégation des objets. De plus, les grilles préparées directement avec la suspension dans le DMF ont montré la présence résiduelle de solvant qui perturbe l'observation en raison d'un contraste et d'une netteté dégradés.

Pour pallier à cela, la suspension est transférée dans l'éthanol. Or, cela requiert une étape de centrifugation pouvant induire le pontage entre les particules. Les volumes mis en jeu dans le cas où la concentration de la suspension de particules satellites est de C0 permettent de réaliser l'assemblage dans un tube eppendorf de 1,5 mL. Dans les autres cas où la suspension est diluée, des tubes falcon de 15 mL sont nécessaires. Le problème est alors le suivant : afin de préparer une grille de MET avec un nombre d'objets suffisant, le culot obtenu par centrifugation doit être redispersé dans un petit volume d'éthanol (200 µL) en raison du faible nombre de particules présentes dans le tube. Or, ceci n'est pas possible dans un tube falcon de 15 mL car le culot ne se forme pas au fond du tube mais sur la paroi, ce qui oblige à utiliser un plus grand volume pour le redisperser. Une fois redispersé dans 1 mL de solvant, la suspension est transférée dans un eppendorf de 1,5 mL pour être concentrée. L'emploi du tube eppendorf permet de voir le très petit culot qui est souvent invisible dans un tube falcon. Cependant, l'utilisation d'un tube de 15 mL serait préférable pour limiter les collisions et donc les phénomènes d'assemblage et de pontage.

Des observations par cryoEM ont été réalisées sur un assemblage entre la suspension de particules satellites de concentration C0/300 et les particules tétravalentes de concentration C0 après 24 h d'incubation. Les grilles ont été réalisées selon le protocole 17.

Protocole 17 : Préparation de grilles pour la cryoEM

Les grilles utilisées sont des quantifoil R22 300. Elles sont lavées dans un bain d'acétate d'éthyle pendant la nuit. Une couche de carbone de 2 nm est formée sur une plaque de mica en utilisant un appareil *CCU-010 compact coating unit* de la marque Safematic. Cette couche de carbone est transférée sur les grilles par flottaison : les grilles sont déposées sur un grillage au fond d'un contenant possédant une évacuation. Celui-ci est rempli d'eau puis la plaque de mica y est délicatement plongée pour décoller la couche de carbone qui flotte alors en surface. L'évacuation est ouverte pour faire baisser le niveau d'eau et finalement déposer la couche de carbone sur les grilles. Ces dernières sont ensuite rendues hydrophiles par effluage effectué avec un appareil EMLO de la société Cordouan Technologies. Le traitement est réalisé pendant 20 secondes à une pression de $2,5 \times 10^{-1}$ mbar à une intensité de 2,8 mA. La grille est ensuite placée dans un appareil *Vitrobot mark IV* de la marque FEI puis un volume de suspension de 4,4 μL est déposé. Après 30 secondes d'attente, l'excès de suspension est retiré à l'aide de papier filtre mis en contact avec la grille pendant 2,5 secondes. La grille est finalement plongée dans l'éthane liquide refroidi par de l'azote liquide afin de procéder à la vitrification. Les observations sont réalisées sur un MET FEI Talos Arctica opérant à 200 kV.

Les grilles réalisées directement avec la suspension dans le DMF se sont avérées inexploitable en raison d'une épaisse couche de glace sur toute leur surface. Les grilles ont donc dû être réalisées après transfert des objets dans l'eau par centrifugation à 8000 g pendant 10 min. Les clichés de cryoEM sont présentés figure 3.8.

L'observation à faible grossissement montre l'inhomogénéité de distribution des objets sur la grille (figure 3.8a). En regardant de plus près et en inclinant la grille à -20° et $+20^\circ$, la présence de satellites pontants est confirmée. Des interactions fossette-fossette et fossette-« arête » sont également observées. En effet la zone pointée par une flèche bleue montre trois particules. Les deux particules du haut sont reliées entre elle par une particule satellite. La particule du bas est quant à elle liée à la particule du milieu par une interaction fossette-fossette. La zone pointée par une flèche violette montre également cette interaction entre deux particules à quatre patchs. Enfin la zone pointée par une flèche orange montre l'interaction entre la fossette d'une particule tétravalente et l'arête (zone comprise entre deux cavités) d'une autre particule tétravalente. En regardant les clichés MET de la figure 3.6, la présence de ces interactions peut également être remarquée.

Ces agrégats sont donc présents en suspension après avoir effectué un cycle de centrifugation/redispersion des particules. Le séchage n'intervient pas ici mais il est probable qu'il ait un impact sur le pontage des particules. Cette situation représente une limite de l'observation par MET conventionnelle et par cryoEM.

Pour s'affranchir des phénomènes de pontage, il paraît nécessaire de fabriquer des particules satellites ne pouvant interagir qu'avec une fossette. Les particules monopatchs semblent donc être les candidates idéales à cette fin. Grâce à leur patch ne couvrant qu'une partie d'un hémisphère, ces particules devraient permettre de limiter les phénomènes de pontage, que ce soit lors de l'incubation, de la centrifugation ou du séchage.

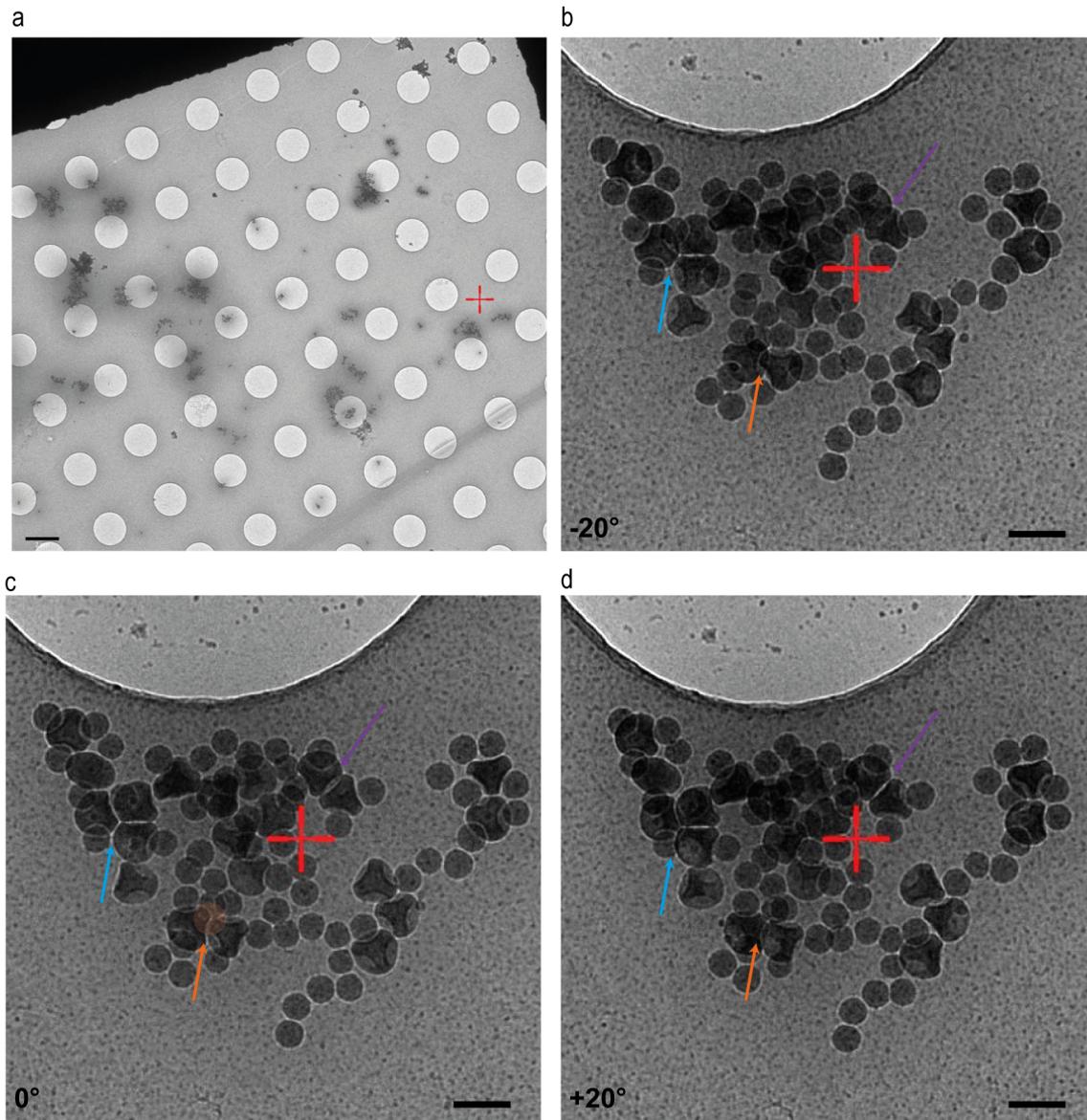


FIGURE 3.8 – CryoEM d'un assemblage de particules à patchs et de particules satellites. Clichés de cryoEM (a) à faible grossissement ; (b-d) dans l'eau avec inclinaison de (b) -20° ; (c) 0° ; (d) $+20^\circ$. Les zones pointées par des flèches bleues, oranges et violettes indiquent des interactions indésirables entre particules. Barres d'échelle : (a) $2\mu\text{m}$; (b-d) 200 nm .

3.2.2.2 Utilisation de particules satellites monopatches

Des particules monopatches de morphologie « champignon » furent obtenues par Céline Hubert au cours de sa thèse à partir de monopodes.⁴³ Cependant ces particules ne peuvent pas être utilisées en raison de la trop grande taille de leur patch qui permettrait alors à plusieurs fossettes d'interagir avec lui. Des particules dont la taille du patch est la plus petite possible doivent alors être synthétisées. Diverses méthodes ont été testées à cette fin. Trop peu de temps a pu être consacré à cette étude. Les résultats ci-dessous ne sont donc que des résultats préliminaires.

Synthèse de particules monopatches par évaporation d'or

Une première méthode de fabrication de particule de silice monopatches fut testée sans succès. Cette méthode consiste à déposer une couche d'or de 15 nm sur une monocouche de particules de silice sphériques, puis à fonctionnaliser les calottes d'or obtenues avec la cystéamine. Le mode opératoire suivi est détaillé dans le protocole 18.

Protocole 18 : Synthèse de particules Janus par évaporation d'or

Une suspension de particules de silice de 100 nm à 10 g/L est épanchée à la surface air-liquide dans une cuve de Langmuir. Une lame de verre est immergée dans le liquide à une vitesse de 1 cm/s puis retirée à une vitesse de 1 mm/s. La compression est de 10 mN/m et la vitesse de compression de 1 cm/min. Une fois la lame complètement sortie du liquide, un de ses côtés est nettoyé pour enlever les particules qui y sont présentes. La lame est ensuite attachée, particules vers le bas, dans une cloche d'évaporateur (un Edwards Auto 306). Lorsque la pression est inférieure à 2×10^{-6} mbar, une intensité de 2 A est appliquée pour chauffer les copeaux d'or présents dans le creuset. Dans un premier temps un cache bloque les vapeurs d'or puis lorsque l'or devient incandescent, l'intensité est augmentée à 3 A et le cache retiré afin de déposer une couche d'or de 15 nm sur la monocouche de particules de silice. Une solution de cystéamine à 1 % massique dans le toluène est préparée. La lame de verre est plongée dans cette solution durant la nuit à température ambiante avec une agitation de 150 tr/min. Les particules sont ensuite détachées du substrat de verre par un traitement ultrasons. Une grille MET est finalement préparée.

Les observations par MET ont montré la soudure de plusieurs calottes d'or entre elles et leur désolidarisation des particules de silice causée par le traitement ultrasons utilisé pour détacher la monocouche de particules de silice du substrat de verre (figure 3.9).

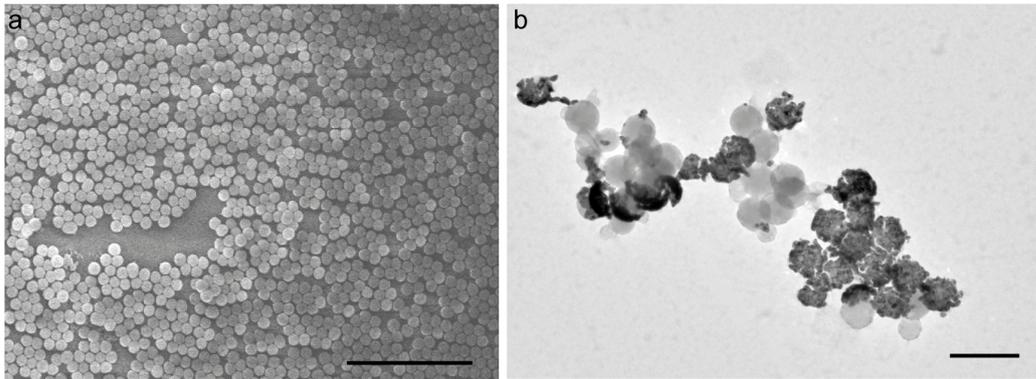


FIGURE 3.9 – (a) Cliché MEB de la monocouche de particule de silice; (b) cliché MET de ces particules après dépôt d'or et traitement ultrasons pour les décrocher du substrat. Barres d'échelle : (a) $1,2\mu\text{m}$; (b) 200nm .

Synthèse de particules monopatches par piégeage à l'interface paraffine/eau

L'utilisation d'une émulsion de Pickering fut décrite par Granick et coll. pour la fabrication de particules Janus micrométriques¹³⁸ puis la méthode fut adaptée aux nanoparticules.^{139,140} Brièvement, des particules de silice suspendues dans l'eau sont couvertes de CTAB pour les rendre plus hydrophobes. De la paraffine est ajoutée au milieu pour former une émulsion d'huile dans l'eau après chauffage au-dessus de la température de fusion de la paraffine. Les particules de silice se placent à l'interface huile/eau pour stabiliser l'émulsion comme le montre la figure 3.10. La partie non protégée de la surface des particules peut alors être fonctionnalisée avant que la paraffine ne soit dissoute pour libérer les particules monopatches.

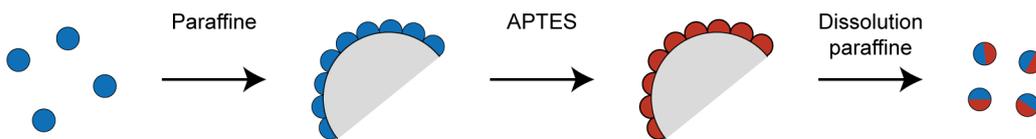


FIGURE 3.10 – Schéma illustrant la synthèse de particules monopatches via l'utilisation d'une émulsion de Pickering

Protocole 19 : Synthèse de particules monopatches par émulsion Pickering

Une solution aqueuse de CTAB à $2,43 \times 10^{-5}$ mol/L est préparée. 20 mL d'une suspension de particules de silice de 100 nm à 8,9 g/L sont centrifugés à 12 000 g pendant 12 minutes puis le culot est redispersé dans 50 mL de la solution de CTAB. La température est portée à 80 °C et 1 g de paraffine est ajouté au milieu. Lorsque la paraffine est dissoute, le milieu est agité à 9 000 tr/min pendant 90 s. Une fois le milieu revenu à température ambiante, ce dernier est filtré sous vide puis redispersé dans un milieu Stöber. La partie non masquée des particules est fonctionnalisée en ajoutant 150 μmol d'APTES par m^2 de surface de silice. Les objets sont filtrés et lavés à l'éthanol. La paraffine est dissoute par ajout de cyclohexane. Les particules monopatches sont récupérées par centrifugation à 10 000 g pendant 10 minutes puis redispersées dans un mélange eau/éthanol (1 :1) auquel sont

ajoutés 30 mL de glycérol. La suspension est passée à l'évaporateur rotatif pendant 2 h à 100 °C et 250 mbar. La suspension est lavée à l'éthanol par trois cycles de centrifugation à 10 000 g pendant 10 min. La suspension est finalement redispersée dans le DMF.

Afin de vérifier leur fonctionnalisation, les particules obtenues sont mélangées avec des particules d'or d'environ 10 nm de diamètre. Le même test est également réalisé sur des particules non fonctionnalisées. Les clichés MET présentés figure 3.11 montrent les résultats obtenus. Lorsque les particules de silice ne sont pas fonctionnalisées, les particules d'or ne s'adsorbent pas à leur surface (figure 3.11a). En revanche, lorsque la surface de la silice est régiosélectivement fonctionnalisée, les particules d'or s'y adsorbent toutes du même côté (figure 3.11b). Certaines particules montrent cependant une adsorption de nanoparticules d'or sur toute la surface (figure 3.11c). Ceci atteste du fait que ces particules se sont détachées de la bille de paraffine et n'ont par conséquent pas pu être protégées par cette dernière. Il est également possible que cela ne soit dû qu'à l'orientation des particules sur la grille.

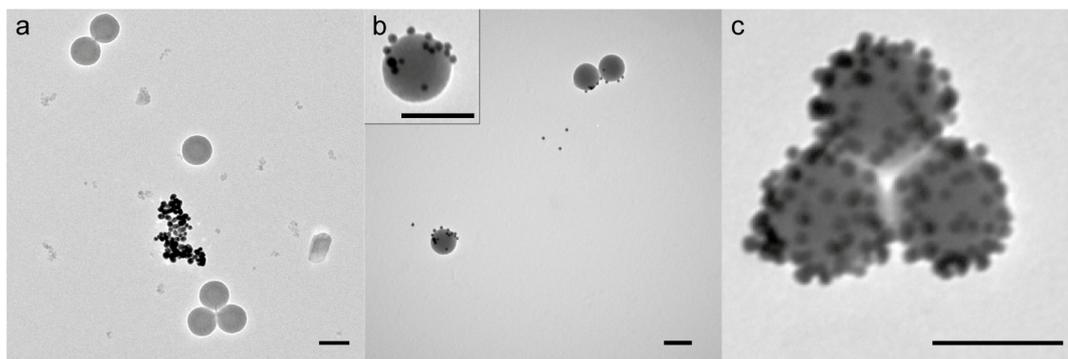


FIGURE 3.11 – Vérification de la fonctionnalisation des particules monopatches. Clichés MET d'une suspension d'or d'environ 10 nm de diamètre et de particules de silice de 100 nm (a) non fonctionnalisées ; (b) fonctionnalisées par un monopatch de fonctions amines. (c) Cliché MET de particules de silice entièrement recouvertes de nanoparticules d'or. Barres d'échelle : 100 nm.

Un test d'assemblage a été réalisé à partir de cette suspension de particules monopatches dont la concentration n'est pas connue. Les résultats montrent que 26 % des particules satellites sont pontantes (figure 3.12). Ceci peut provenir du fait que les particules ont été complètement fonctionnalisées lors de l'étape précédente et/ou que leur patch couvre une surface trop importante, suffisante pour permettre à plusieurs fossettes d'interagir avec lui. Par ailleurs, le ratio nombre de satellites/nombre de fossettes de 2/4 n'est absolument pas respecté puisqu'il est de 0,42/4. Ce large défaut de particules satellites ne serait pas un problème si la taille de leur patch était suffisamment petite pour ne permettre l'assemblage qu'avec une seule fossette. Le taux de pontage élevé observé pour cet assemblage indique donc que lors de leur préparation, les particules satellites n'ont pas assez pénétré dans la paraffine, formant ainsi un patch dont la taille rend l'interaction avec au moins deux fossettes possible.

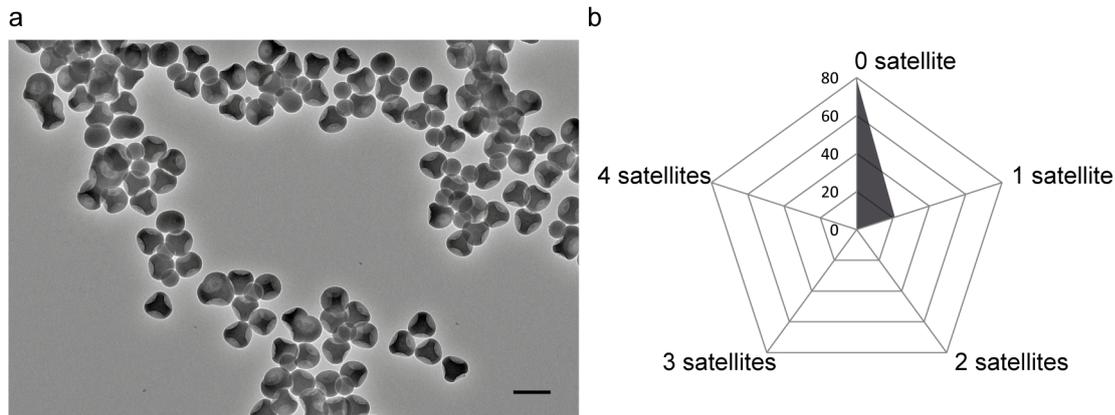


FIGURE 3.12 – Cliché MET de l'assemblage entre des particules de silice tétravalentes et des particules satellites monopatches obtenues par émulsion de Pickering. Barre d'échelle : 200 nm.

L'obtention d'un patch de très petite taille est une tâche très compliquée à réaliser lorsque la particule hôte ne mesure que quelques dizaines de nanomètres. Faute de temps nécessaire pour optimiser les divers paramètres de synthèse de particules monopatches puis d'assemblage, cette méthode est abandonnée au profit de l'utilisation de particules monopatches silice/PS produites dans l'équipe.

Synthèse de particules monopatches silice/polystyrène

Au cours de sa thèse, Weiya Li synthétisa des monopodes silice/PS selon le procédé présenté figure 3.13a.⁹¹ Ils sont préparés à partir de particules de PS rendues plus hydrophiles grâce à leur réticulation avec une écorce de poly(styrène-*co*-MMS) qui sont ensuite gonflées de styrène puis polymérisées pour former une protrusion. La partie disposant de l'écorce de poly(styrène-*co*-MMS) est sélectivement recouverte d'une couche de silice par ajout de TEOS.

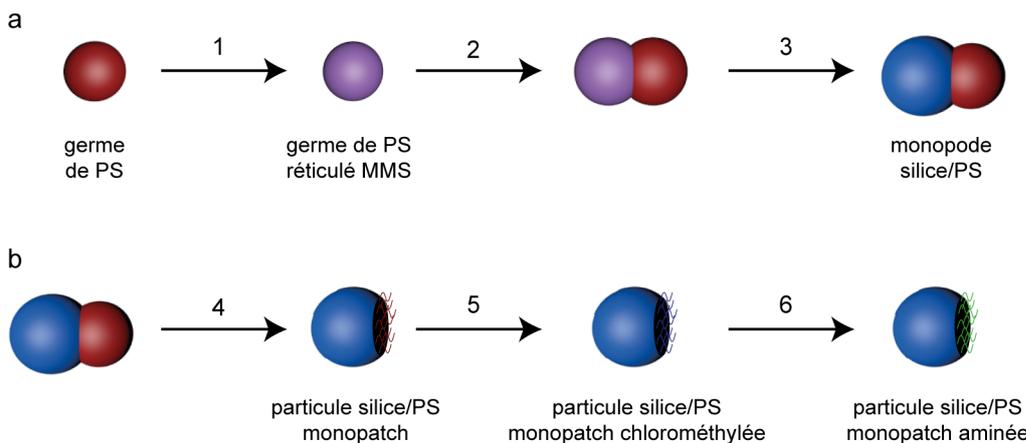


FIGURE 3.13 – Procédé d'élaboration de particules satellites monopatches. (a) Procédé d'élaboration des monopodes silice/PS : (1) réticulation de la surface des germes de PS par copolymérisation de styrène et de MMS ; (2) gonflement de la nanoparticule de PS par ajout de styrène ; (3) dépôt régiosélectif de silice par hydrolyse-condensation de TEOS. (b) Procédé de conversion des monopodes en particules satellites : (4) dissolution du PS par le THF ; (5) chlorométhylation des chaînes de PS résiduelles ; (6) amination des chaînes de PS chlorométhylées.

Ces monopodes silice/PS sont de bons candidats pour fabriquer de nouvelles particules à vocation satellite. En effet, le PS peut être dissous pour obtenir des particules constituées d'une coquille de silice dont seule la surface intérieure est couverte par des chaînes de PS résiduelles pouvant être sélectivement fonctionnalisées (figure 3.13b). Dans le cadre de ce travail seules les étapes à partir du dépôt de silice ont été réalisées.

Protocole 20 : Synthèse de particules satellite silice/PS monopatches à partir de monopodes silice/PS

Dans un ballon de 25 mL sont mélangés 2 mL d'une suspension de particules Janus de PS dans l'eau,⁹¹ 13,4 mL d'éthanol et 1,02 mL d'ammoniaque (28 %) afin d'obtenir un milieu Stöber. 1,44 mL d'une solution à 50 % volumique de TEOS dans l'éthanol est ajouté à 0,5 mL/h à l'aide d'un pousse-seringue. À la fin de l'ajout, le milieu est laissé sous agitation pendant 1 h. La suspension est ensuite centrifugée à 12 000 *g* pendant 10 minutes. Les particules sont dispersées dans l'éthanol puis une grille MET est préparée. Le PS est ensuite dissous par sept cycles de centrifugation/redispersion (12 000 *g*, 10 minutes) dans le THF. Les particules sont finalement dispersées dans l'éthanol puis une grille MET est préparée.

Les clichés de microscopie présentés figure 3.14a, b montrent les particules après dépôt de la couche de silice et après dissolution des nodules de PS respectivement. Les chaînes de PS résiduelles sont alors chlorométhylées selon le protocole 9, déjà utilisé dans le cadre de la fonctionnalisation des particules à patchs.

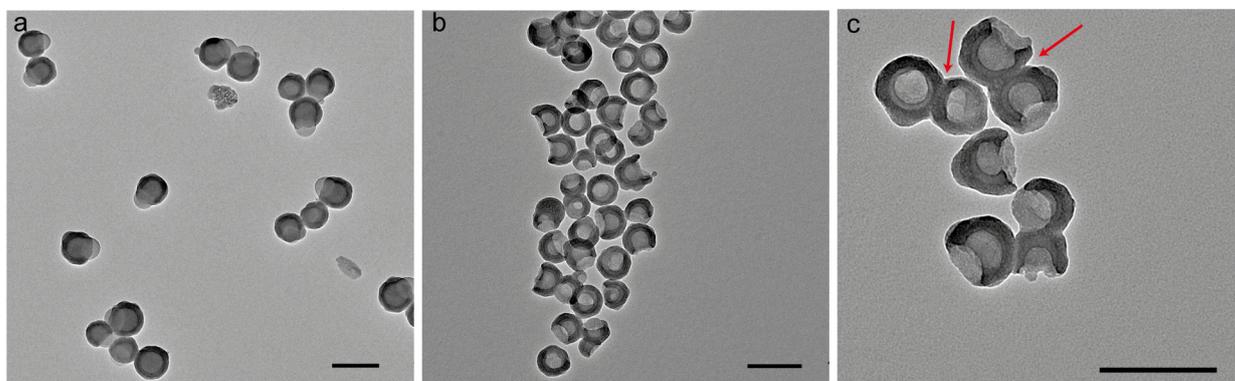


FIGURE 3.14 – Particules monopatches avant et après dissolution du PS. Clichés MET des particules (a) après dépôt de la couche de silice ; (b) après dissolution du PS. (c) Certaines particules sont liées par leur écorce. Les flèches rouges pointent deux paires de particules satellites dans cette configuration. Barres d'échelle : 200 nm.

De la même manière que cela avait été fait après la chlorométhylation des particules à patchs, un test colorimétrique à la NBP est effectué pour vérifier le succès de la réaction. Le culot violet obtenu confirme la bonne fonctionnalisation des chaînes de PS. La seconde étape est l'amination du PS chlorométhylé grâce à l'éthylènediamine. Pour cette étape un large excès de réactif est employé pour minimiser le pontage entre les chaînes de PS.

Protocole 21 : Amination des particules silice/PS monopatches

3 mL d'éthylènediamine sont ajoutés à la suspension de particules monopatches chlorométhylées dans le DMF. Le milieu est porté à 90 °C pendant 15 h. Les particules sont lavées par un cycle de centrifugation/redispersion dans l'éthanol puis deux autres dans l'eau ultrapure. Trois gouttes d'HCl 37 % sont ajoutées avant d'effectuer deux cycles de centrifugation/redispersion dans le DMF.

Ces particules disposant d'un patch aminé sont utilisées en tant que particules satellites dans une réaction d'assemblage avec des particules de silice à quatre patches. Leur concentration est inconnue. L'assemblage est donc réalisé avec un volume de suspension arbitraire. Ce premier assemblage sert d'ajustement pour le rapport nombre de satellites/nombre de fossettes et permet de vérifier la qualité de l'assemblage et notamment l'absence de pontage entre les particules à patches.

Protocole 22 : Assemblage de particules monopatches/PS aminées avec des particules à quatre patches chlorométhylés

Dans un tube eppendorf de 1,5 mL sont mélangés 100 μ L d'une suspension de particules monopatches silice/PS aminées dans le DMF et 100 μ L d'une suspension de particules de silice à quatre patches chlorométhylés dans le DMF. Le milieu est agité pendant 6 jours sur une roue tournant à 25 tr/min.

Les résultats de cet assemblage sont présentés figure 3.15. Les statistiques réalisées montrent un léger défaut de satellites. En effet le rapport n'est pas de 2/4 mais de 1,6/4. L'assemblage conduit majoritairement à des morphologies AXE₃ (50 %). Les autres morphologies présentes sont des objets de type AX₂E₂ ou des objets sans satellite (20 et 26 % respectivement).

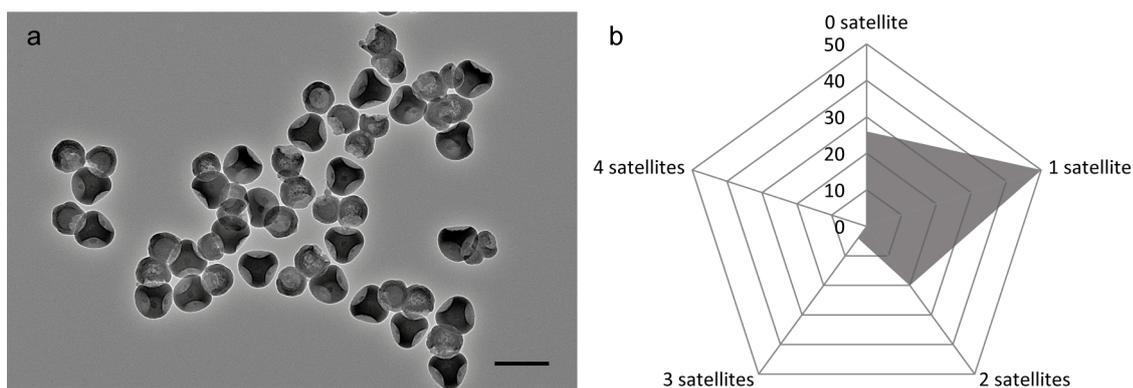


FIGURE 3.15 – Assemblage entre des particules à patches et des particules satellites monopatches. (a) Cliché MET de l'assemblage entre des particules de silice tétravalentes et les particules satellites monopatches ; (b) Statistiques de répartition du nombre de satellites autour d'une particule à patches. Barre d'échelle : 200 nm.

L'utilisation de telles particules permet de réduire significativement le taux de pontage qui est ici de moins de 2%. Des dimères de particules monopatches reliées entre elles par

leur coquille sont parfois observés (*cf.* figure 3.14c). Ils sont probablement formés lors de la réticulation avec le MMS et/ou lors du dépôt de la couche de silice. Ces dimères sont susceptibles de ponter des particules à fossettes. La réalisation de ces étapes à taux de dilution plus élevée pourrait limiter le nombre de dimères.

Malgré un temps d'incubation de 6 jours, 76 % des objets ont un satellite ou moins. La faible quantité d'assemblage est probablement due au fait que les chaînes de PS des particules monopatches sont moins disponibles que les fonctions amines des particules de silice sphériques isotropes. En effet, les chaînes sont greffées sur la surface interne de la coquille de silice et doivent par conséquent s'étendre vers l'extérieur afin de rendre l'assemblage possible.

3.3 Conclusion

Ces travaux ont montré que le contrôle de l'assemblage est difficile à réaliser avec des particules satellites fonctionnalisées de manière isotrope, qui plus est lorsqu'elles sont en défaut par rapport au nombre de fossettes. Cette nature isotrope leur permet de réaliser des assemblages non désirés dans le cadre de la synthèse de molécules colloïdales. En effet, ces particules ont la possibilité de s'assembler avec la fossette d'une deuxième particule lorsqu'elles en occupent déjà une première. La diminution de la concentration diminue les probabilités de rencontre. Les molécules colloïdales formées ont donc tendance à avoir moins de particules satellites autour de la particule à patchs centrale qu'en suspension plus concentrée pour une même durée d'incubation.

Le tri des molécules colloïdales selon leur type est possible par centrifugation en gradient de densité. Les conditions opératoires optimales restent cependant à déterminer.

L'observation par MET conventionnelle des objets assemblés semble montrer ses limites en raison de la présence d'artefacts de séchage. Ces objets pourraient parfaitement se prêter à l'observation en MET en voie liquide, à condition que la dimension des objets assemblés soit suffisamment petite pour entrer dans la cellule liquide.

Bien que les travaux sur la synthèse et l'assemblage de particules monopatches ne soient que préliminaires, les premiers résultats obtenus avec les particules monopatches silice/PS semblent prometteurs en raison du faible taux de pontage observé. Il serait intéressant d'augmenter la durée d'incubation pour voir si le taux de molécules colloïdales AX_2E_2 peut être augmenté.

Chapitre 4

Observation *in situ* de l'auto-assemblage de nanoparticules

4.1 Introduction

Contrairement aux travaux sur l'auto-assemblage d'atomes colloïdaux de taille micrométrique, la microscopie optique ne peut pas être utilisée pour observer la dynamique des procédés d'assemblage de briques élémentaires ne mesurant que quelques dizaines de nanomètres. Sa résolution spatiale est en effet limitée par la longueur d'onde des photons utilisés (200 nm dans les meilleurs cas). Il a donc été nécessaire de mettre au point une technique de caractérisation alliant une résolution de quelques nanomètres à la possibilité de travailler dans des conditions d'observations *in situ* des phénomènes d'auto-assemblage. Si la microscopie électronique (ME) (en transmission ou à balayage) répondait déjà au critère de résolution, seule l'observation directe des milieux réactionnels devrait permettre l'étude des processus d'assemblage. L'idée de couplage entre ME et milieu liquide était née. Du concept à la mise en œuvre il n'y avait plus qu'un pas et depuis quelques années des entreprises commercialisent des porte-objets conçus pour ce type de microscopie électronique. Le laboratoire dans lequel ont été effectués ces travaux de thèse a fait l'acquisition d'un tel dispositif dans l'optique d'observer la dynamique d'assemblage des particules à patches.

Dans ce chapitre, un état de l'art des avancées effectuées jusqu'à présent sur cette technologie est présenté. Une description du porte-objet acheté est ensuite faite avant de présenter les résultats obtenus grâce à ce dernier.

4.1.1 État de l'art : De la naissance de la microscopie électronique en transmission à l'observation *in situ* d'assemblage de nanoparticules

Depuis sa conception et son développement au début des années 30, la microscopie électronique en transmission (MET) est devenue une méthode de caractérisation incontournable dans divers domaines tels ceux des matériaux ou de la biologie, permettant aujourd'hui l'observation d'échantillons avec des résolutions spatiales inférieures à l'angström dans le cas des microscopes de dernière génération.

Un microscope électronique requiert dans la plupart des cas un vide poussé afin d'éliminer les molécules gazeuses qui pourraient perturber le trajet du faisceau d'électrons et donc l'observation finale de l'échantillon d'intérêt. Certains d'entre eux, notamment les échantillons biologiques, ne supportent pas ce genre de conditions. C'est la raison pour laquelle le concept de cellules environnementales permettant l'étude par MET dans un environnement par exemple hydraté fut proposé dès les années 1930 par Marton¹⁴¹ puis en 1944 par Abrams.¹⁴² C'est avec ces cellules équipées de fines membranes que les premières micrographies de cellules biologiques et de nanocristaux de protéines furent obtenues non seulement

dans un environnement liquide mais également dans un état non altéré (figure 4.1).¹⁴³

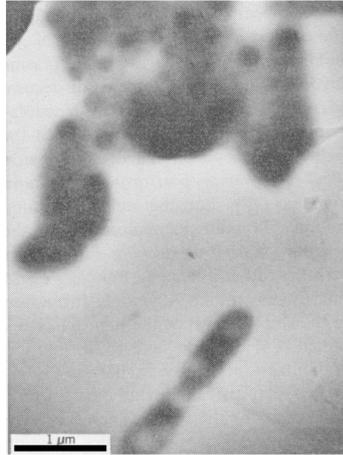


FIGURE 4.1 – Cliché MET en voie liquide d'une bactérie coliforme pris à l'aide d'un microscope opérant à une tension d'accélération de 800 kV.¹⁴³

La MET en voie liquide fut ensuite délaissée au profit de la cryoEM où l'échantillon est descendu à une température telle que son intégrité est préservée en réduisant les dégâts causés par le faisceau d'électrons et par le vide.¹⁴⁴ Les travaux de Dubochet et coll. sur la vitrification permettant d'obtenir de la glace amorphe qui ne diffracte pas les électrons marquèrent définitivement un tournant dans l'évolution de cette technique.¹⁴⁵ Cependant la cryoEM se limite à l'observation d'objets statiques. Dans le but de contourner cette limitation, diverses techniques de cryoEM résolues en temps furent développées.^{146,147} Hélas, ces modes d'observation sont restreints à des résolutions temporelles de l'ordre de la milliseconde. Pour que des observations en temps réel puissent être effectuées, il est donc nécessaire que l'échantillon soit libre de tout mouvement.

Le renouveau de la microscopie électronique en milieu liquide

L'engouement pour l'utilisation de cellules liquides réapparut au début des années 2000 grâce au développement des technologies de fabrication des films ultra fins. Une cellule liquide peut en effet se décrire comme l'empilement de deux gabarits en silicium supportant chacun une fenêtre constituée d'une fine membrane transparente aux électrons et entre lesquelles est contenu l'échantillon liquide. L'étanchéité du montage est assurée par des espaceurs intercalés entre les deux gabarits et qui vont, outre leur rôle de joint, définir l'épaisseur de liquide à observer. C'est notamment suite aux travaux de Ross et coll. que la microscopie en voie liquide recommença à faire parler d'elle.¹⁴⁸ En effet, ils rapportèrent la conception d'une cellule avec des membranes en nitrure de silicium leur permettant d'observer dynamiquement la nucléation et la croissance de clusters de cuivre nanométriques par électrodépôt. Hormis les cellules composées de nitrure de silicium^{149,150} dont l'épaisseur est généralement d'environ 50 nm, il existe également des cellules dont la

membrane est constituée d'un film de graphène.^{151,152} D'autres types de membranes ont été rapportés mais sont beaucoup plus rares.^{153,154,155} Néanmoins, ce sont les cellules avec des membranes de nitrure de silicium qui sont devenues les plus populaires pour plusieurs raisons. Elles sont facilement manufacturables, sont homogènes en composition et en épaisseur, contribuent peu au contraste de l'image et possèdent une haute résistance mécanique nécessaire pour la conception de cellules liquides.¹⁵⁶

La ME est cependant une technologie encore sujette à beaucoup de développements où de nombreux défis doivent être surmontés. Comme freins principaux aux observations, l'épaisseur de liquide traversée qui perturbe les mesures et peut parfois en fausser le sens, la stabilité du milieu liquide et des objets d'intérêt qui peuvent être sources d'artéfacts et de perturbations. Des dégradations de l'échantillon peuvent ainsi avoir lieu en raison des phénomènes de radiolyse (notamment celle de l'eau) produisant des espèces chimiquement actives qui peuvent diffuser dans le liquide et interagir y compris en dehors de la zone irradiée.¹⁵⁷ deJonge *et al.* publièrent une revue sur l'étude des facteurs déterminant la résolution spatiale et temporelle en microscopie liquide, avec notamment les effets de l'épaisseur de l'échantillon et de sa sensibilité aux électrons.¹⁵⁸

Réduction et contrôle de l'épaisseur du film liquide

Un des paramètres cruciaux est donc l'épaisseur de liquide présent dans la cellule. Divers espaceurs tels des microsphères de PS,¹⁵⁹ des couches d'indium¹⁶⁰ ou de la silice^{148,161} furent rapportés. Dans tous les cas, l'obtention d'un film liquide fin et uniforme permettant d'atteindre des résolutions spatiales atomiques s'avère très compliquée. Pour principale cause, la déformation des membranes qui dilate la cellule sous l'action du vide de la colonne du microscope. Cette déformation est dépendante de la dimension des membranes. Plus elles sont grandes, plus elles sont bombées. Ainsi, l'épaisseur de liquide dans une cellule est environ celle de l'espaceur vers les bords mais elle est beaucoup plus importante au centre.¹⁶² Les multiples phénomènes de diffusion des électrons dans l'épaisseur de liquide dégradent donc la résolution spatiale et le contraste de l'image.^{163,164} Il est donc difficile dans ces conditions d'obtenir des résolutions atomiques. De nombreuses équipes ont donc cherché à développer des techniques permettant d'avoir des films liquides les plus fins et uniformes possibles.

Pour réduire le phénomène de bombement, Tanase *et al.* mirent au point une cellule monolithique sans espaceur où les deux wafers sont joints par des piliers.¹⁶⁵ Cependant, cette cellule est difficile à charger et non disponible commercialement. Une autre stratégie proposée par Zhu *et al.* consiste à réduire l'épaisseur de liquide grâce à la formation d'une bulle de taille contrôlée au sein de la cellule.¹⁶⁶ Cette bulle est créée par irradiation de la cellule pendant quelques secondes, probablement par radiolyse de l'eau sous faisceau.¹⁶⁷ Sa taille peut être contrôlée en faisant varier la densité de courant employée. Grâce à une

épaisseur de liquide de 40 nm, les auteurs réussirent ainsi à imager des nanoparticules de Pd avec une résolution spatiale de moins de 0,2 nm (figure 4.2).

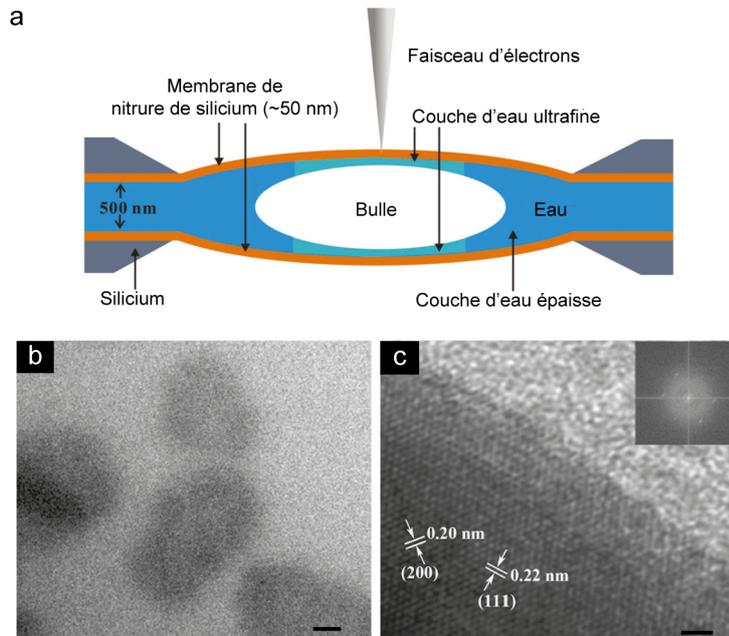


FIGURE 4.2 – Réduction de l'épaisseur de liquide pour l'observation de nanoparticules de palladium. (a) Schéma en coupe représentant la bulle à l'intérieur de la cellule ; (b) Cliché MET en champ clair en voie liquide de particules de Pd dans un film liquide épais ; (c) cliché MET haute résolution en voie liquide d'une particule de Pd dans un film liquide ultrafin d'environ 40 nm.¹⁶⁶ Barres d'échelle : (b) 20 nm ; (c) 2 nm.

Très récemment, deJonge et coll. rapportèrent une autre stratégie visant à diminuer l'épaisseur du film liquide dans la cellule.¹⁶⁸ Après avoir rempli la cellule avec l'échantillon, les canaux d'alimentation du porte-objet sont séchés puis utilisés en tant que lignes de vide. Un montage permettant de régler la pression dans la cellule avec une précision de 20 mbar est alors connecté au porte-objet. Les tests ont été effectués sur des cellules ayant un espaceur de 0,2 μm . L'épaisseur du film liquide est calculée à partir de spectres de perte d'énergie (EEL *electron energy loss* en anglais) pour des pressions internes de 0,05, 0,5 et 1,0 bar. Les résultats montrent que l'épaisseur du film s'étend de 0,23 à 0,72 μm . Des membranes quasiment plates peuvent être obtenues à 0,05 bar. L'épaisseur de liquide est stable pendant 35 minutes après quoi elle commence à diminuer, vraisemblablement par évaporation du liquide en raison du vide appliqué. Les auteurs purent ainsi réaliser des clichés haute résolution de particules d'or avec une résolution de 2,4 Å (figure 4.3).

L'avantage de la MET en voie liquide est de pouvoir observer la dynamique d'un procédé. Plusieurs équipes ont donc étudié la nucléation et la croissance de particules métalliques induites par le pouvoir réducteur du faisceau d'électrons. L'assemblage de nanoparticules *in situ* a également été un des centres d'intérêt de cette technique.

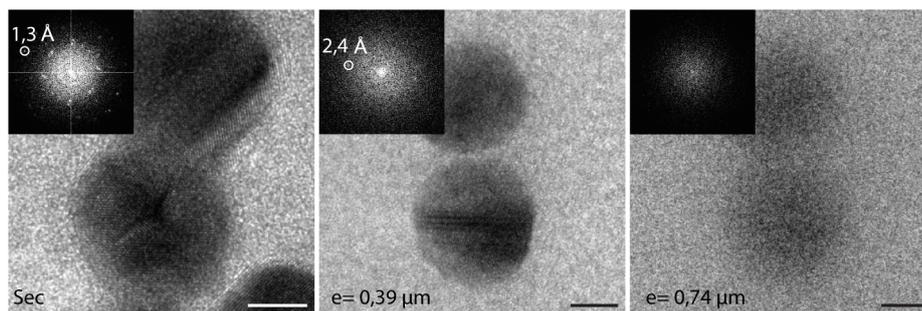


FIGURE 4.3 – Impact de l'épaisseur de liquide sur les observations en MET en voie liquide. Clichés MET en champ clair en voie liquide de particules d'or dans la cellule liquide (a) à l'état sec ; (b) dans un milieu tampon phosphate salin (PBS) à 10 % dans l'eau à une pression de 0,05 bar pour une épaisseur de film liquide de 0,39 μm ; (c) à 1,0 bar pour une épaisseur de film liquide de 0,74 μm . Les encarts représentent les diffractogrammes numériques de chaque image.¹⁶⁸ Barres d'échelle : 5 nm.

Observation de la croissance de nanoparticules par microscopie électronique en voie liquide

La croissance de nanoparticules peut être observée de manière directe ou indirecte. Dans le premier cas, des réactifs peuvent être injectés dans le milieu réactionnel placé au sein de la cellule grâce au système de microcanaux présent dans le porte-objet dédié. La rencontre entre les sels injectés et le(s) réducteur(s) initialement contenus dans la cellule aura donc lieu directement durant l'observation. Dans le second cas, des nanoparticules peuvent être formées *in situ* suite à des phénomènes de radiolyse non recherchés engendrés par le faisceau d'électrons. Les ions métalliques présents en solution sont réduits en atomes métalliques par les électrons solvatés ainsi créés. Ces atomes métalliques s'agglomèrent pour former des noyaux puis des nanocristaux après croissance.¹⁶⁹ Plusieurs équipes ont ainsi étudié la croissance de nanocristaux directement en solution en induisant la nucléation grâce au faisceau d'électrons. Voici quelques exemples caractéristiques et représentatifs de ce que peut apporter la MET en voie liquide à ce genre d'étude.

Zheng *et al.* étudièrent ainsi le procédé de nucléation-croissance de particules de Pt. Le modèle classique de formation d'un nanocristal fait l'hypothèse d'une phase de nucléation discrète suivie par une phase de croissance via ajout d'unités monomères mais néglige les interactions particule-particule.¹⁶⁰ Cependant, Zheng *et al.* observèrent grâce à la MET en voie liquide que la nucléation et la croissance ont lieu en même temps. À une dose d'irradiation constante, la nucléation s'étale sur une durée de 10 secondes. L'observation dynamique permet de voir qu'en plus de la croissance par ajout d'unités monomères, les particules croissent aussi par coalescence. En effet, au début de la phase de croissance, le nombre de particules continue d'augmenter pour atteindre un maximum après 21 secondes, puis le nombre de particules diminue significativement pour arriver à une valeur constante. Bien que certaines particules de petite taille soient dissoutes, cette diminution du nombre

de particules est due aux phénomènes de coalescence entre particules isolées. Les deux chemins de croissance sont présentés figure 4.4 où les particules ont au final un diamètre similaire d'environ 3,4 nm. Contrairement à la particule formée par simple croissance, la particule formée par coalescence présente une structure polycristalline.

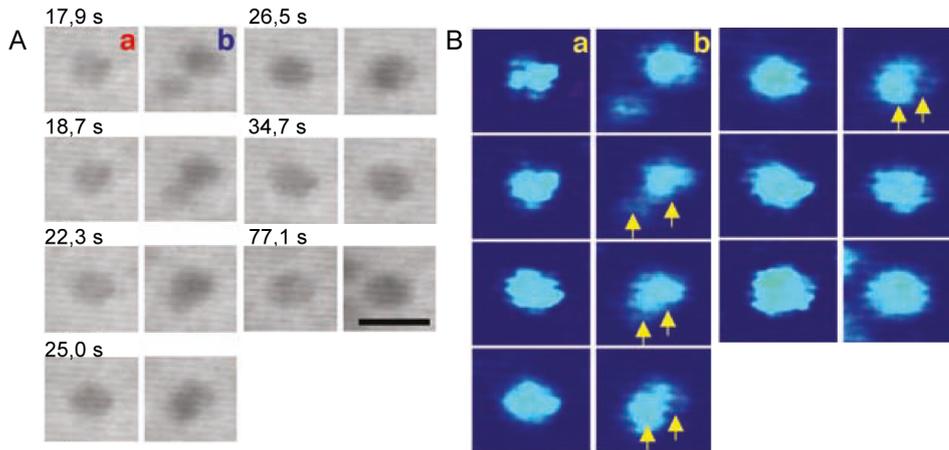


FIGURE 4.4 – Cinétique et mécanismes de croissance de nanoparticules de platine. Images MET en champ clair en voie liquide de la croissance par (Aa) addition d'unité monomère ou par (Ab) coalescence. (B) Images Aa et Ab agrandies 1,5× et colorées. Les changements de contrastes sont pointés par les flèches jaunes indiquant une recrystallisation.¹⁶⁰ Barre d'échelle : 5 nm.

La croissance par coalescence peut aussi produire des géométries non-sphériques. Des nanofils de Pt₃Fe peuvent ainsi être formés suite à l'attachement directionnel des particules entre elles comme l'ont montré Liao *et al.*¹⁷⁰ Ce phénomène peut être attribué aux interactions dipolaires entre particules. Des nanostructures dendrimères 2D furent également observées par Zhu *et al.* après nucléation de clusters de Pd par irradiation.¹⁷¹

Observation dynamique d'assemblage de nanoparticules par microscopie électronique en voie liquide

La microscopie électronique en voie liquide permet également de visualiser dynamiquement la manière dont les nanoparticules s'assemblent pour former un réseau. Bien que leur diffusion dans un film liquide proche d'une surface puisse être différente de celle dans un milieu liquide de synthèse, les procédés observés *in situ* fournissent des informations sur les interactions et l'assemblage entre particules.

En procédant à une analyse des bases de données, il ressort que sur les 344 articles où il est question de MET en voie liquide, seuls 56 articles traitent d'assemblage (figure 4.5).

Park *et al.* réalisèrent par exemple l'étude de l'assemblage de particules de Pt de 7,3 nm de diamètre.¹⁷² Pour cela, ils utilisèrent le faisceau d'électrons comme source d'énergie pour évaporer le solvant localement dans la zone bombardée. En suivant individuellement chaque particule, les auteurs ont constaté que le mouvement des particules est dicté par les

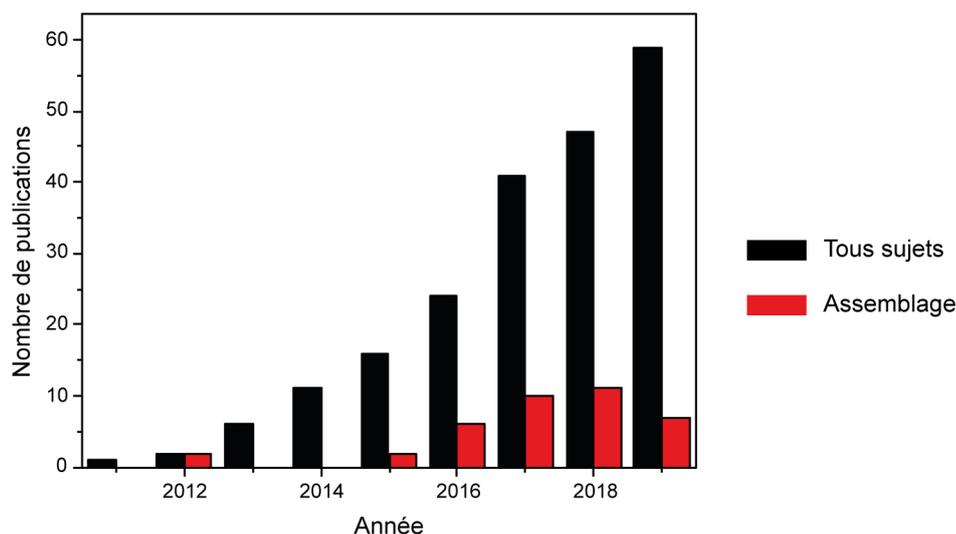


FIGURE 4.5 – Nombre de publications sur la microscopie électronique en transmission en voie liquide par année. En noir, les publications sur la MET en voie liquide : analyse réalisée en date du 05 novembre 2019 sur la base de données Web of Science sur la requête « liquid-cell electron microscopy » ou « liquid-phase electron microscopy » ou « liquid-cell transmission electron microscopy ». En rouge, un affinement des résultats via la requête « assembl* » permettant d'obtenir les publications traitant de l'assemblage par microscopie en voie liquide.

forces capillaires et les fluctuations du solvant. En effet, au fur et à mesure que le solvant s'évapore et que les zones sèches s'étendent, les fronts de solvant poussent les particules dans les zones encore humides, réduisant ainsi peu à peu la distance entre les particules jusqu'à ce qu'elles s'organisent en un réseau compact 2D. La figure 4.6 montre l'évolution de ce phénomène pour lequel les particules initialement distribuées aléatoirement finissent par former un réseau ordonné.

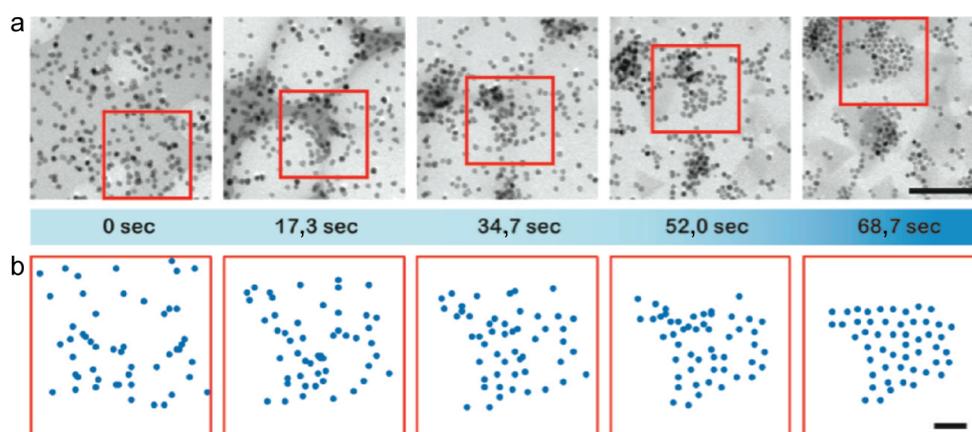


FIGURE 4.6 – Observation *in situ* d'une structure ordonnée. Images MET en champ clair en voie liquide de particules de Pt à différents temps ; (b) positions relatives des 51 particules présentes dans le carré rouge de la figure 4.6a.¹⁷² Barres d'échelle : (a) 100 nm ; (b) 20 nm.

Dans leurs travaux, Zhen et coll. montrèrent l'influence de l'oleylamine sur l'assemblage

de particules de fer platine.¹⁷³ Ils purent observer par MET en voie liquide que pour une concentration de 20 et 30 % d'oleylamine, les particules s'assemblent pour former des nanofils. Cependant, avec 20 %, les fils se cassent pour reformer des particules alors qu'avec 30 %, les nanofils subsistent. À 50 % d'oleylamine, seule la croissance des particules est observée, leur morphologie étant toutefois dépendante de leur environnement et plus précisément du nombre de particules voisines (figure 4.7).

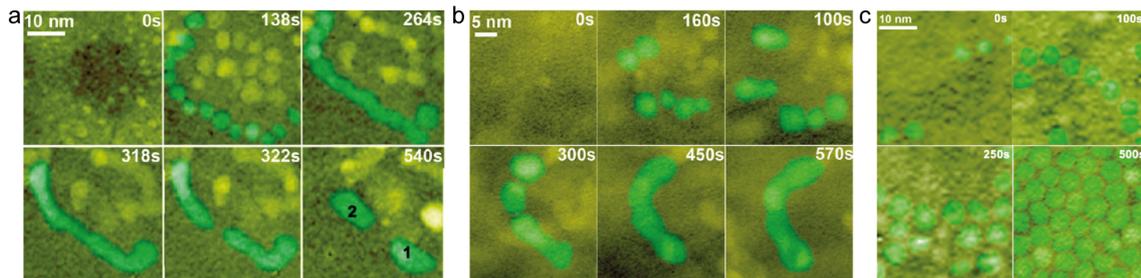


FIGURE 4.7 – Influence de la concentration en oleylamine sur l'assemblage de particules de fer platine. Images MET en voie liquide montrant la croissance de particules de fer platine à différents temps pour une concentration en oleylamine de (a) 20 %; (b) 30 %; (c) 50 %.¹⁷³

Enfin, lors d'une observation par MET en voie liquide, il est important de garder en tête que le faisceau d'électrons est susceptible d'avoir un impact direct sur les observations. Les travaux de Liu *et al.* en sont un parfait exemple. L'observation de particules d'or couvertes soit par des cations cétyltriméthylammonium (CTA) soit par des anions citrate montre deux comportements totalement différents.¹⁷⁴ Les électrons solvatés formés par radiolyse de l'eau diminuent la charge positive globale des particules d'or-CTA. Les interactions dipôle-dipôle et les interactions de van der Waals prévalent alors la répulsion interparticulaire conduisant à la formation de chaînes comme le montre la figure 4.8. Les particules couvertes de citrates ne semblent quant à elles pas affectées par le faisceau électronique.

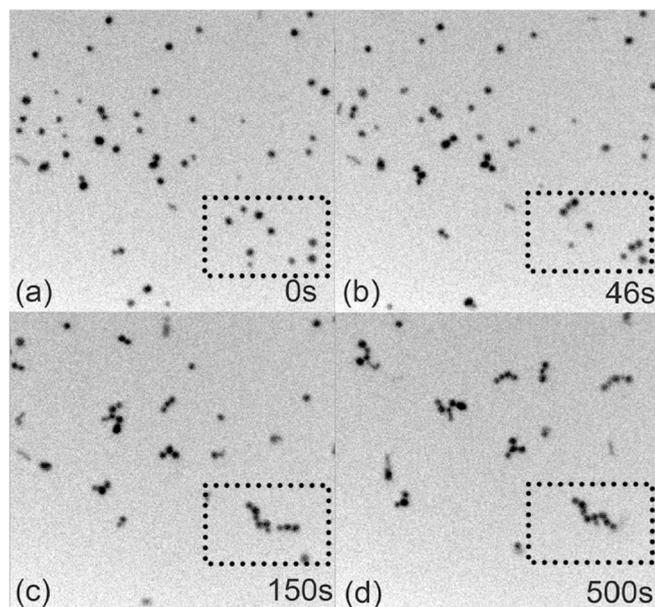


FIGURE 4.8 – Images MET en champ clair en voie liquide de l'assemblage de particules d'or à (a) 0 s; (b) 46 s; (c) 150 s et (d) 500 s en présence de CTA.¹⁷⁴

4.1.2 Observations préliminaires par microscopie électronique en voie liquide à l'université de Bordeaux

Avant d'en faire l'acquisition, un porte-objet, le *Poseidon select* avait été testé lors d'une démonstration en partenariat avec l'entreprise américaine Protochips. Des bipyramides d'or en suspension dans l'eau avaient alors été observées en mode statique. La figure 4.9 montre des images MET extraites d'une capture video prises à intervalles de temps de 0, 4, 8, 18, 20 et 27 secondes.

Nous y voyons des sphères et des bipyramides d'or cohabiter au sein du milieu liquide. Ces morphologies sont très souvent regroupées sous forme de petits assemblages sphères-sphères ou sphères-bipyramides. Pour ces derniers, les sphères semblent attachées sur les facettes latérales des bipyramides, à proximité des pointes. Au-delà de ce premier décryptage des images, il convient de préciser que même si les contrastes en MET voie liquide ne changent pas, l'observation et l'interprétation sont cependant bien différentes par rapport à la MET conventionnelle. De plus, si l'observation générale des particules relève de la simple lecture de l'image, il est toutefois très difficile de savoir où se situent les objets les uns par rapport aux autres en raison de l'épaisseur de liquide très importante. Pour repérer les objets en interaction, l'opérateur peut par exemple voir ceux qui se déplacent ensemble au cours du temps, tels la sphère et la bipyramide qui pivotent ensemble sur la figure 4.9. Les différences de contraste et de mise au point s'expliquent quant à elles par le mouvement continu des objets rendant alors impossibles les réglages parfaits en tous points et à tout moment de l'observation. Une différence de mise au point entre deux objets pourra donc s'expliquer

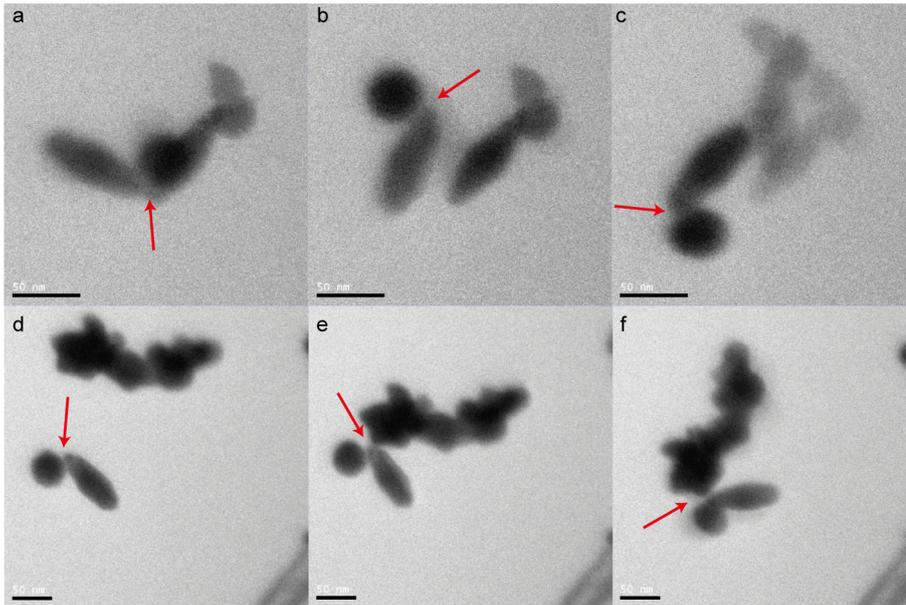


FIGURE 4.9 – Observation de bipyramides d'or en milieu liquide. Images MET en champ clair en voie liquide des objets en mouvement prises à des temps de (a) 0 s ; (b) 4 s ; (c) 8 s ; (d) 18 s ; (e) 20 s et (f) 27 s. Les flèches rouges montrent l'interaction entre la sphère et la bipyramide (a-f) puis avec l'agrégat (e, f). Barres d'échelle : 50 nm.

comme une différence de hauteur de ces deux objets. Cette brève retranscription directe des observations s'avère beaucoup plus riche que le premier niveau de lecture que nous avons fourni. Nous pourrions nous interroger sur les raisons pour lesquelles les sphères sont proches de la pointe plutôt que du plan basal des bipyramides. Nous pourrions également tenter de comprendre si le rapprochement de l'assemblage sphère-bipyramide du petit agglomérat de particules voisin se fait aléatoirement ou non. Autant de questions ne trouvent peut-être pas de réponse sur la base de ces observations préliminaires mais celles-ci montrent le degré de richesse de telles expériences. Ce dispositif semble donc intéressant pour réaliser l'observation d'assemblages évoqués dans le chapitre précédent afin d'en connaître la dynamique.

4.1.3 Conclusion sur l'état de l'art et présentation des enjeux des travaux de microscopie *in situ* menés à l'université de Bordeaux

La caractérisation d'échantillons en milieu liquide est somme toute une technologie encore très récente. Les premiers travaux furent axés sur la mise au point de cellules robustes fabriquées au sein même des laboratoires, permettant l'obtention de films liquides les plus fins possible pour limiter les phénomènes de diffusion du faisceau d'électrons et ainsi tendre vers les mêmes résolutions spatiales que celles atteignables en MET conventionnelle.

Les publications dans ce domaine montrent que la principale thématique abordée fut l'étude de la croissance des nanoparticules. Concernant les assemblages, hormis des études où la force motrice est le séchage du solvant, aucune étude sur l'observation d'assemblages en suspension par interactions hydrophobe ou covalente n'a été rapportée. Or, cette technologie semble idéale pour observer la dynamique d'assemblage des nanoparticules à patches synthétisées à l'université de Bordeaux.

Ce chapitre présente donc les premiers travaux d'observation par MET d'échantillons en milieu liquide effectués à l'université de Bordeaux. Ils ont été réalisés dans le cadre du développement de cette technique dans le but d'observer la dynamique d'auto-assemblage des nanoparticules à patches. Dans un premier temps, des particules de silice bivalentes estimées plus simples à utiliser furent employées pour se familiariser avec le dispositif. Puis, le système cible constitué de particules de silice tétravalentes et de particules de silice de 100 nm fut étudié.

4.1.4 Présentation d'un porte-objet dédié à la microscopie électronique en milieu liquide

De par l'engouement lié à la possibilité de réaliser des observations en milieu liquide puis l'amélioration des technologies d'usinage et de miniaturisation des composants, des entreprises se sont lancées il y a quelques années dans la conception et la fabrication de porte-objets destinés à être utilisés pour l'observation d'échantillons en milieu liquide. Parmi elles, Protochips est aujourd'hui celle dont la technologie est la plus aboutie. Elle a conçu le modèle de porte-objet utilisé au cours de ces travaux, le *Poseidon select*.

Conception et fonctionnement du porte-objet *Poseidon select*

Le porte-objet *Poseidon select* existe en différentes versions chacune adaptée à un fabricant de microscopes (JEOL, FEI). Au cours de ces travaux, un porte-objet compatible avec les microscopes JEOL est utilisé. Il dispose de quatre ports situés sur sa partie arrière comme le montre la figure 4.10a.

Les trois ports supérieurs sont dédiés à la circulation de liquides (échantillon, solvant, réactif). Les ports encadrés en rouge sont les ports d'alimentation et possèdent un diamètre interne de 127 μm alors que le port encadré en jaune est le port d'évacuation, possédant quant à lui un diamètre interne de 178 μm . Cette différence de diamètre est essentielle pour éviter une surpression dans la cellule qui aurait pour conséquence de rompre la membrane. Des modules complémentaires peuvent également être installés sur le porte-objet permettant alors de chauffer le milieu ou de faire des expériences d'électrochimie *in situ*. Les conditions expérimentales sont alors contrôlées en connectant des appareils via le port Hirose situé à l'arrière du porte-objet. Ces aspects du *Poseidon select* ne seront pas abor-

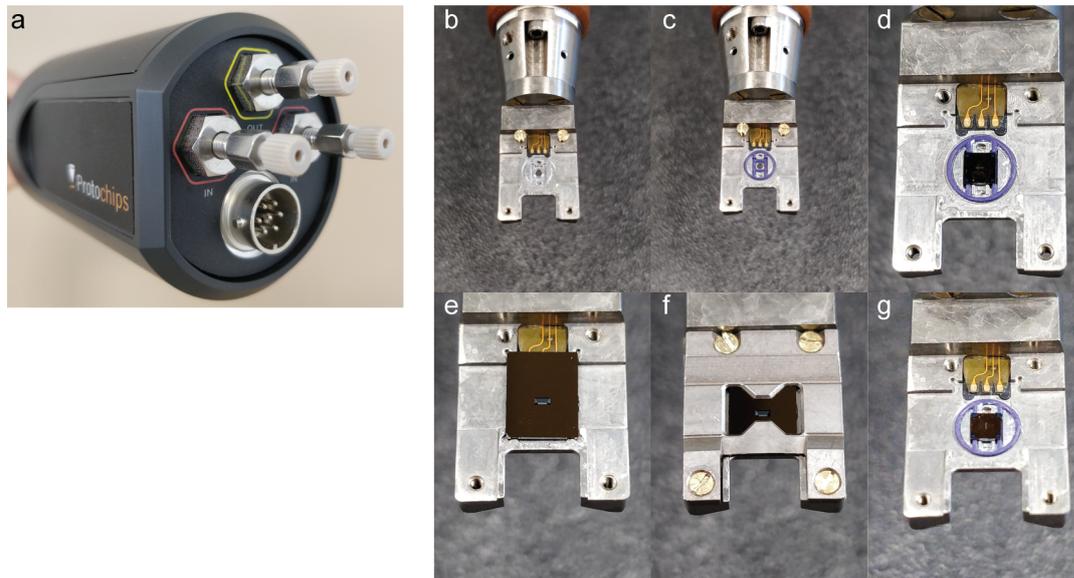


FIGURE 4.10 – Photographies du porte-objet *Poseidon select*. (a) arrière du porte-objet avec les trois canaux d'alimentation bouchés en haut et le port Hirose en bas ; (b) Tête du porte-objet à nu ; (c) tête après ajout du joint ; (d) tête après ajout de la puce inférieure en configuration parallèle ; (e) tête après ajout de la puce supérieure ; (f) tête complètement remontée ; (g) tête du porte-objet avec la puce inférieure en configuration perpendiculaire.

dés dans ce manuscrit car ces fonctions n'ont pas été utilisées lors de ce travail. La tête du porte-objet est conçue de manière à rendre l'analyse EDX possible. Elle dispose d'un capot vissé qui peut être retiré pour laisser apparaître l'emplacement où la cellule doit être montée. Cette dernière est composée de deux parties que sont la puce inférieure et la puce supérieure. Toutes les étapes du montage d'une cellule sont présentées figure 4.10b-g.

Le *Poseidon select* peut être utilisé de deux manières. La cellule peut tout d'abord être chargée avec l'échantillon directement lors de son montage par dépôt d'une goutte. L'expérience est alors dite en mode « statique ». Sinon la cellule peut également être chargée après son montage via les microcanaux prévus à cet effet, auquel cas l'expérience est dite en mode « flux ».

4.2 Observation d'assemblages dynamiques par microscopie électronique en milieu liquide

L'observation est la dernière d'une série d'étapes consistant à choisir, préparer et monter la cellule avec l'échantillon. Contrairement à la MET conventionnelle, la préparation est difficile. Elle demande du temps, de la minutie et arriver jusqu'à l'étape d'observation

n'est pas garanti. Ces étapes sont détaillées ci-dessous.

4.2.1 Préparation et montage de la cellule

Une cellule se compose d'une paire de puces formant l'enceinte microfluidique servant à contenir l'échantillon. Pour procéder au montage, il est nécessaire de réaliser des étapes de préparation préliminaires. Les puces sont fournies avec une couche photoprotectrice qui doit dans un premier temps être dissoute. Les faces internes doivent ensuite être rendues hydrophiles pour favoriser le remplissage de la cellule.

Les puces intègrent chacune une fenêtre composée d'une cavité sur la face arrière et d'une membrane sur la face avant (ou face interne). Cette très fine membrane est constituée de nitrure de silicium amorphe assurant le passage des électrons avec une diffusion minimale du faisceau. La figure 4.11 présente les puces supérieures et inférieures constituant la cellule.

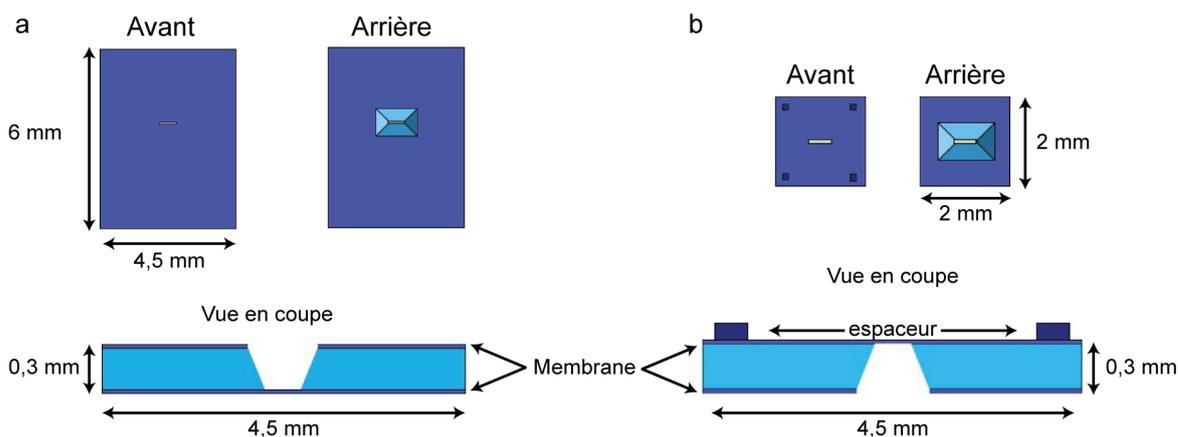


FIGURE 4.11 – Schéma de la paire de puces constituant la cellule. (a) Puce supérieure; (b) puce inférieure.

Pour s'adapter à la grande variété d'échantillons susceptibles d'être étudiés, différents modèles de puces sont disponibles. Avant de commencer le montage de la cellule, il faut d'abord choisir un modèle pour la puce supérieure et la puce inférieure. Ce choix est dicté en grande partie par la taille et la quantité disponible de l'échantillon à observer.

4.2.1.1 Choix des puces pour la cellule

Concernant la puce supérieure, le choix est relativement facile. N'utilisant ni le module de chauffage ni celui d'électrochimie, la seule variable de cette puce est la taille de la fenêtre, avec deux possibilités : soit une fenêtre de 550 x 50 μm soit une de 550 x 20 μm . Chacune possède ses avantages et ses inconvénients. La première, plus large, offre une surface d'observation plus importante. Cependant, sous l'effet du vide, elle sera davantage bombée par rapport à la fenêtre de plus petite taille. Par conséquent, elle sera plus à même

de casser. De plus, l'épaisseur de liquide à traverser sera également plus important avec $2\ \mu\text{m}$ pour une cellule ayant une fenêtre de $550 \times 50\ \mu\text{m}$ contre $1\ \mu\text{m}$ pour une fenêtre de $550 \times 20\ \mu\text{m}$ comme le montre la figure 4.12.

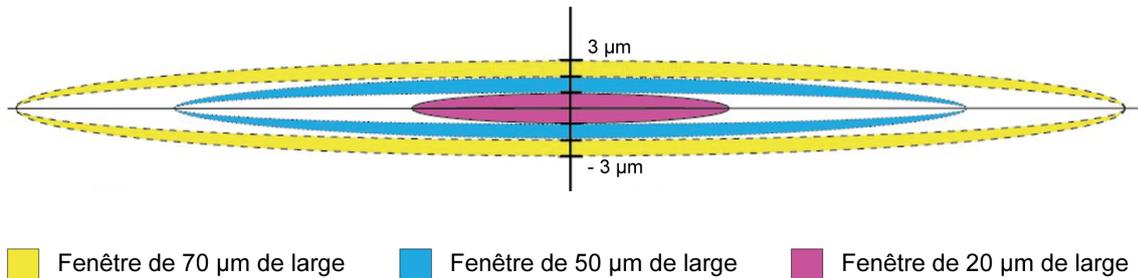


FIGURE 4.12 – Variation d'épaisseur de la cellule en fonction de la dimension de la fenêtre.

Pour les travaux présentés ci-après, la priorité a été donnée à l'étendue de la zone observable par rapport à la tenue mécanique ou encore à l'épaisseur de liquide à traverser par le faisceau d'électrons. Le porte-objet *Poseidon select* utilisé présente en effet l'avantage de pouvoir être utilisé sur les trois MET JEOL de la Plateforme Aquitaine de Caractérisation des Matériaux. La plateforme dispose d'un JEOL JEM-1400+ opérant à 120 kV, un JEOL-JEM-2100 opérant à 200 kV et d'un MET haute résolution JEOL-JEM-2200FS opérant également à 200 kV. Il est donc possible d'adapter les conditions d'observation aux échantillons à étudier compensant par exemple une épaisseur de liquide plus importante par une tension d'accélération plus élevée.

Le choix de la puce inférieure est quant à lui un peu plus complexe. Dans un premier temps, il faut savoir si l'expérience doit être menée en mode statique ou en mode flux pour déterminer la géométrie de l'espaceur présent sur les puces inférieures (figure 4.13). Dans le cas d'une observation réalisée en mode statique, l'espaceur doit assurer l'étanchéité de l'édifice une fois la cellule montée. En mode flux, l'espaceur doit au contraire laisser passer les flux entrants et sortants de liquide et de particules. Dans sa globalité, un montage en flux est plus long et nécessite d'avoir un plus grand volume d'échantillon. En effet, ce dernier doit être poussé dans le capillaire d'alimentation avant que celui-ci ne soit connecté au porte-objet dans lequel l'échantillon continuera sa progression jusqu'à la cellule puis l'évacuation. Le flux est maintenu tout au long de l'observation, ce qui au total représente un volume d'échantillon bien supérieur au $0,5\ \mu\text{L}$ de suspension déposé en mode statique. Le mode flux peut parfois devenir inévitable notamment lorsque le solvant de l'échantillon est très volatil, rendant ce dernier incompatible avec le mode statique où la goutte d'échantillon a tendance à s'évaporer lors du montage de la cellule.

La taille de l'espaceur est le second critère de sélection du modèle de puce. Il existe différentes hauteurs (50, 150 et 500 nm) et celle-ci doit être choisie en fonction de la taille de l'échantillon. En effet, un objet de dimensions supérieures à l'épaisseur créée par l'espaceur endommagerait la fenêtre en nitrure de silicium. Les cellules avec des grands espaceurs

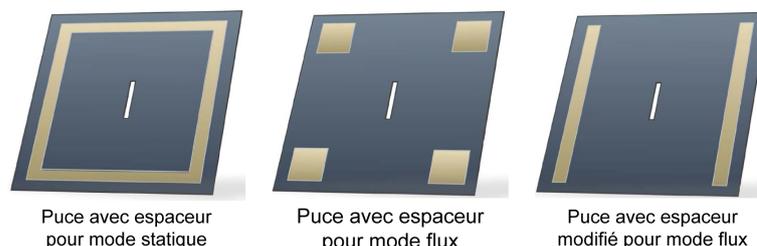


FIGURE 4.13 – Schéma représentant les différentes géométries d'espaceur sur la puce inférieure.

pourront donc servir à l'observation d'objets de grande dimension mais l'épaisseur de liquide à traverser sera plus importante ce qui impactera négativement sur le contraste et la netteté de l'image obtenue. Pour ces travaux, des espaceurs de 500 nm ont été utilisés aussi bien pour des expériences en mode statique qu'en mode flux.

4.2.1.2 Pré-traitement des puces

À partir de cette étape, les puces sont manipulées manuellement par l'opérateur. La fragilité des membranes rend la tâche plus compliquée. Il n'est ainsi pas rare de les casser ! Pour donner une idée, une personne avec peu d'expérience casse environ une cellule sur trois, toutes étapes du montage confondues. Heureusement, ce taux de casse diminue avec l'habitude et l'expérience. C'est la raison pour laquelle leur intégrité est vérifiée entre chaque étape à l'aide d'un microscope binoculaire.

Pour dissoudre la photorésistance protectrice, les puces sont plongées dans un bain d'acétone puis rincées dans un bain d'éthanol. Le passage d'un bain à l'autre doit être suffisamment rapide pour éviter l'évaporation de l'acétone afin de ne pas trouver de résidus sur la puce. L'éthanol est ensuite évaporé en appliquant un léger flux d'air à l'aide d'une bombe à air comprimé. Le flux d'air doit être appliqué dans le plan de la puce pour limiter les contraintes et ainsi les risques de casse. Un traitement plasma est réalisé sur les faces intérieures des puces à l'aide d'un appareil ELMO de la société Cordouan Technologies. Ce traitement permet de décaper la surface des puces en cassant la plupart des liaisons organiques des contaminants présents et en formant des molécules volatiles (H_2O , CO , CO_2), éliminées par le vide. Les puces deviennent donc plus hydrophiles, permettant alors un meilleur remplissage de la cellule par les solvants polaires. Les étapes de dissolution de la couche protectrice et de traitement plasma sont décrites dans le protocole 23.

Protocole 23 : Préparation de la cellule – Dissolution de la photorésistance

La puce inférieure et la puce supérieure sont plongées dans un bain d'acétone pendant deux minutes en agitant doucement le récipient à la main. Elles sont ensuite rapidement transférées dans un bain d'éthanol pour être rincées. Après deux minutes sous légère agitation, les puces sont retirées du bain puis séchées à l'aide d'une bombe à air comprimé en appliquant un léger flux d'air dans le plan de la puce.

Une fois les puces dépourvues de leur photorésistance, un traitement d'effluage de 8 minutes à une intensité de 2 mA et sous une pression de 2×10^{-1} mbar est effectué sur la face interne.

Ce n'est qu'après ces deux étapes préliminaires que la cellule peut être montée sur le porte-objet.

4.2.1.3 Montage de la cellule

Quel que soit le mode d'observation sélectionné, la première chose à faire est de placer la puce inférieure dans son emplacement au centre du joint dans la tête du *Poseidon select* après que celle-ci a été nettoyée selon le protocole 24. C'est à partir de cette étape que le protocole de montage varie selon les modes statique ou flux.

Protocole 24 : Nettoyage de la tête du *Poseidon select*

Le capot est dévissé et retiré. Le joint est lui aussi retiré puis nettoyé à l'aide d'éthanol. Les fibres et débris éventuels sont éliminés par adhésion avec du parafilm. En parallèle, la tête du porte-objet est elle aussi lavée à l'éthanol puis séchée à l'air comprimé. Une fois la propreté de la tête et du joint vérifiée au microscope binoculaire, le joint est remis à son emplacement.

Deux positionnements sont néanmoins possibles. La première configuration, dite parallèle, consiste à placer la cellule de manière à ce que la fenêtre soit perpendiculaire à l'axe du porte-objet. La seconde configuration, dite perpendiculaire ou croisée, consiste à placer la cellule de manière à ce que la fenêtre soit parallèle à l'axe du porte-objet (schémas figure 4.14 et photographies figure 4.10d, g). Une configuration perpendiculaire réduit considérablement la surface observable mais permet d'avoir une épaisseur de liquide constante aux quatre coins de cette zone rendant les réglages plus aisés.

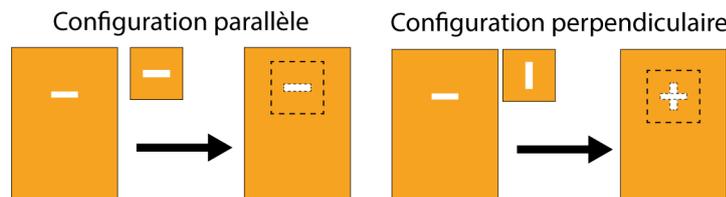


FIGURE 4.14 – Configurations possibles pour la cellule. Configuration en parallèle (à gauche) et configuration en perpendiculaire (à droite)

Le montage en mode statique est réalisé selon le protocole 25. Une faible quantité d'échantillon (maximum 3 μ L) est déposée sur la puce inférieure à l'aide d'une micropipette. Cette étape est délicate. La goutte d'échantillon ayant tendance à ne pas se détacher de la pointe, il faut mettre le liquide en contact avec la puce. Malheureusement, c'est souvent la puce qui se colle à la pointe plutôt que le liquide qui se dépose sur la puce ! Une fois la goutte déposée avec succès sur la puce inférieure, la puce supérieure est posée sur le tout afin de fermer la cellule. Les fenêtres doivent être parfaitement alignées sans quoi le faisceau d'électrons ne

pourra pas les traverser. Cette opération constitue la plus grosse difficulté du montage. En effet, le placement de la partie supérieure se fait en déposant la puce quelques millimètres au-dessus de la partie inférieure. Le but est d'avoir le bon alignement au premier essai car la goutte d'échantillon solidarise les deux parties de la cellule. Dans le cas où les fenêtres ne sont pas correctement alignées, la puce supérieure doit être déplacée pour être réalignée, et il est très fréquent que la membrane ne résiste pas à cette manipulation et casse, obligeant à tout recommencer depuis le début. Lorsque l'alignement est bon, le capot est vissé sur la tête pour maintenir l'ensemble.

Protocole 25 : Montage d'une cellule pour l'observation en mode statique

La puce inférieure est placée au centre du joint, face intérieure vers le haut. Une goutte d'échantillon (0,5 - 3 μL) est déposée sur la puce à l'aide d'une micropipette. Puis, la puce supérieure est déposée sur la puce inférieure, face intérieure vers le bas, pour fermer la cellule. Le bon alignement des fenêtres est vérifié en s'assurant qu'un faisceau lumineux parvienne à traverser la cellule. Finalement, l'ensemble est maintenu grâce au capot qui est revissé.

Concernant le mode flux, le montage est le même qu'en mode statique à l'exception du fait que l'échantillon n'est pas déposé entre les deux puces (protocole 26). Il n'y a donc ici pas le problème d'adhésion entre celles-ci causé par l'échantillon. L'alignement peut donc être réalisé sans contrainte et avec beaucoup moins de risques de casse.

Protocole 26 : Montage d'une cellule pour l'observation en mode flux

La puce inférieure est placée au centre du joint, face intérieure vers le haut. Puis, la puce supérieure est déposée sur la puce inférieure, face intérieure vers le bas. Son bon positionnement est vérifié en faisant passer un faisceau lumineux à travers la cellule. Lorsque les fenêtres sont correctement alignées, le capot est revissé pour verrouiller l'ensemble.

4.2.1.4 Test sous vide : dernière vérification avant l'insertion dans le microscope

Une fois la cellule montée dans le porte-objet, il est impératif de réaliser un dernier test avant insertion dans le microscope. Ce test consiste à vérifier l'étanchéité de la cellule en introduisant le porte-objet dans une station de pompage (HiCube de la marque Pfeiffer vacuum) où la pression est abaissée jusqu'à 5×10^{-6} mbar.

Encore une fois, le test pour un montage statique et le test pour un montage flux sont différents comme le montre la figure 4.15. En mode statique, le protocole 27 est suivi. Les bouchons présents sur les capillaires doivent être retirés pour établir une connexion avec l'extérieur et ainsi pouvoir identifier une éventuelle fuite grâce à la valeur de pression qui ne pourra pas descendre correctement.

Protocole 27 : Test sous vide - mode statique

Une fois la cellule montée dans le porte-objet selon le protocole 25, les bouchons présents sur les ports à l'arrière sont retirés. Le porte-objet est alors placé dans une station de pompage. Le test est réussi si le vide atteint une valeur de 5×10^{-6} mbar.

Lorsque le montage est réalisé pour le mode flux, c'est aussi à ce moment que l'échantillon est injecté dans la cellule à l'aide d'un pousse seringue Pump 11 Elite de la marque Harvard. Le protocole 28 détaille la marche à suivre. L'un des deux ports d'alimentation du porte-objet est connecté à un seringue dans laquelle se trouve l'échantillon et le port d'évacuation est connecté à un récipient destiné à récupérer l'échantillon après son passage dans la cellule. La suspension contenant l'échantillon d'intérêt est poussée dans le porte-objet avec un débit progressif afin de minimiser le changement de pression dû au fluide. Cette mise sous flux est réalisée sous pression atmosphérique jusqu'à ce que des gouttes soient observées en sortie. Ce n'est qu'à ce moment là que le pompage peut être enclenché.

Protocole 28 : Test de vide et mise sous flux de la cellule

Une fois la cellule montée dans le porte-objet selon le protocole 26, le porte-objet est placé dans une station de pompage sans activer la pompe. Un capillaire interne d'alimentation est retiré du porte-objet pour le remplir de solvant puis est réinséré dans le porte-objet. Un capillaire est connecté à la seringue contenant l'échantillon. Ce dernier est poussé manuellement jusqu'en sortie du capillaire avant d'être connecté au porte-objet au niveau du second port d'alimentation. Un capillaire inséré dans un tube eppendorf faisant office de récipient de collecte est connecté au port d'évacuation du porte-objet. L'échantillon est injecté à un débit initial de $20 \mu\text{L}/\text{h}$. Il est ensuite augmenté par paliers jusqu'à atteindre le débit de travail de $50 \mu\text{L}/\text{h}$. Lorsque les premières gouttes sont aperçues en sortie, la pompe est activée. Le test est réussi si le vide atteint une valeur de 5×10^{-6} mbar.

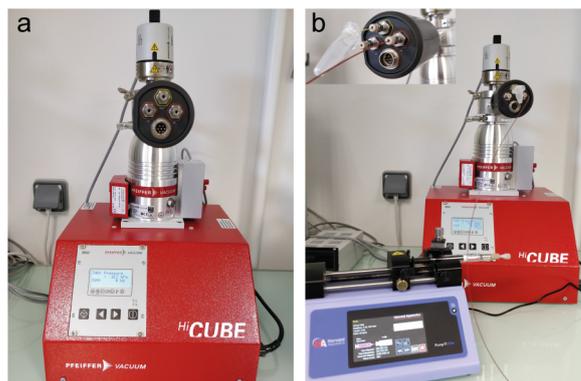


FIGURE 4.15 – Test de vide. Photographie du porte-objet dans la station de pompage dans le cas du mode statique (a) et du mode flux avec la présence des capillaires et du pousse-seringue (b).

De manière générale, une cellule étanche se remarque par une chute rapide de la pression pour atteindre la gamme 10^{-5} mbar après environ deux à trois minutes de pompage. Au

contraire, une cellule avec une fuite atteindra difficilement la gamme 10^{-3} mbar. Il se peut aussi que la membrane casse pendant le test ou que la fuite soit très minime assurant alors tout de même un niveau de vide assez bas. Une valeur critique de $2,2 \times 10^{-5}$ mbar a été remarquée. Si la pression ne parvient pas à descendre davantage alors la cellule doit être refaite depuis le début. En cas de doute, un des capillaires internes peut être retiré provoquant alors une augmentation de la pression de l'ordre de deux ordres de grandeur en cas de fuite. Une fois le test de vide passé avec succès, le porte-objet peut être inséré sans crainte dans le microscope afin de passer à l'observation de l'échantillon.

4.2.2 Observation d'assemblages de nanoparticules *in situ*

Pour réaliser les premiers tests, il a été décidé d'utiliser un lot de particules de silice bivalentes de 190 nm (celles utilisées pour former la chaîne présentée figure 1.29g) synthétisé par Weiya Li au cours de sa thèse.⁹¹ Cela permet de travailler sur un échantillon moins complexe pour les raisons suivantes : (i) les particules satellites ne sont pas nécessaires dans le cas de cet assemblage induit par des interactions hydrophobes entre les chaînes de PS rendues collantes par un mélange THF : eau 70 : 30 et favorisé par l'écrantage des charges de surface des particules de silice par le chlorure de sodium ; (ii) cet assemblage ne donne lieu qu'à des structures 1D.

Comme décrit dans la section 4.1.4, le porte-objet peut être utilisé aussi bien en mode statique qu'en mode flux. Dans un premier temps, le mode statique a été préféré car jugé plus simple à mettre en œuvre d'un point de vue expérimental mais également car les objets sont moins susceptibles de se déplacer et donc plus facilement observables. Le mode flux a été utilisé plus tard pour des raisons expérimentales expliquées après. La complexité a progressivement été augmentée jusqu'à observer l'assemblage de particules satellites et de particules à patches tétravalentes. L'ensemble des travaux a été réalisé sur un MET JEOL JEM-2200FS opérant à une tension d'accélération de 200 kV. Quelques expériences ont également été menées sur un JEOL-1400-plus, opérant à 120 kV.

4.2.2.1 Observation de particules à patches bivalentes

Observation en mode statique

L'observation des particules bivalentes a d'abord été effectuée en mode statique. Le chargement de la cellule a été effectué selon le protocole 25 avec des particules en suspension dans le THF ($3,6 \times 10^{14}$ particules/L) incubées pendant 17 jours. L'étanchéité de la cellule est vérifiée selon le protocole 27.

Les particules observées sont immobiles. Un cliché représentatif est présenté figure 4.16. Une grande partie des particules isolées sont posées sur une de leurs faces alors que les

particules assemblées formant les chaînes sont posées sur leur tranche.

Le THF est un solvant qui s'évapore assez vite et le temps nécessaire pour aligner les puces et fermer la cellule est suffisant pour permettre le séchage de la goutte déposée. Ceci pourrait expliquer l'immobilité des objets ainsi que les contrastes obtenus. En effet, les particules sont bien définies et se distinguent parfaitement du fond continu. Il est également possible que l'absence de mouvement soit due à une interaction avec la membrane.

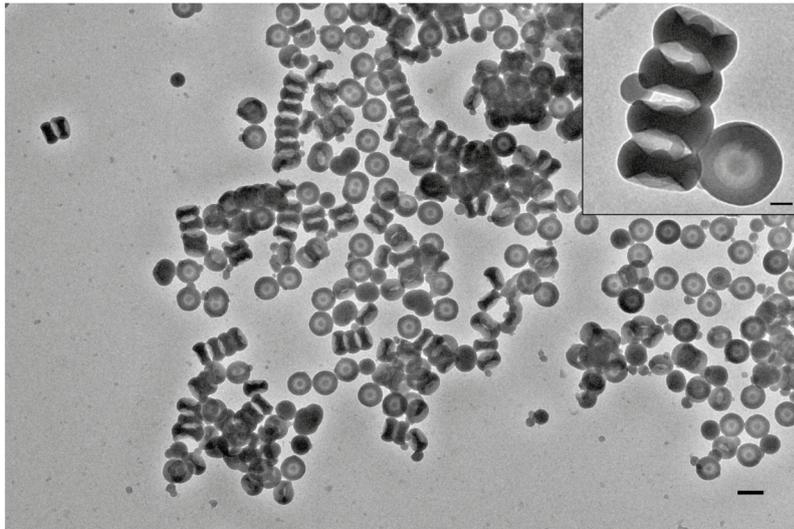


FIGURE 4.16 – Cliché MET en champ clair en voie liquide de particules à patches bivalentes dans le THF après 17 jours d'incubation. L'encart montre une chaîne constituée de quatre particules assemblées. Barres d'échelle : 200 nm (encart : 50 nm).

Pour pallier aux problèmes liés au THF et notamment à son séchage trop rapide, la suspension est diluée dans l'eau avant d'être chargée dans la cellule, toujours selon le protocole 25. La nouvelle concentration de la suspension est de 9×10^{12} particules/L. Le pourcentage volumique de THF de 2,5 % est cependant trop faible pour espérer observer un assemblage. Cette expérience est donc surtout un comparatif pour voir le comportement des particules dans une cellule bien remplie.

Comme précédemment, les particules sont immobiles et la majeure partie est posée sur une face. Pour avoir une image nette, la hauteur de l'échantillon z doit être réglée à une valeur d'environ $-110 \mu\text{m}$. Cette valeur représente la valeur limite de réglage, ce qui semble indiquer que les particules reposent sur la membrane inférieure. À part à cette valeur de z , aucune autre particule n'a été vue en balayant sur toute la gamme de z . La présence de liquide est quant à elle confirmée par un autre phénomène. Les particules sont très rapidement endommagées sous faisceau électronique. Or, ces mêmes particules sont parfaitement stables lorsqu'observées en MET conventionnelle avec un faisceau condensé sur elles. Des images extraites de captures vidéos sont présentées figure 4.17. Elles montrent l'état d'une particule au début de l'irradiation et son évolution à différents temps. Alors que la particule est initialement posée sur sa face, elle semble tourner pour se positionner

verticalement lors de sa mise en mouvement. La dernière image atteste de la destruction totale de la particule après 78 secondes.

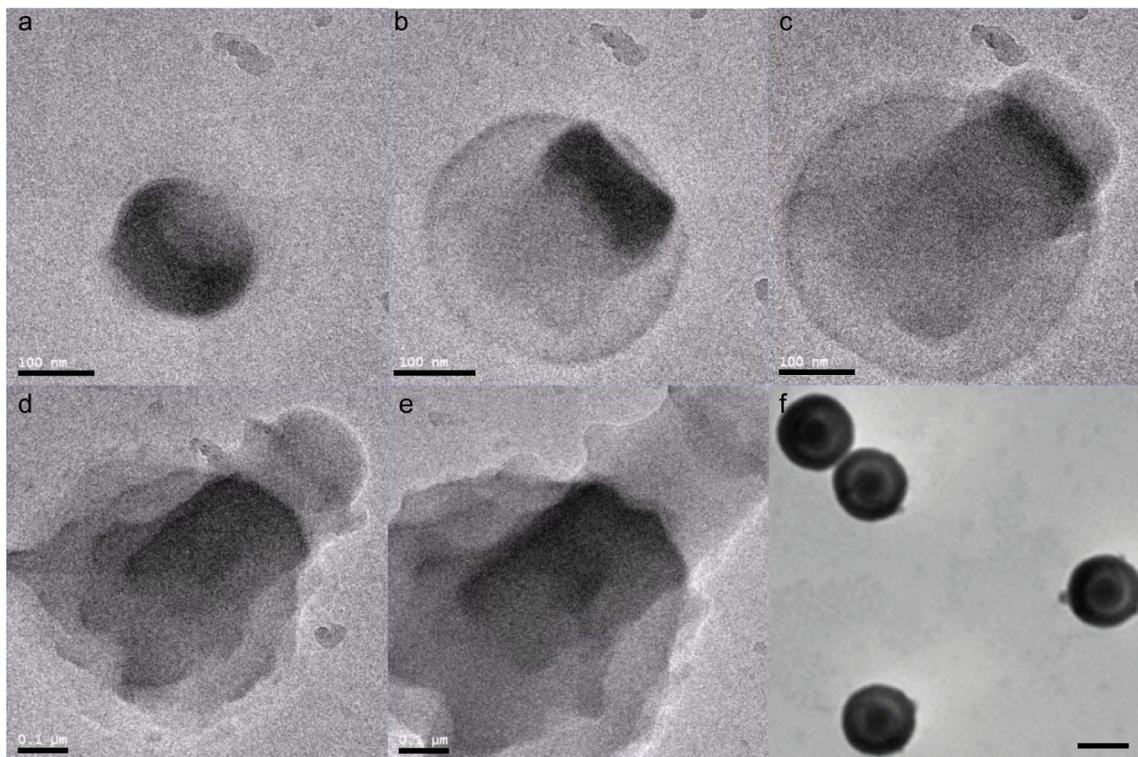


FIGURE 4.17 – Phénomène de dégradation sous faisceau électronique en milieu liquide d'une particule de silice bivalente. Images MET en champ clair en voie liquide de la particule (a) en début d'irradiation; (b-d) après 24, 36, 56 secondes d'irradiation respectivement; (e) après 78 secondes d'irradiation; (f) cliché MET conventionnelle de particules de silice bivalentes. Barres d'échelle : 100 nm.

Cette expérience montre que certes des particules peuvent être observées, cependant leur dégradation très rapide contraint l'utilisateur à faire des observations sur des temps courts. Il se peut que les particules soient juste hydratées et non en suspension, ce qui pourrait expliquer leur immobilité. L'autre possibilité serait que l'interaction des particules bivalentes avec la membrane soit assez forte pour les empêcher de bouger. Il a alors été décidé de procéder au montage des cellules en mode flux afin de voir l'impact de la circulation continue de liquide sur le comportement des particules.

Observation en mode flux

Pour réaliser une observation en mode flux, la cellule est chargée et son étanchéité vérifiée selon le protocole 28. Les particules de concentration 9×10^{12} particules/L sont en suspension dans un mélange THF/H₂O à 2,5% en THF.

Durant l'observation, il faut rester attentif au niveau de vide dans la colonne. Ceci est vrai aussi pour le mode statique mais l'est d'autant plus en mode flux puisque du liquide est

injecté en continu dans la cellule. La colonne du microscope peut donc être rapidement contaminée en cas de casse. C'est pourquoi, dès le moindre doute, l'injection est stoppée et le porte-objet retiré du microscope. Il peut être remis dans la station de pompage pour vérifier l'intégrité de la cellule avant de choisir de continuer ou non l'expérience.

Protocole 29 : Observation en mode flux

Après le test de vide validé (protocole 28), le porte-objet est remis sous pression atmosphérique et le flux de liquide est stoppé. Le porte-objet est ensuite inséré dans le microscope. Le flux est remis directement au débit de travail de 50 $\mu\text{L}/\text{h}$. La valeur de vide de la colonne est vérifiée très régulièrement au cours de l'observation. Celui-ci doit rester dans la gamme de valeurs voisines de 10^{-6} mbar. Pour ne pas risquer de contaminer la colonne, le porte-objet doit être retiré du microscope dès que la pression commence à remonter anormalement. En fin de séance, le flux est stoppé et le porte-objet retiré du microscope.

Plusieurs expériences en flux ont été faites avec les particules bivalentes. Il arrive que lors de certains essais, les particules soient comme emprisonnées dans un volume de contraste nettement plus sombre (figure 4.18). Les images étant enregistrées en champ clair, un tel contraste peut trouver son explication dans une augmentation de l'épaisseur traversée par les électrons. Il se pourrait également que cet assombrissement soit dû à l'interaction du faisceau d'électrons avec le milieu liquide. Dans cet exemple précis, le contraste sombre se situe au milieu de la zone d'observation ce qui correspond avec la position du faisceau d'électrons. Il n'y a donc pas moyen de trancher entre les deux hypothèses. Il s'agit même certainement d'une combinaison de ces deux phénomènes. Par ailleurs, les particules ne semblent pas être dégradées au cours de l'observation.

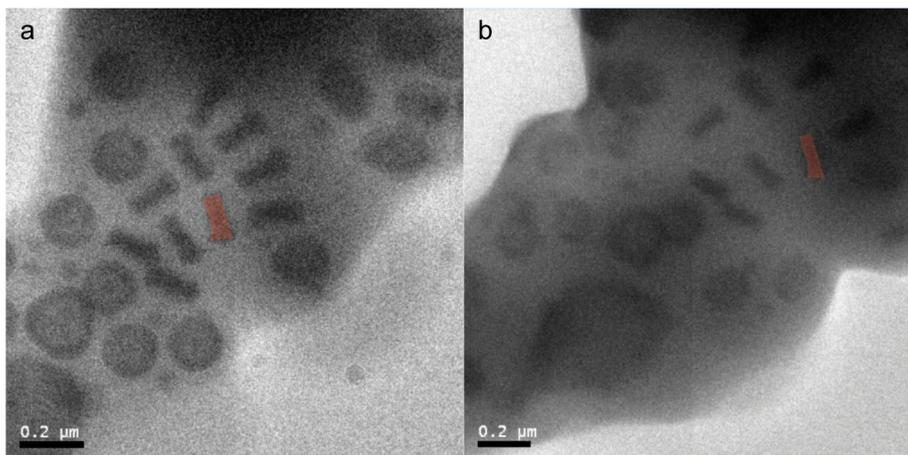


FIGURE 4.18 – Images MET en champ clair en voie liquide montrant l'évolution de particules contenues dans un volume de contraste sombre après (a) 7 secondes ; (b) 105 secondes d'irradiation. Une particule est colorée en rouge pour mieux rendre compte du déplacement des particules. Barres d'échelle : 200 nm.

Comme illustré précédemment, une évolution drastique des particules dont l'intégrité est mise à mal par le faisceau d'électrons a souvent été constatée lors de ces observations

(figure 4.19).

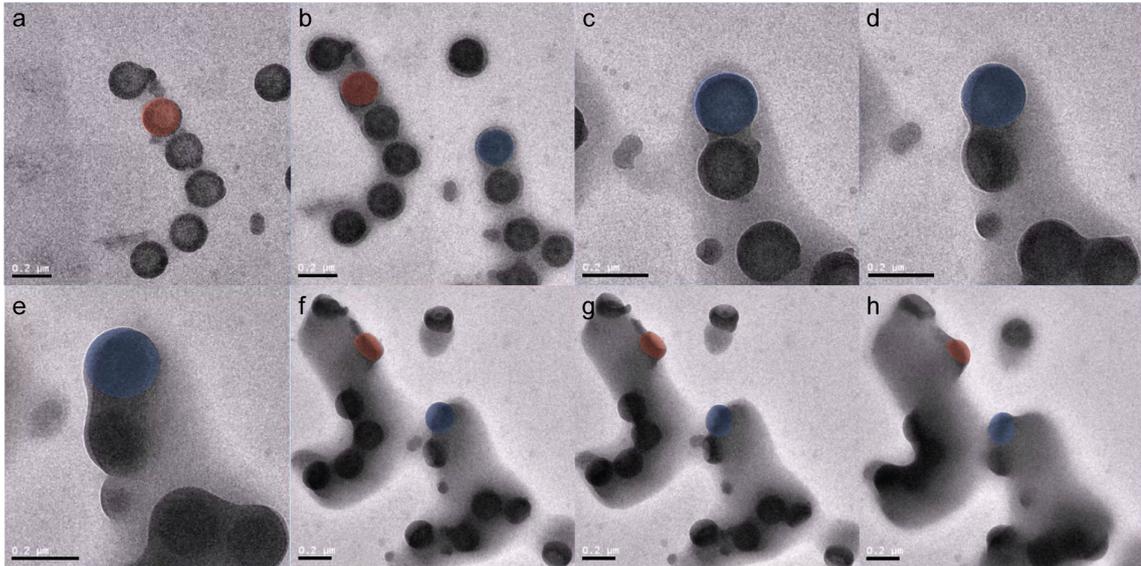


FIGURE 4.19 – Évolution de particules bivalentes sous faisceau électronique. Image MET en champ clair en voie liquide des particules (a) au début de l'irradiation ; (b-g) après 32, 64, 88, 112, 136, 144 secondes ; (h) Image MET en champ clair en voie liquide des particules après 184 secondes d'irradiation. Deux particules ont été coloriées, l'une en rouge l'autre en bleu pour rendre compte de leur mouvement. Barres d'échelle : 200 nm.

De rares mouvements ont cependant pu être observés comme le montre la figure 4.20.

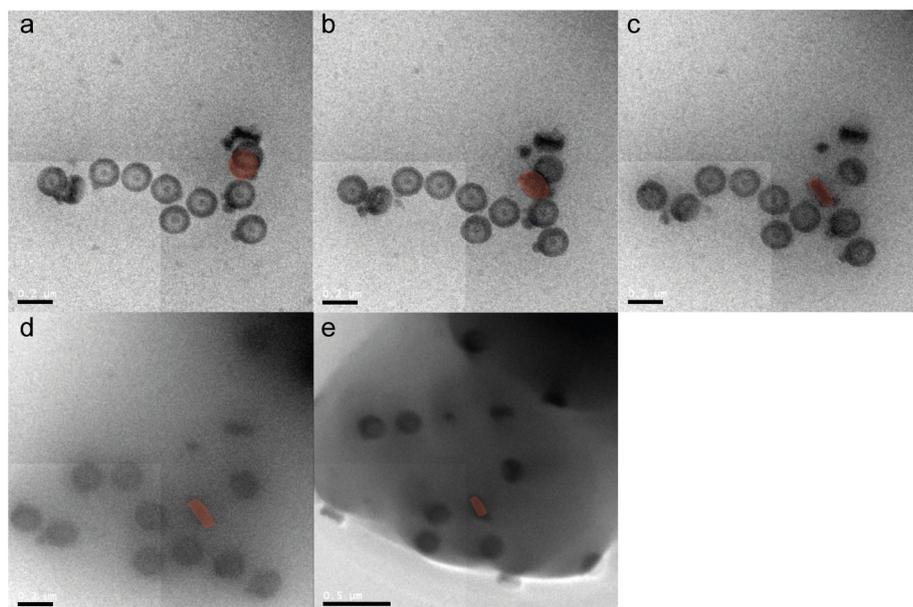


FIGURE 4.20 – Mouvements de particules bivalentes et du front liquide. (a-e) Image MET en champ clair en voie liquide des particules après 9, 40, 70, 130, 250 secondes d'irradiation. Une particule a été coloriée en rouge pour suivre ses mouvements. Barres d'échelle : (a-d) 200 nm ; (e) 500 nm.

Les trois particules en haut à droite de l'image sont au début superposées. Après 22 secondes d'irradiation, les particules entrent en mouvement et commencent à s'éloigner les unes des autres. L'une d'elles pivote alors pour se placer sur sa tranche. Une perte de contraste et de netteté liée à l'augmentation de l'épaisseur de liquide peut être remarquée sur l'image (d). En effet, l'image (e) montre dans le coin supérieur droit un front liquide arriver en direction des particules. Le comportement des deux zones (noire et grise) est tout à fait similaire. La zone noire vient pousser la zone grise et elles finissent par fusionner. Les particules n'ont pas l'air de se détériorer. Certaines sont situées à la lisière du front et y restent malgré les mouvements de ce dernier. Les images (f-h) de la figure 4.19 montrent aussi exactement ce phénomène.

Le changement par rapport aux expériences en mode statique est notable. Le flux apporte de nouvelles particules en continu ce qui permet de considérablement allonger la durée des séances d'observation.

Globalement, une expérience en mode flux prend une journée entre le montage, l'observation et le nettoyage du dispositif. En effet, une fois l'observation terminée, les capillaires doivent impérativement être nettoyés en injectant de l'éthanol pour éviter tout risque de colmatage. La procédure de nettoyage complète est décrite dans le protocole 30.

Protocole 30 : Démontage et nettoyage - mode flux

Les capillaires sont déconnectés du porte-objet. La cellule est retirée et jetée. Chaque capillaire interne est nettoyé avec 3 mL d'éthanol. Le capillaire ayant servi à relier la seringue où se trouvait l'échantillon au porte-objet est également nettoyé en injectant 3 mL d'éthanol à l'aide d'un pousse-seringue. Une fois les capillaires nettoyés, les bouchons sont revissés à l'entrée de chaque capillaire interne. Enfin, la tête du porte-objet est également passée à l'éthanol puis séchée à l'aide d'une bombe à air. Des puces à blanc (sans fenêtre) sont placées sur la tête avant de remonter le capot.

L'amélioration des résultats obtenus lors des expériences en flux avec notamment l'observation de particules en mouvement nous a conduit à tenter l'observation de particules de silice à patchs tétravalentes.

4.2.2.2 Observation de particules à patchs tétravalentes

L'observation de particules à patchs tétravalentes n'a été effectuée qu'en mode flux, bien plus simple à mettre en œuvre malgré un temps de préparation et de nettoyage plus long. La cause de l'apparition de zones sombres venant perturber les observations n'ayant pas pu être définie, les conditions d'éclairage ont été modifiées. Jusqu'à présent la dose d'électrons permettait d'obtenir des contrastes très satisfaisants. Il a donc été décidé de diminuer la dose d'électrons quitte à subir une perte de netteté des images, mais en espérant générer moins de dégâts d'irradiation au sein de la cellule.

Auto-assemblage et observation *in situ* de particules à patchs et de bipyramides d'or

Pour ces expériences, des bipyramides d'or ont été ajoutées à la suspension de particules à patches tétravalentes dont les chaînes de PS sont chlorométhylées ($C = 3,9 \times 10^{14}$ particules/L)

Comme décrit dans le paragraphe 4.1.2, les observations préliminaires sur les bipyramides d'or avaient montré le mouvement de celles-ci. En ajoutant des bipyramides d'or aux particules à patches, nous espérons voir si des différences de comportement en terme de mouvements ou vis-à-vis du faisceau existent. La dégradation de l'or pourrait également être moins rapide du fait de sa structure cristalline. Le fort contraste des particules d'or est également un atout permettant de visualiser les bipyramides plus facilement.

Comme les particules bivalentes, les particules à patches tétravalentes sont immobiles. En revanche, les bipyramides se déplacent qu'elles soient isolées ou en interaction avec une fossette. La figure 4.21 montre un petit agrégat de bipyramides d'or en interaction avec une fossette se déplacer.

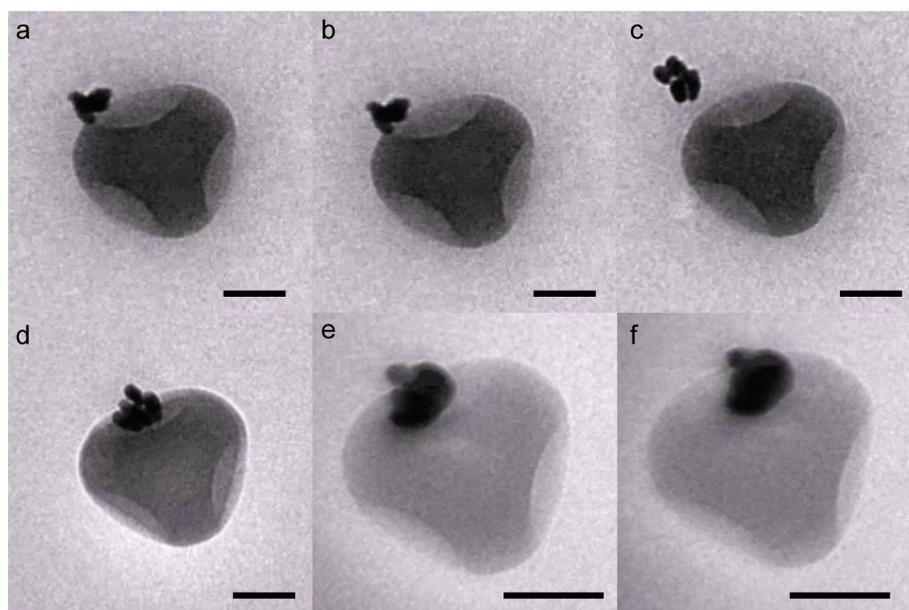


FIGURE 4.21 – Déplacement et évolution de nanoparticules d'or sous faisceau électronique. Images MET en champ clair en voie liquide de bipyramides d'or en interaction avec une fossette. (a) Particules en début d'irradiation; (b-f) Particules après 88, 96, 264, 570 et 664 secondes d'irradiation respectivement. Barres d'échelle : (a-d) 100 nm; (e, f) 50 nm.

La réduction de l'intensité du faisceau permet de fortement réduire le phénomène de dégradation des particules de silice. Cependant, de façon surprenante, après quelques minutes d'exposition les bipyramides se déforment comme en témoignent l'agrégat sur la figure 4.21f où les bipyramides qui le composent finissent par coalescer. La dégradation commence par les extrémités qui s'arrondissent au fur et à mesure que la particule est bombardée par les électrons. Ce phénomène fut déjà observé en MET conventionnelle mais est assez aléatoire. En effet, des bipyramides sont intactes et robustes sur certaines zones alors qu'elles sont

parfois dégradées avant même l'interaction avec le faisceau d'électrons sur d'autres zones. Il pourrait s'agir d'un phénomène causé à la fois par l'augmentation locale de la température et la présence d'espèces formées par radiolyse. Les pointes étant constituées d'atomes moins coordonnés, elles sont les premières à en subir les effets.

Il n'est pas rare en MET en voie liquide de faire des observations qui ne sont pas celles recherchées initialement. La morphologie des bipyramides est un des points sur lesquels la communauté scientifique n'arrive pas à se mettre d'accord. Certains disent que leur section est pentagonale alors que d'autres évoquent une section hexagonale. La figure 4.22 montre une bipyramide en interaction avec une particule à patches. Au cours de l'observation la particule s'est orientée dans l'axe d'observation, permettant ainsi d'identifier clairement sa section. La bipyramide possède une section pentagonale comme le montre la figure 4.22b.

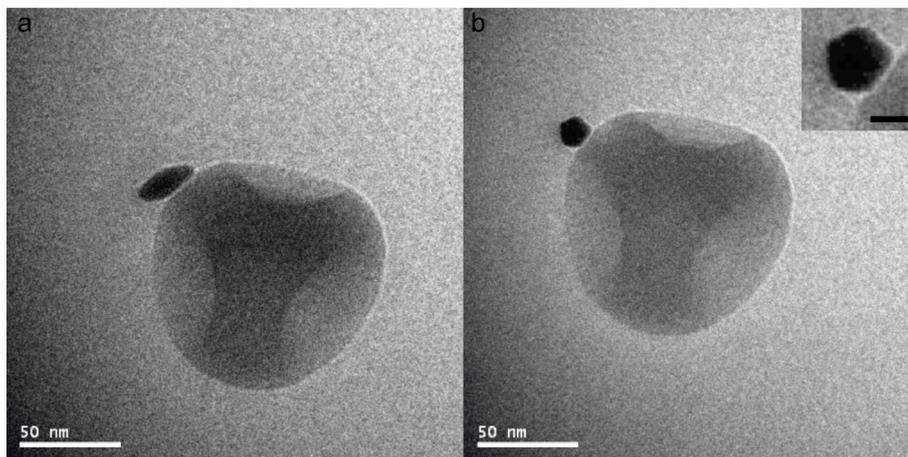


FIGURE 4.22 – Bipyramide d'or en interaction avec une particule de silice à patches tétravalente. Images MET d'une bipyramide (a) en position horizontale et (b) en position verticale après rotation. La bipyramide affiche une section pentagonale. L'encart montre un agrandissement de la section de la bipyramide. Barres d'échelle : 50 nm (10 nm pour l'encart).

Analyse par EDX

Le porte-objet à disposition est de dernière génération. C'est-à-dire que la conception de sa tête a été pensée pour les analyses EDX grâce à l'optimisation de la collecte des photons par rapport à la version précédente. L'analyse chimique est cependant une technique nécessitant des temps de pose relativement longs. Ceci n'est pas un problème en MET conventionnelle tant que la particule est stable sous le faisceau d'électrons. En revanche, cela devient beaucoup plus problématique en MET en voie liquide. En effet, comme vu précédemment, les particules ont beaucoup plus facilement tendance à être dégradées par le faisceau tout comme le milieu peut se contaminer. De plus, les particules peuvent bouger, rendant l'analyse très compliquée. Il semble alors indispensable d'avoir un échantillon qui soit stable sous faisceau avec les particules les plus immobiles possible. Les particules de

silice tétravalentes pourraient remplir ces critères. C'est pourquoi la faisabilité de l'analyse EDX a été tentée sur cet échantillon. Pour ce faire, il a fallu basculer en mode microscopie électronique en transmission à balayage (STEM). Les cartographies obtenues sont présentées figure 4.23.

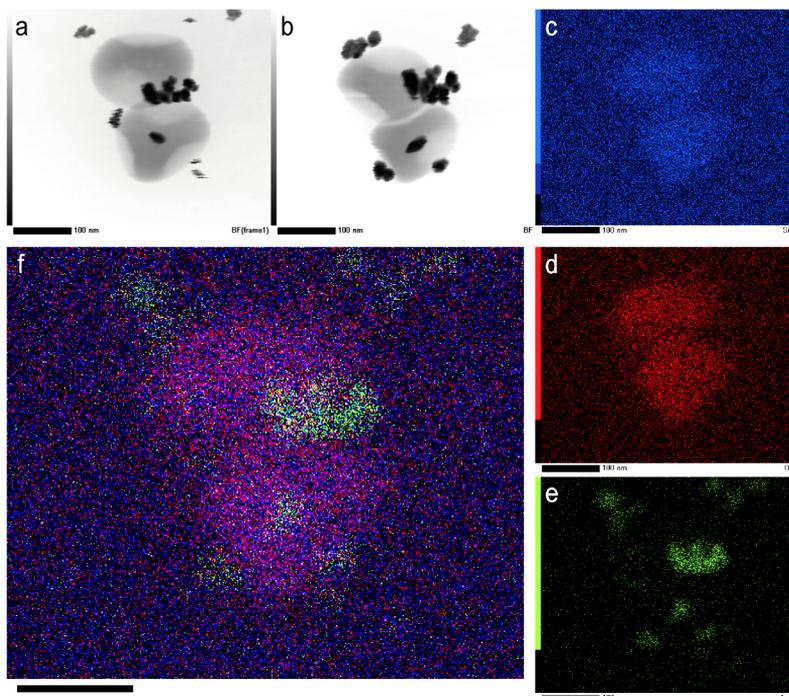


FIGURE 4.23 – Analyse EDX de particules de silice à patchs tétravalentes et de bipyramides d'or. (a) Image STEM des objets en début d'analyse; (b) Image STEM des objets en fin d'analyse; (c) cartographie Si; (d) cartographie O; (e) cartographie Au; (f) superposition des cartographies O, Au et Si. Barres d'échelle : 100 nm.

Les cartographies du silicium (image c), de l'oxygène (image d) et de l'or (image e) sont à prendre indépendamment les unes des autres. Seule la différence de contraste avec le fond continu est à considérer. De manière surprenante, les particules de silice se distinguent bien du fond continu malgré le passage des électrons au travers des deux membranes de nitrure de silicium. La superposition avec la cartographie de l'oxygène permet d'encore mieux visualiser les particules de silice. Les bipyramides d'or ressortent quant à elles extrêmement bien en raison de la densité et du numéro atomique élevés de l'or (image f).

En regardant la cartographie de l'or de plus près, différentes intensités peuvent être remarquées. Il faut alors comparer celle-ci avec les images STEM de début et de fin d'analyse. Certaines particules ou agrégats de particules d'or sont présents uniquement sur l'image finale. Cela signifie qu'elles se sont greffées aux particules à patchs au cours de l'analyse. Les cartographies étant réalisées avec l'ensemble des photons collectés, il est normal que l'intensité soit plus faible pour les objets arrivés pendant la collecte. Les deux images STEM montrent par ailleurs que les particules à patchs ont tourné sur elles-mêmes en cours d'analyse. Ces mouvements entraînent alors une perte de résolution.

Cette première tentative est dans l'ensemble satisfaisante, avec la bonne visualisation des particules et de leur composition chimique. Elle montre également les freins à l'analyse EDX inhérents au milieu liquide que sont les mouvements des particules lors de la collecte.

Suite à ces observations encourageantes réalisées sur cet échantillon, il a été décidé de passer à l'échantillon d'intérêt, à savoir une suspension composée des particules à patchs tétravalentes et des particules de silice satellites.

Auto-assemblage et observation *in situ* de particules à patchs et de particules satellites

Après avoir acquis un niveau d'expertise suffisant, la difficulté a été augmentée. En effet, lors de cette expérience, une tentative d'assemblage *in situ* a été réalisée. Pour cela, les deux suspensions de briques élémentaires, c'est-à-dire les particules de silice tétravalentes dont les chaînes de PS sont chlorométhylées ($4,6 \times 10^{14}$ particules/L) et les particules de silice satellites présentant des fonctions amines en surface ($1,5 \times 10^{15}$ particules/L), sont placées dans deux seringues chacune connectée à l'un des ports alimentant la cellule. Dans un premier temps, seule la suspension de particules à patchs est injectée dans la cellule et ce n'est qu'après le test de vide et une rapide observation au MET de cette suspension que l'injection des particules satellites est débutée. Des débits initiaux de 50 $\mu\text{L/h}$ et 31,5 $\mu\text{L/h}$ respectivement pour les particules à patchs et pour les particules satellites sont mis en jeu. Ces valeurs de débits ont été choisies de façon à se placer dans un rapport $N_{\text{satellites}}/N_{\text{fossette}}$ de 2/4 nécessaire pour la synthèse de molécules d'eau colloïdales.

Protocole 31 : Auto-assemblage *in situ* de particules de silice à patchs tétravalentes et de particules de silice satellites

Après préparation des puces selon le protocole 23 et mise sous flux de la cellule avec la suspension de particules à patchs tétravalentes dans l'éthanol (50 $\mu\text{L/h}$, $4,6 \times 10^{14}$ particules/L) selon le protocole 28, le porte-objet est inséré dans le MET puis l'injection de la suspension de particules satellites dans l'éthanol est commencée directement au débit désiré (31,5 $\mu\text{L/h}$, $1,5 \times 10^{15}$ particules/L). En fin d'observation, le porte-objet est laissé sous vide dans la station de pompage et la cellule laissée sous flux réduit pendant la nuit (2 $\mu\text{L/h}$ pour chaque suspension). La reprise du débit de travail se fait par paliers.

Avec ces débits relativement faibles, très peu d'assemblages ont été observés comme le montre la figure 4.24. À l'instar des expériences précédentes, les particules à patchs sont collées sur la membrane et ne bougent pas. Cependant, la quantité d'objets collés est plutôt bonne pour l'observation. C'est pourquoi, au lieu de démonter et jeter la cellule en fin de séance, le porte-objet a cette fois-ci été placé dans la station de pompage durant la nuit en laissant circuler un léger débit (2 $\mu\text{L/h}$) dans chaque canal de manière à éviter que les capillaires ne se bouchent. Cette opération était l'occasion de voir si la cellule serait surchargée de particules, indiquant alors que celles-ci s'accumulent dans la cellule et ne sont pas ou mal évacuées. C'était aussi l'occasion de voir si la quantité de molécules colloïdales

formées augmenterait indiquant que le flux de liquide peut faire entrer en collision une particule satellite avec la fossette d'une particule à patchs collée à la membrane.

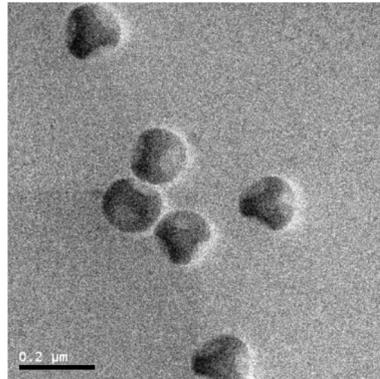


FIGURE 4.24 – Image MET en champ clair en voie liquide de particules à patchs dont aucune fossette n'est occupée par un satellite. Barre d'échelle : 200 nm.

À la reprise de l'observation, des particules en mouvement ont été vues. Il s'agit systématiquement de particules libérées par un front liquide repoussé vers le bord de la zone observée. Les particules observées sont toujours des particules à patchs. Jusqu'à présent les particules étaient déjà collées à la membrane et il était difficile de comprendre pourquoi elles n'étaient pas en mouvement. L'observation de l'arrivée de particules à fossettes a permis de comprendre le phénomène. Lorsque la particule apparaît, elle roule sur la membrane avant de s'immobiliser sur l'une de ses fossettes. La superposition d'images permet de mettre en évidence le parcours réalisé par la particule (figure 4.25).

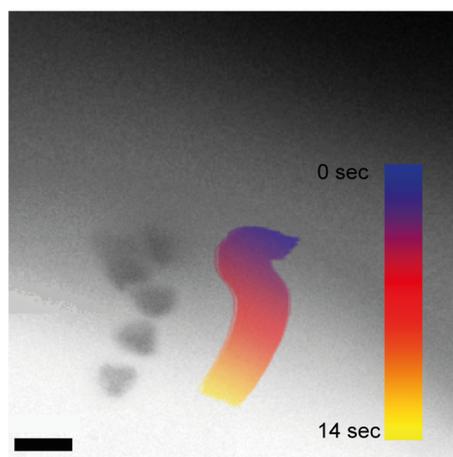


FIGURE 4.25 – Parcours d'une particule à quatre patchs roulant sur la membrane. Superposition d'images MET en champ clair en voie liquide prises dans un intervalle de temps de 14 secondes. Barre d'échelle : 200 nm.

Par ailleurs, de nombreuses informations très intéressantes pour les expériences futures ont été obtenues grâce à cette observation. D'abord, un débit de 2 μL/h suffit à éviter que les capillaires ne se bouchent. De plus, la cellule n'était pas surchargée de particules, indiquant

alors que la majorité d'entre elles sont bien évacuées. Cependant, le nombre d'assemblages particule à patchs-satellite ne semble pas avoir augmenté. Les particules collées sur la membrane sont des particules ayant toutes leurs fossettes libres.

Il a donc été décidé de modifier les débits d'entrée, en abaissant celui de la suspension de particules à patchs à 30 $\mu\text{L}/\text{h}$ et en augmentant celui de la suspension de particules satellites à 50 $\mu\text{L}/\text{h}$. Malgré cela, très peu de molécules colloïdales ont été observées. Celles-ci sont exclusivement de type AXE₃ comme le montre la figure 4.26.

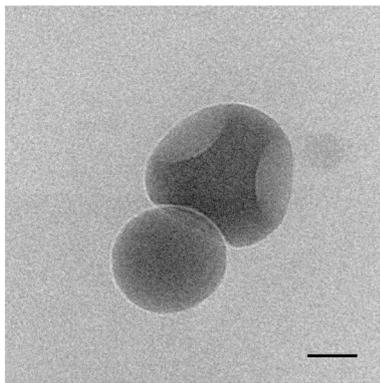


FIGURE 4.26 – Cliché MET en champ clair en voie liquide d'une molécule colloïdale de type AXE₃ en suspension dans l'éthanol. Barre d'échelle : 50 nm.

Plusieurs facteurs pourraient expliquer cela. Les suspensions étant mélangées juste en amont de la cellule, leur temps de contact est court. De plus, pour être dans de bonnes conditions d'observations, leurs concentrations ne sont pas très élevées, réduisant par conséquent les probabilités de rencontre. Un autre facteur pourrait être le solvant utilisé. En effet, l'éthanol est un mauvais solvant du PS chlorométhylé. Les chaînes présentes au fond des fossettes sont alors recroquevillées, et donc moins à même de réagir avec les groupements amines présents à la surface des particules satellites.

Dans le but d'augmenter la probabilité de rencontre entre une particule satellite et une fossette, la suspension de particules satellites est changée en cours d'expérience pour être remplacée par une suspension plus concentrée permettant alors d'injecter plus de particules satellites à débit constant. Malheureusement, ce changement n'a pas eu l'effet escompté. Au lieu de voir des particules satellites isolées arriver dans la zone visualisée et éventuellement s'assembler avec une fossette, seule une augmentation du nombre de molécules colloïdales de type AXE₃ a été constatée. Ce phénomène a été accompagné par une perte progressive mais rapide de contraste et de netteté.

Cela semblerait indiquer qu'un grand nombre de particules satellites circulaient déjà dans la cellule mais n'étaient pas visibles. En effet, contrairement aux particules à fossettes, les particules satellites sont sphériques et n'adhèrent jamais à la membrane. Au cours des nombreuses sessions de microscopie en milieu liquide effectuées, il a été remarqué qu'une particule libre en mouvement se déplace bien trop rapidement pour être vue. Cela a pu

être constaté lors de l'observation des particules tétravalentes avec les bipyramides d'or (figure 4.27). Au début de l'observation, une nanoparticule d'or « sphérique » est située à proximité de la particule de silice. D'une image à l'autre, la particule se retrouve de l'autre côté de la particule, soit une distance d'environ 150 nm. L'échantillonnage à 36 images par seconde réalisé par le logiciel de capture vidéo est insuffisant pour détecter ce mouvement. Une vitesse approximative de 5,4 $\mu\text{m/s}$ est alors calculée cette particule en prenant comme hypothèse un déplacement de la nanoparticule dans le plan d'observation. Cette valeur est à comparer à la taille moyenne d'une zone éclairée par le faisceau d'électrons lors des observations. En considérant la figure 4.20, la zone observée à grandissement faible est d'environ 2 μm . En faisant l'hypothèse que la particule satellite se déplace à la même vitesse que la nanoparticule d'or, cela veut dire que le satellite la traverse en un tiers de seconde ! Difficile donc de le voir, qui plus est s'il est à une altitude différente de celle de la particule à patches, c'est-à-dire au fond de la cellule. Peu de chances donc d'assister à un assemblage.

Cette vitesse de déplacement est très différente de celle de la particule à patches roulant sur la membrane. Cela semble donc indiquer qu'il existe une interaction entre les particules à patches et la membrane en nitrure de silicium.

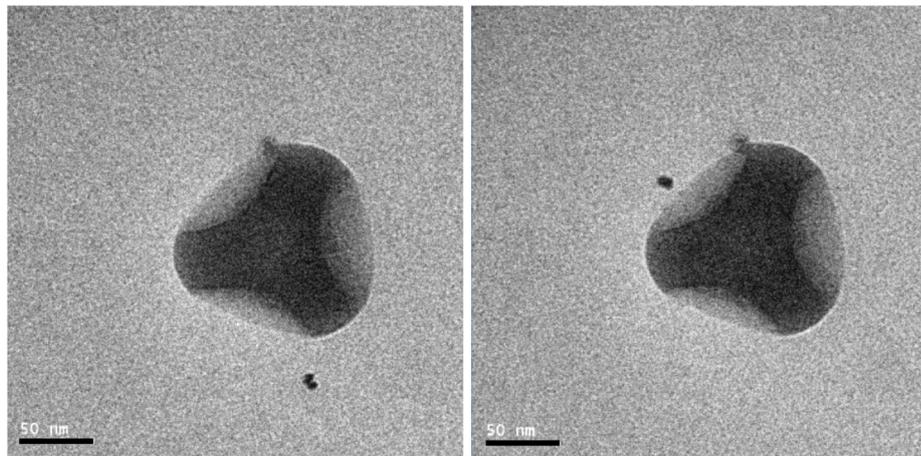


FIGURE 4.27 – Déplacement d'une nanoparticule d'or. Images MET en champ clair en voie liquide d'une particule d'or se déplaçant d'un côté à l'autre d'une particule de silice tétravalente en l'espace d'1/36^{ème} de seconde. Barres d'échelle : 50 nm.

4.2.3 Conclusion

Les nombreuses expériences menées ont confirmé le défi que représente la microscopie en voie liquide. Le montage n'est pas simple et conduit souvent à la casse de la cellule. Sur l'ensemble des expériences réalisées, peu aboutissent à une observation et encore moins à des résultats exploitables.

Les conditions opératoires et notamment l'intensité du faisceau utilisé sont cruciales. En

effet, lors des premières expériences, les objets étaient observés avec un faisceau intense de la même manière qu'ils le seraient sur une grille en MET conventionnelle. Or, en milieu liquide, un faisceau intense est très agressif pour les particules qui sont attaquées par des espèces très réactives engendrées par des phénomènes de radiolyse. De plus, outre les particules, le milieu liquide est également à prendre en considération car il peut être sujet à la contamination. Des différences de comportement notables ont été remarquées pour des échantillons identiques. Les contaminations liées au faisceau électronique peuvent arriver très rapidement lors d'un essai et être peu marquées lors de l'essai suivant. De la même manière, les particules sont parfois dégradées dès que le faisceau les éclaire alors que d'autres fois, elles résistent beaucoup mieux, assez longtemps pour avoir le temps de prendre des clichés représentatifs. La réduction de l'intensité du faisceau a permis d'atténuer cet aspect aléatoire concernant la contamination et de supprimer la dégradation des particules de silice.

En MET en voie liquide, les phénomènes observés sont souvent compliqués à interpréter. Le meilleur exemple concerne les zones sombres qui ont été observées dès les premières expériences. Pensant au début qu'il s'agissait de contaminations, et que le faisceau ne parvenait pas à les traverser, ces zones étaient évitées autant que possible. Ce n'est que plus tard qu'elles ont été considérées comme des fronts liquides dont l'épaisseur est responsable du fort contraste. C'est finalement ces zones qui ont été les plus intéressantes et qui ont conduit à l'observation de particules en mouvement.

Le tableau 4.1 résume une grande partie des observations réalisées.

Contrairement à ce qui a été fait durant ces travaux, le montage de la cellule en configuration perpendiculaire est à privilégier pour les expériences à venir. Cela apporte de nombreux avantages comme une épaisseur de liquide plus constante — plus proche de la taille de l'espaceur — et une meilleure résistance mécanique. La petite surface observable n'est au final pas un réel handicap dans le cas d'une expérience en mode flux car de nouvelles particules sont apportées en permanence. Les expériences d'assemblage et d'observation *in situ* ont été réalisées dans l'éthanol. Il serait donc intéressant de répéter l'expérience dans le DMF afin que les chaînes de PS présentes au fond des fossettes soient complètement déployées, favorisant ainsi la rencontre avec les particules satellites et donc l'assemblage. Jusqu'à présent les essais réalisés avec ce solvant ayant toujours rapidement terminés par la rupture de la cellule dans le microscope, il pourrait être envisagé de partir de suspensions dans l'éthanol puis de progressivement le substituer par le DMF. De la même manière que les équipes utilisant la microscopie optique pour observer l'auto-assemblage de microparticules, l'observation dynamique d'un assemblage devra sans doute passer par l'observation sur une très longue durée d'une particule à patch en interaction avec la membrane et attendre qu'une particule satellite viennent s'y greffer. Si l'hypothèse concernant la mobilité des particules satellites s'avère être vraie, alors la particule satellite apparaîtra subitement dans une fossette. La visualisation de l'arrivée du satellite étant alors limitée

TABLEAU 4.1 – Récapitulatif des expériences réalisées ayant abouti à une observation.

N° expérience	Échantillon (port 1)	Échantillon (port 2)	Mode d'observation	Solvant	Débit port 1 (µL/h)	Débit port 2 (µL/h)	Intensité du faisceau d'électrons	Observations	% casse
1	Silice bivalente		Statique	THF			Intense	Pas de mouvement	50
2	Silice bivalente		Statique	THF/H ₂ O			Intense	Excellent contraste	
3	Silice bivalente		Flux	THF/H ₂ O	50		Intense	Dégradation des particules	
4	Silice bivalente		Flux	THF/H ₂ O	50		Intense	Contamination rapide	30
5	Silice bivalente		Flux	THF/H ₂ O	50		Intense	Présence de chaînes	
6	Silice bivalente		Flux	THF/H ₂ O	50		Intense	Contamination rapide	
7	Silice bivalente		Flux	THF/H ₂ O	50		Intense	Dégradation des particules	
8	Silice tétravalente Bipyramides d'or		Flux	Éthanol	50		Intense	Pas de mouvement	
9	Silice tétravalente		Flux	Éthanol	50		Intense	Dégradation des particules	
10	Silice tétravalente	Particules sphériques	Flux	Éthanol	50	31,5	Faible	Pas de particules vues	
		Particules sphériques (COx8)			30	50	Faible	Contamination rapide	
					20	60	Faible	Pas de mouvement	
							Faible	Particules dans des zones de contraste sombre	
							Faible	Bonne stabilité des particules	
							Faible	Analyse chimique EDX	
							Faible	Mouvement bipyramides	
							Faible	Contamination très rapide	
							Faible	Le faisceau d'électrons ne traverse pas	
							Faible	Mouvement des particules tétravalentes	
							Faible	Satellites non visibles	
							Faible	Perte totale de contraste	

par la caméra et le système d'enregistrement vidéo qui capture l'écran 36 fois par seconde. Il semble donc indispensable pour faire de la microscopie liquide de disposer d'une caméra filmant à une cadence plus élevée et de se doter d'un logiciel permettant de récupérer son flux vidéo original.

Conclusions et perspectives

Conclusions

Les travaux décrits dans ce manuscrit ont porté sur la synthèse, la fonctionnalisation, la purification mais également l'assemblage et l'observation *in situ* de particules à patches.

L'étude bibliographique réalisée montre que la plupart des particules à patches fabriquées sont des particules de tailles micrométriques. Peu d'exemples concernent les particules nanométriques. Il ressort de cette étude que les voies d'assemblage les plus utilisées sont celles basées sur les interactions hydrophobes et les ponts hydrogène (voie ADN) et que l'assemblage par voie covalente, surtout dans le cas de particules à patches, a très peu été exploité. La voie développée à l'université de Bordeaux selon laquelle un cluster silice/PS est utilisé comme gabarit est l'une des meilleures puisque sa polyvalence permet la fabrication de particules dotées d'un nombre de patches contrôlé compris entre 1 et 12. De plus ces patches sont à la fois enthalpiques et entropiques, permettant d'explorer différentes voies d'assemblage.

Plusieurs études réalisées précédemment à l'université de Bordeaux ont montré que la pureté morphologique des lots de clusters silice/PS était trop faible pour que l'assemblage de particules à patches conduise à un cristal colloïdal. En se concentrant sur la morphologie tétrapode, la pureté morphologique a pu être augmentée de 81 à 89 % d'abord par l'optimisation de la synthèse des clusters, et plus précisément la fonctionnalisation des germes de silice utilisés pour ensemercer la polymérisation en émulsion du styrène. La pureté a ensuite été améliorée jusqu'à 97 % par la mise au point d'un protocole de centrifugation sur gradient de densité.

En se basant sur les travaux précédents utilisant le couplage peptidique pour assembler les briques élémentaires, la chimie d'assemblage a été simplifiée. Outre le gain de temps, cette modification permet de s'affranchir à la fois de l'activation des fonctions acide carboxylique et de l'utilisation de DMF anhydre. La réaction entre les chaînes de PS chlorométhylées et les satellites aminés s'est montrée efficace pour assembler les particules à patches. Cependant, alors que des molécules colloïdales sont désirées, le caractère isotrope des particules satellites conduit au pontage de particules à patches pour former des structures non-contrôlées de plus hautes dimensions. Pour éviter cela, des expériences préliminaires avec des particules monopatches dont la taille du patch ne permet l'interaction qu'avec une seule cavité ont été réalisées mais n'ont pas pu être optimisées.

Une ambition du projet était d'observer la dynamique d'assemblage des particules à patches. L'utilisation de la microscopie optique n'était pas une option en raison de la taille nanométrique des particules d'intérêt et à cette échelle, seule la MET est capable d'atteindre des résolutions suffisantes. Cependant, pour que l'assemblage dynamique puisse être observé, les particules doivent être en suspension dans un milieu liquide. L'observation des particules à patches a donc été faite par MET en voie liquide. Dans ce contexte, ce travail a consisté à implémenter cette technologie au sein de la Plateforme Aquitaine de Caractéri-

sation des Matériaux. Les expériences de MET en voie liquide ont montré toute la difficulté de ce mode d'observation. Outre le temps de préparation nécessaire et les difficultés de montage, l'interprétation n'a pas été chose aisée. Il est en effet très facile pour un œil non-averti de mal interpréter un phénomène observé. Ces expériences réalisées aussi bien en mode statique qu'en mode flux ont cependant abouti à l'observation des particules d'intérêt. Celles-ci présentent des comportements très différents selon leur nature. En effet, les particules à patches ont montré une forte interaction avec la membrane en nitrure de silicium, responsable de leur perte de mobilité, alors que les particules satellites n'ont pas pu être vues, probablement en raison d'une vitesse de déplacement trop rapide. La vitesse de déplacement *in situ* d'une particule d'or a d'ailleurs été calculée et semble corroborer l'hypothèse de vitesses trop élevées pour que les particules en suspension soient détectables. L'injection des deux suspensions de briques élémentaires a permis de voir des molécules colloïdales *in situ* mais n'a pas permis de voir le phénomène d'assemblage en lui-même.

Perspectives

Une des grandes ambitions du projet ENLARGER est la formation d'un cristal colloïdal tridimensionnel de structure diamant. Ceci nécessite dans un premier temps d'avoir une pureté morphologique la plus haute possible pour les particules à patches. Bien que les résultats obtenus par centrifugation en gradient de densité soient plutôt positifs, l'inconvénient majeur reste la faible quantité d'échantillon traitée. Il faudrait donc multiplier les centrifugations pour récupérer quelques milligrammes de tétrapodes afin de les utiliser pour des expériences d'assemblage.

Dans un second temps, les tétrapodes de très haute pureté fabriqués pourront être utilisés pour effectuer l'assemblage afin de limiter les erreurs d'empilement autant que possible. Une structure aussi complexe que celle du diamant nécessite un assemblage par étape. C'est pourquoi la stratégie envisagée consiste dans un premier temps à synthétiser des molécules colloïdales imitant les molécules H_2O . La pureté morphologique ne fait malheureusement pas tout ! En effet, les assemblages statistiques réalisés, certes sur des lots non purifiés, ont montré la formation de toutes les molécules colloïdales qu'il est possible d'obtenir à partir de particules à quatre patches. Ils ont également montré la présence de particules de dimensions supérieures issues du pontage d'au moins deux particules à patches par des particules satellites. Tout comme pour les clusters silice/PS, la centrifugation en gradient de densité peut être envisagée pour séparer ces différentes morphologies. Les conditions expérimentales devront alors être trouvées afin d'isoler les molécules colloïdales H_2O avec une haute pureté. Pour éliminer le problème de pontage, l'utilisation de particules monopatches en tant que particules satellites doit être approfondie.

Ce n'est qu'une fois l'obtention de lots de molécules d'eau colloïdales de haute pureté que

celles-ci pourront être utilisées en tant que nouvelles briques élémentaires pour l'assemblage tridimensionnel vers la structure diamant. Ce procédé implique cependant d'avoir un assemblage où chaque brique élémentaire vient parfaitement se positionner par rapport aux autres briques voisines. Cela paraît improbable avec la chimie covalente non-réversible utilisée. En effet, sans réversibilité, les fautes d'empilement ne peuvent pas être corrigées comme elles le sont par exemple avec l'utilisation de brins d'ADN. Il faudrait par conséquent développer une chimie covalente réversible pour réaliser la cristallisation du système. Ces molécules colloïdales imitant les molécules d'eau imitent également des groupes méthylènes ($-CH_2-$). Pour les polymériser en chaînes polyéthylène, ils doivent être assemblés entre eux en utilisant des particules satellites isotropes jouant le rôle de doublets électroniques colloïdaux (figure 4.28).

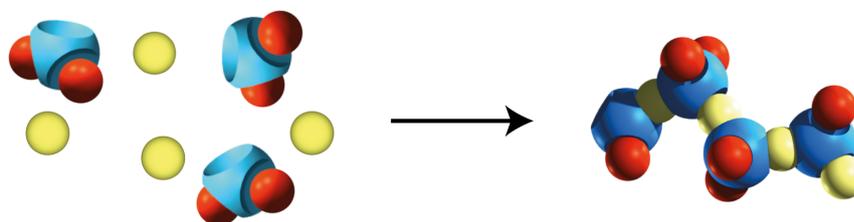


FIGURE 4.28 – Schéma de la stratégie de synthèse d'une molécule colloïdale de polyéthylène à partir de particules satellites sphériques isotropes (en jaune) liant les molécules colloïdales H_2O ($-CH_2-$) entre elles via leurs fossettes non occupées.

Malgré les nombreuses difficultés rencontrées, la MET en voie liquide permettra de réaliser l'observation de l'assemblage des particules à patchs. Pour cela quelques expériences peuvent être envisagées.

Une première expérience à faire serait d'inverser l'ordre d'ajout en chargeant d'abord la cellule avec des particules satellites, puis en injectant ensuite les particules à patchs. Un assemblage pourrait alors être observé avant que la particule à patchs ne s'immobilise sur la membrane, dans le cas où le premier flux n'est pas chassé par le second. Une stratégie similaire pourrait consister à charger la cellule de particules satellites puis à injecter ensuite une suspension pré-incubée de particules partiellement assemblées. Les particules possédant moins de patchs disponibles, elles seraient moins à même de pouvoir se fixer sur la membrane. Une autre possibilité pour limiter l'adhésion des particules à patchs sur la membrane serait de procéder à un traitement d'effluvage plus long.

Une alternative serait de jouer sur des paramètres visant à freiner le déplacement des particules. Une piste pourrait consister à changer la nature du solvant afin de déployer les chaînes de PS. Les particules pourraient alors voir leur vitesse de déplacement diminuer et seraient également capables d'interagir à plus longue distance avec les particules satellites. Des expériences en flux dans le DMF ou le THF devront être réalisées.

Le ralentissement des particules pourrait être induit par une augmentation de la viscosité,

que ce soit par changement du solvant ou par abaissement de la température de la suspension. Il faut cependant faire attention à ce que l'augmentation de viscosité du milieu ne produise pas une pression trop élevée dans la cellule lors de la circulation. Compte tenu des volumes mis en jeu, il est possible que le faisceau d'électrons réchauffe le milieu et rende le refroidissement inefficace.

La mise sous flux a certes permis de faciliter le montage des cellules, il est cependant possible que la circulation de la suspension soit à l'origine de la vitesse de déplacement trop élevée des particules. Peut-être que faire circuler la suspension par intermittence pourrait permettre de simuler le mode statique tout en pouvant apporter de nouvelles particules grâce au flux de temps en temps.

Finalement, il serait peut être préférable d'effectuer les observations avec les puces en configuration croisée. Cela permettrait d'avoir une épaisseur de liquide plus constante sur la zone observée et donc certainement une meilleure qualité d'image tant en contraste qu'en netteté.

Bibliographie

- ¹ van Blaaderen, A. Chemistry : Colloidal molecules and beyond. *Science* **301**, 470 (2003).
- ² Anderson, V. J. & Lekkerkerker, H. N. W. Insights into phase transition kinetics from colloid science. *Nature* **416**, 811 (2002).
- ³ Palberg, T. Crystallization kinetics of colloidal model suspensions : recent achievements and new perspectives. *Journal of Physics : Condensed Matter* **26**, 333101 (2014).
- ⁴ Zhang, H., Edwards, E. W., Wang, D. & Mohwald, H. Directing the self-assembly of nanocrystals beyond colloidal crystallization. *Physical Chemistry Chemical Physics* **8**, 3288 (2006).
- ⁵ Shevchenko, E. V., Talapin, D. V., Kotov, N. A., O'Brien, S. & Murray, C. B. Structural diversity in binary nanoparticle superlattices. *Nature* **439**, 55 (2006).
- ⁶ Zhang, Keys, A. S., Chen, T. & Glotzer, S. C. Self-assembly of patchy particles into diamond structures through molecular mimicry. *Langmuir* **21**, 11547 (2005).
- ⁷ Smallenburg, F. & Sciortino, F. Liquids more stable than crystals in particles with limited valence and flexible bonds. *Nature Physics* **9**, 554 (2013).
- ⁸ van Anders, G., Ahmed, N. K., Smith, R., Engel, M. & Glotzer, S. C. Entropically patchy particles : engineering valence through shape entropy. *ACS Nano* **8**, 931 (2014).
- ⁹ Glotzer, S. C. & Solomon, M. J. Anisotropy of building blocks and their assembly into complex structures. *Nature Materials* **6**, 557 (2007).
- ¹⁰ Ho, K. M., Chan, C. T. & Soukoulis, C. M. Existence of a photonic gap in periodic dielectric structures. *Physical Review Letters* **65**, 3152 (1990).
- ¹¹ Duguet, É., Désert, A., Perro, A. & Ravaine, S. Design and elaboration of colloidal molecules : an overview. *Chemical Society Reviews* **40**, 941 (2011).

- ¹² Guo, D. & Song, Y. Recent advances in multicomponent particle assembly. *Chemistry – A European Journal* **24**, 16196 (2018).
- ¹³ Manoharan, V. N., Elsesser, M. T. & Pine, D. J. Dense packing and symmetry in small clusters of microspheres. *Science* **301**, 483 (2003).
- ¹⁴ Zerrouki, D., Rotenberg, B., Abramson, S., Baudry, J., Goubault, C., Leal-Calderon, F., Pine, D. J. & Bibette, J. Preparation of doublet, triangular, and tetrahedral colloidal clusters by controlled emulsification. *Langmuir* **22**, 57 (2006).
- ¹⁵ Manoharan, V. N. Colloidal spheres confined by liquid droplets : Geometry, physics, and physical chemistry. *Solid State Communications* **139**, 557 (2006).
- ¹⁶ Cho, Y.-S., Yi, G.-R., Kim, S.-H., Pine, D. J. & Yang, S.-M. Colloidal clusters of microspheres from water-in-oil emulsions. *Chemistry of Materials* **17**, 5006 (2005).
- ¹⁷ Schwarz, I., Fortini, A., Wagner, C. S., Wittemann, A. & Schmidt, M. Monte carlo computer simulations and electron microscopy of colloidal cluster formation via emulsion droplet evaporation. *The Journal of Chemical Physics* **135**, 244501 (2011).
- ¹⁸ Kraft, D. J., Vlug, W. S., van Kats, C. M., van Blaaderen, A., Imhof, A. & Kegel, W. K. Self-assembly of colloids with liquid protrusions. *Journal of the American Chemical Society* **131**, 1182 (2009).
- ¹⁹ Kraft, D. J., Groenewold, J. & Kegel, W. K. Colloidal molecules with well-controlled bond angles. *Soft Matter* **5**, 3823 (2009).
- ²⁰ Snyder, C. E., Yake, A. M., Feick, J. D. & Velegol, D. Nanoscale functionalization and site-specific assembly of colloids by particle lithography. *Langmuir* **21**, 4813 (2005).
- ²¹ Snyder, C. E., Ong, M. & Velegol, D. In-solution assembly of colloidal water. *Soft Matter* **5**, 1263 (2009).
- ²² Schmid, G. & Simon, U. Gold nanoparticles : assembly and electrical properties in 1–3 dimensions. *Chemical Communications* 697 (2005).
- ²³ Niemeyer, C. M. Nanoparticles, proteins, and nucleic acids : Biotechnology meets materials science. *Angewandte Chemie International Edition* **40**, 4128 (2001).
- ²⁴ Novak, J. P., Nickerson, C., Franzen, S. & Feldheim, D. L. Purification of molecularly bridged metal nanoparticle arrays by centrifugation and size exclusion chromatography. *Analytical Chemistry* **73**, 5758 (2001).
- ²⁵ Mirkin, C. A., Letsinger, R. L., Mucic, R. C. & Storhoff, J. J. A DNA-based method for rationally assembling nanoparticles into macroscopic materials. *Nature* **382**, 607 (1996).

- ²⁶ Alivisatos, A. P., Johnsson, K. P., Peng, X. G., Wilson, T. E., Loweth, C. J., Bruchez, M. P. & Schultz, P. G. Organization of 'nanocrystal molecules' using DNA. *Nature* **382**, 609 (1996).
- ²⁷ Aldaye, F. A. & Sleiman, H. F. Dynamic DNA templates for discrete gold nanoparticle assemblies : Control of geometry, modularity, write/erase and structural switching. *Journal of the American Chemical Society* **129**, 4130 (2007).
- ²⁸ Mastroianni, A. J., Claridge, S. A. & Alivisatos, A. P. Pyramidal and chiral groupings of gold nanocrystals assembled using DNA scaffolds. *Journal of the American Chemical Society* **131**, 8455 (2009).
- ²⁹ Tian, Y., Wang, T., Liu, W., Xin, H. L., Li, H., Ke, Y., Shih, W. M. & Gang, O. Prescribed nanoparticle cluster architectures and low-dimensional arrays built using octahedral DNA origami frames. *Nature Nanotechnology* **10**, 637 (2015).
- ³⁰ Li, Y., Liu, Z., Yu, G., Jiang, W. & Mao, C. Self-assembly of molecule-like nanoparticle clusters directed by DNA nanocages. *Journal of the American Chemical Society* **137**, 4320 (2015).
- ³¹ Edwardson, T. G. W., Lau, K. L., Bousmail, D., Serpell, C. J. & Sleiman, H. F. Transfer of molecular recognition information from DNA nanostructures to gold nanoparticles. *Nature Chemistry* **8**, 162 (2016).
- ³² Asua, J. M. Emulsion polymerization : From fundamental mechanisms to process developments. *Journal of Polymer Science Part A : Polymer Chemistry* **42**, 1025 (2004).
- ³³ Minami, H., Wang, Z., Yamashita, T. & Okubo, M. Thermodynamic analysis of the morphology of monomer-adsorbed, cross-linked polymer particles prepared by the dynamic swelling method and seeded polymerization. *Colloid and Polymer Science* **281**, 246 (2003).
- ³⁴ Durant, Y. G. J. & Guillot, J. Some theoretical aspects on morphology development in seeded composite latexes. I. Batch conditions below monomer saturation. *Colloid and Polymer Science* **271**, 607 (1993).
- ³⁵ Kim, J.-W., Larsen, R. & Weitz, D. Uniform nonspherical colloidal particles with tunable shapes. *Advanced Materials* **19**, 2005 (2007).
- ³⁶ Park, J.-G., Forster, J. D. & Dufresne, E. R. Synthesis of colloidal particles with the symmetry of water molecules. *Langmuir* **25**, 8903 (2009).
- ³⁷ Peng, B., van Blaaderen, A. & Imhof, A. Direct observation of the formation of liquid protrusions on polymer colloids and their coalescence. *ACS Applied Materials & Interfaces* **5**, 4277 (2013).

- ³⁸ Yang, M., Wang, G. & Ma, H. An efficient approach for production of polystyrene/poly(4-vinylpyridine) particles with various morphologies based on dynamic control. *Chemical Communications* **47**, 911 (2011).
- ³⁹ Désert, A., Chaduc, I., Fouilloux, S., Taveau, J.-C., Lambert, O., Lansalot, M., Bourgeat-Lami, É., Thill, A., Spalla, O., Ravaine, S. & Duguet, É. High-yield preparation of polystyrene/silica clusters of controlled morphology. *Polymer Chemistry* **3**, 1130 (2012).
- ⁴⁰ Nguyen, D. *Etude de la nucléation contrôlée de latex polymère à la surface de nanoparticules d'oxyde pour l'élaboration de colloïdes hybrides structurés*. Thèse de Doctorat, Université de Bordeaux (2008).
- ⁴¹ Désert, A. *Colloïdes hybrides silice/polystyrène de morphologie contrôlée*. Thèse de Doctorat, Université de Bordeaux (2011).
- ⁴² Many, V. *Synthèse et design de nanorésonateurs optiques actifs dans le visible*. Thèse de Doctorat, Université de Bordeaux (2018).
- ⁴³ Hubert, C. *Ingénierie de particules et assemblages à l'échelle colloïdale*. Thèse de Doctorat, Université de Bordeaux (2016).
- ⁴⁴ Désert, A., Hubert, C., Fu, Z., Moulet, L., Majimel, J., Barboteau, P., Thill, A., Lansalot, M., Bourgeat-Lami, É., Duguet, É. & Ravaine, S. Synthesis and site-specific functionalization of tetravalent, hexavalent, and dodecavalent silica particles. *Angewandte Chemie International Edition* **52**, 11068 (2013).
- ⁴⁵ Ducrot, É., He, M., Yi, G.-R. & Pine, D. J. Colloidal alloys with preassembled clusters and spheres. *Nature Materials* **16**, 652 (2017).
- ⁴⁶ Oh, J. S., Wang, Y., Pine, D. J. & Yi, G.-R. High-density PEO-b-DNA brushes on polymer particles for colloidal superstructures. *Chemistry of Materials* **27**, 8337 (2015).
- ⁴⁷ Kim, A. J., Biancaniello, P. L. & Crocker, J. C. Engineering DNA-mediated colloidal crystallization. *Langmuir* **22**, 1991 (2006).
- ⁴⁸ Leunissen, M. E., Dreyfus, R., Sha, R., Wang, T., Seeman, N. C., Pine, D. J. & Chaikin, P. M. Towards self-replicating materials of DNA-functionalized colloids. *Soft Matter* **5**, 2422 (2009).
- ⁴⁹ Sciortino, F., Giacometti, A. & Pastore, G. Phase diagram of Janus particles. *Physical Review Letters* **103**, 237801 (2009).
- ⁵⁰ Giacometti, A., Lado, F., Largo, J., Pastore, G. & Sciortino, F. Effects of patch size and number within a simple model of patchy colloids. *The Journal of Chemical Physics* **132**, 174110 (2010).

- ⁵¹ Vissers, T., Preisler, Z., Smalenburg, F., Dijkstra, M. & Sciortino, F. Predicting crystals of Janus colloids. *The Journal of Chemical Physics* **138**, 164505 (2013).
- ⁵² Romano, F., Sanz, E., Tartaglia, P. & Sciortino, F. Phase diagram of trivalent and pentavalent patchy particles. *Journal of Physics : Condensed Matter* **24**, 064113 (2012).
- ⁵³ Chen, Q., Bae, S. C. & Granick, S. Directed self-assembly of a colloidal kagome lattice. *Nature* **469**, 381 (2011).
- ⁵⁴ Romano, F. & Sciortino, F. Two dimensional assembly of triblock Janus particles into crystal phases in the two bond per patch limit. *Soft Matter* **7**, 5799 (2011).
- ⁵⁵ Romano, F. & Sciortino, F. Patchy from the bottom up. *Nature Materials* **10**, 171 (2011).
- ⁵⁶ Doppelbauer, G., Bianchi, E. & Kahl, G. Self-assembly scenarios of patchy colloidal particles in two dimensions. *Journal of Physics : Condensed Matter* **22**, 104105 (2010).
- ⁵⁷ Chen, Q., Yan, J., Zhang, J., Bae, S. C. & Granick, S. Janus and multiblock colloidal particles. *Langmuir* **28**, 13555 (2012).
- ⁵⁸ de Gennes, P.-G. Soft matter (nobel lecture). *Angewandte Chemie International Edition in English* **31**, 842 (1992).
- ⁵⁹ Casagrande, C., Fabre, P., Raphaël, E. & Veyssié, M. “Janus beads” : Realization and behaviour at water/oil interfaces. *Europhysics Letters (EPL)* **9**, 251 (1989).
- ⁶⁰ Ondarçuhu, T., Fabre, P., Raphaël, E. & Veyssié, M. Specific properties of amphiphilic particles at fluid interfaces. *Journal de Physique* **51**, 1527 (1990).
- ⁶¹ Perro, A., Reculosa, S., Ravaine, S., Bourgeat-Lami, É. & Duguet, É. Design and synthesis of Janus micro- and nanoparticles. *Journal of Materials Chemistry* **15**, 3745 (2005).
- ⁶² Du, J. & O’Reilly, R. K. Anisotropic particles with patchy, multicompartment and Janus architectures : preparation and application. *Chemical Society Reviews* **40**, 2402 (2011).
- ⁶³ Lattuada, M. & Hatton, T. A. Synthesis, properties and applications of Janus nanoparticles. *Nano Today* **6**, 286 (2011).
- ⁶⁴ Hu, J., Zhou, S., Sun, Y., Fang, X. & Wu, L. Fabrication, properties and applications of Janus particles. *Chemical Society Reviews* **41**, 4356 (2012).
- ⁶⁵ Walther, A. & Müller, A. H. E. Janus particles : Synthesis, self-assembly, physical properties, and applications. *Chemical Reviews* **113**, 5194 (2013).

- ⁶⁶ Zhang, J., Grzybowski, B. A. & Granick, S. Janus particle synthesis, assembly, and application. *Langmuir* **33**, 6964 (2017).
- ⁶⁷ Pawar, A. B. & Kretzschmar, I. Patchy particles by glancing angle deposition. *Langmuir* **24**, 355 (2008).
- ⁶⁸ Jiang, S. & Granick, S. Controlling the geometry (Janus balance) of amphiphilic colloidal particles. *Langmuir* **24**, 2438 (2008).
- ⁶⁹ Kadam, R., Zilli, M., Maas, M. & Rezwan, K. Nanoscale Janus particles with dual protein functionalization. *Particle & Particle Systems Characterization* **35**, 1700332 (2018).
- ⁷⁰ Liu, B., Zhang, C., Liu, J., Qu, X. & Yang, Z. Janus non-spherical colloids by asymmetric wet-etching. *Chemical Communications* 3871 (2009).
- ⁷¹ Sacanna, S., Irvine, W. T. M., Chaikin, P. M. & Pine, D. J. Lock and key colloids. *Nature* **464**, 575 (2010).
- ⁷² Sacanna, S., Irvine, W. T. M., Rossi, L. & Pine, D. J. Lock and key colloids through polymerization-induced buckling of monodisperse silicon oil droplets. *Soft Matter* **7**, 1631 (2011).
- ⁷³ Duguet, É., Hubert, C., Chomette, C., Perro, A. & Ravaine, S. Patchy colloidal particles for programmed self-assembly. *Comptes Rendus Chimie* **19**, 173 (2016).
- ⁷⁴ Ravaine, S. & Duguet, É. Synthesis and assembly of patchy particles : Recent progress and future prospects. *Current Opinion in Colloid & Interface Science* **30**, 45 (2017).
- ⁷⁵ Yi, G.-R., Manoharan, V., Michel, E., Elsesser, M., Yang, S.-M. & Pine, D. Colloidal clusters of silica or polymer microspheres. *Advanced Materials* **16**, 1204 (2004).
- ⁷⁶ Wang, Y., Wang, Y., Breed, D. R., Manoharan, V. N., Feng, L., Hollingsworth, A. D., Weck, M. & Pine, D. J. Colloids with valence and specific directional bonding. *Nature* **491**, 51 (2012).
- ⁷⁷ Wang, Y., Wang, Y., Zheng, X., Yi, G. R., Sacanna, S., Pine, D. J. & Weck, M. Three-dimensional lock and key colloids. *Journal of the American Chemical Society* **136**, 6866 (2014).
- ⁷⁸ Zheng, X., Liu, M., He, M., Pine, D. J. & Weck, M. Shape-shifting patchy particles. *Angewandte Chemie International Edition* **56**, 5507 (2017).
- ⁷⁹ Gong, Z., Hueckel, T., Yi, G.-R. & Sacanna, S. Patchy particles made by colloidal fusion. *Nature* **550**, 234 (2017).

- ⁸⁰ Hubert, C., Chomette, C., Désert, A., Sun, M., Treguer-Delapierre, M., Mornet, S., Perro, A., Duguet, É. & Ravaine, S. Synthesis of multivalent silica nanoparticles combining both enthalpic and entropic patchiness. *Faraday Discussions* **181**, 139 (2015).
- ⁸¹ Asakura, S. & Oosawa, F. On interaction between two bodies immersed in a solution of macromolecules. *The Journal of Chemical Physics* **22**, 1255 (1954).
- ⁸² Sacanna, S., Rossi, L. & Pine, D. J. Magnetic click colloidal assembly. *Journal of the American Chemical Society* **134**, 6112 (2012).
- ⁸³ Zerrouki, D., Baudry, J., Pine, D., Chaikin, P. & Bibette, J. Chiral colloidal clusters. *Nature* **455**, 380 (2008).
- ⁸⁴ Wang, Y., Hollingsworth, A. D., Yang, S. K., Patel, S., Pine, D. J. & Weck, M. Patchy particle self-assembly via metal coordination. *Journal of the American Chemical Society* **135**, 14064 (2013).
- ⁸⁵ Rycenga, M., McLellan, J. M. & Xia, Y. Controlling the assembly of silver nanocubes through selective functionalization of their faces. *Advanced Materials* **20**, 2416 (2008).
- ⁸⁶ Nikoobakht, B. & El-Sayed, M. A. Preparation and growth mechanism of gold nanorods (NRs) using seed-mediated growth method. *Chemistry of Materials* **15**, 1957 (2003).
- ⁸⁷ Nie, Z., Fava, D., Kumacheva, E., Zou, S., Walker, G. C. & Rubinstein, M. Self-assembly of metal-polymer analogues of amphiphilic triblock copolymers. *Nature Materials* **6**, 609 (2007).
- ⁸⁸ Chen, Q., Diesel, E., Whitmer, J. K., Bae, S. C., Luijten, E. & Granick, S. Triblock colloids for directed self-assembly. *Journal of the American Chemical Society* **133**, 7725 (2011).
- ⁸⁹ Kang, S.-M., Choi, C.-H., Kim, J., Yeom, S.-J., Lee, D., Park, B. J. & Lee, C.-S. Capillarity-induced directed self-assembly of patchy hexagram particles at the air-water interface. *Soft Matter* **12**, 5847 (2016).
- ⁹⁰ Taniguchi, Y., Sazali, M. A. B., Kobayashi, Y., Arai, N., Kawai, T. & Nakashima, T. Programmed self-assembly of branched nanocrystals with an amphiphilic surface pattern. *ACS Nano* **11**, 9312 (2017).
- ⁹¹ Li, W. *Assemblage induit en milieu solvant de nanoparticules de silice à patches : vers de nouvelles molécules colloïdales*. Thèse de Doctorat, Université de Bordeaux (2019).
- ⁹² Guignard, F. & Lattuada, M. Template-assisted synthesis of janus silica nanobowls. *Langmuir* **31**, 4635 (2015).

- ⁹³ Zheng, X., Wang, Y., Wang, Y., Pine, D. J. & Weck, M. Thermal regulation of colloidal materials architecture through orthogonal functionalizable patchy particles. *Chemistry of Materials* **28**, 3984 (2016).
- ⁹⁴ Liu, W., Halverson, J., Tian, Y., Tkachenko, A. V. & Gang, O. Self-organized architectures from assorted DNA-framed nanoparticles. *Nature Chemistry* **8**, 867 (2016).
- ⁹⁵ Cano, M. & de la Cueva-Méndez, G. Self-assembly of a superparamagnetic raspberry-like silica/iron oxide nanocomposite using epoxy–amine coupling chemistry. *Chemical Communications* **51**, 3620 (2015).
- ⁹⁶ Sun, S.-W., Lin, Y.-C., Weng, Y.-M. & Chen, M.-J. Efficiency improvements on ninhydrin method for amino acid quantification. *Journal of Food Composition and Analysis* **19**, 112 (2006).
- ⁹⁷ Wang, Y., Cai, J., Rauscher, H., Behm, R. J. & Goedel, W. A. Maleimido-terminated self-assembled monolayers. *Chemistry – A European Journal* **11**, 3968 (2005).
- ⁹⁸ Schäfer, S. & Kickelbick, G. Diels–alder reactions on surface-modified magnetite/maghemite nanoparticles : Application in self-healing nanocomposites. *ACS Applied Nano Materials* **1**, 2640 (2018).
- ⁹⁹ Liu, X., Zhu, M., Chen, S., Yuan, M., Guo, Y., Song, Y., Liu, H. & Li, Y. Organic-inorganic nanohybrids via directly grafting gold nanoparticles onto conjugated copolymers through the Diels-Alder reaction. *Langmuir* **24**, 11967 (2008).
- ¹⁰⁰ Zhu, J., Kell, A. J. & Workentin, M. S. A retro-Diels-Alder reaction to uncover maleimide-modified surfaces on monolayer-protected nanoparticles for reversible covalent assembly. *Organic Letters* **8**, 4993 (2006).
- ¹⁰¹ Xu, J., Wang, D., Li, N., Zhang, Y., Zhang, W. & Sun, P. Covalent assembly of hierarchical particles by efficient coupling of β -diketones and benzyl chloride. *Macromolecular Rapid Communications* **32**, 1916 (2011).
- ¹⁰² Layer, R. W. The Chemistry of Imines. *Chemical Reviews* **63**, 489 (1963).
- ¹⁰³ Zhang, D., Hegab, H. E., Lvov, Y., Dale Snow, L. & Palmer, J. Immobilization of cellulase on a silica gel substrate modified using a 3-APTES self-assembled monolayer. *SpringerPlus* **5**, 48 (2016).
- ¹⁰⁴ Tąta, A., Sokołowska, K., Świder, J., Konieczna-Molenda, A., Proniewicz, E. & Witek, E. Study of cellulolytic enzyme immobilization on copolymers of N-vinylformamide. *Spectrochimica Acta Part A : Molecular and Biomolecular Spectroscopy* **149**, 494 (2015).

- ¹⁰⁵ Li, F., Yoo, W. C., Beernink, M. B. & Stein, A. Site-specific functionalization of anisotropic nanoparticles : From colloidal atoms to colloidal molecules. *Journal of the American Chemical Society* **131**, 18548 (2009).
- ¹⁰⁶ Rouet, P.-É. *Synthèse et assemblages covalents de particules à patches : vers de nouvelles molécules colloïdales*. Thèse de Doctorat, Université de Bordeaux (2018).
- ¹⁰⁷ Rouet, P.-É., Chomette, C., Adumeau, L., Duguet, É. & Ravaine, S. Colloidal chemistry with patchy silica nanoparticles. *Beilstein Journal of Nanotechnology* **9**, 2989 (2018).
- ¹⁰⁸ Rouet, P.-É., Chomette, C., Duguet, É. & Ravaine, S. Colloidal molecules from valence-endowed nanoparticles by covalent chemistry. *Angewandte Chemie International Edition* **57**, 15754 (2018).
- ¹⁰⁹ Chomette, C. *Design et fabrication de méta-atomes plasmoniques à partir de nanoparticules à patches*. Thèse de Doctorat, Université de Bordeaux (2015).
- ¹¹⁰ Reculosa, S. *Synthèse de matériaux d'architecture contrôlée à base de silice colloïdale*. Thèse de Doctorat, Université de Bordeaux (2004).
- ¹¹¹ Perro-Marre, A. *Synthèse et valorisation de particules colloïdales de morphologie et de fonctionnalité de surface contrôlées*. Thèse de Doctorat, Université de Bordeaux (2006).
- ¹¹² Hartlen, K. D., Athanasopoulos, A. P. T. & Kitaev, V. Facile preparation of highly monodisperse small silica spheres (15 to >200 nm) suitable for colloidal templating and formation of ordered arrays. *Langmuir* **24**, 1714 (2008).
- ¹¹³ Stöber, W., Fink, A. & Bohn, E. Controlled growth of monodisperse silica spheres in the micron size range. *Journal of Colloid and Interface Science* **26**, 62 (1968).
- ¹¹⁴ Giesche, H. Synthesis of monodispersed silica powders II. Controlled growth reaction and continuous production process. *Journal of the European Ceramic Society* **14**, 205 (1994).
- ¹¹⁵ Nozawa, K., Gailhanou, H., Raison, L., Panizza, P., Ushiki, H., Sellier, E., Delville, J. P. & Delville, M. H. Smart control of monodisperse Stöber silica particles : Effect of reactant addition rate on growth process. *Langmuir* **21**, 1516 (2005).
- ¹¹⁶ Taveau, J.-C., Nguyen, D., Perro, A., Ravaine, S., Duguet, E. & Lambert, O. New insights into the nucleation and growth of PS nodules on silica nanoparticles by 3D cryo-electron tomography. *Soft Matter* **4**, 311 (2008).
- ¹¹⁷ Perro, A., Nguyen, D., Ravaine, S., Bourgeat-Lami, É., Lambert, O., Taveau, J.-C. & Duguet, É. Planar submicronic silica-polystyrene particles obtained by substrate-directed shaping. *Journal of Materials Chemistry* **19**, 4225 (2009).

- ¹¹⁸ Lane, W. H. Determination of solubility of styrene in water and of water in styrene. *Industrial & Engineering Chemistry Analytical Edition* **18**, 295 (1946).
- ¹¹⁹ Nakamura, Y. & Yamago, S. Termination mechanism in the radical polymerization of methyl methacrylate and styrene determined by the reaction of structurally well-defined polymer end radicals. *Macromolecules* **48**, 6450 (2015).
- ¹²⁰ Battye, R. A., Gibbons, G. W., Rychenkova, P. & Sutcliffe, P. M. Polyhedral scattering of fundamental monopoles. *Journal of Mathematical Physics* **44**, 3532 (2003).
- ¹²¹ Désert, A., Morele, J., Taveau, J.-C., Lambert, O., Lansalot, M., Bourgeat-Lami, É., Thill, A., Spalla, O., Belloni, L., Ravaine, S. & Duguet, É. Multipod-like silica/polystyrene clusters. *Nanoscale* **8**, 5454 (2016).
- ¹²² Chen, G., Wang, Y., Tan, L. H., Yang, M., Tan, L. S., Chen, Y. & Chen, H. High-purity separation of gold nanoparticle dimers and trimers. *Journal of the American Chemical Society* **131**, 4218 (2009).
- ¹²³ Bai, L., Ma, X., Liu, J., Sun, X., Zhao, D. & Evans, D. G. Rapid separation and purification of nanoparticles in organic density gradients. *Journal of the American Chemical Society* **132**, 2333 (2010).
- ¹²⁴ Sun, X., Luo, D., Liu, J. & Evans, D. G. Monodisperse chemically modified graphene obtained by density gradient ultracentrifugal rate separation. *ACS Nano* **4**, 3381 (2010).
- ¹²⁵ Brakke, M. K. Density gradient centrifugation : A new separation technique. *Journal of the American Chemical Society* **73**, 1847 (1951).
- ¹²⁶ K. Brakke, M. Density gradient centrifugation and its application to plant viruses. *Advances in Virus Research* **7**, 193 (1961).
- ¹²⁷ Jo, I.-S., Oh, J. S., Kim, S.-H., Pine, D. J. & Yi, G.-R. Compressible colloidal clusters from pickering emulsions and their DNA functionalization. *Chemical Communications* **54**, 8328 (2018).
- ¹²⁸ Li, S. F., Zhang, H. Y. & Lin, J. Size and shape separation of silver nanoparticles by a continuous density gradient centrifugation. In *Material Sciences and Technology*, vol. 560 of *Advanced Materials Research*, 728 (Trans Tech Publications, 2012).
- ¹²⁹ Chandra, K., Kumar, V., Werner, S. E. & Odom, T. W. Separation of stabilized mops gold nanostars by density gradient centrifugation. *ACS Omega* **2**, 4878 (2017).
- ¹³⁰ Harvey, E. N. The tension at the surface of marine eggs, especially those of the sea urchin, arbacia. *Biological Bulletin* **61**, 273 (1931).

- ¹³¹ Meselson, M., Stahl, F. W. & Vinograd, J. Equilibrium sedimentation of macromolecules in density gradients. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **43**, 581 (1957).
- ¹³² Arnold, M. S., Stupp, S. I. & Hersam, M. C. Enrichment of single-walled carbon nanotubes by diameter in density gradients. *Nano Letters* **5**, 713 (2005).
- ¹³³ Arnold, M. S., Green, A. A., Hulvat, J. F., Stupp, S. I. & Hersam, M. C. Sorting carbon nanotubes by electronic structure using density differentiation. *Nature Nanotechnology* **1**, 60 (2006).
- ¹³⁴ Green, A. A. & Hersam, M. C. Processing and properties of highly enriched double-wall carbon nanotubes. *Nature Nanotechnology* **4**, 64 (2008).
- ¹³⁵ Zhao, P., Einarsson, E., Lagoudas, G., Shiomi, J., Chiashi, S. & Maruyama, S. Mechanism behind separation of single-walled carbon nanotubes via density gradient ultracentrifugation using co-surfactant dispersions (2010).
- ¹³⁶ Fagan, J. A., Becker, M. L., Chun, J. & Hobbie, E. K. Length fractionation of carbon nanotubes using centrifugation. *Advanced Materials* **20**, 1609 (2008).
- ¹³⁷ Ghosh, S., Bachilo, S. M. & Weisman, R. B. Advanced sorting of single-walled carbon nanotubes by nonlinear density-gradient ultracentrifugation. *Nature Nanotechnology* **5**, 443 (2010).
- ¹³⁸ Hong, L., Jiang, S. & Granick, S. Simple method to produce Janus colloidal particles in large quantity. *Langmuir* **22**, 9495 (2006).
- ¹³⁹ Perro, A., Meunier, F., Schmitt, V. & Ravaine, S. Production of large quantities of “Janus” nanoparticles using wax-in-water emulsions. *Colloids and Surfaces A : Physicochemical and Engineering Aspects* **332**, 57 (2009).
- ¹⁴⁰ Kadam, R., Zilli, M., Maas, M. & Rezwan, K. Nanoscale Janus particles with dual protein functionalization. *Particle & Particle Systems Characterization* **35**, 1700332 (2018).
- ¹⁴¹ Marton, L. La microscopie électronique des objets biologiques. *Bulletin de la Classe des Sciences, Académie Royale de Belgique* **21**, 600 (1935).
- ¹⁴² Abrams, I. M. & McBain, J. W. A closed cell for electron microscopy. *Science* **100**, 273 (1944).
- ¹⁴³ Parsons, D. F. Structure of wet specimens in electron microscopy. *Science* **186**, 407 (1974).

- ¹⁴⁴ Knapek, E. & Dubochet, J. Beam damage to organic material is considerably reduced in cryo-electron microscopy. *Journal of Molecular Biology* **141**, 147 (1980).
- ¹⁴⁵ Adrian, M., Dubochet, J., Lepault, J. & McDowell, A. W. Cryo-electron microscopy of viruses. *Nature* **308**, 32 (1984).
- ¹⁴⁶ Shaikh, T. R., Barnard, D., Meng, X. & Wagenknecht, T. Implementation of a flash-photolysis system for time-resolved cryo-electron microscopy. *Journal of Structural Biology* **165**, 184 (2009).
- ¹⁴⁷ Subramaniam, S. & Henderson, R. Electron crystallography of bacteriorhodopsin with millisecond time resolution. *Journal of Structural Biology* **128**, 19 (1999).
- ¹⁴⁸ Williamson, M. J., Tromp, R. M., Vereecken, P. M., Hull, R. & Ross, F. M. Dynamic microscopy of nanoscale cluster growth at the solid–liquid interface. *Nature Materials* **2**, 532 (2003).
- ¹⁴⁹ Klein, K., Anderson, I. & de Jonge, N. Transmission electron microscopy with a liquid flow cell. *Journal of Microscopy* **242**, 117 (2011).
- ¹⁵⁰ Holtz, M. E., Yu, Y., Gao, J., Abruña, H. D. & Muller, D. A. *In situ* electron energy-loss spectroscopy in liquids. *Microscopy and Microanalysis* **19**, 1027 (2013).
- ¹⁵¹ Yuk, J. M., Park, J., Ercius, P., Kim, K., Hellebusch, D. J., Crommie, M. F., Lee, J. Y., Zettl, A. & Alivisatos, A. P. High-resolution EM of colloidal nanocrystal growth using graphene liquid cells. *Science* **336**, 61 (2012).
- ¹⁵² Textor, M. & de Jonge, N. Strategies for preparing graphene liquid cells for transmission electron microscopy. *Nano Letters* **18**, 3313 (2018).
- ¹⁵³ Liu, K.-L., Wu, C.-C., Huang, Y.-J., Peng, H.-L., Chang, H.-Y., Chang, P., Hsu, L. & Yew, T.-R. Novel microchip for *in situ* TEM imaging of living organisms and bio-reactions in aqueous conditions. *Lab Chip* **8**, 1915 (2008).
- ¹⁵⁴ Wadell, C., Inagaki, S., Nakamura, T., Shi, J., Nakamura, Y. & Sannomiya, T. Nanocuvette : A functional ultrathin liquid container for transmission electron microscopy. *ACS Nano* **11**, 1264 (2017).
- ¹⁵⁵ Thiberge, S., Nechushtan, A., Sprinzak, D., Gileadi, O., Behar, V., Zik, O., Chowes, Y., Michaeli, S., Schlessinger, J. & Moses, E. Scanning electron microscopy of cells and tissues under fully hydrated conditions. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **101**, 3346 (2004).
- ¹⁵⁶ Ciarlo, D. R. Silicon nitride thin windows for biomedical microdevices. *Biomedical Microdevices* **4**, 63 (2002).

- ¹⁵⁷ Schneider, N. M. *Electron beam effects in liquid cell TEM and STEM*, 140. *Advances in Microscopy and Microanalysis* (Cambridge University Press, 2016).
- ¹⁵⁸ de Jonge, N., Houben, L., Dunin-Borkowski, R. E. & Ross, F. M. Resolution and aberration correction in liquid cell transmission electron microscopy. *Nature Reviews Materials* **4**, 61 (2019).
- ¹⁵⁹ Jonge, N. d., Peckys, D. B., Kremers, G. J. & Piston, D. W. Electron microscopy of whole cells in liquid with nanometer resolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **106**, 2159 (2009).
- ¹⁶⁰ Zheng, H., Smith, R. K., Jun, Y.-w., Kisielowski, C., Dahmen, U. & Alivisatos, A. P. Observation of single colloidal platinum nanocrystal growth trajectories. *Science* **324**, 1309 (2009).
- ¹⁶¹ Creemer, J., Helveg, S., Hoveling, G., Ullmann, S., Molenbroek, A., Sarro, P. & Zandbergen, H. Atomic-scale electron microscopy at ambient pressure. *Ultramicroscopy* **108**, 993 (2008).
- ¹⁶² Moser, T. H., Shokuhfar, T. & Evans, J. E. Considerations for imaging thick, low contrast, and beam sensitive samples with liquid cell transmission electron microscopy. *Micron* **117**, 8 (2019).
- ¹⁶³ de Jonge, N. & Ross, F. M. Electron microscopy of specimens in liquid. *Nature Nanotechnology* **6**, 695 (2011).
- ¹⁶⁴ de Jonge, N., Poirier-Demers, N., Demers, H., Peckys, D. B. & Drouin, D. Nanometer-resolution electron microscopy through micrometers-thick water layers. *Ultramicroscopy* **110**, 1114 (2010).
- ¹⁶⁵ Tanase, M., Winterstein, J., Sharma, R., Aksyuk, V., Holland, G. & Liddle, J. A. High-resolution imaging and spectroscopy at high pressure : A novel liquid cell for the transmission electron microscope. *Microscopy and Microanalysis* **21**, 1629 (2015).
- ¹⁶⁶ Zhu, G., Jiang, Y., Huang, W., Zhang, H., Lin, F. & Jin, C. Atomic resolution liquid-cell transmission electron microscopy investigations of the dynamics of nanoparticles in ultrathin liquids. *Chemical Communications* **49**, 10944 (2013).
- ¹⁶⁷ Mirsaidov, U., Ohl, C.-D. & Matsudaira, P. A direct observation of nanometer-size void dynamics in an ultra-thin water film. *Soft Matter* **8**, 7108 (2012).
- ¹⁶⁸ Keskin, S., Kunnas, P. & de Jonge, N. Liquid-phase electron microscopy with controllable liquid thickness. *Nano Letters* **19**, 4608 (2019).
- ¹⁶⁹ Belloni, J. Nucleation, growth and properties of nanoclusters studied by radiation chemistry : Application to catalysis. *Catalysis Today* **113**, 141 (2006).

- ¹⁷⁰ Liao, H.-G., Cui, L., Whitlam, S. & Zheng, H. Real-time imaging of Pt₃Fe nanorod growth in solution. *Science* **336**, 1011 (2012).
- ¹⁷¹ Zhu, G., Jiang, Y., Lin, F., Zhang, H., Jin, C., Yuan, J., Yang, D. & Zhang, Z. In situ study of the growth of two-dimensional palladium dendritic nanostructures using liquid-cell electron microscopy. *Chemical Communications* **50**, 9447 (2014).
- ¹⁷² Park, J., Zheng, H., Lee, W. C., Geissler, P. L., Rabani, E. & Alivisatos, A. P. Direct observation of nanoparticle superlattice formation by using liquid cell transmission electron microscopy. *ACS Nano* **6**, 2078 (2012).
- ¹⁷³ Liao, H.-G. & Zheng, H. Liquid cell transmission electron microscopy study of platinum iron nanocrystal growth and shape evolution. *Journal of the American Chemical Society* **135**, 5038 (2013).
- ¹⁷⁴ Liu, Y., Lin, X.-M., Sun, Y. & Rajh, T. In situ visualization of self-assembly of charged gold nanoparticles. *Journal of the American Chemical Society* **135**, 3764 (2013).

Nanoparticules de silice à patchs : optimisation de leur synthèse et de leur assemblage, et observation *in situ*

Cette étude porte sur l'auto-assemblage de nanoparticules de silice à patchs cavitaires en vue d'obtenir de nouvelles molécules colloïdales. Dans un premier temps, les briques élémentaires, à savoir des particules à patchs et des particules satellites ont été synthétisées. Ce travail s'est focalisé sur des particules à quatre patchs dont la pureté morphologique a été améliorée tant par l'optimisation de la fonctionnalisation de surface des germes utilisés lors de l'étape de polymérisation ensemencée que par une étape de purification par centrifugation en gradient de densité. Des molécules colloïdales constituées d'une particule à patchs entourée de nanoparticules satellites en nombre contrôlé ont été obtenues par assemblage covalent. La chimie d'assemblage a été simplifiée en réduisant le nombre d'étapes de fonctionnalisation aussi bien pour les chaînes de polystyrène ancrées au fond des cavités que pour la surface des particules satellites. Des molécules colloïdales imitant des molécules d'eau ont pu être fabriquées en ajustant le rapport entre le nombre de particules satellites et le nombre de cavités. La taille nanométrique des particules mises en jeu empêche leur observation par microscopie optique. C'est pourquoi ces travaux ont également porté sur le développement expérimental de la technique de microscopie électronique en transmission en voie liquide dans le but ultime d'observer la dynamique d'assemblage des briques élémentaires.

Mots clés : Nanoparticules de silice à patchs, assemblage, molécules colloïdales, centrifugation en gradient de densité, microscopie électronique en transmission en voie liquide.

Patchy silica nanoparticles : Optimization of their synthesis and assembly, and *in situ* observation

This study deals with the self-assembly of dimpled patchy particles to get new colloidal molecules. First, building blocks – patchy silica nanoparticles and satellite particles - were synthesized. This work was focused on particles bearing four patches whose morphological purity was increased not only by optimizing the surface functionalization of the seeds used during the seeded growth emulsion polymerization stage, but also by purification by density gradient centrifugation. Covalent chemistry allowed obtaining colloidal molecules consisting of a four-patch particle surrounded by controlled number of satellite nanoparticles. The chemical pathway was simplified by reducing the number of functionalization steps for the polystyrene chains anchored at the bottom of the dimples and for the surface of the satellite particles. Colloidal molecules whose morphology mimics that of water molecules were fabricated by adjusting the ratio between the number of satellite particles and the number of dimples. Due to the sizes of the particles involved, dynamics of assembly cannot be followed by optical microscopy. This is why the technique of transmission electron microscopy in liquid phase was also investigated.

Keywords : Patchy silica nanoparticles, assembly, colloidal molecules, density gradient centrifugation, liquid-phase transmission electron microscopy.