



HAL
open science

Modifications de surface des nanodiamants : compréhension des mécanismes d'échanges électroniques et mise en évidence d'un effet thérapeutique

Tristan Petit

► **To cite this version:**

Tristan Petit. Modifications de surface des nanodiamants : compréhension des mécanismes d'échanges électroniques et mise en évidence d'un effet thérapeutique. Autre [cond-mat.other]. École normale supérieure de Cachan - ENS Cachan, 2013. Français. NNT : 2013DENS0010 . tel-00815281

HAL Id: tel-00815281

<https://theses.hal.science/tel-00815281>

Submitted on 18 Apr 2013

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

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



**THÈSE DE DOCTORAT
DE L'ÉCOLE NORMALE SUPÉRIEURE DE CACHAN**

présentée par

Monsieur Tristan PETIT

pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'ÉCOLE NORMALE SUPÉRIEURE DE CACHAN

Domaine : Sciences Physiques - Chimie

Sujet de la thèse :

**Modifications de surface des nanodiamants :
compréhension des mécanismes d'échanges
électroniques et mise en évidence d'un effet
thérapeutique**

Thèse présentée et soutenue à Saclay, le 18 mars 2013 devant le jury composé de :

DUJARDIN, Gérald	Directeur de recherche, Université Paris Sud	Rapporteur
KRÜGER, Anke	Professeure, Université de Würzburg, Allemagne	Rapporteuse
ETCHEBERRY, Arnaud	Directeur de recherche, Institut Lavoisier	Examineur
BERTRAND, Jean-Rémi	Ingénieur de Recherche, Institut Gustave Roussy	Examineur
ARNAULT, Jean-Charles	Directeur de recherche, CEA-LIST	Directeur de thèse
BERGONZO, Philippe	Directeur de recherche, CEA-LIST	Co-directeur de thèse
GIRARD, Hugues	Ingénieur-Chercheur, CEA-LIST	Encadrant
CHEVILLARD, Sylvie	Directrice de recherche, CEA-DSV	Invitée

Commissariat à l'Énergie Atomique et aux Énergies Alternatives

CEA TECH - Laboratoire d'Intégration des Systèmes et des Technologies

Laboratoire Capteurs Diamant

Remerciements

Je remercie tout d'abord Philippe Bergonzo, directeur du Laboratoire Capteurs Diamant du CEA-LIST, de m'avoir permis d'effectuer cette thèse au LCD dans des conditions exceptionnelles, notamment en pouvant participer à plusieurs conférences et séjours d'expérimentations en France et à l'étranger. Je le remercie aussi pour ses relectures d'articles et de manuscrit de thèse.

Ce travail a été encadré par Jean-Charles Arnault et Hugues Girard, que je tiens à remercier tout particulièrement. C'est grâce à leurs expertises, leurs conseils et leur écoute que ce travail a pu aboutir. Je garderai un excellent souvenir de toutes les discussions scientifiques ou pas que nous avons eu au cours de ces trois ans, qui ont permis de faire émerger les idées présentées dans cette thèse. Je les remercie enfin pour le temps considérable, mais nécessaire, qu'ils ont passé à relire et corriger des présentations, des articles et ce manuscrit de thèse.

Je remercie Gérard Dujardin, directeur de recherche à l'Université Paris Sud, et Anke Krüger, professeure à l'Université de Würzburg, d'avoir accepté d'être rapporteurs de cette thèse. Im Besonderen, danke ich Anke Krüger für die Zustimmung, dieses Manuskript auf Französisch durchzulesen. Je remercie également Arnaud Etcheberry, directeur de recherche à l'Institut Lavoisier de Versailles, et Jean-Rémi Bertrand, Ingénieur-chercheur à l'Institut Gustave Roussy, pour leur participation en tant qu'examineurs de ce travail.

Je remercie chaleureusement Sylvie Chevillard, ainsi que son équipe du Laboratoire de Cancérologie Expérimentale du CEA-DSV, pour leur confiance et pour avoir accepté de faire des expériences essentielles pour ce travail de thèse. Notamment je souhaiterais remercier Romain Grall et Sandrine Morel-Altmeier, qui ont fait les expériences cellulaires présentées ici, ainsi que Vincent Paget et Jacques-Aurélien Sergent pour leurs conseils et expertise en toxicologie.

Je voudrais également remercier toutes les personnes qui ont collaboré pour nous aider à mieux comprendre les propriétés des nanodiamants. Je remercie ainsi Mohamed Sennour

des Mines de Paris, ParisTech pour les caractérisation HRTEM des nanodiamants modifiés. Je remercie également Isabelle Batonneau-Gener d'avoir accepté de nous accueillir dans son laboratoire IC₂MP à Poitiers pour effectuer les mesures d'adsorption de molécules sondes. Un grand merci au passage à Adeline Trouvé du LCD pour avoir effectué ces expériences fastidieuses et pour son expertise dans l'interprétation des résultats. Je remercie Bohuslav Rezek et Stepan Stehlik de l'institut de physique de Prague pour les expériences KFM et pour leur accueil à Prague. Je voudrais enfin remercier Chia-Liang Cheng ainsi que son équipe, notamment Denny avec qui j'ai effectué les mesures FTIR, pour leur accueil très chaleureux durant ces deux séjours à Taiwan, dont je garderai un excellent souvenir.

Merci à Guillaume pour le développement du four de recuit sous vide et à Bertrand pour son aide pour le montage d'hydrogénation et de la lampe excimère entre autre. Leur aide technique a été essentielle pour la réalisation et la maintenance des nombreux montages expérimentaux utilisés dans cette thèse. Je remercie également Sylvain du DRECAM pour son aide technique.

Merci à Céline, Samuel et Emmanuel qui m'ont régulièrement aidé tout au long de cette thèse par leurs conseils. Je remercie également tout les thésards et postdoc avec qui j'ai partagé beaucoup de temps ces trois ans en commençant par Anthony, Mathieu et Alex qui m'ont fait découvrir le labo quand je suis arrivé. Un grand merci à Raphaël avec qui j'ai passé de très bons moments, notamment en conférences, tout au long de cette thèse. Je remercie bien évidemment Nico, les deux Benoît, Fanny, Raafa, Candice, Claire, Colin et Mathilde pour leur bonne humeur et leur complicité. Je garderai beaucoup de bons souvenirs de ces années avec vous. Je remercie aussi Mathilde pour ses relectures finales très attentives de ce manuscrit et lui souhaite bonne continuation avec les nanodiamants.

Bien évidemment je remercie aussi très chaleureusement tous les autres membres du LCD qui m'ont accompagnés pendant ces trois ans et participent à créer cette ambiance de travail particulièrement agréable au LCD qui va certainement me manquer !

Et pour finir, je voudrais bien sûr remercier Isa ainsi que ma famille et mes amis pour leur soutien et leurs encouragements tout au long de ces trois années !!

Glossaire

ADN : Acide Désoxyribonucléique

AES : Auger Electron Spectroscopy, Spectroscopie d'électrons Auger

ARN : Acide Ribonucléique

CVD : Chemical Vapor Deposition, Dépôt chimique en phase vapeur

CNT : Carbon Nanotube, nanotube de carbone

DLS : Dynamic Light Scattering, Diffusion dynamique de la lumière

BET : Brunauer, Emmett et Teller, méthode de calcul de la surface spécifique à partir d'une isotherme d'adsorption

EPR : Enhanced Permeability and Retention, Rétention et Perméabilité augmentées

FTIR : Fourier Transformed Infrared Spectroscopy, Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier

GO : Graphene oxide, oxyde de graphène

HOPG : Highly Oriented Pyrolytic Graphite, Graphite pyrolytique hautement orienté

HPHT : Haute Pression Haute Température

HRTEM : High Resolution Transmission Electron Microscopy, Microscopie électronique en transmission haute résolution

IC : Index cellulaire

KFM : Kelvin Force Microscopy, Microscopie à sonde de Kelvin

LDH : Lactate Déhydrogénase

MPCVD : Microwave-Enhanced Chemical Vapor Deposition, Déposition en phase vapeur assistée par micro-ondes

ND : Nanodiamant ou nanoparticule de diamant

ND-COOH : Nanodiamant oxydé

ND-FLRs : Nanodiamant graphitisé en surface

ND-H : Nanodiamant hydrogéné

ND-init : Nanodiamant initiaux

ND- sp^2 : Nanodiamant graphitisé

ND-UV : Nanodiamant exposé à un rayonnement ultraviolet

NP : Nanoparticule

NV : Nitrogen-Vacancy, azote-lacune, pour un centre coloré dans le diamant

PZ : Potentiel Zeta

ROS : Reactive Oxygen Species, dérivés réactifs de l'oxygène

SEM : Scanning Electron Microscopy, Microscopie électronique à balayage

siRNA : small interfering RNA, petit ARN interférant

u.a. : unité arbitraire

UHV : Ultra High Vacuum, ultravide

XPS : X-ray photoelectron Spectroscopy, Spectroscopie de photoélectrons générés par rayons X

Table des matières

Remerciements	iii
Glossaire	v
Introduction générale	1
1 Pourquoi développer des applications thérapeutiques avec les nanodiamants ?	5
1.1 Les nanoparticules	7
1.1.1 Généralités	7
1.1.2 Applications des nanoparticules en médecine	9
1.1.2.1 Délivrance de médicaments	10
1.1.2.2 Diagnostic	12
1.1.2.3 Thérapie	13
1.1.2.4 Bilan	15
1.2 Le diamant à l'échelle nano	16
1.2.1 Méthodes de synthèse	16
1.2.2 Propriétés mécaniques et tribologiques	19
1.2.3 Propriétés optiques et magnétiques	20
1.2.4 Biocompatibilité	21
1.2.5 Propriétés colloïdales	23
1.2.6 Propriétés électroniques et électrochimiques	24
1.2.7 Bilan	25
1.3 Chimie de surface des nanodiamants	25
1.3.1 Chimie de surface initiale des nanodiamants	26
1.3.2 Modification de surface des nanodiamants	27
1.3.3 Structures hybrides à base de nanodiamants	28
1.3.4 Fonctionnalisation des nanodiamants	29
1.3.5 Bilan	29
1.4 Applications des nanodiamants en médecine	30
1.5 Présentation de la thèse	32

1.5.1	Motivation	32
1.5.2	Objectifs	33
1.5.3	Démarche utilisée	34
1.5.3.1	Mise au point des traitements de surface des nanodiamants	34
1.5.3.2	Étude des interactions entre les nanodiamants et leur en- vironnement	35
1.5.3.3	Étude des interactions entre les nanodiamants et les cellules	36
2	Techniques de modification et caractérisation de la chimie et des pro- priétés de surface des nanodiamants	37
2.1	Modifications de surface des nanodiamants : Dispositifs expérimentaux . .	39
2.1.1	Four de recuit sous air	39
2.1.2	Ensemble de préparation et d'analyse <i>in situ</i> sous ultravide	40
2.1.3	Montage d'hydrogénation par plasma micro-ondes	42
2.1.4	Four pour les recuits sous vide à haute température	43
2.2	Méthodes d'analyse de surface et de la structure cristalline des nanodiamants	45
2.2.1	Microscopie électronique en transmission haute résolution	45
2.2.1.1	Caractérisation des nanodiamants	45
2.2.1.2	Dispositif expérimental	46
2.2.2	Spectroscopie de photoélectrons X	46
2.2.2.1	Caractérisation des nanodiamants	46
2.2.2.2	Dispositif expérimental	48
2.2.3	Spectroscopie d'électrons Auger	49
2.2.3.1	Caractérisation des nanodiamants	49
2.2.3.2	Dispositif expérimental	50
2.2.4	Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier	50
2.2.4.1	Caractérisation des nanodiamants	50
2.2.4.2	Dispositif expérimental	51
2.2.5	Bilan	51
2.3	Méthodes d'analyse des interactions entre les nanodiamants et leur envi- ronnement	53
2.3.1	Technique d'adsorption de molécules sondes	53
2.3.2	Microscopie à sonde de Kelvin	54
2.3.3	Diffusion dynamique de la lumière	56
2.3.3.1	Mesure de taille	56
2.3.3.2	Caractérisation des nanodiamants	57
2.3.3.3	Définition et mesure du potentiel zêta	58
2.3.4	Bilan	59
2.4	Conclusion	60

3	Contrôle de la chimie de surface des nanodiamants par traitements physico-chimiques	61
3.1	Chimie de surface et structure cristallographique initiale des nanodiamants	63
3.1.1	Microscopie électronique en transmission haute résolution	63
3.1.2	Spectroscopie de photoélectrons X	64
3.1.3	Spectroscopie d'électrons Auger	67
3.1.4	Spectroscopie infrarouge	68
3.1.5	Bilan	70
3.2	Oxydation des nanodiamants par recuit sous air	70
3.3	Hydrogénation par plasma CVD	73
3.3.1	Rôle de la température des nanodiamants lors du plasma hydrogène : Étude séquentielle sous ultravide	73
3.3.2	Cinétique d'hydrogénation	76
3.3.3	Hydrogénation de nanodiamants sous forme pulvérulente	78
3.3.4	Bilan	79
3.4	Graphitisation de surface des nanodiamants par recuit sous vide à haute température	81
3.4.1	Rôle de la température : Étude séquentielle sous ultravide	81
3.4.1.1	Analyse XPS	81
3.4.1.2	Analyse AES	85
3.4.1.3	Bilan	87
3.4.2	Graphitisation de surface de nanodiamants sous forme pulvérulente	88
3.4.3	Bilan	93
3.5	Conclusion	94
4	Phénomènes d'adsorption et échanges électroniques à la surface des nanodiamants	95
4.1	Modification de la chimie de surface des nanodiamants après exposition à l'air	97
4.1.1	Exposition à l'air de nanodiamants hydrogénés	97
4.1.2	Exposition à l'air de nanodiamants graphitisés	102
4.1.3	Bilan	103
4.2	Phénomènes d'adsorption à la surface des nanodiamants	103
4.2.1	Détermination de la surface spécifique des nanodiamants	103
4.2.2	Détermination de l'hydrophilicité des nanodiamants	107
4.2.3	Bilan	110
4.3	Transferts de charges et potentiel électrostatique des nanodiamants	111
4.3.1	Caractérisation du potentiel électrostatique des nanodiamants	111
4.3.2	Phénomènes de charge et de polarisation des nanodiamants	114

4.3.3	Bilan	115
4.4	Conclusion	116
5	Rôle de la chimie de surface sur les propriétés colloïdales des nanodiamants dans l'eau	117
5.1	Mise en suspension des nanodiamants dans l'eau	119
5.2	Origine du potentiel zêta des nanodiamants hydrogénés	125
5.2.1	Chimie de surface des NDs hydrogénés en suspension	125
5.2.2	Échanges électrochimiques à la surface des nanodiamants hydrogénés	127
5.2.3	Bilan	129
5.3	Origine du Potentiel zêta des nanodiamants graphitisés	131
5.3.1	Chimie de surface des NDs graphitisés en suspension	131
5.3.2	Evolution du potentiel zêta en fonction du pH	138
5.3.3	Dopage de surface des nanodiamants graphitisés par adsorption d'oxygène	139
5.3.4	Stabilisation de nanodiamants fortement graphitisés	143
5.3.5	Bilan	144
5.4	Conclusion	144
6	Rôle de la chimie de surface des nanodiamants sur les interactions avec les cellules	147
6.1	Stabilité colloïdale des nanodiamants en milieu biologique	149
6.2	Rôle de la chimie de surface sur la toxicité des nanodiamants	152
6.2.1	Introduction	152
6.2.2	Résultats	153
6.2.2.1	Lignée rénale (Caki-1)	153
6.2.2.2	Lignée pulmonaire (A549)	155
6.2.2.3	Lignée hépatique (Hep-G2)	156
6.2.2.4	Lignée du colon (HT-29)	158
6.2.3	Discussion	159
6.2.4	Bilan	160
6.3	Radiosensibilisation de cellules tumorales avec des nanodiamants	162
6.3.1	Amélioration des traitements de radiothérapie classique	163
6.3.2	Utilisation de nanoparticules pour la radiosensibilisation	163
6.3.3	Radiosensibilisation avec des nanodiamants	165
6.3.3.1	Intérêt des nanodiamants	165
6.3.3.2	Preuve de concept de la radiosensibilisation de cellules Caki-1	167
6.3.3.3	Effet radiosensibilisant des nanodiamants oxydés	168

6.3.3.4	Effet radiosensibilisant des nanodiamants hydrogénés . . .	170
6.3.3.5	Évaluation de la présence de dérivés réactifs de l'oxygène dans les cellules	172
6.3.3.6	Discussion	173
6.3.4	Bilan	175
6.4	Conclusion	177
Conclusion générale		179
7	Bien curieuses propriétés des nanodiamants hydrogénés . . .	183
7.1	Transition Hydrophobe/Hydrophile des nanodiamants hydrogénés	186
7.2	Auto-assemblage électrostatique de nanodiamants hydrogénés	188
7.2.1	Auto-assemblage électrostatique de nanoparticules : Principe physique	188
7.2.2	Effet de la concentration en contre-ions sur l'auto-assemblage des nanodiamants hydrogénés en solution	191
7.2.3	Rôle des contre-ions	192
7.2.4	Nature des structures auto-assemblées	194
7.2.5	Bilan	196
7.3	Mésocristallisation des agrégats de nanodiamants hydrogénés	198
7.4	Conclusion	201
A	Compléments sur la microscopie électronique en transmission haute ré- solution	203
B	Compléments sur la spectroscopie de photoélectrons X	205
B.1	Principe de fonctionnement	205
B.2	Spectre de référence d'un diamant massif hydrogéné	208
B.3	Spectre de référence de graphite pyrolytique hautement orienté	209
B.4	Déconvolution des spectres XPS C1s des nanodiamants graphitisés	209
C	Compléments sur la spectroscopie d'électrons Auger	211
D	Compléments sur la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier	213
E	Compléments sur la diffusion dynamique de la lumière	215
F	Compléments sur la méthode xCELLigence	217
Bibliographie		219
Communications personnelles		249

Introduction Générale

Malgré les progrès de la médecine actuelle, le cancer reste la première cause de mortalité en France aujourd'hui. Dans de nombreux cas, il n'existe pas de traitements efficaces pour traiter ou même retarder la progression du cancer. Pourtant, les avancées significatives de ces dernières années en oncologie ont permis le développement de nouvelles thérapies qui laissent espérer des améliorations pour le futur. Par exemple, l'utilisation des nanotechnologies propose de nouveaux paradigmes pour le développement de traitements plus efficaces. En particulier, les nanoparticules, utilisées comme outils aux multiples fonctions pouvant agir directement et sélectivement au niveau des tumeurs, sont sur le point de révolutionner la manière dont les traitements du cancer sont envisagés. Elles peuvent par exemple transporter de grandes quantités de molécules actives directement dans les cellules tumorales, et les libérer en se dégradant quand elles sont organiques, à base de polymères ou de lipides. Elles peuvent aussi avoir un effet thérapeutique sous activation d'un champ extérieur, ce qui permet de traiter très localement les tumeurs en préservant les tissus sains. Pour ces applications, les nanoparticules sont généralement inorganiques, notamment métalliques ou à base de matériaux semi-conducteurs, ce qui permet d'utiliser des propriétés magnétiques ou plasmoniques par exemple.

Les nanodiamants pourraient avoir une place intermédiaire parmi ces nanoparticules organiques et inorganiques. Ils sont en effet constitués d'atomes de carbone, ce qui leur confère une surface très réactive sur laquelle les procédés de chimie organique peuvent être appliqués pour les fonctionnaliser de manière efficace. D'un autre côté, elles ont un cœur inorganique, non dégradable mais n'engendrant aucune toxicité, qui a des propriétés intrinsèques pouvant sans doute être mieux exploitées. En effet, jusqu'à maintenant, uniquement les propriétés de luminescence de centres colorés à l'intérieur de la maille diamant sont utilisées pour applications biomédicales. Pourtant, les propriétés du matériau diamant, qui ont été largement étudiées sur le matériau massif, vont bien au-delà des propriétés de luminescence. Dans cette thèse, nous allons voir comment les propriétés électroniques du cœur diamant des nanodiamants peuvent être utilisées pour développer des applications thérapeutiques avec les nanodiamants. Ces propriétés étant intimement liées à la chimie de surface sur le matériau massif, leurs effets devraient être encore ac-

centués pour les nanodiamants de par leur large rapport surface/volume. C'est pourquoi ce travail porte tout d'abord sur les modifications de surface des nanodiamants, avant d'étudier l'effet de la chimie de surface sur les interactions entre les nanodiamants et leur environnement. Cette étude nous permettra de concevoir des applications en nanomédecine dans lesquelles les nanodiamants pourraient avoir un effet thérapeutique.

La majeure partie de ces travaux de thèse a été effectuée au Laboratoire Capteurs Diamant du CEA-LIST, à Saclay. Ce travail étant interdisciplinaire, plusieurs études ont été menées en collaboration avec d'autres laboratoires. Il faut en particulier mentionner que toutes les expériences biologiques présentées ici ont été effectuées par Sandrine Morel-Altmeier et Romain Grall de l'équipe de Sylvie Chevillard au Laboratoire de Cancérologie Expérimentale du CEA-DSV, à Fontenay-aux-Roses. Cette étroite collaboration m'a permis de valider sur des modèles cellulaires des effets présumés par les caractérisations physiques et chimiques des nanodiamants effectuées pendant cette thèse. Une partie des résultats sur la caractérisation des nanodiamants provient de collaborations avec Mohamed Sennour de Mines ParisTech à Évry, avec Isabelle Batonneau-Gener de l'Institut de Chimie des Milieux et Matériaux de Poitiers, avec Stepan Stehlik et Bohuslav Rezek de l'Institut de Physique de Prague en République Tchèque et avec l'équipe du professeur Chia-Liang Cheng de l'Université Nationale Dong Hwa de Hualien à Taiwan. Lors de ces collaborations, j'ai préparé les échantillons mais j'ai aussi pu participer aux expériences, notamment au cours de séjours en République Tchèque et à Taiwan.

Ce manuscrit de thèse est structuré autour de sept chapitres. Six chapitres seront directement associés aux modifications de surface des nanodiamants et au rôle de la chimie de surface sur les propriétés d'échanges électroniques, pour mettre en évidence un effet thérapeutique. Après avoir étudié l'effet de traitements de surface sur des nanodiamants de détonation sous ultravide, des nanodiamants à la surface bien contrôlée ont été préparés en plus grande quantité. Leurs interactions avec l'environnement à l'air puis en dispersion dans l'eau seront étudiées. A partir de ces résultats, les interactions avec des cellules tumorales humaines pourront être observées et l'effet thérapeutique des nanodiamants modifiés sera illustré. Un chapitre supplémentaire présentera des résultats n'étant pas directement liés au sujet de cette thèse, mais illustrant des propriétés d'auto-assemblage encore inexplorées des nanodiamants que j'ai pu observer pendant cette thèse.

Dans le premier chapitre, je présenterai les raisons pour lesquelles l'utilisation des nanodiamants pour applications thérapeutiques paraît judicieuse. Basé sur des études de la littérature, j'expliquerai tout d'abord les nouveaux paradigmes proposés par l'utilisation de nanoparticules en médecine. Je détaillerai ensuite les diverses propriétés des nanodiamants, en insistant sur celles qui ont des implications directes pour les applications

biomédicales. Notamment, le rôle de la chimie de surface sur leurs propriétés sera mis en valeur. Ceci me permettra d'argumenter les choix faits pour l'orientation de cette thèse vis-à-vis du contrôle de la chimie de surface et de l'utilisation des nanodiamants en cancérologie.

Dans le deuxième chapitre, je détaillerai les outils expérimentaux utilisés pendant la thèse. Dans un premier temps, les dispositifs permettant les modifications de surface des nanodiamants ainsi que les méthodes utilisées pour les caractériser seront présentés, en insistant sur leur complémentarité. Les méthodes de caractérisation permettant de sonder les interactions entre les nanodiamants et leur environnement seront finalement décrites. La diversité de ces méthodes de caractérisation a été essentielle aussi bien pour la préparation de nanodiamants à la chimie de surface contrôlée que pour la compréhension des mécanismes d'échanges électroniques entre les nanodiamants et leur environnement.

Le troisième chapitre portera sur le contrôle de la chimie de surface des nanodiamants. La stratégie adoptée porte tout d'abord sur des premières études faites sous ultravide afin de comprendre la réactivité de surface des nanodiamants de détonation et permettant de mettre au point des traitements de surface efficaces. Dans un deuxième temps, les conditions expérimentales optimales déterminées par la première étude seront utilisées pour préparer de plus grandes quantités de nanodiamants sous forme pulvérulente, pouvant ensuite être mis en suspension dans l'eau. La bonne préparation et la caractérisation des nanodiamants modifiés utilisés dans cette thèse sont fondamentales pour pouvoir déduire des conclusions sur les liens entre la chimie de surface des nanodiamants et les propriétés décrites dans les chapitres suivants.

Dans le quatrième chapitre, les interactions chimiques et électroniques entre les nanodiamants modifiés et leur environnement seront étudiées après exposition à l'air. Plus précisément, je montrerai que la surface des nanodiamants peut être fortement modifiée après exposition à l'air et que les propriétés d'adsorption à la surface des nanodiamants dépendent de leur chimie de surface. Par la suite, des phénomènes d'échanges électroniques entre les nanodiamants et le substrat sur lequel ils auront été déposés seront mis en évidence.

Le cinquième chapitre décrira le rôle de la chimie de surface des nanodiamants sur leurs propriétés colloïdales dans l'eau. Notamment, je montrerai en quoi les interactions électroniques entre les nanodiamants et les molécules présentes dans l'eau ou adsorbées à leur surface peuvent conduire à un potentiel Zeta positif. La comparaison entre la chimie de surface des nanodiamants après dispersion dans l'eau et les propriétés colloïdales me permettra de proposer des modèles expliquant l'origine des charges de surface positives

observées.

Enfin, dans le sixième chapitre, j'étudierai les interactions entre les nanodiamants et des cellules tumorales humaines. Après avoir vérifié l'effet de la chimie de surface sur la toxicité des nanodiamants, je montrerai que les nanodiamants peuvent avoir un effet thérapeutique. Plus particulièrement, les nanodiamants ayant suivi un traitement de surface approprié permettent de radiosensibiliser les cellules tumorales, *i.e.* les rendre plus sensibles à des rayonnements ionisants. Une preuve de concept sera démontrée en exposant des cellules rénales radiorésistantes à des nanodiamants en combinaison avec une irradiation γ . Ces résultats ouvrent de nouvelles perspectives pour l'utilisation des nanodiamants en nanomédecine.

Après avoir conclu sur l'intérêt des nanodiamants utilisés en tant qu'outil thérapeutique, je présenterai un dernier chapitre portant sur certaines propriétés inattendues des nanodiamants. En étudiant les propriétés colloïdales des nanodiamants ayant une surface hydrogénée, j'ai en effet pu mettre en évidence des propriétés d'auto-assemblage des nanodiamants n'ayant jamais été observées avec des nanoparticules à ma connaissance. Des pistes pour expliquer et contrôler cet auto-assemblage seront proposées, illustrant l'intérêt de s'intéresser aux interactions électroniques et électrostatiques des nanodiamants en solution.

Chapitre 1

Pourquoi développer des applications thérapeutiques avec les nanodiamants ?

Sommaire

1.1 Les nanoparticules	7
1.1.1 Généralités	7
1.1.2 Applications des nanoparticules en médecine	9
1.1.2.1 Délivrance de médicaments	10
1.1.2.2 Diagnostic	12
1.1.2.3 Thérapie	13
1.1.2.4 Bilan	15
1.2 Le diamant à l'échelle nano	16
1.2.1 Méthodes de synthèse	16
1.2.2 Propriétés mécaniques et tribologiques	19
1.2.3 Propriétés optiques et magnétiques	20
1.2.4 Biocompatibilité	21
1.2.5 Propriétés colloïdales	23
1.2.6 Propriétés électroniques et électrochimiques	24
1.2.7 Bilan	25
1.3 Chimie de surface des nanodiamants	25
1.3.1 Chimie de surface initiale des nanodiamants	26
1.3.2 Modification de surface des nanodiamants	27
1.3.3 Structures hybrides à base de nanodiamants	28
1.3.4 Fonctionnalisation des nanodiamants	29
1.3.5 Bilan	29
1.4 Applications des nanodiamants en médecine	30

1.5	Présentation de la thèse	32
1.5.1	Motivation	32
1.5.2	Objectifs	33
1.5.3	Démarche utilisée	34
1.5.3.1	Mise au point des traitements de surface des nanodiamants	34
1.5.3.2	Étude des interactions entre les nanodiamants et leur environnement	35
1.5.3.3	Étude des interactions entre les nanodiamants et les cellules	36

Introduction

Les nanoparticules (NPs) de diamant, aussi appelées **nanodiamants** (NDs), attirent une attention croissante ces dernières années grâce à leurs propriétés uniques, permettant le développement de nouveaux matériaux hybrides et de nouvelles applications dans des domaines aussi variés que l'information quantique, l'électronique, l'énergie ou la biologie. Dans cette thèse, nous allons nous intéresser plus particulièrement aux applications potentielles en médecine, notamment en oncologie. Les recherches dans ce domaine sont pour le moment à un stade très précoce, pourtant nous allons discuter les raisons pour lesquelles les NDs sont particulièrement prometteurs pour ces applications. Ainsi, dans ce premier chapitre, nous commencerons par présenter l'intérêt de l'utilisation des NPs en médecine d'un point de vue général. Nous détaillerons ensuite certaines propriétés propres aux NDs avant d'illustrer avec des études de la littérature leurs liens avec les applications des NDs en oncologie. Dans ce contexte, les objectifs de cette thèse seront présentés par la suite. La démarche suivie tout au long de ce travail pour arriver à montrer que les NDs pourraient avoir des effets thérapeutiques sera détaillée.

1.1 Les nanoparticules

Avant de discuter des propriétés des NDs il est nécessaire de rappeler quelques concepts communs à toutes les NPs. Nous insisterons notamment sur l'intérêt de ces propriétés pour le développement de nouvelles applications en médecine.

1.1.1 Généralités

Avec l'essor des nanotechnologies, les termes de nanomatériaux et NPs sont de plus en plus utilisés, mêmes s'ils peuvent avoir plusieurs sens. Il existe en effet de nombreuses façons de définir les nanomatériaux, dont font partie les NPs. En 2008, afin d'uniformiser ces définitions, la norme ISO TS/27687 a été établie, qui donne la définition suivante pour les nano-objets :

"Les nano-objets sont des substances dont l'une au moins des trois dimensions physiques est comprise entre 1 et 100 nm et qui présentent des propriétés spécifiques à l'échelle nanométrique. Un nano-objet ayant trois dimensions dans le domaine nanométrique sera appelé nanoparticule, avec deux dimensions nanofil et avec une dimension nanofeuillet.

Purs, ils se présentent sous forme d'agrégats et/ou d'agglomérats de granulométrie moyenne dépassant le micron. Ils peuvent être utilisés en tant que tel (purs) ou intégrés à des matrices solides, liquides ou pulvérulentes. Lorsque les nano-objets sont inclus ou

intégrés à la structure d'un matériau, les termes nanomatériaux ou nano-composites sont utilisés."

De nouvelles propriétés apparaissent aux dimensions nanométriques, ce qui explique le besoin d'une terminologie particulière pour les différencier des matériaux n'ayant pas ces propriétés. En particulier, leur taille nanométrique induit des **effets d'origine quantique**, notamment de confinement, qui ne seront pas observés pour des tailles supérieures à quelques dizaines de nanomètres. Un des exemples les plus connus est celui des NPs d'or, dont la couleur varie en fonction de la taille [1]. Cette propriété est utilisée depuis le Moyen-Age pour colorer les vitraux des églises en incrustant ces NPs de différentes tailles dans le verre.

La taille nanométrique permet aussi d'avoir **un rapport surface/volume très élevé**. Par exemple, en découpant un cube de 1 cm de côté, qui a une surface initiale de 6 cm^2 , en cubes de 1 mm de côté, on obtient une surface finale de 60 cm^2 pour un volume équivalent (Figure 1.1). La surface d'échange entre la NP et le milieu extérieur est très importante, ce qui donne des propriétés radicalement différentes de matériaux ayant la même composition chimique à l'échelle macroscopique. Dans certains cas, les propriétés de surface dominent sur les effets du cœur de la NP. Ces propriétés sont par exemple très utiles en catalyse où les atomes de surface peuvent avoir une réactivité beaucoup plus marquée [2].

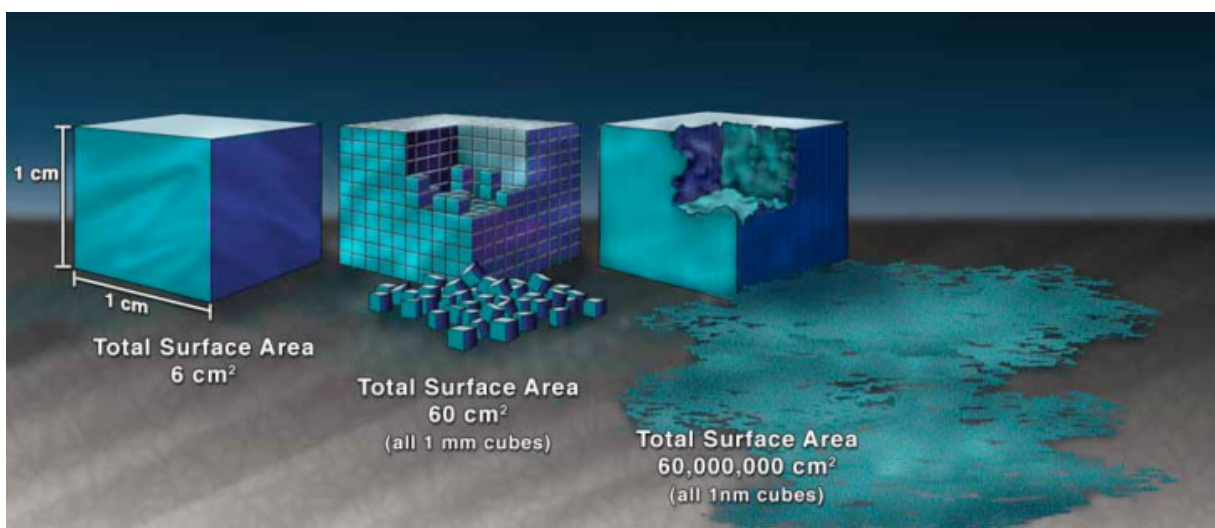


FIGURE 1.1 – Effet de la diminution de la taille d'un cube sur l'augmentation du rapport surface/volume. D'après www.nano.gov.

Pourquoi développer des applications thérapeutiques avec les nanodiamants ?

Enfin, les NPs étant constituées de quelques milliers d'atomes, des **propriétés similaires à celles de leur équivalent macroscopique** peuvent encore être observées, ce qui n'est pas le cas pour des molécules sub-nanométriques. Par exemple, les propriétés magnétiques ou ferroélectriques sont encore observées pour des nanoparticules de 5 nm, ce qui donne lieu à de nombreuses applications en biologie notamment [3]. Les NPs peuvent donc être considérées comme un matériau ponctuel, ayant une surface immense tout en gardant des propriétés de cœur intéressantes suivant l'application. **Une description efficace des NPs nécessite de prendre en compte leur caractère uni-, bi- et tridimensionnel**, ce qui rend leur étude difficile mais permet d'avoir des objets aux fonctionnalités multiples malgré leur petite taille. Cette intégration de propriétés diverses est à l'origine des nouvelles applications inimaginables à d'autres dimensions, notamment en médecine.

1.1.2 Applications des nanoparticules en médecine

L'utilisation des nanotechnologies pour la médecine, qui constitue un champ d'investigation nouveau appelé la **nanomédecine**, est un des domaines où les NPs ont permis les progrès les plus spectaculaires ces dernières années. Alors que les premiers traitements commencent à arriver sur le marché, de nombreuses nouvelles applications des NPs sont actuellement en cours d'études ou en phase d'essais cliniques [4]. Bien que la plus grande partie des recherches soit axée vers de nouveaux traitements contre le cancer, des avancées sont aussi attendues pour les maladies cardio-vasculaires, neuro-dégénératives et le développement de nouveaux vaccins par exemple. Les exemples donnés par la suite seront exclusivement basés sur des traitements anticancéreux. Les trois grands paradigmes qui sont à la base de la nanomédecine pour le traitement du cancer sont :

- la **délivrance de médicament** : les NPs permettent de délivrer de manière spécifique et efficace des molécules actives dans les cellules cancéreuses,
- le **diagnostic** : les NPs peuvent servir de traceurs s'accumulant dans les tumeurs,
- la **thérapie** : Les NPs peuvent avoir des propriétés thérapeutiques qui sont uniquement déclenchées dans les cellules cancéreuses.

Ces trois paradigmes vont maintenant être détaillés en présentant quelques exemples prometteurs pour chaque application.

1.1.2.1 Délivrance de médicaments

Un des principaux intérêts des NPs par rapport aux molécules classiques utilisées en chimiothérapie est de pouvoir cibler de manière **spécifique** les cellules malades, ce qui permet d'**augmenter significativement l'efficacité des traitements en réduisant les effets secondaires**. Du fait de leur taille nanométrique, les nanoparticules circulant dans le sang s'accumulent plus efficacement dans les tissus cancéreux que dans les tissus sains. La vascularisation est en effet plus importante dans les tumeurs et les vaisseaux sanguins autour des cellules tumorales sont perméables aux macromolécules (10-100 nm environ), ce qui permet une accumulation préférentielle des NPs dans les tumeurs (Figure 1.2). Une normalisation de ces vaisseaux sanguins peut d'ailleurs améliorer l'entrée des plus petites NPs [5]. Ce phénomène de **ciblage passif** des tumeurs est appelé "effet EPR" (Enhanced Permeability and Retention) [6].

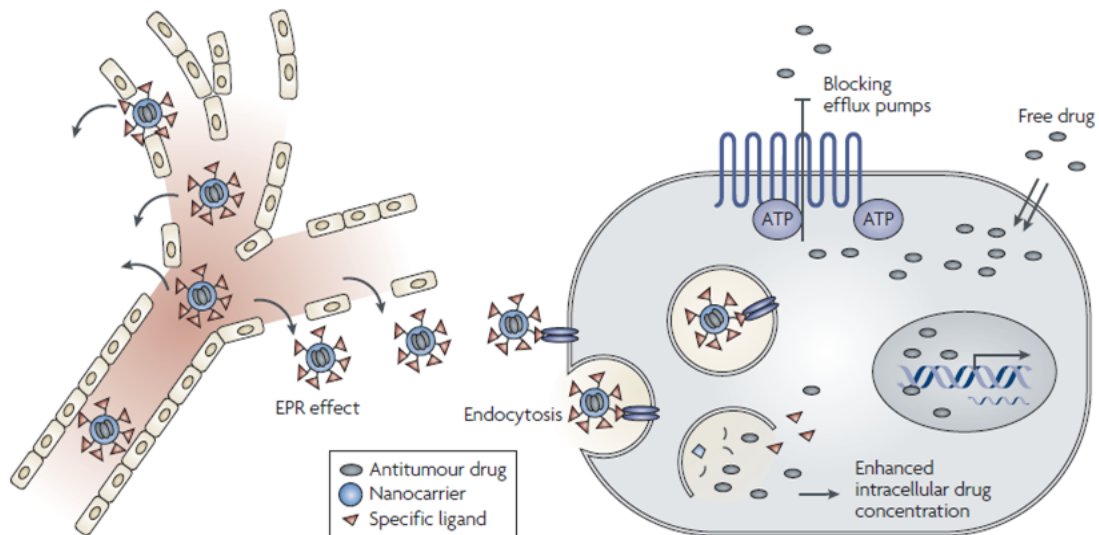


FIGURE 1.2 – *Effet EPR, endocytose et pompes d'efflux. D'après la référence [7].*

Afin d'améliorer le ciblage de certaines cellules, il est aussi possible de greffer des ligands spécifiques à la surface des NPs qui vont reconnaître des marqueurs présents à la surface des cellules ciblées. On parlera alors de **ciblage actif**, qui permet d'augmenter significativement l'accumulation sélective des NPs dans les cellules cibles [8].

Alors que les molécules de taille inférieure à 10 nm peuvent entrer dans les cellules par simple diffusion à travers la membrane cellulaire, les nanoparticules pénètrent généralement dans les cellules par des procédés actifs comme l'**endocytose** [7]. Au cours de l'endocytose, la NP est enrobée par une partie de la membrane cellulaire pour former une vésicule qui est ensuite internalisée dans la cellule (Figure 1.2). La NP peut ainsi

Pourquoi développer des applications thérapeutiques avec les nanodiamants ?

facilement accéder au cytoplasme, plus rarement au noyau cellulaire. L'endocytose peut dépendre de certains récepteurs présents à la surface des nanoparticules mais aussi de paramètres physiques des NPs tels que la taille, la forme ou la charge de surface [9]. L'intérêt de ce mode d'entrée dans les cellules est de ne pas être confronté à la multi-résistance aux drogues qui est une des limites actuelles des traitements de chimiothérapie [10]. En effet, l'efficacité de nombreuses molécules anticancéreuses est limitée par la mise en route de pompes d'efflux, situées sur les membranes cellulaires, qui évacuent activement les molécules étrangères détectées à l'intérieur de la cellule vers l'extérieur. Ainsi, quand une certaine concentration de molécules anticancéreuses sera détectée dans les cellules tumorales, les molécules seront évacuées des cellules avant d'avoir eu le temps d'être activées, rendant le traitement inefficace. **Grâce aux NPs, il est *a priori* possible de délivrer des doses plus importantes de molécules actives dans les cellules ciblées, par rapport à une approche classique, tout en affectant de manière moindre les cellules saines.**

C'est pour ces raisons que l'idée d'utiliser des NPs pour la vectorisation de médicaments s'est rapidement développée. Pourtant, il existe de nombreux types de NPs permettant de transporter efficacement des molécules actives. Ces vecteurs doivent permettre le transport de grandes quantités de molécules, favoriser leur libération dans les cellules cibles après le transport, et pouvoir être fonctionnalisées afin de pouvoir cibler spécifiquement certaines cellules tout en restant de taille nanométrique. De plus, le vecteur doit être adapté en fonction des molécules à transporter, qui peuvent être hydrophiles ou hydrophobes, de poids moléculaire et de charge variés. Actuellement les NPs les plus utilisées pour la vectorisation sont les **NPs polymériques ou lipidiques** car elles sont relativement faciles à synthétiser et sont basées sur l'auto-assemblage de molécules ayant déjà été acceptées par les agences de régulation comme la Food and Drug Administration (FDA) américaine, ce qui permet d'accélérer leur arrivée sur le marché en cas d'efficacité prouvée. Pour les NPs polymériques, les drogues sont généralement encapsulées dans une matrice qui se dégrade progressivement une fois entrée dans la cellule cible. Dans certains cas, comme pour les NPs de bloc copolymère Pluronic, la dégradation du polymère peut inhiber les défenses spécifiques de la cellule afin d'augmenter l'efficacité des molécules vectorisées [11]. Dans le cas de NPs lipidiques, les molécules sont encapsulées par une simple ou une double couche de lipides pour former des micelles ou des liposomes, respectivement. En plus d'encapsuler des médicaments, ces lipides peuvent être eux-mêmes des principes actifs, qui sont activés après leur décomposition par des enzymes dans les cellules cibles [12]. **Les NPs de nouvelle génération ne sont donc plus simplement des vecteurs inertes qui ciblent certaines cellules, mais elles permettent d'augmenter l'efficacité des médicaments grâce à des effets synergiques apparaissant lors de leur dégradation.**

1.1.2.2 Diagnostic

La détection de cellules tumorales ainsi que l'imagerie des tumeurs peuvent être facilitées par l'utilisation de NPs, cette fois utilisées en tant qu'outil de diagnostic. Certaines NPs peuvent être suivies *in vitro* ou *in vivo* par **imagerie optique, magnétique ou nucléaire** en fonction de leurs propriétés. Les boîtes quantiques par exemple ont des propriétés de luminescence exceptionnelles qui permettent leur suivi sur de longues périodes à l'échelle sub-cellulaire [13]. Les traceurs absorbant et émettant dans le proche infrarouge (longueur d'onde entre 650-900 nm) sont particulièrement intéressants car cette gamme de longueur d'onde permet l'imagerie *in vivo* dans les tissus profonds, en évitant les bandes d'absorption des tissus biologiques (Figure 1.3) [14, 15].

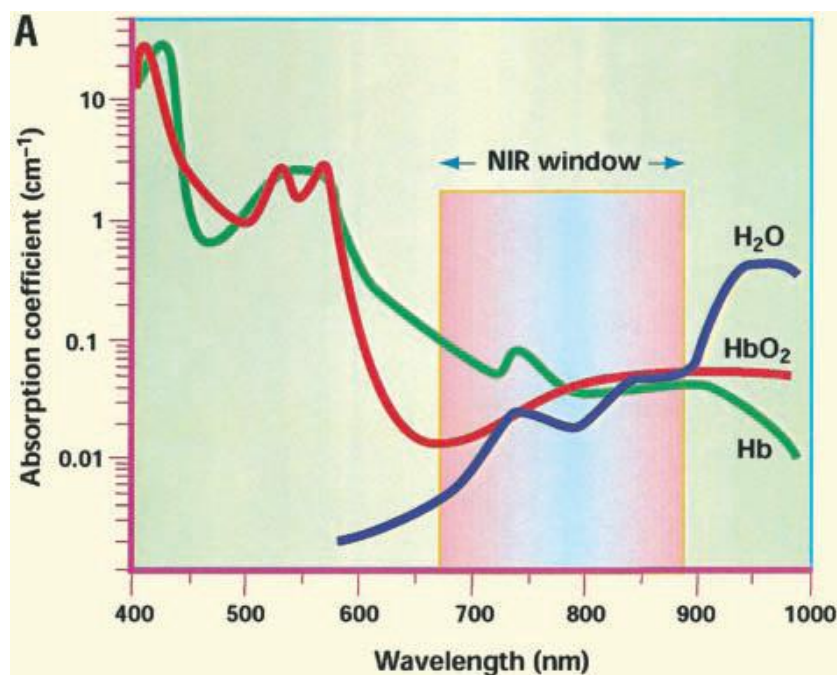


FIGURE 1.3 – Mise en évidence de la fenêtre disponible dans le proche infrarouge pour l'imagerie *in vivo*. Les propriétés d'absorption des molécules d'eau (bleu), de l'hémoglobine oxygénée (HbO_2) ou non (Hb) sont indiquées. D'après la référence [15].

D'autres méthodes de suivi sont aussi utilisées pour éviter ces problèmes d'absorption, comme l'imagerie magnétique. Pour cela, ce sont plutôt des NPs magnétiques qui sont utilisées, car présentant des temps de relaxation très différents des tissus biologiques, ce qui en fait de très bons agents de contraste[16, 17].

L'imagerie nucléaire est une autre voie en cours d'étude [18]. L'utilisation de NPs marquées par des radio-isotopes est en particulier très prometteuse car elle est quantitative, n'est pas limitée par la profondeur des tissus et peut être suivie par tomographie par émission de positons (PET scan), qui est une méthode couramment utilisée en imagerie

Pourquoi développer des applications thérapeutiques avec les nanodiamants ?

médicale. Cette voie a été récemment développée sur des NPs carbonées, qui peuvent être marquées par du C^{14} après fonctionnalisation covalente à la surface comme montré sur des nanotubes par exemple [19].

1.1.2.3 Thérapie

Les NPs peuvent aussi avoir des propriétés thérapeutiques intrinsèques, qui sont généralement **activées par un stimulus extérieur**. Le but est d'induire une toxicité par l'application de ce stimulus, uniquement dans les cellules ayant internalisé les NPs ce qui permet d'**augmenter l'index thérapeutique du traitement**. Cet index thérapeutique est défini comme le rapport entre la dose thérapeutique et la dose toxique pour un traitement. Par exemple, les NPs magnétiques peuvent être excitées par un champ magnétique extérieur oscillant afin de générer de la chaleur à proximité des NPs [20]. L'élévation locale de la température aux environs des NPs peut générer la mort cellulaire par **hyperthermie**. Associée à un ciblage des cellules cancéreuses, cette méthode permet de ne traiter que les cellules cibles puisque le champ magnétique ne génère pas de toxicité pour les cellules n'ayant pas internalisé les NPs.

Les nanoparticules métalliques [21, 22], ainsi que certains nanomatériaux carbonés tels que les nanofeuillets d'oxyde de graphène [23, 24], peuvent aussi être stimulés optiquement par des lasers pour générer de la chaleur localement. On parle alors de **photothérapie**. Ces nanomatériaux absorbent spécifiquement les photons à certaines longueurs d'ondes, notamment dans le proche infrarouge, domaine spectral très faiblement absorbé dans les tissus biologiques. De la même manière que pour les champs magnétiques, l'exposition aux lasers de faible intensité ($<2 \text{ W/cm}^2$) permet de n'induire la mort cellulaire que dans les cellules ayant internalisé les nanomatériaux. Un exemple de l'effet synergique entre la présence de nanofeuillets d'oxyde de graphène et de l'irradiation avec un laser à 808 nm pour le traitement de tumeurs sur des souris est présenté sur la figure 1.4. Utilisés séparément, aucune toxicité n'est induite par les nanomatériaux ou l'irradiation. En revanche, la combinaison des deux induit une réduction drastique du volume des tumeurs et permet la survie des souris. Il est intéressant de noter que cet effet thérapeutique dépend très fortement de la chimie de surface des nanofeuillets qui est différente entre les échantillons nommés "nGO-PEG" et "nRGO-PEG" sur la figure 1.4.

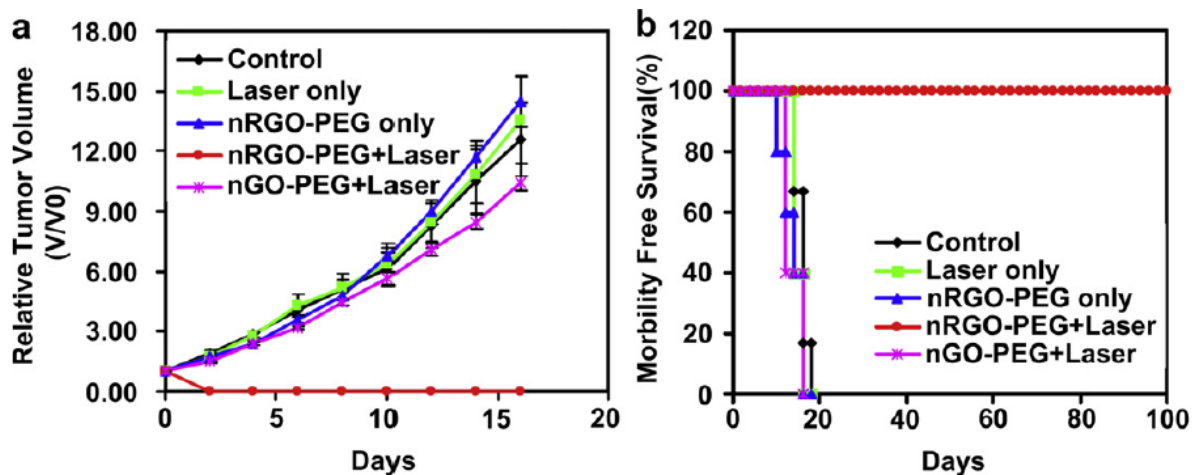


FIGURE 1.4 – Illustration de l'effet phototoxique induit par la présence de nanofeuillets d'oxyde de graphène sous irradiation laser à 808 nm (5 min à 0.15 W/cm^2). L'évolution du volume relatif d'une tumeur (a) et le taux de survie (b) sur des souris en fonction du temps. D'après la référence [24].

Enfin, les NPs peuvent augmenter l'index thérapeutique des traitements de radiothérapie, en accroissant la **génération de radicaux libres induite par les radiations à proximité des NPs**. Pour ces applications, des NPs à base d'atomes lourds tels que les métaux nobles (or, platine) ou les terres rares sont utilisées afin d'augmenter le nombre d'électrons Auger générés par l'irradiation [25, 26, 27, 28, 29]. L'efficacité de la radiosensibilisation par des NPs d'or a été montrée pour la première fois par Hainfield *et al* (figure 1.5) [25].

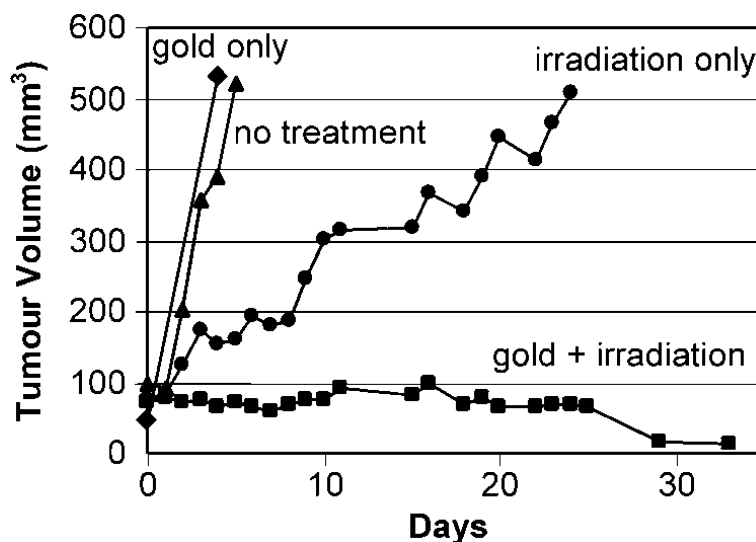


FIGURE 1.5 – Réduction du volume d'une tumeur mammaire chez la souris. Une irradiation à 30 Gy, 250 kVp et une injection intraveineuse de 1.35 g/kg de nanoparticules d'or (2 nm) ont été utilisées dans ce cas. D'après Hainfield *et al* [25].

Pourquoi développer des applications thérapeutiques avec les nanodiamants ?

L'ajout de NPs avant le traitement de radiothérapie permet d'augmenter significativement l'effet des radiations et permet donc de traiter des tumeurs résistantes aux radiations ou d'induire une toxicité à des doses plus faibles que les doses utilisées pour des traitements classiques. L'augmentation de la fenêtre thérapeutique, dans laquelle le traitement de radiothérapie sera efficace, avec l'utilisation de NPs radiosensibilisantes pourrait permettre le traitement de tumeurs ne pouvant actuellement pas être traitées par cette méthode.

1.1.2.4 Bilan

L'utilisation de NPs pour la médecine est donc très prometteuse puisqu'elle permet de cibler les cellules cancéreuses pour y libérer des médicaments, les imager ou augmenter leur sensibilité à des champs extérieurs. L'association des propriétés thérapeutiques liées aux NPs ou aux médicaments qu'elles transportent avec leurs propriétés de diagnostic est une branche en pleine expansion, appelée **théranostique** [30, 31]. Les NPs deviennent alors des **plateformes multifonctionnelles**, exploitant les propriétés venant du cœur, de la surface de la nanoparticule ou des molécules conjuguées à celle-ci. Les NPs carbonées sont particulièrement intéressantes pour ces applications [32]. Afin de combiner les propriétés propres à différentes NPs, des systèmes hybrides commencent à apparaître, ouvrant de nombreuses perspectives pour l'amélioration des NPs existantes et le développement de systèmes plus complexes. Cela est par exemple le cas pour des NPs de silice mésoporeuse contenant des NPs superparamagnétiques, des colorants et des médicaments [33], ou des liposomes intégrant des NPs d'or pour contrôler le relargage des médicaments encapsulés par irradiation dans le proche infrarouge [34]. D'autres exemples de ces NPs hybrides sont disponibles dans les références [35, 17, 36].

Bien sûr, il est important de noter que pour ces applications médicales, **les NPs brutes ne doivent pas induire de toxicité significative**, qui pourrait endommager les cellules saines non ciblées. Les NPs biodégradables ou étant évacuées par des voies naturelles sont donc pour le moment encore privilégiées.

1.2 Le diamant à l'échelle nano

Après avoir présenté les nanoparticules en général et leurs applications biomédicales, nous pouvons maintenant nous intéresser plus précisément aux NDs. Dans un premier temps, les méthodes de synthèse des NDs seront présentées. Nous verrons ensuite quelles sont les propriétés de ces NDs d'un point de vue général, en donnant quelques exemples d'applications pour chaque propriété. La chimie de surface des NDs sera particulièrement détaillée car elle est au cœur de ce travail de thèse. Nous détaillerons enfin comment ces NDs peuvent être utilisés en nanomédecine.

1.2.1 Méthodes de synthèse

Le diamant est une des formes allotropiques du carbone, constitué d'atomes dans un **état d'hybridation sp^3** , organisés selon une structure cubique à faces centrées, avec quatre atomes supplémentaires en position $(\frac{1}{4}, \frac{1}{4}, \frac{1}{4})$. (Figure 1.6). Cette structure confère des propriétés physiques exceptionnelles au diamant qui vont être détaillées ultérieurement.

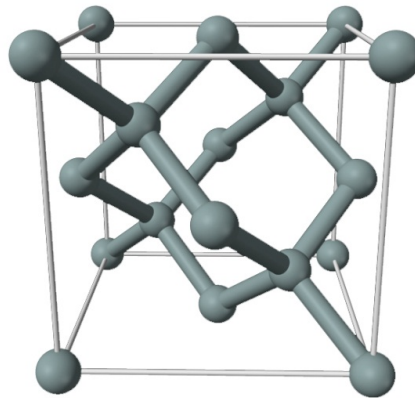


FIGURE 1.6 – Maille cristalline du diamant.

Le diamant est une **forme métastable du carbone** et sa formation nécessite des conditions de pression et de température très élevées ($P > 10$ GPa et $T > 2000$ K), qui sont par exemple rassemblées dans les couches profondes du manteau terrestre. Du diamant est aussi observé dans les météorites, permettant de remonter à des informations intéressantes en astrophysique [37, 38, 39].

Mais le diamant peut aussi être synthétisé de manière artificielle, qui est plus adaptée pour applications industrielles, permettant une plus grande homogénéité et reproductibilité dans les diamants utilisés. Deux approches sont actuellement utilisées pour synthétiser

Pourquoi développer des applications thérapeutiques avec les nanodiamants ?

du diamant :

- l'utilisation de presses permettant d'obtenir les conditions de haute température et haute pression nécessaires à la synthèse du diamant **Haute Pression Haute Température** (HPHT) [40],
- la croissance par **dépôt chimique en phase vapeur** (CVD) [41].

Pour la synthèse des NDs, de nombreuses méthodes peuvent être utilisées et ont été résumées par Shenderova *et al* [42]. Seules deux méthodes principales, utilisées pour la plupart des NDs disponibles commercialement, vont être détaillées ici. La première consiste à broyer des substrats de diamant de synthèse jusqu'à obtenir des débris de taille nanométrique. Ces NDs, appelés **NDs HPHT** sont ensuite triés en fonction de leur taille afin d'obtenir des populations avec des distributions en taille homogènes généralement comprises entre 20 et 100 nm. Les NDs HPHT sont généralement facettés et ont une bonne qualité cristalline comme illustré sur la figure 1.7.

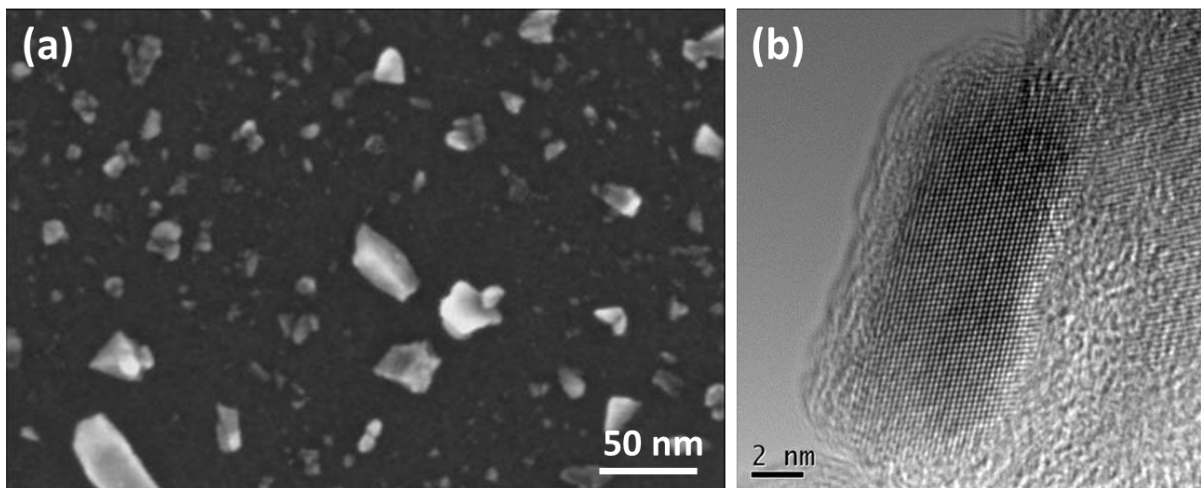


FIGURE 1.7 – Cliché de nanodiamants HPHT par imagerie électronique à balayage (a) et en transmission haute résolution (b).

La deuxième méthode de synthèse, inventée dans les années 1960 en URSS [43, 42, 44, 45], consiste à utiliser la détonation d'un mélange d'explosifs et d'une source carbonée dans une cuve (Figure 1.8 (a)). Lors de l'explosion, les conditions de pression et de température permettant l'apparition de diamant vont être réunies pendant un temps très court (point A sur le diagramme de phase du carbone, figure 1.8 (b)), ce qui va permettre la formation de clusters nanométriques de diamant. La température et la pression vont rapidement baisser après l'explosion, arrêtant la cristallisation des NDs au bout de quelques microsecondes. Ces NDs sont appelés **NDs de détonation**.

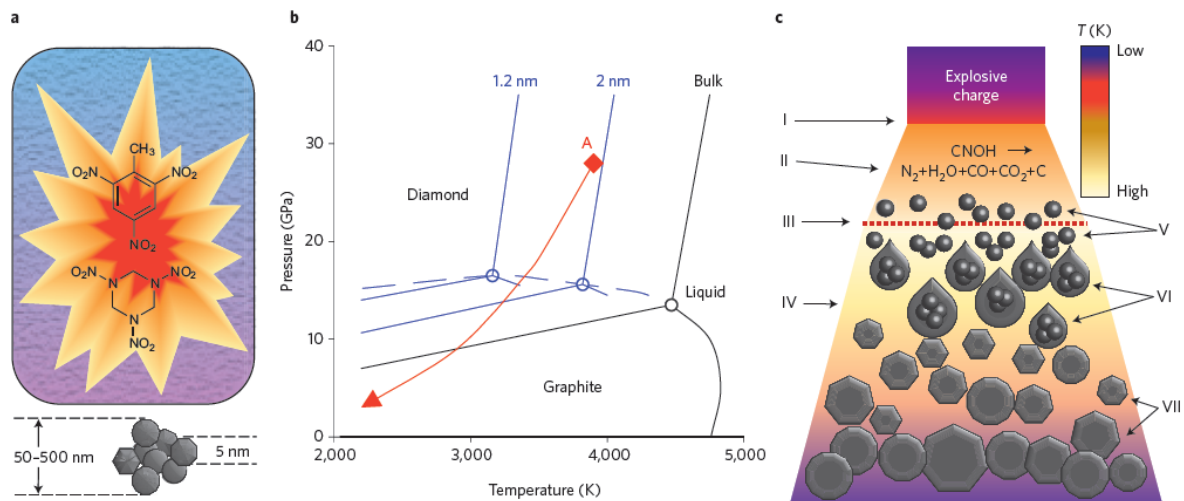


FIGURE 1.8 – (a) Illustration d'une synthèse des nanodiamants par détonation. (b) Diagramme de phase du carbone. Juste après la détonation, les atomes de carbone sont au point de Jouguet (point A) et suivent les conditions de pression et de température indiquées en rouge pendant le refroidissement. (c) Résumé des différents stades de croissance des NDs pendant la détonation. D'après la référence [45].

Le produit final collecté sur les parois de la cuve de détonation est constitué d'agglomérats de plusieurs centaines de nanomètres, contenant des NDs ayant une taille primaire très homogène, de l'ordre de 5 nm. Cependant, ces NDs sont enrobés d'une épaisse couche de carbone graphitique ou amorphe [44, 42]. Des **traitements de purification** sont alors nécessaires pour éliminer le carbone non-diamant et les impuretés métalliques provenant des parois de la cuve et pour désagglomérer les NDs primaires. Pour la purification, il s'agit généralement de traitements par bain acide [44]. La **désagglomération** quant à elle peut être assurée par broyage mécanique, par exemple avec des billes de zirconium [46, 47]. Ce broyage peut induire la formation de carbone graphitique, qui pourra être éliminé par de nouveaux traitements de purification. Il est ainsi possible d'obtenir des NDs de taille primaire, qui peuvent ensuite être dispersés en solution [48]. Ce processus de préparation est résumé sur la figure 1.9.

Les procédés de synthèse des NDs sont donc facilement industrialisables à grande échelle à partir d'une matière première peu onéreuse, ce qui en fait **des nanomatériaux peu coûteux à produire**. De plus, les NDs possèdent une partie des propriétés physiques du diamant massif, ce qui peut donner lieu à de nombreuses applications qui vont être maintenant décrites.

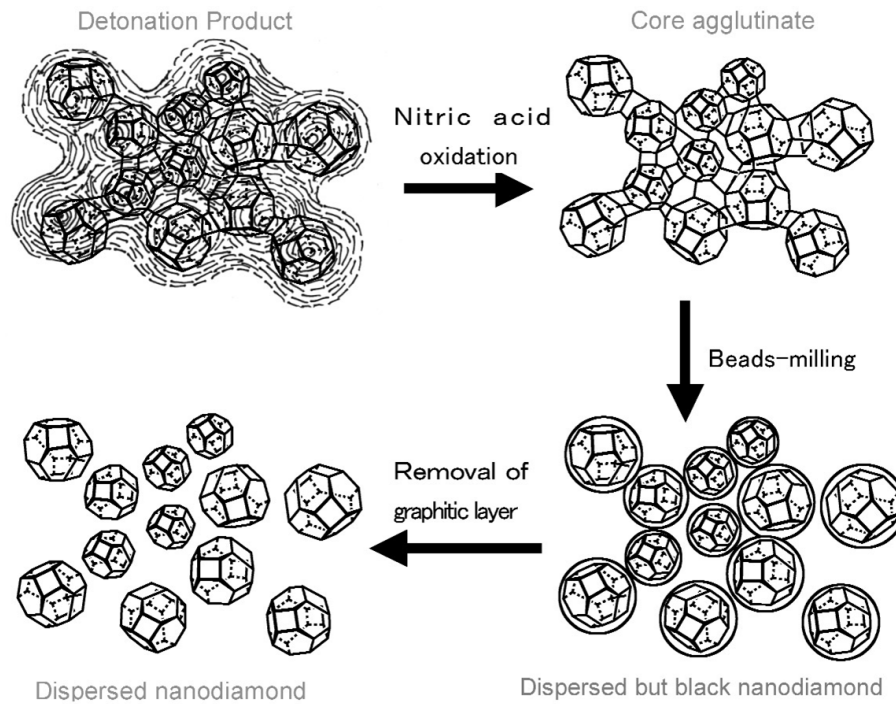


FIGURE 1.9 – Procédure de purification et de désagglomération des nanodiamants de détonation. D'après la référence [47].

1.2.2 Propriétés mécaniques et tribologiques

Le diamant possède des propriétés mécaniques hors du commun puisque sa dureté, 10 sur l'échelle de Mohs, et son module de Young supérieur à 1000 GPa sont les plus élevés des matériaux naturels connus. Ces propriétés expliquent que la principale application industrielle du diamant soit le revêtement d'outils de découpe ou de polissage par exemple, mais elles peuvent aussi être exploitées à l'échelle nanométrique. En effet, l'addition de NDs dans des huiles pour moteur permet d'augmenter significativement leurs propriétés lubrifiantes, pouvant par exemple réduire leur coefficient de friction de 80 à 90 % [49]. L'incorporation de NDs dans des matrices polymériques permet aussi de créer de nouveaux **nanocomposites** ayant des propriétés mécaniques très prometteuses. Par exemple, leur incorporation dans une matrice d'époxy permet de multiplier par 200 la dureté par rapport au polymère simple et par 10 le module de Young [50]. Ce même nanocomposite a montré des propriétés tribologiques améliorées, qui permettent d'envisager de remplacer les diamants micrométriques utilisés pour la découpe ou le polissage par ce nanocomposite [51]. Incorporés dans un polymère biodégradable, il est même envisageable d'utiliser ces matériaux pour la fabrication de prothèses osseuses [52].

1.2.3 Propriétés optiques et magnétiques

Le diamant est un matériau transparent sur une large gamme du spectre électromagnétique et possède un indice de réfraction élevé d'environ 2.4 dans le domaine visible. Pourtant, à l'échelle nanométrique, les NDs peuvent avoir des propriétés optiques différentes dépendant de leur taille. Ils deviennent ainsi progressivement transparents dans la gamme des ultraviolets quand leur taille est inférieure à 100 nm [53]. Pour comparaison, le diamant monocristallin est transparent au dessus de 230 nm.

Mais les propriétés optiques les plus intéressantes viennent sans doute de la présence de **centres colorés**, résultant de la présence d'impuretés dans la matrice du diamant [54], que l'on retrouve aussi bien dans le diamant massif que dans certains types de NDs. Le plus utilisé de ces centres colorés est induit par la présence d'un atome d'azote proche d'une lacune dans la maille du diamant, appelé **centre NV** (Nitrogen-Vacancy en anglais), comme illustré sur la figure 1.10 [55].

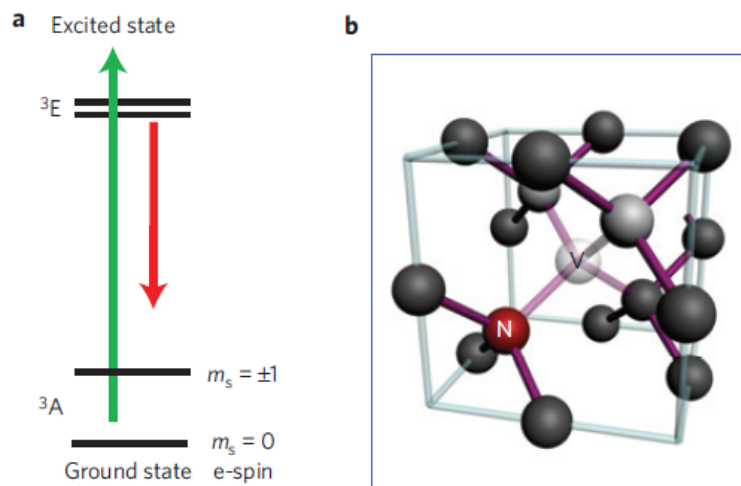


FIGURE 1.10 – (a) Structure et niveaux d'énergies d'un centre NV dans le diamant. (b) Structure cristalline d'un centre NV. D'après la référence [55].

L'excitation de ce centre par un laser ayant une longueur d'onde dans le vert (généralement entre 488 et 575 nm) va induire une émission dans le rouge avec un rendement proche de 1 et une photoémission très stable [56]. Ces centres NV sont naturellement présents dans les NDs HPHT. Il est possible d'augmenter leur nombre en irradiant les NDs avec des faisceaux d'ions He^+ (typiquement 40 keV) ou d'électrons de haute énergie (13.9 MV) qui vont permettre de créer des lacunes. Des traitements thermiques des NDs irradiés vont ensuite permettre la migration des lacunes à proximité des atomes d'azote [57, 58].

Pourquoi développer des applications thérapeutiques avec les nanodiamants ?

Les NDs fluorescents ainsi synthétisés sont particulièrement efficaces pour être utilisés en tant que **traceurs biologiques** dans des cellules *in vitro* [58, 59, 60, 61]. Ce suivi a ainsi permis d'étudier les voies d'internalisation des NDs dans les cellules [62, 63]. Ces études ont notamment montré une très bonne internalisation des NDs par endocytose. Pourtant, pour applications *in vivo*, l'utilisation des centres NV est limitée à des tissus superficiels car les longueurs d'onde d'excitation et d'émission se situent dans la gamme du visible où l'absorption par les tissus est importante (Figure 1.3). La luminescence dépend aussi fortement de la chimie de surface et peut disparaître dans le cas d'une surface hydrogénée par exemple [64]. De plus, même si des centres NV ont déjà été observés dans des NDs de détonation [65], leur luminescence est trop faible pour pouvoir faire de l'imagerie dans des cellules. Il faut pourtant mentionner que pour les NDs de détonation, la présence de **défauts structuraux de surface** peut induire des propriétés de luminescence qui ne sont pas associées aux centres NV mais qui permettent le suivi des NDs de détonation dans les cellules [66]. Le signal Raman du diamant (1332 cm^{-1}) peut aussi être utilisé pour suivre les NDs *in vitro* [59].

L'utilisation des centres NV dans les NDs n'est pas limitée aux applications d'imagerie et peut aussi permettre la **mesure de champs magnétiques** [67, 68] ou de champs électriques [69] à l'échelle nanométrique. Pour cela, ce sont les propriétés de spin des centres NV, sensibles au champ magnétique ambiant, qui sont mesurées optiquement. Le **couplage des propriétés optiques et magnétiques** de ces centres NV permet d'améliorer considérablement les propriétés d'imagerie des NDs [70], peut donner l'orientation des NDs ou permettre la mesure de champs magnétiques à l'intérieur même des cellules [71].

1.2.4 Biocompatibilité

Un autre avantage du matériau diamant est son **inertie chimique** qui lui assure une bonne biocompatibilité. En effet, la prolifération de cellules est favorisée sur des surfaces de diamant, ce qui en fait un support de choix comme interface cellulaire [72, 73, 74]. Cette biocompatibilité se retrouve au niveau des NDs et de nombreuses études ont montré que la toxicité de ces NDs est extrêmement faible, notamment *in vitro* [75, 59, 76]. A titre d'exemple, les résultats récents de Zhang *et al* comparant la cytotoxicité des NDs aux nanotubes de carbone (CNTs) et aux oxydes de graphène (GOs), qui sont deux autres nanomatériaux carbonés très étudiés pour applications biomédicales, sont présentés sur la figure 1.11 [76]. La viabilité cellulaire et la génération de radicaux libres oxygénés (ROS) ont été comparées.

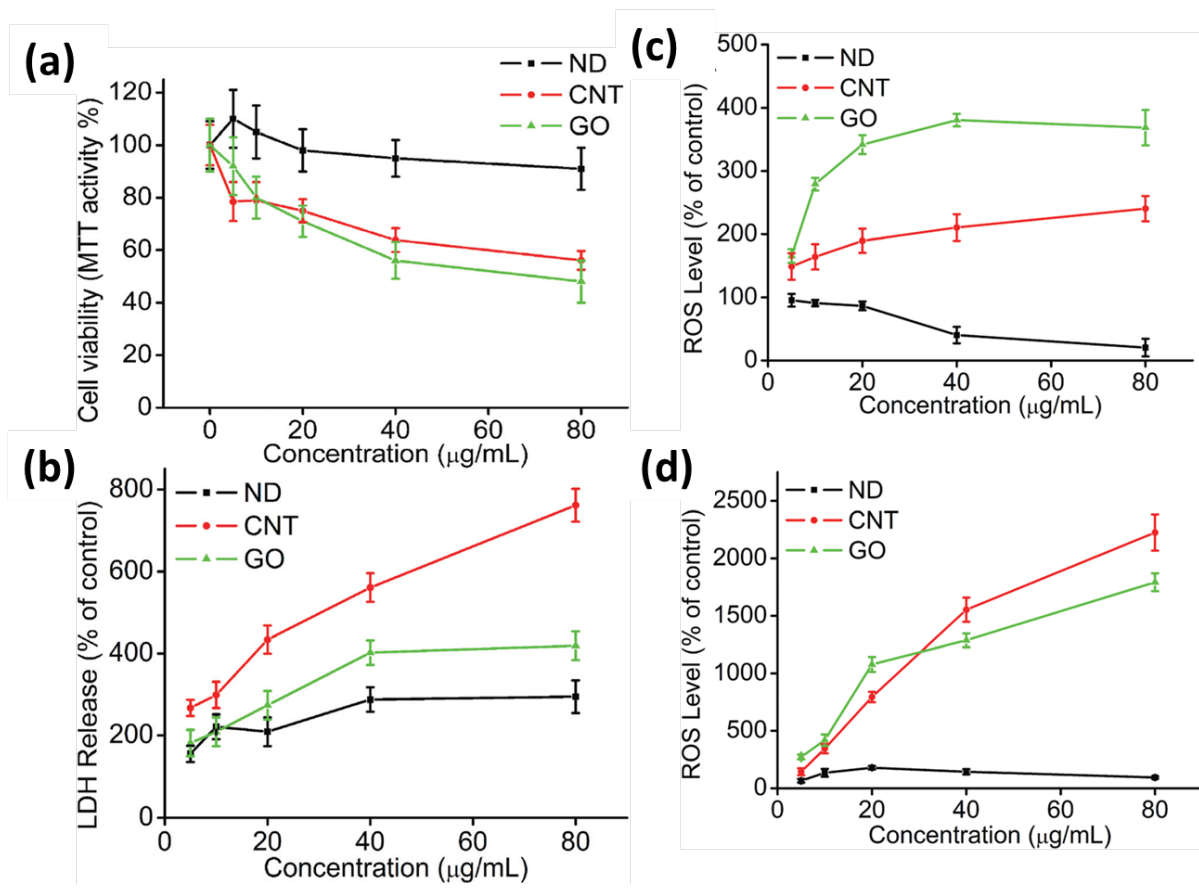


FIGURE 1.11 – Comparaison de la cytotoxicité de nanodiamants (ND), nanotubes de carbone (CNT) et oxyde de graphène (GO). (a) Viabilité cellulaire étudiée par test MTT. (b) Relargage de LDH après exposition aux nanomatériaux. (c)-(d) Génération de radicaux libres oxygénés (ROS) après 3h (c) et 24h (d) d'incubation de cellules HeLa avec les nanomatériaux. D'après Zhang et al [76].

Au niveau de la viabilité cellulaire, caractérisée par un test MTT (bromure de 3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-2, 5-diphényltétrazolium), on n'observe aucune toxicité des NDs jusqu'à une concentration de 80 µg/ml alors que les autres nanomatériaux induisent une toxicité significative dès 20 µg/ml (Figure 1.11 (a)). Au niveau du relargage de LDH (lactate déhydrogénase), caractéristique des lésions des membranes cellulaires induites par les nanomatériaux, les NDs induisent beaucoup moins de dommages que les CNTs et les GOs (Figure 1.11 (b)). Cela peut être lié à la forme sphérique des NDs alors que les CNTs ont une forme d'aiguille par exemple.

Enfin, la génération de ROS, déterminée par l'hydrolyse de DCFH-DA (2,7-dichlorodihydrofluorescein diacétate) après incubation de cellules HeLa avec les nanomatériaux permet d'estimer le stress oxydant, qui est une cause classique de toxicité des nanomatériaux [77]. Les générations de ROS après 3h et 24h d'exposition aux nanomatériaux sont présen-

Pourquoi développer des applications thérapeutiques avec les nanodiamants ?

tées Figure 1.11 (c) et (d). De manière surprenante, on observe que la génération de ROS diminue avec les NDs alors qu'elle augmente significativement après exposition aux autres nanomatériaux. Ce point surprenant sera à mettre en regard des résultats présentés dans le chapitre 6. En parallèle de cette très faible toxicité, Zhang *et al* ont aussi montré que l'internalisation des NDs était 2 à 3 fois plus importante que les autres nanomatériaux carbonés ce qui rend les NDs particulièrement intéressants pour applications biomédicales comme expliqué plus en détail dans la partie 1.4.

D'autres résultats *in vivo* ont montré que **l'incorporation de NDs, même à forte dose (75 mg/kg), ne génère pas de cytotoxicité significative**, sur des vers [78], des embryons de poisson [79], des souris [80] et des rats [81]. Un certain nombre de ces études sont résumées dans la référence [82]. Des études portant sur plusieurs mois n'ont pas montré de toxicité plus marquée [81]. Il faut pourtant préciser qu'une légère toxicité a aussi été observée avec des NDs de détonation sur des globules rouges [83], des cellules souches embryonnaires [84] et des micro-organismes [66]. L'origine de la toxicité n'est pas connue, mais pourrait être liée à la taille, l'état d'agrégation ou la chimie de surface des NDs.

1.2.5 Propriétés colloïdales

Les NDs ont de très bonnes propriétés colloïdales, c'est-à-dire que préparés de manière adéquate, **ils peuvent être dispersés à des tailles nanométriques dans un solvant**, notamment dans l'eau, et que ces dispersions sont stables dans le temps. Des méthodes de broyage permettent de séparer les NDs dans les agglomérats [46]. Des étapes de sonification et de centrifugation conduisent à une réduction de la taille des agrégats présents dans l'eau jusqu'à obtenir des NDs individuels dispersés [85, 86]. Cette stabilité colloïdale est intéressante pour l'utilisation de NDs comme germes de diamant permettant la croissance CVD de films minces de diamant [87, 88]. Pour applications médicales, la taille des NDs en suspension peut être cruciale pour applications *in vivo* comme nous le verrons par la suite (voir 1.4). Cette stabilité colloïdale provient essentiellement de la présence de charges électrostatiques à la surface des NDs, qui induisent une répulsion électrostatique entre les différents NDs. Dans le cas de NPs dispersées dans un solvant, la grandeur pour caractériser ces charges est appelée potentiel Zeta (PZ) et sera définie dans la partie 2.3.3. **Le PZ dans l'eau des NDs peut être négatif [89, 90] ou positif [44, 48, 91, 86, 50]** suivant leur chimie de surface. En fonction de la provenance des NDs et de leurs traitements de surface, le PZ et la taille des agrégats peuvent varier fortement comme illustré sur la figure 1.12 [82]. Nous discuterons plus largement l'origine de ces charges de surface dans le chapitre 5.

Ces propriétés colloïdales distinguent les NDs des autres nanomatériaux carbonés, qui

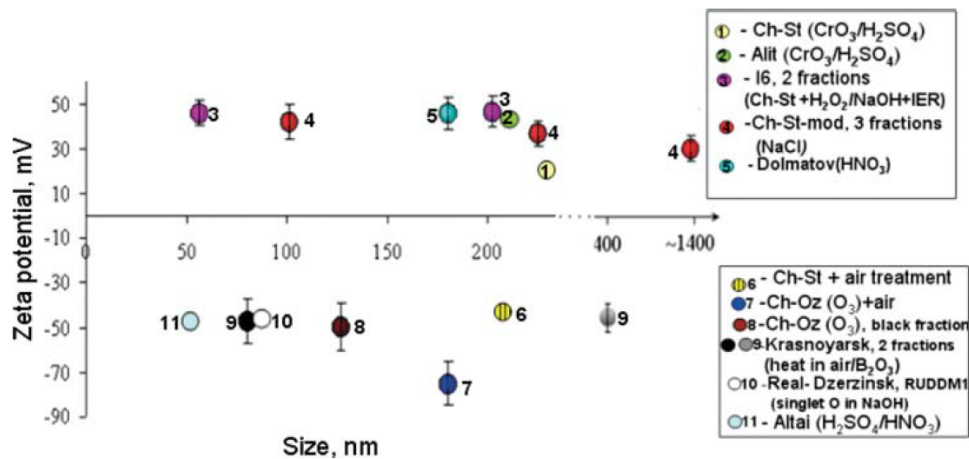


FIGURE 1.12 – Potentiel Zeta et taille moyenne des agrégats de nanodiamants après dispersion dans l'eau. D'après la référence [82].

sont naturellement hydrophobes et nécessitent des fonctionnalisations chimiques ou des traitements particuliers pour assurer la stabilisation colloïdale [92, 93, 94].

1.2.6 Propriétés électroniques et électrochimiques

Contrairement au diamant massif, les propriétés électroniques ou électrochimiques des NDs ont été très peu étudiées jusqu'à maintenant. Cela vient principalement du fait que le diamant est un matériau isolant lorsqu'il n'est pas dopé. Ainsi, sur le diamant massif, l'incorporation d'atomes de bore en substitution dans la matrice du diamant induit un dopage de type p conduisant à des propriétés semi-conductrices voire quasi-métalliques, pour des concentrations en bore supérieures à $5 \times 10^{20} / \text{cm}^3$, particulièrement intéressantes pour applications électroniques en haute puissance ou en électrochimie [95, 96]. Malheureusement, ce dopage, s'il est réalisable sur des NDs, n'est pas encore maîtrisé et les NDs sont donc principalement utilisés comme matériau intrinsèque [97]. D'autres voies existent pourtant pour rendre les NDs conducteurs. Ainsi, une graphitisation de surface, qui peut être induite par recuit à haute température, peut diminuer la résistivité de ces NDs [98]. Les NDs peuvent aussi être utilisés pour l'**émission électronique**. En effet, leur taille nanométrique et leurs propriétés de surface permettent d'obtenir des émissions plus importantes que les autres matériaux carbonés [99, 100].

Il faut par ailleurs mentionner quelques études relatant des propriétés n'étant encore que partiellement comprises sur les propriétés redox ou diélectriques des NDs. Ainsi Holt *et al* ont observé que des NDs de détonation pouvaient présenter des propriétés électrochimiques étant associées à l'oxydation ou la réduction de **couples redox** à leur surface [101, 102, 103, 104]. D'un autre côté, Batsanov *et al* ont récemment observé que les NDs

Pourquoi développer des applications thérapeutiques avec les nanodiamants ?

de détonation avaient une **permittivité diélectrique géante**, étant de $10^5 - 10^6$ à une fréquence de 10 kHz alors que la permittivité du diamant massif est de l'ordre de 5.7-5.8 [105]. Dans les deux cas, ces propriétés sont associées à des effets de surface, qui peuvent dominer par rapport aux propriétés du cœur pour les NDs de détonation.

1.2.7 Bilan

Les NDs ont donc des propriétés de cœur proches du diamant massif, ce qui permet d'extrapoler un certain nombre de ces propriétés exceptionnelles à l'échelle nanométrique. La bonne connaissance de ces propriétés à l'échelle macroscopique permet ainsi le développement de nouvelles applications pour les NDs, comme c'est le cas avec les propriétés optiques des centres NV pour le développement de la magnéto-métrie de spin ou les bio-traceurs. La chimie de surface joue généralement un rôle important sur ces propriétés, et a une place particulièrement importante pour les NDs à cause du rapport important surface/volume. Cela est particulièrement vrai pour les **NDs de détonation, ayant entre 15 et 20 % de leurs atomes situés en surface**. Ce sont ainsi ces NDs qui ont montré des propriétés électrochimiques ou de permittivité diélectrique particulièrement étonnantes. C'est pourquoi il est particulièrement important de bien comprendre et caractériser la chimie de surface des NDs, qui peut être très variée comme nous allons le voir maintenant.

1.3 Chimie de surface des nanodiamants

La chimie de surface des NDs est d'une grande diversité, ce qui peut être un avantage considérable par rapport à d'autres NPs inorganiques si elle est maîtrisée. Leur surface carbonée permet en effet de réaliser de nombreux greffages basés sur des méthodes classiques de la chimie du carbone, qui peuvent être très utiles pour fonctionnaliser les NDs pour des applications biomédicales. Cette chimie de surface peut aussi être utilisée pour contrôler certaines propriétés physiques des NDs comme il a été montré dans la partie précédente. Pourtant nous allons voir que la chimie initiale des NDs est très inhomogène. Il est donc nécessaire de développer des traitements dits d'homogénéisation de surface afin d'**augmenter l'efficacité et le rendement des greffages**, qui sont généralement spécifiques à certains groupes de surface, ou pour **mieux contrôler leurs propriétés physiques**. Nous verrons aussi que la formation de structures hybrides en ne modifiant que la surface des NDs permet d'apporter des propriétés supplémentaires aux NDs. Enfin, nous montrerons quelques exemples de fonctionnalisation sur les NDs ayant une chimie de surface contrôlée.

1.3.1 Chimie de surface initiale des nanodiamants

En fonction de l'origine des NDs et de leurs traitements de purification, la chimie de surface initiale varie fortement, notamment pour les NDs de détonation. Au niveau des NDs HPHT, cette chimie est un peu moins complexe puisque le diamant broyé contient beaucoup moins d'impuretés que les résidus de détonation.

Pour les NDs de détonation, nous avons expliqué précédemment qu'ils peuvent être enrobés d'une couche de carbone amorphe ou graphitique incrustée d'impuretés métalliques à l'issue de la synthèse (voir partie 1.2.1). La purification des NDs, basée généralement sur des bains d'acide nitrique et des traitements d'oxydation thermique sous pression, permet d'éliminer les phases carbone non-diamant [44]. A partir des nombreuses études russes effectuées dans les années 80-90, une structure des NDs en trois couches est généralement considérée après ces traitements de purification [44] :

- un **cœur diamant** d'environ 4-6 nm de diamètre contenant entre 70 et 90 % des atomes de carbone total des NDs,
- une **couche intermédiaire de carbone amorphe** d'une épaisseur entre 0.4 et 1.0 nm contenant entre 10 et 30 % des atomes de carbone,
- une **couche de surface contenant divers groupes fonctionnels**, essentiellement composés de carbone, d'oxygène, d'hydrogène et d'azote.

Il faut noter que les atomes d'oxygène et d'hydrogène sont principalement présents à la surface tandis que, les atomes d'azote, provenant des explosifs utilisés pour la synthèse par détonation, sont répartis de manière homogène dans ces trois couches.

Il est difficile d'être plus précis dans la description de la structure de ces NDs car il y a ensuite des variations qui dépendent des conditions expérimentales utilisées. En particulier, la couche amorphe intermédiaire est très inhomogène car elle résulte de la transformation incomplète des atomes de carbone en diamant pendant l'explosion. Dans cette couche, il peut aussi y avoir des structures graphitiques qui peuvent être des **reconstructions fulleréniques** si elles sont limitées à des fragments incurvés de mono-feuillets de graphite [106], ou bien des **couches graphitiques** continues [107, 108]. La couche de surface présente des groupes fonctionnels de nature très variée, dont les principaux sont présentés sur la figure 1.13.

Il s'agit essentiellement de groupements oxydés et hydrogénés de différentes natures, provenant de réactions avec l'eau qui est utilisée pour refroidir les NDs à la fin de la détonation et/ou des traitements acides de purification [109]. Des liaisons sp^2 ou des chaînes

Pourquoi développer des applications thérapeutiques avec les nanodiamants ?

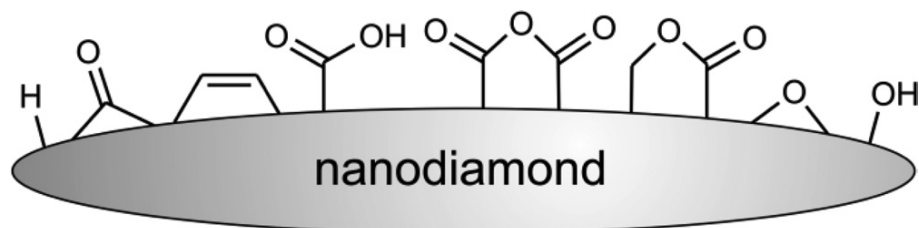


FIGURE 1.13 – Principaux groupes fonctionnels présents à la surface des NDs de détonation. D'après la référence [109].

hydrocarbonées insaturées, provenant de la sous-couche amorphe, peuvent aussi être observées à la surface.

Ce modèle de NDs en trois couches a aussi été validé par résonance magnétique nucléaire [110]. Une des problématiques importantes des NDs aujourd'hui est donc d'homogénéiser efficacement cette chimie de surface complexe et peu reproductible afin de pouvoir contrôler les propriétés de surface des NDs. Pour cela, de nombreux traitements de surface ont été développés et vont maintenant être présentés.

1.3.2 Modification de surface des nanodiamants

Les traitements de surface des NDs ont pour but de saturer la surface de manière homogène avec un type de groupe fonctionnel particulier. Il sera ainsi possible d'obtenir de façon reproductible la réactivité de surface correspondant à certains types de groupements fonctionnels, ce qui est notamment utile pour la fonctionnalisation des NDs comme nous le verrons dans la partie 1.3.4. On peut résumer ces traitements à deux grandes familles, les **traitements chimiques** et les **traitements physico-chimiques**.

Pour les traitements chimiques, les NDs sont exposés à des réactifs en solution qui vont modifier leur chimie de surface par des processus purement chimiques. C'est notamment le cas des **traitements acides** permettant de saturer la surface avec principalement des fonctions carboxyliques, après des bains d'acide nitrique (HNO_3), sulfurique (H_2SO_4) ou chlorhydrique (HCl), ou de mélange de ces acides [44]. Des traitements à partir de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) comme le mélange "piranha" (peroxyde d'hydrogène et acide sulfurique) ou "Fenton" (peroxyde d'hydrogène et sulfate de fer) [111, 112] sont des méthodes alternatives pour créer des groupements carboxyliques. Il est aussi possible d'effectuer des **réductions chimiques** après carboxylation en utilisant des agents réducteurs comme le borane (BH_3) ou les hydrures (LiAlH_4) [113, 114, 115] pour obtenir une surface majoritairement hydroxylée.

Les traitements physico-chimiques peuvent être utilisés sur des NDs sous forme pulvérulentes et sont généralement liés à des **traitements thermiques** ou des **plasmas**. Un des grands avantages de ces traitements est de ne pas avoir besoin d'effectuer de nombreux rinçages après traitement, comme c'est le cas avec les traitements purement chimiques, et qu'il y a moins de risques de contamination par réactifs chimiques ou sous-produits de réaction. Le traitement le plus couramment utilisé est le recuit sous air à des températures entre 400-450 °C qui permet de créer des fonctions acides, principalement carboxyliques, et de purifier la surface en gravant sélectivement le carbone non-diamant [116, 117, 118]. Des recuits sous atmosphère d'hydrogène [86], de fluor [119], de chlore [120] ou d'ammoniac [50] permettent de créer des groupements hydrogénés, fluorés, chlorés ou aminés, respectivement, à la surface des NDs. Pourtant, pour ces recuits il n'est pas possible de monter à haute température (typiquement supérieure à 500 °C), au risque de graphitiser la surface des NDs comme nous le verrons dans la partie suivante, ce qui implique que certains groupes oxydés et les structures amorphes sont généralement toujours présents à la fin du traitement. L'utilisation de plasmas de fluor [121] ou d'hydrogène [122, 123] permet d'activer les molécules de gaz pour les rendre plus réactives avec la surface et augmenter l'efficacité de l'homogénéisation de la surface.

1.3.3 Structures hybrides à base de nanodiamants

Outre la saturation des terminaisons des NDs par des groupements chimiques, il est aussi possible de transformer la surface des NDs ou d'y déposer des matériaux non-diamant. La surface des NDs peut par exemple être transformée en carbone graphitique par recuit à haute température sous vide [107] ou sous atmosphère inerte [124]. Si les recuits sous vide à des températures supérieures à 1400 °C conduisent à la formation d'origans graphitiques, qui peuvent être utilisés pour développer des supercondensateurs par exemple [125, 126], des **nanomatériaux carbonés hybrides** sp^3/sp^2 peuvent être formés à plus basse température [127]. Récemment, quelques études ont montré que des NDs recuits sous vide à des températures inférieures à 700°C, théoriquement insuffisantes pour induire la transformation du diamant en carbone graphitique, présentaient des propriétés de surface propres au carbone sp^2 . Ces NDs hybrides ont ainsi une réactivité chimique similaire aux fullerènes [128, 129, 130] et présentent une activité catalytique exceptionnelle [131]. La combinaison des propriétés de cœur du diamant avec les propriétés de surface des carbones graphitiques permet donc de créer de nouveaux matériaux aux propriétés inédites.

Le dépôt de métaux sur les NDs est aussi couramment utilisé, notamment pour des applications en catalyse où les NDs constituent un support ayant une grande stabilité [132, 133, 134, 135]. Les propriétés catalytiques de ces **nanomatériaux hybrides dia-**

Pourquoi développer des applications thérapeutiques avec les nanodiamants ?

mant/métaux peuvent d'ailleurs être utilisées pour d'autres applications. Martin *et al* ont ainsi montré que des NDs recouverts d'or ou de platine pouvaient avoir des propriétés antioxydantes intéressantes [136]. Les structures hybrides diamant/métaux permettent aussi d'apporter des propriétés magnétiques aux NDs. Des couplages avec du fer [137] ou du gadolinium [138] ont déjà été explorés dans cette optique. Des couplages avec du cuivre ont aussi été proposés pour pouvoir étudier les défauts paramagnétiques des NDs par résonance magnétique nucléaire [139]. Ces hybrides sont particulièrement intéressants pour des applications biomédicales pour de la délivrance ciblée [137, 140] ou pour être utilisés comme agents de contraste pour l'imagerie à résonance magnétique [138].

1.3.4 Fonctionnalisation des nanodiamants

Après l'homogénéisation de la surface des NDs, le greffage, **covalent ou non-covalent**, de molécules permet de donner de nouvelles propriétés aux NDs. En fonction de la terminaison de surface des NDs, différentes voies de greffage peuvent être envisagées. Ces voies de greffage sur les NDs modifiés ont été récemment synthétisées par Krueger *et al* [109]. La méthode la plus courante est le **greffage par amidation**, ou couplage peptidique, sur les acides carboxyliques présents à la surface de NDs oxydés, *via* l'utilisation d'un agent de couplage standard type EDC/NHS [141, 138, 142, 143]. Mais de nombreuses autres voies de greffages ont un fort potentiel, notamment sur les **surfaces de NDs hydrogénés ou graphitisés**. Au niveau du diamant hydrogéné, une réactivité particulière permet l'utilisation de greffages photochimiques [144] ou spontanés [145] qui lui sont spécifiques. La réactivité de ces surfaces a été résumée par Zhong et Loh [146]. Ces propriétés ont pour le moment été validées principalement sur diamant massif mais les NDs-HPHT hydrogénés semblent avoir une réactivité similaire [147]. Pour les NDs graphitisés, Krueger et son équipe ont montré que la plupart des voies de greffages développées sur des nanomatériaux graphitiques peuvent être transposées sur les NDs [128, 129, 130].

1.3.5 Bilan

En plus des propriétés associées à la matrice diamant du cœur des NDs, la grande versatilité de leur surface est un atout fort. Bien que celle-ci soit très inhomogène après synthèse, en particulier pour les NDs de détonation, des traitements de surface permettent de rationaliser efficacement cette surface pour mieux contrôler ses propriétés. Nous avons vu dans la partie 1.2 que des propriétés *a priori* associées au cœur des NDs, telles que la luminescence ou la biocompatibilité, pouvait dépendre fortement de la chimie de surface. Cependant, le rôle que joue cette chimie de surface n'est pas toujours très clair. Pour les applications biomédicales, la chimie de surface est finalement assez peu prise en compte jusqu'à maintenant comme nous allons le voir dans la partie 1.4. Pourtant, nous verrons

dans le cadre de cette thèse que le contrôle de cette chimie de surface des NDs permet de mieux profiter de certaines propriétés du cœur diamant, qui pourraient être exploitées à des fins thérapeutiques.

1.4 Applications des nanodiamants en médecine

Comme nous venons de le voir, les NDs ont un certain nombre de propriétés de cœur ou de surface qui pourraient être particulièrement intéressantes pour le développement de nouvelles applications biomédicales. En particulier, nous avons vu que les NDs ont une bonne biocompatibilité et que leurs propriétés de luminescence favorisent leur utilisation en tant que biotraceur *in vitro* et *in vivo* (voir partie 1.2). Ces propriétés ont déjà donné lieu à de nombreuses applications en biologie et biotechnologie qui ont été résumées par Schrand *et al* [82]. Nous allons maintenant décrire plus particulièrement les applications en nanomédecine, notamment la délivrance de médicaments en combinant les différentes propriétés de cœur et de surface des NDs.

Le chargement et le relargage des **molécules actives** se fait principalement par modulation des **interactions électrostatiques** entre les NDs et les molécules. Les NDs utilisés pour ces applications sont généralement carboxylés (de charge négative pour les pH biologiques) et peuvent se complexer avec des molécules ayant une charge opposée et nécessitant une vectorisation parce qu'elles sont insolubles dans l'eau ou toxiques. Ho et son équipe ont ainsi montré que les NDs pouvaient se complexer avec des molécules telles que la doxorubicine [148, 149], le purvalanol A, le 4-hydrotamoxifen et le dexaméthasone [150], des protéines telles que l'insuline [151] ou bien des anticorps [152]. Ces molécules peuvent être relarguées par modulation de la force ionique [148] ou du pH [151, 152], qui varient après internalisation dans les cellules tumorales. Un des intérêts du couplage avec les NDs qui a été montré *in vivo* sur des souris par Chow *et al* est **l'inactivation de l'activité de la molécule tant qu'elle est adsorbée sur les NDs** et son **relargage progressif une fois les NDs internalisés dans les cellules** [149], qui permet d'éviter les problèmes de multi-résistance aux drogues, discutés dans la partie 1.1.2.

L'adsorption électrostatique d'**acides nucléiques** à la surface des NDs est aussi possible, pourtant leur charge étant négative, il est nécessaire de modifier la charge de surface des NDs pour qu'elle devienne positive et qu'il y ait bien attraction électrostatique. L'adsorption et la délivrance d'ARN interférant (siRNA) ont ainsi été démontrées sur des NDs sur lesquels une couche de polymère chargé positivement a été préalablement déposée (Figure 1.14 (b)) [153, 154, 155].

Un couplage entre les NDs et les médicaments est aussi possible par **greffage co-**

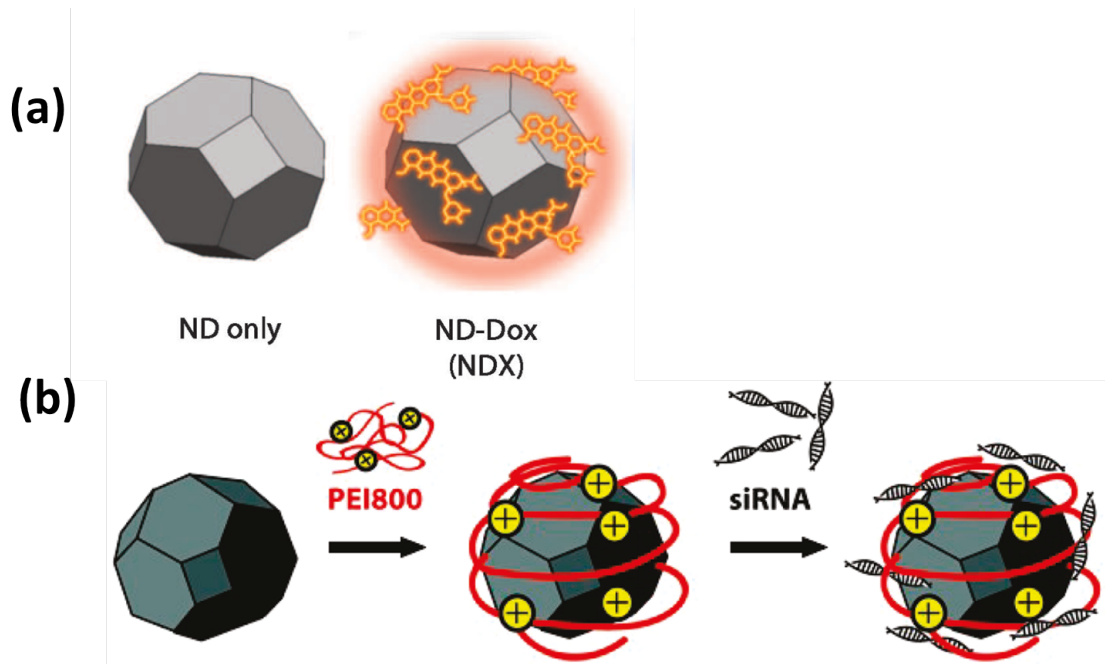


FIGURE 1.14 – Adsorption électrostatique de médicaments sur les NDs. (a) Adsorption directe de doxorubicine chargée positivement. D’après la référence [149]. (b) Adsorption de siRNAs, chargés négativement, après dépôt d’une couche de polymère. D’après la référence [153].

valent, s’il n’empêche pas l’activité du médicament ou bien si la liaison peut se cliver une fois dans les cellules. Des exemples ont déjà été montrés avec le paclitaxel [156], le cisplatine [157] ou la doxorubicine [143]. Plusieurs études ont aussi rapporté le **greffage covalent d’agents de ciblage**, tel que des anticorps [158], des protéines [159], ou des peptides [143], permettant de cibler plus efficacement certains types de cellules. Les NDs permettent ainsi de combiner les propriétés de délivrance de médicaments, d’imagerie et de ciblage et constituent donc une plateforme multimodale prometteuse pour les applications en nanomédecine [160].

Au niveau des applications thérapeutiques, en revanche, les propriétés "intrinsèques" des NDs ne sont pas encore exploitées. Les NDs sont généralement considérés comme des NPs inertes sur lesquelles il est possible de greffer ou d’adsorber des molécules actives grâce à une surface réactive. Il faut néanmoins mentionner quelques études ayant étudié la phototoxicité des NDs après exposition à un laser UV [161, 162]. Dans ces études, l’exposition à un laser induit la mort des cellules ayant internalisé des NDs, mais pas des cellules témoins. Cette phototoxicité est bien moins importante que celle observée sur les nanofeuillets d’oxyde de graphène excités dans le proche infrarouge comme détaillé précédemment [23, 24]. L’utilisation de la permittivité géante des NDs de détonation ayant des groupements hydrogénés pour des applications d’hyperthermie a aussi été récemment proposée mais n’a pas encore été validée expérimentalement [105].

1.5 Présentation de la thèse

1.5.1 Motivation

Les NDs ont des propriétés exceptionnelles et diverses, ils sont peu coûteux et particulièrement adaptés aux applications biomédicales grâce à leur bonne biocompatibilité et la versatilité de leur surface carbonée. Pourtant, pour les applications biomédicales, notamment en cancérologie, les NDs pâtitent d'une compétition difficile avec des NPs étant à un stade de développement plus avancé et ayant déjà prouvé une efficacité clinique dans certains cas [4]. De plus, les applications envisagées des NDs sont essentiellement focalisées sur les applications de diagnostic et de délivrance de médicaments pour le moment. Au niveau du diagnostic, l'utilisation des NDs est très intéressante pour des activités de recherche grâce à la photostabilité des centres NV mais pourra difficilement être développée en clinique car l'excitation dans le visible n'est pas applicable aux tissus profonds, où l'intensité de la luminescence est trop faible pour pouvoir concurrencer les boîtes quantiques en particulier [13]. Les applications à d'autres types d'imagerie comme l'imagerie magnétique sont prometteuses mais n'en sont encore qu'aux premiers développements [138]. D'un autre côté, la délivrance de médicament est actuellement principalement assurée par des NPs polymériques ou lipidiques biodégradables (voir partie 1.1.2).

Malgré leur très bonne biocompatibilité, les NDs ne sont quant à eux pas biodégradables et leur évacuation par des voies naturelles est encore incertaine. On considère généralement que **les NPs doivent avoir un diamètre hydrodynamique inférieur à 6 nm pour pouvoir franchir la barrière rénale** [163]. Si cette taille est envisageable avec des NDs de détonation, cela n'est pas le cas pour les NDs-HPHT. Malgré la grande efficacité pour la délivrance démontrée par les premières études, il risque d'être difficile de convaincre des cliniciens d'utiliser les NDs plutôt que des NPs biodégradables s'ils ont des propriétés équivalentes.

En revanche, s'il était possible de développer des **propriétés thérapeutiques pour les NDs**, i.e. permettant d'induire une toxicité de façon contrôlée uniquement dans les cellules cibles, alors ils pourraient se distinguer des autres types de NPs. En couplant des propriétés thérapeutiques aux propriétés de délivrance de médicaments, tout en gardant une très faible toxicité sans stimulation, les NDs apporteraient une réelle valeur ajoutée comparés aux NPs organiques et inorganiques. En effet, les NPs ayant des propriétés thérapeutiques activables par des champs extérieurs sont généralement des NPs inorganiques magnétiques ou à base de métaux lourds, qui sont peu stables dans l'eau, potentiellement toxiques et ne permettent pas de délivrer des médicaments, contrairement aux NDs. Les NPs organiques, de leur côté, sont très efficaces pour la délivrance de médicaments mais

n'ont généralement pas de propriétés thérapeutiques intrinsèques activables par un champ extérieur. **Des NDs rassemblant ces deux approches de la nanomédecine, la thérapie et la délivrance de médicament, devraient donc pouvoir rencontrer un franc succès.**

1.5.2 Objectifs

Le but de cette thèse va donc être de rendre les NDs "activables", afin d'induire une toxicité lorsqu'ils sont exposés à un champ extérieur. Pour cela, nous pouvons nous inspirer de propriétés déjà connues sur le diamant massif ou sur d'autres matériaux carbonés. En particulier, certaines propriétés du **diamant hydrogéné** ou des nanomatériaux à base de **graphène** pourraient aussi se révéler intéressantes :

- Le **diamant hydrogéné** a des propriétés d'émission d'électrons et d'échanges électroniques avec son environnement qui pourraient être particulièrement avantageuses pour rendre les NDs activables. En effet, les surfaces de diamant hydrogéné ont une **affinité électronique négative** [164, 165], facilitant la libération d'électrons venant du diamant vers l'extérieur, notamment après irradiation avec des photons [166, 167]. L'idée serait de coupler cette propriété à des traitements de radiothérapie classique pour augmenter la toxicité des radiations. Associée avec la forte densité des atomes de carbone dans le cœur diamant qui permet d'absorber plus de photons que les tissus biologiques, l'émission d'électrons pourrait permettre de générer des radicaux libres en quantité importante, induisant une toxicité par stress oxydatif, à proximité des NDs.
- Le **graphène** a aussi des propriétés d'échanges électroniques particulièrement intéressantes. Le développement de films hybrides diamant/graphène a d'ailleurs montré des propriétés électroniques originales [168, 169, 170, 97]. Le couplage diamant/graphène donne par exemple des propriétés d'émission d'électrons exceptionnelles à ces matériaux hybrides [170]. Des NDs n'ayant qu'une fine couche graphitique en surface pourraient avoir des propriétés similaires s'avérant intéressantes pour un éventuel couplage avec des traitements de radiothérapie. De plus, les propriétés propres aux nanomatériaux à base de graphène pourraient être transférées sur les NDs. Les fullerènes ont ainsi déjà montré des propriétés radiosensibilisantes [171]. Le graphène a aussi la capacité de générer de la chaleur après absorption de photons dans le proche infrarouge ce qui a déjà été utilisé pour des applications en hyperthermie (voir 1.1.2.3). Ces propriétés dépendent fortement de la chimie de surface des nanofeuillets de graphène [24].

Dans cette thèse, nous allons nous concentrer sur les moyens de transférer ces propriétés de surface aux NDs. Nous caractériserons ensuite les interactions spécifiques entre ces NDs modifiés et leur environnement. Dans un premier temps, le développement de traitements d'**hydrogénation** des NDs va être effectué, pour étudier s'il est possible d'obtenir des propriétés électroniques similaires à celles du diamant massif hydrogéné sur des NDs. Pour le graphène, la synthèse de nanoparticules hybrides, constituées d'un cœur diamant et d'une surface graphitisée, constituée dans le meilleur des cas par une seule couche graphitique, va être mise au point. Pour cela, le contrôle de la **graphitisation de surface** de NDs va être étudié. Ces études seront focalisées sur des NDs de détonation, qui ont un diamètre de 5 nm et sont donc plus susceptibles d'être évacués par le corps tout en étant certainement plus sensibles à ces effets de surface à cause de leur fort rapport surface/volume. Par la suite, les propriétés d'**interactions électroniques** des NDs hydrogénés (NDs-H) ou graphitisés (NDs- sp^2) avec leur environnement seront étudiées, après exposition à l'air et en suspension dans l'eau. Notamment, il sera essentiel de vérifier s'il est possible de préparer des dispersions stables de ces NDs modifiés dans l'eau et dans des milieux biologiques. Cela va permettre d'étudier l'effet de la chimie de surface sur la toxicité des NDs sur différentes lignées cellulaires. Ces propriétés seront comparées à celles de NDs oxydés, qui sont généralement utilisés pour les applications biomédicales. Enfin, nous verrons une première preuve de principe sur la possibilité d'activer ces NDs pour induire une toxicité dans des cellules tumorales et ainsi conférer aux NDs un potentiel thérapeutique.

1.5.3 Démarche utilisée

1.5.3.1 Mise au point des traitements de surface des nanodiamants

Dans un premier temps, il s'agit de maîtriser les traitements de surface permettant d'hydrogéner ou de graphitiser la surface des NDs. Le traitement d'hydrogénation développé est basé sur l'utilisation d'un **plasma d'hydrogène généré par micro-ondes**. Nous verrons que l'utilisation d'un plasma permet de créer efficacement des liaisons C-H à la surface des NDs tout en éliminant le carbone amorphe et l'oxygène initialement présents à la surface. Pour la graphitisation de surface, des **recuits sous vide à haute température** seront utilisés. Ces traitements sont déjà bien connus pour graphitiser les NDs, en revanche la formation d'une couche mince graphitique à la surface en évitant de transformer le cœur diamant est plus délicate. Ces traitements physico-chimiques ont l'avantage de pouvoir être appliqués à de grandes quantités de NDs sous forme pulvérulente, sans étape ultérieure de nettoyage nécessaire. Notre stratégie est basée sur une étude en deux temps :

- Une première étude basée sur des traitements et des caractérisations sous ultravide

Pourquoi développer des applications thérapeutiques avec les nanodiamants ?

(UHV) de **NDs déposés sur un substrat** sera effectuée. Elle aura pour but de déterminer les conditions expérimentales optimales pour préparer les NDs-H et les NDs- sp^2 en effectuant des traitements de surface suivis de caractérisations de surface de manière séquentielle *in situ*, c'est-à-dire sans exposition à l'air dans notre cas. L'évolution de la chimie de surface sera étudiée par des méthodes de spectroscopie électronique.

- Une fois que ces conditions auront été déterminées, il sera possible de les reporter sur des montages dédiés à la préparation de plus grandes quantités de ces **NDs sous forme pulvérulente**, pouvant ensuite être dispersés dans l'eau et être exposés à des cellules. Pour cela, deux dispositifs expérimentaux ont été mis au point pour l'hydrogénation et la graphitisation. Les NDs préparés sur ces dispositifs seront caractérisés *ex situ* par microscopie électronique ainsi que par spectroscopie infrarouge en plus des méthodes de spectroscopie électronique.

Pour permettre une comparaison avec les NDs oxydés utilisés dans la littérature, des traitements de recuit sous air seront effectués [116, 117, 118, 172]. Ces traitements permettent de graver le carbone non-diamant, et de saturer la surface avec des fonctions acides, principalement des **acides carboxyliques** [116]. Dans le chapitre 2, les dispositifs expérimentaux utilisés tout au long de cette thèse ainsi que les méthodes de caractérisation utilisées seront présentés. Nous verrons ensuite dans le chapitre 3 les caractérisations des NDs modifiés par ces traitements.

1.5.3.2 Étude des interactions entre les nanodiamants et leur environnement

Nous verrons que les NDs-H et les NDs- sp^2 préparés par ces traitements physico-chimiques interagissent fortement avec les molécules ambiantes après **exposition à l'air**. Ces interactions induisent des modifications de leur chimie de surface et influent sur leurs propriétés électroniques. Tout d'abord, les modifications de surface induites par ces expositions vont être caractérisées. Nous étudierons ensuite les **capacités d'adsorption** des NDs modifiés en exposant les NDs à différentes molécules sondes. Les **interactions électrostatiques** entre les NDs et le substrat sur lequel ils auront été déposés fourniront aussi des informations sur les capacités **d'échanges électroniques** de ces NDs modifiés. Dans cette étude, le rôle de la chimie de surface des NDs sur leurs propriétés sera particulièrement détaillé. Ces résultats feront l'objet du chapitre 4.

Les propriétés d'interactions des NDs avec l'eau, qui vont jouer un rôle primordial sur les propriétés colloïdales des NDs, vont ensuite être étudiées. La stabilisation des NDs modifiés dans l'eau sera expliquée en caractérisant leur chimie de surface après dispersion.

Nous étudierons plus particulièrement les phénomènes de **stabilisation électrostatique et de transfert de charge dans l'eau**, qui peuvent être particulièrement intéressants pour applications en nanomédecine. Ces résultats seront présentés dans le chapitre 5.

1.5.3.3 Étude des interactions entre les nanodiamants et les cellules

Une fois que la chimie de surface des NDs sera bien contrôlée et que les interactions avec l'eau seront mieux comprises, il sera possible d'étudier les **interactions avec des cellules humaines *in vitro***. Pour commencer, la **toxicité** des NDs en fonction de la chimie de surface sera étudiée sur des cellules tumorales humaines venant de différents organes de rétention. Dans un second temps, nous montrerons que les NDs modifiés peuvent induire une toxicité quand ils sont excités par un stimulus extérieur. Une preuve de concept, effectuée avec des NDs-H en combinaison avec une irradiation gamma à des doses similaires à celles utilisées en radiothérapie va être présentée. Cette preuve de concept a pour but de montrer que les NDs peuvent avoir une **action thérapeutique** en modifiant leurs propriétés de surface, et permettent la **radiosensibilisation de cellules tumorales**. Ces résultats préliminaires, ayant fait l'objet d'un dépôt de brevet, seront développés dans le chapitre 6.

Chapitre 2

Techniques de modification et caractérisation de la chimie et des propriétés de surface des nanodiamants

Sommaire

2.1 Modifications de surface des nanodiamants : Dispositifs expérimentaux	39
2.1.1 Four de recuit sous air	39
2.1.2 Ensemble de préparation et d'analyse <i>in situ</i> sous ultravide	40
2.1.3 Montage d'hydrogénation par plasma micro-ondes	42
2.1.4 Four pour les recuits sous vide à haute température	43
2.2 Méthodes d'analyse de surface et de la structure cristalline des nanodiamants	45
2.2.1 Microscopie électronique en transmission haute résolution	45
2.2.1.1 Caractérisation des nanodiamants	45
2.2.1.2 Dispositif expérimental	46
2.2.2 Spectroscopie de photoélectrons X	46
2.2.2.1 Caractérisation des nanodiamants	46
2.2.2.2 Dispositif expérimental	48
2.2.3 Spectroscopie d'électrons Auger	49
2.2.3.1 Caractérisation des nanodiamants	49
2.2.3.2 Dispositif expérimental	50
2.2.4 Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier	50
2.2.4.1 Caractérisation des nanodiamants	50
2.2.4.2 Dispositif expérimental	51
2.2.5 Bilan	51

2.3	Méthodes d'analyse des interactions entre les nanodiamants et leur environnement	53
2.3.1	Technique d'adsorption de molécules sondes	53
2.3.2	Microscopie à sonde de Kelvin	54
2.3.3	Diffusion dynamique de la lumière	56
2.3.3.1	Mesure de taille	56
2.3.3.2	Caractérisation des nanodiamants	57
2.3.3.3	Définition et mesure du potentiel zêta	58
2.3.4	Bilan	59
2.4	Conclusion	60

Introduction

L'analyse des propriétés physico-chimiques des nanodiamants (NDs) après des traitements de surface est complexe car elle nécessite l'utilisation de méthodes de caractérisations complémentaires. Ainsi les méthodes permettant d'imager la structure cristalline du cœur des NDs seront différentes de celles capables de sonder la chimie de surface des NDs. Lorsque l'on s'intéresse aux modifications induites par des traitements de surface, il est important de pouvoir décorréler les modifications induites par les traitements de celles induites par l'interaction avec des molécules ambiantes par exemple. Cela nécessite de pouvoir caractériser la surface des NDs de manière *in situ*, sans exposition à l'air, et *ex situ*. La caractérisation des interactions avec l'environnement des NDs est un autre point crucial qui nécessite l'utilisation de méthodes encore différentes, dédiées à chaque type d'interaction.

Dans ce chapitre, les dispositifs et les méthodes utilisés pour préparer ou caractériser les NDs durant cette thèse vont être présentés. Dans un premier temps, les dispositifs expérimentaux utilisés pour modifier la surface des NDs (oxydation, hydrogénation et graphitisation) sont présentés. Ensuite, nous détaillerons les méthodes de caractérisation utilisées en insistant sur leur complémentarité et sur les particularités associées à la caractérisation des NDs. Enfin, nous détaillerons les méthodes permettant d'étudier les interactions, principalement électrostatiques ou électroniques, entre les NDs et leur environnement, que ce soit des molécules de gaz, des substrats ou bien un solvant.

2.1 Modifications de surface des nanodiamants : Dispositifs expérimentaux

Comme expliqué dans la partie 1.5, la première partie du travail de cette thèse consiste à étudier les modifications de surface des NDs *in situ*, ce qui permet d'éviter les interactions avec les molécules d'air qui peuvent influencer les propriétés de surface. L'ensemble permettant d'effectuer les traitements de surface sur les NDs et de les caractériser sans exposition à l'air va maintenant être présenté. Nous verrons ensuite les montages expérimentaux permettant de traiter de grandes quantités de NDs sous forme pulvérulente. Auparavant, le four permettant d'oxyder les NDs par recuit sous air va être brièvement présenté.

2.1.1 Four de recuit sous air

L'oxydation de surface des NDs est souvent utilisée pour les applications biologiques car elle permet d'assurer une bonne stabilité colloïdale des NDs en leur donnant une charge

2.1 Modifications de surface des nanodiamants : Dispositifs expérimentaux

négative via l'introduction d'acides carboxyliques sur leur surface. Pour cela, l'utilisation de recuit sous air est particulièrement efficace (voir 1.5). Pour cela, un four tubulaire a été utilisé, doté d'un thermostat permettant de contrôler la température à l'intérieur d'un tube en quartz. Un creuset en alumine contenant entre 50 et 100 mg de NDs est inséré dans ce tube une fois que la température de consigne est atteinte. A la fin du recuit, le creuset est sorti du four pour refroidir plus rapidement. Les caractérisations associées à ces NDs seront présentées ultérieurement (voir 3.2).

2.1.2 Ensemble de préparation et d'analyse *in situ* sous ultravide

Pour la préparation et la caractérisation *in situ* des NDs modifiés, un montage expérimental particulier associant un réacteur de dépôt chimique en phase vapeur assisté par micro-ondes (MPCVD) à un système sous ultravide (UHV) a été utilisé. Le réacteur permet d'exposer les NDs à des traitements de surface par plasma tandis que le système UHV est constitué d'une chambre de préparation et d'analyse AES et d'une chambre d'analyse XPS (Figure 2.1). Ce dispositif original permet ainsi d'effectuer des **études séquentielles *in situ***, dans lesquelles des échantillons peuvent être exposés à différents traitements de surface (plasma, recuits, ...) et caractérisés en évitant une exposition à l'air. Ce point est très important lors de la caractérisation de la surface des NDs, puisque nous allons voir dans les chapitres 4 et 5 que leur surface est très réactive et que leurs propriétés physico-chimiques de surface peuvent varier significativement même après un temps d'exposition à l'air très court. La caractérisation de la surface en utilisant des méthodes de spectroscopie d'électrons (XPS, AES) permet d'obtenir de nombreuses informations sur les modifications de surfaces induites par les traitements étudiés. **Le but des études *in situ* est de déterminer les conditions expérimentales optimales permettant l'obtention d'une chimie de surface homogène des NDs tout en conservant la structure du cœur diamant.** La chambre d'analyse sera aussi utilisée pour caractériser les échantillons ayant suivi des traitements de surface *ex situ*.

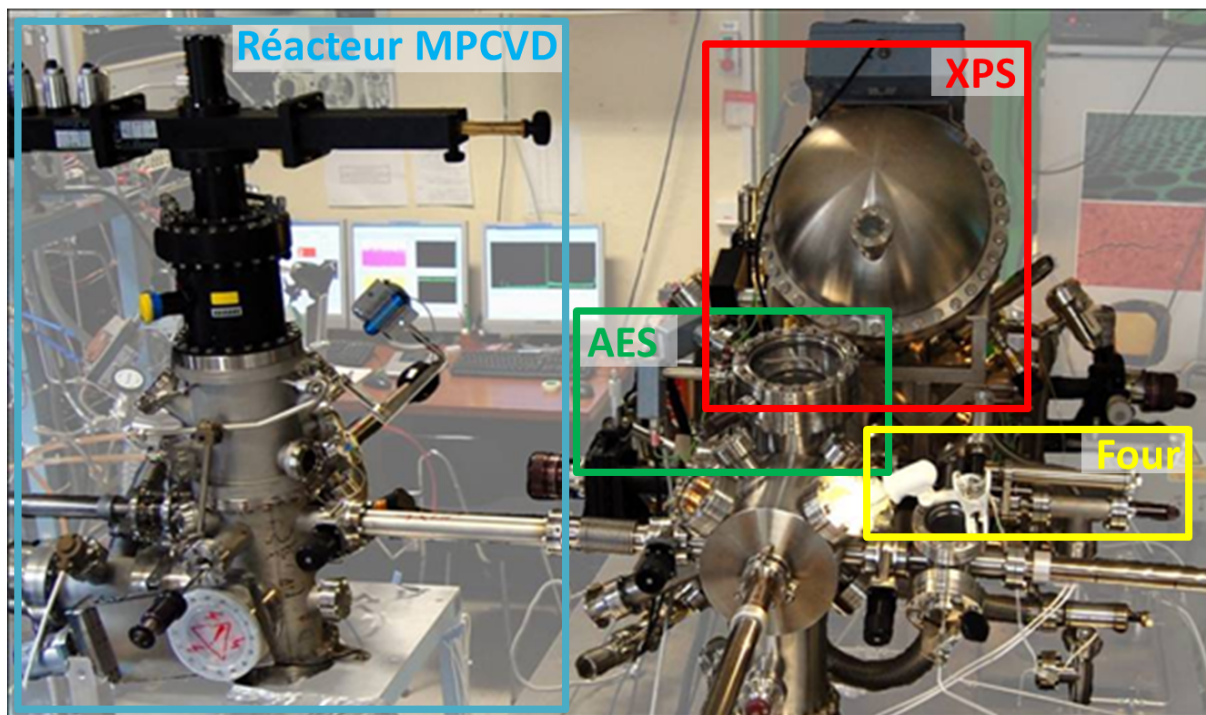


FIGURE 2.1 – Ensemble de préparation et d'analyse sous ultravide. Les différentes composantes utilisées dans le cadre de cette thèse sont encadrées en couleur.

Au cours des études *in situ*, les modifications de surface induites par des **plasmas d'hydrogène générés par micro-ondes** et par des **recuits sous ultra-vide à haute température (entre 700 et 1100°C)** ont été étudiées. Les traitements d'hydrogénation ont été effectués dans le réacteur MPCVD et les recuits sous vide dans la chambre de préparation. Celle-ci est équipée d'un four résistif et d'un four à bombardement électronique pour les plus hautes températures. La mesure de température a été faite à l'aide d'un pyromètre infrarouge ou par un thermocouple pour le four résistif.

Les échantillons pour ces études *in situ* ont été préparés en faisant sécher une goutte de NDs préalablement dispersés dans de l'eau ultrapure sur un substrat multicouche dont la surface est une fine couche (10 nm) de nitrure de silicium. Des études antérieures dans le laboratoire ont montré que ces substrats sont bien adaptés pour l'étude de traitements sur des NDs à haute température [173]. En effet, lorsque les NDs sont déposés sur un substrat de silicium, on observe la formation d'un carbure de silicium après un recuit à 900 °C sous UHV, ce qui indique de fortes interactions chimiques entre les NDs et le substrat [174]. Au contraire, le nitrure de silicium reste inerte et n'influence pas la chimie de surface des NDs.

2.1.3 Montage d'hydrogénation par plasma micro-ondes

Les conditions de traitements optimales déterminées par l'étude séquentielle sous UHV vont être transférées vers un autre montage expérimental, permettant de **préparer des NDs hydrogénés en grande quantité sous forme pulvérulente** [122]. Un plasma d'hydrogène va être généré dans un tube en quartz résistant aux hautes températures dans lequel auront été préalablement introduits entre 50 et 100 mg de NDs. Pour cela, le tube est relié à un système de pompage et d'approvisionnement en hydrogène et est introduit dans un guide micro-ondes, permettant d'initier un plasma dans le tube (Figure 2.2).

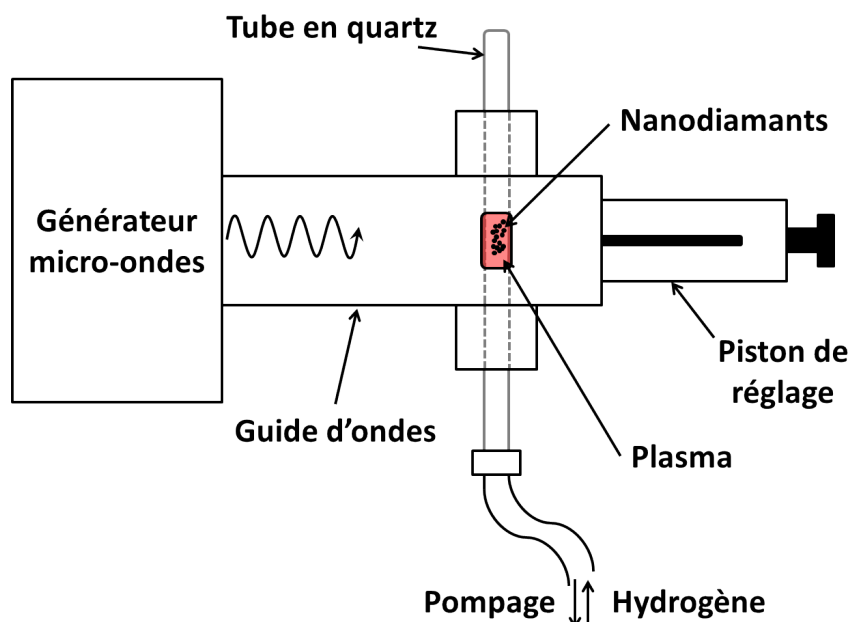


FIGURE 2.2 – Schéma du montage expérimental permettant l'hydrogénation des NDs sous forme pulvérulente dans un tube en quartz.

Des pressions en hydrogène entre 10 et 20 *mbar* ont été utilisées, avec une puissance micro-onde de 300 W. Une fois la pression voulue atteinte, l'approvisionnement en gaz est coupé et le plasma est allumé en condition statique. Les conditions ont été optimisées afin d'obtenir un plasma ayant une température d'environ 700°C afin d'éliminer efficacement l'oxygène de la surface des NDs comme il sera montré dans le chapitre 3. La durée du plasma est généralement de 15-30 minutes, en fonction de la quantité de NDs introduite dans le tube. Nous avons observé une remontée de pression significative après les premières minutes du plasma, ce qui est dû à la désorption des espèces adsorbées et des fonctions oxydées initialement présentes à la surface des NDs. Afin d'améliorer l'efficacité de l'hydrogénation, le plasma est éteint au bout de 5 minutes et le gaz est pompé et remplacé par de l'hydrogène pur. Cette purge permet d'éliminer les espèces désorbées qui

pourraient contaminer l'hydrogène et diminuer l'efficacité de l'hydrogénation.

Pour estimer la température du plasma, nous avons mesuré la température du tube en quartz avec une caméra thermique infrarouge ciblée sur le tube, calibrée sur l'émissivité du quartz, à travers une fenêtre dans le guide d'onde. Cette température étant mesurée à l'extérieur du quartz, elle est peut-être sous-estimée par rapport à la température réelle à laquelle sont exposés les NDs, mais donne par contre une bonne validation de l'homogénéité du plasma dans le tube. Sur la figure 2.3, une image prise à travers la fenêtre du guide d'onde est présentée. La variation de température est inférieure à 50°C sur la majeure partie de la zone exposée au plasma pour une température de l'ordre de 650°C.

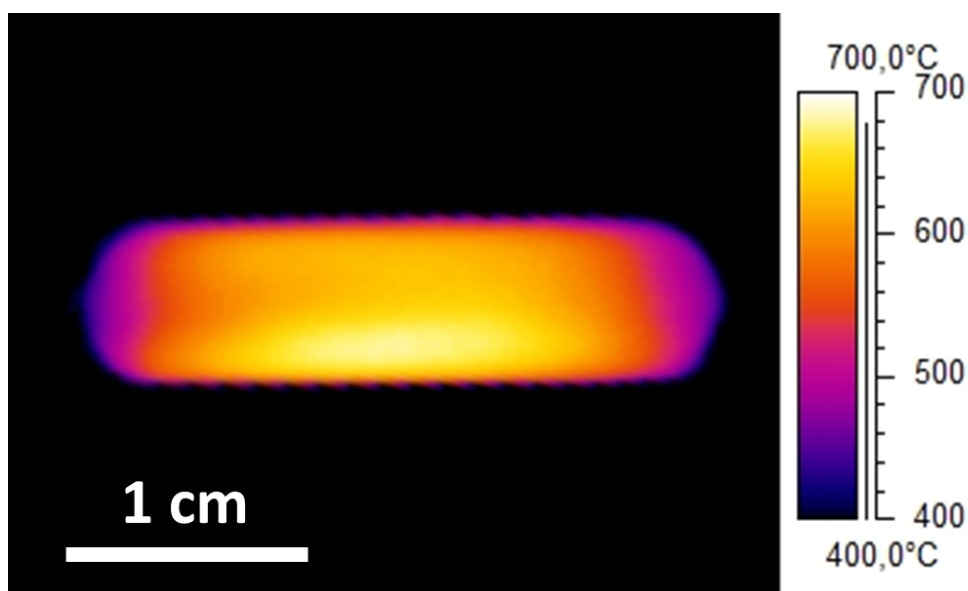


FIGURE 2.3 – Cartographie de la température du tube en quartz pendant un plasma d'hydrogène déterminée par caméra thermique infrarouge.

2.1.4 Four pour les recuits sous vide à haute température

De même que pour les traitements d'hydrogénation, un dispositif expérimental permettant d'effectuer une graphitisation de surface sur de grandes quantités de NDs sous forme pulvérulente par recuit sous vide a été développé (Figure 2.4). Grâce à un élément chauffant en carbure de silicium il est possible de recuire des échantillons jusqu'à une température de 1000°C environ sous un vide secondaire. Dans notre cas, 80-100 mg de NDs sont introduits dans un creuset fermé en alumine, qui est ensuite déposé sur l'élément chauffant. En utilisant une caméra thermique calibrée sur l'émissivité de l'alumine, il a été possible d'estimer la température du creuset. Une température de 750°C a été choisie afin d'être dans les conditions nécessaires pour une graphitisation de surface

2.1 Modifications de surface des nanodiamants : Dispositifs expérimentaux

efficace des NDs, avec une faible vitesse de graphitisation ce qui permet de contrôler plus précisément le degré de graphitisation des NDs (voir 3.4). Nous avons considéré que la température des NDs est égale à celle du creuset. Des recuits entre 1h et 8h ont ainsi été effectués à cette température. Lors de ces recuits, la température a été augmentée progressivement en maintenant la pression en dessous de 5×10^{-6} mbar afin d'éviter des modifications de surface dues à la réaction avec des espèces désorbées de la surface des NDs.

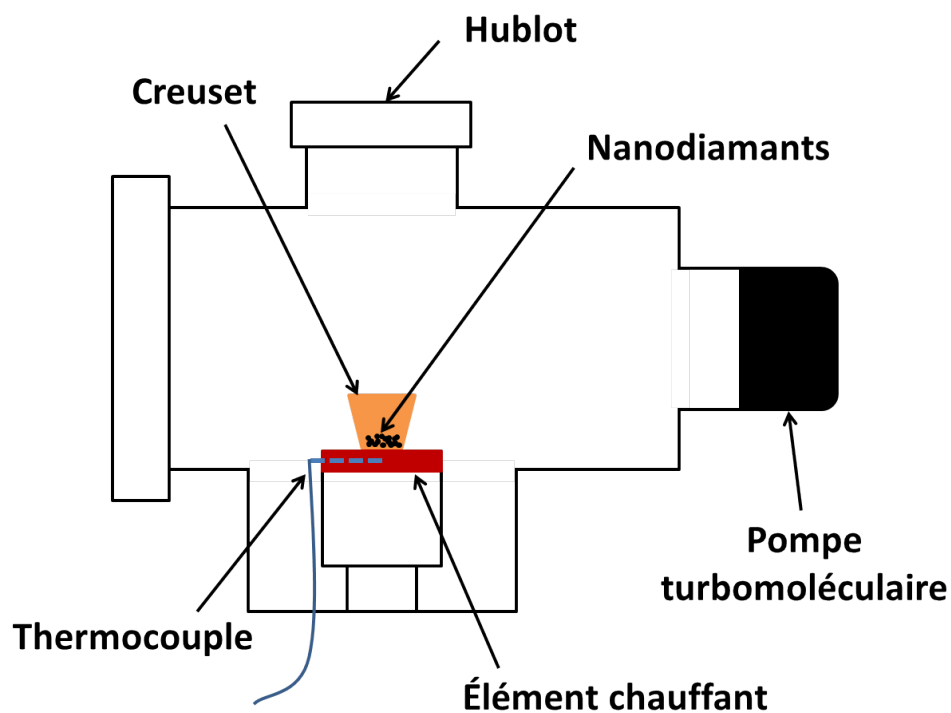


FIGURE 2.4 – Schéma de montage du four de recuit sous vide à haute température utilisé pour la graphitisation de surface des NDs.

2.2 Méthodes d'analyse de surface et de la structure cristalline des nanodiamants

Pour analyser les modifications induites sur les NDs après les traitements effectués dans les dispositifs que nous venons de présenter, différentes méthodes d'analyses ont été utilisées :

- la **microscopie électronique en transmission à haute résolution** (HRTEM),
- la **spectroscopie de photoélectrons X** (XPS),
- la **spectroscopie d'électrons Auger** (AES)
- et la **spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier** (FTIR).

Ces méthodes permettent de caractériser la chimie de surface et la structure cristalline des NDs. Elles vont maintenant être présentées et nous verrons en quoi elles sont complémentaires pour la caractérisation des NDs.

2.2.1 Microscopie électronique en transmission haute résolution

Avant de s'intéresser à la chimie de surface des NDs, il est intéressant de caractériser leur **structure cristalline**. Cela est possible en HRTEM, dont le principe est résumé dans l'annexe A. Cette méthode permet d'obtenir des images de la structure cristalline du cœur et de la surface de NDs individuels avec une résolution atomique. A partir de la distance entre les plans atomiques, appelée distance inter-réticulaire, il est possible de déterminer la nature du matériau et l'orientation des cristaux analysés. Les clichés HRTEM permettent d'observer des défauts cristallins (mâcles, dislocations, . . .) dans le cœur diamant des NDs ou à leur surface, ce qui va nous intéresser tout particulièrement dans le cadre de cette thèse. L'intégrité du cœur diamant après les différents traitements de surface va aussi pouvoir être vérifiée. Cette technique est également indiquée pour caractériser le carbone amorphe ou graphitique qui peut entourer le cœur diamant des NDs.

2.2.1.1 Caractérisation des nanodiamants

Il est à noter que les NDs sont très sensibles au faisceau électronique. Une exposition prolongée à ce faisceau peut induire des modifications de la surface, notamment la graphitisation [113]. C'est pourquoi il est important de limiter au maximum l'irradiation avant d'acquérir une image. La technique HRTEM permettant de **sonder des NDs individuels**, il est nécessaire d'imager un certain nombre de NDs avant de tirer des conclusions sur une propriété cristalline observée sur un ND, qui pourrait être un événement isolé. La microscopie HRTEM est très utile pour obtenir des informations sur la structure cristal-

line des NDs mais ne permet pas de sonder la nature chimique de leur surface. Pour cela, des méthodes de spectroscopies d'électrons et infrarouge vont être plus efficaces.

2.2.1.2 Dispositif expérimental

Ces caractérisations HRTEM ont été effectuées par Mohamed Sennour du laboratoire CNRS UMR 7633 des Mines de Paris, Paristech à Évry. Un microscope FEI Tecnai F20 avec un canon à émission de champ opérant à 200 kV équipé d'un filtre d'imagerie Gatan a été utilisé. La préparation des échantillons consiste à déposer une goutte de NDs dispersés dans du méthanol ou de l'eau sur une grille de carbone amorphe. Les NDs sont imagés en bordure des trous de la grille afin de s'affranchir de la contribution du carbone amorphe de la grille sur les images. Les images ont été prises proches de la focalisation de Scherzer (- 63 nm) avec une caméra CCD.

2.2.2 Spectroscopie de photoélectrons X

La méthode XPS est basée sur l'analyse de l'émission d'électrons induite par l'absorption d'un photon X, *i.e.* **l'effet photoélectrique**. L'analyse de ces photoélectrons va permettre de déduire l'énergie de liaison des atomes sondés, ce qui va donner des informations sur leur nature et leur environnement chimique. En particulier, dans le cas du carbone, **cette méthode est sensible aux différents états d'hybridation sp^2 ou sp^3** . Plus de détails sur la méthode d'analyse XPS sont donnés en annexe B.

Le libre parcours moyen des photoélectrons est défini comme la distance moyenne qu'ils parcourent sans collision. Dans le cas des photoélectrons X, ce libre parcours moyen est de l'ordre de quelques nanomètres, ce qui implique que seulement les électrons très proches de la surface seront collectés. Ainsi, 90 % du signal provient des 10 premiers nanomètres de la surface environ, ce qui en fait une méthode d'analyse de surface au sens classique du terme. Pourtant, lorsque l'on s'intéresse à la caractérisation de nanoparticules de taille inférieure à 10 nm, cette méthode permet en fait de **sonder tout le volume des nanoparticules**. C'est un des effets "nano" qu'il faut prendre en compte pour la caractérisation des nanomatériaux par XPS. Les effets "nanos" sur la caractérisation des NDs et l'interprétation des spectres XPS vont maintenant être détaillés.

2.2.2.1 Caractérisation des nanodiamants

L'effet de la taille nanométrique et de la structure sphérique des NDs (voir Figure 3.1) est significatif pour la caractérisation XPS et il est utile de mentionner les différences qui vont être observées par rapport à une analyse de surface classique. Pour l'analyse

des surfaces, il est possible de réduire la profondeur sondée en modifiant la position de l'analyseur où sont récoltés les photoélectrons. En inclinant l'analyseur d'un angle θ , la profondeur sondée sera multipliée par $\cos \theta$ (Figure 2.5 (a)), ce qui permet d'obtenir une analyse encore plus surfacique [175]. Cette méthode n'est pas utilisable pour la caractérisation de nanoparticules sphériques, car les électrons récoltés proviennent toujours du même volume quel que soit l'angle d'analyse, dans des proportions équivalentes quelle que soit l'orientation de l'analyseur à cause de leur symétrie sphérique. Par contre, le signal provenant de la couche de surface est fortement exalté. En effet, si on considère qu'une couche en surface est de nature chimique différente que le cœur de la nanoparticule, cette couche va représenter une part considérablement plus importante sur le signal mesuré par rapport à une couche mince de la même épaisseur sur une surface plane. Cela est compréhensible par de simples considérations géométriques (Figure 2.5 (a)). En considérant que cette couche de surface représente une épaisseur de 0.5 nm, Baer et Engelhard ont montré qu'une **augmentation du signal de surface de + 60 % par rapport à une surface plane** était due uniquement aux effets de courbure.

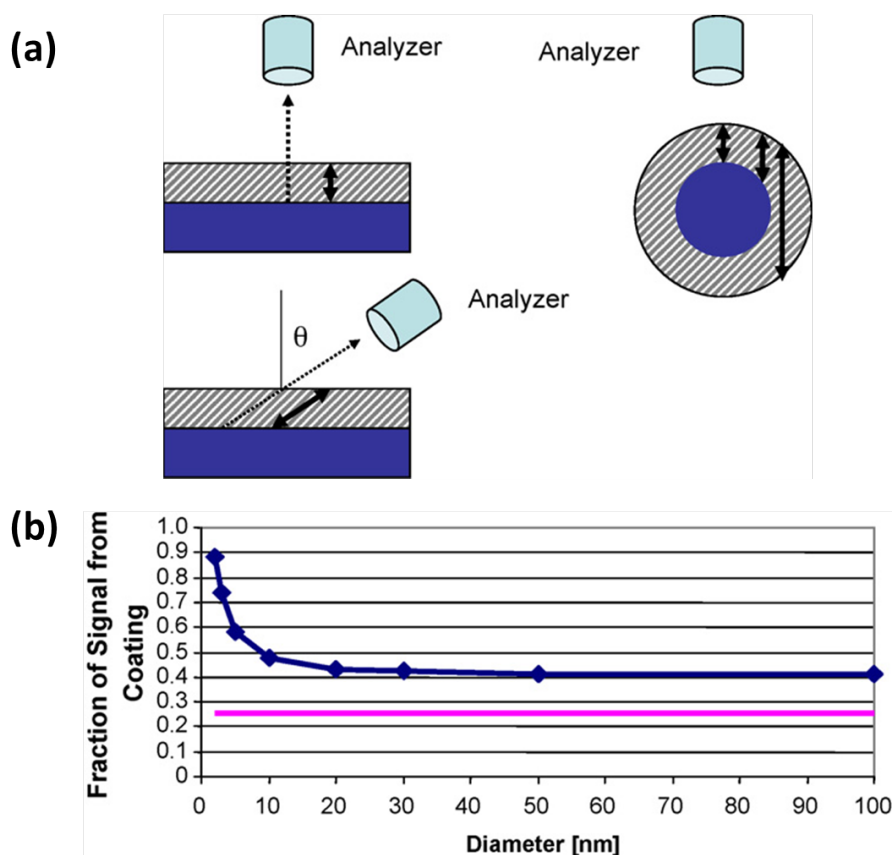


FIGURE 2.5 – (a) Surface sondée par XPS pour des surfaces planes et des nanoparticules. (b) Signal provenant de la couche d'épaisseur 0.5 nm d'une surface plane (rose) et de la surface d'une nanoparticule en fonction de sa taille (bleu). D'après la référence [175].

Quand cette particule est de taille nanométrique, cette augmentation est encore plus spectaculaire car la dimension des objets analysés est du même ordre de grandeur que le libre parcours moyen des électrons, qui est inférieur à 2.2 nm dans le cas d'une matrice de diamant dans la gamme d'énergie étudiée [176]. **Le signal venant de la couche de surface est ainsi multiplié par 2.5 environ pour une nanoparticule de 5 nm** (Figure 2.5 (b)). Cette exaltation rend la méthode beaucoup plus sensible à tout effet de contamination de surface, ce qui implique l'importance des études *in situ* pour l'étude des modifications de surface. En revanche une fois que l'on s'affranchit de la contamination, cela permet d'augmenter la sensibilité de la méthode envers la chimie de surface des NDs.

Des élargissements de pic ou des décalages des énergies de liaison des matériaux nanométriques par rapport à leur équivalent massif peuvent aussi être observés. Cela peut être lié à des effets de taille [177], de contraintes à l'intérieur de la nanoparticule ou à des interactions avec le substrat [175]. Ces points seront illustrés par la suite dans le cas des NDs.

L'analyse chimique quantitative est possible à partir de l'analyse des pics apparaissant sur les spectres XPS. En particulier, les concentrations atomiques de chaque élément peuvent être calculées à partir de l'aire des niveaux de cœur correspondants, en prenant en compte la section efficace de photo-ionisation associée [178]. La déconvolution des niveaux de cœur va elle permettre d'obtenir plus d'information sur la nature des liaisons chimiques de ces atomes. Pour ces déconvolutions, il est important de soustraire au préalable le signal venant du fond inélastique par une correction de ligne de base utilisant l'algorithme de Shirley [179]. Plusieurs composantes peuvent être présentes dans un même pic et sont modélisées par des fonctions de Voigt. Une fonction de Voigt consiste en un produit de convolution d'une fonction Lorentzienne, à laquelle nous choisissons une largeur à mi-hauteur constante de 0.4 eV qui correspond à la largeur naturelle de la raie de photoémission pour le C1s, et d'une fonction gaussienne, dont la largeur à mi-hauteur dépend de l'élargissement expérimental et sera adaptée pour optimiser l'accord entre le pic mesuré et la convolution des pics modélisés.

2.2.2.2 Dispositif expérimental

L'appareillage XPS utilisé pendant cette thèse a été développé par OMICRON et est présenté en annexe B. C'est la radiation Al $K\alpha_{1,2}$ à 1486.6 eV qui est sélectionnée pour analyser nos échantillons. L'utilisation d'un monochromateur permet d'obtenir une raie ayant une largeur à mi-hauteur de 0.25 eV, de s'affranchir des autres raies et de réduire la taille de sonde à un diamètre de 600 μm environ. L'énergie de passage des photoélectrons dans l'analyseur hémisphérique est typiquement de 50 eV pour les spectres globaux et de 20 eV pour les spectres des différents niveaux de cœur afin d'obtenir une meilleure

résolution en énergie. L'étalonnage de l'appareil s'effectue à partir du pic $Au4f_{7/2}$, qui correspond à une énergie de liaison de 84.0 eV [180]. Avec cet appareillage, nous avons une résolution absolue en énergie de 0.6 eV et la limite de détection est estimée à 0.5 % atomique.

2.2.3 Spectroscopie d'électrons Auger

La méthode AES est basée sur l'analyse des électrons Auger émis d'une surface après irradiation par des électrons de haute énergie (quelques keV). Le principe général de la méthode est détaillé en annexe C. Il est intéressant de préciser que contrairement à l'énergie cinétique des photoélectrons analysés pour l'XPS, celle des électrons Auger ne dépend pas de l'énergie des électrons ou photons incidents. Elle dépend par contre des niveaux d'énergie des différentes couches électroniques, ce qui rend la méthode **encore plus sensible à l'état électronique des atomes sondés que l'XPS**. Dans le cas des surfaces carbonées, c'est la transition KVV du carbone qui est sondée, qui implique 2 électrons de valence. La méthode AES est donc très sensible à l'état d'hybridation des atomes de carbone.

2.2.3.1 Caractérisation des nanodiamants

Pour des atomes de carbone, l'énergie cinétique des électrons Auger est de l'ordre de 200-300 eV. Pour comparaison, les photoélectrons X collectés en XPS ont une énergie cinétique voisine de 1200 eV. La conséquence directe est que le libre parcours moyen des électrons Auger est beaucoup plus faible (0.6 nm au lieu de 1.9 nm) donc la méthode est encore plus sensible à la surface que l'XPS [181]. Cette fois, la taille des NDs est bien supérieure au libre parcours moyen et tout le volume des NDs ne sera pas sondé. Le signal proviendra essentiellement des **2-3 premiers plans atomiques de la surface**.

En revanche, l'analyse AES requiert l'irradiation de la surface avec des électrons ayant des énergies élevées, ce qui peut induire des modifications involontaires de la surface sondée. Les nanoparticules ayant une réactivité plus élevée que les matériaux massifs sont encore plus sensibles à ces effets d'irradiation qui peuvent induire des modifications de surface. Dans le cas des NDs, cela pourrait se traduire par une graphitisation de la surface comme il a été observé par HRTEM après une exposition prolongée au faisceau d'électron [113], même s'il s'agit dans le cas du HRTEM d'électrons de bien plus haute énergie sur une surface très réduite. C'est pourquoi nous utilisons une tension d'accélération des électrons de 1000 V, au lieu des 1500 V classiquement utilisés pour l'analyse des surfaces afin de réduire l'énergie du faisceau incident au minimum.

2.2.3.2 Dispositif expérimental

L'équipement du laboratoire permettant l'analyse des électrons Auger est un système OMICRON constitué d'un canon à électrons pour l'excitation et d'un système constitué de 4 grilles retardatrices et d'un écran fluorescent pour l'acquisition. Ce montage est détaillé dans l'annexe C.

C'est en fait le signal dérivé $dN(E)/dE$, où $N(E)$ est le nombre d'électrons récoltés, qui est analysé sur les spectres AES. Il faut préciser que le système de grilles retardatrices ne permet pas d'obtenir la même résolution que les spectromètres AES classiques, généralement composés d'un analyseur cylindrique. Les résultats obtenus avec notre appareillage ont été comparés avec des mesures effectuées avec un appareillage standard dans la thèse d'Anthony Chavanne [182]. Dans notre cas, l'interprétation des spectres sera donc principalement basée sur l'estimation de l'écart entre le minimum principal et les deux maxima locaux situés à plus basse énergie cinétique (voir 3.1.3). Notre appareillage reste néanmoins très sensible aux différentes hybridations du carbone en surface des NDs, avec une résolution de l'ordre de 0.8 eV comme nous le verrons par la suite.

2.2.4 Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier

Le FTIR a été utilisé pour caractériser les groupements chimiques à la surface des NDs. Son principe de fonctionnement est détaillé dans l'annexe D. Cette méthode mesure l'absorption dans la gamme des infrarouges des molécules analysées. Elle est très complémentaire aux techniques de spectroscopie électronique car elle permet de distinguer la nature des groupements chimiques, les vibrations des liaisons moléculaires étant différentes en fonction de leur environnement chimique. En revanche, dans le cas des NDs, le FTIR ne permet pas d'obtenir de données quantitatives et n'est bien sûr pas sensible à l'état d'hybridation du carbone.

2.2.4.1 Caractérisation des nanodiamants

La matrice du cœur diamant des NDs étant transparente dans les infrarouges sur une large gamme de nombres d'ondes, le signal détecté viendra principalement des **liaisons chimiques à la surface des NDs**. Le FTIR est très sensible aux molécules présentes sur le trajet optique du faisceau, qui ne sont pas forcément liées à la chimie de surface des NDs. Les NDs ont de plus une forte affinité pour les molécules d'eau, dont les vibrations des liaisons O-H peuvent masquer le signal des NDs [183]. Il est possible de s'affranchir de cette contribution de l'eau en faisant une mesure sous vide après un recuit *in situ* à 150-200°C pour s'assurer que l'eau est bien désorbée de la surface.

2.2.4.2 Dispositif expérimental

Ces mesures ont été faites dans le laboratoire de Chia-Liang Cheng avec l'aide de Tsai-Yang Kang à la National Dong Hwa University à Hualien, Taiwan. Un interféromètre FTIR Bomem MB154 équipé d'un détecteur MCT (Mercure Cadmium Telluride) avec une résolution de 4 cm^{-1} a été utilisé. Les spectres ont été obtenus après une mesure directe en transmission à travers un film de NDs déposé sur un substrat de silicium. Le silicium est transparent aux infrarouges dans la gamme sondée, typiquement $750\text{-}3500\text{ cm}^{-1}$. Pour éviter d'observer le signal des molécules d'eau, les mesures ont été effectuées sous vide secondaire ($1 \times 10^{-5}\text{ mbar}$), en utilisant une chambre dédiée avec deux fenêtres en ZnSe, transparent aux infrarouges. Ce montage permet aussi de chauffer les échantillons afin de désorber les molécules adsorbées sur la surface des NDs. Ainsi tous les spectres présentés dans cette thèse ont été obtenus après un recuit de 1h à $200\text{ }^\circ\text{C}$ puis refroidissement à température ambiante pour l'analyse. Un flux d'azote est utilisé en parallèle sur le reste du trajet optique afin d'évacuer les molécules d'eau et de dioxyde de carbone qui pourraient être présentes.

2.2.5 Bilan

Quatre méthodes d'analyse complémentaires vont être utilisées pour caractériser la structure cristalline et la chimie de surface des NDs. Dans un premier temps, l'imagerie par HRTEM va permettre d'étudier la structure cristalline du cœur diamant et de la surface de NDs individuels à l'échelle atomique. L'utilisation de l'XPS et de l'AES va permettre de confirmer l'état d'hybridation des NDs, observé sur quelques NDs seulement par HRTEM, en sondant un grand nombre de NDs. L'XPS va être particulièrement sensible à l'état de la surface des NDs mais va sonder tout leur volume tandis que l'AES ne va sonder que les premiers plans cristallins. L'XPS va aussi donner des informations sur l'environnement chimique des atomes de carbone et va permettre de quantifier les différents hétéroatomes présents à la surface des NDs. Plus de détails sur la nature chimique des groupements présents à la surface des NDs vont pouvoir être obtenus par FTIR. Les caractéristiques de chaque technique sont résumées dans le tableau 2.1. En utilisant ces méthodes complémentaires, la chimie de surface des NDs ainsi que l'intégrité du cœur diamant vont pouvoir être déduites.

2.2 Méthodes d'analyse de surface et de la structure cristalline des nanodiamants

	HRTEM	XPS	AES	FTIR
Type d'analyse	Microscopie	Spectroscopie	Spectroscopie	Spectroscopie
Gamme d'excitation	Électrons (200 <i>keV</i>)	Photons X (1486.6 <i>eV</i>)	Électrons (1000 <i>eV</i>)	Photons IR (750-3500 cm^{-1})
Profondeur sondée	Transmission	10 <i>nm</i>	1-2 <i>nm</i>	Transmission
Structure sondée	Cœur et surface	Cœur et surface	Surface	Surface
Information apportée	Structure cristalline	Nature des liaisons chimiques	État d'hybridation	Nature des groupements chimiques
Résolution	< 0.1 <i>nm</i>	0.6 <i>eV</i>	0.8 <i>eV</i>	4 cm^{-1}
Information importante pour cette thèse	Intégrité du cœur diamant, observation de structures amorphes / graphitiques en surface	État d'hybridation du carbone, quantification chimique	État d'hybridation du carbone	Nature des terminaisons de surface

TABLE 2.1 – Récapitulatif des principales caractéristiques associées aux différentes méthodes d'analyse utilisées.

2.3 Méthodes d'analyse des interactions entre les nanodiamants et leur environnement

Pour sonder les interactions entre les NDs et leur environnement, d'autres méthodes de caractérisation vont être plus appropriées. Les interactions étudiées dans le cadre de cette thèse sont les suivantes :

- l'**adsorption de molécules sondes** sur la surface des NDs a été étudiée par mesure volumique ou massique (partie 2.3.1),
- les **interactions électroniques entre les NDs et un substrat**, liées au potentiel de surface des NDs ont été étudiées par Microscopie à sonde de Kelvin (KFM) (partie 2.3.2),
- les **interactions avec l'eau ou des ions en solution** ont été étudiées par diffusion dynamique de la lumière (DLS) (partie 2.3.3).

2.3.1 Technique d'adsorption de molécules sondes

Le principe de l'adsorption de molécules sondes est de mesurer *in situ* l'adsorption d'une molécule gazeuse à diverses pressions relatives sur les NDs par une mesure volumique ou massique. Cette méthode va permettre d'étudier **les phénomènes de physisorption à la surface des NDs avec des molécules de diazote et d'eau**. Grâce à leur taille nanométrique, les NDs ont une grande **surface spécifique** qui peut être estimée par l'adsorption d'azote. Il va aussi être possible d'étudier la structure des agrégats en analysant les isothermes d'adsorption et de désorption d'azote. En étudiant l'adsorption de molécules d'eau, il va être possible de remonter à l'**hydrophilicité** de la surface.

Ces mesures ont été effectuées à l'Institut de Chimie des Milieux et Matériaux de Poitiers (IC₂MP) avec Adeline Trouvé et Isabelle Batonneau-Gener. L'analyse est effectuée à partir d'environ 30 mg de NDs en voie pulvérulente. Les NDs sont recuits pendant 1h à 90°C sous vide primaire, puis 6h à 300°C sous vide secondaire, afin de désorber toutes les espèces faiblement liées à la surface des NDs. La quantité de gaz adsorbé dépend de l'aire de l'interface, de la pression du gaz et de la température. Il est donc important de travailler dans les mêmes conditions de pression et température lors des différentes expériences.

Tout d'abord, l'adsorption et la désorption de molécules de diazote a été étudiée à 77 K en utilisant un appareil de physisorption Micromeritics ASAP 2010 à injection automatique d'azote. Ces molécules inertes permettent d'étudier les interactions faibles,

essentiellement de Van der Waals ou électrostatiques, entre la surface des NDs et les adsorbats. Ces liaisons faibles sont réversibles, on parle alors de physisorption. En augmentant progressivement la pression relative en diazote, la mesure du volume de molécules adsorbées sur les NDs va permettre de remonter à la surface spécifique des NDs en utilisant le modèle de Brunauer, Emmet et Teller (BET) [184]. A partir de la forme de l'isotherme, il va être possible de déterminer des informations sur les caractéristiques texturales du matériau, telles que la présence de pores ou micropores. La méthode utilisée est détaillée dans la référence [185].

Dans un deuxième temps, l'adsorption de molécules d'eau sur la surface des NDs a été étudiée. Pour cela, un autre montage basé sur une microbalance de type SETARAM a été utilisé, permettant d'injecter manuellement de faibles pressions en vapeur d'eau. Cette fois-ci, une mesure massique va permettre d'estimer le nombre de molécules adsorbées sur la surface des NDs. Les NDs sont placés dans une nacelle et la prise de masse après exposition aux molécules d'eau est comparée à une référence constituée d'une nacelle vide. Plus de détails sur ce montage sont disponibles dans la thèse d'Adeline Trouvé [186]. L'étude de l'adsorption des molécules d'eau permet d'estimer l'affinité de la surface pour les molécules d'eau. En rapportant le nombre de molécules d'eau adsorbées à la surface des NDs à leur surface spécifique, il va être possible de quantifier le nombre de site hydrophiles présents à la surface des NDs. Cette information va être importante pour mieux comprendre les propriétés colloïdales des NDs dans l'eau.

2.3.2 Microscopie à sonde de Kelvin

La méthode KFM est un type d'analyse en champ proche un peu particulier qui permet de mesurer entre autre le potentiel électrostatique d'une surface avec une résolution latérale pouvant descendre à l'échelle atomique [187]. Dans notre cas, une résolution nanométrique est suffisante et va permettre d'étudier les **propriétés électrostatiques de NDs individuels déposés sur un substrat**. Ces mesures ont été effectuées avec Bohuslav Rezek et Stepan Stehlik à l'Institut de physique de Prague, en République Tchèque.

Comme les autres méthodes d'analyse en champ proche, le principe est de déplacer une pointe au-dessus d'une surface et de mesurer ses interactions avec la surface pour en déduire des informations sur les propriétés du matériau étudié. Il va ainsi être possible de faire une cartographie de ces interactions sur une zone précise, balayée par la pointe. Deux modes peuvent être utilisés : un mode contact, dans lequel la pointe est statique pendant le déplacement au-dessus de la surface et un mode oscillant dans lequel la pointe vibre à sa fréquence de résonance avec une amplitude donnée. Dans notre étude, le mode oscillant a été utilisé car il interagit moins avec la surface et évite, par exemple, de pousser des

NDs avec la pointe. Ce mode dynamique est aussi nécessaire pour la mesure du potentiel électrostatique comme il sera expliqué ultérieurement.

Pour l'analyse du potentiel électrostatique de surface, deux passages ont été nécessaires pour pouvoir corrélérer ce potentiel à la topographie de la surface étudiée :

- Dans un premier temps, les forces atomiques entre la surface et la pointe sont mesurées pour obtenir une image de la **topographie de la surface**. C'est le principe de la microscopie à force atomique (AFM). Quand la pointe se rapproche de la surface, l'amplitude des oscillations de la pointe, qui est déterminée par la déviation d'un faisceau laser focalisé sur la pointe, est modifiée par les forces atomiques pouvant être de différente nature (Van der Waals, électrostatique, ...). Une boucle de rétro-contrôle permet de maintenir constante l'amplitude des oscillations entre la pointe et la surface, les variations de hauteur permettent de déterminer la topographie de la surface.
- Le deuxième passage permet la mesure du **potentiel électrostatique** en lui-même. Le système pointe-surface forme un condensateur ayant une différence de potentiel correspondant à la différence entre les travaux de sortie de la pointe et de la surface. Le travail de sortie de la pointe en silicium dopé étant connu, il va être possible de déterminer le travail de sortie de la surface. La différence de potentiel entre la pointe et la surface induit une force électrostatique qui va pouvoir être déterminée. Pour cela, une tension constituée d'une composante continue et d'une composante alternative, oscillant à la fréquence de résonance de la pointe ω_0 , va être appliquée entre la pointe et la surface. En dérivant l'expression de l'énergie électrostatique stockée dans le condensateur pointe-surface, il est possible de montrer que la force électrostatique s'appliquant sur la pointe dépend de trois composantes : une composante continue et deux composantes oscillant à la fréquence ω_0 et $2 \omega_0$ [188]. La composante en ω_0 disparaît quand la tension continue appliquée égale la différence de potentiel entre les travaux de sortie de la pointe et de la surface. En mesurant cette tension, il est donc possible de remonter au travail de sortie de la surface.

Si quelques études sont disponibles dans la littérature sur des nanocristaux intégrés dans une matrice [189, 190], il n'y a pas encore d'études ayant été faites sur des nanoparticules à notre connaissance. Afin de pouvoir comparer le potentiel des NDs à une référence connue, les NDs ont été déposés sur des substrats ayant un travail de sortie bien connu, ce qui est le cas des surfaces d'or ou et de silicium dopé (Figure 2.6). Au niveau des pointes KFM, deux types de pointes avec des travaux de sortie bien connus ont été utilisés (silicium et platine). Des NDs ayant une surface oxydée (NDs-COOH), graphitisée

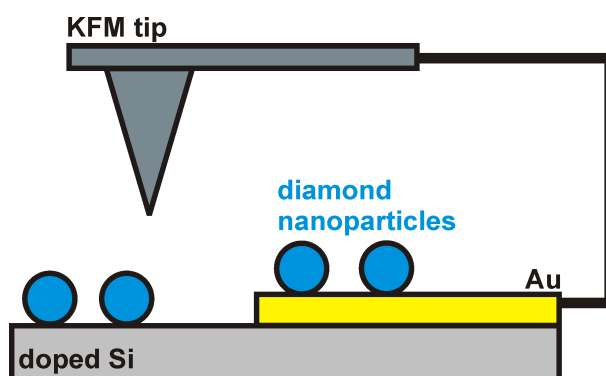


FIGURE 2.6 – Schéma de principe de la détermination du potentiel électrostatique des NDs par microscopie à sonde de Kelvin.

(NDs- sp^2) ou hydrogénée (NDs-H) ont été utilisés.

2.3.3 Diffusion dynamique de la lumière

L'analyse de la diffusion dynamique de la lumière (DLS) par des NDs dispersés dans de l'eau va permettre de caractériser leurs propriétés colloïdales en solution. En particulier, les informations qui vont nous intéresser sont la **taille des objets en suspension** afin de déterminer l'état d'agrégation des NDs et le **potentiel zêta** (PZ), qui est l'équivalent du potentiel électrostatique en solution.

2.3.3.1 Mesure de taille

Les propriétés colloïdales des nanoparticules peuvent être estimées par l'analyse de leur **mouvement brownien** en solution par mesure DLS à l'aide d'un Nanosizer ZS (Malvern). Le mouvement brownien est un mouvement aléatoire de particules généré par les chocs entre les molécules de solvant et les particules et dépend directement de la taille de ces nanoparticules. Plus les particules seront petites, plus leur déplacement sera important. Ce mouvement brownien dépend aussi de la température donc il est important d'effectuer toutes les mesures à température constante. L'intérêt de l'étude du mouvement brownien est qu'il peut être mesuré par des méthodes optiques, même si les particules sondées ont des tailles nanométriques inférieures à la limite de diffraction. Pour analyser ce mouvement brownien, la diffusion de la lumière induite par les nanoparticules va être mesurée. La méthode est brièvement décrite en annexe (voir E). L'analyse de cette lumière diffusée peut être statique ou dynamique en fonction des informations que l'on veut obtenir.

Pour étudier la taille des nanoparticules, c'est une mesure dynamique qui va être faite. La corrélation entre le signal mesuré à un temps t et un temps $t + \tau$ va être mesuré. En

effet, la probabilité qu'une particule diffuse de la lumière à un instant $t + \tau$ sachant qu'elle en a diffusé à l'instant t va être estimée grâce à une fonction d'autocorrélation définie par :

$$F(\tau) = \lim_{T \rightarrow \infty} \frac{1}{T} \int_0^T I(t)I(t + \tau)dt$$

Plus une particule est petite, plus son mouvement brownien va être rapide, donc sa fonction d'autocorrélation associée va plus rapidement tendre vers 0 par rapport à une particule de taille importante. Des fonctions d'autocorrélation pour des nanoparticules de différentes tailles sont présentées sur la figure 2.7 (a). L'étude de cette fonction d'autocorrélation permet d'en déduire la taille des particules. Dans le cas de solutions polydisperses, plusieurs fonctions seront superposées ce qui nécessite l'utilisation de méthodes de traitement du signal pour isoler les différentes composantes.

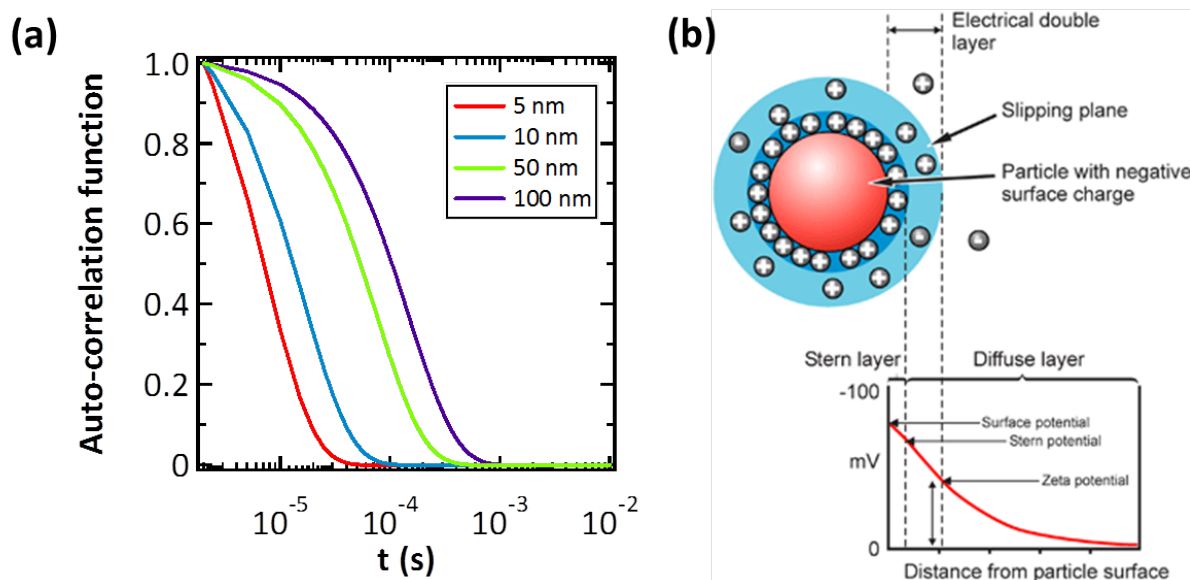


FIGURE 2.7 – Variation de la fonction d'autocorrélation en fonction de la taille des nanoparticules (a) et définition du potentiel zéta (b). D'après Malvern.com.

2.3.3.2 Caractérisation des nanodiamants

Plusieurs remarques peuvent être faites sur l'analyse des nanoparticules par DLS. La première remarque est que la mesure faite concerne le **diamètre hydrodynamique des nanoparticules**, incluant la présence d'une couche de solvatation sur la surface (Figure 2.7 (b)). Ce diamètre est donc plus important que le diamètre réel mesuré par microscopie électronique par exemple, et peut varier en fonction du solvant ou de la force ionique de la solution. Dans le cas de nanoparticules agrégées, cette méthode permet d'estimer la taille des agrégats mais pas des nanoparticules primaires constituant l'agrégat. L'utilisation de

méthodes croisées (HRTEM et BET) va nous permettre de distinguer les NDs individuels des formes agrégées.

La deuxième remarque est que la grandeur physique mesurée au niveau du détecteur est **l'intensité du signal diffusé et non pas directement le diamètre des nanoparticules**. Cette intensité est proportionnelle au rayon des objets sondés r à la puissance 6. La méthode est donc beaucoup plus sensible aux grosses particules qu'aux plus petites. Ainsi, la mesure en taille de très petites particules sera difficile si elles sont mélangées avec de grosses particules. Il est possible de présenter les résultats de mesure en fonction du nombre de particules (dépend de r), de leur volume (dépend de r^3) et de l'intensité du signal mesuré (dépend de r^6). Si c'est la mesure de nombre qui nous intéresse généralement le plus, il faut aussi regarder les deux autres modes pour estimer la présence d'agrégats pouvant influencer la mesure. Dans notre cas, les gros agrégats de NDs sont parfois isolés de la solution par une centrifugation préalablement à l'analyse quand on veut obtenir une mesure précise des plus petites particules dans la solution.

2.3.3.3 Définition et mesure du potentiel zêta

L'étude de la DLS permet aussi de mesurer le Potentiel zêta (PZ) de nanoparticules en solution qui donne des informations sur la charge électrostatique effective des nanoparticules dans un solvant. Cette charge permet d'assurer une bonne stabilité colloïdale en induisant une répulsion électrostatique entre les nanoparticules. On considère généralement que **des nanoparticules peuvent être stabilisées par répulsion électrostatique quand leur PZ dans le solvant utilisé pour la dispersion est supérieur à 30 mV en valeur absolue**.

Le PZ est différent de la charge de surface du matériau car dans un solvant il faut prendre en compte l'adsorption de contre-ions sur la surface. Le modèle de la double couche électrique est couramment utilisé pour tenir compte de cette adsorption de contre-ions (figure 2.7 (b)). Une première couche, appelée **couche de Stern**, correspond aux ions directement adsorbés à la surface de nanoparticules pour équilibrer la charge de surface. La deuxième couche, appelée **couche diffuse ou couche de Gouy-Chapman**, est constituée d'ions attirés vers la surface par des forces coulombiennes mais pouvant être échangés avec des ions dans le solvant. A l'intérieur de cette couche diffuse, on sépare ainsi les ions étant liés à la surface des ions mobiles dans le solvant par un plan de cisaillement (slipping plane en anglais sur la figure 2.7 (b)). **Le PZ est défini comme le potentiel électrique au niveau du plan de cisaillement** comme illustré sur la figure 2.7 (b). Ce PZ dépend donc de la charge de surface de la nanoparticule, mais aussi de la nature et de la concentration de contre-ions en solution. Pour l'estimer, on mesure la mobilité

électrophorétique des nanoparticules par DLS, qui est directement proportionnelle au PZ à température constante. Plus de détails sur le PZ et sa mesure sont disponibles en annexe E et dans la référence [191].

Comme le PZ dépend de la couche de contre-ions adsorbée sur la surface des NDs, **il varie généralement avec le pH ou la force ionique de la solution**. Notre système est équipé d'un titrateur automatique permettant de faire des études en fonctions de ces paramètres. Typiquement, des solutions de HCl et NaOH à 0,1 M sont utilisées pour contrôler le pH de la solution.

2.3.4 Bilan

Les méthodes décrites dans cette partie vont permettre de comparer les propriétés liées à des interactions, principalement électrostatiques, entre les NDs et leur environnement en fonction de leur chimie de surface. Il va être particulièrement intéressant de faire des parallèles entre les résultats obtenus par ces différentes méthodes. Par exemple, les résultats d'adsorption de molécules d'eau à la surface des NDs vont pouvoir être confrontés aux propriétés colloïdales des NDs dans l'eau, caractérisées par DLS. De même, il sera intéressant de faire des liens entre le potentiel électrostatique de surface déterminé par KFM et le PZ mesuré dans l'eau par DLS pour des NDs ayant la même chimie de surface. Les caractéristiques des différentes méthodes sont résumées dans le tableau 2.2.

	Adsorption de molécules sondes	Microscopie à sonde de Kelvin (KFM)	Diffusion dynamique de la lumière (DLS)
Type d'interaction étudié	Physisorption	Electrostatique, à l'air	Electrostatique, en solution
Espèces en interaction	Molécules N ₂ , H ₂ O	Substrats d'or et de silicium	Ions dissous dans l'eau, molécules H ₂ O
Échantillon sondé	30 mg de NDs sous forme pulvévrente	NDs individuels, sur un substrat	1-2 ml de NDs en suspension dans l'eau
Information importante pour cette thèse	Surface spécifique, hydrophilicité	Potentiel de surface, échanges électroniques	Taille en suspension, potentiel zêta (PZ), influence du pH

TABLE 2.2 – *Récapitulatif des caractéristiques de différentes méthodes utilisées pour étudier les interactions entre les NDs et leur environnement.*

Enfin il est important de mentionner qu'**il n'existe que très peu d'études concernant les mesures d'adsorption de molécules sondes sur les NDs et aucune étude concernant l'étude des NDs par KFM dans la littérature**. Ces méthodes apportent pourtant des informations essentielles concernant les propriétés des NDs comme il sera montré dans cette thèse.

2.4 Conclusion

Dans ce chapitre, les moyens à disposition pour préparer et caractériser les NDs dans le cadre de cette thèse ont été présentés. Différents dispositifs expérimentaux vont permettre d'oxyder, d'hydrogéner ou de graphitiser la surface des NDs. Les modifications des NDs après ces traitements vont pouvoir être observées *in situ* par XPS et AES et *ex situ* par HRTEM, XPS, AES et FTIR (chapitre 3). Cela va permettre de caractériser précisément la cristallinité et la chimie de surface des NDs mais aussi d'observer les modifications de surface induites par l'exposition à l'air ou par la dispersion dans l'eau. D'autres méthodes vont permettre d'étudier les interactions entre ces NDs et des molécules gazeuses et des substrats (chapitre 4) ou des ions en solution dans l'eau (chapitre 5). Grâce à une bonne caractérisation de la chimie de surface des NDs, il sera possible d'effectuer des parallèles entre ces propriétés d'interactions et la chimie de surface des NDs. Cela sera particulièrement intéressant pour mieux comprendre le rôle de la chimie de surface sur la réactivité particulière des NDs.

Chapitre 3

Contrôle de la chimie de surface des nanodiamants par traitements physico-chimiques

Sommaire

3.1 Chimie de surface et structure cristallographique initiale des nanodiamants	63
3.1.1 Microscopie électronique en transmission haute résolution . . .	63
3.1.2 Spectroscopie de photoélectrons X	64
3.1.3 Spectroscopie d'électrons Auger	67
3.1.4 Spectroscopie infrarouge	68
3.1.5 Bilan	70
3.2 Oxydation des nanodiamants par recuit sous air	70
3.3 Hydrogénation par plasma CVD	73
3.3.1 Rôle de la température des nanodiamants lors du plasma hydrogène : Étude séquentielle sous ultravide	73
3.3.2 Cinétique d'hydrogénation	76
3.3.3 Hydrogénation de nanodiamants sous forme pulvérulente	78
3.3.4 Bilan	79
3.4 Graphitisation de surface des nanodiamants par recuit sous vide à haute température	81
3.4.1 Rôle de la température : Étude séquentielle sous ultravide . . .	81
3.4.1.1 Analyse XPS	81
3.4.1.2 Analyse AES	85
3.4.1.3 Bilan	87
3.4.2 Graphitisation de surface de nanodiamants sous forme pulvérulente	88

3.4.3 Bilan	93
3.5 Conclusion	94

Introduction

Dans ce chapitre, les traitements développés pour contrôler la chimie de surface des NDs vont être décrits. Plus particulièrement, l'efficacité des différents traitements physico-chimiques réalisés sur les NDs, *i.e.* l'oxydation sous air, l'hydrogénation et la graphitisation de surface, va être évaluée en se basant sur l'analyse de la structure cristallographique et de la chimie de surface des NDs avant et après traitement avec les méthodes d'analyse présentées précédemment (2.2). Nous nous intéresserons tout d'abord à la structure des NDs initiaux (NDs-init), provenant directement du fournisseur. Ensuite, les modifications de surface induites par les trois traitements physico-chimiques seront présentées.

3.1 Chimie de surface et structure cristallographique initiale des nanodiamants

Pour ces études, des **NDs de détonation produits par le Nanocarbon Institute**, dirigé par le professeur Eiji Osawa au Japon, ont été utilisés. Ces NDs ont déjà suivi des traitements de purification pour éliminer la plupart des contaminations métalliques et du carbone non-diamant résultant de la synthèse par détonation, et ont été broyés avec des billes de céramique pour les désagréger [48, 46]. Ces NDs ont été choisis car ils sont stables dans l'eau, sous forme de particules primaires après sonification (<10 nm), comme cela sera présenté dans le chapitre 5. Ceci les rend notamment particulièrement intéressants pour des applications biologiques où la taille des NDs est un critère important pour l'élimination des NDs *in vivo*. Avant d'étudier l'effet des traitements de surface sur la chimie des NDs, il est important de bien caractériser leur état initial. La structure cristallographique des NDs, observable par HRTEM, va tout d'abord être présentée puis nous caractériserons leur chimie de surface par XPS, AES et FTIR. Comme expliqué dans le chapitre précédent, ces méthodes de caractérisation sont complémentaires et fournissent une description structurale et chimique de l'état initial des NDs avant les traitements de surface.

3.1.1 Microscopie électronique en transmission haute résolution

Un cliché HRTEM des NDs-init est visible sur la figure 3.1. Ces NDs-init ont un diamètre d'environ 5-6 nm et on distingue clairement des plans cristallins avec une distance inter-réticulaire de 2.06 Å caractéristique des plans (111) du diamant à l'intérieur de leur cœur. Quelques défauts sont visibles à l'intérieur de la maille cristalline, qui peuvent être liés à la présence d'impuretés chimiques, de lacunes ou de macles entre 2 cristaux [192]. La surface est en revanche moins organisée et on observe la présence d'une fine couche de carbone amorphe d'épaisseur inférieure à 1 nm. Une partie de cette couche

peut être imputée à un phénomène de diffraction des électrons dû à la proximité du bord de la grille d'observation. Aucune structure graphitique organisée n'est clairement visible ici. En effet, les structures graphitiques correspondent à des plans atomiques ayant une distance inter-réticulaire de 3.56 Å.

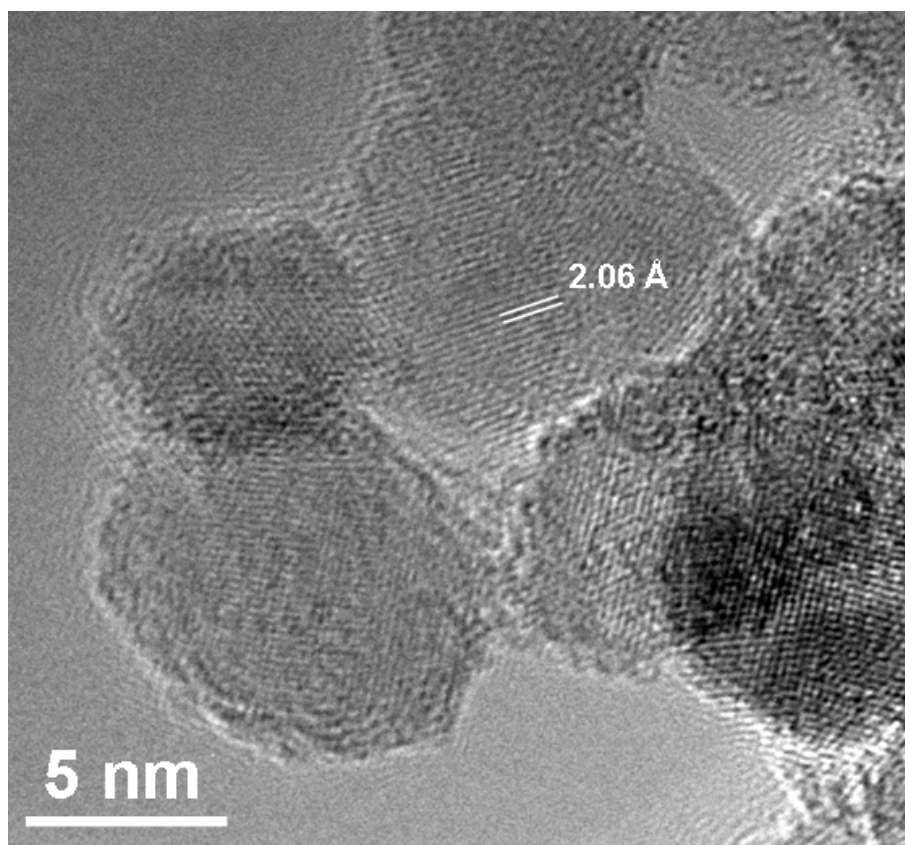


FIGURE 3.1 – Cliché HRTEM de nanodiamants de détonation initiaux.

3.1.2 Spectroscopie de photoélectrons X

Ces NDs ont ensuite été caractérisés par XPS (Figure 3.2). Pour cela, une goutte de NDs dispersés dans l'eau a été déposée et séchée sur un substrat de silicium. Sur le spectre général, trois pics sont visibles aux énergies de liaison 289.4, 403.1 et 535.6 eV et sont associés aux niveaux de cœur du carbone (C1s), de l'azote (N1s) et de l'oxygène (O1s), respectivement. Ces pics sont décalés d'environ 4.4 eV vers les hautes énergies comparativement aux mesures effectuées sur des diamants massifs. La référence utilisée pour le diamant massif est un diamant polycristallin non dopé hydrogéné (voir Annexe B). Ce phénomène de charge varie en fonction de l'épaisseur de cette couche et peut être une conséquence de la difficile évacuation des charges à travers l'épaisse couche de NDs. Cela indique que les NDs-init ont un caractère plutôt isolant. Il serait *a priori* plus

intéressant de déposer une couche plus fine pour diminuer l'effet de charge. Cependant, la couche de NDs doit être suffisamment épaisse pour que le signal du substrat de silicium ne soit pas détecté. En effet, si une partie du substrat est analysée en même temps que les NDs, la présence de l'oxyde natif SiO_x complique la quantification de l'oxygène. Il est aussi possible que des "effets nano" soient en jeu, comme discuté précédemment (voir 2.2.2.1).

Il est à noter qu'aucune contamination métallique n'est détectable par XPS (limite de sensibilité de 0.5 at. %). La concentration atomique en oxygène et azote est de 3.8 et 4.0 % atomique (% at.), respectivement. Ces concentrations varient d'un échantillon à l'autre, mais les concentrations atomiques ont toujours été comprises entre 3 et 7 at. % pour l'oxygène et inférieures à 8 % at. pour l'azote sur tous les échantillons préparés à partir de cette source de NDs pendant cette thèse. La présence d'azote est prévisible car les précurseurs utilisés pour la synthèse des NDs par détonation contiennent de l'azote [193]. L'azote peut aussi être présent dans des composés adsorbés à la surface des NDs. Pour l'oxygène, il peut s'agir de groupements chimiques oxygénés générés à la surface des NDs pendant les traitements de nettoyage effectués après la détonation ou simplement formés par réaction avec les molécules ambiantes après exposition à l'air.

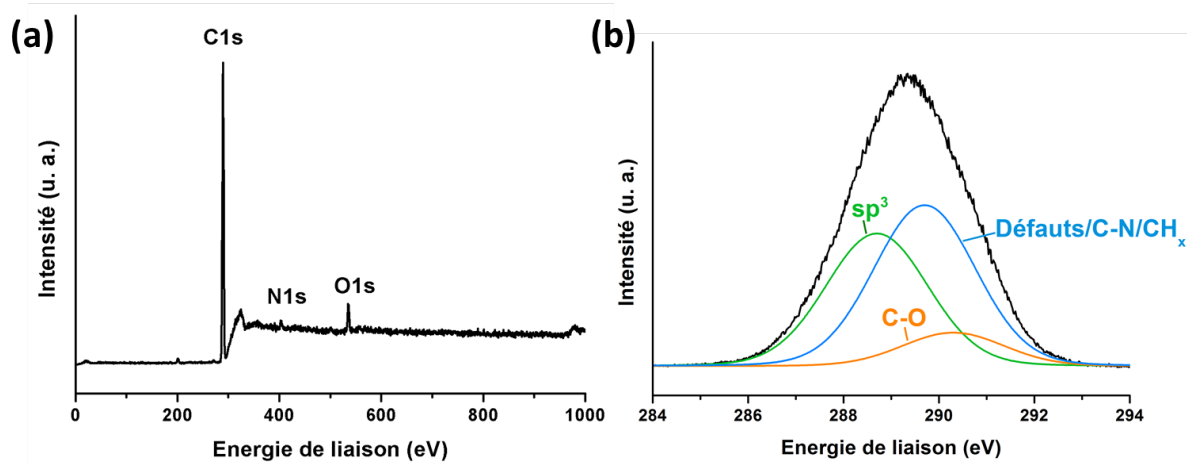


FIGURE 3.2 – Spectre XPS général des NDs initiaux (a) et niveau de cœur du carbone C1s (b).

Le niveau de cœur du carbone a été déconvolué avec trois composantes à 288.7, 289.7 et 290.3 eV ayant une largeur à mi-hauteur (FWHM) de 2.5 eV. Le premier pic correspond aux liaisons carbone-carbone hybridés sp^3 . L'énergie de liaison est plus élevée que celle mesurée sur le diamant massif, qui est situé à 285.0 eV, et le pic est plus large (FWHM = 0.8 eV pour la référence) à cause des effets de charge. La nature du pic situé à 289.7

3.1 Chimie de surface et structure cristallographique initiale des nanodiamants

Attribution du pic	C-C sp^3	Défauts/C-N/ CH_x	C-O
Énergie de liaison (eV)	288.7	289.7	290.3
FWHM (eV)	2.5	2.5	2.5
Aire relative du pic C1s (%)	39	53	8

TABLE 3.1 – Paramètres de déconvolution du pic XPS C1s des nanodiamants initiaux.

eV est plus difficile à déterminer. L'écart par rapport au pic du carbone sp^3 (+ 1.0 eV), est trop faible pour attribuer ce pic aux simples liaisons C-O [194, 195]. Une partie du pic peut être liée à la présence de liaisons C-N, puisqu'une concentration de 4.0 % at. a été détectée par XPS. La présence de **groupements CH_x avec $x = 2$ ou 3** , qui induisent un léger décalage vers les hautes énergies par rapport aux liaisons C-C sp^3 [196], est aussi probable. Pourtant, l'aire du pic représente 53 % de l'aire totale du pic C1s, ce qui n'est pas compatible avec les faibles concentrations atomiques en oxygène et azote déterminées à partir du spectre global et ne peut pas être expliqué simplement par la présence de CH_x , même en tenant compte des effets d'exaltation du signal de surface pour les NDs de détonation (voir 2.2.2.1).

En plus de ces contributions, une partie de ce pic pourrait provenir de la présence de défauts structuraux dans les NDs. En effet, des études sur des surfaces de diamant massif ont montré qu'après irradiation avec des ions Ar^+ et N_2^+ , un pic supplémentaire apparaissait sur le pic C1s à une énergie de liaison de + 0.9 eV et + 1.2 eV, respectivement [195]. L'apparition de ces pics a été attribuée à la création de défauts proches de la surface après irradiation, induisant une courbure locale de la bande de valence. Ces défauts ne sont pas de nature graphitique, ce qui aurait induit au contraire un décalage vers les basses énergies, mais plutôt liés à la présence de liaisons insaturées sur des atomes de carbone hybridés sp^3 . Ce pic peut donc être attribué dans le cas des NDs à **des défauts de surface, mettant probablement en jeu des liaisons insaturées**. La présence d'une signature des défauts sur les spectres XPS des NDs n'est pas étonnante puisque plusieurs études de résonance paramagnétique électronique [110, 197, 198] ou de spectroscopie de fluorescence X [199] ont montré la présence d'électrons non appariés proche de la surface des NDs, confirmant les observations faites en HRTEM [192].

Enfin, le dernier pic, décalé de + 1.6 eV par rapport au pic du carbone sp^3 , est attribué aux **simples liaisons C-O** [194]. Ce pic représente environ 8 % de l'aire totale du pic C1s. D'après la concentration extraite du niveau de cœur O1s (3.8 % at.), il s'agit probablement de groupements chimiques où 2 atomes de carbones sont liés à un atome

d'oxygène comme dans les groupements éthers ou les époxy par exemple. Une partie du pic aurait également pu être assigné aux liaisons C-N. Pourtant, cette hypothèse sera infirmée plus tard puisque cette composante du pic C1s est totalement éliminée après recuit sous vide alors que la concentration atomique en azote reste significative.

L'azote provient aussi bien du cœur diamant que de la surface puisque des précurseurs azotés sont utilisés pour la détonation. Pour les défauts cristallins, les liaisons CH_x et C-O, le signal devrait provenir principalement de la couche de carbone amorphe entourant le cœur diamant comme observé par HRTEM, bien que quelques défauts soient aussi visibles à l'intérieur de la maille diamant (Figure 3.1).

3.1.3 Spectroscopie d'électrons Auger

Le spectre AES des NDs-init a été comparé aux références mesurées sur un film de diamant massif et du graphite pyrolytique hautement orienté (HOPG) (Figure 3.3). Compte tenu de la résolution en énergie limitée de notre appareillage (voir 2.2.3), les spectres AES sont caractérisés par les écarts ΔE_1 et ΔE_2 entre le minimum principal P_0 et les deux maxima situés à plus basse énergie cinétique. L'aspect général du spectre, notamment la hauteur des deux maxima, permet aussi d'obtenir des informations qualitatives sur l'état d'hybridation du carbone de la surface sondée. On observe ainsi de fortes différences entre le spectre du diamant et celui du HOPG.

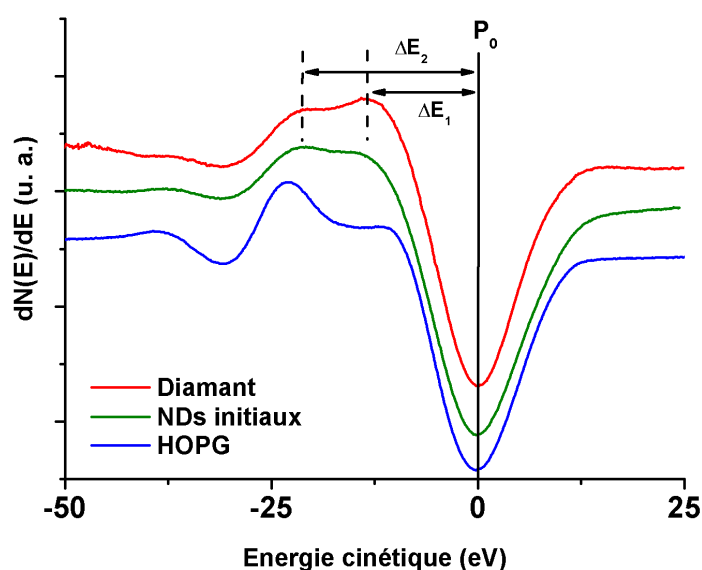


FIGURE 3.3 – Spectre AES des NDs initiaux comparé au diamant massif et au HOPG. L'énergie cinétique est exprimée relativement au minimum principal P_0 .

	ΔE_1	ΔE_2
NDs initiaux	14.5 ± 0.4	20.8 ± 0.4
Diamant	13.9 ± 0.2	20.6 ± 0.3
HOPG	11.9 ± 0.4	23.0 ± 0.2

TABLE 3.2 – Écarts ΔE_1 et ΔE_2 des spectres AES des NDs-init, du diamant massif et du HOPG.

Les valeurs de ΔE_1 et ΔE_2 sont résumées dans le tableau 3.2. Les valeurs mesurées sur le spectre des NDs sont plus proches de celles du diamant que du HOPG. L'incertitude liée à la résolution en énergie ne permet pas de mesurer un écart ΔE_2 significatif entre le diamant et les NDs-init, par contre un écart entre les valeurs ΔE_1 est mis en évidence. Au niveau de l'allure générale du spectre, le maximum situé à plus faible énergie cinétique est plus marqué que celui de la référence diamant, se rapprochant du spectre du HOPG même si l'énergie cinétique associée reste plus élevée. Il faut aussi rappeler que la spectroscopie Auger est une technique très surfacique qui sonde les 2-3 premiers plans atomiques. Les observations précédentes peuvent être expliquées par **la présence d'une couche de carbone amorphe en surface des NDs**, principalement hybridée sp^3 d'où la plus large grande différence observée avec le carbone HOPG. Cette couche amorphe a été observée par HRTEM et les caractérisations XPS ont montré l'absence de carbone sp^2 organisé, ce qui est en accord avec les caractérisations AES. Il y a aussi probablement une influence des liaisons à des atomes d'oxygène ou d'azote mais il y a actuellement peu de données dans la littérature concernant ces effets. Enfin, l'effet d'une contamination ne peut pas non plus être négligé étant donnée la forte sensibilité de l'AES au signal de surface.

3.1.4 Spectroscopie infrarouge

Les NDs ont ensuite été caractérisés par FTIR dans le laboratoire du professeur Chia-Liang Cheng à Taiwan (Figure 3.4). La présence de molécules d'eau sur l'échantillon peut induire la présence de bandes supplémentaires liées aux vibrations O-H, vers 3300 cm^{-1} et 1620 cm^{-1} , qui ne peuvent pas être distinguées de celles des groupes hydroxyles présents sur les NDs [183, 115]. Pour éviter cette contamination, les spectres ont été mesurés en transmission sous vide secondaire. Un recuit à 200°C a aussi été effectué *in situ* afin d'éliminer les dernières molécules adsorbées à la surface des NDs [200].

Les bandes comprises entre 2800 et 3000 cm^{-1} sont attribuées aux liaisons CH_x . Plus précisément, 4 larges bandes sont mesurées à 2857 , 2888 , 2923 et 2947 cm^{-1} . Ces bandes étant différentes de celles observées sur des NDs ayant suivi un traitement d'hydrogénation

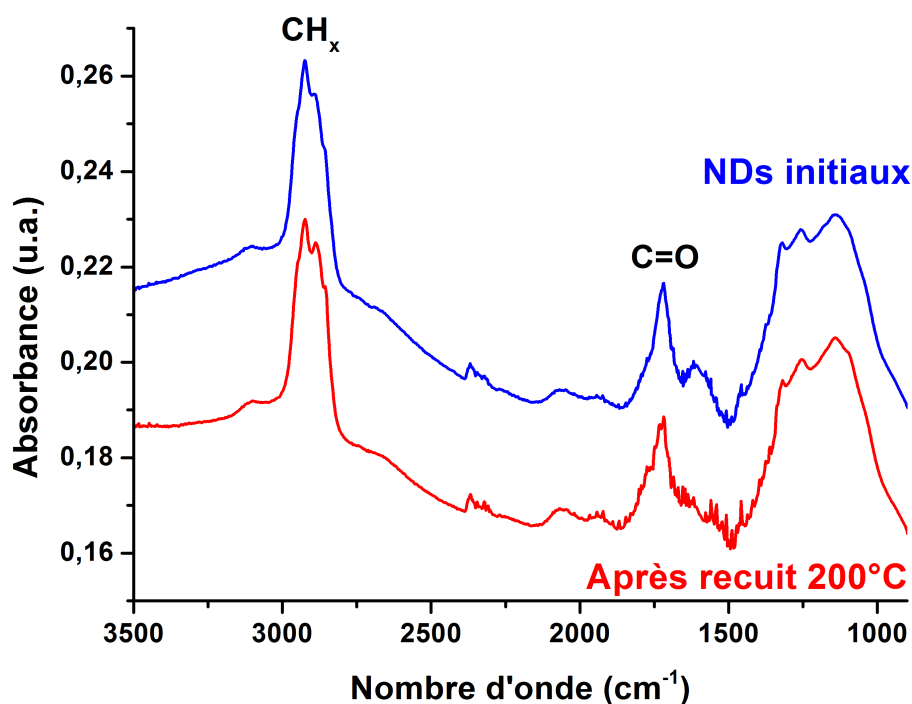


FIGURE 3.4 – Spectres FTIR des NDs initiaux enregistrés sous vide avant (bleu) et après (rouge) recuit à 200 °C sous vide.

[200], elles ne peuvent pas être attribuées à des terminaisons C-H sur le diamant mais plutôt associées à la présence d'hydrocarbures sous la forme de chaînes aliphatiques sur les NDs-init. Ainsi, les bandes à 2857 et 2923 cm^{-1} peuvent être liées aux étirements asymétriques et symétriques des liaisons CH_2 tandis que celles à 2888 et 2947 cm^{-1} seraient plutôt associées aux liaisons CH_3 [115, 200]. Les pics vers 2300 cm^{-1} sont liés aux vibrations des molécules de CO_2 présentes sur le chemin optique du faisceau du FTIR et ne sont donc pas associés à la chimie de surface des NDs. A 1720 cm^{-1} , une composante liée à la vibration des liaisons C=O de groupes carbonyles est observée. Enfin, on distingue trois larges bandes à 1320, 1256 et 1140 cm^{-1} . Ces bandes entre 1100 et 1300 cm^{-1} sont difficiles à interpréter car elles correspondent à la zone des bandes intrinsèques au diamant [45]. La bande à 1100 cm^{-1} peut aussi être attribuée aux liaisons C-O-C des fonctions éthers, anhydrides, lactones ou époxy [45, 115], ce qui est en accord avec les observations XPS.

3.1.5 Bilan

L'utilisation de méthodes d'analyse complémentaires permet de montrer que les NDs-init sont constitués d'un cœur diamant enrobé d'une fine couche de carbone amorphe, essentiellement hybridée sp^3 . La surface est constituée de nombreux défauts structuraux, d'hydrocarbures et de groupements oxygénés impliquant principalement de simples liaisons C-O. Des liaisons C=O sont aussi détectées par FTIR, mais pas par XPS. La présence d'azote est aussi détectée provenant probablement de la surface et du cœur des NDs. Sur ces NDs, nous n'avons pas observé de structures graphitiques contrairement à ce qui a été rapporté dans d'autres études [45, 44]. Cette chimie de surface des NDs-init est en tout cas en accord avec la structure classique des NDs de détonation qui a été présentée dans la partie 1.3.1.

3.2 Oxydation des nanodiamants par recuit sous air

Dans la plupart des études concernant la délivrance de médicaments, les NDs utilisés sont préalablement volontairement oxydés ce qui leur donne notamment une bonne stabilité colloïdale. Comme présenté dans la partie 1.5, des NDs-init oxydés par recuits sous air vont servir de référence comparable à la littérature dans cette thèse. La température doit être mesurée de manière précise car la fenêtre de température permettant la gravure sélective du carbone amorphe et graphitique est très étroite pour des NDs de détonation (entre 400 et 430 °C environ) [116]. Au-delà de cette fenêtre, le cœur diamant est à son tour brûlé. Dans cette étude, des recuits de 4h à 400°C ont été réalisés en utilisant un four tubulaire.

La surface des NDs a tout d'abord été caractérisée par XPS. Cette analyse montre la présence d'azote (1.7 % at.) et d'oxygène (12.8 % at.) à la surface des NDs (Figure 3.5 (a)). La concentration atomique en oxygène est beaucoup plus importante que sur les NDs-init (3.8 % at.), ce qui valide l'oxydation de la surface. Il est par contre difficile d'obtenir des informations précises sur l'état de liaisons des atomes de carbone et d'oxygène. L'oxydation induit en effet un élargissement des pic C1s et O1s dû à la présence de liaisons C/O de différentes natures, avec des largeurs à mi-hauteur de 3.2 eV pour le pic C1s et de 3.1 eV pour le pic O1s (Figure 3.5 (b) et (c)). Cet élargissement est aussi dû à des effets de charges, qui se traduisent également par un déplacement des pics vers les hautes énergies de liaison. En effet, le maximum du pic C1s est situé à 290.2 eV et celui du pic O1s à 535.2 eV, ce qui est bien plus élevé que ce qui est généralement observé sur diamant massif [194].

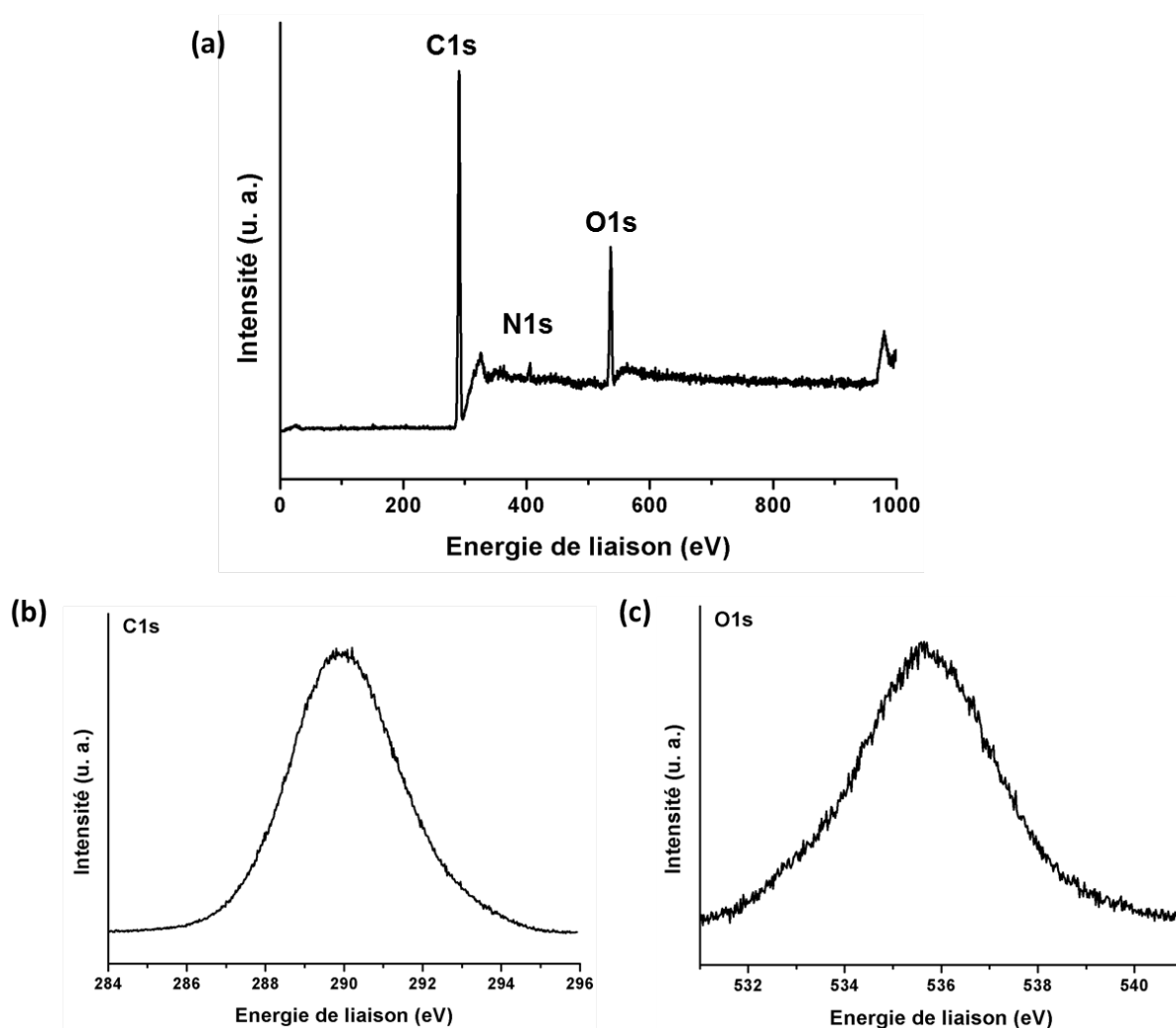


FIGURE 3.5 – Spectre XPS général (a) et niveaux de cœur du carbone C1s (b) et O1s (c) des NDs-COOH.

Sur le spectre FTIR des NDs recuits 4h à 400°C (Figure 3.6), on observe clairement l'apparition de fonctions acides carboxyliques avec une bande fine et intense à 1790 cm^{-1} , caractéristique des étirements des liaisons C=O dans les acides carboxyliques, associée à deux larges bandes entre 3000 et 3500 cm^{-1} et à 1120 cm^{-1} des groupements hydroxyles. Ces NDs seront ainsi nommés NDs-COOH. Le pic des étirements C=O est décalé vers les hauts nombres d'ondes, ce qui pourrait être lié à des effets de taille ou aux interactions entre les groupements carboxyles [201]. En revanche, les liaisons CH_x à 2800 - 3000 cm^{-1} initialement présentes ne sont plus visibles après recuit sous air.

La surface des NDs est donc efficacement oxydée après recuit sous air, avec la création d'acides carboxyliques d'après les spectres FTIR. La disparition des fonctions CH_x sur le spectre FTIR montre que les chaînes hydrocarbonées en surface ont été éliminées. Cela est sans doute dû au fait que le carbone amorphe présent en surface sur les

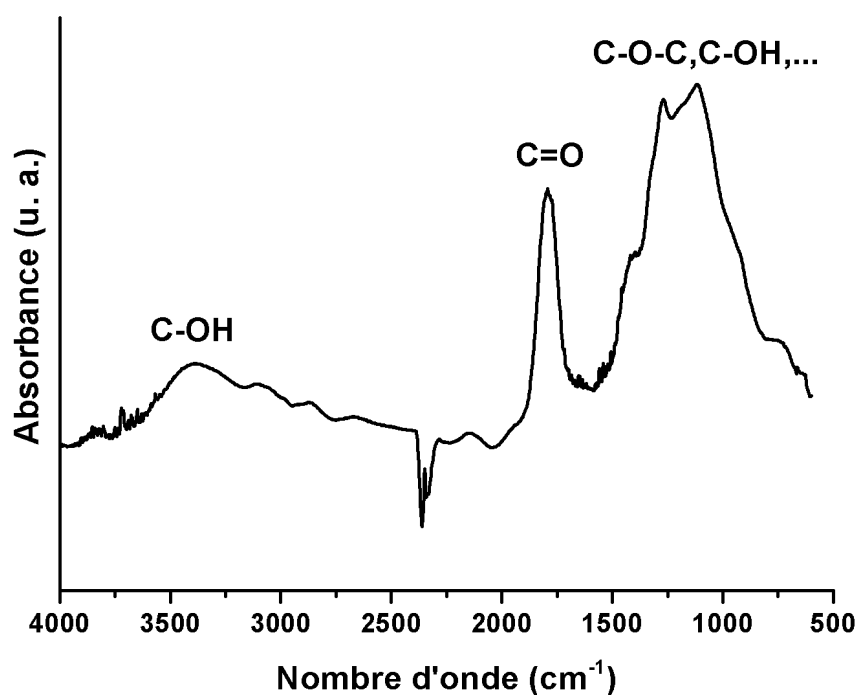


FIGURE 3.6 – Spectre FTIR des NDs-COOH après recuit *in situ* à 200 °C.

NDs-init est gravé plus rapidement que le diamant à cette température. La température joue un rôle très important sur la vitesse de gravure des NDs. Nous avons en effet observé une perte de masse très importante (environ 90 %) après un recuit à 450°C pendant 4 h, montrant que le carbone diamant est également gravé à cette température. A 400°C, la perte de masse est limitée à moins de 10 %, indiquant que le cœur diamant reste stable. Ce résultat est cohérent avec les observations de Osswald *et al* [116].

3.3 Hydrogénation par plasma CVD

Dans un deuxième temps, l'effet d'un traitement d'hydrogénation par plasma CVD généré par micro-ondes (MPCVD) a été étudié. Cette technique est couramment utilisée pour saturer la surface de films de diamant par des atomes d'hydrogène, ce qui peut conférer au diamant des propriétés particulières (voir 1.5). L'hydrogénation permet de désorber les terminaisons oxydées et de saturer les liaisons pendantes par des atomes d'hydrogène, tout en gravant préférentiellement le carbone amorphe et sp^2 en parallèle. En effet, la gravure du carbone sp^2 est particulièrement rapide sous hydrogène atomique [202]. Afin de pouvoir graver efficacement les structures graphitiques et amorphes, il faut que la surface soit exposée à de l'**hydrogène atomique**. Cet hydrogène atomique peut être généré par dissociation des molécules de dihydrogène en utilisant un filament chaud [200] ou le champ électrique associé à des ondes radio ou micro-ondes. C'est cette dernière approche qui est utilisée au laboratoire et qui va être détaillée dans cette étude. A noter, si l'on veut simplement réduire la plupart des fonctions oxydées en surface sans graver le carbone non-diamant, un recuit sous atmosphère d'hydrogène est suffisant [86].

Pour commencer, une étude séquentielle sous UHV associant des expositions au plasma H_2 et des analyses XPS et réalisée avec des NDs préalablement déposés sur un substrat est présentée. Cette première étude a pour but de déterminer les conditions expérimentales nécessaires pour obtenir une **hydrogénation efficace, c'est-à-dire induisant la disparition totale d'oxygène à la surface des NDs et gravant le carbone non-diamant**. Ces conditions seront ensuite transférées sur le montage permettant de traiter de grandes quantités de NDs (voir 2.1.3).

3.3.1 Rôle de la température des nanodiamants lors du plasma hydrogène : Étude séquentielle sous ultravide

La température des NDs joue un rôle crucial aussi bien pour les effets thermiques (désorption) que chimiques (gravure) ayant lieu dans le plasma d'hydrogène. D'une part, les groupements chimiques de surface des NDs ayant des températures de désorption différentes, certains groupes ne pourront pas être éliminés en-dessous d'une température critique. D'autre part, la densité d'hydrogène atomique, et donc la vitesse de gravure du carbone non-diamant, est directement liée à la température. Lors d'une hydrogénation par plasma induit par micro-ondes, la température de l'échantillon est contrôlée par le couple pression/puissance micro-ondes [203]. Pour des valeurs croissantes de ce couple, on observe une augmentation de la température liée à une plus grande concentration d'hydrogène atomique dans le plasma [204]. La pression en hydrogène et la puissance micro-onde ont ainsi été modulées afin d'obtenir différentes températures d'échantillons.

3.3 Hydrogénation par plasma CVD

Echantillon	Pression (mbar)	Puissance micro-ondes (W)	Température du substrat (°C)
A	17	500	520
B	22	700	640
C	26	850	700
D	35	1100	860

TABLE 3.3 – Paramètres des plasmas d'hydrogène utilisés pour les traitements de surface des NDs.

Les conditions utilisées sont résumées dans le tableau 3.3. Afin de ne considérer que le rôle de la température dans un premier temps, l'échantillon a été exposé au plasma pour une durée constante de 15 minutes, à partir de la stabilisation en température.

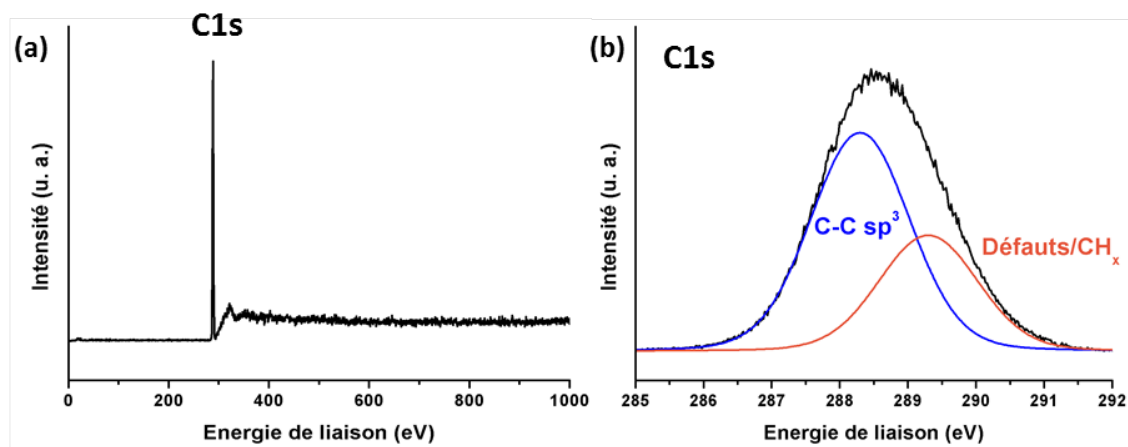


FIGURE 3.7 – Spectre XPS général (a) et niveau de cœur du carbone C1s (b) des NDs après un plasma d'hydrogène à 860°C.

La chimie de surface des NDs après ces traitements a été caractérisée par XPS. Après une hydrogénation à la température maximale étudiée (860°C), l'oxygène n'est plus détectable, indiquant une concentration atomique inférieure à 0.5 % at. (Figure 3.7). De plus, le niveau de cœur du carbone C1s s'est affiné (FWHM = 2.1 eV au lieu de 2.9 eV), et est déplacé vers les hautes énergies à 288.6 eV (Figure 3.7). L'affinement du pic est dû à la disparition des liaisons C-O, ce qui est en accord avec l'absence d'oxygène sur le spectre général. Le déplacement vers les hautes énergies de liaison correspond à une augmentation des effets de charge. Cela est cohérent avec une augmentation de la résistivité

de la couche de NDs après hydrogénation sous vide, ce qui a déjà été observé sur des NDs après hydrogénation sous UHV [205]. Le pic C1s est constitué de 2 composantes à 288.3 et 289.3 eV, ayant une largeur à mi-hauteur de 1.7 eV, attribuées au carbone hybridé sp^3 et au défauts/ CH_x , respectivement. Il est important de préciser que l'analyse XPS ne permet pas de discriminer les liaisons C-H par rapport aux liaisons C-C hybridés sp^3 . En effet, cet écart en énergie est de l'ordre de 0.1 eV alors que la résolution en énergie de notre appareillage est de 0.6 eV. Un léger décalage vers les hautes énergies est détectable seulement dans le cas de liaisons multiples avec des atomes d'hydrogène [206]. Le pic lié aux défauts et aux CH_x est toujours présent, mais il ne représente plus que 35 % de l'aire totale du pic (53 % initialement). **Outre la désorption de l'oxygène, l'hydrogénation sature donc une partie des liaisons pendantes présentes à la surface des NDs.**

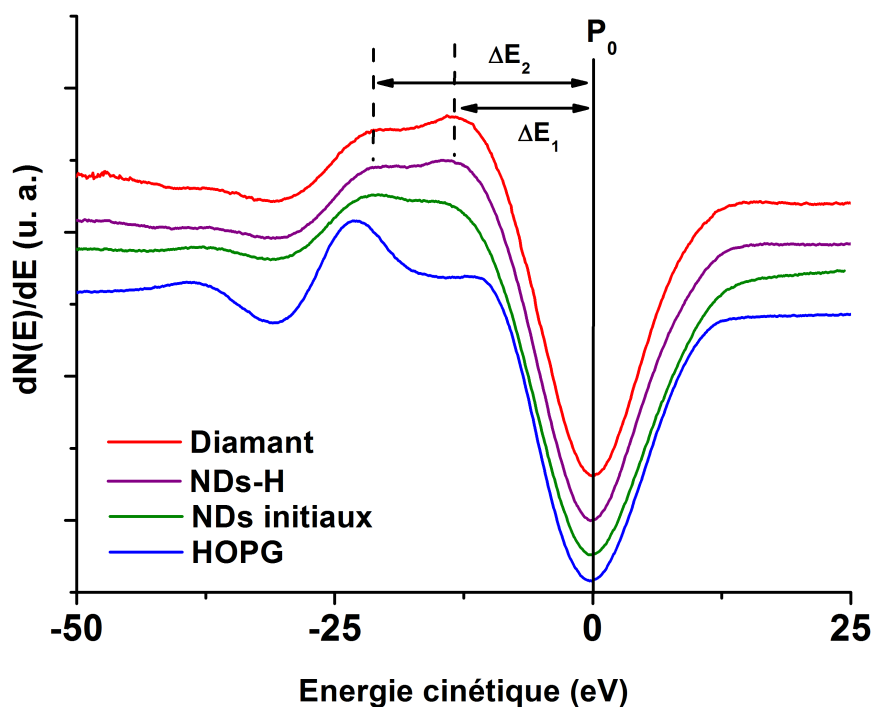


FIGURE 3.8 – Spectres AES des NDs-H, comparés aux NDs initiaux, au diamant massif et au graphite HOPG. L'énergie cinétique est exprimée relativement au minimum principal P_0 .

Le spectre AES de ces NDs-H est très proche de celui du diamant massif (Figure 3.8), ce qui est aussi le cas pour les écarts ΔE_1 et ΔE_2 qui sont de 13.1 ± 0.3 eV et 20.0 ± 0.3 eV, respectivement (Figure 3.2). Cela indique une réduction du carbone amorphe en surface et donc une surface plus proche du diamant massif hydrogéné, ce qui est cohérent

avec la gravure se produisant lors du plasma d'hydrogène.

Après des plasmas d'hydrogène effectués à plus basse température, de l'oxygène résiduel sur la surface des NDs est encore détecté pour un temps de plasma de 15 minutes. C'est notamment le cas pour des plasmas réalisés à des températures mesurées inférieures à 700°C comme indiqué sur la figure 3.9. Ainsi, seulement 53 % de l'oxygène initialement présent est éliminé après un traitement plasma à 520°C. Cela confirme que la température joue un rôle important sur l'efficacité du plasma d'hydrogène. Pourtant, cette élimination incomplète de l'oxygène peut être due à une cinétique de désorption plus lente, ou à l'existence d'une température critique pour supprimer cet oxygène résiduel. C'est pourquoi nous allons maintenant nous intéresser à la cinétique de l'hydrogénation à température constante.

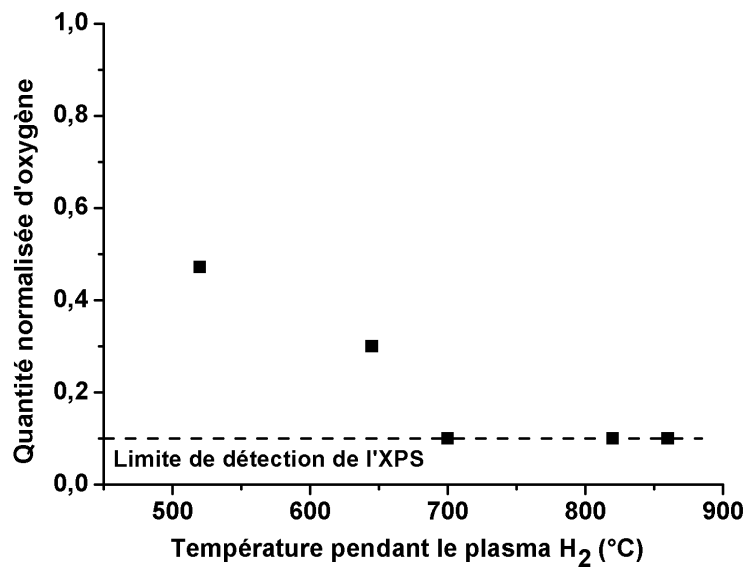


FIGURE 3.9 – Evolution de la quantité d'oxygène en fonction de la température des NDs pendant le plasma. La quantité d'oxygène est normalisée par rapport à sa valeur initiale.

3.3.2 Cinétique d'hydrogénation

Pour étudier la cinétique d'hydrogénation, le temps d'exposition au plasma a été modifié en gardant les mêmes paramètres expérimentaux que précédemment. Dans un premier temps, nous avons observé qu'un traitement plasma réalisé à 700°C, sur une durée de 7 minutes au lieu de 15 minutes ne permet pas d'éliminer complètement l'oxygène sur la surface des NDs. La durée du plasma est donc aussi un paramètre important à optimiser.

A 520°C, en revanche, le rallongement de la durée du plasma ne permet pas d'éliminer totalement l'oxygène résiduel : comme observé sur la figure 3.10, après 120 minutes de plasma, 43 % at. de l'oxygène initial est encore détecté.

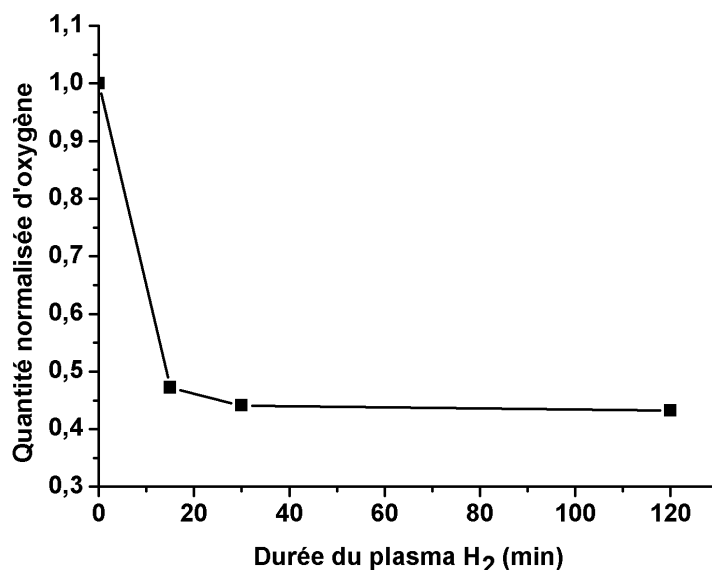


FIGURE 3.10 – Evolution de la quantité d'oxygène en fonction de la durée du plasma.

Cette étude indique que la **température mesurée de 700°C est donc une valeur limite pour assurer l'élimination totale de l'oxygène pour nos NDs**. A plus basse température, il est possible que la concentration en hydrogène atomique dans le plasma soit trop faible pour éliminer les groupes oxydés, qui sont normalement désorbés à plus haute température. Étant donné les effets de charges observés sur nos échantillons, il est difficile d'estimer la nature des groupements oxydés encore présents à la surface des NDs après plasma en étudiant l'énergie de liaison du pic O1s. En revanche, de nombreuses études ont montré qu'il y avait effectivement certains groupements oxydés qui n'étaient désorbés qu'à haute température [90]. Pourtant à haute température, nous allons voir dans la partie suivante que la formation de reconstructions graphitiques est probable. C'est pourquoi l'utilisation d'un plasma CVD d'hydrogène est particulièrement intéressante, car **la présence d'hydrogène atomique permet de monter à haute température afin d'assurer une désorption efficace des fonctions oxydées tout en empêchant la formation de structures graphitiques**, qui sont gravées par l'hydrogène atomique comme le carbone amorphe.

3.3.3 Hydrogénation de nanodiamants sous forme pulvérulente

Les conditions de traitements optimales déterminées par l'étude séquentielle sous UHV vont être maintenant utilisées pour la préparation de NDs-H sous forme pulvérulente et non plus déposés sur un substrat. Pour cela, le montage décrit dans la partie 2.1.3 a été utilisé. Les NDs-H préparés sur ce dispositif, en utilisant les conditions déterminées par l'étude *in situ* sous ultravide, ont à leur tour été caractérisés afin de valider l'efficacité du traitement d'hydrogénation. Tout d'abord, des NDs-H ont été imagés par HRTEM (Figure 3.11), ce qui n'était pas possible à l'issue de l'étude précédente. On observe que le cœur diamant présente des facettes bien définies comparativement aux NDs initiaux (Figure 3.1). Ce cœur de diamant est recouvert d'une couche de nature indéfinie qui est sans doute associée à des hydrocarbures adsorbés à la surface. Il peut aussi s'agir d'un phénomène de diffraction des électrons dû au fait que le ND-H se situe en bordure de la grille d'observation. Il ne s'agit pas *a priori* de carbone amorphe comme observé sur les NDs initiaux car les caractérisations XPS montrent une réduction très importante des défauts de surface, principalement liés au carbone amorphe comme discuté précédemment.

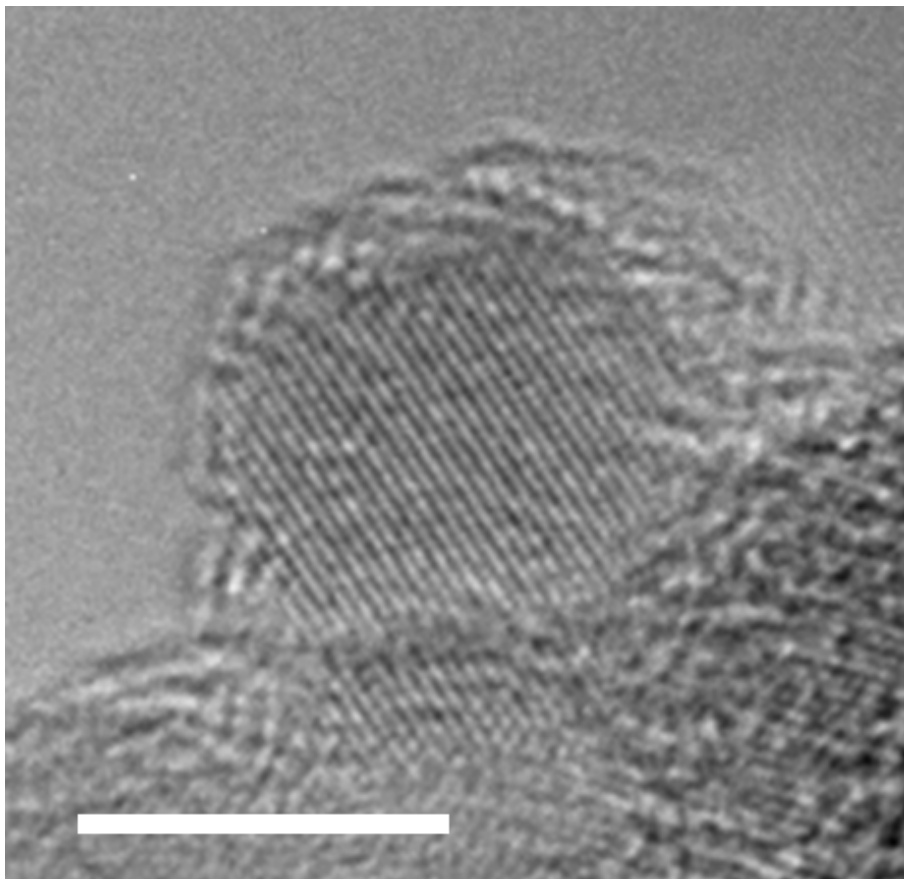


FIGURE 3.11 – Cliché HRTEM d'un ND-H. La barre d'échelle est de 5 nm.

Ces NDs hydrogénés ont aussi été caractérisés par XPS, et des concentrations de 3.0 % at. et 5.7 % at. d'oxygène et d'azote, respectivement, ont été mesurées. L'augmentation de la concentration d'azote par rapport aux NDs-init et la présence d'oxygène alors que dans les conditions utilisées l'oxygène a été totalement désorbé indiquent qu'il y a une adsorption importante de molécules à la surface des NDs-H. Cette couche d'adsorbat a effectivement été observée par HRTEM (Figure 3.11). Le spectre C1s peut être déconvolué avec trois composantes situées à 285.6, 286.6 et 287.5 eV (Figure 4.1). Ce spectre C1s est proche de celui mesuré sur les NDs-H préparés *in situ* après exposition à l'air. La modification du spectre C1s étant liée à des interactions avec des molécules présentes à l'air, les différentes composantes de ce spectres seront discutées dans la partie 4.1.

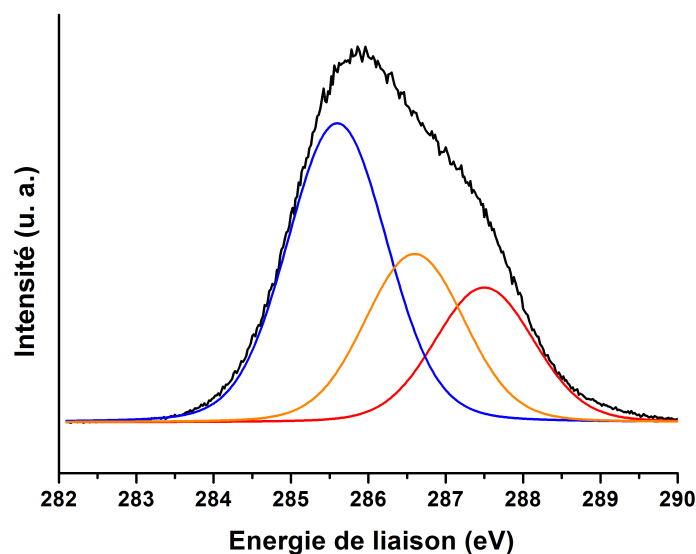


FIGURE 3.12 – Spectre XPS C1s des NDs-H préparés sous forme pulvérulente.

3.3.4 Bilan

L'utilisation d'un plasma d'hydrogène généré par micro-onde permet donc une hydrogénation très efficace des NDs. A des températures supérieures à 700°C, il est possible d'éliminer complètement l'oxygène initialement présent à la surface des NDs, comme observé par XPS. Le spectre AES et le cliché HRTEM des NDs-H indique aussi que le carbone est gravé en utilisant ce traitement. En effet, deux processus coexistent pendant le plasma d'hydrogène, qui sont la désorption des espèces chimiques à la surface des NDs due à l'élévation de température et la gravure du carbone amorphe et graphitique par l'hydrogène atomique présent dans le plasma. Après exposition à l'air, la surface des

NDs-H semble se réoxyder instantanément. Ce phénomène sera étudié plus en détail dans le chapitre 4.

3.4 Graphitisation de surface des nanodiamants par recuit sous vide à haute température

Nous allons maintenant nous intéresser à la graphitisation de surface des NDs par recuit sous vide à haute température. Le but est d'arriver à former une couche de carbone graphitique en surface sans modifier le cœur diamant des NDs. Ces structures hybrides permettent d'étendre les propriétés des nanomatériaux à base de carbone sp^2 aux NDs. Comme détaillé dans le chapitre 1, les nanomatériaux carbonés hybrides sont susceptibles d'avoir une réactivité chimique ou catalytique et des propriétés électroniques uniques.

3.4.1 Rôle de la température : Étude séquentielle sous ultravide

3.4.1.1 Analyse XPS

Similairement à l'étude précédente sur l'hydrogénation, il s'agit dans un premier temps d'étudier l'effet de la température lors de recuits sous vide sur l'efficacité de la graphitisation de surface, qui est déterminée par la formation de carbone sp^2 sans modifier le carbone sp^3 présent au cœur des NDs. Cette étude se fera sous UHV et des caractérisations *in situ* XPS et AES seront effectuées après des recuits séquentiels à des températures de 700, 900 et 1100°C pendant 1h et 3h.

Après une heure de recuit sous UHV à 700°C, seulement quelques traces d'oxygène sont mesurées, indiquant que la concentration est de l'ordre de 0.5 % at. Cet oxygène n'est plus détecté après 3 h de recuit. En parallèle, on observe une réduction significative des effets de charge et le pic C1s est situé à une énergie de 286.0 eV avec une réduction de sa largeur à mi-hauteur à 2.1 eV. Cependant, ces valeurs sont toujours supérieures à celles observées sur diamant massif, indiquant que les effets de taille nanométrique conservent un rôle sur la forme des pics XPS (voir 2.2.2.1). Le pic C1s peut être déconvolué en utilisant trois composantes situées à 284.5, 285.9 et 286.9 eV (Figure 3.13 (a)). Ces pics seront nommés CI, CII et CIII, respectivement, dans la suite de l'étude et les paramètres utilisés pour optimiser la déconvolution sont résumés dans le tableau 3.4. Ces paramètres ont été maintenus constants pour les recuits à la même température, et seule l'énergie de liaison a été légèrement modifiée de manière à garder un bon accord avec les courbes expérimentales.

3.4 Graphitisation de surface des nanodiamants par recuit sous vide à haute température

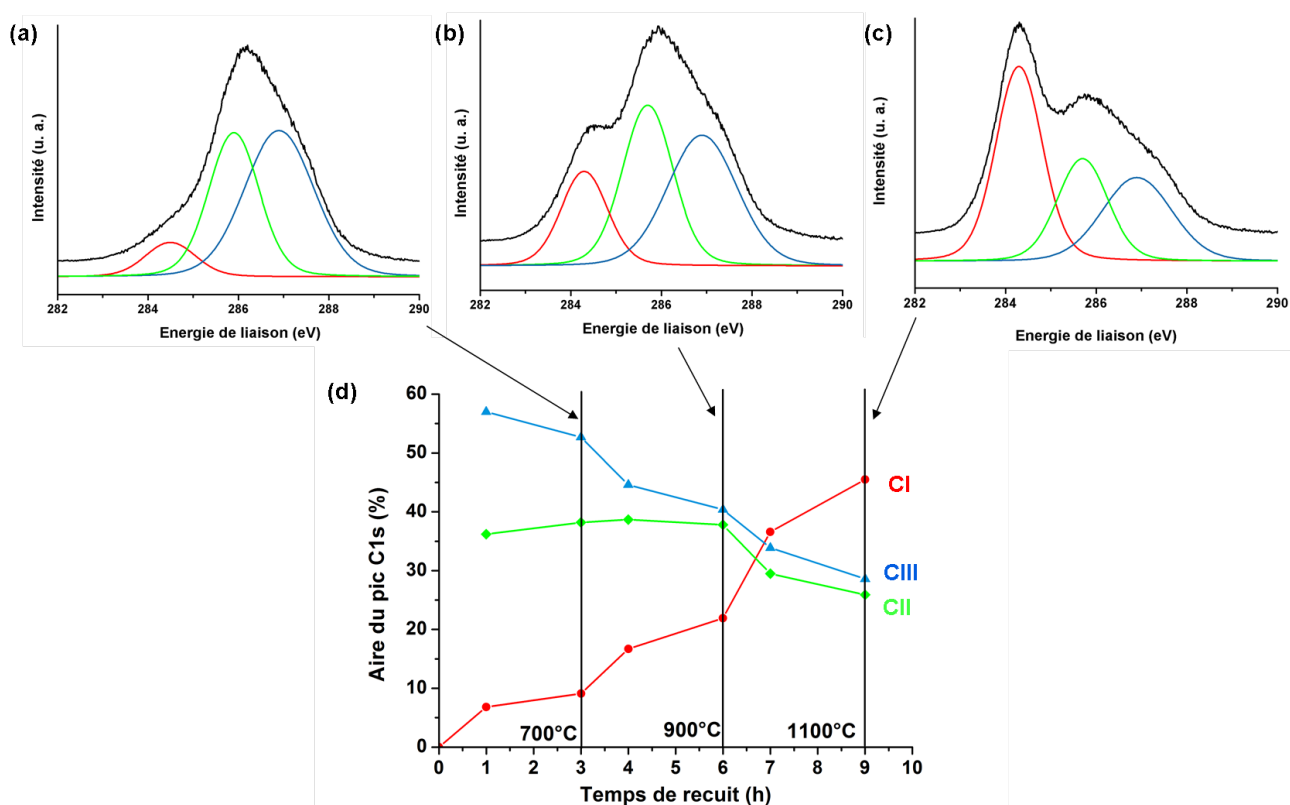


FIGURE 3.13 – Spectres C1s des NDs après 3h de recuit à 700°C (a), 900°C (b) et 1100°C (c). L'évolution des différentes composantes liées au carbone sp^2 (rouge), au carbone sp^3 (vert) et aux défauts/ CH_x (bleu) est indiquée (d).

CI et CII sont attribués aux liaisons C-C sp^2 et sp^3 , respectivement. Ces pics sont décalés de + 0.4 eV et +0.9 eV, respectivement, par rapport aux références HOPG et diamant polycristallin mesurées sur le même appareillage dans les mêmes conditions (voir annexe B). La largeur à mi-hauteur est aussi plus élevée, avec une valeur de 1.3 eV au lieu de 0.8 eV.

La composante CIII, située à + 1.0 eV par rapport au pic CII, est probablement associée aux défauts présents en surface des NDs comme discuté précédemment dans la partie 3.1. L'absence d'oxygène sur l'échantillon exclut ici toute contribution de liaisons carbone-oxygène. Étonnamment, cette composante n'a jamais été identifiée sur des surfaces de films de diamant ou de NDs après recuits sous vide alors qu'elle constitue une part très significative du pic C1s dans nos spectres. Dans le cas des surfaces de diamant, ces études sont généralement faites sur des couches monocristallines, ayant en plus subi au préalable un traitement d'hydrogénation [207, 208], présentant donc une très faible concentration initiale de défauts. Dans notre cas, les recuits sont effectués sur des NDs initialement recouverts d'une couche amorphe, comme montré précédemment, qui peut donc être à l'origine de ces défauts observés en XPS. Concernant les études de recuits sous

Contrôle de la chimie de surface des nanodiamants par traitements physico-chimiques

Composante	Attribution		700°C	900°C	1100°C
CI	sp^2	Énergie de liaison (eV)	284.5	284.4	284.3
		FWHM (eV)	1.3	1.3	1.2
CII	sp^3	Énergie de liaison (eV)	285.9	285.8	285.7
		FWHM (eV)	1.3	1.3	1.3
CIII	Défauts/C-N/ CH_x	Énergie de liaison (eV)	286.9	286.9	286.9
		FWHM (eV)	1.8	1.8	1.8

TABLE 3.4 – Paramètres de déconvolution des pics C1s après recuit sous UHV.

vide plus spécifiques aux NDs dans la littérature, cette composante a déjà été observée, mais est attribuée aux liaisons C-O, malgré la faible concentration en oxygène mesurée au niveau de cœur O1s [205, 108]. Comme mentionné plus haut, l'absence d'oxygène sur notre échantillon exclut cette hypothèse. De plus, la concentration en azote (4.0 % at.) n'est pas assez élevée pour justifier un pic C-N de cette intensité, et cette concentration varie peu lors des différents recuits, contrairement à l'aire de la composante CIII. L'attribution de ce pic aux liaisons CH_x est aussi difficile, car même après recuit à 1100°C, ce pic représente une part importante du pic C1s par rapport au carbone sp^3 , alors que les liaisons CH_x devraient être désorbées de la surface à cette température [208]. Enfin, il est peu probable que ce pic soit lié à un effet de charge, car les paramètres de déconvolution du pic ne varient pas au cours des différents recuits, même une fois que le carbone hybridé sp^2 , qui a de bonnes propriétés de conduction électrique, est majoritaire. Pour ces raisons, CIII peut être attribué aux défauts structuraux, déjà présents sur la surface initiale comme discuté dans la partie 3.1. L'écart en énergie varie entre + 1.0 eV et + 1.2 eV suivant le recuit. Ce déplacement est comparable aux défauts induits par bombardement ionique sur le diamant massif [195]. Cette variation de 0.2 eV est faible devant la résolution expérimentale de notre appareillage (0.6 eV). Elle est donc attribuée à une variation expérimentale plutôt qu'à un effet physique.

En plus des défauts initialement présents à la surface des NDs, la **désorption de l'oxygène peut créer des défauts supplémentaires**. En effet, cette désorption induit la présence de liaisons pendantes en surface des NDs, qui ne sont pas énergétiquement stables mais peuvent être dans un état métastable sous UHV. A une pression de $2 \times 10^{-10} mbar$, la faible densité de molécules résiduelles ne permet pas de passiver la surface. Cet effet a déjà été observé par Cui et al sur du diamant monocristallin orienté

3.4 Graphitisation de surface des nanodiamants par recuit sous vide à haute température

selon la direction (111). Après un recuit sous UHV à 730°C, la concentration de liaisons pendantes à la surface pouvait atteindre 70 % [208]. Dans cette étude il est montré que des recuits de durée plus longue ou à plus haute température induisent une reconstruction de type (2 x 1) de la surface (111) de diamant une fois que la concentration critique de liaisons pendantes à la surface est atteinte.

Maintenant que l'origine de chaque composante du spectre XPS a été établie, l'effet de la température sur les modifications de surface peut être discuté. Les niveaux de cœur C1s obtenus après 3h de recuit à 900 et 1100°C sont présentés sur la figure 3.13 (b) et (c), respectivement. L'évolution des proportions entre les trois pics a été quantifiée et est représentée sur la figure 3.13 (d). En particulier, il faut noter l'accroissement progressif de la composante liée au carbone sp^2 , qui représente 45 % du pic C1s après le dernier recuit à 1100°C, mettant en évidence la graphitisation de la surface. Cette graphitisation reste incomplète puisque la composante liée au cœur diamant est toujours présente. La vitesse de graphitisation augmente significativement avec la température et n'est pas linéaire. En effet, après 3h de recuit à 700°C, l'aire de la composante CI, liée au carbone sp^2 , représente 9 % du pic global, ce pourcentage augmentant à 22 % à 900°C et à 45 % à 1100°C, pour la même durée de recuit. L'évolution des deux autres composantes CII et CIII permet de montrer qu'il y a en fait deux mécanismes de graphitisation distincts pour des températures inférieures ou supérieures à 900°C.

A 700 et 900°C, on observe que l'aire relative au pic CII reste constante tandis que CI augmente et CIII diminue. Le cœur diamant des NDs n'est donc pas modifié alors que les défauts de surface sont convertis en carbone sp^2 . La plupart de ces défauts sont situés dans la couche de carbone amorphe entourant le cœur diamant comme observé par HR-TEM (Figure 3.1). Cela correspond à **une transformation des défauts de surface des NDs en reconstructions graphitiques autour d'un cœur diamant non modifié**. Une évolution similaire a été observée lors du recuit sous vide de carbone amorphe tétraédrique [209]. Les électrons dépareillés des liaisons pendantes forment des liaisons π , plus stables, afin de réduire l'énergie de surface totale des NDs. Un effet de taille des NDs entre aussi en jeu, puisqu'il a été montré par simulations *ab initio* que pour des NDs de l'ordre de 5 nm, un cœur diamant entouré de reconstructions de type fulléréniques (FLRs pour Fullerene-like Reconstruction) constitue la forme la plus stable thermodynamiquement [210]. De plus, il a aussi été montré par simulation qu'une surface de NDs non saturée par des groupements chimiques ou des atomes d'hydrogène se reconstruit spontanément sous forme de FLRs [106]. Cela confirme aussi l'apparition de structures graphitiques sur les NDs après des recuits en dessous de 700°C observée par d'autres groupes [128].

A 1100°C, on observe cette fois une décroissance de CII et CIII, qui indique que le

cœur diamant est progressivement graphitisé. Le pic CIII ne disparaît pas complètement, ce qui est en accord avec le modèle de graphitisation du diamant induit par les liaisons pendantes proposé par Li et Zhao, à partir de simulations basées sur la théorie de la fonctionnelle de la densité [211]. Ces auteurs ont montré qu'à l'interface du graphite et du diamant, la délamination des plans (111) du diamant est induite par les liaisons pendantes. Sur la figure 3.14, les atomes de carbone coordonnés à trois ou quatre atomes sont indiqués en rouge et vert, respectivement.

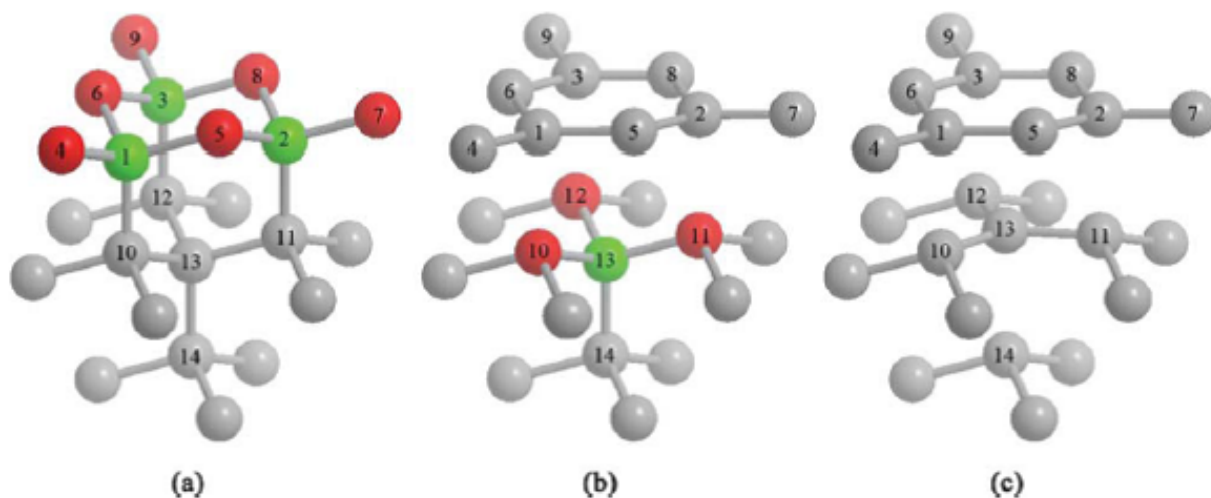


FIGURE 3.14 – *Modèle de la graphitisation induite par les liaisons pendantes sur une surface (111) proposé par Li et Zhao. D'après la référence [211].*

En considérant que tous les atomes de la surface ont une liaison pendante (coordination de trois), il y a donc trois atomes avec une liaison pendante pour un atome coordonné à 4 atomes, ce qui induit une forte contrainte sur ce dernier atome. Cela implique un rallongement des liaisons 1-10, 2-11 et 3-12 (les numéros correspondent aux atomes de carbone indiqués sur la figure 3.14) qui seront donc plus facilement rompues, par exemple en cas d'élévation de la température lors d'un recuit dans notre cas. La rupture de ces liaisons conduit à la formation d'un plan d'atomes de carbone hybridés sp^2 , et à la création de nouvelles liaisons pendantes sur le plan inférieur. La concentration de liaisons pendantes est donc divisée par 2 à chaque délamination de plans graphitiques, et la graphitisation se transmet progressivement perpendiculairement aux plans (111) du diamant.

3.4.1.2 Analyse AES

La spectroscopie d'électrons Auger permet aussi de suivre cette graphitisation de surface plus superficiellement. Les spectres obtenus après recuits à 900°C et 1100°C sont présentés sur la figure 3.15. Le spectre obtenu pour des NDs hydrogénés est utilisé comme

3.4 Graphitisation de surface des nanodiamants par recuit sous vide à haute température

référence sp^3 tandis que le spectre du HOPG sert de référence sp^2 . Le spectre obtenu après 1 h de recuit à 900°C est très proche du spectre des NDs-H, contrairement au spectre des NDs initiaux (Figure 3.3). L'analyse AES est en effet très surfacique et donc particulièrement sensible à la contamination et au carbone amorphe de surface. Après recuit à 900°C , les espèces adsorbées sont totalement désorbées et le carbone amorphe est progressivement transformé, donc le signal du cœur diamant devient plus visible. Sur les spectres, le premier maximum ne permet pas d'obtenir beaucoup d'informations sur l'évolution de la surface à cause de la faible résolution. Au contraire, au cours de la graphitisation, on observe des modifications significatives du deuxième maximum. L'évolution est particulièrement visible après normalisation des spectres par rapport aux valeurs de P_0 et du point arbitraire entre les deux maxima indiqué par une flèche sur la Figure 3.15. Du point de vue de l'allure générale du spectre, on observe une augmentation progressive de ce maximum, qui se rapproche progressivement de celui du HOPG. Les valeurs de l'écart ΔE_2 , calculé entre le minimum principal P_0 et le deuxième maximum, évoluent progressivement vers celles du HOPG pour une température de recuit croissante (Tableau 3.5).

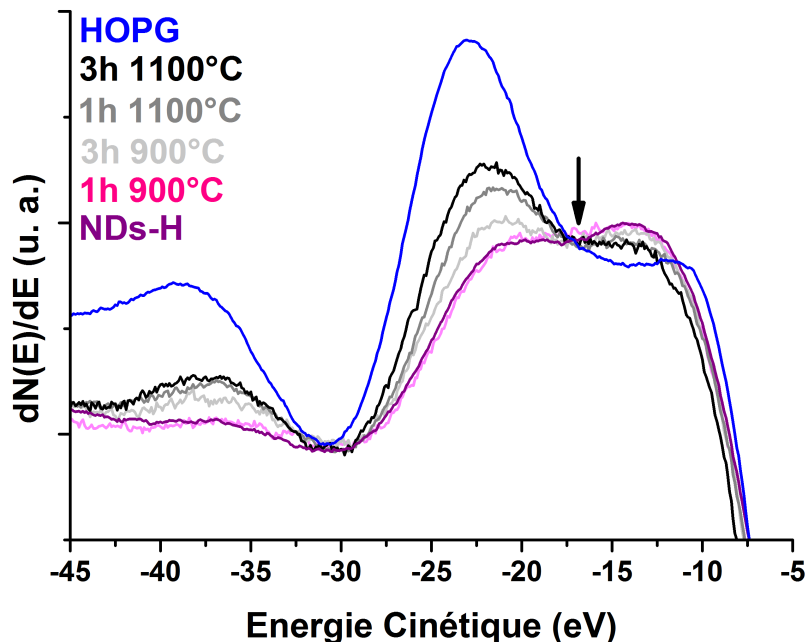


FIGURE 3.15 – Spectres AES de la transition KVV du carbone après recuit à différentes températures. La zone du spectre contenant les deux maxima a été agrandie pour faciliter l'interprétation des courbes. Les spectres sont normalisés par rapport au point indiqué par la flèche. L'énergie cinétique est exprimée relativement au minimum principal P_0 .

Contrôle de la chimie de surface des nanodiamants par traitements physico-chimiques

Échantillon	NDs-H	1h 900°C	3h 900°C	1h 1100°C	3h 1100°C	HOPG
ΔE_2 (eV)	20.0 ± 0.3	20.3 ± 0.3	21.1 ± 0.3	21.6 ± 0.3	22.3 ± 0.3	23.0 ± 0.2

TABLE 3.5 – Evolution de l'écart ΔE_2 en fonction de la température de recuit.

Pourtant le **spectre AES des NDs fortement graphitisés reste différent du HOPG**. En considérant la faible profondeur de sonde de l'AES, on peut considérer que seuls les plans graphitiques de surface sont sondés, à l'exclusion des plans du cœur. En effet, on est alors dans le cas d'une graphitisation du cœur diamant comme validé en XPS. En XPS, le pic lié au carbone sp^2 est très fin (FWHM = 1.2 eV), indiquant une bonne qualité cristalline des plans graphitiques. Cependant, il est possible que la différence observée par rapport au HOPG au niveau du spectre AES provienne d'un effet de courbure des plans graphitiques sur les NDs graphitisés. Cette courbure peut modifier l'énergie de liaison des électrons dans les atomes de carbone, modifiant de manière plus importante les spectres AES que les spectres XPS. Cette étude illustre d'ailleurs la grande sensibilité de la spectroscopie Auger à l'hybridation des atomes de carbone de surface.

3.4.1.3 Bilan

Pour résumer, il y a donc **deux régimes de graphitisation différents en fonction de la température**. En dessous de 900°C, des reconstructions graphitiques de surface se produisent à partir des défauts structuraux présents initialement à la surface ou bien créés lors de la désorption des groupements chimiques de surface, mais le cœur diamant n'est pas modifié. Au-dessus de 900°C, le cœur diamant est progressivement graphitisé selon un mécanisme impliquant des liaisons pendantes, concernant a priori uniquement les plans (111) du diamant. **Cette réactivité de surface est très différente du diamant massif**, qui n'est graphitisé que pour des températures de recuits supérieures à 1600°C [127]. Au-dessus de cette température, le diamant est instantanément transformé en graphite et la graphitisation de surface n'est pas contrôlable. La taille nanométrique permet donc de modifier significativement la réactivité de surface du diamant permettant de créer des structures hybrides sp^3/sp^2 .

3.4.2 Graphitisation de surface de nanodiamants sous forme pulvérulente

D'après l'étude sous UHV, une température comprise entre 700 et 900°C est optimale pour l'obtention d'une surface graphitisée sans modification du cœur diamant. C'est ce cas précis qui nous intéresse puisqu'il permet de garder les propriétés intrinsèques du cœur diamant et d'y associer les propriétés de surface du carbone sp^2 . Le but est maintenant de pouvoir **traiter une large quantité de NDs sous forme pulvérulente tout en contrôlant la graphitisation de surface**. Pour cela, le montage présenté dans la partie 2.1.4 a été utilisé. Les caractérisations des NDs après ces recuits *ex situ* à 750°C entre 1h (NDs-1h) et 8h (NDs-8h) sont maintenant présentées, en commençant par des clichés HRTEM (Figure 3.16).

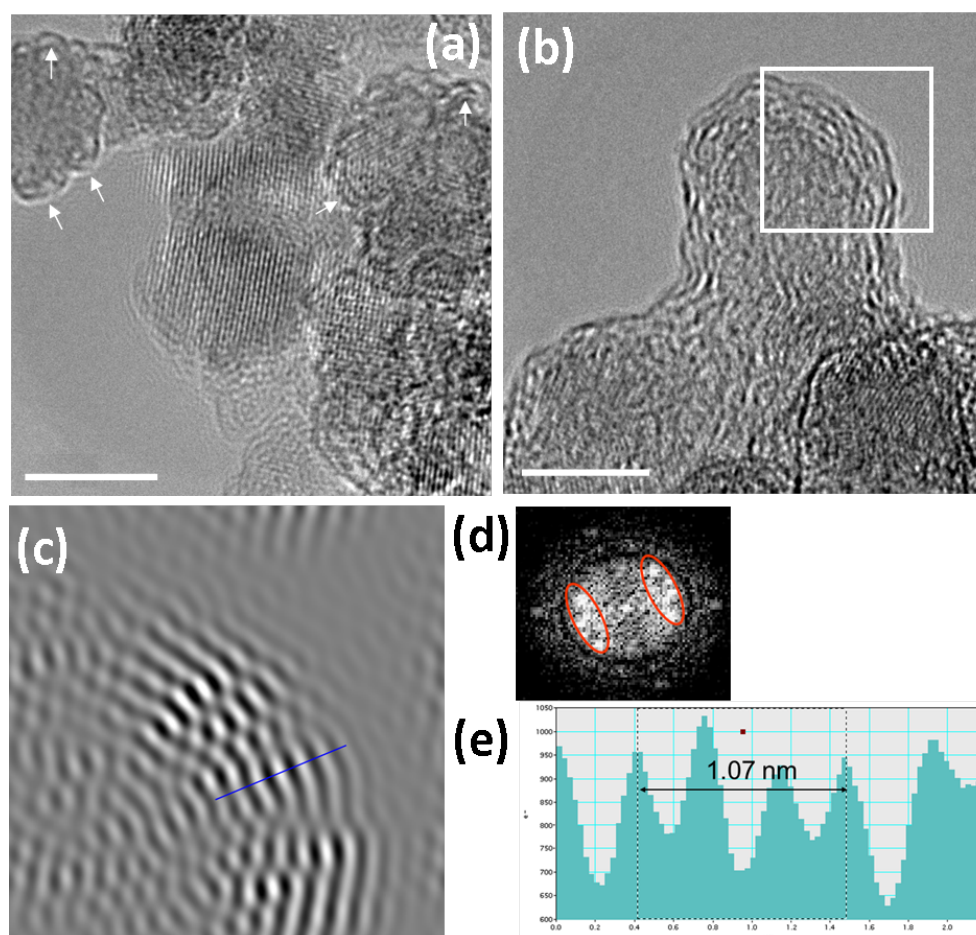


FIGURE 3.16 – Clichés HRTEM des NDs- sp^2 après 1h (a) et 8h (b) de recuit sous vide à 750°C. Les FLRs sont indiqués par des flèches blanches. Les échelles sont de 5 nm. (c) Couches graphitiques observées à la surface des NDs-8h, après filtrage FFT des plans sp^2 dans la zone encadrée dans (b). (d) Signal FFT obtenu de la surface des NDs, les plans sp^2 imagés dans (c) sont entourés en rouge. (e) Profil du contraste indiqué par la ligne bleue sur (c).

Après 1h de recuit, on observe l'apparition de reconstructions de surface courbées sur les NDs, de longueur inférieure à 2 nm. Ces structures correspondent aux FLRs, qui ressemblent à des fragments de fullerènes à la surface des NDs (Figure 3.17). On observe une répartition homogène de ces structures sur la surface des échantillons étudiés et très peu de multicouches graphitiques ont été détectées.

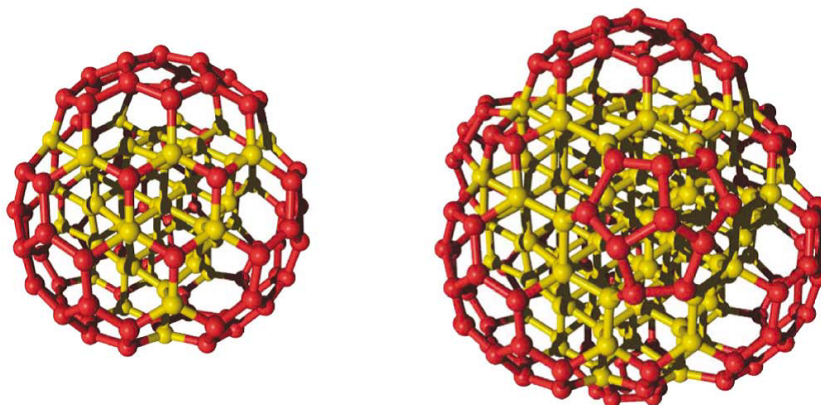


FIGURE 3.17 – Structures des FLRs sur des clusters de diamant calculés par simulation *ab initio*. D'après la référence [106].

Après 8h de recuit en revanche, la majorité des NDs était entièrement recouverte de couches graphitiques, pouvant aller jusqu'à 6 couches. La distance interplanaire entre ces couches est de 3.56 Å, qui est caractéristique du carbone graphitique. Cette distance a été déterminée en mesurant l'écart entre trois plans sp^2 sur la partie encadrée du ND-8h imagé sur la figure 3.16 (b), après filtrage par transformation de Fourier rapide (FFT) des plans sp^2 uniquement (figure 3.16 (c)-(e)). Ces couches sont discontinues et semblent avoir une structure moins ordonnée que les couches graphitiques obtenues après des recuits à plus hautes températures [107]. Les variations du nombre de couches graphitiques observées sur les différents NDs peuvent être dues à des variations de température à l'intérieur du creuset. La chimie de surface inhomogène des NDs initiaux a sans doute aussi un rôle, résultant en des différences de réactivité après recuit sous vide. En particulier, les NDs étant recouverts d'une couche de carbone amorphe initialement plus épaisse sont susceptibles d'avoir un plus grand nombre de couches graphitiques pour des recuits de température de longue durée, mais à une température de 900°C, donc en dessous du seuil de graphitisation du cœur diamant.

L'interface entre le cœur diamant et les reconstructions graphitiques a pu être imagée par HRTEM (Figure 3.18).

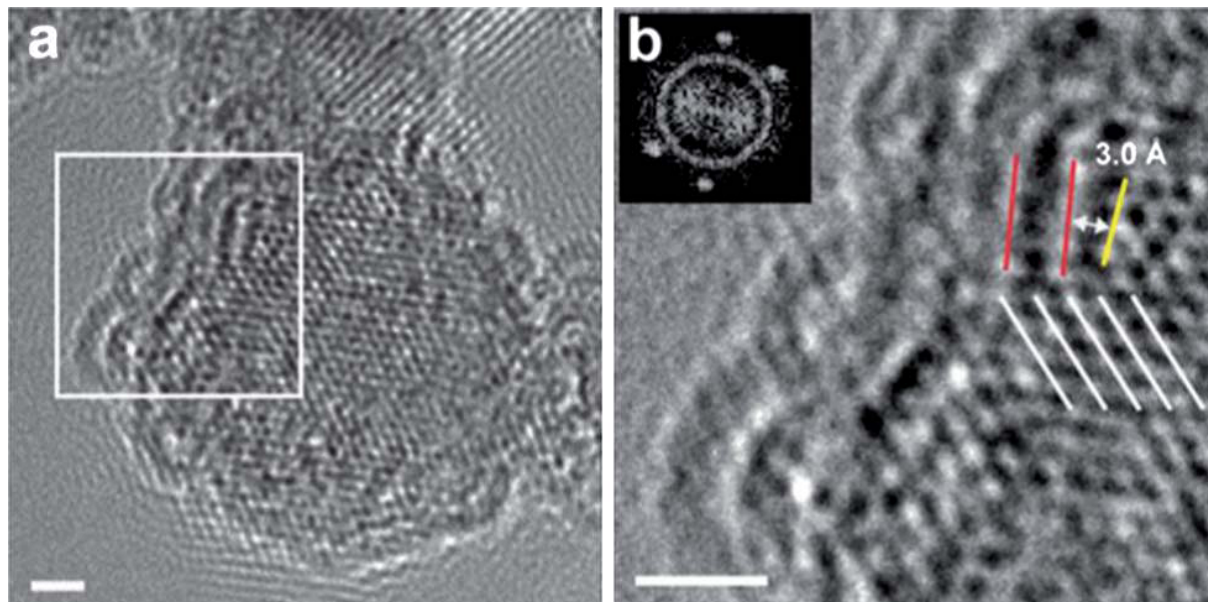


FIGURE 3.18 – Observation de l'interface diamant-couche graphitique à la surface d'un ND après 8h de recuit sous vide à 750°C. (b) agrandissement de la zone encadrée dans (a). En cartouche, signal FFT de l'image (b). Les échelles sont de 1 nm.

Une analyse FFT de l'interface indique la présence de 2 plans cristallins de diamant (111) bien définis représentés par 2 couples de points diamétralement opposés à une distance de 2.06 Å, et la présence de carbone graphitique aléatoirement orienté, induisant la présence d'un anneau à 3.56 Å (cartouche figure 3.18 (b)). En s'intéressant à la structure atomique de l'interface, des informations complémentaires peuvent être obtenues. A partir de 3 plans de diamant (111), indiqués par des lignes blanches sur la figure 3.18, on observe la formation de deux plans graphitiques (002), indiqués par des lignes rouges. Parallèlement au premier plan graphitique, un plan (100) tronqué est observé (ligne jaune), à une distance d'environ 3.0 Å du plan graphitique. C'est sur ce plan (100) que les liaisons pendantes, détectées par XPS pendant l'étude *in situ* (voir figure 3.13) et prédites par le modèle de graphitisation proposé par Li et Zhao, sont attendues [211].

Cette interface est en accord avec le modèle de graphitisation de type "zipper" proposé par Kuznetsov *et al* (Figure 3.19) [107]. Dans ce modèle, **les atomes de carbone du plan de diamant (111) intermédiaire sont répartis de manière équivalente dans les deux plans graphitiques formés**. Il y a donc une continuité entre les 2 plans de diamant (111) de part et d'autre du plan intermédiaire et les deux plans de graphite comme observé sur la figure 3.18.

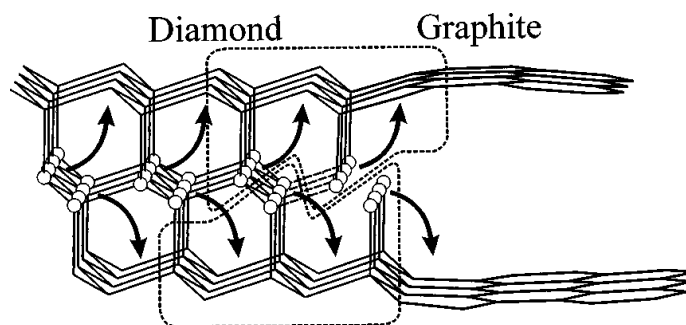


FIGURE 3.19 – Modèle de graphitisation selon un schéma de type fermeture éclair proposé par Kuznetsov et al. D'après la référence [107].

Comme pour le traitement *in situ*, la graphitisation des NDs après recuit sous forme pulvérulente a aussi été validée par des analyses XPS, permettant notamment de quantifier le ratio sp^2/sp^3 . A noter, la taille de sonde de l'XPS étant de l'ordre de plusieurs centaines de micromètres (voir chapitre 2), ce ratio est représentatif d'une moyenne sur l'ensemble des NDs, contrairement au HRTEM qui ne sonde que quelques NDs. Au niveau de l'oxygène, des concentrations atomiques de 2.0, 6.4 et 6.5 % at. ont été mesurées sur les NDs après 1h, 5h et 8h de recuit, respectivement. Nous avons montré précédemment lors de l'étude *in situ* que l'oxygène était totalement désorbé après recuit à 700°C. Cet oxygène provient donc de la **réoxydation de la surface et de l'adsorption de molécules oxygénées après exposition à l'air** pendant le transfert entre le four de recuit et la chambre d'analyse XPS. La nature de ces liaisons oxydées sera discutée dans le chapitre 5.

Les spectres XPS des niveaux de cœur du carbone C1s après les différents recuits *ex situ* sont indiqués sur la figure 3.20. On observe des phénomènes de charge importants, induisant un déplacement vers les hautes énergies de liaison et un élargissement des pics, contrairement aux spectres de NDs graphitisés obtenus lors de l'étude sous UHV. Une partie de cet effet de charge peut-être attribuée à l'adsorption d'oxygène sur les NDs, réduisant la conductivité des plans graphitiques les plus surfaciques. L'effet de charge est d'ailleurs moins marqué pour les NDs-5h et NDs-8h que pour les NDs-1h, indiquant qu'une plus grande quantité de sp^2 améliore l'évacuation des charges. Cependant, ces effets de charge peuvent aussi être partiellement induits par les conditions expérimentales de caractérisation. En effet, ces NDs sous forme pulvérulente ont nécessité l'utilisation d'une coupelle recouverte d'un film d'or pour les analyser. Ici, l'intérêt de l'or est de pouvoir quantifier de manière exacte la concentration atomique en oxygène des NDs sans avoir à prendre en compte la couche d'oxyde natif comme sur les substrats de silicium. Néanmoins, à la différence de l'étude *in situ* où seule une fine couche de NDs (dizaine de micromètre) était analysée, l'utilisation d'une coupelle entraîne l'analyse d'une impor-

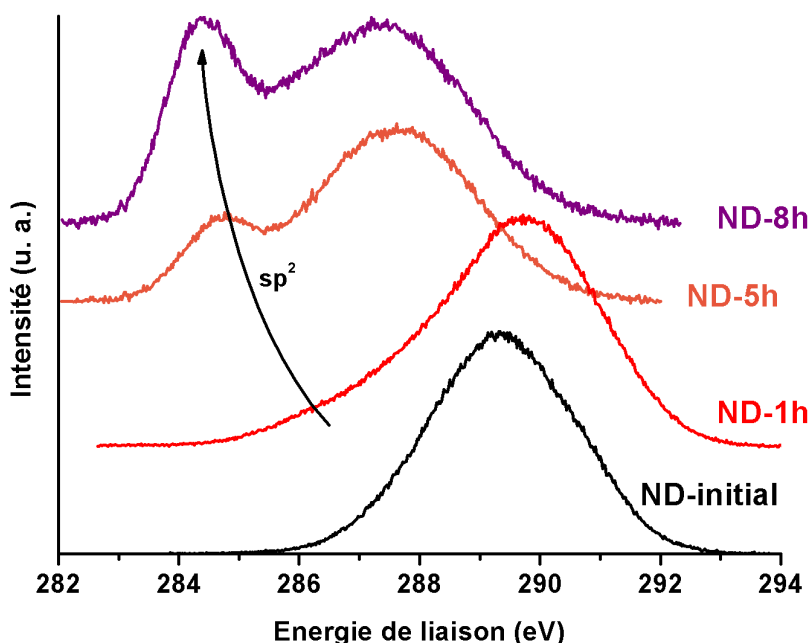


FIGURE 3.20 – Spectres XPS du niveau de cœur du carbone C1s avant recuit (ND-init), et après 1h (rouge), 5h (orange) et 8h (violet) de recuit sous vide à 750°C.

tante épaisseur de NDs, et donc un mauvais écoulement des charges entre la surface de l'échantillon et le porte échantillon.

Sur ces spectres XPS du carbone C1s, on observe la présence d'un pic principal, lié au carbone hybridé sp^3 , dont les maxima sont situés à 289.7, 287.6 et 287.4 eV pour les NDs-1h, NDs-5h et NDs-8h, respectivement. Un autre pic apparaît progressivement au cours des recuits, à une énergie de - 3.0 eV par rapport au pic sp^3 avec une largeur à mi-hauteur de 2.2 eV pour les NDs-1h et de 1.3 eV pour les NDs-5h et NDs-8h. Ce pic est associé au carbone sp^2 et représente 12, 15 et 26 % de l'aire totale du pic C1s après 1h, 5h et 8h de recuit, respectivement. Les déconvolutions de ces pics sont présentées en annexe B.4. Cette largeur de pic plus importante pour les NDs-1h est sans doute liée à une plus grande concentration de défauts sur les FLRs que sur les couches graphitiques organisées observées pour des recuits plus longs. Pour le carbone sp^3 , nous avons vu que la présence de défauts comme des liaisons pendantes induit un décalage vers les hautes énergies du pic C1s. Dans le cas du carbone sp^2 , un effet similaire a déjà été rapporté sur des nanotubes de carbone, montrant que même si un nouveau pic n'est pas forcément observé, l'effet des défauts peut se traduire par un élargissement du pic C1s [212].

Ces résultats sont cohérents avec les observations faites en HRTEM présentées précédemment et indiquent qu'il est possible de contrôler le degré de graphitisation des NDs

après des recuits sous vide à 750°C, en faisant varier la durée du recuit. Il est ainsi possible de produire des NDs ayant des reconstructions de surface allant de simples FLRs à des couches graphitiques complètes en gardant un cœur diamant intact. Les propriétés colloïdales de ces NDs graphitisés seront étudiées dans le chapitre 5.

3.4.3 Bilan

La chimie de surface des NDs peut modifier leur réactivité lors du recuit sous vide. Par exemple, des NDs ayant beaucoup de groupements oxydés peuvent être stables même à haute température [90]. Nous verrons en effet par la suite que les NDs graphitisés en surface n'ont pas les mêmes propriétés colloïdales lorsqu'ils ont subi un traitement d'oxydation sous air au préalable. La taille des NDs joue aussi un rôle important sur leur réactivité de surface. Les traitements présentés ici ont été menés sur des NDs de plus grande taille (20 et 50 nm) obtenus par synthèse HPHT, et nous avons observé des comportements différents. Ainsi des recuits sous air à plus haute température (jusqu'à 550°C) n'ont pas induit de perte de masse aussi importante que pour les NDs de détonation, montrant que la vitesse de gravure des NDs HPHT par l'oxygène est beaucoup plus lente. De même, nous n'avons pas observé de graphitisation substantielle des NDs HPHT après recuit à 750°C, ce qui est cohérent avec les observations de Krüger *et al* [128, 129, 130].

3.5 Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons montré que plusieurs voies peuvent être explorées pour contrôler la chimie de surface des NDs. Il s'agit d'abord de traitements d'homogénéisation de la surface comme l'oxydation par recuit sous air ou l'hydrogénation par plasma. Ils se sont avérés efficaces et permettent de traiter de grandes quantités de NDs rapidement comme nous l'avons montré. Les échantillons ainsi obtenus présentent les terminaisons de surface adéquates pour procéder à une fonctionnalisation ultérieure (amidation sur acides carboxyliques ou greffage de sels d'aryldiazonium sur terminaisons C-H par exemple) [147]. En parallèle, ces traitements permettent également de "nettoyer" la surface des NDs, notamment en éliminant le carbone amorphe. Nous avons montré qu'il est aussi possible de transformer la surface en carbone sp^2 par des traitements de recuits sous vide à haute température, ce qui permet de former des nanoparticules carbonées hybrides aux propriétés particulières comme nous allons le voir par la suite.

L'intérêt de ces traitements physico-chimiques par rapport aux méthodes dites "purement" chimiques est de ne pas avoir à utiliser de produits toxiques ou polluants comme pour des traitements acides ou réducteurs. Les particules ainsi obtenues ne nécessitent pas de nettoyage post-synthèse, afin d'éliminer les réactifs ou les sous-produits de réactions, limitant ainsi considérablement le temps de production de ces NDs, ainsi que les risques de contamination.

Nous avons aussi montré l'importance de bien déterminer les conditions expérimentales nécessaires pour obtenir un traitement homogène, efficace et ne modifiant pas la structure diamant du cœur des NDs. Notre stratégie d'étude *in situ/ex situ* a ici été particulièrement utile. En particulier, le seuil de température de 700°C est un paramètre important pour permettre la désorption ou la gravure complète de l'oxygène, aussi bien pour les plasmas d'hydrogène que pour les recuits sous vide. En fonction de la chimie de surface ou de la taille des NDs, les conditions expérimentales de ces traitements doivent être adaptées afin d'assurer leur efficacité et leur reproductibilité.

A présent, l'influence de cette chimie de surface sur les propriétés des NDs modifiés, notamment au niveau des interactions avec leur environnement va être étudiée.

Chapitre 4

Phénomènes d'adsorption et échanges électroniques à la surface des nanodiamants

Sommaire

4.1	Modification de la chimie de surface des nanodiamants après exposition à l'air	97
4.1.1	Exposition à l'air de nanodiamants hydrogénés	97
4.1.2	Exposition à l'air de nanodiamants graphitisés	102
4.1.3	Bilan	103
4.2	Phénomènes d'adsorption à la surface des nanodiamants . . .	103
4.2.1	Détermination de la surface spécifique des nanodiamants	103
4.2.2	Détermination de l'hydrophilicité des nanodiamants	107
4.2.3	Bilan	110
4.3	Transferts de charges et potentiel électrostatique des nanodiamants	111
4.3.1	Caractérisation du potentiel électrostatique des nanodiamants .	111
4.3.2	Phénomènes de charge et de polarisation des nanodiamants . .	114
4.3.3	Bilan	115
4.4	Conclusion	116



Introduction

Dans le chapitre précédent, des procédés permettant la préparation de NDs avec des surfaces oxydées, hydrogénées et graphitisées ont été présentés. Avant d'étudier les propriétés en suspension de ces NDs modifiés, il est important de s'intéresser tout d'abord au rôle de la chimie de surface sur les propriétés d'adsorption et d'échanges électroniques des NDs après exposition à l'air. Dans un premier temps, l'évolution de la surface de NDs modifiés après exposition à l'air a été observée par XPS. Le rôle de la chimie de surface des NDs sur les propriétés d'adsorption de molécules sondes (azote, vapeur d'eau) sera ensuite étudié. Enfin, nous nous intéresserons au potentiel électrostatique des NDs et à leurs propriétés d'échanges électroniques avec le substrat sur lequel ils reposent par des expériences de microscopie à force de Kelvin (KFM). Ces différents résultats illustrent le rôle prépondérant de la surface sur les propriétés des NDs, en tant qu'interface entre le cœur diamant des NDs et l'extérieur.

4.1 Modification de la chimie de surface des nanodiamants après exposition à l'air

4.1.1 Exposition à l'air de nanodiamants hydrogénés

Afin d'étudier l'effet de l'exposition à l'air sur la chimie de surface des NDs-H, un échantillon de NDs ayant été hydrogéné à 700°C et caractérisé *in situ* par XPS, a été exposé à l'air ambiant pendant 4 mois avant d'être de nouveau analysé. Nous avons vu dans le chapitre 3.3 que ces conditions permettent une hydrogénation efficace des NDs. Une concentration atomique de 4.0 % at. en oxygène est mesurée alors que l'oxygène avait été complètement désorbé après hydrogénation, ce qui indique une réoxydation significative après exposition à l'air.

Le spectre C1s, présenté figure 4.1 (b), est très différent de celui mesuré *in situ* juste après l'hydrogénation (Figure 4.1 (a)). Les paramètres utilisés pour déconvoluer les spectres C1s avant et après exposition à l'air sont résumés dans le tableau 4.1. Après exposition à l'air, le pic C1s est composé de 3 pics à 287.3, 288.3 et 289.3 eV de largeur à mi-hauteur de 1.5 eV. Les deux premières composantes sont *a priori* associées aux liaisons C-C sp^3 et aux défauts structuraux et aux liaisons C-N et CH_x comme discuté dans le chapitre 3. L'écart en énergie de liaison et le ratio entre ces deux composantes est similaire à ce qui a été mesuré juste après hydrogénation, mais on observe un **décalage vers les basses énergies de - 0.7 eV** ainsi qu'un amincissement des pics (FWHM = 1.5 eV au lieu de 2.0 eV avant exposition à l'air). Ce point sera discuté ultérieurement.

4.1 Modification de la chimie de surface des nanodiamants après exposition à l'air

Attribution des pics		Après hydrogénation	Après 4 mois à l'air	Après recuit à 400°C
C-C sp^3	Énergie de liaison (eV)	288.0	287.3	287.7
	FWHM (eV)	2.0	1.5	1.9
	Aire relative du pic C1s (%)	75	57	74
Défauts/ C-N/ CH _x	Énergie de liaison (eV)	289.0	288.3	288.7
	FWHM (eV)	2.0	1.5	1.9
	Aire relative du pic C1s (%)	25	20	26
C-O	Énergie de liaison (eV)	-	289.3	-
	FWHM (eV)	-	1.5	-
	Aire relative du pic C1s (%)	-	23	-
Oxygène (O1s)	Concentration atomique (% at.)	< 0.5	4.0	1.3

TABLE 4.1 – Paramètres de déconvolution pour les spectres C1s des NDs-H avant et après exposition à l'air, puis après recuit *in situ* sous ultraviolette à 400°C.

On observe en parallèle l'apparition d'un pic à + 2.0 eV par rapport au pic des liaisons C-C sp^3 , qui est associé aux simples liaisons C-O. **L'apparition de liaisons C-O est en accord avec l'augmentation de la concentration atomique en oxygène et montre qu'au moins une partie de cet oxygène forme des liaisons covalentes avec les NDs-H.**

Afin de vérifier la stabilité des liaisons C-O formées sur les NDs-H après exposition à l'air, un recuit à 400°C sous vide a été effectué. L'échantillon a pu ensuite être analysé sans remise à l'air. Au niveau du spectre général, on détecte une nette diminution de la concentration atomique en oxygène, qui est 1.3 % at. après 2h de recuit à 400°C. Le spectre C1s est présenté sur la figure 4.1 (c) et les paramètres utilisés pour déconvoluer le pic sont détaillés dans le tableau 4.1. On observe notamment la disparition complète des liaisons C-O. Cette disparition est associée à un décalage vers les hautes énergies de + 0.4 eV, le pic C1s ne revient donc pas exactement à sa position avant exposition à l'air. La largeur à mi-hauteur des pics augmente également à 1.9 eV, ce qui est proche de la valeur après hydrogénation (2.0 eV).

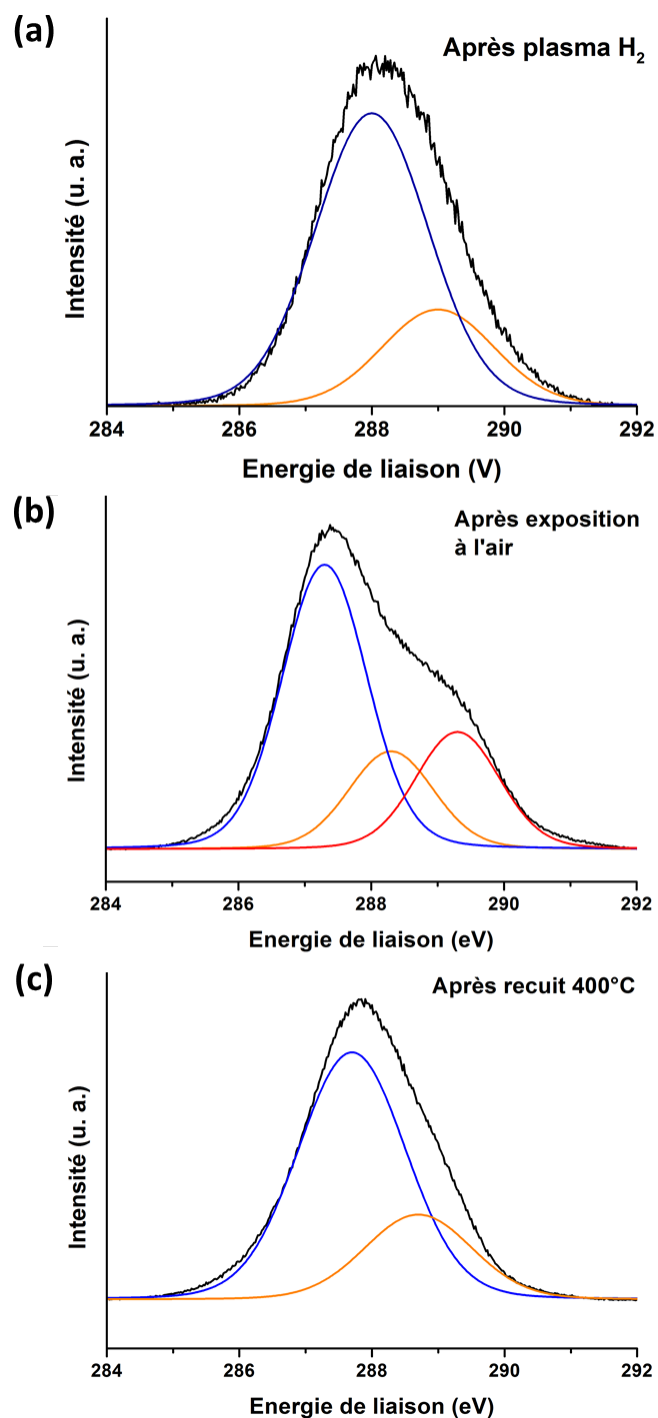


FIGURE 4.1 – Spectre XPS C1s de NDs hydrogénés à 700°C après plasma (a), après 4 mois d'exposition à l'air (b) et après recuit *in situ* à 400°C (c).

Ces observations montrent qu'il y a des interactions fortes entre les NDs-H et les molécules présentes dans l'air, qui modifient la chimie de surface des NDs-H. En particulier, le décalage des pics vers les basses énergies après la réoxydation à l'air peut paraître sur-

4.1 Modification de la chimie de surface des nanodiamants après exposition à l'air

prenant, puisque nous avons vu dans le chapitre 3 qu'une oxydation de la surface a plutôt tendance à décaler le pic C1s vers les hautes énergies à cause d'une augmentation de l'effet de charge (voir 3.2). En fait, cet effet est lié à la **formation d'une couche conductrice de surface**, une propriété importante des surfaces de diamant hydrogénées, qui se forme grâce à un échange électronique entre la surface du diamant hydrogénée et des adsorbats venant de l'air ambiant [213]. En effet, le diamant hydrogéné a la particularité d'avoir une **affinité électronique négative** et ses électrons vont pouvoir être cédés à des molécules accepteurs d'électrons qui viendraient s'adsorber à la surface du diamant [164]. Ce transfert de charge induit une courbure des bandes de valence et de conduction en surface du diamant, induisant un dopage superficiel de type p en surface. Ce modèle dit de "**dopage par transfert**", détaillé par Ristein *et al*, est résumé sur la figure 4.2 [213].

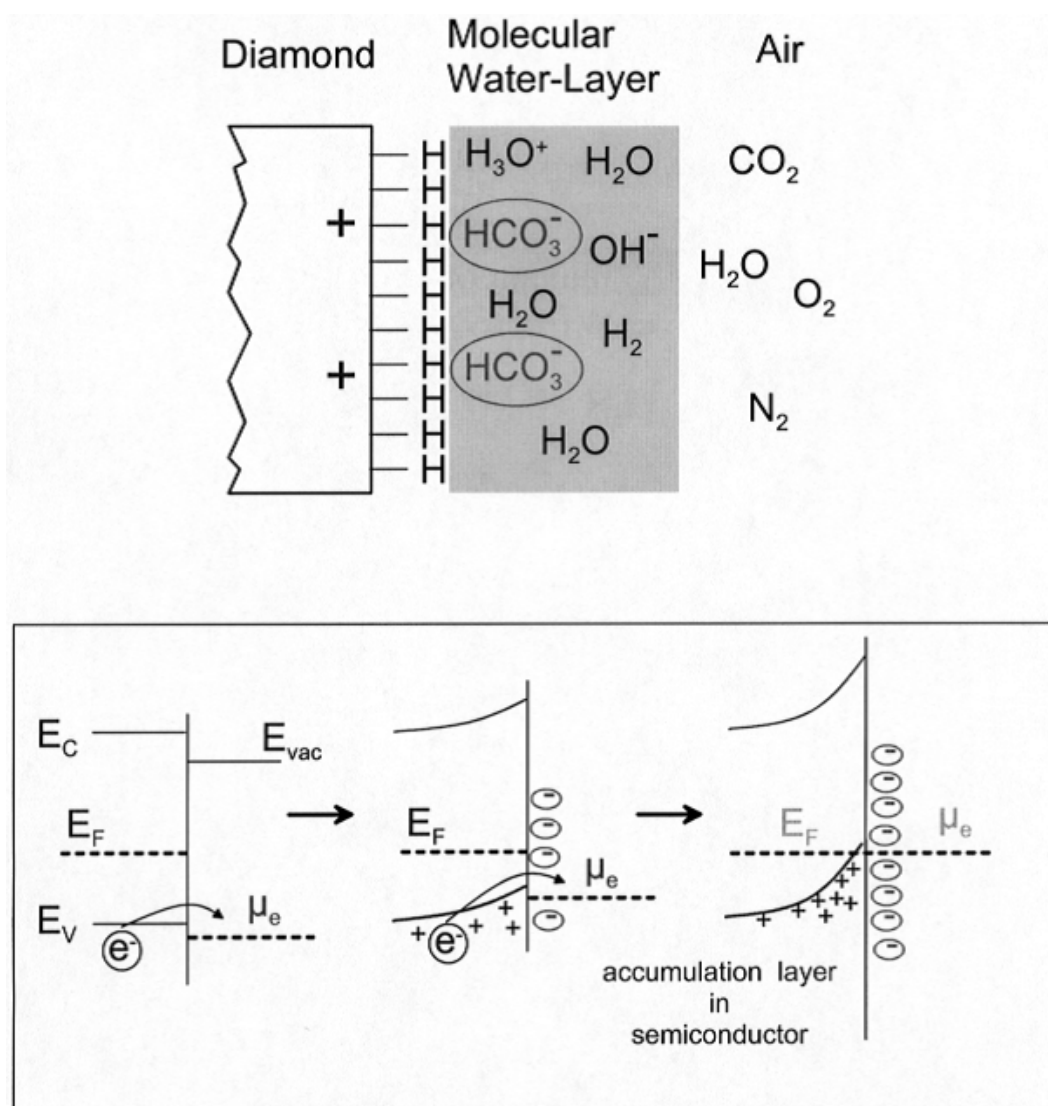


FIGURE 4.2 – Modèle du transfert de charge sur le diamant hydrogéné détaillé par Ristein *et al*. D'après la référence [213].

Au niveau de la caractérisation XPS, Ballutaud *et al* ont déjà observé sur des films de diamant nanocristallin hydrogéné que la formation de cette couche dopée p induit un décalage du pic C1s de 0.7-0.8 eV vers les basses énergies [206]. Plusieurs autres études ont montré que ce phénomène de dopage par transfert de charge pouvait être suivi par spectroscopie de photoémission [214, 215, 216]. En particulier, Qi *et al* ont montré que l'adsorption de molécules organiques accepteuses d'électrons (F4-TCNQ) sur une surface de diamant monocristallin (100) hydrogéné induit un décalage vers les basses énergies de liaison de - 0.80 eV du pic XPS C1s [215]. Le décalage de - 0.7 eV observé dans notre cas est du même ordre de grandeur et est certainement induit par la présence d'une couche conductrice de surface induite par la présence d'adsorbats. Après recuit à 400°C, la désorption des espèces adsorbées à la surface s'accompagne d'une disparition de la couche conductrice de surface et donc du décalage vers les basses énergies. Mais on observe aussi la formation de liaisons C-O après exposition à l'air. Cet oxygène est faiblement lié à la surface puisqu'un recuit à 400°C permet d'éliminer complètement la composante C-O du pic C1s. Ces résultats sont en accord avec les observations de Akhvlediani *et al* qui ont montré par HREELS qu'il pouvait y avoir dissociation des molécules d'eau à la surface de diamant polycristallin hydrogéné, induisant la formation de groupements hydroxyles à la surface [217]. Il est possible que la formation de ces groupement hydroxyles joue un rôle important dans la conductivité de surface des NDs-H. En effet, Härtl *et al* ont proposé que la régulation des charges par des groupements hydroxyles amphotères, *i.e.* pouvant avoir un comportement acide ou basique, induits par la terminaison incomplète de la surface hydrogénée pouvaient jouer un rôle majeur dans cette conduction de surface des surfaces de diamant hydrogéné en solution aqueuse [218].

En utilisant la signature XPS de la surface des NDs, cette étude avec exposition à l'air de l'échantillon a permis de mettre en évidence la formation d'une couche dopée p en surface des NDs-H, *via* le décalage vers les basses énergies de liaisons du pic C1s. Cette couche est éliminée après recuit à 400°C, indiquant que son origine provient bien d'espèces physisorbées ou faiblement chimisorbées à la surface des NDs-H. La formation de cette couche conductrice de surface est en accord avec les observations que nous avons faites sur la réactivité chimique de NDs HPHT hydrogénés [147]. Les greffages d'alcènes par photochimie ou bien de sels de diazonium, qui sont seulement efficaces sur des surfaces ayant une affinité électronique négative comme le diamant hydrogéné [146], ont pu être transférés sur des NDs HPHT après traitement d'hydrogénation. Ceci est aussi en accord avec l'extinction de la luminescence des centres NV observée sur des NDs HPHT hydrogénés par Petrokova *et al* [64].

4.1.2 Exposition à l'air de nanodiamants graphitisés

Un échantillon de NDs après 3h de recuit sous UHV à 1100°C a été exposé à l'air pendant 3 mois. Nous avons vu dans la partie 3.4 qu'un recuit à cette température induit la formation de plusieurs couches graphitiques organisées à la surface des NDs. La concentration atomique en oxygène a été estimée à 1.8 % at. après cette exposition. Au niveau du spectre C1s, on observe que la composante liée au carbone sp^2 est décalée vers les hautes énergies de 0.3 eV, alors que les autres composantes ne sont pas modifiées. En effet, seules les couches graphitiques extérieures sont exposées à l'air ambiant et vont interagir avec l'oxygène environnant. Cette exposition à l'air induit donc une oxydation partielle de la surface, résultant en un léger décalage chimique vers les hautes énergies de la composante sp^2 .

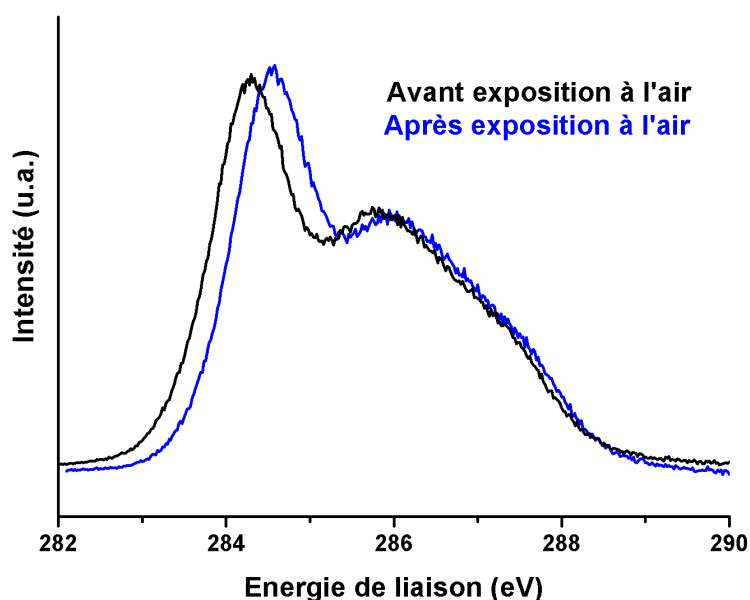


FIGURE 4.3 – Spectres XPS C1s de NDs recuits 3h à 1100°C avant (noir) et après (bleu) 3 mois d'exposition à l'air.

Nous verrons dans la partie 5.3.1 que cet effet de réoxydation après exposition à l'air est beaucoup plus marqué pour les NDs faiblement graphitisés. En effet, dans ce cas-là, la concentration atomique en oxygène est beaucoup plus importante après exposition à l'air, allant jusqu'à 6.5 % at., pour les NDs préparés par recuit à 750°C.

4.1.3 Bilan

Les NDs-H et NDs- sp^2 semblent particulièrement réactifs vis-à-vis des molécules présentes dans l'air et les interactions avec les molécules ambiantes modifient leurs propriétés électroniques. L'adsorption de molécules ambiantes donne des propriétés particulières aux NDs-H, notamment la formation d'une couche conductrice en surface. Nous verrons dans le chapitre 5 que cette surface conductrice joue aussi un rôle sur les propriétés colloïdales des NDs-H dans l'eau. Pour les NDs- sp^2 , l'interaction dépend en fait de l'épaisseur de la couche graphitisée et impacte différemment les propriétés colloïdales comme nous le verrons dans la partie 5.3.1. Mais avant d'étudier ces points, il est intéressant d'aller plus loin dans la caractérisation de l'adsorption de molécules sur les NDs en utilisant la méthode d'adsorption de molécules sondes 2.3.1.

4.2 Phénomènes d'adsorption à la surface des nanodiamants

Nous venons de voir que la chimie de surface des NDs après traitements d'hydrogénation et de graphitisation était sensiblement modifiée après exposition à l'air. C'est pourquoi nous avons voulu étudier plus en détail les phénomènes d'adsorption à la surface des NDs modifiés par les traitements présentés précédemment. La méthode d'adsorption de molécules sondes et la préparation des échantillons analysés ont été présentées dans le chapitre 2. Dans notre cas, les molécules sondes sont le diazote et les molécules d'eau, ce qui va nous permettre de déterminer la surface spécifique des NDs ainsi que leur caractère hydrophile/hydrophobe en fonction de la chimie de surface. Ces propriétés sont fondamentales pour mieux comprendre l'interaction entre les NDs et les molécules présentes dans l'air avant de s'intéresser aux interactions dans l'eau.

4.2.1 Détermination de la surface spécifique des nanodiamants

La surface spécifique d'un matériau correspond à la surface exposée aux interactions extérieures par unité de masse et peut être calculée à partir de l'isotherme d'adsorption de molécules de diazote. L'isotherme d'adsorption de l'azote sur des NDs initiaux est présentée figure 4.4. L'adsorption correspond aux losanges pleins tandis que la désorption est indiquée par les losanges vides. Trois domaines, notés A, B et C correspondent à trois régimes d'adsorption différents. Le domaine A, correspondant à l'adsorption pour des pressions relatives d'azote très faibles, est caractéristique de **l'adsorption sur des sites particulièrement actifs**, tels que des défauts cristallins. Dans le domaine B, **la surface est progressivement recouverte d'une monocouche de**

molécules, on parle alors d'adsorption monomoléculaire. Enfin dans le domaine C, la couche de molécules adsorbées s'épaissit, il s'agit d'**adsorption multimoléculaire**.

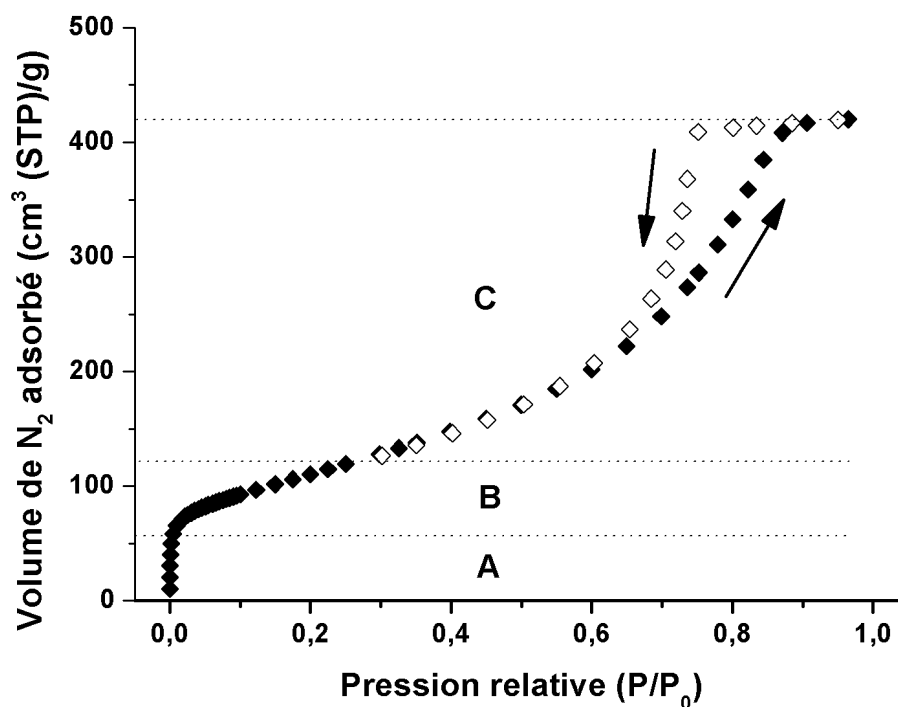
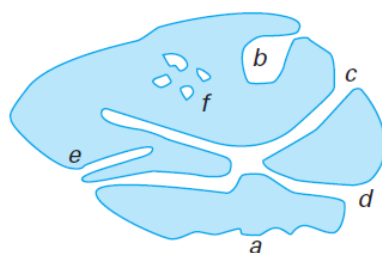


FIGURE 4.4 – Isotherme d'adsorption-désorption de N_2 sur des NDs initiaux.

On observe la présence d'une hystérésis, qui est caractéristique de la présence de **mésopores**. A partir de la forme de l'hystérésis, il est possible de remonter à la taille et à la structure des pores (figure 4.5). Cette isotherme est de type IV d'après la classification de l'IUPAC, qui est caractéristique d'un matériau mésoporeux (largeur de pore comprise entre 2 et 50 nm) dans lequel se produit une condensation capillaire [185]. On remarque qu'à partir d'une pression relative de 0.7, la prise de masse augmente plus rapidement, ce qui est dû à la **condensation capillaire** dans des pores. La condensation capillaire peut induire dans cette même zone la présence d'une hystérésis entre l'adsorption et la désorption. Cette hystérésis est de type H₂ d'après la classification de l'IUPAC, car les branches d'adsorption et de désorption ne sont pas parallèles, et est caractéristique de la présence de mésopores en intercommunication comme illustré dans les cas (c) et (d) sur la figure 4.5.

Nous avons vu dans la partie 3.1 que la structure cristalline de ces NDs est constituée d'un cœur diamant d'environ 5 nm entouré d'une couche de carbone amorphe comme observé par HRTEM. En réalité, sous forme pulvérulente ces NDs se présentent généralement sous la forme d'agrégats de plusieurs centaines de nanomètres [44, 47], constitués de



a irrégularité
b, c, d, e pores ouverts
f pore fermé
b, e pores borgnes
c, d pores en intercommunication

FIGURE 4.5 – Différents types de pores pouvant être observés sur une particule poreuse. D'après la référence [185].

nombreux NDs comme discuté dans le chapitre 1. Dans le cas de l'adsorption de molécules sondes, c'est la forme agrégée qui doit être prise en compte et la présence de mésopores en intercommunication correspond aux interstices présents entre les NDs au sein de ces agrégats. Ces observations sont donc en accord avec la structure texturale attendue des NDs pulvérulents. A partir de la forme de l'hystérésis, on déduit que **le diamètre moyen des mésopores est de l'ordre de 7 nm**, qui est donc supérieur à la taille des NDs primaires. Nous verrons dans le chapitre suivant que dans l'eau ces agrégats peuvent être rompus en utilisant des ultrasons.

Le calcul de la surface spécifique se fait à partir du domaine B où l'adsorption monomoléculaire se produit. En considérant que l'aire moyenne d'une molécule d'azote à 77 K est de 0.136 nm^2 , qui est la valeur utilisée pour les silices mésoporeuses hydrophiles [219], et en connaissant la masse molaire du diazote, on peut remonter à la surface recouverte par une monocouche de molécules de diazote, qui correspond à la surface spécifique. Dans le cas des NDs initiaux, on obtient une **surface spécifique de $400 \text{ m}^2/\text{g}$** . Cette valeur est du même ordre de grandeur que celles déterminées dans la littérature [172], et correspond à ce qui est attendu pour des NDs de 5 nm de diamètre.

La même procédure a été appliquée pour des NDs oxydés sous air (NDs-COOH), hydrogénés par plasma (NDs-H) et graphitisés par recuit sous vide pendant 8h (NDs- sp^2). Les isothermes associées sont présentées sur la figure 4.6.

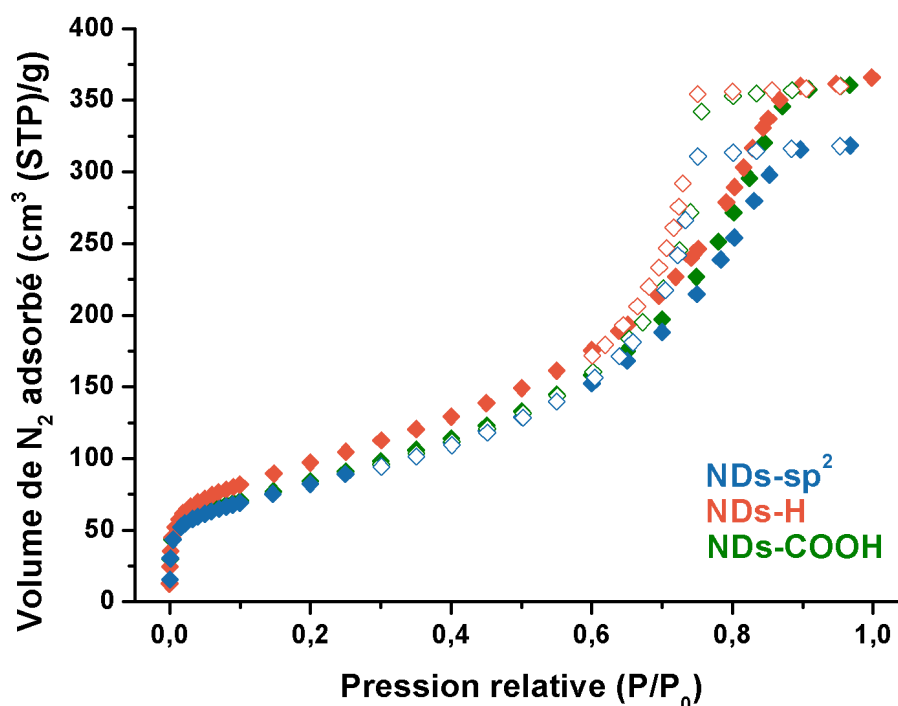


FIGURE 4.6 – Isotherme d'adsorption-désorption de N_2 sur des NDs-COOH (vert), NDs-H (orange) et NDs- sp^2 (bleu).

Les surfaces spécifiques estimées à partir de ces isothermes sont de **307, 351 et 300 m²/g** pour les NDs-COOH, NDs-H et NDs- sp^2 , respectivement. Ces valeurs sont significativement inférieures à celles obtenues sur les NDs initiaux. Il est donc probable que le carbone amorphe initialement présent sur la surface, constitué de nombreux défauts structuraux comme mesuré par XPS (voir 3.1), contribuait pour une part importante dans la surface spécifique des NDs. Cette contribution peut avoir deux origines. D'une part, le carbone amorphe ayant une densité massique plus faible que le diamant, les NDs modifiés ont une densité massique plus importante après gravure ou transformation du carbone amorphe. En effet, la densité massique du diamant est de 3.51 g/m³ alors que celle des NDs initiaux est de l'ordre de 3.30 g/m³ [44]. La surface spécifique étant ramenée à la masse, il est cohérent d'observer une diminution de la surface spécifique. En revanche cette explication n'est pas valable pour les NDs graphitisés puisque la densité massique du carbone sp^2 étant de 2.27 g/m³, ils devraient avoir une surface spécifique plus élevée si la surface absolue était équivalente. La surface spécifique des NDs initiaux peut aussi être augmentée par une microporosité de la couche de carbone amorphe, pouvant aussi être constituée de chaînes hydrocarbonées augmentant la surface d'adsorption des NDs. L'état d'agrégation des NDs peut aussi varier en fonction de la chimie de surface puisque les interactions entre les NDs en dépendent [220].

Des différences sont aussi observées sur les isothermes des NDs ayant suivi les différents traitements. En particulier, les NDs-H ont une plus grande surface spécifique que les NDs-COOH ou NDs- sp^2 , ce qui peut être lié à un plus grand nombre de sites actifs en surface. Au niveau de la mésoporosité, on obtient des diamètres moyens de pores de 7.9, 6.5 et 7.1 nm pour les NDs-COOH, NDs-H et NDs- sp^2 , respectivement. Les NDs-COOH montrent aussi une plus grande capacité d'adsorption multimoléculaire par rapport aux autres NDs à surface équivalente d'après l'évolution de l'isotherme pour des pressions relatives entre 0.7 et 1. Cela peut être expliqué par le diamètre plus important des pores facilitant la condensation capillaire. Très peu de données sont disponibles dans la littérature concernant les propriétés de mésoporosité des agrégats de NDs. Il faut toutefois mentionner l'étude de Batsanov *et al* qui a observé la présence de mésopores sur des NDs de détonation n'ayant pas été désagglomérés [105]. En effet, la surface spécifique mesurée est de 169.0 m²/g, ce qui correspond plutôt à des agglomérats constitués de NDs enrobés dans une matrice carbonée qu'à des agrégats de NDs isolés. La différence entre agrégats et agglomérats a été discutée dans le chapitre 1.2.1. Sur ces agglomérats, des pores de diamètres compris entre 15 et 20 nm sont reportés, ce qui est bien supérieur aux valeurs obtenues dans notre cas.

4.2.2 Détermination de l'hydrophilicité des nanodiamants

Afin d'étudier le caractère hydrophile ou hydrophobe des NDs, des isothermes d'adsorption de vapeur d'eau ont été réalisées et sont présentées sur la figure 4.7. Contrairement à l'étude d'adsorption d'azote, basée sur une mesure volumétrique, on mesure dans ce cas la prise de masse des NDs après exposition à des pressions partielles en vapeurs d'eau croissantes. Seules les courbes d'adsorption sont présentées ici. Des tendances très différentes sont observées en fonction des terminaisons de surface, ne pouvant être simplement associées aux différences de surfaces spécifiques mesurées précédemment. En particulier, la prise de masse est beaucoup moins importante sur les NDs-COOH par rapport aux autres NDs à faible pression relative en vapeur d'eau (Figure 4.7). Les NDs-H sont les NDs pour lesquels la pente de l'isotherme est la plus importante à très faible pression relative ($< 0.02 P/P_0$). Il est possible que l'on mesure ici l'**adsorption dissociative des molécules d'eau**, résultant en la formation de fonctions hydroxyles comme observé après exposition de surface de diamant hydrogéné à de très faibles pressions en vapeur d'eau [217]. Cela est en accord avec les résultats XPS discutés dans la partie 4.1, montrant que les liaisons C-O étaient formées après simple exposition à l'air de NDs-H. Une réactivité très proche est observée sur les NDs-init et les NDs- sp^2 . Pour les hautes pressions relatives ($> 0.8 P/P_0$), la pente est en revanche la plus élevée pour les **NDs-COOH, qui sont bien plus sensibles à la condensation capillaire**. Dans ce domaine, l'adsorption est

multimoléculaire, ce qui implique que l'on sonde les interactions eau-eau et non plus les interactions NDs-eau. L'interaction eau-eau est donc différente dans ce cas, ce qui peut être lié à une conformation différente des molécules d'eau sur les groupements COOH de par leur caractère hydrophile [221].

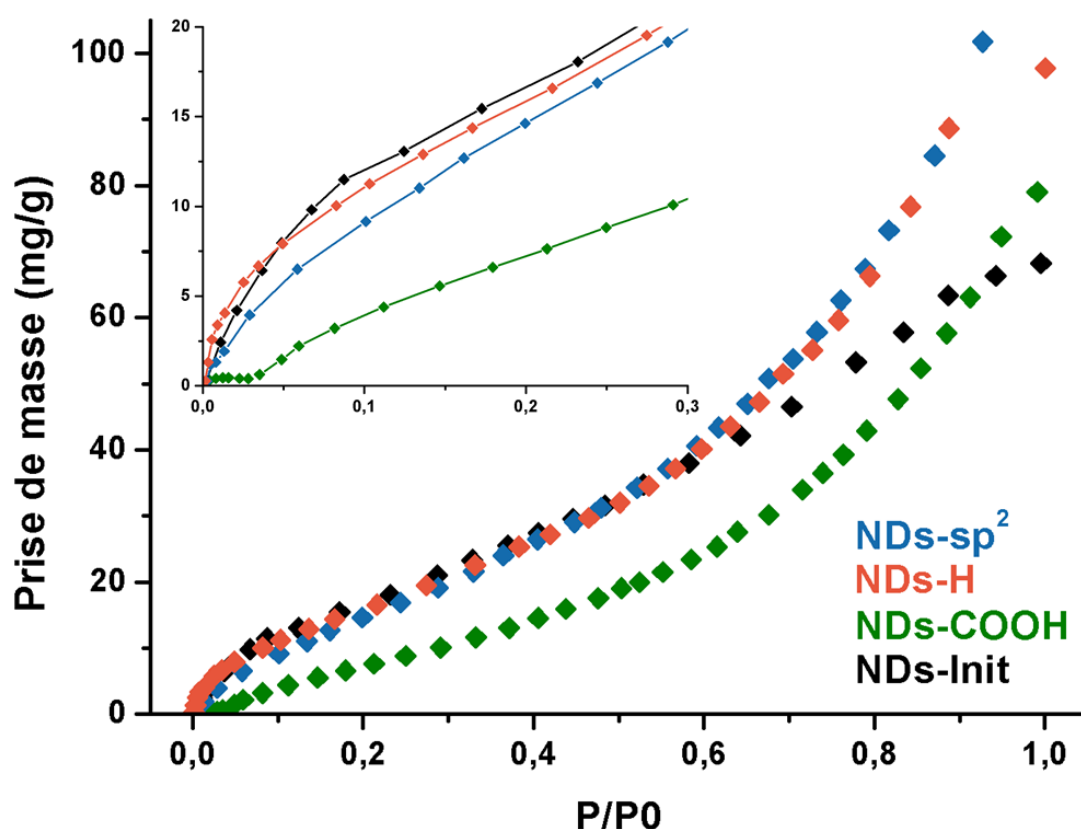


FIGURE 4.7 – Isothermes d'adsorption de molécules d'eau sur des NDs initiaux (noir), des NDs-COOH (vert), des NDs-H (orange) et des NDs- sp^2 (bleu). La zone pour des pressions relatives inférieure à 0.3 est agrandie en cartouche.

A partir de ces courbes, on peut remonter à la capacité d'adsorption d'une monocouche d'eau en utilisant la méthode BET à partir de la partie linéaire (pour $0.05 < P/P_0 < 0.35$) de l'adsorption pour chaque type de NDs. En rapportant ce nombre à la surface spécifique des NDs mesurée grâce aux isothermes d'azote, on en déduit la densité de sites hydrophiles à la surface des NDs, en appelant site hydrophile un site sur lequel une molécule d'eau est adsorbée. Cette hypothèse est d'autant plus vraie pour une faible densité de sites hydrophiles, ce qui est le cas ici. En effet, on obtient des **densités de 1.4, 1.4, 1.7 et 2.2 sites hydrophiles/nm² pour les NDs initiaux, les NDs-COOH, les NDs-H et les NDs- sp^2 , respectivement.** Pour des silices mésoporeuses, des densités de sites hydrophiles allant jusqu'à 5.3 sites/nm² peuvent être obtenues par des traitements de surface hydrophiles tandis que des densités de 0.7 sites/nm² sont obtenues sur les plus

hydrophobes [222]. Il est particulièrement étonnant d'observer que les surfaces ayant le plus grand nombre de sites hydrophiles sont les surfaces hydrogénées et graphitisées et non pas les surfaces oxydées. En effet, sur le diamant massif, ces surfaces sont connues pour avoir un comportement hydrophobe [223, 224]. Il faut noter que les propriétés d'hydrophilicité/hydrophobicité peuvent varier en fonction de l'humidité relative. En particulier, Rotenberg *et al* ont montré que des surfaces de talc pouvaient être hydrophiles à faible humidité relative mais devenaient hydrophobes à plus haute humidité relative [225].

Nous verrons dans le chapitre 5 que les NDs-H ont une bonne stabilité colloïdale dans l'eau, suggérant un caractère hydrophile dans l'eau ultrapure. Il est probable que **la taille nanométrique des NDs induise une modification de la couche interfaciale d'eau entourant les NDs**. L'orientation des molécules d'eau dans la couche interfaciale varie en fonction du caractère hydrophile/hydrophobe de la surface et peut donner lieu à des propriétés diélectriques différentes [226]. Au niveau des NDs, Korobov *et al* ont observé la formation d'une couche d'eau interfaciale ayant une structure dépendant de la taille des NDs [227]. La structure particulière de la couche d'eau interfaciale sur les groupements hydrogénés des NDs permet aussi d'augmenter la permittivité diélectrique de manière spectaculaire, passant de 5.7-5.8 pour le diamant massif à $10^5 - 10^6$ à une fréquence de 10 kHz [105]. D'après Bastanov *et al*, cet effet n'est observé que pour des NDs de détonation, indiquant que la taille des NDs joue ici un rôle crucial.

La densité de sites hydrophiles est la plus importante sur les NDs- sp^2 . De la même manière que pour les NDs-H, nous avons vu qu'une exposition à l'air induit une oxydation rapide de la surface, pouvant induire la formation de sites hydrophiles sur une surface normalement hydrophobe (voir 4.1.2). Pourtant il est aussi probable que comme pour les NDs-H, un effet de taille favorise l'adsorption d'eau sur les NDs- sp^2 . En effet, la formation d'une couche ordonnée et dense de molécules d'eau a déjà été observée à la surface de fullérènes, normalement hydrophobes [228, 229]. Une organisation similaire pourrait être observée sur les FLRs, expliquant la forte adsorption de molécules d'eau sur ces NDs.

En outre, des **interactions électrostatiques ou la formation de liaisons hydrogène entre les NDs et les molécules d'eau** peuvent avoir lieu, facilitant l'adsorption d'eau à basse pression relative. Il faut mentionner que sur le diamant massif hydrogéné ainsi que sur les couches de graphène, des transferts de charges peuvent avoir lieu entre le matériau carboné et une couche d'adsorbats, permettant l'adsorption d'eau sur des surfaces normalement hydrophobes [216, 230]. Ces transferts de charge semblent aussi avoir lieu sur les NDs-H d'après les modifications des spectres XPS après exposition à l'air (voir 4.1). Dans le cas des surfaces oxydées, les propriétés électroniques du cœur diamant sont masquées par les groupements oxydés de surface, empêchant les transferts de charges

4.2 Phénomènes d'adsorption à la surface des nanodiamants

Terminaison de surface	Aire spécifique (m ² /g)	Diamètre moyen des pores (nm)	Capacité d'adsorption d'eau (mg/g)	Densité de sites hydrophiles (site/nm ²)
NDs-init	400	6.8	17.9	1.4
NDs-COOH	307	7.9	12.4	1.4
NDs-H	351	6.5	18.1	1.7
NDs- <i>sp</i> ²	300	7.1	19.4	2.2

TABLE 4.2 – Récapitulatif des propriétés d'adsorption des nanodiamants en fonction de leur chimie de surface.

[230]. Cela pourrait expliquer pourquoi peu d'interactions ont lieu à basse pression relative sur les NDs-COOH. Ces transferts de charge seront discutés plus largement dans la suite de ce chapitre et dans le chapitre 5.

4.2.3 Bilan

Les mesures d'adsorption de molécules sondes donnent donc des informations très complémentaires des méthodes d'analyses de surface présentées jusqu'à maintenant. En particulier, elles permettent de mieux comprendre la réactivité des surfaces des NDs exposés à l'air, en permettant d'obtenir des valeurs quantitatives sur leurs surfaces spécifiques ou leur capacité d'adsorption d'eau. La surface spécifique est différente en fonction de la terminaison de surface, même pour des NDs ayant la même origine. De plus, le caractère hydrophile des NDs, défini par la capacité d'adsorption d'eau rapportée à la surface spécifique, est étonnamment plus marqué pour les NDs-H et les NDs-*sp*², ce qui pourrait être expliqué par **la création de sites hydrophiles après dissociation des molécules d'eau** suite à l'exposition à de très faibles pressions relatives en vapeur d'eau et à une organisation particulière des molécules d'eau sur leur surface. Les résultats quantitatifs obtenus par adsorption de molécules sondes sont résumés dans le tableau 4.2. Afin de mieux évaluer les propriétés de transfert de charges et les effets électrostatiques dépendant de la chimie de surface, la microscopie à sonde de Kelvin (KFM) est particulièrement efficace comme nous allons le voir maintenant.

4.3 Transferts de charges et potentiel électrostatique des nanodiamants

4.3.1 Caractérisation du potentiel électrostatique des nanodiamants

La méthode KFM permet de sonder le potentiel électrostatique d'une surface, qui va dépendre particulièrement de sa chimie superficielle. Par exemple, sur le diamant massif, B. Rezek et C.E. Nebel ont mis en évidence une différence de potentiel de 0.3 eV entre une surface hydrogénée et une surface oxydée, qui résulte de la différence d'affinité électronique entre ces deux surfaces [231]. Cette technique a donc été utilisée sur les NDs afin d'évaluer l'effet de la terminaison de surface sur le potentiel électrostatique des NDs. Les expériences ont été réalisées en collaboration avec Bohuslav Rezek et Stepan Stehlik, dont l'expertise dans ce domaine a été particulièrement profitable.

Dans cette étude, des NDs ont été dispersés sur un substrat de silicium ou d'or. Un exemple d'image obtenue avec des NDs-COOH déposés sur une surface de silicium est présenté sur la figure 4.8 (a). On observe la présence de NDs individuels, ayant une taille de l'ordre de 5 nm , mais aussi d'agrégats ayant des tailles jusqu'à 50 nm . Il est important de rappeler que pour discuter la taille des objets mesurés en AFM, il faut se référer à la mesure de hauteur et non pas à la taille qui pourrait être mesurée dans le plan horizontal. Au niveau du signal KFM, mesuré avec une pointe en silicium, les NDs apparaissent comme des tâches sombres, indiquant une différence de potentiel négative et donc **un travail de sortie plus élevé pour les NDs par rapport au substrat**. Le potentiel des NDs semble dépendre de la taille des agrégats. Plus l'agrégat est important, plus la valeur du potentiel est élevée. On obtient ainsi une large distribution du potentiel en moyennant sur toute la surface caractérisée, ce qui est bien visible sur l'histogramme, ne permettant pas d'assigner une valeur de potentiel précise à une terminaison de surface particulière. Des images similaires ont été obtenues pour les NDs-H et NDs- sp^2 .

En traçant la **dépendance du potentiel de surface en fonction de la taille des NDs ou des agrégats** à partir des images de la figure 4.8, on observe qu'**une relation linéaire** existe entre ces deux grandeurs physiques (Figure 4.9 (a)). De plus, les bandes de confiance à 95% sont très proches de la droite tracée, assurant la bonne fiabilité de cette régression linéaire. L'évolution relative de ce potentiel en fonction de la taille est similaire sur les substrats d'or ou de silicium, seule la valeur absolue du potentiel est modifiée. L'écart de 425 mV correspond à la différence de potentiel entre les deux substrats. En répétant l'expérience, cette fois-ci sur les NDs- sp^2 et les NDs-H, la relation linéaire entre

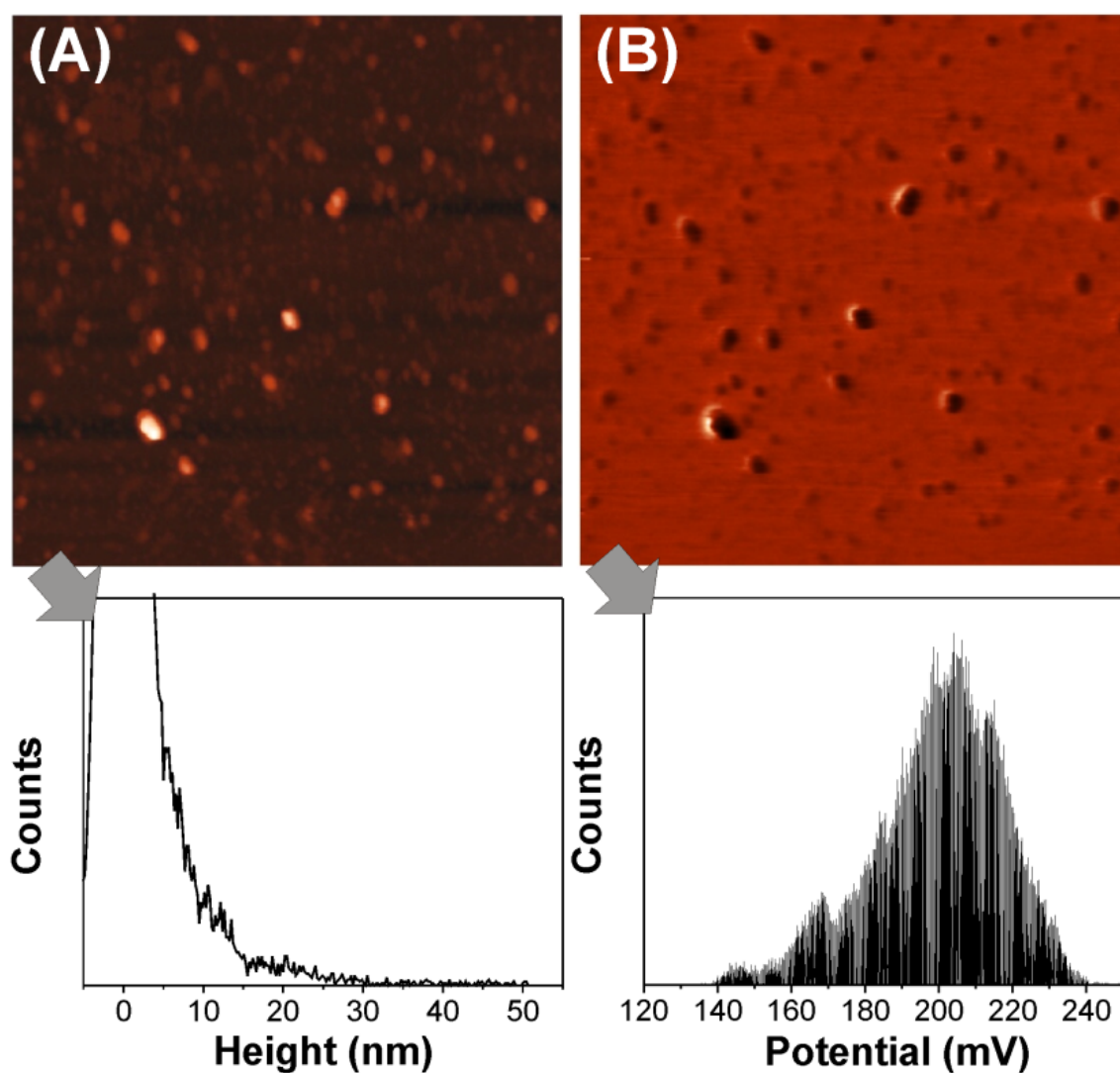


FIGURE 4.8 – (A) Image AFM de la topographie de NDs-COOH déposés sur une surface de silicium. La surface imagée est de $2 \times 2 \mu\text{m}^2$ (B) Image KFM correspondant à la même zone. Les histogrammes indiquant la hauteur et la valeur absolue du potentiel sont indiqués sous les images.

la taille et le potentiel électrique a aussi été observée sur les deux types de substrat, mais la pente diffère en fonction du type de terminaison des NDs (Figure 4.9 (b)). Ainsi, on obtient des pentes d'environ - 2.0, - 1.1 et - 0.7 mV/nm pour les NDs- sp^2 , les NDs-COOH et les NDs-H, respectivement. Le point d'intersection de ces droites est situé à une valeur de - 5 mV en extrapolant à une taille nulle.

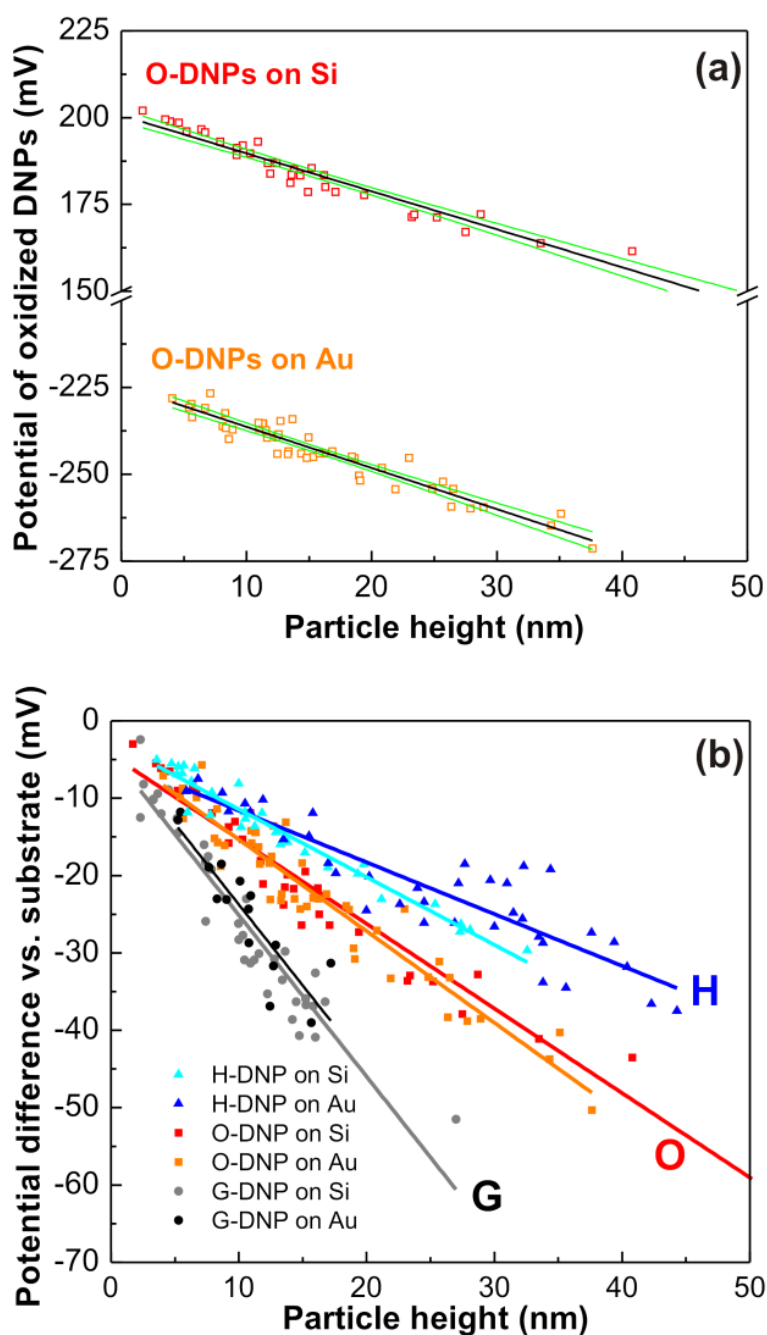


FIGURE 4.9 – (A) Effet de la taille des NDs-COOH sur la différence de potentiel par rapport à un substrat d'or (orange) et de silicium (rouge) mesurée par KFM. Les bandes de confiance à 95 % sont tracées en vert. (B) Effet de la chimie de surface des NDs sur la différence de potentiel par rapport au substrat mesurée par KFM avec une pointe en silicium.

Plusieurs conclusions peuvent être tirées de ces observations. Le travail de sortie des substrats utilisés dans cette étude est de l'ordre 4.9 ± 0.1 eV pour l'or et de 4.6 ± 0.1 eV pour le silicium. Des études antérieures de B. Rezek ont montré qu'une surface de diamant massif hydrogéné présente un potentiel très proche de celui de l'or, au point qu'aucune

différence de potentiel n'a pu être mise en évidence entre les deux matériaux par KFM [232]. Ainsi, il devrait donc y avoir un contraste négligeable pour les NDs-H déposés sur l'or, mais un contraste beaucoup plus important pour les mêmes NDs-H déposés sur un substrat de silicium. Ce n'est pourtant pas ce qui est observé, puisque le contraste est indépendant du substrat. Le même résultat a été obtenu avec des NDs-COOH ou NDs- sp^2 . Il apparaît donc que **les NDs adoptent le potentiel électrostatique du substrat sur lequel ils sont déposés**. De plus, cette étude révèle que **la valeur du potentiel électrostatique dépend de la terminaison de surface des NDs et que ce potentiel augmente linéairement en fonction de la taille des NDs ou agrégats de NDs mesurés**. Au niveau des terminaisons de surface, on observe que la différence de potentiel par rapport au substrat suit l'ordre suivant : NDs- sp^2 > NDs-COOH > NDs-H.

4.3.2 Phénomènes de charge et de polarisation des nanodiamants

Pour expliquer ces évolutions, il faut prendre en compte les phénomènes de charge et de polarisation au niveau des NDs. Une dépendance similaire en fonction de la taille a été observée sur des boîtes quantiques et a été attribuée à des effets de confinement quantiques, induisant **une accumulation de charge différente en fonction de la taille** [233]. Des effets de confinement ont aussi été observés au niveau des NDs, qui modifient par exemple le spectre Raman des NDs de détonation [234]. Il est donc probable que des phénomènes similaires d'accumulation de charges soient observés sur les NDs. Pourtant il faut sans doute distinguer le cas des NDs-COOH par rapport aux NDs- sp^2 et NDs-H. En effet, d'après les études XPS présentées dans le chapitre 3, de forts effets de charge sur les NDs-COOH induisaient un décalage vers les hautes énergies de liaison des pics des niveaux de cœur. Cela traduit une difficile évacuation de charges à travers la couche de NDs, due à la forte résistivité des NDs. Il est donc peu probable que des charges puissent être transférées des NDs-COOH vers le substrat de manière efficace, donc dans ce cas-là la différence de potentiel est plutôt liée à des **effets de polarisation**. Pour les NDs-H et les NDs- sp^2 , au contraire, la surface est *a priori* conductrice, ce qui permet les transferts de charges. En effet, nous avons vu dans la partie 4.1 que l'exposition à l'air des NDs-H induit un dopage de type p de la surface et qu'il y a des structures graphitiques conductrices sur les NDs- sp^2 . Pourtant l'évolution du potentiel en fonction de la taille reste différente pour ces deux NDs qui diffèrent par leurs terminaisons de surface. Concernant les particules graphitisées, il a déjà été rapporté que les plans sp^2 ont une grande capacité d'accumulation de charge. Cette accumulation est d'ailleurs utilisée pour développer des **supercondensateurs** à partir de NDs totalement convertis en oignons graphitiques [125, 126]. Il a aussi été montré par KFM sur diamant nanocristallin qu'une accumulation de charge au niveau des joints de grains, où la concentration en carbone

sp^2 est plus importante, avait lieu [235]. En augmentant la taille des agrégats, on augmente la capacité d'accumulation de charge ce qui accroît la différence de potentiel. Au contraire, au niveau des NDs-H, il est connu que la terminaison hydrogène confère une affinité électronique négative au diamant, facilitant la sortie des électrons, ce qui induit une meilleure évacuation des charges. En tenant compte de ces différences entre les deux types de terminaisons, on peut peut-être y associer une meilleure capacité de stockage de charge des NDs- sp^2 par rapport aux NDs-H.

4.3.3 Bilan

Les résultats obtenus par KFM illustrent une propriété fondamentale des NDs, qui est liée à la prédominance des effets de surface par rapport aux effets de cœur pour les interactions électroniques. D'après ces résultats, en effet, ce n'est plus le matériau diamant présent dans le cœur des NDs qui gouverne le potentiel électrostatique, mais plutôt leur capacité à stocker les charges venant de l'extérieur, dépendant de leur chimie de surface. Par ailleurs, en augmentant la taille des agrégats, une plus grande différence de potentiel avec le substrat est mesurée. Cela peut être expliqué par un plus grand nombre de charges stockées au niveau des NDs, indiquant que les NDs peuvent sans doute aussi transférer des charges entre eux. Nous avons d'ailleurs observé que cette propriété de transfert de charge était conservée sur des films continus de NDs, ce qui pourrait permettre le développement de nouveaux types de supercondensateurs par exemple. Un point qu'il serait intéressant d'étudier serait l'effet de la taille des NDs sur ces propriétés de transfert en étudiant des NDs HPHT de taille différente et non plus des agrégats de NDs de détonation ayant la même taille primaire. Il serait peut-être possible de mettre en relief une taille critique de NDs à partir de laquelle le transfert de charges avec le substrat n'est plus l'effet principal influant sur le potentiel électrostatique des NDs. Par exemple, il a été montré que les transferts de charge unique ne pouvaient être observés à température ambiante que pour des structures de tailles inférieures à 20 nm [1].

4.4 Conclusion

Dans ce chapitre nous avons montré que les **NDs interagissent fortement avec les molécules ambiantes** auxquelles ils peuvent être exposés. Au niveau des interactions chimiques, cela peut se traduire par la formation de liaisons covalentes, comme observé avec l'oxygène par XPS. La physisorption de molécules est aussi un phénomène observé. Les capacités d'adsorption des NDs sont sensibles aux types de chimie superficielle, avec notamment un caractère hydrophile surprenant des particules hydrogénées et graphitisées, pour lequel nous avons proposé des explications. Ces interactions/adsorptions peuvent induire également des modifications des propriétés électroniques et électrostatiques des NDs. Ainsi, l'exposition à l'air induit la formation d'une couche dopée de type p sur les NDs-H résultant probablement d'un transfert d'électrons vers des molécules adsorbées, comme observé sur diamant massif. A ce titre, la conductivité résultante de cette couche dopée de surface a été révélée indirectement par les expériences d'XPS et de KFM. Ces propriétés électroniques et électrostatiques particulières aux NDs et à leur chimie superficielle ont aussi pu être mises en évidence par KFM. Ainsi, les NDs-H et NDs- sp^2 ont la capacité d'échanger des charges avec le substrat sur lequel ils sont déposés, tandis que les NDs-COOH sont sans doute polarisés par des différences de charges locales. **Les NDs-H ont la capacité de transférer les charges efficacement** alors que **les NDs- sp^2 peuvent stocker un nombre de charges plus important**. D'un point de vue applicatif, ces propriétés pourraient avoir des répercussions intéressantes dans le domaine de l'électronique ou du stockage de l'énergie. En effet, les NDs-H pourraient avoir des propriétés d'émission d'électrons particulièrement intéressantes, se rapprochant de celles de diamant massif hydrogéné [236]. Les propriétés de stockage de charge des NDs- sp^2 associées à la stabilité de leur cœur diamant pourraient être utilisées pour des applications de supercondensateurs par exemple. Au niveau des applications biomédicales, ces résultats montrent que les traitements de surface des NDs peuvent modifier les propriétés d'interactions électroniques des NDs ce qui va avoir de fortes implications sur leur propriétés colloïdales comme présenté dans le chapitre 5.

Chapitre 5

Rôle de la chimie de surface sur les propriétés colloïdales des nanodiamants dans l'eau

Sommaire

5.1	Mise en suspension des nanodiamants dans l'eau	119
5.2	Origine du potentiel zêta des nanodiamants hydrogénés . . .	125
5.2.1	Chimie de surface des NDs hydrogénés en suspension	125
5.2.2	Échanges électrochimiques à la surface des nanodiamants hydrogénés	127
5.2.3	Bilan	129
5.3	Origine du Potentiel zêta des nanodiamants graphitisés . . .	131
5.3.1	Chimie de surface des NDs graphitisés en suspension	131
5.3.2	Evolution du potentiel zêta en fonction du pH	138
5.3.3	Dopage de surface des nanodiamants graphitisés par adsorption d'oxygène	139
5.3.4	Stabilisation de nanodiamants fortement graphitisés	143
5.3.5	Bilan	144
5.4	Conclusion	144



Introduction

Dans ce chapitre, les propriétés colloïdales des NDs dans l'eau vont être étudiées. Avant d'exposer les NDs modifiés à des cellules tumorales, il est essentiel de s'assurer qu'ils puissent être dispersés dans l'eau en gardant des tailles nanométriques et que la dispersion soit stable dans le temps. Si les propriétés colloïdales des NDs-COOH sont bien connues, celles des NDs-H et NDs- sp^2 restent encore inexplorées. Nous avons vu dans le chapitre précédent que l'adsorption de molécules d'eau était favorisée sur ces NDs modifiés, ce qui laisse espérer une bonne stabilité dans l'eau. Cette stabilité colloïdale est généralement assurée pour les NDs par un potentiel zêta (PZ) élevé comme expliqué dans le chapitre 1. Après avoir validé que les NDs modifiés peuvent effectivement être dispersés dans l'eau, nous allons nous intéresser plus particulièrement au PZ sur les NDs modifiés. La caractérisation de la taille et du PZ des NDs dispersés dans l'eau va être effectuée par la méthode DLS (voir 2.3.3). Un parallèle avec la chimie de surface des NDs- sp^2 et NDs-H, caractérisée de nouveau après dispersion dans l'eau par HRTEM, XPS et FTIR, va nous aider à mieux comprendre ces propriétés.

5.1 Mise en suspension des nanodiamants dans l'eau

La première étape pour étudier les propriétés colloïdales des NDs est la préparation des dispersions stables de NDs ayant les différentes terminaisons de surface étudiées. L'obtention de **suspensions colloïdales stables** à des tailles nanométriques à partir de NDs de détonation nécessite un apport d'énergie pour rompre les liaisons faibles de type Van der Waals qui sont présentes dans les agrégats de NDs (voir 1.2.1). Cette source d'énergie est dans notre cas une sonde à ultrasons (Hielscher UP400S, 300W, 24 kHz) plongée dans la solution qui permet généralement d'obtenir des suspensions avec des dispersions de taille nanométrique. En revanche, les interactions entre les NDs dans les agglomérats sont plus fortes comme discuté précédemment et ne peuvent pas être rompues par simple sonification (voir 1.2.1). Le temps de sonification est adapté au traitement de surface, et varie entre 30 min et 8h. Les dispersions en taille typiques obtenues pour les NDs initiaux et ayant suivi les traitements d'oxydation, d'hydrogénation ou de graphitisation sont présentées sur la figure 5.1. Les paramètres utilisés pour les mesures de dispersion en taille sont détaillés en annexe E.

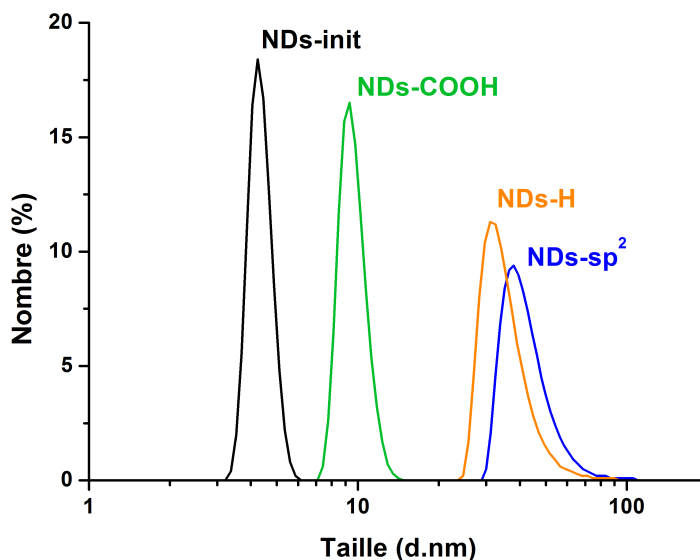


FIGURE 5.1 – Dispersion en taille des NDs-init, NDs-COOH, NDs- sp^2 et NDs-H. Les NDs-init et les NDs-COOH ont des dispersions en taille faibles même sans centrifugation. Pour les NDs-H et NDs- sp^2 , une centrifugation de 1h à 4000 tours/min a été effectuée.

Les NDs-init sont très stables en solution et peuvent être dispersés à des tailles de 5 nm, correspondant à des NDs individuels, après 2h de sonification environ. De la même manière, les NDs-COOH sont rapidement dispersés à des tailles de l'ordre de 10 nm après 2h de sonification. Dans le cas des NDs-H et NDs- sp^2 , nous avons en revanche observé qu'une population de NDs sédimentait au fil du temps, quel que soit le temps de sonification. Dans ces cas-là, une centrifugation est faite pour éliminer les sédiments et les agrégats de la solution. Un compromis entre la taille et la concentration doit être choisi à partir des paramètres de centrifugation. Pour les études de toxicité présentées dans le chapitre 6, nous avons ainsi effectué une centrifugation de 1h à 4000 tours/min ce qui permet d'éliminer les gros agrégats tout en gardant une concentration en NDs élevée, de l'ordre de 7-8 mg/ml. La concentration après sonification a été estimée en mesurant la masse de NDs éliminés de la solution après la centrifugation. La dispersion en taille des NDs-H et NDs- sp^2 présentée sur la figure 5.1 a ainsi été obtenue après ce type de centrifugation. Notons qu'une augmentation de la vitesse et/ou du temps de centrifugation permettra d'obtenir une dispersion présentant des tailles de NDs plus petites, mais à une concentration plus faible. Par exemple, l'ultracentrifugation de suspension de NDs à des vitesses supérieures à 12000 tours/min pendant plusieurs heures permet d'obtenir des tailles de suspension de l'ordre de 5 nm [85, 86]. Dans les cas où des dispersions de taille inférieures à 10 nm mais avec une concentration raisonnable (typiquement supérieure à 1 mg/ml) étaient voulues, une centrifugation à 14800 tours/minute pendant 5 minutes a

été effectuée.

Les suspensions de NDs ainsi obtenues restent généralement **stables pendant plusieurs mois**, stockées à température ambiante dans un tube fermé. Sur la figure 5.2, des exemples de suspensions dans l'eau de NDs traités par 1 h de recuit sous vide à 750°C et 4 h de recuit sous air à 400°C sont présentées. Les NDs donnent une coloration brune à la suspension, qui reste cependant translucide. Cette couleur dépend de la concentration en NDs mais aussi de la taille des objets dispersés [53]. Typiquement sur les NDs, la coloration est brune et translucide pour des dispersions de taille inférieures à 50 nm et devient grise voire noire et opaque pour des dispersions en taille plus élevées.

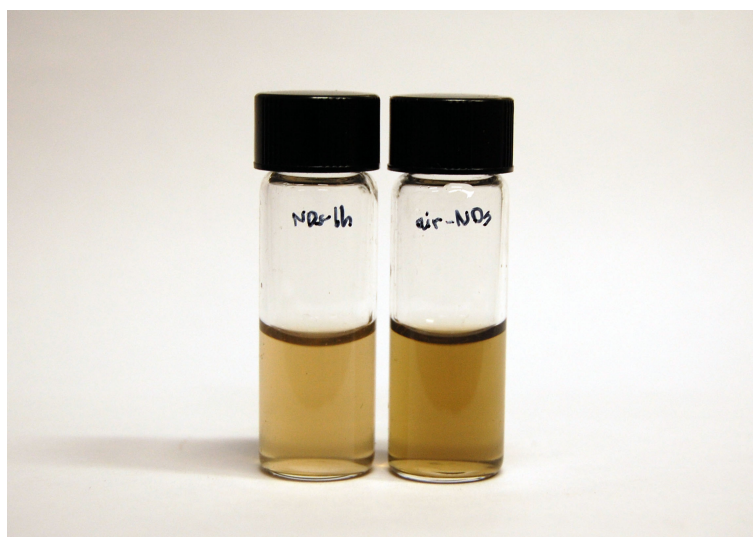


FIGURE 5.2 – *Dispensions de NDs recuits 1 h sous vide à 750°C (NDs-1h) et 4 h sous air à 400°C (air-NDs) dans l'eau.*

Cette bonne stabilité colloïdale est notamment assurée par la répulsion électrostatique entre les NDs, qui ont un PZ élevé. On estime qu'il faut un PZ supérieur à 30 mV en valeur absolue pour obtenir une bonne stabilisation par répulsion électrostatique. Le **PZ dépend notamment du pH**, c'est pourquoi son évolution en fonction de ce paramètre a été mesurée pour les NDs avec des terminaisons de surface différentes comme présenté sur la figure 5.3.

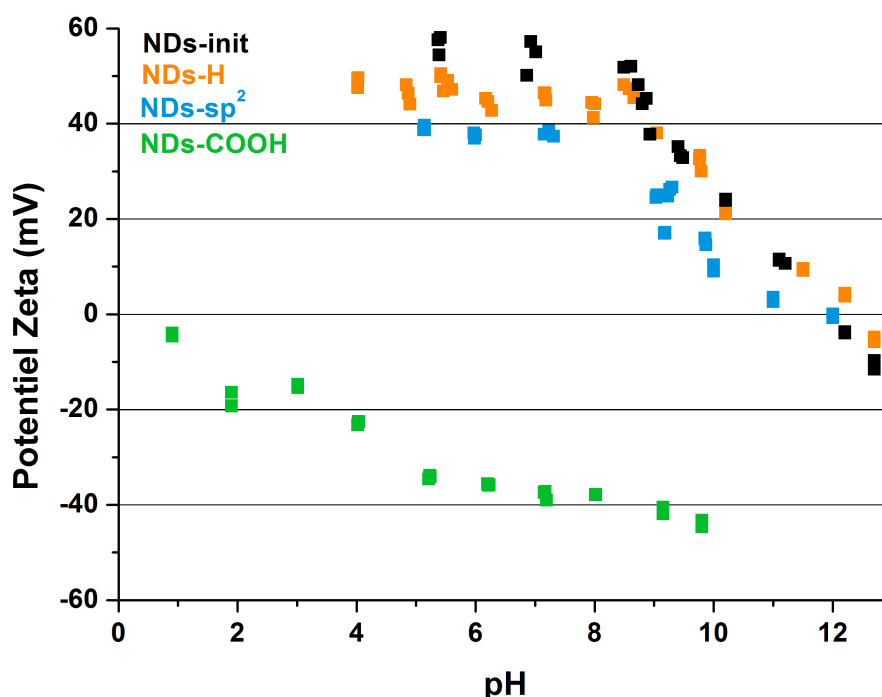


FIGURE 5.3 – Evolution du potentiel zêta en fonction du pH pour les NDs-init (noir), les NDs-COOH (vert), les NDs-H (orange) et les NDs-sp² (bleu).

Les NDs-COOH ont un PZ négatif qui diminue progressivement en valeur absolue vers les bas pH et la décroissance devient plus forte pour $\text{pH} < 5$. L'origine des charges négatives sur les NDs-COOH a déjà été discutée dans la littérature [139]. Ces charges sont induites par **la déprotonation des groupements carboxyliques** (COOH) sous forme de groupements carboxylates (COO⁻). La présence de ces groupes chimiques a été validée par FTIR comme discuté dans la partie 3.2. Le pKa du couple (COOH/COO⁻) étant de l'ordre de 5, la baisse plus importante du potentiel zêta à pH acide s'explique par la protonation progressive de ces groupements carboxylates.

En revanche, les NDs-init, les NDs-H et les NDs-sp² présentent un PZ fortement positif jusqu'à $\text{pH} = 8$, qui diminue ensuite progressivement. Des NDs ayant un PZ positif ont déjà été présentés plusieurs fois dans la littérature [44, 48, 91, 86, 50]. A part pour le cas des NDs fonctionnalisés avec des amines, qui peuvent se protoner à pH acide [50], **l'origine des charges positives reste une question ouverte**. Plusieurs hypothèses ont été proposées, basées sur la protonation de groupements hydroxyles [79] ou la basicité du carbone sp² provenant de reconstructions graphitiques sur les NDs. Il a été suggéré que ces structures graphitiques pourraient stabiliser la protonation de groupements lactones [91], ou favoriser l'adsorption d'ions oxonium sur les NDs [86]. Pourtant ces hypothèses

n'ont pas encore pu être validées expérimentalement. De plus, dans notre cas, le PZ positif est aussi observé sur des NDs n'ayant pas de structures graphitiques (NDs-init et NDs-H). Pour ces trois dispersions, nous avons observé qu'en faisant buller de l'azote pendant plusieurs minutes, les NDs ont une forte tendance à la floculation puis à la sédimentation. Cet effet paraît étonnant si l'on considère que les charges de surface sont conférées seulement par un groupement chimique de surface.

Afin de trouver de nouvelles pistes permettant d'expliquer l'origine de ce PZ positif, **un parallèle entre la variation du PZ avec le pH et les caractérisations de la chimie de surface des NDs modifiés après dispersion dans l'eau** va être effectué. Étant donné que la chimie des NDs-init n'est pas contrôlée, cette étude portera uniquement sur les NDs- sp^2 et les NDs-H. **Ces traitements permettent en effet d'assurer un PZ positif de manière reproductible indépendamment de la source des NDs.** Même si les résultats présentés ici sont basés sur des NDs ayant initialement un PZ positif, des traitements similaires ont permis de rendre positif le PZ de NDs initialement chargés négativement. Par exemple, des NDs de détonation provenant du fournisseur PlasmaChem GmbH ont été exposés à un traitement de recuit sous vide à 750°C pendant 1h pour induire une graphitisation de surface. Le PZ initial de ces NDs est de -37 ± 5 mV après dispersion dans l'eau (Figure 5.4). Après recuit sous vide, les NDs ont de nouveau été dispersés dans l'eau et le PZ mesuré était de $+32 \pm 6$ mV.

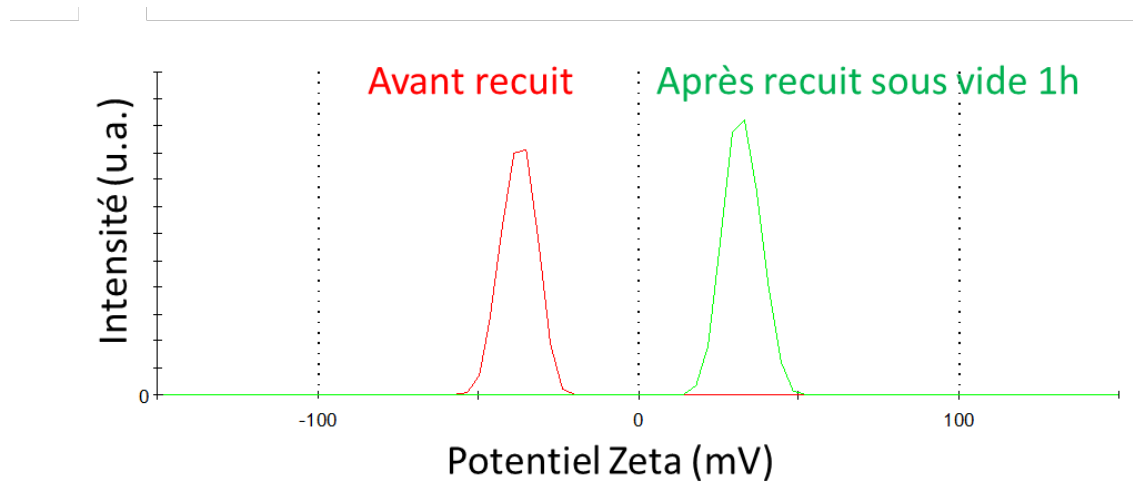


FIGURE 5.4 – *Changement de signe du potentiel zêta dans l'eau de NDs produits par PlasmaChem GmbH par recuit sous vide à 750°C pendant 1h. La distribution du potentiel zêta initial est indiquée en rouge et celle après recuit sous vide en vert.*

Les propriétés colloïdales des NDs avec les différentes terminaisons de surface sont résumées dans le tableau 5.1. La valeur du PZ à pH 7.4 est indiquée, qui correspond au

5.1 Mise en suspension des nanodiamants dans l'eau

	Diamètre hydro-dynamique moyen (nm)(écart type)	Potentiel zêta à pH = 7.4 (mV)	Zone de stabilité (PZ > 30 mV) (pH)	Point isoélectrique (pH)
NDs-init	5.0 (0.5)	+ 56 ± 5	< 10	11.9
NDs-COOH	9.6 (1.0)	- 38 ± 5	> 4.5	< 1
NDs-H	36.6 (10.0)	+ 45 ± 5	< 10	12.4
NDs-sp ²	37.5 (9.5)	+ 38 ± 5	< 9	11.9

TABLE 5.1 – *Récapitulatif des propriétés colloïdales des NDs en fonction de leur chimie de surface.*

pH du sang, aussi appelé **pH physiologique** [237]. Il faut noter que le pH est ici ajusté en ajoutant de l'hydroxyde de sodium, mais dans les conditions physiologiques des protéines et d'autres sels viendront probablement s'adsorber sur la surface des NDs. Cela implique que le PZ mesuré ici à pH 7.4 ne sera pas forcément le même en un milieu biologique à pH égal. La zone de stabilité dans l'eau, correspondant à la gamme de pH pour laquelle le PZ est supérieur à 30 mV en valeur absolue est aussi rappelée.

5.2 Origine du potentiel zêta des nanodiamants hydrogénés

5.2.1 Chimie de surface des NDs hydrogénés en suspension

Comme discuté dans la partie 5.1, les NDs-H présentent un PZ positif très élevé sur une large gamme de pH qui permet de les stabiliser efficacement dans l'eau par répulsion électrostatique. Dans le chapitre 4, nous avons vu que l'exposition à l'air des NDs-H induit de fortes modifications du spectre XPS C1s, avec notamment un déplacement vers les basses énergies de liaison, caractéristique de la formation d'une couche conductrice de type p en surface des NDs-H. Dans le même esprit, une analyse XPS des NDs-H après leur dispersion dans l'eau a été effectuée. Le spectre XPS C1s des NDs-H est composé de trois pics situés aux énergies de liaisons 285.6, 286.6 et 287.5 eV, respectivement (figure 5.5). Les paramètres de déconvolution sont détaillés dans le tableau 5.2.

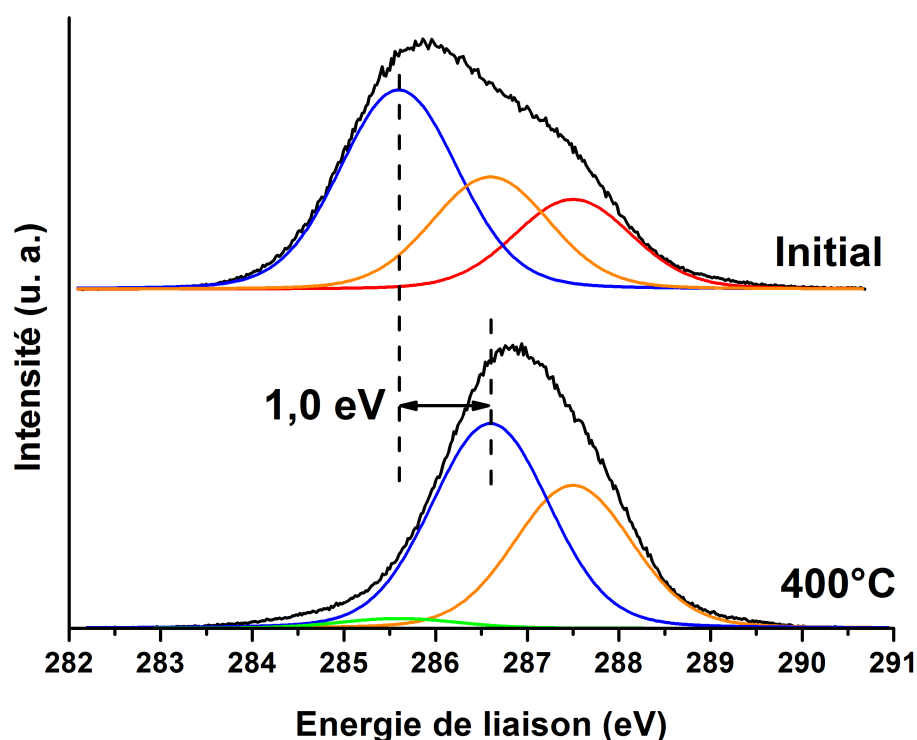


FIGURE 5.5 – Spectre XPS C1s des NDs-H après dispersion dans l'eau, avant et après recuit *in situ* à 400°C.

Comme dans le cas des NDs-H ayant été exposés à l'air (4.1), on observe trois composantes, qui sont attribuées aux liaisons C-C sp^3 , aux défauts/C-N/ CH_x et aux simples

5.2 Origine du potentiel zêta des nanodiamants hydrogénés

Composante		Initial	400°C
C ₀	Énergie de liaison (eV)	-	285.6
	Aire relative du pic C1s (%)	-	3
C-C <i>sp</i> ³	Énergie de liaison (eV)	285.6	286.6
	Aire relative du pic C1s (%)	50	57
Défauts/ C-N/ CH _x	Énergie de liaison (eV)	286.6	287.5
	Aire relative du pic C1s (%)	28	40
C-O	Énergie de liaison (eV)	287.5	-
	Aire relative du pic C1s (%)	22	-
Oxygène (O1s)	Concentration atomique (% at.)	3.0	1.0

TABLE 5.2 – Paramètres de déconvolution pour les NDs-H dispersés dans l'eau. La largeur à mi-hauteur de toutes les composantes est 1.5 eV.

liaisons C-O. Comme pour les NDs-H préalablement exposés à l'air, le spectre du niveau de cœur C1s est aussi décalé par rapport à celui des NDs-H caractérisés *in situ*, ici de 1.7 eV vers les basses énergies de liaison. Après un recuit *in situ* à 400°C, la composante associée aux liaisons C-O disparaît totalement. Cette diminution a lieu en parallèle de la désorption de l'oxygène, qui passe de 3.0 à 1.0 % at. On observe aussi une forte augmentation de la composante associée aux défauts, qui passe de 28 % à 40 % du pic C1s, qui pourrait être expliquée par la formation de liaisons pendantes après la désorption des espèces oxygénées, le recuit ayant été effectué sous UHV. **Un décalage du pic C1s vers les hautes énergies de + 1.0 eV** a lieu (Figure 5.5). La même évolution avait été observée après recuit de l'échantillon exposé à l'air, mais avec un déplacement de + 0.7 eV en énergie de liaison. Une composante C₀, représentant environ 3 % du pic C1s, est toujours détectée à 285.6 eV après recuit. Cette composante est probablement liée à la présence d'adsorbats résiduels induisant un décalage en énergie des liaisons C-C *sp*³ pour quelques NDs.

Concernant les déplacements de la composante principale observés ici après le recuit sous UHV, nous avons vu dans le chapitre précédent que l'exposition à l'air du diamant hydrogéné pouvait induire la formation d'une couche conductrice de type *p* en surface (voir 4.1). Il a déjà été montré dans la littérature que la présence de cette couche superficielle induit un décalage du pic C1s vers les basses énergies de liaison [216], dû à la courbure

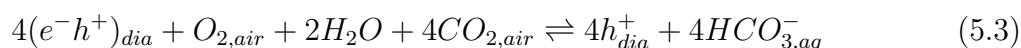
de bande à l'origine du "dopage par transfert" (voir figure 4.2). **Après recuit à 400°C sous vide et désorption des adsorbats, cette courbure de bande disparaît**, tout comme la conductivité de surface associée. Ainsi, à partir du décalage des pics C1s avant et après recuit, il est possible d'estimer la valeur de cette courbure de bande, qui est de 0.7 eV après exposition à l'air et de 1.0 eV après dispersion dans l'eau. Les valeurs obtenues ici sont en adéquation avec ce qui a déjà été mesuré [216, 238]. La différence observée ici entre l'exposition à l'air et à l'eau peut provenir de la nature des adsorbats présents sur la surface.

5.2.2 Échanges électrochimiques à la surface des nanodiamants hydrogénés

Il est difficile d'estimer par les analyses XPS précédentes la nature exacte des molécules avec lesquelles le transfert de charge a lieu. Nous pouvons seulement dire qu'il s'agit de molécules étant présentes dans l'air ou dans l'eau puisque les NDs n'ont été exposés qu'à ces environnements. De plus, ces molécules contiennent de l'oxygène. En effet, la désorption des adsorbats par recuit *in situ* est accompagnée d'une diminution de la concentration atomique en oxygène de 2 % at. Une partie des adsorbats induit la formation de liaisons covalentes C-O qui ont une faible stabilité puisque la désorption est obtenue à 400°C. Cela pourrait être dû à la formation d'hydroxyles, qui peuvent jouer un rôle dans le dopage de surface du diamant hydrogéné dans l'eau [218]. La question des transferts de charge du diamant hydrogéné dans l'eau a déjà été étudiée par Chakrapani *et al* dans le cas de particules de diamant hydrogéné de taille micrométrique [230]. Ces auteurs ont montré qu'en solution aqueuse, **le transfert de charge était gouverné par un équilibre électrochimique ayant lieu entre les surfaces de diamant hydrogéné et un couple redox impliquant l'oxygène dissout dans l'eau**, en équilibre avec l'air. Ainsi, selon les conditions de pH, ce couple redox peut être :



En assimilant la surface de diamant à un couple redox, le mécanisme proposé pour le transfert de charge dans l'eau pour une surface de diamant ayant préalablement été exposée à l'air est le suivant, en considérant que l'acidité provient du CO₂ atmosphérique :



La direction du transfert de charge et donc la courbure de bande en surface du matériau après équilibre est ainsi déterminée par la différence entre le potentiel électrochimique

du couple redox et le niveau de Fermi du diamant.

La valeur du PZ est aussi une mesure permettant d'estimer le sens du transfert de charge. Ainsi, Chakrapani *et al* ont mesuré le PZ de poudres micrométriques de diamant hydrogéné dans l'eau à différents pH. A pH acide, ce **PZ est positif, indiquant un transfert d'électrons du diamant vers la solution**, et le PZ devient négatif à pH basique dû au transfert d'électrons de la solution vers le diamant, ce qui est en accord avec l'équilibre décrit précédemment. **Le point isoélectrique** correspond donc au pH où le potentiel électrochimique du couple redox de l'oxygène est égal au niveau de Fermi du diamant après équilibrage à l'air. On peut alors estimer le niveau de Fermi du diamant à l'air par une simple mesure de ce point isoélectrique. Dans le cas des poudres de diamant micrométriques, le point isoélectrique est atteint à $\text{pH} = 6.1$, permettant d'estimer le potentiel électrochimique à $- 5.3 \text{ eV}$, ce qui est proche de la valeur de $- 5.2 \text{ eV}$ déterminée par KFM sur diamant massif [232].

Dans le cas des NDs, cette mesure est particulièrement intéressante puisque nous avons vu précédemment que le niveau de Fermi des NDs ne peut pas être estimé directement par KFM à cause de l'influence du substrat sur leur potentiel de surface (voir 4.3). L'évolution du PZ en fonction du pH pour des NDs-H a été présentée sur la figure 5.3.

Le fait d'utiliser des NDs au lieu des particules micrométriques implique de fortes modifications du PZ et notamment du point isoélectrique, mais la discussion précédente peut être transposée sur les NDs-H. On observe un PZ supérieur à $+ 40 \text{ mV}$ jusqu'à pH 8, qui diminue ensuite de façon linéaire en fonction du pH. **Le point isoélectrique est atteint pour un $\text{pH} = 12.4$** . En utilisant la formule de Nernst pour l'équilibre 5.2 correspondant aux conditions basiques, à 298 K et en considérant la pression partielle en oxygène à 0.21 bar, on obtient un **potentiel électrochimique** $\mu_e = - 4.9 \text{ eV}$. Cette valeur est supérieure ($+ 0.4 \text{ eV}$) à la valeur obtenue sur des microparticules de diamant. Cette différence pourrait avoir différentes origines. D'une part, le gap du diamant est de 5.5 eV , pourtant il n'est pas certain que la valeur soit identique pour des NDs car des effets de confinement quantique peuvent entrer en jeu pour ces dimensions nanométriques [234]. De même, l'affinité électronique χ du diamant hydrogéné est estimée à $- 1.30 \text{ eV}$ dans le vide [239] mais est réduite à des valeurs entre $- 0.3$ et $- 0.5 \text{ eV}$ dans l'eau compte-tenu de l'adsorption de molécules sur la surface de diamant [232, 240, 241]. Cette adsorption est particulièrement significative sur les NDs comme il a été montré dans la partie 4.2, et peut induire des effets de dipôles liés à la conformation des molécules d'eau sur la surface des NDs [105]. L'orientation des molécules d'eau à la surface des NDs peut aussi expliquer l'adsorption asymétrique des contre-ions HO^- et H_3O^+ , jouant aussi un rôle dans ces transferts de charge, comme proposé par Hartl *et al* [218].

5.2.3 Bilan

Le modèle de transfert de charge permet d'expliquer les spectres XPS des NDs-H mais donne aussi une nouvelle explication pour l'origine du PZ positif des NDs-H. Le rôle prépondérant de l'oxygène dissout dans l'eau a été validé. En effet, après élimination de cet oxygène grâce à un flux d'azote dans la solution, une sédimentation progressive des NDs-H a été observée. Cette discussion permet de proposer un diagramme de bande pour illustrer l'équilibre électrochimique qui s'établit entre les NDs-H et les adsorbats à pH = 12.4 et à pH neutre (Figure 5.6).

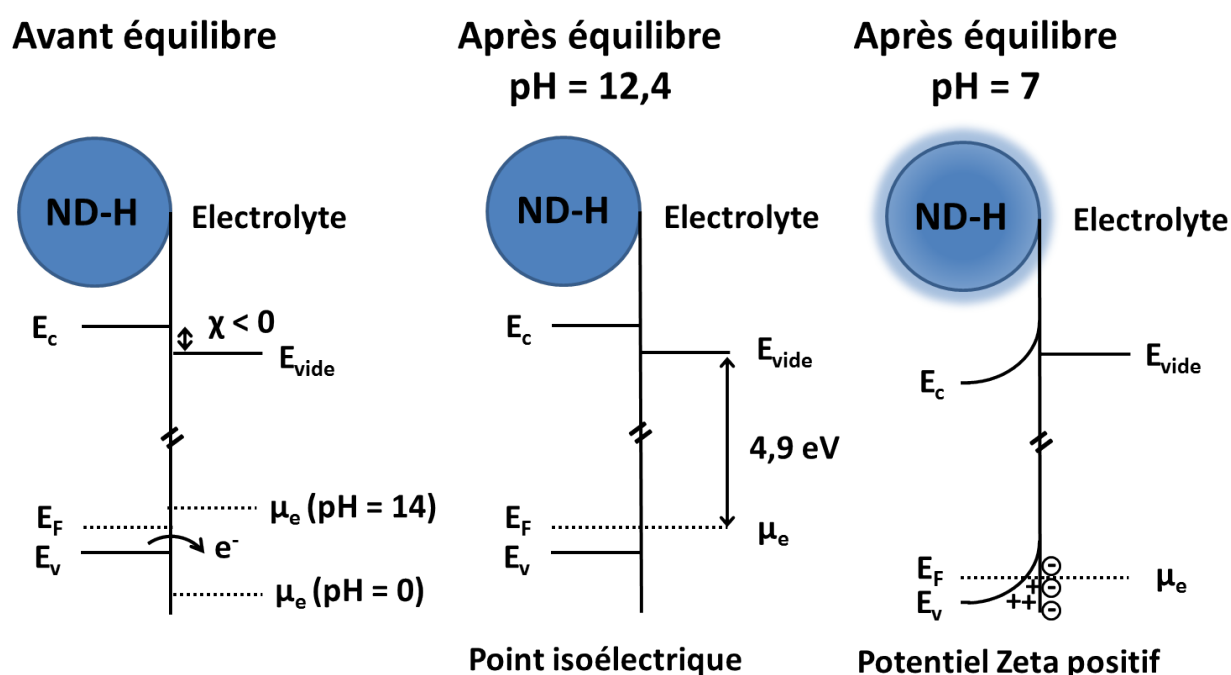


FIGURE 5.6 – Modèle de dopage par transfert de charge sur les NDs-H en solution aqueuse.

Les NDs-H ayant une affinité électronique χ négative, l'exposition à l'air des NDs-H puis la dispersion dans l'eau induit un transfert d'électrons entre les NDs-H et des espèces oxygénées adsorbées à la surface des NDs-H. Ce transfert de charge permet d'équilibrer le niveau de Fermi des NDs-H avec le potentiel électrochimique du couple redox dans l'eau. Dans ces transferts de charge, un couple redox basé sur la présence d'oxygène dissout dans l'eau est impliqué, dont le potentiel varie avec le pH. Ainsi, le sens du transfert de charge dépend du pH de la solution aqueuse, qui régule le potentiel électrochimique du couple dans l'eau. Au point isoélectrique des NDs-H, situé au pH = 12.4, on peut considérer le système en régime de "bandes plates", *i.e.* sans transfert de charge entre le matériau et les adsorbats. En dessous de ce pH, la courbure des bandes positive induite par l'égalisation du niveau de Fermi du diamant et le potentiel du couple redox permet l'accumulation de

5.2 Origine du potentiel zêta des nanodiamants hydrogénés

trous à la surface du matériau, *i.e.* la présence de charges positives à la surface des NDs-H, ce qui induit un PZ positif. On peut donc considérer que les NDs-H se comportent de manière similaire aux surfaces de diamant hydrogénées mais avec des énergies différentes, provenant probablement de leur taille nanométrique. La mesure du point isoélectrique est d'ailleurs une méthode originale pour avoir une **estimation de l'énergie de Fermi des NDs par rapport au niveau du vide, qui est ici de 4.9 eV**. Des caractérisations électroniques différentes, comme par exemple par spectroscopie photoélectronique UV (UPS), pourraient peut-être donner des informations supplémentaires sur les niveaux d'énergie de la bande de valence qui pourraient compléter ce modèle.

5.3 Origine du Potentiel zêta des nanodiamants graphitisés

5.3.1 Chimie de surface des NDs graphitisés en suspension

L'origine du PZ positif sur les NDs- sp^2 n'est probablement pas de même nature que pour les NDs-H car le modèle de transfert de charge décrit précédemment est basé sur la présence d'une surface hydrogénée. Une procédure similaire, consistant à comparer la chimie de surface des NDs- sp^2 à leurs propriétés colloïdales, a donc été employée pour remonter à l'origine de ces charges positives.

Dans un premier temps, il faut préciser que seule une partie des NDs graphitisés obtenus après recuit sous vide à 750°C semble être stable dans l'eau. En effet, après 10 minutes de centrifugation à 12000 tours/min, deux populations de NDs pouvaient être séparées. Chaque populations de NDs a été analysée par XPS et les niveaux de cœur du carbone C1s correspondant aux NDs restant stables dans l'eau et aux NDs ayant sédimenté sont présentés sur la Figure 5.7. Cette méthode innovante va nous permettre de faire un lien direct entre la chimie de surface et la stabilité colloïdale. Les NDs stables ont aussi été caractérisés par FTIR et HRTEM. Le cas des NDs ayant été recuits sous vide pendant 8 h va maintenant être détaillé. Notons cependant que des observations similaires ont été faites après les autres temps de recuit.

On observe que ces deux spectres sont très différents, indiquant des chimies de surface différentes. Le spectre correspondant aux NDs ayant précipité après centrifugation est situé à une énergie de 289.9 eV et est très large avec une largeur à mi-hauteur de 3.8 eV. Il y a donc des effets de charge très marqués par rapport aux NDs dispersés dans l'eau, ce qui va être discuté par la suite. On observe une composante importante (25 % du pic C1s) à l'énergie de liaison 286.9 eV, qui correspond au carbone hybridé sp^2 . L'aire relative du pic est similaire à celle calculée après exposition à l'air (voir 3.4.2), ce qui indique que les plans sp^2 ne sont probablement pas endommagés après sonification. Le spectre des NDs stables en suspension est situé à une énergie de liaison plus faible (286.8 eV) et est aussi beaucoup plus fin avec une largeur à mi-hauteur de 2.4 eV. Il peut être déconvolué en trois composantes à 286.6, 287.7 et 288.3 eV. Ce premier pic est associé aux liaisons carbone hybridés sp^3 , le deuxième aux défauts et liaisons C-N/ CH_x et le troisième aux liaisons C-O. Ces attributions ont déjà été discutées précédemment (voir 3.1). La composante importante liée aux liaisons C-O est en accord avec la concentration atomique en oxygène estimée à 6.2 % at. Il est étonnant de ne pas détecter de signal provenant du carbone hybridé sp^2 qui était bien présent sur les spectres XPS obtenus après la sortie du four de recuit (voir 3.4).

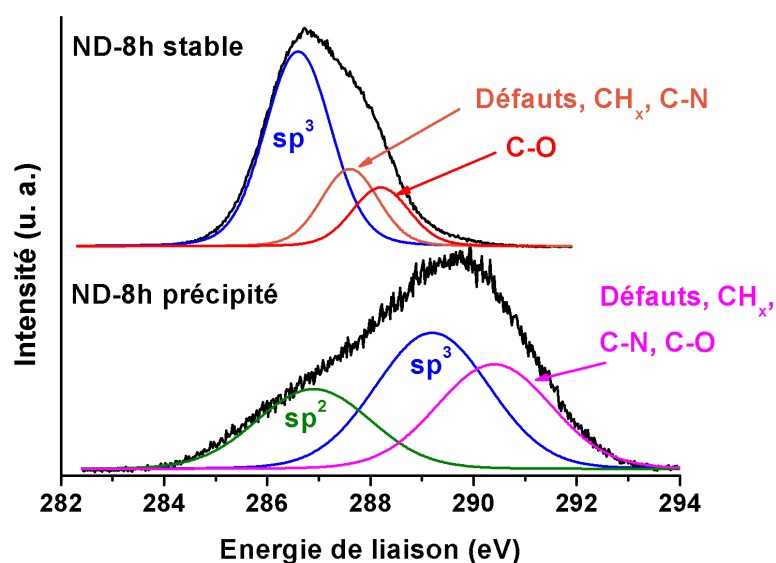


FIGURE 5.7 – Spectres XPS $C1s$ des NDs- sp^2 préparés après 8 h de recuit sous vide. Les spectres correspondant aux NDs stables dans l'eau (haut) et aux NDs séparés par centrifugation (bas) sont indiqués.

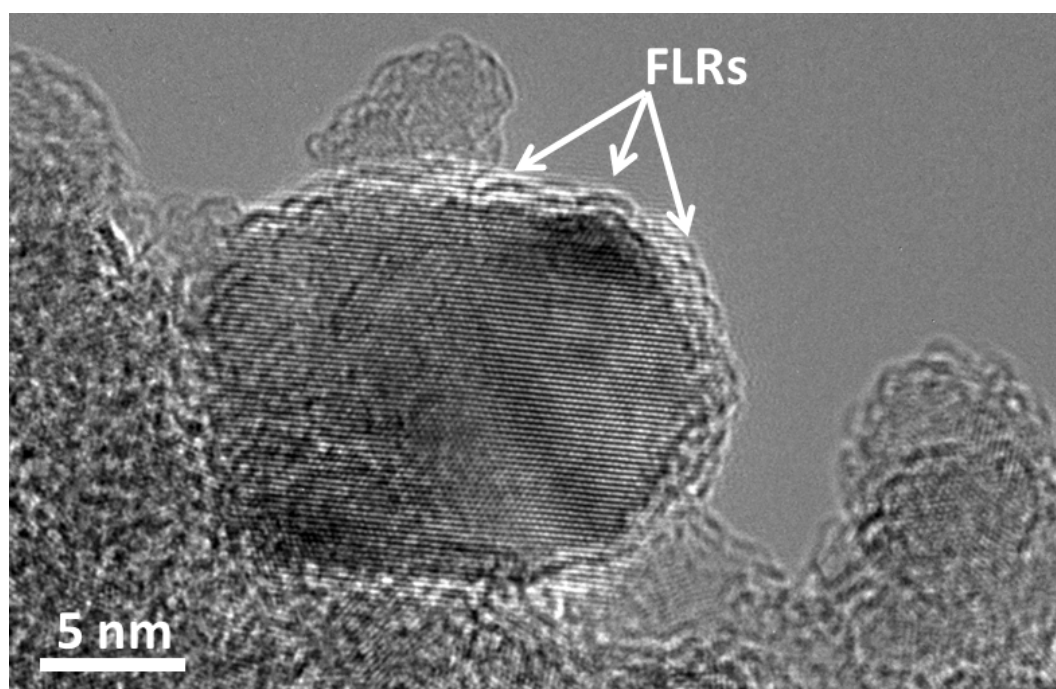


FIGURE 5.8 – Cliché HRTEM d'un NDs-8h stable en suspension dans l'eau. Quelques FLRs sont indiquées par des flèches blanches.

Des clichés HRTEM ont été réalisés sur ces NDs-8h stables en suspension (Figure 5.8). La présence de FLRs, caractérisée par des plans atomiques courbés à la surface des NDs

avec un contraste marqué comme expliqué dans la partie 3.4, est clairement visible sur une grande majorité de la surface des NDs (Figure 5.8). Ces NDs seront nommés NDs-FLRs dans la suite de l'étude. En revanche, sur toutes les images HRTEM effectuées sur les NDs issus de cette solution, les NDs ayant plusieurs couches graphitiques, qui étaient bien visibles après recuit sous vide (Figure 3.16 (c)) ne sont plus observés. Ces NDs fortement graphitisés ont probablement sédimenté pendant la centrifugation et ne sont donc plus présents dans la solution. Cela est en accord avec les spectres XPS des NDs dans le précipité, pour lesquels le carbone sp^2 est bien visible (Figure 5.7). **La centrifugation apparait donc comme une méthode simple et efficace pour isoler les NDs-FLRs des NDs ayant plusieurs couches graphitiques en surface.**

Pour les NDs-8h stables en suspension, une explication possible de l'absence de la signature des FLRs sur les spectres XPS pourrait provenir d'une interaction électronique des plans sp^2 avec des molécules adsorbées. En effet, nous avons vu que ces NDs interagissaient fortement à l'exposition à des molécules d'eau (voir 4.2.1). Ces interactions peuvent potentiellement induire des distorsions, voire des ruptures, des liaisons C=C, impliquant un déplacement vers les hautes énergies de liaison des niveaux de cœur des atomes de carbone associés. Vinogradov *et al* ont ainsi montré que l'exposition d'une couche de graphène à l'oxygène atomique provoquait une transformation sp^2 vers sp^3 , qui peut être suivie par XPS [242]. **L'exposition à l'oxygène atomique induit l'ouverture de la liaison C=C pour permettre l'intercalation d'un atome d'oxygène, résultant en la formation d'un groupe époxy**, qui correspond à un groupe C-O-C avec une liaison supplémentaire entre les 2 atomes de carbone comme illustré sur la figure 5.9.

Il est intéressant de noter que ces liaisons covalentes entre le carbone et l'oxygène sont relativement faibles et réversibles, puisque les auteurs ont montré qu'après un recuit à 550°C sous vide l'oxygène a pu être totalement désorbé, ce qui induit la réapparition du pic sp^2 initial du graphène. D'autres études ont validé la faible température de désorption de l'oxygène sur ces groupements époxy [243, 244]. Hossain *et al* ont même montré qu'une température de 260°C était suffisante pour désorber cet oxygène. Nous nous sommes donc intéressés à l'évolution des spectres XPS après recuit *in situ* à 200, 400 et 600°C sur les NDs-8h stables en suspension afin de voir si un effet similaire était envisageable sur les NDs graphitisés. Les spectres XPS C1s initiaux des NDs-8h stables en suspension et après recuit à 600°C sont présentés sur la figure 5.10 (a) l'évolution de l'aire de chaque composante après chaque recuit est indiquée en (b). Les paramètres de déconvolution et la concentration atomique en oxygène après chaque recuit sont résumés dans le tableau 5.3.

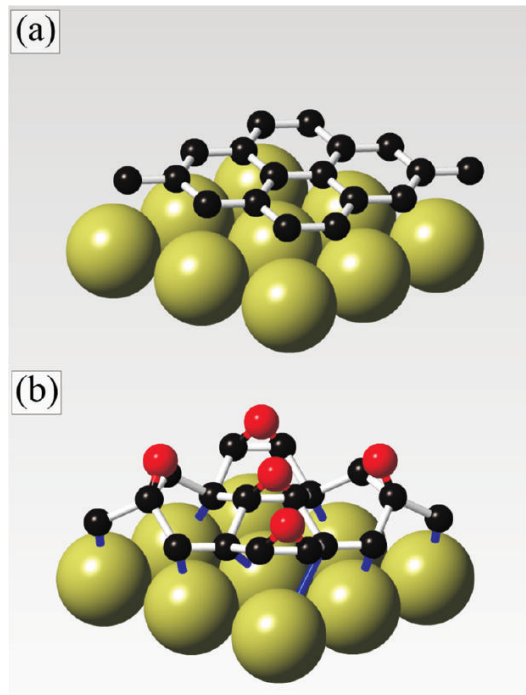


FIGURE 5.9 – Feuille de graphène supporté par un substrat métallique avant (a) et après (b) oxydation par exposition à de l’oxygène atomique. Les sphères noires et rouges représentent les atomes de carbone et d’oxygène, respectivement. D’après la référence [242].

Après recuit à 200°C, la concentration en oxygène passe de 6.3 à 4.9 % at. (voir Tableau 5.3) et cette décroissance est associée avec une diminution de l’énergie de liaison des pics de 0.4 eV. On observe l’apparition d’un pic à 285.0 eV, pouvant correspondre au carbone sp^2 . Ce pic est légèrement déplacé vers les hautes énergies ce qui peut être lié à la présence d’oxygène à proximité comme nous l’avons vu dans le paragraphe 4.1.2. Étonnamment, l’augmentation de ce pic est observée en parallèle d’une légère diminution de la composante sp^3 (voir Tableau 5.3), alors que le pic des liaisons C-O n’est pas modifié. Étant donné la faible température de désorption, l’oxygène désorbé provenait d’espèces physisorbées sur la surface des NDs. Après recuits à 400 et 600°C, l’oxygène est réduit à 2.9 et 1.3 % at., respectivement. Cette désorption de l’oxygène est cette fois accompagnée d’une disparition presque complète des liaisons C-O, indiquant qu’il s’agit essentiellement d’oxygène chimisorbé sur la surface des NDs. Une légère augmentation du pic sp^2 est mesurée en parallèle, et l’écart entre les énergies de liaison des pics sp^2 et du sp^3 augmente de 1.2 à 1.7 eV après recuit à 600°C. Cette augmentation de l’écart pourrait être liée à une délocalisation des électrons sur les FLRs qui serait plus importante après recuits [212]. Pour résumer, **après désorption de l’oxygène, qui induit une disparition des liaisons C-O, on observe l’apparition de carbone hybridé sp^2 à la surface des NDs.**

Cette évolution étonnante de la surface peut être expliquée de la manière suivante.

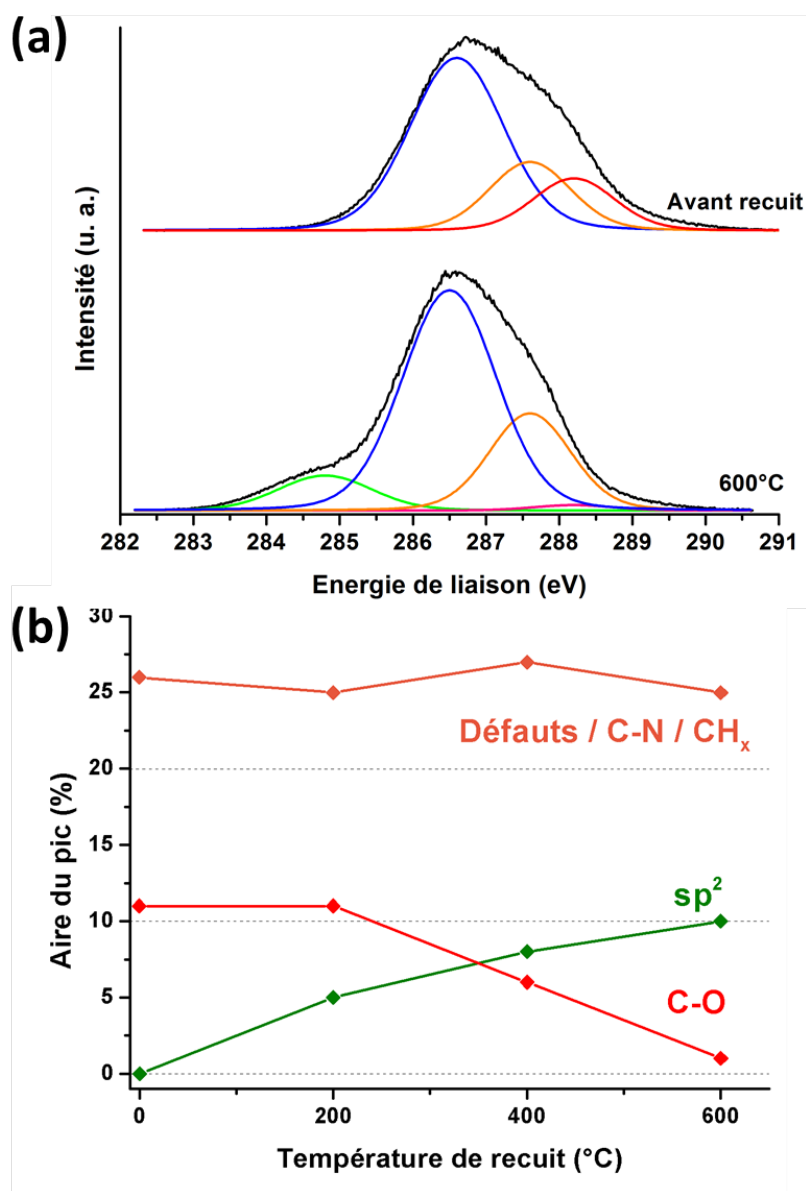


FIGURE 5.10 – (a) Spectres XPS C1s des NDs-8h avant (haut) et après (bas) recuit *in situ* sous UHV à 600°C. (b) Aire relative des composantes de surfaces des pics C1s après recuit séquentiels à 200, 400 et 600°C.

Tout d'abord, il est peu probable que l'apparition du carbone sp^2 provienne d'une graphitisation de la surface des NDs durant ces recuits à des températures inférieures à 600°C, puisque nous avons montré que cette graphitisation commence pour des températures supérieures à 700°C dans la partie 3.4. Dans la gamme de température 200-600°C, l'oxygène est désorbé, et la désorption est associée à une augmentation progressive de la composante carbone sp^2 , ce qui indique que des interactions électroniques s'opèrent entre les FLRs et les molécules oxygénées à leur surface. L'évolution du spectre C1s après recuit à 200°C peut s'expliquer par la présence de liaisons non-covalentes, par exemple électrostatiques,

5.3 Origine du Potentiel zêta des nanodiamants graphitisés

Composante		Initial	200°C	400°C	600°C
C-C sp^2	Énergie de liaison (eV)	-	285.0	284.6	284.8
	Aire du pic C1s (%)	-	5 ± 1	8 ± 1	10 ± 1
C-C sp^3	Énergie de liaison (eV)	286.6	286.2	286.1	286.5
	Aire du pic C1s (%)	63 ± 1	59 ± 1	59 ± 1	64 ± 1
Défauts, C-N, CH _x	Énergie de liaison (eV)	287.7	287.3	287.2	287.6
	Aire du pic C1s (%)	26 ± 1	25 ± 1	27 ± 1	25 ± 1
C-O	Énergie de liaison (eV)	288.3	287.9	287.8	288.2
	Aire du pic C1s (%)	11 ± 1	11 ± 1	6 ± 1	1 ± 1
Oxygène (O1s)	Concentration atomique (at. %)	6.3	4.9	2.9	1.3

TABLE 5.3 – Paramètres de déconvolution des pics C1s obtenus après recuit sous UHV. La FWHM des pics est de 1.5 eV pour les C-C sp^2 et sp^3 et de 1.3 eV pour les autres composantes.

entre les molécules adsorbées et les plans sp^2 des FLRs. Ces interactions peuvent induire un léger déplacement du pic sp^2 vers les hautes énergies, qui était donc masqué par le pic du sp^3 sur le spectre initial à cause de la résolution de notre équipement XPS qui est de 0.6 eV. La disparition des liaisons C-O après recuits à 400 et 600°C indique que des liaisons covalentes mais peu stables sont présentes entre les FLRs et les molécules oxygénées. Ce comportement fait penser à l'**oxydation réversible** discutée précédemment sur les couches de graphène, pourtant dans notre cas la surface n'a pas été exposée à l'oxygène atomique. En revanche, une oxydation réversible du même type pourrait avoir lieu avec du dioxygène (O₂) présent dans l'air mais aussi dissous dans l'eau. En effet, la **cy-cloaddition d'oxygène moléculaire dans un cycle aromatique, formant ainsi un groupe endoperoxide**, a déjà été observée sur nanotubes de carbone par Dukovic *et al* [245]. Après recuits, l'aire du pic associé au carbone sp^2 représente environ 10 % de l'aire totale du pic C1s, correspondant approximativement à un peu moins d'une monocouche de carbone sp^2 sur la surface, ce qui est cohérent avec les observations faites en HRTEM (voir 5.8). En effet, Shenderova *et al* ont estimé que la proportion d'atomes de surface sur un NDs d'environ 5 nm de diamètre était de l'ordre de 15-20 % [42]. On peut déduire de ces observations que **les NDs graphitisés qui sont stables en suspension sont ceux recouverts de FLRs saturés par de l'oxygène faiblement chimisorbé, par exemple sous forme d'endoperoxides, ou simplement physisorbé à leur surface.**

Afin de confirmer la présence d'endoperoxides, la chimie de surface des NDs-FLRs a été caractérisée par FTIR (Figure 5.11). Les spectres ont été enregistrés sous vide après un recuit *in situ* à 200°C afin d'éliminer seulement les espèces physisorbées. On observe la présence de bandes à 2940 et 2875 cm^{-1} caractéristiques des groupes CH_2 et CH_3 sur les NDs de détonation [200]. Le pic associé aux $\text{C}=\text{O}$ à 1720 cm^{-1} sur les NDs initiaux (Figure 3.4) n'est plus visible sur les spectres des NDs-1h et NDs-8h. Il est observé avec un décalage de 20 cm^{-1} sur les air-NDs-1h. On observe par contre un pic à 1575 cm^{-1} , qui est dû aux liaisons $\text{C}=\text{C}$ aromatiques, validant la présence de FLRs non saturées [115]. La modification la plus importante est l'apparition d'une large bande à 1100 cm^{-1} , qui peut être assignée aux étirements $\text{C}-\text{O}$ des groupes de type éther ou époxy [246]. Dans notre cas, il est plus probable que cette bande soit induite par les endoperoxides, qui sont constitués de liaisons $\text{C}-\text{O}$ similaires. Les spectres des NDs-1h et NDs-8h présentent les mêmes bandes mais on remarque que la bande à 1100 cm^{-1} a une intensité plus importante que les autres composantes, notamment les CH_x , par rapport aux NDs-init ou aux air-NDs-1h. Ceci pourrait être corrélé à une plus grande concentration d'endoperoxides.

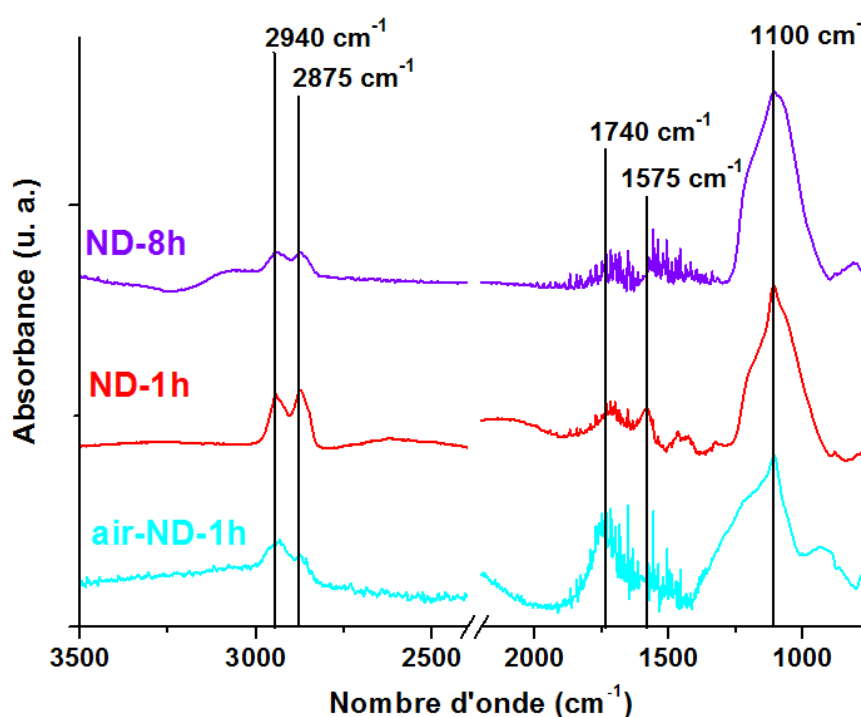


FIGURE 5.11 – Spectres FTIR des NDs-8h, NDs-1h et air-NDs-1h après recuit sous vide *in situ* à 200°C.

5.3.2 Evolution du potentiel zêta en fonction du pH

L'étude plus détaillée de l'évolution du PZ en fonction du pH va nous aider à mieux comprendre la stabilité des charges positives sur les NDs graphitisés. On observe que le PZ est particulièrement élevé pour des pH inférieurs à 5, et a une valeur constante autour de + 35 mV (Figure 5.12). Le PZ décroît progressivement à un pH plus élevé et on remarque que la décroissance varie en fonction de la durée du recuit sous vide. En particulier, le point isoélectrique, correspondant au pH pour lequel le PZ s'annule, c'est-à-dire pour lequel la charge des NDs est nulle, se situe à pH = 9.7 pour les NDs-1h, tandis que le PZ des NDs-8h est encore de + 20 mV à pH = 10. Il est possible que les NDs-1h aient une plus grande concentration de défauts sur les FLRs que les NDs-8h liée au temps de recuit sous vide plus court. Cela voudrait dire que **la concentration des charges en surface dépendrait de la structure ou de la taille des FLRs.**

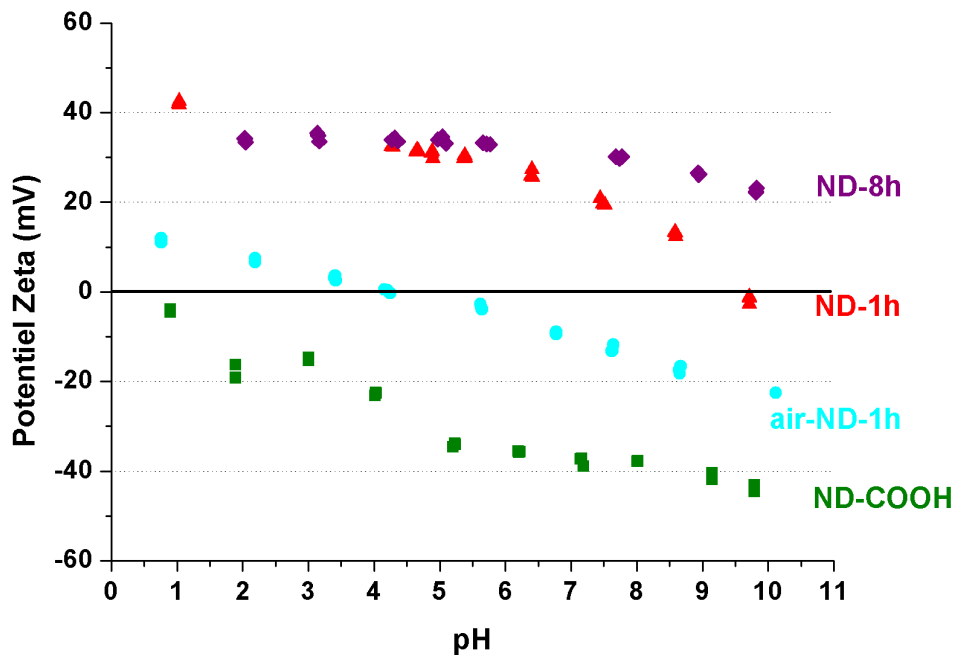


FIGURE 5.12 – Influence du pH sur le potentiel zêta des NDs-COOH (vert), des air-NDs-1h (bleu), des NDs-1h (rouge) et des NDs-8h (violet).

Afin de valider cette hypothèse, le PZ de NDs avec une concentration plus faible de FLRs que les NDs-1h a été étudié. Comme nous avons vu dans le chapitre précédent, les reconstructions de surface sont induites par la présence de défauts structuraux en surface des NDs (voir 3.4). La graphitisation de surface devrait donc être plus limitée sur des NDs ayant été nettoyés du carbone amorphe initialement présent en surface. C'est pourquoi nous avons utilisé des NDs ayant été préalablement préparés par recuit sous

air, ce qui permet d'oxyder la surface et d'éliminer le carbone amorphe comme expliqué précédemment (voir 3.2). Ces NDs ont ensuite été exposés à un recuit sous vide pendant une heure à 750°C (air-NDs-1h). La caractérisation FTIR des air-NDs-1h, présentée sur la figure 5.11, montre une chimie de surface intermédiaire entre les NDs-1h et les NDs-COOH (voir Figure 3.6). La composante liée aux fonctions carbonyles est déplacée de 1790 cm^{-1} à 1740 cm^{-1} . Un recuit à 750°C n'est donc pas suffisant pour désorber totalement les liaisons C=O comme observé précédemment [173]. La présence de liaisons CH_x (2940 et 2875 cm^{-1}), qui étaient absentes sur les NDs-COOH, indique que des **liaisons pendantes présentes à la surface des NDs ont été saturées par des atomes d'hydrogène**, venant probablement de la dissociation de molécules d'eau, après exposition à l'air [217]. Enfin, on observe bien la bande à 1100 cm^{-1} , comme sur les autres NDs recuits sous vide. Au niveau des propriétés colloïdales, les air-NDs-1h présentent aussi un comportement intermédiaire entre les NDs-COOH et les NDs-1h. Son PZ est positif à pH acide et négatif à pH basique, avec un point isoélectrique à pH = 4.9 (Figure 5.12). Par contre, la charge n'est jamais très élevée ($|PZ| < 20$ mV), ce qui ne permet pas de stabiliser très efficacement les NDs en solution. Ces résultats montrent qu'il est possible de modifier la stabilité des charges positives à la surface des NDs-FLRs en modifiant la durée du recuit sous vide pour des NDs ayant la même chimie de surface initiale.

D'après ces résultats, il semble que la stabilité des charges positives sur les NDs graphitisés dépende de la taille et/ou de la qualité cristalline des FLRs présentes à leur surface. Ces paramètres peuvent être contrôlés en modifiant les conditions expérimentales des recuits sous vide.

5.3.3 Dopage de surface des nanodiamants graphitisés par adsorption d'oxygène

A partir de ces caractérisations de surface (XPS, FTIR, HRTEM) et des propriétés colloïdales (PZ), un modèle permettant d'expliquer l'origine du PZ positif sur les NDs graphitisés peut être proposé. Tout d'abord, il faut rappeler que les NDs-FLRs sont particulièrement stables en suspension par rapport aux NDs fortement graphitisés, ce qui peut indiquer que **l'interface entre le diamant et la couche fullerénique** doit jouer un rôle dans cette charge. Barnard et Sternberg ont montré par des simulations théoriques que les facettes (100) insaturées des NDs ont *a priori* une charge positive de surface [247], pourtant une telle surface n'est pas stable après exposition à l'air et sera probablement passivée par les molécules ambiantes [217]. En revanche, dans le cas où cette surface est recouverte d'une couche de graphène, comme dans le cas des FLRs, cette charge peut être conservée. En effet, les couches de graphène sont connues pour être imperméables aux molécules présentes dans l'air [248]. A l'interface entre une surface de diamant (100)

chargée positivement et une couche de graphène plutôt électronégative, il est probable qu'une **polarisation spontanée** ait lieu, comme proposé par Osawa *et al* [249]. D'après les images HRTEM présentées dans le chapitre 3 (Figure 3.18), la distance entre la surface de diamant et la première couche graphitique la recouvrant est de l'ordre de 3 Å, permettant un **couplage électronique** entre les 2 plans. Il est donc probable que **des électrons présents à l'interface, par exemple venant des liaisons insaturées présentes en bordure des FLRs ou d'autres défauts structuraux, soient injectés dans la première couche graphitique recouvrant la surface de diamant** grâce à la polarisation spontanée de l'interface. Ma *et al* ont d'ailleurs récemment montré par simulation que ce transfert d'électrons devrait effectivement avoir lieu [169]. Un transfert d'électrons similaire a été observé entre une surface de SiO₂ et une couche de graphène déposée sur cette dernière [250].

Après exposition à l'air, différents phénomènes peuvent entrer en jeu en fonction du nombre de couches graphitiques recouvrant la surface de diamant. En effet, Datta *et al* ont montré par une étude KFM faite sur des feuillets de graphène déposés sur un substrat isolant que des transferts de charge pouvaient avoir lieu entre une couche de graphène et le substrat [251]. Pourtant, quand le nombre de couches de graphène augmente, cette interaction avec le substrat disparaît et la valeur de potentiel de surface se rapproche d'une valeur constante à partir de 5 couches de graphène. Il y a donc un **effet d'écrantage** progressif des échanges électroniques avec le substrat lié au nombre de couches de graphène. Dans notre cas, cet écrantage conduit à différentes stabilités colloïdales. Les NDs fortement graphitisés ont une faible stabilité car ils ont peu de charges en surface. Sur ces NDs, le potentiel de surface est masqué par les couches graphitiques multiples. Pour les NDs-FLRs, au contraire, la couche de graphène dans laquelle ont été injectés les électrons par la polarisation de l'interface est directement exposée aux molécules présentes dans l'eau. Ces molécules sont susceptibles d'interagir avec les FLRs qui sont particulièrement chargées.

Les échanges électroniques entre des surfaces carbonées et des adsorbats ont été fréquemment observés. Nous avons vu précédemment que les surfaces de diamant hydrogénées sont ainsi capables de transférer des électrons à des molécules adsorbées à l'air (partie 4.1) ou avec à un couple électrochimique impliquant l'oxygène dans l'eau (partie 5.2.2)). Des échanges d'électrons ont aussi été observés sur des matériaux organiques semi-conducteurs avec des molécules d'oxygène adsorbées, induisant un dopage de type *p* du matériau organique [252]. Ce dopage par trous a été expérimentalement mis en évidence sur des polymères conjugués [253], des nanotubes de carbone [254, 245] et des couches de graphène supportées par un substrat de SiO₂ [250, 255]. En particulier, Dukovic *et al* ont expliqué ce dopage par trous par la chimisorption réversible de molécules d'oxygène sur

des nanotubes, qui se fait naturellement après exposition à l'air [245]. Cette chimisorption d'oxygène est possible par cycloaddition des molécules d'oxygène dans les cycles aromatiques des plans basaux sp^2 , induisant la formation de groupements endoperoxides (Figure 5.13 (a)). **Ces groupes sont connus pour être facilement protonés, notamment à pH acide, pour se transformer en un carbocation hydroperoxide ($C-O_2H^+$).** La formation de ce carbocation implique la formation d'un trou qui va être délocalisé dans le plan graphitique (Figure 5.13 (b)). La stabilité de ce trou, va donc dépendre de la structure cristalline et de la taille du plan graphitique, qui sont les paramètres facilitant ou limitant la délocalisation des trous dans le plan graphitique. Dukovic *et al* ont ainsi montré que la délocalisation des trous était plus importante pour des nanotubes ayant des diamètres élevés.

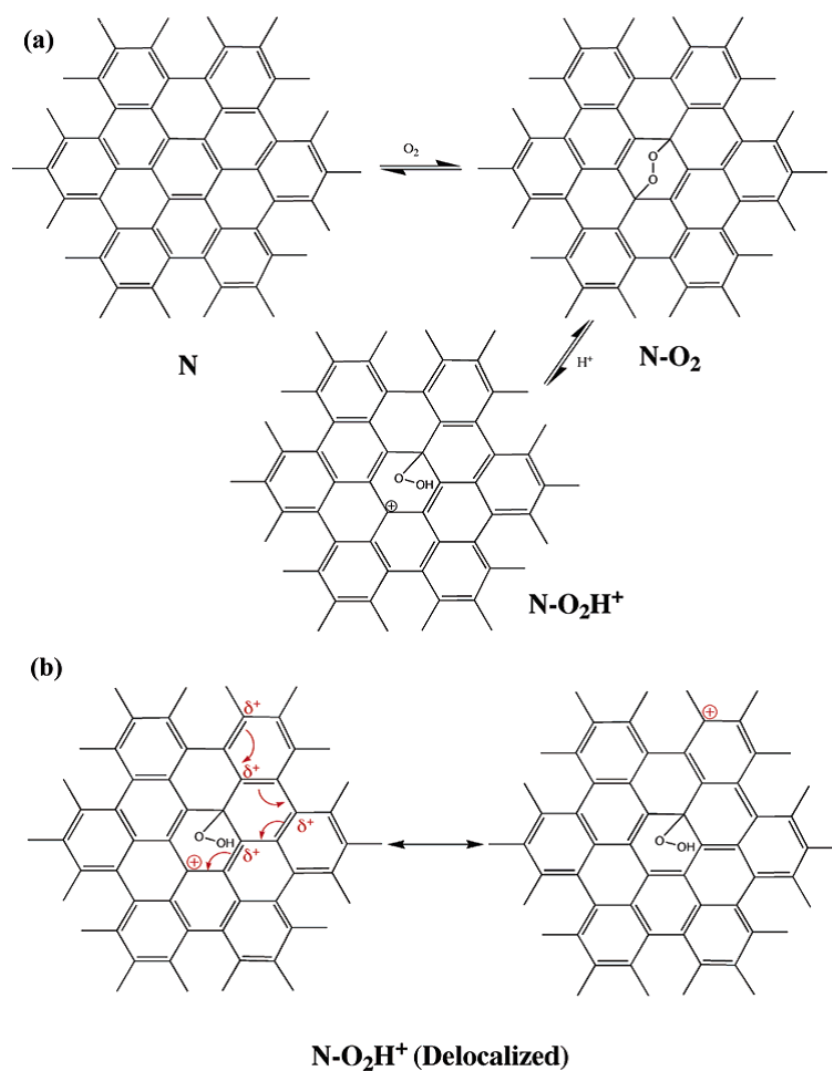


FIGURE 5.13 – Formation d'endoperoxides par cycloaddition d'une molécule de dioxygène et formation d'un trou sur le plan graphitique. D'après la référence [245].

Nous supposons qu'un **dopage par trous similaire a lieu sur les NDs-FLRs**. En effet, la chimisorption de molécules d'oxygène induisant la formation d'endoperoxide sur les FLRs est en accord avec nos caractérisations XPS et FTIR (Figures 5.10 et 5.11). La réversibilité de cette chimisorption a aussi été validée par XPS (voir 5.3.1). De plus, la protonation des endoperoxides pourrait expliquer l'évolution du PZ en fonction du pH des différents échantillons étudiés. Le PZ est directement relié à la présence de charges de surface sur les NDs et donc la présence de trous en surface implique un PZ positif. La présence de carbocations hydroperoxides à pH acide est donc en accord avec un PZ fortement positif. En augmentant le pH, la concentration en protons dans la solution diminue, ce qui implique la déprotonation de ces groupes. La forme neutre des endoperoxides devient progressivement la forme la plus stable. Pourtant, en fonction de la taille et de la qualité structurale des FLRs, la stabilité des trous formés par la protonation des endoperoxides est plus ou moins importante. En effet, les air-NDs-1h ont probablement des FLRs avec une forte concentration de défauts, impliquant la disparition des charges positives à un pH inférieur par rapport au cas des NDs-1h et NDs-8h. Au contraire, les NDs-8h sont susceptibles d'avoir de plus grandes surfaces graphitisées avec moins de défauts, les charges positives peuvent donc être stabilisées même à pH relativement élevé.

Le rôle des molécules d'eau dans cette accumulation de charge en surface des NDs n'est pas encore très clair, pourtant il est possible que la présence d'eau participe à leur stabilisation. En effet, il a été observé que la formation de trous dans le graphène pouvait être stabilisée par la présence d'eau [250]. Alors que le dopage de type *p* induit un décalage vers les basses énergies de liaisons sur les spectres XPS des NDs-H (Figure 5.5), aucun décalage en énergie n'est observé sur les NDs-FLRs (Figure 5.10). On en déduit que la forme protonée des endoperoxides, et donc la formation de trous sur les FLRs, n'est probablement pas stable sous UHV et ne peut pas être caractérisé par XPS. Il faudrait pouvoir sonder l'état électronique des NDs-FLRs directement en solution pour vérifier l'existence de cette forme protonée dans l'eau.

Enfin, l'interaction entre les NDs-FLRs et l'oxygène semble être un **processus dynamique**, qui explique la nature réversible de la chimisorption de l'oxygène sur les FLRs. Pour argumenter ce point, une expérience simple a été effectuée, consistant à éliminer progressivement l'oxygène dissous dans une solution de NDs-FLRs grâce à un flux d'azote pendant plusieurs minutes. Nous avons observé une agglomération puis une sédimentation progressive des NDs-FLRs, comme pour les NDs-H, indiquant la perte de charges en surface permettant leur stabilisation électrostatique en solution. Il est donc possible qu'un équilibre électrochimique entre l'oxygène dissout dans l'eau ou adsorbé à la surface des NDs-FLRs entre en jeu comme pour les NDs-H, mais sa nature n'a pas encore été identifiée.

5.3.4 Stabilisation de nanodiamants fortement graphitisés

Dans le cas des NDs-FLRs, nous venons de voir que l'adsorption d'oxygène était spontanée et qu'elle permettrait d'expliquer l'origine de charges positives. Cette adsorption n'a pas lieu sur les NDs fortement graphitisés. Dans ce cas-là, peut-être serait-il possible de stimuler cette adsorption avec un apport d'énergie extérieur pour stabiliser dans l'eau des matériaux moins réactifs que les NDs-FLRs. Par exemple, nous avons observé que des NDs fortement graphitisés pouvaient être stabilisés dans l'eau après exposition à un rayonnement ultraviolet (UV) sous air pendant 2h. Pour cela, une lampe excimère (Heraeus) générant des UV à 172 nm a été utilisée. Après exposition aux UV et remise en suspension dans l'eau, un PZ de $+35 \pm 4$ mV a été mesuré. Une analyse XPS de ces NDs dispersés a confirmé une forte graphitisation des NDs, avec 32 % du pic C1s associé au carbone sp^2 . Des clichés HRTEM ont également été effectués et ont montré que même des oignons graphitiques étaient présents dans la solution (Figure 5.14).

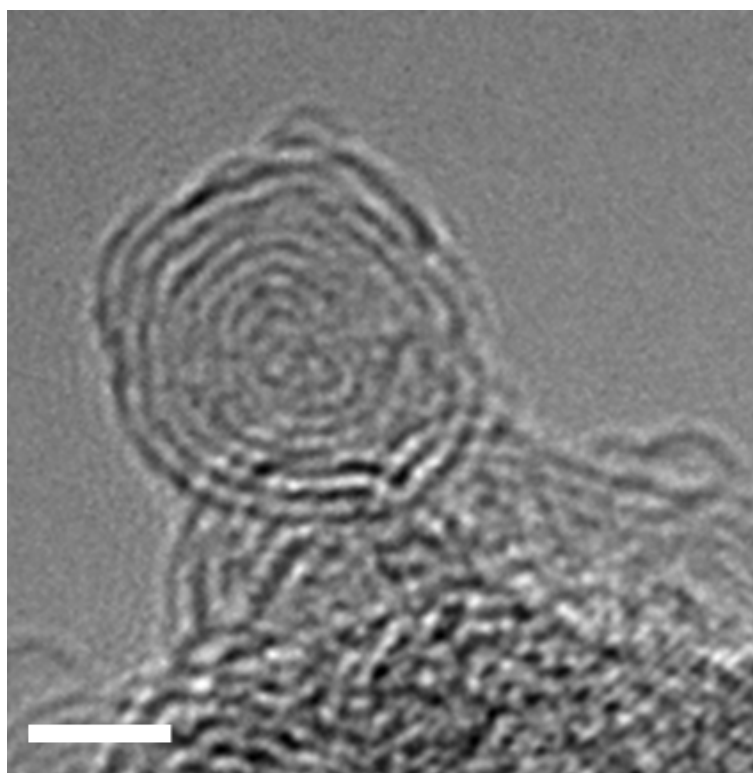


FIGURE 5.14 – Oignon graphitique stabilisé dans l'eau par exposition aux UV. La barre d'échelle est de 2 nm.

Il est possible que le **rayonnement UV joue le rôle d'un apport d'énergie extérieur qui facilite l'adsorption de l'oxygène présent dans l'air sur les plans graphitiques**. Le rayonnement UV en présence d'oxygène induit aussi la génération d'ozone et d'oxygène activé, qui peuvent sans doute s'adsorber plus efficacement sur des plans graphitiques que l'oxygène présent dans l'air, qui ne s'adsorbe que sur les NDs-FLRs. Une

étude plus poussée serait cependant nécessaire pour confirmer le rôle des UV et de l’ozone dans cette stabilisation colloïdale de NDs fortement graphitisés et d’oignons de carbone. Ces observations pourraient permettre de développer de nouvelles voies de stabilisation des nanomatériaux graphitiques.

5.3.5 Bilan

Dans cette partie, un modèle permettant d’expliquer le PZ positif des NDs graphitisés en surface a été proposé. Selon le modèle proposé, les charges positives sont induites sur la surface des NDs par adsorption de molécules d’oxygène. Cette adsorption est uniquement observée sur les NDs-FLRs car une polarisation de surface à l’interface diamant/graphite, qui induit une accumulation d’électrons sur les FLRs, facilite cette adsorption. Les NDs fortement graphitisés ne sont donc pas stables en suspension, ce qui est en accord avec les observations faites sur les autres nanomatériaux à base de carbone sp^2 non fonctionnalisés. Il est ainsi possible de séparer les NDs-FLRs des NDs fortement graphitisés par centrifugation de dispersions dans l’eau. L’adsorption d’oxygène sur les FLRs conduit à la formation de groupements endoperoxydes, qui ont la propriété de se protoner facilement à pH acide, et donc de conférer une charge positive aux NDs. La stabilité des charges positives semble dépendre de la qualité cristalline et de la taille de ces FLRs.

5.4 Conclusion

Dans ce chapitre le rôle de la chimie de surface des NDs sur leurs propriétés colloïdales a été étudié en combinant les mesures de PZ, les analyses de surface (XPS, FTIR) et structurales (HRTEM). Nous avons montré que les traitements de surface par oxydation, hydrogénation et graphitisation de surface permettent de contrôler les propriétés colloïdales des NDs et d’assurer une stabilisation par répulsion électrostatique dans l’eau. Ces traitements ont conduit à des propriétés colloïdales similaires pour des NDs ayant un PZ initialement positif ou négatif et peuvent donc *a priori* être utilisés sur tout type de NDs de détonation. Cependant, l’origine de ces charges varie fortement entre les différentes terminaisons de surface. On peut résumer les propositions détaillées dans ce chapitre pour expliquer l’origine du PZ pour ces trois terminaisons de surface :

- **NDs-COOH** : Présence de groupements acides carboxyliques (COOH) qui libèrent un proton pour former un carboxylate (COO^-) et induire un PZ négatif à $\text{pH} > 5$.
- **NDs-H** : Transfert d’électrons de la surface hydrogénée des NDs vers des molécules adsorbées induit par un équilibre électrochimique avec un couple impliquant l’oxygène. Ce transfert de charge résulte en la formation d’une couche conductrice de

type p , ce qui génère un PZ positif ($\text{pH} < 12$).

- **NDS-FLRs** : Adsorption d'oxygène sur les reconstructions fulleréniques (FLRs) facilitée par un phénomène de polarisation à l'interface diamant/graphite. Cette adsorption induit la formation d'endoperoxides qui sont facilement protonés en milieu acide ($\text{pH} < 9$), résultant en un PZ positif.

Des combinaisons entre ces différents traitements peuvent être utilisées pour contrôler de manière fine l'évolution du PZ sur toute la gamme de pH, comme il a été montré en combinant des recuits sous air puis sous vide.

Les propriétés colloïdales des NDs-COOH étaient déjà bien connues. En revanche, les études sur l'origine du PZ positif des NDs-H et NDs-FLRs sont nouvelles. Ces résultats suggèrent que **les surface hydrogénées et graphitisées facilitent les échanges de charge entre le cœur diamant des NDs et les molécules extérieures.** Ceci est en accord avec la forte affinité de ces NDs pour les molécules d'eau (4.2) et les effets de transferts de charge caractérisés par KFM, présentés dans le chapitre précédent (4.3). Ces propriétés suggèrent que les NDs-H et les NDs- sp^2 pourraient être réactifs électrochimiquement. Des propriétés redox étonnantes ont déjà été observées sur des NDs de détonation par Holt *et al*, pourtant l'origine des centres actifs reste en suspens [101, 102, 103, 256]. D'après les résultats présentés ici, il est probable que des groupements hydrogénés ou des reconstructions graphitiques soient à l'origine de ces propriétés. Ce résultat n'est pas totalement surprenant étant données les propriétés électrochimiques exceptionnelles qui ont déjà été montrées sur diamant massif hydrogéné [96] et sur le graphène [257].

Le transfert de ces propriétés à l'échelle des NDs pourrait sans doute permettre le développement de nouvelles applications grâce à leur grande surface spécifique et leur bonne stabilité colloïdale. La bonne stabilité colloïdale de ces NDs peut aussi permettre d'envisager le contrôle d'équilibres électrochimiques dans des environnements où des électrodes classiques ne peuvent pas avoir accès. Un exemple d'utilisation de ce contrôle électrochimique à distance par l'intermédiaire des NDs est présenté dans le chapitre suivant avec leur utilisation pour la radiosensibilisation de cellules tumorales.

Chapitre 6

Rôle de la chimie de surface des nanodiamants sur les interactions avec les cellules

Sommaire

6.1	Stabilité colloïdale des nanodiamants en milieu biologique . .	149
6.2	Rôle de la chimie de surface sur la toxicité des nanodiamants	152
6.2.1	Introduction	152
6.2.2	Résultats	153
6.2.2.1	Lignée rénale (Caki-1)	153
6.2.2.2	Lignée pulmonaire (A549)	155
6.2.2.3	Lignée hépatique (Hep-G2)	156
6.2.2.4	Lignée du colon (HT-29)	158
6.2.3	Discussion	159
6.2.4	Bilan	160
6.3	Radiosensibilisation de cellules tumorales avec des nanodia-	
	mants	162
6.3.1	Amélioration des traitements de radiothérapie classique	163
6.3.2	Utilisation de nanoparticules pour la radiosensibilisation	163
6.3.3	Radiosensibilisation avec des nanodiamants	165
6.3.3.1	Intérêt des nanodiamants	165
6.3.3.2	Preuve de concept de la radiosensibilisation de cellules Caki-1	167
6.3.3.3	Effet radiosensibilisant des nanodiamants oxydés	168
6.3.3.4	Effet radiosensibilisant des nanodiamants hydrogénés	170

6.3.3.5	Évaluation de la présence de dérivés réactifs de l'oxygène dans les cellules	172
6.3.3.6	Discussion	173
6.3.4	Bilan	175
6.4	Conclusion	177

Introduction

Comme expliqué dans le chapitre 1, les NDs ont un fort potentiel pour les applications en médecine car ils sont peu cytotoxiques et ont une surface réactive permettant une fonctionnalisation efficace de leur surface. Leurs propriétés sont effectivement adaptées à la délivrance de médicament, notamment assurée par adsorption/libération des molécules actives par interaction électrostatique avec la surface des NDs [148, 149, 153, 154, 155]. Les NDs peuvent aussi être utilisés comme biotraceurs en utilisant les propriétés de luminescence des centres colorés dans la maille diamant ou bien comme agent de contraste d'imagerie magnétique après conjugaison avec des atomes de gadolinium [138]. Un point qui a pourtant été peu étudié jusqu'à maintenant est **l'utilisation des NDs pour applications thérapeutiques**, *i.e.* pouvant induire une toxicité de manière contrôlée, par exemple en utilisant un champ extérieur. Nous avons vu jusqu'à maintenant que la chimie de surface pouvait modifier considérablement les propriétés d'interactions électroniques des NDs avec les molécules environnantes.

Dans ce chapitre, les implications des traitements de surface décrits précédemment sur les interactions entre les NDs et les cellules tumorales vont être discutées. Nous verrons ainsi comment les utiliser en tant que nanoparticules actives. Dans un premier temps, **la stabilité colloïdale en milieu biologique** des NDs modifiés va être vérifiée. Nous verrons ensuite des résultats préliminaires de **toxicité des NDs de détonation en fonction de la chimie de surface**. Enfin, **l'utilisation de NDs en association avec une irradiation**, qui pourrait permettre de surmonter des problèmes de radiorésistance de certaines cellules tumorales aux traitements de radiothérapie classique, va être présentée. Cette utilisation ayant donné lieu à un dépôt de brevet, certains détails ne pourront pas être explicités dans cette thèse. Les expériences basées sur des cultures cellulaires présentées dans ce chapitre ont été effectuées par Sandrine Morel-Altmeier et Romain Grall du Laboratoire de Cancérologie Expérimentale (LCE) du CEA-DSV dirigé par Sylvie Chevillard.

6.1 Stabilité colloïdale des nanodiamants en milieu biologique

Le premier point auquel il faut s'intéresser est la stabilité colloïdale des NDs modifiés en milieu biologique. Jusqu'à maintenant les propriétés colloïdales ont été étudiées dans l'eau mais elles peuvent être significativement différentes en milieu biologique. En effet, le milieu de culture utilisé pour permettre la croissance cellulaire *in vitro* contient une forte concentration de protéines, de sels et d'autres molécules pouvant avoir un rôle sur

la stabilité colloïdale des NDs en augmentant la force ionique et en induisant l'adsorption électrostatique de protéines. La forte adsorption de protéines à la surface des NDs est effectivement un phénomène bien connu [258, 259, 158]. Il est donc possible que les NDs n'aient pas la même stabilité colloïdale dans l'eau que dans un milieu biologique. De nombreuses études de toxicité ne prennent pas en compte l'état d'agrégation des NDs mais cela peut entraîner des différences significatives au niveau de l'internalisation dans les cellules qui dépend fortement de la taille et de la charge des NDs [260].

Pour étudier l'effet du milieu biologique sur la stabilité colloïdale des NDs, des mesures par DLS de la taille des agrégats après ajout des NDs dans le milieu ont été effectuées à intervalles réguliers pendant 48h à 37°C afin de simuler les conditions d'incubation des cellules. Des temps de culture jusqu'à 96h ont été utilisés dans les expériences présentées dans la suite du chapitre mais nous avons observé que même entre 24 et 48h il n'y avait pas de grandes différences dans les dispersions en taille mesurées, indiquant que la majorité des phénomènes d'agrégation a lieu dans les premières heures après ajout dans le milieu biologique. Le milieu utilisé est le DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium) avec 10 % de sérum de veau fœtal. Les mesures ont été faites pour des NDs-init, ayant un potentiel zêta (PZ) positif, et des NDs-COOH, ayant un PZ négatif, à une concentration de 1 mg/ml. Les mesures de tailles obtenues juste après ajout dans le milieu biologique et après 48h sont comparées à la dispersion en taille mesurée dans l'eau sur la figure 6.1.

Dans le cas des NDs-init, on observe une agrégation progressive jusqu'à des tailles d'agrégats de l'ordre de 100 nm. Au cours des mesures effectuées pendant les 48h, de fortes variations des tailles des agrégats ont été observées. Même à un temps donné la variation entre deux mesures donne une taille différente comme illustré sur la figure 6.1 (a), ce qui implique la présence de plusieurs populations dans les dispersions. Cela montre que les NDs dans les agrégats sont probablement faiblement liés et qu'un processus dynamique induit la désagrégation/agrégation des NDs-init dans le milieu biologique. Un tel **processus dynamique d'agrégation** n'est pas forcément délétère à l'internalisation des NDs puisqu'il a récemment été montré sur des NDs-HPHT que ce processus peut faciliter l'internalisation des NDs par macropinocytose, qui permet une libération plus efficace de siRNAs dans la cellule [260]. L'augmentation de la taille pourrait aussi être induite par l'adsorption de protéines chargées négativement à la surface des NDs-init par interactions électrostatiques. Il est aussi probable que la présence d'ions en solution induise un changement des contre-ions adsorbés en surface des NDs chargés positivement, pouvant modifier la stabilité des NDs. Il est à noter qu'un phénomène de sédimentation a aussi été observé sur 48h, mais qu'une simple agitation manuelle est suffisante pour remettre en suspension les NDs-init.

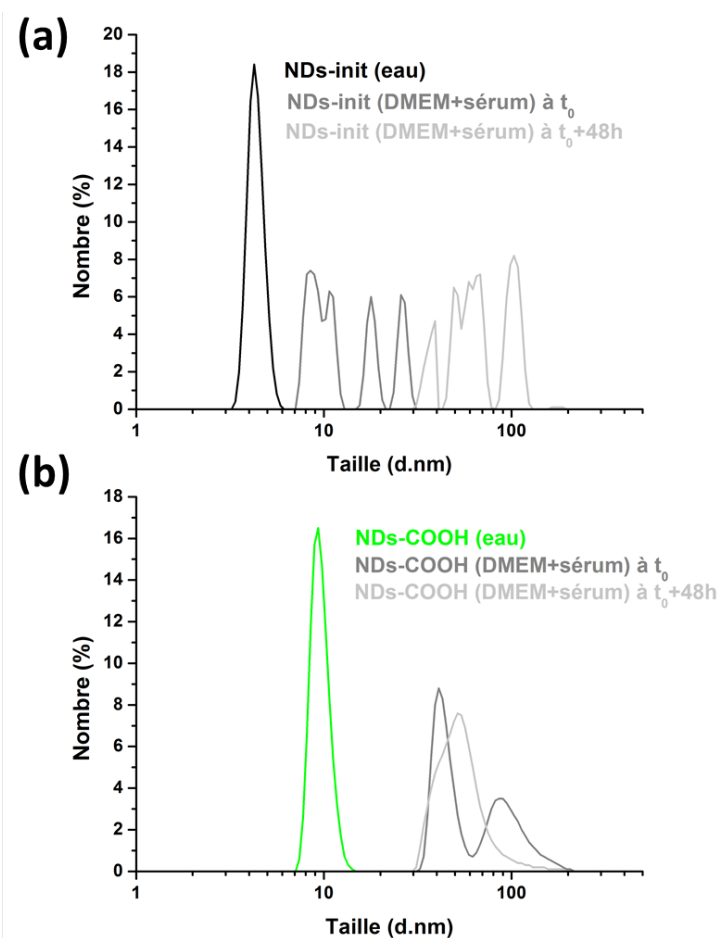


FIGURE 6.1 – Comparaison des distributions en taille des NDs-init (a) et NDs-COOH (b) dans l'eau et en milieu biologique (DMEM + 10 % FBS) à une concentration de 1 mg/ml. La superposition de 5 mesures différentes est présentée sur chaque graphe, illustrant la variation des populations sur un temps court pour les NDs-init.

Au niveau des NDs-COOH, l'augmentation de taille est observée directement après ajout dans le milieu biologique, en revanche la dispersion est beaucoup plus stable dans le temps. Effectivement, de faibles variations de taille ont été observées entre les différentes mesures et il n'a pas été nécessaire d'agiter la solution au bout de 48h pour avoir une mesure fiable. Cela pourrait être lié au fait que la déprotonation des groupes carboxyliques dépend essentiellement du pH et donc que les NDs-COOH sont peut-être moins sensibles aux molécules environnantes que les NDs-init.

Sur les NDs hydrogénés (NDs-H) et les NDs graphitisés (NDs-FLRs), des effets similaires aux NDs-init ont été observés. Il est important de noter que même s'il y a un phénomène d'agrégation dynamique, ces agrégats restent principalement de tailles nanométriques (< 100 nm), donc il est légitime d'étudier la toxicité de ces solutions de NDs sur des cellules tumorales.

6.2 Rôle de la chimie de surface sur la toxicité des nanodiamants

6.2.1 Introduction

Très peu d'études ont relaté une toxicité des NDs dans la littérature, ce qui leur confère un atout important comme montré dans la partie 1.2.4. Les études déjà publiées sont principalement effectuées à partir de NDs HPHT ayant des tailles beaucoup plus élevées et une surface initialement oxydée [78, 261]. Quelques études ont aussi été menées sur des NDs de détonation mais ne détaillent pas toujours suffisamment la chimie de surface des NDs utilisés [75, 80, 76]. Pourtant, cette chimie de surface modifie fortement leurs propriétés physiques et chimiques, il est donc probable qu'elle ait aussi un rôle significatif sur la toxicité des NDs. Notamment, nous avons vu que si les NDs oxydés avaient un PZ négatif, les surfaces de carbone amorphe (NDs-init), hydrogénées (NDs-H) et graphitisées (NDs-FLRs) donnent un PZ positif aux NDs. Ces NDs chargés positivement devraient interagir plus fortement avec les membranes cellulaires, chargées négativement, comme il a déjà été observé sur des nanoparticules d'or [262]. Nous avons donc mesuré la toxicité des NDs de détonation ayant **4 terminaisons de surface** différentes (NDs-COOH, NDs-init, NDs-H et NDs-FLRs). Les propriétés colloïdales de ces NDs dans l'eau ont déjà été résumées dans le tableau 5.1. **Cinq concentrations différentes** (10, 100, 250, 500 et 1000 $\mu\text{g/ml}$) ont été utilisées pour chaque NDs. Ces concentrations sont relativement plus fortes que celles utilisées généralement pour des études de toxicité car une étude antérieure sur les NDs-HPHT nous a permis de montrer qu'une toxicité particulièrement faible jusqu'à des concentrations de 500 $\mu\text{g/ml}$ pouvait être observée sur ces lignées cellulaires avec des NDs [263]. Les NDs de détonation présentent une surface spécifique beaucoup plus importante que les NDs HPHT et cette différence devra être prise en compte pour comparer les résultats à ceux obtenus sur des NDs HPHT.

Si la toxicité dépend de la chimie de surface, elle peut aussi varier en fonction de la nature de la lignée cellulaire sur laquelle les tests sont effectués. Nous avons donc exposé **4 lignées cellulaires tumorales humaines** aux NDs, représentatives de différents organes de rétention possible des NDs. Ainsi des lignées cellulaires du rein (Caki-1), du poumon (A549), du foie (Hep-G2) et du colon (HT-29) ont été exposées aux NDs. Nous verrons que la sensibilité aux NDs varie en fonction des lignées. Étant donné le nombre important de tests de toxicité à réaliser compte tenu de la variété des NDs utilisés, des concentrations et des lignées cellulaires, l'utilisation d'une **méthode automatique de suivi de l'évolution des cellules après leur exposition aux NDs** a été choisie. Cette méthode, appelée xCELLigence, est développée par Roche et est basée sur une **mesure d'impédance** des cellules proliférant dans un puits comme détaillé dans l'annexe F. Cette

technique permet de suivre l'évolution de l'**index cellulaire** (IC), qui est représentatif de la densité cellulaire dans le puits, des caractéristiques morphologiques des cellules et de leur capacité d'adhésion et de prolifération, en continu sur plusieurs jours. Il est possible d'effectuer ce suivi dans 96 puits en parallèle, ce qui est parfaitement adapté à notre étude. Cette étude va permettre de faire ressortir des tendances au niveau de l'évolution des cellules après expositions aux NDs, qui pourront être confirmées par d'autres types de caractérisation plus classiques de toxicité par la suite (tests MTT, mesure de stress oxydatif, génotoxicité, ...). Les cellules sont cultivées pendant 48h dans les puits avant exposition aux NDs à différentes concentrations. Cette méthode a déjà été mise en œuvre pour tester la toxicité de nanoparticules de silice par le LCE du CEA-DSV [264]. Plus récemment, cette technique nous a aussi permis de montrer que les NDs produits à partir de diamant haute pression haute température (HPHT) de 20 nm et 100 nm avaient une toxicité très réduite sur les mêmes lignées cellulaires que la présente étude [263].

6.2.2 Résultats

6.2.2.1 Lignée rénale (Caki-1)

Une série de courbes typiques obtenue pour des cellules Caki-1 après exposition à des NDs-init est présentée sur la figure 6.2.

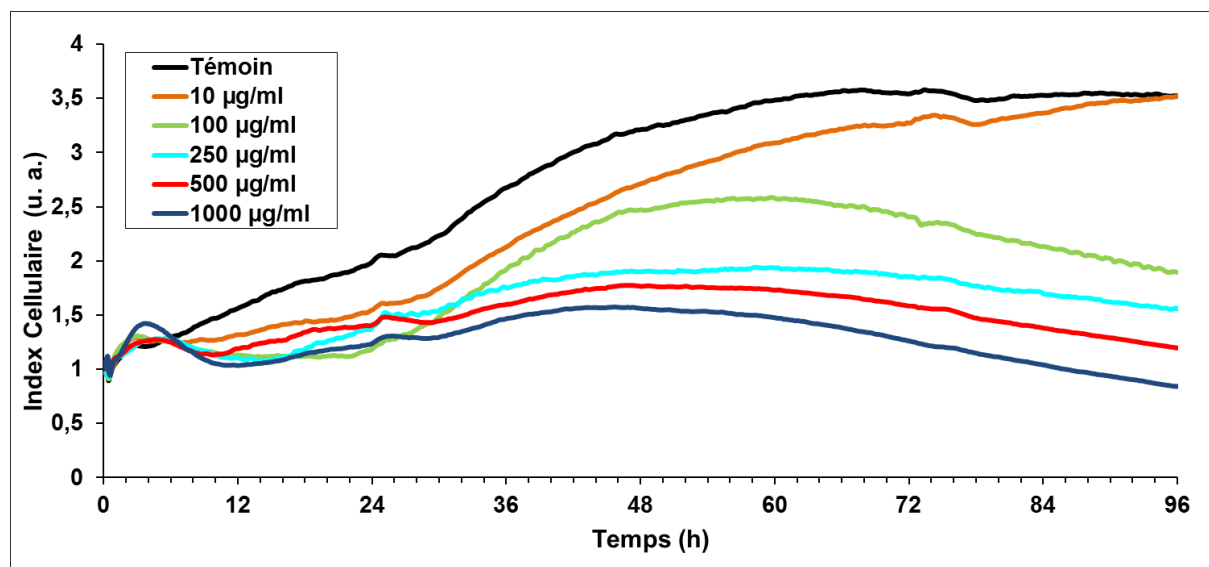


FIGURE 6.2 – Suivi de l'index cellulaire de cellules Caki-1 après exposition à des NDs-init à des concentrations de 10, 100, 250, 500 et 1000 µg/ml. L'échantillon témoin correspond à des cellules sans NDs. L'index cellulaire des cellules dans les différents puits est normalisé juste avant exposition aux NDs.

Le témoin correspond à un puits avec des cellules sans NDs. L'index cellulaire (IC)

est normalisé à 1 pour chaque puits juste avant exposition aux NDs. On observe une croissance progressive de l'IC, caractéristique d'une prolifération cellulaire pendant 48h. Le temps de doublement cellulaire, qui correspond au temps nécessaire pour multiplier le nombre de cellules par 2 ($IC = 2$) est de l'ordre de 26h. On observe ensuite un ralentissement puis une stagnation de la prolifération, qui correspond au temps nécessaire pour saturer complètement le fond du puits (72h dans ce cas-ci d'après la figure 6.2). La mesure de l'IC pour des temps supérieurs n'est pas significative puisque liée à une limitation physique de la taille des puits et non pas à une propriété de la lignée cellulaire. Ce témoin va permettre de comparer l'effet de l'exposition aux NDs-init sur la lignée Caki-1 dans ce cas.

L'évolution de l'IC est significativement différente après exposition aux NDs-init et varie en fonction de la concentration en NDs. A faible concentration ($10 \mu\text{g/ml}$), on observe un ralentissement de la croissance de l'IC par rapport au témoin pendant les premières 30h environ, indiquant une prolifération moins rapide. La prolifération devient ensuite similaire à celle du témoin. Pour des concentrations plus élevées, on observe une augmentation puis une diminution rapide de l'IC, qui a lieu dans les premières 12h. L'origine de cette modification de l'IC n'est pas encore très claire, mais pourrait être liée à une modification de la morphologie des cellules ou de leur potentiel de surface après exposition aux NDs-init. L'IC stagne ensuite à une valeur proche de 1 pendant une douzaine d'heures, ce qui pourrait être lié à un arrêt de la prolifération cellulaire. Par la suite, une légère augmentation de l'IC est mesurée, qui est moins marquée quand la concentration augmente. A des temps plus long ($> 50\text{h}$), on observe une légère décroissance de l'IC qui peut résulter du détachement de cellules, probablement associé à leur mort. Il y a donc une certaine toxicité induite par les NDs-init, qui peut peut-être induire la mort cellulaire pour des concentrations supérieures à $100 \mu\text{g/ml}$.

Pour des raisons de clarté, seules les valeurs de l'IC extraites à des temps de 24, 48, 76 et 96 h après ajout des NDs seront présentées par la suite. Ces valeurs sont normalisées par rapport à l'IC du témoin à 24h.

Les résultats obtenus pour la lignée du rein Caki-1 avec les différents NDs sont présentés sur la figure 6.3. On observe des résultats significativement différents en fonction de la chimie de surface. En particulier, la prolifération est progressivement ralentie après exposition aux NDs-init, NDs-COOH et aux NDs-FLRs en fonction de la concentration en NDs. Pour les concentrations supérieures à $100 \mu\text{g/ml}$, on observe une décroissance de l'IC indiquant que les cellules se détachent du puits, ce qui est généralement induit par la mort cellulaire. Ces NDs expriment donc une certaine toxicité à forte concentration. Pour la concentration de $1000 \mu\text{g/ml}$, on atteint un IC proche de zéro dans le cas des NDs-FLRs au bout de 72h indiquant que la plupart des cellules sont mortes. En revanche,

dans le cas des NDs-H, on observe très peu de variations de l'IC jusqu'à des concentrations de 500 $\mu\text{g/ml}$ par rapport au témoin. A la concentration de 1000 $\mu\text{g/ml}$, il y a un effet de toxicité significatif qui peut être expliqué par la très forte concentration de NDs utilisée. La toxicité des NDs-H semble donc plus faible que celle des NDs-COOH jusqu'à une concentration de 500 $\mu\text{g/ml}$, contrairement aux autres NDs chargés positivement.

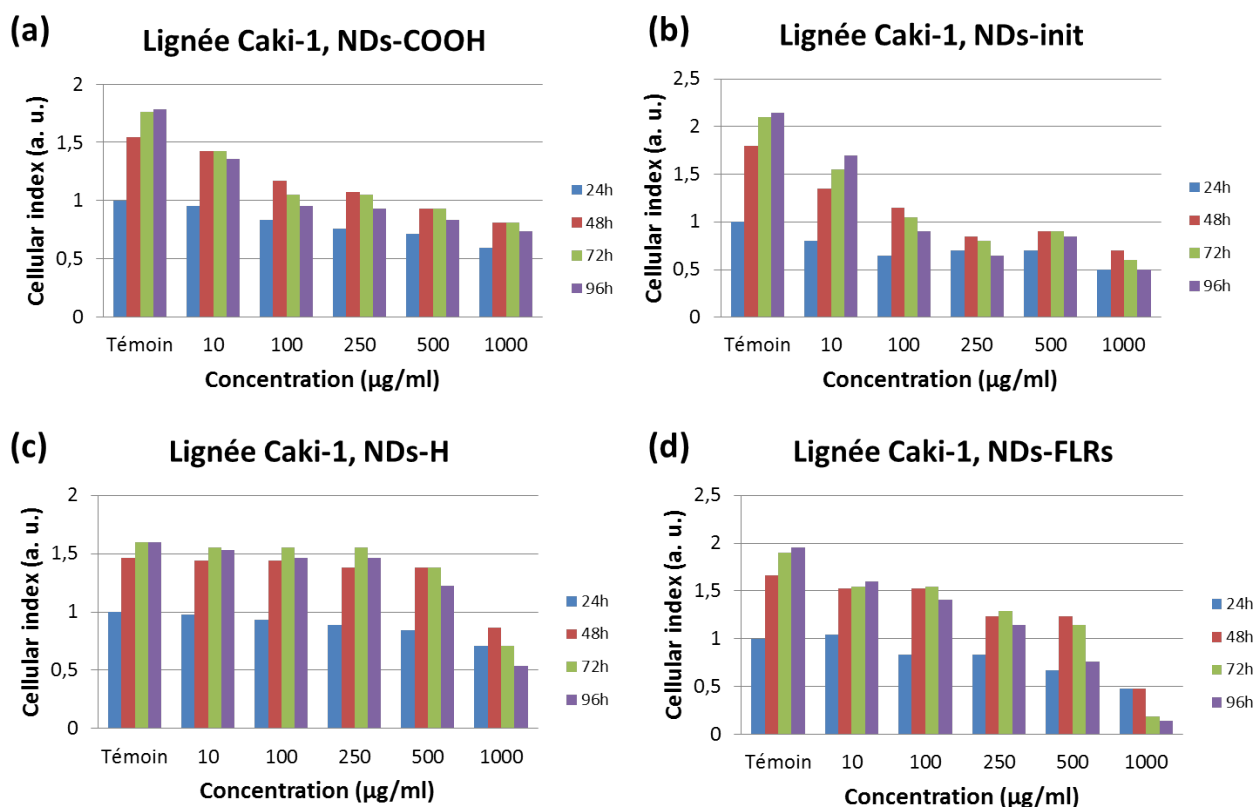


FIGURE 6.3 – Evolution de l'index cellulaire (IC) des cellules rénales Caki-1 après exposition aux NDs-init, NDs-COOH, NDs-H et NDs-FLRs. Les valeurs de l'IC ont été normalisées par rapport à celles obtenues pour le témoin à 24h.

6.2.2.2 Lignée pulmonaire (A549)

L'évolution de l'IC pour les différentes chimies de surface n'est pas la même pour la lignée du poumon A549 (Figure 6.4). L'IC a des valeurs proches du témoin pour les NDs-COOH et les NDs-init quels que soient la concentration et le temps d'exposition. Ces NDs ont donc peu d'influence sur cette lignée cellulaire, comme il a déjà été observé avec des NDs-HPHT [265]. En revanche, pour les NDs-H, on observe une augmentation de l'IC plus rapide que le témoin pour des concentrations de 100 et 250 $\mu\text{g/ml}$, qui pourrait être liée à un changement de la morphologie des cellules. Pour des concentrations plus

6.2 Rôle de la chimie de surface sur la toxicité des nanodiamants

importantes, l'IC est inférieur au témoin ce qui démontre une légère toxicité. Pour les NDs-FLRs, on observe aussi un effet d'augmentation de l'IC pour la concentration de 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ seulement et il y a une stagnation de l'IC pour les concentrations de 500 et 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$.

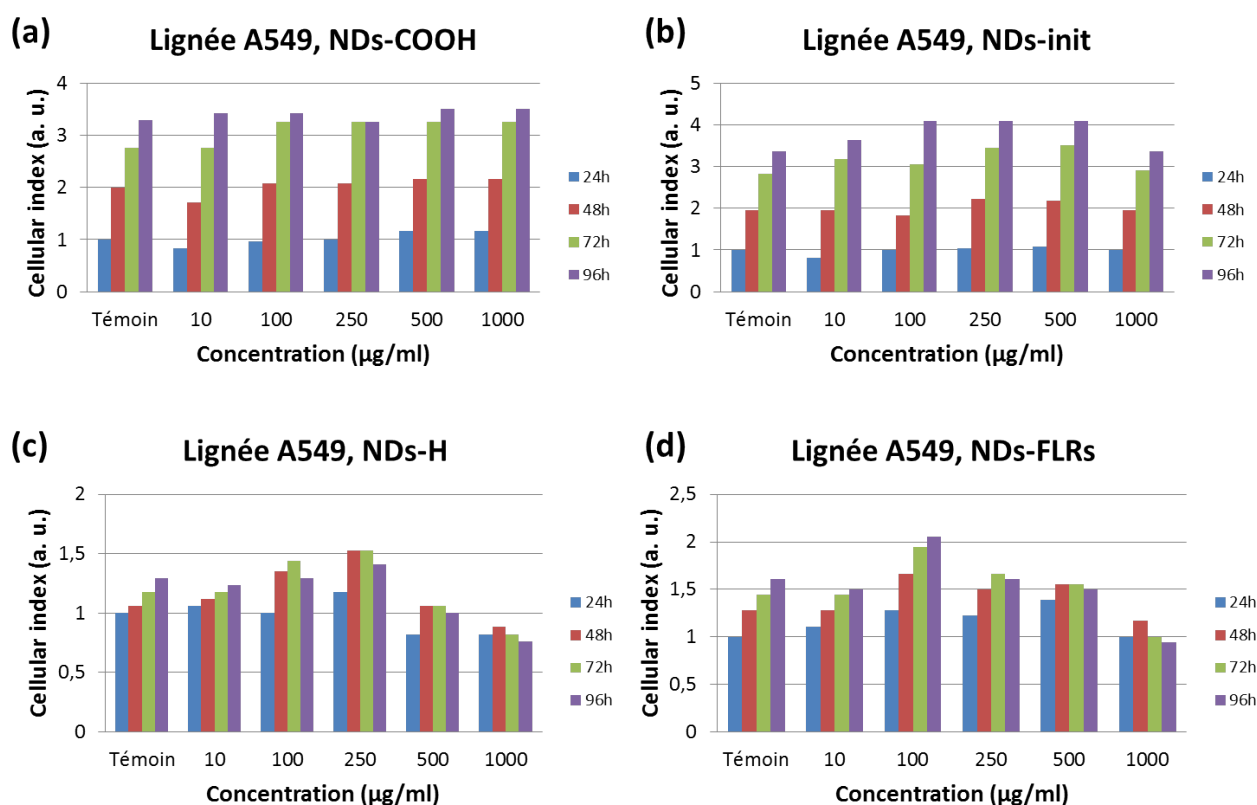


FIGURE 6.4 – Evolution de l'index cellulaire (IC) des cellules pulmonaires A549 après exposition aux NDs-init, NDs-COOH, NDs-H et NDs-FLRs. Les valeurs de l'IC ont été normalisées par rapport à celles obtenues pour le témoin à 24h.

6.2.2.3 Lignée hépatique (Hep-G2)

Dans le cas des cellules Hep-G2 et HT-29, les puits étaient totalement recouverts par les cellules avant 96 h. C'est pourquoi les durées supérieures ne sont pas présentées car elles ne sont pas significatives de la toxicité des NDs.

Pour les cellules Hep-G2, l'effet d'augmentation de l'IC après ajout des NDs est observé à 24h pour les NDs-COOH, les NDs-init et les NDs-FLRs pour des concentrations supérieures à 250 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (Figure 6.5). A des temps plus longs, l'écart par rapport au témoin se réduit, ce qui est dû à une prolifération cellulaire plus faible, voire négative. Cette lignée semble donc particulièrement sensible aux NDs, pourtant il n'est pas certain

Rôle de la chimie de surface des nanodiamants sur les interactions avec les cellules

qu'il y ait une toxicité associée importante puisque l'IC ne diminue pas de manière importante comme dans le cas des NDs-FLRs sur la lignée Caki-1 (Figure 6.3 (d)). Pour les NDs-H, les comportements sont très différents à concentration inférieure à 100 $\mu\text{g/ml}$, où la croissance de l'IC reste visible, alors que pour des concentrations plus élevées, l'IC augmente très fortement à 24h mais diminue ensuite.

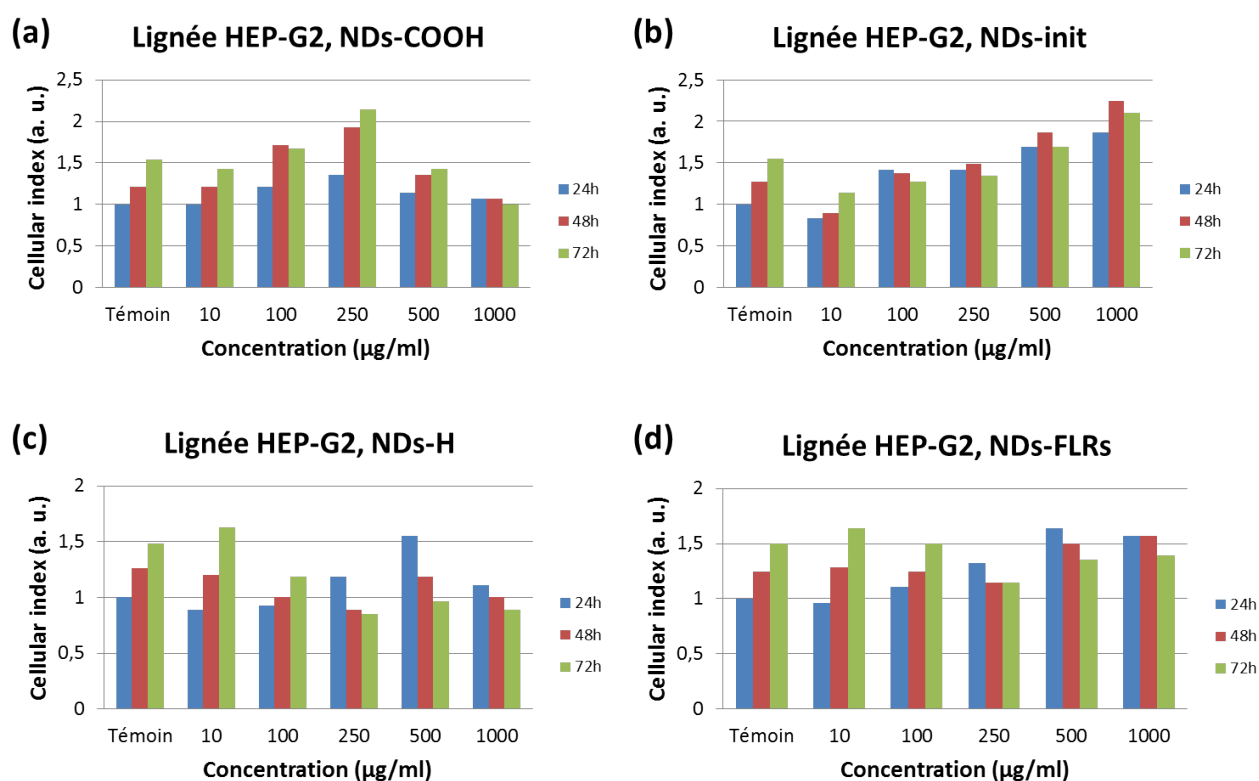


FIGURE 6.5 – Evolution de l'index cellulaire (IC) des cellules hépatiques Hep-G2 après exposition aux NDs-init, NDs-COOH, NDs-H et NDs-FLRs. Les valeurs de l'IC ont été normalisées par rapport à celles obtenues pour le témoin à 24h.

6.2.2.4 Lignée du colon (HT-29)

Enfin, pour la lignée HT-29 l'évolution de chaque type de NDs est encore différente (Figure 6.6). Pour les NDs-COOH, la prolifération cellulaire est de nouveau ralentie, comme dans le cas de la lignée Caki-1 (Figure 6.3 (a)). Pour les NDs-init, il n'y a pas de modifications significatives par rapport au témoin. Pour les NDs-H, l'augmentation de l'IC est plus faible pour les concentrations de 250, 500 et 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$, indiquant qu'il y a un ralentissement de la prolifération cellulaire, comme pour les NDs-COOH. On observe une augmentation de l'IC plus importante que le témoin pour les NDs-FLRs indiquant une modification de la morphologie des cellules induite par l'exposition aux NDs. Pour la concentration de 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$, une toxicité très marquée est observée.

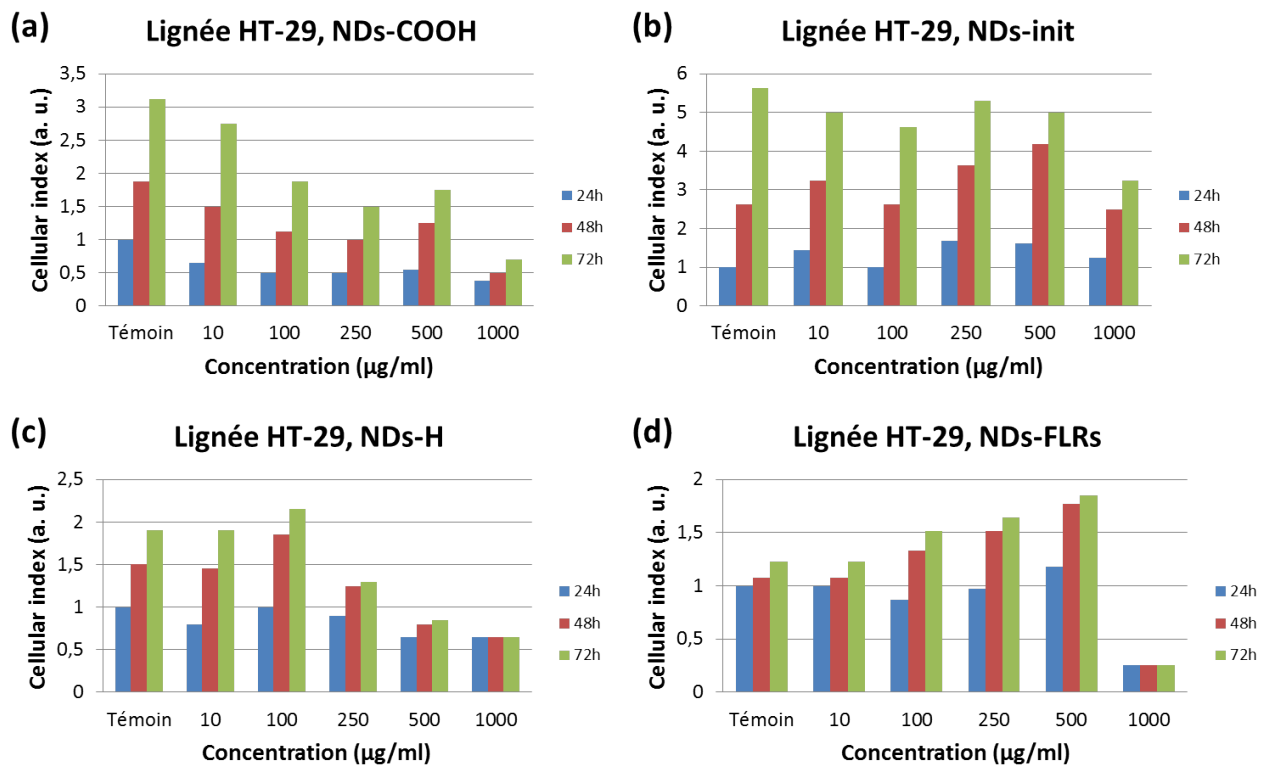


FIGURE 6.6 – Evolution de l'index cellulaire (IC) des cellules du colon HT-29 après exposition aux NDs-init, NDs-COOH, NDs-H et NDs-FLRs. Les valeurs de l'IC ont été normalisées par rapport à celles obtenues pour le témoin à 24h.

6.2.3 Discussion

Ces résultats montrent que l'étude de la toxicité des NDs reste un problème complexe faisant intervenir plusieurs paramètres. Cette toxicité dépend non seulement de la concentration en NDs, mais aussi de leur chimie de surface, du temps d'exposition et varie en fonction de la lignée cellulaire. L'utilisation de la méthode xCELLigence permet de mettre en évidence des modifications de l'IC après exposition aux NDs, illustrant la différence de toxicité en fonction de ces différents paramètres. Les interactions entre les NDs et les cellules engendrent quatre types de variations de l'IC en fonction du temps :

- L'exposition aux NDs **ne modifie pas l'évolution de l'IC par rapport au témoin** (exemple : NDs-COOH sur les cellules A549). Cela signifie que les NDs n'ont aucun effet sur l'évolution des cellules. Dans ces cas-ci, il faudrait vérifier par imagerie confocale ou par cytométrie de flux que les NDs ont effectivement pénétré dans les cellules, et le cas échéant faire des tests de génotoxicité pour pouvoir conclure à une absence complète de toxicité.
- **L'augmentation de l'IC peut être ralentie**, voire interrompue après exposition aux NDs, par rapport au témoin (exemple : NDs-init ou NDs-FLRs à 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ sur les cellules Caki-1). Cela peut s'interpréter comme un ralentissement ou un arrêt de la prolifération cellulaire.
- L'exposition aux NDs peut induire **une augmentation plus importante de l'IC par rapport au témoin** (exemple : NDs-init sur les cellules Hep-G2). Cela peut être dû à un changement de morphologie des cellules après exposition aux NDs, comme par exemple une augmentation du volume des cellules après internalisation des NDs. L'utilisation de méthodes complémentaires d'imagerie serait nécessaire pour pouvoir conclure sur ce point.
- L'IC peut **diminuer suite à l'exposition aux NDs au cours du temps** (exemple : NDs-FLRs à une concentration supérieure à 500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ sur les cellules Caki-1). Ce cas correspond probablement à la mort d'une partie des cellules.

D'après ces observations, la chimie et la charge de surface jouent clairement un rôle sur les interactions entre les NDs et les cellules. Ces interactions varient aussi en fonction de la lignée cellulaire étudiée. Un certain type de NDs, qui peut paraître peu toxique sur une lignée cellulaire, peut se révéler toxique sur une autre lignée. C'est le cas par exemple des NDs-init qui ne présentent aucune toxicité pour la lignée pulmonaire A549 mais qui semblent induire une toxicité marquée pour la lignée rénale Caki-1. Enfin, le temps d'ex-

position aux NDs joue aussi un rôle sur la toxicité. Par exemple, une étude limitée à 48h n'aurait pas permis de montrer que les NDs-init peuvent induire la mort cellulaire sur la lignée Caki-1. Ce sont les NDs-FLRs qui semblent induire le plus de modifications de l'IC dans le cas général. Ce sont en effet les seuls NDs pour lesquels on observe une toxicité très prononcée sur deux lignées cellulaires à une concentration de 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$. Cela n'est pas surprenant puisque les nanomatériaux à base de carbone sp^2 ont déjà montré une toxicité significative [76]. Une cause possible de toxicité pour les nanomatériaux graphitique est l'inactivation des protéines antioxydantes dans la cellule, induite par la présence des cycles aromatiques sp^2 [266]. Il est important de noter qu'à part pour les NDs-FLRs à une concentration de 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$, une absence totale d'évolution de l'IC, traduisant une toxicité aiguë, n'a pour autant jamais été observée.

La toxicité ne se traduit pas forcément par la mort des cellules mais peut induire un ralentissement de la prolifération cellulaire. A ce stade, il n'est pas possible de déterminer précisément les sources de cette toxicité. Une étude plus approfondie associée avec des méthodes d'imagerie pour vérifier la modification morphologique des cellules et l'internalisation des NDs serait utile pour pouvoir conclure sur les mécanismes entrant en jeu dans ces cas-là. Pourtant, dans certains cas, des tendances peuvent être esquissées. Par exemple sur les cellules HT-29, ce sont les NDs-init qui perturbent le moins l'IC des cellules tandis que pour les A549 ce sont les NDs-COOH. Si l'on considère tous les types cellulaires, il semble que ce soit les NDs-H qui aient le moins d'effet sur les cellules, jusqu'à des concentrations inférieures à 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$. Il faudrait pouvoir corrélérer ces résultats à un état d'agrégation et une localisation des NDs dans les cellules, ce qui pourrait être observé par imagerie optique dans le cas de gros agrégats ou par imagerie électronique dans le cas contraire.

6.2.4 Bilan

En conclusion, il faut retenir que les NDs de détonation peuvent induire une toxicité sur certaines lignées cellulaires et que cette toxicité dépend de leur chimie de surface. Pourtant, des modifications importantes de l'IC ne sont observées que pour des concentrations élevées (généralement $> 250 \mu\text{g}/\text{ml}$). Compte tenu de leur très grande surface spécifique, ces concentrations sont extrêmement élevées et ne seront pas forcément réalistes pour des conditions d'exposition aux NDs *in vivo*. Pour les cas de faibles variations de l'IC, il faudrait vérifier que les NDs sont effectivement bien internalisés dans les cellules par imagerie optique ou Raman avant de pouvoir conclure sur une absence de toxicité. Néanmoins, étant donné les résultats déjà publiés dans la littérature [76, 63, 260], une très bonne internalisation des NDs peut être espérée. Ces résultats tendent à montrer

que les NDs de détonation sont bien des nanoparticules de choix pour le développement de nouvelles applications biomédicales même si des études de toxicité plus approfondies tenant compte de la chimie de surface et considérant aussi la génotoxicité restent nécessaires avant d'envisager des études cliniques. **En particulier, les NDs-COOH, ayant un PZ négatif, et les NDs-H, ayant un PZ positif, présentent *a priori* une toxicité très faible pour des concentrations inférieures à 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$. Ce sont donc des NDs de choix pour le développement de nouvelles applications en nanomédecine.**

6.3 Radiosensibilisation de cellules tumorales avec des nanodiamants

Nous allons maintenant envisager une nouvelle manière d'utiliser les NDs pour des applications en cancérologie. Celle-ci va passer par le couplage de l'exposition à des NDs modifiés avec des traitements de radiothérapie. La radiothérapie est une technique courante pour traiter des tumeurs cancéreuses, utilisée dans environ 50 % des cas. Elle consiste à irradier des cellules tumorales afin de créer une forte densité de radicaux libres par radiolyse dans ces cellules. La forte augmentation de radicaux libres peut induire des ruptures de l'ADN ou la mort cellulaire par stress oxydatif [267]. En fonction des organes ciblés, différents types de rayonnements et d'énergies sont généralement utilisés. Ceux-ci sont résumés dans le tableau 6.1.

Nature du rayonnement	Énergie	Pénétration	Organes
UV	3 – 120 eV	Superficielle	Peau et cavités (exemple : vessie)
Photons X	20 – 150 keV	Quelques millimètres	Peau et cavités
Photons X (ortho voltage)	200-500 keV	Jusqu'à 6 cm	Organes superficiels, muscles
Photons X (méga voltage)	1-25 MeV	Tout le corps	Organes profonds (exemple : prostate)
Photons γ	300-1500 keV	Tout le corps	Organes profonds

TABLE 6.1 – Propriétés des rayonnements UV et X couramment utilisés en radiothérapie

L'efficacité des traitements par radiothérapie est actuellement limitée par la résistance de certaines tumeurs aux rayonnements ionisants, par rapport aux cellules saines. Nous allons maintenant montrer que les **NDs peuvent générer localement de fortes concentrations de radicaux libres sous irradiation**, ce qui pourrait être utilisé pour radiosensibiliser des cellules tumorales résistantes aux radiations. Dans un premier temps le principe de la radiosensibilisation de cellules tumorales va être présenté. Nous exposerons ensuite les raisons pour lesquelles les NDs nous semblent être de bons candidats pour cette application, en insistant particulièrement sur le rôle de la chimie de surface. Enfin, les premières expériences effectuées *in vitro* au LCE vont être présentées afin de valider la preuve de concept de l'utilisation des NDs pour la radiosensibilisation des cellules tumorales.

6.3.1 Amélioration des traitements de radiothérapie classique

Un des défis actuels de la radiothérapie est d'arriver à traiter les cellules tumorales de manière efficace et sélective par rapport aux cellules saines environnantes. Trois techniques complémentaires sont en cours de développement pour atteindre ce but. D'une part, la **réduction de la taille des faisceaux d'irradiation** permet de limiter l'irradiation des tissus sains et donc d'augmenter les doses d'irradiation délivrées aux cellules cancéreuses. Il est aussi possible d'utiliser des irradiations d'ions libérant une **dose plus importante localisée au niveau de la tumeur**. De nouvelles thérapies sont ainsi en cours d'élaboration en utilisant des protons (protonthérapie) ou des ions lourds (hadronthérapie) [268]. Ces deux types de développements nécessitent des investissements importants de la part des centres de traitements qui passent par l'achat de ces nouveaux irradiateurs, et qui ne sont donc disponibles que dans quelques établissements. La plupart des hôpitaux utilisent des photons UV, X ou γ dont les propriétés sont résumées dans le tableau 6.1.

La troisième méthode consiste à augmenter la sensibilité aux rayonnements des cellules cancéreuses par **ajout d'un radiosensibilisant** qui permet de réduire la dose d'irradiation nécessaire pour avoir un effet thérapeutique [269]. Une radiosensibilisation sélective et efficace des cellules tumorales permettrait d'améliorer significativement l'efficacité de ces traitements et de réduire les effets secondaires sur les tissus sains. Malheureusement, il existe actuellement très peu de radiosensibilisants permettant de ne cibler que les cellules tumorales (sélectivité) et induisant la mort cellulaire à faible dose d'irradiation (efficacité).

6.3.2 Utilisation de nanoparticules pour la radiosensibilisation

L'utilisation de NPs en tant qu'agents radiosensibilisants capables de générer des radicaux libres sous irradiation est particulièrement avantageuse. Elle permet en effet d'augmenter considérablement l'index thérapeutique des traitements de radiothérapie (voir 1.1.2.3). D'une part, les NPs permettent de cibler sélectivement les cellules tumorales par ciblage actif ou passif (voir 1.1.2), car elles vont s'accumuler dans ces cellules. D'autre part, certaines NPs peuvent générer de fortes doses de radicaux libres à leur proximité sous irradiation. Cela permet d'augmenter sensiblement l'efficacité des radiations uniquement dans les cellules tumorales grâce à trois propriétés liées aux NPs comme proposé par Carter *et al* [270] :

- l'absorption localisée des photons X,
- l'émission d'électrons de basse énergie à l'environnement proche des NPs,
- l'efficacité de la conversion de l'énergie transmise dans l'eau sous la forme de radicaux libres ou d'électrons.

6.3 Radiosensibilisation de cellules tumorales avec des nanodiamants

Pour optimiser l'absorption des photons X, les NPs utilisées sont généralement constituées d'atomes ayant un numéro atomique (Z) élevé, tel que l'or, le platine, le titane ou les terres rares [27, 29, 28, 271]. Pour un photon absorbé et l'émission d'un photoélectron de cœur, l'émission de plusieurs électrons Auger de faible énergie venant des couches électroniques externes va être induite [27]. Ces électrons ayant un libre parcours moyen très court (voir 2.2.3), ils s'échapperont des NPs uniquement pour les atomes proches de la surface. L'émission sera donc amplifiée pour des NPs de quelques nanomètres de diamètre [272]. La génération d'électrons Auger peut être induite en utilisant des photons X d'énergie telle que les molécules d'eau ne les absorbent que faiblement [27]. La création de radicaux libres est alors beaucoup plus importante à proximité des NPs, qui sont principalement internalisées dans les cellules cancéreuses.

Le faisceau incident de photons X induit la radiolyse de l'eau, appelée **radiolyse primaire**, qui est à la base des traitements de radiothérapie classique. Les électrons générés par la présence des NPs vont induire la génération de dérivés réactifs de l'oxygène par une **radiolyse secondaire** des molécules d'eau et l'activation de molécules d'oxygène en ions superoxydes O_2^- . Ces ions vont ensuite se transformer en peroxyde d'hydrogène puis en radicaux hydroxydes ayant une durée de vie plus courte mais une forte réactivité (Figure 6.7) [273]. Ces espèces réactives sont appelées dérivés réactifs de l'oxygène (ROS).

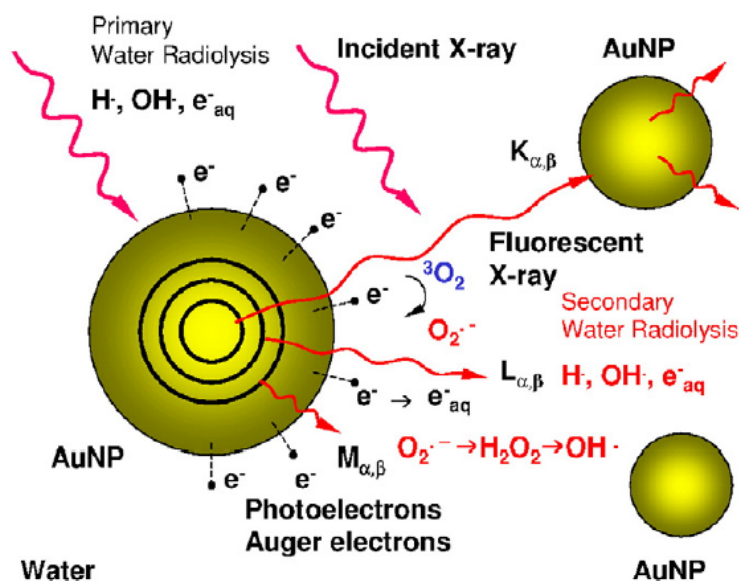


FIGURE 6.7 – Génération d'électrons de basse énergie et de dérivés réactifs de l'oxygène après irradiation de nanoparticules d'or dans l'eau. D'après la référence [273].

L'effet radiosensibilisant des NPs de faible taille vient du fait que la concentration de ROS formés après irradiation à la surface des NPs est particulièrement élevée car les électrons générés par tout le volume de la NP sont réémis à sa surface. Même si la dose globale est similaire au cas sans NPs à l'échelle de la cellule, **la dose locale en surface des NPs à l'échelle nanométrique** est supérieure de plusieurs ordres de grandeur à celle obtenue par radiolyse primaire, ce qui induit des dégâts biologiques beaucoup plus importants [272].

Cependant il existe quelques limitations aux méthodes utilisées actuellement. En particulier la différence d'absorption entre les métaux lourds et les tissus est importante pour des énergies d'irradiation de quelques dizaines de keV . Leur utilisation est donc **limitée au traitement de tumeurs superficielles** [27]. Pour des énergies plus élevées, des effets radiosensibilisants ont aussi été observés avec des NPs d'or mais ne peuvent pas être imputés à la forte absorption des rayonnements. De plus, l'utilisation de métaux lourds et de terres rares peut induire des problèmes de toxicité liés à la génération de ROS même sans irradiation ou à la dissolution des NPs [77, 274]. Un autre point crucial est la stabilité colloïdale des NPs. Les NPs métalliques ont une stabilité colloïdale limitée et l'utilisation de polymères pour stabiliser ces NPs est généralement nécessaire. Malheureusement, les électrons Auger ayant un libre parcours moyen limité, il est probable que cette couche de polymère puisse fortement atténuer la dose effectivement libérée à l'environnement des NPs. Enfin même si les électrons Auger peuvent attaquer directement l'ADN, l'efficacité de l'irradiation nécessite généralement la présence d'oxygène dans les cellules pour générer des ROS ayant une durée de vie plus importante. Or les cellules cancéreuses sont généralement radiorésistantes suite à un déficit d'oxygène, ce phénomène est appelé **hypoxie** [275]. La génération d'électrons Auger n'est donc pas toujours suffisante pour induire la mort des cellules cibles.

6.3.3 Radiosensibilisation avec des nanodiamants

6.3.3.1 Intérêt des nanodiamants

Le concept de radiosensibilisation à base de NPs est particulièrement prometteur et pourrait être adapté aux NDs. L'utilisation de NDs comme radiosensibilisants pour des traitements de radiothérapie à la place de ces NPs à base de métaux nobles ou de terres rares pourrait en effet permettre de surmonter les obstacles observés avec ces NPs tout en gardant une bonne efficacité. La génération de radicaux libres sous irradiation n'est pas limitée aux NPs métalliques puisque des NPs de silice ont récemment montré des propriétés similaires [276]. Plusieurs études ont aussi montré que les nanomatériaux carbonés, en particulier les fullerènes, peuvent générer des radicaux libres sous irradiation [171, 277]. Pourtant leur application est limitée par leur faible dispersion dans l'eau. Des

études équivalentes n'ont jamais été effectuées sur les NDs jusqu'à maintenant à notre connaissance. Au vu des résultats présentés dans les chapitres précédents, les NDs satisfont pourtant toutes les conditions pour ce type d'application :

- **Densité atomique importante** : Bien que les NDs soient constitués d'atomes de carbone ayant un numéro atomique proche des tissus biologiques, la densité d'atomes du cœur diamant des NDs, de l'ordre de 1.8×10^{23} atomes/cm³, est très élevée comparée aux tissus sains. Cela implique donc une capacité d'absorption des photons incidents supérieure aux tissus biologiques. Ayant une petite taille avec un diamètre de l'ordre de 5 nm, la libération d'électrons secondaires provenant du volume entier des NDs à leur surface sera possible. Il y aura donc une libération d'électrons importantes en surface des NDs sous irradiation.
- **Stabilité colloïdale** : Nous avons montré que les NDs sont stables dans l'eau grâce à la présence de charges électrostatiques en surface liées à leur chimie de surface (chapitre 5). Les NDs-init, NDs-COOH, NDs-H et NDs-*sp*² ont ainsi un potentiel zêta élevé, en valeur absolue, permettant de garder de faibles tailles de dispersion même en milieu biologique comme montré par DLS (voir 6.1). Il n'est pas utile de fonctionnaliser la surface pour assurer la stabilité colloïdale, ce qui permet d'éviter l'atténuation des électrons générés par l'irradiation dans les NDs. Ces électrons peuvent donc être directement transmis aux molécules environnantes.
- **Adsorption de molécules d'eau et d'oxygène** : La formation de ROS à partir des électrons émis par les NDs passe par la proximité de molécules d'eau ou d'oxygène pouvant être converties en ROS. Nous avons vu dans le chapitre 4 que les molécules d'eau s'adsorbent effectivement bien sur les NDs. Pour les NDs oxydés (NDs-COOH), il s'agit essentiellement de molécules d'eau physisorbées formant des liaisons hydrogène avec les groupements carboxyliques [221]. Pour les NDs-H et NDs-*sp*², l'adsorption d'eau mais également d'oxygène a été observée. Cette adsorption s'est traduite par une augmentation de la concentration en oxygène, détectée par XPS, après exposition à l'air (voir 4.1). Une forte proportion de ces molécules oxygénées est uniquement physisorbée à la surface des NDs comme observé par les mesures d'adsorption d'eau, ou faiblement liée chimiquement car désorbée après recuit à basse température sous ultra-vide (voir 5.2 et 5.3.1). Les molécules adsorbées, *a priori* principalement des molécules d'eau (H₂O) ou de dioxygène (O₂), sont à l'origine de la plupart des ROS. Ces molécules étant transportées avec les NDs, **la génération de radicaux libres dans les cellules hypoxiques**, *i.e.* ayant une faible concentration en oxygène, devrait donc aussi être efficace. Ce sont ces cellules qui sont le plus résistantes aux radiations donc ce point est particulièrement

important [275].

- **Transferts de charge** : Enfin, nous avons vu que les transferts de charge entre le cœur des NDs et leur environnement sont facilités pour les NDs-H et NDs- sp^2 . Cela est vrai à l'air comme démontré par les études KFM, validant un transfert de charge entre les NDs et le substrat (voir 4.3). Ces transferts de charge ont aussi lieu naturellement dans l'eau avec les molécules oxygénées adsorbées, ce qui nous a permis d'expliquer l'origine de la charge de surface pour les NDs-H et NDs- sp^2 (voir 5.2.2 et 5.3.3). Après irradiation, le surplus d'électrons générés dans le cœur des NDs devrait donc être transféré particulièrement efficacement vers les molécules oxygénées en surface des NDs-H et NDs- sp^2 .

Pour ces raisons, les NDs nous paraissent intéressants pour la radiosensibilisation de cellules tumorales. En particulier, les NDs ayant suivi des traitements d'hydrogénation et de graphitisation de surface devraient se montrer les plus efficaces car ils ont montré des capacités d'adsorption de molécules et de transfert de charges plus importantes que les NDs-COOH.

L'effet radiosensibilisant des nanodiamants n'étant pas lié au numéro atomique élevé du cœur inorganique, mais plutôt à la forte capacité d'absorption des photons et à la conversion efficace d'électrons secondaires en ROS, il n'est *a priori* pas limité au cas des photons X de basse énergie. En particulier, il est aussi applicable au cas d'irradiation par des photons X ou γ dans la gamme des ortho- ou méga- voltages, qui sont choisis dans le cas de tissus profonds et sont plus couramment utilisés en clinique. Dans ces gammes d'énergie, ce n'est plus l'effet photoélectrique qui domine mais plutôt l'**effet Compton** [27]. A haute énergie, le photon incident qui entre en collision avec un électron d'un atome de carbone n'est pas absorbé mais diffusé. Le choc inélastique induit l'expulsion de l'électron et le photon diffusé présente une énergie moins importante que le photon incident. Plusieurs diffusions successives vont avoir lieu jusqu'à ce que l'énergie des photons soit assez faible pour que l'effet photoélectrique domine. Au cours de ce processus, il y a donc l'émission de nombreux électrons secondaires pour un même photon incident.

6.3.3.2 Preuve de concept de la radiosensibilisation de cellules Caki-1

Le principe de radiosensibilisation avec des NDs a été validé sur des cellules tumorales humaines qui ont été irradiées avec ou sans présence de NDs. Afin de souligner l'intérêt d'utiliser des NDs, une lignée cellulaire particulièrement résistante aux radiations a été choisie. Les cellules de carcinome rénales sont connues pour leur radiorésistance [278]. La lignée rénale Caki-1, sur laquelle la toxicité des NDs a été étudiée (voir 6.2.2.1), a été

choisie. Les cellules ont été exposées à des NDs à 3 concentrations (10, 100 et 500 $\mu\text{g/ml}$) pendant environ 5 minutes avant exposition à une **irradiation γ de 4 Gray (Gy)** à 2Gy/min, qui correspond à une dose classique de radiothérapie. **L'énergie de la source de Césium 137 utilisée est de 662 keV**. L'effet de la chimie de surface va être étudié en utilisant des NDs-COOH et des NDs-H. Nous allons ainsi pouvoir étudier si les propriétés de transfert de charge propres aux NDs-H, jouent un rôle dans la radiosensibilisation. Une étude similaire avec des NDs-FLRs aurait été intéressante mais ces NDs présentant une certaine toxicité initiale sur cette lignée cellulaire (voir 6.2.2.1), nous avons préféré nous focaliser sur les NDs-H dans un premier temps. L'évolution de l'index cellulaire a été suivie en temps réel sur 96 h après irradiation en utilisant le système xCELLigence déjà utilisé pour étudier la toxicité des NDs. La quantité de ROS produits dans les cellules a ensuite été évaluée par cytométrie en flux.

6.3.3.3 Effet radiosensibilisant des nanodiamants oxydés

L'évolution de l'IC en fonction du temps pour différentes concentrations de NDs-COOH est présentée sur la figure 6.8 (a). Jusqu'à 48h il n'y a pas de grande différence entre l'évolution des cellules témoins et les cellules exposées à 10 ou 100 $\mu\text{g/ml}$ de NDs-COOH. Pour des temps plus longs en revanche on observe une faible toxicité pour la concentration de 100 $\mu\text{g/ml}$. Pour la concentration de 500 $\mu\text{g/ml}$ l'augmentation de l'IC est moins marquée sur 48h puis décroît progressivement. Il y a donc un effet de toxicité important pour cette concentration. Ces observations sont en accord avec les résultats de toxicité présentés dans la première partie de ce chapitre, montrant que les NDs-COOH peuvent induire des effets de toxicité à forte dose. Après irradiation à 4 Gy, de fortes différences sont observées entre le témoin et les cellules ayant été exposées aux NDs-COOH (Figure 6.8 (b)).

L'irradiation a été effectuée quelques minutes après ajout des NDs-COOH et la valeur de l'IC est normalisée juste après l'irradiation. On observe que l'effet de l'irradiation est limité sur les cellules témoins puisque l'IC augmente progressivement en fonction du temps. Au contraire, en présence de NDs-COOH, l'IC est significativement réduit et augmente beaucoup plus lentement. Cet effet est observé même à une concentration de 10 $\mu\text{g/ml}$ pour laquelle aucune toxicité n'a été détectée sans irradiation. L'IC est réduit de 43 % après exposition à une concentration de 10 $\mu\text{g/ml}$ de NDs-COOH à 96h après irradiation. Les NDs-COOH potentialisent ainsi les effets de l'irradiation, qui induisent une toxicité importante sur les cellules Caki-1. Cet effet correspond à la radiosensibilisation. Pour la concentration de 500 $\mu\text{g/ml}$, l'effet de toxicité déjà observé sans irradiation s'ajoute probablement à l'effet radiosensibilisant.

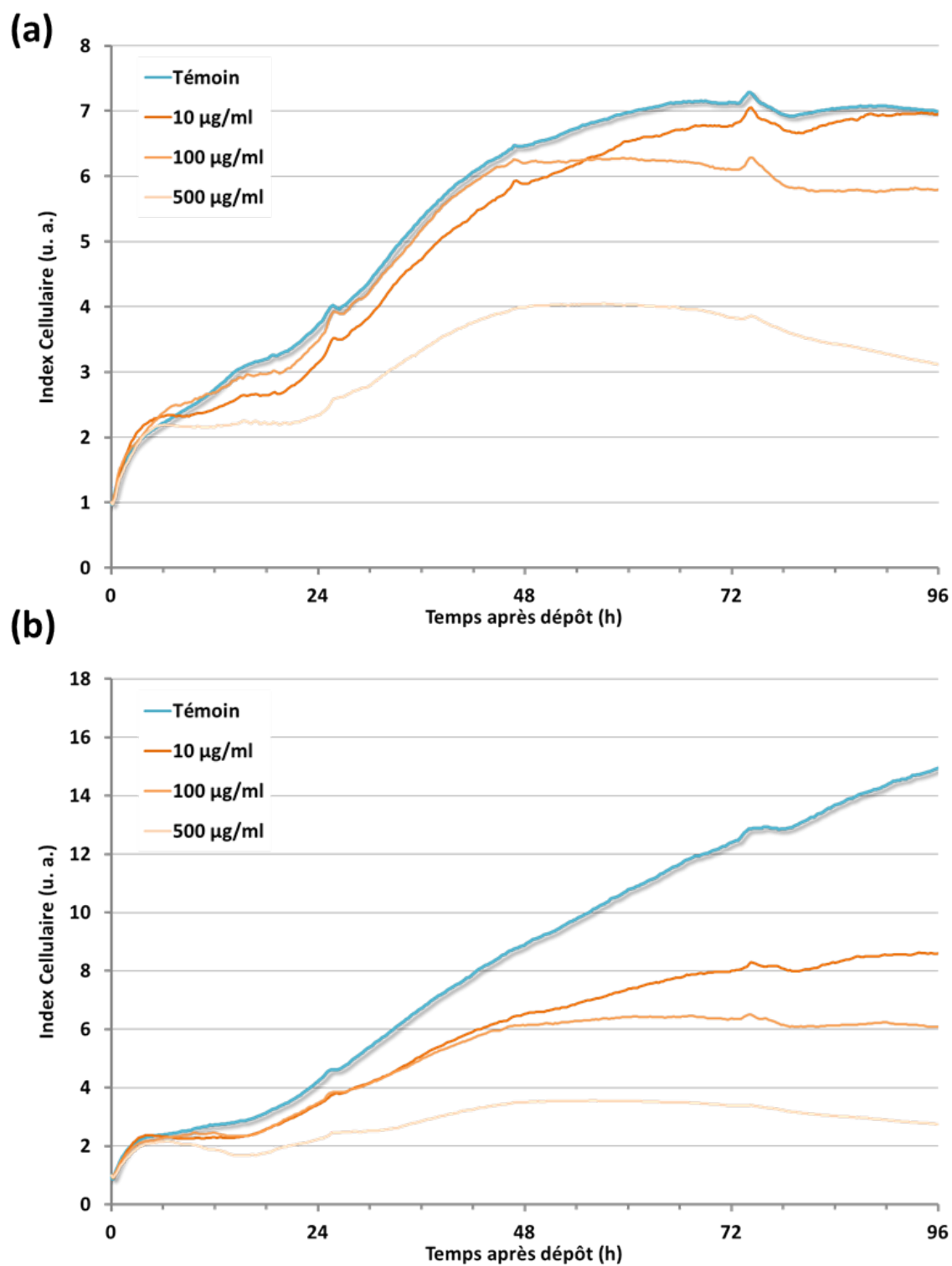


FIGURE 6.8 – Evolution de l'index cellulaire des cellules Caki-1 après exposition aux NDs-COOH sans (a) et après (b) irradiation à 4 Gy.

6.3.3.4 Effet radiosensibilisant des nanodiamants hydrogénés

Le même protocole a été appliqué aux cellules Caki-1 avec des NDs-H. L'évolution de l'IC sans irradiation est présenté sur la figure 6.9. Après exposition aux NDs-H il y a une légère diminution de l'IC par rapport au témoin pour les deux concentrations les plus élevées. Au bout de 48h, l'IC se stabilise à une valeur inférieure au témoin qui pourrait aussi être liée à un léger effet de toxicité ou à une saturation du puits. Après irradiation, l'évolution de l'IC est très différente comme illustré sur la figure 6.9 (b). Le témoin suit la même croissance que dans le cas précédent. En revanche, avec la présence de NDs-H, la toxicité est très importante. L'IC est ainsi divisé par 3.4 pour une concentration de seulement 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ à 96 h. La toxicité ne semble pas dépendre de la dose de NDs-H puisqu'une évolution similaire de l'IC est observée à des concentrations plus élevées. Cette toxicité semble donc significativement différente de celle observée avec les NDs-COOH, qui dépend presque linéairement de la concentration en NDs-COOH. Il faut toutefois noter une légère baisse de la toxicité pour la concentration de 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$. Dans ce cas, on observe une augmentation et diminution de l'IC dans les premières heures de l'incubation, pouvant être liée à une expulsion d'une partie des NDs-H. **Cette toxicité, qui est très forte même à de faibles concentrations en NDs-H, pourrait être liée à un stress oxydatif induisant la mort cellulaire**, ce qui serait en accord avec une forte concentration de ROS après irradiation en présence des NDs. Pour valider cela nous avons donc cherché à évaluer la quantité de ROS dans les cellules avec des NDs-H.

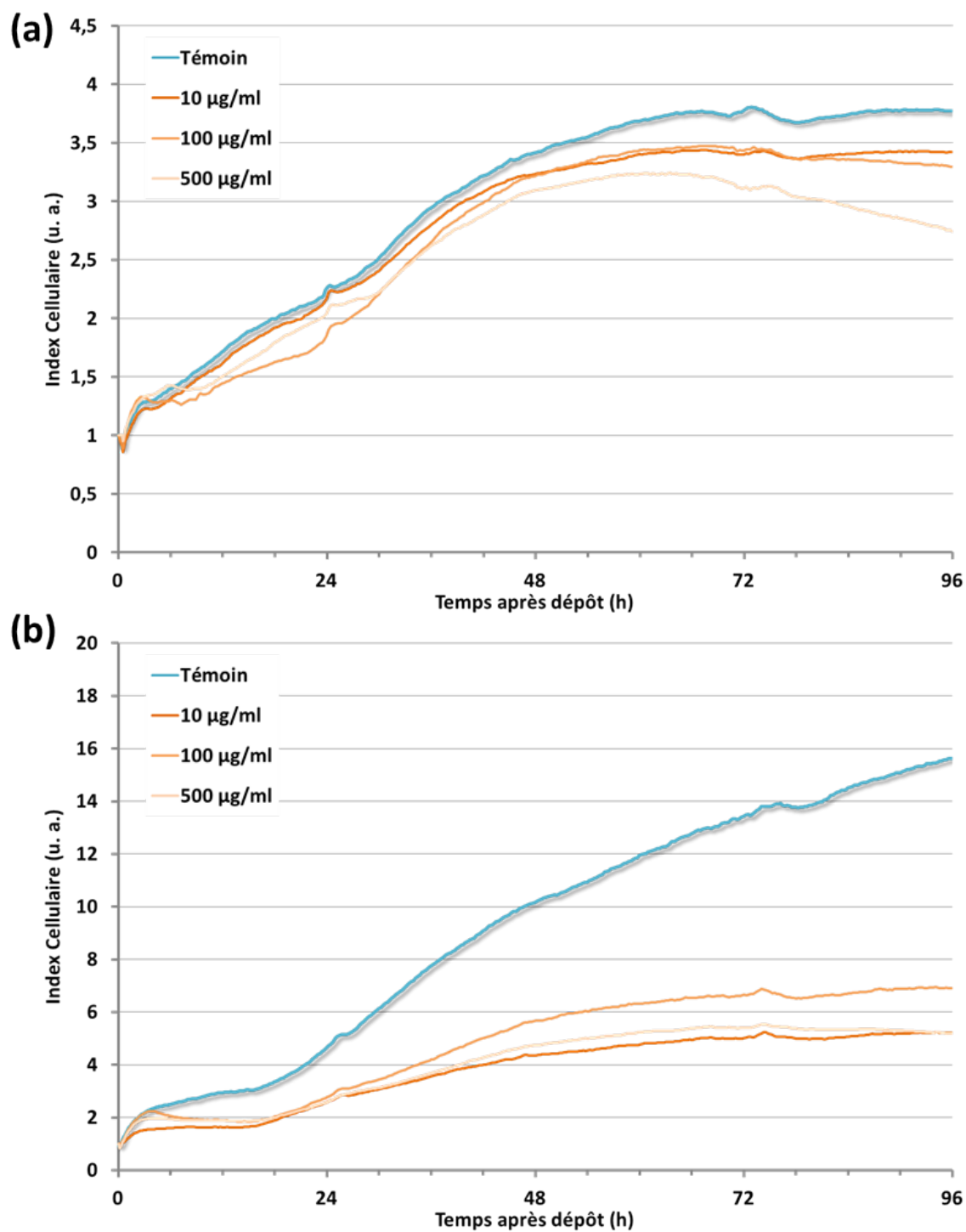


FIGURE 6.9 – Evolution de l'index cellulaire des cellules Caki-1 après exposition aux NDs-H sans (a) et après (b) irradiation à 4 Gy.

6.3.3.5 Évaluation de la présence de dérivés réactifs de l'oxygène dans les cellules

Des mesures quantitatives du stress oxydatif induit par la présence des NDs-H avec ou sans irradiation ont été effectuées en mesurant la fluorescence d'une sonde sensible aux ROS (2',7'-dichlorofluorescein) par cytométrie en flux. Une fois exposées aux différentes conditions expérimentales (NDs-H seuls, irradiation seule, NDs-H + irradiation), les cellules ont été détachées de leur support de culture, remises en suspension, puis incubées 10 minutes en présence de cette sonde. Une fois entrée dans les cellules, la sonde peut rester sous forme réduite non fluorescente ou s'oxyder et donc émettre un signal fluorescent. L'intensité de fluorescence est directement liée à la quantité de ROS, ce qui permet une quantification relative du stress oxydatif [279]. Cette méthode permet la mesure de ROS total intracellulaire, contrairement à la mesure de protéines oxydées par exemple. Par contre cette mesure étant effectuée 1h après irradiation, elle ne reflète pas la génération de ROS pendant l'irradiation mais plutôt les effets secondaires à l'irradiation. Les résultats obtenus pour les concentrations de 10 et 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ sont présentés sur la figure 6.10. La concentration la plus élevée n'a pas été étudiée car elle est probablement trop importante pour être utilisée *in vivo*. Les NDs-COOH n'ont pas été étudiés ici car leur effet radiosensibilisant semble moins marqué que pour les NDs-H mais cette étude devrait être envisagée ultérieurement.

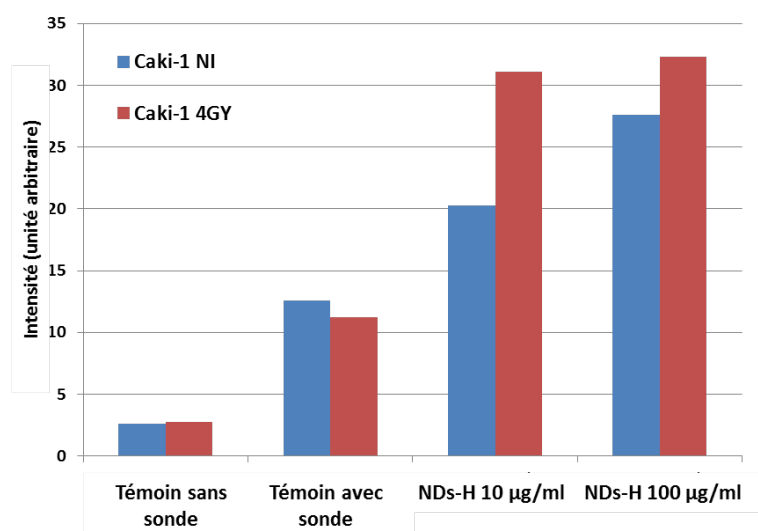


FIGURE 6.10 – Quantification de la concentration en dérivés réactifs de l'oxygène dans les cellules Caki-1 après internalisation de NDs-H avec et sans irradiation. Le témoin sans sonde reflète le fond de luminescence détecté en cytométrie en flux, le témoin avec sonde n'a pas été exposé aux NDs-H.

On peut observer plusieurs points importants à partir de ces résultats. Notamment il n'y a pas de différences significatives de la quantité de radicaux libres avant ou après irradiation au niveau des cellules témoins. Pour les cellules ayant été exposées aux NDs-H, une forte augmentation de la quantité de ROS est détectée même sans irradiation (+ 37 % et + 65 % pour les concentrations de 10 et 100 $\mu\text{g/ml}$, respectivement). Les raisons de cette augmentation, qui n'est pourtant pas associée avec une cytotoxicité marquée, ne sont pas encore expliquées. Après irradiation, cette quantité est encore augmentée de + 35 % et de + 14 % pour les concentrations de 10 et 100 $\mu\text{g/ml}$, respectivement. **La quantité de ROS 1h après irradiation est trois fois plus importante quand les cellules ont été exposées à des NDs-H.** Cette concentration de ROS à 1h est égale pour les deux concentrations de NDs-H testées.

6.3.3.6 Discussion

Ces résultats montrent qu'il y a un apport de ROS dans les cellules après incorporation des NDs-H, même sans irradiation. Pourtant, d'après l'évolution de l'IC, une toxicité dans les cellules n'est observée qu'avec couplage avec une irradiation. Les raisons pour lesquelles ces ROS ne créent pas une toxicité importante sans irradiation restent à déterminer. L'interaction entre les ROS et les NDs dans un milieu cellulaire est de toute façon un problème complexe qui nécessiterait des études plus poussées. Zhang *et al* ont observé une diminution de la concentration en ROS sur des cellules HeLa avec des NDs ayant probablement une autre chimie de surface mais un potentiel zêta positif également (voir 1.2.4) [76]. Il n'est pas contradictoire que les NDs-H puissent à la fois capter ou générer des radicaux libres en fonction de l'environnement cellulaire. Une propriété similaire a été observée sur des fullerènes par Markovic *et al* [171]. Il est possible que dans un autre contexte, pour une faible concentration en oxygène par exemple, les NDs-H aient des propriétés antioxydantes comme déjà observé sur les nanotubes ou les fullerènes [280, 281, 282]. Ces différents comportements pourraient peut-être être régulés par l'équilibre électrochimique dépendant de la concentration en NDs-H et en oxygène dans la cellule notamment.

Après irradiation, une grande quantité de ROS est générée de la surface des NDs, ce qui déclenche cette fois un stress oxydatif induisant la mort cellulaire. Il y a une forte augmentation de la quantité de radicaux libres même une heure après irradiation qui ne peut pas être associée à un effet direct de l'irradiation. Les NDs-H semblent donc avoir la capacité d'entretenir la génération de radicaux libres par un phénomène actif même après arrêt de l'irradiation. Cet effet pourrait être lié à une réaction électrochimique à la surface des NDs-H mais pourrait aussi être lié au déclenchement d'un mécanisme cellulaire induisant la surgénération de radicaux libres, ce qui est en accord avec un fort stress oxydatif.

6.3 Radiosensibilisation de cellules tumorales avec des nanodiamants

La **morphologie des cellules** a aussi été observée par microscopie optique. Les images obtenues pour des cellules Caki-1 sans NDs, avec des NDs-COOH et des NDs-H, sans et après irradiation, respectivement, sont présentées sur les figures 6.11 et 6.12. Il n'y a pas d'évolution particulière au niveau des cellules témoins sans/avec irradiation. Après ajout de NDs, on observe la formation de vacuoles apparaissant avec un contraste blanc. Ces **vacuoles** sont caractéristiques d'une toxicité induite par stress oxydatif et on remarque que le nombre de vacuoles augmente avec le temps. La concentration de vacuoles augmente significativement après irradiation dans les cellules exposées aux NDs, ce qui est en accord avec les résultats précédents. Dans le cas des NDs-H on observe la présence d'agrégats visibles par un contraste noir. Cette agrégation n'est pas visible dans le cas des NDs-COOH.

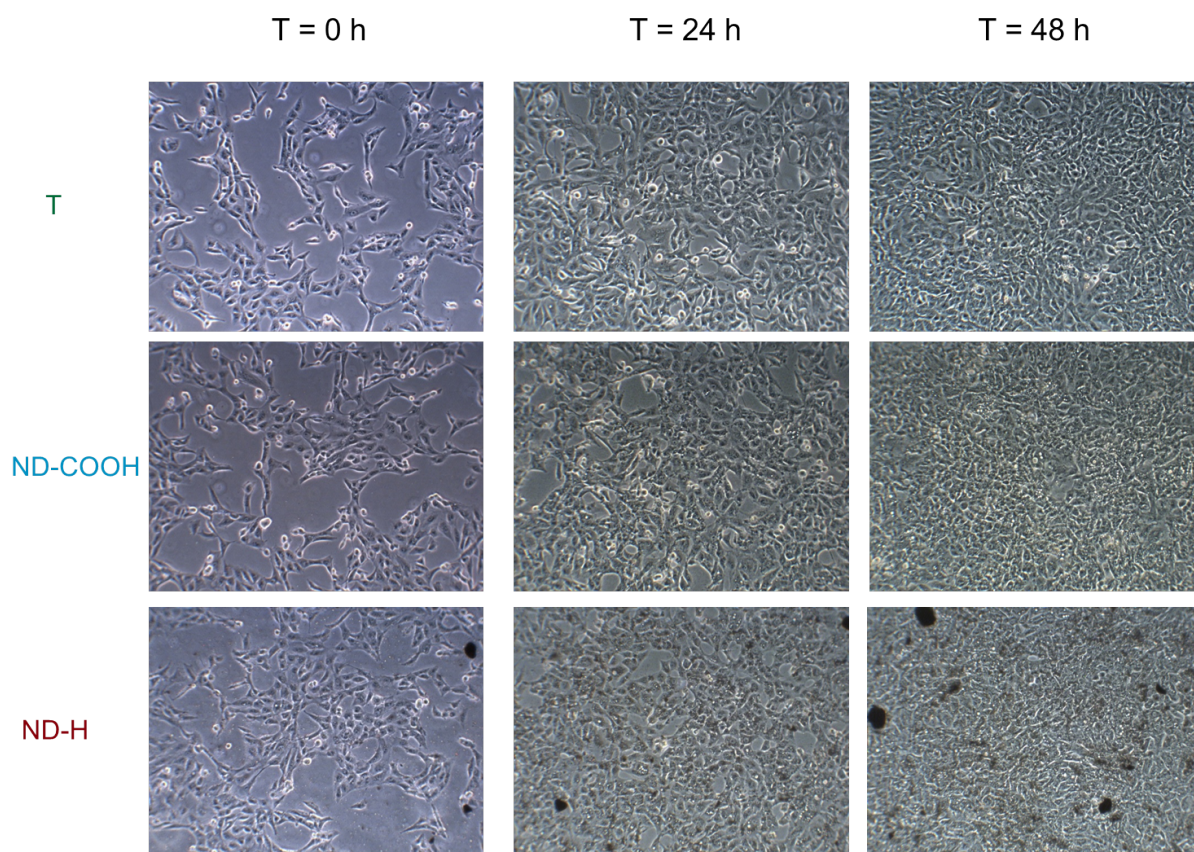


FIGURE 6.11 – Images optiques en lumière blanche de l'évolution des cellules Caki-1 après exposition aux NDs-COOH et NDs-H à une concentration de $100 \mu\text{g/ml}$, sans irradiation. Les cellules marquées "T" correspondent au témoin n'ayant pas été exposé aux NDs. Le grossissement est de $\times 10$.

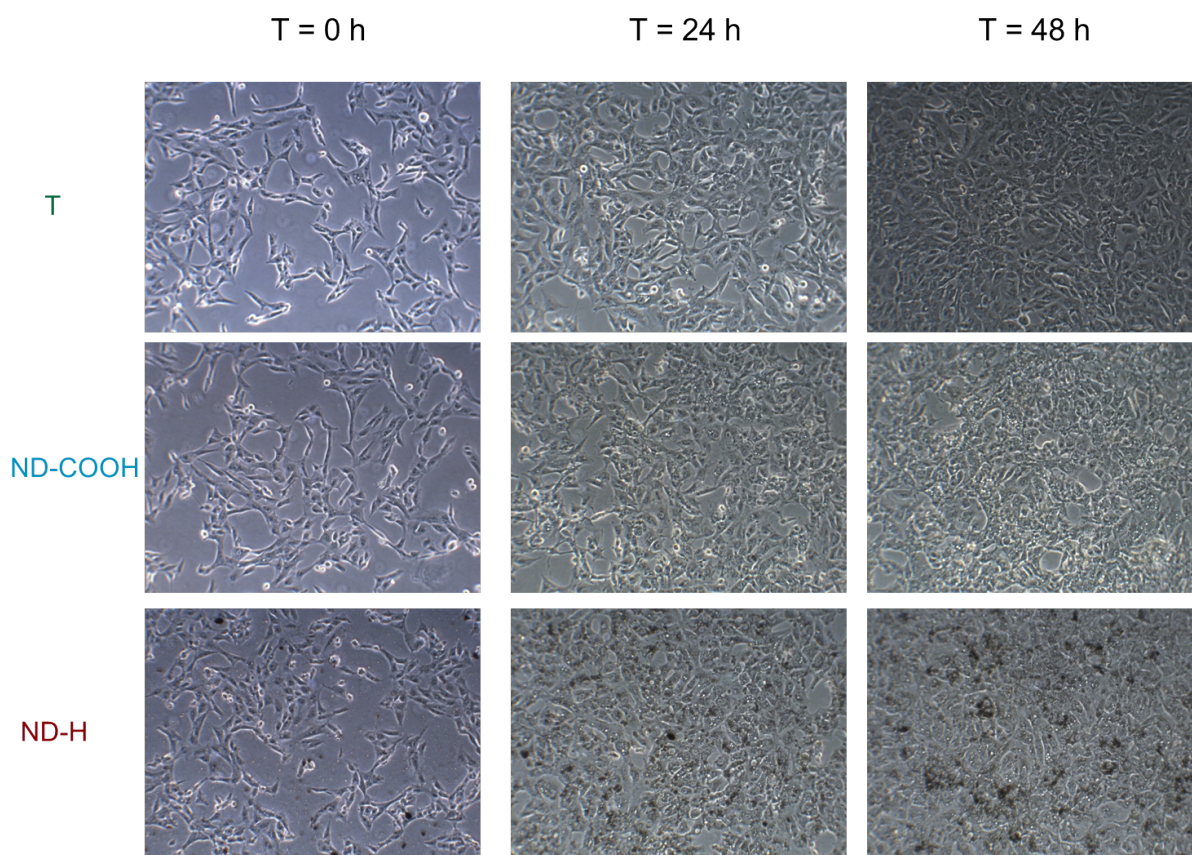


FIGURE 6.12 – Images optiques en lumière blanche de l'évolution des cellules Caki-1 après exposition aux NDs-COOH et NDs-H à une concentration de $100 \mu\text{g/ml}$, après irradiation à 4 Gy . Les cellules marquées "T" correspondent au témoin n'ayant pas été exposé aux NDs. Le grossissement est de $\times 10$.

6.3.4 Bilan

Les NDs peuvent donc être utilisés en tant que radiosensibilisant pour des cellules particulièrement radiorésistantes comme les cellules Caki-1. Sous irradiation, les NDs favorisent la génération de radicaux libres à leur surface, pouvant induire la mort cellulaire par stress oxydatif. Les cellules exposées aux NDs peuvent donc être traitées sélectivement car réagissant beaucoup plus fortement aux radiations que les cellules non exposées. Les résultats présentés précédemment sont résumés ci-dessous :

- **L'exposition aux NDs-COOH ou aux NDs-H induit une toxicité pour la lignée cellulaire Caki-1 après une irradiation gamma de 4 Gy.** Une concentration de $10 \mu\text{g/ml}$ est suffisante pour induire un effet significatif.
- **L'effet radiosensibilisant est plus important pour les NDs-H** et la meilleure efficacité est obtenue pour la plus faible concentration ($10 \mu\text{g/ml}$). Ces NDs-H pré-

6.3 Radiosensibilisation de cellules tumorales avec des nanodiamants

sentent aussi une toxicité très faible sans irradiation.

- L'ajout de NDs-H permet d'**entretenir la production de ROS** au moins une heure après irradiation, qui peut être liée à un stress oxydatif élevé dans les cellules irradiées, induisant la mort cellulaire. Cela a été montré sur les NDs-H mais pourrait aussi expliquer la toxicité induite par les NDs-COOH.

Le principe de la radiosensibilisation est résumé sur la figure 6.13 pour des NDs-H. Pendant l'irradiation, le cœur diamant des NDs absorbe les photons X ou γ (1), ce qui génère l'émission d'électrons secondaires (2). Cette émission est facilitée dans le cas des NDs-H par une affinité électronique négative. Les NDs-H ayant une forte capacité d'adsorption d'eau et interagissant fortement avec l'oxygène, le transfert d'électron à ces molécules est particulièrement efficace et génère des ROS qui vont induire un stress oxydatif (3). Ce stress oxydatif va induire la mort cellulaire des cellules ayant internalisé des NDs.

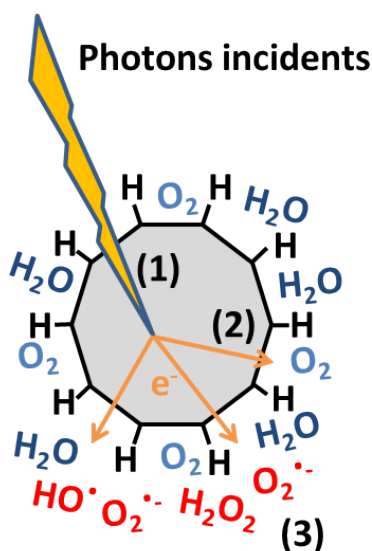


FIGURE 6.13 – Génération de radicaux libres à partir d'un ND-H sous irradiation. Les rayons X ou gamma sont absorbés par le cœur diamant (1), ce qui induit la génération de photoélectrons et électrons Auger (2) qui transforment les molécules adsorbées en dérivés réactifs de l'oxygène (3).

Les résultats présentés ici ne constituent pourtant qu'une preuve de concept et de nombreuses questions restent en suspens. Notamment, il serait intéressant d'étudier l'effet radiosensibilisant après avoir exposé les cellules aux NDs pendant plus longtemps (1-2h par exemple) avant irradiation. Cela permettrait d'avoir un plus grand nombre de NDs internalisés dans les cellules et permettrait peut-être d'augmenter encore l'efficacité de la

radiosensibilisation. La dose ainsi que la nature de l'irradiation utilisée pourraient aussi être optimisées, par exemple en répartissant plusieurs doses plus faibles dans le temps, ou en utilisant des photons X de plus faible énergie. Il faudrait aussi étudier les effets radiosensibilisants sur d'autres lignées cellulaires tumorales radio-résistantes, ce qui permettrait de déterminer quel type de cancer pourrait être traité le plus efficacement avec les NDs.

Enfin il serait très intéressant d'effectuer les mêmes expériences avec des NDs-FLRs, qui présentent une faible toxicité à 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$. Un effet radiosensibilisant significatif ayant été observé sur les NDs-H à cette concentration. D'après les propriétés de transfert de charge aussi observées sur ces NDs-FLRs, il est probable qu'un effet radiosensibilisant marqué soit aussi observé avec les NDs-FLRs.

Les résultats présentés ici montrent en tout cas que les NDs peuvent être utilisés comme des NPs activables sous une stimulation extérieure, et peuvent induire une toxicité forte sous irradiation. La chimie de surface joue un rôle important dans ces propriétés, et les traitements de surface facilitant les transferts de charges entre le cœur des NDs et les molécules environnantes, comme l'hydrogénation et la graphitisation de surface, permettent d'augmenter l'efficacité de la radiosensibilisation.

6.4 Conclusion

Dans ce chapitre nous avons étudié les interactions entre les NDs et des cellules tumorales humaines *in vitro*, que ce soit pour des questions de cytotoxicité ou pour considérer leur utilisation comme radiosensibilisant. Nous avons vu que les NDs de détonation peuvent induire une toxicité à forte dose, et que cette toxicité dépend de la chimie de surface et de la concentration des NDs, mais aussi de la lignée cellulaire. Cela n'est pas en contradiction avec les précédentes études de toxicité disponibles dans la littérature, qui sont principalement portées sur des NDs HPHT ayant une surface oxydée. Pourtant cette toxicité peut être utilisée avantageusement en cancérologie. En effet, ces effets de toxicité apparaissent principalement à forte dose, qui ne sont pas forcément réalistes en conditions *in vivo*. Une toxicité très importante peut cependant être activée à faible dose sous irradiation, ce qui permet de donner des propriétés thérapeutiques à des NPs généralement considérées inertes.

Ces résultats offrent de nombreuses perspectives pour l'utilisation des NDs en cancérologie. Nous avons expliqué dans le chapitre 1 que les NDs sont essentiellement utilisés comme vecteurs de médicament ou comme outils de diagnostic (voir 1.4). Il est en fait

aussi possible d'utiliser ces NDs pour leurs propriétés thérapeutiques, en association avec des traitements de radiothérapie classique. Il est d'ailleurs envisageable de coupler ces différentes applications.

Pour donner un exemple, **les NDs-H semblent particulièrement prometteurs pour être utilisés en tant que NDs multifonctionnels**. Nous avons vu qu'ils ont en effet une **faible toxicité** sur différentes lignées cellulaires. La réactivité chimique spécifique au diamant hydrogéné permet d'envisager le greffage de biomarqueurs à leur surface, permettant de cibler des cellules tumorales de manière spécifique. Les NDs-H ayant un **potentiel zêta positif**, il devrait être possible de **vectoriser des siRNAs sans utilisation de polymère**, comme c'est actuellement le cas [153, 155, 260]. En parallèle de la délivrance de siRNAs, ces NDs-H se sont montrés particulièrement efficaces pour la **radiosensibilisation de cellules tumorales** et pourraient permettre l'amélioration de l'efficacité des traitements de radiothérapie classique. Enfin, on peut envisager d'effectuer une hydrogénation avec un plasma à base de tritium afin de **marquer radioactivement ces NDs**, ce qui permettrait de les suivre *in vivo* en utilisant des outils d'imagerie nucléaire. Des NDs de ce type combinant ciblage actif, vectorisation de médicament, action thérapeutique et outil de diagnostic combinerait toutes les propriétés des NPs qui font leur intérêt pour des applications en cancérologie (voir 1.1.2). **Si l'efficacité de ces différents points pouvait être démontrée sur un modèle animal**, si possible de manière simultanée, alors il est probable que de tels NDs puissent avoir rapidement des applications cliniques.

Conclusion Générale

L'utilisation de nanodiamants pourrait permettre d'améliorer les traitements actuels en médecine, notamment en oncologie. Grâce à leur taille nanométrique, les nanodiamants peuvent s'accumuler naturellement dans les tumeurs par ciblage passif ou actif. Ils présentent une toxicité extrêmement faible comparativement aux autres nanoparticules inorganiques. La délivrance de médicaments, que ce soit des molécules anticancéreuses ou des brins d'ARN interférant, est particulièrement efficace avec des nanodiamants et fait actuellement l'objet de nombreuses études *in vitro* et *in vivo*. A l'échelle nanométrique, la chimie de surface joue un rôle prépondérant sur les propriétés des nanoparticules, pourtant dans le cas des nanodiamants, son impact sur leurs propriétés reste encore très méconnu. Dans ce travail de thèse, j'ai montré qu'**un contrôle efficace de la chimie de surface des nanodiamants pourrait ouvrir de nouvelles perspectives pour leur utilisation en nanomédecine**. Notamment j'ai pu observer que des traitements de surface particuliers, développés pendant ce travail, permettent de faciliter les échanges électroniques entre le cœur des nanodiamants et leur environnement, ce qui pourrait donner aux nanodiamants des propriétés thérapeutiques particulièrement intéressantes.

Pour arriver à ces conclusions, j'ai étudié le rôle de la chimie de surface des nanodiamants dans leurs interactions avec leur environnement. Cette chimie de surface et son influence sur les propriétés des nanodiamants ont été caractérisées méthodiquement d'abord sous vide, puis à l'air ambiant avant de passer en suspension dans l'eau et finalement dans des cellules tumorales humaines. L'utilisation de techniques complémentaires m'a donné une vue d'ensemble du rôle de la chimie de surface sur les propriétés d'interactions électroniques des nanodiamants. Cela m'a permis de définir progressivement des utilisations en oncologie pour lesquelles les nanodiamants avec une chimie de surface contrôlée pourraient être particulièrement efficaces. L'idée de départ était que **la surface des nanodiamants pourrait servir d'interface pour faciliter les échanges électroniques entre le cœur diamant et le milieu cellulaire**. Le diamant massif hydrogéné et le graphène possédant des propriétés uniques vis-à-vis de ces échanges électroniques, le **développement de traitements d'hydrogénation et de graphitisation de surface sur les nanodiamants** a paru judicieux.

En partant d'analyses sous ultravide, j'ai pu déterminer les conditions optimales pour effectuer ces traitements de surface. Dans ce but, un appareillage original permettant la caractérisation des modifications de surface des nanodiamants *in situ* sous ultravide par des méthodes de spectroscopie d'électrons a été utilisé. Pour l'hydrogénation, des traitements par **plasmas d'hydrogène générés par micro-ondes** ont été mis au point. Il a été possible de montrer que **les traitements d'hydrogénation sont particulièrement efficaces à des températures supérieures à 700°C et permettent d'éliminer totalement l'oxygène présent à la surface des nanodiamants tout en gravant le carbone non-diamant**. Au niveau de la graphitisation de surface, ce sont des **recuits sous vide à haute température** qui ont été choisis. **L'utilisation de températures de recuit comprises entre 700 et 900°C est nécessaire pour graphitiser efficacement la surface sans modifier le cœur des nanodiamants**. Dans cette gamme de température, les défauts de surfaces se réorganisent pour former des reconstructions fulleréniques tandis que la matrice diamant n'est pas modifiée comme observé par HR-TEM. Ces conditions expérimentales ont ensuite été transférées sur d'autres dispositifs expérimentaux afin de traiter des quantités importantes de nanodiamants sous forme pulvérulente avec succès.

Les interactions entre ces nanodiamants modifiés et leur environnement après exposition à l'air ont ensuite été étudiées. Cela a notamment permis de montrer que **les nanodiamants hydrogénés et graphitisés présentent une forte affinité pour les molécules d'eau**. Ce résultat était difficilement prévisible étant donné qu'à l'échelle macroscopique, ces surfaces ont des propriétés d'hydrophobicité bien connues. **Pour les nanodiamants hydrogénés, l'exposition à l'air induit un transfert de charge induisant la formation d'une couche dopée de type p en surface**. Cette propriété est cette fois partagée avec le diamant massif hydrogéné, même si les niveaux d'énergies électroniques sont sans doute différents du matériau macroscopique. Les capacités des nanodiamants à stocker ou échanger des charges avec leur environnement ont aussi pu être mises en évidence par microscopie à sonde de Kelvin. **Au niveau de ces transferts de charges, le rôle de la chimie de surface domine sur les propriétés de cœur, ce qui est illustré par l'absence d'un potentiel électrostatique absolu caractéristique des nanodiamants**. De plus, la relation linéaire entre la taille des agrégats de nanodiamants et le potentiel relatif par rapport au substrat dépend de la chimie de surface. On peut en déduire que les nanodiamants graphitisés présentent de meilleures propriétés de stockage de charges que les autres nanodiamants. Ces résultats montrent encore une fois les différences observées entre les nanodiamants et les films de diamant macroscopiques.

Les nanodiamants ont ensuite été dispersés dans l'eau et je me suis intéressé au rôle de la chimie de surface sur leurs propriétés colloïdales. En particulier, **les nanodiamants hydrogénés ou graphitisés ont un potentiel Zeta positif**, dont l'origine est différente. D'après les résultats expérimentaux obtenus, **un modèle d'échanges électrochimiques à la surface des nanodiamants hydrogénés** a été proposé pour expliquer l'origine des charges positives. Pour les nanodiamants graphitisés, **l'adsorption d'oxygène sur les reconstructions fulleréniques** pourrait expliquer la présence de charges positives dans l'eau. Outre l'assurance d'une bonne stabilité colloïdale, le contrôle du potentiel Zeta positif permettrait de faire de la vectorisation d'acides nucléiques avec ces nanodiamants en facilitant l'adsorption électrostatique des brins d'ADN ou d'ARN directement à leur surface.

Les nanodiamants modifiés ont finalement été exposés à des cellules humaines tumorales. Cela a permis d'évaluer le rôle de la chimie de surface sur la cytotoxicité des nanodiamants *in vitro*. Dans certains cas, une toxicité a été observée mais uniquement à des concentrations extrêmement élevées par rapport à d'autres types de nanoparticules. **Cette toxicité dépend de la chimie de surface des nanodiamants, de leur concentration mais aussi de la lignée cellulaire considérée.** En m'appuyant sur les résultats présentés précédemment, j'ai proposé une nouvelle utilisation des nanodiamants en cancérologie, qui a fait l'objet d'une demande de brevet : **les nanodiamants peuvent être utilisés en tant que radiosensibilisant, permettant d'amplifier localement la génération de radicaux libres sous radiation ionisante.** Brièvement, le cœur du nanodiamant absorbe efficacement les radiations du fait de la concentration d'atomes de carbone très élevée, et émet des électrons secondaires à l'entourage du nanodiamant. Le transfert d'électrons à des molécules oxygénées induit la génération de dérivés réactifs de l'oxygène qui peuvent conduire à la mort cellulaire par stress oxydatif. **Cet effet radiosensibilisant devrait être particulièrement efficace pour les nanodiamants hydrogénés et graphitisés, pour lesquels les transferts d'électrons aux molécules adsorbées sont facilités.** Une preuve de concept sous irradiation γ sur des cellules tumorales humaines radiorésistantes a montré l'efficacité de cette approche. L'efficacité du traitement semble accrue avec des nanodiamants hydrogénés par rapport à ceux ayant une surface oxydée, montrant que la chimie de surface joue effectivement un rôle important pour ce type d'application.

Les résultats de cette thèse ouvrent de très nombreuses perspectives pour les nanodiamants de détonation, en nanomédecine mais aussi dans d'autres domaines. Les traitements d'hydrogénation et de graphitisation de surface induisent la formation d'une couche conductrice en surface qui pourrait permettre le développement de nouvelles applications en électronique par exemple. Les nanodiamants ayant suivi ces traitements pourraient

aussi présenter des propriétés électrochimiques particulières, qui restent encore à étudier. Au niveau des applications en nanomédecine, considérer les nanodiamants comme des nanoparticules activables, pouvant induire une toxicité ciblée par l'interaction avec un champ extérieur, permet d'ouvrir de nouveaux champs d'investigation. Pour ces applications, les nanodiamants susceptibles d'interagir fortement avec leur environnement, comme les nanodiamants hydrogénés et graphitisés, seront *a priori* les plus prometteurs. Un exemple utilisant une irradiation γ a été présenté dans le cadre de cette thèse mais il serait intéressant d'étudier également la réponse des nanodiamants sous un rayonnement de photons X ou d'ions accélérés. On pourrait aussi imaginer des applications d'hyperthermie en utilisant des nanodiamants graphitisés excités dans le proche infrarouge, puisque leur chimie de surface est assez proche des oxydes de graphène réagissant fortement à ce type d'excitation. **L'étape suivante serait bien évidemment l'utilisation de ces propriétés thérapeutiques associées aux propriétés de diagnostic et de délivrance de médicaments. Si les nanodiamants pouvaient se montrer efficaces dans ces trois paradigmes majeurs de la nanomédecine en parallèle, alors ils apporteraient une véritable valeur ajoutée par rapport aux autres types de nanoparticules, organiques ou inorganiques.** Enfin, si l'efficacité de ces traitements pouvait être démontrée *in vivo*, alors le développement d'études cliniques pourrait être envisagé à moyen terme.

Chapitre 7

Bien curieuses propriétés des nanodiamants hydrogénés ...

Sommaire

7.1	Transition Hydrophobe/Hydrophile des nanodiamants hydrogénés	186
7.2	Auto-assemblage électrostatique de nanodiamants hydrogénés	188
7.2.1	Auto-assemblage électrostatique de nanoparticules : Principe physique	188
7.2.2	Effet de la concentration en contre-ions sur l'auto-assemblage des nanodiamants hydrogénés en solution	191
7.2.3	Rôle des contre-ions	192
7.2.4	Nature des structures auto-assemblées	194
7.2.5	Bilan	196
7.3	Mésocristallisation des agrégats de nanodiamants hydrogénés	198
7.4	Conclusion	201



Introduction

Cette partie présente des résultats expérimentaux étonnants qui ne sont pas directement liés au sujet de cette thèse, mais qui illustrent de nouvelles propriétés basées sur les propriétés colloïdales des nanodiamants (NDs) de détonation modifiés. Les expériences présentées ici ont uniquement été réalisées avec des NDs-H mais il est possible que des propriétés similaires puissent aussi être observées sur les autres NDs ayant un potentiel zêta (PZ) positif comme les NDs-FLRs. Les hypothèses proposées dans cette partie n'ont pas toujours pu être vérifiées, c'est pourquoi ces résultats doivent plutôt être considérés comme des ouvertures sur de nouvelles propriétés des NDs, qui pourront être étudiées dans le futur pour développer de nouveaux matériaux nanostructurés à base de NDs.

En particulier, le but de cette partie est de proposer une explication à une observation surprenante faite pendant une titration de NDs-H à pH acide. Après ajout d'environ 10 ml d'acide chlorhydrique (HCl) à 0.1 M dans 5 ml d'une solution de NDs-H à 0.4 mg/ml, **la formation d'un parallélépipède de taille millimétrique** a été observée, flottant à la surface de la solution accroché à une bulle d'air (Figure 7.1). En parallèle, la couleur de la solution s'est éclaircie, montrant que les NDs-H se sont regroupés dans cette structure parallélépipédique. Le pH mesuré était de 2.7 seulement, alors qu'il aurait dû être de 1.2 environ étant donnée la quantité de HCl ajoutée dans la solution.

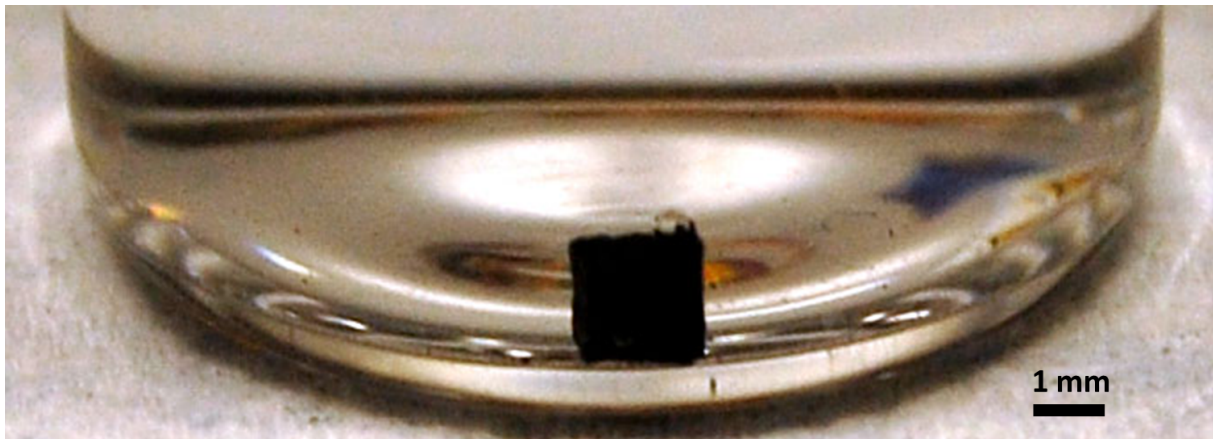


FIGURE 7.1 – *Parallélépipède de $1.73 \times 1.73 \times 0.8 \text{mm}^3$ formé après ajout de HCl dans une dispersion de NDs-H dans l'eau.*

Cette observation fait penser à un **phénomène d'auto-assemblage, au cours duquel les NDs s'assemblent de manière organisée afin de former une structure mésoscopique stable**. Cela est très différent d'un phénomène d'agrégation simple, qui ne donne pas lieu à des structures orientées de cette dimension. L'auto-assemblage de

nanoparticules (NPs) est un domaine en pleine expansion qui permet d'envisager la fabrication de nouveaux matériaux en contrôlant leur assemblage [283]. La forme de ces assemblages est contrôlée par la modulation d'interactions qui peuvent avoir différentes natures entre les NPs. Pourtant, à notre connaissance, aucun des mécanismes ayant été reportés dans la littérature ne mentionne la formation de structures organisées ayant des dimensions millimétriques et ayant lieu en solution, que ce soit avec des NDs ou avec d'autres NPs. Des structures organisées de taille micrométrique formées à partir de fullères et résultant d'interactions hydrophobes ont tout de même été observées [284, 285].

Afin de pouvoir expliquer la formation de cette structure, il faut s'intéresser aux limites de la stabilisation colloïdale des NDs-H, c'est-à-dire à l'origine des forces qui peuvent induire l'agrégation des NDs. Cette agrégation pourrait être induite par une transition hydrophile/hydrophobe des NDs comme il va être proposé dans la partie 7.1. Nous verrons ensuite dans la partie 7.2 comment les modulations des interactions électrostatiques entre les NDs pourraient conduire à cet auto-assemblage. Enfin, la formation de cristaux de taille millimétrique passe probablement par la mésocristallisation d'agrégats de tailles plus petite, ce qui sera introduit dans la partie 7.3.

7.1 Transition Hydrophobe/Hydrophile des nanodiamants hydrogénés

Dans cette thèse, nous avons observé que les NDs-H ont une forte affinité pour les molécules d'eau et qu'ils peuvent être stabilisés efficacement en suspension dans l'eau. Pourtant, les surfaces de diamant massif hydrogéné sont hydrophobes d'après les propriétés de mouillage observées sur ces matériaux [223, 286]. Cette hydrophobicité a été surmontée en assurant un potentiel zêta positif comme expliqué dans le chapitre 5. Il a en effet été montré qu'une charge électrostatique positive suffisante pouvait induire une **transition hydrophobe/hydrophile** [287].

Pourtant, dans certains cas, des comportements hydrophobes sont observés sur les NDs-H. Par exemple, l'ajout d'eau sur quelques milligrammes de NDs-H sans sonification induit la formation de bulles d'air comme montré sur la figure 7.2. La formation de ces bulles pourrait être liée à un effet d'exclusion des molécules d'eau due à l'hydrophobicité de la surface des NDs. La formation de bulles n'a jamais été observée avec des NDs-COOH qui ont une surface oxydée, connue pour être hydrophile sur le diamant massif [286].

L'hydrophobicité des surfaces de diamant hydrogénées se traduit à l'échelle moléculaire



FIGURE 7.2 – Formation de bulles d'air après ajout d'eau sur des NDs-H.

laire par une densité plus faible des molécules d'eau à la surface par rapport aux surfaces oxydées hydrophiles [226]. Une couche de déplétion d'eau entre le diamant hydrogéné et l'eau a d'ailleurs été observée expérimentalement par Dankerl *et al* [288]. En revanche, après sonification, les effets d'hydrophobicité semblent disparaître puisque les NDs-H restent stables dans l'eau. Il est probable qu'en séparant les NDs-H par l'action mécanique des ultrasons, les échanges électrochimiques entre les NDs-H et l'oxygène dissous présentés dans la partie 5.2 soient facilités et permettent de franchir la transition hydrophobe/hydrophile des NDs-H par une augmentation de la charge de surface.

En revanche, **des NDs HPHT de 20 ou 50 nm ayant suivi des traitements d'hydrogénation similaires ne peuvent pas être remis en suspension même après sonification.** Dans ce cas, la transition hydrophobe/hydrophile n'est pas franchie. Cela aurait tendance à montrer qu'il y a un effet important de la taille des NDs dans cette stabilisation. Cela pourrait par exemple être lié à une orientation différente des molécules d'eau à la surface des NDs de 5 nm facilitant leur stabilité. L'organisation des liaisons hydrogènes entre les molécules d'eau change en effet en fonction de la taille des solutés hydrophobes. Ces propriétés ont été largement étudiées pour essayer d'expliquer l'auto-organisation de protéines en complexes protéiques dans les cellules [289]. Pour les NDs, la différence d'organisation des molécules d'eau en fonction de la taille a déjà été observée, et permet par exemple de déterminer la taille des NDs par calorimétrie [227]. D'après

Pascal *et al*, cette organisation des molécules d'eau joue aussi un rôle dans la transition hydrophobe/hydrophile en plus de la présence de charges positives [287]. Williams *et al* ont aussi observé que seulement les NDs de détonation pouvaient être stabilisés après un recuit sous hydrogène, ce qui pourrait être expliqué par le même phénomène [86]. Le graphène ayant des propriétés d'hydrophobicité similaire à celles du diamant hydrogéné, il ne serait pas étonnant d'observer des résultats équivalents avec des NDs de détonation faiblement graphitisés en surface (NDs-FLRs).

Il est donc probable qu'**une orientation particulière des molécules d'eau sur des NDs de détonation ayant une surface initialement hydrophobe, associée à une charge de surface importante, permette d'assurer la stabilité colloïdale de ces NDs**. La transition hydrophobe/hydrophile a *a priori* lieu après sonification dans l'eau, et n'est observée que pour les NDs de détonation, ce qui laisse penser qu'un effet de taille entre en jeu.

7.2 Auto-assemblage électrostatique de nanodiamants hydrogénés

Quelques études ont montré l'apparition de structures organisées à partir de NDs, mais l'origine des forces reste indéterminée, ce qui implique que l'auto-assemblage est difficilement contrôlable [290, 291]. Des études théoriques ont montré que des interactions coulombiennes entre les facettes des NDs pouvaient entrer en jeu et permettre leur auto-assemblage [292, 220]. Cela a été validé expérimentalement sur des agrégats de quelques NDs (<10) [293], mais l'auto-assemblage de structures organisées dépassant la centaine de nanomètres n'a encore jamais été démontré. Nous allons montrer maintenant que cet auto-assemblage peut être contrôlé en utilisant les propriétés électrostatiques des NDs-H décrites précédemment, ce qui pourrait expliquer la formation de la structure auto-assemblée présentée sur la figure 7.1.

7.2.1 Auto-assemblage électrostatique de nanoparticules : Principe physique

Les interactions électrostatiques sont couramment utilisées pour contrôler l'auto-assemblage de NPs [294, 295, 296]. La charge opposée entre deux types de NPs induit une force attractive qui permet la formation de structures auto-assemblées pouvant avoir des formes variées en fonction des NPs utilisées, de leur concentration ou de leur charge par exemple. Pourtant, la possibilité d'induire des **forces attractives entre deux NPs ayant la même charge** est un phénomène beaucoup plus controversé. La force électrostatique

entre deux NPs de même charge dispersées dans un solvant pur sera bien évidemment répulsive. Cependant, la présence de contre-ions dans la solution peut complexifier le problème. De nombreuses études ont proposé que des forces électrostatiques attractives pouvaient exister entre deux colloïdes ayant la même charge, provenant de fluctuations de charges dans les colloïdes [297] ou les contre-ions [298]. Des effets de surcharge ou d'inversion de charge dus à l'adsorption de contre-ions [299, 300] et des effets de polarisation des colloïdes [301, 302] ont aussi été proposés. Pourtant l'effet dominant dans ces interactions est sans doute l'effet de **déplétion coulombienne**, proposé par Allahyarov *et al* qui va maintenant être détaillé [303].

Les contre-ions, qui ont une charge opposée aux NPs vont s'adsorber sur leur surface afin d'équilibrer la charge globale du système (Figure 7.3 (a)). Dans le cas de deux NPs très proches, les interactions coulombiennes entre les contre-ions présents sur chaque NP doivent aussi être prises en compte. Ainsi, il peut y avoir une répulsion coulombienne entre ces contre-ions qui va générer l'apparition d'une zone de déplétion entre les deux NPs, dans laquelle la concentration en contre-ions sera inférieure au reste de la surface. Les contre-ions vont se répartir différemment à la surface des NPs, induisant une nouvelle répartition des charges. Cela va conduire à une modification de l'interaction coulombienne entre les deux NPs, pouvant aller jusqu'à l'apparition de forces attractives quand la force moyenne induite par toutes les charges d'un complexe NP/contre-ions est plus importante que la force répulsive entre les deux NPs (Figure 7.3 (b)). Ces forces attractives sont appelées forces de déplétion coulombienne, et peuvent générer l'agrégation de NPs ayant la même charge. Il est important de noter que la somme des forces du système complet, comprenant les deux NPs et leurs contre-ions dans le cas présenté ici, doit rester nulle afin d'assurer la stabilité de la structure. Bien évidemment, le problème est plus complexe quand le nombre de NPs augmente, et il devient alors difficile de prédire la répartition des contre-ions sur chaque NP.

Afin d'observer l'apparition de ces forces, plusieurs conditions doivent être réunies. Tout d'abord, il doit y avoir un couplage coulombien fort entre les NPs et les contre-ions, ce qui nécessite des NPs ayant une densité de charge élevée et des contre-ions fortement adsorbés sur leur surface. La nature des contre-ions joue aussi un rôle prépondérant et les paramètres tels que leur valence [304], leur taille ou leur nature [305] peuvent modifier considérablement les phénomènes d'agrégation. De plus, il faut que les concentrations en nanoparticules et contre-ions soient suffisantes pour que les zones de déplétion puissent être formées. Enfin, le caractère hydrophile/hydrophobe de la surface joue un rôle sur les interactions entre les NPs et les contre-ions, notamment l'agrégation est facilitée avec les surfaces considérées comme hydrophobes [305, 300]. Il faut noter que ce phénomène de déplétion coulombienne est difficile à prouver expérimentalement et que la plupart des résultats cités précédemment sont basés sur des prédictions théoriques ou des simulations.

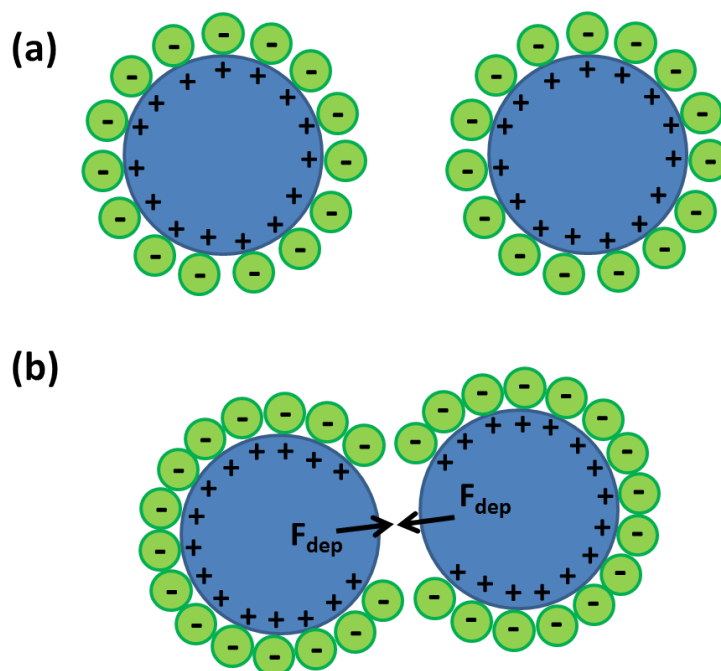


FIGURE 7.3 – (a) Adsorption de contre-ions (vert) sur les nanoparticules (bleu) pour assurer l'équilibre électrostatique. (b) Apparition des forces de déplétion (F_{dep}) quand les nanoparticules sont très proches suite à la réorganisation des contre-ions.

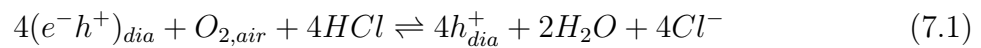
Les NDs hydrogénés possèdent *a priori* toutes les propriétés permettant cette agrégation par déplétion coulombienne :

- ils sont **stables en suspension dans l'eau** (voir 5.1),
- ils ont une **charge de surface positive élevée**, qui est induite par transfert de charge en surface (voir 5.2),
- ils possèdent une **forte capacité d'adsorption et une grande surface spécifique** (voir 4.2),
- ils peuvent avoir un **comportement hydrophobe** dans certains cas (voir 7.1).

On peut penser qu'en réduisant les effets de la stabilisation électrostatique, par exemple par l'adsorption de contre-ions à la surface des NDs-H, il serait possible de franchir la transition hydrophile/hydrophobe afin de faciliter l'agrégation des NDs-H. Ce paradoxe de NPs ayant une surface chargée et pouvant devenir hydrophobes est particulièrement intéressant pour ces études d'agrégation par déplétion coulombienne.

7.2.2 Effet de la concentration en contre-ions sur l'auto-assemblage des nanodiamants hydrogénés en solution

L'agrégation contrôlée des NDs-H va être induite par l'ajout d'acide dans la solution. L'intérêt d'utiliser l'acide chlorhydrique (HCl) est double. D'un côté, cela permet d'introduire des contre-ions chlorure Cl^- qui vont pouvoir s'adsorber sur les NDs-H chargés positivement. D'un autre côté, cela permet aussi d'augmenter la charge positive des NDs-H en modifiant l'équilibre électrochimique dans la solution. Cet équilibre est assuré dans l'eau par la présence de CO_2 dissous comme discuté précédemment (voir 5.2). En ajoutant de l'acide chlorhydrique, qui a une acidité beaucoup plus forte, l'équilibre 5.3 va être remplacé par :



L'accumulation de trous en surface de la particule augmentera progressivement avec l'ajout de HCl (diminution du pH). En parallèle, ces trous vont progressivement être compensés par l'adsorption des contre-ions Cl^- , le système global restant donc à charge constante. En revanche, **l'augmentation de la force ionique induite par l'ajout de contre-ions devrait faire baisser le PZ**. A partir d'une concentration critique, les phénomènes de déplétion coulombienne décrits précédemment sont susceptibles d'entrer en jeu.

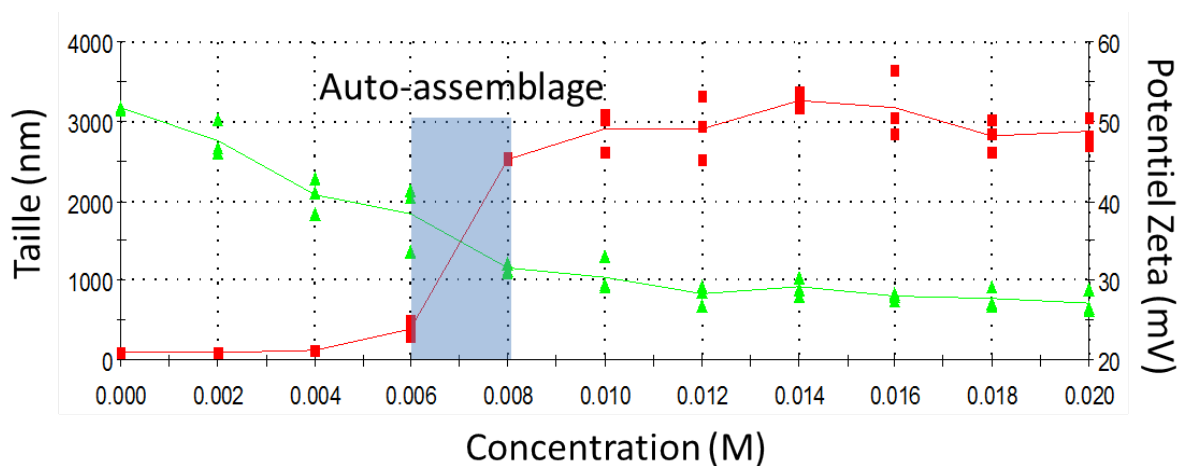


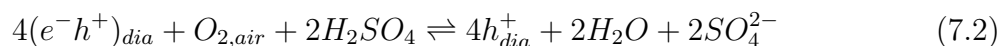
FIGURE 7.4 – Titration de NDs-H dans l'eau à une concentration de 0.8 mg/ml en fonction de la concentration en HCl ajoutée. Le potentiel zéta est indiqué en vert et la taille moyenne des agrégats en rouge.

L'agrégation des NDs-H a été suivie directement par DLS en mesurant le PZ et la taille des objets en suspension pendant une titration avec HCl d'une solution de NDs-H (Figure

7.4). Une solution de NDs-H concentrée à 0.8 mg/ml ayant initialement un PZ de + 52 mV à pH = 5.9 a été utilisée. La taille initiale des agrégats est de 30 nm. Après augmentation de la concentration en HCl, le PZ diminue progressivement jusqu'à se stabiliser entre + 25 et + 30 mV pour une concentration en HCl de 10 mM. Il faut aussi mentionner que le pH se stabilise à 3.7 à la concentration de 4 mM en HCl, indiquant que les protons apportés par l'addition de HCl sont directement consommés dans la réaction 7.1 à partir de ce pH. En parallèle, on observe une nette augmentation de la taille des agrégats, notamment entre 6 et 8 mM de HCl, pour atteindre une taille moyenne de 3 μm à partir de 10 mM en HCl. Il faut noter que ce diamètre mesuré est proche de la limite de taille des objets pouvant être étudiés par DLS, ce qui peut expliquer pourquoi la taille semble se stabiliser à cette valeur. En effet, dans la majorité des cas, nous avons observé par microscopie électronique à balayage (SEM) la présence d'agrégats de taille bien supérieure comme présenté ultérieurement (voir 7.6). Une structure ayant une taille millimétrique flottant dans la solution à la fin de la titration a même été observée à plusieurs reprises. Cette agrégation pourrait être expliquée par l'apparition de forces de déplétion décrites précédemment. **Pendant l'ajout de HCl, les contre-ions Cl^- s'adsorbent sur la surface des NDs-H pour compenser la charge de surface. Pourtant, à partir d'une certaine concentration en Cl^- , ces contre-ions se réorganisent sur la surface, générant les forces de déplétion. L'agrégation des NDs-H est alors initiée afin de garder une charge globale nulle dans la solution.**

7.2.3 Rôle des contre-ions

Le rôle des contre-ions a aussi été étudié en changeant l'acide utilisé pour la titration. Notamment, si l'agrégation est bien liée à des phénomènes électrostatiques, l'utilisation de contre-ions ayant une valence plus élevée que les Cl^- devrait impliquer une agrégation plus rapide des NDs-H [304]. C'est pourquoi l'acide sulfurique (H_2SO_4) a été utilisé, mettant en jeu des contre-ions sulfates (SO_4^{2-}) qui sont divalents. L'équilibre électrochimique s'effectuant avec les NDs-H sera :



Cet équilibre met en jeu deux fois moins de molécules d'acide sulfurique que l'équilibre avec l'acide chlorhydrique pour la création du même nombre de trous dans les NDs. On peut donc s'attendre à une modification de la charge de surface plus forte et à un phénomène d'agrégation plus marqué. De la même manière que précédemment, l'ajout d'acide implique une baisse de PZ et une augmentation de la taille des agrégats (Figure 7.5). Pourtant, ces effets sont largement amplifiés par rapport au cas précédent, et l'augmentation importante de la taille a lieu à une concentration comprise entre 2 et 4 mM. Cette concentration critique est deux fois moins importante que celle observée pour le

HCl, comprise entre 6 et 8 mM, indiquant que la valence des ions est en effet un point important pour contrôler l'agrégation.

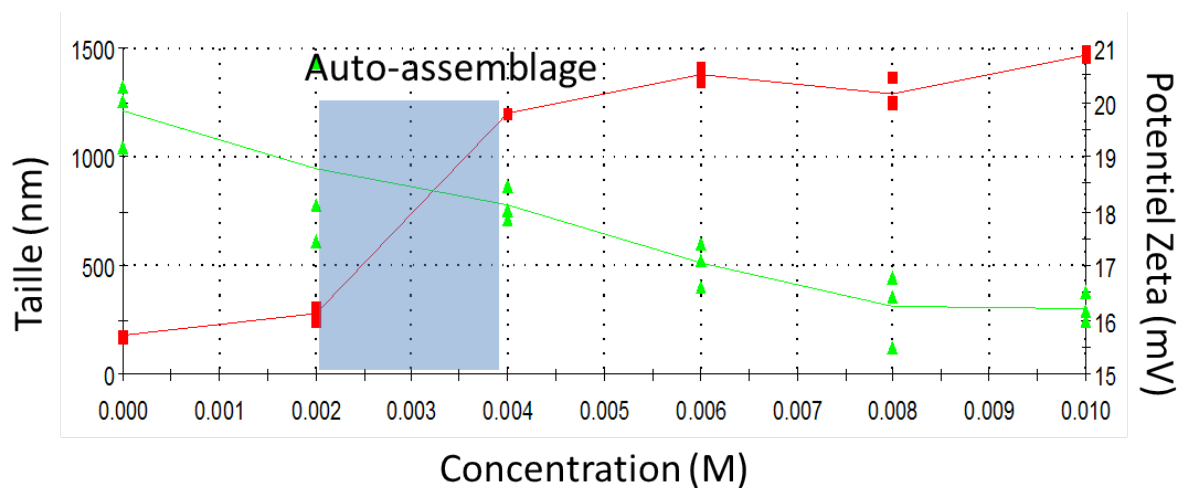


FIGURE 7.5 – Titration de NDs-H dans l'eau à une concentration de 0.8 mg/ml en fonction de la concentration en H_2SO_4 ajoutée. Le potentiel zêta est indiqué en vert et la taille moyenne des agrégats en rouge.

7.2.4 Nature des structures auto-assemblées

Les mesures DLS permettent de valider que la formation des agrégats de NDs-H a lieu en solution, pourtant elles donnent peu d'informations sur leur nature. Même les valeurs mesurées pour la taille doivent être prises avec précaution puisqu'au-delà d'une certaine taille, la mesure par DLS n'est plus fiable (voir 2.3.3). De plus, le modèle utilisé par le logiciel de traitement des mesures d'autocorrélation suppose que les objets en solution sont de forme sphérique, ce qui n'est ici pas le cas. Les agrégats obtenus par cette méthode ont en effet des structures très organisées, qui ont été observées par SEM. Pour cela, des gouttes de la solution ont été déposées sur un substrat de silicium et ont été observées après séchage. Commençons par décrire les formes des agrégats obtenus après addition de HCl.

En fonction du volume de HCl ajouté dans la solution, différentes formes ont été observées. Dans un premier temps, des **sphères d'un diamètre de 250-300 nm** ont été observées (Figure 7.6 (a)). Ces sphères sont probablement constituées d'agrégats de plusieurs dizaines de NDs-H enrobés d'une matrice de contre-ions donnant cet aspect polymérique à la surface des sphères. On observe une tendance à l'agrégation de ces sphères entre elles.

Curieusement, à une concentration plus élevée des **formes parallélépipédiques ou cubiques de plusieurs microns de large** sont apparues (Figure 7.6 (b) et (c)). La surface de ces structures est très lisse et réagit sous faisceau électronique comme il sera montré ultérieurement, montrant qu'il ne s'agit pas uniquement de NDs. Sur la figure 7.6 (c) on observe une structure pyramidale en surface, qui laisse penser qu'un phénomène de cristallisation a lieu.

Enfin, après ajout d'une grande quantité de HCl (environ 20 ml à 0.1 M dans 6 ml de solution de NDs à 0.8 mg/ml), nous avons observé la formation de **structures allongées ou parallélépipédiques de taille millimétrique** dans la solution, qui était devenue claire, impliquant que les NDs-H faisaient partie intégrante de ces structures. Cela est aussi en accord avec la couleur noire des structures visibles à l'œil nu, qui est similaire à celle des NDs sous forme pulvérulente. Ces structures étaient stables, même en dehors de la solution, et ont pu être prélevées et manipulées avec une pince.

Il est difficile d'attribuer la formation des différentes structures observées à une concentration précise. En effet, il est probable que l'auto-assemblage se produise dès l'ajout de quelques gouttes de HCl à 0.1 M à la solution, quand la concentration n'est pas encore totalement homogène. Curieusement, l'utilisation d'une concentration initiale en HCl plus

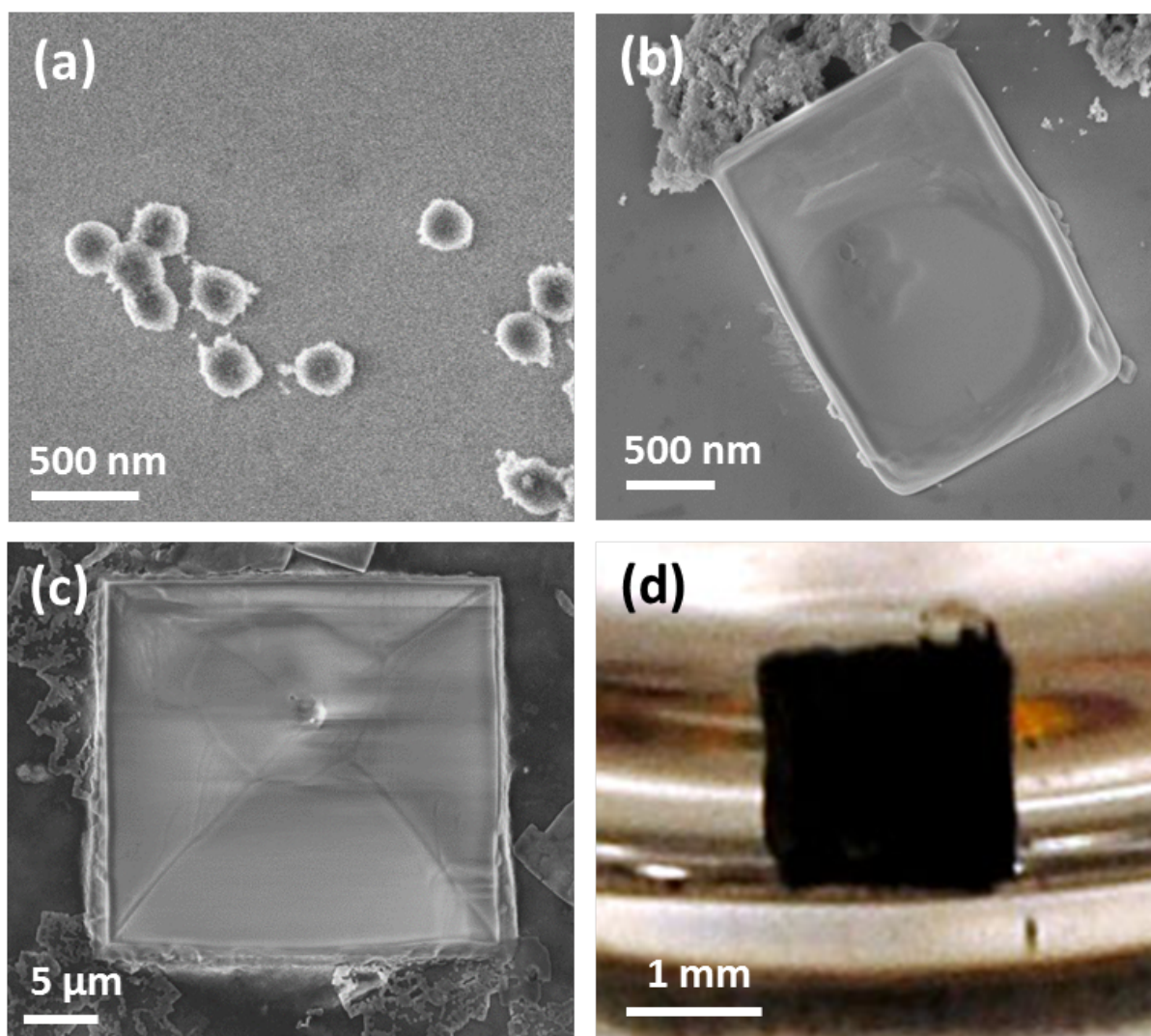


FIGURE 7.6 – Clichés SEM des différents stades de l'auto-assemblage des NDs-H dans l'eau après addition de HCl.

élevée (0.2 M) n'a pas conduit à la formation de structures auto-assemblées même si la concentration finale de HCl était équivalente. Il y a sans doute une optimisation possible des conditions d'incorporation de HCl (concentration, volume, ...) pour induire l'auto-assemblage de manière plus reproductible et contrôlée.

Ces structures auto-assemblées sont vraiment étonnantes et très peu de données s'en rapprochant ont été trouvées dans la littérature. Il faut tout de même mentionner l'observation par Terranova *et al* d'assemblages rectangulaires de NDs de quelques dizaines de nanomètres même si leur origine n'est pas discutée [291]. Les auteurs ont montré que ces structures rectangulaires étaient constituées de nanocristaux orientés de "**diamant n**", qui serait un allotrope du carbone ayant une maille cubique faces centrées [306, 307]. La nature, la stabilité et les méthodes de synthèse de ce matériau sont encore très peu

connues [308]. Quelques études ont montré que le diamant n serait stabilisé par la présence d'hydrogène [309, 310] et a déjà été observé après exposition de surface de diamant à des plasmas d'hydrogène générés par micro-ondes [311]. Il est donc possible que les NDs ayant été hydrogénés par plasma d'hydrogène aient aussi ces propriétés.

La nature chimique de ces structures auto-assemblées est actuellement en cours d'étude. Notamment la quantité de NDs à l'intérieur de ces structures cubiques micrométriques reste à déterminer. **Après une exposition prolongée au faisceau d'électrons du SEM, nous avons observé une dégradation rapide des structures auto-assemblées** (Figure 7.7). Notamment dans l'image du bas où le faisceau a été déplacé sur une partie précise du parallélépipède, la destruction de la structure est bien visible. Sous faisceau, il est probable qu'une partie des ions Cl^- , les plus faiblement liés, soient désorbés suite à l'élévation de température, ce qui induit une décomposition de la structure auto-assemblée. Une analyse chimique en profondeur, par exemple par spectroscopie Raman, permettrait peut-être de valider la signature chimique du carbone diamant des NDs dans ces structures.

Enfin la valence des contre-ions semble jouer un rôle important sur la forme des structures auto-assemblées. Au lieu d'obtenir des formes cubiques, de long cylindres ont été obtenus après addition de H_2SO_4 (Figure 7.8). Ces cylindres ont l'air d'être constitués d'assemblages de structures primaires, ayant une forme plus complexe que les cubes observés pour le cas précédent (Figure 7.8). En jouant sur la nature et la valence des contre-ions il semble donc possible de modifier la forme des structures auto-assemblées.

7.2.5 Bilan

Au stade actuel, il est difficile d'expliquer le rôle des contre-ions sur la forme des structures auto-assemblées, mais nos observations montrent que leur valence est un paramètre important. Le rôle des variations de charge électrostatique entre différentes facettes des NDs sur les interactions coulombiennes entre les NDs, tel qu'il a été proposé par Barnard *et al* [292, 220], n'est pas évident à estimer. On peut pourtant considérer que ces auto-assemblages sont principalement d'origine électrostatique et peuvent être contrôlés en ajoutant progressivement des contre-ions dans la solution. La valence de ces contre-ions peut être modifiée pour varier la forme des structures auto-assemblées.

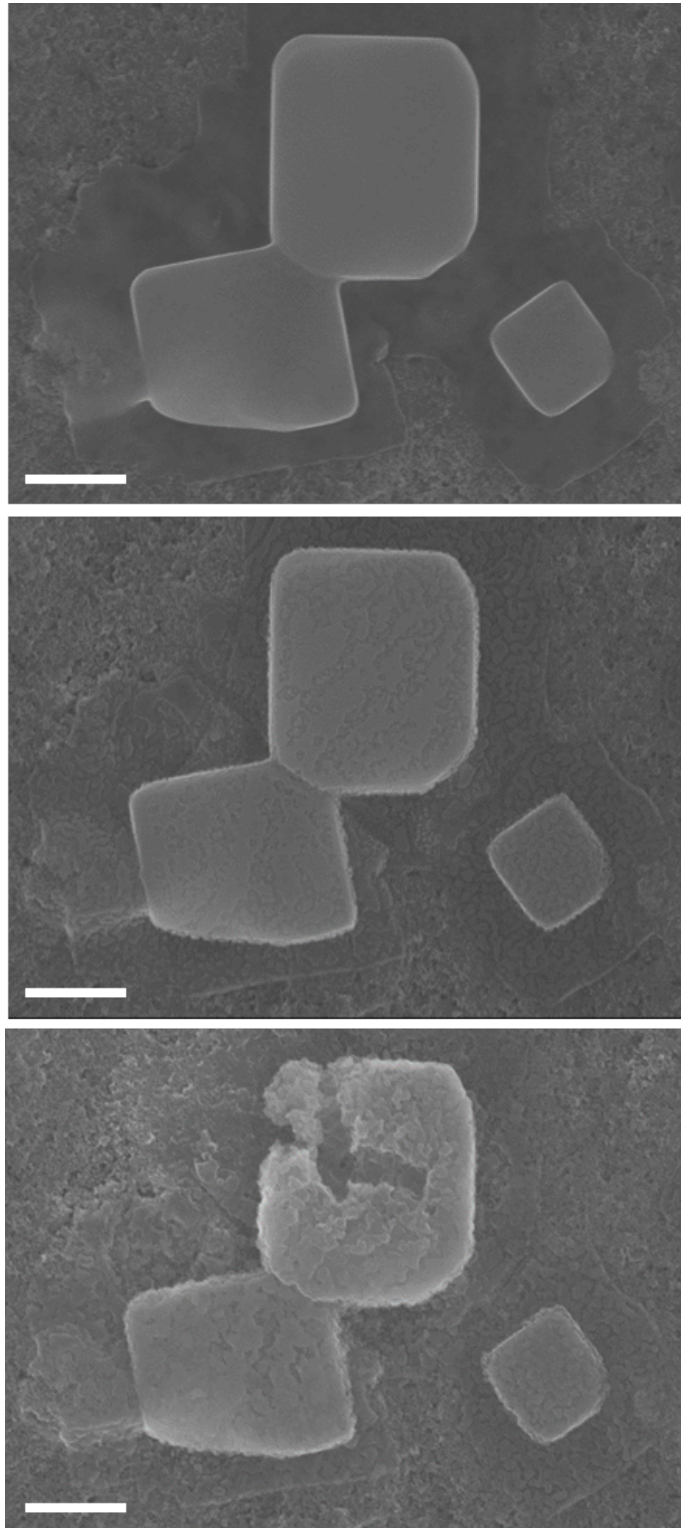


FIGURE 7.7 – Clichés SEM de structures auto-assemblées à une concentration de 8 mM de HCl après différents temps d'exposition au faisceau d'électron à 20 kV. La barre d'échelle est de 200 nm.

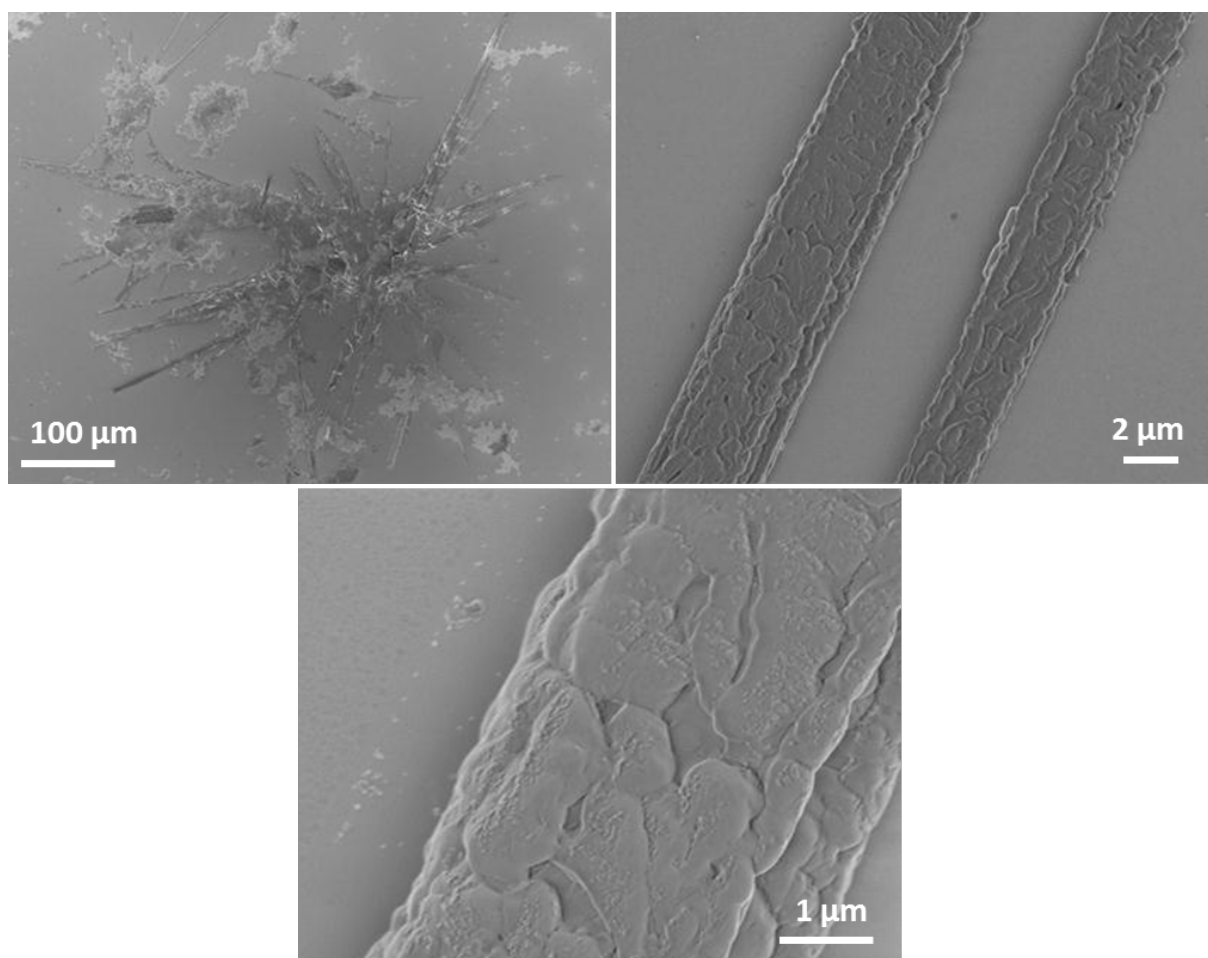


FIGURE 7.8 – Clichés SEM des structures auto-assemblées observées après ajout de H_2SO_4 dans une solution de NDs-H.

7.3 Mésocristallisation des agrégats de nanodiamants hydrogénés

Après avoir montré ces résultats expérimentaux, il est intéressant de proposer quelques pistes sur le mécanisme induisant la formation des structures mésoscopiques auto-assemblées. Par rapport à la littérature, cet auto-assemblage des cubes primaires se rapproche de ce qui est appelé la **mésocristallisation** [312, 313]. Pour la cristallisation classique, des clusters de nucléation s'assemblent en un monocristal qui croît progressivement par ajout de matière par un phénomène d'amplification. Pour la mésocristallisation, il y a en fait deux étapes dans la formation du cristal final. Dans un premier temps, des cristaux monocristallins sont stabilisés à une taille primaire par l'ajout en surface de ligands, tensioactifs ou autres macromolécules [312]. Ensuite, ces blocs primaires seront eux-mêmes assemblés en une superstructure par des phénomènes d'agrégation contrôlée, puis la dissolution des ligands ayant servi à stabiliser les blocs primaires permet la fusion des blocs pour former

un cristal similaire au monocristal formé par cristallisation classique. Ce mécanisme est résumé sur la figure 7.9. Cette méthode est particulièrement efficace pour créer des structures complexes, notamment à base de nanoparticules, cristallisant plus rapidement que la méthode classique [314, 315, 316].

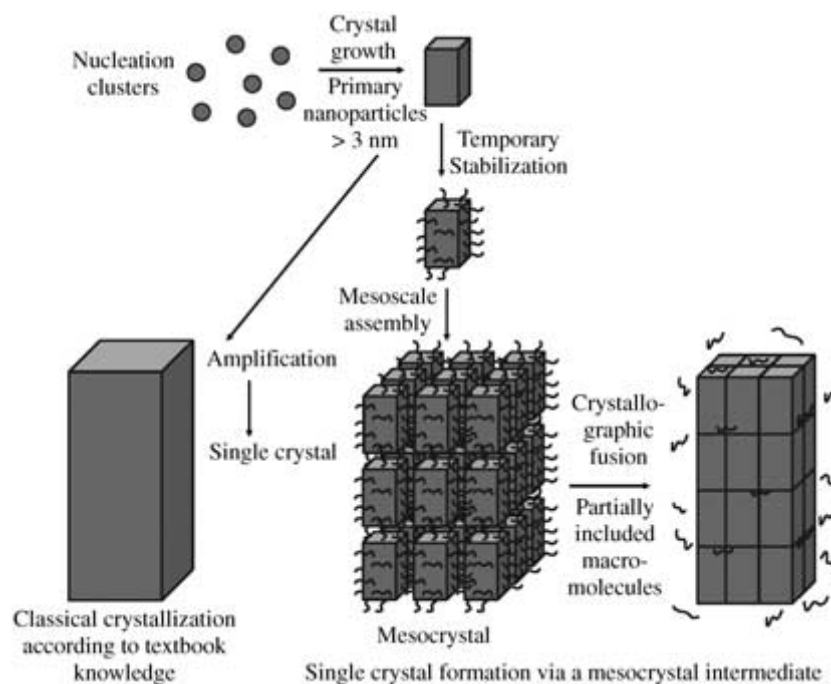


FIGURE 7.9 – Principe de mésocristallisation à partir de nanoparticules. D’après la référence [312].

Ce schéma semble bien correspondre à l’auto-assemblage électrostatique des NDs-H. Les clusters de nucléation sont les NDs-H, qui s’assemblent en blocs primaires, par exemple des cubes, après l’ajout de contre-ions grâce aux interactions coulombiennes détaillées précédemment. A partir d’une concentration critique, des blocs primaires forment des superstructures de taille pouvant être plusieurs ordres de grandeur supérieure aux blocs primaires, comme observé sur la figure 7.10. Dans notre cas, les macromolécules permettant l’assemblage des blocs sont les contre-ions, et peuvent être utilisées pour modifier la forme des mésocristaux formés. La taille des mésocristaux serait contrôlée par la concentration de contre-ions en solution.

Ces structures de blocs cubiques ont aussi été observées sur les structures finales obtenues. La forme finale est *a priori* parallélépipédique comme dans la figure 7.1, mais nous avons le plus souvent observé des structures allongées, comme présenté sur la Figure 7.11 (a). Dans ces cas-là, l’agitation magnétique était plus importante, ce qui devait créer

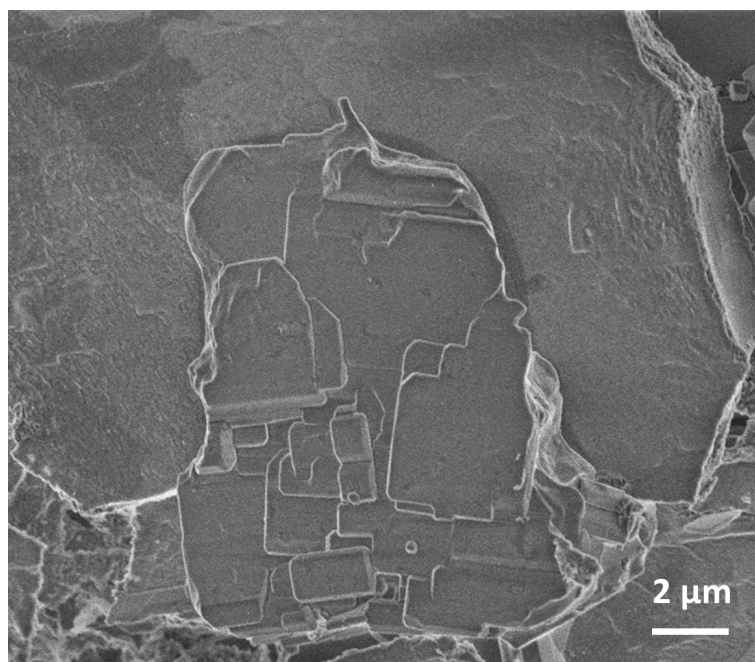


FIGURE 7.10 – Assemblage de différents blocs primaires formé durant l'ajout de HCl dans une dispersion de NDs-H.

des forces hydrodynamiques supplémentaires dans la solution modifiant la structure des formes stables. A la surface des objets obtenus, on observe clairement la fusion des cubes micrométriques observés précédemment, ce qui est en accord avec une mésocristallisation (Figure 7.11 (b)). Pourtant il semble que la rugosité de surface soit beaucoup plus importante, ce qui pourrait être lié à l'adsorption de NDs-H à la surface des cubes. L'utilisation de champs hydrodynamiques bien contrôlés, contrairement à ceux générés par l'agitation magnétique, pourrait être envisagée pour mieux contrôler la mésocristallisation et modifier la forme des structures finales.

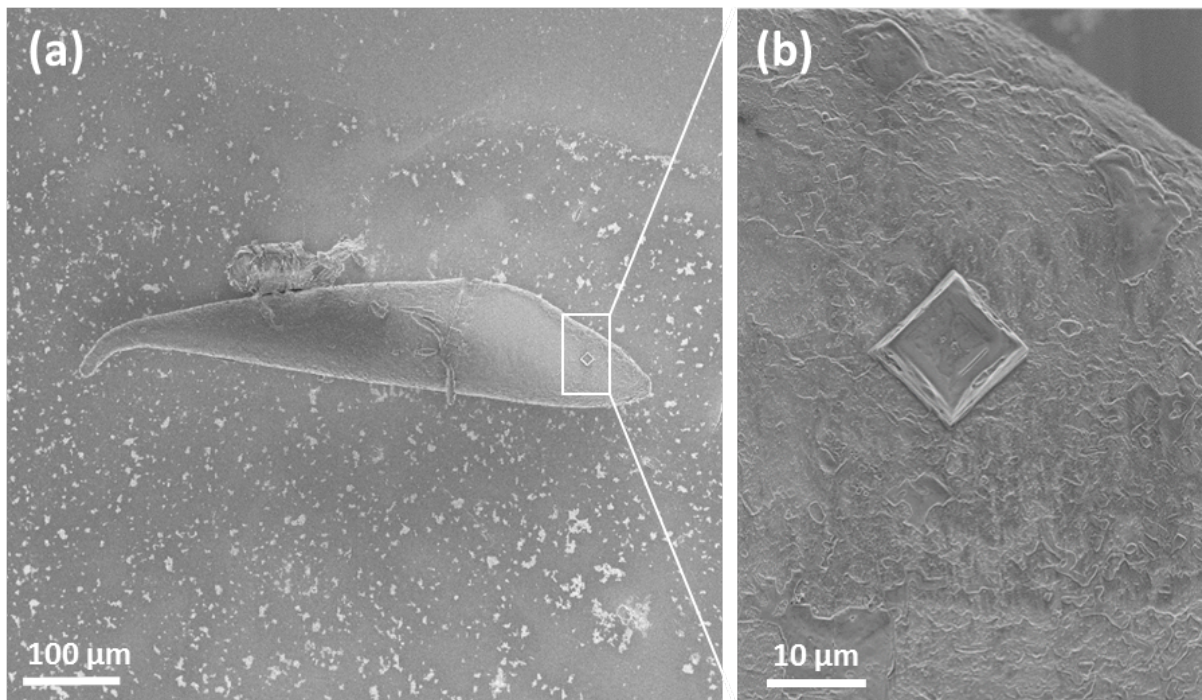


FIGURE 7.11 – Structure auto-assemblée après addition de HCl à 20 mM dans une solution de $NDs-H$.

7.4 Conclusion

En résumé, nous avons ici présenté une méthode pour contrôler l'assemblage des $NDs-H$ en utilisant leurs propriétés électrostatiques directement en solution. L'ajout progressif de contre-ions dans une solution de $NDs-H$ induit en effet une agrégation contrôlée des NDs . Cette méthode permet de synthétiser des structures auto-assemblées, ressemblant à des solides ioniques avec des $NDs-H$ à la place des cations, pouvant atteindre des tailles millimétriques. Nous avons vu que la forme et la taille des structures peuvent être modifiées en changeant la concentration ou la nature des contre-ions. Il est sans doute possible d'obtenir des formes bien plus variées que celles présentées ici, en jouant sur la concentration en NDs et en contre-ions, sur la vitesse d'ajout des contre-ions, le type d'agitation ou la présence d'un champ électrique pour orienter les NDs par exemple. Un meilleur contrôle de la forme des structures ainsi synthétisées pourrait permettre de faire de nouveaux matériaux nanostructurés. Leurs propriétés pourraient être très particulières puisque les structures formées sont à l'interface entre du diamant nanocristallin et des solides ioniques. Des structures hybrides $NDs/polymères$ pourraient peut-être être synthétisées par des procédés similaires, pouvant ainsi conduire à la fabrication de nouveaux nanocomposites.

Annexe A

Compléments sur la microscopie électronique en transmission haute résolution

La microscopie électronique en transmission haute résolution (HRTEM) consiste à irradier un échantillon avec des électrons de haute énergie et à observer l'image formée par les électrons passant à travers l'échantillon. Pour cela, une source d'électrons, généralement un filament de tungstène chauffé à haute température, est utilisée et le faisceau émis est accéléré grâce à des anodes polarisées. L'utilisation d'un système de lentilles magnétiques permet de focaliser le faisceau sur l'échantillon. Le faisceau d'électrons transmis est ensuite imagé grâce à un écran phosphorescent, ou une caméra CCD dans notre cas, situé dans l'axe du faisceau d'électrons incident. Le schéma de principe de cet équipement est présenté sur la figure A.1.

Contrairement à la microscopie optique, cette méthode n'est pas limitée par la longueur d'onde des électrons incidents, qui permettrait en théorie une résolution de l'ordre du picomètre, mais plutôt par les aberrations provenant du montage expérimental. Ces aberrations peuvent par exemple être chromatiques, car le faisceau incident n'est jamais parfaitement monochromatique, ou bien géométriques, provenant des lentilles électromagnétiques. Il est pourtant possible de contourner ces aberrations en utilisant une méthode d'analyse dite "haute résolution". Dans ce mode d'imagerie, les électrons diffractés par l'échantillon et ceux transmis directement interfèrent entre eux pour former une figure d'interférence. Cette figure d'interférence est modifiée en défocalisant le faisceau et contrairement au mode d'imagerie directe, l'image optimale n'est pas forcément obtenue avec une focalisation sur l'échantillon. Par exemple, dans notre cas une focalisation de Scherzer, située 63 nm sous l'échantillon, a été utilisée. La figure d'interférence ainsi obtenue est alors reconstruite afin d'obtenir une image de l'échantillon avec une résolution

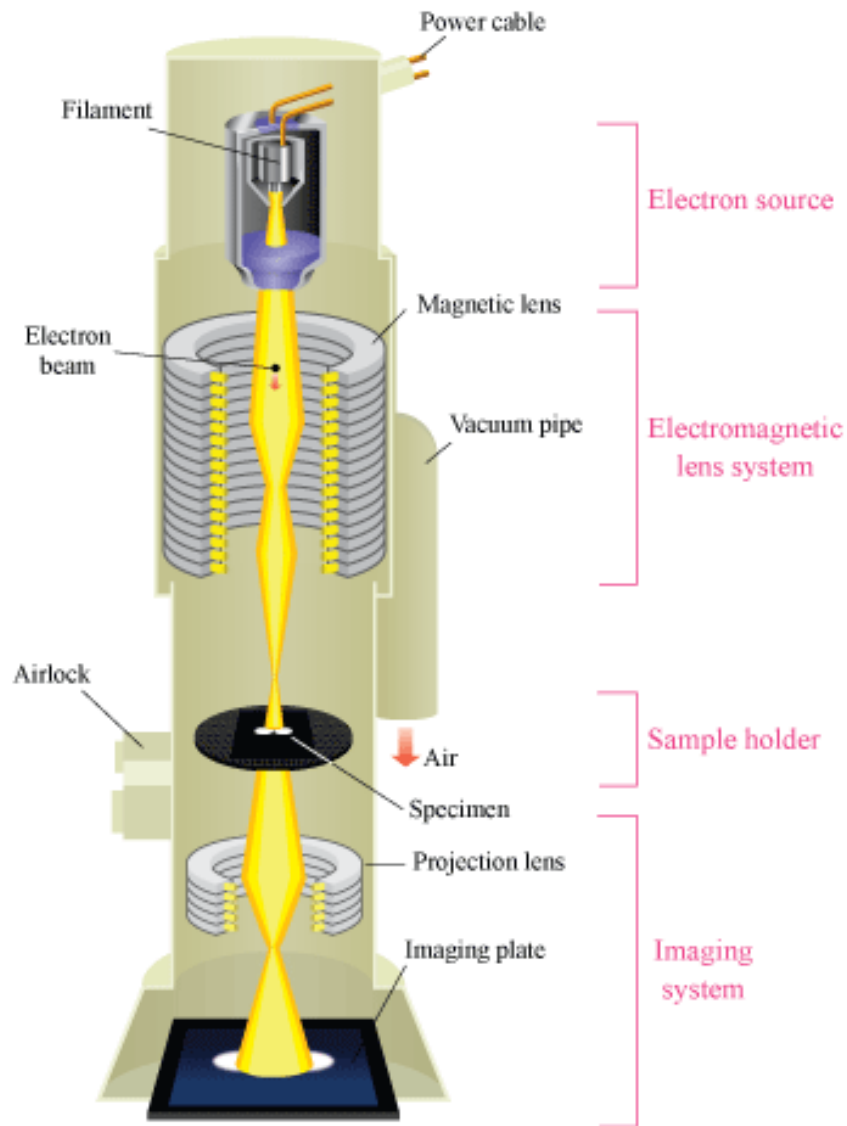


FIGURE A.1 – Schéma de principe d'un microscope électronique en transmission.

subnanométrique. Les distances inter-réticulaires entre les plans cristallins peuvent être déduites directement à partir du diffractogramme.

Annexe B

Compléments sur la spectroscopie de photoélectrons X

B.1 Principe de fonctionnement

En irradiant la surface avec des photons d'énergie connue, des photoélectrons vont être émis, ayant une énergie cinétique E_c caractéristique du niveau électronique de l'atome sondé (Figure B.1). En XPS, l'énergie des photons incidents est choisie pour exciter les électrons de cœurs des atomes sondés. Plus précisément, l'énergie cinétique E_c des électrons analysés est définie par la relation suivante :

$$E_c = h\nu - E_l - \phi \quad (\text{B.1})$$

Où h est la constante de Planck ($6.626 \cdot 10^{-34}$ J.s), ν la fréquence du photon X et ϕ le travail de sortie du matériau sondé. Dans notre cas, le travail de sortie est de l'ordre de 4.9 eV en prenant comme référence un diamant hydrogéné, ce qui est similaire à l'or [232]. C'est pourquoi notre appareillage est calibré avec une référence d'or, par rapport au pic $4f_{7/2}$ situé à une énergie de liaison E_l de 84.0 eV [180]. L'énergie de liaison des atomes sondés est alors estimée en mesurant l'énergie cinétique des photoélectrons générés par une source monochromatique de photons d'énergie connue, ici une anode d'aluminium $K\alpha$.

D'après cette relation, l'émission d'un photoélectron est seulement possible lorsque l'énergie du photon incident est plus importante que l'énergie de liaison des électrons sondés. L'énergie de liaison des photoélectrons dépend du niveau électronique de l'atome sondé, mais aussi de son environnement chimique, ce qui rend l'XPS très sensible à la chimie de surface des matériaux analysés. De plus, lors de leur sortie du matériau, les électrons sont sujets à des collisions inélastiques avec les électrons environnants ce qui peut induire une diminution de leur énergie cinétique. Ces pertes induisent la présence d'un fond inélastique sur les spectres XPS obtenus, qui augmente pour de faibles énergies

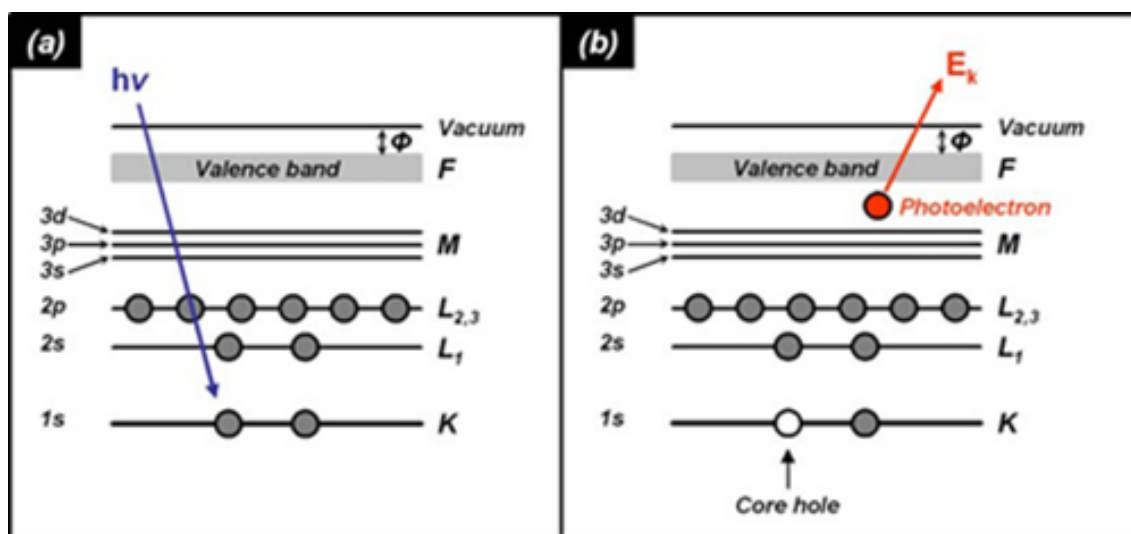


FIGURE B.1 – Principe de fonctionnement de l’XPS. Absorption d’un photon (a) et émission d’un photoélectron (b).

cinétiques.

Expérimentalement, les photons sont générés par le bombardement électronique d’une anode d’aluminium et passent dans un monochromateur avant d’atteindre l’échantillon. Les photoélectrons émis de la surface de l’échantillon sont tout d’abord focalisés grâce à des lentilles collectrices vers un analyseur hémisphérique concentrique, qui va permettre d’isoler les électrons en fonction de leur énergie cinétique. Pour cela, deux électrodes hémisphériques avec une différence de potentiel variable vont permettre de ne garder que les électrons dans une certaine gamme d’énergie, centrée sur l’énergie de passage. Le signal de ces électrons est ensuite amplifié d’un facteur 10^7 à 10^8 grâce à des multiplicateurs d’électrons, avant d’être transmis à l’interface utilisateur. Le dispositif utilisé au laboratoire est présenté sur la figure B.2.

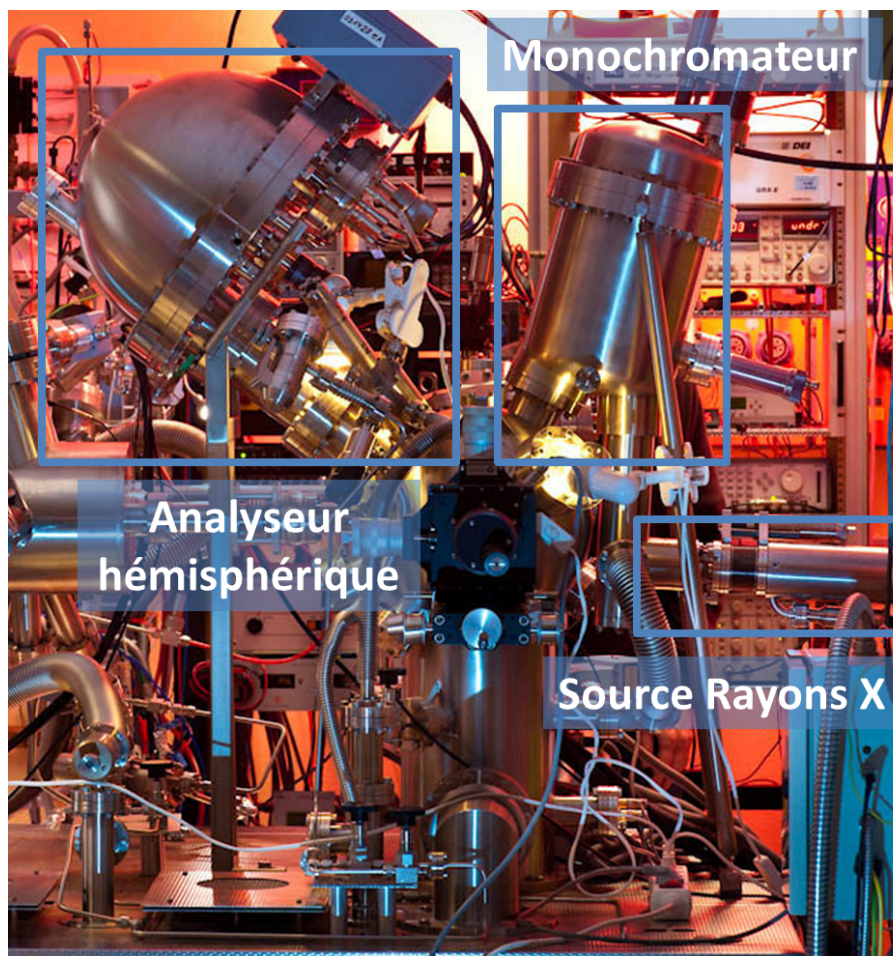


FIGURE B.2 – Appareillage XPS utilisé pour caractériser la chimie de surface des nanodiamants.

B.2 Spectre de référence d'un diamant massif hydrogéné

Le spectre XPS de référence du niveau de cœur du carbone C1s d'un échantillon de diamant polycristallin hydrogéné est présenté sur la figure B.3. Il s'agit d'un pic symétrique situé à une énergie de liaison de 285.0 eV pour une largeur à mi-hauteur de 0.8 eV. Ce spectre constitue la référence diamant utilisée dans cette thèse.

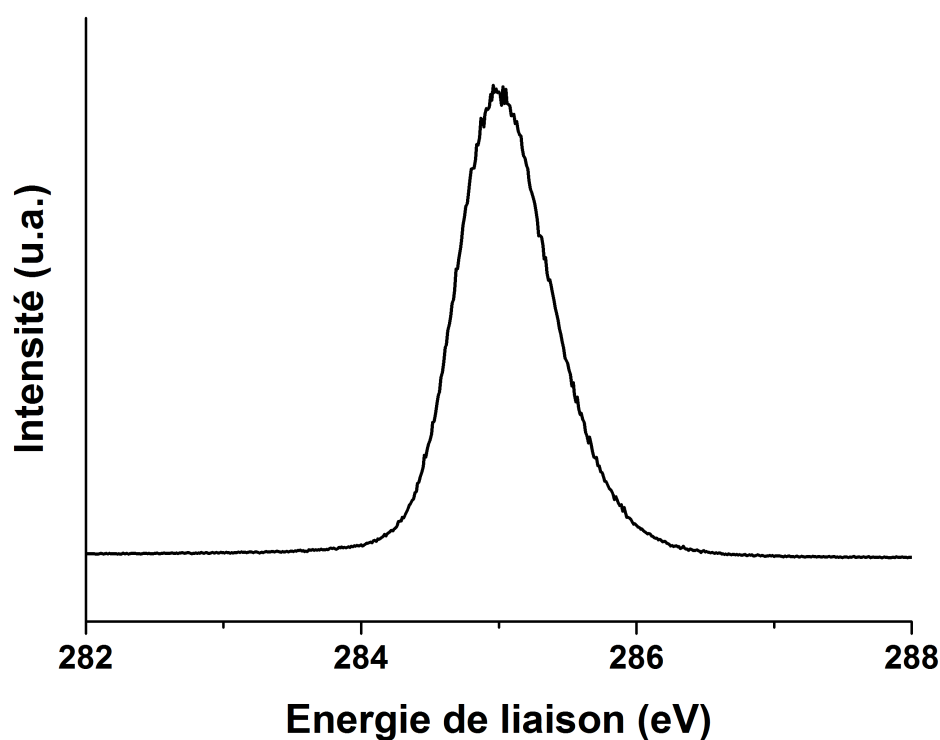


FIGURE B.3 – *Spectre XPS C1s d'un diamant polycristallin hydrogéné de référence.*

B.3 Spectre de référence de graphite pyrolytique hautement orienté

Le spectre XPS C1s d'un échantillon de HOPG est présenté sur la figure B.4. Ce spectre est constitué d'un pic situé à une énergie de 284.1 eV ayant une largeur à mi-hauteur de 0.8 eV. Contrairement au cas du diamant de référence, une asymétrie marquée du pic est observée.

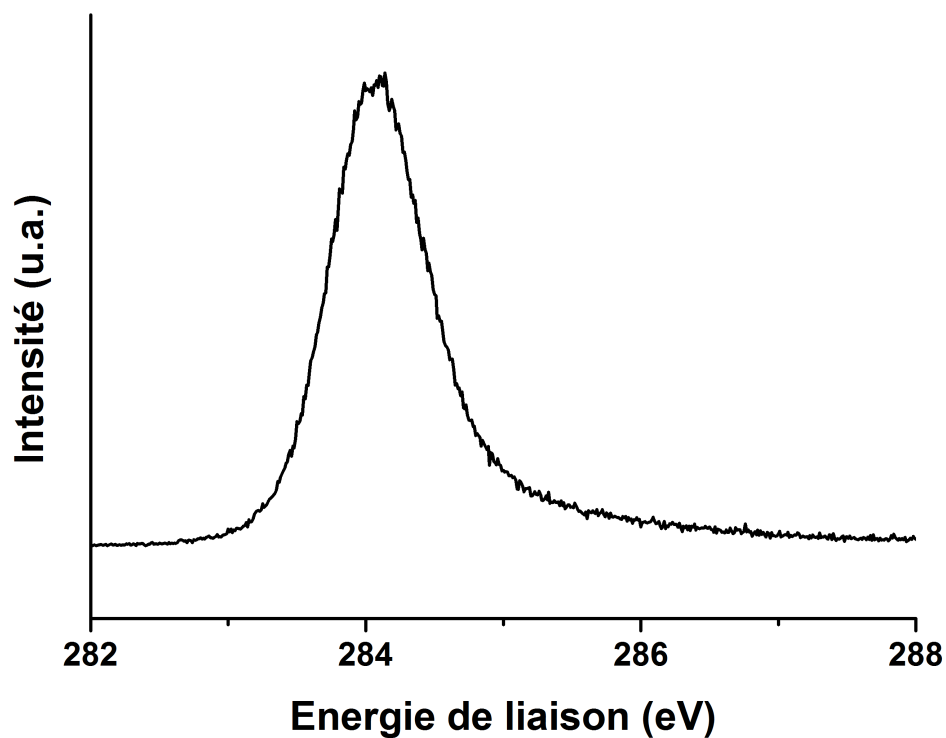


FIGURE B.4 – Spectre XPS C1s d'un échantillon HOPG référence.

B.4 Déconvolution des spectres XPS C1s des nanodiamants graphitisés

Les spectres C1s des NDs après 1h, 5h et 8h de recuit sous vide à 750°C sont indiqués sur la figure B.5. Les courbes de déconvolution sont indiquées sous la courbe expérimentale. On observe notamment une augmentation de la composante sp^2 qui représente 12, 15 et 26 % de l'aire totale du pic C1s après 1h, 5h et 8h de recuit, respectivement. Le pic sp^3 contient également des composantes liées aux défauts et liaisons C-N, CH_x et C-O comme discuté dans la partie 3.4.2.

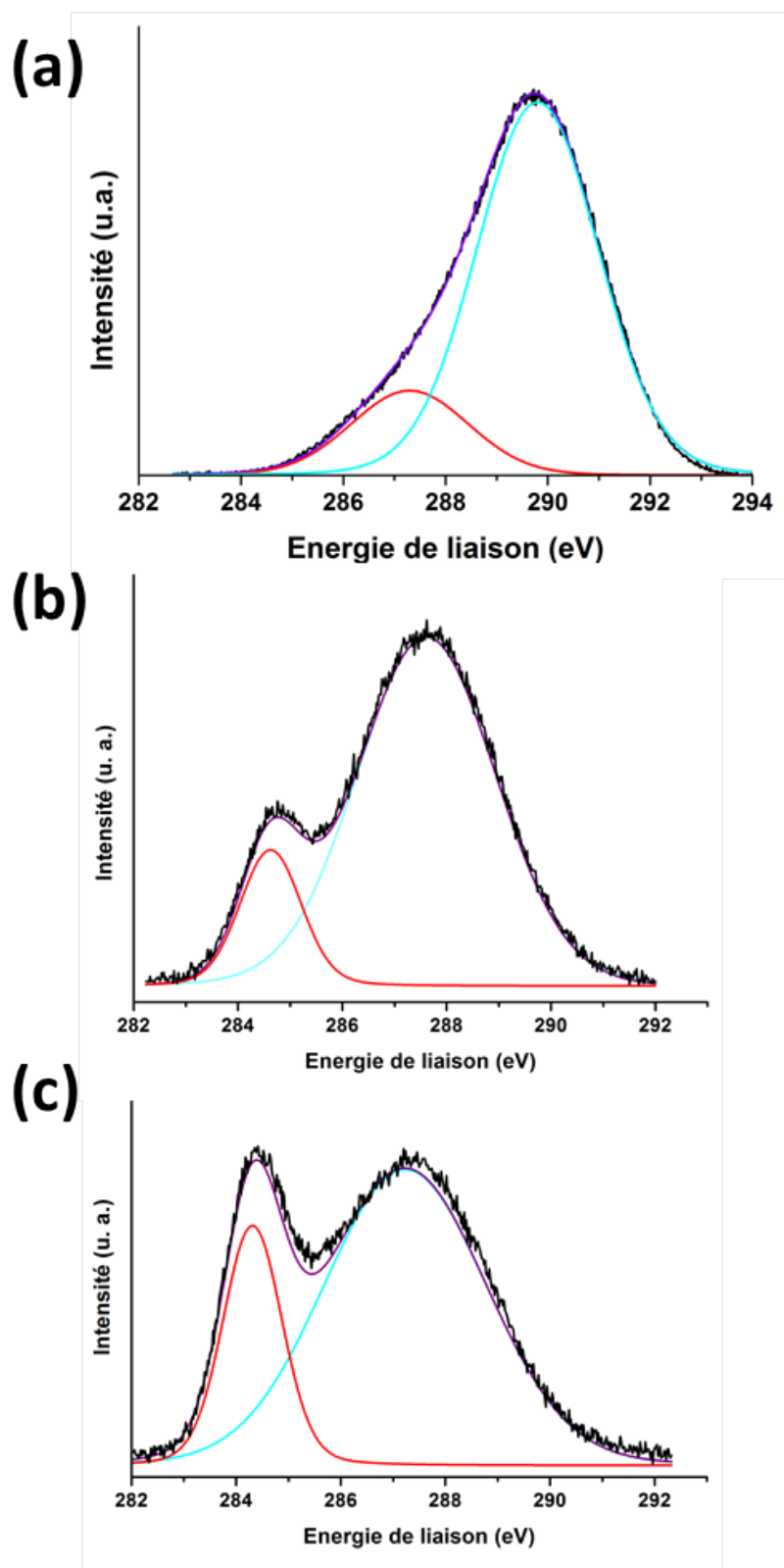


FIGURE B.5 – Spectre XPS C1s des NDs graphitisés après 1h (a), 5h (b) et 8h (c) de recuit sous vide. Les composantes associées au carbone hybridé sp^2 (rouge) et sp^3 (bleu) sont indiquées sous les spectres.

Annexe C

Compléments sur la spectroscopie d'électrons Auger

L'émission d'électrons Auger résulte d'un phénomène de désexcitation électronique après excitation sous irradiation par un faisceau de photons ou d'électrons de haute énergie. L'irradiation induit d'abord l'éjection d'un électron de cœur. La place vacante formée peut être remplacée par un électron venant d'une couche d'énergie supérieure, ce qui induit un dégagement d'énergie. Cette énergie est alors absorbée par un électron d'une couche électronique supérieure, qui sera à son tour éjecté de l'atome. C'est cet électron que l'on appelle électron Auger. Ce mécanisme est résumé sur la figure C.1. Un bilan énergétique permet de calculer l'énergie cinétique de cet électron Auger :

$$E_c(KL_1L_{2,3}) = E_i(K) - E_1(L_1) - E_1(L_{2,3}) \quad (\text{C.1})$$

Où K , L_1 et $L_{2,3}$ sont les premières couches électroniques de l'atome sondé.

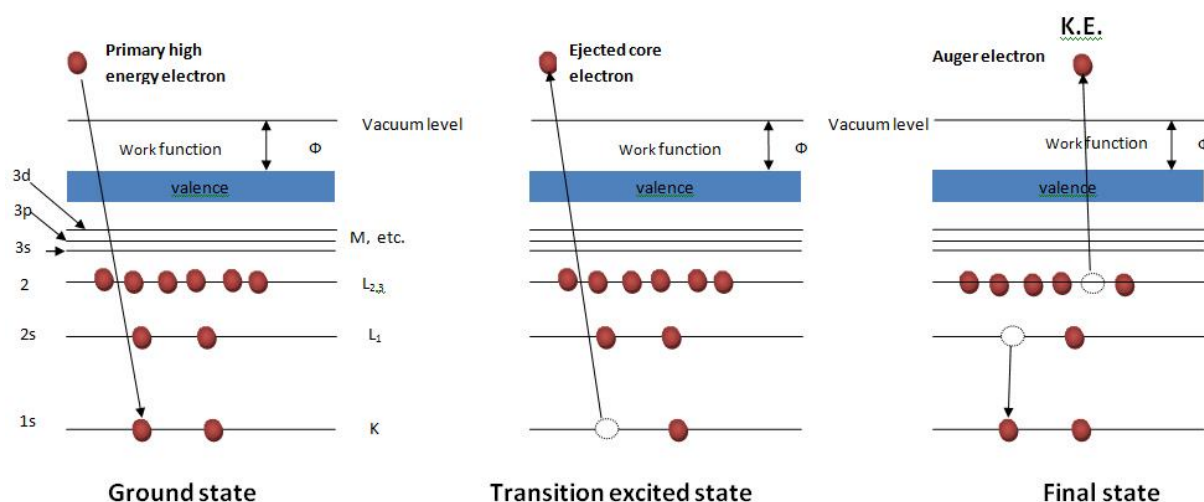


FIGURE C.1 – Principe de fonctionnement de l'émission d'électrons Auger.

Comme décrit dans le chapitre 2, le système d'analyse AES est équipé d'un canon à électrons pour l'excitation et d'un système constitué de 4 grilles retardatrices et d'un écran fluorescent pour l'acquisition. L'énergie des électrons sortant du canon est de l'ordre de 1.5 à 3 keV, et un collimateur permet de focaliser le faisceau sur l'échantillon. Au niveau de la mesure, les grilles retardatrices permettent de ne laisser passer que les électrons au-delà d'une certaine énergie, qui peut être modulée en modifiant leur tension. Les électrons n'étant pas filtrés par ces grilles vont induire un courant Auger après collision avec l'écran fluorescent qui va être analysé (Figure C.2).

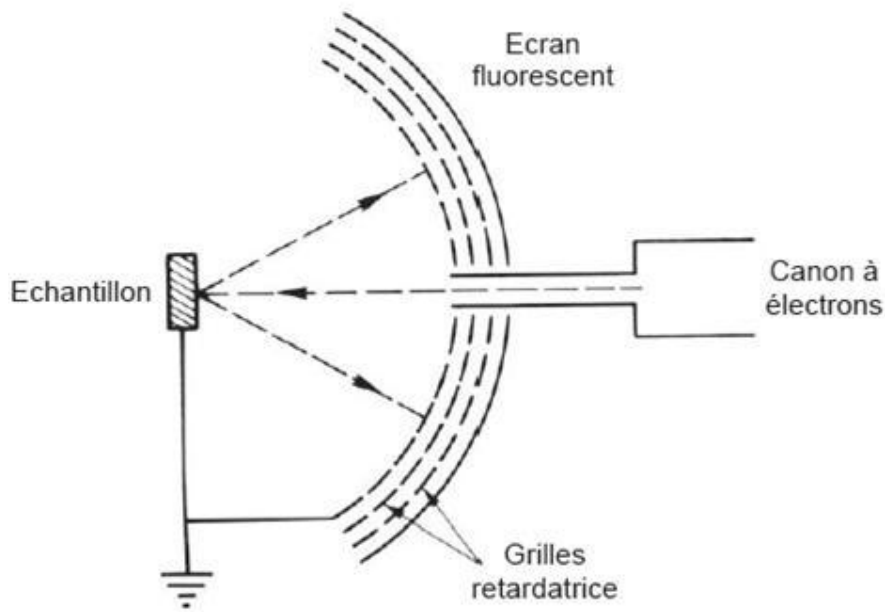


FIGURE C.2 – Schéma de principe du dispositif d'analyse AES.

Annexe D

Compléments sur la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier

La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) permet l'analyse de l'absorption de photons dans la gamme des infrarouges ($700\text{-}3500\text{ cm}^{-1}$ dans notre cas) dans un échantillon en transmission. Contrairement à la spectroscopie d'absorption classique, consistant à exposer l'échantillon à analyser à un faisceau monochromatique et à mesurer l'absorption pour chaque longueur d'onde, le FTIR est basé sur une méthode d'interférométrie à partir d'un faisceau polychromatique. Grâce à un interféromètre de Michelson, l'échantillon n'est exposé qu'à quelques longueurs d'ondes, qui varient en fonction de la position du miroir mobile de l'interféromètre. Après transmission dans l'échantillon, un interférogramme en fonction du déplacement du miroir est mesuré par un détecteur.

A partir de cet interférogramme, une transformée de Fourier va permettre de remonter au spectre d'absorption de l'échantillon analysé. Les intérêts de passer par une transformée de Fourier sont notamment le fait de ne pas avoir besoin d'un monochromateur pour la source infrarouge et de pouvoir obtenir un spectre assez rapidement. Le schéma de principe du FTIR est présenté sur la figure D.1.

L'intérêt d'utiliser des infrarouges est que dans cette gamme de longueur d'onde, les vibrations des molécules peuvent être excitées. Les longueurs d'ondes absorbées vont ainsi correspondre aux liaisons chimiques présentes dans les molécules sondées. Pour la même liaison chimique, plusieurs modes vibratoires peuvent être excités, à des longueurs d'ondes différentes puisque chaque mode requiert une énergie différente. Quelques-uns de ces modes vibratoires sont présentés sur la figure D.2. En corrélant les bandes d'absorption à ces différents modes, il est possible de déterminer précisément les liaisons chimiques présentes sur l'échantillon sondé.

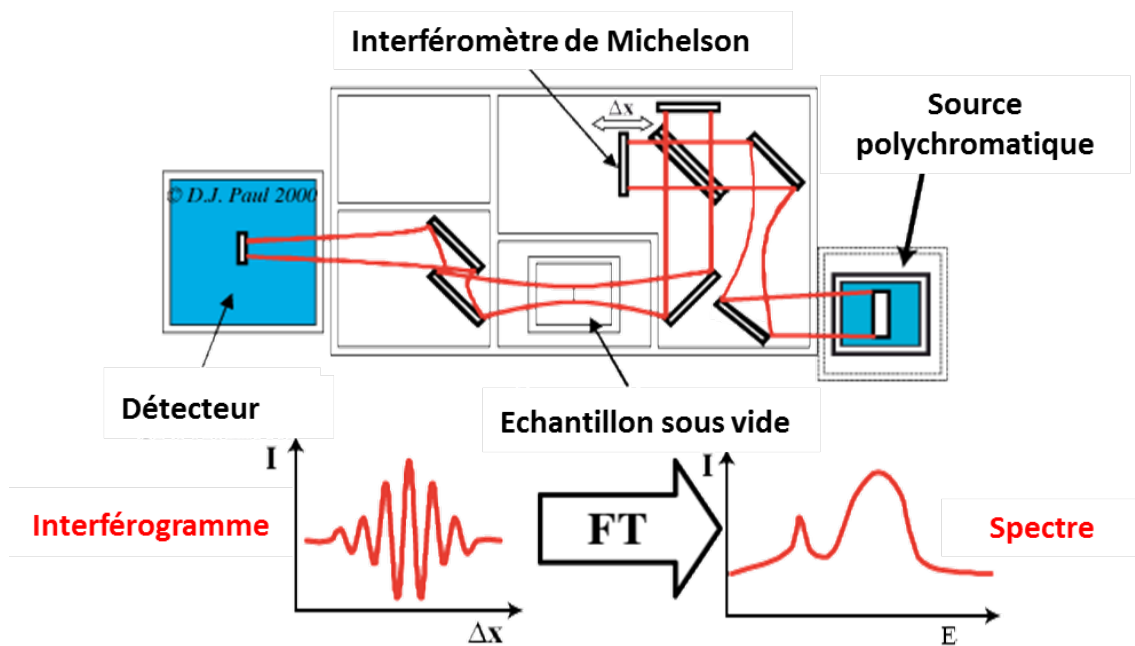


FIGURE D.1 – Principe de fonctionnement du FTIR.

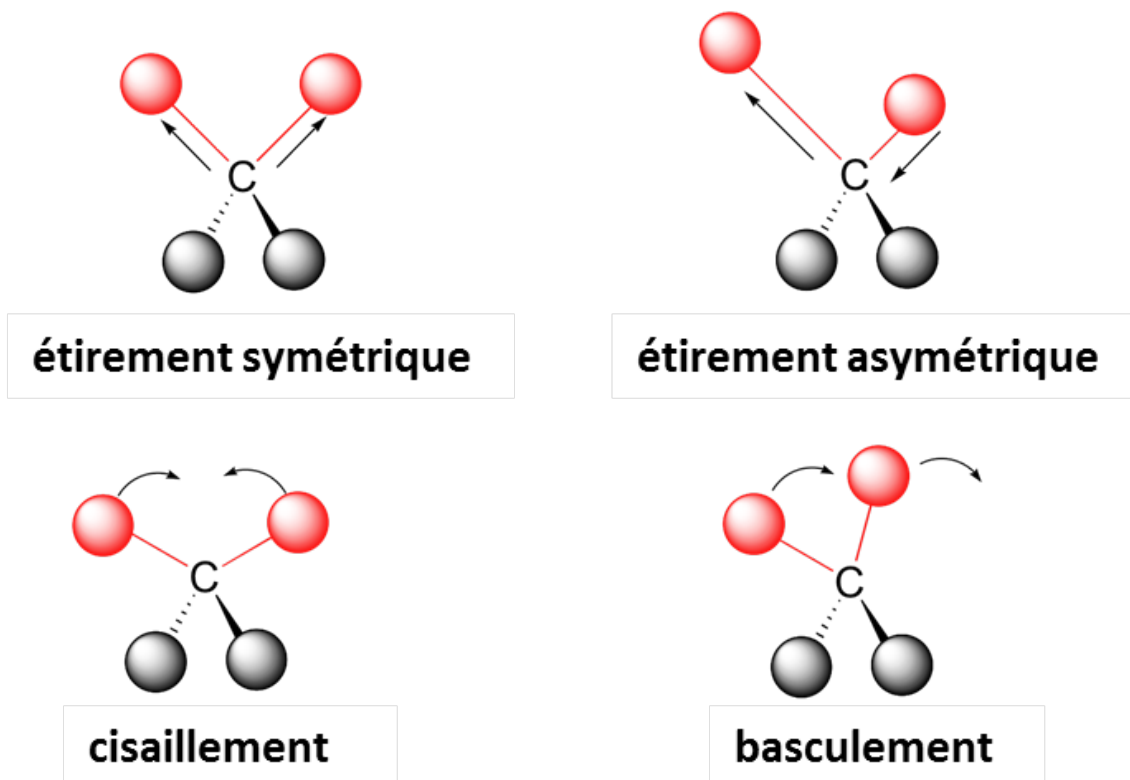


FIGURE D.2 – Exemples de modes vibratoires de liaisons chimiques sondées en FTIR.

Annexe E

Compléments sur la diffusion dynamique de la lumière

Pour analyser la diffusion dynamique de la lumière, un laser est focalisé dans une cuve de spectroscopie classique contenant des NDs dispersés dans un solvant et la lumière diffusée dans une direction donnée est quantifiée par un détecteur. En fonction de la concentration de la solution, la focalisation du laser sera plus ou moins proche de la surface de la cuve afin de limiter le volume de mesure.

Pour mesurer la mobilité électrophorétique des nanoparticules, permettant de déduire le potentiel Zeta, une cellule équipée d'un capillaire avec 2 électrodes aux extrémités est utilisée. La génération d'une différence de potentiel entre les électrodes va mettre les nanoparticules en mouvement si elles sont chargées. Ce mouvement induit un déplacement en fréquence de la lumière diffusée par les particules par effet Doppler. En mesurant ce décalage en fréquence, il est possible de remonter à la vitesse des nanoparticules sous un champ électrique et donc d'estimer la mobilité électrophorétique.

Les paramètres utilisés avec le logiciel Zeta Sizer pour effectuer les mesures de taille et de potentiel Zeta sont les suivants :

- Analyse de la lumière diffusée : 173° par rapport au faisceau incident
- Material : Diamond (RI : 2.4, Absorption : 0.010)
- Dispersant : Water (Temperature : 25 or 37°C, Viscosity : 0.6864 cP, RI : 1.330)
- Data Processing (taille) : Protein Analysis
- Data Processing (Potentiel Zeta) : Modèle Schmoluchowski, General Purpose



Annexe F

Compléments sur la méthode xCELLigence

Le système xCELLigence, développé par Roche, est une méthode d'analyse de prolifération et de modification cellulaire en temps réel et qui ne nécessite aucun marqueur. De plus, il est possible d'analyser 96 expériences en parallèle de manière automatisée. Pour cela, une mesure de l'impédance d'une population cellulaire se développant sur des micro-électrodes est réalisée. Une augmentation du nombre de cellules induit une augmentation de l'impédance mesurée. Cette impédance peut aussi augmenter à cause d'une adhérence plus forte des cellules ou d'un changement de leur morphologie, ce qui rend la méthode sensible à plusieurs phénomènes biologiques en parallèle.

La grandeur qui permet la quantification de ces évolutions est l'Index Cellulaire (IC), qui est sans dimension. L'IC est mesuré à partir des variations d'impédance et augmente de façon monotone quand le nombre de cellules analysées augmente. Il est par définition égal à zéro quand il n'y a aucune cellule adhérente sur les électrodes. Ce principe de fonctionnement est résumé sur la figure F.1.

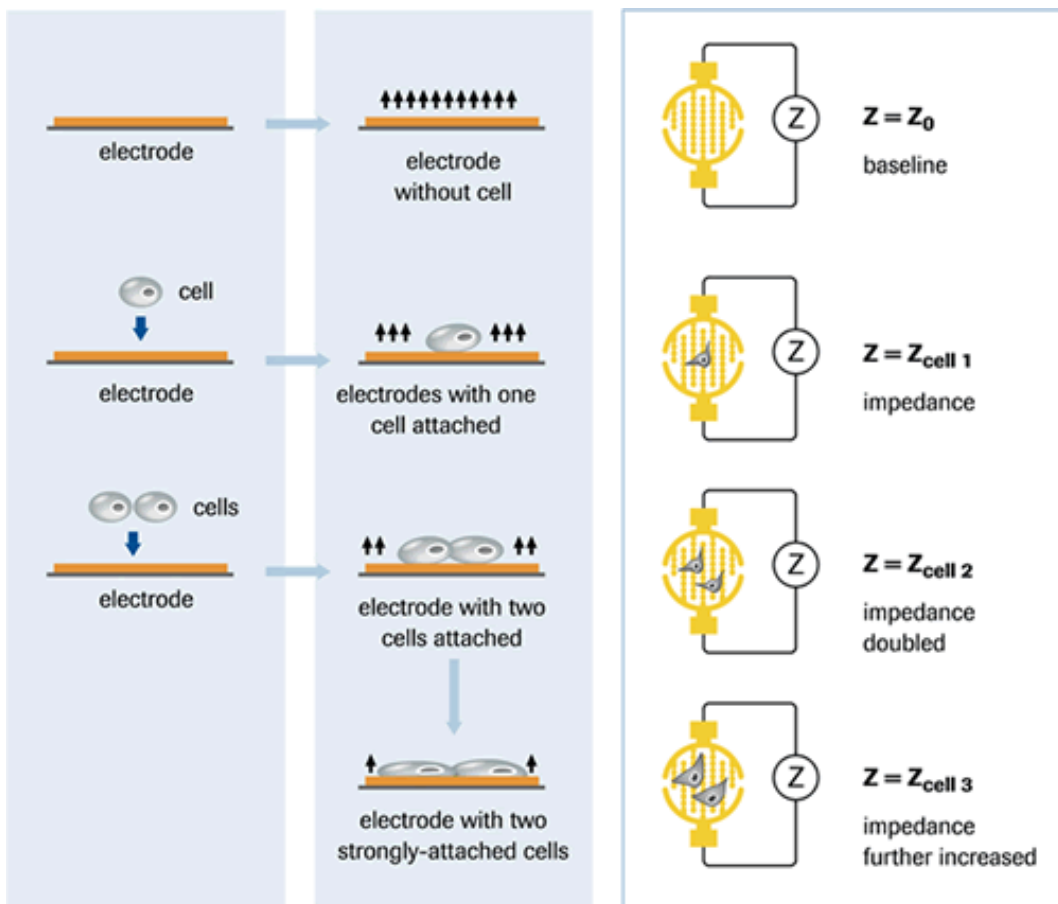


FIGURE F.1 – Principe de fonctionnement de la méthode xCELLigence. D'après www.roche.com.

Bibliographie

- [1] G. Hodes, “When Small Is Different : Some Recent Advances in Concepts and Applications of Nanoscale Phenomena,” *Advanced Materials*, vol. 19, pp. 639–655, Mar. 2007. *2 citations pages 8 et 115*
- [2] R. Narayanan and M. A. El-Sayed, “Catalysis with transition metal nanoparticles in colloidal solution : nanoparticle shape dependence and stability.,” *The journal of physical chemistry. B*, vol. 109, pp. 12663–76, July 2005. *Cité page 8*
- [3] J. Gao, H. Gu, and B. Xu, “Multifunctional magnetic nanoparticles : design, synthesis, and biomedical applications.,” *Accounts of chemical research*, vol. 42, pp. 1097–107, Aug. 2009. *Cité page 9*
- [4] M. L. Etheridge, S. A. Campbell, A. G. Erdman, C. L. Haynes, S. M. Wolf, and J. McCullough, “The big picture on nanomedicine : the state of investigational and approved nanomedicine products.,” *Nanomedicine : nanotechnology, biology, and medicine*, vol. 9, pp. 1–14, June 2013. *2 citations pages 9 et 32*
- [5] V. P. Chauhan, T. Stylianopoulos, J. D. Martin, Z. Popović, O. Chen, W. S. Kamoun, M. G. Bawendi, D. Fukumura, and R. K. Jain, “Normalization of tumour blood vessels improves the delivery of nanomedicines in a size-dependent manner.,” *Nature nanotechnology*, vol. 7, pp. 383–8, June 2012. *Cité page 10*
- [6] Y. Matsumura and H. Maeda, “A New Concept for Macromolecular Therapeutics in Cancer Chemotherapy : Mechanism of Tumor-tropic Accumulation of Proteins and the Antitumor Agent Smancs,” *Cancer Research*, vol. 46, pp. 6387–6392, Dec. 1986. *Cité page 10*
- [7] M. E. Davis, Z. G. Chen, and D. M. Shin, “Nanoparticle therapeutics : an emerging treatment modality for cancer.,” *Nature reviews. Drug discovery*, vol. 7, pp. 771–82, Sept. 2008. *Cité page 10*
- [8] J. D. Byrne, T. Betancourt, and L. Brannon-Peppas, “Active targeting schemes for nanoparticle systems in cancer therapeutics.,” *Advanced drug delivery reviews*, vol. 60, pp. 1615–26, Dec. 2008. *Cité page 10*
- [9] S. E. A. Gratton, P. A. Ropp, P. D. Pohlhaus, J. C. Luft, V. J. Madden, M. E. Napier, and J. M. DeSimone, “The effect of particle design on cellular internalization

- pathways.” *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 105, pp. 11613–8, Aug. 2008. *Cité page 11*
- [10] M. M. Gottesman, T. Fojo, and S. E. Bates, “Multidrug resistance in cancer : role of ATP-dependent transporters.” *Nature reviews. Cancer*, vol. 2, pp. 48–58, Jan. 2002. *Cité page 11*
- [11] E. V. Batrakova and A. V. Kabanov, “Pluronic block copolymers : evolution of drug delivery concept from inert nanocarriers to biological response modifiers.” *Journal of Controlled Release*, vol. 130, pp. 98–106, Sept. 2008. *Cité page 11*
- [12] P. J. Pedersen, M. S. Christensen, T. Ruyschaert, L. Linderth, T. L. Andresen, F. Melander, O. G. Mouritsen, R. Madsen, and M. H. Clausen, “Synthesis and biophysical characterization of chlorambucil anticancer ether lipid prodrugs.” *Journal of medicinal chemistry*, vol. 52, pp. 3408–15, May 2009. *Cité page 11*
- [13] X. Michalet, F. F. Pinaud, L. A. Bentolila, J. M. Tsay, S. Doose, J. J. Li, G. Sundaresan, A. M. Wu, S. S. Gambhir, and S. Weiss, “Quantum dots for live cells, in vivo imaging, and diagnostics.” *Science*, vol. 307, pp. 538–44, Jan. 2005. *2 citations pages 12 et 32*
- [14] V. Pansare, S. Hejazi, W. Faenza, and R. K. Prud’homme, “Review of Long-Wavelength Optical and NIR Imaging Materials : Contrast Agents, Fluorophores and Multifunctional Nano Carriers.” *Chemistry of materials*, vol. 24, pp. 812–827, Mar. 2012. *Cité page 12*
- [15] R. Weissleder, “A clearer vision for in vivo imaging.” *Nature biotechnology*, vol. 19, pp. 316–7, Apr. 2001. *Cité page 12*
- [16] H. B. Na, I. C. Song, and T. Hyeon, “Inorganic Nanoparticles for MRI Contrast Agents,” *Advanced Materials*, vol. 21, pp. 2133–2148, June 2009. *Cité page 12*
- [17] D. Yoo, J.-H. Lee, T.-H. Shin, and J. Cheon, “Theranostic magnetic nanoparticles.” *Accounts of chemical research*, vol. 44, pp. 863–74, Oct. 2011. *2 citations pages 12 et 15*
- [18] N. Gibson, U. Holzwarth, K. Abbas, F. Simonelli, J. Kozempel, I. Cydzik, G. Coto-gno, A. Bulgheroni, D. Gilliland, J. Ponti, F. Franchini, P. Marmorato, H. Stamm, W. Kreyling, A. Wenk, M. Semmler-Behnke, S. Buono, L. Maciocco, and N. Burgio, “Radiolabelling of engineered nanoparticles for in vitro and in vivo tracing applications using cyclotron accelerators.” *Archives of toxicology*, vol. 85, pp. 751–73, July 2011. *Cité page 12*
- [19] D. Georgin, B. Czarny, M. Botquin, M. Mayne-L’hermite, M. Pinault, B. Bouchet-Fabre, M. Carriere, J.-L. Poncy, Q. Chau, R. Maximilien, V. Dive, and F. Taran, “Preparation of (14)C-labeled multiwalled carbon nanotubes for biodistribution in-

- vestigations.,” *Journal of the American Chemical Society*, vol. 131, pp. 14658–9, Oct. 2009. *Cité page 13*
- [20] C. S. S. R. Kumar and F. Mohammad, “Magnetic nanomaterials for hyperthermia-based therapy and controlled drug delivery,” *Advanced drug delivery reviews*, vol. 63, pp. 789–808, Aug. 2011. *Cité page 13*
- [21] S. Lal, S. E. Clare, and N. J. Halas, “Nanoshell-enabled photothermal cancer therapy : impending clinical impact.,” *Accounts of chemical research*, vol. 41, pp. 1842–51, Dec. 2008. *Cité page 13*
- [22] P. Cherukuri, E. S. Glazer, and S. A. Curley, “Targeted hyperthermia using metal nanoparticles.,” *Advanced drug delivery reviews*, vol. 62, pp. 339–45, Mar. 2010. *Cité page 13*
- [23] K. Yang, S. Zhang, G. Zhang, X. Sun, S.-T. Lee, and Z. Liu, “Graphene in mice : ultrahigh in vivo tumor uptake and efficient photothermal therapy.,” *Nano letters*, vol. 10, pp. 3318–3323, Sept. 2010. *2 citations pages 13 et 31*
- [24] K. Yang, J. Wan, S. Zhang, B. Tian, Y. Zhang, and Z. Liu, “The influence of surface chemistry and size of nanoscale graphene oxide on photothermal therapy of cancer using ultra-low laser power.,” *Biomaterials*, vol. 33, pp. 2206–2214, Mar. 2012. *4 citations pages 13, 14, 31, et 33*
- [25] J. F. Hainfeld, D. N. Slatkin, and H. M. Smilowitz, “The use of gold nanoparticles to enhance radiotherapy in mice,” *Physics in Medicine and Biology*, vol. 49, pp. N309–N315, Sept. 2004. *Cité page 14*
- [26] R. R. Arvizo, S. Bhattacharyya, R. A. Kudgus, K. Giri, R. Bhattacharya, and P. Mukherjee, “Intrinsic therapeutic applications of noble metal nanoparticles : past, present and future.,” *Chemical Society reviews*, vol. 41, pp. 2943–70, Apr. 2012. *Cité page 14*
- [27] K. T. Butterworth, S. J. McMahon, F. J. Currell, and K. M. Prise, “Physical basis and biological mechanisms of gold nanoparticle radiosensitization.,” *Nanoscale*, vol. 4, pp. 4830–8, Aug. 2012. *4 citations pages 14, 164, 165, et 167*
- [28] L. Maggiorella, G. Barouch, C. Devaux, A. Pottier, E. Deutsch, J. Bourhis, E. Borghi, and L. Levy, “Nanoscale radiotherapy with hafnium oxide nanoparticles.,” *Future Oncology*, vol. 8, pp. 1167–81, Sept. 2012. *2 citations pages 14 et 164*
- [29] E. Porcel, S. Liehn, H. Remita, N. Usami, K. Kobayashi, Y. Furusawa, C. Le Sech, and S. Lacombe, “Platinum nanoparticles : a promising material for future cancer therapy?,” *Nanotechnology*, vol. 21, p. 85103, Feb. 2010. *2 citations pages 14 et 164*
- [30] T. Lammers, S. Aime, W. E. Hennink, G. Storm, and F. Kiessling, “Theranostic Nanomedicines.,” *Accounts of chemical research*, May 2011. *Cité page 15*

- [31] B. Sumer and J. Gao, "Theranostic nanomedicine for cancer," *Nanomedicine*, vol. 3, no. 2, pp. 137–140, 2008. *Cité page 15*
- [32] R. G. Mendes, A. Bachmatiuk, B. Büchner, G. Cuniberti, and M. H. Rummeli, "Carbon nanostructures as multi-functional drug delivery platforms," *Journal of Materials Chemistry B*, vol. 1, no. 4, p. 401, 2013. *Cité page 15*
- [33] M. Liong, J. Lu, M. Kovoichich, T. Xia, S. G. Ruehm, A. E. Nel, F. Tamanoi, and J. I. Zink, "Multifunctional inorganic nanoparticles for imaging, targeting, and drug delivery.," *ACS nano*, vol. 2, pp. 889–96, May 2008. *Cité page 15*
- [34] G. Wu, A. Mikhailovsky, H. A. Khant, C. Fu, W. Chiu, and J. A. Zasadzinski, "Remotely triggered liposome release by near-infrared light absorption via hollow gold nanoshells.," *Journal of the American Chemical Society*, vol. 130, pp. 8175–7, July 2008. *Cité page 15*
- [35] M. J. Sailor and J.-H. Park, "Hybrid nanoparticles for detection and treatment of cancer.," *Advanced materials*, vol. 24, pp. 3779–802, July 2012. *Cité page 15*
- [36] W. T. Al-Jamal and K. Kostarelos, "Liposomes : from a clinically established drug delivery system to a nanoparticle platform for theranostic nanomedicine.," *Accounts of chemical research*, vol. 44, pp. 1094–104, Oct. 2011. *Cité page 15*
- [37] Z. R. Dai, J. P. Bradley, D. J. Joswiak, D. E. Brownlee, H. G. M. Hill, and M. J. Genge, "Possible in situ formation of meteoritic nanodiamonds in the early Solar System.," *Nature*, vol. 418, pp. 157–9, July 2002. *Cité page 16*
- [38] N. Marks, M. Lattemann, and D. McKenzie, "Nonequilibrium Route to Nanodiamond with Astrophysical Implications," *Physical Review Letters*, vol. 108, p. 075503, Feb. 2012. *Cité page 16*
- [39] A. van Hoesel, W. Z. Hoek, F. Braadbaart, J. van der Plicht, G. M. Pennock, and M. R. Drury, "Nanodiamonds and wildfire evidence in the Usselo horizon post-date the Allerod-Younger Dryas boundary.," *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 109, pp. 7648–53, May 2012. *Cité page 16*
- [40] F. P. Bundy, H. T. Hall, H. M. Strong, and R. H. Wentorf, "Man-Made Diamonds," *Nature*, vol. 176, pp. 51–55, July 1955. *Cité page 17*
- [41] J. C. Angus and C. C. Hayman, "Low-pressure, metastable growth of diamond and "diamondlike" phases.," *Science*, vol. 241, pp. 913–21, Aug. 1988. *Cité page 17*
- [42] O. Shenderova, V. Zhirnov, and D. Brenner, "Carbon Nanostructures," *Critical Reviews in Solid State and Material Sciences*, vol. 27, pp. 227–356, July 2002. *3 citations pages 17, 18, et 136*
- [43] V. V. Danilenko, "On the history of the discovery of nanodiamond synthesis," *Physics of the Solid State*, vol. 46, pp. 595–599, Apr. 2004. *Cité page 17*

- [44] V. Y. Dolmatov, “Detonation-synthesis nanodiamonds : synthesis, structure, properties and applications,” *Russian Chemical Reviews*, vol. 76, pp. 339–360, Apr. 2007. *9 citations pages 17, 18, 23, 26, 27, 70, 104, 106, et 122*
- [45] V. N. Mochalin, O. Shenderova, D. Ho, and Y. Gogotsi, “The properties and applications of nanodiamonds,” *Nature Nanotechnology*, vol. 7, no. 1, pp. 11–23, 2012. *4 citations pages 17, 18, 69, et 70*
- [46] a. Kruger, F. Kataoka, M. Ozawa, T. Fujino, Y. Suzuki, a. E. Aleksenskii, a. Vul, E. Osawa, A. Krüger, and A. Y. Vul’, “Unusually tight aggregation in detonation nanodiamond : Identification and disintegration,” *Carbon*, vol. 43, pp. 1722–1730, July 2005. *3 citations pages 18, 23, et 63*
- [47] E. Osawa, “Monodisperse single nanodiamond particulates,” *Pure and Applied Chemistry*, vol. 80, no. 7, pp. 1365–1379, 2008. *3 citations pages 18, 19, et 104*
- [48] M. Ozawa, M. Inaguma, M. Takahashi, F. Kataoka, a. Krüger, and E. Osawa, “Preparation and Behavior of Brownish, Clear Nanodiamond Colloids,” *Advanced Materials*, vol. 19, pp. 1201–1206, May 2007. *4 citations pages 18, 23, 63, et 122*
- [49] M. G. Ivanov, S. V. Pavlyshko, D. M. Ivanov, I. Petrov, and O. Shenderova, “Synergistic Compositions of Colloidal Nanodiamond as Lubricant-additive,” *Journal of Vacuum Science & Technology B : Microelectronics and Nanometer Structures*, vol. 28, p. 869, July 2010. *Cité page 19*
- [50] V. N. Mochalin, I. Neitzel, B. Etzold, A. M. Peterson, G. Palmese, and Y. Gogotsi, “Covalent Incorporation of Aminated Nanodiamond into an Epoxy Polymer Network,” *ACS nano*, p. 7494, Aug. 2011. *4 citations pages 19, 23, 28, et 122*
- [51] I. Neitzel, V. Mochalin, J. Bares, R. Carpick, A. Erdemir, and Y. Gogotsi, “Tribological Properties of Nanodiamond-Epoxy Composites,” *Tribology Letters*, vol. 47, pp. 195–202, May 2012. *Cité page 19*
- [52] Q. Zhang, V. N. Mochalin, I. Neitzel, I. Y. Knoke, J. Han, C. a. Klug, J. G. Zhou, P. I. Lelkes, and Y. Gogotsi, “Fluorescent PLLA-nanodiamond composites for bone tissue engineering,” *Biomaterials*, vol. 32, pp. 87–94, Jan. 2011. *Cité page 19*
- [53] O. Shenderova, V. Grichko, S. Hens, and J. Walch, “Detonation nanodiamonds as UV radiation filter,” *Diamond and Related Materials*, vol. 16, pp. 2003–2008, Dec. 2007. *2 citations pages 20 et 121*
- [54] F. Jelezko and J. Wrachtrup, “Single defect centres in diamond : A review,” *physica status solidi (a)*, vol. 203, pp. 3207–3225, Oct. 2006. *Cité page 20*
- [55] G. Balasubramanian, P. Neumann, D. Twitchen, M. Markham, R. Kolesov, N. Mizuochi, J. Isoya, J. Achard, J. Beck, J. Tissler, V. Jacques, P. R. Hemmer, F. Jelezko, and J. Wrachtrup, “Ultralong spin coherence time in isotopically engineered diamond,” *Nature materials*, vol. 8, pp. 383–7, May 2009. *Cité page 20*

- [56] C. Kurtsiefer, S. Mayer, P. Zarda, and H. Weinfurter, “Stable Solid-State Source of Single Photons,” *Physical Review Letters*, vol. 85, pp. 290–293, July 2000.
Cité page 20
- [57] G. Dantelle, a. Slablab, L. Rondin, F. Lainé, F. Carrel, P. Bergonzo, S. Perruchas, T. Gacoin, F. Treussart, and J.-F. Roch, “Efficient production of NV colour centres in nanodiamonds using high-energy electron irradiation,” *Journal of Luminescence*, vol. 130, pp. 1655–1658, Sept. 2010.
Cité page 20
- [58] Y.-R. Chang, H.-Y. Lee, K. Chen, C.-C. Chang, D.-S. Tsai, C.-C. Fu, T.-S. Lim, Y.-K. Tzeng, C.-Y. Fang, C.-C. Han, H.-C. Chang, and W. Fann, “Mass production and dynamic imaging of fluorescent nanodiamonds.,” *Nature nanotechnology*, vol. 3, pp. 284–8, May 2008.
2 citations pages 20 et 21
- [59] J.-I. I. Chao, E. Perevedentseva, P.-H. Chung, K.-K. Liu, C.-L. C.-Y. Cheng, and C.-C. Chang, “Nanometer-sized diamond particle as a probe for biolabeling.,” *Biophysical journal*, vol. 93, pp. 2199–208, Sept. 2007.
Cité page 21
- [60] C.-C. Fu, H.-Y. Lee, K. Chen, T.-S. Lim, H.-Y. Wu, P.-K. Lin, P.-K. Wei, P.-H. Tsao, H.-C. Chang, and W. Fann, “Characterization and application of single fluorescent nanodiamonds as cellular biomarkers.,” *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 104, pp. 727–32, Jan. 2007.
Cité page 21
- [61] A. S. Barnard, “Diamond standard in diagnostics : nanodiamond biolabels make their mark,” *The Analyst*, vol. 134, pp. 1751–1764, Sept. 2009.
Cité page 21
- [62] O. Faklaris, D. Garrot, V. Joshi, F. Druon, J.-P. Boudou, T. Sauvage, P. Georges, P. A. Curmi, and F. Treussart, “Detection of single photoluminescent diamond nanoparticles in cells and study of the internalization pathway.,” *Small*, vol. 4, pp. 2236–9, Dec. 2008.
Cité page 21
- [63] O. Faklaris, V. Joshi, T. Irinopoulou, P. Tauc, M. Sennour, . H. Girard, J.-C. Arnault, A. Thorel, J.-P. Boudou, and P. A. Curmi, “Nanoparticles for Cell Labeling : Study of,” *ACS Nano*, vol. 3, no. 12, pp. 3955–3962, 2009. *2 citations pages 21 et 160*
- [64] V. Petráková, A. Taylor, I. Kratochvílová, F. Fendrych, J. Vacík, J. Kučka, J. Štursa, P. Cígler, M. Ledvina, A. Fišerová, P. Knepko, and M. Nesládek, “Luminescence of Nanodiamond Driven by Atomic Functionalization : Towards Novel Detection Principles,” *Advanced Functional Materials*, vol. 22, pp. 812–819, Feb. 2012.
2 citations pages 21 et 101
- [65] C. Bradac, T. Gaebel, N. Naidoo, M. J. Sellars, J. Twamley, L. J. Brown, a. S. Barnard, T. Plakhotnik, a. V. Zvyagin, and J. R. Rabeau, “Observation and control of blinking nitrogen-vacancy centres in discrete nanodiamonds.,” *Nature nanotechnology*, pp. 1–5, Apr. 2010.
Cité page 21

- [66] Y.-C. Lin, E. Perevedentseva, L.-W. Tsai, K.-T. Wu, and C.-L. Cheng, “Nanodiamond for intracellular imaging in the microorganisms in vivo.,” *Journal of biophotonics*, vol. 5, pp. 838–47, Nov. 2012. *2 citations pages 21 et 23*
- [67] G. Balasubramanian, I. Y. Chan, R. Kolesov, M. Al-Hmoud, J. Tisler, C. Shin, C. Kim, A. Wojcik, P. R. Hemmer, A. Krueger, T. Hanke, A. Leitenstorfer, R. Bratschitsch, F. Jelezko, and J. Wrachtrup, “Nanoscale imaging magnetometry with diamond spins under ambient conditions.,” *Nature*, vol. 455, pp. 648–51, Oct. 2008. *Cité page 21*
- [68] J. R. Maze, P. L. Stanwix, J. S. Hodges, S. Hong, J. M. Taylor, P. Cappellaro, L. Jiang, M. V. G. Dutt, E. Togan, A. S. Zibrov, A. Yacoby, R. L. Walsworth, and M. D. Lukin, “Nanoscale magnetic sensing with an individual electronic spin in diamond.,” *Nature*, vol. 455, pp. 644–7, Oct. 2008. *Cité page 21*
- [69] F. Dolde, H. Fedder, M. W. Doherty, T. Nöbauer, F. Rempp, G. Balasubramanian, T. Wolf, F. Reinhard, L. C. L. Hollenberg, F. Jelezko, and J. Wrachtrup, “Electric-field sensing using single diamond spins,” *Nature Physics*, vol. 7, pp. 459–463, Apr. 2011. *Cité page 21*
- [70] R. Igarashi, Y. Yoshinari, H. Yokota, T. Sugi, F. Sugihara, K. Ikeda, H. Sumiya, S. Tsuji, I. Mori, H. Tochio, Y. Harada, and M. Shirakawa, “Real-time background-free selective imaging of fluorescent nanodiamonds in vivo.,” *Nano letters*, vol. 12, pp. 5726–32, Nov. 2012. *Cité page 21*
- [71] L. P. McGuinness, Y. Yan, a. Stacey, D. a. Simpson, L. T. Hall, D. Maclaurin, S. Praver, P. Mulvaney, J. Wrachtrup, F. Caruso, R. E. Scholten, and L. C. L. Hollenberg, “Quantum measurement and orientation tracking of fluorescent nanodiamonds inside living cells,” *Nature Nanotechnology*, pp. 1–6, May 2011. *Cité page 21*
- [72] M. Kopecek, L. Bacakova, J. Vacik, F. Fendrych, V. Vorlicek, I. Kratochvilova, V. Lisa, E. Van Hove, C. Mer, P. Bergonzo, and M. Nesladek, “Improved adhesion, growth and maturation of human bone-derived cells on nanocrystalline diamond films,” *physica status solidi (a)*, vol. 205, pp. 2146–2153, Sept. 2008. *Cité page 21*
- [73] C. G. Specht, O. A. Williams, R. B. Jackman, and R. Schoepfer, “Ordered growth of neurons on diamond.,” *Biomaterials*, vol. 25, pp. 4073–8, Aug. 2004. *Cité page 21*
- [74] A. Thalhammer, R. J. Edgington, L. A. Cingolani, R. Schoepfer, and R. B. Jackman, “The use of nanodiamond monolayer coatings to promote the formation of functional neuronal networks.,” *Biomaterials*, vol. 31, pp. 2097–104, Mar. 2010. *Cité page 21*
- [75] A. M. Schrand, H. J. Huang, C. Carlson, J. J. Schlager, E. Osawa, S. M. Hussain, and L. M. Dai, “Are diamond nanoparticles cytotoxic?,” *Journal of Physical Chemistry B*, vol. 111, no. 1, pp. 2–7, 2007. *2 citations pages 21 et 152*

- [76] X. Zhang, W. Hu, J. Li, L. Tao, and Y. Wei, "A comparative study of cellular uptake and cytotoxicity of multi-walled carbon nanotubes, graphene oxide, and nanodiamond," *Toxicology Research*, vol. 1, p. 62, July 2012.
5 citations pages 21, 22, 152, 160, et 173
- [77] A. Nel, T. Xia, L. Madler, and N. Li, "Toxic potential of materials at the nanolevel," *Science*, vol. 311, pp. 622–627, 2006.
2 citations pages 22 et 165
- [78] N. Mohan, C.-S. Chen, H.-H. Hsieh, Y.-C. Wu, and H.-C. Chang, "In vivo imaging and toxicity assessments of fluorescent nanodiamonds in *Caenorhabditis elegans*," *Nano letters*, vol. 10, pp. 3692–9, Sept. 2010.
2 citations pages 23 et 152
- [79] L. Marcon, F. Riquet, D. Vicogne, S. Szunerits, J.-F. Bodart, and R. Boukherroub, "Cellular and in vivo toxicity of functionalized nanodiamond in *Xenopus* embryos," *Journal of Materials Chemistry*, vol. 20, no. 37, p. 8064, 2010.
2 citations pages 23 et 122
- [80] Y. Yuan, X. Wang, G. Jia, J.-H. Liu, T. Wang, Y. Gu, S.-T. Yang, S. Zhen, H. Wang, and Y. Liu, "Pulmonary toxicity and translocation of nanodiamonds in mice," *Diamond and Related Materials*, vol. 19, pp. 291–299, Apr. 2010.
2 citations pages 23 et 152
- [81] V. Vaijayanthimala, P.-Y. Cheng, S.-H. Yeh, K.-K. Liu, C.-H. Hsiao, J.-I. Chao, and H.-C. Chang, "The long-term stability and biocompatibility of fluorescent nanodiamond as an in vivo contrast agent," *Biomaterials*, vol. 33, pp. 7794–802, Nov. 2012.
Cité page 23
- [82] A. M. Schrand, S. a. C. Hens, and O. A. Shenderova, "Nanodiamond Particles : Properties and Perspectives for Bioapplications," *Critical Reviews in Solid State and Materials Sciences*, vol. 34, pp. 18–74, Jan. 2009.
3 citations pages 23, 24, et 30
- [83] A. Puzyr, D. Neshumayev, S. Tarskikh, G. Makarskaya, V. Dolmatov, and V. Bondar, "Destruction of human blood cells in interaction with detonation nanodiamonds in experiments in vitro," *Diamond and Related Materials*, vol. 13, pp. 2020–2023, Nov. 2004.
Cité page 23
- [84] Y. Xing, W. Xiong, L. Zhu, E. Osawa, S. Hussin, and L. Dai, "DNA damage in embryonic stem cells caused by nanodiamonds," *ACS nano*, vol. 5, pp. 2376–84, Mar. 2011.
Cité page 23
- [85] Y. Morita, T. Takimoto, H. Yamanaka, K. Kumekawa, S. Morino, S. Aonuma, T. Kimura, and N. Komatsu, "A facile and scalable process for size-controllable separation of nanodiamond particles as small as 4 nm," *Small*, vol. 4, pp. 2154–7, Dec. 2008.
2 citations pages 23 et 120

- [86] O. A. Williams, J. Hees, C. Dieker, W. Jäger, L. Kirste, and C. E. Nebel, "Size-Dependent Reactivity of Diamond Nanoparticles," *ACS Nano*, vol. 4, pp. 4824–4830, Aug. 2010. *6 citations pages 23, 28, 73, 120, 122, et 188*
- [87] H. a. Girard, S. Perruchas, C. Gesset, M. Chaigneau, L. Vieille, J.-C. Arnault, P. Bergonzo, J.-P. Boilot, and T. Gacoin, "Electrostatic grafting of diamond nanoparticles : a versatile route to nanocrystalline diamond thin films.," *ACS applied materials & interfaces*, vol. 1, pp. 2738–46, Dec. 2009. *Cité page 23*
- [88] J. Hees, A. Kriele, and O. A. Williams, "Electrostatic self-assembly of diamond nanoparticles," *Chemical Physics Letters*, vol. 509, pp. 12–15, June 2011. *Cité page 23*
- [89] L.-C. L. C. L. Huang and H.-C. Chang, "Adsorption and immobilization of cytochrome c on nanodiamonds.," *Langmuir*, vol. 20, pp. 5879–84, July 2004. *Cité page 23*
- [90] O. Shenderova, A. Koscheev, N. Zaripov, I. Petrov, Y. Skryabin, P. Detkov, S. Turner, and G. Van Tendeloo, "Surface Chemistry and Properties of Ozone-Purified Detonation Nanodiamonds," *The Journal of Physical Chemistry C*, vol. 115, no. 20, pp. 9827–9837, 2011. *3 citations pages 23, 77, et 93*
- [91] N. Gibson, O. Shenderova, T. J. M. Luo, S. Moseenkov, V. Bondar, a. Puzyr, K. Purto, Z. Fitzgerald, and D. W. Brenner, "Colloidal stability of modified nanodiamond particles," *Diamond and Related Materials*, vol. 18, pp. 620–626, Apr. 2009. *2 citations pages 23 et 122*
- [92] K. Kokubo, K. Matsubayashi, H. Tategaki, H. Takada, and T. Oshima, "Facile synthesis of highly water-soluble fullerenes more than half-covered by hydroxyl groups.," *ACS nano*, vol. 2, pp. 327–33, Feb. 2008. *Cité page 24*
- [93] L. Pospíšil, M. Gál, M. Hromadová, J. Bulíčková, V. Kolivoška, J. Cvačka, K. Nováková, L. Kavan, M. Zúkalová, and L. Dunsch, "Search for the form of fullerene C(60) in aqueous medium.," *Physical chemistry chemical physics*, vol. 12, pp. 14095–101, Nov. 2010. *Cité page 24*
- [94] Y.-F. Li, C.-I. Hung, C.-C. Li, W. Chin, B.-Y. Wei, and W.-K. Hsu, "A gas-phase hydrophilization of carbon nanotubes by xenon excimer ultraviolet irradiation," *Journal of Materials Chemistry*, vol. 19, no. 37, p. 6761, 2009. *Cité page 24*
- [95] P. N. Volpe, N. Tranchant, J. C. Arnault, S. Saada, F. Jomard, and P. Bergonzo, "Ultra-sharp boron interfaces for delta doped diamond structures," *physica status solidi (RRL) - Rapid Research Letters*, vol. 6, pp. 59–61, Feb. 2012. *Cité page 24*
- [96] Y. V. Pleskov, "Electrochemistry of Diamond : A Review," *Russian Journal of Electrochemistry*, vol. 38, no. 12, pp. 1275–1291, 2002. *2 citations pages 24 et 145*

- [97] Y. Wang, M. Jaiswal, M. Lin, S. Saha, B. Ozyilmaz, and K. P. Loh, "Electronic properties of nanodiamond decorated graphene.," *ACS nano*, vol. 6, pp. 1018–25, Feb. 2012. *2 citations pages 24 et 33*
- [98] V. L. Kuznetsov, Y. V. Butenko, A. L. Chuvilin, A. I. Romanenko, and A. V. Okotrub, "Electrical resistivity of graphitized ultra-disperse diamond and onion-like carbon," *Chemical Physics Letters*, vol. 336, pp. 397–404, Mar. 2001. *Cité page 24*
- [99] V. V. Zhirnov, O. M. Kuttel, O. Groning, A. N. Alimova, P. Y. Detkov, P. I. Belobrov, E. Maillard-Schaller, and L. Schlapbach, "Characterization of field emission cathodes with different forms of diamond coatings," *Journal of Vacuum Science & Technology B : Microelectronics and Nanometer Structures*, vol. 17, p. 666, Mar. 1999. *Cité page 24*
- [100] F. Le Normand, C. S. Cojocar, C. Fleaca, J. Q. Li, P. Vincent, G. Pirio, L. Gangloff, Y. Nedellec, and P. Legagneux, "A comparative study of the field emission properties of aligned carbon nanostructures films, from carbon nanotubes to diamond," *The European Physical Journal Applied Physics*, vol. 38, pp. 115–127, May 2007. *Cité page 24*
- [101] K. B. Holt, C. Ziegler, D. J. Caruana, J. Zang, E. J. Millán-Barrios, J. Hu, J. S. Foord, and E. J. Millan-Barrios, "Redox properties of undoped 5 nm diamond nanoparticles," *Physical Chemistry Chemical Physics*, vol. 10, pp. 303–310, Jan. 2008. *2 citations pages 24 et 145*
- [102] K. B. Holt, C. Ziegler, J. Zang, J. Hu, and J. S. Foord, "Scanning Electrochemical Microscopy Studies of Redox Processes at Undoped Nanodiamond Surfaces," *The Journal of Physical Chemistry C*, vol. 113, pp. 2761–2770, Feb. 2009. *2 citations pages 24 et 145*
- [103] K. B. Holt, D. J. Caruana, E. J. Millán-Barrios, and E. J. Millán-Barrios, "Electrochemistry of Undoped Diamond Nanoparticles : Accessing Surface Redox States," *Journal of the American Chemical Society*, vol. 131, pp. 11272–11273, Aug. 2009. *2 citations pages 24 et 145*
- [104] J. Scholz, A. J. McQuillan, and K. B. Holt, "Redox transformations at nanodiamond surfaces revealed by in situ infrared spectroscopy.," *Chemical communications*, vol. 47, pp. 12140–2, Nov. 2011. *Cité page 24*
- [105] S. S. Batsanov, S. M. Gavrilkin, A. S. Batsanov, K. B. Poyarkov, I. I. Kulakova, D. W. Johnson, and B. G. Mendis, "Giant dielectric permittivity of detonation-produced nanodiamond is caused by water," *Journal of Materials Chemistry*, vol. 22, no. 22, p. 11166, 2012. *5 citations pages 25, 31, 107, 109, et 128*

- [106] J.-Y. Raty, G. Galli, C. Bostedt, T. W. van Buuren, and L. J. Terminello, “Quantum Confinement and Fullerene-like Surface Reconstructions in Nanodiamonds,” *Physical Review Letters*, vol. 90, p. 37401, Jan. 2003. *3 citations pages 26, 84, et 89*
- [107] V. L. Kuznetsov, I. L. Zilberberg, Y. V. Butenko, a. L. Chuvilin, and B. Segall, “Theoretical study of the formation of closed curved graphite-like structures during annealing of diamond surface,” *Journal of Applied Physics*, vol. 86, no. 2, p. 863, 1999. *5 citations pages 26, 28, 89, 90, et 91*
- [108] Y. V. Butenko, S. Krishnamurthy, a. K. Chakraborty, V. L. Kuznetsov, V. R. Dhanak, M. R. C. Hunt, L. Scaroniller, and L. Šiller, “Photoemission study of onionlike carbons produced by annealing nanodiamonds,” *Physical Review B*, vol. 71, p. 75420, Feb. 2005. *2 citations pages 26 et 83*
- [109] A. Krueger and D. Lang, “Functionality is Key : Recent Progress in the Surface Modification of Nanodiamond,” *Advanced Functional Materials*, vol. 22, pp. 890–906, Mar. 2012. *3 citations pages 26, 27, et 29*
- [110] X. Fang, J. Mao, E. M. Levin, and K. Schmidt-Rohr, “Nonaromatic core-shell structure of nanodiamond from solid-state NMR spectroscopy,” *Journal of the American Chemical Society*, vol. 131, pp. 1426–35, Feb. 2009. *2 citations pages 27 et 66*
- [111] R. Martín, P. C. Heydorn, M. Alvaro, and H. Garcia, “General Strategy for High-Density Covalent Functionalization of Diamond Nanoparticles Using Fenton Chemistry,” *Chemistry of Materials*, vol. 21, pp. 4505–4514, Oct. 2009. *Cité page 27*
- [112] R. Martín, M. Alvaro, and H. García, “Fenton-Treated Functionalized Diamond Nanoparticles as Gene Delivery System,” *ACS Nano*, vol. 4, pp. 65–74, Jan. 2010. *Cité page 27*
- [113] A. Krueger, “The structure and reactivity of nanoscale diamond,” *Journal of Materials Chemistry*, vol. 18, p. 1485, Feb. 2008. *3 citations pages 27, 45, et 49*
- [114] A. Krueger, M. Ozawa, G. Jarre, Y. Liang, J. Stegk, and L. Lu, “Deagglomeration and functionalisation of detonation diamond,” *Physica Status Solidi (a)*, vol. 204, pp. 2881–2887, Sept. 2007. *Cité page 27*
- [115] O. Shenderova, A. M. Panich, S. Moseenkov, S. C. Hens, V. Kuznetsov, and H. M. Vieth, “Hydroxylated Detonation Nanodiamond : FTIR, XPS, and NMR Studies,” *The Journal of Physical Chemistry C*, vol. 115, no. 39, pp. 19005–19011, 2011. *4 citations pages 27, 68, 69, et 137*
- [116] S. Osswald, G. Yushin, V. Mochalin, S. O. Kucheyev, and Y. Gogotsi, “Control of sp²/sp³ Carbon Ratio and Surface Chemistry of Nanodiamond Powders by Selective Oxidation in Air,” *Journal of the American Chemical Society*, vol. 128, no. 35, pp. 11635–11642, 2006. *4 citations pages 28, 35, 70, et 72*

- [117] O. Shenderova, I. Petrov, J. Walsh, V. Grichko, V. Grishko, T. Tyler, and G. Cunningham, "Modification of detonation nanodiamonds by heat treatment in air," *Diamond and Related Materials*, vol. 15, pp. 1799–1803, Nov. 2006.
2 citations pages 28 et 35
- [118] D. Mitev, R. Dimitrova, M. Spassova, C. Minchev, and S. Stavrev, "Surface peculiarities of detonation nanodiamonds in dependence of fabrication and purification methods," *Diamond and Related Materials*, vol. 16, pp. 776–780, Apr. 2007.
2 citations pages 28 et 35
- [119] Y. Liu, Z. Gu, J. L. Margrave, and V. N. Khabashesku, "Functionalization of Nanoscale Diamond Powder : Fluoro-, Alkyl-, Amino-, and Amino Acid-Nanodiamond Derivatives," *Chemistry of Materials*, vol. 16, pp. 3924–3930, Sept. 2004. *Cité page 28*
- [120] B. Spitsyn, S. Denisov, N. Skorik, A. Chopurova, S. Parkaeva, L. Belyakova, and O. Larionov, "The physical and chemical study of detonation nanodiamond application in adsorption and chromatography," *Diamond and Related Materials*, vol. 19, pp. 123–127, Feb. 2010. *Cité page 28*
- [121] M. A. Ray, O. Shenderova, W. Hook, A. Martin, V. Grishko, T. Tyler, G. B. Cunningham, and G. McGuire, "Cold plasma functionalization of nanodiamond particles," *Diamond and Related Materials*, vol. 15, no. 11-12, pp. 1809–1812, 2006.
Cité page 28
- [122] H. A. Girard, J. C. Arnault, S. Perruchas, S. Saada, T. Gacoin, J.-P. P. Boilot, and P. Bergonzo, "Hydrogenation of nanodiamonds using MPCVD : A new route toward organic functionalization," *Diamond and Related Materials*, vol. 19, pp. 1117–1123, July 2010.
2 citations pages 28 et 42
- [123] W. S. Yeap, S. Chen, and K. P. Loh, "Detonation Nanodiamond : An Organic Platform for the Suzuki Coupling of Organic Molecules," *Langmuir*, vol. 25, no. 1, pp. 185–191, 2009. *Cité page 28*
- [124] F. Y. Xie, W. G. Xie, L. Gong, W. H. Zhang, S. H. Chen, Q. Z. Zhang, and J. Chen, "Surface characterization on graphitization of nanodiamond powder annealed in nitrogen ambient," *Surface and Interface Analysis*, vol. 42, no. 9, pp. 1514–1518, 2010. *Cité page 28*
- [125] D. Pech, M. Brunet, H. Durou, P. Huang, V. Mochalin, Y. Gogotsi, P.-L. Taberna, and P. Simon, "Ultra-high-power micrometre-sized supercapacitors based on onion-like carbon," *Nature nanotechnology*, vol. 5, pp. 651–4, Sept. 2010.
2 citations pages 28 et 114
- [126] I. Kovalenko, D. G. Bucknall, and G. Yushin, "Detonation Nanodiamond and Onion-Like-Carbon-Embedded Polyaniline for Supercapacitors," *Advanced Functional Materials*, vol. 20, pp. 3979–3986, Nov. 2010. *2 citations pages 28 et 114*

- [127] Y. V. Butenko, V. L. Kuznetsov, a. L. Chuvilin, V. N. Kolomiichuk, S. V. Stankus, R. a. Khairulin, and B. Segall, "Kinetics of the graphitization of dispersed diamonds at low temperatures," *Journal of Applied Physics*, vol. 88, no. 7, p. 4380, 2000.
2 citations pages 28 et 87
- [128] T. Meinhardt, D. Lang, H. Dill, and A. Krueger, "Pushing the Functionality of Diamond Nanoparticles to New Horizons : Orthogonally Functionalized Nanodiamond Using Click Chemistry," *Advanced Functional Materials*, vol. 21, pp. 494–500, Feb. 2011.
4 citations pages 28, 29, 84, et 93
- [129] G. Jarre, Y. Liang, P. Betz, D. Lang, and A. Krueger, "Playing the surface game-Diels-Alder reactions on diamond nanoparticles.," *Chemical communications*, vol. 47, pp. 544–6, Jan. 2011.
3 citations pages 28, 29, et 93
- [130] D. Lang and A. Krueger, "The Prato reaction on nanodiamond : Surface functionalization by formation of pyrrolidine rings," *Diamond and Related Materials*, vol. 20, pp. 101–104, Feb. 2011.
3 citations pages 28, 29, et 93
- [131] J. Zhang, D. S. Su, R. Blume, R. Schlögl, R. Wang, X. Yang, and A. Gajović, "Surface Chemistry and Catalytic Reactivity of a Nanodiamond in the Steam-Free Dehydrogenation of Ethylbenzene," *Angewandte Chemie International Edition*, vol. 49, pp. 8640–8644, Nov. 2010.
Cité page 28
- [132] K. Nakagawa, K. Okumura, T. Shimamura, N.-o. Ikenaga, T. Suzuki, T. Kobayashi, M. Nishitani-Gamo, and T. Ando, "Novel Selective Oxidation of Light Alkanes Using Carbon Dioxide. Oxidized Diamond as a Novel Catalytic Medium," *Chemistry Letters*, vol. 32, no. 9, pp. 866–867, 2003.
Cité page 28
- [133] T. Tsoncheva, V. Mavrodinova, L. Ivanova, M. Dimitrov, S. Stavrev, and C. Minchev, "Nickel modified ultrananosized diamonds and their application as catalysts in methanol decomposition," *Journal of Molecular Catalysis A : Chemical*, vol. 259, pp. 223–230, Nov. 2006.
Cité page 28
- [134] T. Tsoncheva, L. Ivanova, D. Paneva, M. Dimitrov, I. Mitov, S. Stavrev, and C. Minchev, "Iron-oxide-modified nanosized diamond : preparation, characterization, and catalytic properties in methanol decomposition.," *Journal of colloid and interface science*, vol. 302, pp. 492–500, Oct. 2006.
Cité page 28
- [135] X. Shi, X. Jiang, L. Lu, X. Yang, and X. Wang, "Structure and catalytic activity of nanodiamond/Cu nanocomposites," *Materials Letters*, vol. 62, pp. 1238–1241, Mar. 2008.
Cité page 28
- [136] R. Martín, C. Menchón, N. Apostolova, V. M. Victor, M. Alvaro, J. R. Herance, and H. García, "Nano-jewels in biology. Gold and platinum on diamond nanoparticles as antioxidant systems against cellular oxidative stress.," *ACS nano*, vol. 4, pp. 6957–65, Nov. 2010.
Cité page 29

- [137] I. P. Chang, K. C. Hwang, and C.-S. Chiang, "Preparation of fluorescent magnetic nanodiamonds and cellular imaging.," *Journal of the American Chemical Society*, vol. 130, pp. 15476–81, Nov. 2008. *Cité page 29*
- [138] L. M. Manus, D. J. Mastarone, E. a. Waters, X.-Q. Zhang, E. a. Schultz-Sikma, K. W. Macrenaris, D. Ho, and T. J. Meade, "Gd(III)-Nanodiamond Conjugates for MRI Contrast Enhancement," *Nano Letters*, vol. 10, pp. 484–489, Feb. 2009. *3 citations pages 29, 32, et 149*
- [139] A. I. Shames, A. M. Panich, V. Y. Osipov, A. E. Aleksenskiy, A. Y. Vul', T. Enoki, and K. Takai, "Structure and magnetic properties of detonation nanodiamond chemically modified by copper," *Journal of Applied Physics*, vol. 107, no. 1, p. 014318, 2010. *2 citations pages 29 et 122*
- [140] Z.-Y. Lien, T.-C. Hsu, K.-K. Liu, W.-S. Liao, K.-C. Hwang, and J.-I. Chao, "Cancer cell labeling and tracking using fluorescent and magnetic nanodiamond.," *Biomaterials*, vol. 33, pp. 6172–85, Sept. 2012. *Cité page 29*
- [141] M. Mkandawire, A. Pohl, T. Gubarevich, V. Lapina, D. Appelhans, G. Rödel, W. Pompe, J. Schreiber, and J. Opitz, "Selective targeting of green fluorescent nanodiamond conjugates to mitochondria in HeLa cells," *Journal of Biophotonics*, vol. 2, pp. 596–606, Oct. 2009. *Cité page 29*
- [142] S. A. Dahoumane, M. N. Nguyen, A. Thorel, J.-P. Boudou, M. M. Chehimi, and C. Mangeney, "Protein-Functionalized Hairy Diamond Nanoparticles," *Langmuir*, vol. 25, pp. 9633–9638, Sept. 2009. *Cité page 29*
- [143] X. Li, J. Shao, Y. Qin, C. Shao, T. Zheng, and L. Ye, "TAT-conjugated nanodiamond for the enhanced delivery of doxorubicin," *Journal of Materials Chemistry*, vol. 21, no. 22, p. 7966, 2011. *2 citations pages 29 et 31*
- [144] W. Yang, O. Auciello, J. E. Butler, W. Cai, J. A. Carlisle, J. E. Gerbi, D. M. Gruen, T. Knickerbocker, T. L. Lasseter, J. N. Russell, L. M. Smith, and R. J. Hamers, "DNA-modified nanocrystalline diamond thin-films as stable, biologically active substrates.," *Nature materials*, vol. 1, pp. 253–7, Dec. 2002. *Cité page 29*
- [145] C. Agnès, S. Ruffinatto, E. Delbarre, A. Roget, J.-C. Arnault, F. Omnès, and P. Mailley, "New one step functionalization of polycrystalline diamond films using amine derivatives," *IOP Conference Series : Materials Science and Engineering*, vol. 16, p. 012001, Nov. 2010. *Cité page 29*
- [146] Y. L. Zhong and K. P. Loh, "The chemistry of C-H bond activation on diamond.," *Chemistry, an Asian journal*, vol. 5, pp. 1532–40, July 2010. *2 citations pages 29 et 101*
- [147] H. A. Girard, T. Petit, S. Perruchas, T. Gacoin, C. Gesset, J.-C. C. Arnault, and P. Bergonzo, "Surface properties of hydrogenated nanodiamonds : a chemical in-

- vestigation.,” *Physical chemistry chemical physics*, vol. 13, pp. 11517–11523, May 2011. *3 citations pages 29, 94, et 101*
- [148] H. Huang, E. Pierstorff, E. Osawa, and D. Ho, “Active nanodiamond hydrogels for chemotherapeutic delivery.,” *Nano letters*, vol. 7, pp. 3305–14, Nov. 2007. *2 citations pages 30 et 149*
- [149] E. K. Chow, X.-q. X.-Q. Zhang, M. Chen, R. Lam, E. Robinson, H. Huang, D. Schaffer, E. Osawa, A. Goga, and D. Ho, “Nanodiamond Therapeutic Delivery Agents Mediate Enhanced Chemoresistant Tumor Treatment,” *Science Translational Medicine*, vol. 3, p. 73ra21, Mar. 2011. *3 citations pages 30, 31, et 149*
- [150] M. Chen, E. D. Pierstorff, R. Lam, S.-Y. Li, H. Huang, E. Osawa, and D. Ho, “Nanodiamond-Mediated Delivery of Water-Insoluble Therapeutics,” *Acs Nano*, vol. 3, pp. 2016–2022, July 2009. *Cité page 30*
- [151] R. A. Shimkunas, E. Robinson, R. Lam, S. Lu, X. Xu, X.-Q. Zhang, H. Huang, E. Osawa, and D. Ho, “Nanodiamond-insulin complexes as pH-dependent protein delivery vehicles,” *Biomaterials*, vol. 30, pp. 5720–5728, Oct. 2009. *Cité page 30*
- [152] A. H. Smith, E. M. Robinson, X.-Q. Zhang, E. K. Chow, Y. Lin, E. Osawa, J. Xi, and D. Ho, “Triggered release of therapeutic antibodies from nanodiamond complexes.,” *Nanoscale*, vol. 3, pp. 2844–8, July 2011. *Cité page 30*
- [153] X.-Q. Zhang, M. Chen, R. Lam, X. Xu, E. Osawa, and D. Ho, “Polymer-functionalized nanodiamond platforms as vehicles for gene delivery.,” *ACS nano*, vol. 3, pp. 2609–16, Sept. 2009. *4 citations pages 30, 31, 149, et 178*
- [154] M. Chen, X.-Q. Zhang, H. B. Man, R. Lam, E. K. Chow, and D. Ho, “Nanodiamond Vectors Functionalized with Polyethylenimine for siRNA Delivery,” *The Journal of Physical Chemistry Letters*, vol. 1, pp. 3167–3171, Nov. 2010. *2 citations pages 30 et 149*
- [155] A. Alhaddad, M.-P. Adam, J. Botsoa, G. Dantelle, S. Perruchas, T. Gacoin, C. Mansuy, S. Lavielle, C. Malvy, F. Treussart, and J.-R. Bertrand, “Nanodiamond as a Vector for siRNA Delivery to Ewing Sarcoma Cells,” *Small*, vol. 7, pp. 3087–3095, June 2011. *3 citations pages 30, 149, et 178*
- [156] K.-K. Liu, W.-W. Zheng, C.-C. Wang, Y.-C. Chiu, C.-L. Cheng, Y.-S. Lo, C. Chen, and J.-I. Chao, “Covalent linkage of nanodiamond-paclitaxel for drug delivery and cancer therapy.,” *Nanotechnology*, vol. 21, p. 315106, Aug. 2010. *Cité page 31*
- [157] B. Guan, F. Zou, and J. Zhi, “Nanodiamond as the pH-Responsive Vehicle for an Anticancer Drug,” *Small*, vol. 6, pp. 1514–1519, July 2010. *Cité page 31*
- [158] K. V. Purtov, a. I. Petunin, A. E. Burov, a. P. Puzyr, and V. S. Bondar, “Nanodiamonds as Carriers for Address Delivery of Biologically Active Substances,” *Nanoscale Research Letters*, vol. 5, pp. 631–636, Jan. 2010. *2 citations pages 31 et 150*

- [159] Y.-q. Li and X.-p. Zhou, “Transferrin-coupled fluorescence nanodiamonds as targeting intracellular transporters : An investigation of the uptake mechanism,” *Diamond and Related Materials*, vol. In Press,, pp. 1163–1167, Oct. 2010. *Cité page 31*
- [160] X.-Q. Zhang, R. Lam, X. Xu, E. K. Chow, H.-J. Kim, and D. Ho, “Multimodal Nanodiamond Drug Delivery Carriers for Selective Targeting, Imaging, and Enhanced Chemotherapeutic Efficacy,” *Advanced Materials*, vol. 23, no. 41, pp. 4770–4775, 2011. *Cité page 31*
- [161] C.-C. Chang, P.-H. Chen, H.-L. Chu, T.-C. Lee, C.-C. Chou, J.-I. Chao, C.-Y. Su, J. S. Chen, J.-S. Tsai, C.-M. Tsai, Y.-P. Ho, K. W. Sun, C.-L. Cheng, and F.-R. Chen, “Laser induced popcornlike conformational transition of nanodiamond as a nanoknife,” *Applied Physics Letters*, vol. 93, p. 033905, July 2008. *Cité page 31*
- [162] M.-F. Weng, B.-J. Chang, S.-Y. Chiang, N.-S. Wang, and H. Niu, “Cellular uptake and phototoxicity of surface-modified fluorescent nanodiamonds,” *Diamond and Related Materials*, vol. 22, pp. 96–104, Feb. 2012. *Cité page 31*
- [163] H. Soo Choi, W. Liu, P. Misra, E. Tanaka, J. P. Zimmer, B. Itty Ipe, M. G. Bawendi, and J. V. Frangioni, “Renal clearance of quantum dots,” *Nature Biotechnology*, vol. 25, no. 10, pp. 1165–1170, 2007. *Cité page 32*
- [164] J. van der Weide, Z. Zhang, P. Baumann, M. Wensell, J. Bernholc, and R. Nemanich, “Negative-electron-affinity effects on the diamond (100) surface,” *Physical Review B*, vol. 50, pp. 5803–5806, Aug. 1994. *2 citations pages 33 et 100*
- [165] M. Rutter and J. Robertson, “Ab initio calculation of electron affinities of diamond surfaces,” *Physical Review B*, vol. 57, pp. 9241–9245, Apr. 1998. *Cité page 33*
- [166] J. Cui, J. Ristein, and L. Ley, “Low-threshold electron emission from diamond,” *Physical Review B*, vol. 60, pp. 16135–16142, Dec. 1999. *Cité page 33*
- [167] C. Bandis and B. Pate, “Photoelectric emission from negative-electron-affinity diamond (111) surfaces : Exciton breakup versus conduction-band emission,” *Physical Review B*, vol. 52, pp. 12056–12071, Oct. 1995. *Cité page 33*
- [168] J. Yu, G. Liu, A. V. Sumant, V. Goyal, and A. A. Balandin, “Graphene-on-diamond devices with increased current-carrying capacity : carbon sp²-on-sp³ technology,” *Nano letters*, vol. 12, pp. 1603–8, Mar. 2012. *Cité page 33*
- [169] Y. Ma, Y. Dai, M. Guo, and B. Huang, “Graphene-diamond interface : Gap opening and electronic spin injection,” *Physical Review B*, vol. 85, p. 235448, June 2012. *2 citations pages 33 et 140*
- [170] D. Varshney, C. Venkateswara Rao, M. J.-F. Guinel, Y. Ishikawa, B. R. Weiner, and G. Morell, “Free standing graphene-diamond hybrid films and their electron emission properties,” *Journal of Applied Physics*, vol. 110, p. 044324, Aug. 2011. *Cité page 33*

- [171] Z. Markovic and V. Trajkovic, "Biomedical potential of the reactive oxygen species generation and quenching by fullerenes (C60).," *Biomaterials*, vol. 29, pp. 3561–73, Sept. 2008. *3 citations pages 33, 165, et 173*
- [172] V. Pichot, "An efficient purification method for detonation nanodiamonds," *Diamond and Related Materials*, vol. 17, pp. 13–22, Jan. 2008. *2 citations pages 35 et 105*
- [173] S. Zeppilli, J. Arnault, C. Gesset, P. Bergonzo, and R. Polini, "Thermal stability and surface modifications of detonation diamond nanoparticles studied with X-ray photoelectron spectroscopy," *Diamond and Related Materials*, vol. 19, pp. 846–853, July 2010. *2 citations pages 41 et 139*
- [174] J. Arnault, S. Saada, M. Nesladek, O. Williams, K. Haenen, P. Bergonzo, and E. Osawa, "Diamond nanoseeding on silicon : Stability under H2 MPCVD exposures and early stages of growth," *Diamond and Related Materials*, vol. 17, pp. 1143–1149, July 2008. *Cité page 41*
- [175] D. R. Baer and M. H. Engelhard, "XPS analysis of nanostructured materials and biological surfaces," *Journal of Electron Spectroscopy and Related Phenomena*, vol. 178–179, pp. 415–432, May 2010. *2 citations pages 47 et 48*
- [176] S. Tanuma, C. J. Powell, and D. R. Penn, "Calculations of electron inelastic mean free paths. IX. Data for 41 elemental solids over the 50 eV to 30 keV range," *Surface and Interface Analysis*, vol. 43, pp. 689–713, Mar. 2011. *Cité page 48*
- [177] J. A. Smith, M. Josowicz, M. Engelhard, D. R. Baer, and J. Janata, "Gold-polyaniline composites. Part II. Effects of nanometer sized particles.," *Physical chemistry chemical physics*, vol. 7, pp. 3619–25, Oct. 2005. *Cité page 48*
- [178] J. Scofield, "Hartree-Slater subshell photoionization cross-sections at 1254 and 1487 eV," *Journal of Electron Spectroscopy and Related Phenomena*, vol. 8, pp. 129–137, Jan. 1976. *Cité page 48*
- [179] D. Shirley, "High-Resolution X-Ray Photoemission Spectrum of the Valence Bands of Gold," *Physical Review B*, vol. 5, pp. 4709–4714, June 1972. *Cité page 48*
- [180] M. P. Seah, "Scattering in electron spectrometers, diagnosis and avoidance. I. Concentric hemispherical analysers," *Surface and Interface Analysis*, vol. 20, pp. 865–875, Oct. 1993. *2 citations pages 49 et 205*
- [181] S. Tanuma, C. J. Powell, and D. R. Penn, "Calculations of electron inelastic mean free paths," *Surface and Interface Analysis*, vol. 37, pp. 1–14, Jan. 2005. *Cité page 49*
- [182] A. Chavanne, "Hétéroépitaxie du diamant sur irridium," *Thèse*, 2011. *Cité page 50*

- [183] S. Ji, T. Jiang, K. Xu, and S. Li, "FTIR study of the adsorption of water on ultradispersed diamond powder surface," *Applied Surface Science*, vol. 133, pp. 231–238, Aug. 1998. *2 citations pages 50 et 68*
- [184] S. Brunauer, P. H. Emmett, and E. Teller, "Adsorption of Gases in Multimolecular Layers," *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 60, no. 2, pp. 309–319, 1938. *Cité page 54*
- [185] F. Rouquerol, L. Luciani, P. Llewellyn, R. Denoyel, and J. Rouquerol, "Texture des matériaux pulvérulents ou poreux," *Techniques de l'ingénieur. Analyse et caractérisation*, vol. P2, no. P1050, pp. p1050.1–p1050.24, 2003. *3 citations pages 54, 104, et 105*
- [186] A. Trouvé, "Ajustement de l'hydrophobicité de silices mésoporeuses organisées pour l'adsorption sélective de polluants organiques en présence d'eau," *Thèse*, 2010. *Cité page 54*
- [187] S. Sadewasser, P. Jelinek, C.-K. Fang, O. Custance, Y. Yamada, Y. Sugimoto, M. Abe, and S. Morita, "New Insights on Atomic-Resolution Frequency-Modulation Kelvin-Probe Force-Microscopy Imaging of Semiconductors," *Physical Review Letters*, vol. 103, p. 266103, Dec. 2009. *Cité page 54*
- [188] M. Nonnenmacher, M. P. O'Boyle, and H. K. Wickramasinghe, "Kelvin probe force microscopy," *Applied Physics Letters*, vol. 58, p. 2921, June 1991. *Cité page 55*
- [189] M. A. Salem, H. Mizuta, and S. Oda, "Probing electron charging in nanocrystalline Si dots using Kelvin probe force microscopy," *Applied Physics Letters*, vol. 85, p. 3262, Oct. 2004. *Cité page 55*
- [190] C. R. Barry, J. Gu, and H. O. Jacobs, "Charging process and Coulomb-force-directed printing of nanoparticles with sub-100-nm lateral resolution.," *Nano letters*, vol. 5, pp. 2078–84, Oct. 2005. *Cité page 55*
- [191] a. V. Delgado, F. González-Caballero, R. J. Hunter, L. K. Koopal, and J. Lyklema, "Measurement and Interpretation of Electrokinetic Phenomena (IUPAC Technical Report)," *Pure and Applied Chemistry*, vol. 77, no. 10, pp. 1753–1805, 2005. *Cité page 59*
- [192] S. Turner, O. I. Lebedev, O. Shenderova, I. I. Vlasov, J. Verbeeck, and G. Van Tendeloo, "Determination of Size, Morphology, and Nitrogen Impurity Location in Treated Detonation Nanodiamond by Transmission Electron Microscopy," *Advanced Functional Materials*, vol. 19, pp. 2116–2124, July 2009. *2 citations pages 63 et 66*
- [193] V. Pichot, O. Stephan, M. Comet, E. Fousson, J. Mory, K. March, and D. Spitzer, "High Nitrogen Doping of Detonation Nanodiamonds," *The Journal of Physical Chemistry C*, vol. 114, pp. 10082–10087, June 2010. *Cité page 65*

- [194] S. Ferro, M. Dal Colle, and A. De Battisti, "Chemical surface characterization of electrochemically and thermally oxidized boron-doped diamond film electrodes," *Carbon*, vol. 43, pp. 1191–1203, May 2005. *2 citations pages 66 et 70*
- [195] I. Kusunoki, M. Sakai, Y. Igari, S. Ishidzuka, T. Takami, T. Takaoka, M. Nishitani-Gamo, and T. Ando, "XPS study of nitridation of diamond and graphite with a nitrogen ion beam," *Surface Science*, vol. 492, pp. 315–328, Oct. 2001. *2 citations pages 66 et 83*
- [196] E. Vanhove, J. de Sanoit, J. C. Arnault, S. Saada, C. Mer, P. Mailley, P. Bergonzo, and M. Nesladek, "Stability of H-terminated BDD electrodes : an insight into the influence of the surface preparation," *physica status solidi (a)*, vol. 204, pp. 2931–2939, Sept. 2007. *Cité page 66*
- [197] A. I. Shames, A. M. Panich, W. Kempinski, A. E. Alexenskii, M. V. Baidakova, A. T. Dideikin, V. Y. Osipov, V. I. Siklitski, E. Osawa, M. Ozawa, and A. Y. Vul', "Defects and impurities in nanodiamonds : EPR, NMR and TEM study," *Journal of Physics and Chemistry of Solids*, vol. 63, pp. 1993–2001, Nov. 2002. *Cité page 66*
- [198] A. Fionov, A. Lund, W. Chen, N. Rozhkova, I. Buyanova, G. Emelayanova, L. Gorlenko, E. Golubina, E. Lokteva, and E. Osawa, "Paramagnetic centers in detonation nanodiamonds studied by CW and pulse EPR," *Chemical Physics Letters*, vol. 493, pp. 319–322, June 2010. *Cité page 66*
- [199] a.V. Okotrub, L. Bulusheva, V. Kuznetsov, a.V. Guselanikov, and a.L. Chuvilin, "Electronic state of nanodiamond/graphite interfaces," *Applied Physics A*, vol. 81, pp. 393–398, Mar. 2004. *Cité page 66*
- [200] C. L. Cheng, C. F. Chen, W. C. Shaio, D. S. Tsai, and K. H. Chen, "The CH stretching features on diamonds of different origins," *Diamond and Related Materials*, vol. 14, pp. 1455–1462, Sept. 2005. *4 citations pages 68, 69, 73, et 137*
- [201] J.-S. Tu, E. Perevedentseva, P.-H. Chung, and C.-L. Cheng, "Size-dependent surface CO stretching frequency investigations on nanodiamond particles.," *The Journal of chemical physics*, vol. 125, p. 174713, Nov. 2006. *Cité page 71*
- [202] W. L. Hsu, "Chemical erosion of graphite by hydrogen impact : A summary of the database relevant to diamond film growth," *Journal of Vacuum Science & Technology A : Vacuum, Surfaces, and Films*, vol. 6, p. 1803, May 1988. *Cité page 73*
- [203] W. A. Yarbrough, K. Tankala, M. Mecray, and T. DebRoy, "Hydrogen assisted heat transfer during diamond growth using carbon and tantalum filaments," *Applied Physics Letters*, vol. 60, p. 2068, Apr. 1992. *Cité page 73*
- [204] H. C. Barshilia and V. D. Vankar, "Concentration of atomic hydrogen in the ground state in a CH₄-H₂ microwave plasma," *Journal of Applied Physics*, vol. 80, p. 3694, Oct. 1996. *Cité page 73*

- [205] M. Yeganeh, P. Coxon, a. Brieva, V. Dhanak, L. Šiller, and Y. Butenko, “Atomic hydrogen treatment of nanodiamond powder studied with photoemission spectroscopy,” *Physical Review B*, vol. 75, pp. 1–8, Apr. 2007. 2 citations pages 75 et 83
- [206] D. Ballutaud, N. Simon, H. Girard, E. Rzepka, and B. Bouchet-Fabre, “Photoelectron spectroscopy of hydrogen at the polycrystalline diamond surface,” *Diamond and Related Materials*, vol. 15, pp. 716–719, Apr. 2006. 2 citations pages 75 et 101
- [207] R. Graupner, F. Maier, J. Ristein, L. Ley, and C. Jung, “High-resolution surface-sensitive C 1s core-level spectra of clean and hydrogen-terminated diamond (100) and (111) surfaces,” *Physical Review B*, vol. 57, pp. 12397–12409, May 1998. Cited page 82
- [208] J. Cui, J. Ristein, and L. Ley, “Dehydrogenation and the surface phase transition on diamond (111) : Kinetics and electronic structure,” *Physical Review B*, vol. 59, pp. 5847–5856, Feb. 1999. 3 citations pages 82, 83, et 84
- [209] N. Conway and W. Conway, N. M. J. Ferrari, A. C. Flewitt, A. Robertson, J. J. Milnea, W. I. Tagliaferro, A. Beyerc, “Defect and disorder reduction by annealing in hydrogenated tetrahedral amorphous carbon,” *Diamond and Related Materials*, vol. 9, pp. 765–770, May 2000. Cited page 84
- [210] A. Barnard, S. Russo, and I. Snook, “Coexistence of bucky diamond with nanodiamond and fullerene carbon phases,” *Physical Review B*, vol. 68, p. 073406, Aug. 2003. Cited page 84
- [211] L.-s. Li and X. Zhao, “Dangling bond-induced graphitization process on the (111) surface of diamond nanoparticles,” *The Journal of chemical physics*, vol. 134, p. 044711, Jan. 2011. 2 citations pages 85 et 90
- [212] H. C. Choi, S. Y. Kim, W. S. Jang, S. Y. Bae, J. Park, K. L. Kim, and K. Kim, “X-ray photoelectron spectroscopy studies of double-walled carbon nanotube bundles synthesized using thermal chemical vapor deposition,” *Chemical Physics Letters*, vol. 399, pp. 255–259, Nov. 2004. 2 citations pages 92 et 134
- [213] J. Ristein, F. Maier, M. Riedel, M. Stammer, and L. Ley, “Diamond surface conductivity experiments and photoelectron spectroscopy,” *Diamond and Related Materials*, vol. 10, pp. 416–422, Mar. 2001. Cited page 100
- [214] M. T. Edmonds, C. I. Pakes, S. Mammadov, W. Zhang, A. Tadich, J. Ristein, and L. Ley, “Work function, band bending, and electron affinity in surface conducting (100) diamond,” *physica status solidi (a)*, vol. 208, pp. 2062–2066, Sept. 2011. Cited page 101
- [215] D. Qi, W. Chen, X. Gao, L. Wang, S. Chen, K. P. Loh, and A. T. S. Wee, “Surface transfer doping of diamond (100) by tetrafluoro-tetracyanoquinodimethane.”

- Journal of the American Chemical Society*, vol. 129, pp. 8084–5, July 2007.
Cité page 101
- [216] W. Chen, D. Qi, X. Gao, and A. T. S. Wee, “Surface transfer doping of semiconductors,” *Progress in Surface Science*, vol. 84, pp. 279–321, Sept. 2009.
4 citations pages 101, 109, 126, et 127
- [217] R. Akhvlediani, S. Michaelson, and A. Hoffman, “Interaction of water molecules with bare and deuterated polycrystalline diamond surface studied by high resolution electron energy loss and X-ray photoelectron spectroscopies,” *Surface Science*, vol. 604, pp. 2129–2138, Nov. 2010.
3 citations pages 101, 107, et 139
- [218] A. Härtl, J. A. Garrido, S. Nowy, R. Zimmermann, C. Werner, D. Horinek, R. Netz, and M. Stutzmann, “The ion sensitivity of surface conductive single crystalline diamond,” *Journal of the American Chemical Society*, vol. 129, pp. 1287–92, Feb. 2007.
3 citations pages 101, 127, et 128
- [219] A. Galarneau, D. Desplandier, R. Dutartre, and F. Di Renzo, “Micelle-templated silicates as a test bed for methods of mesopore size evaluation,” *Microporous and Mesoporous Materials*, vol. 27, pp. 297–308, Feb. 1999.
Cité page 105
- [220] L. Lai and A. S. Barnard, “Interparticle Interactions and Self-Assembly of Functionalized Nanodiamonds,” *The Journal of Physical Chemistry Letters*, vol. 3, pp. 896–901, Apr. 2012.
3 citations pages 106, 188, et 196
- [221] T. A. Dolenko, S. A. Burikov, J. M. Rosenholm, O. A. Shenderova, and I. I. Vlasov, “Diamond–Water Coupling Effects in Raman and Photoluminescence Spectra of Nanodiamond Colloidal Suspensions,” *The Journal of Physical Chemistry C*, vol. 116, pp. 24314–24319, Nov. 2012.
2 citations pages 108 et 166
- [222] A. Trouvé, I. Batonneau-Gener, S. Valange, M. Bonne, and S. Mignard, “Tuning the hydrophobicity of mesoporous silica materials for the adsorption of organic pollutant in aqueous solution,” *Journal of hazardous materials*, vol. 201-202, pp. 107–14, Jan. 2012.
Cité page 109
- [223] L. Ostrovskaya, V. Perevertailo, V. Ralchenko, A. Dementjev, and O. Loginova, “Wettability and surface energy of oxidized and hydrogen plasma-treated diamond films,” *Diamond and Related Materials*, vol. 11, pp. 845–850, Mar. 2002.
2 citations pages 109 et 186
- [224] O. Leenaerts, B. Partoens, and F. Peeters, “Water on graphene : Hydrophobicity and dipole moment using density functional theory,” *Physical Review B*, vol. 79, p. 235440, June 2009.
Cité page 109
- [225] B. Rotenberg, A. J. Patel, and D. Chandler, “Molecular explanation for why talc surfaces can be both hydrophilic and hydrophobic,” *Journal of the American Chemical Society*, vol. 133, pp. 20521–7, Dec. 2011.
Cité page 109

- [226] D. Bonthuis, S. Gekle, and R. Netz, “Dielectric Profile of Interfacial Water and its Effect on Double-Layer Capacitance,” *Physical Review Letters*, vol. 107, p. 166102, Oct. 2011. *2 citations pages 109 et 187*
- [227] M. V. Korobov, D. S. Volkov, N. V. Avramenko, L. A. Belyaeva, P. I. Semenyuk, and M. A. Proskurnin, “Improving the Dispersity of Detonation Nanodiamond : Differential Scanning Calorimetry as a new method of controlling the aggregation state of nanodiamond powders.,” *Nanoscale*, 2012. *2 citations pages 109 et 187*
- [228] G. Chopra and M. Levitt, “Remarkable patterns of surface water ordering around polarized buckminsterfullerene.,” *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 108, pp. 14455–60, Aug. 2011. *Cité page 109*
- [229] M. S. Amer and W. Wang, “Effect of Fullerene Nanospheres on Water Evaporation Kinetics and First-Order Thermal Transitions,” *The Journal of Physical Chemistry C*, vol. 116, pp. 8216–8222, Apr. 2012. *Cité page 109*
- [230] V. Chakrapani, J. C. Angus, A. B. Anderson, S. D. Wolter, B. R. Stoner, and G. U. Sumanasekera, “Charge transfer equilibria between diamond and an aqueous oxygen electrochemical redox couple.,” *Science*, vol. 318, pp. 1424–30, Nov. 2007. *3 citations pages 109, 110, et 127*
- [231] B. Rezek and C. Nebel, “Kelvin force microscopy on diamond surfaces and devices,” *Diamond and Related Materials*, vol. 14, pp. 466–469, Mar. 2005. *Cité page 111*
- [232] B. Rezek, C. Sauerer, C. E. Nebel, M. Stutzmann, J. Ristein, L. Ley, E. Snidero, and P. Bergonzo, “Fermi level on hydrogen terminated diamond surfaces,” *Applied Physics Letters*, vol. 82, p. 2266, Apr. 2003. *3 citations pages 114, 128, et 205*
- [233] T. Yamauchi, M. Tabuchi, and A. Nakamura, “Size dependence of the work function in InAs quantum dots on GaAs(001) as studied by Kelvin force probe microscopy,” *Applied Physics Letters*, vol. 84, p. 3834, Apr. 2004. *Cité page 114*
- [234] S. Osswald, V. Mochalin, M. Havel, G. Yushin, and Y. Gogotsi, “Phonon confinement effects in the Raman spectrum of nanodiamond,” *Physical Review B*, vol. 80, p. 075419, Aug. 2009. *2 citations pages 114 et 128*
- [235] E. Verveniotis, A. Kromka, M. Ledinský, and B. Rezek, “How nanocrystalline diamond films become charged in nanoscale,” *Diamond and Related Materials*, vol. 24, pp. 39–43, Apr. 2012. *Cité page 115*
- [236] K. Okano, S. Koizumi, S. R. P. Silva, and G. A. J. Amaratunga, “Low-threshold cold cathodes made of nitrogen-doped chemical-vapour-deposited diamond,” *Nature*, vol. 381, pp. 140–141, May 1996. *Cité page 116*
- [237] E. Walter, F ; Bouapep, “Medical Physiology : A Cellular And Molecular Approach,” 2004. *Cité page 124*

- [238] D. Ballutaud, T. Kociniewski, J. Vigneron, N. Simon, and H. Girard, "Hydrogen incorporation, bonding and stability in nanocrystalline diamond films," *Diamond and Related Materials*, vol. 17, pp. 1127–1131, July 2008. *Cité page 127*
- [239] F. Maier, J. Ristein, and L. Ley, "Electron affinity of plasma-hydrogenated and chemically oxidized diamond (100) surfaces," *Physical Review B*, vol. 64, Oct. 2001. *Cité page 128*
- [240] C. E. Nebel, N. Yang, H. Uetsuka, T. Yamada, and H. Watanabe, "Quantized electronic properties of diamond," *Journal of Applied Physics*, vol. 103, p. 013712, Jan. 2008. *Cité page 128*
- [241] J. Ristein, W. Zhang, and L. Ley, "Hydrogen-terminated diamond electrodes. I. Charges, potentials, and energies," *Physical Review E*, vol. 78, p. 041602, Oct. 2008. *Cité page 128*
- [242] N. A. Vinogradov, K. Schulte, M. L. Ng, A. Mikkelsen, E. Lundgren, N. Martensson, and A. B. Preobrajenski, "Impact of Atomic Oxygen on the Structure of Graphene Formed on Ir(111) and Pt(111)," *The Journal of Physical Chemistry C*, vol. 115, pp. 9568–9577, May 2011. *2 citations pages 133 et 134*
- [243] R. Larciprete, P. Lacovig, S. Gardonio, A. Baraldi, and S. Lizzit, "Atomic Oxygen on Graphite : Chemical Characterization and Thermal Reduction," *The Journal of Physical Chemistry C*, vol. 116, pp. 9900–9908, May 2012. *Cité page 133*
- [244] M. Z. Hossain, J. E. Johns, K. H. Bevan, H. J. Karmel, Y. T. Liang, S. Yoshimoto, K. Mukai, T. Koitaya, J. Yoshinobu, M. Kawai, A. M. Lear, L. L. Kesmodel, S. L. Tait, and M. C. Hersam, "Chemically homogeneous and thermally reversible oxidation of epitaxial graphene.," *Nature chemistry*, vol. 4, pp. 305–9, Apr. 2012. *Cité page 133*
- [245] G. Dukovic, B. E. White, Z. Zhou, F. Wang, S. Jockusch, M. L. Steigerwald, T. F. Heinz, R. A. Friesner, N. J. Turro, and L. E. Brus, "Reversible surface oxidation and efficient luminescence quenching in semiconductor single-wall carbon nanotubes.," *Journal of the American Chemical Society*, vol. 126, pp. 15269–15276, Nov. 2004. *3 citations pages 136, 140, et 141*
- [246] S. Biniak, G. Szymaski, J. Siedlewskia, and A. Świątkowski, "The characterization of activated carbons with oxygen and nitrogen surface groups," *Carbon*, vol. 35, no. 12, pp. 1799–1810, 1997. *Cité page 137*
- [247] A. S. Barnard and M. Sternberg, "Crystallinity and surface electrostatics of diamond nanocrystals," *Journal of Materials Chemistry*, vol. 17, no. 45, pp. 4811–4819, 2007. *Cité page 139*

- [248] J. S. Bunch, S. S. Verbridge, J. S. Alden, A. M. van der Zande, J. M. Parpia, H. G. Craighead, and P. L. McEuen, “Impermeable Atomic Membranes from Graphene Sheets,” *Nano Letters*, vol. 8, no. 8, pp. 2458–2462, 2008. *Cité page 139*
- [249] E. Osawa, D. Ho, H. Huang, M. V. Korobov, and N. N. Rozhkova, “Consequences of strong and diverse electrostatic potential fields on the surface of detonation nanodiamond particles,” *Diamond and Related Materials*, vol. 18, pp. 904–909, May 2009. *Cité page 140*
- [250] S. Ryu, L. Liu, S. Berciaud, Y.-J. Yu, H. Liu, P. Kim, G. W. Flynn, and L. E. Brus, “Atmospheric Oxygen Binding and Hole Doping in Deformed Graphene on a SiO₂ Substrate,” *Nano Letters*, vol. 10, no. 12, pp. 4944–4951, 2010. *2 citations pages 140 et 142*
- [251] S. S. Datta, D. R. Strachan, E. J. Mele, and A. T. C. Johnson, “Surface Potentials and Layer Charge Distributions in Few-Layer Graphene Films,” *Nano Letters*, vol. 9, no. 1, pp. 7–11, 2008. *Cité page 140*
- [252] C.-K. Lu and H.-F. Meng, “Hole doping by molecular oxygen in organic semiconductors : Band-structure calculations,” *Physical Review B*, vol. 75, no. 23, p. 235206, 2007. *Cité page 140*
- [253] M. S. A. Abdou, F. P. Orfino, Y. Son, and S. Holdcroft, “Interaction of Oxygen with Conjugated Polymers : Charge Transfer Complex Formation with Poly(3-alkylthiophenes),” *Journal of the American Chemical Society*, vol. 119, no. 19, pp. 4518–4524, 1997. *Cité page 140*
- [254] P. G. Collins, K. Bradley, M. Ishigami, and A. Zettl, “Extreme Oxygen Sensitivity of Electronic Properties of Carbon Nanotubes,” *Science*, vol. 287, no. 5459, pp. 1801–1804, 2000. *Cité page 140*
- [255] Y. Yang, “Binding mechanisms of molecular oxygen and moisture to graphene,” *Appl. Phys. Lett.*, vol. 98, no. 9, p. 93116, 2011. *Cité page 140*
- [256] K. B. Holt, “Undoped diamond nanoparticles : origins of surface redox chemistry,” *Physical chemistry chemical physics*, vol. 12, pp. 2048–58, Mar. 2010. *Cité page 145*
- [257] D. Chen, L. Tang, and J. Li, “Graphene-based materials in electrochemistry,” *Chemical Society reviews*, vol. 39, pp. 3157–80, Aug. 2010. *Cité page 145*
- [258] H.-D. Wang, C. H. Niu, Q. Yang, and I. Badea, “Study on protein conformation and adsorption behaviors in nanodiamond particle-protein complexes,” *Nanotechnology*, vol. 22, p. 145703, Apr. 2011. *Cité page 150*
- [259] W. S. Yeap, Y. Y. Tan, and K. P. Loh, “Using detonation nanodiamond for the specific capture of glycoproteins,” *Analytical Chemistry*, vol. 80, pp. 4659–4665, June 2008. *Cité page 150*

- [260] A. Alhaddad, C. Durieu, G. Dantelle, E. Le Cam, C. Malvy, F. Treussart, and J.-R. Bertrand, "Influence of the Internalization Pathway on the Efficacy of siRNA Delivery by Cationic Fluorescent Nanodiamonds in the Ewing Sarcoma Cell Model," *PLoS ONE*, vol. 7, p. e52207, Dec. 2012. *3 citations pages 150, 160, et 178*
- [261] V. Vaijayanthimala, Y.-K. Tzeng, H.-C. Chang, and C.-L. Li, "The biocompatibility of fluorescent nanodiamonds and their mechanism of cellular uptake.," *Nanotechnology*, vol. 20, p. 425103, Oct. 2009. *Cité page 152*
- [262] R. R. Arvizo, O. R. Miranda, M. A. Thompson, C. M. Pabelick, R. Bhattacharya, J. D. Robertson, V. M. Rotello, Y. S. Prakash, and P. Mukherjee, "Effect of Nanoparticle Surface Charge at the Plasma Membrane and Beyond.," *Nano letters*, vol. 10, pp. 0–5, June 2010. *Cité page 152*
- [263] V. Paget, J.-A. Sergent, R. Grall, S. Morel, H. A. Girard, T. Petit, C. Gesset, M. Mermoux, P. Bergonzo, J.-C. Arnault, and S. Chevillard, "Nanodiamonds are neither cytotoxic nor genotoxic on kidney, intestine, lung and liver human cell lines," *Soumis*, 2013. *2 citations pages 152 et 153*
- [264] J.-A. Sergent, V. Paget, and S. Chevillard, "Toxicity and genotoxicity of nano-SiO₂ on human epithelial intestinal HT-29 cell line.," *The Annals of occupational hygiene*, vol. 56, pp. 622–30, July 2012. *Cité page 153*
- [265] K.-K. Liu, C.-C. Wang, C.-L. Cheng, and J.-I. Chao, "Endocytic carboxylated nanodiamond for the labeling and tracking of cell division and differentiation in cancer and stem cells.," *Biomaterials*, vol. 30, pp. 4249–59, Sept. 2009. *Cité page 155*
- [266] X. Liu, S. Sen, J. Liu, I. Kulaots, D. Geohegan, A. Kane, A. A. Poretzky, C. M. Rouleau, K. L. More, G. T. R. Palmore, and R. H. Hurt, "Antioxidant deactivation on graphenic nanocarbon surfaces.," *Small*, vol. 7, pp. 2775–85, Oct. 2011. *Cité page 160*
- [267] D. R. Spitz, E. I. Azzam, J. J. Li, and D. Gius, "Metabolic oxidation/reduction reactions and cellular responses to ionizing radiation : a unifying concept in stress response biology.," *Cancer metastasis reviews*, vol. 23, no. 3-4, pp. 311–22, 2004. *Cité page 162*
- [268] D. Schulz-Ertner and H. Tsujii, "Particle radiation therapy using proton and heavier ion beams.," *Journal of clinical oncology*, vol. 25, pp. 953–64, Mar. 2007. *Cité page 163*
- [269] A. C. Begg, F. A. Stewart, and C. Vens, "Strategies to improve radiotherapy with targeted drugs.," *Nature reviews. Cancer*, vol. 11, pp. 239–53, Apr. 2011. *Cité page 163*

- [270] J. D. Carter, N. N. Cheng, Y. Qu, G. D. Suarez, and T. Guo, "Nanoscale energy deposition by X-ray absorbing nanostructures.," *The journal of physical chemistry. B*, vol. 111, pp. 11622–5, Oct. 2007. *Cité page 163*
- [271] H. E. Townley, J. Kim, and P. J. Dobson, "In vivo demonstration of enhanced radiotherapy using rare earth doped titania nanoparticles.," *Nanoscale*, vol. 4, pp. 5043–50, Aug. 2012. *Cité page 164*
- [272] S. J. McMahon, W. B. Hyland, M. F. Muir, J. A. Coulter, S. Jain, K. T. Butterworth, G. Schettino, G. R. Dickson, A. R. Hounsell, J. M. O'Sullivan, K. M. Prise, D. G. Hirst, and F. J. Currell, "Biological consequences of nanoscale energy deposition near irradiated heavy atom nanoparticles.," *Scientific reports*, vol. 1, p. 18, Jan. 2011. *2 citations pages 164 et 165*
- [273] M. Misawa and J. Takahashi, "Generation of reactive oxygen species induced by gold nanoparticles under x-ray and UV Irradiations.," *Nanomedicine : nanotechnology, biology, and medicine*, vol. 7, pp. 604–14, Oct. 2011. *Cité page 164*
- [274] A. Asati, S. Santra, C. Kaittanis, and J. M. Perez, "Surface-charge-dependent cell localization and cytotoxicity of cerium oxide nanoparticles.," *ACS nano*, vol. 4, pp. 5321–31, Sept. 2010. *Cité page 165*
- [275] J. M. Brown and W. R. Wilson, "Exploiting tumour hypoxia in cancer treatment.," *Nature reviews. Cancer*, vol. 4, pp. 437–47, June 2004. *2 citations pages 165 et 167*
- [276] P. M. David Gara, N. I. Garabano, M. J. Llansola Portoles, M. S. Moreno, D. Dodat, O. R. Casas, M. C. Gonzalez, and M. L. Kotler, "ROS enhancement by silicon nanoparticles in X-ray irradiated aqueous suspensions and in glioma C6 cells," *Journal of Nanoparticle Research*, vol. 14, p. 741, Feb. 2012. *Cité page 165*
- [277] S. Bosi, T. Da Ros, G. Spalluto, and M. Prato, "Fullerene derivatives : an attractive tool for biological applications," *European Journal of Medicinal Chemistry*, vol. 38, pp. 913–923, Nov. 2003. *Cité page 165*
- [278] V. Onufrey and M. Mohiuddin, "Radiation therapy in the treatment of metastatic renal cell carcinoma," *International Journal of Radiation Oncology*Biophysics*Physics*, vol. 11, pp. 2007–2009, Nov. 1985. *Cité page 167*
- [279] X. Chen, Z. Zhong, Z. Xu, L. Chen, and Y. Wang, "2',7'-Dichlorodihydrofluorescein as a fluorescent probe for reactive oxygen species measurement : Forty years of application and controversy.," *Free radical research*, vol. 44, pp. 587–604, June 2010. *Cité page 172*
- [280] N. Gharbi, M. Pressac, M. Hadchouel, H. Szwarc, S. R. Wilson, and F. Moussa, "[60] Fullerene Is a Powerful Antioxidant in Vivo With No Acute or Subacute Toxicity.," *Nano letters*, vol. 5, pp. 2578–85, Dec. 2005. *Cité page 173*

- [281] G. V. Andrievsky, V. I. Bruskov, A. a. Tykhomyrov, and S. V. Gudkov, "Peculiarities of the antioxidant and radioprotective effects of hydrated C60 fullerene nanostructures in vitro and in vivo.," *Free radical biology & medicine*, vol. 47, pp. 786–93, Sept. 2009. *Cité page 173*
- [282] R. M. Lucente-Schultz, V. C. Moore, A. D. Leonard, B. K. Price, D. V. Kosynkin, M. Lu, R. Partha, J. L. Conyers, and J. M. Tour, "Antioxidant single-walled carbon nanotubes.," *Journal of the American Chemical Society*, vol. 131, pp. 3934–41, Mar. 2009. *Cité page 173*
- [283] Y. Min, M. Akbulut, K. Kristiansen, Y. Golan, and J. Israelachvili, "The role of interparticle and external forces in nanoparticle assembly.," *Nature materials*, vol. 7, pp. 527–538, July 2008. *Cité page 186*
- [284] V. Georgakilas, F. Pellarini, M. Prato, D. M. Guldi, M. Melle-Franco, and F. Zerbetto, "Supramolecular self-assembled fullerene nanostructures.," *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 99, pp. 5075–80, Apr. 2002. *Cité page 186*
- [285] D. M. Guldi, F. Zerbetto, V. Georgakilas, and M. Prato, "Ordering fullerene materials at nanometer dimensions.," *Accounts of chemical research*, vol. 38, pp. 38–43, Jan. 2005. *Cité page 186*
- [286] Y. Kaibara, K. Sugata, M. Tachiki, H. Umezawa, and H. Kawarada, "Control wettability of the hydrogen-terminated diamond surface and the oxidized diamond surface using an atomic force microscope," *Diamond and Related Materials*, vol. 12, pp. 560–564, Mar. 2003. *Cité page 186*
- [287] T. A. Pascal, S.-T. Lin, W. Goddard, and Y. Jung, "Stability of Positively Charged Solutes in Water : A Transition from Hydrophobic to Hydrophilic," *The Journal of Physical Chemistry Letters*, vol. 3, pp. 294–298, Jan. 2012. *2 citations pages 186 et 188*
- [288] M. Dankerl, A. Lippert, S. Birner, E. Stützel, M. Stutzmann, and J. Garrido, "Hydrophobic Interaction and Charge Accumulation at the Diamond-Electrolyte Interface," *Physical Review Letters*, vol. 106, p. 196103, May 2011. *Cité page 187*
- [289] D. Chandler, "Interfaces and the driving force of hydrophobic assembly.," *Nature*, vol. 437, pp. 640–7, Sept. 2005. *Cité page 187*
- [290] H. Huang, L. Dai, D. H. Wang, L.-S. Tan, and E. Osawa, "Large-scale self-assembly of dispersed nanodiamonds," *Journal of Materials Chemistry*, vol. 18, no. 12, p. 1347, 2008. *Cité page 188*
- [291] M. L. Terranova, D. Manno, M. Rossi, A. Serra, E. Filippo, S. Orlanducci, and E. Tamburri, "Self-Assembly of n-Diamond Nanocrystals Into Supercrystals," *Crystal Growth & Design*, vol. 9, pp. 1245–1249, Mar. 2009. *2 citations pages 188 et 195*

- [292] A. S. Barnard, “Self-assembly in nanodiamond agglutinates,” *Journal of Materials Chemistry*, vol. 18, no. 34, p. 4038, 2008. *2 citations pages 188 et 196*
- [293] L.-Y. Chang, E. Osawa, and A. S. Barnard, “Confirmation of the electrostatic self-assembly of nanodiamonds.,” *Nanoscale*, vol. 3, pp. 958–962, Mar. 2011. *Cité page 188*
- [294] A. M. Kalsin, M. Fialkowski, M. Paszewski, S. K. Smoukov, K. J. M. Bishop, and B. A. Grzybowski, “Electrostatic self-assembly of binary nanoparticle crystals with a diamond-like lattice.,” *Science*, vol. 312, pp. 420–4, Apr. 2006. *Cité page 188*
- [295] K. J. M. Bishop, C. E. Wilmer, S. Soh, and B. A. Grzybowski, “Nanoscale forces and their uses in self-assembly.,” *Small*, vol. 5, pp. 1600–1630, July 2009. *Cité page 188*
- [296] D. A. Walker, B. Kowalczyk, M. O. de la Cruz, and B. A. Grzybowski, “Electrostatics at the nanoscale.,” *Nanoscale*, vol. 3, pp. 1316–44, Apr. 2011. *Cité page 188*
- [297] O. Spalla and L. Belloni, “Long Range Electrostatic Attraction between Neutral Surfaces,” *Physical Review Letters*, vol. 74, pp. 2515–2518, Mar. 1995. *Cité page 189*
- [298] B.-Y. Ha and A. Liu, “Counterion-Mediated Attraction between Two Like-Charged Rods,” *Physical Review Letters*, vol. 79, pp. 1289–1292, Aug. 1997. *Cité page 189*
- [299] R. Messina, C. Holm, and K. Kremer, “Strong Attraction between Charged Spheres due to Metastable Ionized States,” *Physical Review Letters*, vol. 85, pp. 872–875, July 2000. *Cité page 189*
- [300] C. Calero, J. Faraudo, and D. Bastos-González, “Interaction of monovalent ions with hydrophobic and hydrophilic colloids : charge inversion and ionic specificity.,” *Journal of the American Chemical Society*, vol. 133, pp. 15025–35, Sept. 2011. *Cité page 189*
- [301] A. Bakhshandeh, A. dos Santos, and Y. Levin, “Weak and Strong Coupling Theories for Polarizable Colloids and Nanoparticles,” *Physical Review Letters*, vol. 107, p. 107801, Sept. 2011. *Cité page 189*
- [302] D. A. Walker, C. E. Wilmer, B. Kowalczyk, K. J. M. Bishop, and B. A. Grzybowski, “Precision assembly of oppositely and like-charged nanoobjects mediated by charge-induced dipole interactions.,” *Nano letters*, vol. 10, pp. 2275–2280, June 2010. *Cité page 189*
- [303] E. Allahyarov, I. D’Amico, and H. Löwen, “Attraction between Like-Charged Macroions by Coulomb Depletion,” *Physical Review Letters*, vol. 81, pp. 1334–1337, Aug. 1998. *Cité page 189*
- [304] P. Linse and V. Lobaskin, “Electrostatic Attraction and Phase Separation in Solutions of Like-Charged Colloidal Particles,” *Physical Review Letters*, vol. 83, pp. 4208–4211, Nov. 1999. *2 citations pages 189 et 192*

- [305] T. López-León, J. L. Ortega-Vinuesa, and D. Bastos-González, "Ion-specific aggregation of hydrophobic particles.," *ChemPhysChem*, vol. 13, pp. 2382–91, June 2012. *Cité page 189*
- [306] H. Hirai and K. Kondo, "Modified phases of diamond formed under shock compression and rapid quenching.," *Science*, vol. 253, pp. 772–4, Aug. 1991. *Cité page 195*
- [307] I. Konyashin, A. Zern, J. Mayer, F. Aldinger, V. Babaev, V. Khvostov, and M. Guseva, "A new carbon modification : "n-diamond" or face-centred cubic carbon?," *Diamond and Related Materials*, vol. 10, pp. 99–102, Jan. 2001. *Cité page 195*
- [308] B. Wen, J. J. Zhao, and T. J. Li, "Synthesis and crystal structure of n-diamond," *Internation Materials Reviews*, vol. 52, no. 3, pp. 131–151, 2007. *Cité page 196*
- [309] J. M. Cowley, R. C. Mani, M. K. Sunkara, M. O’Keeffe, and C. Bonneau, "Structures of Carbon Nanocrystals," *Chemistry of Materials*, vol. 16, pp. 4905–4911, Nov. 2004. *Cité page 196*
- [310] B. Wen, R. Melnik, S. Yao, and T. Li, "Hydrogen-doped cubic diamond and the crystal structure of n-diamond," *Chemical Physics Letters*, vol. 516, pp. 230–232, Nov. 2011. *Cité page 196*
- [311] M. Fatow, I. Konyashin, V. Babaev, M. Guseva, V. Khvostov, and N. Savtchenko, "Carbon modification with the fcc crystal structure," *Vacuum*, vol. 68, pp. 75–78, Oct. 2002. *Cité page 196*
- [312] H. Cölfen and S. Mann, "Higher-order organization by mesoscale self-assembly and transformation of hybrid nanostructures.," *Angewandte Chemie International Edition*, vol. 42, pp. 2350–65, May 2003. *2 citations pages 198 et 199*
- [313] H. Cölfen and M. Antonietti, "Mesocrystals : inorganic superstructures made by highly parallel crystallization and controlled alignment.," *Angewandte Chemie International Edition*, vol. 44, pp. 5576–91, Sept. 2005. *Cité page 198*
- [314] M. Niederberger and H. Cölfen, "Oriented attachment and mesocrystals : non-classical crystallization mechanisms based on nanoparticle assembly.," *Physical chemistry chemical physics*, vol. 8, pp. 3271–87, July 2006. *Cité page 199*
- [315] R.-Q. Song and H. Cölfen, "Mesocrystals–ordered nanoparticle superstructures.," *Advanced materials*, vol. 22, pp. 1301–30, Mar. 2010. *Cité page 199*
- [316] L. Zhou and P. O’Brien, "Mesocrystals : Properties and Applications," *The Journal of Physical Chemistry Letters*, vol. 3, pp. 620–628, Mar. 2012. *Cité page 199*

Communications personnelles

Publications

- Stehlik, S., **Petit, T.**, Girard, H. A., Arnault, J.-C., Kromka, A., Rezek, B. : "Tip material causes inversion of nanoparticle potential in Kelvin probe force microscopy", en préparation.
- **Petit, T.**, Girard, H. A., Trouvé, A., Batonneau-Gener, I., Bergonzo, P., Arnault, J.-C. (2013) : "Surface transfer doping mediates both colloidal stability and self-assembly of hydrogenated nanodiamonds", soumis.
- Paget, V., Sergent, J.A., Grall, R., Morel, S., Girard, H.A., **Petit, T.**, Gesset, C., Mermoux, M., Bergonzo, P., Arnault, J.C., Chevillard, S. : "Nanodiamonds are neither cytotoxic nor genotoxic on kidney, intestine, lung and liver human cell lines." en cours de revue.
- Stehlik, S., **Petit, T.**, Girard, H. A., Arnault, J.-C., Kromka, A., Rezek, B. (2013) : "Nanoparticles Assume Electrical Potential According to Substrate, Size and Surface Termination", *Langmuir*, 29, 1634.
- **Petit, T.**, Arnault, J.-C., Girard, H. A., Sennour, M., Kang, T.-Y., Cheng, C.-L., Bergonzo, P. (2012) : "Oxygen Hole Doping of Nanodiamond", *Nanoscale*, 4 (21), 6792.
- **Petit, T.**, Arnault, J.-C., Girard, H. A., Sennour, M., Bergonzo, P. (2011) : "Early stages of surface graphitization of nanodiamonds probed by X-ray Photoelectron Spectroscopy", *Physical Review B*, 84 (23), 233407.
- Girard, H. A., **Petit, T.**, Perruchas, S., Gacoin, T., Gesset, C., Arnault, J.-C., Bergonzo, P. (2011) : "Surface properties of hydrogenated nanodiamonds : a chemical

investigation", *Physical Chemistry Chemical Physics*, 13 (24), 11517.

- Arnault, J.-C., **Petit, T.**, Girard, H. A., Chavanne, A., Gesset, C., Sennour, M., Chaigneau, M. (2011) : "Surface chemical modifications and surface reactivity of nanodiamonds hydrogenated by CVD plasma", *Physical Chemistry Chemical Physics*, 13 (24), 11481. **Article de couverture**

Brevets

- **Petit, T.**, Arnault, J.-C., Girard, H. A., Grall, R. : "Utilisation de nanodiamants pour générer des radicaux libres à visée thérapeutique sous irradiation", Demande de brevet français N° 1256781, soumise le 13.07.2012.
- **Petit, T.**, Arnault, J.-C., Girard, H. A., en cours de préparation.

Communications orales

Communications internationales

- "Electron transfer properties of hydrogenated detonation nanodiamonds : from colloidal properties to biomedical applications", SBDD XVIII Hasselt Diamond Workshop, Février 2013, Hasselt, Belgique.
- "Positive Zeta potential on Detonation Nanodiamonds induced by Oxygen Hole Doping", International Conference on Diamond and Carbon Materials, Septembre 2012, Grenade, Espagne.
- "Surface reactivity and colloidal properties of hydrogenated or graphitized nanodiamonds", French-Taiwan LIA Workshop, Juin 2012, Taipei, Taiwan.
- "Tuning the surface charge of nanodiamonds via surface hybridization", E-MRS Spring Meeting, Mai 2012, Strasbourg, France
- "Surface reconstruction and colloidal properties of annealed detonation nanodiamond", MRS Fall Meeting, Novembre 2011, Boston, États-Unis.
- "Surface Graphitization of Nanodiamonds Monitored by Electron Spectroscopies",

SBDD XVI Hasselt Diamond Workshop, Février 2011, Hasselt, Belgique.

Communication nationale

- "Caractérisation des modifications de surface de nanoparticules de diamant pour des applications biomédicales", GDR Diamant, Juin 2010, Toulouse.

Posters

- "Nanodiamonds as drug delivery vectors with tunable surface charge", Colloids and Nanomedicine, Juillet 2012, Amsterdam, Pays-Bas.
- "Vers la graphitisation de surface de nanodiamants de détonation", École thématique CNRS : Fonctionnalisation du carbone, Mai 2011, Dinart, France.

Résumé

A partir de l'étude des effets de la chimie de surface des Nanodiamants (NDs) sur leurs propriétés électroniques, cette thèse a permis la mise en évidence d'un effet thérapeutique des NDs sur des cellules humaines. En particulier, il a été montré que les NDs de détonation peuvent générer des radicaux libres oxygénés sous radiation ionisante, ce qui pourrait améliorer l'efficacité de certains traitements de radiothérapie actuels. Les échanges électroniques entre le cœur des NDs et leur environnement sont en effet favorisés après des traitements de surface, notamment d'hydrogénation et de graphitisation de surface. Les conditions expérimentales permettant d'obtenir des NDs hydrogénées (NDs-H) sous plasma d'hydrogène ont été optimisées sous ultravide, puis ont été utilisées pour préparer de grandes quantités de NDs-H sous forme pulvérulente. La même procédure a été appliquée pour la graphitisation de surface des NDs, en utilisant des recuits sous vide à haute température. L'effet de ces traitements de surface sur les propriétés d'interactions électroniques des NDs a été étudié après exposition à l'air ambiant, puis en dispersion dans l'eau. Ces traitements de surface assurent notamment un potentiel Zeta positif aux NDs, dont l'origine a été discutée. Enfin, les interactions des NDs avec plusieurs lignées de cellules tumorales humaines ont été étudiées et l'efficacité des NDs pour radiosensibiliser des cellules radiorésistantes sous irradiation γ a été montrée, ouvrant de nouvelles perspectives d'applications des NDs en nanomédecine.

Mots clefs : Nanodiamant, Chimie de surface, Transfert électronique, Potentiel Zeta, Radiosensibilisation

Abstract

In this thesis, a therapeutic effect of nanodiamonds (NDs) has been evidenced by investigating the role of NDs surface chemistry on their electronic properties. More precisely, the generation of reactive oxygen species from detonation NDs under ionizing radiation, which could improve current radiotherapy treatments, has been demonstrated. To this end, surface treatments facilitating electron transfer from NDs to their environment, namely hydrogenation and surface graphitization, were developed. Experimental conditions ensuring an efficient hydrogenation by hydrogen plasma were determined under ultrahigh vacuum, before being used to prepare large quantities of NDs in powder phase. A similar procedure was applied to the surface graphitization of NDs, performed by annealing under vacuum at high temperature. The impact of such surface treatments on the electronic interaction properties of NDs has been investigated under ambient air and after dispersion in water. These surface treatments induce a positive Zeta potential to NDs in water, which origin has been discussed. Finally, their interactions with human tumor cells were observed. Radiosensitization of tumor cells using NDs under γ irradiation was demonstrated, opening new perspectives for NDs in nanomedicine.

Keywords : Nanodiamond, Surface chemistry, Electron transfer, Zeta Potential, Radiosensitization